

## Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif

J.C. Quincampoix, J.L. Mainardi\*

*Service de microbiologie clinique, hôpital européen Georges-Pompidou, 20, rue Leblanc, 75015 Paris, France*

(Reçu le 19 janvier 2001 ; accepté le 23 janvier 2001)

### Résumé

L'association, chez les bactéries à Gram positif responsables d'infections communautaire et nosocomiale, de résistances naturelle et acquise aux antibiotiques confère une importance particulière à la prise en charge thérapeutique. Chez ces bactéries, le mécanisme prépondérant est lié à des modifications au niveau des cibles bactériennes des antibiotiques : modifications quantitatives et/ou qualitatives des protéines de liaison à la pénicilline rendant compte de la résistance à la pénicilline chez les pneumocoques et les entérocoques, à la méticilline chez les staphylocoques, modifications du peptidoglycane responsable de la résistance aux glycopeptides, anomalies du ribosome et modifications des gyrases rendant compte de la résistance aux macrolides et aux quinolones. L'association à d'autres mécanismes de résistance (enzymes inactivatrices, efflux) est responsable du caractère souvent multirésistant des souches nosocomiales. © 2001 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

### antibiotiques / bactéries à Gram positif / cibles bactériennes

### Summary – Mechanisms underlying resistance of Gram-positive bacteria.

Resistance of Gram-positive bacteria to antimicrobials is due to both natural and acquired factors. In these bacteria, the main mechanism involves modifications in the bacterial targets of antimicrobials; for instance, quantitative and/or qualitative changes in the penicillin-binding proteins lead to penicillin resistance in enterococci and pneumococci; to methicillin resistance in staphylococci; changes in peptidoglycan responsible for the glycopeptide resistance; and abnormalities in the ribosome and gyrase modifications, resulting in resistance to macrolides and quinolones. The concomitant presence of other mechanisms (production of inactivating enzymes, efflux) is common and, as a result, many nosocomial strains are multiresistant. © 2001 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS

### antimicrobials / Gram-positive bacteria / bacterial targets

En France, depuis environ dix ans, la proportion des cocci à Gram positif responsables d'infections nosocomiales n'a cessé de progresser au détriment des bactéries à Gram négatif [1]. Les cocci à Gram positif se caractérisent par la capacité d'évolution de leurs phénotypes de

résistance aux antibiotiques, ainsi que par leur grande faculté d'acquisition de nouveaux mécanismes de résistance, que ce soit par l'intermédiaire de transferts de matériel génétique au sein d'une même espèce bactérienne ou entre espèces différentes. Étant donné le

\*Correspondance et tirés à part.

Adresse e-mail : jean-luc.mainardi@bhdc.jussieu.fr (J.L. Mainardi).

nombre important des espèces et l'étendue des mécanismes de résistance, nous concentrerons notre propos sur les principaux agents impliqués en pathologie infectieuse, en particulier en réanimation.

## RÉSISTANCE CHEZ LES STAPHYLOCOQUES

*Staphylococcus aureus* (SA) et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) occupent une place importante en pathologie nosocomiale [2]. Ces micro-organismes présentent très souvent une résistance multiple aux antibiotiques.

### Résistance aux $\beta$ -lactamines

La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes qui sont identiques pour les SA et pour les SCN : un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP.

#### Résistance par production de $\beta$ -lactamases

Une  $\beta$ -lactamase est une enzyme qui hydrolyse le cycle  $\beta$ -lactame des pénicillines, les rendant inactives. L'existence d'une pénicillinase entraîne une résistance à la pénicilline G et aux pénicillines A (ampicilline, amoxicilline, etc.), aux carboxypénicillines (ticarcilline), et aux uréidopénicillines (pipéracilline). Ce mode de résistance est présent chez 90 % des isolats cliniques de SA [2].

Le gène *blaZ* codant pour les pénicillinases de staphylocoque peut être porté soit par un transposon soit être chromosomique. La production de  $\beta$ -lactamases peut être constitutive ou, le plus souvent, inductible. L'activité des  $\beta$ -lactamines est restaurée en présence d'un inhibiteur de  $\beta$ -lactamases de type acide clavulanique, tazobactam ou sulbactam [2].

#### Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle : la PLP2a

Les PLP sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyltransférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédant une affinité pour les  $\beta$ -lactamines.

La résistance à la méticilline, qui entraîne une résistance à toutes les  $\beta$ -lactamines, est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (*mecA*) qui code

pour la PLP2a. Cette PLP additionnelle a moins d'affinité pour les  $\beta$ -lactamines et en particulier pour la méticilline [3, 4]. Ce mécanisme est présent chez les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et chez les SCN.

La régulation du gène *mecA* est principalement sous la dépendance de deux gènes : les gènes *mecI* (répresseur du gène *mecA*) et *mecR* (antirépresseur). La résistance conférée par *mecA* peut être homogène (résistance exprimée par toutes les souches) ou hétérogène (résistance exprimée seulement par une proportion des colonies filles issues d'une colonie mère exprimant la résistance). Chez les souches présentant une résistance hétérogène à la méticilline, le niveau de résistance n'est pas corrélé avec la quantité de PLP2a, mais semble être sous la dépendance de quatre gènes *fem A, B, C, D* (facteurs essentiels à la méticillino-résistance) chromosomiques impliqués dans la formation du pont interpeptidique pentaglycine du peptidoglycane. À l'heure actuelle, aucun des gènes régulateurs impliqués dans la résistance aux  $\beta$ -lactamines ne permet d'expliquer le caractère hétérogène de cette résistance [5].

#### Autres mécanismes de résistance

Certaines souches présentent une résistance intermédiaire à la méticilline. Ces souches sont dites « borderline » et possèdent des CMI de l'oxacilline entre 4 et 16  $\mu\text{g/mL}$ . Ces souches sont caractérisées par l'absence du gène *mecA* [3]. Deux types de mécanismes peuvent être impliqués.

#### Modification de protéines de liaison à la pénicilline autres que la PLP2a

Ce mécanisme définit les souches de type modified *Staphylococcus aureus* (MODSA) présentant une résistance homogène de bas niveau à l'oxacilline (CMI < 16  $\mu\text{g/mL}$ ) chez des souches non productrices de  $\beta$ -lactamases.

Le mécanisme impliqué peut résulter de mutations au sein des gènes codant pour les PLP, conduisant à une diminution d'affinité pour les  $\beta$ -lactamines ou à une hyperproduction d'une de ces PLP [6].

#### Mécanisme enzymatique

La résistance de telles souches peut également s'expliquer par une hyperproduction de pénicillinase ou par la production d'une méticillinase, enzyme hydrolysant les  $\beta$ -lactamines de classe M, (oxacilline, dicloxacilline, méticilline) inductibles par la méticilline (CMI de l'oxacilline 0,5–2  $\mu\text{g/mL}$ ). La sensibilité de ces souches aux

$\beta$ -lactamines est restaurée en présence d'un inhibiteur de  $\beta$ -lactamases [2].

### Résistance aux aminosides

Ces antibiotiques agissent en inhibant la synthèse d'ARN. Ils se répartissent en deux groupes chimiquement distincts : le groupe de la streptidine (comprenant la streptomycine) et le groupe de la 2-désoxystreptamine (kanamycine, gentamicine, amikacine, nétilmicine). Cette classe d'antibiotique a naturellement une action bactéricide sur les staphylocoques [7].

#### Mécanisme enzymatique

Les enzymes inactivant les aminosides sont codées par des gènes plasmidiques ayant un fort potentiel de dissémination. Les trois phénotypes engendrés sont :

- phénotype K : résistance de haut niveau à la kanamycine et à l'amikacine due à une phosphorylase (APH-3') ;
- phénotype KT : résistance de haut niveau à la kanamycine, l'amikacine, et à la tobramycine, due à une adénylase (ANT-4') ;
- phénotype KTG : résistance de haut niveau à kanamycine, amikacine tobramycine, nétilmicine et gentamicine, induit par la présence d'une enzyme bi-fonctionnelle ayant des activités de phosphorylation et d'acétylation (APH-2''-AAC-6').

#### Mutations chromosomiques

La résistance à la streptomycine est médiée par un mécanisme de mutation de la cible de cet antibiotique. L'activité de la streptomycine n'est pas altérée par la présence des enzymes inactivant les autres aminosides puisque cette molécule appartient à un groupe chimiquement distinct.

Il y a en France, depuis 1995, la réapparition de clones de SARM sensibles à la gentamicine. Cette population est devenue aujourd'hui majoritaire [8]. En 1999, à l'hôpital Broussais, 60 % des SAMR étaient sensibles à la gentamicine. Sur ces souches, l'association des glycopeptides et de gentamicine est synergique in vitro.

### Résistance aux macrolides

Les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS), inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation du ribosome et du complexe ARN de transfert-peptide. Cela entraîne une terminaison réversible de l'élongation protéique [9].

Les macrolides et les lincosamides (lincomycine et clindamycine) n'ont qu'une activité bactériostatique sur les staphylocoques alors que les streptogramines (pristinamycine, quinupristine-dalfopristine), qui résultent de l'association de deux composés A et B agissant en synergie et possédant une activité bactéricide.

Trois mécanismes sont impliqués : une modification de la cible de l'antibiotique, un mécanisme d'efflux et une modification enzymatique de la drogue.

#### Résistance par modification de la cible de l'antibiotique

Le mécanisme repose sur l'action d'une enzyme (méthylase) réalisant la méthylation d'une adénine de la sous-unité 23s de l'ARN ribosomique. Ces méthylases sont codées par les gènes *erm* dont il existe au moins 20 variants [9]. Le support des gènes *erm* peut être chromosomique ou plasmidique.

#### Résistance par efflux

Trois gènes codant pour des systèmes d'efflux ont été décrits chez les cocci à Gram positif. Leur produit forme un transporteur protéique qui diminue l'accumulation de l'antibiotique dans la cellule.

Les gènes *msrA* et *msrB* sont responsables d'un phénotype de résistance de type MS, c'est-à-dire d'une résistance inductible vis-à-vis des macrolides dont le noyau comporte 14 et 15 carbones (C14 et C15) et au composé B des streptogramines, après induction par l'érythromycine [10]. Le gène *mef* entraîne un phénotype de résistance nommé M, caractérisé par une résistance limitée aux macrolides en C14 et en C15 [10]. Il est localisé sur des éléments chromosomiques transférables par conjugaison et n'a jamais été retrouvé sur un plasmide [9]. Les gènes *vga*, *vgaB* codent pour des protéines d'efflux du seul composé A des synergistines [9, 10]. Tous ces gènes sont retrouvés chez différentes espèces de SCN et chez SA.

#### Résistance par enzymes inactivatrices

Ces enzymes, qui modifient l'antibiotique lui-même, peuvent appartenir à la classe des hydrolases (gènes *vgb* et *vgbB* pour virginiamycine facteur B hydrolase), des acétyltransférases (gènes *linA* et *vat*) ou des phosphotransférases (gène *mphC*). Le support de ces gènes est souvent plasmidique [9].

L'activité des macrolides du groupe mLS sur les staphylocoques est rapportée dans le *tableau I*. Phénotypes de résistance :

**Tableau I.** Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistance acquise aux macrolides et apparentés chez les cocci à Gram positif.

Mécanisme	Support de résistance	Rôle	Macr. (C14)	Macr. (C15)	Macr. (C16)	Linco.	Clinda.	Strept. B (Sgb)	Strept. A (SgA)	SgA+ SgB
Modification de cible	<i>erm</i> inductible	Méthylase	R	R	S	S	S	S	S	S*
	<i>erm</i> constitutif	Méthylase	R	R	R	R	R	R	S	S/I
Inactivation	<i>lin A</i>	Acétase	S	S	S	R	I/S	S	S	S
	<i>vat</i>	Acétase	S	S	S	S	S	S	R	I/R
	<i>vgb</i>	Hydrolase	S	S	S	S	S	R	S	R
Efflux	<i>vga</i>	Pompe	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>mef</i>	Pompe	R	R	S	S	S	S	S	S
	<i>msr</i>	Pompe	R	R	S	S	S	R	S	S/I

Macr : macrolides ; C14 : cycle comportant 14 carbones ; C15 : cycle comportant 15 carbones ; C16 : cycle comportant 16 carbones ; Linco : lincomycine ; Clinda : clindamycine ; Strept B. : streptogramines B ; Strept A : streptogramines A ; SgA+ SgB : synergistines ; Acétase : acétylase ; S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant.

– phénotype M : il se définit par une résistance limitée aux macrolides dont le noyau comporte 14 carbones (érythromycine) ou 15 carbones (azithromycine) et épargne les molécules apparentées (lincosamides et streptogramines). Il est dû à la présence du gène *mef* [9] ;

– phénotype MLSB : il se définit par une résistance aux macrolides, lincosamides et au composé B des synergistines. Ce phénotype peut être inductible ou constitutif. Le phénotype inductible semble prédominant chez les staphylocoques dorés sensibles à la méticilline, tandis que le phénotype constitutif prédomine chez les SAMR (gène *ermA* prédominant). Le déterminant *ermC* est d'avantage retrouvé chez les staphylocoques à coagulase négative sensibles ou non à la méticilline, de phénotype inductible ou constitutif [10] ;

– résistance de type MSgB (macrolides et streptogramines B) : elle est inductible par l'érythromycine et touche les macrolides en C14 ou en C15 et les streptogramines B. Le gène responsable est *msrA* [9] ;

– résistance aux associations synergiques (SgA+ SgB) : toutes les souches résistantes aux associations le sont au composé A (avec des CMI SgA  $\geq$  8  $\mu$ g/mL) et à ses dérivés (pristinamycine II, virginiamycine M ou dalfo-pristine), sans l'être obligatoirement au composé SgB. La résistance à ce type de composé rapportée chez les SA et les SCN est habituellement liée à l'accumulation de différents mécanismes tels que *vga* et *vat* et *vgb* situés sur différents plasmides, en association avec des gènes de méthylases [10] ;

– la résistance aux lincosamides seule est médiée par le gène *linA*, rencontré chez SA et chez *S. haemolyticus*. L'incidence des staphylocoques résistants aux seules lincosamides, sans résistance aux macrolides ni aux

streptogramines est, en France, inférieure à 5 % [10]. Le phénotype LSA, de génotype et de mécanisme inconnus, entraîne une résistance à la lincosamide et la streptogramine A.

### Résistance aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones inhibent la croissance bactérienne par arrêt de la réplication de l'ADN. Ces molécules ont une action ciblée sur les topo-isomérases. Les topo-isomérases regroupent les topo-isomérases de classe II, les gyrases, constituées de deux sous-unités GyrA et GyrB (codées par les gènes *gyrA* et *gyrB*) et impliquées dans le relâchement de l'ADN, et par les topo-isomérases de classe IV (composées de deux sous-unités codées par les gènes *grlA* et *grlB*) qui entraînent un désenchevêtrement de l'ADN à la fin de la réplication [2].

Trois mécanismes sont impliqués essentiellement [2] :

– la modification de la cible qui implique une mutation au niveau des gènes chromosomique *grlA* ou *grlB* de la topo-isomérase IV ;

– l'altération des sous-unités A ou B de la gyrase par introduction d'une mutation au sein des gènes *gyrA* ou *gyrB* ;

– l'efflux de la drogue grâce à une protéine transmembranaire codée par le gène *norA*, chromosomique.

Chez les bactéries à Gram positif, la topo-isomérase de classe IV constitue la cible primaire, et une mutation de cette cible est nécessaire pour entraîner l'apparition d'un premier niveau de résistance aux fluoroquinolones [2].

La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules. Chez les SAMR, le taux de résistance est supérieur à 90 %.

## Résistance aux glycopeptides

Le mécanisme de résistance reste à ce jour imparfaitement connu et semble être multifactoriel. Chez les SCN, le problème existe chez deux espèces, *S. haemolyticus* et *S. epidermidis*. Ces espèces affichent des CMI 50 à la teicoplanine supérieures à celles de la vancomycine [11].

Concernant les staphylocoques dorés intermédiaires aux glycopeptides (GISA), les données récentes traduisent l'existence de nombreuses modifications de la paroi bactérienne avec notamment une production accrue de précurseurs du peptidoglycane [11, 12]. Le mécanisme exact reste inconnu.

Il apparaît cependant que cette résistance repose sur des mécanismes distincts de ceux impliqués chez les entérocoques résistants à la vancomycine (VRE), puisque aucun gène analogue à ceux impliqués chez les entérocoques n'a pu être mis en évidence chez les staphylocoques [13].

## RÉSISTANCE CHEZ LES PNEUMOCOQUES

Le pneumocoque était, au début de l'avènement des pénicillines, la bactérie la plus sensible aux  $\beta$ -lactamines [14]. La résistance de ces souches à de nombreux antibiotiques peut poser des problèmes pour la thérapeutique des méningites.

### Résistance aux $\beta$ -lactamines

La définition de la diminution de sensibilité à la pénicilline est une notion introduite en 1967 qui a permis une classification en trois catégories :

- souches sensibles : CMI  $\leq 0,06$   $\mu\text{g/mL}$ , présentant une grande variabilité sérotypique et génétique ;
- souches intermédiaires :  $0,1 \mu\text{g/mL} \leq \text{CMI} \leq 1 \mu\text{g/mL}$ , représentant un groupe de taille réduite avec une faible variation sérotypique et génétique ;
- souches résistantes : CMI  $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ , représentant un groupe génétiquement homogène comprenant un nombre réduit de sérotypes et possédant de nombreux mécanismes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques [15].

Les pneumocoques possèdent six PLP (PLP1a, 1b, 2a, 2b, 2x, 3). Ces bactéries sont des bactéries transformables, c'est-à-dire pouvant intégrer au sein de leur chromosome des fragments de génome bactérien génétiquement proches. L'ADN reconnu comme étant le principal support de ces transferts génétiques est l'ADN

des streptocoques de la flore oropharyngée [14]. Ce mécanisme, s'expliquant par une homologie de séquence suffisante entre les gènes des PLP des différentes espèces, est mis en évidence au niveau des PLP du pneumocoque, aboutissant à la naissance de PLP dites « mosaïques », de moindre affinité pour les  $\beta$ -lactamines. Pour qu'une souche acquière un niveau de résistance significatif aux pénicillines, trois au moins des six PLP doivent être altérées ; avec les céphalosporines, l'atteinte d'une seule PLP peut s'avérer suffisante [14, 15].

La transmission de la résistance aux  $\beta$ -lactamines peut être horizontale (au sein d'une même espèce bactérienne) ou verticale (croisée d'un individu à l'autre).

Les  $\beta$ -lactamines conservant les CMI les plus basses sont la ceftriaxone, le céfotaxime, l'amoxicilline et l'imipénème.

Ainsi, bien qu'une souche dite « résistante » aux  $\beta$ -lactamines puisse afficher des CMI au céphalosporines de troisième génération 50 à 100 fois supérieures à celles des souches sensibles, 95 % des pneumocoques sont inhibés par 2  $\mu\text{g/mL}$  d'amoxicilline, ce qui correspond à la CMI d'un *Escherichia coli* sensible [15]. Aucune surmortalité dans les pneumopathies communautaires n'a pu être mise en rapport avec la diminution de sensibilité aux  $\beta$ -lactamines [2].

### Résistance aux macrolides, lincosamides, et streptogramines

Les souches de pneumocoques de sensibilité diminuée aux pénicillines sont souvent porteuses de mécanismes de résistance associés, avec parmi ceux-ci, une forte prévalence de la résistance aux macrolides selon un phénotype MLSB puisque près de 80 % des souches résistantes aux pénicillines sont également résistantes à l'érythromycine [15].

Les mécanismes de résistance aux macrolides reposent sur différents mécanismes.

#### *Modification enzymatique de la cible*

On retrouve les déterminants *erm* mis en évidence chez les staphylocoques, responsables des phénotypes MLSB inductibles ou constitutifs [9].

#### *Efflux des antibiotiques*

Le gène *mefA* est impliqué dans l'efflux des macrolides. Il engendre un phénotype M (résistance aux seuls macrolides). Ce gène est positionné sur un fragment

chromosomique facilement échangé au cours de transferts génétiques entre espèces bactériennes proches [16, 17].

### Résistance aux fluoroquinolones

Le mécanisme d'action des fluoroquinolones décrit chez le pneumocoque est identique à celui décrit chez le staphylocoque. Les topo-isomérases de classe IV du pneumocoque sont composées de deux sous-unités ParC et ParE codées par les gènes *parC* et *parE* [2, 18].

#### Résistance par mutation chromosomique

La résistance aux fluoroquinolones se développe après apparition d'une mutation chromosomique affectant l'un et/ou l'autre des gènes codant pour les différentes sous-unités des enzymes cibles, *gyrA* et/ou *gyrB* d'une part, *parC* et/ou *parE* d'autre part [19].

#### Résistance par efflux

La résistance aux fluoroquinolones par efflux chez le pneumocoque a été très récemment mise en évidence sans que le gène impliqué ne soit pour l'instant réellement identifié [20].

## RÉSISTANCE CHEZ LES ENTÉROCOQUES

Les entérocoques se caractérisent par une résistance naturelle aux pénicillines et une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides [21]. L'espèce *E. faecalis* se caractérise en plus par une résistance naturelle aux lincosamides et aux sulfamides.

### Résistance naturelle aux $\beta$ -lactamines

L'isolement d'entérocoques responsables d'infections nosocomiales et, parmi ceux-ci, la part des souches multirésistantes aux antibiotiques, est en constante augmentation, notamment au cours de phénomènes épidémiques [22].

Parmi les souches fréquemment isolées en clinique en France, *E. faecium* possède des CMI<sub>50</sub> égales à 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  pour la pénicilline G, tandis que pour *E. faecalis*, 100 % des souches ont une CMI < 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  [2].

La résistance aux pénicillines chez les entérocoques peut être intrinsèque ou extrinsèque due à des mécanismes acquis.

#### Résistance intrinsèque

Tous les entérocoques possèdent une PLP particulière (PLP5), de faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines et res-

ponsable de CMI des pénicillines dix à 100 fois supérieures à celles retrouvées pour les autres streptocoques. De même, les céphalosporines sont naturellement inactives sur les entérocoques [23].

### Résistance acquise

#### Production de $\beta$ -lactamases

Ce mécanisme a été rapporté en Argentine, au Liban et aux États-Unis et ne concerne à ce jour presque exclusivement qu'*E. faecalis* [23]. Le support de cette résistance est un gène proche du gène *blaZ* codant pour la pénicillinase du SA, exprimé de manière constitutive [23]. Les enzymes sont produites à bas niveau, conduisant à des CMI à la pénicilline comprises entre 4 et 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  et des CMI de l'ampicilline entre 2 et 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  [23]. Il est à noter que l'activité des pénicillines sur ces souches est restaurée en présence d'un inhibiteur de  $\beta$ -lactamases. Lorsqu'il existe, ce gène se trouve fréquemment associé à un haut niveau de résistance à la gentamicine [23].

#### Hyperproduction de la PLP5

Ce mécanisme de résistance est associé à des CMI de la pénicilline G de 8 à 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  [24].

#### Mutation de la PLP5

Ce mécanisme, dû à des mutations survenant près du site actif de la PLP5 chez *E. faecium*, conduit à des CMI de la pénicilline supérieures à 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  chez *E. faecium* par diminution d'affinité de cette PLP pour les  $\beta$ -lactamines [25].

En France, les CMI de la pénicilline retrouvées chez *E. faecium* varient entre 4 et 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

### Résistance aux aminosides

#### Résistance naturelle

Comme tous les streptocoques, les entérocoques possèdent une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides due à une anomalie de transport membranaire des ces antibiotiques. Chez *E. faecium*, la production naturelle d'une enzyme, la 6-N'acétyl transférase, confère un phénotype de résistance de type K (kanamycine), T (tobramycine), N (nétilmicine) épargnant la gentamicine. La synergie entre la gentamicine (CMI = 4–16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) et les  $\beta$ -lactamines, permettant une action bactéricide, est conservée [26].

**Tableau II.** Mécanismes et phénotypes de résistance aux glycopeptides chez les entérocoques.

Phénotype	Résistance naturelle		Résistance acquise		
	Van C	Van A	Van B	Van D	Van E
CMI Vanco ( µg/mL)	2–32	64– > 1000	8–1024	64	16
CMI Teico ( µg/mL)	0,5–1	16–512	0,5–1	4	0,5
Dipeptide terminal	D-ala-D-ser	D-ala-D-lact	D-ala-D-lact	D-ala-D-lact	D-ala-D-ser
Support	chrom.	plasm. (transp.)	chrom. (transp.)	chrom.	chrom.
Espèces	<i>E. gallinarum</i> <i>E. flavescens</i> <i>E. casseliflavus</i>	<i>Enterococcus spp</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>

plasm. : plasmidique ; chrom : chromosomique ; plasm : plasmide ; transp : transposon ; *Enterococcus spp* : *Enterococcus* species ; D-ala-D-lact : D-alanyl-D-lactate ; D-ala-D-ser : D-alanyl-D-serine ; Vanco : vancomycine ; Teico : teicoplanine.

### Résistance acquise

#### Mécanisme enzymatique

Chez *E. faecium*, la résistance à haut niveau aux aminosides (CMI > 1 000 µg/mL) est le fait des enzymes plasmidiques qui sont retrouvées chez les staphylocoques et conférant les mêmes phénotypes de résistance.

#### Mutations chromosomiques

Chez *E. faecalis*, le haut niveau de résistance à la streptomycine résulte de mutations ribosomales. Dans chaque cas, il en résulte une abolition de la synergie avec les pénicillines [22].

### Résistance aux macrolides et apparentés

Deux mécanismes sont impliqués dans la résistance de type MLS.

#### Résistance par modification de la cible

Elle est le fait d'une méthylase codée par les gènes *ermA* ou *ermB*. Ces gènes présentent 100 % d'homologie avec les déterminants *erm* impliqués chez SA et entraînent des phénotypes de résistance MLSB constitutif ou inductible [27].

#### Existence d'un mécanisme d'efflux

Deux déterminants sont impliqués chez les entérocoques :

- le gène *msrC* : il est retrouvé de manière ubiquitaire chez les *E. faecium*. Ce gène, chromosomique, code pour une protéine impliquée dans l'efflux de l'érythromycine, de la pristinamycine et de la virginiamycine (composé A) [27] ;
- le gène *mef* : ce gène est retrouvé de façon irrégulière selon l'origine géographique des isolats d'entérocoques. Il est analogue au déterminant présent chez les staphylocoques et détermine le phénotype M [26].

### Résistance aux glycopeptides

Les glycopeptides sont des inhibiteurs de synthèse de la paroi bactérienne. Ces molécules de taille importante forment des complexes délétères avec le dipeptide terminal (D-alanyl-D-alanine) des précurseurs du peptidoglycane. Le dipeptide ainsi fixé ne peut s'intégrer de manière normale au peptidoglycane déjà formé [28]. La résistance à ces antibiotiques peut être de haut ou de bas niveau, acquise ou naturelle (tableau II).

#### Résistance naturelle

Trois espèces ont une résistance naturelle à la vancomycine : *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, et *E. flavescens* avec des CMI pour la vancomycine entre 2 et 32 µg/mL. Ces souches restent sensibles à la teicoplanine (CMI = 0,5–1 µg/mL). Le support de résistance est le gène *vanC* qui est chromosomique et non transférable [29].

#### Résistance acquise

Cette résistance concerne essentiellement *E. faecium*, et *E. faecalis* [21] :

- phénotype VanA : le gène *vanA* code pour une enzyme (ligase) permettant la naissance d'un dipeptide terminal anormal (D-alanyl-D-lactate) de faible affinité pour les glycopeptides. Le déterminant de cette résistance, inductible par les glycopeptides et de haut niveau (CMI de 64 à > 1 000 µg/mL pour la vancomycine et CMI = 16–512 µg/mL pour la teicoplanine) est porté par un plasmide (ou transposon) ;
- phénotype VanB : le gène *vanB*, chromosomique, est retrouvé chez *E. faecium* et chez *E. faecalis* [30].

La résistance est inductible par la vancomycine (CMI = 8–1 024 µg/mL) et non inductible par la teicoplanine (CMI = 0,5–1 µg/mL).

**Tableau III.** Résistance des cocci à Gram positif aux autres classes d'antibiotiques.

Antibiotiques	Mécanisme	Support
Chloramphénicol	Enzyme (CAT)	plasm. et chrom.
Cyclines	Protection ribosomale Efflux	plasm. et chrom.
Acide fusidique	Modification de cible	chrom.
Fosfomycine	Modification de cible, diminution de perméabilité	plasm. et chrom.
Mupirocine	Modification de cible	plasm.

plasm. : plasmidique ; chrom. : chromosomique ; CAT : chloramphénicol acétyl transférase.

Les deux protéines VanA et VanB sont proches en terme de structure et codent pour des ligases remplaçant le dipeptide D-alanyl-D-alanine terminal par du D-alanyl-D-lactate :

– phénotype VanD : décrit uniquement chez une souche de *E. faecium*. Le gène *vanD* code également pour une ligase responsable de la formation d'un dipeptide terminal D-alanyl-D-lactate. Les CMI des glycopeptides sont de 64 µg/mL et 4 µg/mL pour la vancomycine et la teicoplanine respectivement [30] ;

– phénotype VanE : ce déterminant a été impliqué chez *E. faecalis* dans la formation d'un dipeptide terminal de forme D-ala-D-serine. Les CMI qui en résultent sont de 16 µg/mL pour la vancomycine et de 0,5 µg/mL pour la teicoplanine [31].

En France, l'incidence des entérocoques résistants à la vancomycine reste faible (< 2 %), mais ces organismes, souvent multirésistants, sont responsables d'épidémies aux États-Unis et au Royaume-Uni [28].

## RÉSISTANCE DES COCCI À GRAM POSITIF AUX AUTRES CLASSES D'ANTIBIOTIQUES

La résistance des cocci à Gram positif aux autres antibiotiques est présentée dans le *tableau III*.

## CONCLUSION

Les cocci à Gram positif possèdent une importante flexibilité de leur génome. L'importante faculté d'échange de matériel génétique permet de nombreux transferts de gènes intra- ou interspèces. L'extension du phénomène de résistance atteignant des classes d'antibiotiques considérées jusqu'à présent comme le seul arsenal thérapeutique sur certaines espèces et la transmission horizontale de gènes de résistance des

espèces bactériennes les plus fréquemment impliquées en pathologie nosocomiale vers les espèces responsables d'infections communautaires rendent compte des difficultés de prise en charge des infections dues aux cocci à Gram positif.

## RÉFÉRENCES

- 1 Réseau Microbiologie du CCLIN Paris-Nord et Groupe des microbiologistes d'Île-de-France, Bull Épidémiol Hebd 2000 ; 18 : 75-7.
- 2 Mainardi JL, Goldstein FW, Gutmann L. Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses, 8-006-N-10. 1996 : 8 p.
- 3 De Jonge BLM, Tomasz A. Abnormal peptidoglycan produced in a methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* grown in the presence of methicillin : functional role for penicillin-binding protein 2a in a cell wall synthesis. Antimicrob Agents Chemother 1993 ; 37 : 342-6.
- 4 Ryffel C, Kayser FH, Berger-Bächi B. Correlation between regulation of *mecA* transcription and expression of methicillin resistance in staphylococci. Antimicrob Agents Chemother 1992 ; 36 : 25-31.
- 5 De Lancastre H, Figueiredo AMS, Tomasz A. Genetic control of population structure in heterogeneous strains of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Eur Journal Clin Microb Infect Dis 1993 ; 12 : 13-8.
- 6 Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci : molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microb Rev 1997 ; 10 : 781-91.
- 7 Casin I, Collatz E. Mécanismes de résistance aux aminosides. Med Therapeut 1997 ; 3 : 86-96.
- 8 Lelièvre H, Lina G, Jones ME, Olive C, Forey F, Roussel-Delvallez M, et al. Emergence and spread in french hospitals of *Staphylococcus aureus* with increasing susceptibility to gentamicin and other antibiotics. J Clin Microbiol 1999 ; 37 : 3452-7.
- 9 Roberts M, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Sepala H. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. Antimicrob Agents Chemother 1999 ; 43 : 2823-30.
- 10 Lina G, Quaglia A, Reverdy ME, Leclercq R, Vandenesch F, Etienne J. Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. Antimicrob Agents Chemother 1999 ; 43 : 1062-6.
- 11 Mainardi JL. Résistance des staphylocoques aux glycopeptides. Méd Mal Inf 1997 ; 27 : 940-2.
- 12 Sieradzki K, Pinho MG, Tomasz A. Inactivated *pbp4* in highly glycopeptide-resistant laboratory mutants of *Staphylococcus aureus*. J Biol Chem 1999 ; 274 : 18942-6.
- 13 Mainardi JL. La résistance des bactéries à Gram positif aux glycopeptides : mythe ou réalité ? Actu Réanim Urg 1999 ; 150-8.
- 14 Tomasz A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Clin Infect Dis 1997 ; 24 (suppl 1) : 85-8.
- 15 Goldstein FW. Résistance des pneumocoques aux β-lactamines : de la microbiologie à la clinique. Bull Soc Fr Microbiol 1997 ; 12 : 141-51.
- 16 Santagati M, Iannelli F, Oggioni MR, Stefani S, Pozzi G. Characterization of a genetic element carrying the macrolide efflux gene *mef (A)* in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2000 ; 44 : 2585-7.
- 17 Pérez-Trallero E. Pneumococcal macrolide resistance-not a myth ? J Antimicrob Chemother 2000 ; 44 : 401-12.

- 18 Wise R, Brenwald NP, Gill MJ, Fraise A. Streptococcus pneumoniae resistance to fluoroquinolones. Lancet 1996 ; 348 : 1660.
- 19 Gonzales I, Georgiou M, Alcaide F, Balas D, Linares J, De La Campa A. Fluoroquinolone resistance mutations in the *parC*, *parE*, and *gyrA* genes of clinical isolates of viridans group streptococci. Antimicrob Agents Chemother 1998 ; 42 : 2792-8.
- 20 Zeller V, Janoir C, Kitzis MD, Gutmann L, Moreau N. Active efflux as a mechanism of resistance to ciprofloxacin in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1997 ; 41 : 1973-8.
- 21 Leclercq R. Enterococci acquire new kinds of resistance. Clin Infect Dis 1997 ; 24 (suppl 1) : 9080-4.
- 22 Schouten MA, Voss A, Hoogkamp-Korstanje A and the European VRE Study Group. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. Antimicrob Agents Chemother 1999 ; 43 : 2542-6.
- 23 Patterson JE, Masecar BL, Zervos MJ. Characterization and comparison of two penicillinase producing strains of *Streptococcus (Enterococcus) faecalis*. Antimicrob Agents Chemother 1988 ; 32 : 122-4.
- 24 Fontana R, Aldegheri M, Ligozzi M, Lopez H, Sucari A, Satta G. Overproduction of a low-affinity penicillin binding protein and high-level ampicillin resistance in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 1994 ; 38 : 1980-3.
- 25 Rybkine T, Mainardi JL, Sougakoff W, Collatz E, Gutmann L. Penicillin-binding protein 5 sequence alterations in clinical isolates of *Enterococcus faecium* with different levels of  $\beta$ -lactam resistance. J Infect Dis 1998 ; 178 : 159-63.
- 26 Leclercq R, Courvalin P. Resistance to glycopeptides in enterococci. Clin Infect Dis 1997 ; 24 : 545-56.
- 27 Portillo A, Ruiz-Larrea F, Zarazaga M, Alonso A, Martinez JL, Torres C. Macrolide resistance genes in *Enterococcus spp.* Antimicrob Agents Chemother 2000 ; 44 : 967-71.
- 28 Arthur M, Reynolds PE, Depardieu F, Evers S, Dukta-Malen S, Quintiliani R, et al. Mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. J Infect Dis 1996 ; 32 : 11-6.
- 29 Urtley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci [letter]. Lancet 1988 ; 1 : 57-8.
- 30 Perichon B, Reynolds P, Courvalin P. Van D type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. Antimicrob Agents Chemother 1997 ; 41 : 2016-8.
- 31 Fines M, Perichon B, Reynolds P, Sahm DF, Courvalin P. Van E, a new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM4405. Antimicrob Agents Chemother 1999 ; 43 : 2161-4.