

# Après l'alphabet des *van* .... l'alphabet des *mec*

Frédéric LAURENT

Co-directeur, CNR Staphylocoques

Laboratoire de Bactériologie – Centre de Biologie Nord, HCL  
Unité INSERM U851 Equipe: Pathogénie bactérienne et immunité innée



**“CELBENIN”-RESISTANT STAPHYLOCOCCI**

The history of the antibiotic treatment of staphylococcal infections is a tribute to the ability of *Staph. aureus* to develop resistant strains to one drug after another. Originally all but a few strains were sensitive to penicillin, but this happy state did not last long. ....



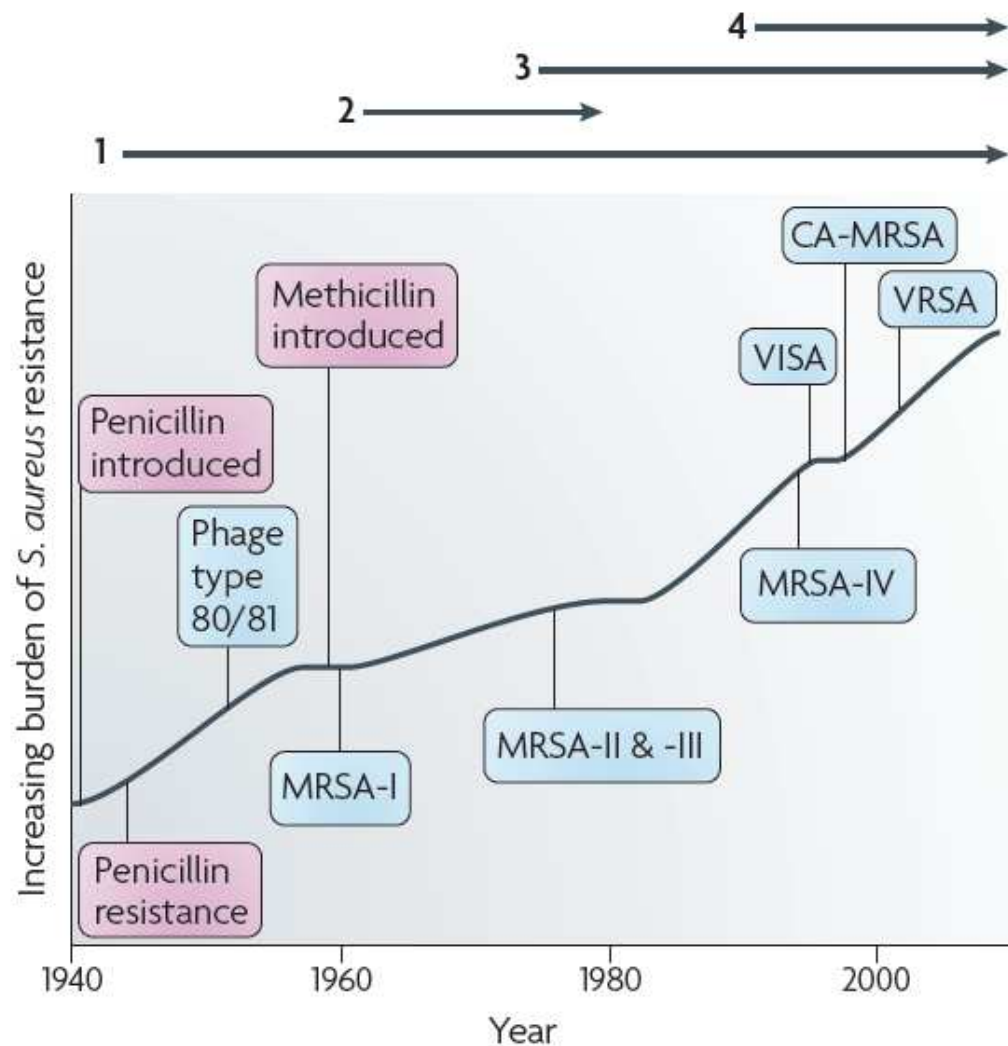
It is well known that patients with infected skin can be dangerous sources of infection in hospitals, and the finding of just such a patient infected with a celbenin-resistant strain in this instance adds an additional warning.—I am, etc.,

M. PATRICIA JEVONS.

Staphylococcus Reference Laboratory,  
Colindale, London N.W.9.

Publication de la première souche de SARM *mecA*+

# *S. aureus*: plusieurs vagues de résistance ....au final un véritable tsunami



.... une nouvelle vague ???

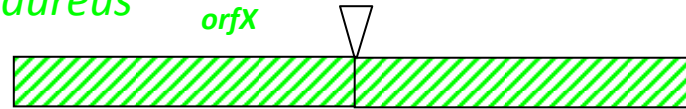
# SCCmec story

Cassette SCCmec



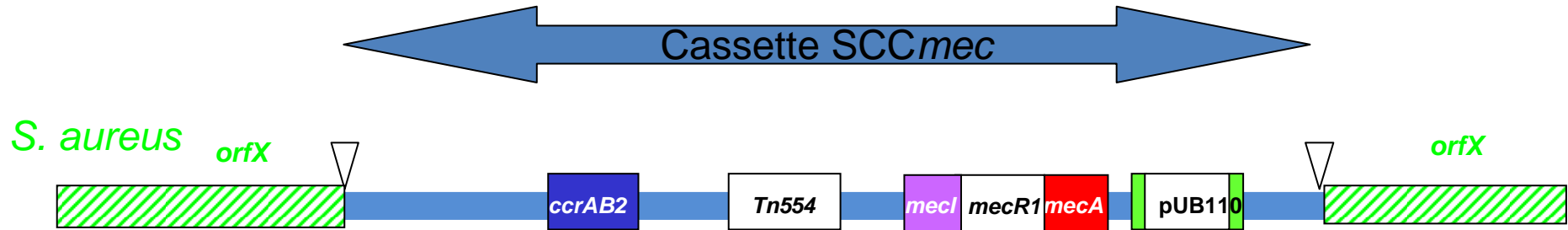
*S. aureus*

*orfX*



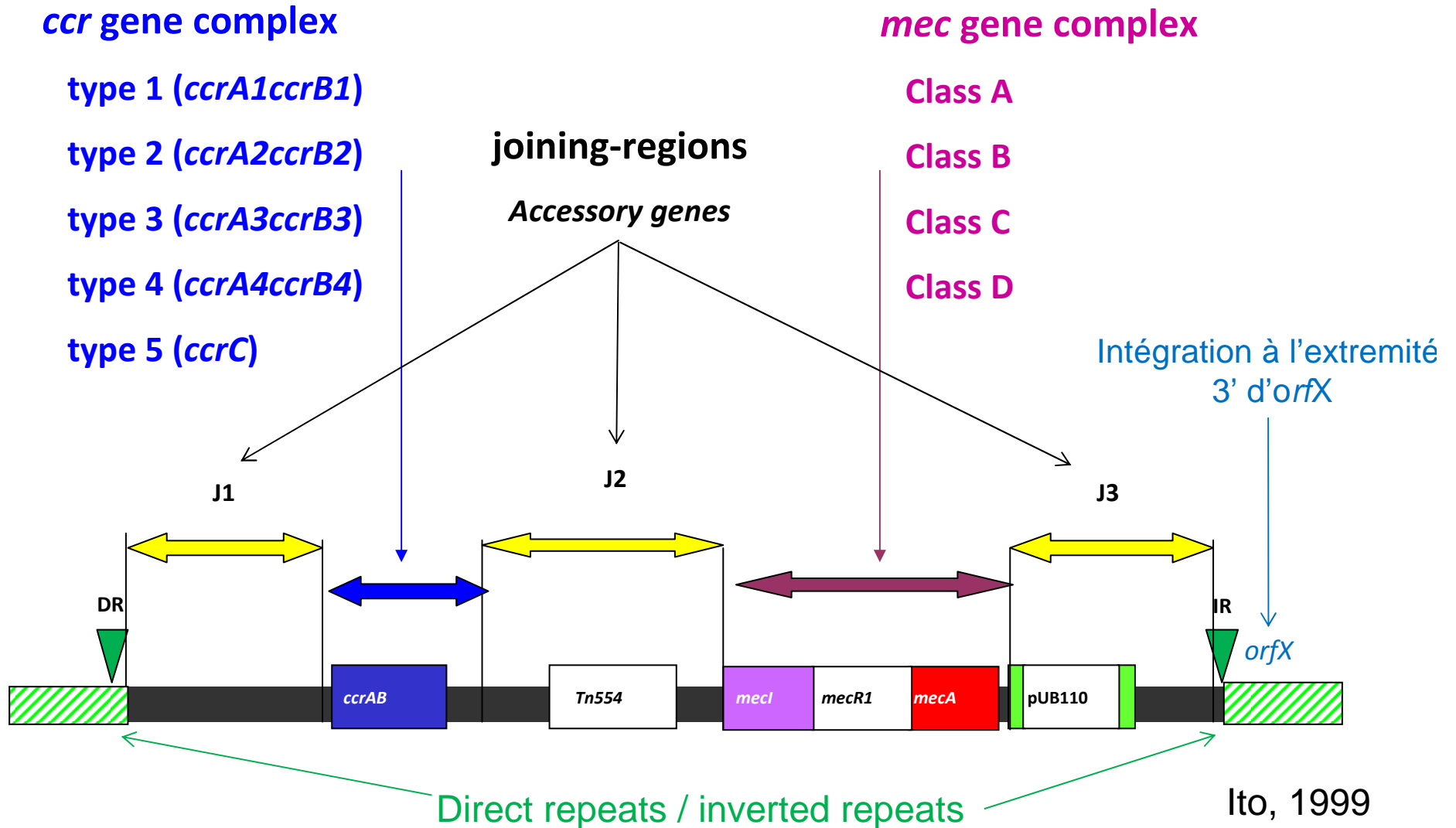
**SASM**

# SCCmec story



**SARM**

# SCC*mec* story



# SCC*mec* story

Table 2 | **Comparison of staphylococcal chromosome cassette *mec* allotypes**

Feature*	SCC <i>mec</i> allotype							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Size (kb)	34	53	67	21–24	28	24	41–49	32
<i>mec</i> complex	B	A	A	B	C2	B	C1 or C2	A
<i>ccr</i> complex	A1 and B1	A2 and B2	A3 and B3	A2 and B2	C	A4 and B4	C2 and C8	A4 and B4
IS431 (n)	1	2	4	1	2	1	1	1
Tn554 (n)	0	1	2	0	0	0	0	1
pUB110	–	+	–	–	–	–	–	–
pT181	–	–	+	–	–	–	–	–
pl258	–	–	+	–	–	–	–	–
Other resistance genes	None	<i>erm</i> , <i>spc</i> and <i>tobra</i>	<i>erm</i> , <i>tet</i> and Hg <sup>++</sup>	None	None	None	None	<i>erm</i> and <i>spc</i>

# SCC*mec* story

Depuis 30 ans ....

PCR *mecA* !

Nature des complexes *mec* ?

Nature des cassettes ?

Taille des cassettes ?

Quelles techniques ?

Types de recombinaisons ?

Quelle nomenclature ?

On commençait un peu à s'ennuyer ...



# Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study

Laura García-Álvarez, Matthew T G Holden, Heather Lindsay, Cerian R Webb, Derek F J Brown, Martin D Curran, Enid Walpole, Karen Brooks, Derek J Pickard, Christopher Teale, Julian Parkhill, Stephen D Bentley, Giles F Edwards, E Kirsty Girvan, Angela M Kearns, Bruno Pichon, Robert L R Hill, Anders Rhod Larsen, Robert L Skov, Sharon J Peacock, Duncan J Maskell, Mark A Holmes

The Lancet Infectious Diseases, [Volume 11, Issue 8](#), Pages 595 - 603, August 2011

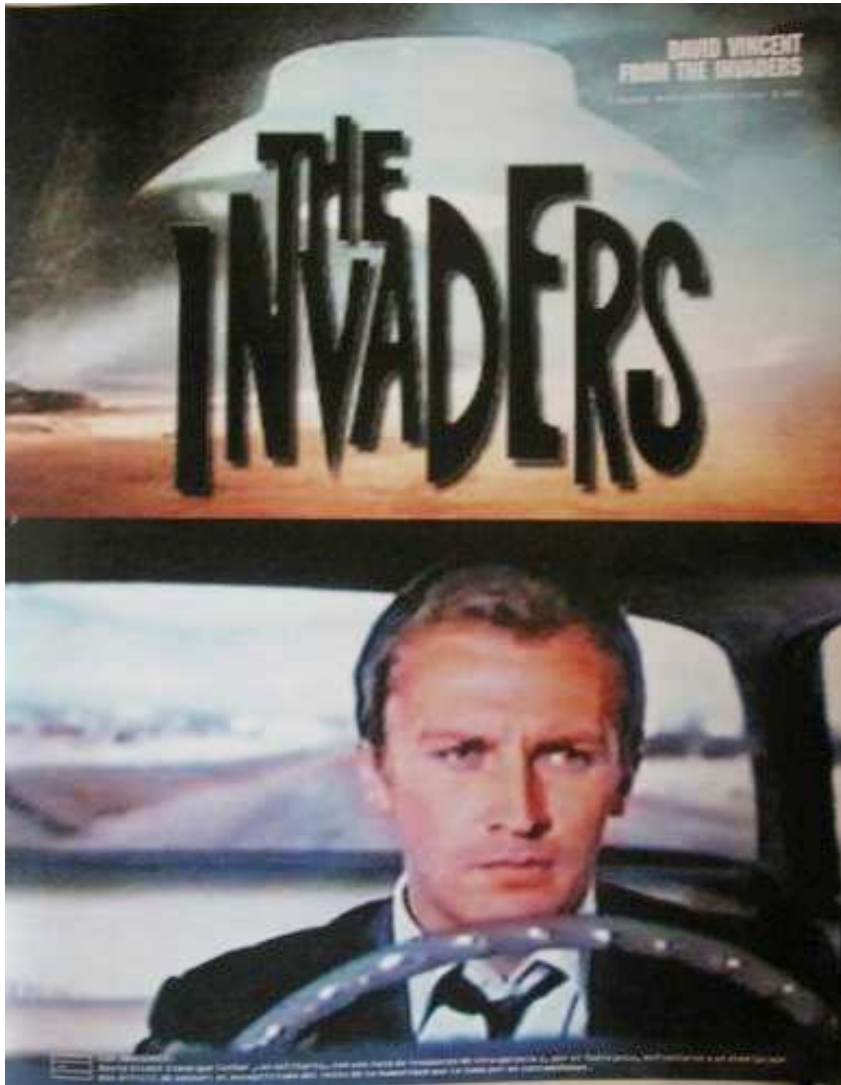


ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Aug. 2011, p. 3765–3773  
0066-4804/11/\$12.00 doi:10.1128/AAC.00187-11  
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

## Detection of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Type XI Carrying Highly Divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* Genes in Human Clinical Isolates of Clonal Complex 130 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*<sup>▽†</sup>

Anna C. Shore,<sup>1</sup> Emily C. Deasy,<sup>1</sup> Peter Slickers,<sup>2</sup> Grainne Brennan,<sup>3</sup> Brian O’Connell,<sup>3,4</sup> Stefan Monecke,<sup>5</sup> Ralf Ehrlich,<sup>2</sup> and David C. Coleman<sup>1\*</sup>

Microbiology Research Unit, Dublin Dental University Hospital, University of Dublin, Trinity College Dublin, Dublin, Ireland<sup>1</sup>; Alere Technologies GmbH, Jena, Germany<sup>2</sup>; National MRSA Reference Laboratory, St. James’s Hospital, James’s St., Dublin 8, Ireland<sup>3</sup>; Department of Clinical Microbiology, University of Dublin, Trinity College Dublin, St. James’s Hospital, James’s St., Dublin 8, Ireland<sup>4</sup>; and Institute for Medical Microbiology and Hygiene, Faculty of Medicine Carl Gustav Carus, Technical University of Dresden, Dresden, Germany<sup>5</sup>



Roy David VINCENT



Mark HOLMES  
Veterinary School Cambridge

## Après l'alphabet des *van*... l'alphabet des *mec*

Comme David Vincent, Mark Holmes les a vu. ☒ Pour lui, tout a commencé **non pas** "par une nuit sombre, le long d'une route solitaire de campagne, alors qu'il cherchait un raccourci qu'il ne trouva jamais"

**mais** par l'isolement d'une souche (LGA251) de **SARM multisensible** dans du lait provenant du Sud Ouest de l'Angleterre et d'un gène *mecA* qu'il ne trouva jamais.

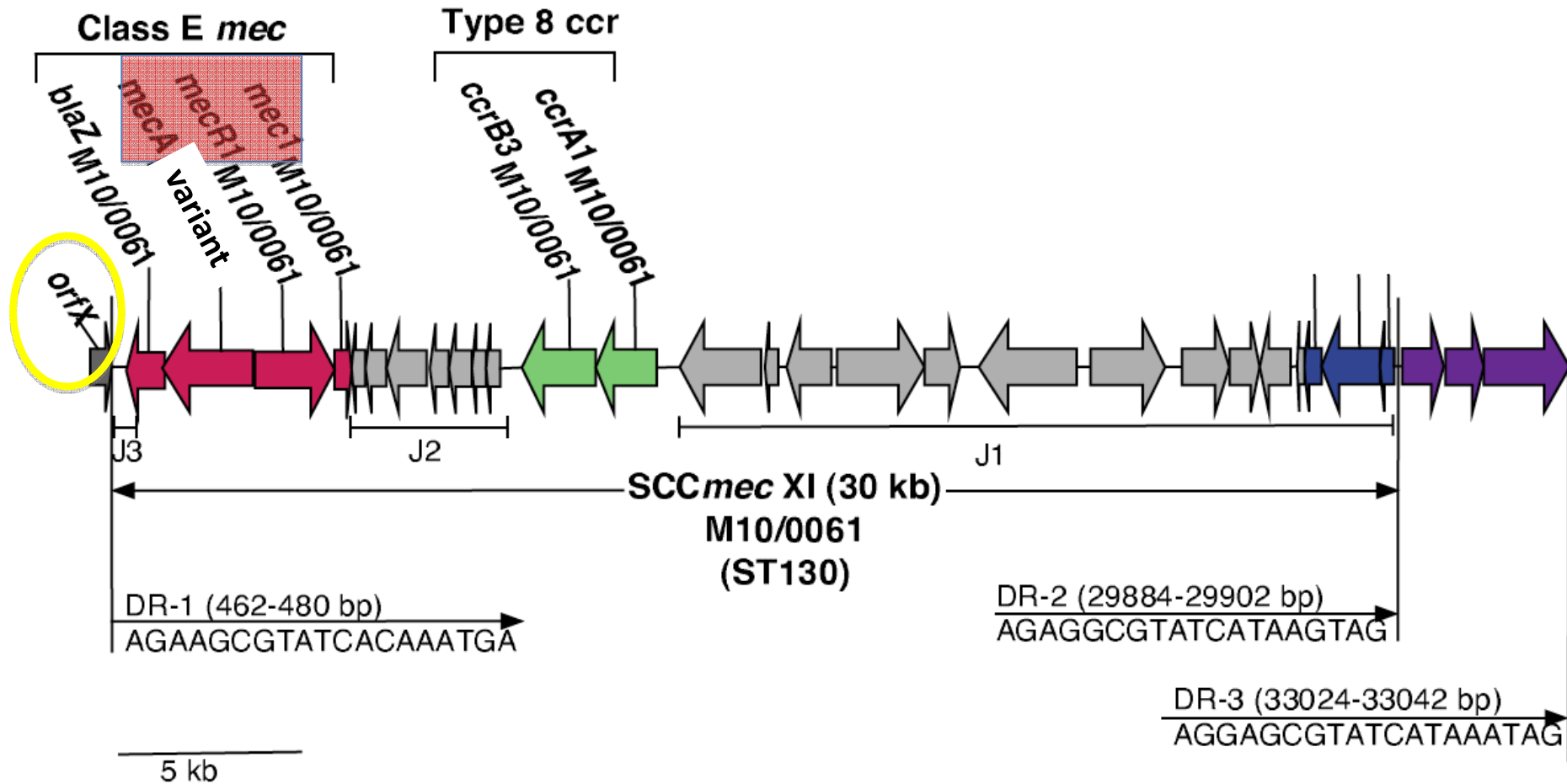
Cela a commencé par l'étude de 940 souches isolées de lait de vaches présentant des mastites provenant de 465 élevages et par l'identification 24 **SARM multiS** toutes *mecA*-, et par quelques souches humaines retrouvées avec le même phénotype dans la même région.

Cela a commencé par la démonstration, que ce n'était ni des BORSA, ni des MODSA

Maintenant Mark Holmes savait que de nouveaux *S. aureus* étaient là, qu'ils avaient pris forme de SARM et qu'il lui fallait convaincre un monde incrédule (qui ne s'intéresse pas à ces posters dans les congrès) que la dissémination a peut être déjà commencé !"

**séquençage complet de la souche LGA251  
au Sanger Institut de Cambridge ...**

# SARM: un nouveau *mec* dans sa vie ! .... et une nouvelle cassette



*mecA* LGA251: 70% d'homologie avec *mecA*

PLP2a LGA 251: 63% d'homologie avec PLP2a

# Vous avez aimé *mecA*... vous aimerez *mecC*!

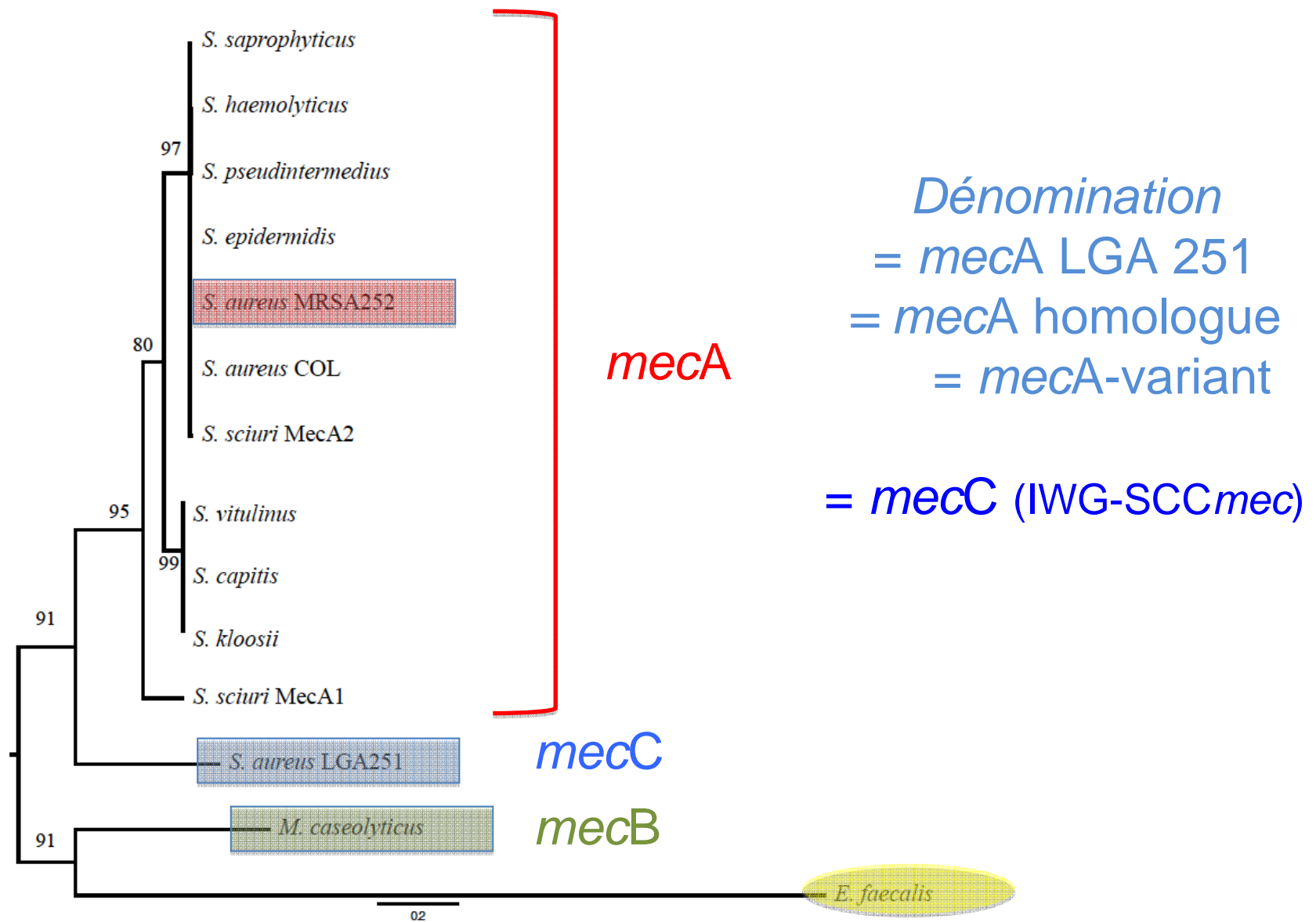
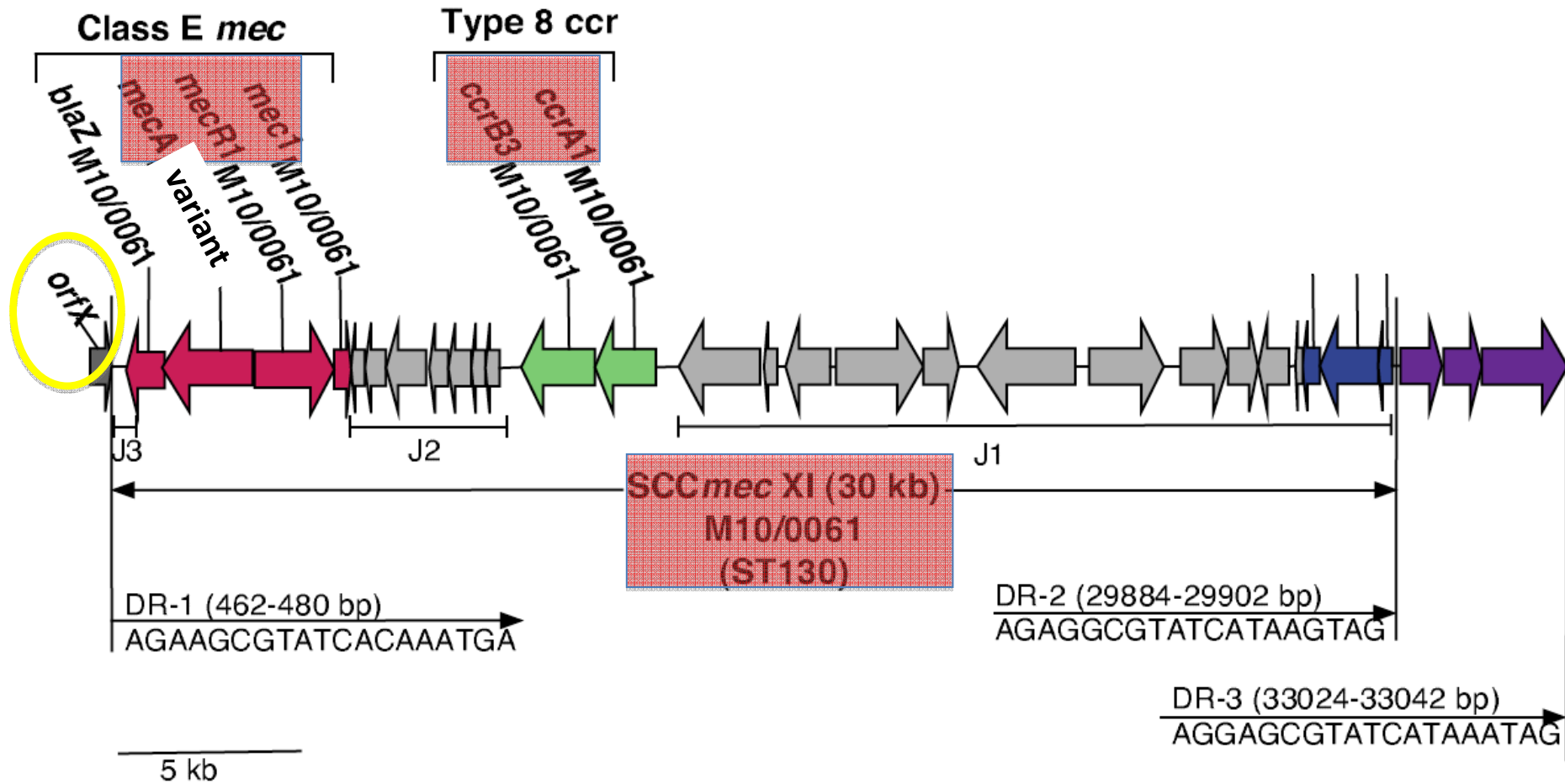
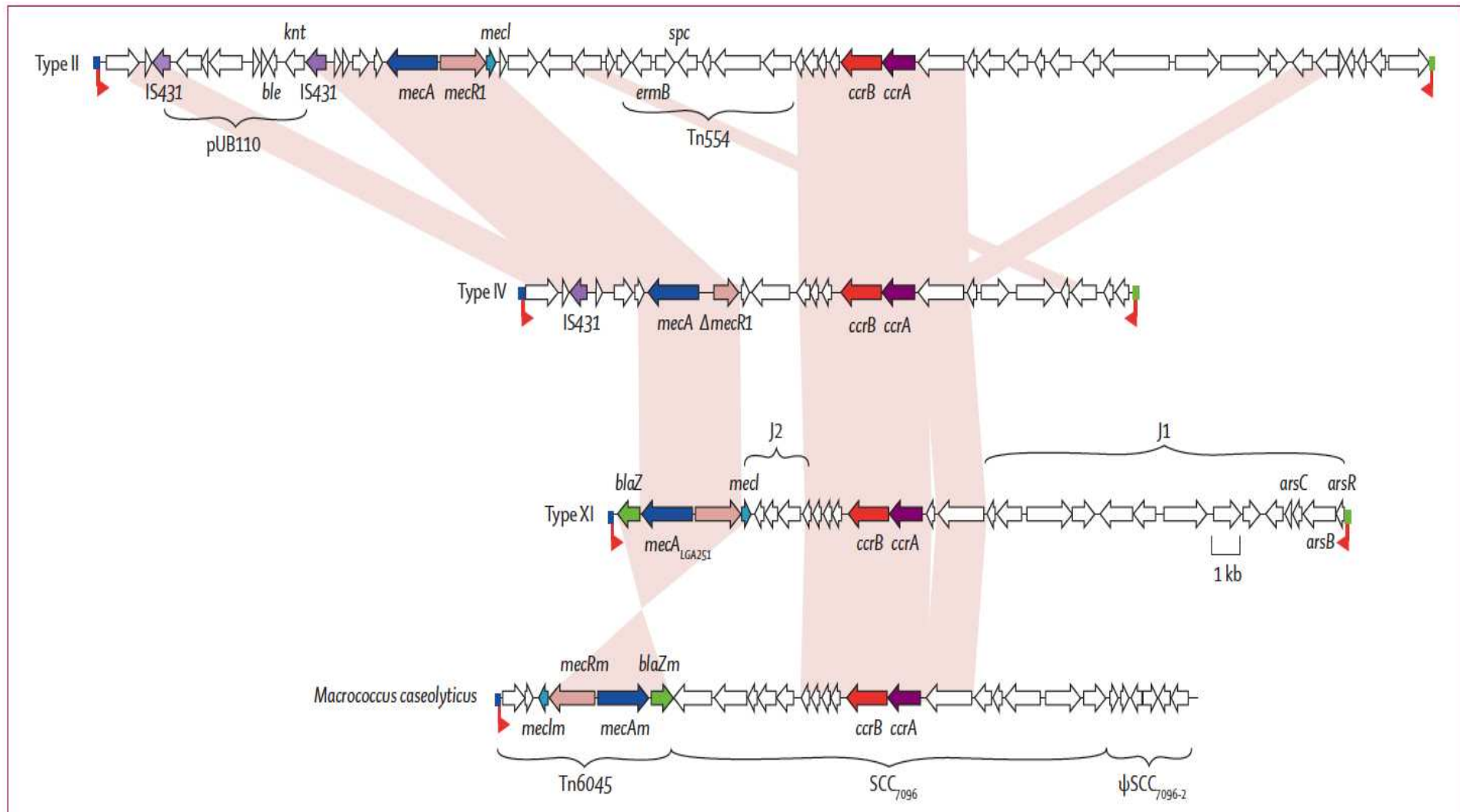


Figure S3: Phylogenetic relationships of MecA homologues.

# SARM: un nouveau *mec* dans sa vie ! .... et une nouvelle cassette



# SARM: un nouveau *mec* dans sa vie ! .... et une nouvelle cassette



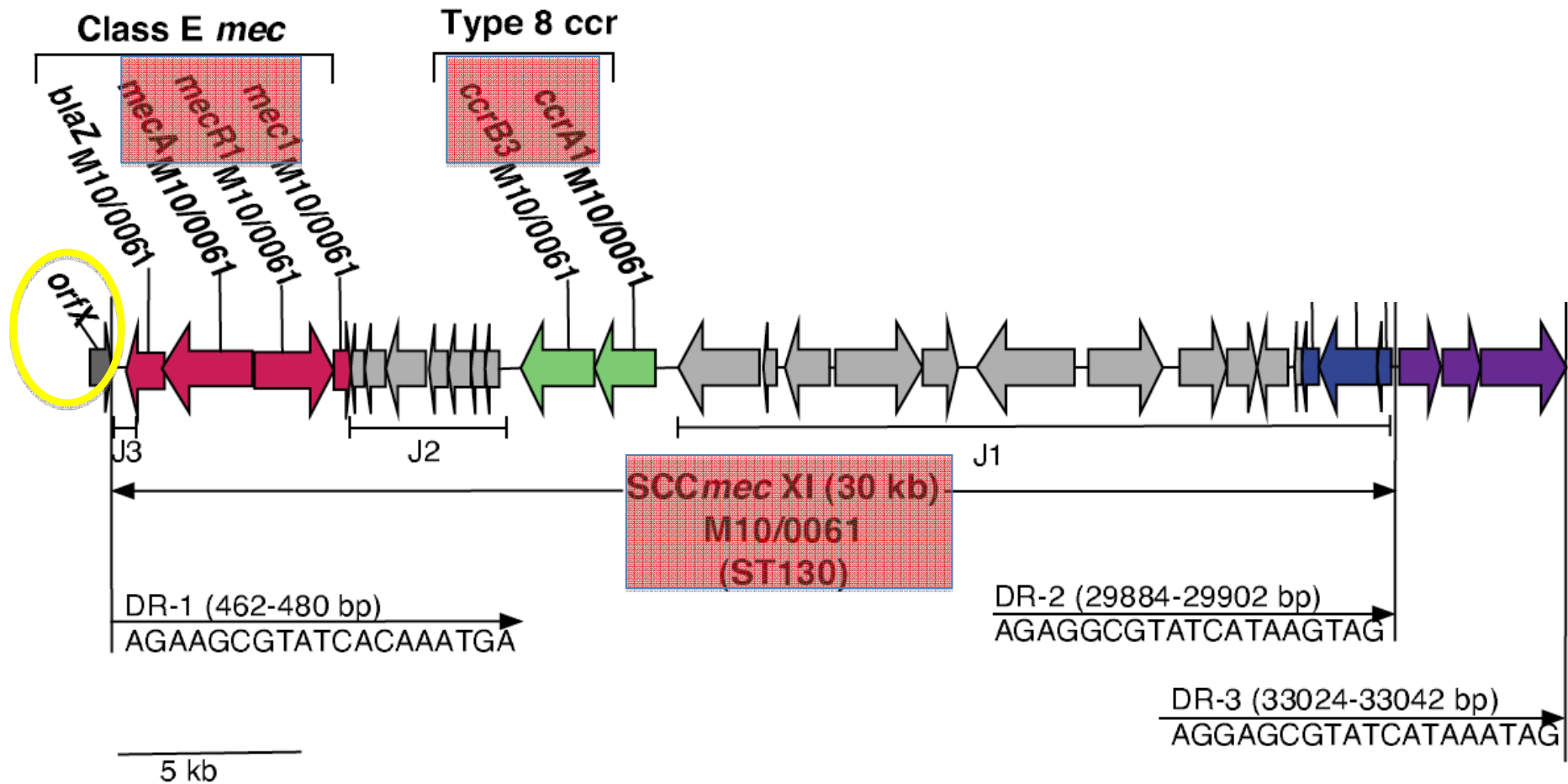
# Vous avez aimé *mecA*... vous aimerez *mecC*!

LGA251	170	AAGAAATTGTAGATAGGAATAAAAAATTTACAAGATTTA	210	12/25
Perez-Roth 2001		-----GTAGAAATGACTGAACGTCCGATAA-----		
MRSA252	170	ATGGTGAAGTAGAAATGACTGAACGTCCGATAAAAATATAT	210	25/25
LGA251	1286	GGCAAAAAGATGCATCATGGGGAAATTATAATATCACAAGA	1326	13/21
Poulsen 2003		-----GGGATCATAGCGTCATTATTC-----		
MRSA252	370	AAGTTAGATTGGGATCATAGCGTCATTATTCAGGAATGCA	410	21/21
LGA251	1032	TACAGCATTACAACCAAAACTGGAGAAATT	1062	7/21
Kondo 2007		----TGCTATCCACCCTCAAACAGG-----		
MRSA252	1040	GTACTGCTATCCACCCTCAAACAGGTGAATT	1070	21/21
LGA251	1171	AAATTTCAAATCACTACATCACCAGGTTCAA	1201	17/22
Oliveira 2002		----TCCAGATTACAACCTCACCAGG-----		
MRSA252	1180	AAGTTCCAGATTACAACCTCACCAGGTTCAA	1210	22/22
LGA251	1611	TAACGGAAATATACAAAATCCTCATGTTTTTA	1641	12/20
McDonald 2005		----GGCAATATTACCGCACCTCA-----		
MRSA252	1620	TAATGGCAATATTAACGCACCTCACTTATTA	1650	19/20
LGA251	1181	TCACTACATCACCAGGTTCAACCCAAAAAAT	1211	20/20
Garcia-Alvarez		-----TCACCAGGTTCAACYCAAAA----		
MRSA252	1190	TTACAACCTCACCAGGTTCAACTCAAAAAAAT	1220	20/20

PCR *mecA* classique  
négative

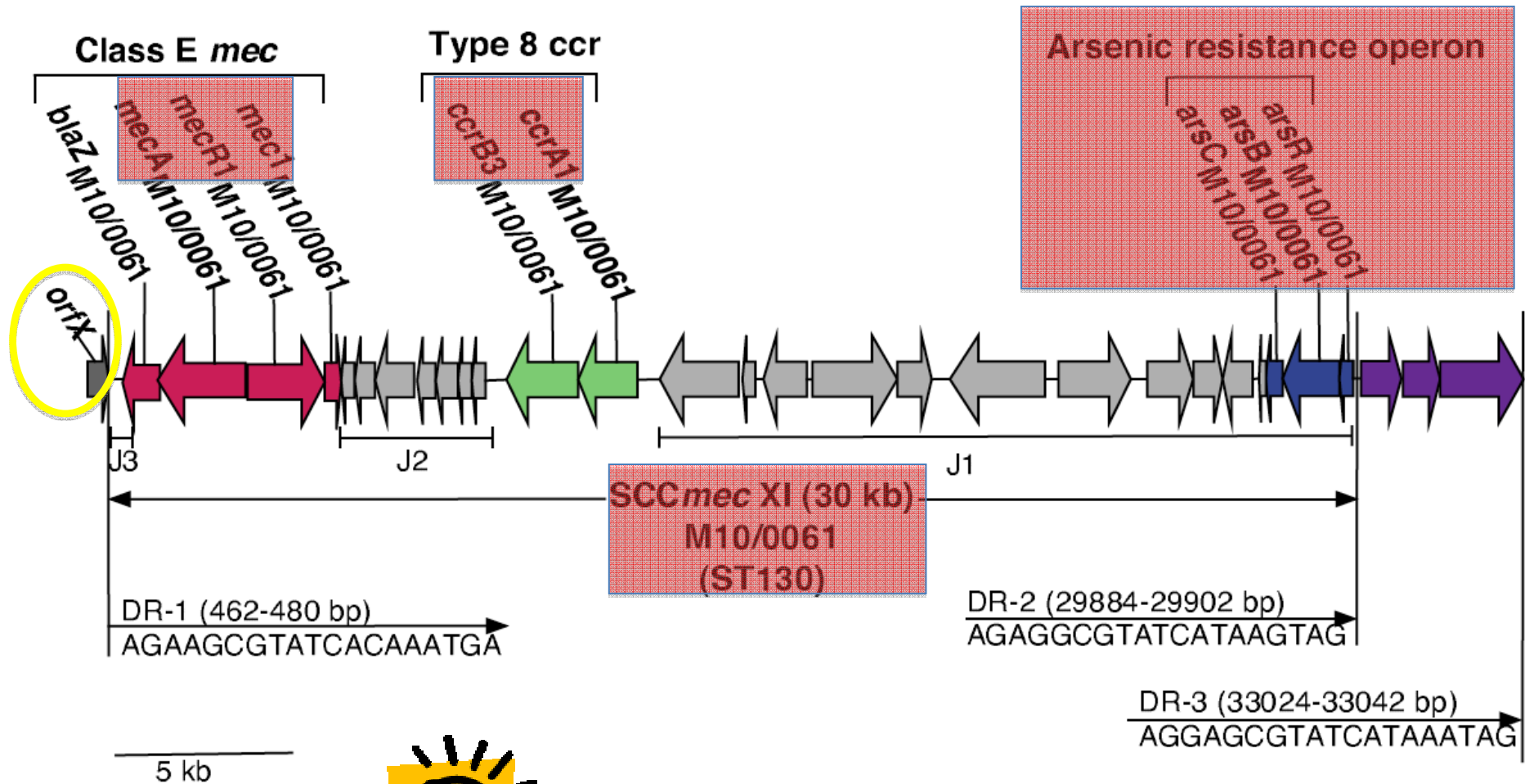


# SARM: un nouveau *mec* dans sa vie ! .... et une nouvelle cassette



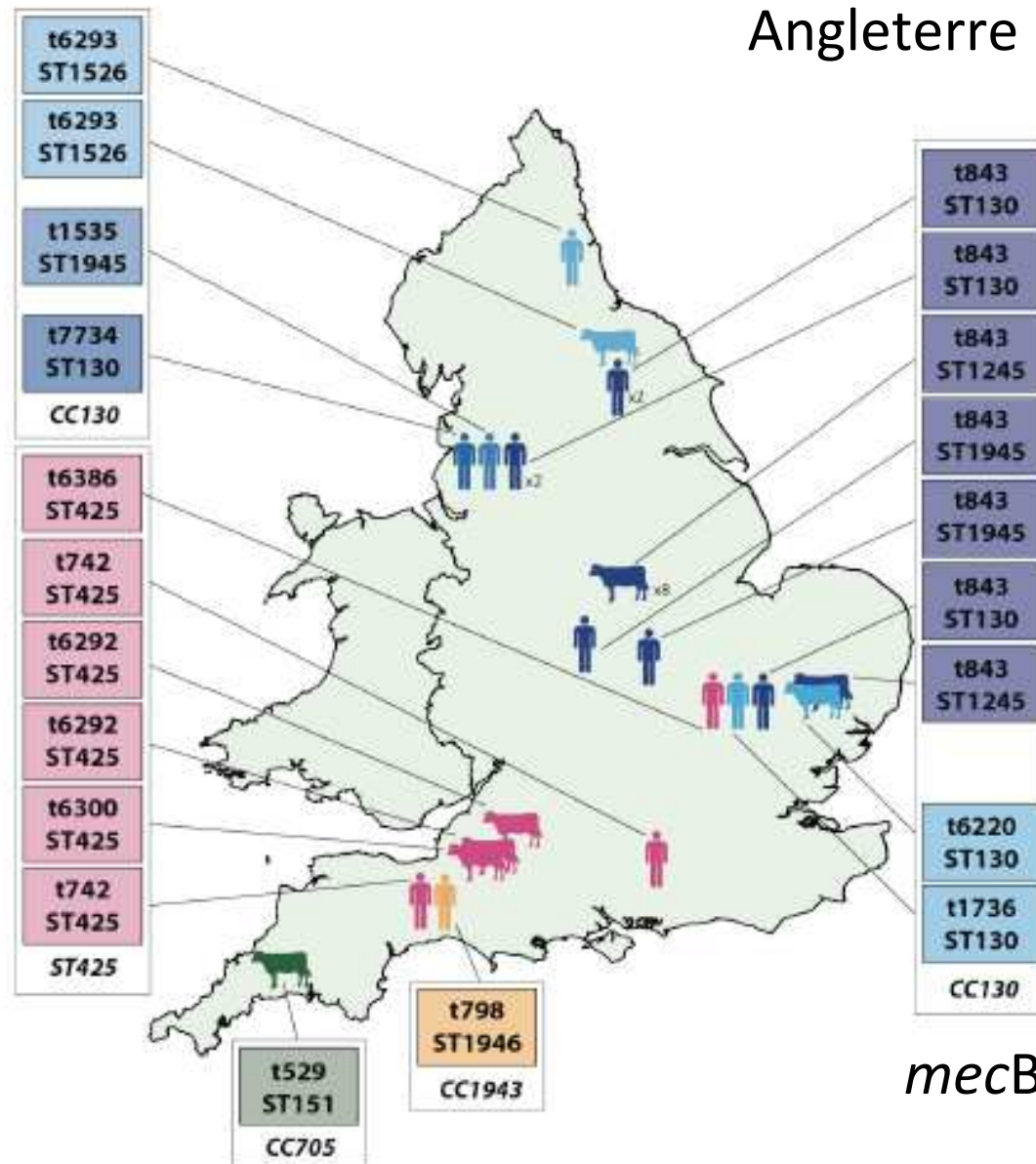
Origine : Cocci Gram + environnement et sols ?

# SARM: un nouveau *mec* dans sa vie ! .... et une nouvelle cassette



SARM multi-sensible !

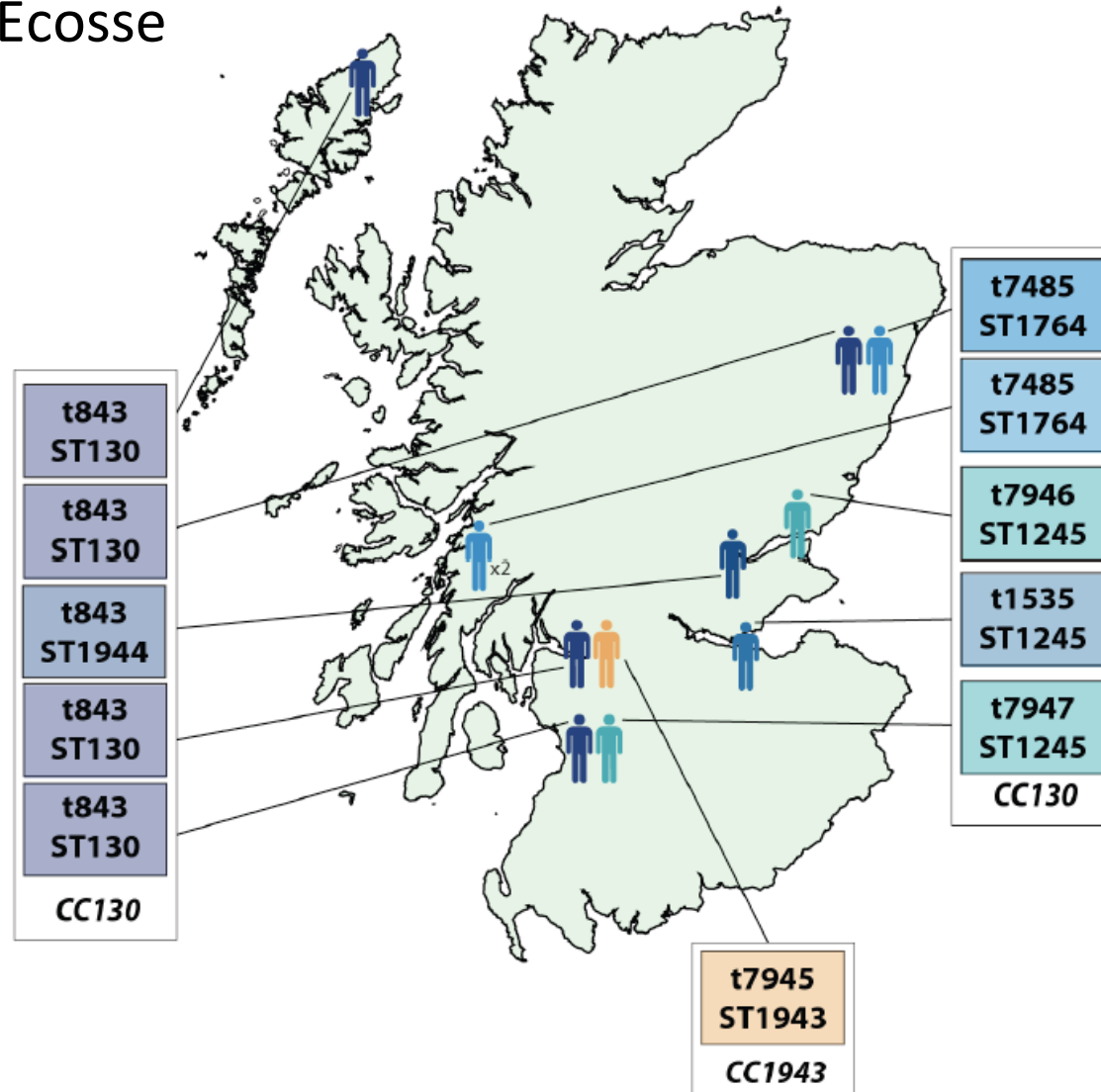
# Nouveau variant *mec* : distribution géographique



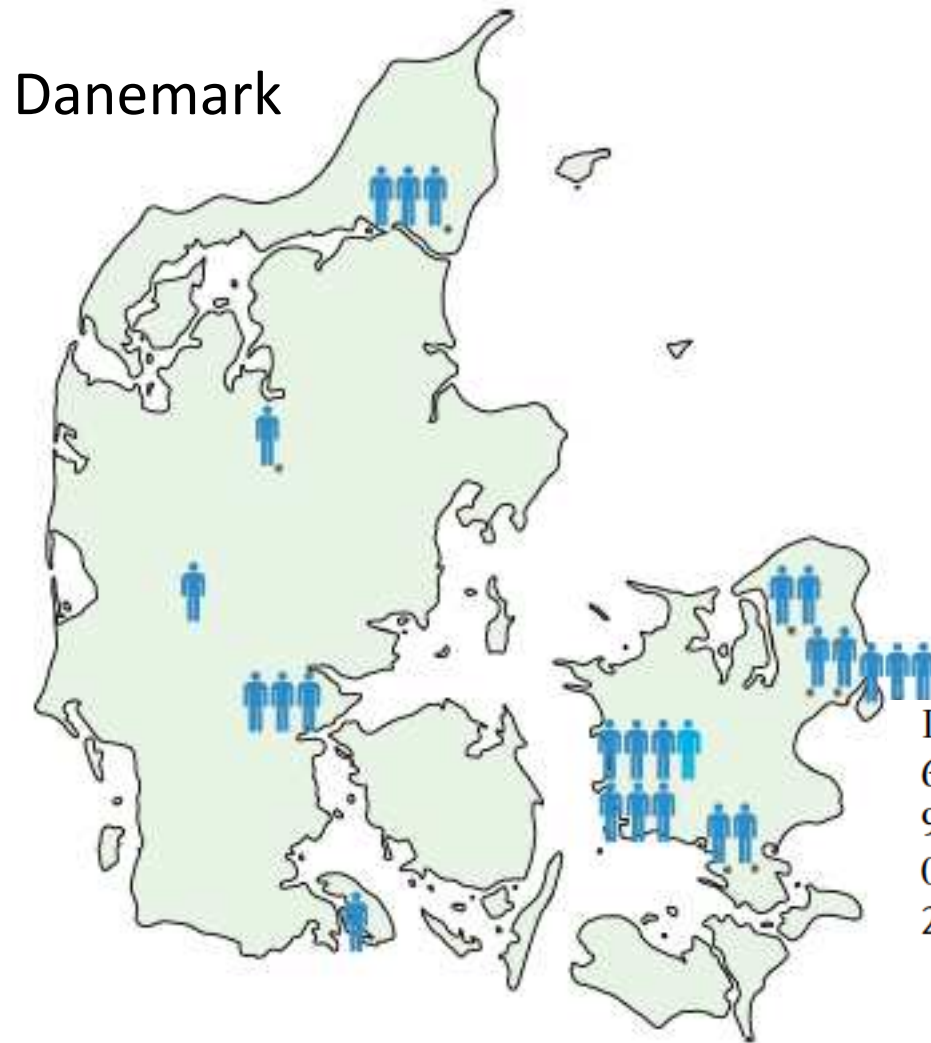
*mecB* : plusieurs fonds génétiques animaux et Homme

# Nouveau variant *mec* : distribution géographique

Ecosse



# Nouveau variant *mec* : distribution géographique



In the Danish isolates *mecA*<sub>LGA251</sub> was detected in none of 678 isolates in 2007, one of 857 isolates in 2008 (0.12%, 95% CI 0–0.35%), four of 817 isolates in 2009 (0.49%, 0.01–0.97), and 13 of 1090 isolates (0.67%, 0.61–1.95) in 2010 (trend for increase:  $p=0.0002$ ).

Souche la plus ancienne = 1975

Juillet 2011 – Novembre 2011

PCR *mecB* en routine : 5% des souches *mecB*+

# Vous avez aimé *mecA* ... Vous aimerez *mecB*! *mecC* : Le Buzzzzzz en Juin 2011 .... juste derrière l'affaire DSK

The screenshot shows a news website with a red header for BBC Mobile. The main content area features a large article titled "Discovery Of New MRSA Strain In Milk" with a sub-headline "Discovery of new MRSA strain in milk". The article text discusses the discovery of a new strain of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in milk from dairy cows and in humans. It mentions that the findings were published in the journal The Lancet Infectious Diseases. A photograph of a cow is included in the article. The website also features a navigation menu with categories like "MEETING COVERAGE", "NEWS BY SPECIALTY", and "BLOGS". A sidebar on the left contains a smaller article snippet about MRSA in British cows. The bottom of the page includes a "Member area" section with links for "About us", "Become a member", and "BVA activity and advice".

**Discovery Of New MRSA Strain In Milk**

Discovery of new MRSA strain in milk

03 June 2011

A new strain of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) has been discovered by scientists at the University of Cambridge Veterinary School. The findings are published today in the journal The Lancet Infectious Diseases.

The new strain has been identified in milk from dairy cows and in humans. It had not previously been detected because its genetic makeup differs from previous strains and the 'gold standard' molecular tests currently used to identify MRSA do not detect this strain.

Commenting, Professor Bill Reilly, Past President of the BVA, said:

"This is a very interesting piece of work, which illustrates the complexity of antimicrobial resistance.

"This is the first time this unusual MRSA strain has been found in milk but the research does not indicate where the organism originated – in humans or in cows. The research does also indicate that this strain was present in humans as long ago as 1975. The authors acknowledge that more research is required to investigate the epidemiology of the spread of

**Member area**

- About us
- Become a member
- BVA activity and advice
- BVA overseas
- Newsroom

**News releases**

- News releases 2011
- News releases 2010
- News releases 2009
- News releases 2008
- News releases 2007
- News releases 2006
- News releases 2005
- News releases 2004
- News releases 2003
- News releases 2002
- News releases 2001

BVA e-news  
Press office contacts  
BVA spokespeople  
FAQs for journalists

**Newsletter**

Subscribe to BVA eNews: Dont miss out on the latest news and offers.

View previous newsletters and our privacy policy.

# Vous avez aimé *mecA* ... Vous aimerez *mecB*!

The screenshot shows the Le Point.fr website interface. At the top, there's a navigation bar with categories like ACTUALITÉ, Débatte, POLITIQUE, ÉCONOMIE, TECH & NET, SANTÉ, CULTURE, and ART DE VIVRE. A search bar is present with the text "Rechercher sur le site". Below the navigation, there's a main article titled "Une souche de staphylocoque doré détectée chez la vache et l'homme" with a sub-headline "Une nouvelle souche de staphylocoque doré a été découverte chez des vaches laitières et chez l'homme, au Royaume-Uni et au Danemark, selon une étude publiée vendredi dans la revue britannique 'The Lancet Infectious Diseases'". The article text discusses the discovery of a SARM (Staphylococcus aureus resistant to methicillin) strain and its potential public health implications. To the right, there's a "PUBLICITÉ" section with several news snippets from "24 heures" and "Tribune de Genève".

30 août 2011 | Mise à jour 22h20

**Le Point.fr** Rechercher sur le site

EN CONTINU  
→ 24h d'info  
→ Flux RSS  
→ Mobile  
→ Newsletter

LE MAGAZINE  
→ Sommaire  
→ Abonnement  
→ Edition digitale  
→ Nos publications

LES SERVICES  
→ Météo  
→ Bourse  
→ Jeux-Concours

Bell & Ross

ACTUALITÉ | **Débatte** | POLITIQUE | ÉCONOMIE | TECH & NET | **SANTÉ** | CULTURE | ART DE VIVRE | Vidéos | Diaporamas

Santé | Palmarès des 100

Cette semaine | Archives | Events | Rencontres | Boutiques | Voyages-lecteurs | Contactez-nous | Abonnement | Publicité

Mot(s) - cle(s) Go

**SANTÉ** | RSS Saï

Le Point.fr - Publié le 02/06/2011

Une nouvelle découverte  
La bactérie, détectée chez la vache et l'homme

ACTUALITÉ | DOSSIERS

Une nouvelle souche de staphylocoque doré

J'aime Envoyer

Commentaires (5)

À ne pas manquer  
Ces cochenilles asiatiques qui envahissent l'Europe

HOME > SCIENCES

Une souche de staphylocoque doré et l'homme

Par ats - Mis à jour le 30 août 2011, 02h33

**Une souche de staphylocoque doré détectée chez la vache et l'homme**

ats - 03. juin 2011, 02h33

Une nouvelle souche de staphylocoque doré a été découverte chez des vaches laitières et chez l'homme, au Royaume-Uni et au Danemark, selon une étude publiée vendredi dans la revue britannique "The Lancet Infectious Diseases". Résistante à l'antibiotique, elle n'est pas détectable par le test de dépistage habituel.

Cette nouvelle souche de SARM (Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline) "pose potentiellement un problème de santé publique", a souligné Mark Holmes, spécialiste en médecine vétérinaire à l'Université de Cambridge, lors d'une conférence de presse jeudi à Londres.

Non pas parce qu'elle a été détectée dans du lait de vache: la pasteurisation tue la bactérie et il n'y a quasiment aucun risque de contamination humaine par la nourriture, a-t-il souligné. "Boire du lait ou manger de la viande ne présente pas de risques en termes de santé", a-t-il assuré "à condition que le lait soit pasteurisé".

La véritable inquiétude provient du fait que le test génétique de dépistage couramment utilisé (PCR ou réaction en chaîne par polymérase) ne permet pas d'identifier que la nouvelle souche est résistante à la méthicilline.

**24 heures**  
Après le passage d'Irène, des milliers d'Américains restent coupés du monde  
30 août 2011, 19:39

Factures impayées: la ville fixe un ultimatum à NE Xamax  
30 août 2011, 19:25

Le jackpot tombe sur une autoroute des Pays-Bas  
30 août 2011, 18:54

Les dettes de la Confédération lui font gagner de l'argent!  
30 août 2011, 18:36

La réforme policière vaudoise passe le premier obstacle au Grand Conseil  
30 août 2011, 18:15

L'Algérie décide de fermer partiellement sa frontière avec la Libye  
30 août 2011, 18:14

**Tribune de Genève**  
Strauss-Kahn va rentrer en France un de ces prochains jours  
30 août 2011, 18:02

Après le passage d'Irène, des milliers d'Américains restent coupés du monde  
30 août 2011, 18:39





# United Kingdom & Ireland

Human – CC130, ST425, CC1943

Cattle – CC130, ST425

Dog – CC130

Chaffinch – CC130

Harbour seal – CC130

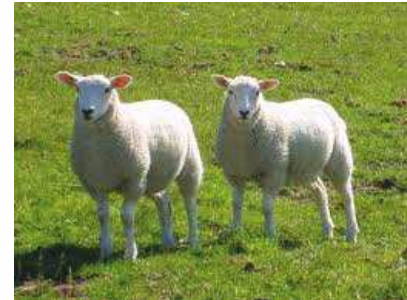


# Denmark

Human – CC130, CC1943

Cattle – CC130

Sheep – CC130



# Belgium

Rabbits – ST425

Rats – CC49



# Germany

Humans – CC130  
Cows – CC130  
Sheep – CC130  
Rats – CC130  
Cats – CC130, CC599  
Dogs – CC599  
Guinea Pig – CC130  
Roe Deer – CC130  
Horse – CC130

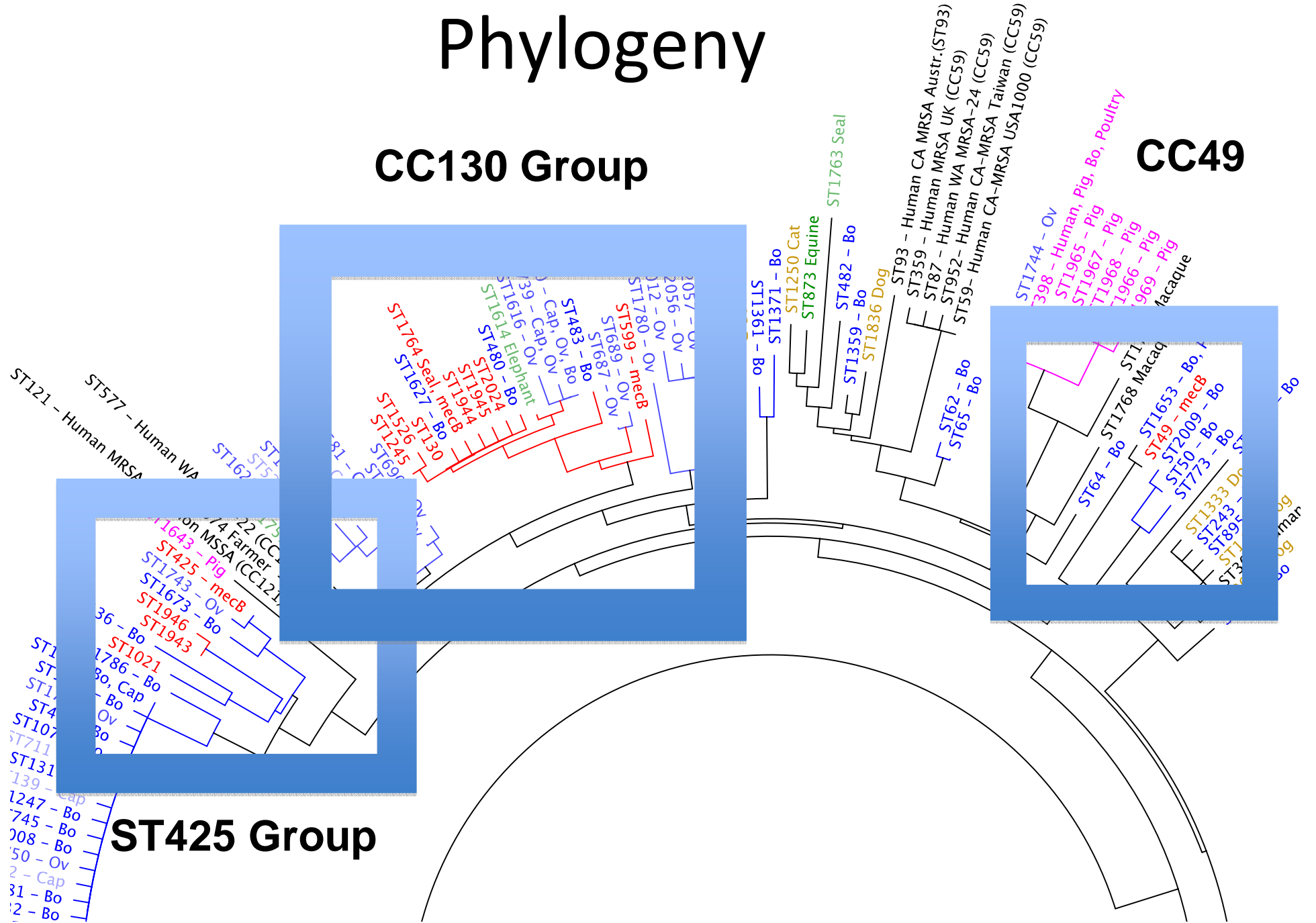


	CC130	CC599	ST425	CC1943	New ST	CC49
Human	✓		✓	✓	✓	✓
Cattle	✓		✓			
Sheep	✓					
Rat		✓				✓
Cat	✓	✓				
Dog	✓	✓				
Horse	✓					
G Pig	✓					
Deer	✓					
Seal	✓					
Finch	✓					
Rabbit			✓			
Pig						✓
Squirrel						✓

# Phylogeny

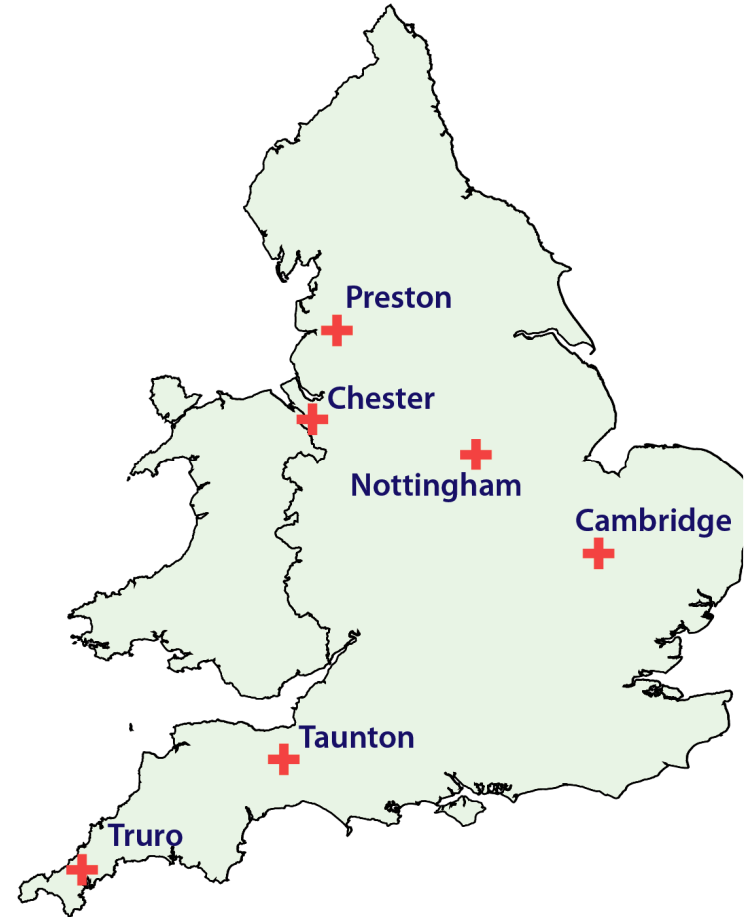
**CC130 Group**

**CC49**



# Prevalence humaine / UK

- 6 hospitaux
- 6 x 350 MRSA  
soit n=2100
- MRSA essentiellement  
identifié sur milieu chromogène
- **Résultats intermédiaires**  
**0.4% (6/1650)**



# Prévalence chez les bovins

- 1200 fermes
- **Résultats de PCR intermédiaires:**
  - **2.5% (10/403) en Angleterre et Pays de Galles**
  - **0% (0/600) en Ecosse**
- Presque 100% sont + à SCNRM



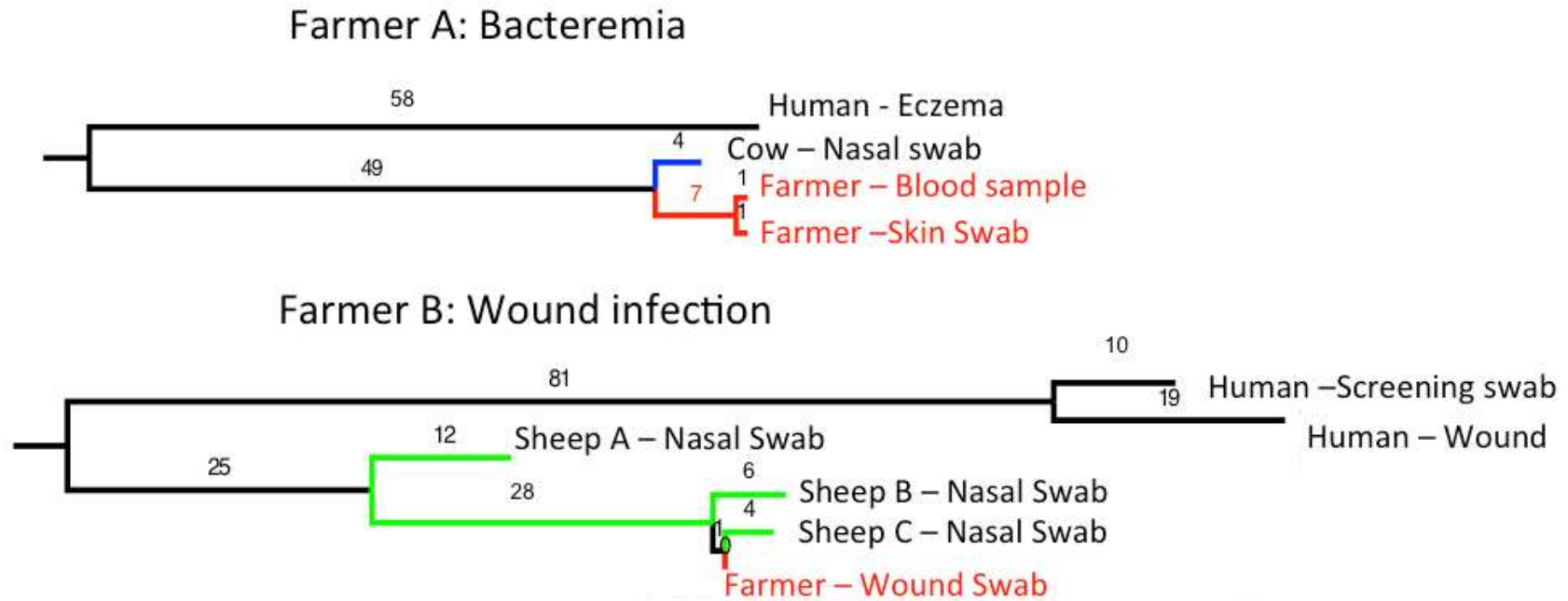


# Séquençage génome complet

## 256 *mecC+* genomes sequencés :

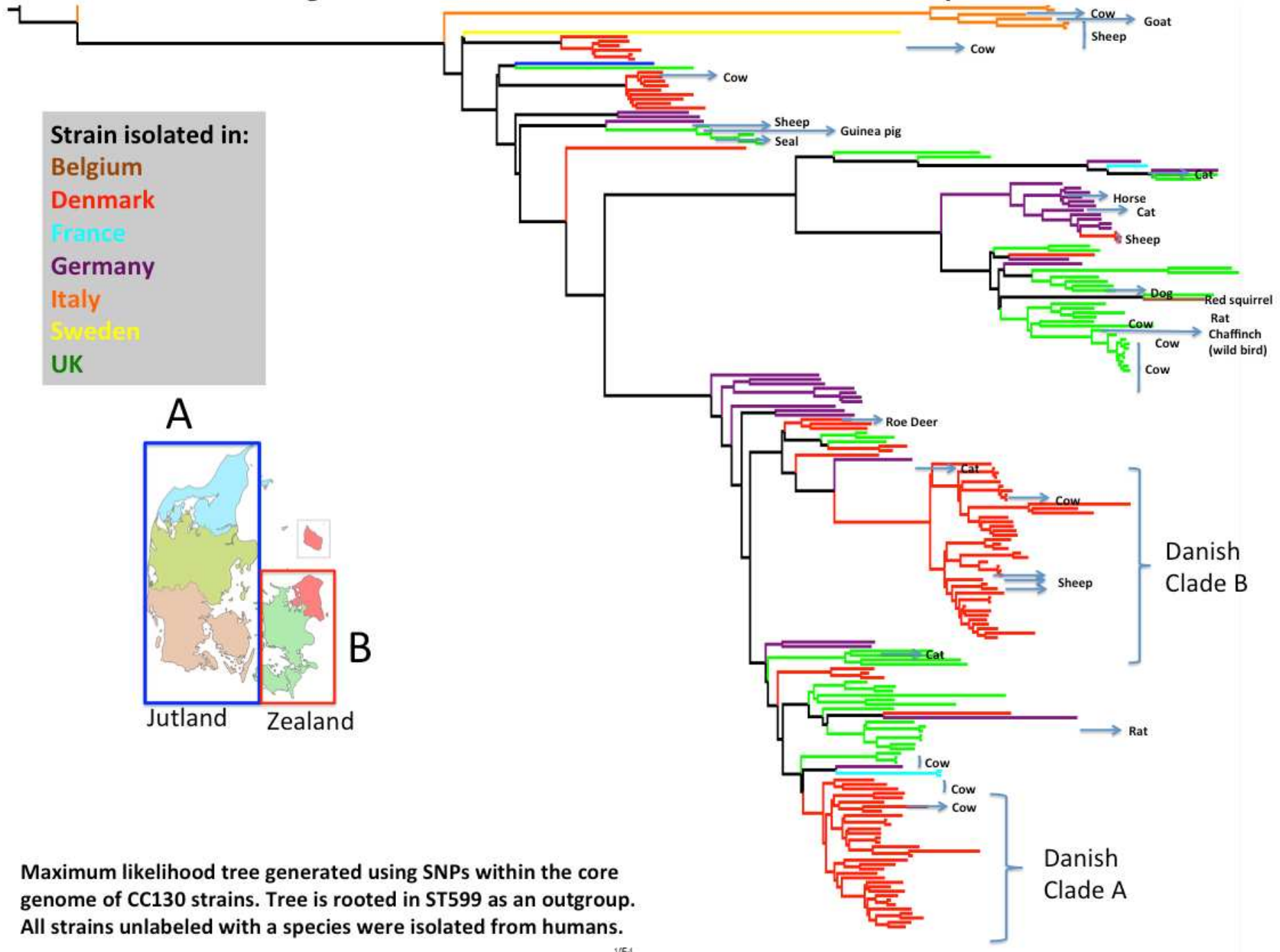
- 202 - CC130 (ST130, 1245, 1525, 1764, 1944, 1945, new STs)
- 23 - ST425 (inc. 1 CC425)
- 19 - CC1943 (ST1943, 1946, 2173, 2174, 2361)
- 4 - CC49 (ST2273)
- 5 - ST599 + ST2179 (CC599)
- 2 – New ST (ST1021ish)

# Evidence de la transmission homme/animal



ML Tree generated of SNPs within core genome. Values above branches indicated bootstrap support.

Figure 3: CC130- A multi-host *S. aureus* clonal complex



# *Staphylococcus xylosus*

- ***mecC* homologue** : *S. xylosus* S04009 strain isolated from bovine mastitis<sup>1</sup>
- Numerous methicillin resistant *S. xylosus* reported - isolated from Dogs, Cows, Horses and Chickens - all PCR negative for conventional *mecA*.

- Commensal of the skin of humans and animals
- Rarely causes disease in humans
- Cause of mastitis
- Commonly found in milk (cows, sheep and goat)
- Used as a starter culture for fermentation and coloration of cheeses and cured sausages



<sup>1</sup>Dordet-Frisoni, E., G. Dorchies, et al. (2007). "Genomic diversity in *Staphylococcus xylosus*." *Appl Environ Microbiol* **73**(22): 7199-7209.

## *S. xyloso*s sequencing

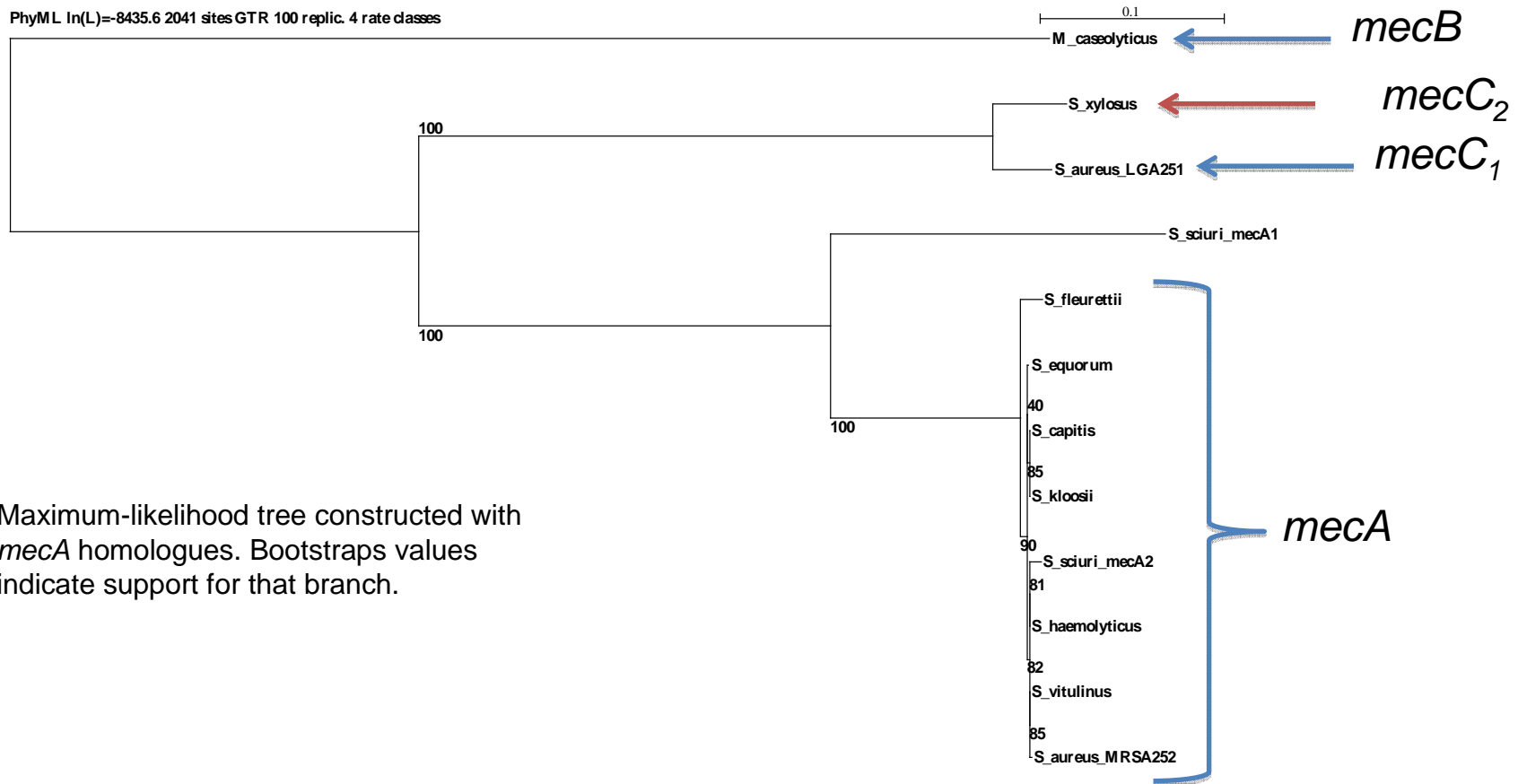
- Two strains sequenced by Illumina :
  - SO4009 (bovine mastitis)- *mecC* - **positive**
  - SO4010 (bovine mastitis)- *mecC* - **negative**
  - Obtained finished genome sequence for strain C2a – a human skin commensal isolate from Sabine Leroy, INRA, France.
- 
- Strain SO4009 is oxacillin sensitive at 30, 35 and 37°C

# Identification *mecA/I/R* et *blaZ*

- *mecC* – 93.5% d'identité (1870/1999) = *mecC*<sub>2</sub>
  - *mecI* – 91.1% d'identité (328/360)
  - *mecR* – 90.0 % d'identité (1581/1755)
  - *blaZ* - 90.9% d'identité (766/842)
- 
- Primers spécifique pour amplifier *mecC1* et *mecC2* chez *S. xylosus*.
  - 43 *S. xylosus* souches criblées en Belgique, France et Suisse: toutes négatives.
  - Collections + large en cours (US, Pologne and UK) en cours de criblage.

# Identification *mecA/I/R* et *blaZ*

PhyML In(L)=-8435.6 2041 sites GTR 100 replic. 4 rate classes



Maximum-likelihood tree constructed with *mecA* homologues. Bootstraps values indicate support for that branch.

Nouveau variant *mec* : distribution géographique  
..... en France



# Nouveau variant *mec* : distribution géographique

## ..... en France

### Souche animale :

une souche mais deux cas de mastite dans une même ferme  
(2008)

- . deuxième pays avec souches animales
- . première description de cas groupées
- . *agr3* CC130

une souche 2011

### Souche humaine :

- . 8 cas d'infection:

Aix en Provence n=3

Mulhouse n=1

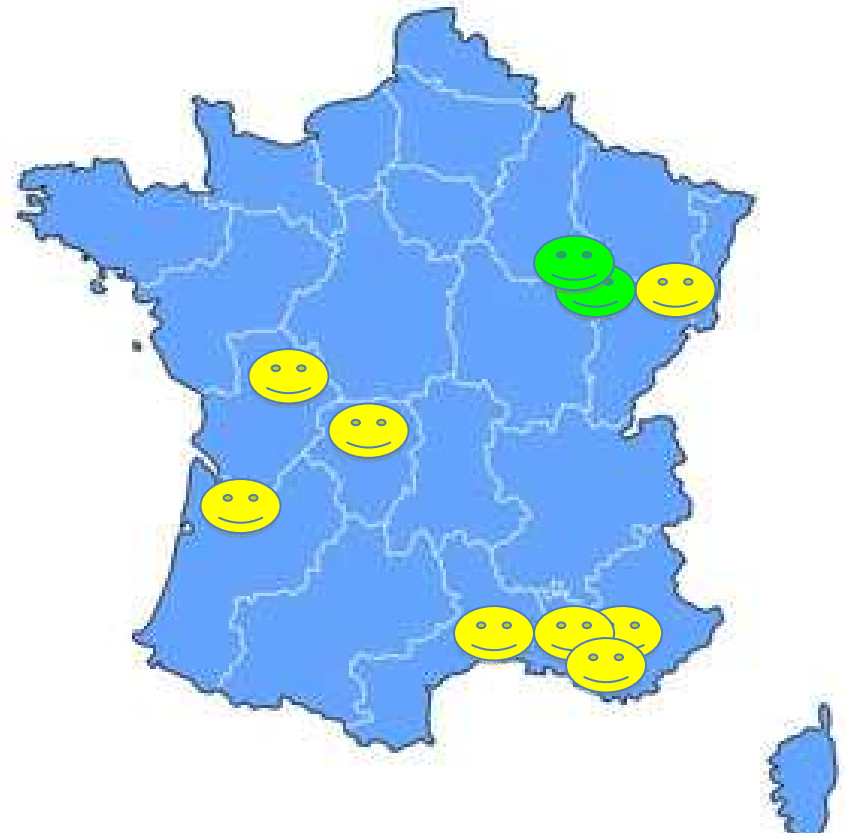
Limoges n=1

Niort n=1

Libournes n=1

Montpellier

- . Toutes *agr 3* CC130



<b>CENTRE HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE DE LYON</b>		
<b>HOSPICES CIVILS DE LYON</b>		<b>UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1</b>
CENTRE DE BIOLOGIE EST Institut de Microbiologie Laboratoire de Bactériologie 59 Boulevard Pinel 69677 BRON CEDEX FRANCE  Tél : 33 (0) 472 12 96 25 Fax : 33 (0) 472 35 73 35		INSERM U851 Pathogénie des staphylocoques 7 rue Guillaume Paradin 69372 LYON CEDEX 08 FRANCE  Tél : 33 (0) 478 77 86 57 Fax : 33 (0) 478 77 86 58
		Bron, le 24 Juin 2011

Chères collègues, chers collègues,

Dans le cadre de son activité de surveillance, le CNR des staphylocoques en accord avec l'InVS, souhaite alerter l'ensemble des microbiologistes et équipes opérationnelles d'hygiène de l'émergence de souches de *Staphylococcus aureus* portant un variant du gène mecA.

Les premières souches présentant ce variant du gène mecA ont été identifiées en France. Dans ce contexte, il est important de rappeler qu'un résultat négatif pour la recherche du gène mecA **ne doit pas** amener à modifier le niveau de résistance à la méticilline détecté phénotypiquement. La positivité de la recherche du gène mecA permet uniquement de confirmer la résistance par production de PLP2a mais sa négativité n'est pas une preuve de l'absence de résistance à la méticilline.

Université de la Méditerranée (Aix-Marseille II)  
FACULTE DE PHARMACIE

MEMOIRE  
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES  
DE BIOLOGIE MEDICALE

Soutenu le 21 octobre 2008

Par Sandrine COURVOISIER

SARM sans gène *mecA* : mythe ou réalité ?

# Nouveau variant *mec* : distribution géographique ..... en France

Etude de prévalence réalisée via les réseaux

. ColBVH

. AZAY

pas de résultats définitifs pour l'instant  
mais prévalence très faible

# Objectifs

Evaluer les performances des techniques actuellement disponibles dans nos laboratoires pour :

- détecter
- identifier
- confirmer

.... la présence de souches de SARM porteuses du gène *mecB*

## Matériel et méthodes

- 111 souches de SARM humaines et animales isolées au Danemark, en Grande Bretagne et en France porteuse du gène *mecB*
- caractérisation par *spa*-typing

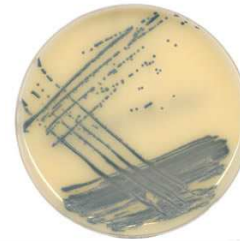
Clonal Complex	<i>agr</i> alleles	<i>Spa</i> -types
<b>CC130 n=92</b>	<b><i>agr 3</i></b>	t843, t528, t1048, t1532, t1535, t3218, t3256, t3570, t5970, t6220, t6293, t7734, t7485, t7946, t7947
<b>CC1943 n=14</b>	<b><i>agr 4</i></b>	t978, t2343, t2345, t3391, t8835
<b>CC425 n=5</b>	<b><i>agr 2</i></b>	t6386, t742, t6292, t6292

Dépister les souches *mecC+*

# Dépister les souches *mecC*+

## ■ Milieux sélectifs chromogéniques

111 *mecC* isolates  
0.5 McF  
dilution  $10^{-3}$   
10  $\mu$ l / oese



MRSA  
Select  
(bioRad)

MRSA  
Brilliance 2  
(Oxoid)

ChromID  
MRSA  
(bioMérieux)

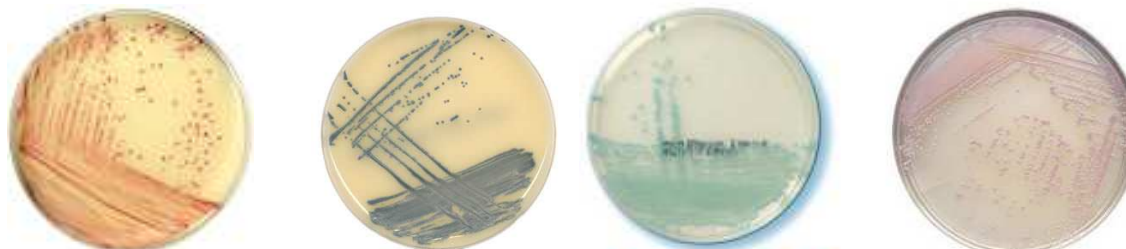
CHROM  
Agar II  
(BD)



# Dépister les souches *mecC*+

## ■ Milieux sélectifs chromogéniques

111 *mecC* isolates  
 0.5 McF  
 dilution  $10^{-3}$   
 10  $\mu$ l / oese



			MRSA Select (bioRad)	MRSA Brilliance 2 (Oxoid)	ChromID MRSA (bioMérieux)	CHROM Agar II (BD)
Clonal Complex	<i>Spa</i> -types	<i>agr</i>	Res / Sens	Res / Sens	Res / Sens	Res / Sens
<b>CC130</b> n=92	t843, t528, t1048, t1532, t1535, t3218, t3256, t3570, t5970, t6220, t6293, t7734, t7485, t7946, t7947	<b><i>agr</i> 3</b>	<b>62 / 30</b>	<b>89 / 2</b>	<b>91 / 1</b>	<b>74 / 18</b>
<b>CC1943</b> n=14	t978, t2343, t2345, t3391, t8835	<b><i>agr</i> 4</b>	<b>6 / 8</b>	<b>14 / 0</b>	<b>14 / 0</b>	<b>9 / 5</b>
<b>CC425</b> n=5	t6386, t742, t6292, t6292	<b><i>agr</i> 2</b>	<b>2 / 3</b>	<b>5 / 0</b>	<b>5 / 0</b>	<b>5 / 0</b>
<b>Correctly identified</b>			<b>63%</b>	<b>98.2%</b>	<b>99.1%</b>	<b>79.3%</b>

# Dépister les souches *mecC*+

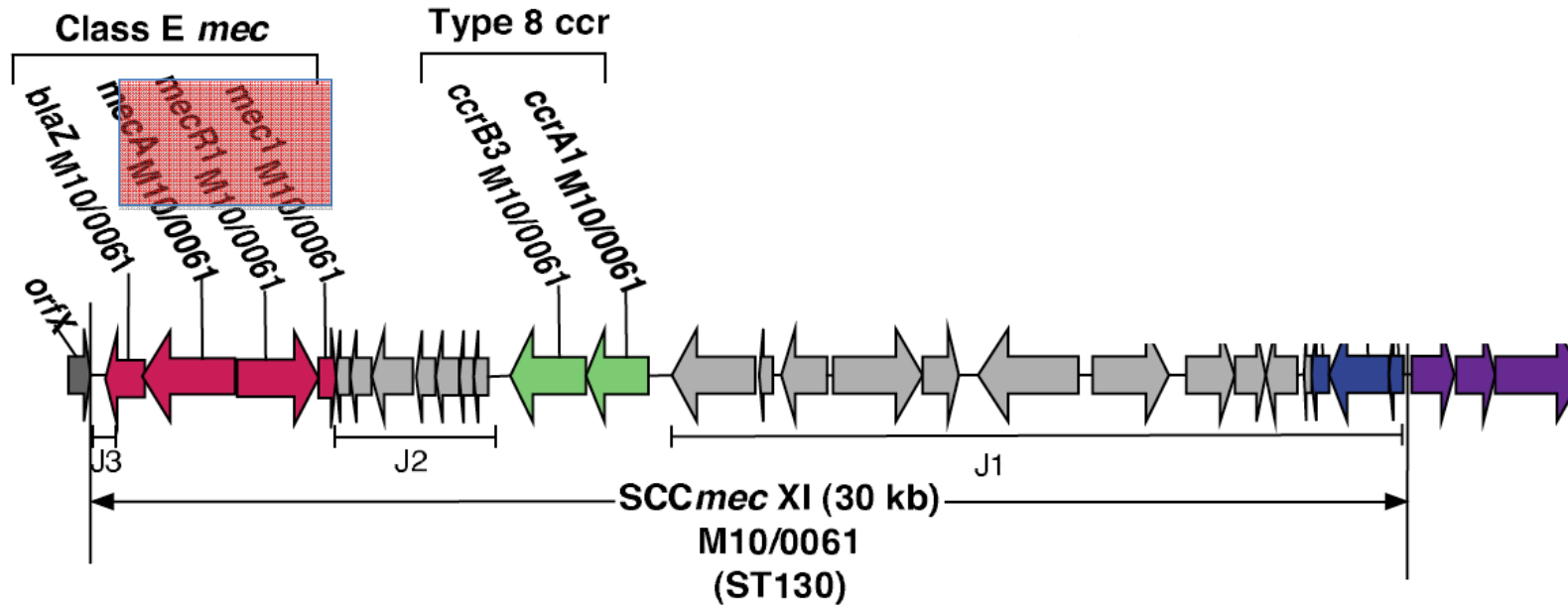
## ■ Approches moléculaires



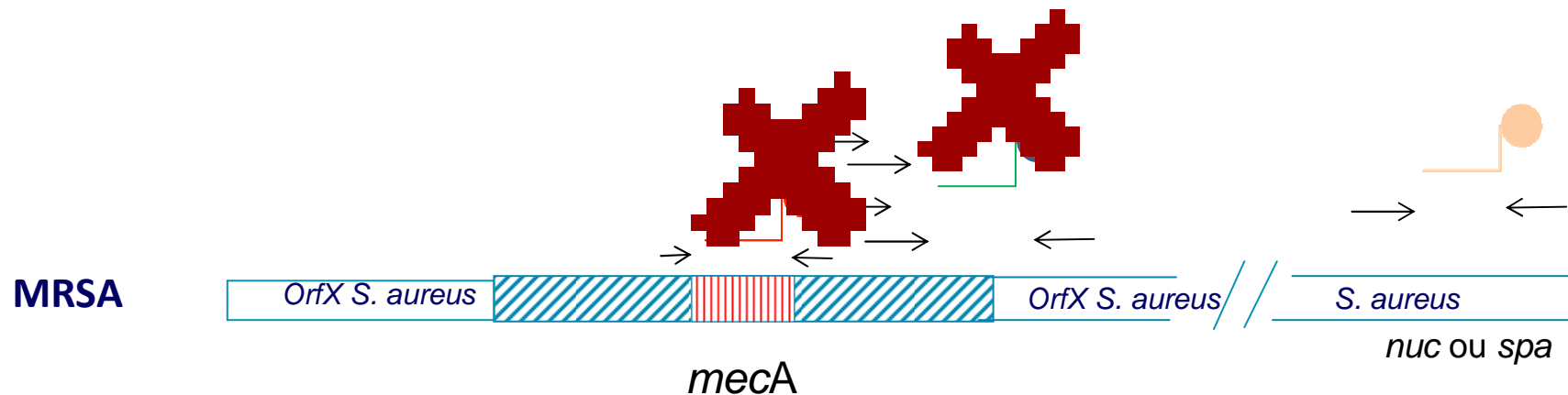
*mecC* : nombreux mismatches avec primers *mecA*

# Dépister les souches *mecC*+

## ■ Approches moléculaires

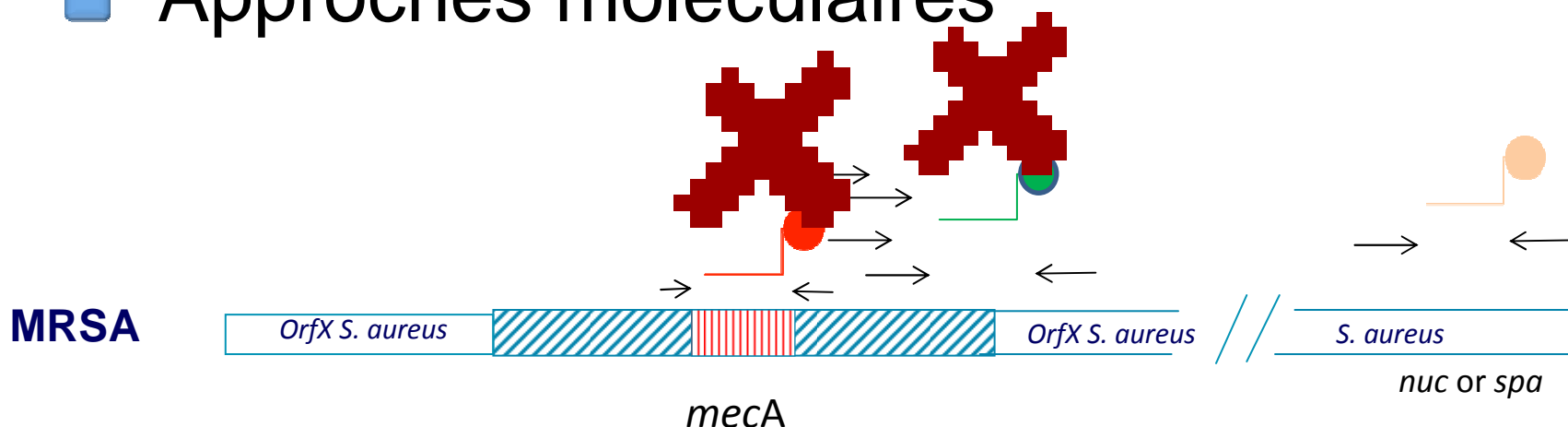


*mecC*: sur une nouvelle cassette (Type XI)



# Dépister les souches *mecC+*

## ■ Approches moléculaires



NucliSENS EasyQ® MRSA		0 /44
BD GeneOhm™ MRSA		0 /12
GenoQuick® MRSA		0 /3
Xpert® MRSA Xpert® MRSA/SA SSTI Xpert® MRSA/SA BC		0 /62
PCRs maison		0/111

# Dépister les souches *mecC*+

## **MRSA/SA ELITe MGB®** (ELITech Molecular Diagnostics) : Premier kit de détection *mecA* et *mecC*

**1) DNA Extraction**  
bioMerieux easyMAG

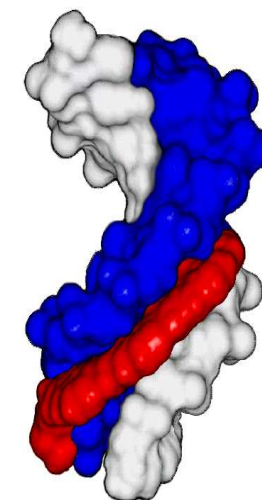


**Nasal swab**  
Patient Specimen



**MRSA/SA  
ELITe MGB®**

**2) Real Time  
PCR**  
ABI 7500 Fast Dx



■ MGB-Probes

## Press Release

July 2<sup>nd</sup>, 2012

**3) ELITe MGB®  
Analysis Software**



### EXCLUSIVE

ELITech Molecular Diagnostics launches  
**SECOND GENERATION** Real-Time PCR MRSA  
Kit that detects the *mecA*<sub>LGA251</sub> gene.

# Dépister les souches *mecC*+

## ■ Approches moléculaires

**MRSA/SA ELITE MGB<sup>®</sup>** (ELITech Molecular Diagnostics)

	Isolates (n)	Clones (n)	PCR +	PCR -
<i>mecA</i> + MRSA	60	39	60	0
<i>mecC</i> + MRSA	115	4	115	0
MSSA	18	16	0	18

Se= 100%    and    Sp= 100%

# Dépister les souches *mecC*+

## **MRSA/SA ELITe MGB®** (ELITech Molecular Diagnostics) : Premier kit de détection *mecA* et *mecC*

### 1) DNA Extraction bioMerieux easyMAG



Nasal swab  
Patient Specimen



**MRSA/SA  
ELITe MGB®**

### 2) Real Time PCR ABI 7500 Fast Dx



### Clinical study

- . 3271 swabs
- . Compared to the reference culture method:
  - 96% of SA+ (n=768)
  - 95% of SA- (n=2,406)
  - 92% of MRSA+ (n=222)
  - 95% of MRSA- (n=2,952)

## Press Release

July 2<sup>nd</sup>, 2012

### 3) ELITe MGB® Analysis Software



## EXCLUSIVE

ELITech Molecular Diagnostics launches  
**SECOND GENERATION** Real-Time PCR MRSA  
Kit that detects the *mecA*<sub>LGA251</sub> gene.

Identifier les souches *mecC*+

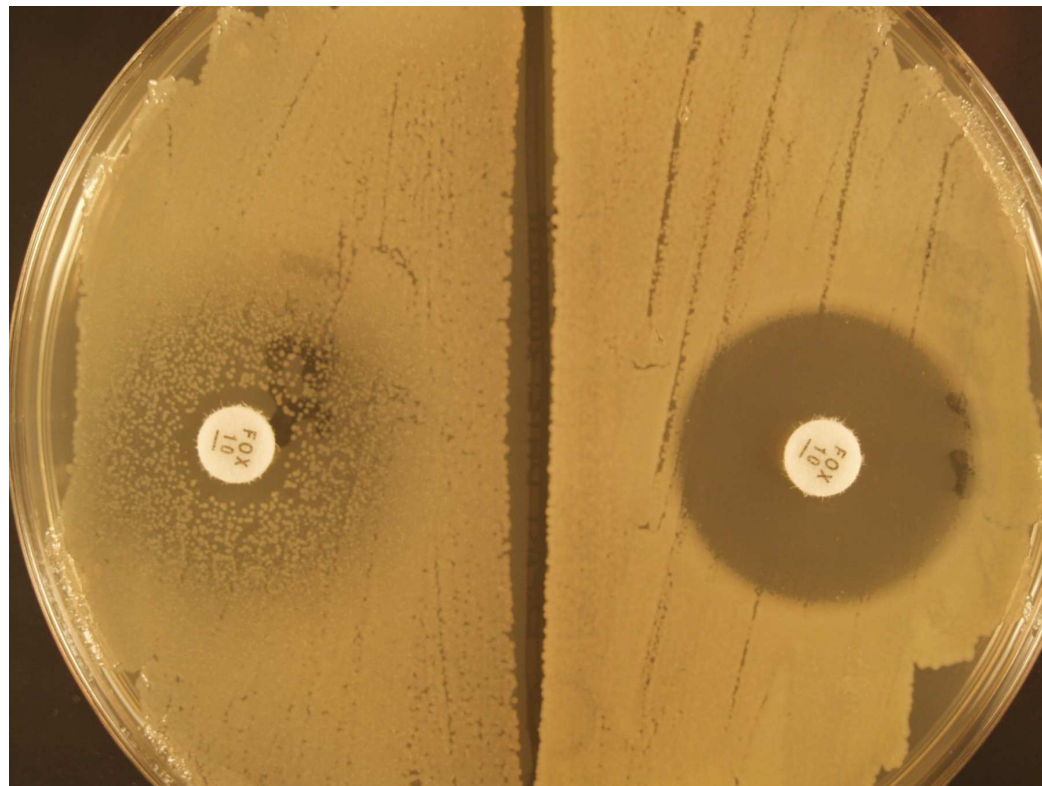


# Identifier les souches *mecC*+

- En disque : ne compter que sur la cefoxitine

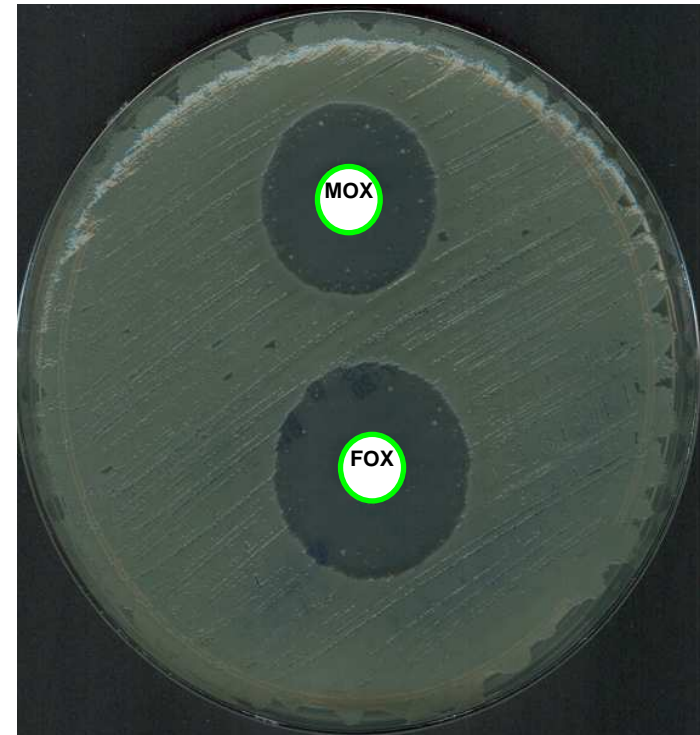
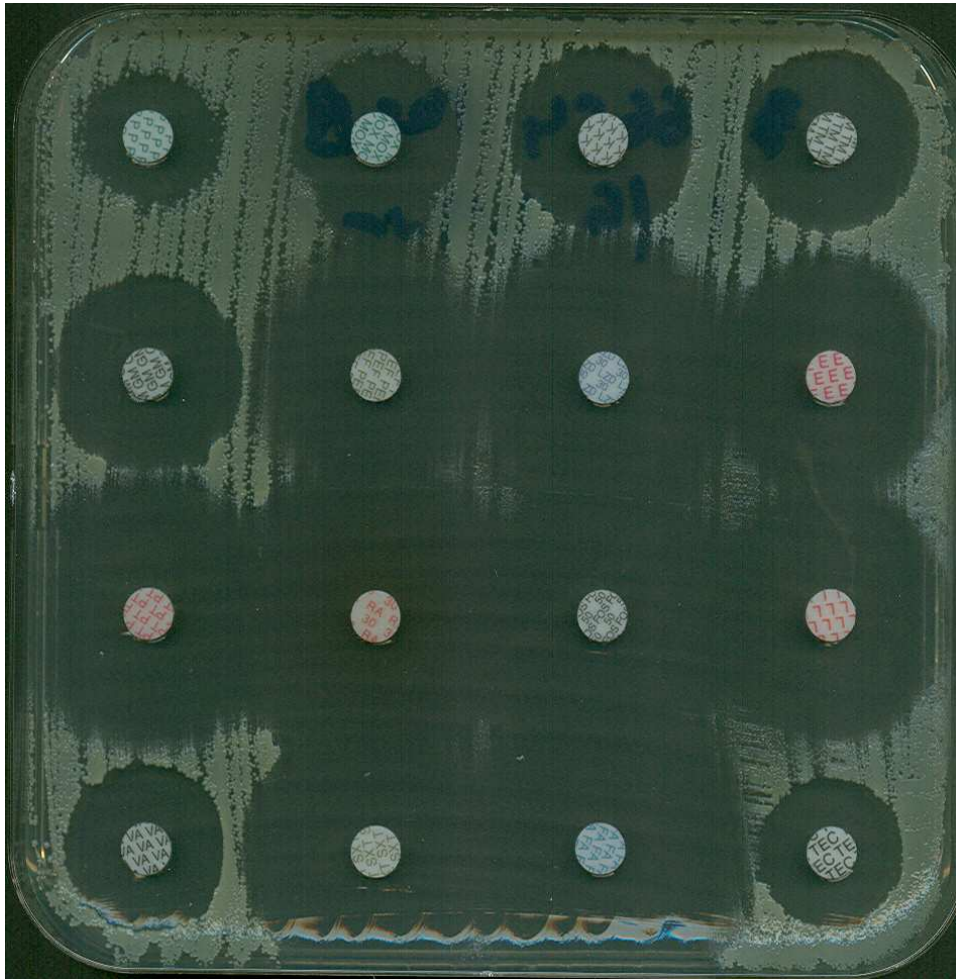
**LGA251**

**MSSA**



# Identifier les souches *mecB*+

En disque : ne compter que sur la cefoxitine



## Identifier les souches *mecB*+

- En disque : ne compter que sur la cefoxitine
- Automates en milieu liquide

# Identifier les souches *mecC+*

- En disque : ne compter que sur la cefoxitine (<25)
- Automates en milieu liquide

mg/L	Microscan			Vitek		Phoenix		
	OXA	FOX	CTX	OXA	FOX	OXA	FOX	MOX
0.25	32**			3**		1**		
0.5	61		2**	24		4		
1	12			43		24	2**	
2	<u>6</u>			20		65	26	
4		<u>4**</u>		<u>21*</u>	3 negative	<u>17*</u>	70	
8		<u>107*</u>			108 positive		<u>13*</u>	
16			109					<u>26</u>
32								<u>85*</u>
>128								

\* ≥; \*\* ≤ ; Break points: Oxacillin > 2 mg/L and Cefoxitin > 4 mg/L

Détection  
correcte

**109/111**

**108/111**

**85/111**

Confirmer les souches *mecC+*

# Confirmer les souches *mecC+*

## ■ Attention à la PCR *mecA*

SARM *mecB+* = résistance isolée (multi-sensible)

Question : SASM avec erreur sur lecture cefoxitine ou vrai SARM ?  
or PCR *mec* prise en défaut = *mecA*- ....



**Ne pas conclure** que erreur sur cefoxitine  
donc **Ne pas rendre SASM**

# Confirmer les souches *mecC+*

## ■ Attention à la PCR *mecA*

SARM *mecB+* = résistance isolée (multi-sensible)

Question : SASM avec erreur sur lecture cefoxitine ou vrai SARM ?  
or PCR *mec* prise en défaut = *mecA-* ....



**Ne pas conclure** que erreur sur cefoxitine  
donc **Ne pas rendre SASM**

**PCR spécifique *mecB* ?**

# Confirmer les souches *mecC*+

## ■ Specific *mecC* (multiplex *mecC*, *mecA*, *spa*, *pvl*)

### **Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA*<sub>LGA251</sub>**

Article published online: 7 November 2011

*Clin Microbiol Infect* 2012; **18**: 395–400

10.1111/j.1469-0691.2011.03715.x

M. Stegger<sup>1</sup>, P. S. Andersen<sup>1</sup>, A. Kearns<sup>2</sup>, B. Pichon<sup>2</sup>, M. A. Holmes<sup>3</sup>, G. Edwards<sup>4</sup>, F. Laurent<sup>3</sup>, C. Teale<sup>5</sup>, R. Skov<sup>1</sup> and A. R. Larsen<sup>1</sup>

*J Antimicrob Chemother*  
doi:10.1093/jac/dks221

**Journal of  
Antimicrobial  
Chemotherapy**

### **Development of a real-time quadruplex PCR assay for simultaneous detection of *nuc*, Panton–Valentine leucocidin (PVL), *mecA* and homologue *mecA*<sub>LGA251</sub>**

Bruno Pichon<sup>1\*</sup>, Robert Hill<sup>2</sup>, Frederic Laurent<sup>3</sup>, Anders Rhod Larsen<sup>4</sup>, Robert L. Skov<sup>4</sup>, Mark Holmes<sup>5</sup>, Giles F. Edwards<sup>6</sup>, Christopher Teale<sup>7</sup> and Angela M. Kearns<sup>1</sup>

+ commercial kits expected before the end of the year



# Confirmer les souches *mecC+*

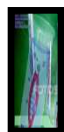
## **MRSA/SA ELITe MGB®** (ELITech Molecular Diagnostics) : Premier kit de détection *mecA* et *mecC*

### 1) DNA Extraction

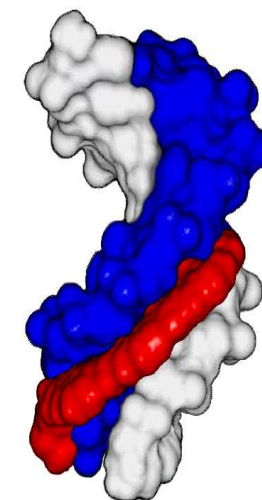
bioMerieux easyMAG



Nasal swab  
Patient Specimen



**MRSA/SA  
ELITe MGB®**



■ MGB-Probes

### 2) Real Time PCR

ABI 7500 Fast Dx



## Press Release

July 2<sup>nd</sup>, 2012

### 3) ELITe MGB® Analysis Software

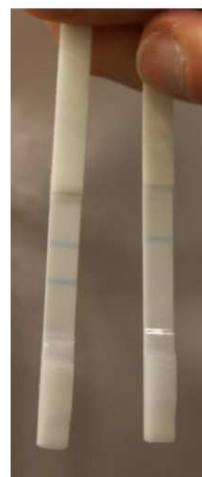


## EXCLUSIVE

ELITech Molecular Diagnostics launches  
**SECOND GENERATION** Real-Time PCR MRSA  
Kit that detects the *mecA*<sub>LGA251</sub> gene.

# Confirmer les souches *mecC*+

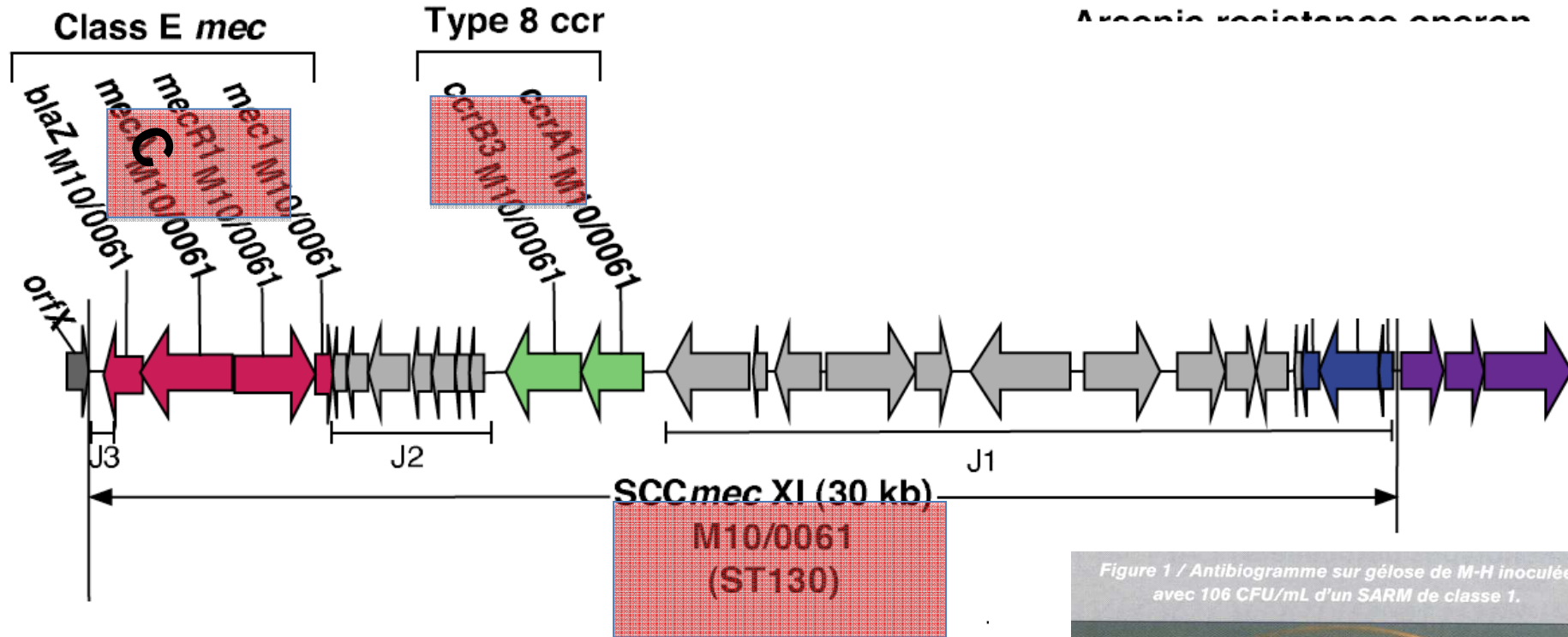
## ■ Immunological detection of PBP2a



	Clearview Exact PBP2a (Alere)	PBP2a agglutination (Oxoid)
	Immunochromatography	Latex agglutination
CC130 n=92	10	1
CC1943 n=14	0	0
CC425 n= 5	0	0
Correct detection	14%	1.4%

**Not efficient on primary plates with isolated strains**

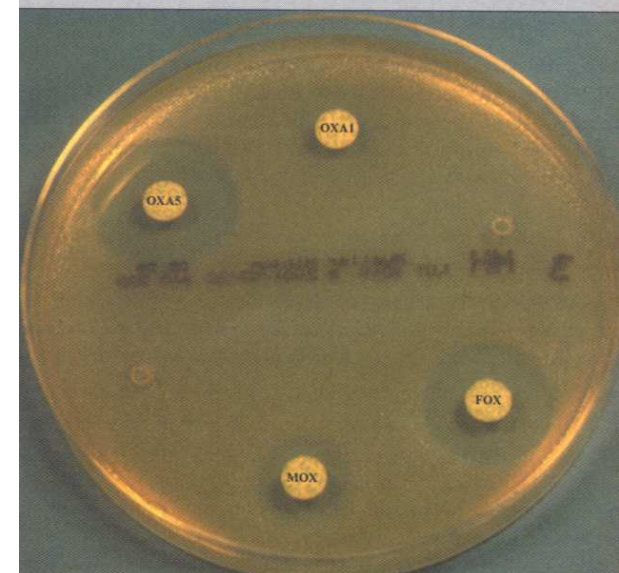
# Confirmer les souches *mecC*+



*mecC* expression regulated by sensor system *mecI/mecR* :

So hyperexpression of *mecC* when  $\beta$ -lactams

Figure 1 / Antibiogramme sur gélose de M-H inoculée avec 10<sup>6</sup> CFU/mL d'un SARM de classe 1.

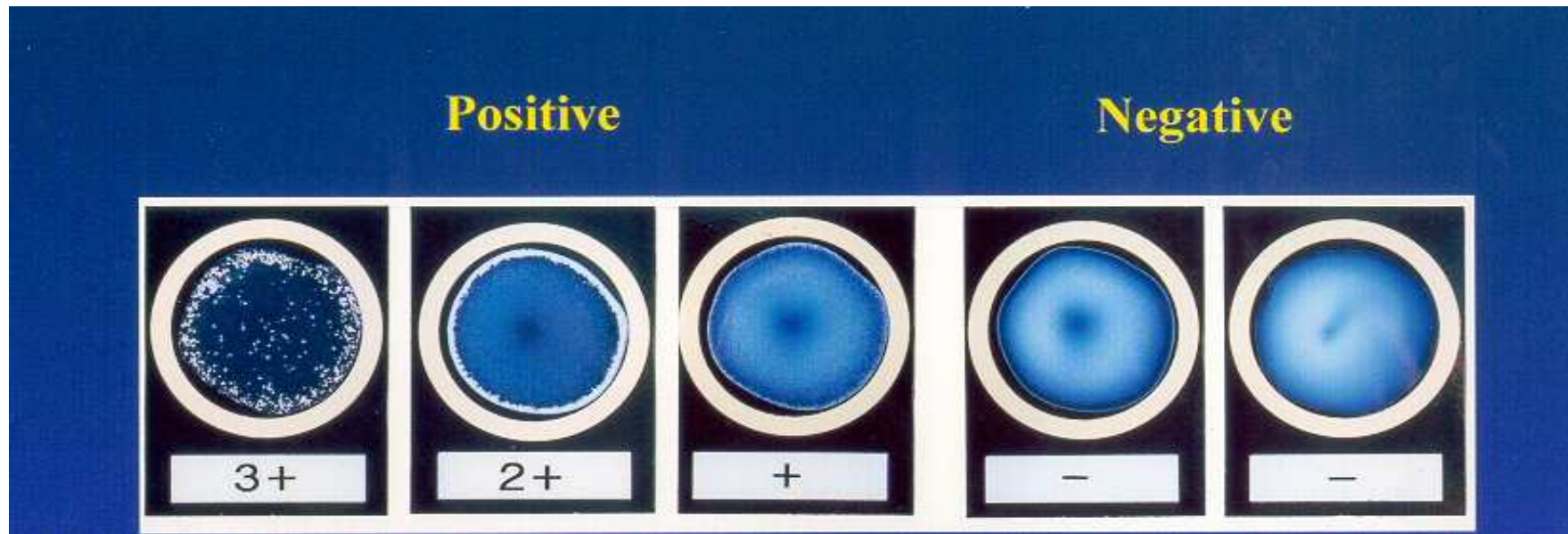


# Confirmer les souches *mecC*+

Immunologic detection of PBP2a



Latex agglutination tests



Lack of sensitivity and specificity ...

# Confirmer les souches *mecC*+

## Immuno-chromatographie

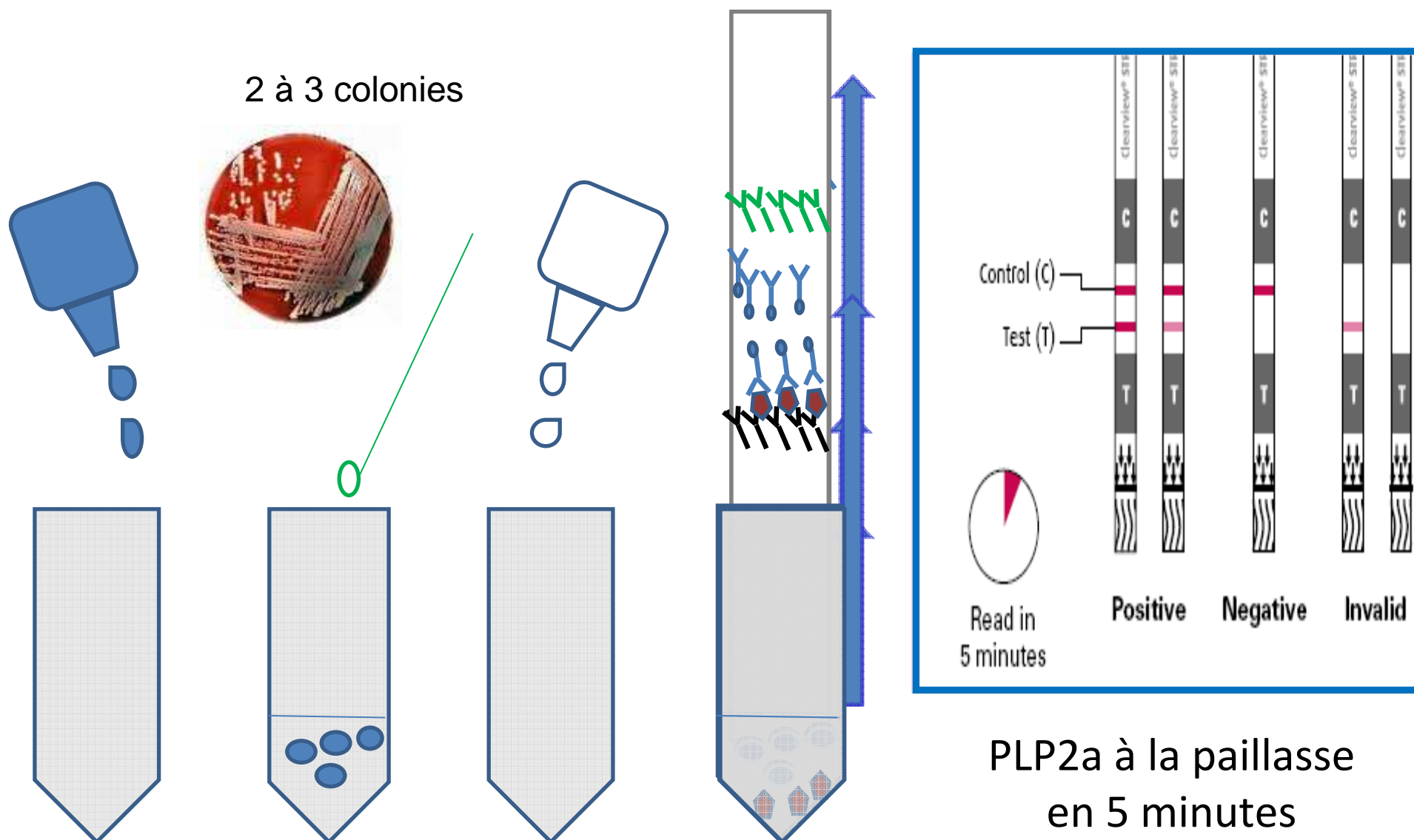


Clearview exact PBP2a™ (Alere)  
Bench detection of PBP2a in 5 minutes !



# Confirmer les souches *mecC*+

## ■ Détection immunologique PBP2a

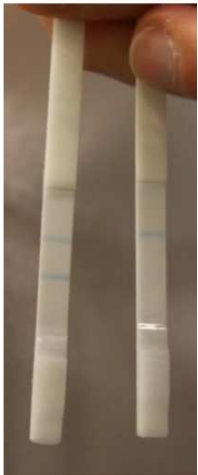


# Confirmer les souches *mecC*+

## ■ Détection immunologique PBP2a

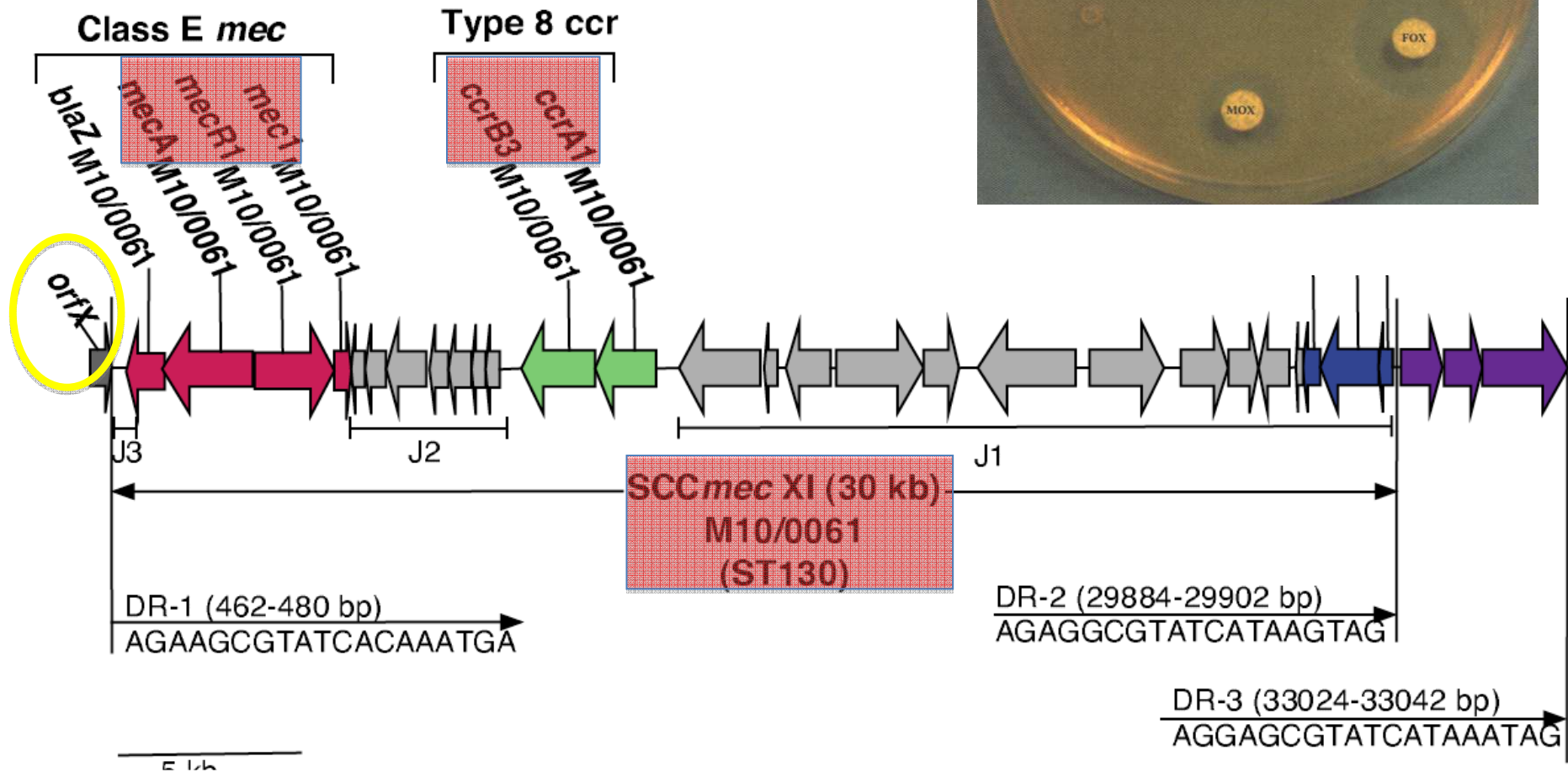
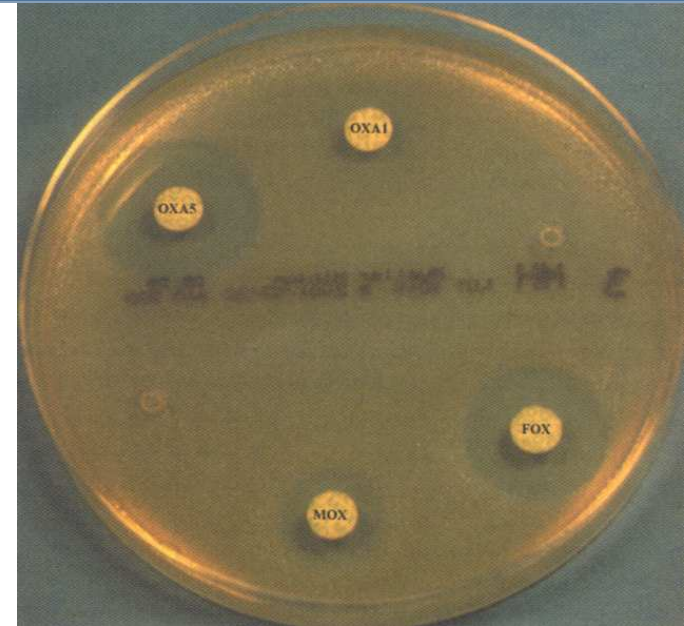
	Clearview Exact PBP2a (Alere)	PBP2a agglutination (Oxoid)
--	----------------------------------	--------------------------------

CC130 n=92	10	1
CC1943 n=14	0	0
CC425 n= 5	0	0
Identification correcte	9%	<1%



# Confirmer les souches *mecC*+

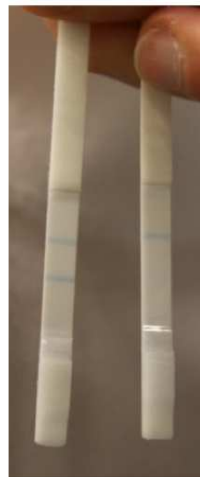
PLP2c (*mecB*) = mauvaise affinité  
 mais ...  
 tout est dans l'induction ...





# Confirmer les souches *mecB*+

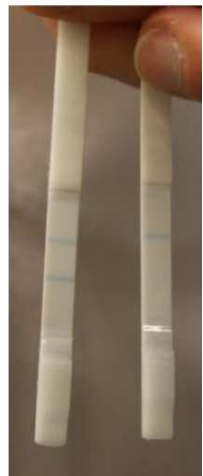
## ■ Détection immunologique PBP2a



	Clearview Exact PBP2a (Alere)		PBP2a agglutination (Oxoid)	
		after induction		After induction
<b>CC130 n=92</b>	10	60	1	1
<b>CC1943 n=14</b>	0	14	0	0
<b>CC425 n= 5</b>	0	5	0	0
Identification correcte	9%	<b>100%</b>	<1%	<b>&lt;1%</b>

# Confirmer les souches *mecB*+

## ■ Détection immunologique PBP2a



	Clearview Exact PBP2a (Alere)		PBP2a agglutination (Oxoid)	
		after induction		After induction
<b>CC130 n=92</b>	10	60	1	1
<b>CC1943 n=14</b>	0	14	0	0
<b>CC425 n= 5</b>	0	5	0	0
Identification correcte	9%	<b>100%</b>	<1%	<b>&lt;1%</b>

- . For identification/ detection : **NO** (negative on primary plates)
- . For confirmation : **after induction +++**

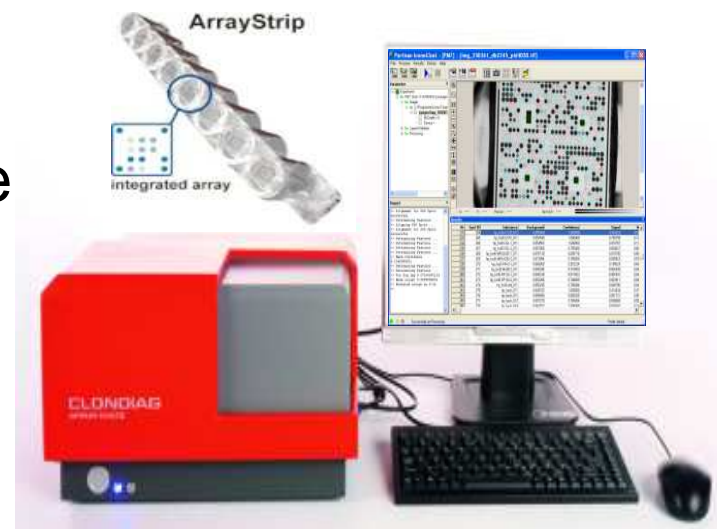
Clearview exact PBP2a = the only current technique to confirm the presence of an additional PLP (after induction) outside the specific *mecC*

# Caractérisation les souches *mecB*+

# Caractérisation les souches *mecC+*

## ■ DNA microarray StaphyType (Alere)

Screening of 320 genes or alleles  
+ Assignment to CC



	Number of strains	Resistance gene profile	Toxin profiles
<b>CC130 n=25</b>	23	<i>tet</i> Efflux	all negative
	2	<i>fosB</i> , <i>tet</i> Efflux	
<b>CC1943 n=9</b>	3	<i>tet</i> Efflux	<i>tst</i> , <i>sec</i> , <i>seg</i> , <i>sei</i> , <i>sel</i> , <i>sem</i> , <i>sen</i> , <i>seo</i> , <i>seu</i>
	1		<i>tst</i> , <i>seg</i> , <i>sei</i> , <i>sem</i> , <i>sen</i> , <i>seo</i> , <i>seu</i>
	5		<i>seg</i> , <i>sei</i> , <i>sem</i> , <i>sen</i> , <i>seo</i> , <i>seu</i>
<b>CC425 n=3</b>	3	<i>tet</i> Efflux	all <u>negative</u>

# Impact clinique du gène *mecC*



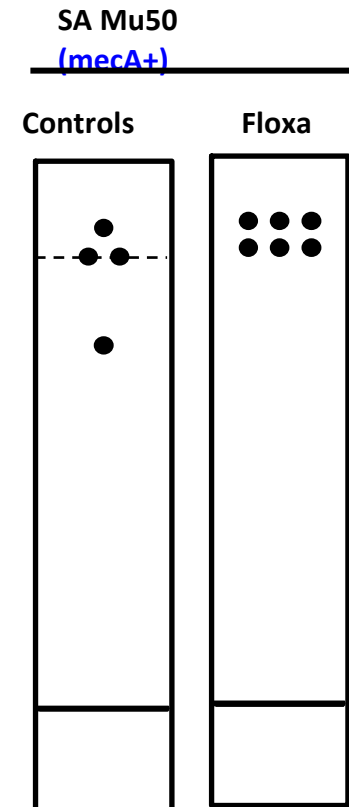
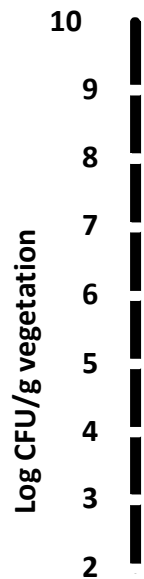
## Staphylococcal endocarditis model

Collaboration avec P. Moreillon, Lausanne, Switzerland

# Impact clinique du gène *mecC+*



## Treatment of experimental endocarditis (Inoculum: $10^5$ CFU/mL)

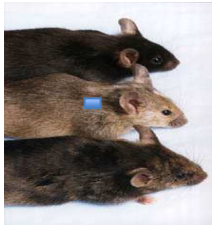


### Floxapen serum levels

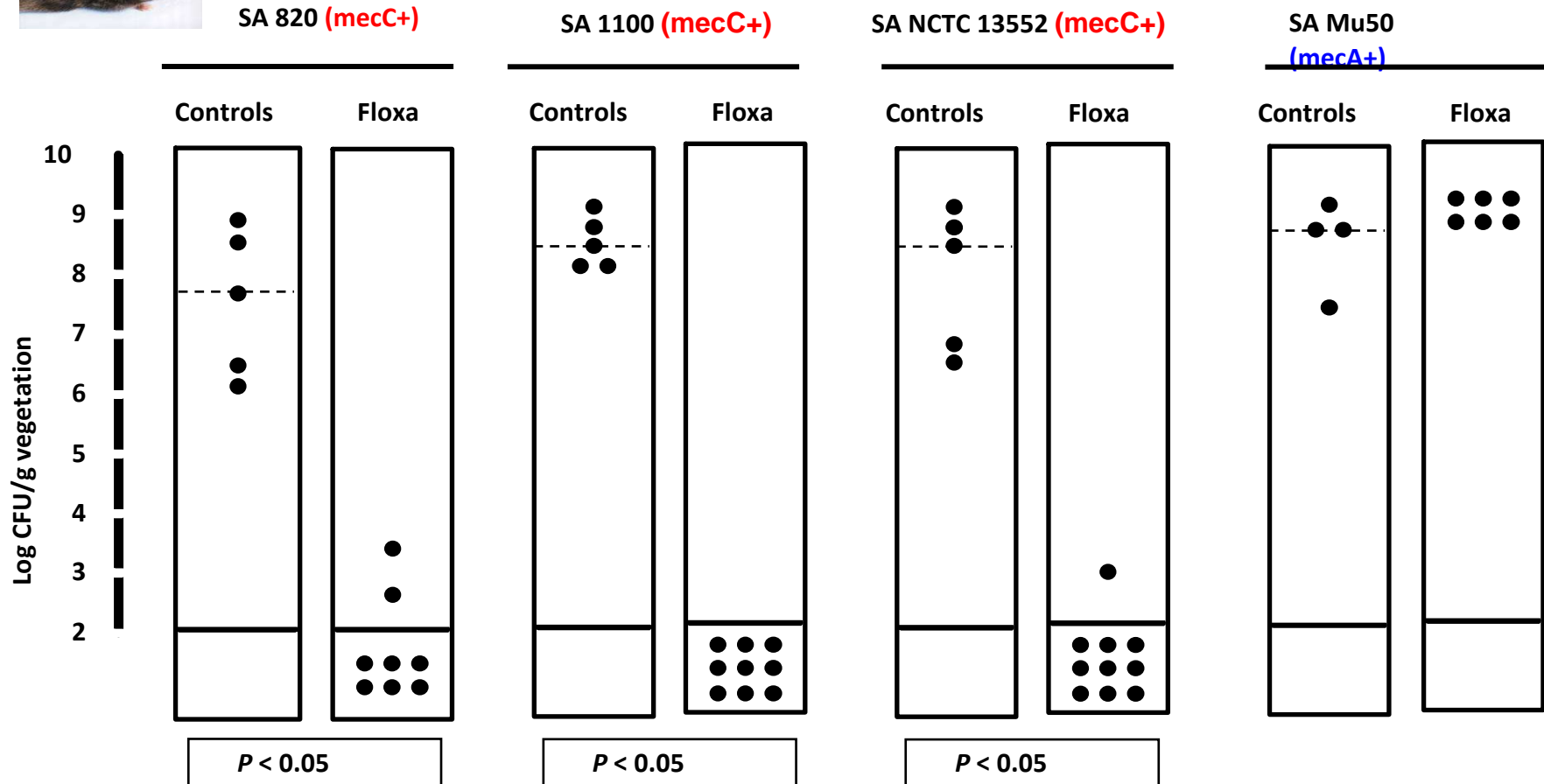
Peak (0.5 h):  $174 \pm 50.6$   $\mu\text{g/ml}$

Trough (6h):  $15.8 \pm 5.1$   $\mu\text{g/ml}$

# Impact clinique du gène *mecC*



## Treatment of experimental endocarditis (Inoculum: $10^5$ CFU/mL)

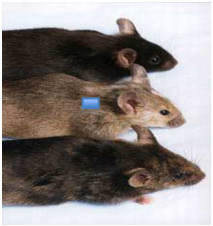


### Floxapen serum levels

Peak (0.5 h):  $174 \pm 50.6$   $\mu$ g/ml

Trough (6h):  $15.8 \pm 5.1$   $\mu$ g/ml

# Impact clinique du gène *mecC*

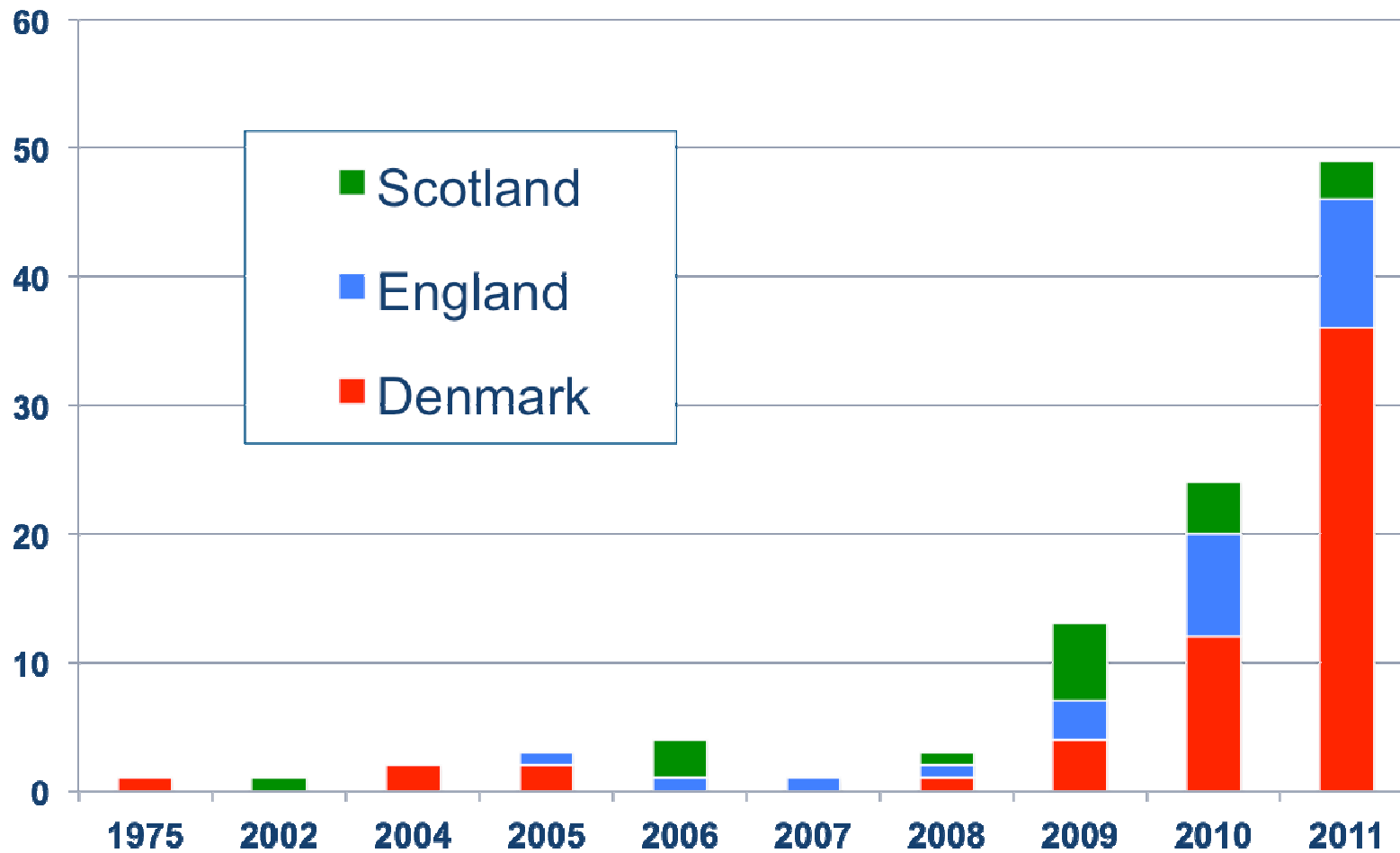


Although resistant to cefoxitin and harboring additional PBP, the *mecC*<sup>+</sup> isolates responded quite well to a humanized FCX treatment in the rat endocarditis model.

Since *mecC* may be misdiagnosed, it is not unlikely that cases of infections due to *mecC*<sup>+</sup> MRSA, even severe, are currently treated successfully with beta-lactams.



# A méditer: isolement de *mecC*<sup>+</sup> SARM



by courtesy of Mark Holmes

# Conclusion

- Emergence de SARM non-*mecA* associés à une multisensibilité

- ➔ *mecC* gene

- Souche d'origine animale

- ➔ risque et taux de transmission?

- Distribution européenne (diffusion?)

- ➔ prévalence exacte? ... évolution future?

- Choix crucial des techniques pour cribler, détecter et confirmer

- ➔ toutes les techniques et approches ne sont pas équivalentes

- Impact clinique

- . mastite chez l'animal

- . formes cliniques humaines variées parfois sévère (Limoges)

- détection of MRSA but *mecA*<sup>-</sup> et *mecC*<sup>-</sup>

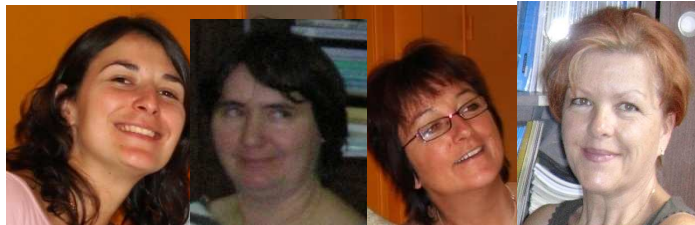
- ➔ Après l'alphabet des *van*.... l'alphabet des *mec*



# Acknowledgments



**STAPHYLOCOQUES**  
Centre National de Référence



Robert Skov  
Anders Larse



Mark Holmes



Angela Kearns



Medical School Lausanne  
Philippe Moreillon  
Jose Entenza



Giles Edwards

# Conclusion

- SARM *mecB*+ multisensible
- Live-stock associated-MRSA :  
souche d'origine animale
- Distribution européenne
  
- Prévalence ? faible ? le futur ? (Etude CoBVH, AZAY)
- Choix des outils +++ pour dépister, identifier et confirmer
- Impact clinique
  - . portage et formes sévères
  - . choix thérapeutique ?
- Souche PeniR / CefoxR et *mecA*- et *mecB*-

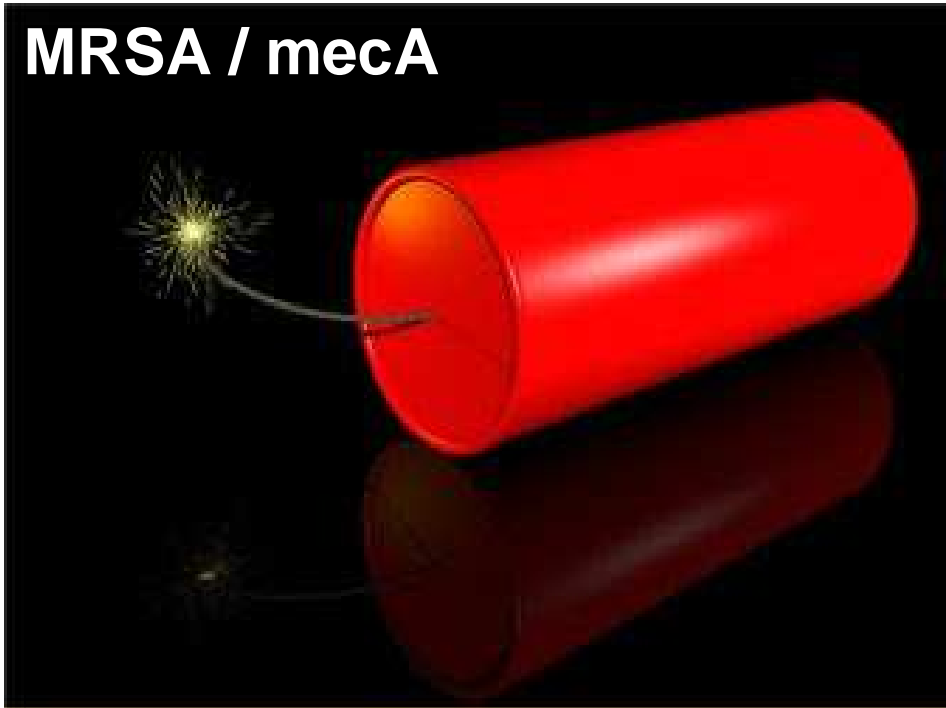


Après l'alphabet des *van*.... l'alphabet des *mec*

# *mecC*, quel avenir ?

Résistance chez les cocci Gram +

**MRSA / *mecA***



***mecC***

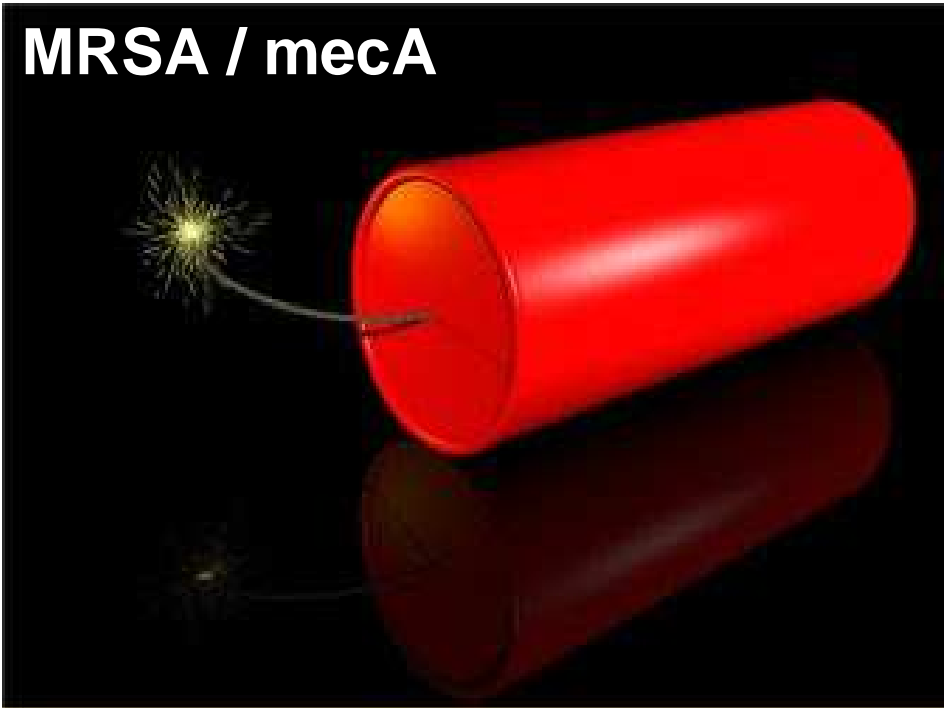


**VRE / *van***

# *mecC*, quel avenir

Résistance chez les cocci Gram +

**MRSA / *mecA***



***mecC***

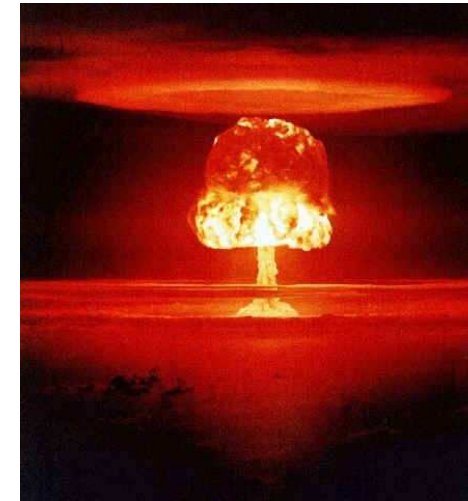
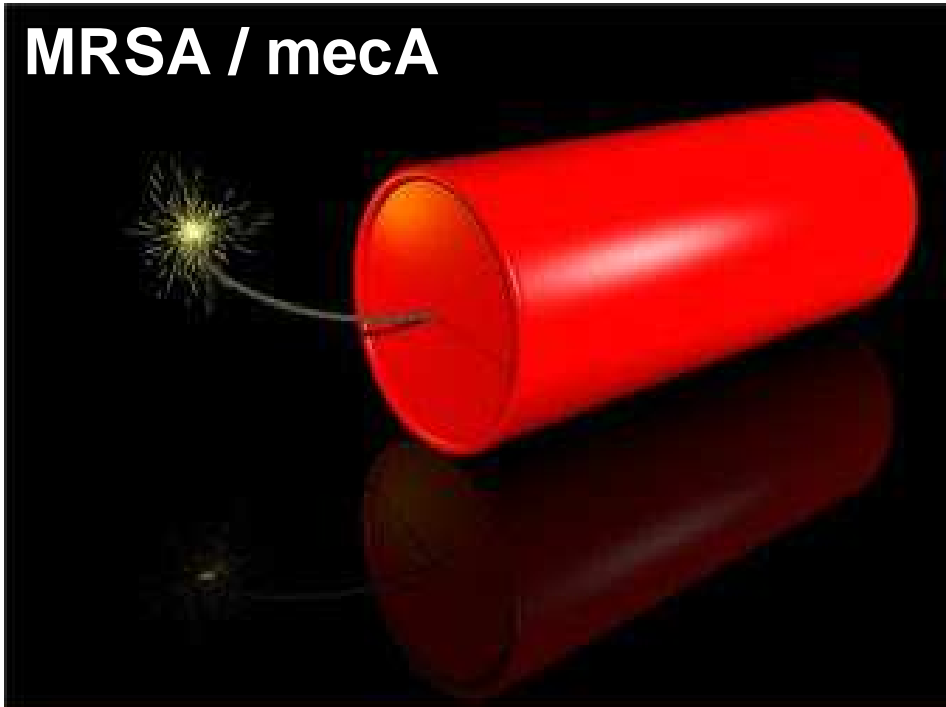


**VRE / *van***

# *mecC*, quel avenir

Résistance chez les cocci Gram +

**MRSA / *mecA***



***mecC***



**VRE / *van***

# Remerciements



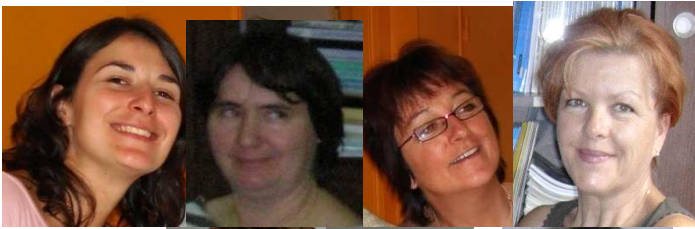
Robert Skov



Anders Larsen



- + Hubert Chardon
- Jean-Winoc Decousser
- Florence Doucet-Populaire
- Sophie Poirier
- Marisa Haenni
- Jean-Yves Madec



M.E. Reverdy



Mark "David" Holmes  
Cambridge



Angela Kearns  
London



# Méditer l'expérience de souches *mecA*+

JAN. 14, 1961

CORRESPONDENCE

BRITISH  
MEDICAL JOURNAL

125

It is well known that patients with infected skin can be dangerous sources of infection in hospitals, and the finding of just such a patient infected with a celbenin-resistant strain in this instance adds an additional warning.—I am, etc.,

M. PATRICIA JEVONS.

Staphylococcus Reference Laboratory,  
Colindale, London N.W.9.

to-day. Resistant strains of the type described in this letter are remarkable more for their infrequency than for their existence.—I am, etc.,

Beecham Research Laboratories Ltd., G. N. ROLINSON.  
Betchworth, Surrey.

We must, of course, be always on the look-out for resistant strains. We must avoid indiscriminate use of the drug which is only likely to increase the chances of such strains spreading. But these warnings should not make us afraid to use the drug where it is properly indicated and to take full advantage of its remarkably effective action against penicillin-resistant staphylococci.—I am, etc.,

Department of Bacteriology,  
Guy's Hospital Medical School,  
London Bridge, S.E.1.

R. KNOX.



**EDITORIAL** It would be a tragedy to lose such a valuable new drug by lack of forethought. There is a good case for restricting the use of celbenin in the same way as the prescribing of erythromycin was restricted. Indiscriminate use should be condemned, and this antibiotic should be reserved for serious infections for which sensitivity tests suggest its use, or in which a bactericidal effect is needed. It is also unquestionably the drug to use for severe acute infections, such as post-influenzal staphylococcal pneumonia, when treatment has to be started before laboratory studies can be completed. And, finally, if patients are found in hospital infected with or carrying celbenin-resistant *Staph. aureus*, they should be isolated both to protect other patients and to prevent the dissemination of yet another undesirable strain among the already too large collection of antibiotic-resistant staphylococci. .... !!!!!!!!!