

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2011

N° 54

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Qualification en Médecine Interne

par

Magali BRIERE

Née le 16/03/1979 au Mans

Présentée et soutenue publiquement le 30 juin 2011

**Evaluation de l'activité de la daptomycine
sur *Staphylococcus epidermidis* dans un modèle de caillot
fibrino-plaquettaire: comparaison avec la vancomycine.**

Président : Mr le Professeur RAFFI F.

Directeur de thèse : Me le Docteur CAILLON J.

Examineurs : Mr le Professeur MOREAU P.

Mr le Professeur POTEL G.

Sommaire

LISTE DES ABREVIATIONS	5
LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES TABLEAUX	8
I. INTRODUCTION	9
II. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	11
II. 1.STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS.....	11
II.1.1 Généralités.....	11
II.1.2 Facteurs de virulence.....	12
II.1.3. Résistance aux antibiotiques.....	16
II.2.GLYCOPEPTIDES.....	19
II.2.1. Généralités.....	19
II.2.2. Mode d'action des glycopeptides.....	19
II.2.3. Pharmacocinétique (PK).....	20
II.2.4. Pharmacodynamie (PD).....	20
II.2.5. Toxicité	21
II.2.6. Limites et interrogations actuelles.	22
II.3.LIPEPEPTIDES.....	23
II.3.1.Généralités.....	23
II.3.2. Mode d'action	24
II.3.3. Pharmacocinétique	25
II.3.4. Pharmacodynamie.....	27
II.3.5. Toxicité	27
II.3.6. Limites et interrogations actuelles	28
II.4. FACTEURS INFLUENCANT L'ACTIVITE DES ANTIBIOTIQUES	33
II.4.1. Particularités des conditions <i>in vivo</i>	33
II.4.2. Facteurs bactériens.....	34
III. OBJECTIFS DE L'ETUDE	35
IV. MATERIEL ET METHODES	36

IV.1.SOUCHES BACTERIENNES	36
IV.1.1. Identification	36
IV.1.2. Caractérisation moléculaire, recherche du gène <i>ica</i>	36
IV.1.3. Biofilm.....	36
IV.2. ANTIBIOTIQUES.....	37
IV.3. MILIEUX	37
IV.4. DETERMINATION DE LA CMI DE LA DAPTOMYCINE ET DE LA VANCOMYCINE.	38
IV.5. ETUDE DE L'ACTIVITE DE LA DAPTOMYCINE COMPAREE A LA VANCOMYCINE, DANS UN MODELE <i>IN-VITRO</i> DE CAILLOT FIBRINO- PLAQUETTAIRE INFECTE A <i>S. EPIDERMIDIS</i>	38
IV.5.1. Choix des concentrations d'antibiotiques.....	38
IV.5.2. Préparation des caillots de fibrine infectés.....	38
IV.5.3. Détermination de la croissance bactérienne dans les caillots de fibrine.	39
IV.5.4. Etude de l'effet antibactérien de la daptomycine comparé à la vancomycine dans un milieu de type BMH enrichi en calcium.....	40
IV.5.5. Effet antibactérien de la daptomycine comparé à la vancomycine, dans un milieu de type sérum humain.....	40
IV.5.6. Microscopie électronique à balayage.....	40
V. RESULTATS	41
V.1. SOUCHES BACTERIENNES	41
V.2. ETUDE <i>IN-VITRO</i> DE L'ACTIVITE DE LA DAPTOMYCINE COMPARE A LA VANCOMYCINE, DANS UN MODELE DE CAILLOT FIBRINO-PLAQUETTAIRE ..	42
V.2.1. Caillots de fibrine infectés	42
V.2.2. Effet antibactérien de la daptomycine comparé à la vancomycine dans un milieu de type BMH enrichi en calcium.....	43
V.2.3. Effet antibactérien de la daptomycine comparé à la vancomycine dans un milieu de type sérum humain.....	45
VI. DISCUSSION.....	46
VI.1. CRITIQUE DU MODELE EXPERIMENTAL.	46
VI.2. ACTIVITE DE LA DAPTOMYCINE.	46
VI.3. POSSIBILITE D'ELARGISSEMENT DES INDICATIONS.	47

VII. CONCLUSION	50
BIBLIOGRAPHIE	51

Remerciements

A monsieur le professeur Raffi pour avoir accepté de présider cette thèse. Merci pour la qualité de vos enseignements et pour l'accueil qui m'a été réservé dans votre service.

A monsieur le professeur Potel, pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire de thérapeutique et permis de réaliser ce travail.

A monsieur le professeur Moreau pour avoir accepté de juger ce travail.

A madame le docteur Caillon pour m'avoir fait confiance en me donnant ce travail, pour sa disponibilité, sa franchise et ses conseils judicieux. Travailler avec vous a été un plaisir.

A monsieur le docteur Batard pour m'avoir permis de réaliser ce travail.

A messieurs les docteurs Boutoille et Talarmin pour leur soutien et leurs encouragements, pour la qualité de leurs enseignements au lit des malades et pour le plaisir qu'ils montrent à travailler dans ce métier d'infectiologue. Votre amitié m'est chère.

Aux Drs Belliard et Renard pour leur patience et leur persévérance au cours du semestre de réanimation... finalement j'ai fini par écouter vos conseils!

A tous les membres de l'équipe UPRES EA 3826 Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections Faculté de Médecine de NANTES pour leurs précieux conseils et pour leur bonne humeur.

A tous les autres: aides-soignants, infirmiers, secrétaires, externes, internes, médecins et pharmaciens que j'ai croisés pendant mes stages hospitaliers à Nantes et à Angers et qui ont fait de cette décennie d'études médicales un moment mémorable..

A mes proches qui ont l'élégance de ne pas me demander d'être autrement...

LISTE DES ABREVIATIONS

AMM : Autorisation de mise sur le marché
AUC : Aire sous la courbe
CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CLSI: Clinical Laboratory and Standards Institute
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CPK : Créatine Phospho Kinase
D : Daptomycine
ica : intercellular adhesion gene cluster
Méti-R : Résistant à la méticilline
MH : Gélose Mueller Hinton
BMH : Bouillon Mueller-Hinton
MSCRAMMs : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
PCR: Polymerase Chain Reaction
PIA: Polysaccharide Intercellular Adhesin
PNAG: Polymeric N-acetyl-Glucosamine
PRP : Plasma Riche en Plaquettes
PK/PD : Pharmacocinétique/ Pharmacodynamie
SCC*mec*: Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*
SCN : Staphylocoque à coagulase négative
S. aureus : *Staphylococcus aureus*
SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline
S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*
SERM : *Staphylococcus epidermidis* résistant à la méticilline
UFC : Unité Formant Colonie
VISA : *Staphylococcus aureus* intermédiaire à la vancomycine
VISE : *Staphylococcus epidermidis* intermédiaire à la vancomycine
VRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine
VRSE : *Staphylococcus epidermidis* résistant à la vancomycine

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Etapes de la formation du biofilm chez <i>Staphylocoque epidermidis</i>	15
Figure2: Consommation d'antibiotiques des différents pays européen et aux Etats-Unis	17
Figure 3: Mode d'action des glycopeptides	20
Figure 4: Molécule de la daptomycine	23
Figure 5: Mode d'action de la daptomycine	25
Figure 6: BioFilm Control Ring Test®	37
Figure 7: Préparation des caillots de fibrine	39
Figure 8: BioFilm Control Ring Test®, interprétation des résultats	41
Figure 9: Bandelette Etest®, interprétation des résultats	41
Figure 10: Modèle de caillot fibrino-plaquettaire	42
Figure 11: Coupe d'un caillot fibrino-plaquettaire infecté à <i>S. epidermidis</i> observé en microscopie électronique à balayage	42
Figure 12: « Inoculums » bactériens en fonction du temps après exposition à la daptomycine ou à la vancomycine, souche SERM 1 ica +	44
Figure 13: « Inoculums » bactériens en fonction du temps après exposition à la daptomycine ou à la vancomycine, souche SERM 2 ica +	44
Figure 14: « Inoculums » bactériens en fonction du temps après exposition à la daptomycine ou à la vancomycine, souche SERM 3 ica-	44
Figure15: « Inoculums » bactériens en fonction du temps après exposition à la daptomycine ou à la vancomycine, souche SERM 2 ica + dans un milieu de culture de type sérum	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Dénombrement des bactéries survivantes au temps 24H, dans les caillots de fibrine après exposition à la daptomycine et à la vancomycine dans un milieu de type BMH enrichi en calcium 45

Tableau 2: Dénombrement des bactéries survivantes au temps 24H, dans les caillots de fibrine après exposition à la daptomycine et à la vancomycine dans un milieu de type sérum 45

I INTRODUCTION

Si les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) font naturellement partie des flores commensales cutanéomuqueuses humaines, leur rôle pathogène n'est aujourd'hui plus à démontrer. [1]

Néanmoins, ils sont le plus souvent à l'origine d'infections opportunistes, chez des sujets fragilisés, immunodéprimés ou porteurs de matériel étranger.

Du fait des progrès thérapeutiques actuels, qui entraînent une augmentation du nombre de sujets à risques, on assiste à une hausse de l'incidence des infections liées à ces staphylocoques. Ainsi, *S. epidermidis*, staphylocoque à coagulase négative le plus souvent isolé en milieu hospitalier est à l'origine de près de 30% des bactériémies nosocomiales. [2]

Parallèlement à cette augmentation, apparaissent des difficultés de prise en charge thérapeutique, puisqu'on estime qu'en milieu hospitalier le taux de *S. epidermidis* résistants à la méticilline (antibiotique anti-staphylococcique de référence) est depuis plusieurs années supérieur à 70% en Europe. [3]

Les glycopeptides, dont la vancomycine est la principale molécule, sont aujourd'hui le traitement antibiotique de référence des infections à staphylocoques résistants à la méticilline. Cependant, plusieurs limites amènent à s'interroger actuellement sur sa place en tant qu'antibiotique de référence. [4-5]

Certaines de ces limites sont liées à ses caractéristiques intrinsèques: notamment une vitesse de bactéricidie lente temps dépendante, associée à une diffusion tissulaire médiocre, ou encore une toxicité potentielle non négligeable.

D'autres sont liées à l'augmentation progressive des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la vancomycine chez les staphylocoques; en particulier les SCN qui ont été la première espèce parmi laquelle la résistance aux glycopeptides a été objectivée au laboratoire. [6]

Toutes ces difficultés ont fait que de nouvelles molécules anti-staphylococciques ont été développées: la daptomycine, le linézolide, l'association quinupristine/dalfopristine ou encore la tigécycline. Elles font aujourd'hui l'objet de nombreuses études en vue de les intégrer à l'arsenal thérapeutique déjà disponible.

Nous nous sommes intéressés à l'une d'entre elles: la daptomycine (Cubicin®).

Nous l'avons évaluée, non pas dans un milieu planctonique, plusieurs études ayant d'ores et déjà été réalisées [7] montrant l'efficacité de la molécule sur les staphylocoques, mais dans un milieu complexe plus proche des conditions *in vivo*. Pour cela nous avons choisi d'étudier l'activité de la daptomycine sur *S. epidermidis* dans un modèle de caillot fibrino-plaquettaire. [8-9]

II REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

II. 1. *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

II.1.1 Généralités

Colonisant naturellement la peau et les muqueuses chez l'homme, les SCN jouent un rôle de barrière protectrice, évitant la prolifération d'agents pathogènes.

Actuellement, pas moins de 39 espèces de SCN ont été décrites, dont 16 ont pu être isolées chez l'homme. [10]

S. epidermidis est celle qui est le plus souvent isolée en pathologie humaine [11], du fait probablement de sa prépondérance au niveau cutané.

Contrairement à *Staphylococcus aureus*, elle colonise l'ensemble de la population et constitue la flore cutanée majoritaire.

L'identification des SCN par rapport aux souches de *S. aureus* se fait entre autre grâce à l'absence de coagulase libre d'où leur appellation « coagulase négative ».

Du fait de leur caractère commensal, les SCN ont longtemps été considérés comme non pathogènes et interprétés comme contaminants dans un grand nombre de prélèvements biologiques analysés dans les laboratoires. Cette distinction entre contaminants et pathogènes reste un challenge quotidien des cliniciens et des microbiologistes. Néanmoins, leur rôle pathogène, n'est aujourd'hui plus à démontrer.

En dehors des deux exceptions notables que sont les infections urinaires à *S. saprophyticus* de la femme jeune et les endocardites sur valves natives à *S. epidermidis* (représentant 10% de ces endocardites [12]), les SCN sont surtout à l'origine d'infections opportunistes chez des patients immunodéprimés ou porteurs de matériel étranger.

A ce titre, *S. epidermidis* est l'agent le plus fréquemment à l'origine d'infections nosocomiales, en particulier il est la première cause d'infection sur matériel étranger. [13]

Les infections sur matériel se font par contamination du matériel par la flore cutanée ou par les mains des soignants lors de la pose, puis se développent à bas bruit pendant les mois qui suivent. Ainsi dans une étude observationnelle prospective multicentrique, *S. epidermidis* a été montré comme étant à l'origine de 16 % des endocardites sur valves mécaniques, infections souvent compliquées d'abcès intracardiaques (38%) et létales dans 24% des cas.

[14] Dans cette étude, les infections étaient diagnostiquées dans les 2 mois à un an suivant la pose du matériel.

En effet, contrairement à *S. aureus*, *S. epidermidis* n'est que rarement à l'origine d'infection aiguë, menaçant le pronostic vital à court terme. Il est plutôt à l'origine d'infection subaiguë, pouvant se révéler plusieurs mois ou années après la pose de matériel.

Le caractère subaigu des infections à SCN est lié à un bas niveau de virulence de ces pathogènes. Contrairement aux souches de *S. aureus* qui vont sécréter un large répertoire d'exotoxines ou exprimer la protéine A au niveau membranaire jouant un rôle de superantigène [15], les facteurs à l'origine de la virulence des SCN sont autres. Ils sont notamment liés à des mécanismes d'échappement au système immunitaire ou à leur capacité d'adhésion. [9-10-11]

Ainsi, les principaux facteurs de virulence des SCN ne vont pas être à l'origine d'une agression directe de l'hôte, mais vont permettre leur persistance chez celui-ci.

II.1.2 Facteurs de virulence

II.1.2.1 Le biofilm

L'un des principaux facteurs de virulence des SCN est lié à leur capacité à coloniser le matériel étranger et à former un biofilm. [16]

Le biofilm est constitué d'un ensemble de bactéries formant plusieurs couches, adhérentes entre elles et à un support, enchâssées dans une matrice extracellulaire gluante qu'elles secrètent. Il est organisé en 3 dimensions et est traversé par des canaux nutritifs. Il forme ainsi une structure complexe, dans laquelle les bactéries vont pouvoir persister.

Plusieurs hypothèses permettent d'expliquer ce phénomène de persistance bactérienne et le défaut d'activité des antibiotiques des bactéries au sein du biofilm. [17]

- Premièrement, les bactéries situées au sein du biofilm, vont ainsi être peu accessibles au système immunitaire et aux antibiotiques.

- Ensuite, elles vont (notamment pour les bactéries situées dans les couches les plus profondes) avoir un métabolisme modifié, ralenti lié à la « down régulation » des mécanismes cellulaires de base (comme les synthèses protéiques, d'acides nucléiques, ou des membranes cellulaires). [18] Cette modification de métabolisme aura pour effet de

limiter l'activité des antibiotiques sur les bactéries contenues dans le biofilm, ceux-ci ayant principalement pour cible des cellules en croissance.

- Enfin les conditions de pH, d'osmolarité et d'oxygénation vont aussi pouvoir entraîner une limitation de l'activité des antibiotiques. Par exemple, l'accumulation de déchets acides liés au métabolisme bactérien dans les couches les plus profondes et la faible teneur en oxygène (favorisant le métabolisme anaérobie des staphylocoques) ne vont pas permettre l'activité d'antibiotiques comme les aminosides.

Sur le plan physiopathologique, la formation du biofilm commence par

- une étape initiale d'adhésion des bactéries au support inerte, favorisée par le caractère hydrophobe de la membrane bactérienne et des protéines d'adhésion dont la plus importante est la protéine AtlE. AtlE est une autolysine/adhésine intervenant à la fois dans la division cellulaire en lysant le peptidoglycane pour séparer 2 cellules filles et dans l'adhésion, elle contribue avec d'autres protéines (ex : Bap) à l'hydrophobicité de la surface bactérienne ; sa présence est indispensable à la formation de biofilm. [19]

Si l'interaction directe de *S. epidermidis* sur les surfaces inertes joue un rôle fondamental dans la phase précoce des processus d'adhésion, *in vivo* le matériel prothétique va être rapidement recouvert par des protéines de matrice extracellulaire plasmatiques (fibrinogène, fibronectine, thrombospondine...) facilitant la colonisation bactérienne. En effet, *S. epidermidis* produit différents récepteurs cellulaires spécifiques de ces protéines de l'hôte, regroupés sous le nom de MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules). Certains de ces récepteurs, comme SdrG (aussi appelé Fbe), SdrF vont permettre des interactions spécifiques avec le fibrinogène et le collagène ; d'autres seront impliqués dans des liaisons non covalentes, moins spécifiques comme les autolysines AtlE et Aae.

- Après cette étape initiale d'adhésion, les bactéries vont se diviser, s'accumuler; de multiples interactions intercellulaires vont se mettre en place. La formation du biofilm implique la production d'un polysaccharide extracellulaire : le Polysaccharide Intercellular Adhesin (PIA) ou Polymeric N-acetyl-Glucosamine (PNAG) qui va entourer et connecter les souches de *S. epidermidis* entre elles permettant leur accumulation en couches superposées.

La synthèse du PIA dépend de l'expression de l'opéron *ica* [20] (intercellular adhesion), qui comporte 4 gènes *ica* A, B, C, D. Il a été montré que la production de PIA/PNAG était

cruciale à la formation du biofilm *in vivo* dans un modèle d'infection sur cathéter veineux central chez le rat. [21-22]

Récemment, certaines souches de *S. epidermidis* ne produisant pas PIA (souches ica- ou chez lesquelles les gènes ica ne sont pas exprimés) mais capables de former un biofilm ont pu être isolées. [23-24] Ces souches qui restent néanmoins exceptionnelles témoignent de la complexité des mécanismes de formation et de régulation du biofilm.

Outre son rôle dans la formation du biofilm, le PIA sera aussi un facteur qui va permettre de protéger *S. epidermidis* de la phagocytose en limitant la reconnaissance des motifs bactériens spécifiques du non soi (les PAMPs: Pathogen-associated molecular pattern) situés à la surface cellulaire par les récepteurs dédiés (les Pathogen recognition receptors: PRRs) comme les Toll Like receptor qui jouent un rôle majeur dans les mécanismes d'immunité innée.

Le biofilm est ainsi le principal mécanisme d'échappement des SCN au système immunitaire.

- Après cette étape de maturation, les bactéries vont pouvoir se détacher de cette formation complexe, permettant ainsi la diffusion de l'infection.

Les mécanismes de régulation de cette dernière étape de détachement restent actuellement mal élucidés mais semblent faire intervenir le système de quorum sensing *agr* (accessory genes regulator), qui est un système de communication bactérienne reposant sur la détection de petites molécules, qui en fonction de la densité bactérienne va pouvoir influencer l'expression génique. [25]

Une autre voie de régulation semblant faire intervenir PSM (Phenol Soluble Modulin) l'une des rares exotoxines produite par *S. epidermidis*, même si le rôle de cette toxine reste actuellement controversé.

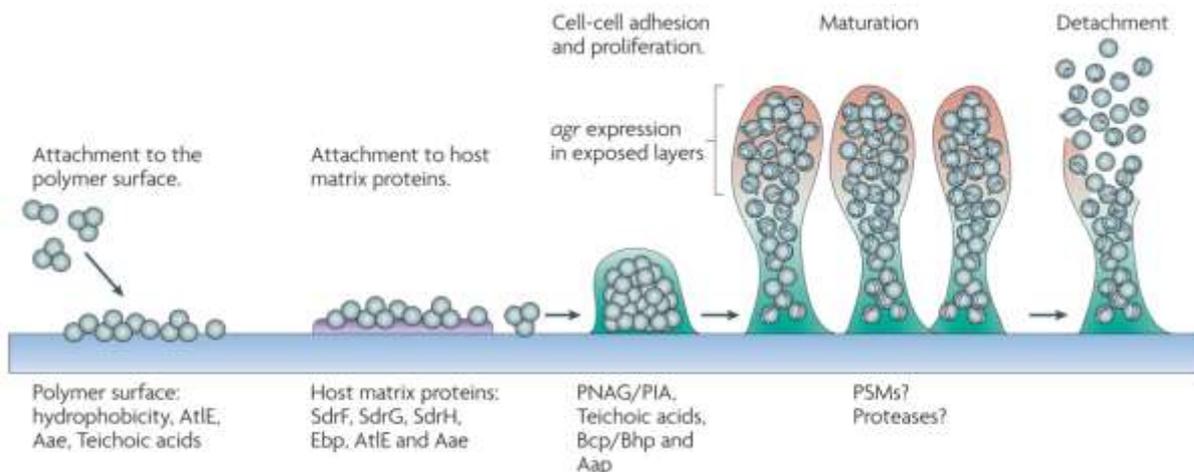


Figure 1: Etapes de la formation du biofilm chez *Staphylococcus epidermidis*. (d'après Otto M. *et al*)

Malgré la mise en évidence de ces différents déterminants de virulence, les études visant à objectiver des marqueurs moléculaires permettant de distinguer les souches pathogènes des souches commensales ont de résultats contradictoires, et ne permettent donc pas en l'état actuel des connaissances d'en retenir un particulier. [26-27-28]

En effet, les facteurs de virulence des SCN sont aussi les facteurs qui sont à l'origine de sa capacité de colonisation.

II.1.2.2. Adhésion

Un autre facteur de virulence majeur des SCN est lié à leur capacité d'adhésion.

En dehors du contexte de formation du biofilm la plupart des protéines d'adhésion décrites précédemment, vont aussi permettre aux SCN d'interagir et de se fixer aux protéines de matrice de l'hôte, favorisant la persistance bactérienne.

Elles sont regroupées sous le terme de MSCRAMMs : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules.

Les plus importantes sont

- la protéine SdrF qui pourra fixer le collagène
- la protéine SdrG (aussi connue sous le nom Fbe) qui reconnaîtra le fibrinogène
- la protéine Ebp liant l'élastine.

Les autolysines/adhésines AtlE ou Aae déjà mentionnées pour leur rôle primordial dans l'adhésion au support inerte (première étape de formation du biofilm), reconnaissent plusieurs de ces protéines de matrice.

II.1.3. Résistance aux antibiotiques

Au sein des différentes espèces de SCN et notamment chez *S. epidermidis* il y a eu une large diffusion des gènes de résistances aux antibiotiques.

Ainsi la résistance à la méticilline liée à l'acquisition du gène *mecA* porté par un élément génétique mobile nommé Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*), concerne plus de 75% des souches de *S. epidermidis* isolées en clinique.

Le gène *mecA* une fois transcrit sera à l'origine de la synthèse de protéine liant la pénicilline (PLP) de type 2a ayant une faible affinité pour les bêta-lactamines, entraînant une résistance croisée à l'ensemble des antibiotiques de cette famille. L'incidence de l'acquisition de ce gène est beaucoup plus élevée parmi les SCN que parmi les souches de *S. aureus*.

En effet, l'incidence des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) a diminué ces 20 dernières années passant de plus de 35% des souches isolées en France dans les années 1980 à 20% actuellement. [29-30] Cette diminution est liée au renforcement des mesures d'hygiène hospitalière et notamment à l'utilisation large des solutions hydro-alcooliques.

En revanche, ces mesures n'ont eu aucune répercussion sur le taux de *S. epidermidis* résistants à la méticilline (SERM) [31] probablement car la physiopathologie des infections à SARM et à SERM est différente.

En effet, si les SARM, sont à l'origine d'épidémies par transmission croisée de clones résistants, celle-ci n'a qu'un faible rôle dans les infections à SERM même si quelques épidémies par propagation clonale ont été rapportées. [32-33]

Ainsi, lors des infections à SCN résistant à la méticilline, les patients vont être préalablement colonisés par des souches résistantes, par sélection au sein de leur propre flore. Cette colonisation reflète l'adaptation des souches nosocomiales à la pression de sélection antibiotique. [34]

Les infections à SCN résistant à la méticilline sont donc le reflet d'une consommation importante d'antibiotiques.

La France reste, malgré les campagnes visant à limiter la consommation des antibiotiques, le 2ème pays européen en termes de volume de prescriptions. [35]

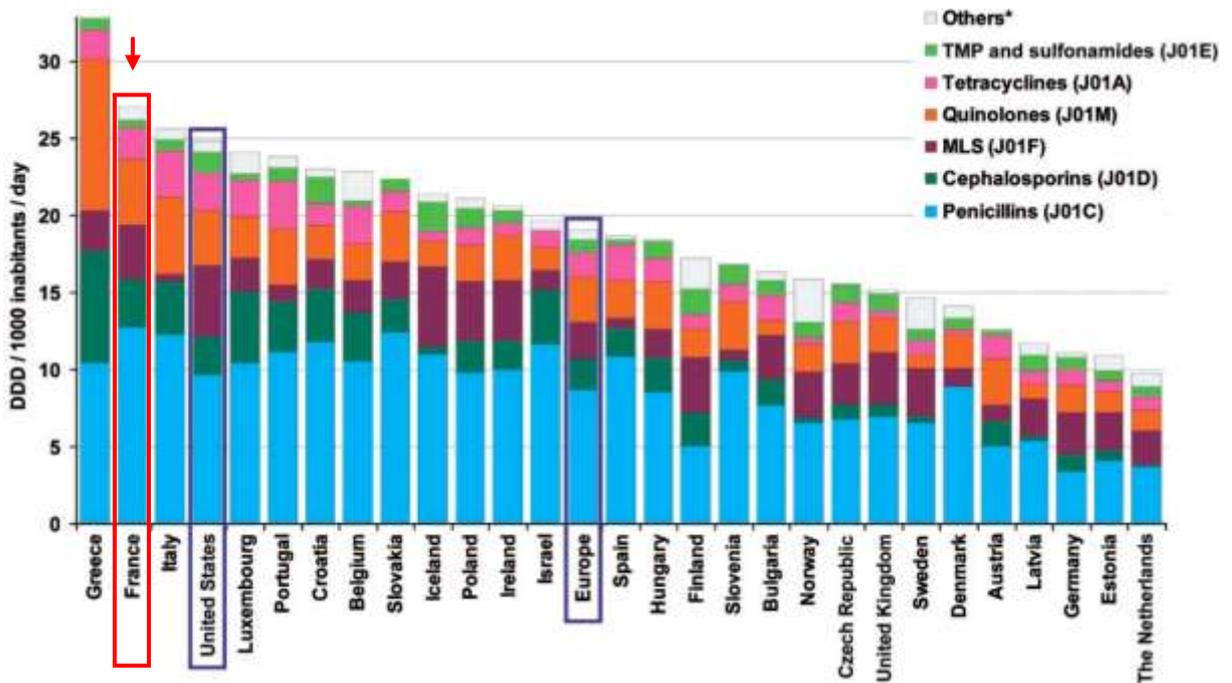


Figure 2: Consommation d'antibiotiques des différents pays européens et aux Etats-Unis. (d'après Goossens *et al.*)

A côté de l'importance de la pression antibiotique entraînant la sélection de souches résistantes, un autre phénomène participe à la dissémination de ces souches : le support génétique. Jusqu'à présent les supports de la résistance à la méticilline (*SCC_{mec}*) étaient de volumineux fragments génétiques (>20kB) imposant un coût non négligeable en termes de fitness aux bactéries. [36] Pour cette raison, elles ne diffusaient qu'en présence d'une pression de sélection antibiotique. Cependant ces dernières années, des cassettes de résistance de structures différentes, plus petites sont apparues.

Ainsi, la *SCC_{mec}* de type IV qui est en train de devenir le support de la résistance à la méticilline le plus fréquent parmi les souches de *S. epidermidis* puisqu'il est présent chez 36% des souches de SERM [37] est une de ces courtes cassettes (<20kB) qui n'impose pas de coût en termes de fitness à la bactérie ce qui permet sa propagation en l'absence même de pression de sélection. [38]

Concernant les autres familles d'antibiotiques, les gènes de résistance à la rifampicine, aux fluoroquinolones, aux aminosides, aux tétracyclines, au chloramphénicol, aux macrolides et aux sulfonamides ont aussi largement diffusé parmi les SCN et notamment parmi les souches portant les déterminants de la résistance à la méticilline. Ainsi dans une analyse

récente de 673 souches de SERM isolées dans 10 pays européens, l'incidence de la résistance associée était de : 68% pour les fluoroquinolones, 73% pour l'érythromycine, 48% pour l'association thrimethoprim/sulfamethoxazole, 13% pour la rifampicine. Il n'y avait pas dans cette étude de souches résistantes à la daptomycine, au linezolid ou à la vancomycine. [39]

II.2.GLYCOPEPTIDES

II.2.1. Généralités

Découverte peu de temps après la pénicilline, la vancomycine a été le premier antibiotique de la classe des glycopeptides commercialisé. Antibiotique naturel, issu de la fermentation d'un actinomycète : *Streptomyces orientalis*, elle a été largement utilisée lors de son introduction en 1956. Elle trouvait en effet son indication dans la prise en charge des infections à *S. aureus* rendue difficile par l'émergence des souches résistantes à la pénicilline.

Cependant son utilisation fut rapidement abandonnée, au profit des nouvelles bêta-lactamines résistantes à l'hydrolyse par les pénicillinases comme la méticilline, la cloxacilline, l'oxacilline ou encore les céphalosporines. Ces molécules devenant rapidement le traitement anti-staphylococcique de référence.

En effet, outre des problèmes de toxicité liés en grande partie à un défaut de purification des premiers lots commercialisés, la vancomycine a une efficacité nettement moindre sur les souches de *S. aureus* sensibles à la méticilline sécrétant une pénicillinase que l'oxacilline ou la méticilline. [40]

Son spectre d'activité est étroit ne concernant que les bactéries à Gram positif (notamment Staphylocoques et Streptocoques) et quelques bactéries anaérobies.

Le regain d'intérêt pour la vancomycine aura lieu dans les 1970 avec l'apparition des SARM et de nouvelles modalités de purification.

Par ailleurs, un autre glycopeptide (la teicoplanine) sera commercialisé en 1988.

II.2.2. Mode d'action des glycopeptides

Les glycopeptides vont agir en inhibant la synthèse du peptidoglycane (élément principal de la paroi bactérienne) mais à un stade plus précoce que les bêta-lactamines.

Ils vont avoir une forte affinité pour l'extrémité D-Ala-D-Ala terminale d'un précurseur du peptidoglycane, entraînant un encombrement stérique qui va empêcher l'action des transglycosylases et des transpeptidases et l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane. [41-42]

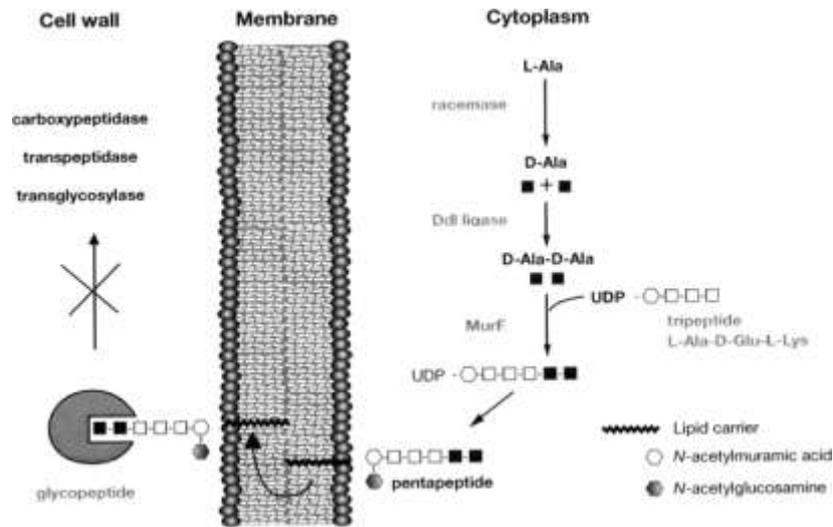


Figure 3: Mode d'action des glycopeptides (d'après Courvalin P. *et al.*)

II.2.3. Pharmacocinétique (PK)

Les glycopeptides, sont de volumineuses molécules (vancomycine: 1449 daltons, teicoplanine : 1993 daltons, en comparaison avec la pénicilline V : 389 daltons) ; elles sont assez fortement liées aux protéines (55% pour la vancomycine, 90% pour la teicoplanine). [43]

La diffusion tissulaire de la vancomycine est de ce fait médiocre ainsi, seulement 1/5 à 1/10 de la dose sérique est retrouvée dans les tissus (os, poumon, muscle, valves cardiaques...) [44] Son volume de distribution est faible. [45]

Leur biodisponibilité par voie orale est nulle, leur administration se faisant donc exclusivement par voie parentérale.

Leur élimination est rénale, d'où la nécessité d'adaptation posologique en cas d'insuffisance rénale ou d'administration conjointe de médicaments néphrotoxiques.

La demi-vie de la vancomycine est en moyenne 6h ce qui implique des injections répétées au cours du nyctémère ou l'administration par perfusion continue. La teicoplanine a une demi-vie beaucoup plus longue permettant son administration en une injection quotidienne.

II.2.4. Pharmacodynamie (PD)

Les glycopeptides sont des antibiotiques bactéricides, actifs sur les bactéries en phase de croissance. Leur activité est lente [46], temps dépendante.

Cependant, le meilleur paramètre reflétant leur activité n'est pas le temps au-dessus de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) mais l'aire sous la courbe de la concentration antibiotique sur la CMI (AUC/CMI) avec des objectifs supérieurs à 400. [47]

Il n'y a pas d'augmentation de l'efficacité de la vancomycine pour des concentrations au site de l'infection au-delà de 4 fois la CMI. [48]

L'effet post-antibiotique est très limité.

II.2.5. Toxicité

La toxicité est d'abord vasculaire avec un risque de thrombophlébite en cas de perfusion sur veine périphérique prolongée, d'où le recours aux voies veineuses centrales.

Cependant la principale préoccupation des prescripteurs lors d'un traitement par vancomycine est liée à sa néphrotoxicité. Elle concernerait environ 10% des patients, mais reste difficile à évaluer compte tenu de l'administration conjointe d'autres traitements néphrotoxiques ou de la gravité des patients inclus dans ce type d'étude. Ainsi, Jeffres *et al.* ont rapporté une toxicité rénale possible chez 42% d'une cohorte de patients traités pour pneumopathie nosocomiale à SARM (mais la moitié de cette cohorte recevait d'autres agents néphrotoxiques). [49]

Dans cette même étude néanmoins, il rappelle que la toxicité rénale de la vancomycine est dose dépendante (résiduelle élevée > 20µg/mL) et survient principalement en cas de traitement prolongé (supérieur à 14 jours).

Quelques cas de néphrites tubulo-interstitielles aiguës allergiques beaucoup plus rares ont par ailleurs été notées.

Une certaine ototoxicité est aussi rapportée ; elle aussi est dose dépendante [50] Sa réversion peut être incomplète et nécessite l'arrêt du traitement ou la diminution des doses au moindre signe d'alerte.

La vancomycine expose ensuite, au risque de toxicité cutanée. L'effet de ce type le plus fréquemment observé étant le « red man syndrome » lié à une libération d'histamine à l'origine d'un flush surtout après perfusion rapide, pouvant évoluer de façon défavorable jusqu'au choc.

D'autres réactions cutanées plus rares ont été décrites : Stevens-Johnson, éruption bulleuse avec dépôts linéaires d'IgA ou réaction d'hypersensibilité.

Enfin quelques cas de neutropénies ou thrombopénies ont été rapportés.

II.2.6. Limites et interrogations actuelles

Actuellement, l'utilisation de la vancomycine comme anti-staphylococcique de référence en cas de souches résistantes à la méticilline est remise en cause. [51-52-53]

Elle est en effet mise en difficulté sur son activité *in vitro*, par l'augmentation progressive des CMI des glycopeptides sur les souches de staphylocoques. Ainsi sur les 454 souches de SCN récoltées dans des centres hospitaliers européens en 2009 par l'équipe du Dr Putnam la CMI₉₀ (qui correspond à la plus petite concentration qui permet d'inhiber la croissance de 90% des souches d'une espèce) était à 2mg/L pour la vancomycine et à 8mg/L pour la teicoplanine! [54]

Actuellement, en France, les souches de staphylocoques sont considérées comme sensibles en cas de CMI \leq à 4 et résistantes en cas de CMI $>$ à 8, mais ces limites définies par le Comité Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM 2010) ne sont pas en harmonie avec les limites américaines définies par le Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) qui considère les souches sensibles pour des CMI \leq à 2mg/L et les souches résistantes pour des CMI strictement supérieures à 16mg/L.

S. epidermidis a été l'une des premières espèces parmi laquelle des souches de sensibilité diminuée (Vancomycin Intermediate *Staphylococcus Epidermidis* : VISE) puis résistantes (Vancomycin Resistant *Staphylococcus Epidermidis* : VRSE) aux glycopeptides ont été mises en évidence. [55-56]

Pour ces souches avec des CMI élevées, compte tenu des performances PK/PD médiocres de la vancomycine notamment de son effet bactéricide modeste et de sa diffusion tissulaire non optimale, l'obtention de concentrations tissulaires supérieures à 4 fois la CMI et d'AUC/CMI satisfaisantes (AUC/CMI>400) devient difficile.

En effet, il n'est pas possible d'augmenter les posologies de vancomycine pour atteindre ces concentrations en cas de souches de sensibilité diminuée compte tenu de la toxicité (notamment rénale et otologique) dose dépendante de celle-ci.

L'évaluation de nouvelles molécules anti-staphylococciques est donc devenue indispensable.

II.3.LIPEPTIDES

II.3.1.Généralités

La daptomycine : LY 146032, (Cubicin®) est actuellement le seul représentant de la famille des lipopeptides commercialisés.

Volumineuse molécule comportant un noyau hydrophile polyanionique constitué de 13 acides aminés, et une queue lipophile de 10 carbones, son poids moléculaire est de 1620,27 daltons.

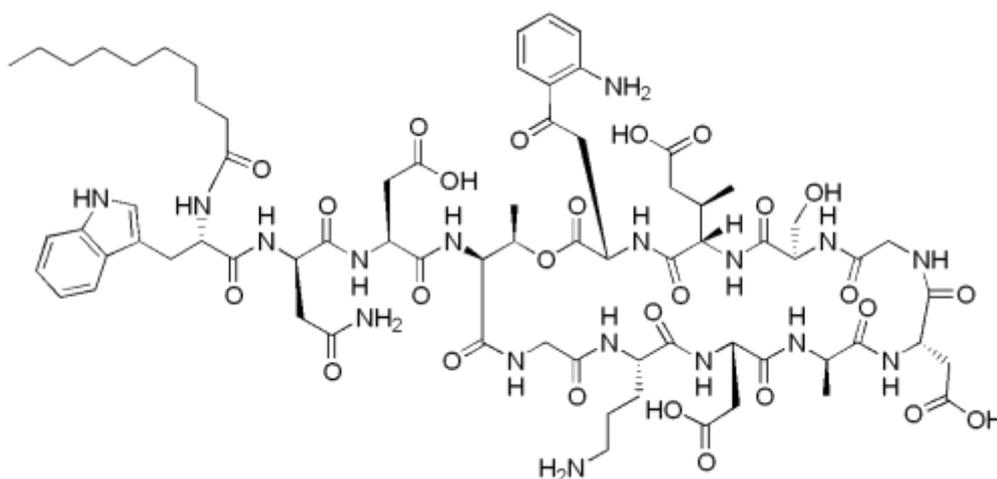


Figure 4 : Molécule de daptomycine.

Produit naturel de la fermentation d'un actinomycète isolé du sol du mont Ararat en Turquie : *Streptomyces roseosporus*, la daptomycine a été découverte au début des années 1980 [57] par la firme Eli Lilly par analyse systématique des produits de fermentation bactérienne.

Cet actinomycète produisant différents antibiotiques lipopeptidiques (A21987C), la molécule avait été choisie pour son activité *in vivo* et sa faible toxicité chez l'animal. [58]

Les études de phase 1 avaient confirmé son absence de toxicité jusqu'à la dose de 6mg/kg toutes les 12h chez des volontaires sains mais une toxicité musculaire importante au-delà.

Elle a été initialement testée (essais de phase 2) dans le traitement d'infections de la peau et des tissus mous puis des bactériémies à *S. aureus* à la posologie de 2mg/kg/24h puis

4mg/kg/12h avec des résultats prometteurs. Son développement fut interrompu en 1991, compte tenu d'un faible index thérapeutique rendant impossible l'évaluation à des posologies plus élevées.

Le brevet fut racheté par le laboratoire Cubist Pharmaceutical en 1997 qui, grâce à des travaux étudiant la pharmacocinétique de la molécule sur modèle canin en l'an 2000 [59], mis en évidence le lien entre la toxicité musculaire et les modalités d'administration.

La toxicité étant majeure pour une administration fractionnée (25mg/kg toutes les 8h) et identique pour des posologies croissantes (de 25mg/kg à 75mg/kg) administrées une fois par jour.

De nouveaux essais de phase 2 furent donc mis en place et la molécule fut autorisée par la Food Drug Administration en 2003 à la posologie de 4mg/kg/24h dans le traitement des infections compliquées de la peau et des tissus mous [60], puis dans celui des bactériémies à *S. aureus* et des endocardites du cœur droit à la posologie de 6mg/kg/24h. [61]

Son spectre d'action est étroit ne concernant que les bactéries à Gram positif, faute de pouvoir accéder à sa cible chez les bactéries à Gram négatif.

Ainsi elle est active sur l'ensemble des bactéries à Gram positif aérobies et anaérobies à l'exception de *Listeria monocytogenes*, *Clostridium ramosum*, *Eubacterium lentum* et *Actinomyces odontolyticus*.

De façon notable, de nombreux pathogènes à Gram positif devenus multirésistants aux antibiotiques (SARM, SERM, VISA, VRSA, VISE, VRSE et entérocoques résistants à la vancomycine) y restent sensibles. [62-63]

II.3.2. Mode d'action

L'activité de la molécule dépend de la présence d'ions calcium (Ca^{2+}). En effet, l'interaction de ces ions avec la daptomycine est à l'origine de deux transitions conformationnelles distinctes sur lesquelles repose le mécanisme bactéricide de l'antibiotique.

La première transition va accentuer l'amphiphilie de la molécule et entraîner d'une part, l'interaction de la chaîne lipophile avec la bicouche lipidique de la membrane plasmique bactérienne, et d'autre part, la liaison du peptide anionique avec le phosphatidylglycérol de

la membrane bactérienne. Cette première étape permet donc l'insertion de la daptomycine dans la membrane plasmique de la bactérie.

Une fois les molécules de daptomycine ancrées dans la membrane, la seconde transition calcium-dépendante provoque leur oligomérisation, créant ainsi des pores membranaires au travers desquels les ions potassium (K^+) passent vers le milieu extra-cellulaire. Cette fuite d'ions entraîne une perturbation des flux membranaires qui va être à l'origine de l'arrêt de la synthèse des acides nucléiques, des protéines, des acides lipotéichoïques, et du peptidoglycane, provoquant alors une bactéricidie sans bactériolyse. [64]

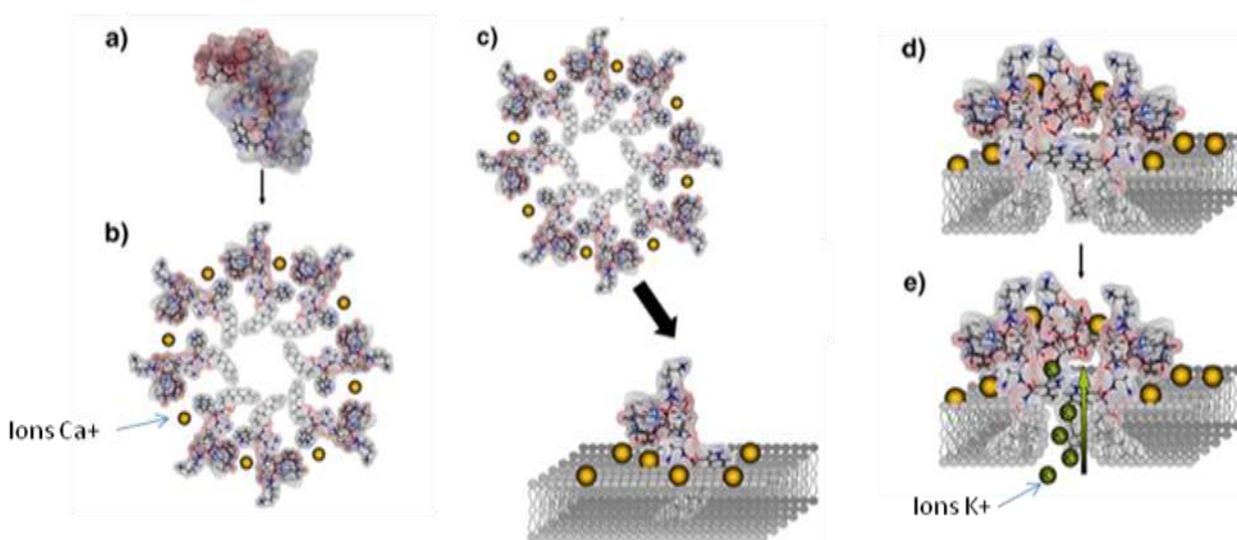


Figure 5 : Mode d'action de la daptomycine (d'après Straus A. et al.)

a) Molécule de daptomycine b) Première dépolymérisation calcium dépendante c) qui permet l'interaction avec la bicouche lipidique et l'intégration de la molécule dans la membrane cellulaire d) Deuxième oligomérisation, modification de la membrane aboutissant à la formation de pores e) fuite extra cellulaire de potassium, mort cellulaire.

A côté de ce mécanisme d'action spécifique, d'autres phénomènes sont probablement en cause ; une étude récente ayant notamment objectivé le fait que la mort cellulaire survenait avant la dépolarisation de la membrane (liée à la fuite de potassium). [65]

D'autres travaux sont donc nécessaires pour élucider totalement les modalités d'action de la molécule.

II.3.3. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique de la daptomycine a d'abord été étudiée lors d'essais de phase 1

(chez des volontaires sains) permettant d'objectiver sa bonne tolérance, son caractère linéaire et indépendant du temps pour des doses de 4 à 6 mg/kg administrées en perfusion intraveineuse de 30 minutes, en dose unique quotidienne pendant une durée allant jusqu'à 14 jours. [66] Chez ces mêmes volontaires, des doses plus élevées, allant jusqu'à 12mg/kg ont pu être reçues sans problème de tolérance. [67]

La daptomycine, administrée en injection intraveineuse de 2 minutes, a également montré une pharmacocinétique proportionnelle pour des doses thérapeutiques approuvées de 4 à 6 mg/kg. [68]

Sa biodisponibilité par voie orale étant nulle, son administration se fait donc exclusivement par voie parentérale. Les pics plasmatiques (C_{max}) obtenus à la fin de l'injection, sont pour des posologies de 4mg/kg et 6mg/kg respectivement de l'ordre de 60 et 95 $\mu\text{g/mL}$.

Sa liaison aux protéines plasmatiques est élevée de l'ordre de 92% réversible et indépendante de la concentration. Sa demi-vie d'élimination est longue de l'ordre de 9h chez des volontaires sains. Son élimination est principalement rénale, nécessitant une adaptation posologique en cas d'insuffisance rénale (clairance < 30mL/min). Environ 50% de la dose est éliminée sous forme inchangée dans les urines en 24h.

Son utilisation en cas d'hémodialyse 3 fois par semaine est en cours d'évaluation. Récemment l'équipe de Patel N. proposait son utilisation à la dose de 6mg/kg 1h avant ou à la fin d'une séance d'épuration extra rénale en cas d'intervalle entre 2 séances de 48h et d'augmenter les doses de 50% lorsque l'intervalle est de 72h (1 fois par semaine). [69] Ces données restent néanmoins à interpréter avec réserve, l'étude portant uniquement sur 12 patients et l'AUC/CMI obtenue pendant les premières 24h, en cas de posologie majorée de 50% étant supérieure à celle obtenue en cas d'injection de 12mg/kg chez les volontaires sains!

Son volume de distribution à l'état d'équilibre est faible de l'ordre de 0,1L/kg, ce qui traduit une diffusion extra-vasculaire limitée.

En effet si la diffusion dans le liquide interstitiel est satisfaisante ($\approx 68\%$) [70], elle reste limitée dans d'autres tissus comme dans le liquide péritonéal (estimée 42%) [71], le LCR (estimée 5% sur un modèle de lapin en présence d'une inflammation méningée, 2% en l'absence d'inflammation). [72] Sur un modèle de caillot fibrino-plaquettaire de lapin, la C_{max} était mesurée à 3,5 $\mu\text{g/g}$, et le ratio concentration tissulaire/concentration plasmatique estimé à 72,7%. [73]

II.3.4. Pharmacodynamie

La daptomycine a une activité bactéricide rapide, concentration dépendante contre les bactéries à Gram positif susceptibles.

C'est un antibiotique bactéricide, actif sur les bactéries en phase de croissance et en phase stationnaire. [74]

Du fait de son activité *in vitro* concentration dépendante, les paramètres les plus corrélés avec son efficacité *in vivo* sont les rapports C_{max}/CMI et l'AUC/CMI. [75]

L'effet post antibiotique est prolongé permettant une seule administration quotidienne.

Actuellement, il n'y a pas d'émergence de résistance constatée à la daptomycine parmi les souches de staphylocoques (SCN ou *S. aureus*) isolées en clinique. [76-77]

La sensibilité des staphylocoques vis-à-vis de cet antibiotique étant définie par le CASFM et le CLSI pour des CMI inférieures ou égales à 1mg/L, au-dessus de cette limite, les souches sont considérées comme résistantes.

II.3.5. Toxicité

Comme il a été détaillé ci-dessus (cf. généralités), le développement de la daptomycine avait été interrompu en 1991 compte tenu d'une toxicité musculaire jugée trop importante objectivée par une élévation importante des taux de créatine phospho-kinase (CPK).

Il aura fallu attendre 10 ans pour que des travaux de Oleson F. *et al.* permettent de corréler cette toxicité avec les modalités d'administration. [59]

En effet, la toxicité était nettement majorée par une administration toutes les 12h par rapport à une administration quotidienne unique.

Ces données furent confirmées chez l'homme, par la faible incidence des myopathies constatées lors des études cliniques qui suivirent. Ainsi, dans l'essai de l'équipe d'Arbeit R. *et al.* évaluant la daptomycine à la posologie de 4mg/kg/j dans le traitement des infections de la peau et des tissus mous il n'y avait pas de toxicité musculaire significativement plus élevée par rapport au groupe recevant un traitement standard. [60]

Lorsque les posologies étaient majorées à 6mg/kg/j (travaux de l'équipe de Fowler *et al.*), un sur-risque était mis en évidence. [61]

Celui-ci restait malgré tout peu important, puisque au cours de cette étude, dans le groupe daptomycine (n=116) parmi les 11 patients à avoir eu une élévation des CPK supérieure à

500 UI/L, seuls 4 ont eu une élévation supérieure à 10 fois la normale nécessitant un arrêt du traitement.

Dans tous les cas, cette élévation était réversible après interruption de la thérapeutique.

Une analyse statistique récente des données de l'étude de Fowler *et al.* a mis en évidence que la toxicité musculaire était étroitement liée à la concentration minimale (C_{min}) avant réinjection, plaidant pour un monitoring des vallées de daptomycine. [78]

Ainsi pour des valeurs de C_{min} supérieures à 24,3mg/L, 50% des patients (3/6) ont présenté des taux de CPK supérieurs à 500 UI/L, alors qu'en dessous de ces valeurs, 3% des patients (3/102) seulement ont présenté ces taux de CPK (p=0,02).

Compte tenu de cette toxicité musculaire, une recommandation de surveillance des CPK par dosage hebdomadaire a été incluse au Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) et la nécessité d'éviter l'association avec d'autres médicaments ayant une toxicité musculaire connue (statines notamment) a par ailleurs été rappelée.

D'autres effets indésirables moins sévères ont été constatés lors des études cliniques citées précédemment, comme des désordres gastro-intestinaux (diarrhées, nausées), des céphalées ou des réactions au point d'injection mais en proportion moindre que dans les groupes contrôles.

De même quelques cas d'insuffisance rénale ont été constatés dans l'étude de Fowler *et al.* sans que le lien de causalité puisse être établi, la toxicité rénale étant par ailleurs plus importante (1,7% versus 6%) dans le groupe contrôle recevant un aminoside en association avec la vancomycine ou la méticilline.

Plus récemment et de manière exceptionnelle, ont été rapportés des cas de pneumonie aigüe à éosinophiles sous daptomycine. [79]

Compte tenu de ces données, la daptomycine peut donc être considérée comme un antibiotique avec un excellent profil de tolérance.

II.3.6. Limites et interrogations actuelles

II.3.6.1. Sélection de mutants résistants en cours de traitement

Si l'émergence de la résistance à la daptomycine parmi les espèces sensibles et notamment parmi les staphylocoques à coagulase négative [80] n'est pas un problème d'actualité, plusieurs cas d'élévation des CMI en cours de traitement ont été rapportés.

Elles sont à l'origine d'une certaine méfiance à l'utilisation large de la daptomycine pour le traitement des infections à staphylocoques résistants à la méticilline en remplacement de la vancomycine.

Ainsi, dans l'étude de Fowler *et al.* comparant l'efficacité de la daptomycine en monothérapie au traitement standard dans la prise en charge des bactériémies et endocardites à *S. aureus* parmi les 19 patients (sur 120) en échec thérapeutique dans le bras daptomycine, une sélection de mutants de sensibilité diminuée a été constatée chez 6 d'entre eux. [61]

On notera, cependant, que bien que le niveau de CMI de ces mutants (2-4 mg/L) reste bien en dessous des pics sériques attendus (cf. paragraphe pharmacocinétique), ils sont considérés comme résistants (CMI > 1mg/L).

Les mécanismes qui sont à l'origine de cette diminution de sensibilité sont encore incomplètement compris actuellement, mais semblent liés à des mutations des gènes impliqués dans la régulation du potentiel de surface membranaire (*mprF*, *ycyFG*) ou de gènes codant pour les sous unités de l'ARN polymérase bactérienne (*rpoB* et *C*). [81]

Dans une revue récente de la littérature [82], Moise P *et al.* rappelaient que parmi les souches de *S. aureus*, la résistance à la daptomycine était hétérogène d'où l'émergence possible de souches résistantes en cours de traitement. Celle-ci était favorisée par des doses sub-inhibitrices de l'antibiotique au niveau du foyer infectieux notamment en cas d'utilisation à de faibles posologies, ou de traitement d'infection où l'antibiotique diffuse mal (abcès non drainé, tissus dévitalisés, infection sur prothèse), mais aussi en cas de fort inoculum initial (endocardite, abcès non drainé..).

Ces données sont confirmées dans le travail de Fowler *et al.* puisque la sélection de souches résistantes, survenait dans un contexte d'infections compliquées avec des foyers secondaires notamment osseux ou en présence de matériel étranger dans plus de 60% des cas. [61]

En conséquence, l'émergence de la résistance sous traitement, pourrait sans doute être prévenue par l'indication large de traitement adjuvant notamment par un débridement chirurgical précoce en cas de foyer collecté, ou par l'ablation du matériel prothétique en cas d'infection sur prothèse, ou encore par l'utilisation initiale d'une bithérapie de manière à diminuer l'inoculum bactérien.

II.3.6.2. Résistance croisée avec la vancomycine

L'autre fait notable dans le travail de Fowler *et al.* était la mise en évidence d'une résistance croisée entre la daptomycine et la vancomycine. [61]

Ainsi, parmi les 9 patients en échec thérapeutique sous vancomycine 4 avaient sélectionné des souches présentant une sensibilité diminuée à la daptomycine (CMI initiales de 0,25-0,5 mg/L puis à 2-4mg/L).

Depuis, plusieurs travaux ont mis en évidence une moindre sensibilité à la daptomycine de certaines souches VISA. [83-84] Cette corrélation serait liée à l'épaisseur de la paroi des souches VISA rendant difficile pour ces volumineuses molécules l'accès à leurs cibles [85] Cependant, il n'a pas été mis en évidence de corrélation entre un traitement préalable par vancomycine et un échec de traitement par daptomycine. [86] Ainsi, on notera que la plupart des patients traités par daptomycine inclus dans les études cliniques ont reçu au préalable un traitement par vancomycine pendant 48h.

Les souches exprimant cette résistance croisée ont émergé la plupart du temps après un traitement par vancomycine prolongé (>14jours) dans un contexte d'infections compliquées pour lesquelles les indications chirurgicales n'avaient pas pu être retenues. [61]

Il n'y a pas de données disponibles concernant cette résistance croisée parmi les souches VISE.

Néanmoins, après un traitement prolongé par la vancomycine, il semble prudent de tester à nouveau la CMI à la daptomycine.

II.3.6.3. Possibilité d'élargissement des indications ?

Compte tenu de la bonne tolérance de la daptomycine, de son activité rapidement bactéricide et de la faible fréquence de la résistance parmi les bactéries à Gram positif isolées en clinique, plusieurs équipes se sont interrogées sur la possibilité d'élargir ses indications.

En effet selon l'AMM du médicament, les seules indications retenues actuellement, sont les infections compliquées de la peau et des tissus mous, les bactériémies à *S. aureus* et les endocardites du cœur droit.

L'indication dans la prise en charge des pneumopathies n'a pas été retenue du fait de l'inactivation de la molécule par le surfactant pulmonaire. [87]

La première interrogation s'est portée sur la possibilité d'utiliser la daptomycine dans le traitement des endocardites du cœur gauche. [88]

En effet, l'indication n'avait pas été retenue initialement faute de données suffisantes. Cependant son caractère rapidement bactéricide et la persistance de la sensibilité parmi les staphylocoques en fait potentiellement une molécule intéressante dans la prise en charge de ce type d'infection. Ainsi dans une revue récente de la littérature [88], Falagas *et al.* ont répertorié plus de 100 travaux essayant de répondre à cette interrogation. La plupart des études concernent des modèles expérimentaux animaux d'endocardite à SARM où la daptomycine montre une efficacité équivalente aux glycopeptides.

Une seule étude concerne un modèle d'endocardite aortique à SERM chez le lapin, qui objective pour des souches ayant une sensibilité limite à la vancomycine (CMI=4mg/L), une efficacité nettement supérieure de la daptomycine à la posologie de 10mg/kg/j puisque, alors que la daptomycine va permettre la stérilisation de l'ensemble des végétations, la vancomycine (en 2 injections quotidiennes) ne stérilisera que 20% de celles-ci. [89]

Un travail plus récent sur le même modèle expérimental avec des souches de SERM exprimant un plus haut niveau de résistance aux glycopeptides (CMI vancomycine=8mg/L) confirme la supériorité de la daptomycine dans cette indication. [90]

Cette étude met par ailleurs en avant que l'efficacité de la daptomycine peut être optimisée par une augmentation des posologies de 6 à 10mg/kg.

Dans la deuxième partie du travail de Falagas *et al.*, sont répertoriés les cas cliniques ou séries de cas où la daptomycine a été utilisée avec succès chez l'homme (n=19 patients) dans des situations d'échecs thérapeutiques sous glycopeptides ou d'intolérance à ceux-ci.

Un seul cas clinique concernait une endocardite du cœur gauche à SCN traité avec succès par la daptomycine après échec thérapeutique sous vancomycine. [91]

Un autre cas rapporté dans la littérature d'un patient diabétique hémodialysé, ayant présenté une endocardite aortique en échec de traitement après vancomycine semble confirmer l'efficacité de la daptomycine dans cette indication. [92] Dans cette dernière observation, le traitement a été reçu à la posologie de 7mg/kg après chaque dialyse.

De même l'analyse du registre CORE 2004 (Cubicin® Outcome Registry and Experience) mis en place par la firme Cubist Pharmaceutical Inc. pour colliger les données liées à l'utilisation de la daptomycine en pratique clinique confirme ces notions. [93]

En effet, l'analyse rétrospective de l'utilisation de la molécule dans la prise en charge des endocardites dans ce registre permet l'étude de 49 cas dont 38 cas d'endocardite du cœur gauche. La plupart de ces cas (59%) sont liées à *S. aureus* (83% de souches résistantes à la méticilline) ou aux entérocoques (43% de souches résistantes à la vancomycine), 3 sont liées aux SCN.

Le traitement permettra d'obtenir une guérison dans 63% des cas et sera un échec dans 8% des cas (n=4 patients), malheureusement l'analyse sera impossible dans 29% des cas.

Il n'y a pas parmi ces données de facteur prédictif d'échec à la daptomycine mis en évidence.

Malheureusement, les limites de cette analyse rétrospective sont nombreuses : 65% des patients ayant reçu de façon concomitante une autre antibiothérapie notamment par aminosides (29%) et/ou par rifampicine (18%), 1/3 des patients de cette cohorte étant hémodialysés de façon chronique, et 29 % des patients ne pouvant pas être évalués en termes de devenir.

Au total, si plusieurs arguments semblent plaider en faveur de l'élargissement des indications de la molécule à la prise en charge des endocardites du cœur gauche, il n'y a pas eu à ce jour, d'essai randomisé à large échelle comparant l'efficacité de la daptomycine au traitement standard dans cette indication permettant de trancher de façon définitive.

L'autre problématique qui persiste pour permettre cet élargissement, est liée à la persistance d'interrogation par rapport à la tolérance du produit, et donc sur la possibilité ou non d'augmenter les posologies (compte tenu de la faible diffusion et de l'efficacité concentration dépendante).

Même si cette tolérance jusqu'à 12mg/kg a déjà été démontrée dans un petit groupe de volontaires sains. [67]

D'autres indications possibles sont par ailleurs évaluées par certaines équipes. Certains auteurs ont rapporté notamment des cas de méningites à *Enterococcus faecium* résistants à la vancomycine traités avec succès par une bithérapie associant la daptomycine à la posologie de 9 à 12mg/kg en association à la gentamicine ou au linézolide. [94]

D'autres ont discuté son indication dans les rares cas de méningites à staphylocoques notamment en cas d'intolérance au traitement standard, quelques cas de succès thérapeutique en monothérapie ou en association avec de la rifampicine ont ainsi été signalés. [95]

Enfin la dernière limite de la daptomycine est liée à son coût, nettement plus élevé que la vancomycine, ce qui pose question pour décider d'un traitement par cet antibiotique.

II.4. FACTEURS INFLUENCANT L'ACTIVITE DES ANTIBIOTIQUES

II.4.1. Particularités des conditions *in vivo*

Si l'évaluation de l'activité des antibiotiques vis-à-vis des différents pathogènes est réalisée quotidiennement dans les laboratoires de bactériologie par la mesure de la CMI, cette évaluation est loin d'être le garant d'un succès thérapeutique.

En effet, si la CMI permet de prédire l'interaction entre un antibiotique et un pathogène donné dans des conditions optimales, celles-ci sont très éloignées des conditions *in vivo*.

In vivo l'activité des antibiotiques va être influencée par de nombreux paramètres. Ceux-ci sont d'ordre pharmacocinétique d'une part, lié à l'absorption, la distribution au sein des tissus et à l'élimination du médicament et d'ordre pharmacodynamique d'autre part reflétant la relation entre les concentrations sériques de l'antibiotique au cours du temps et les effets pharmacologiques et toxicologiques observés.

Concernant la pharmacodynamie, de nombreux travaux réalisés ces 30 dernières années ont démontré que l'activité des antibiotiques n'était pas linéaire, témoin d'une relation dose/effet, mais bien plus complexe et variable d'une molécule à l'autre. [96-97] Ainsi, certains antibiotiques vont avoir une activité dépendante du temps, leur efficacité étant proportionnelle au temps où les concentrations seront supérieures à la CMI, d'autres auront une activité proportionnelle au pic de concentration sérique obtenu.

Il a aussi été montré que de façon paradoxale certaines molécules seront moins efficaces en cas de posologies trop élevées (effet Eagle), alors que d'autres seront encore efficaces alors même que leurs concentrations seront inférieures à la CMI (effet post antibiotique).

Le métabolisme *in vivo* de certaines molécules va aussi pouvoir modifier leur activité, par exemple la daptomycine n'aura aucune efficacité au niveau pulmonaire du fait de son inactivation par le surfactant.

Puisque ces multiples paramètres entrent en jeu, les modalités optimales permettant l'évaluation d'une nouvelle molécule, sont donc son utilisation en situation réelle chez l'homme pour le traitement d'une infection donnée, comparée au traitement de référence. En pratique, cette évaluation ne peut pas être réalisée comme telle au stade initial de

développement d'un produit pour des questions éthiques. De même, aux stades plus avancés de développement celle-ci reste difficile à mettre en place pour des questions d'organisation, de coût devant la multiplicité des situations cliniques et l'évolution notamment en termes de résistance des bactéries incriminées.

De nombreuses équipes ont donc tenté de développer des modèles expérimentaux plus accessibles, permettant de prédire l'efficacité d'une molécule dans une situation donnée. [98-99] Certains de ces modèles sont des modèles animaux plus ou moins complexes à mettre en œuvre.

D'autres comme celui des caillots fibrino-plaquettaires sont des modèles *in vitro* plus simples à mettre en place.

Ces modèles même s'ils ont leurs limites et ne sont que le reflet imparfait de la réalité apportent des informations capitales sur les paramètres PK/PD des molécules étudiées permettant d'adapter les thérapeutiques dans les situations réelles.

Ainsi le modèle des caillots de fibrine représente un milieu complexe, dans lequel les bactéries vont pouvoir adhérer, former du biofilm, et dans lequel la diffusion des antibiotiques va être malaisée. Les informations qu'il apporte seront donc intéressantes pour la prise en charge des infections où il existe des dépôts fibrino-plaquettaires comme les endocardites ou les infections sur matériel comme les infections sur cathéter, même si ces données seront à interpréter avec prudence compte tenu des limites du modèle expérimental réalisé *in vitro*.

II.4.2. Facteurs bactériens

Certains facteurs bactériens, vont aussi pouvoir influencer l'activité des antibiotiques. Le plus important déjà cité précédemment est lié à la capacité de certains micro-organismes à synthétiser du biofilm. Celui-ci va conférer aux micro-organismes une résistance importante à différents stress : UV, toxicité de métaux, dessiccation, déplétion en nutriment et surtout aux antibiotiques [100]. De nombreux mécanismes qui participent à cette résistance ont été mis en évidence: difficulté de la pénétration de l'antibiotique dans le biofilm, croissance ralentie d'une partie des bactéries situées au sein du biofilm, hétérogénéité des populations présentes et diversité génétique, ou encore modification du phénotype par induction de certains gènes de résistance. L'intérêt est donc majeur d'étudier l'activité des antibiotiques non plus dans des milieux planctoniques mais dans un milieu plus proche des conditions réelles, où les bactéries vont pouvoir adhérer et former un biofilm.

III OBJECTIFS DE L'ETUDE

Le but de cette étude, est d'évaluer l'efficacité de la daptomycine sur des souches de *S. epidermidis* résistantes à la méticilline, sécrétant du biofilm non pas dans un milieu planctonique, mais dans un milieu complexe de caillot fibrino-plaquettaire et de la comparer à celle de la vancomycine (antibiotique de référence).

IV MATERIEL ET METHODES

IV.1.SOUCHES BACTERIENNES

IV.1.1. Identification

Trois souches de *S. epidermidis* isolées au CHU de Nantes, ont été étudiées dans ce travail. Ces souches ont été isolées d'hémocultures chez différents patients pour lesquels une septicémie avait été diagnostiquée.

IV.1.2. Caractérisation moléculaire, recherche du gène *ica*

L'un des principaux facteurs corrélés à la formation de biofilm étant la protéine PIA, la présence du locus *ica* a été recherché par biologie moléculaire (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) selon la méthode décrite par Heilmann *et al.* [21-22]

IV.1.3. Biofilm

La présence ou l'absence de formation de biofilm par chaque souche a été confirmée à l'aide d'une nouvelle technologie appelée BioFilm Control Ring Test® utilisant une suspension de particules magnétisables.

Ces microbilles sont mises en présence des souches à évaluer qui sont ensuite mises en culture.

Ainsi en cas de formation de biofilm, les microbilles magnétiques colorées sont piégées dans le biofilm et ne sont pas visibles alors qu'en l'absence de biofilm toutes les microbilles se regroupent sous l'influence d'un champ magnétique et deviennent visibles. (figure 6)

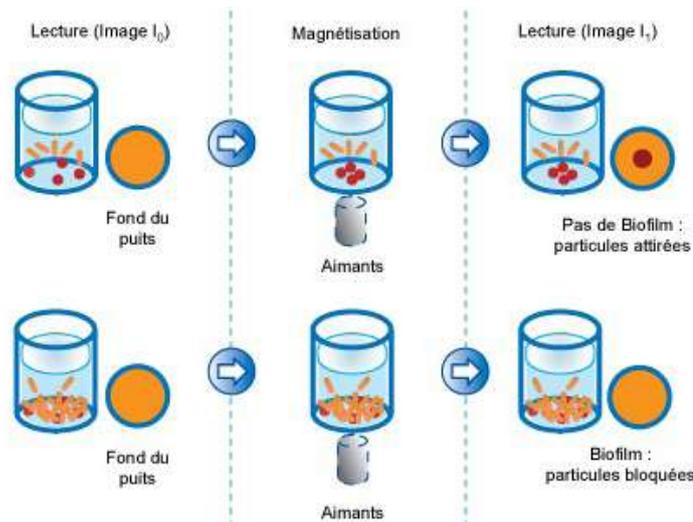


Figure 6: BioFilm Control Ring Test® (d'après Chavant *et al.*)

IV.2. ANTIBIOTIQUES

La daptomycine (Cubicin®, Cubist Pharmaceuticals), disponible sous forme de poudre se conservant à + 4°C a été dissoute dans de l'eau distillée stérile afin d'obtenir une solution mère titrée à 2.000 µg/mL conservée à -20°C.

La vancomycine (vancomycine, Mylan) aussi disponible sous forme de poudre a été dissoute dans de l'eau distillée stérile afin d'obtenir une solution mère titrée à 50.000 µg/mL conservée à -20°C.

IV.3. MILIEUX

La croissance des souches de *S. epidermidis* a été effectuée sur une gélose Mueller Hinton (MH).

Pour l'étude de la sensibilité des bactéries à la daptomycine, le milieu de culture utilisé était du bouillon de Mueller-Hinton II (BMH II) enrichi en calcium. Ainsi, pour 1 litre de BMH II Ca²⁺ : 22g de poudre Difco BMH II sont dilués dans de l'eau distillée stérile auxquels sont ajoutés 2,7mL de chlorure de calcium à 10%, la solution obtenue est mise à pH 7,3 ± 0,1 (à 25°C). En l'absence de cet enrichissement du milieu en calcium, l'action de la daptomycine n'est pas possible.

Le sérum utilisés pour la deuxième partie de l'expérience a été recueilli après ponction veineuse de volontaires sains sur tube sec.

IV.4. DÉTERMINATION DE LA CMI DE LA DAPTOMYCINE ET DE LA VANCOMYCINE

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotique inhibant *in vitro* toute croissance bactérienne visible à l'œil nu.

Pour les trois souches bactériennes étudiées, la détermination de la CMI a été réalisée par diffusion en milieu gélosé à l'aide de bandelettes Etest[®] (AB BIODISK, Solna, Suède), dispensant une gamme de concentrations d'antibiotique allant de 0,016 à 256 µg/mL. L'inoculum calibré à 10⁶ bactéries/mL, a été ensemencé sur gélose MH II enrichie en cations.

La CMI étant la concentration où l'ellipse d'inhibition formée croise la bandelette avec une inhibition complète de la croissance bactérienne après 24 heures

IV.5. ETUDE DE L'ACTIVITÉ DE LA DAPTOMYCINE COMPARÉE À LA VANCOMYCINE, DANS UN MODÈLE *IN-VITRO* DE CAILLOTS FIBRINO-PLAQUETTAIRES INFECTÉS À *S. EPIDERMIDIS*

IV.5.1. Choix des concentrations d'antibiotiques

Les concentrations d'antibiotiques étudiées ont été choisies pour tenter de reproduire les conditions *in vivo*. Ainsi, la dose de 100mg/l de daptomycine a d'abord été retenue car elle correspond au pic sérique obtenu chez des volontaires sains après injection de daptomycine aux doses thérapeutiques usuelles (6mg/kg) ; celle de 25mg/L a ensuite été choisie car elle correspond aux concentrations observées chez ces mêmes volontaires 12h après [68]

Concernant la vancomycine, deux concentrations ont été utilisées : 25 mg/L d'une part ce qui correspond aux taux sériques visés lors des traitements des infections à Staphylocoques résistants à la méticilline et 200 mg/L d'autre part. Cette dernière concentration a été choisie pour reproduire une modalité thérapeutique : le verrou d'antibiotique ou antibiothérapie locale parfois prescrit lors des infections de cathéter qui consiste à laisser en place dans le cathéter de très fortes concentrations d'antibiotique.

IV.5.2. Préparation des caillots de fibrine infectés

La première étape consiste en la préparation de plasma riche en plaquettes (PRP) à partir de sang prélevé à des volontaires sains sur tube citraté, puis centrifugé 10 min à 900 tr/min.

Puis répartition d'aliquotes de 400 μL de PRP dans des tubes siliconés de type Eppendorf dans lesquels, un petit cathéter stérile est plongé.

Ensuite 50 μL d'une suspension bactérienne calibrée à 10^6 bactéries/mL et 125 μL de thrombine humaine (100 unités NIH/mL) reconstituée dans une solution de chlorure de calcium) sont ajoutés.

Les échantillons sont ensuite placés 30 minutes sous agitation douce à 37°C.

Après formation des caillots, ceux-ci sont extraits des tubes siliconés à l'aide du cathéter, rincés trois fois dans du sérum physiologique, puis séchés dans une compresse stérile.

Pour chaque souche, 33 caillots ont été fabriqués, 3 caillots étant analysés pour chaque temps et concentration d'antibiotique étudié.

400 μl de plasma riche en plaquettes
125 μl de thrombine humaine
50 μl de culture de SERM (10^6UFC/mL)



Figure 7: Préparation des caillots de fibrine.

IV.5.3. Détermination de la croissance bactérienne dans les caillots de fibrine

Après avoir été rincé puis séché, chaque caillot infecté par une des trois souches de *S. epidermidis* a été placé dans 2 mL de BMH enrichi en calcium, dans une étuve à 37°C pendant 48h pour permettre une croissance bactérienne et la formation de biofilm.

Après 48h, les tubes contenant les caillots infectés ont été sortis de l'étuve. Ce temps de sortie de l'étuve correspondra au temps 0h de notre expérience.

Pour chaque souche, trois caillots, seront d'emblée rincés, broyés puis homogénéisés dans 1000 μL de sérum physiologique, afin de mettre en suspension les bactéries survivantes.

50 μL de chaque homogénat (ou une dilution de celui-ci) sont ensuite ensemencés à l'aide de l'ensemencement Spiral[®] sur des géloses MH, puis incubés 48h à 37°C. Les bactéries survivantes sont ensuite dénombrées. Les résultats sont exprimés en bactéries survivantes/g de caillot.

IV.5.4. Etude de l'effet antibactérien de la daptomycine comparé à la vancomycine dans un milieu de type BMH enrichi en calcium.

En parallèle du dénombrement des bactéries à T0, les autres caillots (après avoir été rincés) sont plongés dans 2mL de BMH II enrichi en calcium contenant différentes concentrations d'antibiotique (daptomycine 25mg/L et 100mg/L, ou vancomycine 25mg/L et 200mg/L). 6 caillots sont plongés dans du BMH calcium sans antibiotique (témoin de croissance bactérienne).

Après 6 et 24H les bactéries survivantes sont dénombrées selon le même protocole que ci-dessus.

IV.5.5. Effet antibactérien de la daptomycine comparé à la vancomycine, dans un milieu de type sérum humain

Pour la souche SERM 2, l'expérience précédente a été réalisée une deuxième fois, en modifiant le milieu de culture. Ainsi, à T0h, les caillots ont été plongés non plus dans du BMH enrichi en calcium mais dans du sérum humain, prélevé sur tube sec.

IV.5.6. Microscopie électronique à balayage

Les caillots ainsi préparés ont ensuite été traités pour permettre leur étude en microscopie électronique.

V RESULTATS

V.1. SOUCHES BACTERIENNES

Deux souches étudiées SERM 1 et SERM 2 sont des souches de *S. epidermidis* possédant le gène *ica* (*ica*+) et produisant du biofilm. La troisième souche de *S. epidermidis* SERM 3 ne possède pas le gène *ica* (*ica* -) et ne produit pas de biofilm.

La présence du biofilm est visualisée à l'aide du nouveau test Ring test sur la figure 8. Lorsque la souche ne produit pas de biofilm, les particules magnétiques se regroupent au fond de la cupule sous l'action d'un aimant (figure 8.1). Mais lorsque la souche produit du biofilm alors les particules sont piégées et ne se regroupent pas au fond de la cupule (figure 8.2).



1. **Absence de biofilm**, l'ensemble des micro-particules magnétiques se regroupent sous l'influence d'un aimant, et sont visibles sous forme d'un point rouge.

2. **Présence de biofilm**, les micro-particules piégées dans le biofilm ne se regroupent pas

Figure 8: BioFilm Control Ring Test®, interprétation des résultats.

Pour les 3 souches la CMI de la daptomycine est de 0,5µg/mL et celle de la vancomycine de 1µg/mL avec les bandelettes Etest®.

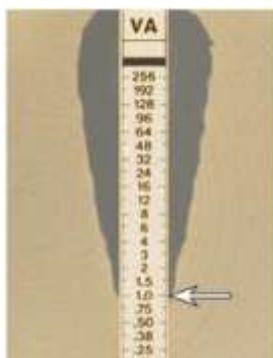


Figure 9: Bandelette Etest®, interprétation des résultats.

V.2. ETUDE IN-VITRO DE L'ACTIVITÉ DE LA DAPTOMYCINE COMPARÉE À LA VANCOMYCINE, DANS UN MODÈLE DE CAILOT FIBRINO-PLAQUETTAIRE

V.2.1. Caillots de fibrine infectés

Les caillots de fibrine obtenus sont de couleur rosâtre, de consistance ferme, facilement manipulables. Leur masse moyenne est de 6 mg.



Figure 10: Photographie d'un caillot fibrino-plaquettaire.

Lorsqu'ils sont analysés en microscopie électronique, on aperçoit nettement des colonies de staphylocoques arrondies au sein d'un milieu complexe correspondant à la matrice fibrino-plaquettaire et au biofilm formé par les bactéries

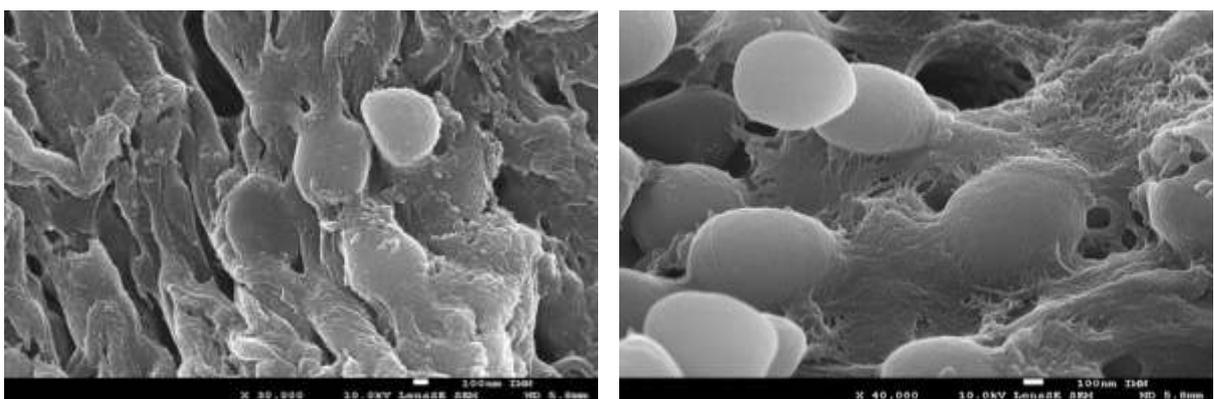


Figure 11 : Coupe d'un caillot de fibrine infecté par *S. epidermidis*, observée au microscope électronique à balayage.

V.2.2. Effet antibactérien de la daptomycine comparé à la vancomycine dans un milieu de type BMH enrichi en calcium

Les bactéries survivantes (exprimées en \log_{10} UFC/g de caillot) ont été dénombrées aux différents temps de l'expérience, en fonction de la concentration de chaque antibiotique auquel les caillots de fibrine ont été exposés. Les résultats à 24 h sont reportés dans le tableau 1.

Souches	Moyenne \pm SD \log_{10} UFC/g de caillot de fibrine à 24h				
	T0	D25mg/L	D100mg/L	V25mg/L	V200mg/L
SERM1 ica+biofilm+	10 \pm 0.4	2.2 \pm 0.1	<2 \pm 0.1	8.5 \pm 0.3	9 \pm 0.6
SERM2 ica+biofilm+	9 \pm 0.4	4.5 \pm SD	2.3 \pm 0.1	6.3 \pm 0.5	6.1 \pm 0.3
SERM3 ica- biofilm-	10 \pm 0.3	2.2 \pm 0.1	<2 \pm 0.1	7.9 \pm 0.3	7.1 \pm 0.3

Tableau 1 Dénombrement des bactéries survivantes au temps 24H, dans les caillots de fibrine après exposition à la daptomycine et à la vancomycine dans un milieu BMH enrichi en calcium. (D = daptomycine ; V= vancomycine)

Les « inoculums » au temps T0H sont équivalents pour chacune des souches (9 à 10 \log_{10} UFC/g de caillot) et la croissance bactérienne en l'absence d'antibiotique est similaire quelle que soit la souche étudiée (cf. graphique ci-dessous).

Sur les figures 12, 13 et 14 sont représentées les activités de la daptomycine et de la vancomycine à différentes concentrations sur les souches de *S. epidermidis* enfouies dans des caillots de fibrine.

Pour chacune des souches, la daptomycine quelle que soit la concentration utilisée, est significativement plus rapidement bactéricide que la vancomycine. Dès la 6ème heure, le nombre de bactéries survivantes commence à diminuer dans les caillots en contact avec les antibiotiques et ce pour toutes les souches. L'augmentation des concentrations de vancomycine n'améliore pas la bactéricidie. Après 24H le nombre de bactéries survivantes est de 2 \log_{10} pour la daptomycine à 25 mg/L et les cultures sont stériles en présence de 100 mg/L. Au contraire, avec la vancomycine en présence de 25mg/L et 200 mg/L le nombre de bactéries survivantes reste élevé entre 8 et 9 \log_{10} .

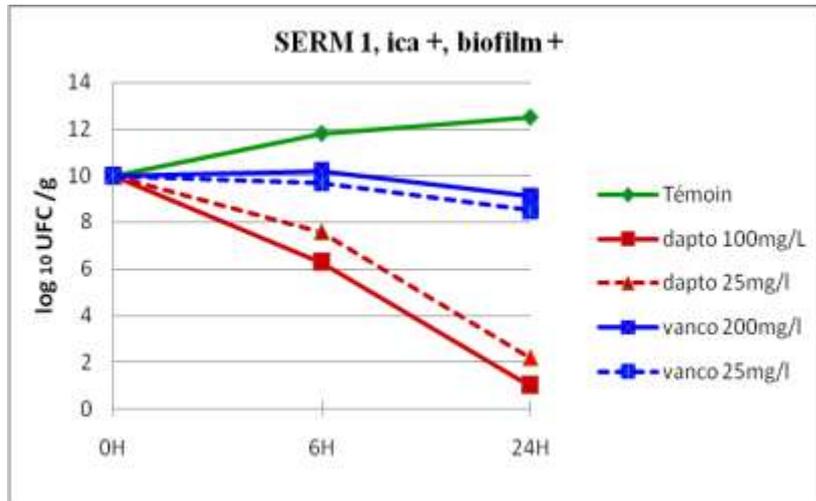


Figure 12. « Inoculums » bactériens en fonction du temps après exposition à la daptomycine ou à la vancomycine, SERM 1 ica +

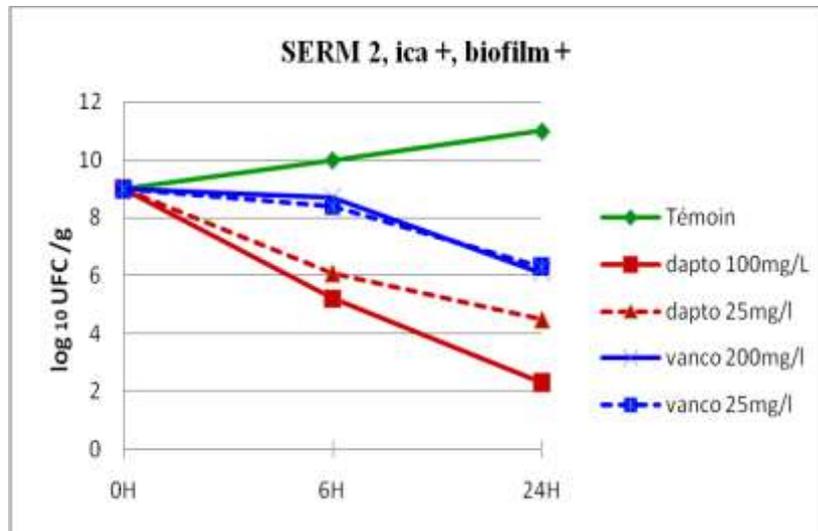


Figure 13. « Inoculums » bactériens en fonction du temps après exposition à la daptomycine ou à la vancomycine, souche SERM 2 ica +

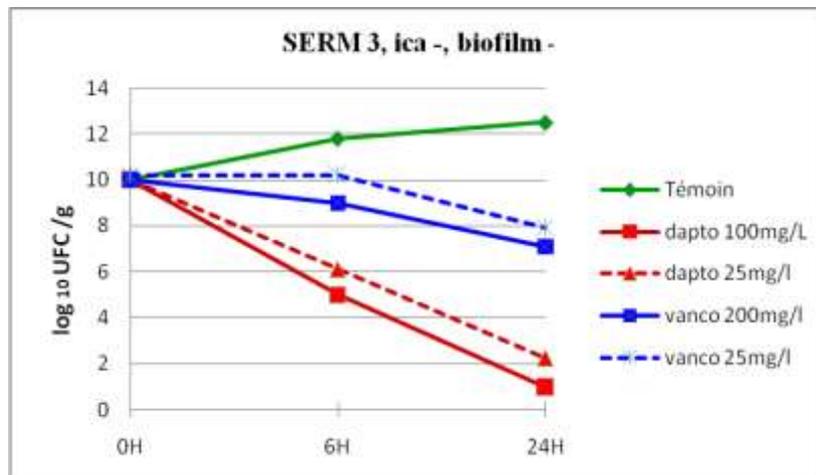


Figure 14. « Inoculums » bactériens en fonction du temps après exposition à la daptomycine ou à la vancomycine, souche SERM 3 ica -

V.2.3. Effet antibactérien de la daptomycine comparé à la vancomycine dans un milieu de type sérum humain

Quand les caillots de fibrine infectés sont placés non plus dans du bouillon MH mais dans du sérum, l'action bactéricide de la vancomycine reste inchangée, par contre celle de la daptomycine, est moins importante que dans le milieu BMH enrichi en calcium (écart de 2 log)

Antibiotique	Moyenne \pm SD log ₁₀ UFC/g de caillot de fibrine à 24h	
	T0h	T24h
Témoin	9.8 \pm 0.4	11.5 \pm 0.1
D 100mg/L	9.8 \pm 0.4	4.1 \pm 0.2
V 200mg/L	9.8 \pm 0.4	6.4 \pm 0.1

Tableau 2. Dénombrement des bactéries survivantes au temps 24H, dans les caillots de fibrine après exposition à la daptomycine et à la vancomycine dans du sérum.

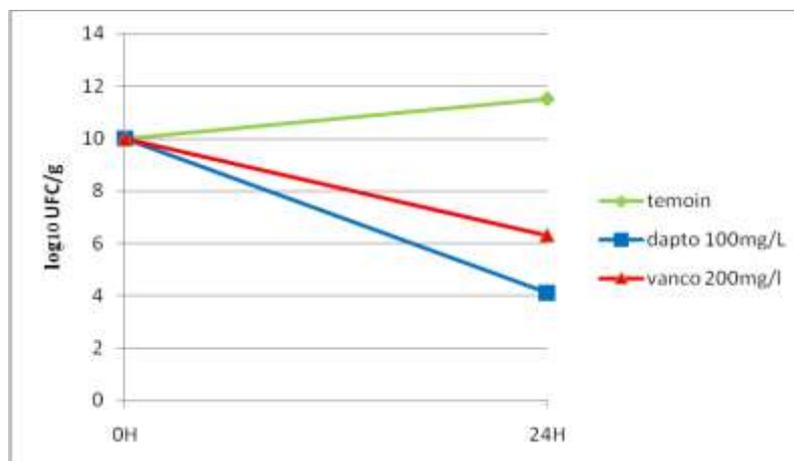


Figure 15. « Inoculums » bactériens en fonction du temps après exposition à la daptomycine ou à la vancomycine, souche SERM 2 ica +, milieu de culture type sérum.

VI DISCUSSION

VI.1. CRITIQUE DU MODÈLE EXPÉRIMENTAL

Les modèles expérimentaux, sont utilisés depuis de nombreuses années en infectiologie, pour permettre une meilleure appréhension de la pharmacodynamie des antibiotiques de façon simple, reproductible et à moindre coût. [101] Ils permettent en parallèle aux études cliniques chez l'homme, souvent difficiles à mettre en place du fait de limites éthiques et financières d'optimiser l'usage des antibiotiques.

Ainsi, le modèle de caillot fibrino-plaquettaire permet de tester l'activité des antibiotiques dans un milieu complexe, où la diffusion des antibiotiques va être limitée, avec un gradient de concentration entre la surface et le centre du caillot. [102] Par ailleurs, les bactéries qu'ils contiennent vont pouvoir non seulement adhérer sur le support qu'ils représentent et former du biofilm, mais aussi être à différents stades métaboliques, les bactéries les plus profondes ayant un métabolisme ralenti.

Ce modèle est donc très intéressant pour appréhender les infections impliquant des dépôts de fibrine comme les endocardites, les infections sur matériel étranger, ou encore les infections d'hématome.

Mais il reste un modèle expérimental avec ses limites. Les végétations d'endocardite, correspondent plus par exemple à une succession de couches concentriques, qu'à un amas désorganisé de fibrine et de plaquettes, ceci pouvant avoir un retentissement sur l'efficacité des antibiotiques. Ainsi, McColm *et al.* ont démontré que la pharmacocinétique de la ceftazidime n'était pas la même dans les végétations d'un modèle d'endocardite à *S. aureus* que dans un modèle de caillot de fibrine infecté avec le même germe. [103] De même le milieu extérieur reproduit *in vitro* est loin de représenter les conditions *in vivo*.

VI.2. ACTIVITÉ DE LA DAPTOMYCINE

L'activité concentration dépendante et rapidement bactéricide de la daptomycine, par rapport à la vancomycine est confirmée par notre travail alors que l'augmentation des concentrations de vancomycine n'a pas de retentissement sur la bactéricidie observée, comme cela avait déjà été signalé.

On constate cependant, que l'influence du sérum sur l'activité bactéricide de la daptomycine est grande. Cette diminution d'activité s'explique par la forte liaison aux protéines de la daptomycine (92%) limitant ainsi sa diffusion. Ainsi, pour la souche SERM 2 où les

expériences ont été menées à la fois dans un milieu pauvre en protéines (BMH enrichi en calcium) et dans du sérum humain, la diminution de l'activité de la molécule est nette dans la deuxième situation.

En effet, pour des « inoculums » initiaux équivalents ($9 \pm 0.4 \log_{10}$ UFC/g de caillot de fibrine), à 24h le nombre de bactéries dénombrées était de 2.3 ± 0.1 UFC/g de caillot de fibrine dans le premier milieu, alors qu'il était de 4.1 ± 0.2 UFC/g de caillot de fibrine dans le sérum. Le nombre de bactéries survivantes reste néanmoins moins important que lors du traitement par vancomycine (dont l'activité n'est pas influencée par le sérum) où il était mesuré à 6.4 ± 0.1 UFC/g de caillot de fibrine.

Il aurait été intéressant d'évaluer si l'augmentation des posologies de daptomycine, permettait de récupérer l'effet bactéricide initialement observé.

Rejoignant en cela, l'attitude de nombreux auteurs, qui dans des situations d'infections sévères et/ou d'échecs thérapeutiques n'hésitent pas à augmenter les posologies de l'antibiotique (de 7 à 12mg/kg), malgré des recommandations de doses plafonnées à 6mg/kg/j.

Par ailleurs, on remarque dans notre expérience, que l'activité des deux antibiotiques ne semble pas influencée par la formation ou non de biofilm par les souches étudiées, alors que plusieurs travaux avaient mis en évidence une diminution de l'efficacité de leur activité et notamment de la vancomycine au sein de celui-ci. [104]

Les facteurs confondant liés au modèle de milieu complexe difficile à pénétrer étaient probablement importants.

VI.3. POSSIBILITÉ D'ÉLARGISSEMENT DES INDICATIONS

Nos données, si elles ne permettent pas de recommander une utilisation de la daptomycine dans une indication précise du fait des limites du modèle, plaident néanmoins pour une utilisation plus large de celle-ci. Particulièrement, dans les infections sévères à SERM, et ce d'autant que l'antibiotique de référence est actuellement mis en difficulté.

Ainsi dans les infections où les SERM se trouvent dans un environnement complexe comme dans les endocardites du cœur gauche (l'indication n'a pas été retenue à ce jour faute de données suffisantes) la question mériterait d'être réévaluée de manière rigoureuse.

La méfiance liée au risque d'émergence de souches de moindre sensibilité en cours de traitement décrites parmi les souches de *S. aureus*, ne semblant pas un argument suffisant actuellement pour limiter l'usage de la molécule.

D'une part car celle-ci survient dans des circonstances particulières d'infections compliquées (notamment avec des foyers collectés ou osseux...) en échec thérapeutique, après plusieurs semaines de traitement. D'autre part car elle peut être évitée par l'indication précoce des traitements adjuvants (débridement, drainage chirurgical...) et par l'utilisation initiale d'une bithérapie pour diminuer l'inoculum.

La bithérapie initiale étant d'ores et déjà recommandée dans la prise en charge des endocardites à staphylocoques. [105] Ainsi dans le travail de Fowler *et al.*, on remarquera que si la daptomycine a été administrée en monothérapie, le traitement standard comparatif consistait en une bithérapie associant la vancomycine à la gentamicine pendant la première semaine. [61]

De même, dans les infections sur matériel étranger auxquelles les bactéries adhèrent rapidement avant de former un biofilm, la place de la daptomycine mériterait d'être réévaluée. Ce d'autant que la sensibilité à la vancomycine de *S. epidermidis* diminue progressivement alors qu'il est l'un des principaux agents pathogènes responsable de ce type d'infection.

La place de la daptomycine pourrait notamment être intéressante dans la prise en charge des infections liées aux cathéters à SERM.

D'autant plus que, selon les modalités du verrou d'antibiotique, qui consiste à remplir le cathéter d'une solution d'antibiotique laissée en place, la notion de forte liaison protéique n'intervient pas (l'antibiotique n'étant pas en contact avec le sérum).

Ainsi, dans leur modèle dynamique, *in vitro*, d'infection sur cathéter à SERM produisant du biofilm, Garcia *et al.* ont récemment rapporté, la nette supériorité de la daptomycine par rapport à la vancomycine. [106]

De même, Del Pozo JL. *et al.*, ont rapporté lors du dernier congrès de la société américaine de microbiologie (ICAAC, septembre 2010) [107] leur expérience positive de traitement d'infection sur cathéter à cocci Gram positif (11 infections à SCN résistants à la méticilline, 2 à *Enterococcus faecalis*).

En effet, parmi les 13 patients traités par verrou de daptomycine pendant 15 jours, selon les modalités suivantes : solution d'héparine et de daptomycine concentrée à 5mg/mL, diluée dans une solution de ringer lactate (pour enrichir la solution en calcium, celui-ci étant indispensable à l'activité de l'antibiotique) 11 patients ont été guéris sans récurrence dans les 3

mois qui ont suivi. Les cathéters des deux autres patients avaient dû être retirés du fait de la persistance de la fièvre, leurs cultures étant restées stériles.

Un autre cas rapporté de la littérature, confirme l'efficacité de l'antibiotique dans cette indication avec des modalités de préparation de verrou un peu différentes (daptomycine : 3.5 mg/mL auquel ont été ajoutés 0.00225 mEq Ca/mL soit 0.045 mg/mL), celui-ci ayant été laissé en place 15 jours en parallèle d'une antibiothérapie parentérale par daptomycine (6mg/kg). [108]

En l'absence de comparaison avec le traitement de référence, il reste néanmoins difficile de préconiser ce type de traitement de façon systématique dans ces infections à SERM, le coût du traitement journalier par vancomycine étant nettement meilleur marché.

On notera par ailleurs, que l'équipe rennaise [109], a récemment rapporté un échec de verrou daptomycine dans la prise en charge d'une infection à SERM ayant nécessité l'ablation du matériel. Cependant cette dernière observation est un peu particulière puisqu'elle rapporte une histoire d'infection compliquée et récidivante à SERM indication pour laquelle, la daptomycine en monothérapie a été discutée. Le premier épisode d'infection ayant consisté en une bactériémie avec ostéomyélite secondaire et infection sur cathéter traité par 6 semaines de vancomycine, le cathéter ayant finalement été changé après 3 semaines.

Le traitement par daptomycine selon les modalités de Grau *et al.* avait quant à lui été instauré 5 mois plus tard lors d'une récurrence et non d'une nouvelle infection, les souches étant strictement identiques entre les 2 épisodes (typage en champ pulsé) et sans qu'il y ait de modification de la sensibilité aux antibiotiques. Il n'y a néanmoins pas eu d'autre foyer infectieux retrouvé, et l'évolution a été favorable après retrait du cathéter.

Cette dernière observation, nous rappelle que si la daptomycine semble efficace dans le traitement des infections à SERM selon les modalités de verrou antibiotique, il serait nécessaire de l'évaluer dans des conditions standardisées par rapport au traitement de référence dans une population plus large.

VII CONCLUSION

Si la vancomycine, est actuellement le traitement de référence des infections à SERM, la place des autres molécules et notamment de la daptomycine doit être réévaluée.

Compte tenu de l'augmentation des CMI à la vancomycine parmi les SERM, et des caractéristiques propres de la vancomycine (notamment une faible vitesse de bactéricidie ou encore une toxicité dose dépendante) sa place comme traitement de référence devient de plus en plus sujet à polémique.

Notre étude objective une meilleure efficacité franche de la daptomycine contre des souches de SERM dans un modèle de caillot fibrino-plaquettaire infecté par rapport à la vancomycine et constitue avec toutes les réserves inhérentes au modèle expérimental des arguments forts pour l'utilisation de la daptomycine. Cependant quand le milieu de culture, constitué dans la première série d'expériences par du BMH enrichi en calcium (milieu pauvre en protéines), est remplacé par du sérum l'activité de la daptomycine diminue témoignant de sa forte liaison protéique. En conséquence, si nos résultats plaident en faveur d'une utilisation plus large de la daptomycine dans les infections sévères à SERM, notamment dans les infections où les bactéries se trouvent dans un milieu complexe (endocardites, infection sur matériel...), la question se pose de la possibilité en termes de tolérance, d'augmenter les posologies pour permettre une meilleure efficacité de cet antibiotique concentration dépendant.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Michael Otto, “*Staphylococcus epidermidis*--the 'accidental' pathogen,” *Nature Reviews. Microbiology* 7, n°. 8 (Août 2009): 555-567.
- [2] Hilmar Wisplinghoff *et al.*, “Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study,” *Clinical Infectious Diseases* 39, n°. 3 (2004): 309-317.
- [3] S Stefani et P E Varaldo, “Epidemiology of methicillin-resistant staphylococci in Europe,” *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 9, n°. 12 (Décembre 2003): 1179-1186.
- [4] Marin H Kollef, “Limitations of vancomycin in the management of resistant staphylococcal infections,” *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 45 Suppl 3 (Septembre 15, 2007): S191-195.
- [5] H M Ziglam et R G Finch, “Limitations of presently available glycopeptides in the treatment of Gram-positive infection,” *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 7 Suppl 4 (2001): 53-65.
- [6] A P Johnson *et al.*, “Resistance to vancomycin and teicoplanin: an emerging clinical problem,” *Clinical Microbiology Reviews* 3, n°. 3 (Juillet 1990): 280-291.
- [7] Ad C Fluit *et al.*, “Daptomycin *in vitro* susceptibility in European Gram-positive clinical isolates,” *International Journal of Antimicrobial Agents* 24, n°. 1 (Juillet 2004): 59-66.
- [8] E Hershberger *et al.*, “Comparison of a rabbit model of bacterial endocarditis and an *in vitro* infection model with simulated endocardial vegetations,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, n°. 7 (Juillet 2000): 1921-1924.
- [9] M Barza et L Weinstein, “Penetration of antibiotics into fibrin loci *in vivo*. I. Comparison of penetration of ampicillin into fibrin clots, abscesses, and "interstitial fluid",” *The Journal of Infectious Diseases* 129, n°. 1 (Janvier 1974): 59-65.
- [10] Christof von Eiff, Georg Peters, et Christine Heilmann, “Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci,” *The Lancet Infectious Diseases* 2, n°. 11 (Novembre 2002): 677-685.
- [11] A Piette et G Verschraegen, “Role of coagulase-negative staphylococci in human disease,” *Veterinary Microbiology* 134, n°. 1 (Février 16, 2009): 45-54.

-
- [12] David R Murdoch *et al.*, “Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study,” *Archives of Internal Medicine* 169, n°. 5 (Mars 9, 2009): 463-473.
- [13] Kathie L Rogers, Paul D Fey, et Mark E Rupp, “Coagulase-negative staphylococcal infections,” *Infectious Disease Clinics of North America* 23, n°. 1 (Mars 2009): 73-98.
- [14] V H Chu *et al.*, “Coagulase-negative staphylococcal prosthetic valve endocarditis--a contemporary update based on the International Collaboration on Endocarditis: prospective cohort study,” *Heart (British Cardiac Society)* 95, n°. 7 (Avril 2009): 570-576.
- [15] F D Lowy, “*Staphylococcus aureus* infections,” *The New England Journal of Medicine* 339, n°. 8 (Août 20, 1998): 520-532.
- [16] J W Costerton, P S Stewart, et E P Greenberg, “Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections,” *Science (New York, N.Y.)* 284, n°. 5418 (Mai 21, 1999): 1318-1322.
- [17] P S Stewart et J W Costerton, “Antibiotic resistance of bacteria in biofilms,” *Lancet* 358, n°. 9276 (Juillet 14, 2001): 135-138.
- [18] Yufeng Yao, Daniel E Sturdevant, et Michael Otto, “Genomewide analysis of gene expression in *Staphylococcus epidermidis* biofilms: insights into the pathophysiology of *S. epidermidis* biofilms and the role of phenol-soluble modulins in formation of biofilms,” *The Journal of Infectious Diseases* 191, n°. 2 (Janvier 15, 2005): 289-298.
- [19] Raja Biswas *et al.*, “Activity of the major staphylococcal autolysin Atl,” *FEMS Microbiology Letters* 259, n°. 2 (Juin 2006): 260-268.
- [20] James P O'Gara, “*ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*,” *FEMS Microbiology Letters* 270, n°. 2 (Mai 2007): 179-188.
- [21] C Heilmann *et al.*, “Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*,” *Molecular Microbiology* 20, n°. 5 (Juin 1996): 1083-1091.
- [22] M E Rupp *et al.*, “Characterization of the importance of *Staphylococcus epidermidis* autolysin and polysaccharide intercellular adhesin in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model,” *The Journal of Infectious Diseases* 183, n°. 7 (Avril 1, 2001): 1038-1042.
- [23] Grigorij Kogan *et al.*, “Biofilms of clinical strains of *Staphylococcus* that do not contain polysaccharide intercellular adhesin,” *FEMS Microbiology Letters* 255, n°. 1 (Février 2006): 11-16.

-
- [24] Holger Rohde *et al.*, “Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections,” *Biomaterials* 28, n°. 9 (Mars 2007): 1711-1720.
- [25] Cuong Vuong *et al.*, “Increased colonization of indwelling medical devices by quorum-sensing mutants of *Staphylococcus epidermidis* in vivo,” *The Journal of Infectious Diseases* 190, n°. 8 (Octobre 15, 2004): 1498-1505.
- [26] J Gu *et al.*, “Bacterial insertion sequence IS256 as a potential molecular marker to discriminate invasive strains from commensal strains of *Staphylococcus epidermidis*,” *The Journal of Hospital Infection* 61, n°. 4 (Décembre 2005): 342-348.
- [27] Yufeng Yao *et al.*, “Factors characterizing *Staphylococcus epidermidis* invasiveness determined by comparative genomics,” *Infection and Immunity* 73, n°. 3 (Mars 2005): 1856-1860.
- [28] Holger Rohde *et al.*, “Detection of virulence-associated genes not useful for discriminating between invasive and commensal *Staphylococcus epidermidis* strains from a bone marrow transplant unit,” *Journal of Clinical Microbiology* 42, n°. 12 (Décembre 2004): 5614-5619.
- [29] Vincent Jarlier *et al.*, “Curbing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 French hospitals through a 15-year institutional control program,” *Archives of Internal Medicine* 170, n°. 6 (Mars 22, 2010): 552-559.
- [30] M J C A van Trijp *et al.*, “Successful control of widespread methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in a large teaching hospital in the Netherlands,” *Infection Control and Hospital Epidemiology: The Official Journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America* 28, n°. 8 (Août 2007): 970-975.
- [31] Cindy van Pelt *et al.*, “Strict infection control measures do not prevent clonal spread of coagulase negative staphylococci colonizing central venous catheters in neutropenic hemato-oncologic patients,” *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 38, n°. 2 (Septembre 22, 2003): 153-158.
- [32] Kenneth L Muldrew *et al.*, “Clonal dissemination of *Staphylococcus epidermidis* in an oncology ward,” *Journal of Clinical Microbiology* 46, n°. 10 (Octobre 2008): 3391-3396.
- [33] Hector Bonilla *et al.*, “Multicity outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* associated with clonal spread of a *cfr*-containing strain,” *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 51, n°. 7 (Octobre 1, 2010): 796-800.

-
- [34] T Monsen *et al.*, “Antibiotic susceptibility of staphylococci isolated in blood cultures in relation to antibiotic consumption in hospital wards,” *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 31, n° 4 (1999): 399-404.
- [35] Herman Goossens *et al.*, “Comparison of outpatient systemic antibacterial use in 2004 in the United States and 27 European countries,” *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 44, n° 8 (Avril 15, 2007): 1091-1095.
- [36] Yoko Kondo *et al.*, “Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51, n° 1 (Janvier 2007): 264-274.
- [37] M Miragaia, I Couto, et H de Lencastre, “Genetic diversity among methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE),” *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)* 11, n° 2 (2005): 83-93.
- [38] Sui Mae Lee *et al.*, “Fitness cost of staphylococcal cassette chromosome mec in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by way of continuous culture,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51, n° 4 (Avril 2007): 1497-1499.
- [39] Helio S Sader *et al.*, “Daptomycin antimicrobial activity tested against methicillin-resistant staphylococci and vancomycin-resistant enterococci isolated in European medical centers (2005),” *BMC Infectious Diseases* 7 (2007): 29.
- [40] C González *et al.*, “Bacteremic pneumonia due to *Staphylococcus aureus*: A comparison of disease caused by methicillin-resistant and methicillin-susceptible organisms,” *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 29, n° 5 (Novembre 1999): 1171-1177.
- [41] Françoise Van Bambeke *et al.*, “Glycopeptide antibiotics: from conventional molecules to new derivatives,” *Drugs* 64, n° 9 (2004): 913-936.
- [42] Patrice Courvalin, “Vancomycin resistance in gram-positive cocci,” *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 42 Suppl 1 (Janvier 1, 2006): S25-34.
- [43] Françoise Van Bambeke, “Glycopeptides in clinical development: pharmacological profile and clinical perspectives,” *Current Opinion in Pharmacology* 4, n° 5 (Octobre 2004): 471-478.

-
- [44] A Kropec et F D Daschner, "Penetration into tissues of various drugs active against gram-positive bacteria," *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 27 Suppl B (Avril 1991): 9-15.
- [45] K S Estes et Hartmut Derendorf, "Comparison of the pharmacokinetic properties of vancomycin, linezolid, tigecyclin, and daptomycin," *European Journal of Medical Research* 15, n°. 12 (Novembre 30, 2010): 533-543.
- [46] P M Small et H F Chambers, "Vancomycin for *Staphylococcus aureus* endocarditis in intravenous drug users," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 34, n°. 6 (Juin 1990): 1227-1231.
- [47] Paul G Ambrose *et al.*, "Pharmacokinetics-pharmacodynamics of antimicrobial therapy: it's not just for mice anymore," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 44, n°. 1 (Janvier 1, 2007): 79-86.
- [48] M Nagl *et al.*, "Bactericidal activity of vancomycin in cerebrospinal fluid," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43, n°. 8 (Août 1999): 1932-1934.
- [49] Meghan N Jeffres *et al.*, "A retrospective analysis of possible renal toxicity associated with vancomycin in patients with health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia," *Clinical Therapeutics* 29, n°. 6 (Juin 2007): 1107-1115.
- [50] Avisheh Forouzes, Pamela A Moise, et George Sakoulas, "Vancomycin ototoxicity: a reevaluation in an era of increasing doses," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53, n°. 2 (Février 2009): 483-486.
- [51] John F Mohr et Barbara E Murray, "Point: Vancomycin is not obsolete for the treatment of infection caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 44, n°. 12 (Juin 15, 2007): 1536-1542.
- [52] Stan Deresinski, "Counterpoint: Vancomycin and *Staphylococcus aureus*-an antibiotic enters obsolescence," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 44, n°. 12 (Juin 15, 2007): 1543-1548.
- [53] Stan Deresinski, "Vancomycin: does it still have a role as an antistaphylococcal agent?," *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 5, n°. 3 (Juin 2007): 393-401.
- [54] Putman s. *et al* "daptomycin activity and spectrum when tested against contemporary (2009) gram positive strains collected in European medical centers" ECCMID2010 P1668.

-
- [55] Joseph F John et Alexander M Harvin, "History and evolution of antibiotic resistance in coagulase-negative staphylococci: Susceptibility profiles of new anti-staphylococcal agents," *Therapeutics and Clinical Risk Management* 3, n°. 6 (Décembre 2007): 1143-1152.
- [56] R S Schwalbe, J T Stapleton, et P H Gilligan, "Emergence of vancomycin resistance in coagulase-negative staphylococci," *The New England Journal of Medicine* 316, n°. 15 (Avril 9, 1987): 927-931.
- [57] G M Eliopoulos *et al.*, "In vitro and in vivo activity of LY 146032, a new cyclic lipopeptide antibiotic," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 30, n°. 4 (Octobre 1986): 532-535.
- [58] Barry I Eisenstein, Frederick B Oleson, et Richard H Baltz, "Daptomycin: from the mountain to the clinic, with essential help from Francis Tally, MD," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 50 Suppl 1 (Janvier 1, 2010): S10-15.
- [59] F B Oleson *et al.*, "Once-daily dosing in dogs optimizes daptomycin safety," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, n°. 11 (Novembre 2000): 2948-2953.
- [60] Robert D Arbeit *et al.*, "The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 38, n°. 12 (Juin 15, 2004): 1673-1681.
- [61] Vance G Fowler *et al.*, "Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*," *The New England Journal of Medicine* 355, n°. 7 (Août 17, 2006): 653-665.
- [62] Ad C Fluit *et al.*, "In vitro activity of daptomycin against gram-positive European clinical isolates with defined resistance determinants," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48, n°. 3 (Mars 2004): 1007-1011.
- [63] Sader *et al.*, "Daptomycin antimicrobial activity tested against methicillin-resistant staphylococci and vancomycin-resistant enterococci isolated in European medical centers (2005)."
- [64] Suzana K Straus et Robert E W Hancock, "Mode of action of the new antibiotic for Gram-positive pathogens daptomycin: comparison with cationic antimicrobial peptides and lipopeptides," *Biochimica Et Biophysica Acta* 1758, n°. 9 (Septembre 2006): 1215-1223.

-
- [65] Joanne Karen Hobbs *et al.*, “Consequences of daptomycin-mediated membrane damage in *Staphylococcus aureus*,” *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 62, n°. 5 (Novembre 2008): 1003-1008.
- [66] Barry H Dvorchik *et al.*, “Daptomycin pharmacokinetics and safety following administration of escalating doses once daily to healthy subjects,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47, n°. 4 (Avril 2003): 1318-1323.
- [67] Mark Benvenuto *et al.*, “Pharmacokinetics and tolerability of daptomycin at doses up to 12 milligrams per kilogram of body weight once daily in healthy volunteers,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, n°. 10 (Octobre 2006): 3245-3249.
- [68] Abhijit Chakraborty *et al.*, “Comparison of the pharmacokinetics, safety and tolerability of daptomycin in healthy adult volunteers following intravenous administration by 30 min infusion or 2 min injection,” *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 64, n°. 1 (Juillet 2009): 151-158.
- [69] Nimish Patel *et al.*, “Use of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Principles to Determine Optimal Administration of Daptomycin in Patients Receiving Standardized Thrice Weekly Hemodialysis,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (Janvier 31, 2011), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.gate2.inist.fr/pubmed/21282429>.
- [70] R Wise *et al.*, “Pharmacokinetics and inflammatory fluid penetration of intravenous daptomycin in volunteers,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, n°. 1 (Janvier 2002): 31-33.
- [71] D Burklein *et al.*, “Analysis of plasma and peritoneal fluid concentrations of daptomycin in a patient with *Enterococcus faecium* peritonitis,” *International Journal of Antimicrobial Agents* 32, n°. 4 (Octobre 2008): 369-371.
- [72] Peter Gerber *et al.*, “Daptomycin is more efficacious than vancomycin against a methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in experimental meningitis,” *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57, n°. 4 (Avril 2006): 720-723.
- [73] M J Michiels et M G Bergeron, “Differential increased survival of staphylococci and limited ultrastructural changes in the core of infected fibrin clots after daptomycin administration,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40, n°. 1 (Janvier 1996): 203-211.
- [74] Carmela T M Mascio, Jeff D Alder, et Jared A Silverman, “Bactericidal action of daptomycin against stationary-phase and nondividing *Staphylococcus aureus* cells,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51, n°. 12 (Décembre 2007): 4255-4260.

-
- [75] Nasia Safdar, David Andes, et W A Craig, "In vivo pharmacodynamic activity of daptomycin," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48, n°. 1 (Janvier 2004): 63-68.
- [76] O Gallon *et al.*, "In vitro activity of daptomycin against Staphylococci isolated from bacteremia and community-onset skin and soft tissue infections in France: data from two nationwide studies," *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology* 28, n°. 10 (Octobre 2009): 1209-1215.
- [77] J Ian Stuart *et al.*, "Susceptibility patterns of coagulase-negative staphylococci to several newer antimicrobial agents in comparison with vancomycin and oxacillin," *International Journal of Antimicrobial Agents* (Février 3, 2011), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.gate2.inist.fr/pubmed/21295951>.
- [78] Sujata M Bhavnani *et al.*, "Daptomycin exposure and the probability of elevations in the creatine phosphokinase level: data from a randomized trial of patients with bacteremia and endocarditis," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 50, n°. 12 (Juin 15, 2010): 1568-1574.
- [79] Becky A Miller *et al.*, "Acute eosinophilic pneumonia secondary to daptomycin: a report of three cases," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 50, n°. 11 (Juin 1, 2010): e63-68.
- [80] J Ian Stuart *et al.*, "Susceptibility patterns of coagulase-negative staphylococci to several newer antimicrobial agents in comparison with vancomycin and oxacillin," *International Journal of Antimicrobial Agents* (Février 3, 2011), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.gate2.inist.fr/pubmed/21295951>.
- [81] Lisa Friedman, Jeff D Alder, et Jared A Silverman, "Genetic changes that correlate with reduced susceptibility to daptomycin in *Staphylococcus aureus*," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, n°. 6 (Juin 2006): 2137-2145.
- [82] Pamela A Moise *et al.*, "Susceptibility relationship between vancomycin and daptomycin in *Staphylococcus aureus*: facts and assumptions," *The Lancet Infectious Diseases* 9, n°. 10 (Octobre 2009): 617-624.
- [83] George Sakoulas *et al.*, "Induction of daptomycin heterogeneous susceptibility in *Staphylococcus aureus* by exposure to vancomycin," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, n°. 4 (Avril 2006): 1581-1585.
- [84] Satish K Pillai *et al.*, "Development of reduced vancomycin susceptibility in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*," *Clinical Infectious Diseases: An Official*

Publication of the Infectious Diseases Society of America 49, n°. 8 (Octobre 15, 2009): 1169-1174.

[85] Longzhu Cui *et al.*, “Correlation between Reduced Daptomycin Susceptibility and Vancomycin Resistance in Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50, n°. 3 (Mars 2006): 1079-1082.

[86] Helen W Boucher et George Sakoulas, “Perspectives on Daptomycin resistance, with emphasis on resistance in *Staphylococcus aureus*,” *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 45, n°. 5 (Septembre 1, 2007): 601-608.

[87] Jared A Silverman *et al.*, “Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: *in vitro* modeling and clinical impact,” *The Journal of Infectious Diseases* 191, n°. 12 (Juin 15, 2005): 2149-2152.

[88] Matthew E Falagas *et al.*, “Daptomycin for endocarditis and/or bacteraemia: a systematic review of the experimental and clinical evidence,” *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60, n°. 1 (Juillet 2007): 7-19.

[89] S Kennedy et H F Chambers, “Daptomycin (LY146032) for prevention and treatment of experimental aortic valve endocarditis in rabbits,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 33, n°. 9 (Septembre 1989): 1522-1525.

[90] C García-de-la-Mària *et al.*, “Daptomycin is effective for treatment of experimental endocarditis due to methicillin-resistant and glycopeptide-intermediate *Staphylococcus epidermidis*,” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54, n°. 7 (Juillet 2010): 2781-2786.

[91] John A Segreti, Christopher W Crank, et Michael S Finney, “Daptomycin for the treatment of gram-positive bacteremia and infective endocarditis: a retrospective case series of 31 patients,” *Pharmacotherapy* 26, n°. 3 (Mars 2006): 347-352.

[92] Marylene Duah, “Daptomycin for methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* native-valve endocarditis: a case report,” *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 9 (2010): 9.

[93] Donald P Levine et Kenneth C Lamp, “Daptomycin in the treatment of patients with infective endocarditis: experience from a registry,” *The American Journal of Medicine* 120, n°. 10 (Octobre 2007): S28-33.

[94] Jennifer Le *et al.*, “Treatment of meningitis caused by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: high-dose and combination daptomycin therapy,” *The Annals of Pharmacotherapy* 44, n°. 12 (Décembre 2010): 2001-2006.

-
- [95] Dong Heun Lee, Brandon Palermo, et Mashiul Chowdhury, "Successful treatment of methicillin-resistant staphylococcus aureus meningitis with daptomycin," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 47, n°. 4 (Août 15, 2008): 588-590.
- [96] Johan W Mouton *et al.*, "Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update," *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55, n°. 5 (Mai 2005): 601-607.
- [97] W A Craig et S C Ebert, "Killing and regrowth of bacteria *in vitro*: a review," *Scandinavian Journal of Infectious Diseases. Supplementum* 74 (1990): 63-70.
- [98] Michael R Jacobs, "How can we predict bacterial eradication?," *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases* 7 Suppl 1 (Mars 2003): S13-20.
- [99] D P Nicolau, "Predicting antibacterial response from pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles," *Infection* 29 Suppl 2 (Décembre 2001): 11-15.
- [100] J W Costerton, P S Stewart, et E P Greenberg, "Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections," *Science (New York, N.Y.)* 284, n°. 5418 (Mai 21, 1999): 1318-1322.
- [101] A MacGowan, C Rogers, et K Bowker, "*In vitro* models, *in vivo* models, and pharmacokinetics: what can we learn from *in vitro* models?," *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 33 Suppl 3 (Septembre 15, 2001): S214-220.
- [102] M G Bergeron, J Robert, et D Beauchamp, "Pharmacodynamics of antibiotics in fibrin clots," *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 31 Suppl D (Mai 1993): 113-136.
- [103] A A McColm, D M Ryan, "Comparative pharmacokinetics of ceftazidime in fibrin clots and cardiac vegetations in rabbits with *Staphylococcus aureus* endocarditis," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 27, n°. 6 (Juin 1985): 925-927.
- [104] Issam Raad *et al.*, "Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus* bacteremic isolates embedded in biofilm," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51, n°. 5 (Mai 2007): 1656-1660.
- [105] Gilbert Habib *et al.*, "Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009): the Task Force on the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and

the International Society of Chemotherapy (ISC) for Infection and Cancer,” *European Heart Journal* 30, n°. 19 (Octobre 2009): 2369-2413.

[106] Isabel García *et al.*, “A dynamic *in vitro* model for evaluating antimicrobial activity against bacterial biofilms using a new device and clinical-used catheters,” *Journal of Microbiological Methods* 83, n°. 3 (Décembre 2010): 307-311.

[107] J. L. Del Pozo *et al.*, “Daptomycin Lock Therapy for Gram-Positive Long-Term Catheter-Related Bloodstream Infections”, ICCAC 2010 (Abstract K-998)

[108] Santiago Grau *et al.*, “Antibiotic-lock technique using daptomycin for subcutaneous injection ports in a patient on home parenteral nutrition,” *The Journal of Infection* 59, n°. 4 (Octobre 2009): 298-299.

[109] Thomas Guimard *et al.*, “Failure of antibiotic-lock technique using daptomycin for subcutaneous injection ports in a patient on home parenteral nutrition,” *The Journal of Infection* 60, n°. 6 (Juin 2010): 505-507.

NOM : BRIERE

PRENOM : Magali

Efficacité de la daptomycine sur *Staphylococcus epidermidis* dans un modèle de caillot fibrino-plaquettaire infecté: comparaison avec l'efficacité de la vancomycine.

La vancomycine est actuellement considérée comme le traitement standard des infections à staphylocoques résistants à la méticilline. Cependant, sa faible vitesse de bactéricidie, son faible index thérapeutique et l'augmentation progressive des CMI des glycopeptides parmi les staphylocoques à coagulase négative, amènent à remettre en cause son utilisation et à utiliser d'autres molécules comme la daptomycine. Lorsqu'on évalue cette dernière sur des souches de *S. epidermidis* résistantes à la méticilline (SERM) dans un environnement non plus planctonique, mais dans un milieu complexe en utilisant un modèle de caillot fibrino-plaquettaire, une supériorité franche de la daptomycine est objectivée par rapport à la vancomycine. Cette supériorité plaide pour une utilisation plus large de cet antibiotique. Cependant quand le milieu de culture initial pauvre en protéines, est remplacé par du sérum humain, la supériorité de la daptomycine est moins franche. Cette diminution d'efficacité est liée à une forte liaison plasmatique de la molécule et plaide pour une augmentation des posologies utilisées dans les infections les plus sévères.

Mots clés :

Daptomycine

Vancomycine

Staphylococcus epidermidis

Caillot fibrino-plaquettaire

Milieu complexe

Biofilm