

ANNÉE 2023

N°

THÈSE
pour le DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
DES BIOLOGIE MÉDICALE

par

Victor RENAULT

né le 08/08/1997

Présentée et soutenue publiquement le 16 octobre 2023

Endocardites à *Enterococcus faecalis* :
investigation de la synergie Amoxicilline – Ceftriaxone

Président du jury : Pr IMBERT Berthe-Marie

Directeur de thèse : Pr CORVEC Stéphane

Membres du jury : Pr BOUTOILLE David

Dr LECOMTE Raphaël

Dr TAKOUDJU Eve-Marie

Remerciements

À **Madame le Professeur Berthe-Marie IMBERT**, de me faire l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail. Veuillez croire en mon profond respect et ma sincère reconnaissance.

À **Monsieur le Professeur David BOUTOILLE**, de me faire l'honneur de juger ce travail. Veuillez croire en mon profond respect et ma sincère reconnaissance. Je vous remercie pour toutes vos remarques pertinentes sur l'étude ainsi que de toutes les connaissances que vous m'avez apportées lors des réunions cliniques du stage de Bactériologie.

À **Monsieur le Professeur Stéphane CORVEC**, merci de m'avoir encadré au cours de ce travail. Merci pour vos conseils et du temps que vous m'avez consacré pour ce travail et de bien d'autres. Je vous remercie également pour les connaissances que vous m'avez apportées pendant mes stages en Bactériologie.

À **Monsieur le Docteur Raphaël LECOMTE**, d'avoir accepté de juger ce travail. Je vous remercie pour toutes vos remarques pertinentes sur les manipulations, l'apport du point de vue clinique ainsi que l'intérêt que vous portez pour ce sujet.

À **Madame le Docteur Eve-Marie TAKOUDJU**, d'avoir accepté de juger ce travail. Merci pour toutes les connaissances que tu m'as transmises lors de mon passage à La Roche sur Yon. Je sais à quel point cela te tenait à cœur de participer à un travail de thèse.

Je dédie ce travail en premier lieu à ma famille, qui savent me rendre le sourire quand je le perds ; à mon père, ma mère, ma sœur Julie, mon frère Etienne et mes grands-parents (à ceux déjà partis et ceux qui sont toujours prêts à m'accueillir, vous m'avez transmis tant de votre expérience dans la vie, merci). Merci aussi à Pascale pour sa gentillesse naturelle.

A mes amis de longue date : Léa x2, Mélody, Servane, Romain.

A ceux qui m'ont accompagné dans le bon comme le pire : Clémence (mon alcoolyte), Pierre-Hugues, Nora, Stéphanie (Katarina). Nos liens sont indélébiles.

A mes amis de faculté à qui je dois la réussite au concours de l'internat : Mélissa Bollosshene, Fanny, La Suz, Cécile, Manon C (Little Gift), Maxence (le meilleur coloc).

A ces belles connaissances faites lors de l'internat : Yacine, Clément, Xavier, Emma, Maxime, Valentin, Romain, Maël et enfin Manon, j'espère avoir l'honneur de travailler à tes côtés dans le futur. A ma brochette de co-internes de ce semestre qui ont le malheur de me supporter avec mes blagues nulles : Charles, Lisa, Vicky (zinzin), Alois Mirabel et Amale.

Un paragraphe spécial pour Kenza, mon acolyte dans bon nombre de domaines. Merci pour tes précieux conseils dans le boulot, dans la vie. Notre duo était LÉ-GEN-DAIRE !

Aux équipes de biologistes, techniciens, infirmières, que j'ai eu la chance de connaître et qui m'ont tant transmis : les services de Bactériologie, Biochimie (l'équipe de Protéines rpz), Hématologie, Parasitologie et toute l'équipe de La Roche-sur-Yon avec une mention toute spéciale pour ces derniers qui m'ont prouvé qu'un travail d'orfèvre dans une bonne ambiance était tout à fait possible.

Une pensée à mon semestre de FFI en Bactériologie à Tours, merci à toute l'équipe et à mes trois merveilleuses co-internes Natacha, Camille et Nadège.

A l'équipe de Maladies Infectieuses de Nantes, sans qui, le travail fait en amont n'aurait pas permis la réalisation de cette thèse.

Enfin, une pensée au Professeur Virginie Ferré pour l'encadrement des internes et la bienveillance dont elle a fait preuve jusqu'au bout.

Table des matières

I)	INTRODUCTION.....	15
II)	RAPPELS.....	16
A)	<i>Enterococcus faecalis</i>.....	16
1)	Généralités	16
a)	Morphologie et caractères cultureux	16
b)	Épidémiologie.....	17
c)	Pouvoir pathogène	18
2)	Principales infections à <i>E. faecalis</i>	28
a)	Infections urinaires	28
b)	Infections digestives	30
c)	Bactériémies	31
d)	Endocardites infectieuses	33
e)	Infections cutanées.....	35
3)	Traitements des infections à entérocoques	36
a)	Résistances naturelles de <i>E. faecalis</i>	37
b)	Résistances acquises de <i>E. faecalis</i>	41
B)	Les endocardites infectieuses.....	48
1)	Épidémiologie.....	48
2)	Physiopathologie.....	48
3)	Diagnostic	52
a)	Clinique.....	53
b)	Biologique	54
c)	Imagerie	56
4)	Bases du traitement.....	57

a)	Traitement antibiotique.....	57
b)	Traitement chirurgical	60
c)	Prévention et recherche de la porte d'entrée.....	60
5)	Complications et évolution	61
C)	Les β-lactamines.....	63
1)	Mécanisme d'action des β -lactamines.....	63
2)	Les pénicillines	67
3)	Les céphalosporines	68
D)	La synergie Amoxicilline - Céphalosporine de 3^{ème} génération dans le traitement des	
	endocardites à <i>Enterococcus faecalis</i> : revue de la littérature.....	70
1)	Historique.....	70
2)	Mécanisme d'action suggéré	71
3)	Données <i>in vitro</i>	71
4)	Données <i>in vivo</i>	72
III)	ÉTUDE	76
A)	Contexte.....	76
B)	Objectifs	77
C)	Étude sur une cohorte nantaise.....	77
1)	Principes.....	77
2)	Matériel et méthodes.....	78
3)	Résultats.....	83
D)	Discussion.....	90
E)	Perspectives.....	96
IV)	CONCLUSION.....	97

REFERENCES 98

ANNEXES 120

Table des figures

Figure 1 : Examen direct d'une hémoculture positive à <i>Enterococcus faecalis</i> (collection personnelle)	16
Figure 2 : Cultures positives à <i>Enterococcus faecalis</i> sur gélose au sang : (A) colonies non hémolytiques (B) colonies β -hémolytiques (C) colonies α -hémolytiques.....	17
Figure 3 : Structure protéique de la substance d'agrégation Asc10. D'après Hendrickx <i>et al.</i> (18)	19
Figure 4 : Expression des protéines EbpA, B et C chez <i>E. faecalis</i> (microscopie électronique en transmission après marquage à l'immunogold). D'après Nallapareddy <i>et al.</i> (27).....	20
Figure 5 : Schéma de structuration du pili Ebp de <i>E. faecalis</i> . D'après Nielsen <i>et al.</i> (24)	20
Figure 6 : Schéma récapitulatif des différentes adhésines de <i>E. faecalis</i> ayant un rôle dans le pouvoir pathogène. D'après Hendrickx <i>et al.</i> (18)	21
Figure 7 : Schéma proposé de la structure de la membrane externe de <i>E. faecalis</i> . D'après Hancock <i>et al.</i> (33)	22
Figure 8 : Visualisation à l'œil nu de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne due à la bactériocine de colonies d'entérocoques (échantillon de selles d'un bébé de 6 mois sur une gélose MRS en anaérobiose). D'après Ness <i>et al.</i> , 2014 (41)	23
Figure 9 : Schéma explicatif de l'opéron <i>cyl</i> codant pour la cytolysine de <i>E. faecalis</i> . D'après Ali <i>et al.</i> (38)	24
Figure 10 : Schéma explicatif du système Fsr de <i>E. faecalis</i> . D'après Ali <i>et al.</i> (38) .	25
Figure 11 : Schéma des principaux facteurs de virulence de <i>E. faecalis</i> (figure personnelle)	27
Figure 12 : Culture positive de <i>E. faecalis</i> sur une gélose chromogène numéree « supérieure à 10^5 UFC/mL ».....	28
Figure 13 : Répartition des genres bactériens les plus prédominants dans la flore digestive humaine. D'après Goulet (60)	30

Figure 14 : Flacons d'hémocultures reçus au laboratoire de Bactériologie (photographie personnelle).....	31
Figure 15 : Comparaison du diagramme de distribution des CMI de l'ampicilline de <i>E. faecalis</i> (A) et <i>E. faecium</i> (B) (Source : ECOFF - Juillet 2023 https://mic.eucast.org/).....	36
Figure 16 : Diagramme de distribution des CMI de l'ampicilline de <i>S. pyogenes</i> (Source : ECOFF - Juin 2023) (https://mic.eucast.org/)	37
Figure 17 : Affinité de cinq β -lactamines sur les cinq PLP de <i>E. faecalis</i> . D'après Chen <i>et al.</i> (91).....	38
Figure 18 : CMI moyennes de cinq β -lactamines chez trois souches de <i>E. faecalis</i> . D'après Moon <i>et al.</i> (95).....	38
Figure 19 : Comparaison du diagramme de distribution des CMI de <i>E. faecalis</i> au mérépénème (A) et au céfépime (B)	39
Figure 20 : CMI de l'ampicilline et l'imipénème chez plusieurs souches de <i>E. faecalis</i> possédant des mutations sur le gène <i>pbp4</i> . D'après Ono <i>et al.</i> (111)	42
Figure 21 : Sites d'action des différentes enzymes modifiant les aminosides. D'après Zárate <i>et al.</i> (115)	43
Figure 22 : Schéma de l'action de l'opéron van sur la synthèse du peptidoglycane (figure personnelle)	44
Figure 23 : Antibiogramme en microdilution (Vitek 2XL) d'une souche de <i>Enterococcus faecalis</i>	47
Figure 24 : Schéma proposé de la physiopathologie de l'endocardite infectieuse. D'après Durack <i>et al.</i> (137)	49
Figure 25 : Coupe histologique vue au microscope électronique ($\times 7800$) de tissu cardiaque 24h après une injection de 10^{10} UFC/mL de <i>Streptococcus sanguis</i> en intraveineuse. D'après Durack <i>et al.</i> (140)	50
Figure 26 : Schéma proposé de la physiopathologie de l'EI. (A) Phase de bactériémie précoce (B) Phase de colonisation du thrombus et apparition de colonies « dormantes » dans le sous-endothélium. (figure personnelle créée sur biorender.com)	51

Figure 27 : Schéma de l'analyse bactériologique d'un prélèvement peropératoire de valve (figure créée sur biorender.com).....	55
Figure 28 : Schéma du principe d'une échographie trans-thoracique (A) et trans-oesophagienne (B).....	56
Figure 29 : Schéma explicatif proposé comparant la rechute et la réinfection (figure créée sur biorender.com)	61
Figure 30 : Structure moléculaire du noyau β -lactame	63
Figure 31 : Structures externes des bactéries prenant la coloration de Gram.....	64
Figure 32 : Analogie structurale entre une β -lactamine typique (à gauche) et le dipeptide D-Alanyl-D-Alanine (à droite) ainsi que leur structure commune en rouge. (figure personnelle)	65
Figure 33 : Schéma de l'action de la transpeptidase. (177).....	65
Figure 34 : Schéma de biosynthèse du peptidoglycane. Extension de la chaîne de glycane par la glycosyltransférase puis liaison par la transpeptidase. D'après Di Guilmi <i>et al.</i> (183).....	66
Figure 35 : Répartition des différentes PLP chez plusieurs espèces bactériennes. D'après Sauvage <i>et al.</i> (93).....	67
Figure 36 : Pharmacophore de la famille des pénicillines.....	67
Figure 37 : Pharmacophore de la famille des céphalosporines	68
Figure 38 : (A) Pharmacophore de la famille des C3G (B) Radical de la ceftriaxone entouré en vert. (177)	69
Figure 39 : Image de la synergie observée in vitro sur la souche JH2-2 de <i>E. faecalis</i> entre l'amoxicilline et le céfotaxime sur un milieu agar à partir de bouillon cœur-cerveau. D'après Mainardi <i>et al.</i> (7).....	70
Figure 40 : Saturation des PLP de la souche JH2-2 de <i>E. faecalis</i> avec de l'amoxicilline (0,06 et 0,12 mg/L) et du céfotaxime (4 mg/L) seul ou en association. D'après Mainardi <i>et al.</i> (7).....	71
Figure 41 : Pourcentage de résistance de haut niveau aux aminosides de <i>E. faecalis</i> en Europe en 2017. Réseau ONERBA (87).....	76

Figure 42 : Schéma de la réalisation technique de la détermination des CMI de cette étude (figure créée sur biorender.com).....	78
Figure 43 : Schéma de la réalisation technique de la détermination de la synergie par diffusion en disques de cette étude.....	79
Figure 44 : Schéma de la réalisation technique des CMI croisées de cette étude (figure créée sur biorender.com).	80
Figure 45 : Schéma de la réalisation technique des bandelettes superposées de cette étude (figure créée sur biorender.com).....	80
Figure 46 : Diagramme de sélection des souches du service de Bactériologie du CHU de Nantes dans cette étude.....	81
Figure 47 : Distribution des CMI de l'amoxicilline par E-test en diffusion des souches de cette étude.	83
Figure 48 : Distribution des CMI de la ceftriaxone par E-test en diffusion des souches de cette étude.	84
Figure 49 : Synergie visible par diffusion en disques entre l'amoxicilline, le céfotaxime et la ceftriaxone.	85
Figure 50 : Images de synergie par technique des bandelettes croisées d'amoxicilline et de ceftriaxone avec la souche de <i>E. faecalis</i> ATCC 29212. (A) Croisement à la CMI déterminée de 256 mg/L (B) Croisement à une concentration de 0,38 mg/L.	86
Figure 51 : Comparaison des moyennes des CMI de l'amoxicilline (à gauche) et de la ceftriaxone (à droite) chez les trois sous-groupes de patients. (figure créée avec le logiciel PRISM).....	88
Figure 52 : Comparaison des CMI de l'amoxicilline seule et à la synergie A-C dans les trois sous-groupes. (figure créée avec le logiciel PRISM).....	88
Figure 53 : Absence de corrélation entre la CMI Ceftriaxone et la FIC de l'amoxicilline (figure créée à l'aide du logiciel PRISM).	89
Figure 54 : Synergie par bandelettes E-test en diffusion à concentrations moyennes dans la valve chez une souche de <i>E. faecalis</i> ATCC 29212. (Photographie personnelle)	95

Table des tableaux

Tableau 1 : Seuils de significativité de la bactériurie en fonction du groupe d'uropathogènes dans les infections urinaires communautaires, après prélèvement en milieu de jet. Adapté du Rémic 7 ^e édition 2022 (58)	29
Tableau 2 : Portes d'entrée documentées les plus fréquentes d'hémocultures positives à <i>Enterococcus sp.</i> d'après la littérature	32
Tableau 3 : Répartition des principales bactéries documentées dans la cohorte prospective d'endocardites de Habib <i>et al.</i> (Supplementary Table 3) (77).....	34
Tableau 4 : Pourcentage de sensibilité de <i>E. faecalis</i> à l'ampicilline de 2015 à 2019. Réseau ONERBA (87)	42
Tableau 5 : Recommandations concernant le traitement des EI à <i>Enterococcus sp.</i> D'après Habib <i>et al.</i> (6)	59
Tableau 6 : Principales données de la littérature concernant les résultats in vivo sur le modèle animal de la synergie aminopénicilline - C3G (185,189).....	73
Tableau 7 : CMI de l'amoxicilline seule, de la ceftriaxone seule et de la synergie A-C par diffusion en bandelettes superposées.	87

Table des annexes

Annexe 1 : Critères de Duke modifiés de 2023 (150).....	120
Annexe 2 : CMI de l'amoxicilline et de la ceftriaxone des souches de la cohorte	124
Annexe 3 : FIC calculée des souches de la cohorte	125
Annexe 4 : Comparaison des CMI de l'association A-C chez les trois sous-groupes de patients. (figure créée avec le logiciel PRISM).....	126

Liste des principales abréviations et terminologies utilisées

A-C	Amoxicilline - Ceftriaxone
A-G	Amoxicilline - Gentamicine
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AMX	Amoxicilline
ATCC	American Type Culture Collection
BGN	Bacilles à Gram Négatif
BLSE	Bêta-Lactamase à Spectre Élargi
C3G	Céphalosporines de 3 ^{ème} génération
C5G	Céphalosporines de 5 ^{ème} génération
CASFM- EUCAST	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
CGP	Cocci à Gram Positif
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CP	Carboxypeptidase
CRO	Ceftriaxone
DIC	Dispositif Intra-Cardiaque
ECBU	Examen Cyto-Bactériologique des Urines
ECOFF	Epidemiological Cut OFF value
EI	Endocardite Infectieuse
ETNB	Endocardite Thrombotique Non-Bactérienne
ETO	Échographie Trans-Oesophagienne
ETT	Échographie Trans-Thoracique
FIC	Fractional Inhibitory Concentration

GT	GlycosylTransférase
HACEK	<i>Haemophilus, Aggregatibacter / Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella et Kingella</i>
IAS	Infections Associées aux Soins
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation – Time Of Flight
McF	Mc Farland
MSCRAMMs	Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
M-H	Mueller-Hinton
ORL	Oto-Rhino-Laryngologie
PCR	Polymerase Chain Reaction
PG	Peptidoglycane
PLP	Protéines Liant les Pénicillines
PLP4	Protéines Liant les Pénicillines de type quatre
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méricilline
SI	Système Immunitaire
TEP-TDM	Tomographie par Émission de Positons - TomoDensitoMétrie
TP	TransPeptidase
VN	Valve Native
VP	Valve Prothétique

I) Introduction

Les endocardites infectieuses (EI) à *Enterococcus faecalis* sont des infections qui touchent les valves cardiaques chez des patients âgés et comorbides (1). Leur incidence est grandissante depuis le début des années 2000 (2).

Le traitement de ces infections reste complexe puisqu'il requiert l'avis de plusieurs spécialistes afin de proposer le bon traitement au patient au bon moment (3).

Cette complexité peut s'expliquer par une résistance naturelle de l'espèce *E. faecalis* et par les modalités du traitement d'une EI empêchant l'emploi de nombreuses classes d'antibiotiques (4,5).

L'association Amoxicilline-Gentamicine (A-G) a été le traitement de première intention dans cette indication jusqu'à l'arrivée dans les recommandations de l'association Amoxicilline-Ceftriaxone (A-C) suite aux travaux initiés par Mainardi *et al.* en 1995 (6,7).

Cette association synergique de deux β -lactamines sur *E. faecalis* a été montrée à plusieurs reprises *in vitro* et *in vivo* (8). Elle a même démontré sa non-infériorité par rapport à l'association A-G sans pour autant montrer de supériorité en termes de taux de rechutes ou de pourcentage de guérison (9).

Le devenir d'un patient sous cette bithérapie est donc incertain et nécessite son suivi rapproché à l'issue du traitement antibiotique afin de s'assurer de sa bonne évolution et de prévenir les complications de l'EI (6). Nous avons voulu investiguer si la synergie mesurée *in vitro* par bandelettes E-test[®] entre amoxicilline et ceftriaxone était corrélée au devenir du patient.

II) Rappels

A) *Enterococcus faecalis*

1) Généralités

Le genre *Enterococcus* fait partie des *Enterococcaceae*, composé d'une soixantaine d'espèces à ce jour dont 16 retrouvées chez l'Homme (10). La grande majorité des infections humaines sont dues à *Enterococcus faecalis* représentant 80 % des espèces isolées au laboratoire.

a) Morphologie et caractères cultureux

A l'examen direct, *E. faecalis* est un cocci à Gram positif ovoïde se disposant préférentiellement en diplocoque, en courtes chaînettes allant de deux à cinq paires en moyenne (Figure 1). Cette bactérie est non exigeante et pousse très bien sur les géloses classiques telles que les géloses au sang de base trypticase-soja ; elle donne des colonies larges bombées à reflet grisâtre. Leur caractère hémolytique est variable allant de l'absence d'hémolyse à la β -hémolyse totale (**Figure 2**, page 17). Elle ne possède pas d'exigence d'atmosphère pouvant la classer dans la catégorie « aéro-anaérobies facultatif » (11,12).

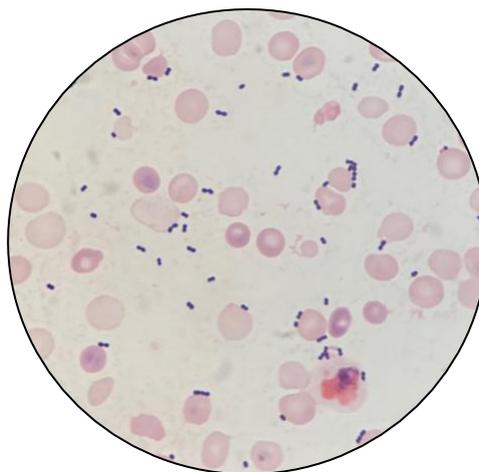


Figure 1 : Examen direct d'une hémoculture positive à Enterococcus faecalis (collection personnelle)

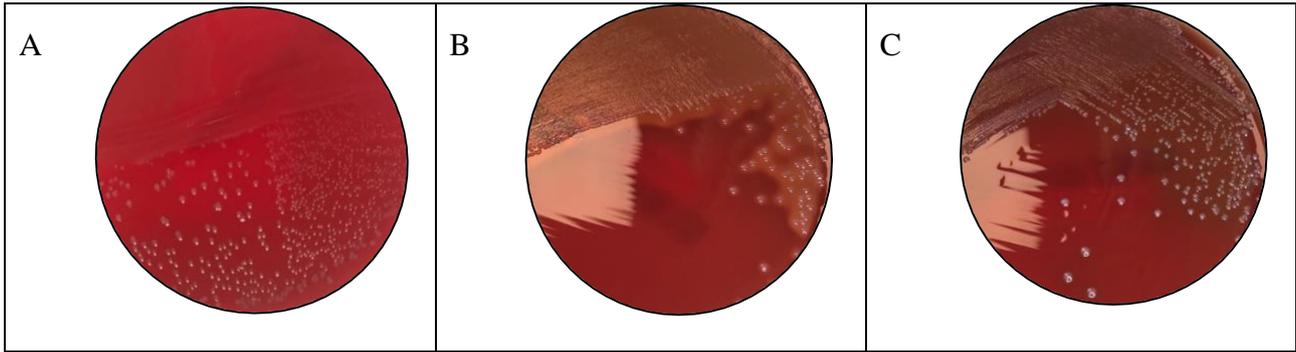


Figure 2 : Cultures positives à Enterococcus faecalis sur gélose au sang : (A) colonies non hémolytiques (B) colonies β -hémolytiques (C) colonies α -hémolytiques

Les entérocoques sont distinguables en routine des autres cocci à Gram positif par :

- leur caractère catalase négative, les classant en dehors des *Staphylococcaceae* ;
- leur pousse sur des milieux ordinaires, hypersalés (6,5 % de NaCl) ou contenant de la bile ;
- leur hydrolyse de l'esculine par une esculinase, plus lente que celle de *Listeria monocytogenes* ;
- leur résistance à l'optochine et à la bacitracine ;
- leur capacité à pouvoir agglutiner dans le séro groupe D de Lancefield (11,13) ce qui les a longtemps classé avec les *Streptococcaceae* jusqu'en 1984 (14).

b) Épidémiologie

E. faecalis fait partie de la flore commensale digestive humaine et animale. Cette espèce est retrouvée tout au long du tractus digestif, représentant moins de 1 % du microbiote intestinal d'un adulte (10). Elle est aussi isolée à partir de prélèvements dans la cavité buccale, les voies respiratoires supérieures, la région périnéale et le vagin (13).

c) Pouvoir pathogène

Les entérocoques ne sont pas des bactéries à haut pouvoir pathogène (10). Leur prévalence élevée en médecine humaine est liée à leur profil de résistance naturelle aux antibiotiques (détaillé dans le chapitre a) ci-dessous), leur capacité à croître au sein de milieux hostiles (hypersalés, présence de sels biliaires, etc.) et à adhérer aux tissus humains *via* les MSCRAMMs (Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) (12).

Les adhésines

Les adhésines sont des protéines situées à la surface des bactéries ayant la capacité d'adhérer aux cellules tissulaires de l'hôte (15).

E. faecalis possède de multiples adhésines lui permettant d'infecter un nombre important de cellules. Ces bactéries sont d'ailleurs capables d'augmenter l'expression de certaines de leurs adhésines, produire un exopolysaccharide afin de résister dans des liquides biologiques et d'échapper au système immunitaire (SI) (16).

Ace

La protéine Ace (adhesin to collagen of *E. faecalis*) est le modèle de MSCRAMMs le plus étudié *in vitro* et *in vivo*. Elle a montré son importance dans la physiopathologie de l'EI par sa capacité à se lier significativement aux collagènes de type I et IV grâce à cette protéine seule (17).

Substances d'agrégation

L'appellation « Substance d'agrégation » représente une famille de protéines structurellement proches. Comme montré dans la **Figure 3** ; elles sont constituées d'un domaine d'agrégation à l'acide lipoteichoïque (noté LTA binding), d'une région variable, d'un autre domaine d'agrégation (noté Central) puis de deux motifs Arginine-Glycine-Asparagine (noté RGD) (18).

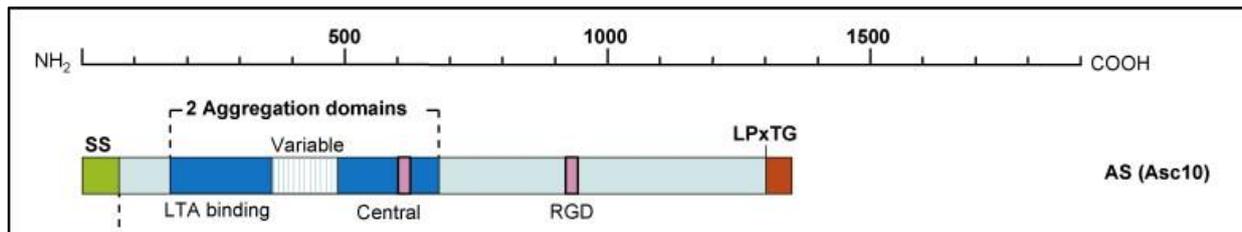


Figure 3 : Structure protéique de la substance d'agrégation Asc10. D'après Hendrickx et al. (18)

Portés par un plasmide, les gènes codant pour ces protéines transmembranaires ont une expression médiée par un système répondant aux phéromones. L'expression de cette adhésine est donc augmentée lorsque la balance « peptide activateur / peptide inhibiteur » est en faveur de l'activation (19,20).

Dans le modèle animal d'EI, les souches productrices d'Asc10 donnaient des végétations de taille significativement plus élevée, pouvant être expliqué par le pouvoir agrégatif de ces molécules formant des macrocolonies (21). Aucune corrélation significative avec le nombre d'Unité Formant Colonie (UFC) dans la végétation n'a cependant été montrée (20,22). Le même constat a été fait concernant une autre substance d'agrégation : Asa1 (23).

Ebp

E. faecalis possède un pilus nommé Ebp.

L'opéron *ebp* (**Figure 5A**) est constitué de trois gènes *ebpA*, *ebpB*, *ebpC* suivis des gènes *srtC* et *srtA* codant pour une sortase, enzyme clé permettant l'assemblage (**Figure 5B, C et D**) et l'ancrage de la protéine à la membrane plasmique bactérienne (**Figure 5E**) (16,24). Le pilus est donc constitué des trois protéines EbpA, B et C (**Figure 4**).

La présence de ces gènes est ubiquitaire chez *E. faecalis* (16,25,26).

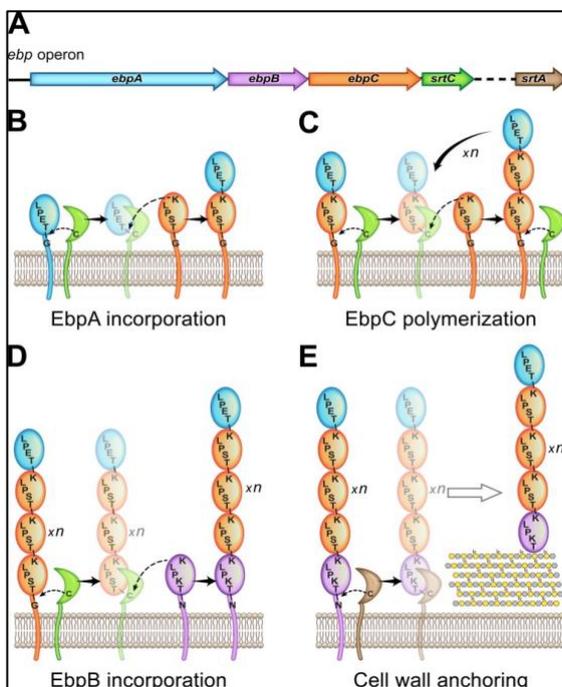


Figure 5 : Schéma de structuration du pili Ebp de *E. faecalis*. D'après Nielsen et al. (24)

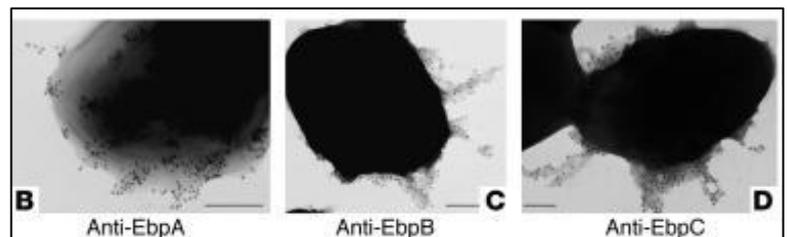


Figure 4 : Expression des protéines EbpA, B et C chez *E. faecalis* (microscopie électronique en transmission après marquage à l'immunogold). D'après Nallapareddy et al. (27)

Ces pili possèdent un rôle clé dans la formation du biofilm, notamment lors de la phase primaire d'adhérence à la surface (16). De plus, ils détiennent la capacité de se lier aux plaquettes, jouant probablement un rôle dans la création de végétations (27).

Esp

Esp (Enterococcal surface protein) est une protéine codée par le gène *esp*, qui s'avère être significativement plus présent chez les souches isolées d'infections humaines (28–30). Néanmoins, le rôle de la protéine dans l'adhérence n'a pas encore été démontré (30).

ElrA

La protéine ElrA (Enterococcal leucine-rich protein A) interagit avec le facteur Willebrand pour former des liaisons entre les bactéries et les plaquettes, avec un rôle probable dans la constitution de végétations (31).

Les adhésines d'intérêt clinique de *E. faecalis* sont résumées dans la **Figure 6**.

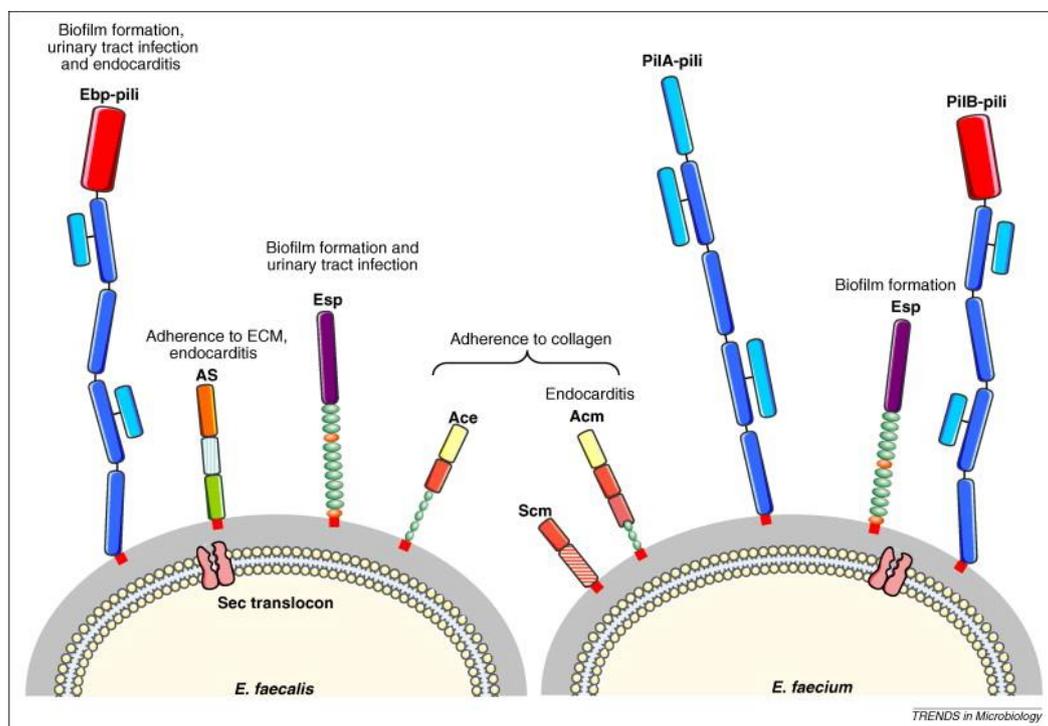


Figure 6 : Schéma récapitulatif des différentes adhésines de *E. faecalis* ayant un rôle dans le pouvoir pathogène. D'après Hendrickx et al. (18)

Capsule

La capsule est une couche externe constituée d'un polysaccharide (**Figure 7**). Ses fonctions sont multiples : elle agit comme une barrière moléculaire, favorise l'adhérence, facilite l'échappement au SI par dissimulation des adhésines (molécules immunogènes) et contribue à la résistance à la phagocytose (32).

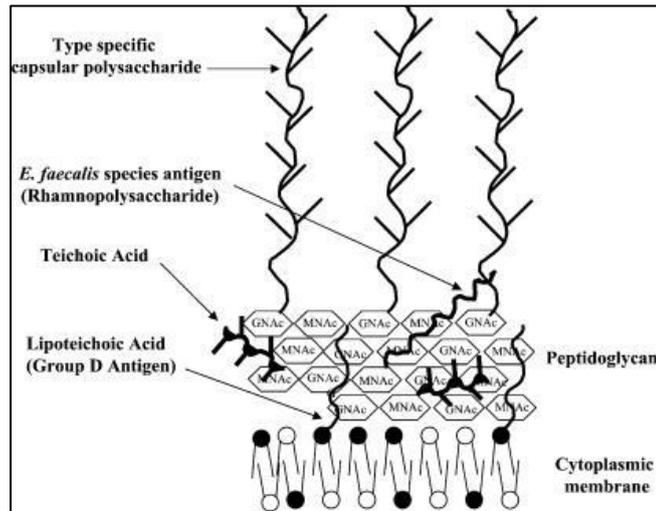


Figure 7 : Schéma proposé de la structure de la membrane externe de *E. faecalis*. D'après Hancock et al. (33)

Quatre sérotypes majeurs de *E. faecalis* ont été identifiés dont le plus prévalent était le sérotype 2 (33). Celui-ci sera renommé par la suite sérotype C en raison de la présence d'un opéron constitué de neuf gènes ; *cpsC*, *cpsD* (...), *cpsK* (les sérotypes A, B et D ne possèdent pas ces neuf gènes) dans le chromosome bactérien (34). Cet opéron code pour un antigène présentant des propriétés capsulaires ; des mutants délétés de cette suite de gènes étaient plus susceptibles à la phagocytose et moins persistants dans un modèle d'infection (infection sous-cutanée chez la souris) (33).

En comparaison à leurs analogues délétés du gène *cpsC* (non-capsulés), les sérotypes C et D confèrent une résistance :

- à la phagocytose médiée par l'opsonisation ;
- à la lyse par le complément (35).

La cytolysine

Chez *E. faecalis*, une cytolysine à large spectre codée par l'opéron *cyl* est active sur les cellules eucaryotes et procaryotes. Son activité bactéricide touche notamment les bactéries lactiques, les autres espèces d'entérocoques et d'autres bactéries à Gram positif (36,37) (**Figure 8**).

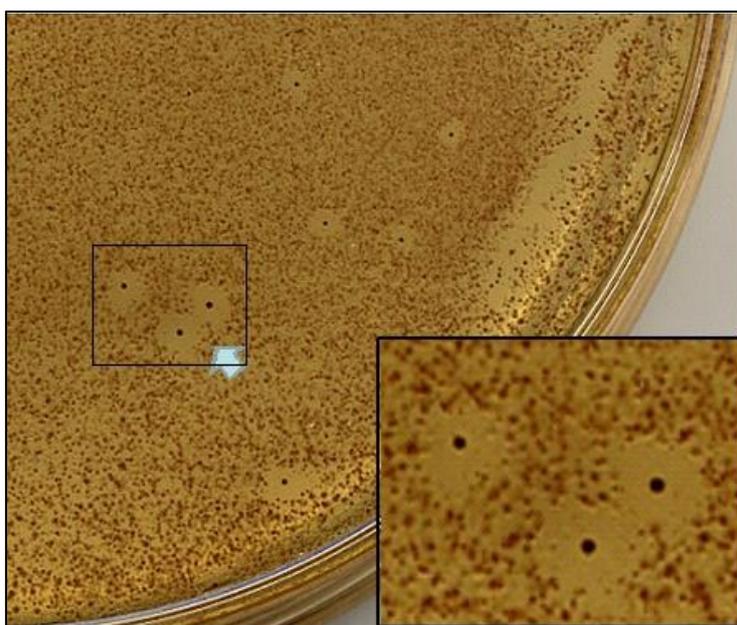


Figure 8 : Visualisation à l'œil nu de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne due à la bactériocine de colonies d'entérocoques (échantillon de selles d'un bébé de 6 mois sur une gélose MRS en anaérobiose).
D'après Ness et al., 2014 (41)

L'opéron *cyl* est constitué de huit gènes ; deux répresseurs *cylR1* et *cylR2* et six gènes structuraux *cylLL*, *cylLs*, *cylM*, *cylB*, *cylA* et *cylI*.

Comme montré dans la **Figure 9** (page 24), les quatre premiers gènes permettent la formation et le transport du composé L, précurseur de la cytolysine. Le gène *cylA* code pour une sérine protéase qui va activer le composé L en extracellulaire (38,39). Ce dernier va former un complexe protéique en forme de pore qui va s'insérer dans la membrane plasmique et entraîner une fuite d'ions et *in fine* la mort cellulaire (40).

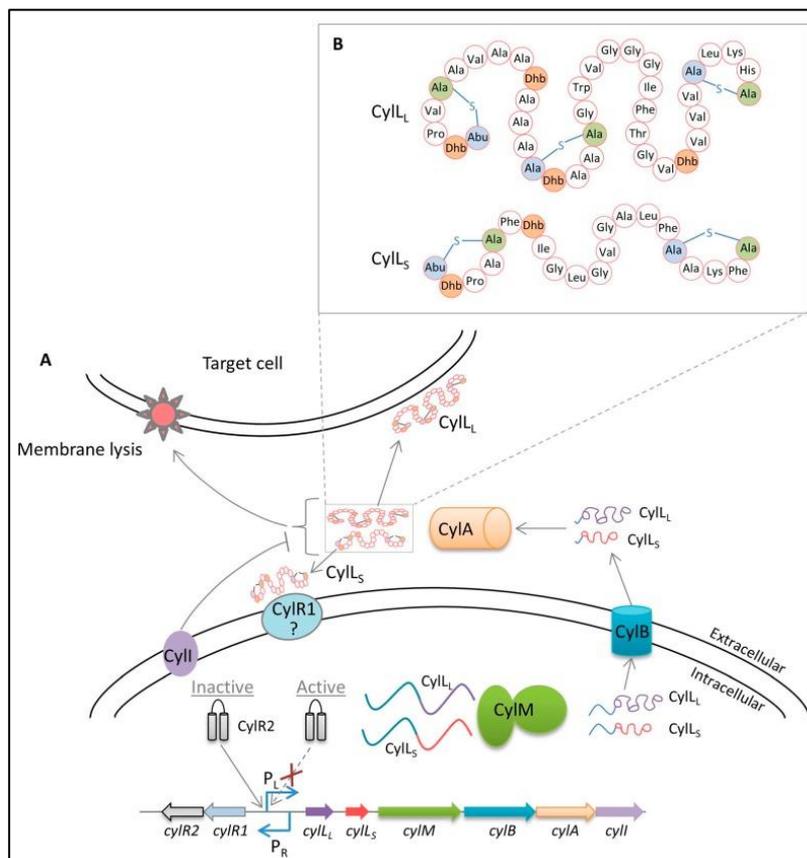


Figure 9 : Schéma explicatif de l'opéron *cyl* codant pour la cytolysine de *E. faecalis*. D'après Ali *et al.* (38)

En 1963, Brocke et Davie ont montré que les activités bactéricide (bactériocine) et hémolytique (hémolysine) étaient liées (36). Cette enzyme est dépendante des conditions physico-chimiques de son environnement. Son activité est inhibée par la chaleur (thermolabile à 60°C) et l'acidité (2h à pH égal à 6,6) (37,41).

Elle est responsable de la lyse cellulaire lors d'infections et associée à une surmortalité dans les modèles humains et animaux (38,40).

La cytolysine est présente chez environ 60 % des souches de *E. faecalis* isolées de prélèvements cliniques (41). Huycke *et al.* ont montré que la sérine protéase qui active la cytolysine était significativement plus présente chez les souches de *E. faecalis* issues de bactériémies que dans celles issues d'endocardites et de selles (42).

Concernant les souches produisant cette cytolysine, l'opéron *cyl* est retrouvé soit sur un plasmide tel que pAD1, soit au sein d'un « îlot de pathogénicité » après insertion d'un élément mobile dans le chromosome bactérien (39,40,43).

Une phosphorylation de la protéine FsrA va ensuite induire la transcription du gène *gelE* codant pour la gélatinase de *E. faecalis* (38).

Chez les souches issues d'infections, l'expression des protéines du système Fsr est augmentée par rapport aux bactéries commensales (49). Les souches possédant une activité enzymatique mesurable de gélatinase possèdent toutes les gènes du système Fsr et *gelE* (50).

Conclusion

Anderson *et al.* ont comparé la fréquence des facteurs de virulence dans des isolats de *E. faecalis* de quatre origines : nourriture, infections nosocomiales, cavité buccale et infections endodontiques. Les souches de la cavité buccale et d'infections nosocomiales étaient celles qui possédaient et exprimaient le plus fréquemment le gène *cylA* codant pour cette hémolysine (51).

Parmi les facteurs de virulence de *E. faecalis*, seuls les gènes de production de la cytotoxine ne sont pas retrouvés dans la totalité des souches (26). Pourtant, le phénotype « Hémolysine positive / Substance d'agrégation positive » semble être un déterminant important de la virulence de ces micro-organismes puisque l'association de ces deux phénotypes augmente significativement la mortalité à trois jours dans un modèle animal d'EI (23). Environ 85 % des souches hémolytiques présentent aussi une capacité d'agrégation donnant la faculté d'adhérer aux valves (11).

Certaines souches ont donc un arsenal protéique les rendant plus susceptibles d'engendrer une infection urinaire ou une endocardite en raison de la présence des adhésines qu'elles expriment à leur surface (52). Ceci démontre que l'adhérence est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène puisqu'il permet d'initier la phase primaire de l'infection (53).

L'expression, seule ou en association, de l'hémolysine, de la gélatinase ou la présence du gène *esp* n'a cependant pas montré d'association significative avec une mortalité plus élevée à 14 jours dans le modèle de bactériémie (54).

Les principaux facteurs de virulence sont résumés dans la **Figure 11**.

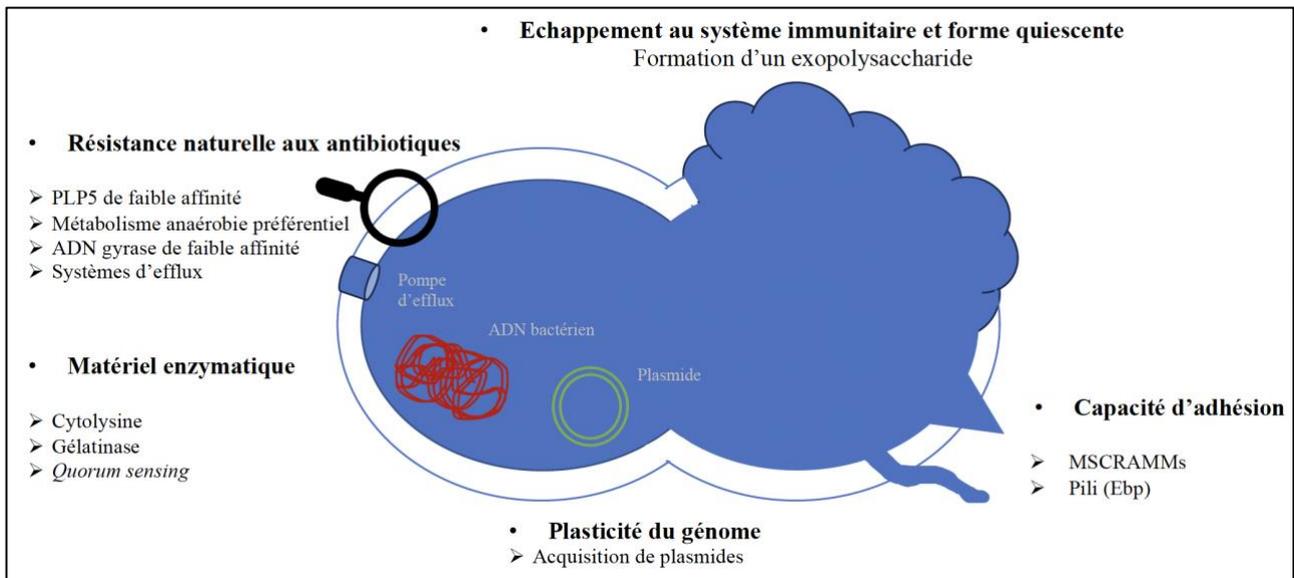


Figure 11 : Schéma des principaux facteurs de virulence de E. faecalis (figure personnelle)

En résumé

- *Enterococcus faecalis* est un **cocci à Gram positif** faisant partie de la famille des *Enterococcaceae* non exigeant qui pousse en atmosphère **aérobie** et **anaérobie**.
- Il est retrouvé tout au long du **tractus digestif humain**.
- L'arsenal protéique de cette bactérie qui explique sa fréquence élevée en médecine humaine réside dans sa **cytolysine**, sa **capsule**, ses **adhésines** et ses mécanismes de régulation génétique (*quorum sensing*).

2) Principales infections à *E. faecalis*

Les infections à entérocoques sont généralement d'origine endogène. Toutefois, les épidémies hospitalières des années 1990 ont montré qu'une diffusion de souches était possible par transmission interhumaine malgré une faible présence sur les mains des soignants (10,55).

Le risque de développer une infection à entérocoques est augmenté en cas de diabète, d'immunosuppression ou de grossesse, possiblement en lien avec l'incidence élevée d'infections urinaires lors de la grossesse (11).

Les entérocoques représentent le 2^{ème} genre bactérien pourvoyeur d'infections associées aux soins (56) (IAS) et posent un problème lors de l'adaptation de l'antibiothérapie en raison de leur nombreuses résistances naturelles (cf. Résistances naturelles de *E. faecalis*, page 37).

a) Infections urinaires

Les *Enterococcus* sp. représentent le 4^{ème} genre bactérien le plus isolé en culture (**Figure 12**) dans les infections urinaires communautaires et le 3^{ème} pour les infections nosocomiales (57,58). La proximité de son réservoir naturel, le tube digestif ainsi que sa capacité à produire un biofilm expliquent sa prévalence élevée lors de la colonisation des sondes urinaires (56).

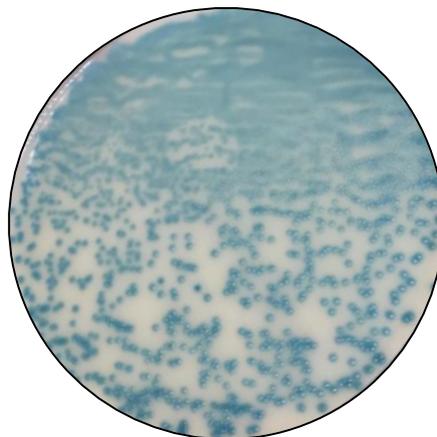


Figure 12 : Culture positive de *E. faecalis* sur une gélose chromogène numérée « supérieure à 10^5 UFC/mL » (photographie personnelle)

En 2013, une étude de Hooton *et al.* a comparé d'une part, la culture d'une urine prélevée en milieu de jet et, d'autre part, celle collectée à partir d'un cathéter urétral. L'étude a montré que chez une même patiente, la corrélation des résultats de culture de *E. faecalis* entre ces deux méthodes était nettement inférieure par rapport à ceux obtenus pour les uropathogènes de groupe 1 (*Escherichia coli* et *Staphylococcus saprophyticus*) (59). En effet, la présence en culture de *E. faecalis* lors d'un examen cytobactériologique des urines (ECBU) prélevé en milieu de jet n'était donc pas systématiquement corrélée à sa présence dans la vessie. En effet, cela peut témoigner d'une contamination par la flore périnéale ou vaginale chez la femme rappelant ainsi la nécessité de l'asepsie qui précède le prélèvement.

La notion de seuil de significativité pour une espèce bactérienne donnée a son importance dans l'interprétation clinico-biologique des infections urinaires (**Tableau 1**).

L'association d'une culture de *E. faecalis* à 10^3 UFC/mL pour un homme ou de 10^4 UFC/mL pour une femme en présence d'une leucocyturie significative est en faveur d'une infection urinaire à cette bactérie (58).

Tableau 1 : Seuils de significativité de la bactériurie en fonction du groupe d'uropathogènes dans les infections urinaires communautaires, après prélèvement en milieu de jet. Adapté du Rémic 7^e édition 2022 (58)

Groupes	Espèces bactériennes	Seuil de significativité	Sexe
1	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	10^3 UFC/mL	Homme ou femme
2	Entérobactéries autres que <i>E.coli</i> , entérocoques (si monomicrobien) , <i>Corynebacterium urealyticum</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Aerococcus urinae</i> (si monomicrobien)	10^3 UFC/mL	Homme
		10^4 UFC/mL	Femme

b) Infections digestives

En raison de sa niche écologique et de sa localisation physiologique dans le tube digestif humain (**Figure 13**), il s'agit d'un agent fréquemment isolé dans les infections digestives (60). Son pouvoir pathogène demeure pourtant mal compris à ce jour. De plus, l'usage d'une antibiothérapie ciblée sur l'entérocoque n'a pas montré de réduction significative de mortalité chez ces patients (61).

Néanmoins, certaines situations cliniques peuvent justifier une couverture antibiotique adaptée aux entérocoques lors d'infections associées aux soins (61) ou chez des patients à risque élevé d'endocardite (62).

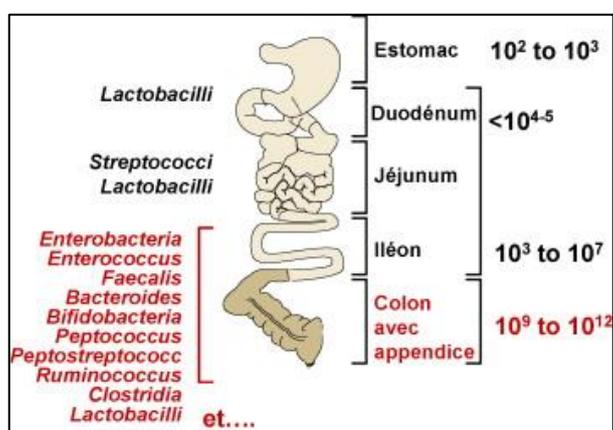


Figure 13 : Répartition des genres bactériens les plus prédominants dans la flore digestive humaine. D'après Goulet (60)

Exemple des cholécystites

La cholécystite est une inflammation de la paroi de la vésicule biliaire faisant suite à une obstruction du canal biliaire, classiquement par un calcul composé de cholestérol et de bile. La vésicule biliaire est un site stérile (63). La présence de bactéries est donc secondaire à une colonisation de cet environnement inflammatoire. Cette hypothèse reposant sur des arguments de logique (proximité de la flore duodénale, absence de bactéries anaérobies strictes) s'avère toutefois contestée (63,64).

Le pourcentage d'*Enterococcus* dans les cultures positives de prélèvements biliaires est de l'ordre de 10 à 20 % (63,64).

Exemple des infections du liquide d'ascite

L'ascite est une collection liquidienne qui s'accumule dans le péritoine par un désordre osmotique dans le compartiment vasculaire. Des bactéries peuvent s'y développer et conduire à une infection du liquide d'ascite aussi appelée péritonite bactérienne spontanée. Les bactéries les plus fréquemment retrouvées sont les entérobactéries en premier lieu, des streptocoques, des entérocoques ainsi que des bactéries anaérobies strictes. La présence d'une flore polymicrobienne en culture évoque plutôt une perforation d'un viscère. *E. faecalis* serait isolé dans environ 10 % des infections du liquide d'ascite (65).

c) Bactériémies

Les bactériémies à entérocoques, appelées parfois « entérococcémie », correspondent à l'isolement en culture d'un *E. faecalis* à partir de sang. Ces hémocultures sont prélevées à partir d'une ponction de sang veineux ou artériel dans un flacon contenant un bouillon de culture enrichi (**Figure 14**). Celui-ci est incubé à une température optimale sous agitation permettant une croissance bactérienne accélérée.



Figure 14 : Flacons d'hémocultures reçus au laboratoire de Bactériologie (photographie personnelle)

Le genre *Enterococcus* est le 3^{ème} genre bactérien le plus représenté dans les bactériémies acquises en milieu hospitalier (66). Une des caractéristiques des bactériémies à entérocoques réside dans la grande prévalence d'infections polymicrobiennes puisqu'elles peuvent représenter 22 à 38 % (67–69).

La porte d'entrée urinaire est souvent suspectée en raison de la grande prévalence de patients porteurs d'une sonde urinaire parmi les patients ayant fait une bactériémie à entérocoque puisque $\frac{3}{4}$ des bactériémies à entérocoques ont été acquises en milieu hospitalier et sont donc des infections nosocomiales (69). Toutefois, l'analyse de la littérature concernant la documentation des portes d'entrée et leur pourcentage pour les bactériémies à *E. faecalis* souligne une grande diversité (**Tableau 2**).

Tableau 2: Portes d'entrée documentées les plus fréquentes d'hémocultures positives à *Enterococcus sp.* d'après la littérature

<u>Publications et années</u>	<u>Porte d'entrée la plus fréquente</u>	<u>Autres</u>	<u>Nombre de patients</u>	<u>Référence</u>
Malone D.A. <i>et al.</i> 1986	Urinaire (24 %)	Abdominale (11 %) Brûlures (11 %)	55	(67)
Lupia T. <i>et al.</i> 2022	Abdominale (21 %)	Pulmonaire (18 %) Urinaire (16 %)	201	(68)
Shlaes D.M. <i>et al.</i> 1981	Urinaire (23 %)	Abdominale (15 %) Brûlures (14 %)	74	(69)
Poh C.H. <i>et al.</i> 2006	Urinaire (31 %)	Abdominal (24 %)	42	(70)
Souhail B. <i>et al.</i> 2019	Urinaire (46 %)	Abdominal (16 %) Dispositif intravasculaire (14 %)	131	(71)
Maki D.G. <i>et al.</i> 1988	Abdominal (44 %)	Urinaire (19 %) Dispositif intravasculaire (16 %)	153	(72)

Les différences observées dans les publications (68) et (72) peuvent s'expliquer par la proportion entre les espèces *E. faecalis* et *E. faecium* ainsi que les critères de recrutement des patients. Dans l'étude de Lupia *et al.*, l'espèce *E. faecium* représentait 48 % des souches contre 10 à 20 % en moyenne dans les autres travaux. Dans l'étude de Maki *et al.*, 48 % des patients avaient un contexte chirurgical récent concernant la sphère digestive.

Dans une revue de la littérature sur les bactériémies dues à *E. faecalis*, la porte d'entrée génito-urinaire représentait 36 % et abdominale pour 30 % (73).

La mortalité jugée élevée des bactériémies à entérocoques peut être expliquée par la multitude de facteurs de risque de complications et de facteurs de comorbidité des patients qui déclarent cette infection. En effet, la mortalité est de l'ordre de 20 % à 14 jours et de 30-40 % à 30 jours après la première hémoculture positive (74,75).

A 30 jours, elle diminuerait significativement lorsque la personne est prise en charge dès son arrivée par une équipe d'infectiologues prescrivant un traitement antibiotique adapté tout en poursuivant le diagnostic et les investigations des complications (ex. de l'EI avec réalisation d'une échographie trans-thoracique (ETT)) (75).

d) Endocardites infectieuses

Les généralités sur l'EI seront détaillées dans le chapitre « Les endocardites infectieuses ».

Concernant la prévalence du genre *Enterococcus* dans les EI, une cohorte internationale de 2013 a rapporté un pourcentage de 10 % (76). A ce jour, ce genre constitue la 3^{ème} étiologie bactérienne la plus pourvoyeuse d'EI. En Europe, elle était estimée à 16 % en 2019 (77) et à 10,5 % en France dans la dernière enquête épidémiologique de 2008 (1).

Toutefois, le pourcentage des entérocoques augmente significativement d'années en années par rapport aux autres genres bactériens avec un taux annuel d'EI qui augmente en parallèle (2,78).

Les entérocoques représentent une proportion beaucoup plus élevée si l'on sépare les EI sur valve prothétique (21,7 %) de celles sur valve native (13,4 %) (77) (**Tableau 3**, page 34).

E. faecalis représente 90 % de toutes les EI à entérocoques (77,79).

Tableau 3: Répartition des principales bactéries documentées dans la cohorte prospective d'endocardites de Habib *et al.* (Supplementary Table 3) (77)

	Total (n =3116)	Prosthesis+Repair (n = 939)	Native (n =1764)	PM/ICD (n = 308)	P-value
Number of positive BC					
N	2461/3116 (79.0 %)	747/939 (79.6 %)	1383/1764 (78.4 %)	233/308 (75.6 %)	0.3482
Methi-S Staphylococcus aureus	595 / 2461 (24.2 %)	134 / 747 (17.9 %)	336 / 1383 (24.3 %)	92 / 233 (39.5 %)	<0.0001
Methi-R Staphylococcus aureus	177 / 2461 (7.2 %)	35 / 747 (4.7 %)	116 / 1383 (8.4 %)	16 / 233 (6.9 %)	0.0060
Methi-S Staph coagulase negative	163 / 2461 (6.6 %)	61 / 747 (8.2 %)	68 / 1383 (4.9 %)	28 / 233 (12.0 %)	0.0001
Methi-R Staph coagulase negative	150 / 2461 (6.1 %)	76 / 747 (10.2 %)	56 / 1383 (4.0 %)	16 / 233 (6.9 %)	<0.0001
Streptococcus viridans	304 / 2461 (12.4 %)	76 / 747 (10.2 %)	209 / 1383 (15.1 %)	6 / 233 (2.6 %)	<0.0001
Enterococcus	390 / 2461 (15.8 %)	162 / 747 (21.7 %)	185 / 1383 (13.4 %)	31 / 233 (13.3 %)	<0.0001
Streptococcus gallolyticus	162 / 2461 (6.6 %)	45 / 747 (6.0 %)	105 / 1383 (7.6 %)	9 / 233 (3.9 %)	0.0709
Gram negative bacillus	86 / 2461 (3.5 %)	18 / 747 (2.4 %)	50 / 1383 (3.6 %)	13 / 233 (5.6 %)	0.0618
Coxiella burnetii IgG anti phase I	26 / 3116 (0.8 %)	10 / 939 (1.1 %)	15 / 1764 (0.9 %)	0 / 308 (0.0 %)	0.1854

Les EI à entérocoques ont un risque de rechute à six mois significativement supérieur aux autres genres bactériens (respectivement 3,5 % contre 1,7 % (p = 0,035)) malgré un traitement bien conduit, conforme aux recommandations nationales ou européennes (80). D'autres cohortes ont trouvé un taux de rechutes plus important avoisinant les 7 % (81,82).

Le diagnostic positif de cancer colorectal (par coloscopie) est 17 fois plus élevé chez les patients ayant une EI à entérocoque dont la porte d'entrée n'est pas identifiée que pour la population du même âge (83). Cet élément est en faveur d'une origine digestive sous-estimée pour ce tableau clinique, notamment chez les patients âgés et comorbides.

A l'inverse, les EI secondaires à une porte d'entrée urinaire d'origine communautaire semblent moins fréquentes (84). En 2004, Anderson *et al.* ont montré un changement d'image de l'endocardite à entérocoque, notamment en raison d'une part grandissante des infections nosocomiales (79).

En résumé

- Les endocardites à entérocoques représentent environ **10 %** des EI.
- Elles sont en **constante augmentation** en raison du vieillissement de la population et demeurent de **diagnostic tardif**.
- Elles sont retrouvées le plus souvent sur **valve prothétique**.
- Elles ont un **risque de rechute supérieur** comparé aux EI à d'autres bactéries.

e) Infections cutanées

E. faecalis peut être responsable de surinfections de plaies et est retrouvé dans les infections de pied diabétique à hauteur de 18 % (85) bien que son pouvoir pathogène soit toujours discuté (86).

3) Traitements des infections à entérocoques

En médecine humaine, les entérocoques posent parfois des problèmes thérapeutiques en raison de leurs résistances naturelles aux antibiotiques utilisés en probabiliste (céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), aminosides). En France, *E. faecalis* se distingue des autres espèces du genre *Enterococcus* par sa sensibilité quasi constante aux aminopénicillines (87).

Le traitement de ces infections repose donc le plus souvent sur l'utilisation de β -lactamines, notamment l'amoxicilline ou l'association pipéracilline-tazobactam, dans les étiologies digestives.

Les données mondiales des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'ampicilline et de l'ECOFF (Epidemiological cut-off value) illustrent cette sensibilité constante aux pénicillines (amoxicilline/ampicilline, pipéracilline, ticarcilline - **Figure 15**).

A l'inverse, l'espèce *E. faecium* se distingue par une majorité de souches ayant des CMI élevées d'ampicilline (70 à 80 % - (88)). Ce mécanisme de résistance est dû, soit à une hyperproduction d'une PLP de faible affinité pour les β -lactamines (rare), soit à la présence d'une ou plusieurs mutations réduisant l'affinité de la PLP à ces molécules (89).

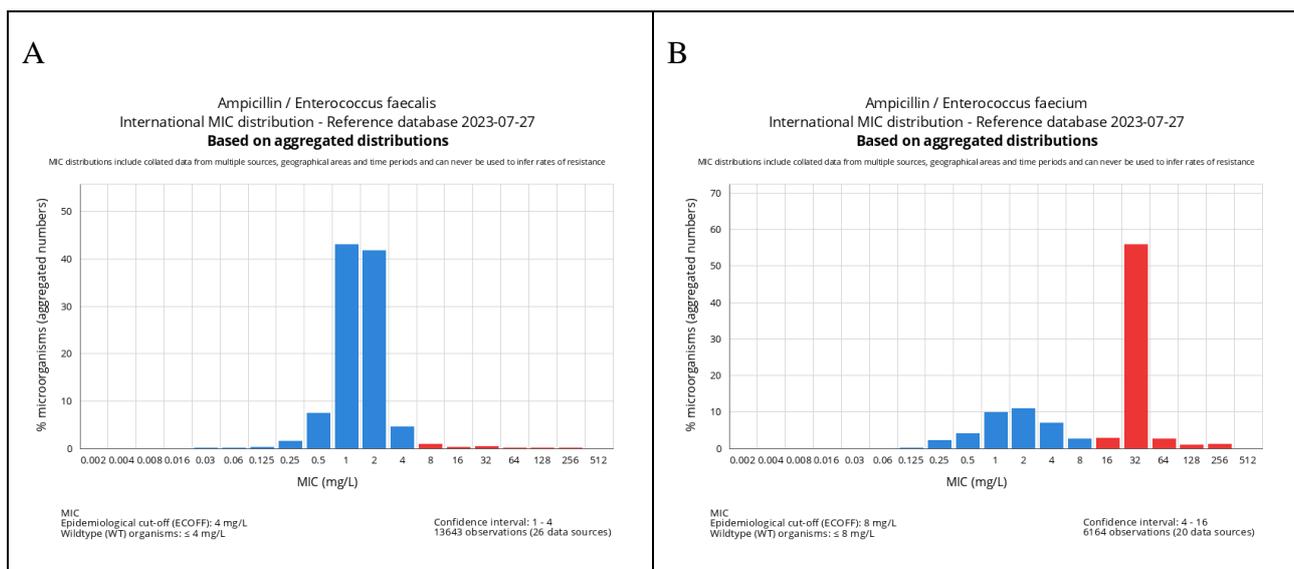


Figure 15 : Comparaison du diagramme de distribution des CMI de l'ampicilline de *E. faecalis* (A) et *E. faecium* (B)
(Source : ECOFF - Juillet 2023 <https://mic.eucast.org/>)

a) Résistances naturelles de *E. faecalis*

i) β -lactamines

Les β -lactamines sont des antibiotiques qui agissent par inhibition de la paroi bactérienne en bloquant la synthèse du peptidoglycane (PG). Leur bactéricidie est temps-dépendante (90).

Malgré des succès thérapeutiques *in vivo* quasi constants, la sensibilité *in vitro* aux β -lactamines des entérocoques est moindre en raison de leur PLP (Protéines Liant les Pénicillines) de faible affinité par rapport au genre *Streptococcus*. Les CMI moyennes de l'ampicilline pour *E. faecalis* sont de l'ordre de 1-2 mg/L, soit 100 fois plus élevé que celles observées pour les streptocoques avec une moyenne à 0,016 mg/L (**Figure 16**).

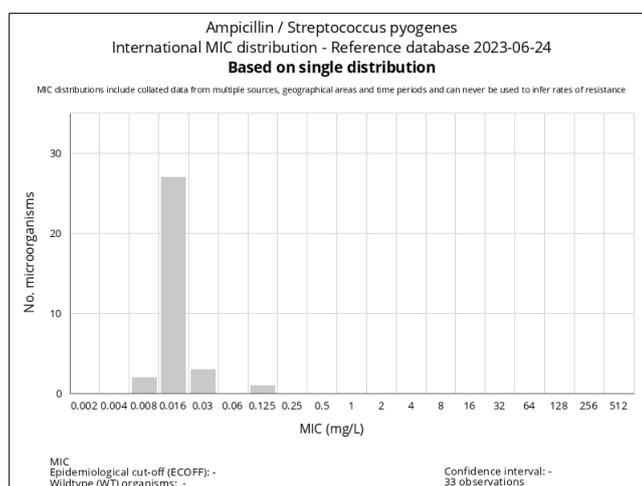


Figure 16 : Diagramme de distribution des CMI de l'ampicilline de *S. pyogenes* (Source : ECOFF - Juin 2023) (<https://mic.eucast.org/>)

E. faecalis possède cinq PLP numérotées de un à cinq. La PLP de type quatre (PLP4, parfois appelée « PLP5 » dans la littérature) est celle qui montre une affinité inférieure aux β -lactamines et semble être la cible préférentielle de ces antibiotiques (91). La **Figure 17** (page 38) montre les CMI moyennes des β -lactamines testées (encadré rouge); elles sont proches des valeurs de la concentration nécessaire pour saturer 50 % de la PLP4 (encadré bleu) ce qui argumente en faveur d'une prédominance de cette PLP par rapport aux autres (91,92).

Récemment, les progrès techniques concernant la séparation des protéines par électrophorèse et la génétique ont permis de mettre en évidence six PLP différentes chez *E. faecalis* (93,94).

Antibiotic (MIC, mg/L)	Concentration (mg/L) required to inhibit by 50% binding to PBP					
	1	2	3	4	5	
Penicillin G	(4)	0.5	0.5	16	8	<0.25
Ampicillin	(2)	4	4	4	2	>128
Cefathiamidine	(2)	4	2	4	2	>128
Cephaloridine	(32)	2	128	16	64	<1
Cephazolin	(64)	128	64	512	64	512

Figure 17 : Affinité de cinq β -lactamines sur les cinq PLP de *E. faecalis*. D'après Chen et al. (91)

La PLP4 est le déterminant majeur de la résistance naturelle aux C3G puisque la CMI de la ceftriaxone est à minima 250 fois plus faible lorsque le gène *pbp4* est délété (Figure 18). Il en est de même pour la ceftaroline ; une céphalosporine de 5^{ème} génération (C5G), avec un facteur 30 de diminution des CMI (95).

Strain	MIC				
	Ampicillin	Penicillin	Ceftriaxone	Imipenem	Ceftaroline
	$\mu\text{g/ml}$				
JH2-2	0.78	1.56	>100	0.78	3.13
JH2-2 Δ <i>pbp4</i>	0.39	0.78	0.39	0.39	<0.098
LS304 Δ <i>pbp4</i> (PBP4)	1.56	6.25	>100	3.13	6.25

Figure 18 : CMI moyennes de cinq β -lactamines chez trois souches de *E. faecalis*. D'après Moon et al. (95)

Le niveau d'affinité de cette PLP majoritaire chez *E. faecalis* aux différentes classes de β -lactamines n'est pas égal ; les CMI moyennes des céphalosporines et des carbapénèmes sont plus élevées comme le témoignent les graphiques de l'ECOFF suivants (Figure 19, page 39).

En effet, la distribution gaussienne des CMI de méropénème et de céfépime de ces souches montre un décalage vers la droite, soit une augmentation des CMI moyennes ce qui témoigne d'une affinité décroissante de ces β -lactamines pour les PLP de *E. faecalis*. On peut donc classer l'affinité de cette PLP par l'ordre croissant suivant : pénicillines puis carbapénèmes puis céphalosporines.

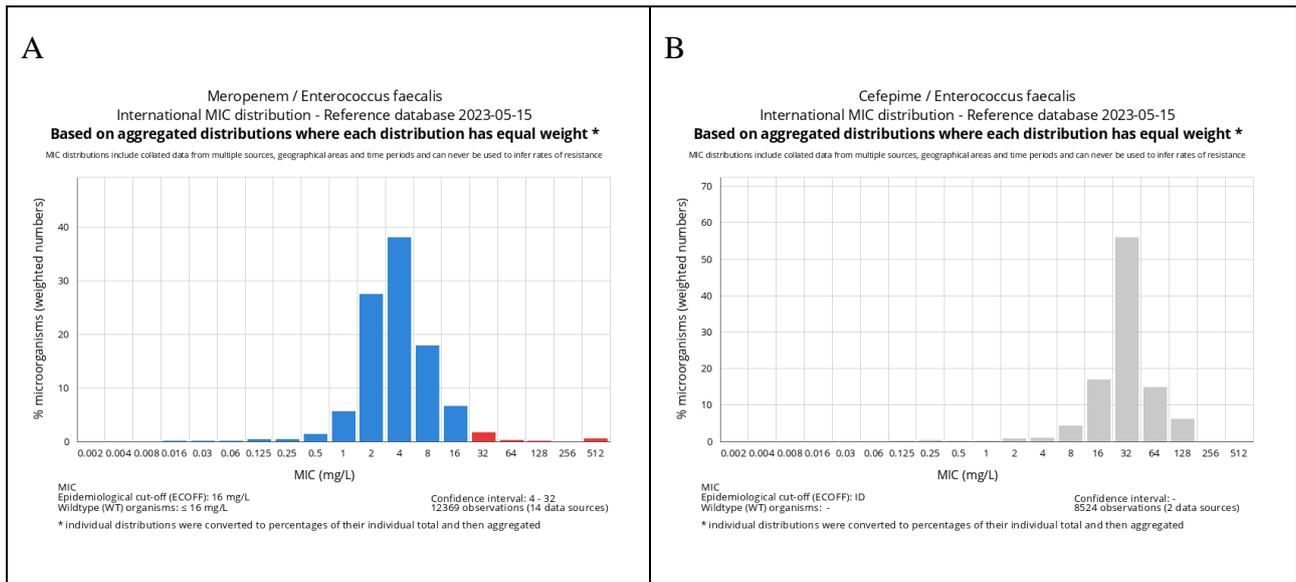


Figure 19 : Comparaison du diagramme de distribution des CMI de *E. faecalis* au mérépénème (A) et au céfépime (B)
(Source : ECOFF - Mai 2023 <https://mic.eucast.org/>)

ii) Aminosides

Les aminosides sont une famille d'antibiotiques bactéricides qui agissent par inhibition de la synthèse protéique par la sous-unité 30S (96).

La résistance naturelle de bas niveau aux aminosides (soit une CMI inférieure ou égale à 512 mg/L pour la streptomycine ou à 128 mg/L pour la gentamicine (97)) s'explique par la nécessité de ces molécules hydrophiles d'utiliser un système de transport afin de pénétrer dans la bactérie pour effectuer leur activité bactéricide (96).

Pour entrer dans le cytoplasme bactérien, la molécule doit emprunter un transporteur d'électrons de la chaîne respiratoire bactérienne. En condition anaérobie, cette protéine est déficiente et ne permet donc pas l'entrée de molécules exogènes par cette voie (96).

Cette résistance de bas niveau peut être levée par l'ajout d'un antibiotique inhibiteur de la synthèse de la paroi bactérienne (par ex. une β -lactamine ou un glycopeptide), permettant ainsi à l'aminoside de pénétrer et d'exercer son mécanisme d'action. Cette synergie s'observe uniquement sur les cellules en division (98).

iii) *Macrolides*

Les macrolides représentent une famille d'antibiotiques bactériostatiques qui agissent par inhibition de la synthèse protéique par la sous-unité 50S (99).

Les streptogramines sont différentes par leur mécanisme d'action en raison de l'association de deux molécules : la streptogramine A (ex. quinupristine ou pristinamycine IIA) et la streptogramine B (ex. dalfopristine ou pristinamycine IA) montrent une synergie bactéricide *in vitro* et *in vivo* en se fixant à deux sur la cible ribosomale. La fixation de la streptogramine A sur la sous-unité 50S induit un changement de la conformation du ribosome ce qui augmente son affinité pour la streptogramine B (100).

Contrairement aux autres entérocoques, les espèces *E. faecalis*, *E. avium*, *E. gallinarum* et *E. casseliflavus* possèdent une résistance naturelle de type LS_A (mécanisme d'efflux actif) aux macrolides (101). Elle induit une résistance aux lincosamides (ex. clindamycine) et à la streptogramine A. Concernant les synergestines, leur activité antibactérienne passe donc d'un mécanisme initialement bactéricide à bactériostatique puisque la streptogramine B n'est pas impactée par ce mécanisme (101).

iv) *Quinolones*

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides qui agissent en perturbant la transcription de l'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) par inhibition des ADN gyrases ou des topoisomérases IV (102).

Tout comme les bactéries à Gram positif, le genre *Enterococcus* est naturellement résistant aux quinolones de 1^{ère} génération (ex. acide nalidixique) en raison d'une faible affinité de leur ADN gyrase pour ces antibiotiques.

E. faecalis possède un gène *qnr*-like codant pour une protéine Qnr qui protège l'ADN gyrase et explique des CMI moyennes aux fluoroquinolones plus élevées que celles des BGN (103). Les CMI de l'ofloxacin pour la souche *Escherichia coli* ATCC (American Type Culture Collection) 25922 sont de 0,03 à 0,06 mg/L, tandis que celles de la souche de *E. faecalis* ATCC 29212 sont de 2 à 4 mg/L (104).

b) Résistances acquises de *E. faecalis*

i) β -lactamines

La résistance aux β -lactamines chez les entérocoques se définit par une CMI en microdilution de l'ampicilline supérieure à 8 mg/L (97). La détermination de la CMI avec cette méthode offre une meilleure corrélation que celle par diffusion (105).

Deux mécanismes de résistance à l'amoxicilline ont été décrits à ce jour chez *E. faecalis* ; l'acquisition d'une pénicillinase (enzyme qui hydrolyse les pénicillines) et des mutations des PLP (89).

L'acquisition d'une pénicillinase entraîne une résistance aux pénicillines (par ex. amoxicilline, pipéracilline). L'ajout d'un inhibiteur de β -lactamase tel que le clavulanate restaure une activité aux pénicillines (106). Ce mécanisme exceptionnel a été décrit sur le continent américain (Etats-Unis, Argentine) et au Liban mais jamais encore décrit en Europe (107). Les associations amoxicilline / acide clavulanique et pipéracilline / tazobactam sont donc toujours actives sur ces souches.

L'étude génomique de ces souches ont montré une similitude entre cette pénicillinase et celle de *Staphylococcus aureus* codée par le gène *bla* sur le transposon Tn 522. Ces éléments argumentent en faveur d'une acquisition de ce mécanisme de résistance par insertion d'un élément transposable (108).

E. faecium possède un gène *psr* (pour « PBP5 synthesis repressor ») en amont du gène *pbp5*. Si le gène *psr* est réprimé, il peut induire une hyperexpression de la PLP5 chez cette bactérie (109). Le même mécanisme de résistance est décrit chez *Enterococcus hirae* (110).

Ce mécanisme d'hyperexpression de PLP de mauvaise affinité chez *Enterococcus faecium* n'a pas été décrit, à ce jour, chez *E. faecalis*. La résistance aux β -lactamines (carbapénèmes et pénicillines) serait due à des mutations au sein de la PLP4 de *E. faecalis* et non pas par un mécanisme lié à un gène répresseur semblable à *psr* bien que ce dernier soit présent dans le génome de *E. faecalis* (111,112).

Les mutations de PLP rapportées chez *E. faecalis* (substitution par une sérine en position 520 et d'une histidine en position 605) concourent à une augmentation des CMI aux β -lactamines (111). Ces mutations entraînent une hausse des CMI moyennes de 16 mg/L des aminopénicillines et de 32 mg/L pour l'imipénème par rapport à la souche de base SEF96 possédant des CMI de l'ordre de 1 mg/L pour ces deux molécules (**Figure 20**) (111).

Strain	MICs (μ g/ml), ampicillin/ imipenem	IC ₅₀ (μ g/ml), ampicillin/ imipenem	Alteration at position:			
			50	369	520	605
SEF96	1/1	0.25/0.25	Tyr	Val	Pro	Tyr
ATCC 29212	1/1	0.25/0.125		Ala		
SVR 250	1/0.5	1/0.25	Ile			
SVR 251	1/0.5	0.25/0.5	Ile			
SVR 34	8/4	4/4				His
SVR 138	8/4	4/4				His
SVR 1110	16/32	8/32			Ser	His
SVR 1119	16/32	8/32			Ser	His

Figure 20 : CMI de l'ampicilline et l'imipénème chez plusieurs souches de E. faecalis possédant des mutations sur le gène pbp4. D'après Ono et al. (111)

La résistance aux aminopénicillines chez *E. faecalis* en France représentait 0,2 % des souches en France en 2021 (88). Ce pourcentage est stable comme le montre le

Tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4 : Pourcentage de sensibilité de E. faecalis à l'ampicilline de 2015 à 2019. Réseau ONERBA (87)

	2015		2016		2017		2018		2019	
	n	%S								
Ampicilline	1486	99,9 %	1705	99,9 %	1657	99,5 %	1671	99,7 %	1586	99,6 %

Ce pourcentage est bien plus faible comparé à celui du continent américain puisque des pays comme le Mexique rapportent une résistance aux aminopénicillines de l'ordre de 5,3 % dans les bactériémies à entérocoques (CMI supérieure ou égale à 16 mg/L d'après le *Clinical and Laboratory Standard Institute criteria* (CLSI M100)) (113).

Le caractère acquis de ce mécanisme de résistance est le plus probable. Dans une étude de Castillo-Rojas G *et al.* faite dans la ville de Mexico, 36 souches de *E. faecalis* ont été isolées dans des réseaux d'eaux urbains et comparées à 17 souches isolées de prélèvements cliniques au regard de leur phénotype de résistance aux antibiotiques (114). Concernant les β -lactamines, la différence n'était pas statistiquement significative. Cependant, le pourcentage de résistance aux aminopénicillines (CMI supérieure ou égale à 16 mg/L) était de 0 % (0/36) chez les souches isolées des eaux usées contre 11,8 % (2/17) chez les souches isolées de patients (114).

ii) Aminosides

La résistance acquise aux aminosides, appelée résistance de haut niveau (soit une CMI de la gentamicine supérieure à 128 mg/L (97)) sont dues à des enzymes qui transfèrent des groupements moléculaires (phosphate, nucléotide, acétyl, etc...) sur ces antibiotiques (**Figure 21**) (96,115).

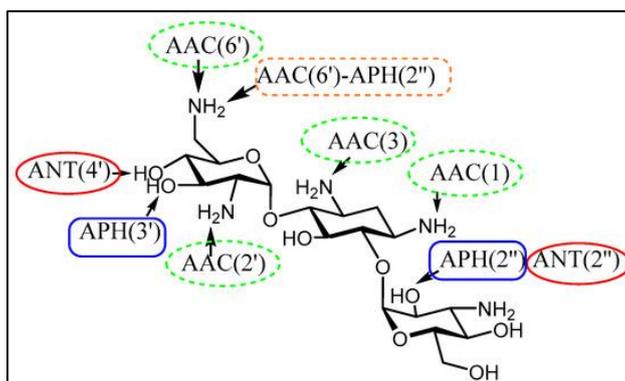


Figure 21 : Sites d'action des différentes enzymes modifiant les aminosides. D'après Zárate *et al.* (115)

Il en résulte une absence de synergie lors de leur utilisation en association avec des inhibiteurs de paroi (98,116). L'enzyme retrouvée majoritairement chez *E. faecalis* est l'AAC(6')-APH(2'') (96,116,117). Elle possède une activité bifonctionnelle de type acétyltransférase et phosphotransférase (118). Le support génétique est un transposon nommé Tn4001, déjà rapporté comme source de résistance aux aminosides chez *S. aureus* (116,117).

En 2019, la résistance de haut niveau aux aminosides représentait 12 % des souches en France (88). Ce taux est en baisse depuis 2011 et semble se stabiliser.

iii) Glycopeptides

Contrairement à trois espèces d'entérocoques (*Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus flavescens* et *Enterococcus gallinarum*), *E. faecalis* est naturellement sensible aux glycopeptides (119).

Les glycopeptides sont des antibiotiques bactéricides qui perturbent la synthèse de la paroi bactérienne en venant se lier au motif terminal D-Ala-D-Ala (**Figure 22B**) ce qui empêche la fixation des PLP (carboxypeptidase et transpeptidase) par encombrement stérique (**Figure 22C**) (119,120).

L'acquisition de l'opéron *vanA* ou *vanB* confère une résistance inductible aux glycopeptides de haut niveau pour le premier et variable pour le deuxième. Les CMI atteintes pour la vancomycine sont supérieures à 4 mg/L et supérieures à 2 mg/L pour la teicoplanine (97).

La résistance s'opère grâce à l'action de deux enzymes ; une déshydrogénase VanH (**Figure 22A**) qui réduit le pyruvate en lactate et une ligase VanA (**Figure 22D**) permettant d'intégrer le D-Lactate à la place de la D-Alanine dans le pentapeptide du PG (119). Cette substitution entraîne une baisse de l'affinité de la vancomycine à sa cible d'un facteur 1000 (**Figure 22E**) mais n'impacte pas l'action des autres inhibiteurs de la paroi bactérienne (β -lactamines, fosfomycine, daptomycine) (121,122).

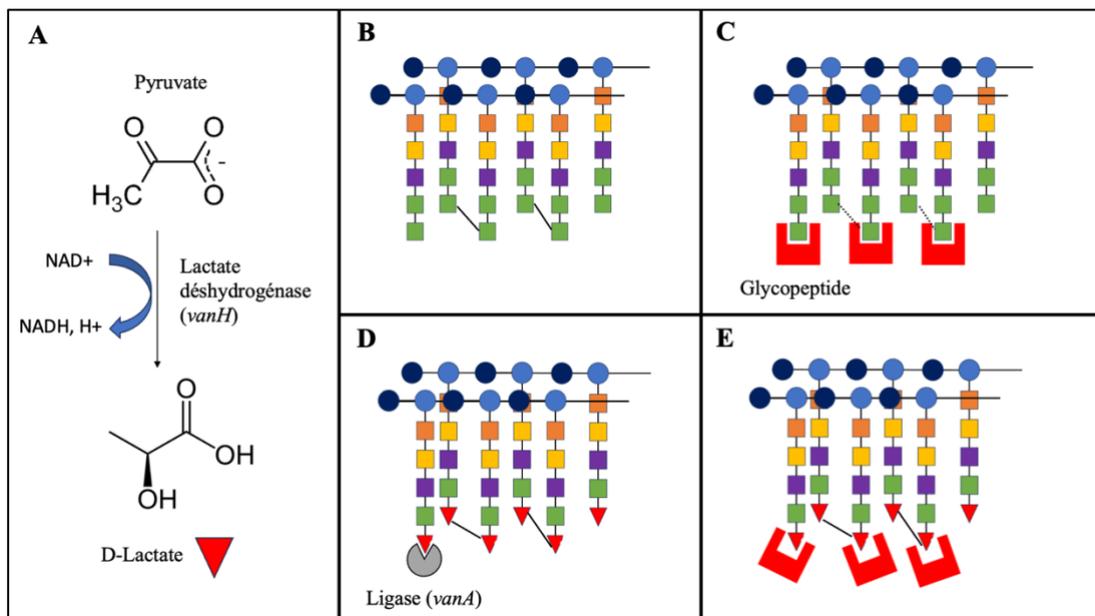


Figure 22 : Schéma de l'action de l'opéron *van* sur la synthèse du peptidoglycane (figure personnelle)

En 2021, la France ne comptait aucune souche de *E. faecalis* résistante aux glycopeptides (88).

iv) *Macrolides*

En plus de la résistance naturelle, d'autres mécanismes enzymatiques (gène *erm* codant pour une méthylase) ou d'efflux (gène *mefA* codant pour une pompe transmembranaire) peuvent conduire à une résistance aux trois grandes classes de macrolides (5).

Le gène *erm* code pour une méthylase responsable du phénotype MLS_B induisant une résistance aux macrolides (ex. érythromycine), aux lincosamides et à la streptogramine B (100).

En raison du phénotype sauvage LS_A de *E. faecalis*, l'acquisition du gène *erm* induit donc une résistance élevée (soit une CMI supérieure à 0,5 mg/L pour l'érythromycine et 1 mg/L pour la pristinamycine) à toutes les classes de macrolides (123).

v) *Quinolones*

La résistance aux fluoroquinolones (2^{ème} génération et plus) peut apparaître par deux mécanismes bien décrits ; protection de la cible (mutation des gènes *parC* et *gyrA*) et mécanisme d'efflux (pompes EmeA et EfrAB (124)) (5).

La lévofloxacine est catégorisée résistante lorsque sa CMI est supérieure à 4 mg/L (97).

vi) *Cyclines*

Les cyclines peuvent perdre leur activité par deux mécanismes différents, soit par efflux actif, soit par acquisition d'une protéine de protection ribosomale. Le gène *tet* code pour la protéine membranaire Tet dont l'expression est inductible et peut donner lieu à une résistance à la tétracycline (13).

La modification de cible donne lieu à une résistance croisée tétracycline et minocycline tout en gardant une sensibilité pour la tigécycline (125).

La pompe d'efflux EfrAB possède, en plus des quinolones, une affinité pour la tétracycline (124).

La résistance à la tigécycline est définie par une CMI supérieure à 0,25 mg/L (97).

vii) *Oxazolidinones*

Le linézolide et le tédizolide sont les deux représentants majeurs des oxazolidinones. Il s'agit d'une classe d'antibiotiques bactériostatiques qui agit par inhibition de la synthèse protéique ; la molécule se fixe à la sous-unité 50S ribosomale ce qui empêche la formation du complexe 70S (126).

Communément à toutes les bactéries Gram positif, la résistance acquise au linézolide (CMI supérieure à 4 mg/L (97)) est due à deux mécanismes principaux :

- la méthylase codée par le gène *cfr* entraînant une résistance non-croisée au tédizolide
- les mutations de l'ADN ribosomal 23S qui peut toucher les deux représentants des oxazolidinones mais dépend du nombre de mutations présentes, notamment la G2576U dans le domaine V de l'ARN ribosomal (127).

Un troisième mécanisme est aussi décrit ; le gène *optrA*, de transmission plasmidique, code pour un transporteur transmembranaire de type ABC qui va entraîner l'efflux de la molécule en dehors de la bactérie (128).

viii) *Daptomycine*

La daptomycine est un lipoglycopeptide cationique qui, en présence de calcium ionisé, va interagir avec la membrane plasmique des bactéries à Gram positif et former des pores dans celle-ci entraînant une fuite potassique et la mort de la bactérie (129).

La résistance à la daptomycine (CMI supérieure à 2 mg/L (97)) chez *E. faecalis* est majoritairement due à un mécanisme dit de « diversion » en cachant les phospholipides membranaires chargés négativement à l'aide de protéines membranaires (130). Mais bien d'autres mécanismes sont sujets à faire augmenter la CMI de la daptomycine chez cette espèce (131).

Il n'existe pas de méthode parfaite pour réaliser l'antibiogramme de *E. faecalis*. Toutefois, l'antibiogramme en milieu liquide (**Figure 23**) permet une évaluation des principales molécules d'intérêt. Toutes les techniques ne permettent pas toujours de détecter toutes les résistances naturelles ou acquises chez les entérocoques avec certitude (132).

Germe		Enterococcus faecalis		Résultats AES		Concordant		
Phénotypes sélectionnés pour vérification		Aucun élément détecté		AST-P667!				
Antibiotique	CMI	INT	Antibiotique	CMI	INT	Antibiotique	CMI	INT
<input type="checkbox"/> Benzylpénicilline			<input type="checkbox"/> Tétracycline	≤0,5	S	<input type="checkbox"/> Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	≤10	R
<input type="checkbox"/> Ampicilline	≤2	S	<input type="checkbox"/> Daptomycine	2	S	<input type="checkbox"/> Linézolide	2	S
<input type="checkbox"/> Haut niveau de résistance à la gentamicine	NEG	-	<input type="checkbox"/> Érythromycine			<input type="checkbox"/> Nitrofurantoïne	≤16	S
<input type="checkbox"/> Ciprofloxacine			<input type="checkbox"/> Clindamycine	(-)	(-)	<input type="checkbox"/> Rifampicine		
<input type="checkbox"/> Lévofloxacine	1	S	<input type="checkbox"/> Quinupristine/ dalfopristine			<input type="checkbox"/> Chloramphénicol	≤4	S
<input type="checkbox"/> Vancomycine	1	S	<input type="checkbox"/> Tigecycline	≤0,12	S			

Figure 23 : Antibiogramme en microdilution (Vitek 2XL) d'une souche de *Enterococcus faecalis*

En résumé

- Les **pénicillines** et les **carbapénèmes** sont les β -lactamines les plus actives sur *E. faecalis*.
- *E. faecalis* est **naturellement résistant aux C3G** en raison de sa **PLP4** de mauvaise affinité.
- La résistance acquise aux β -lactamines et aux glycopeptides est **exceptionnelle** chez *E. faecalis* en France.
- La résistance de haut niveau aux aminosides entraîne une **perte de la synergie** avec les β -lactamines.
- L'acquisition de résistances se fait majoritairement par des mécanismes d'**acceptation d'éléments génétiques mobiles** (plasmides, transposons).

B) Les endocardites infectieuses

Une EI est une infection de la partie la plus interne du tissu cardiaque : l'endocarde. Elle peut toucher une ou plusieurs valves cardiaques, qu'elles soient natives ou prothétiques. Elle peut aussi concerner un dispositif intracardiaque implanté (133,134).

1) Épidémiologie

Le dernier bulletin épidémiologique de l'EI en France date de 2013 (données allant de 1991 à 2008). Il montre une incidence annuelle stable de 32,4 cas par million d'habitants et un sexe ratio de 3,2 (Homme/Femme). L'origine de l'EI est communautaire dans plus de deux tiers des cas (73,3 %).

Concernant la microbiologie de ces infections, les bactéries à Gram positif représentent la grande majorité (> 80 %). Des bactéries intracellulaires peuvent aussi être à l'origine d'une endocardite et plus anecdotiquement des levures.

Les EI sont souvent divisées en deux groupes : les EI sur valve native (VN) et celles sur matériel (valve prothétique (VP), dispositif intra-cardiaque (DIC)). Elles divergent sur plusieurs aspects, notamment la démographie des patients, les antécédents cliniques personnels ainsi que la documentation microbiologique (77). Les EI touchent majoritairement le cœur gauche (environ 80 % des EI totales), soit les valves mitrales et/ou aortiques (1).

2) Physiopathologie

Physiologiquement, la surface externe de l'endocarde ne permet pas la colonisation de ce tissu par les bactéries (135). La perte d'intégrité de l'endocarde et la survenue d'une bactériémie sont les deux événements majeurs menant à une EI (133,134).

L'endothélium endocardique peut se léser secondairement à plusieurs mécanismes pathologiques : stress oxydant prolongé, anomalie congénitale, maladies auto-immunes, cancer, situation d'hypercoagulabilité ou traumatisme.

Il en résulte la formation d'un thrombus composé de plaquettes et de fibrine, cette phase est appelée « endocardite thrombotique non-bactérienne » (ETNB) (136). Le thrombus est un complexe protéique poreux auquel les bactéries vont pouvoir adhérer et s'y développer facilement (137).

Un épisode de bactériémie ou de fungémie à la suite d'une ETNB permet à l'agent pathogène d'adhérer au tissu préalablement lésé (134,135,137,138) et va entretenir la destruction cellulaire de cette lésion. En effet, il existe dans un thrombus de nombreuses cibles des adhésines bactériennes (cf. Pouvoir pathogène, pages 18-21) puisqu'il est composé de plaquettes activées, de fibrine et du facteur von Willebrand.

Ces événements sont résumés dans la **Figure 24**.

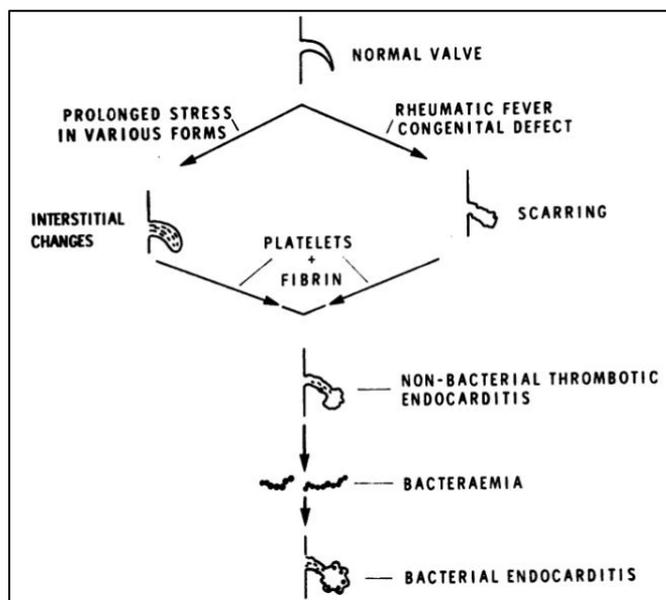
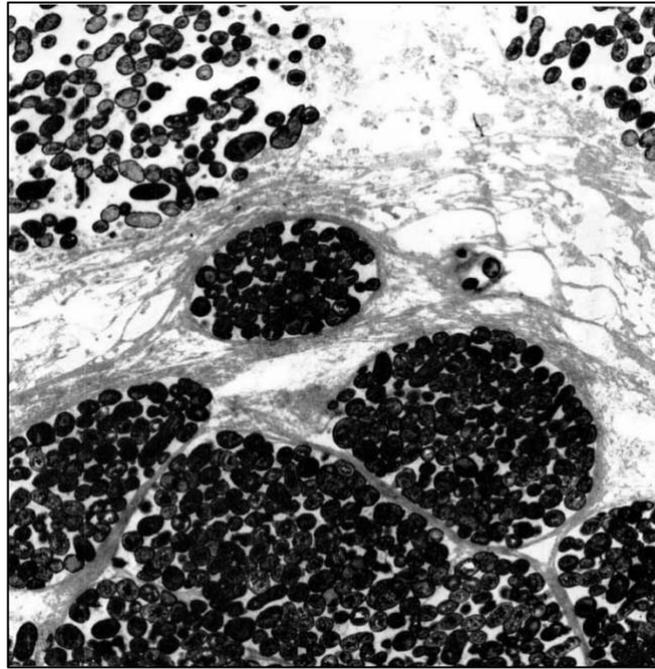


Figure 24 : Schéma proposé de la physiopathologie de l'endocardite infectieuse. D'après Durack et al. (137)

Les bactéries vont d'abord coloniser la partie la plus externe de l'endocarde afin de s'y multiplier puis elles vont se recouvrir d'une couche de fibrine supplémentaire lorsque la densité bactérienne a atteint un certain niveau (**Figure 25**, page 50) (137). La production de fibrine peut être expliquée par la capacité de *E. faecalis* à induire la production de facteur tissulaire par les cellules environnantes et donc d'activer la cascade de coagulation par la voie extrinsèque (139).



*Figure 25 : Coupe histologique vue au microscope électronique ($\times 7800$) de tissu cardiaque 24h après une injection de 10^{10} UFC/mL de *Streptococcus sanguis* en intraveineuse. D'après Durack et al. (140)*

Cette couche additionnelle inhibe la mobilité des cellules phagocytaires, les empêchant d'atteindre l'inoculum bactérien (140). Les cellules du SI capables de phagocytose ne peuvent donc pas pénétrer dans le thrombus en raison de leur taille trop importante, ce qui est un avantage pour les bactéries (137,140).

Il n'a pas été montré à ce jour que la capacité à produire du biofilm était un déterminant majeur dans la physiopathologie de l'EI (54). Cette thèse est tout de même soutenue par plusieurs publications (16,45,54,141). L'importance de ce facteur de virulence dans la physiopathologie des EI sur matériel est plus plausible (142,143). En effet, la production de biofilm est corrélée à une durée de bactériémie plus soutenue observée dans un modèle d'EI à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) (144).

Une réponse immunitaire innée s'effectue dans les premières heures de l'infection avec une infiltration de leucocytes au niveau apical du tissu cardiaque et à la surface de la végétation (145,146).

Au fur et à mesure de la formation de la végétation, les bactéries les plus basales vont entrer dans une phase de métabolisme ralenti les rendant moins sensibles aux antibiotiques.

Cependant, elles sont capables de reprendre une croissance et peuvent entraîner une rechute après l'arrêt des traitements antibiotiques (140,146).

La réorganisation de la lésion met plusieurs semaines afin de se capillariser et de permettre aux cellules phagocytaires d'atteindre les populations bactériennes tissulaires (146).

La physiopathologie de l'EI est résumée dans la **Figure 26**.

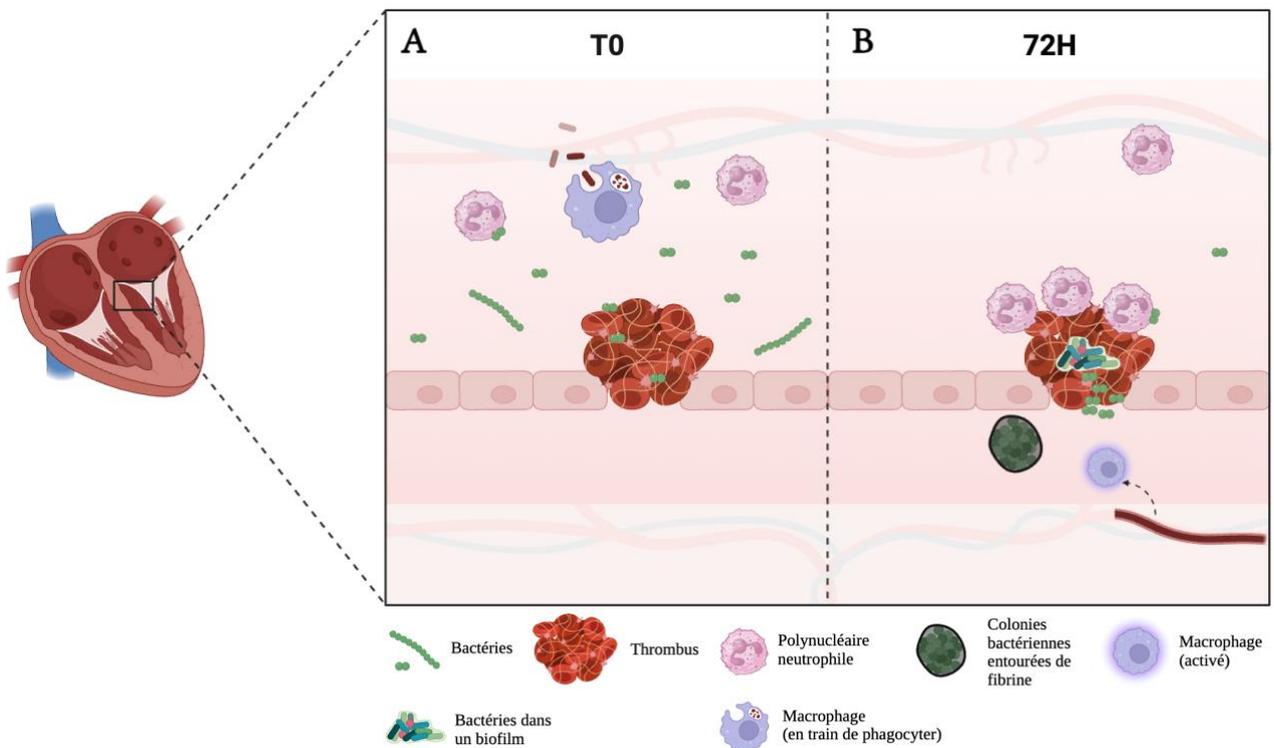


Figure 26 : Schéma proposé de la physiopathologie de l'EI. (A) Phase de bactériémie précoce (B) Phase de colonisation du thrombus et apparition de colonies « dormantes » dans le sous-endothélium. (figure personnelle créée sur biorender.com)

Ces éléments de physiopathologie permettent de mieux comprendre les facteurs de risque liés à l'EI. Les facteurs de risque majeurs de l'EI sont :

- une cardiopathie structurale préexistante ;
- un antécédent personnel d'endocardite ;
- une valve prothétique ou du matériel prothétique intra-cardiaque (sonde de pacemaker ou défibrillateur automatique implantable) (6).

Les facteurs de sur-risque observés sont un âge supérieur à 60 ans, le sexe masculin, l'usage de drogues intraveineuses, l'hémodialyse, le port de cathéter, une plaie cutanée chronique, ou encore une mauvaise hygiène buccodentaire (147).

En résumé

- L'EI est la résultante de deux acteurs : l'**endocarde** et la **bactérie**.
- Le tissu endocardique lésé entraîne la formation d'un **complexe fibrineux poreux propice à la colonisation** par des bactéries.
- Ces bactéries doivent être **capables d'adhérer** à ce maillage protéique, de **contrer le SI** (échappement à la phagocytose, au complément, aux enzymes plasmatiques) et de s'y développer malgré le flux sanguin.
- Une fois en phase de croissance, les bactéries peuvent **lyser** les cellules du sous-endothélium pour s'y développer et y **former des colonies**.
- Ces **colonies « dormantes »** peuvent donner lieu à des **rechutes** en se réactivant après un arrêt de l'antibiothérapie.

3) Diagnostic

Le diagnostic de l'EI repose sur les recommandations issues des publications de médecins de l'université de Duke (Durham, Caroline du Nord) qui ont proposé les critères de Duke (148–150) classant les suspicions d'EI en « certaines », « possibles » et « rejetées ».

Cette classification fait appel à plusieurs disciplines médicales telles que la clinique, la microbiologie, l'imagerie médicale, la chirurgie et l'anatomopathologie.

En 1994, les premiers critères de Duke (148) ont été publiés et offraient une meilleure sensibilité comparé à ceux de von Reyn (151). Les critères de Duke seront ensuite modifiés en 2000 (149) dans une optique d'augmenter la sensibilité du diagnostic tout en évitant de diminuer la spécificité.

L'épidémiologie des EI ayant changé au cours des 20 dernières années (1,2,84,152), une actualisation vient d'être publiée en 2023 (150).

L'ensemble des critères de Duke apparaissent dans les recommandations du diagnostic de l'EI de l'European Society of Cardiology (ESC) de 2015 (6). Toutefois, il est noté que la sensibilité de ces critères concernant les endocardites sur VP, avec pacemaker ou défibrillateur était inférieure (30 % de cas non concluants) à celle sur VN (153).

Les preuves microbiologiques et/ou anatomopathologiques, d'imagerie et de chirurgie constituent les critères majeurs. Les critères mineurs sont composés de signes cliniques ainsi que des critères d'imagerie et de microbiologie au niveau de preuve insuffisant pour affirmer une EI à eux seuls (150).

Les critères majeurs et mineurs de Duke sont disponibles dans l'**Annexe 1**, page 120.

a) Clinique

Les termes « EI aiguë » et « EI subaiguë » sont désuets, on qualifie les EI en fonction de la nature de la valve (native ou prothétique) et de l'origine de l'acquisition (communautaire ou nosocomiale).

La fièvre est le signe clinique le plus fréquent de l'EI (77 à 96 % des cas (6,147)) et le moins spécifique (6). L'apparition d'un souffle cardiaque non connu auparavant est le signe le plus spécifique mais n'est retrouvé que dans la moitié des cas des EI (152). Une hématurie, l'aggravation d'un murmure cardiaque, une insuffisance cardiaque congestive, un événement thrombo-embolique artériel et une splénomégalie sont les autres signes cliniques les plus fréquemment observés à l'admission de ces patients (152).

Ces symptômes ne peuvent pas à eux seuls poser le diagnostic certain d'EI en raison de leur spécificité insuffisante et sont donc des critères mineurs de Duke (6,133).

b) Biologique

La pierre angulaire du diagnostic microbiologique d'une EI est l'hémoculture. Le dosage de la protéine C réactive (CRP), marqueur non spécifique d'inflammation, est élevé dans 62 % des cas (152).

La réalisation de trois paires d'hémocultures aérobie et anaérobie avec un volume suffisant (10 mL par flacon soit 60 mL au total) ponctionnées après une aseptie rigoureuse du point de ponction montre une sensibilité proche de 100 % (154). Ces prélèvements doivent s'effectuer avant toute antibiothérapie préalable. Il n'est pas nécessaire d'attendre la présence d'un pic fébrile chez le patient d'autant plus que la bactériémie liée à une endocardite est d'allure constante (155).

Dans 10 % des cas, les premières séries d'hémocultures sont stériles et la suspicion d'un EI à hémoculture négatives justifie un bilan de deuxième intention comprenant des sérologies infectieuses à la recherche de *Coxiella* et *Bartonella* puis *Brucella*, *Mycoplasma*, *Legionella* et *Chlamydia*.

Les germes du groupe HACEK dits « à croissance lente » ne sont pas significativement plus retrouvés lors de la prolongation des hémocultures à 14 jours (156).

Le critère microbiologique de certitude d'une EI est la positivité de la culture du prélèvement peropératoire de la valve suspecte (150).

La culture d'un prélèvement de valve passe par une étape pré-analytique de broyage avec des billes afin de lyser les tissus et de remettre en suspension les bactéries intratissulaires. L'ensemencement de cette suspension sera effectué sur *a minima* deux milieux enrichis (gélose au sang et au sang cuit) en aérobie ainsi qu'un bouillon d'enrichissement.

Un flacon d'hémoculture de type anaérobie permet d'augmenter la sensibilité surtout pour les germes à croissance lente (groupe HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter* / *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* et *Kingella*) et *Cutibacterium sp.*).

Les cultures sont gardées sept jours au minimum, le flacon d'hémoculture est incubé 14 jours (157).

Toutes ces étapes sont résumées dans la **Figure 27**.

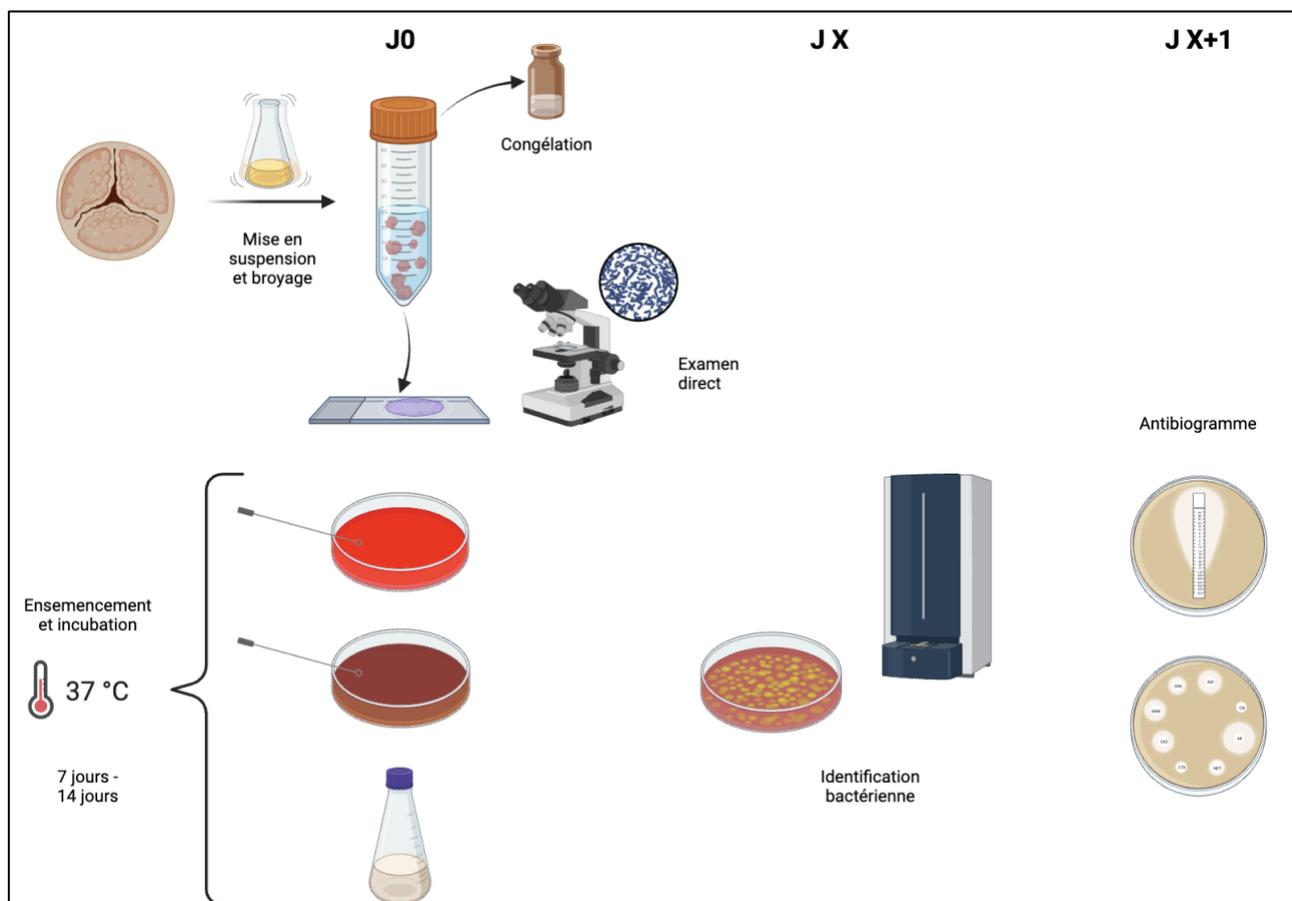


Figure 27 : Schéma de l'analyse bactériologique d'un prélèvement peropératoire de valve (figure créée sur biorender.com)

E. faecalis a été ajouté dans la liste des pathogènes « causant typiquement des EI » (voir **Annexe 1**, page 120) dans les critères de 2023 quels que soient la porte d'entrée et le contexte clinique. Sa présence dans des hémocultures en présence de signes cliniques d'EI est donc devenu un critère majeur (109).

c) Imagerie

Les techniques d'imagerie pour le diagnostic de l'EI les plus utilisées sont l'échographie trans-thoracique (ETT) et l'échographie trans-oesophagienne (ETO) en première intention (6).

Ces techniques sont des outils diagnostic, de suivi et de dépistage des complications dues à l'EI. Elles permettent un diagnostic de quasi-certitude et sont donc à effectuer le plus tôt possible dès qu'une suspicion d'EI apparaît (158).

L'ETO possède une meilleure sensibilité que l'ETT pour les EI sur valves natives et prothétiques (6). Ceci peut s'expliquer par la localisation de la sonde d'échographie au plus proche du cœur (**Figure 28**). De plus, si la suspicion clinique d'EI est forte, quel que soit le résultat de l'ETT, la réalisation d'une ETO est préconisée afin de mieux dépister les complications ou d'augmenter la sensibilité (6).

Ces examens peuvent être renouvelés dans les jours suivants si les premières images n'étaient pas contributives ou non suspectes d'EI (6).

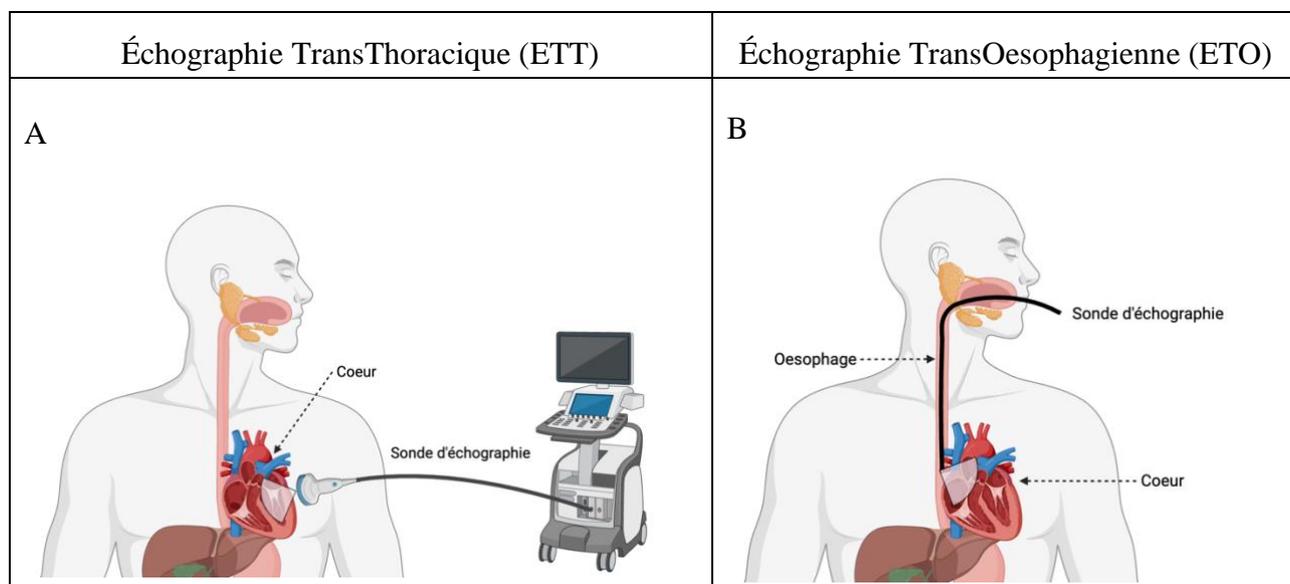


Figure 28 : Schéma du principe d'une échographie trans-thoracique (A) et trans-oesophagienne (B) (figure personnelle créée sur biorender.com)

La sensibilité augmentée des critères de Duke de 2000 serait due à l'ajout du ^{18}F -fluorodéoxyglucose TEP-TDM (Tomographie par Émission de Positons - TomoDensitoMétrie) comme critère majeur, permettant de reclasser beaucoup d'EI « possibles » en « prouvées » (159).

Le scanner hélicoïdal multi-coupes est une technique montrant de meilleures performances pour dépister les abcès, végétations et pseudo-anévrismes que l'ETT et l'ETO lors des EI sur VP (160).

4) Bases du traitement

Le traitement d'une EI est le fruit d'une discussion multidisciplinaire entre les infectiologues, cliniciens, microbiologistes, cardiologues, chirurgiens et échographistes. La constitution d'un groupe de travail sur les EI dans un hôpital réduit la mortalité due à cette infection sans augmenter significativement le recours à la chirurgie (3,161).

Même si l'antibiothérapie est indispensable, la chirurgie est indiquée pour la moitié des patients pendant la durée de l'hospitalisation. Elle permet le retrait des tissus nécrosés ainsi que le drainage des abcès éventuels (1,6). La recherche de la porte d'entrée de la bactériémie est nécessaire et permet de prévenir au mieux les rechutes.

a) Traitement antibiotique

Le choix du traitement des endocardites nécessite que l'antibiotique réponde à des problématiques bien spécifiques identifiées sur le modèle animal :

- Une dose de charge en intraveineuse à fortes doses afin de réduire l'inoculum bactérien permettant d'obtenir des concentrations plasmatiques toujours supérieures à la CMI ;
- Un relais par voie orale privilégié après au moins deux semaines d'antibiothérapie intraveineuse ;
- Un antibiotique ou une association bactéricide ;
- Une longue durée de traitement (soit quatre à six semaines) en raison d'une bactéricidie lente due au fait que les bactéries présentes sous forme de végétation ont un métabolisme ralenti (4).

La positivité de la culture de la valve semble corrélée au délai entre le début de l'antibiothérapie et le jour de la chirurgie cardiaque : plus le traitement antibiotique était avancé (supérieur à une ou deux semaines d'antibiothérapie efficace) moins les cultures de la valve étaient positives (81,162–164). Le même constat est observé avec la positivité de la PCR (Polymerase Chain Reaction) (162).

Les antibiotiques bactériostatiques ne peuvent pas éradiquer une EI en raison de l'incapacité du SI à atteindre le site de l'infection (146).

Le traitement antibiotique empirique et ciblé des EI est résumé dans les recommandations de l'ESC de 2015 (6).

Exemple des recommandations du traitement de l'EI à *Enterococcus sp.*

Le traitement des EI à *Enterococcus sp.* est complexe en raison de leur résistances naturelles multiples (cf. Résistances naturelles de *E. faecalis*, page 37). La nécessité d'une bithérapie bactéricide dans ce contexte clinique restreint les choix d'antibiothérapie à trois classes d'antibiotiques ; les pénicillines, les aminosides et les glycopeptides (**Tableau 5**, page 59) (6).

Pour l'espèce *E. faecalis*, lorsque la souche n'a pas de résistance acquise de haut niveau aux aminosides, le traitement peut consister en une bithérapie d'amoxicilline et de gentamicine. La durée totale est de quatre à six semaines pour l'amoxicilline et de deux à six semaines pour la gentamicine (6).

Une durée de traitement par aminosides de deux à trois semaines n'a pas montré d'infériorité en termes de succès thérapeutique par rapport à des durées plus longues. Une réduction des effets indésirables (ototoxicité et néphrotoxicité) était même observée (165).

Tableau 5 : Recommandations concernant le traitement des EI à *Enterococcus* sp. D'après Habib et al. (6)

Antibiotic	Dosage and route	Duration, weeks	Class ^g	Level ^h	Ref. ⁱ	Comments
Beta-lactam and gentamicin-susceptible strains (for resistant isolates see ^{a,b,c})						
Amoxicillin* with Gentamicin ^d	200 mg/kg/day i.v. in 4–6 doses 3 mg/kg/day i.v. or i.m. in 1 dose Paediatric doses: ^e Ampicillin 300 mg/kg/day i.v. in 4–6 equally divided doses Gentamicin 3 mg/kg/ day i.v. or i.m. in 3 equally divided doses	4–6 2–6**	I I	B B	6,8, 129, 135, 136, 186	6-week therapy recommended for patients with >3 months symptoms or PVE
Ampicillin with Ceftriaxone	200 mg/kg/day i.v. in 4–6 doses 4 g/day i.v. or i.m. in 2 doses Paediatric doses: ^e Amoxicillin as above Ceftriaxone 100 mg/ kg/12 h i.v. or i.m.	6 6	I I	B B	183– 185	This combination is active against <i>Enterococcus faecalis</i> strains with and without HLAR, being the combination of choice in patients with HLAR <i>E. faecalis</i> endocarditis. This combination is not active against <i>E. faecium</i>
Vancomycin ^f with Gentamicin ^d	30 mg/kg/day i.v. in 2 doses 3 mg/kg/day i.v. or i.m. in 1 dose Paediatric doses: ^e Vancomycin 40 mg/kg/day i.v. in 2–3 equally divided doses. Gentamicin as above	6 6	I I	C C		

Pour les souches résistantes aux aminosides, la seule alternative proposée est l'association amoxicilline / ceftriaxone. Cette association est uniquement valide pour l'espèce *E. faecalis* (6). La proposition de cette bithérapie sur l'espèce *E. faecalis* fait suite à la publication de Mainardi *et al.* qui objectivait une synergie entre une C3G (le céfotaxime) et une pénicilline (l'amoxicilline) *in vitro* (7). Des études cliniques ont ensuite été faites afin d'évaluer la synergie *in vivo* (cf. La synergie Amoxicilline - Céphalosporine de 3ème génération dans le traitement des endocardites à *Enterococcus faecalis* : revue de la littérature, page 70).

L'utilisation de la bithérapie amoxicilline / ceftriaxone apparaît fréquemment en premier lieu des recommandations locales de traitement des EI à *E. faecalis*, comme c'est le cas au CHU de Nantes.

b) Traitement chirurgical

La chirurgie est le seul traitement permettant de rétablir la fonction du cœur si celui-ci a été endommagé par le processus inflammatoire et/ou infectieux. Son indication la plus urgente est la survenue d'un œdème aigu du poumon ou d'un choc cardiogénique dû à la dysfonction valvulaire (6,166).

Le recours à la chirurgie a augmenté depuis les années 1990 en France, passant de 31,3 % à 50,2 % et semble être stable (1). Il a permis d'améliorer le pronostic de l'EI, notamment sur la mortalité à un an et le risque embolique (167,168).

Le traitement chirurgical pourrait permettre de réduire la durée d'antibiothérapie en post-opératoire et de ne pas poursuivre jusqu'à la fin de la durée recommandée si le geste est précoce (169,170).

L'objectivation à l'œil nu d'une végétation par le chirurgien est devenu un critère majeur de Duke révisé en 2023 (**Annexe 1**, page 120) (150).

c) Prévention et recherche de la porte d'entrée

La découverte d'une EI doit motiver la recherche d'une porte d'entrée de la bactérie identifiée afin de contrôler la source de l'infection. En fonction du micro-organisme, certains examens sont conseillés en première intention ; concernant *Enterococcus sp.* il est recommandé de chercher une porte d'entrée digestive (coloscopie totale), urinaire (ECBU ou imagerie) et biliaire (imagerie des voies biliaires) (171).

5) Complications et évolution

Parmi les complications majeures de l'EI, l'embolisation de la végétation (20 % des cas), l'insuffisance cardiaque et un abcès intracardiaque sont les plus fréquentes (77,152).

La mortalité à un an de l'EI, tous cas confondus, est estimée entre 10 et 25 % (6,172). Parmi les facteurs de risque de mortalité précoces comme tardifs, avoir une EI due à *E. faecalis* n'est pas significativement associé à une mortalité accrue. En revanche, un âge avancé, une contre-indication à la chirurgie quand elle est indiquée, un évènement embolique et une EI à *S. aureus* sont des facteurs de risque significatifs (172,173).

La récurrence, en médecine, se définit par le réveil de l'activité d'une maladie infectieuse due à des bactéries déjà présentes dans l'organisme. Dans l'EI, deux catégories sont distinguées ; la rechute et la réinfection. Elles diffèrent par le micro-organisme impliqué ; s'il s'agit de la même bactérie alors c'est une rechute par définition. La réinfection est causée par un micro-organisme différent (**Figure 29**) (174).

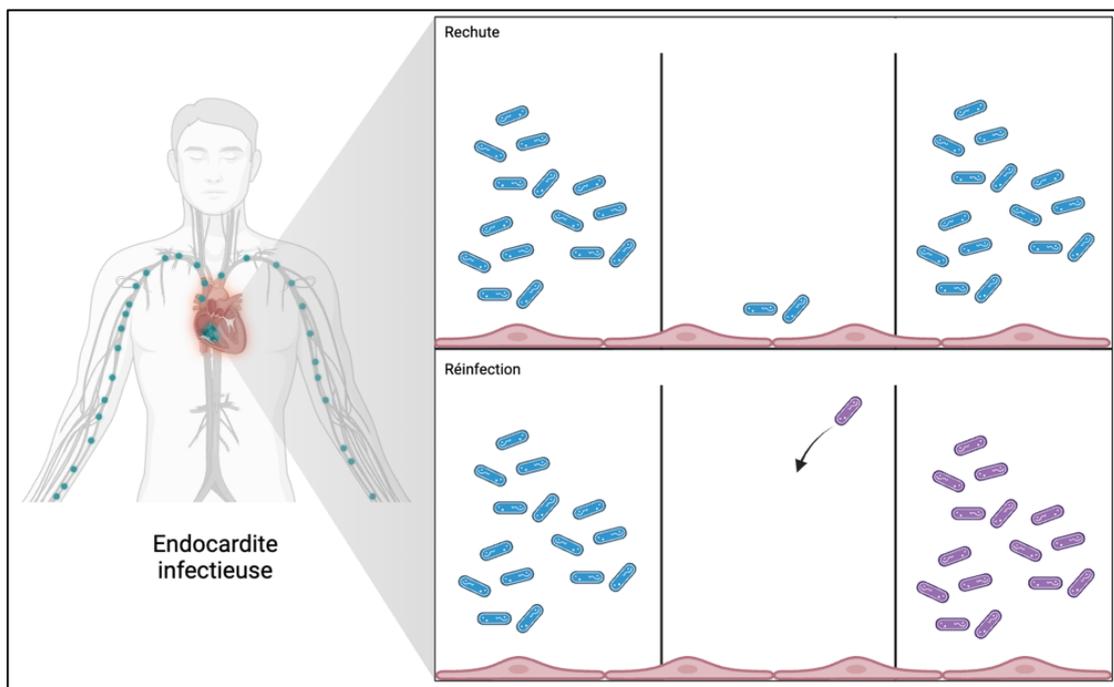


Figure 29 : Schéma explicatif proposé comparant la rechute et la réinfection (figure créée sur biorender.com)

Un antécédent d'EI étant un facteur de risque de rechute, chaque patient est suivi à l'issue de son traitement afin de vérifier l'absence d'une récurrence de l'infection (172,173). Les patients sont éduqués sur l'apparition de symptômes pouvant signifier une rechute.

L'imagerie, l'anamnèse et l'auscultation lors de ces consultations permettent de dépister toute défaillance organique, notamment cardiaque (6).

Ce suivi est recommandé jusqu'à un an après l'épisode d'EI.

Après un traitement intraveineux initial, la question du relais par une antibiothérapie *per os* se pose. Dans les deux premières semaines, un relais est réservé à quelques indications bien précises. C'est à l'issue de ces deux semaines que les patients stables, sans complications organiques, pour qui l'éducation thérapeutique et une équipe médicale à domicile sont possibles que le relais est envisageable (175).

C) Les β -lactamines

Il s'agit de la famille d'antibiotiques la plus prescrite en santé humaine dans le monde (176) depuis la découverte de la pénicilline par Fleming en 1928, obtenue après purification à partir de *Penicillium* sp. (177).

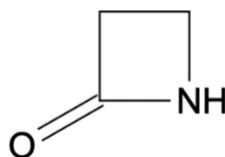


Figure 30 : Structure moléculaire du noyau β -lactame

Le pharmacophore de cette classe est un noyau β -lactame (**Figure 30**). Cette boucle moléculaire est indispensable au mécanisme d'action d'inhibition de la paroi bactérienne par inhibition de la synthèse du PG (aussi appelé muréine).

La sous-classification des β -lactamines dépend ensuite de l'hétérocycle associé au noyau pharmacophore (178).

1) Mécanisme d'action des β -lactamines

Toutes les bactéries prenant la coloration de Gram ont comme point commun de posséder au moins une paroi, constituée du PG, ainsi qu'une membrane plasmique.

La paroi a comme rôle d'être une structure rigide qui protège le protoplaste de la lyse osmotique, c'est aussi une barrière plus ou moins perméable aux diverses molécules exogènes à la bactérie (177,178).

La paroi diffère d'une bactérie à l'autre par sa structure, son épaisseur ou encore sa composition. Des différences sont notées concernant les composants de la membrane externe entre les Gram positif et négatif comme le montre la **Figure 31**, page 64 :

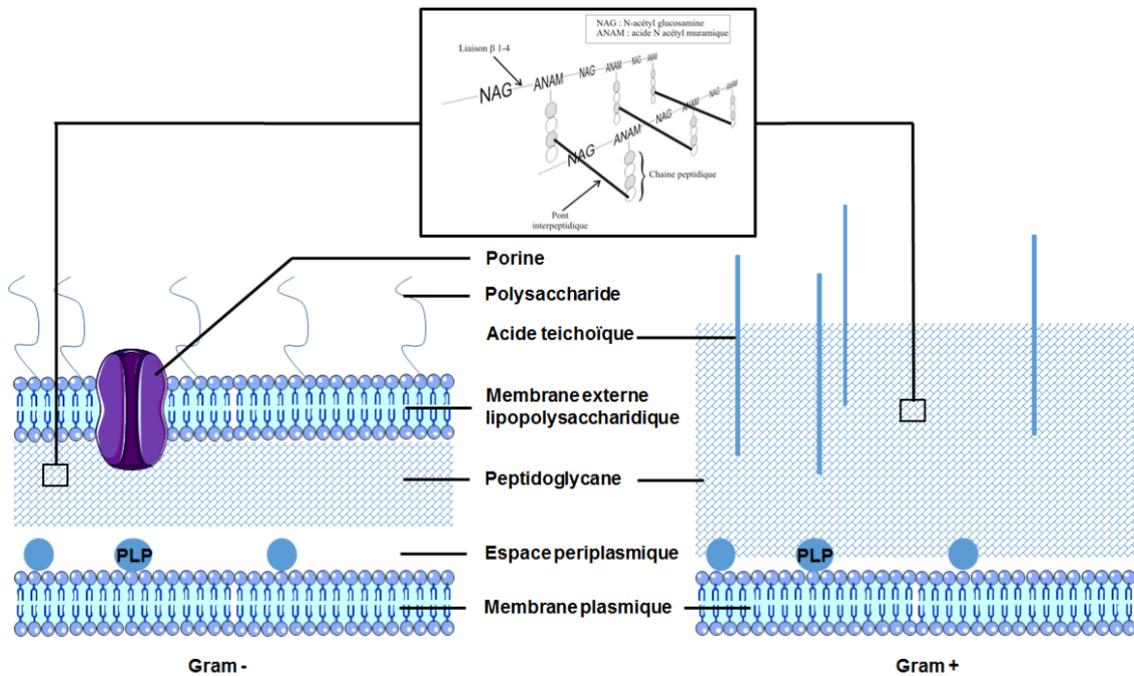


Figure 31 : Structures externes des bactéries prenant la coloration de Gram

La couche de PG de la paroi des bactéries à Gram positif est plus épaisse (représentant 90 % de la paroi) et directement au contact de la membrane cytoplasmique où se trouvent les protéines liant les pénicillines (PLP) : les transpeptidases et carboxypeptidases.

Le PG est un polymère constitué d'une partie peptidique et osidique. Il s'agit d'une longue chaîne ayant pour motif de base une répétition d'un disaccharide : le N-Acétyle Glucosamine-Acide N-Acétyle Muramique (NAG-NAM)). Les PLP possédant une activité glycosyltransférase permettent l'allongement de cette chaîne (179).

Ces chaînes saccharidiques sont reliées entre elles par des ponts interpeptidiques constitués d'un pentapeptide attaché à chaque molécule d'acide muramique. Ce pentapeptide possède une structure terminale commune qui est la succession de deux D-Alanines qui est le site de liaison de la transpeptidase ; enzyme clé dans la réticulation du PG. La structure d'un noyau β -lactame possède une analogie structurale (**Figure 32**, page 65) avec la liaison peptidique physiologique terminale du PG (motif D-Ala-D-Ala) (177,178).

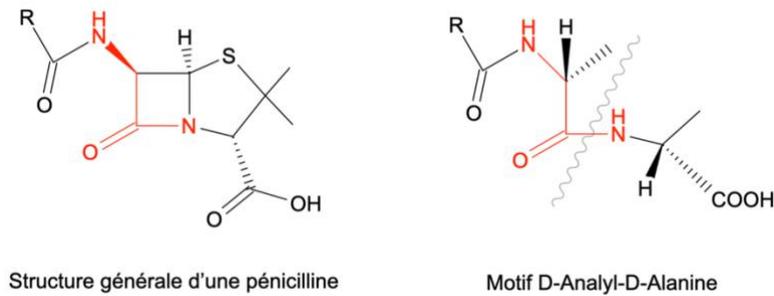


Figure 32 : Analogie structurale entre une β -lactamine typique (à gauche) et le dipeptide D-Alanyl-D-Alanine (à droite) ainsi que leur structure commune en rouge. (figure personnelle)

En se fixant au site actif de la transpeptidase, le pharmacophore se fait hydrolyser par la sérine, ce qui ouvre la liaison amide qui se fixe ainsi à l'enzyme de façon irréversible (**Figure 33**).

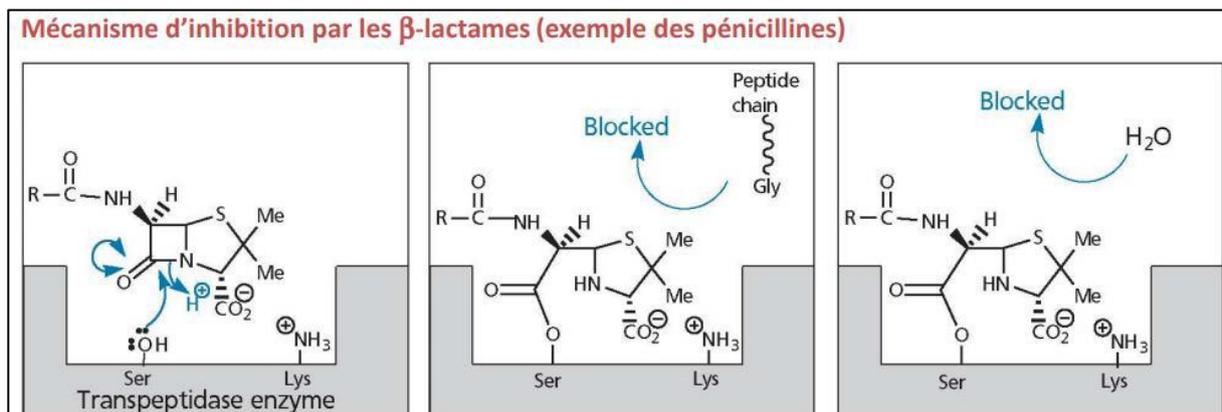


Figure 33 : Schéma de l'action de la transpeptidase. (177)

L'action des β -lactamines est donc bactériostatique ; elle empêche la croissance et la division bactérienne. Ce qui rend ces molécules bactéricides avec le temps sont les enzymes naturellement présentes chez les bactéries qui vont hydrolyser le PG : les autolysines.

Les β -lactamines sont donc des antibiotiques dont la bactéricidie est temps-dépendante.

a) Les Protéines liant les Pénicillines

Les PLP sont les protéines transmembranaires qui synthétisent le PG (93,180).

Historiquement nommées en fonction de leur ordre de migration lors de l'électrophorèse, les PLP sont désormais classées en fonction de leur structure protéique et de l'activité catalytique de l'extrémité N-terminale :

- Les PLP de classe A sont des protéines bifonctionnelles composées de deux sites catalytiques ayant une activité transpeptidase (TP) et glycosyltransférase (GT) ; elles sont majoritairement de haut poids moléculaire ;
- Les PLP de classe B sont monofonctionnelles et possèdent une activité TP ou carboxypeptidase (CP) ;
- Les PLP de classe C contenant quatre sous-groupes : les types quatre, cinq, sept et Amph (93,181–183).

Les deux étapes majeures de la synthèse du PG sont l'extension de la chaîne de glycane par la GT et la liaison des chaînes entre elles par la TP (**Figure 34**).

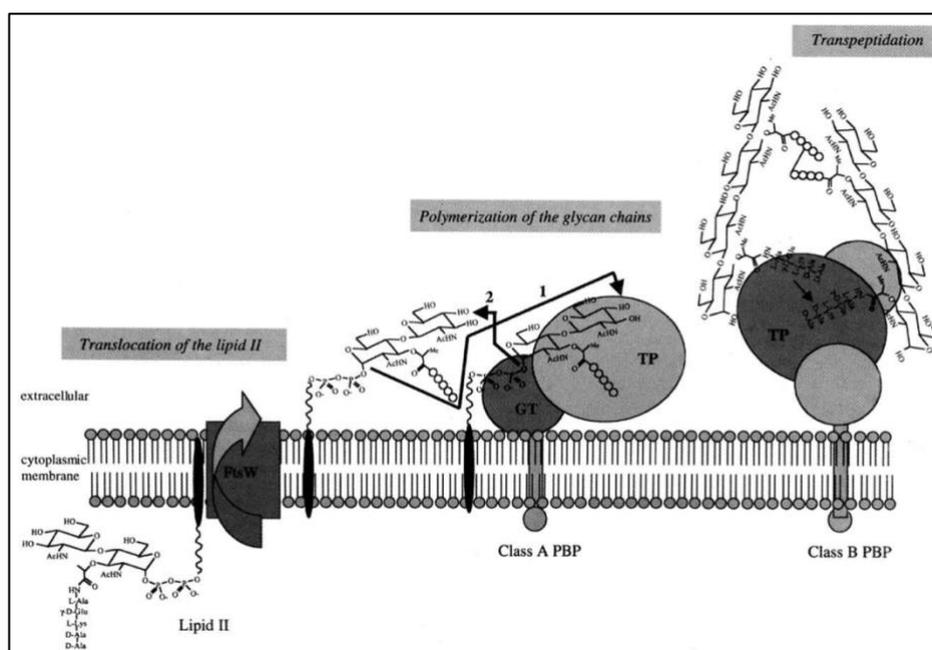


Figure 34 : Schéma de biosynthèse du peptidoglycane. Extension de la chaîne de glycane par la glycosyltransférase puis liaison par la transpeptidase. D'après Di Guilmi et al. (183)

Chaque bactérie possède différentes PLPs (**Figure 35**) qui interagissent et permettent la structuration et l'élongation du PG. Chaque PLP possède plus ou moins d'affinité à une même β -lactamine et détermine par son abondance la sensibilité de la bactérie à une molécule donnée (93).

	Class A							Class B						Class C											
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	B1	B2	B3	B4	B5	B6	Type-4	Type-5	Type-7	Type-Amph								
Gram -																									
<i>Escherichia coli</i> K12	PBP1a ponA	PBP1b ponB			PBP1c pbpC							PBP2 pbpA	PBP3 ftsI					PBP4 dacB	PBP5 dacA	PBP6 dacC	PBP6b dacD	PBP7 pbpG		PBP4b yfw	Amph ampH
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> FA 1090	PBP1 ponA											PBP2 ftsI						PBP3 pbp3				PBP4 pbp4			
Gram +																									
<i>Bacillus subtilis</i> 168		PBP1 ponA	PBP2c pbpF	PBP4 pbpD		PBP2d pbpG		PBP5fm pbpC		SpoVD spcVD	PBP2b pbpB	PBP2a pbpA	PtpH pbpH	PBP4b yrrR				PBP4a dacC	DacF dacF	PBP5 dacA	PBP5* dacB			PBP4* pbpE	PbpX pbpX
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA252		PBP2 pbp2									PBP2a mecA		PBP1 pbpA	PBP3 pbp3					PBP4 pbp4						
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b F236		PBP1 lmo1892	PBP4 lmo2299								PBP lmo441		PBP2 lmo2039	PBP3 lmo1438						PBP5 lmo2754					PBP lmo540
<i>Enterococcus faecalis</i> V583		PBP1a EF_1146	PBP2a EF_0680	PBP1b EF_1740							PBP4 EF_2476		PBP2 EF_0891	PBP2b EF_2857						DacF EF_3129					PBP EF_0746
<i>Streptococcus pneumoniae</i> R6		PBP1a pbpA	PBP2a pbp2A	PBP1b pbp1b									PBP2a pvpX	PBP2b pbp2b						PBP3 pbp3					

Figure 35 : Répartition des différentes PLP chez plusieurs espèces bactériennes. D'après Sauvage et al. (93)

2) Les pénicillines

Les pénicillines (**Figure 36**) ont été les premières β -lactamines à être synthétisées. Leur biodisponibilité par voie orale et l'élargissement de leur spectre antibactérien ont tenté d'être améliorés, ce qui a donné les aminopénicillines (contrairement aux pénicillines injectables V et G ou pénicillines M à spectre étroit) (178).

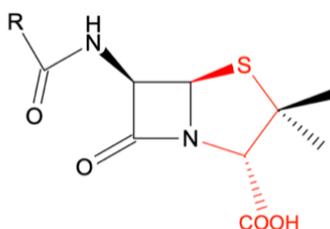


Figure 36 : Pharmacophore de la famille des pénicillines

Ultérieurement, les carboxypénicillines et uréidopénicillines ont été synthétisées pour avoir une activité anti-*Pseudomonas aeruginosa* et sur les autres bacilles à Gram négatif non fermentants.

L'amoxicilline fait partie de la famille des pénicillines qui possèdent une activité constante vis-à-vis de l'espèce *E. faecalis* en France (87).

3) Les céphalosporines

Les céphalosporines, quant à elles, dérivent d'une molécule initialement isolée d'un autre agent fongique ; la céphalosporine C (**Figure 37**) de *Cephalosporium acremonium* (184).

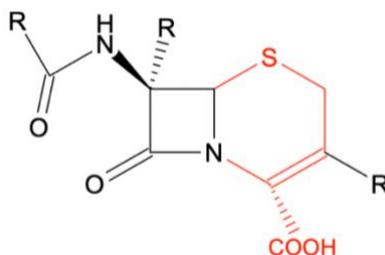


Figure 37 : Pharmacophore de la famille des céphalosporines

La différence avec les pénicillines résulte d'un cycle composé de 6 atomes toujours thioazoté (dihydrothiazine). La 5^{ème} génération de céphalosporines est à ce jour la dernière.

La première génération est structurellement proche des aminopénicillines tant sur la structure que sur le spectre antibactérien. Leur utilisation reste maintenant restreinte aux antibioprophylaxies pré- et per-opératoires ainsi qu'au traitement des bactériémies à staphylocoques sensibles à la méticilline.

La deuxième génération permet un élargissement aux bactéries à Gram négatif (BGN) en raison d'une meilleure stabilité à l'encontre des β -lactamases de certains BGN par rapport à la génération précédente.

Les céphamycines sont classées dans la seconde génération mais elles conservent une activité notable sur les β -lactamases à spectre élargi (BLSE). Le représentant de cette classe est la céfoxitine.

Leurs indications sont plus larges et incluent notamment le traitement des infections oto-rhino-laryngologiques (ORL) (178).

Les céphalosporines de quatrième et cinquième génération ont été développées pour cibler respectivement les entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinase et les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline.

Les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G)

Les C3G ont une activité antibactérienne marquée contre les BGN en raison de la présence d'un cycle aminothiazole (**Figure 38 A**) conférant une meilleure pénétration dans la membrane des bactéries à Gram négatif.

Leur administration *per os* nécessite plusieurs prises par jour en raison d'une faible biodisponibilité. Elles possèdent cependant une très bonne diffusion tissulaire notamment dans le LCR en contexte inflammatoire et sont à ce titre des antibiotiques de première intention dans de nombreuses pathologies ainsi qu'en antibiothérapie probabiliste (178).

Leur activité sur les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *N. gonorrhoeae* justifie leur indication dans le traitement des infections dues à ces espèces bactériennes (178).

Les céphalosporines ont une activité médiocre envers le genre *Enterococcus* notamment l'espèce *E. faecalis* (106).

La ceftriaxone appartient à la famille des C3G. Sa particularité pharmacocinétique est liée à la présence d'un noyau triazinylé (**Figure 38 B**) qui allonge son temps de demi-vie et permet une injection unique par jour. La ceftriaxone n'est pas administrable *per os* (177).

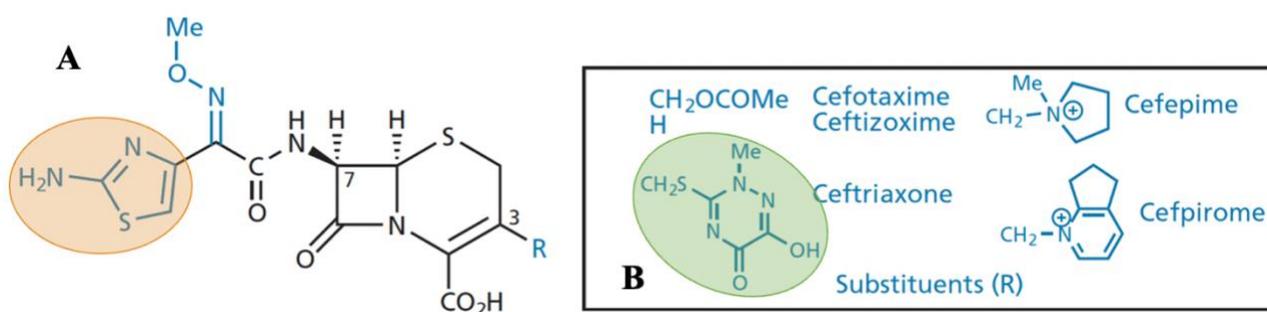


Figure 38 : (A) Pharmacophore de la famille des C3G (B) Radical de la ceftriaxone entouré en vert. (177)

D) La synergie Amoxicilline - Céphalosporine de 3^{ème} génération dans le traitement des endocardites à *Enterococcus faecalis* : revue de la littérature

1) Historique

La première publication qui a objectivé une synergie entre une aminopénicilline et une céphalosporine sur *E. faecalis* était celle de *Mainardi et al.* (7). Cette étude, faite exclusivement *in vitro*, montrait un élargissement du diamètre d'inhibition (**Figure 39A**) de l'amoxicilline lorsque celle-ci est associée au céfotaxime.

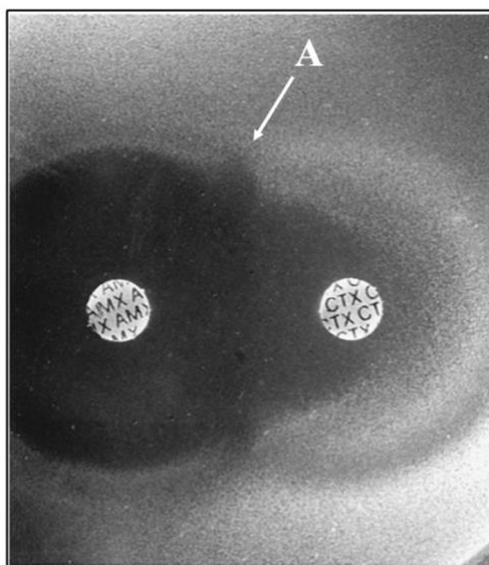


Figure 39 : Image de la synergie observée *in vitro* sur la souche JH2-2 de *E. faecalis* entre l'amoxicilline et le céfotaxime sur un milieu agar à partir de bouillon cœur-cerveille. D'après *Mainardi et al.* (7)

Cinquante souches issues de prélèvements cliniques ont donc été étudiées ; une baisse des CMI50 (CMI inhibant 50 % des souches de l'échantillon) et des CMI90 (CMI inhibant 90 % des souches de l'échantillon) de l'amoxicilline apparaît lors de l'ajout d'une concentration fixe de 4 mg/L de céfotaxime en microdilution.

L'étude ne détaillait pas, pour chaque souche, la CMI de l'amoxicilline seule et celle en présence de céfotaxime. Dès lors, il est impossible d'affirmer si une corrélation entre la baisse des CMI de l'amoxicilline et l'ajout de céfotaxime était significative pour toutes les souches.

2) Mécanisme d'action suggéré

Devant les résultats précédents, Mainardi *et al.* ont ensuite étudié l'affinité de l'amoxicilline et du céfotaxime sur les différentes PLP de *E. faecalis*. Les PLP ont été séparées par électrophorèse sur gel en polyacrylamide après dénaturation par dodécylsulfate de sodium.

La saturation des PLP par l'association d'amoxicilline et de céfotaxime par rapport à ces deux antibiotiques seuls suggère :

- Une saturation partielle des PLP quatre et cinq (BPM) par l'amoxicilline ;
- Une saturation totale des PLP deux et trois (HPM) par le céfotaxime ;
- Une complémentarité de saturation des PLP qui semblerait être le mécanisme à l'origine de la synergie observée *in vitro* (**Figure 40 A et B**).

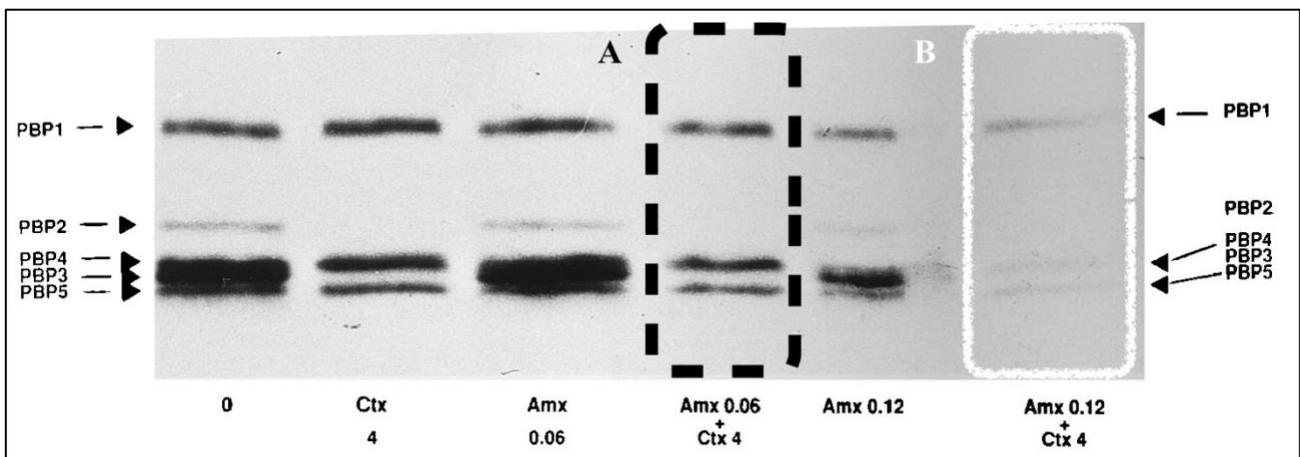


Figure 40 : Saturation des PLP de la souche JH2-2 de *E. faecalis* avec de l'amoxicilline (0,06 et 0,12 mg/L) et du céfotaxime (4 mg/L) seul ou en association. D'après Mainardi *et al.* (7)

3) Données *in vitro*

A la suite des travaux décrits ci-dessus, Gavaldá *et al.* ont cherché à vérifier si cette synergie était active sur des souches de *E. faecalis* possédant un haut niveau de résistance aux aminosides (185). Les CMI de l'ampicilline et de la ceftriaxone des souches ont été déterminées par la méthode par dilution en gélose (186).

Les CMI de la ceftriaxone sont toutes supérieures ou égales à 256 mg/L et celles de l'ampicilline sont comprises entre 1 et 4 mg/L.

Concernant l'activité bactériostatique des antibiotiques testés sur les dix souches, la méthode en dilution dans un bouillon Mueller-Hinton (M-H) a été utilisée dans cette étude (186). La réduction du nombre de bactéries viable était plus marquée avec des concentrations intermédiaires d'ampicilline (de deux à huit fois la CMI) par rapport à des concentrations plus élevées. La ceftriaxone seule n'a pas montré d'action bactériostatique (augmentation inférieure ou égale à 0,3 log₁₀ par rapport à l'inoculum initial).

L'ajout d'une concentration fixe de 4 mg/L de ceftriaxone dans le bouillon M-H a entraîné une baisse des CMI d'amoxicilline d'une à quatre dilutions après 24h d'incubation. L'ajout de concentrations plus élevées de ceftriaxone n'a pas montré de diminution significative pour une même concentration d'ampicilline.

Un effet bactéricide (diminution d'au moins trois log₁₀ par rapport à l'inoculum initial) était observé dans 36 % des expériences (185).

En 2019, Lorenzo *et al.* ont évalué l'activité *in vitro* de l'association ampicilline / ceftriaxone sur les espèces *E. faecium* (sensibles à l'ampicilline) et *E. faecalis* par trois méthodes différentes : diffusion en disques, diffusion en bandelettes avec gradient de concentration et étude de cinétique de bactéricidie (187). Une synergie significative était présente chez la majorité des souches de *E. faecalis* testées (sept sur dix). Une concordance entre les trois méthodes était aussi observée.

L'association ampicilline / céfotaxime avait été testée sur trois souches de *E. faecium* par Mainardi *et al.* En revanche, les CMI de l'ampicilline de ces souches étaient élevées (4, 16 et 64 mg/L) et aucune synergie significative n'avait pu être montrée (7).

4) Données *in vivo*

Les résultats sur le modèle animal *in vivo* ont confirmé la présence d'une synergie en évaluant le nombre de colonies viables restant dans la végétation chez le lapin (185,188,189). Peu de souches de *E. faecalis* ont été testées mais les résultats de ces études étaient concordants.

Comme en témoigne le **Tableau 6**, une baisse significative du nombre de colonies dans la végétation était observée avec l'association ampicilline / ceftriaxone (185) ou amoxicilline / céfotaxime (189) par rapport au contrôle.

Tableau 6 : Principales données de la littérature concernant les résultats in vivo sur le modèle animal de la synergie aminopénicilline - C3G (185,189)

	Gavaldá <i>et al.</i> (185) - 1999		(en mg/kg)	Join-Lambert <i>et al.</i> (189) -1998	
	Log ₁₀ UFC/g dans la végétation			Log ₁₀ UFC/g dans la végétation	
	<i>E. faecalis</i> V48	<i>E. faecalis</i> V45		JH2-2	6370
Contrôle	11,6 ± 1	10,5 ± 0,4	Contrôle	9,9 ± 1,1	10,7 ± 1,1
Ampicilline	7,9 ± 1,7 ^a	6,0 ± 1,4 ^a	Amoxicilline (50)	7,7 ± 0,8 ^c	7,1 ± 0,9 ^c
Ampicilline + Ceftriaxone	5,3 ± 0,6 ^{a,b}	3,1 ± 1,3 ^{a,b}	Amoxicilline (50) + céfotaxime (50)	7,9 ± 0,6 ^c	7,9 ± 0,8 ^c
			Amoxicilline (150) + céfotaxime (150)	<i>Non effectué</i>	6,9 ± 0,8 ^{c,d}
			Amoxicilline (50) + gentamicine (1)	6,9 ± 0,4 ^{c,d}	<i>Non effectué</i>

^a p < 0,0001 par rapport au contrôle

^b p < 0,001 par rapport à l'ampicilline

^c p < 0,0001 par rapport au contrôle

^d p < 0,001 par rapport à amoxicilline (50) et céfotaxime (50)

Dans la publication de Join-Lambert *et al.*, un nombre de colonies significativement plus faible dans la végétation était observé pour l'association amoxicilline (50 mg/kg) / gentamicine (1 mg/kg) par rapport à celle combinant amoxicilline (50 mg/kg) / céfotaxime (50 mg/kg) (189).

La réduction du nombre de colonies par rapport au groupe traité par une aminopénicilline seule n'a atteint la significativité statistique uniquement pour des doses d'amoxicilline et de céfotaxime à 150 mg/kg (186) et un schéma thérapeutique de 2 g d'ampicilline toutes les quatre heures associé à 2 g de ceftriaxone toutes les 12 heures (182).

De plus, la trithérapie amoxicilline, ceftriaxone et gentamicine n'a pas démontré une augmentation de la bactéricidie par rapport à la bithérapie (188).

Devant ces résultats encourageants en modèle animal, une étude observationnelle prospective multicentrique sur des patients présentant une EI à *E. faecalis* et chez qui l'utilisation d'un aminoside était contre indiquée a été mise en place en Espagne (190).

Les patients ont été traités par des injections intraveineuses d'ampicilline de 2 g toutes les quatre heures et de 2 g de ceftriaxone toutes les 12 heures pour une durée totale de six semaines.

Sur les 43 patients inclus, 21 patients (48,8 %) étaient infectés par une souche de *E. faecalis* possédant un haut niveau de résistance à la gentamicine.

Le taux de mortalité pendant la durée de traitement était de 23,3 % et comparable à celui retrouvé dans les autres séries d'endocardites à entérocoques (165,191,192). Deux patients ont rechuté de leur endocardite, les deux souches bactériennes ne possédaient pas de haut niveau de résistance aux aminosides.

A noter, 95,3 % des patients n'ont pas déclaré d'effets indésirables imputables à la bithérapie de β -lactamines (190).

Six années plus tard, Fernández-Hidalgo *et al.* ont publié une cohorte comparative multicentrique dans le but de comparer la mortalité chez des patients présentant une EI à *E. faecalis* avec un groupe traité par l'association ampicilline / ceftriaxone (n = 159) et un autre par l'association ampicilline / gentamicine (n = 87) (193).

Aucune différence significative de mortalité pendant la durée du traitement et lors du suivi à trois mois n'a été trouvée entre les deux groupes. De plus, aucune différence significative n'a pu être montrée sur le taux de rechutes (3 % contre 4 %, p = 0,67).

Cependant, le groupe traité avec l'association composée d'un aminoside déclarait des effets iatrogéniques chez 25 % des patients contre 1 % dans l'autre groupe (p < 0,001) (193).

Ces observations ont été confirmées par plusieurs publications (9,194–196). Une méta-analyse de 2022 consolide ces travaux en montrant un odds-ratio significativement inférieur à un pour l'association ampicilline / ceftriaxone par rapport à l'association ampicilline / gentamicine concernant la néphrotoxicité et le risque d'effets indésirables (197).

Les patients recevant l'association Amoxicilline-Gentamicine (A-G) sont contraints de changer d'antibiothérapie après 11 jours de traitement en moyenne et de manière plus fréquente qu'avec la bithérapie Amoxicilline-Ceftriaxone (A-C) (196).

L'association A-C est donc par la suite apparue dans les recommandations de l'ESC de 2015 (6). Depuis, l'association est employée dans le monde entier et son utilisation est en essor (9).

Quelques publications ont émis des réserves sur l'efficacité de cette bithérapie.

Vigneswaran *et al.* ont observé un taux de mortalité plus élevé dans le groupe A-C par rapport à A-G (33,3 % et 6,7 % respectivement) sans atteindre une significativité statistique (195).

Plus récemment, Danneels *et al.* ont publié les résultats d'une étude rétrospective multicentrique montrant un délai moyen de rechute d'EI à *E. faecalis* de 107 jours. Un taux de rechute plus faible dans le groupe de patients ayant reçu une combinaison d'A-G suivie d'A-C était observé sans montrer pour autant de significativité (81).

En résumé

- Des images de synergie *in vitro* entre une C3G et une aminopénicilline sur l'espèce *E. faecalis* ont été démontrées en milieu solide par diffusion et en milieu liquide.
- Cette synergie n'a pas été démontrée chez l'espèce *E. faecium*, ni sur les autres espèces du genre *Enterococcus* à ce jour.
- Dans le modèle d'endocardite du lapin « human-like », l'association A-C fait significativement baisser le nombre de bactéries dans la végétation par rapport à l'ampicilline seule. Le modèle animal a permis de calculer les doses efficaces pour un traitement chez l'Homme.
- Chez l'Homme, une efficacité clinique non différente de l'association A-G et un pourcentage plus faible d'effets indésirables place désormais l'association A-C comme un traitement de choix pour l'EI à *E. faecalis* dans les recommandations internationales.

III) Étude

A) Contexte

Les endocardites à entérocoques ont le taux de récurrence le plus important (80–82).

Devant ce pourcentage élevé, de nombreuses publications ont tenté d'expliquer la ou les raisons de ces échecs : synergie antibiotique non efficace, tolérance aux antibiotiques pour les formes dormantes, mauvaise pénétration des antibiotiques dans le biofilm, porte d'entrée non retrouvée ou non contrôlée...

En France, la résistance aux aminosides de haut niveau chez *E. faecalis* est faible et stable, ce qui n'est pas le cas en Europe ni dans le monde. Le pourcentage de résistance est de 34,9 % pour l'Italie et 36,7 % pour l'Espagne, soit trois fois plus élevé qu'en France (**Figure 41**).

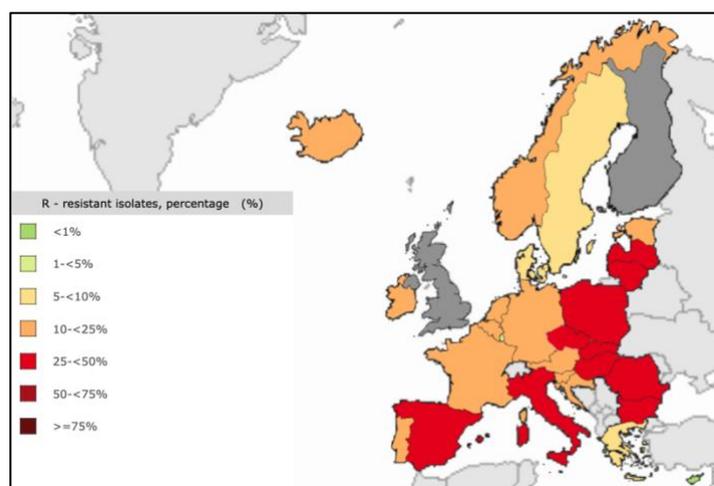


Figure 41 : Pourcentage de résistance de haut niveau aux aminosides de *E. faecalis* en Europe en 2017. Réseau ONERBA (87)

L'association A-C est donc apparue comme une alternative très intéressante pour traiter les EI à *E. faecalis* lorsque la souche possède une résistance à la gentamicine de haut niveau ou que le patient possède une contre-indication à un traitement par aminosides.

La détermination de synergie antibiotique *in vitro* est une méthode utilisée pour plusieurs associations (Ceftazidime-avibactam / Aztréonam ou Céfixime / Amoxicilline-acide clavulanique)

qui connaît un essor depuis quelques années (198–204). Il est donc pertinent d'étudier s'il existe en laboratoire une méthode permettant de déterminer rapidement et efficacement la présence d'une synergie entre ces deux antibiotiques pour une souche donnée.

B) Objectifs

L'objectif principal de ce travail est d'étudier le versant microbiologique des EI à *E. faecalis* et de montrer si la détermination des CMI aux β -lactamines et le devenir du patient sont corrélés.

Afin de répondre à l'objectif ; plusieurs étapes ont été nécessaires :

1. Caractériser la sensibilité à l'amoxicilline et la ceftriaxone des souches de *E. faecalis in vitro* ;
2. Comparer les méthodes permettant de caractériser la sensibilité *in vitro* des souches de *E. faecalis* à l'association A-C ;
3. Comparer les sensibilités à l'amoxicilline et à la ceftriaxone des souches de *E. faecalis in vitro* en fonction du devenir des patients.

C) Étude sur une cohorte nantaise

1) Principes

Le service de Maladies Infectieuses et Tropicales du CHU de Nantes collecte toutes les données cliniques, biologiques, d'imagerie et de suivi de patients hospitalisés pour une EI depuis l'année 2013. A partir de ce tableau, les souches de *E. faecalis* issues de prélèvements permettant le diagnostic d'endocardite (hémoculture, culture de valve cardiaque, envoi de souche) ont été isolées à partir de la collection du service de Bactériologie du CHU de Nantes de 2013 à 2022.

Cette étude est rétrospective, observationnelle et monocentrique.

2) Matériel et méthodes

La base de données des dossiers cliniques d'endocardites a été fournie au service de Bactériologie afin de retrouver les souches de *E. faecalis* correspondantes.

A partir du tube collection gélosé BioRad®, les souches ont été ensemencées sur une gélose au sang (**Figure 42A**) afin de vérifier leur pureté et l'identification de la bactérie par spectrométrie de masse MALDI-TOF Biotyper 2.0 (Bruker®) (**Figure 42B**).

Détermination des CMI de l'amoxicilline et de la ceftriaxone

Les 75 souches cliniques ont été isolées sur une gélose au sang afin d'obtenir des colonies isolées. Une suspension bactérienne mesurée par turbidimétrie à 0,5 McFarland (McF) (équivalent à 10^7 UFC/mL (Unité Formant Colonie par millilitre)) (**Figure 42C**) a été étalée sur une gélose M-H par écouvillonnage en tournant à trois reprises de 120 degrés (**Figure 42D**). La bandelette E-test® (bioMérieux™) a été ensuite déposée sur la gélose, elle distribue un gradient de concentration de l'antibiotique testé avec une gamme allant de 0,006 mg/L à 256 mg/L.

La plus faible concentration à la base de l'ellipse formée par la croissance bactérienne au niveau de la bandelette correspond alors à la CMI de l'antibiotique pour la souche testée (**Figure 42E**).

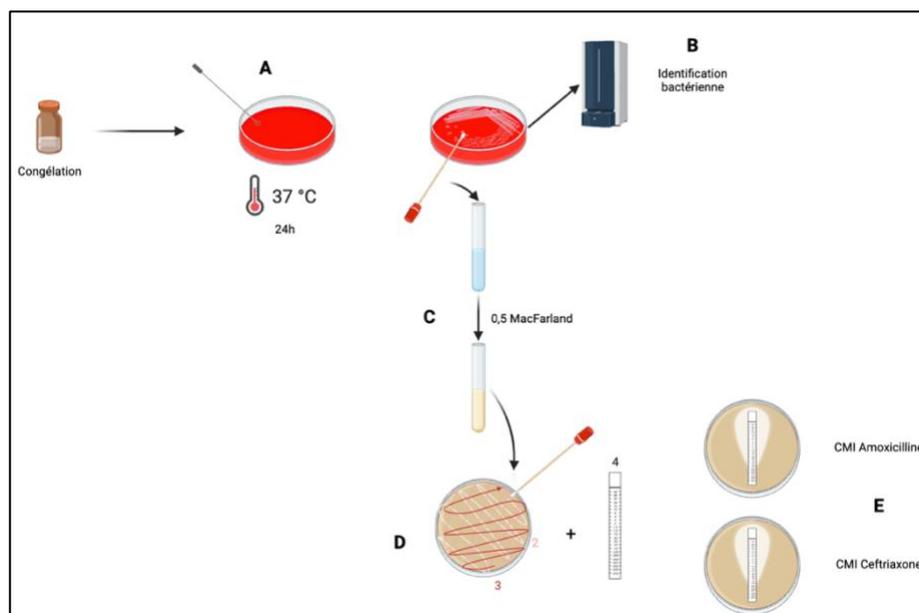


Figure 42 : Schéma de la réalisation technique de la détermination des CMI de cette étude (figure créée sur biorender.com).

Étude de la synergie par diffusion en disques

A partir d'une souche de *E. faecalis* ATCC 29212, une gélose M-H a été écouvillonnée à partir d'une suspension de 0,5 McF. Des disques imprégnés d'une dose fixe d'antibiotique ont été déposés sur la gélose : Amoxicilline 20 µg, Céfotaxime 5 µg et Ceftriaxone 30 µg. La diffusion des antibiotiques dans la gélose fait apparaître un diamètre d'inhibition après incubation à 37°C sous 5 % de CO₂ pendant 20 ± 4h. Une distance fixe entre deux disques (20 mm bord à bord des disques) permet d'observer un élargissement des diamètres d'inhibition appelée « image de synergie *in vitro* ». Cette méthode a été utilisée dans les publications de Mainardi *et al.*, Lorenzo *et al.* et Gavaldá *et al.* (7,185,187). La méthode est schématisée dans la **Figure 43**.

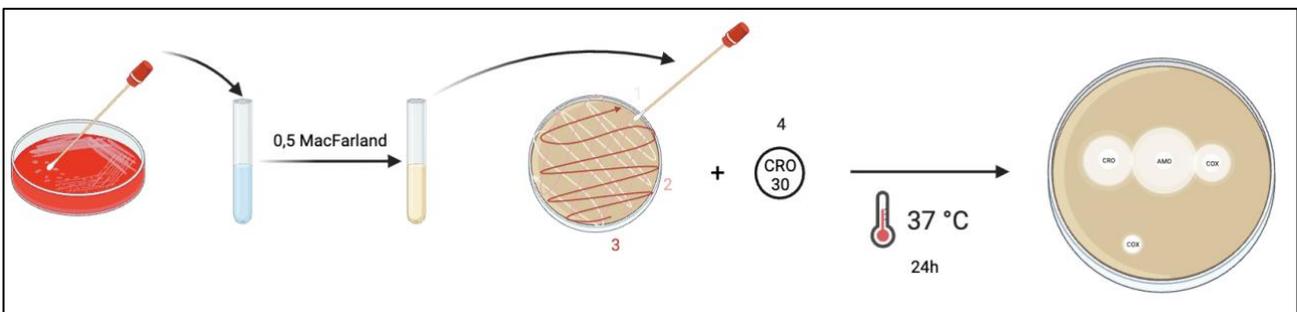


Figure 43 : Schéma de la réalisation technique de la détermination de la synergie par diffusion en disques de cette étude (figure créée sur biorender.com).

Étude de la synergie par technique des CMI croisées

A partir d'une souche de *E. faecalis* ATCC 29212, une gélose M-H a été écouvillonnée à partir d'une suspension de 0,5 McF. Les CMI de l'amoxicilline et de la ceftriaxone de la souche testée ont été mesurées au préalable. Deux bandelettes E-test® (une d'amoxicilline et une de ceftriaxone) ont été apposées perpendiculairement afin que les concentrations affichées sur la bandelette correspondent aux CMI préalablement déterminées. Cette méthode a été utilisée dans la publication de Lorenzo *et al.* et est schématisée dans la **Figure 44**, page 80 (187).

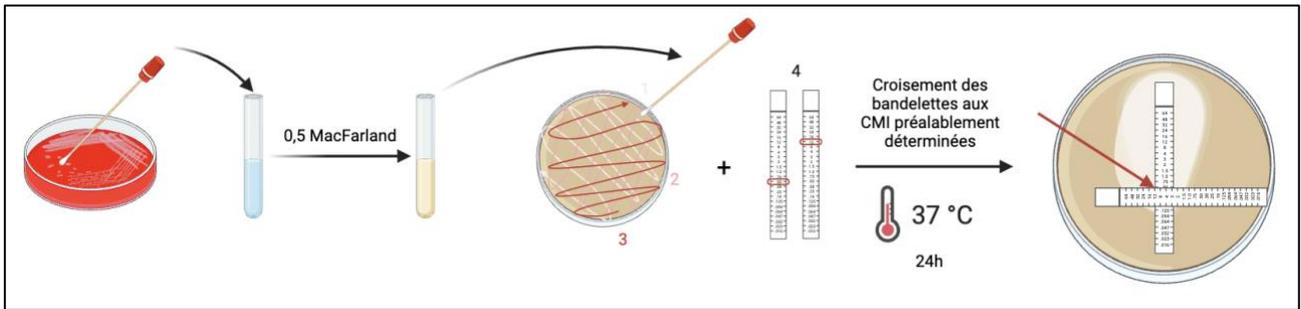


Figure 44 : Schéma de la réalisation technique des CMI croisées de cette étude (figure créée sur biorender.com).

Étude de la synergie par diffusion en bandelette superposées

A partir d'une souche de *E. faecalis* ATCC 29212 et de nos 75 souches cliniques, une gélose M-H a été écouvillonnée à partir d'une suspension de 0,5 McF. Une bandelette E-test® d'amoxicilline a été apposée initialement pendant 30 minutes dans une étuve. Cette bandelette a été ensuite décollée soigneusement puis une bandelette E-test® de ceftriaxone a été apposée au même endroit et incubée à 37°C sous 5 % de CO₂ pendant 20 ± 4h.

La technique est schématisée dans la **Figure 45**. La lecture de la CMI de l'association se fait à l'identique de la technique **ci-dessus**, page 78.

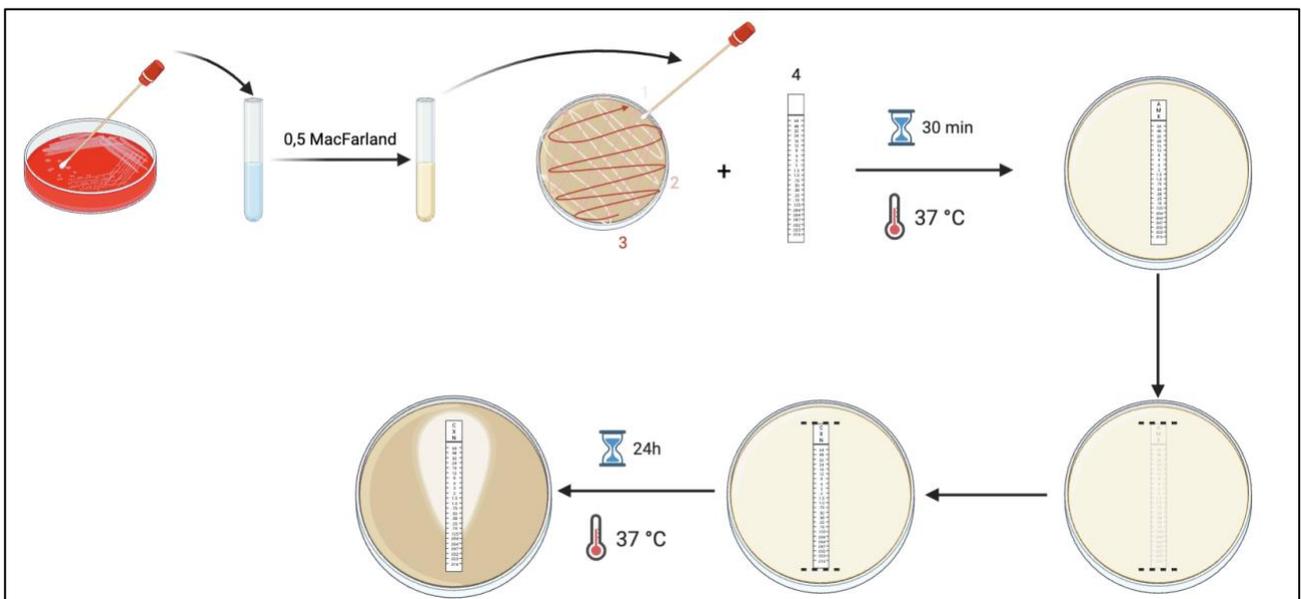


Figure 45 : Schéma de la réalisation technique des bandelettes superposées de cette étude (figure créée sur biorender.com).

Le calcul de l'indice FIC (Fractional Inhibitory Concentration) développé par Hall *et al.* permet d'apprécier la présence d'une synergie significative entre deux antibiotiques (205). Il permet de s'affranchir de l'erreur aléatoire de lecture et permet d'évaluer l'importance de la baisse des CMI par rapport à la CMI de départ.

$$\text{La formule est la suivante : } FIC = FIC_A + FIC_B = \frac{A}{CMI_A} + \frac{B}{CMI_B} .$$

(Où A = CMI de la molécule A en association avec la molécule B, CMI_A = CMI de A seule, B = CMI de la B en association avec A, CMI_B = CMI de B seule. Des valeurs de FIC inférieures à 0,5 indiquent une synergie, de 0,5 à 4 une indifférence et supérieur à 4 un antagonisme (205))

Recrutement des souches au laboratoire de Bactériologie du CHU de Nantes

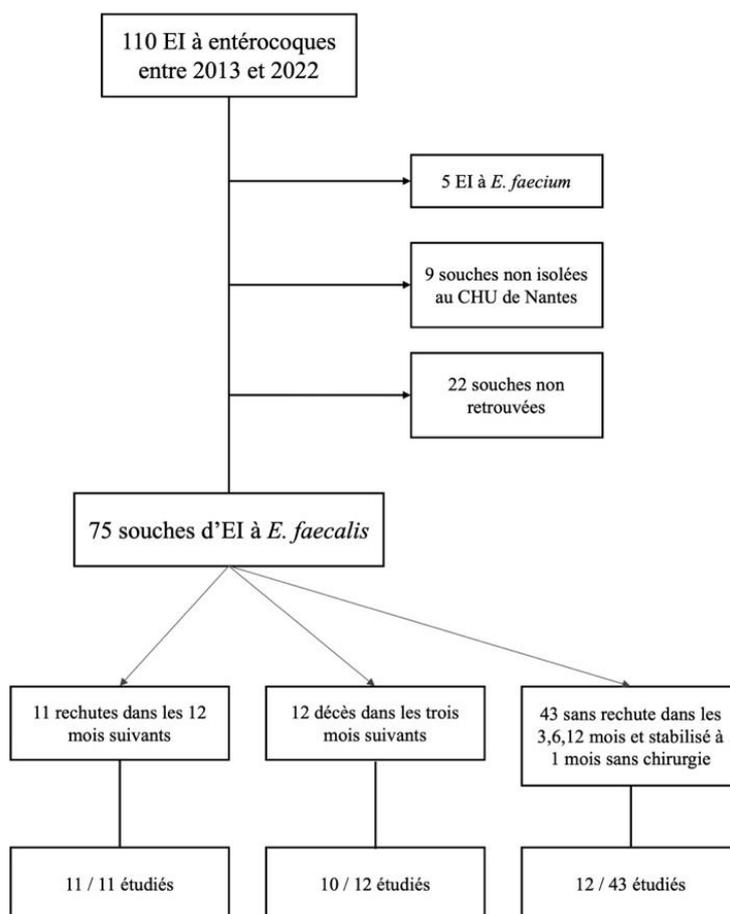


Figure 46 : Diagramme de sélection des souches du service de Bactériologie du CHU de Nantes dans cette étude.

Au total, 110 épisodes d'EI à entérocoques ont été répertoriés au CHU de Nantes entre 2013 et 2022, les modalités de sélection et d'exclusion sont résumées dans la **Figure 46**, page 81.

Cinq infections dues à *Enterococcus faecium* ont été exclues ainsi que neuf épisodes d'EI dont la souche a été isolée dans un autre centre hospitalier. Sur les 96 souches documentées et mise en collection au laboratoire, 75 souches ont été retrouvées et mises en culture.

Parmi ces 75 souches, nous nous sommes intéressés ultérieurement au devenir des patients. Ainsi, trois groupes ont été distingués :

- « Rechute dans les 12 mois suivants » : 11 patients dont 11 souches étudiées ;
- « Décès dans les trois mois suivants » : 12 patients dont 10 souches étudiées ;
- « Absence de rechute dans les trois, six et douze mois et stabilisé à un mois sans chirurgie » : 43 patients dont 12 souches étudiées.

Neuf patients n'appartiennent à aucun des trois groupes puisqu'ils n'étaient pas stabilisé à un mois.

Les statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel PRISM par le test de Student sur échantillons indépendants après analyse ANOVA afin de vérifier l'absence de différence entre les variances de nos sous-populations.

3) Résultats

Détermination des CMI de l'amoxicilline et de la ceftriaxone

Préalablement déterminées par la technique de routine en microdilution par le Vitek 2XL, toutes les CMI de l'ampicilline étaient inférieures ou égales à 2 mg/L et donc les souches étaient bien considérées comme sensibles (97). Ces travaux confirment que 100 % des souches sont sensibles à l'amoxicilline avec des CMI allant de 0,25 à 1 mg/L et montrent une bonne concordance entre ces deux techniques.

La CMI moyenne de l'amoxicilline était de $0,59 \pm 0,055$ mg/L avec une distribution gaussienne (**Figure 47**), ce qui est comparable à toutes les études faites *in vitro* (7,185,187,206) et *in vivo*.

La CMI50 et la CMI 90 des souches étaient respectivement de 0,50 et 0,75 mg/L.

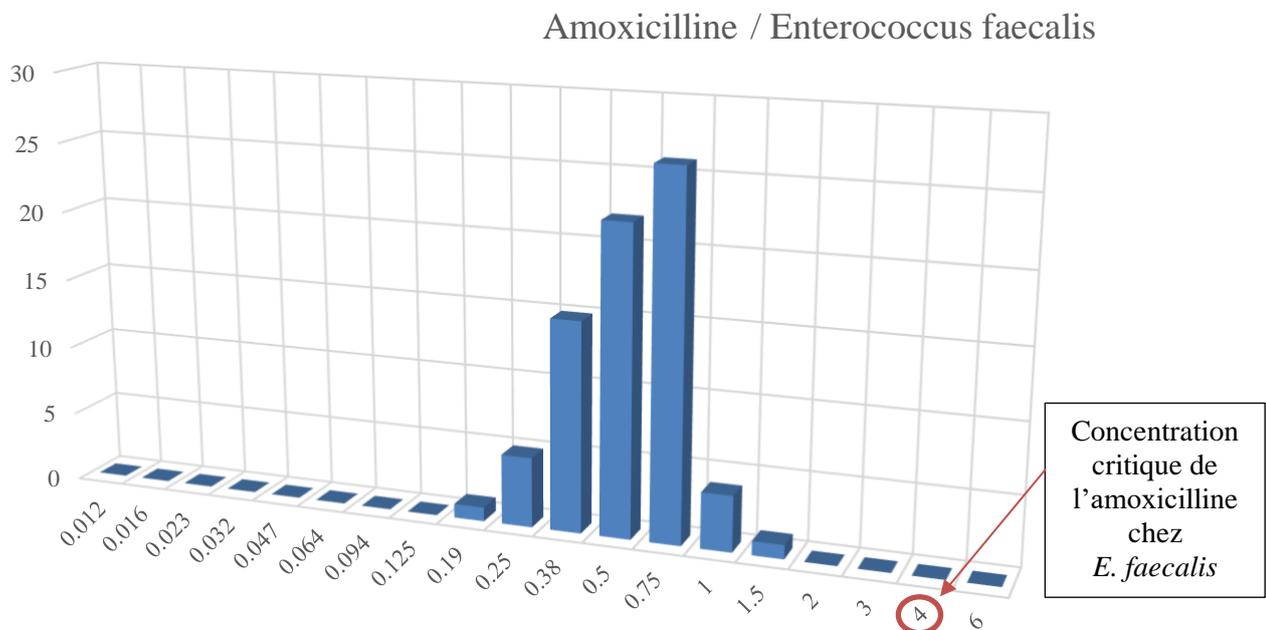


Figure 47 : Distribution des CMI de l'amoxicilline par E-test en diffusion des souches de cette étude.

La distribution des CMI de la ceftriaxone a montré que certaines souches possédaient une certaine sensibilité pour la molécule seule en diffusion par bandelette.

La **Figure 48** confirme le caractère de résistance intrinsèque à la ceftriaxone avec des CMI élevées de cette molécule et une distribution hétérogène. La CMI50 et la CMI90 étaient égales avec une valeur supérieure ou égale à 256 mg/L.

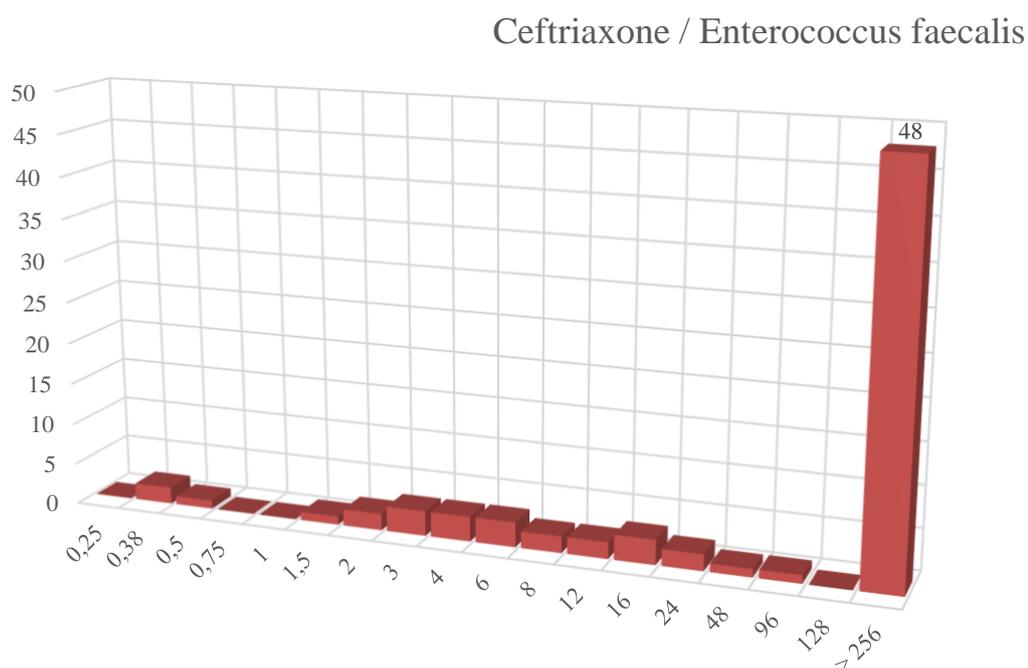


Figure 48 : Distribution des CMI de la ceftriaxone par E-test en diffusion des souches de cette étude.

Étude de la synergie par diffusion en disques

Comme montré dans la **Figure 49A** (page 85) un élargissement entre les deux zones d'inhibition est visible entre les disques d'amoxicilline 20 µg et les deux C3G testées. Ces images sont visibles mais dépendantes de l'écart entre les disques d'antibiotiques de 15 à 30 millimètres. La synergie *in vitro* en diffusion est donc confirmée sur une souche ATCC, tout comme pour dix de nos souches cliniques (données non montrées) et cela confirme les travaux de Mainardi *et al.*

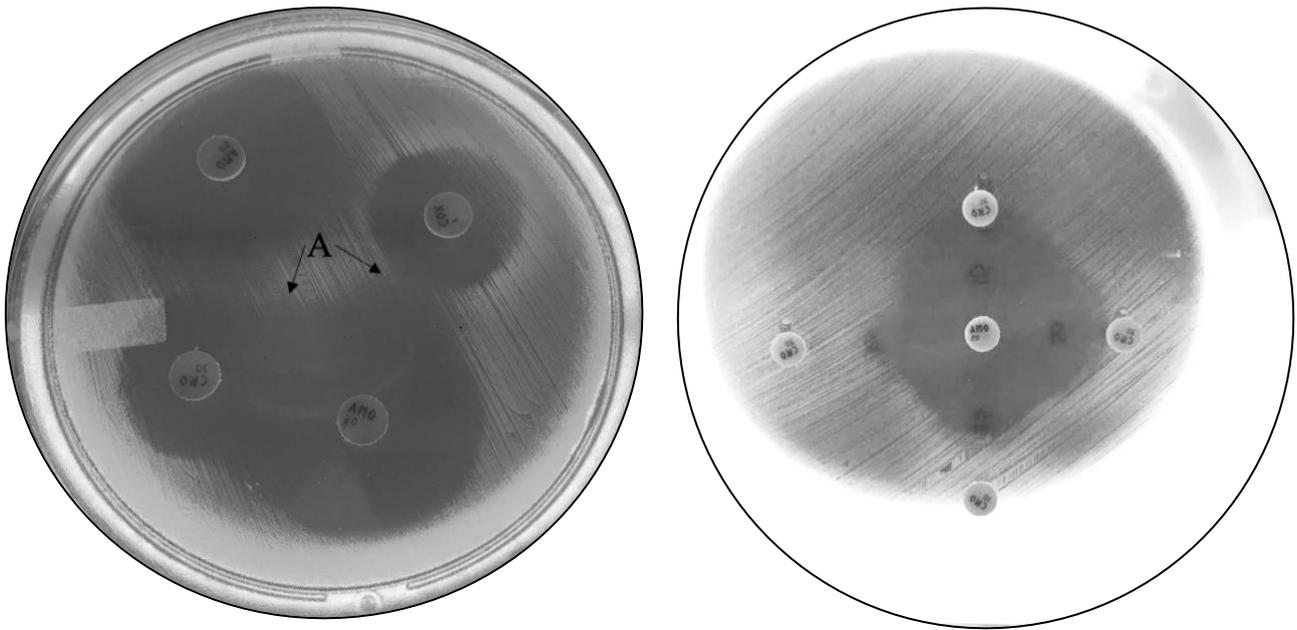


Figure 49 : Synergie visible par diffusion en disques entre l'amoxicilline, le céfotaxime et la ceftriaxone.
 AMO = Amoxicilline, COX = Céfotaxime, CRO = Ceftriaxone (photographies personnelles)

Étude de la synergie par technique des CMI croisées

Lorenzo *et al.* ont proposé un modèle d'observation de la synergie *in vitro* en croisant des bandelettes E-test à la CMI exacte de la molécule seule préalablement déterminée chez *E. faecium* et *E. faecalis*.

La souche de *E. faecalis* ATCC 29212 a montré une image de synergie (**Figure 50A**, page 86) avec un élargissement de l'ellipse d'inhibition pour de très faibles concentrations d'amoxicilline. La CMI de la ceftriaxone de cette souche étant élevée (> 256 mg/L), il paraissait intéressant d'étudier si la synergie était toujours observable avec des concentrations plus faibles (de l'ordre des CMI moyennes d'amoxicilline, nous avons donc choisi une concentration arbitraire de 0,38 mg/L). La **Figure 50B** montre également un élargissement de la zone d'inhibition et témoigne d'une synergie.

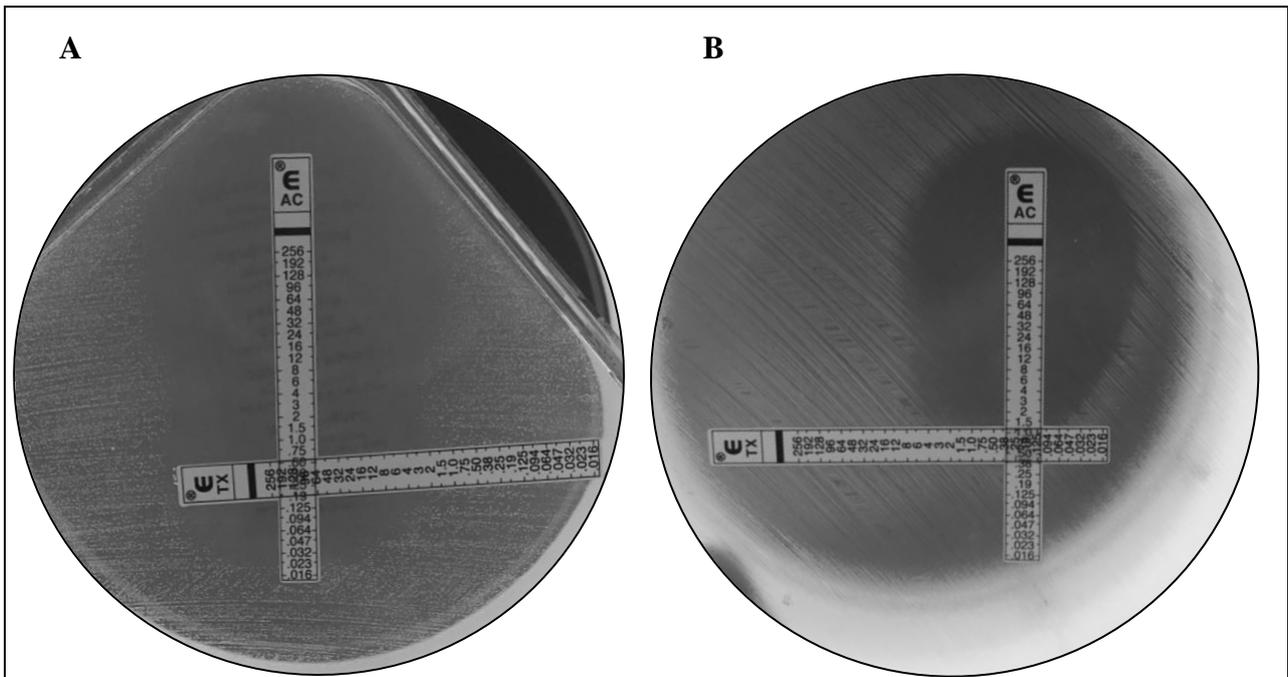


Figure 50 : Images de synergie par technique des bandelettes croisées d'amoxicilline et de ceftriaxone avec la souche de E. faecalis ATCC 29212. (A) Croisement à la CMI déterminée de 256 mg/L (B) Croisement à une concentration de 0,38 mg/L. (photographies personnelles)

Étude de la synergie par diffusion en bandelette superposées

Ces expériences ont été effectuées sur 33 souches afin d'étudier si la synergie par bandelettes était corrélée au devenir du patient. Pour cela, trois groupes préalablement décrits à la page 81 ont été créés et les CMI de la synergie des souches correspondantes aux patients ont été déterminées. Les résultats sont regroupés dans le **Tableau 7**, page 87.

Tableau 7 : CMI de l'amoxicilline seule, de la ceftriaxone seule et de la synergie A-C par diffusion en bandelettes superposées.

	<u>Numéro de la souche</u>	<u>CMI Amoxicilline (AMX)</u>	<u>CMI Ceftriaxone (CRO)</u>	<u>CMI de la synergie A-C</u>
Rechute dans les 12 mois suivants	10	0,38	0,38	0,190
	69	0,75	6,00	0,250
	61	0,75	16,00	0,190
	17	0,38	96,00	0,250
	2	0,38	>256	0,250
	8	0,38	>256	0,500
	11	0,75	>256	0,500
	14	0,50	>256	0,380
	25	0,75	>256	0,380
	58	0,50	>256	0,500
75	0,25	>256	0,250	
Décès dans les trois mois suivants	18	0,38	3,00	0,250
	30	0,38	2,00	0,250
	54	0,19	4,00	0,125
	50	0,38	4,00	0,250
	49	0,75	24,00	0,380
	22	0,25	>256	0,250
	39	0,50	>256	0,250
	19	0,75	>256	0,380
	12	0,50	>256	0,250
35	0,50	>256	0,380	
Absence de rechute dans les trois, six et douze mois et stabilisé à un mois sans chirurgie	4	0,50	0,38	0,094
	20	0,25	0,50	0,250
	26	0,38	6,00	0,250
	48	0,75	8,00	0,750
	60	0,38	8,00	0,250
	15	0,38	12,00	0,250
	5	0,38	>256	0,250
	6	0,50	>256	0,380
	24	0,50	>256	0,380
	44	0,75	>256	0,250
28	0,38	>256	0,250	
9	0,38	>256	0,250	

Les trois groupes étaient comparables avec des variances non significativement différentes. La CMI moyenne de l'amoxicilline des groupes « Rechute dans les 12 mois suivants » et « Décès dans les trois mois suivants » n'ont pas montré de différence significative par rapport au groupe « Absence de rechute dans les trois, six et douze mois et stabilisé à un mois sans chirurgie » (respectivement $p = 0,96$, $p = 0,38$). Le même constat était fait concernant la CMI moyenne de la ceftriaxone ($p = 0,42$, $p = 0,98$) (Figure 51, page 88).

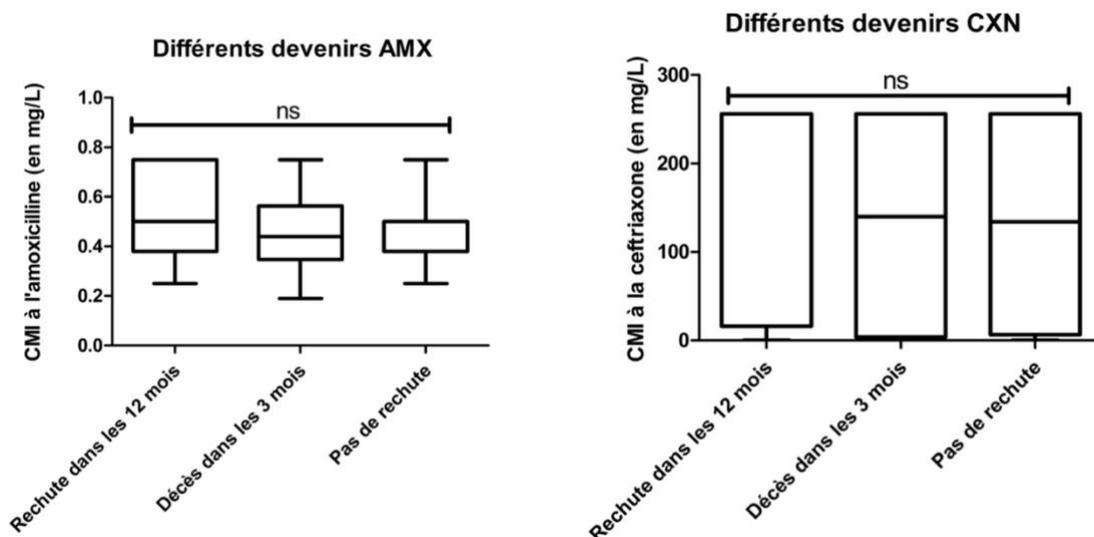


Figure 51 : Comparaison des moyennes des CMI de l'amoxicilline (à gauche) et de la céftriaxone (à droite) chez les trois sous-groupes de patients. (figure créée avec le logiciel PRISM).

Concernant la détermination de la synergie par superposition des bandelettes, les CMI lues sont significativement plus basses que pour l'amoxicilline seule dans les trois sous-groupes (Figure 52).

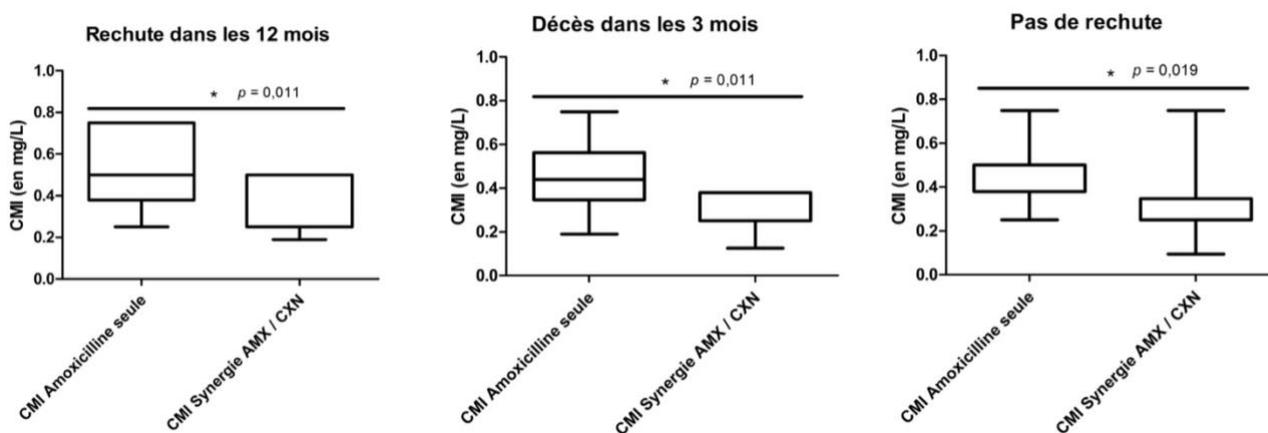


Figure 52 : Comparaison des CMI de l'amoxicilline seule et à la synergie A-C dans les trois sous-groupes. (figure créée avec le logiciel PRISM).

Afin de conclure à une synergie significative *in vitro*, les FIC des différentes souches sont disponibles dans l'Annexe 3, page 125.

En accord avec les CMI de l'amoxicilline et de la ceftriaxone, aucune différence significative des CMI de l'association A-C et des FIC calculés n'a été montrée entre les trois sous-groupes (Annexes 3).

Cependant, certaines souches (n° 4, 44, 61 et 69) montraient un indice FIC inférieur à 0,5 et donc une synergie. D'ailleurs, trois de ces quatre souches ont une CMI de la ceftriaxone dans les valeurs basses (respectivement 0,38, 6 et 16 mg/L), la souche 69 ayant une CMI supérieure à 256 mg/L.

Aucune souche du sous-groupe « Décès dans les trois mois suivants » ne présente d'indice FIC inférieur à 0,5.

Au regard de l'observation de CMI basses de la ceftriaxone chez quelques souches, il est envisageable qu'une CMI basse de la ceftriaxone puisse donner des synergies plus importantes avec l'amoxicilline. Une étude de la corrélation entre la FIC_{Amox} (CMI de la synergie divisée par la CMI Amoxicilline de la même souche) et la CMI de ceftriaxone des souches n'a pas montrée de corrélation significative ($R^2 = 0,064$) comme le témoigne la **Figure 53**.

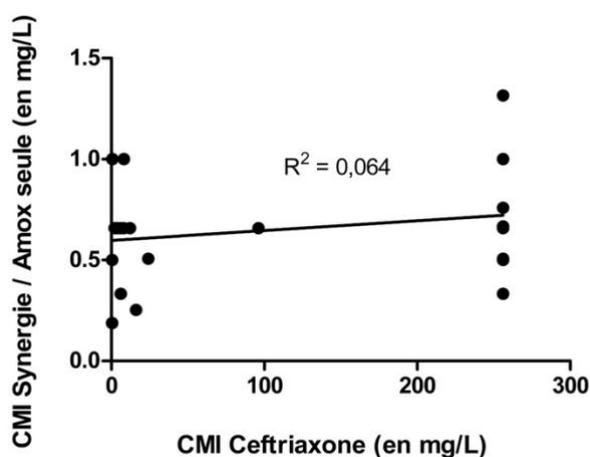


Figure 53 : Absence de corrélation entre la CMI Ceftriaxone et la FIC de l'amoxicilline (figure créée à l'aide du logiciel PRISM).

D) Discussion

Dans la littérature, l'association A-C a montré à de multiples reprises une activité *in vitro* comme *in vivo* suffisante pour traiter des EI à *E. faecalis*, sans entraîner pour autant de rechutes ou de décès lors du suivi à un an (7,9,185,188,189,194). Cette association s'est donc inscrite dans les recommandations 2015 de l'ESC dans le traitement des EI à *E. faecalis* (6).

Cependant, l'absence de publications confirmant les hypothèses proposées par Mainardi *et al.* sur la saturation des PLP de *E. faecalis* laisse un doute sur le mécanisme d'action de cette synergie (7). Le faible nombre de patients inclus dans les cohortes d'EI à *E. faecalis* a souvent empêché d'atteindre le seuil de significativité statistique concernant le taux d'échec sous cette bithérapie (81,195,196). De plus, l'observation régulière d'un taux de rechutes important questionne toujours sur l'efficacité de cette synergie. Pour des raisons éthiques, aucune étude clinique ne pourra désormais comparer un traitement par amoxicilline seule et par l'association A-C. En effet, elle a déjà démontré sa non-infériorité par rapport à l'association A-G (193).

Notre étude a confirmé la présence d'une synergie *in vitro* par l'élargissement des diamètres ou des ellipses d'inhibition par la méthode en diffusion. Toutes les techniques mises en œuvre pour objectiver la synergie *in vitro* ont fonctionné.

Les CMI obtenues après superposition des bandelettes n'ont pas réussi à montrer une différence significative entre les trois sous-groupes de patients, ni même de synergie puisque le calcul de l'indice FIC était supérieur à 0,5 chez 87,9 % des souches (29/33). Cette technique, routinière dans le service de Bactériologie, a été choisie pour cette investigation en raison de sa facilité et de sa rapidité technique. Cependant, la méthode par superposition des bandelettes a été plus étudiée pour les BGN et elle diffère de nos expériences puisqu'elles fonctionnent sur le principe de l'ajout d'un inhibiteur de β -lactamase avec une autre β -lactamine : association ceftazidime-avibactam / aztréonam ou amoxicilline-acide clavulanique / céfixime (199,207). Cette méthode s'est avérée difficile à interpréter dans notre étude puisque contrairement aux inhibiteurs de β -lactamases qui sont à des concentrations fixes sur toute la longueur de la bandelette, les β -lactamines associées ici comme

l'amoxicilline et la ceftriaxone ont des concentrations croissantes et ne permettent sans doute pas d'objectiver une synergie avec une concentration locale identique d'amoxicilline et de ceftriaxone. Par exemple, aucune synergie ne pourrait être visible *in vitro* pour l'amoxicilline à 2 mg/L et la ceftriaxone à 2 mg/L alors qu'elle pourrait probablement être objectivée si la concentration locale en ceftriaxone était plus élevée.

Les raisons pour lesquelles les EI à *E. faecalis* rechutent autant demeurent inconnues à ce jour. Il s'agit d'un sujet faisant l'objet de nombreuses études (208–210).

En effet, dans le cadre des EI à *E. faecalis*, les adhésines jouent probablement un rôle majeur dans la physiopathologie de l'EI. Quelques pistes de recherche sur de l'immunothérapie dirigée contre les adhésines bactériennes d'intérêt ont vu le jour (17). Ces adhésines semblent être un élément clé de la phase primaire de colonisation de la valve et/ou de la végétation et dont l'expression diminue au fur et à mesure du processus infectieux (26,41,42). Leur intérêt serait uniquement valable dans la prévention de l'EI chez les patients à risque. Il en est de même pour des molécules inhibitrices de la formation de biofilm (211). De plus, des expériences ont montré que dans le modèle animal d'endocardite, *E. faecalis* est capable d'engendrer une endocardite sans lésion valvulaire préalable (212). Cette découverte interroge sur la corrélation entre le modèle animal et la maladie chez l'Homme, surtout lors d'EI sur VN à *E. faecalis*.

Par ailleurs, *E. faecalis* a la capacité d'influencer et de communiquer avec son environnement par plusieurs mécanismes. *E. faecalis* peut posséder dans son génome des ICE (Integrative Conjugative Elements). Ces séquences génétiques présentes dans le chromosome bactérien codent pour des éléments transposables capables de porter des gènes de virulence et/ou des déterminants de résistance aux antibiotiques (213). L'alarmone (p)ppGpp dont le rôle est reconnu dans la virulence bactérienne est un moyen de communication entre les bactéries. Elle permettrait de réguler la transcription de certains gènes et déterminerait l'arrêt de la croissance de la bactérie, notamment dans une population bactérienne importante comme dans une végétation (214).

Ainsi, le modèle physiopathologique suivant peut être suggéré : lors de la phase primaire de bactériémie, une densité bactérienne faible induit l'expression de protéines pro-adhérentes aux cellules de l'hôte (Ebp et AS) permettant l'augmentation de la surface d'adhérence afin de coloniser un tissu (215). Une fois la phase d'adhérence effectuée, la formation d'un biofilm est induite par des molécules activatrices du système Fsr. L'activation de ce système permet d'échapper au SI. Les bactéries présentes dans un biofilm étant protégées de toute agression externe, une reprise de la croissance et de la division permet d'augmenter la population. La concentration locale en alarmones (peptide signaux phéromones tels que (p)ppGpp) augmente proportionnellement à la densité bactérienne et va faciliter le transfert de gènes et donc de facteurs de virulence. Une destruction tissulaire importante peut alors se manifester si la cytolysine est très présente dans la population.

L'arsenal protéique et génétique de *E. faecalis* peut expliquer certains aspects de son pouvoir pathogène. Aucun élément ne semble à lui seul responsable de la difficulté à éradiquer cette infection chez certains patients. L'hypothèse la plus souvent émise reste celle du profil de sensibilité de la bactérie aux β -lactamines. En effet, *E. faecalis* étant naturellement résistant aux C3G seules, leur association aux aminopénicillines qui sont constamment actives sur cette bactérie interroge sur leur plus-value lors du traitement des EI.

En ce qui concerne les PLP chez *E. faecalis*, il existe dans la littérature des appellations différentes pour une même protéine : la PLP de mauvaise affinité aux céphalosporines qui est appelée PLP4 (ou PLP5 selon les publications). Quelques auteurs ont pris en compte les différentes appellations et parlent donc de PLP5(4) dont le gène codant pour cette protéine est *pbp5* (93,94,216). Il s'agit d'une PLP de type B donc monofonctionnelle marquée par une activité transpeptidase (93,217). Les PLP de classe B n'ayant qu'une activité TP, d'autres moyens doivent être mis en place par la bactérie pour afin de continuer à produire du PG et de relier les chaînes entre elles (216).

Il existe chez *E. faecalis* une PLP2b (*pbpA*) de classe B. Lorsque cette PLP n'est pas exprimée, par délétion du gène *pbpA*, les CMI des céphalosporines étaient diminuées de l'ordre de celle d'une souche délétée du gène *pbp5* codant pour la PLP5(4). Par exemple, pour la souche de *E. faecalis* OG1, la CMI de la ceftriaxone était de 64 mg/L pour la souche sauvage et les mutants délétés de *pbp5* et de *pbpA* avaient une CMI plus basse de l'ordre de 1 mg/L (94). De plus, son absence entraîne des

défauts dans la morphologie de la bactérie et dans sa croissance. (94). Cette PLP a donc un rôle majeur dans la production de PG et dans la résistance aux β -lactamines.

Le système CroRS est un régulon dépendant de deux protéines : CroR et CroS qui sont activés par phosphorylation lors d'un stress cellulaire concernant l'intégrité de la paroi bactérienne (218). Ce système va induire l'expression de multiples protéines dont les PLP5(4) et PLP2b quand les ressources énergétiques de l'environnement sont appauvries ce qui est le cas dans une végétation (218,219).

E. faecalis possède un homologue d'une enzyme présente dans le génome de *E. faecium* qui est capable de synthétiser du PG à partir d'un autre térapeptide (220). Celui-ci est obtenu après action d'une D-D carboxypeptidase (PLP de classe C, type 5). L'enzyme D-L transpeptidase permet ainsi de lier les chaînes entre elles par une liaison entre un D-Lactate et une Lysine. L'association de ces deux enzymes pourrait permettre à la bactérie de continuer à synthétiser du PG, y compris en présence de β -lactamines.

Chez *E. faecalis*, les PLP de classe A sont non-essentiels puisque la délétion de toutes ces protéines n'entraîne pas la mort de la bactérie. En revanche, elle se divise plus lentement (216).

L'activité TP des PLP de classe A seules pourrait ne pas suffire à relier efficacement les chaînes de PG entre elles. Cela bloquerait provisoirement la synthèse de la paroi (activité bactériostatique) jusqu'à ce que les PLP de classe B (moins affines aux β -lactamines) puissent prendre le relais avec d'autres enzymes de type GT ayant une activité catalytique moindre mais ne liant pas les pénicillines (179). Leur rôle serait majoritairement de maintenir l'intégrité du PG (221).

Il est difficile d'affirmer quelles PLPs sont inhibées préférentiellement par l'amoxicilline ou la ceftriaxone étant donné le manque de concordance dans les appellations des PLPs chez cette espèce dans la littérature. Toutefois, le spectre d'inhibition des PLPs par ces deux molécules pourrait empêcher la bactérie d'emprunter des « by-pass » métaboliques pour la synthèse de son PG.

Un autre aspect à étudier concernant l'interaction entre les β -lactamines et *E. faecalis* est la notion de tolérance. Ce mécanisme est caractérisé par une capacité de survie accrue de la bactérie malgré une exposition à un antibiotique à une concentration bactéricide et dont la CMI est catégorisée comme sensible *in vitro* (222).

Un constat intéressant de cette étude, peu souligné dans la littérature, était celui de la distribution des CMI de la ceftriaxone. En effet, certaines souches de *E. faecalis* étudiées possédaient ici des CMI de ceftriaxone plus basses par rapport à celles étudiées dans la littérature (constamment supérieures ou égales à 256 mg/L) (187,188). Mainardi *et al.* avaient deux et trois de leurs 50 souches ayant respectivement des CMI de céfotaxime de 4 et 8 mg/L (7). La souche n°4 de cette étude possède un profil intéressant puisque son indice FIC calculé est en faveur d'une synergie. De plus, la valeur de la synergie par superposition des bandelettes est la plus faible de notre étude.

Outre l'activité antibactérienne directe des β -lactamines sur *E. faecalis*, la notion de concentration active au le site de l'infection est une variable très discutée dans l'étude des échecs de traitement dans les EI à *E. faecalis*.

Les études pharmacocinétiques, rares dans la littérature concernant l'EI, montrent une diffusion de l'amoxicilline dans l'endocarde estimée à 23 ± 15 mg/L à dose endocarditique (12 ± 3 g/24h) (223). La diffusion de la ceftriaxone dans l'atrium a été mesurée à 30,5 mg/L à dose endocarditique (224).

L'étude de la diffusion de la ceftriaxone dans la végétation est qualifiée de mauvaise puisqu'elle est retrouvée uniquement dans la périphérie de la végétation (225).

La **Figure 54**, page 95 montre un élargissement de l'ellipse d'inhibition lors de l'association des deux molécules avec les concentrations atteintes dans la valve (32 mg/L pour la ceftriaxone et 24 mg/L pour l'amoxicilline).

La présence d'une synergie *in vitro* à des concentrations moyennes dans l'endocarde est visible et laisse présager d'une efficacité dans cette indication.

Afin d'obtenir des concentrations fixes dans la cible, le calcul de la dose journalière par rapport à la fonction rénale du patient et l'administration par perfusion continue intraveineuse sont recommandés (226). Les dosages plasmatiques d'amoxicilline, très utilisés en routine au laboratoire, sont cependant un reflet inconnu des concentrations atteintes dans la valve.

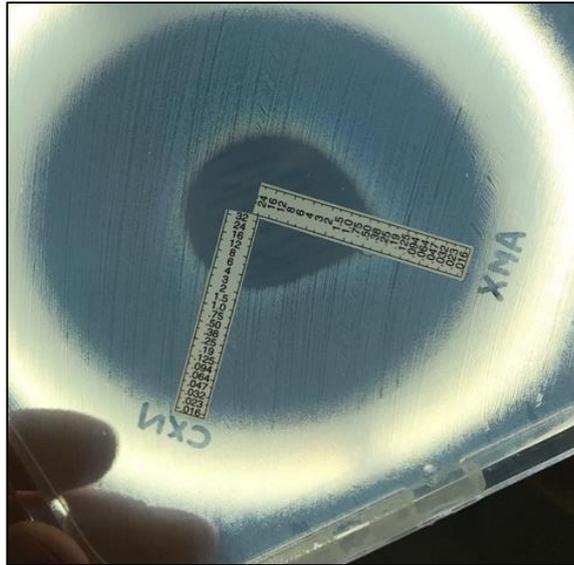


Figure 54 : Synergie par bandelettes E-test en diffusion à concentrations moyennes dans la valve chez une souche de E. faecalis ATCC 29212. (Photographie personnelle)

Concernant les autres antibiotiques actifs sur l'espèce *E. faecalis*, mise à part la ceftriaxone seuls la vancomycine et les aminosides font partie des recommandations du traitement des EI à entérocoques. L'utilisation des aminosides dans l'EI est de plus en plus controversée en raison d'une balance bénéfice / risque peu en faveur de leur usage (227). D'autres associations actives sur *E. faecalis* doivent être étudiées afin d'améliorer le devenir des patients atteints de cette infection.

C'est pourquoi l'ESC a proposé des alternatives à ces antibiothérapies telles que la daptomycine à 10 mg/kg par jour en association avec l'ampicilline à 200 mg/kg par jour ou le linézolide à une posologie de 600 mg deux fois par jour par voie intraveineuse ou orale (6).

E) Perspectives

Après notre investigation *in vitro*, seules quatre des 33 souches cliniques étudiées présentaient un indice FIC calculé inférieur ou égal à 0,5 avec cette méthode. Ce travail est le premier, à notre connaissance, à avoir testé la présence d'une synergie *in vitro* sur un nombre de souches différentes aussi important (n = 33).

Afin de s'assurer de la réelle présence ou absence de synergie, ces 33 souches devraient être testées, à l'image des travaux de Lorenzo *et al.*, avec plusieurs méthodes différentes dont celle de la cinétique de bactéricidie (187). Ces données permettraient de confronter les résultats obtenus avec cette méthode de référence et étudier la corrélation entre les différentes méthodes. De plus, des études statistiques comparatives entre ces données et le devenir des patients pourront être effectuées.

Le constant des CMI de la souche n°4 de l'étude nous pousse à investiguer le rôle de la CMI de la ceftriaxone pour une souche donnée et si elle est corrélée à un meilleur devenir du patient.

En fonction des résultats obtenus, des expérimentations en modèle animal *in vivo* pourraient être menées.

Chez des patients, la réalisation de dosages plasmatiques des antibiotiques (amoxicilline et ceftriaxone) ainsi que dans la valve en peropératoire pourrait permettre une étude de corrélation afin de savoir si un rapport fixe des concentrations dans ces deux compartiments existe. Par ailleurs, il serait intéressant de corréler ces résultats à l'étude anatomopathologique du tissu valvulaire. En effet, l'étude des remaniements tissulaires pourraient expliquer des discordances entre les rapports des concentrations en raison d'une difficulté d'atteindre l'endocarde si les capsules de fibrine sont présentes et significativement plus épaisses.

IV) Conclusion

La technique d'investigation de la présence d'une synergie entre amoxicilline et ceftriaxone par bandelettes E-test® chez les souches cliniques de *E. faecalis* n'a pas montré de résultats probants. Son utilisation en routine ne peut pas être mise en place en l'état. Nous avons noté une mauvaise corrélation entre les résultats *in vitro* et le devenir des patients.

Au regard de la littérature disponible concernant cette association A-C, il semblerait que la synergie soit active par une complémentarité de l'inhibition des PLP chez *E. faecalis* ce qui empêcherait la bactérie de continuer à synthétiser du PG par d'autres voies métaboliques.

Un taux significativement inférieur d'effets indésirables rénaux et un pourcentage de succès thérapeutique similaire à celui rapporté pour la bithérapie A-G sont rapportés dans les quelques cohortes disponibles. Ces résultats placent la bithérapie A-C comme un traitement de choix, désormais dans les recommandations 2015 de l'ESC.

Les concentrations tissulaires endocarditiques de ces antibiotiques laissent présager d'une potentielle synergie, sur une expérience *in vitro*, faite uniquement sur une souche de référence.

Quant aux taux de rechutes et d'échecs élevés lors des EI à *E. faecalis*, les raisons semblent multiples. Elles ne relèvent pas uniquement d'une présence ou non d'une synergie significative entre l'amoxicilline et la ceftriaxone. La tolérance aux antibiotiques lorsque la bactérie est soumise à un stress dû au traitement, la mauvaise pénétration des antibiotiques dans les populations bactériennes entourées de fibrine et l'échange de matériel génétique au sein de ces populations demeurent des éléments à investiguer.

Références

1. Revest M, Doco-Lecompte T, Hoen B, Alla F, Selton-Suty C, Duval X. Epidémiologie de l'endocardite infectieuse en France. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*. 2013;(10):89-94.
2. Ambrosioni J, Hernández-Meneses M, Durante-Mangoni E, Tattevin P, Olaison L, Freiburger T, *et al.* Epidemiological Changes and Improvement in Outcomes of Infective Endocarditis in Europe in the Twenty-First Century: An International Collaboration on Endocarditis (ICE) Prospective Cohort Study (2000-2012). *Infect Dis Ther*. avr 2023;12(4):1083-101.
3. El-Dalati S, Cronin D, Riddell J, Shea M, Weinberg RL, Washer L, *et al.* The Clinical Impact of Implementation of a Multidisciplinary Endocarditis Team. *The Annals of Thoracic Surgery*. janv 2022;113(1):118-24.
4. Scheld WM. Therapy of streptococcal endocarditis: correlation of animal model and clinical studies. *J Antimicrob Chemother*. sept 1987;20 Suppl A:71-85.
5. Kristich CJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, éditeurs. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014 [cité 6 juill 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>
6. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorni MG, Casalta JP, Del Zotti F, *et al.* 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *Eur Heart J*. 21 nov 2015;36(44):3075-128.
7. Mainardi JL, Gutmann L, Acar JF, Goldstein FW. Synergistic effect of amoxicillin and cefotaxime against *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*. sept 1995;39(9):1984-7.
8. Marino A, Munafò A, Zagami A, Ceccarelli M, Di Mauro R, Cantarella G, *et al.* Ampicillin Plus Ceftriaxone Regimen against *Enterococcus faecalis* Endocarditis: A Literature Review. *JCM*. 6 oct 2021;10(19):4594.
9. Pericas JM, Cervera C, Del Rio A, Moreno A, Garcia De La Maria C, Almela M, *et*

al. Changes in the treatment of *Enterococcus faecalis* infective endocarditis in Spain in the last 15 years: from ampicillin plus gentamicin to ampicillin plus ceftriaxone. *Clinical Microbiology and Infection*. déc 2014;20(12):O1075-83.

10. Cattoir V. The multifaceted lifestyle of enterococci: genetic diversity, ecology and risks for public health. *Current Opinion in Microbiology*. févr 2022;65:73-80.

11. Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen É, Quentin R. *Bactériologie Médicale*. ELSEVIER MASSON. 2007.

12. García-Solache M, Rice LB. The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment. *Clin Microbiol Rev*. 20 mars 2019;32(2):e00058-18.

13. Murray BE. The life and times of the Enterococcus. *Clin Microbiol Rev*. janv 1990;3(1):46-65.

14. Schleifer KH, Kilpper-Balz R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1 janv 1984;34(1):31-4.

15. 11.5.6 Les adhésines. In: *Bactériologie: pour la médecine, la biologie et les biotechnologies cours*. 6e éd. Paris: Dunod; 2005. p. 362. (Sciences sup).

16. Nallapareddy SR, Singh KV, Sillanpää J, Garsin DA, Hook M, Erlandsen SL, *et al.* Endocarditis and biofilm-associated pili of *Enterococcus faecalis*. *Journal of Clinical Investigation*. 2 oct 2006;116(10):2799-807.

17. Singh KV, Nallapareddy SR, Sillanpää J, Murray BE. Importance of the Collagen Adhesin Ace in Pathogenesis and Protection against *Enterococcus faecalis* Experimental Endocarditis. Cheung A, éditeur. *PLoS Pathog*. 8 janv 2010;6(1):e1000716.

18. Hendrickx APA, Willems RJL, Bonten MJM, Van Schaik W. LPxTG surface proteins of enterococci. *Trends in Microbiology*. sept 2009;17(9):423-30.

19. Chandler JR, Hirt H, Dunny GM. A paracrine peptide sex pheromone also acts as an autocrine signal to induce plasmid transfer and virulence factor expression *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 25 oct 2005;102(43):15617-22.

20. Hirt H, Schlievert PM, Dunny GM. In vivo induction of virulence and antibiotic resistance transfer in *Enterococcus faecalis* mediated by the sex pheromone-sensing system of pCF10. *Infect Immun*. févr 2002;70(2):716-23.

21. McCormick JK, Hirt H, Waters CM, Tripp TJ, Dunny GM, Schlievert PM. Antibodies to a Surface-Exposed, N-terminal Domain of Aggregation Substance Are Not Protective in the Rabbit Model of *Enterococcus faecalis* Infective Endocarditis. Clements JD, éditeur. Infect Immun. mai 2001;69(5):3305-14.
22. Chuang ON, Schlievert PM, Wells CL, Manias DA, Tripp TJ, Dunny GM. Multiple functional domains of *Enterococcus faecalis* aggregation substance Asc10 contribute to endocarditis virulence. Infect Immun. janv 2009;77(1):539-48.
23. Chow JW, Thal LA, Perri MB, Vazquez JA, Donabedian SM, Clewell DB, *et al.* Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis. Antimicrob Agents Chemother. nov 1993;37(11):2474-7.
24. Nielsen HV, Flores-Mireles AL, Kau AL, Kline KA, Pinkner JS, Neiers F, *et al.* Pilin and sortase residues critical for endocarditis- and biofilm-associated pilus biogenesis in *Enterococcus faecalis*. J Bacteriol. oct 2013;195(19):4484-95.
25. Cobo Molinos A, Abriouel H, Omar NB, López RL, Galvez A. Detection of ebp (endocarditis- and biofilm-associated pilus) genes in enterococcal isolates from clinical and non-clinical origin. Int J Food Microbiol. 15 août 2008;126(1-2):123-6.
26. Panthee S, Paudel A, Hamamoto H, Ogasawara AA, Iwasa T, Blom J, *et al.* Complete genome sequence and comparative genomic analysis of *Enterococcus faecalis* EF-2001, a probiotic bacterium. Genomics. mai 2021;113(3):1534-42.
27. Nallapareddy SR, Sillanpää J, Mitchell J, Singh KV, Chowdhury SA, Weinstock GM, *et al.* Conservation of Ebp-type pilus genes among Enterococci and demonstration of their role in adherence of *Enterococcus faecalis* to human platelets. Infect Immun. juill 2011;79(7):2911-20.
28. Seno Y, Kariyama R, Mitsuata R, Monden K, Kumon H. Clinical implications of biofilm formation by *Enterococcus faecalis* in the urinary tract. Acta Med Okayama. juin 2005;59(3):79-87.
29. Upadhyaya GPM, Lingadevaru UB, Lingegowda RK. Comparative study among clinical and commensal isolates of *Enterococcus faecalis* for presence of esp gene and biofilm production. J Infect Dev Ctries. 28 mai 2011;5(5):365-9.
30. Shankar V, Baghdayan AS, Huycke MM, Lindahl G, Gilmore MS. Infection-derived *Enterococcus faecalis* strains are enriched in esp, a gene encoding a novel surface protein. Infect

Immun. janv 1999;67(1):193-200.

31. Braï MA, Hannachi N, El Gueddari N, Baudoin JP, Dahmani A, Lepidi H, *et al.* The Role of Platelets in Infective Endocarditis. IJMS. 19 avr 2023;24(8):7540.

32. 2.2.11 Les capsules et les couches muqueuses. In: Bactériologie: pour la médecine, la biologie et les biotechnologies cours. 6e éd. Paris: Dunod; 2005. p. 32-3. (Sciences sup).

33. Hancock LE, Gilmore MS. The capsular polysaccharide of *Enterococcus faecalis* and its relationship to other polysaccharides in the cell wall. Proc Natl Acad Sci U S A. 5 févr 2002;99(3):1574-9.

34. Hufnagel M, Hancock LE, Koch S, Theilacker C, Gilmore MS, Huebner J. Serological and genetic diversity of capsular polysaccharides in *Enterococcus faecalis*. J Clin Microbiol. juin 2004;42(6):2548-57.

35. Thurlow LR, Thomas VC, Fleming SD, Hancock LE. *Enterococcus faecalis* capsular polysaccharide serotypes C and D and their contributions to host innate immune evasion. Infect Immun. déc 2009;77(12):5551-7.

36. Brock TD, Davie JM. PROBABLE IDENTITY OF A GROUP D HEMOLYSIN WITH A BACTERIOCINE. J Bacteriol. oct 1963;86(4):708-12.

37. Cox CR, Coburn PS, Gilmore MS. Enterococcal cytolysin: a novel two component peptide system that serves as a bacterial defense against eukaryotic and prokaryotic cells. Curr Protein Pept Sci. févr 2005;6(1):77-84.

38. Ali L, Goraya MU, Arafat Y, Ajmal M, Chen JL, Yu D. Molecular Mechanism of Quorum-Sensing in *Enterococcus faecalis*: Its Role in Virulence and Therapeutic Approaches. Int J Mol Sci. 3 mai 2017;18(5):960.

39. Shankar N, Coburn P, Pillar C, Haas W, Gilmore M. Enterococcal cytolysin: activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. Int J Med Microbiol. avr 2004;293(7-8):609-18.

40. Van Tyne D, Martin M, Gilmore M. Structure, Function, and Biology of the *Enterococcus faecalis* Cytolysin. Toxins. 29 avr 2013;5(5):895-911.

41. Ness IF, Diep DB, Ike Y. Enterococcal Bacteriocins and Antimicrobial Proteins that Contribute to Niche Control. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, éditeurs. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet]. Boston: Massachusetts

Eye and Ear Infirmary; 2014 [cité 17 juill 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190428/>

42. Huycke MM, Gilmore MS. Frequency of Aggregation Substance and Cytolysin Genes among Enterococcal Endocarditis Isolates. *Plasmid*. sept 1995;34(2):152-6.
43. Ike Y, Clewell DB. Evidence that the hemolysin/bacteriocin phenotype of *Enterococcus faecalis* subsp. *zymogenes* can be determined by plasmids in different incompatibility groups as well as by the chromosome. *J Bacteriol*. déc 1992;174(24):8172-7.
44. 11.2.1.2 Les biofilms. In: *Bactériologie: pour la médecine, la biologie et les biotechnologies cours*. 6e éd. Paris: Dunod; 2005. p. 318. (Sciences sup).
45. Mohamed JA, Huang W, Nallapareddy SR, Teng F, Murray BE. Influence of origin of isolates, especially endocarditis isolates, and various genes on biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun*. juin 2004;72(6):3658-63.
46. Hancock LE, Perego M. The *Enterococcus faecalis* *fsr* two-component system controls biofilm development through production of gelatinase. *J Bacteriol*. sept 2004;186(17):5629-39.
47. Thurlow LR, Thomas VC, Narayanan S, Olson S, Fleming SD, Hancock LE. Gelatinase Contributes to the Pathogenesis of Endocarditis Caused by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun*. nov 2010;78(11):4936-43.
48. Park SY, Kim KM, Lee JH, Seo SJ, Lee IH. Extracellular gelatinase of *Enterococcus faecalis* destroys a defense system in insect hemolymph and human serum. *Infect Immun*. avr 2007;75(4):1861-9.
49. Pillai SK, Sakoulas G, Gold HS, Wennersten C, Eliopoulos GM, Moellering RC, *et al*. Prevalence of the *fsr* locus in *Enterococcus faecalis* infections. *J Clin Microbiol*. juill 2002;40(7):2651-2.
50. Qin X, Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. Effects of *Enterococcus faecalis* *fsr* genes on production of gelatinase and a serine protease and virulence. *Infect Immun*. mai 2000;68(5):2579-86.
51. Anderson AC, Jonas D, Huber I, Karygianni L, Wölber J, Hellwig E, *et al*. *Enterococcus faecalis* from Food, Clinical Specimens, and Oral Sites: Prevalence of Virulence Factors in Association with Biofilm Formation. *Front Microbiol*. 2015;6:1534.
52. Guzmàn CA, Pruzzo C, LiPira G, Calegari L. Role of adherence in pathogenesis of

- Enterococcus faecalis* urinary tract infection and endocarditis. Infect Immun. juin 1989;57(6):1834-8.
53. McCormick JK, Hirt H, Dunny GM, Schlievert PM. Pathogenic Mechanisms of Enterococcal Endocarditis. Curr Infect Dis Rep. août 2000;2(4):315-21.
54. Vergis EN, Shankar N, Chow JW, Hayden MK, Snyderman DR, Zervos MJ, *et al.* Association between the presence of enterococcal virulence factors gelatinase, hemolysin, and enterococcal surface protein and mortality among patients with bacteremia due to *Enterococcus faecalis*. Clin Infect Dis. 1 sept 2002;35(5):570-5.
55. Chenoweth C, Schaberg D. The epidemiology of enterococci. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. févr 1990;9(2):80-9.
56. Goh HMS, Yong MHA, Chong KKL, Kline KA. Model systems for the study of Enterococcal colonization and infection. Virulence. 17 nov 2017;8(8):1525-62.
57. Guillard Thomas LMF. Diagnostic bactériologique des infections urinaires [Internet]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Infections-urinaires.pdf
58. Chapitre 20 - Infections urinaires. In: Rémic: référentiel en microbiologie médicale. 7e édition, 2022. Paris: Société française de microbiologie; 2022. p. 239.
59. Hooton TM, Roberts PL, Cox ME, Stapleton AE. Voided midstream urine culture and acute cystitis in premenopausal women. N Engl J Med. 14 nov 2013;369(20):1883-91.
60. Goulet O. La flore intestinale : un monde vivant à préserver. Journal de Pédiatrie et de Puériculture. mai 2009;22(3):102-6.
61. Solomkin JS, Mazuski JE, Baron EJ, Sawyer RG, Nathens AB, DiPiro JT, *et al.* Guidelines for the selection of anti-infective agents for complicated intra-abdominal infections. Clin Infect Dis. 15 oct 2003;37(8):997-1005.
62. Harbarth S, Uckay I. Are there patients with peritonitis who require empiric therapy for enterococcus? Eur J Clin Microbiol Infect Dis. févr 2004;23(2):73-7.
63. Csendes A, Burdiles P, Maluenda F, Diaz JC, Csendes P, Mitru N. Simultaneous bacteriologic assessment of bile from gallbladder and common bile duct in control subjects and patients with gallstones and common duct stones. Arch Surg. avr 1996;131(4):389-94.
64. Kanafani ZA, Khalifé N, Kanj SS, Araj GF, Khalifeh M, Sharara AI. Antibiotic use in acute cholecystitis: practice patterns in the absence of evidence-based guidelines. J Infect. août

2005;51(2):128-34.

65. Mittal H, Wyawahare M, Sistla S. Microbiological profile of pathogens in spontaneous bacterial peritonitis secondary to liver cirrhosis: a retrospective study. *Trop Doct. avr* 2020;50(2):138-41.

66. Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, Retamar P, Natera C, Nuño E, *et al.* Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. *Clin Microbiol Infect. sept* 2010;16(9):1408-13.

67. Malone DA, Wagner RA, Myers JP, Watanakunakorn C. Enterococcal bacteremia in two large community teaching hospitals. *Am J Med. oct* 1986;81(4):601-6.

68. Lupia T, Roberto G, Scaglione L, Shbaklo N, De Benedetto I, Scabini S, *et al.* Clinical and microbiological characteristics of bloodstream infections caused by *Enterococcus* spp. within internal medicine wards: a two-year single-centre experience. *Intern Emerg Med. juin* 2022;17(4):1129-37.

69. Shlaes DM, Levy J, Wolinsky E. Enterococcal bacteremia without endocarditis. *Arch Intern Med. avr* 1981;141(5):578-81.

70. Poh CH, Oh HML, Tan AL. Epidemiology and clinical outcome of enterococcal bacteraemia in an acute care hospital. *J Infect. mai* 2006;52(5):383-6.

71. Souhail B, Le Maréchal M, Manuello R, Chrétien R, Charlot P, Déroutilhes G, *et al.* Antibiotic therapy for *Enterococcus* bacteraemia: warning for the antimicrobial stewardship team. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis. nov* 2019;38(11):2087-95.

72. Maki DG, Agger WA. Enterococcal bacteremia: clinical features, the risk of endocarditis, and management. *Medicine (Baltimore). juill* 1988;67(4):248-69.

73. Rosselli Del Turco E, Bartoletti M, Dahl A, Cervera C, Pericàs JM. How do I manage a patient with enterococcal bacteraemia? *Clin Microbiol Infect. mars* 2021;27(3):364-71.

74. Jang HC, Park WB, Kim HB, Kim EC, Oh MD. Clinical Features and Rate of Infective Endocarditis in Non-Faecalis and Non-faecium Enterococcal Bacteremia. *Chonnam Med J. août* 2011;47(2):111-5.

75. Bartoletti M, Tedeschi S, Scudeller L, Pascale R, Rosselli Del Turco E, Trapani F, *et al.* Impact on Mortality of a Bundle for the Management of Enterococcal Bloodstream Infection.

Open Forum Infect Dis. déc 2019;6(12):ofz473.

76. Chirouze C, Athan E, Alla F, Chu VH, Ralph Corey G, Selton-Suty C, *et al.* Enterococcal endocarditis in the beginning of the 21st century: analysis from the International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study. *Clinical Microbiology and Infection*. déc 2013;19(12):1140-7.

77. Habib G, Erba PA, Iung B, Donal E, Cosyns B, Laroche C, *et al.* Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. *Eur Heart J*. 14 oct 2019;40(39):3222-32.

78. Olmos C, Vilacosta I, Fernández-Pérez C, Bernal JL, Ferrera C, García-Arribas D, *et al.* The Evolving Nature of Infective Endocarditis in Spain: A Population-Based Study (2003 to 2014). *J Am Coll Cardiol*. 5 déc 2017;70(22):2795-804.

79. Anderson DJ, Murdoch DR, Sexton DJ, Reller LB, Stout JE, Cabell CH, *et al.* Risk factors for infective endocarditis in patients with enterococcal bacteremia: a case-control study. *Infection*. avr 2004;32(2):72-7.

80. Pericàs JM, Llopis J, Muñoz P, Gálvez-Acebal J, Kestler M, Valerio M, *et al.* A Contemporary Picture of Enterococcal Endocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 11 févr 2020;75(5):482-94.

81. Danneels P, Hamel JF, Picard L, Rezig S, Martinet P, Lorleac'h A, *et al.* Impact of *Enterococcus faecalis* Endocarditis Treatment on Risk of Relapse. *Clin Infect Dis*. 13 janv 2023;76(2):281-90.

82. Fernández Guerrero ML, Goyenechea A, Verdejo C, Roblas RF, De Górgolas M. Enterococcal Endocarditis on Native and Prosthetic Valves: A Review of Clinical and Prognostic Factors With Emphasis on Hospital-Acquired Infections as a Major Determinant of Outcome. *Medicine*. nov 2007;86(6):363-77.

83. Pericàs JM, Corredoira J, Moreno A, García-País MJ, Falces C, Rabuñal R, *et al.* Relationship Between *Enterococcus faecalis* Infective Endocarditis and Colorectal Neoplasm: Preliminary Results From a Cohort of 154 Patients. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. juin 2017;70(6):451-8.

84. Ambrosioni J, Hernandez-Meneses M, Téllez A, Pericàs J, Falces C, Tolosana JM, *et al.* The Changing Epidemiology of Infective Endocarditis in the Twenty-First Century. *Curr Infect Dis Rep*. mai 2017;19(5):21.

85. Pontes DêG, Silva ITDCE, Fernandes JJ, Monteiro ADFáG, Gomes PHDS, Ferreira MGM, *et al.* Microbiologic characteristics and antibiotic resistance rates of diabetic foot infections. *Rev Col Bras Cir.* 2020;47:e20202471.
86. Richard JL, Sotto A, Lavigne JP. New insights in diabetic foot infection. *World J Diabetes.* 15 févr 2011;2(2):24-32.
87. French National Observatory for the Epidemiology of Bacterial Resistance to Antimicrobials (ONERBA) through three participating networks: Azay-Résistance; Île-de-France; Réussir [Internet]. Disponible sur: <https://bigdata.onerba.org/>
88. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 - 2021 data. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization; 2023. [Internet]. Disponible sur: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>
89. García-Solache M, Rice LB. The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment. *Clin Microbiol Rev.* 20 mars 2019;32(2):e00058-18.
90. Lima LM, Silva BNM da, Barbosa G, Barreiro EJ. β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *Eur J Med Chem.* 15 déc 2020;208:112829.
91. Chen HY, Williams JD. Penicillin-binding proteins in *Streptococcus faecalis* and *S. faecium*. *J Med Microbiol.* mars 1987;23(2):141-7.
92. Williamson R, Calderwood SB, Moellering RC, Tomasz A. Studies on the Mechanism of Intrinsic Resistance to β -Lactam Antibiotics in Group D Streptococci. *Microbiology.* 1 mars 1983;129(3):813-22.
93. Sauvage E, Kerff F, Terrak M, Ayala JA, Charlier P. The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev.* mars 2008;32(2):234-58.
94. Djorić D, Little JL, Kristich CJ. Multiple Low-Reactivity Class B Penicillin-Binding Proteins Are Required for Cephalosporin Resistance in Enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 24 mars 2020;64(4):e02273-19.
95. Moon TM, D'Andréa ÉD, Lee CW, Soares A, Jakoncic J, Desbonnet C, *et al.* The structures of penicillin-binding protein 4 (PBP4) and PBP5 from Enterococci provide structural insights into β -lactam resistance. *J Biol Chem.* 30 nov 2018;293(48):18574-84.
96. Ramirez MS, Tolmasky ME. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat.* déc 2010;13(6):151-71.

97. Société Française de Microbiologie. 5. 9. Enterococcus spp. In: CA-SFM / EUCAST : Société Française de Microbiologie [Internet]. 2023. p. 82-7. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2023/06/CASFM2023_V1.0.pdf
98. Moellering RC, Weinberg AN. Studies on antibiotic synergism against enterococci. J Clin Invest. 1 déc 1971;50(12):2580-4.
99. Brisson-Noël A, Trieu-Cuot P, Courvalin P. Mechanism of action of spiramycin and other macrolides. J Antimicrob Chemother. juill 1988;22 Suppl B:13-23.
100. Courvalin P, Leclercq R. Chapitre 26. MACROLIDES-LINCOSAMIDES-STREPTOGRAMINES. In: AntibioGramme. 3^e éd. p. 350.
101. Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. An *Enterococcus faecalis* ABC Homologue (Lsa) Is Required for the Resistance of This Species to Clindamycin and Quinupristin-Dalfopristin. Antimicrob Agents Chemother. juin 2002;46(6):1845-50.
102. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. Biochemistry. 18 mars 2014;53(10):1565-74.
103. Arsène S, Leclercq R. Role of a qnr-like gene in the intrinsic resistance of *Enterococcus faecalis* to fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother. sept 2007;51(9):3254-8.
104. Hoogkamp-Korstanje JA. In-vitro activities of ciprofloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, ofloxacin, pefloxacin, sparfloxacin and trovafloxacin against gram-positive and gram-negative pathogens from respiratory tract infections. J Antimicrob Chemother. sept 1997;40(3):427-31.
105. Joste V, Gydé E, Toullec L, Courboulès C, Talb Y, Riverain-Gillet E, *et al.* Enterococcus faecium and Ampicillin Susceptibility Determination: Overestimation of Resistance with Disk Diffusion Method Using 2 Micrograms of Ampicillin? Patel R, éditeur. J Clin Microbiol. mars 2019;57(3):e01467-18.
106. Gagetti P, Bonofiglio L, García Gabarrot G, Kaufman S, Mollerach M, Vigliarolo L, *et al.* Resistance to β -lactams in enterococci. Rev Argent Microbiol. 2019;51(2):179-83.
107. Murray BE. Beta-lactamase-producing enterococci. Antimicrob Agents Chemother. nov 1992;36(11):2355-9.
108. Rice LB, Marshall SH. Evidence of incorporation of the chromosomal beta-lactamase gene of *Enterococcus faecalis* CH19 into a transposon derived from staphylococci. Antimicrob

Agents Chemother. sept 1992;36(9):1843-6.

109. Zorzi W, Zhou XY, Dardenne O, Lamotte J, Raze D, Pierre J, *et al.* Structure of the low-affinity penicillin-binding protein 5 PBP5_{fm} in wild-type and highly penicillin-resistant strains of *Enterococcus faecium*. J Bacteriol. août 1996;178(16):4948-57.

110. Ligozzi M, Pittaluga F, Fontana R. Identification of a genetic element (*psr*) which negatively controls expression of *Enterococcus hirae* penicillin-binding protein 5. J Bacteriol. avr 1993;175(7):2046-51.

111. Ono S, Muratani T, Matsumoto T. Mechanisms of resistance to imipenem and ampicillin in *Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother. juill 2005;49(7):2954-8.

112. Duez C, Zorzi W, Sapunaric F, Amoroso A, Thamm I, Coyette J. The penicillin resistance of *Enterococcus faecalis* JH2-2r results from an overproduction of the low-affinity penicillin-binding protein PBP4 and does not involve a *psr*-like gene The GenBank accession numbers for the sequences reported in this paper are Y17797 for the 8.4 kb segment of pDML521; AJ290435 for *pbp4* of *E. faecalis* JH2-2; AJ276231 and AJ276232 for the *psr*-like gene of *E. faecalis* JH2-2 or JH2-2r, respectively. Microbiology. 1 sept 2001;147(9):2561-9.

113. López-Luis BA, Sifuentes-Osornio J, Lambraño-Castillo D, Ortiz-Brizuela E, Ramírez-Fontes A, Tovar-Calderón YE, *et al.* Risk factors and outcomes associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and ampicillin-resistant *Enterococcus faecalis* bacteraemia: A 10-year study in a tertiary-care centre in Mexico City. Journal of Global Antimicrobial Resistance. mars 2021;24:198-204.

114. Castillo-Rojas G, Mazari-Hiriart M, Ponce de León S, Amieva-Fernández RI, Agis-Juárez RA, Huebner J, *et al.* Comparison of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Strains isolated from water and clinical samples: antimicrobial susceptibility and genetic relationships. PLoS One. 2013;8(4):e59491.

115. Zárate S, De La Cruz Claire M, Benito-Arenas R, Revuelta J, Santana A, Bastida A. Overcoming Aminoglycoside Enzymatic Resistance: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. Molecules. 30 janv 2018;23(2):284.

116. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. Clin Infect Dis. août 2000;31(2):586-9.

117. Rouch DA, Byrne ME, Kong YC, Skurray RA. The *aacA*-*aphD* gentamicin and

kanamycin resistance determinant of Tn4001 from *Staphylococcus aureus*: expression and nucleotide sequence analysis. *J Gen Microbiol.* nov 1987;133(11):3039-52.

118. Boehr DD, Daigle DM, Wright GD. Domain-domain interactions in the aminoglycoside antibiotic resistance enzyme AAC(6')-APH(2''). *Biochemistry.* 3 août 2004;43(30):9846-55.

119. Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* août 1993;37(8):1563-71.

120. Zeng D, Debabov D, Hartsell TL, Cano RJ, Adams S, Schuyler JA, *et al.* Approved Glycopeptide Antibacterial Drugs: Mechanism of Action and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 1 déc 2016;6(12):a026989.

121. Mainardi JL, Villet R, Bugg TD, Mayer C, Arthur M. Evolution of peptidoglycan biosynthesis under the selective pressure of antibiotics in Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* mars 2008;32(2):386-408.

122. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med.* 21 juill 1988;319(3):157-61.

123. Werner G, Klare I, Witte W. Molecular analysis of streptogramin resistance in enterococci. *International Journal of Medical Microbiology.* 2002;292(2):81-94.

124. Lee EW, Huda MN, Kuroda T, Mizushima T, Tsuchiya T. EfrAB, an ABC multidrug efflux pump in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother.* déc 2003;47(12):3733-8.

125. Grossman TH. Tetracycline Antibiotics and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 1 avr 2016;6(4):a025387.

126. Bozdogan B, Appelbaum PC. Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. *Int J Antimicrob Agents.* févr 2004;23(2):113-9.

127. Locke JB, Hilgers M, Shaw KJ. Novel ribosomal mutations in *Staphylococcus aureus* strains identified through selection with the oxazolidinones linezolid and torezolid (TR-700). *Antimicrob Agents Chemother.* déc 2009;53(12):5265-74.

128. Wang Y, Lv Y, Cai J, Schwarz S, Cui L, Hu Z, *et al.* A novel gene, *optrA*, that confers transferable resistance to oxazolidinones and phenicols and its presence in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* of human and animal origin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 1 août 2015;70(8):2182-90.

129. Miller WR, Bayer AS, Arias CA. Mechanism of Action and Resistance to Daptomycin in *Staphylococcus aureus* and Enterococci. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 1 nov 2016;6(11):a026997.
130. Müller A, Wenzel M, Strahl H, Grein F, Saaki TNV, Kohl B, *et al.* Daptomycin inhibits cell envelope synthesis by interfering with fluid membrane microdomains. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 8 nov 2016;113(45):E7077-86.
131. Bender JK, Cattoir V, Hegstad K, Sadowy E, Coque TM, Westh H, *et al.* Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. *Drug Resistance Updates.* sept 2018;40:25-39.
132. Khan A, Miller WR, Axell-House D, Munita JM, Arias CA. Antimicrobial Susceptibility Testing for Enterococci. Humphries RM, éditeur. *J Clin Microbiol.* 21 sept 2022;60(9):e00843-21.
133. Cahill TJ, Prendergast BD. Infective endocarditis. *The Lancet.* févr 2016;387(10021):882-93.
134. Holland TL, Baddour LM, Bayer AS, Hoen B, Miro JM, Fowler VG. Infective endocarditis. *Nat Rev Dis Primers.* 1 sept 2016;2:16059.
135. Durack DT, Beeson PB, Petersdorf RG. Experimental bacterial endocarditis. 3. Production and progress of the disease in rabbits. *Br J Exp Pathol.* avr 1973;54(2):142-51.
136. Asopa S, Patel A, Khan OA, Sharma R, Ohri SK. Non-bacterial thrombotic endocarditis. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* nov 2007;32(5):696-701.
137. Durack DT, Beeson PB. Experimental bacterial endocarditis. I. Colonization of a sterile vegetation. *Br J Exp Pathol.* févr 1972;53(1):44-9.
138. Leask RL, Jain N, Butany J. Endothelium and valvular diseases of the heart. *Microsc Res Tech.* 1 févr 2003;60(2):129-37.
139. Drake TA, Rodgers GM, Sande MA. Tissue factor is a major stimulus for vegetation formation in enterococcal endocarditis in rabbits. *J Clin Invest.* juin 1984;73(6):1750-3.
140. Durack DT. Experimental bacterial endocarditis. IV. Structure and evolution of very early lesions. *J Pathol.* févr 1975;115(2):81-9.
141. Di Domenico EG, Oliva A, Guembe M. The Current Knowledge on the Pathogenesis of Tissue and Medical Device-Related Biofilm Infections. *Microorganisms.* 21 juin 2022;10(7):1259.

142. Lerche CJ, Schwartz F, Theut M, Fosbøl EL, Iversen K, Bundgaard H, *et al.* Anti-biofilm Approach in Infective Endocarditis Exposes New Treatment Strategies for Improved Outcome. *Front Cell Dev Biol.* 18 juin 2021;9:643335.
143. Kouijzer JJP, Noordermeer DJ, Van Leeuwen WJ, Verkaik NJ, Lattwein KR. Native valve, prosthetic valve, and cardiac device-related infective endocarditis: A review and update on current innovative diagnostic and therapeutic strategies. *Front Cell Dev Biol.* 3 oct 2022;10:995508.
144. Xiong YQ, Fowler, Jr. VG, Yeaman MR, Perdreau-Remington F, Kreiswirth BN, Bayer AS. Phenotypic and Genotypic Characteristics of Persistent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia In Vitro and in an Experimental Endocarditis Model. *J INFECT DIS.* 15 janv 2009;199(2):201-8.
145. Meddens MJ, Thompson J, Eulderink F, Bauer WC, Mattie H, Van Furth R. Role of granulocytes in experimental *Streptococcus sanguis* endocarditis. *Infect Immun.* avr 1982;36(1):325-32.
146. Durack DT, Beeson PB. Experimental bacterial endocarditis. II. Survival of a bacteria in endocardial vegetations. *Br J Exp Pathol.* févr 1972;53(1):50-3.
147. Wang A, Gaca JG, Chu VH. Management Considerations in Infective Endocarditis: A Review. *JAMA.* 3 juill 2018;320(1):72.
148. Durack DT, Lukes AS, Bright DK. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *Am J Med.* mars 1994;96(3):200-9.
149. Li JS, Sexton DJ, Mick N, Nettles R, Fowler VG, Ryan T, *et al.* Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis.* avr 2000;30(4):633-8.
150. Fowler VG, Durack DT, Selton-Suty C, Athan E, Bayer AS, Chamis AL, *et al.* The 2023 Duke-ISCVID Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria. *Clin Infect Dis.* 4 mai 2023;ciad271.
151. Heiro M, Nikoskelainen J, Hartiala JJ, Saraste MK, Kotilainen PM. Diagnosis of Infective Endocarditis: Sensitivity of the Duke vs von Reyn Criteria. *Arch Intern Med.* 12 janv 1998;158(1):18.
152. Murdoch DR. Clinical Presentation, Etiology, and Outcome of Infective Endocarditis

in the 21st Century: The International Collaboration on Endocarditis–Prospective Cohort Study. *Arch Intern Med.* 9 mars 2009;169(5):463.

153. Vieira MLC. Repeated echocardiographic examinations of patients with suspected infective endocarditis. *Heart.* 1 sept 2004;90(9):1020-4.

154. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol.* nov 2007;45(11):3546-8.

155. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B, Brecher S, Carroll KC, Stamper PD, *et al.* Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patients with bacteremia. *J Clin Microbiol.* avr 2008;46(4):1381-5.

156. Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP, Joho K, Wakefield T, Reller LB, *et al.* Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella* organisms: a retrospective multicenter evaluation. *J Clin Microbiol.* janv 2006;44(1):257-9.

157. Chapitre 17 - Endocardite. In: Rémic: référentiel en microbiologie médicale. 7e édition, 2022. Paris: Société française de microbiologie; 2022. p. 195-200.

158. Habib G, (France), Badano L, (Italy), Tribouilloy C, (France), *et al.* Recommendations for the practice of echocardiography in infective endocarditis. *European Journal of Echocardiography.* 1 mars 2010;11(2):202-19.

159. Dilsizian V, Budde RPJ, Chen W, Mankad SV, Lindner JR, Nieman K. Best Practices for Imaging Cardiac Device–Related Infections and Endocarditis. *JACC: Cardiovascular Imaging.* mai 2022;15(5):891-911.

160. Fagman E, Perrotta S, Bech-Hanssen O, Flinck A, Lamm C, Olaison L, *et al.* ECG-gated computed tomography: a new role for patients with suspected aortic prosthetic valve endocarditis. *Eur Radiol.* nov 2012;22(11):2407-14.

161. Botelho-Nevers E, Thuny F, Casalta JP, Richet H, Gouriet F, Collart F, *et al.* Dramatic Reduction in Infective Endocarditis–Related Mortality With a Management-Based Approach. *Arch Intern Med.* 27 juill 2009;169(14):1290.

162. Halavaara M, Martelius T, Järvinen A, Antikainen J, Kuusela P, Salminen US, *et al.* Impact of pre-operative antimicrobial treatment on microbiological findings from endocardial specimens in infective endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* mars 2019;38(3):497-503.

163. Mekontso Dessap A, Zahar JR, Voiriot G, Ali F, Aissa N, Kirsch M, *et al.* Influence of preoperative antibiotherapy on valve culture results and outcome of endocarditis requiring surgery. *Journal of Infection*. juill 2009;59(1):42-8.
164. Gisler V, Dürr S, Irincheeva I, Limacher A, Droz S, Carrel T, *et al.* Duration of Pre-Operative Antibiotic Treatment and Culture Results in Patients With Infective Endocarditis. *Journal of the American College of Cardiology*. juill 2020;76(1):31-40.
165. Olaison L, Schadewitz K, Swedish Society of Infectious Diseases Quality Assurance Study Group for Endocarditis. Enterococcal Endocarditis in Sweden, 1995–1999: Can Shorter Therapy with Aminoglycosides Be Used? *CLIN INFECT DIS*. 15 janv 2002;34(2):159-66.
166. Hoen B, Elfarra M, Huttin O, Goehringer F, Venner C, Selton-Suty C. Traitement de l'endocardite infectieuse. *La Presse Médicale*. mai 2019;48(5):539-48.
167. Iung B, Doco-Lecompte T, Chocron S, Strady C, Delahaye F, Le Moing V, *et al.* Cardiac surgery during the acute phase of infective endocarditis: discrepancies between European Society of Cardiology guidelines and practices. *Eur Heart J*. 7 mars 2016;37(10):840-8.
168. Vikram HR, Buenconsejo J, Hasbun R, Quagliarello VJ. Impact of Valve Surgery on 6-Month Mortality in Adults With Complicated, Left-Sided Native Valve Endocarditis: A Propensity Analysis. *JAMA*. 24 déc 2003;290(24):3207.
169. Morris AJ, Drinković D, Pottumarthy S, MacCulloch D, Kerr AR, West T. Bacteriological outcome after valve surgery for active infective endocarditis: implications for duration of treatment after surgery. *Clin Infect Dis*. 15 juill 2005;41(2):187-94.
170. Kim J, Kim JH, Lee HJ, Lee SJ, Kim C, Lee JA, *et al.* Impact of the Duration of Postoperative Antibiotics on the Prognosis of Patients with Infective Endocarditis. *Antibiotics*. 15 janv 2023;12(1):173.
171. Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales, éditeur. UE6 N° 149 : Endocardite Infectieuse. In: *Maladies infectieuses et tropicales: préparation ECN tous les items d'infectiologie*. 5e éd. 2018. Paris: Alinéa plus; 2017. p. 75-82.
172. Hill EE, Herijgers P, Claus P, Vanderschueren S, Herregods MC, Peetermans WE. Infective endocarditis: changing epidemiology and predictors of 6-month mortality: a prospective cohort study. *European Heart Journal*. 7 juin 2006;28(2):196-203.
173. Chu VH, Cabell CH, Benjamin DK, Kuniholm EF, Fowler VG, Engemann J, *et al.*

Early Predictors of In-Hospital Death in Infective Endocarditis. *Circulation*. 13 avr 2004;109(14):1745-9.

174. Chu VH, Sexton DJ, Cabell CH, Barth RL, Pappas PA, Singh RK, *et al.* Repeat Infective Endocarditis: Differentiating Relapse from Reinfection. *Clinical Infectious Diseases*. 1 août 2005;41(3):406-9.

175. Andrews M, von Reyn CF. Patient Selection Criteria and Management Guidelines for Outpatient Parenteral Antibiotic Therapy for Native Valve Infective Endocarditis. *CLIN INFECT DIS*. 15 juill 2001;33(2):203-9.

176. Versporten A, Zarb P, Caniaux I, Gros MF, Drapier N, Miller M, *et al.* Antimicrobial consumption and resistance in adult hospital inpatients in 53 countries: results of an internet-based global point prevalence survey. *Lancet Glob Health*. juin 2018;6(6):e619-29.

177. Chapter 19 : Antibacterial agents. In: *An introduction to medicinal chemistry*. Seventh edition. New York, NY: Oxford University Press; 2023. p. 413-76.

178. Bêtalactamines. In: *Pharmacologie des anti-infectieux*. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2018. p. 13-29.

179. Ostash B, Walker S. Moenomycin family antibiotics: chemical synthesis, biosynthesis, and biological activity. *Nat Prod Rep*. nov 2010;27(11):1594-617.

180. 2.2.8 La membrane cytoplasmique. In: *Bactériologie: pour la médecine, la biologie et les biotechnologies cours*. 6e éd. Paris: Dunod; 2005. p. 20-4. (Sciences sup).

181. Pazos M, Vollmer W. Regulation and function of class A Penicillin-binding proteins. *Current Opinion in Microbiology*. avr 2021;60:80-7.

182. Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. Penicillin-binding proteins and β -lactam resistance. *FEMS Microbiol Rev*. mars 2008;32(2):361-85.

183. Di Guilmi A, Dessen A, Dideberg O, Vernet T. Bifunctional Penicillin-Binding Proteins: Focus on the Glycosyltransferase Domain and its Specific Inhibitor Moenomycin. *CPB*. 1 juin 2002;3(2):63-75.

184. Newton GG, Abraham EP. Cephalosporin C, a new antibiotic containing sulphur and D-alpha-aminoadipic acid. *Nature*. 26 mars 1955;175(4456):548.

185. Gavaldà J, Torres C, Tenorio C, López P, Zaragoza M, Capdevila JA, *et al.* Efficacy of Ampicillin plus Ceftriaxone in Treatment of Experimental Endocarditis Due to *Enterococcus*

faecalis Strains Highly Resistant to Aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother.* mars 1999;43(3):639-46.

186. Cockerill FR, Clinical and Laboratory Standards Institute, éditeurs. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard - ninth edition. Wayne, Pa: CLSI; 2012. 68 p. (Clinical and Laboratory Standards Institute).

187. Lorenzo MP, Kidd JM, Jenkins SG, Nicolau DP, Housman ST. In vitro activity of ampicillin and ceftriaxone against ampicillin-susceptible *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 1 août 2019;74(8):2269-73.

188. Gavalda J. Efficacy of ampicillin combined with ceftriaxone and gentamicin in the treatment of experimental endocarditis due to *Enterococcus faecalis* with no high-level resistance to aminoglycosides. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 13 août 2003;52(3):514-7.

189. Join-Lambert O, Mainardi JL, Cuvelier C, Dautrey S, Farinotti R, Fantin B, *et al.* Critical Importance of In Vivo Amoxicillin and Cefotaxime Concentrations for Synergy in Treatment of Experimental *Enterococcus faecalis* Endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* févr 1998;42(2):468-70.

190. Gavalda J. Brief Communication: Treatment of *Enterococcus faecalis* Endocarditis with Ampicillin plus Ceftriaxone. *Ann Intern Med.* 17 avr 2007;146(8):574.

191. Martínez-Marcos FJ, Lomas-Cabezas JM, Hidalgo-Tenorio C, De La Torre-Lima J, Plata-Ciézar A, Reguera-Iglesias JM, *et al.* Endocarditis por enterococo: análisis multicéntrico de 76 casos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* déc 2009;27(10):571-9.

192. McDonald JR, Olaison L, Anderson DJ, Hoen B, Miro JM, Eykyn S, *et al.* Enterococcal endocarditis: 107 cases from the international collaboration on endocarditis merged database. *The American Journal of Medicine.* juill 2005;118(7):759-66.

193. Fernández-Hidalgo N, Almirante B, Gavalda J, Gurgui M, Peña C, De Alarcón A, *et al.* Ampicillin Plus Ceftriaxone Is as Effective as Ampicillin Plus Gentamicin for Treating *Enterococcus faecalis* Infective Endocarditis. *Clin Infect Dis.* 1 mai 2013;56(9):1261-8.

194. El Rafei A, DeSimone DC, Narichania AD, Sohail MR, Vikram HR, Li Z, *et al.* Comparison of Dual β -Lactam therapy to penicillin-aminoglycoside combination in treatment of *Enterococcus faecalis* infective endocarditis. *Journal of Infection.* nov 2018;77(5):398-404.

195. Vigneswaran N, McKew G. A retrospective study of *Enterococcus faecalis* infective

endocarditis: comparison of clinical characteristics and outcomes associated with treatment. *JAC Antimicrob Resist.* oct 2022;4(5):dlac096.

196. Shah NH, Shutt KA, Doi Y. Ampicillin-Ceftriaxone vs Ampicillin-Gentamicin for Definitive Therapy of *Enterococcus faecalis* Infective Endocarditis: A Propensity Score-Matched, Retrospective Cohort Analysis. *Open Forum Infect Dis.* avr 2021;8(4):ofab102.

197. Mirna M, Topf A, Schmutzler L, Hoppe UC, Lichtenauer M. Time to abandon ampicillin plus gentamicin in favour of ampicillin plus ceftriaxone in *Enterococcus faecalis* infective endocarditis? A meta-analysis of comparative trials. *Clin Res Cardiol.* oct 2022;111(10):1077-86.

198. Rawson TM, Brzeska-Trafny I, Maxfield R, Almeida M, Gilchrist M, Gonzalo X, *et al.* A practical laboratory method to determine ceftazidime-avibactam-aztreonam synergy in patients with New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-producing Enterobacterales infection. *Journal of Global Antimicrobial Resistance.* juin 2022;29:558-62.

199. Wenzler E, Deraedt MF, Harrington AT, Danizger LH. Synergistic activity of ceftazidime-avibactam and aztreonam against serine and metallo- β -lactamase-producing gram-negative pathogens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* août 2017;88(4):352-4.

200. Khan A, Erickson SG, Pettaway C, Arias CA, Miller WR, Bhatti MM. Evaluation of Susceptibility Testing Methods for Aztreonam and Ceftazidime-Avibactam Combination Therapy on Extensively Drug-Resistant Gram-Negative Organisms. *Antimicrob Agents Chemother.* 18 oct 2021;65(11):e00846-21.

201. Sreenivasan P, Sharma B, Kaur S, Rana S, Biswal M, Ray P, *et al.* In-vitro susceptibility testing methods for the combination of ceftazidime-avibactam with aztreonam in metallo-beta-lactamase producing organisms: Role of combination drugs in antibiotic resistance era. *J Antibiot.* août 2022;75(8):454-62.

202. Thelen H, Dilworth TJ, Mercier RC. Examining the Combination of Cefixime and Amoxicillin/Clavulanate against Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates. *Chemotherapy.* 2022;67(4):261-8.

203. Avery LM, Nicolau DP. Assessing the in vitro activity of ceftazidime/avibactam and aztreonam among carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Defining the zone of hope. *International Journal of Antimicrobial Agents.* nov 2018;52(5):688-91.

204. Pankey GA, Ashcraft DS, Dornelles A. Comparison of 3 Etest® methods and time-

kill assay for determination of antimicrobial synergy against carbapenemase-producing *Klebsiella* species. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. nov 2013;77(3):220-6.

205. Hall MJ, Middleton RF, Westmacott D. The fractional inhibitory concentration (FIC) index as a measure of synergy. *J Antimicrob Chemother*. 1983;11(5):427-33.

206. Euba G, Lora-Tamayo J, Murillo O, Pedrero S, Cabo J, Verdaguer R, *et al*. Pilot Study of Ampicillin-Ceftriaxone Combination for Treatment of Orthopedic Infections Due to *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*. oct 2009;53(10):4305-10.

207. Rossi B, Soubirou JF, Chau F, Massias L, Dion S, Lepeule R, *et al*. Cefotaxime and Amoxicillin-Clavulanate Synergism against Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in a Murine Model of Urinary Tract Infection. *Antimicrob Agents Chemother*. janv 2016;60(1):424-30.

208. Cuervo G, Báguena C, Llopis J, Pericàs JM, Dahl A, Chu V, *et al*. Therapeutic Issues in Relapsing *Enterococcus faecalis* Endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*. 17 avr 2023;76(8):1524-5.

209. Fernández-Hidalgo N, Escolà-Vergé L, Pericàs JM. *Enterococcus faecalis* endocarditis: what's next? *Future Microbiology*. mars 2020;15(5):349-64.

210. Herrera-Hidalgo L, Fernández-Rubio B, Luque-Márquez R, López-Cortés LE, Gil-Navarro MV, De Alarcón A. Treatment of *Enterococcus faecalis* Infective Endocarditis: A Continuing Challenge. *Antibiotics*. 4 avr 2023;12(4):704.

211. Akshaya BS, Premraj K, Iswarya C, Muthusamy S, Ibrahim HIM, Khalil HE, *et al*. Cinnamaldehyde inhibits *Enterococcus faecalis* biofilm formation and promotes clearance of its colonization by modulation of phagocytes in vitro. *Microbial Pathogenesis*. août 2023;181:106157.

212. Barnes AMT, Frank KL, Dale JL, Manias DA, Powers JL, Dunny GM. *Enterococcus faecalis* colonizes and forms persistent biofilm microcolonies on undamaged endothelial surfaces in a rabbit endovascular infection model. *FEMS Microbes*. 2021;2:xtab014.

213. Michaelis C, Grohmann E. Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms. *Antibiotics (Basel)*. 4 févr 2023;12(2):328.

214. Colomer-Winter C, Gaca AO, Chuang-Smith ON, Lemos JA, Frank KL. Basal levels of (p)ppGpp differentially affect the pathogenesis of infective endocarditis in *Enterococcus faecalis*. *Microbiology (Reading)*. oct 2018;164(10):1254-65.

215. Afonina I, Lim XN, Tan R, Kline KA. Planktonic Interference and Biofilm Alliance between Aggregation Substance and Endocarditis- and Biofilm-Associated Pili in *Enterococcus faecalis*. Brun YV, éditeur. J Bacteriol [Internet]. 15 déc 2018 [cité 15 juill 2023];200(24). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JB.00361-18>
216. Arbeloa A, Segal H, Hugonnet JE, Josseume N, Dubost L, Brouard JP, *et al.* Role of class A penicillin-binding proteins in PBP5-mediated beta-lactam resistance in *Enterococcus faecalis*. J Bacteriol. mars 2004;186(5):1221-8.
217. Rice LB, Desbonnet C, Tait-Kamradt A, Garcia-Solache M, Lonks J, Moon TM, *et al.* Structural and Regulatory Changes in PBP4 Trigger Decreased β -Lactam Susceptibility in *Enterococcus faecalis*. Dunman P, éditeur. mBio. 2 mai 2018;9(2):e00361-18.
218. Muller C, Massier S, Le Breton Y, Rincé A. The role of the CroR response regulator in resistance of *Enterococcus faecalis* to D-cycloserine is defined using an inducible receiver domain: CroR role in *E. faecalis* D-cycloserine resistance. Molecular Microbiology. févr 2018;107(3):416-27.
219. Todd Rose FO, Darnell RL, Morris SM, Rose OE, Paxie O, Campbell G, *et al.* The two-component system CroRS acts as a master regulator of cell envelope homeostasis to confer antimicrobial tolerance in the bacterial pathogen *Enterococcus faecalis*. Molecular Microbiology. 20 juill 2023;mmi.15128.
220. Mainardi JL, Fourgeaud M, Hugonnet JE, Dubost L, Brouard JP, Ouazzani J, *et al.* A Novel Peptidoglycan Cross-linking Enzyme for a β -Lactam-resistant Transpeptidation Pathway. Journal of Biological Chemistry. nov 2005;280(46):38146-52.
221. Vigouroux A, Cordier B, Aristov A, Alvarez L, Özbaykal G, Chaze T, *et al.* Class-A penicillin binding proteins do not contribute to cell shape but repair cell-wall defects. eLife. 6 janv 2020;9:e51998.
222. Dörr T. Understanding tolerance to cell wall-active antibiotics. Annals of the New York Academy of Sciences. juill 2021;1496(1):35-58.
223. Lalanne S, Guérin F, Flécher E, Cattoir V, Nessler N, Revest M, *et al.* Diffusion of amoxicillin into heart valves from infective endocarditis patients. J Antimicrob Chemother. 23 déc 2022;78(1):232-7.
224. Billstein SA. Ceftriaxone penetration of tissues. Chemotherapy. 1988;34 Suppl 1:53-8.
225. Crémieux A, Mazière B, Vallois J, Ottaviani M, Bouvet A, Pocidalo J, *et al.*

Ceftriaxone diffusion into cardiac fibrin vegetation. Qualitative and quantitative evaluation by autoradiography. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. févr 1991;5(1):53-60.

226. Rambaud A, Gaborit BJ, Deschanvres C, Le Turnier P, Lecomte R, Asseray-Madani N, *et al.* Development and validation of a dosing nomogram for amoxicillin in infective endocarditis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1 oct 2020;75(10):2941-50.

227. Cosgrove SE, Vigliani GA, Campion M, Fowler, Jr. VG, Abrutyn E, Corey GR, *et al.* Initial Low-Dose Gentamicin for *Staphylococcus aureus* Bacteremia and Endocarditis Is Nephrotoxic. *CLIN INFECT DIS*. 15 mars 2009;48(6):713-21.

Annexes

Annexe I : Critères de Duke modifiés de 2023 (150)

Endocardite « certaine »	<p>A) <u>Critères pathologiques</u></p> <ul style="list-style-type: none">• Preuves d'une endocardite active dans ou sur une végétation ; du tissu cardiaque ; une valve prothétique ou un anneau de suture ; un greffon d'aorte ascendante ; d'un dispositif intra-cardiaque ; ou d'un embole artériel ; ou• Micro-organisme identifié (culture, diagnostic indirect, PCR ou technique d'amplification d'acides nucléiques, examen direct, etc..) dans un contexte de signes cliniques concordants avec une endocardite active dans ou sur une végétation ; du tissu cardiaque ; une valve prothétique ou un anneau de suture ; un greffon d'aorte ascendante ; d'un dispositif intra-cardiaque ; ou d'un embole artériel <p>B) <u>Critères cliniques</u></p> <ul style="list-style-type: none">• Deux critères majeurs* ; ou• Un critère majeur* et trois critères mineurs† ; ou• Cinq critères mineurs†
Endocardite « possible »	<ul style="list-style-type: none">• Un critère majeur* et un critère mineur† ; ou• Trois critères mineurs†
Endocardite « rejetée »	<ul style="list-style-type: none">• Ne remplit pas les critères de l'endocardite « possible » ; ou• Diagnostic différentiel confirmé ; ou• Absence de rechute d'une endocardite ou diagnostic exclu après autopsie ou étude d'une pièce chirurgicale avec une antibiothérapie inférieure ou égale à quatre jours.

Critères majeurs*

Microbiologiques

- Au moins deux séries d'hémocultures positives à un micro-organisme qui cause typiquement des EI§ ; ou
- Au moins trois séries d'hémocultures positives à un micro-organisme qui cause possiblement des EI ; ou
- PCR ou autre technique d'amplification d'acides nucléiques positive pour *Coxiella burnetii*, *Bartonella sp.* ou *Tropheryma whipplei* sur prélèvement sanguin ; ou
- Titre d'IgG antiphase I $\geq 1/800$ de *Coxiella burnetii*, ou isolement dans une hémoculture
- Sérologie positive (détection d'IgM et d'IgG avec un titre d'IgG $\geq 1/800$) pour *Bartonella henselae* et *Bartonella quintana*.

Échographiques

- Une ETT/ETO et une scanner cardiaque ? (*Cardiac Computed Tomography*) montrant
 - Une végétation, une perforation ou un anévrisme valvulaire, un abcès, un pseudoanévrisme ou une fistule intracardiaque, ou
 - Une nouvelle régurgitation valvulaire significative par rapport à l'ancienne imagerie effectuée, ou
 - (*New partial dehiscence of prosthetic valve as compared to previous imaging*)
- ^{18}F -fluorodéoxyglucose TEP-TDM montrant
 - Une activité métabolique anormale concernant une valve native ou prothétique, un greffon d'aorte ascendante (avec preuve d'atteinte valvulaire concomitante), d'un dispositif intra-cardiaque ou autre matériel prothétique.

Chirurgical

- Mise en évidence par l'inspection du chirurgien à l'œil nu de preuves d'EI

Critères mineurs†

- Facteurs de prédisposition
 - Antécédent d'EI ou de chirurgie valvulaire
 - Patient porteur d'une valve prothétique ou d'un DIC endovasculaire
 - Insuffisance cardiaque ou cardiopathie hypertrophique
 - Utilisateur de drogue injectée par voie intraveineuse
 - Régurgitation ou sténose de sévérité modérée ou plus
- Fièvre (température supérieure à 38°C documentée)
- Phénomène vasculaire
 - Présence d'embolie artérielle, infarctus pulmonaire septique, abcès splénique ou cérébral, anévrisme mycotique, hémorragie intracrânienne ou conjonctivale, purpura purulent, de placard érythémateux de Janeway.
- Phénomène immunologique
 - Présence de facteur rhumatoïde, de faux panaris d'Osler, de taches de Roth ou de glomérulonéphrite secondaire à des complexes immuns.
- Preuve microbiologique ne faisant pas partie des critères majeurs
- Imagerie
 - Une activité métabolique anormale au ¹⁸F-fluorodéoxyglucose TEP-TDM concernant une valve prothétique, un greffon d'aorte ascendante (avec preuve d'atteinte valvulaire concomitante), d'un dispositif intra-cardiaque ou autre matériel prothétique posé dans les trois mois précédents.
- Examen clinique
 - Une nouvelle régurgitation valvulaire significative à l'auscultation par rapport à l'ancienne si l'imagerie n'est pas disponible.

Bactéries causant typiquement des EI§ (150)

Streptococcus sp. (à l'exception de *S. pyogenes* et *S. pneumoniae*), groupe HACEK,
Staphylococcus aureus, *Staphylococcus lugdunensis*, *Enterococcus faecalis*, *Granulicatella sp.*,
Abiotrophia sp. et *Gemella sp.*.

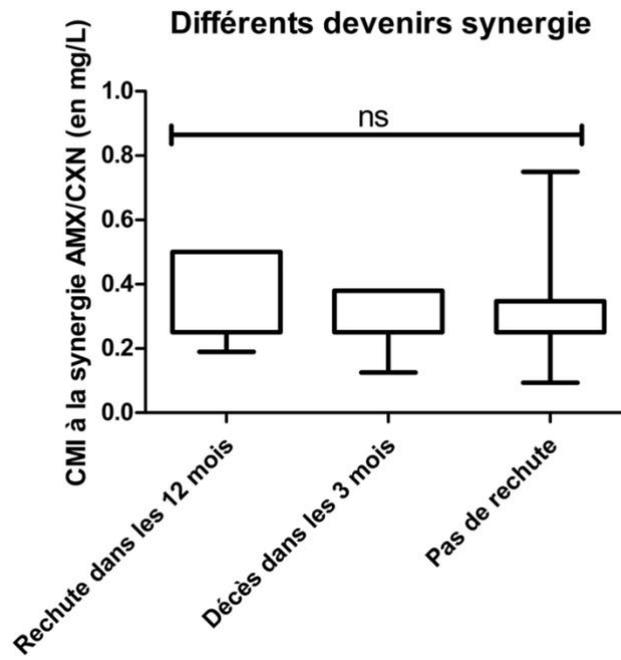
Annexe 2 : CMI de l'amoxicilline et de la ceftriaxone des souches de la cohorte

	CMI Amoxicilline (en mg/L)	CMI Ceftriaxone (en mg/L)		CMI Amoxicilline (en mg/L)	CMI Ceftriaxone (en mg/L)
1	0,25	24	41	0,50	16
2	0,38	>256	42	0,75	16
3	0,75	>256	43	0,75	>256
4	0,50	0,38	44	0,75	>256
5	0,38	>256	45	0,75	>256
6	0,50	>256	46	1,50	>256
7	0,50	>256	47	0,75	>256
8	0,38	>256	48	0,75	8
9	0,38	>256	49	0,75	24
10	0,38	0,38	50	0,38	4
11	0,75	>256	51	0,38	>256
12	0,50	>256	52	0,75	>256
13	0,75	>256	53	0,75	>256
14	0,50	>256	54	0,19	4
15	0,38	12	55	1,00	>256
16	0,50	>256	56	0,25	3
17	0,38	96	57	0,50	>256
18	0,38	3	58	0,50	>256
19	0,75	>256	59	0,50	>256
20	0,25	0,50	60	0,38	8
21	0,50	>256	61	0,75	16
22	0,25	>256	62	0,75	>256
23	0,75	>256	63	0,50	2
24	0,50	>256	64	0,50	>256
25	0,75	>256	65	1,00	>256
26	0,38	6	66	0,50	>256
27	0,75	>256	67	0,50	48
28	0,38	>256	68	0,50	3
29	0,75	>256	69	0,75	6
30	0,38	2	70	0,38	>256
31	1,00	>256	71	0,75	>256
32	0,75	4	72	0,50	>256
33	0,25	1,5	73	1,00	>256
34	0,75	6	74	0,75	>256
35	0,50	>256	75	0,25	>256
36	0,50	>256			
37	0,75	>256			
38	0,75	>256			
39	0,50	>256			
40	0,50	12			
			ATCC 29212	0,50	>256

Annexe 3 : FIC calculée des souches de la cohorte

	<u>Numéro de la souche</u>	<u>FIC</u>
Rechute dans les 12 mois suivants	10	1,00
	69	0,38
	61	0,27
	17	0,66
	2	0,66
	8	1,32
	11	0,67
	14	0,76
	25	0,51
	58	1,00
	75	1,00
Décès dans les trois mois suivants	18	0,74
	30	0,78
	54	0,69
	50	0,72
	49	0,52
	22	1,00
	39	0,50
	19	0,51
	12	0,50
	35	0,76
Absence de rechute dans les trois, six et douze mois et stabilisé à un mois sans chirurgie	4	0,44
	20	1,50
	26	0,70
	48	1,09
	60	0,69
	15	0,68
	5	0,66
	6	0,76
	24	0,76
	44	0,33
28	0,66	
9	0,66	

Annexe 4 : Comparaison des CMI de l'association A-C chez les trois sous-groupes de patients. (figure créée avec le logiciel PRISM)



Vu, le Président du jury,

Vu, le Directeur de thèse,

Vu, le Directeur de l'UFR,

Prénom étudiant : Victor

Nom étudiant : Renault

NOM : RENAULT**Prénoms** : Victor Claude Michel**Titre de la thèse** : « Endocardites à *Enterococcus faecalis* : investigation de la synergie Amoxicilline – Ceftriaxone »

Résumé de la thèse : Les endocardites infectieuses à *Enterococcus faecalis* sont des infections dont la prise en charge est compliquée en raison d'une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques chez cette bactérie. Mainardi *et al.* ont publié en 1995 une étude montrant une synergie entre le céfotaxime et l'ampicilline ce qui a amené après des études sur le lapin et chez l'Homme à utiliser la bithérapie d'amoxicilline / ceftriaxone pour traiter les endocardites infectieuses à *E. faecalis*. En raison d'une incertitude constante sur l'efficacité de cette synergie chez les souches cliniques issues d'infection, notre étude consistait à évaluer l'objectivation d'une synergie entre ces deux antibiotiques par une méthode utilisée dans le service de Bactériologie du CHU de Nantes : la superposition de bandelettes E-test®. De plus, trois groupes de patients ayant eu une endocardite infectieuse à *E. faecalis* au CHU de Nantes entre 2013 et 2022 ont été classés en fonction de leur devenir. Sur 33 souches cliniques, seulement quatre ont montré un indice FIC significatif de synergie. Aucune différence significative entre les trois groupes n'a pu être montrée concernant les CMI de l'amoxicilline seule, de la ceftriaxone seule et de la synergie amoxicilline-ceftriaxone. Cette méthode par superposition des bandelettes paraît donc non corrélée au devenir des patients et semble être d'un intérêt limité pour sa mise en place en routine afin d'aider les cliniciens à mieux traiter les patients par une stratégie thérapeutique personnalisée.

MOTS-CLÉS : *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ; CEFTRIAZONE ; SYNERGIE ; ENDOCARDITE ; BETA-LACTAMINES.

JURY**Président du jury** : Pr IMBERT Berthe-Marie**Directeur de thèse** : Pr CORVEC Stéphane**Membres du jury** : Pr BOUTOILLE David

Dr LECOMTE Raphaël

Dr TAKOUDJU Eve-Marie