

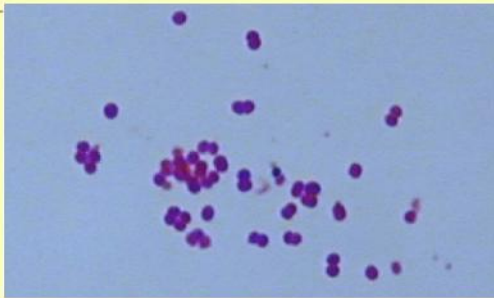
SARM en médecine vétérinaire

*(Staphylococcus aureus
méricillinorésistant)*

Pr.A.Benslimani
Institut Pasteur d'Algérie , Dély-Ibrahim
5 décembre 2013

Rappels sur les staphylocoques

Principaux caractères bactériologiques

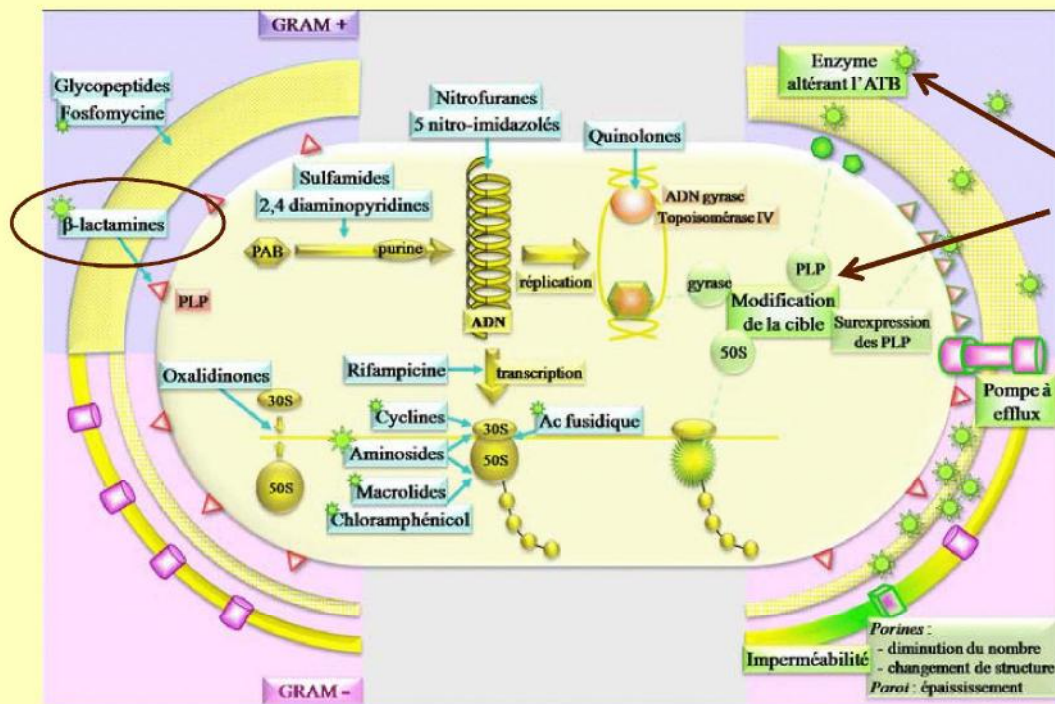


- ✓ Genre staphylococcus-
Espèce –type aureus
- ✓ Cocci à Gram positif
- ✓ Aéro anaérobie facultatif, non exigeant →
- ✓ Catalase +, oxydase –, O129 R
- ✓ Coagulase, dégradation du mannitol, production d'hémolyse, novobiocine, Fosfomycine
- ✓ Milieux sélectifs: Chapman, Baird Parker

Pouvoir pathogène - Prélèvements

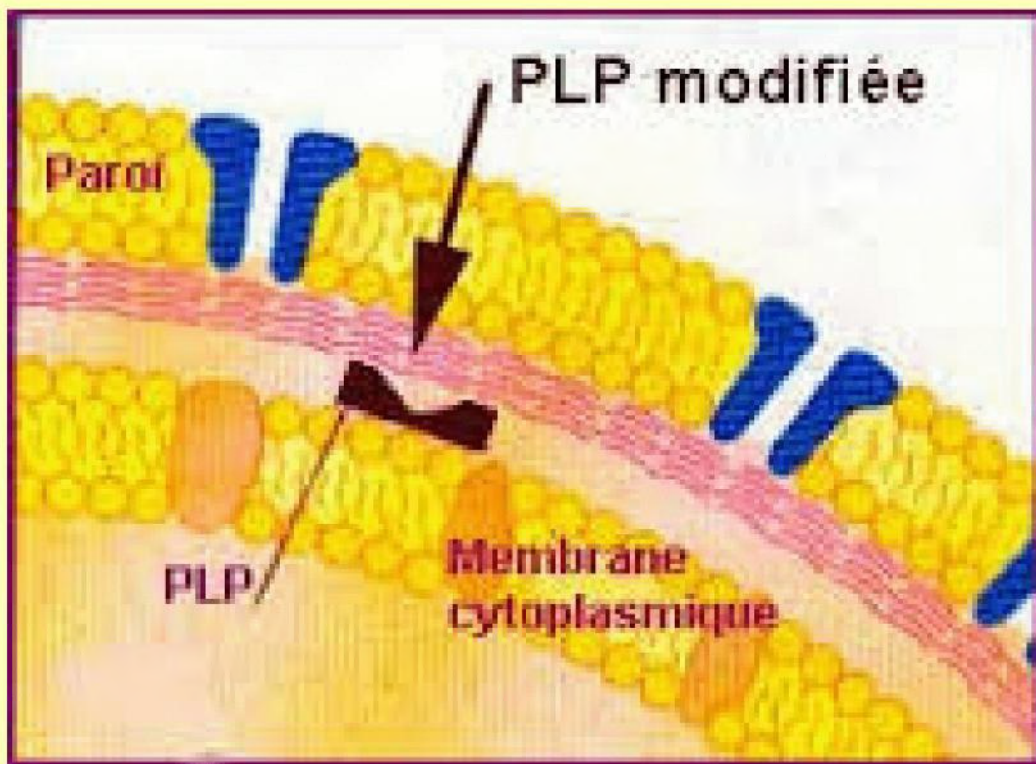
- ✓ Bovins et petits ruminants: infections intramammaires (S.doré)
- ✓ Volailles : pneumonies, infections musculaires, ostéomyélites, septicémies
- ✓ Lapins : abcès sous-cutanés, mastites, pododermatites
- ✓ Cheval : dermatite, cellulite
- ✓ Chien-porc infections cutanées (S.pseudintermedius)

Antibiotiques – Mode d'action – mécanismes de résistance



Cibles d'action des antibiotiques et Mécanismes de résistance – source Google images

Cible des β -lactamines



Mécanisme de résistance aux β -lactamines

- **Résistance extrinsèque** : enzymatique= Pénicillinase –
Résistance croisée entre les péni G ,A , carboxy et uréido
- **Résistance intrinsèque** à la méticilline (SARM) =
Acquisition d'une PLP additionnelle (PLP2a) codée par le gène *mecA* sur la cassette *SCCmec*
La PLP 2a a une très mauvaise affinité pour les β lactamines, ce qui entraîne une résistance croisée à toute la famille des β -lactamines
Ces souches de SARM sont souvent **multirésistantes**.
 - Aminosides (sauf la gentamicine)
 - Macrolides.
 - Fluoroquinolones

Méticillino-résistance

- Résistance homogène :
 - La majorité de la population exprime la résistance
 - Pas de précautions particulières dans les conditions habituelles de l'antibiogramme
- Résistance hétérogène :
 - Une faible partie de la population (parfois 1 sur 1000) exprime la résistance dans les conditions standards de culture.
 - Le niveau de résistance est variable suivant la souche, (haut ou bas niveau)
 - La proportion de la population résistante est constante (même après plusieurs repiquages)

Tests de sensibilité de
Staphylococcus aureus
en médecine vétérinaire

Antibiotiques à tester

(Liste standardisée, spectre d'activité, disponibilité, indication clinique)

- **Bêtalactamines:**

- Pénicilline G + Novobiocine
- Amoxicilline+Acide clavula*
- Oxacilline
- Céfoxitine ***

- **Aminosides:**

- Néomycine/Kanamycine
- Gentamicine**

- **Macrolides:**

- Erythromycine
- Clindamycine

- **Glycopeptides**

- Vancomycine **

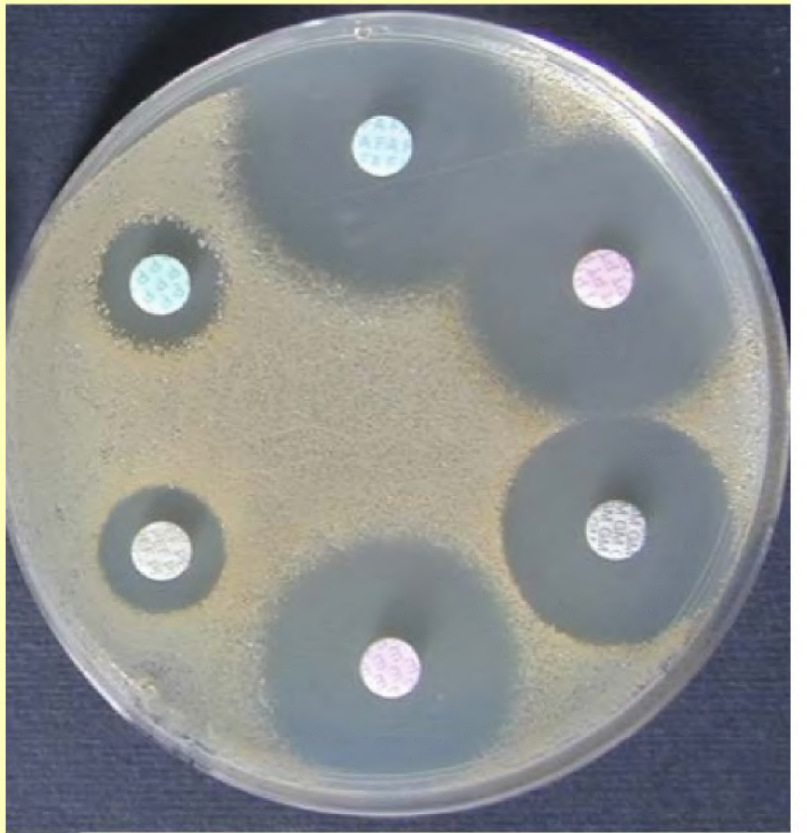
- **Autres:**

- Enrofloxacin
- Bacitracine
- Sulfisoxazole
- Tétracyclines
- Triméthoprime + Sulfaméthoxazole

- * Testé uniquement pour la recherche de β -lactamases

- ** Testé uniquement dans le cadre de l'épidémiorésistance

- *** Testé seulement pour la recherche de souches MRSA



ATB à tester dans un objectif thérapeutique

Molécules testées	Valeurs critiques		
Pénicilline + Novobiocine 10 /30	≤ 14	15-17	≥ 18
Néomycine/Kanamycine 30µg	≤ 13	15-17	≥ 18
Erythromycine 15 µg	≤ 13	14-22	≥ 23
Clindamycine 2 µg	< 14	15-20	≥ 21
Tétracyclines 30µg	≤ 14	15-18	≥ 19
Bacitracine 130µg	<15		≥ 15
Sulfisoxazole 250 ou 300 µg	≤ 12	13-16	≥ 17
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	≤ 10	11-15	≥ 16
Enrofloxacin 5 µg	≤ 16	17-22	≥ 23

ATB à tester pour détecter les résistances acquises aux Bêtalactamines

Molécules testées	Valeurs critiques	
Amoxicilline + Acide Clavulanique ???	≤ 19	≥ 20
Oxacilline 1µg S.aureus	≤ 10	11-12 ≥ 13
1µg SCN	≤ 17	≥ 18
Céfoxitine 30 µg	≤ 21	≥ 22

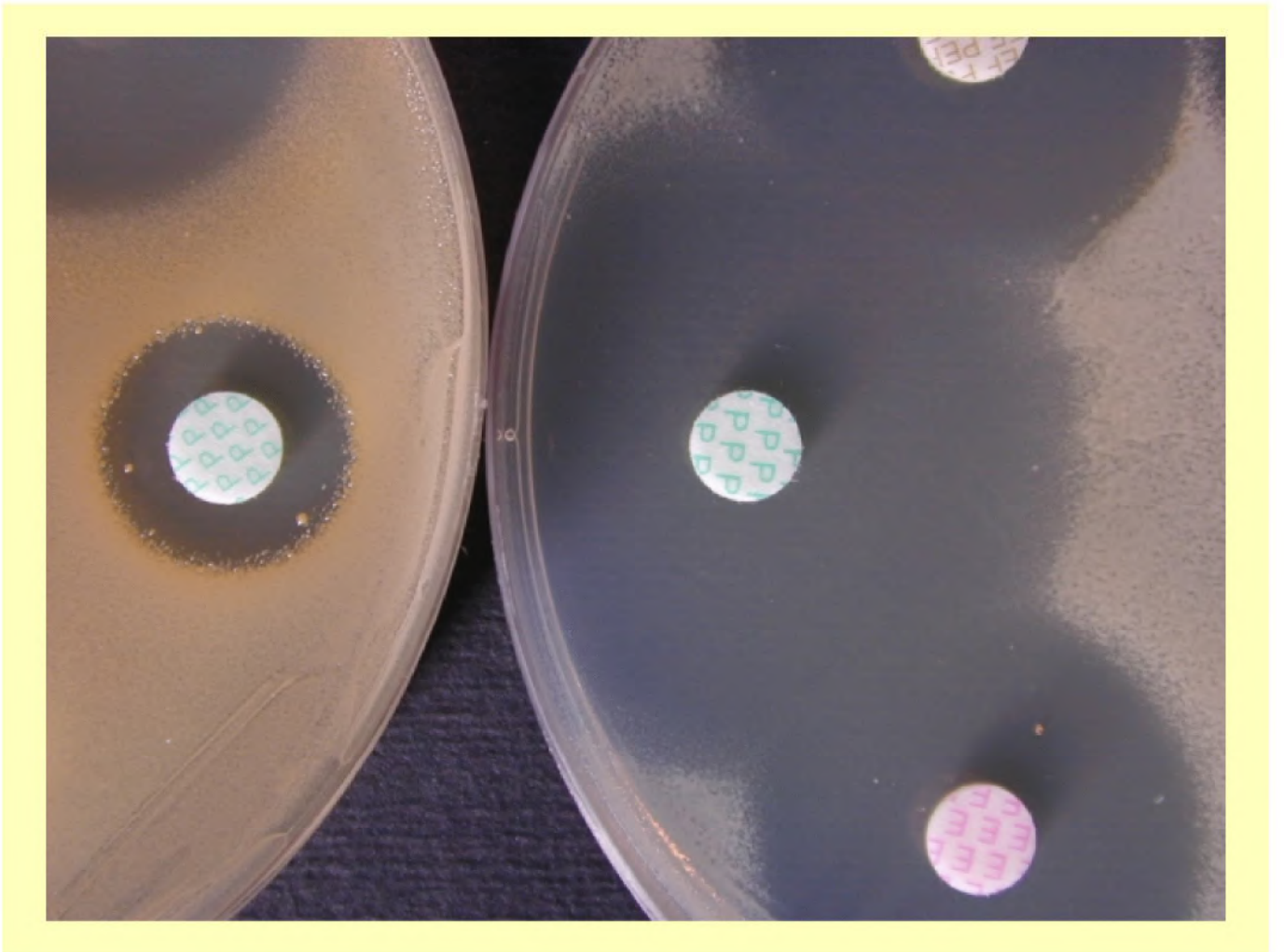
En cas de discordance ou pour confirmation de la méticillinorésistance,

Faire l'un des tests complémentaires suivants :

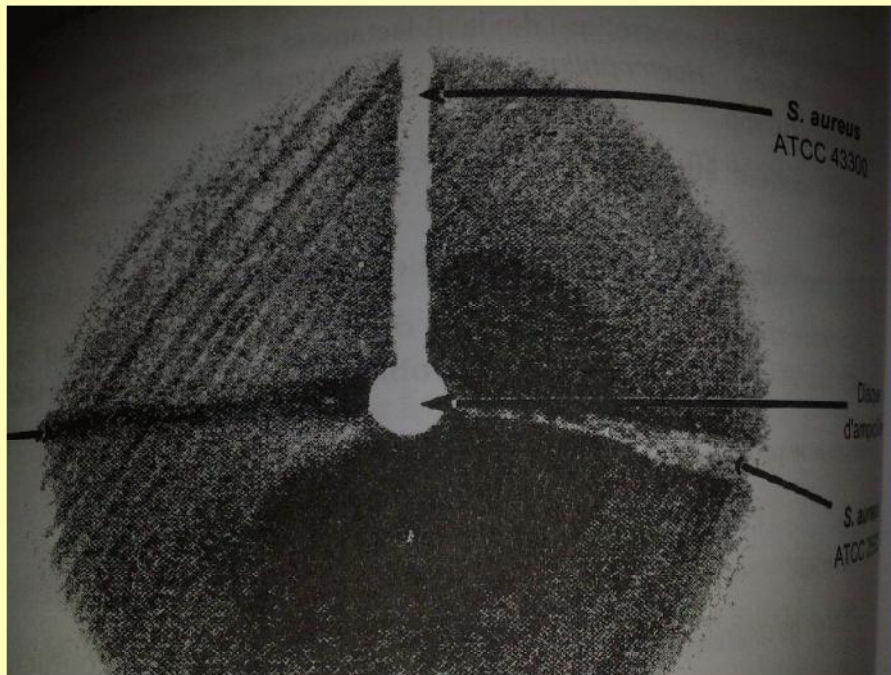
- ✓ recherche de la PLP 2a
- ✓ Screening test à l'Oxa
- ✓ CMI de l'Oxa
- ✓ Recherche du gène mecA

Détection de la Pénicillinase

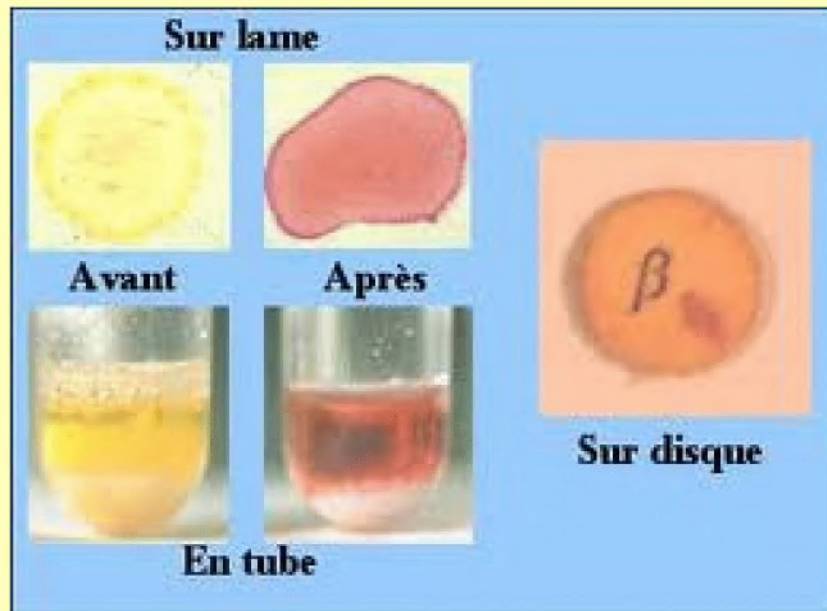
- ✓ Diamètre autour du disque de Pénicilline
- ✓ Comparaison diamètres AMX et AMC
- ✓ Si doute ,Confirmation par l'un de ces tests complémentaires :
 - chromogénique (céfinase)
 - microbiologique (Trèfle)
 - iodométrique (commerce)



Test du trèfle



Test chromogénique

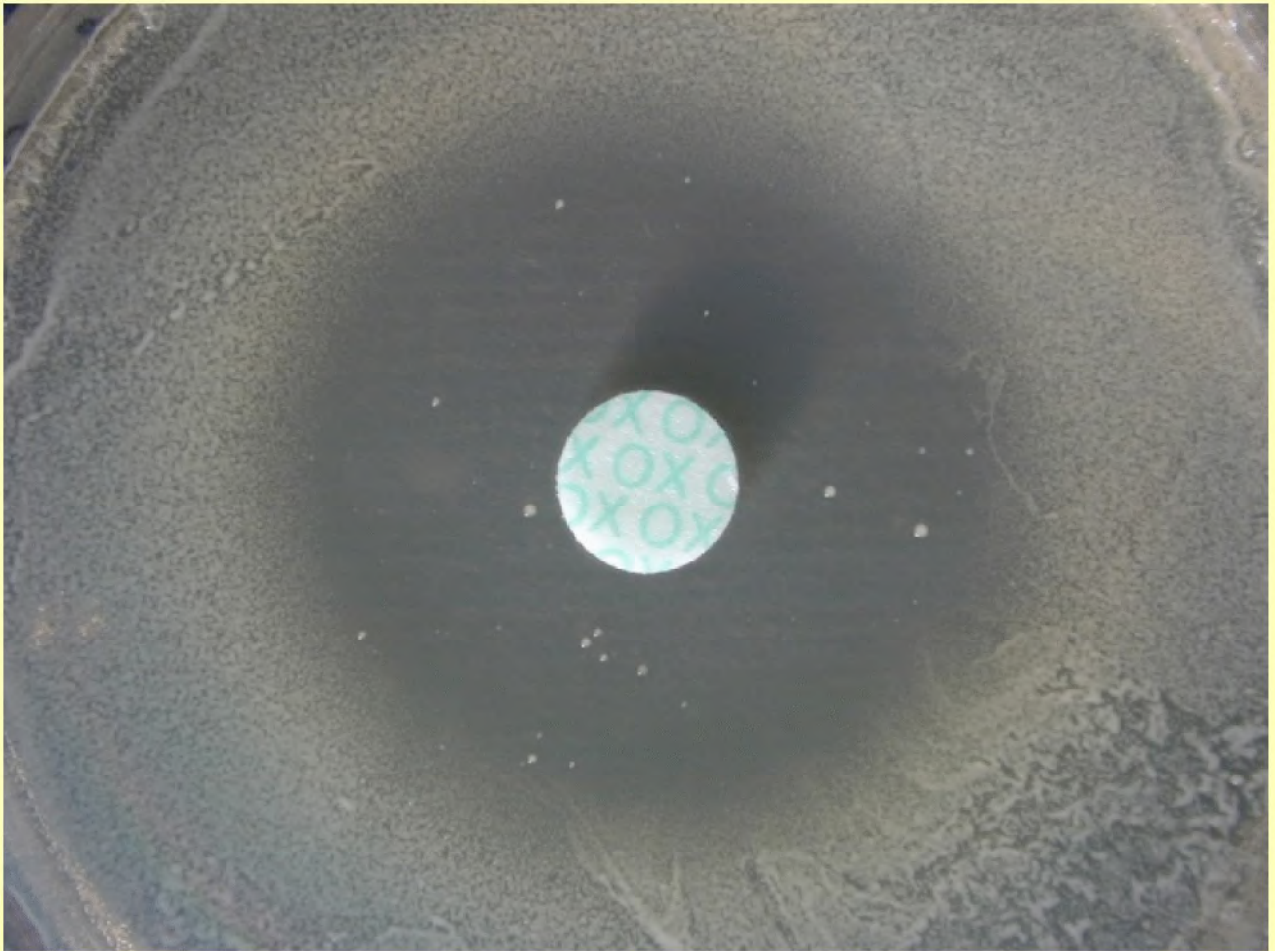


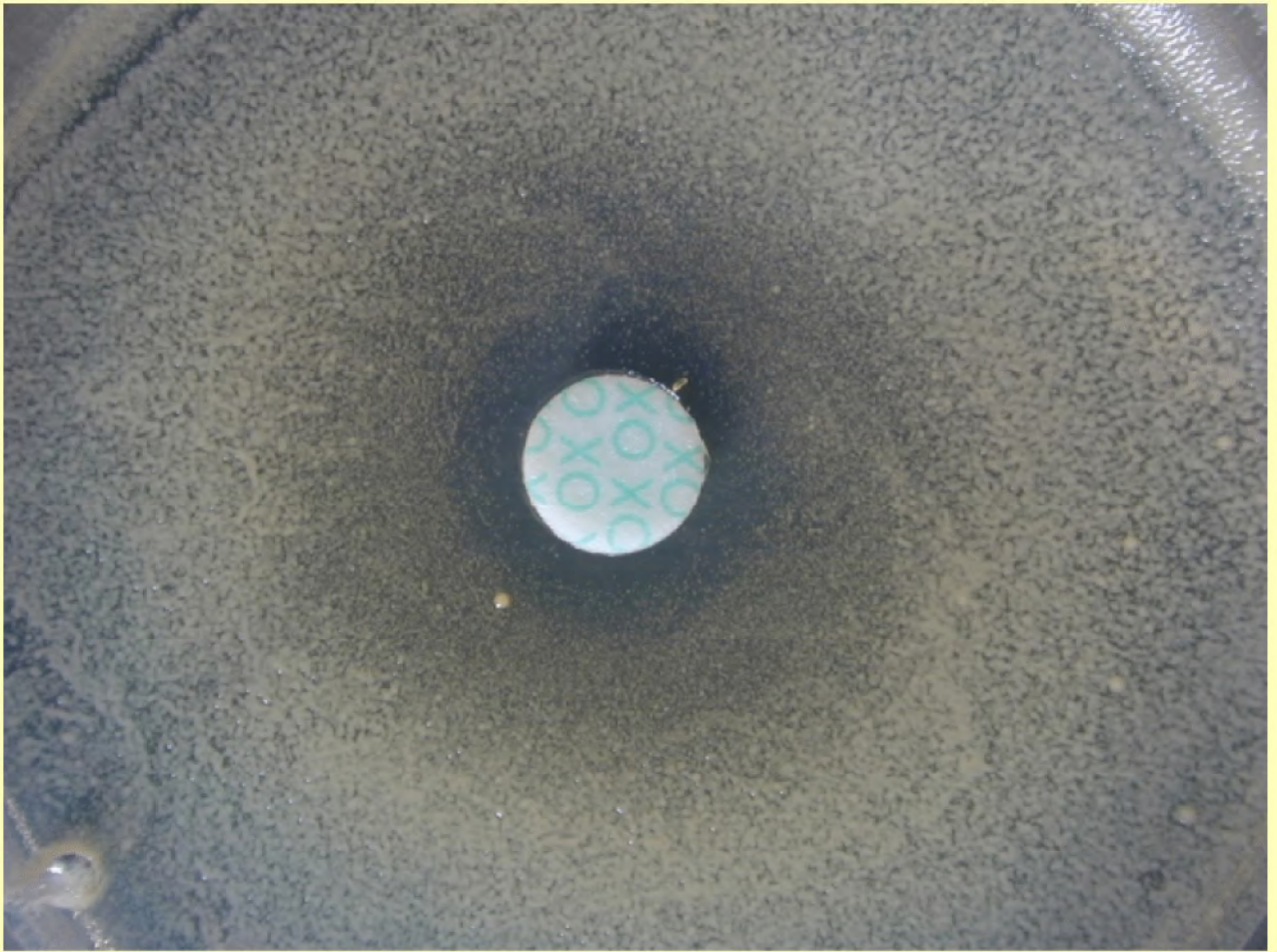
Détection de la Métilino-résistance

- ✓ Diamètre autour du disque d'OXACILLINE à 1µg (CLSI) ou 5 µg (SFM)
- ✓ Diamètre autour du disque de CEFOXITINE (30µg)
- ✓ Tests complémentaires :
 - PLP 2a
 - Screening test à l'Oxa
 - CMI Oxa
 - Gène MecA

Recherche de la méthicillino-résistance

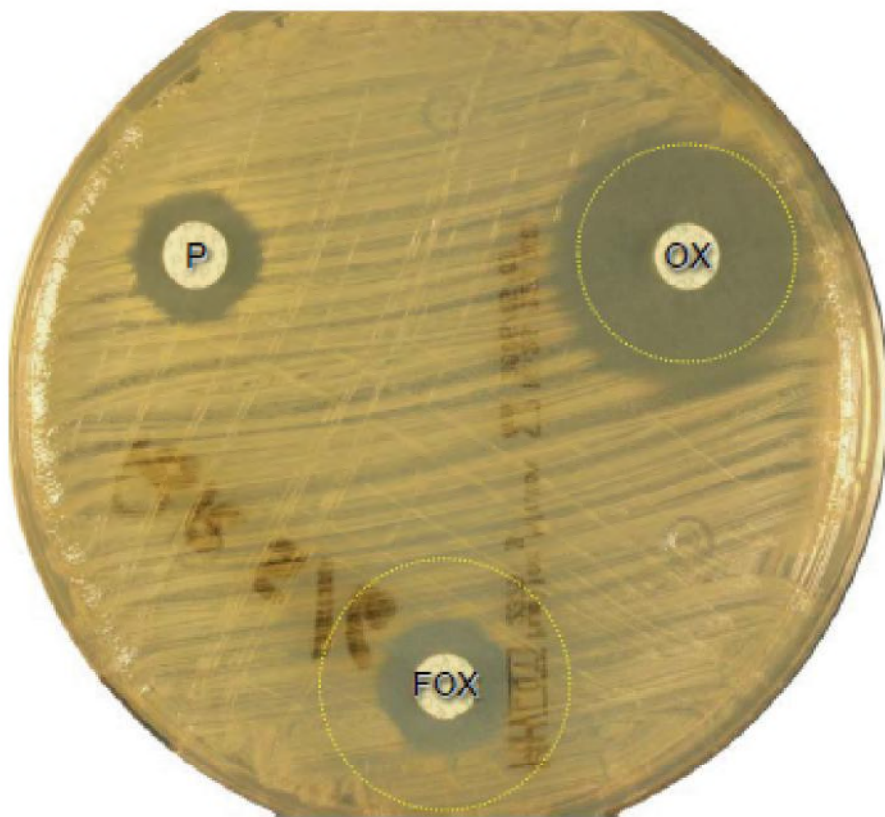
	Technique	Contrôle de qualité	Observation
Test à la cefoxitine (30µg)	-Antibiogramme -MH -0,5 Mc Farland	S.aureus ATCC 25923	Normes CLSI: S.aureus: R si ≤ 21mm SCN: R si ≤ 24mm
Screening test MRSA	-MH 4% NaCl -Oxacilline à 6µg/ml -0,5 Mc Farland -Ensemencement / spot	S.aureus ATCC 29213 S.aureus ATCC 43300 S.aureus ATCC 43866	Test peu reproductible pour les SCN
Recherche de la PLP2a	-Agglutination	Contrôle selon Kit	Technique rapide, recommandée en cas de diagnostic d'urgence et ou d'infection grave.
CMI à l'oxacilline	-MH 2% NaCl -0,5 Mc Farland	S.aureus ATCC 29213	Technique de référence Obligatoire pour la confirmation des SCN MetiR.
Recherche du gène mec A	PCR	Selon technique	Très sensible, rapide. Pas toujours une expression phénotypique





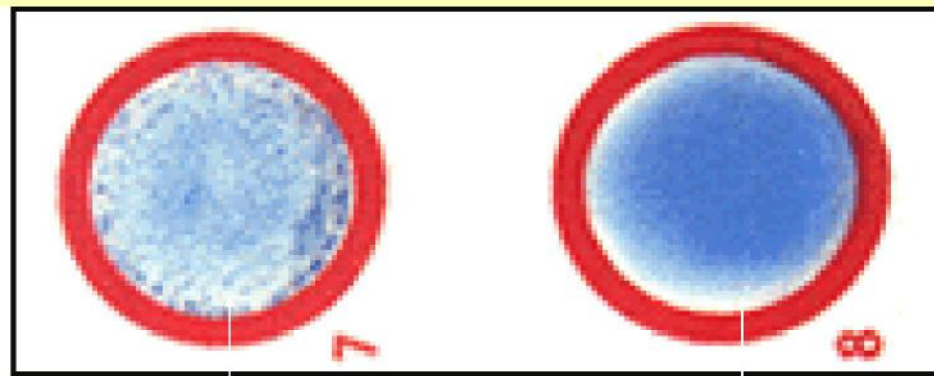
Résistance à la méticilline d'expression hétérogène





Recherche des MRSA

Recherche de la PLP2a



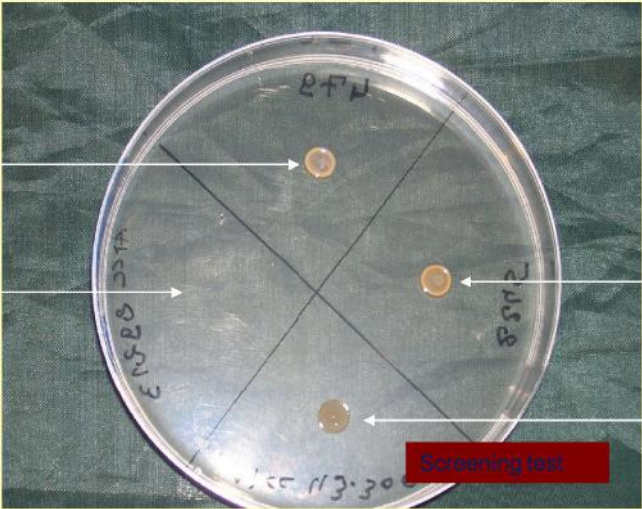
Souche MRSA +

Souche MRSA -

Recherche des MRSA screening test

Souche à tester

S.aureus ATCC 29213



S.aureus ATCC 43866

S.aureus ATCC 43300

D'autres mécanismes moins fréquents

- ❑ Hyperproduction de Pénicillinase (BORSA)
- ❑ Modifications de PLP (MODSA) à confirmer en testant des β -lactamines ayant une affinité pour différentes PLP : IMP , CTX, OXA , FOX

ATB à tester dans un objectif d'épidémiosurveillance

Molécules testées	Valeurs critiques
Gentamicine 10 µg	≤ 12 13-14 ≥ 15
Vancomycine 30 µg	--- --- ≥ 15

Détection de la sensibilité diminuée aux glycopeptides

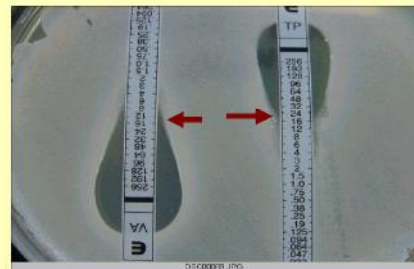
- Diamètre de Vancomycine (<15mm)
- Disque de Vancomycine INSUFFISANT
- Faire screening ou criblage

✓ BHI Agar + 6 µg/ml de Vancomycine + Spot de 0,5 MF de la souche (10µl).....seuil de positivité= 2 ou plus de 2 col

- Confirmer par CMI : faire E test de Vancomycine :
- S.aureus : ≤ 2 4-8 ≥ 16
- SCN : ≤ 8 16 ≥ 32

Utilisation de milieux plus riches : Expression de la résistance augmentée

- CLSI: Milieu gélosé BHI + 6 mg/L de vanco, ensemencé par 10 μ l d'une suspension à 0,5 McFarland, incubation 24h à $35^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Milieu gélosé cœur-cervelle, par ensemencement en nappe d'une suspension à 2 McFarland, et dépôt d'une bandelette E-test, incubation 24- 48h à 37°C .
- Milieu gélosé cœur-cervelle + 4 mg/L de vanco, par ensemencement en nappe d'un bouillon à 2 McFarland, et dépôt d'un disque d'oxacilline 1 μ g, incubation 48h à 37°C .



Phénotypes de Résistance chez les Staphylocoques

Staphylocoques et bêtalactamines

Phénotypes de résistance aux bêtalactamines

Mécanisme	Pénicilline G (Pénicilline A Carbox/ Uréido)	Amoxicilline + Acide clavulanique	Oxacilline	(Carbapénèmes Céphalosporines)
Phénotype sauvage	S	S	S	S
Pénicillinase (80%)	R	S	S	S
Méticillinorésist ance	R	R	R	R
BORSA (Souches borderline)	R	R	R	S
MODSA Modif. PLP (non 2a) Absence de Pase	S	S	R	S

Staphylocoques et aminosides

Phénotypes de résistance aux aminosides

Phenotype	Mécanisme	Kanamycine Amikacine	Tobramycine	Gentamicine
Sauvage	Inactivation enzymatique	S	S	S
K		R	S	S
KT		R	R	S
KTG		R	R	R

Staphylocoques et macrolides

Phénotypes de résistance aux macrolides

Mécanisme	Phénotype	Erythro Azithromycine	Clinda
Phénotype sauvage	Sensible	S	S
Modification de la cible	MLSbi	R	S
	MLSbc	R	R
Autres mécanismes (Enzymatiques, efflux)	Nécessitent de tester d'autres macrolides en plus		

S.aureus MLSb inducible



S.aureus MLSb constitutive



S.aureus

✂ **Quinolones**

- Si **R** Oflo (péflo) alors **R** à toutes les quinolones (Résistance croisée)

✂ **Macrolides**

- 90 % Sta Méti R sont **R** aux Macrolides

✂ **Bactrim** : 97 % *S.aureus* **Sensibles**

S.aureus

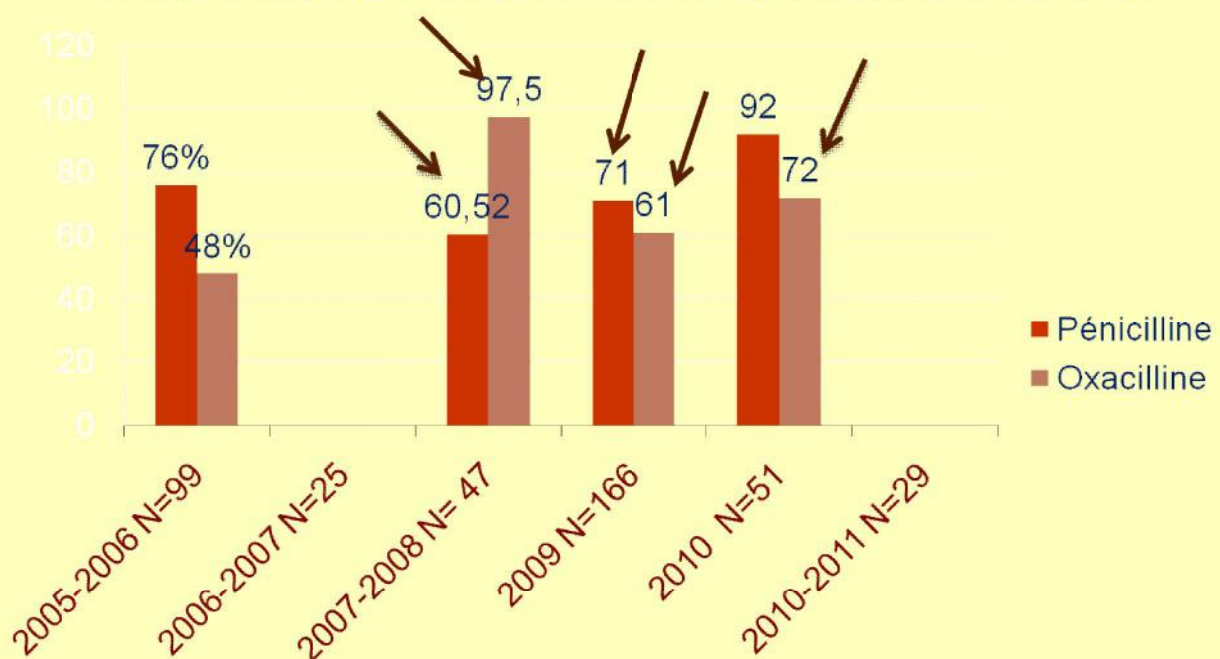
➤ Glycopeptides

≈ 98 % *S.aureus* Sensibles Vanco et Teico

➤ 1996 1^{ER} SARM Résistant Vanco (CMI ≥ 8 mg/l) / Japon

- VRSA ou VISA ou GISA
- hétéro-VISA (CMI = 4 mg/l)

Evolution des % R+I des Staphylocoques aux antibiotiques de 2005 à 2011 selon les laboratoires vétérinaires du réseau AARN



Evolution du %R+I des Staphylocoques aux Fluoroquinolones entre 2005 et 2011 – Laboratoires vétérinaires du réseau AARN



COMMENTAIRES

- Problème de disques ?
- Problème de lecture ?
- Problème d'interprétation ?
- Problème de saisie des données ?

**DES MESURES CORRECTIVES
S'IMPOSENT**