

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2023

2023 TOU3 1604

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement
par

Baptiste JEAN

le 02/10/2023

**Impact de *bla_Z* dans le traitement des endocardites infectieuses à
Staphylococcus aureus sensible à la méticilline**

Directeur de thèse : Pr Pierre DELOBEL

JURY

Monsieur le Professeur Pierre DELOBEL	Président
Monsieur le Professeur Pierre TATTEVIN	Assesseur
Monsieur le Professeur Guillaume MARTIN BLONDEL	Assesseur
Madame le Professeur Laurence ARMAND LEFEVRE	Assesseur
Madame le Docteur Clémence MASSIP	Suppléant

**Département Médecine, Maïeutique et Paramédical
Tableau du personnel hospitalo-universitaire de médecine
2022-2023**

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur Honoraire	M. GERAUD Gilles
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. GHISOLFI Jacques
Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. GLOCK Yves
Doyen Honoraire	M. VINEL Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. GOUZI Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. ABBAL Michel	Professeur Honoraire	M. GRAND Alain
Professeur Honoraire	M. ADER Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. ADOUE Daniel	Professeur Honoraire	M. JOFFRE Francis
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. ARLET Philippe	Professeur Honoraire	M. LANG Thierry
Professeur Honoraire	M. ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur Honoraire	Mme LARENG Marie-Blanche
Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAROCHE Michel
Professeur Honoraire	M. ATTAL Michel	Professeur Honoraire	M. LAUQUE Dominique
Professeur Honoraire	M. BARRET André	Professeur Honoraire	M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire	M. BARTHE Philippe	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Franck
Professeur Honoraire	M. BAYARD Francis	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE Paul
Professeur Honoraire	M. BLANCHER Antoine	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. BOCCALON Henri	Professeur Honoraire	M. MALECAZE François
Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. MANELFE Claude
Professeur Honoraire	M. BONEU Bernard	Professeur Honoraire	M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire	M. BONNEVIALLE Paul	Professeur Honoraire	M. MARCHOU Bruno
Professeur Honoraire	M. BOSSAVY Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. MASSIP Patrice
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE Jean-Paul	Professeur Honoraire	Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire	M. BOUTAULT Franck	Professeur Honoraire	M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire Associé	M. BROS Bernard	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland	Professeur Honoraire	M. MONTASTRUC Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. BUJAN Louis	Professeur Honoraire	M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire	M. CAHUZAC Jean-Philippe	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. CALVAS Patrick	Professeur Honoraire associé	M. NICODEME Robert
Professeur Honoraire	M. CARATERO Claude	Professeur Honoraire	M. OLIVES Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre	Professeur Honoraire	M. PARINAUD Jean
Professeur Honoraire	M. CARON Philippe	Professeur Honoraire	M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARRIERE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PERRET Bertrand
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire	M. CHABANON Gérard	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. CHIRON Philippe	Professeur Honoraire	M. PRIS Jacques
Professeur Honoraire	M. CLANET Michel	Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire	M. CONTE Jean	Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire	M. COSTAGLIOLA Michel	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. RAILHAC Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. DABERNAT Henri	Professeur Honoraire	M. REGNIER Claude
Professeur Honoraire	M. DAHAN Marcel	Professeur Honoraire	M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. RISCHMANN Pascal
Professeur Honoraire	M. DALY-SCHVEITZER Nicolas	Professeur Honoraire	M. RIVIERE Daniel
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges	Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire	Mme DELISLE Marie-Bernadette	Professeur Honoraire	M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. DUCOS Jean	Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. DUFFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique	Professeur Honoraire	M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. SCHMITT Laurent
Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean	Professeur Honoraire	M. SERRE Guy
Professeur Honoraire	M. ESQUERRE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire	M. FABIÉ Michel	Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. FABRE Jean	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard	Professeur Honoraire	M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire	M. FOURNIE Bernard	Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE Pierre
Professeur Honoraire	M. FORTANIER Gilles	Professeur Honoraire	M. VAYSSÉ Philippe
Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE Christian
Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques	Professeur Honoraire	M. VOIGT Jean-Jacques

Professeurs Emérites

Professeur BUJAN Louis	Professeur MAGNAVAL Jean-François	Professeur VINEL Jean-Pierre
Professeur CHAP Hugues	Professeur MARCHOU Bruno	
Professeur FRAYSSE Bernard	Professeur MONTASTRUC Jean-Louis	
Professeur LANG Thierry	Professeur PERRET Bertrand	
Professeur LAROCHE Michel	Professeur ROQUES LATRILLE Christian	
Professeur LAUQUE Dominique	Professeur SERRE Guy	

FACULTE DE SANTE

Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

M. ACAR Philippe	Pédiatrie	M. LARRUE Vincent	Neurologie
M. ACCADBLED Franck (C.E)	Chirurgie Infantile	M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'Urgence
M. ALRIC Laurent (C.E)	Médecine Interne	Mme LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
M. AMAR Jacques (C.E)	Thérapeutique	M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie, Santé publique	M. LE CAIGNEC Cédric	Génétiq
M. ARBUS Christophe	Psychiatrie	M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie
M. ARNAL Jean-François (C.E)	Physiologie	M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie
M. AUSSAIL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire	M. MALVAUD Bernard (C.E)	Urologie
M. AVET-LOISEAU Hervé (C.E)	Hématologie, transfusion	M. MANSAT Pierre (C.E)	Chirurgie Orthopédique
M. BERRY Antoine	Parasitologie	M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie maxillo-faciale et odontologique
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique	M. MARQUE Philippe (C.E)	Médecine Physique et Réadaptation
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique	M. MAURY Jean-Philippe (C.E)	Cardiologie
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie	Mme MAZEREEUW Juliette	Dermatologie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul	M. MAZIERES Julien (C.E)	Pneumologie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation
Mme BURA-RIVIERE Alessandra (C.E)	Médecine Vasculaire	M. MOLINIER Laurent (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique
M. BUREAU Christophe	Hépto-Gastro-Entérologie	Mme MOYAL Elisabeth (C.E)	Cancérologie
M. BUSCAIL Louis (C.E)	Hépto-Gastro-Entérologie	M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie	Mme NOURHASHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie
M. CHAIX Yves	Pédiatrie	M. PAGES Jean-Christophe	Biologie cellulaire
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie	M. PARIENTE Jérémie	Neurologie
Mme CHARPENTIER Sandrine (C.E)	Médecine d'urgence	M. PAUL Carle (C.E)	Dermatologie
M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire	M. PAYOUX Pierre (C.E)	Biophysique
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie	M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie
M. CHAYNES Patrick	Anatomie	M. PERON Jean-Marie (C.E)	Hépto-Gastro-Entérologie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	Mme PERROT Aurore	Physiologie
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie	M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie
M. COURBON Frédéric (C.E)	Biophysique	Mme RAUZY Odile	Médecine Interne
Mme COURTADE SAIDI Monique (C.E)	Histologie Embryologie	M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile
M. DAMBRIN Camille	Chir. Thoracique et Cardiovasculaire	M. RECHER Christian(C.E)	Hématologie
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.	M. RITZ Patrick (C.E)	Nutrition
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie	M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie
M. DELABESSE Eric	Hématologie	M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses	M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie
M. DELORD Jean-Pierre (C.E)	Cancérologie	M. ROUX Franck-Emmanuel	Neurochirurgie
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie	M. SAILLER Laurent (C.E)	Médecine Interne
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie	M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile
Mme DULY-BOUHANICK Béatrice (C.E)	Thérapeutique	M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie	M. SANS Nicolas	Radiologie
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie	Mme SELVES Janick (C.E)	Anatomie et cytologie pathologiques
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique	M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie
M. FOURCADE Olivier (C.E)	Anesthésiologie	M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie	M. SIZUN Jacques (C.E)	Pédiatrie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie	M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
M. GAME Xavier (C.E)	Urologie	M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie, Santé publique	Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation	M. SOULAT Jean-Marc (C.E)	Médecine du Travail
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel (C.E)	Anatomie Pathologique	M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie
M. GOURDY Pierre (C.E)	Endocrinologie	M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive
M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis (C.E)	Chirurgie plastique	Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie	M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie	Mme TREMOLLIERES Florence	Biologie du développement
M. HUYGHE Eric	Urologie	Mme URO-COSTE Emmanuelle (C.E)	Anatomie Pathologique
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	M. VAYSSIERE Christophe (C.E)	Gynécologie Obstétrique
M. KAMAR Nassim (C.E)	Néphrologie	M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique	M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition		
Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie		

P.U. Médecine générale

Mme DUPOUY Julie
M. OUSTRIC Stéphane (C.E)
Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve

P.U. - P.H.
2ème classe

Professeurs Associés

M. ABBO Olivier	Chirurgie infantile
Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie, Santé publique
M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
Mme BOURNET Barbara	Gastro-entérologie
Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. CAVAIGNAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M. CHAPUT Benoit	Chirurgie plastique
M. COGNARD Christophe	Radiologie
Mme CORRE Jill	Hématologie
Mme DALENC Florence	Cancérologie
M. DE BONNECAZE Guillaume	Anatomie
M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
Mme DUPRET-BORIES Agnès	Oto-rhino-laryngologie
M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
M. FAGUER Stanislas	Néphrologie
Mme FARUCH BILFELD Marie	Radiologie et imagerie médicale
M. FRANCHITTO Nicolas	Addictologie
M. GARRIDO-STÖWHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
Mme GASCOIN Géraldine	Pédiatrie
M. GUIBERT Nicolas	Pneumologie
M. GUILLEMINAULT Laurent	Pneumologie
M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. LEANDRI Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. LOPEZ Raphael	Anatomie
M. MARTIN-BLONDEL Guillaume	Maladies infectieuses, maladies tropicales
Mme MARTINEZ Alejandra	Gynécologie
M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. MEYER Nicolas	Dermatologie
Mme MOKRANE Fatima	Radiologie et imagerie médicale
Mme PASQUET Marlène	Pédiatrie
M. PIAU Antoine	Médecine interne
M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. PUGNET Grégory	Médecine interne
M. REINA Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. RENAUDINEAU Yves	Immunologie
Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline	Rhumatologie
Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
M. SAVALL Frédéric	Médecine légale
M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation
Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
M. TACK Ivan	Physiologie
Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie
Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie
M. YRONDI Antoine	Psychiatrie
M. YSEBAERT Loic	Hématologie

Professeur Associé de Médecine Générale

- M. ABITTEBOUL Yves
- M. BIREBENT Jordan
- M. BOYER Pierre
- Mme FREYENS Anne
- Mme IRI-DELAHAYE Motoko
- M. POUTRAIN Jean-Christophe
- M. STILLMUNKES André

MCU - PH

Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène	Mme GENNERO Isabelle	Biochimie
M. APOIL Pol Andre	Immunologie	Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie	Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme AUSSEIL-TRUDEL Stéphanie	Biochimie	M. GUERBY Paul	Gynécologie-Obstétrique
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie	Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
Mme BELLIERES-FABRE Julie	Néphrologie	Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion	M. HAMDJ Safouane	Biochimie
M. BIETH Eric	Génétique	Mme HITZEL Anne	Biophysique
Mme BOUNES Fanny	Anesthésie-Réanimation	M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie
Mme BREHIN Camille	Pneumologie	Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. BUSCAIL Etienne	Chirurgie viscérale et digestive	M. LAPEBIE François-Xavier	Chirurgie vasculaire
Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire	Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie	M. LEPAGE Benoit	Pharmacologie et physiologie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie	M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition	M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie
Mme CASSAGNE Myriam	Ophtalmologie	Mme MASSIP Clémence	Bactériologie-virologie
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie	Mme MAUPAS SCHWALM Françoise	Biochimie
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique	Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition
M. CHASSAING Nicolas	Génétique	M. MONTASTRUC François	Pharmacologie
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire	Mme MOREAU Jessika	Biologie du dév. Et de la reproduction
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques	Mme MOREAU Marion	Physiologie
M. COMONT Thibault	Médecine interne	M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
M. CONGY Nicolas	Immunologie	Mme NOGUEIRA Maria Léonor	Biologie Cellulaire
Mme COURBON Christine	Pharmacologie	Mme PERICART Sarah	Anatomie et cytologie pathologiques
M. CUROT Jonathan	Neurologie	M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie	Mme PLAISANCIE Julie	Génétique
Mme DE GLISEZINSKY Isabelle	Physiologie	Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie
M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale	Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et médecine nucléaire
M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie	Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène
M. DELMAS Clément	Cardiologie	M. REVET Alexis	Pédo-psychiatrie
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale	Mme RIBES-MAUREL Agnès	Hématologie
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie	Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène	Mme SALLES Juliette	Psychiatrie adultes/Addictologie
Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail	Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie	Mme SIEGFRIED Aurore	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie	M. TREINER Emmanuel	Immunologie
Mme GALINIER Anne	Nutrition	Mme VALLET Marion	Physiologie
M. GANTET Pierre	Biophysique	M. VERGEZ François	Hématologie
M. GASQ David	Physiologie	Mme VJJA Lavinia	Biophysique et médecine nucléaire
M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction		

M.C.U. Médecine générale

M. BRILLAC Thierry
M. CHICOULAA Bruno
M. ESCOURROU Emile

Maîtres de Conférence Associés

M.C.A. Médecine Générale

Mme BOURGEOIS Odile
Mme BOUSSIER Nathalie
Mme DURRIEU Florence
M. GACHIES Hervé
Mme LATROUS Leila
M. PIPONNIER David
Mme PUECH Marielle

REMERCIEMENTS

A MON PRESIDENT DE JURY ET DIRECTEUR DE THESE,

***MONSIEUR LE PROFESSEUR PIERRE DELOBEL
PROFESSEUR DES UNIVERSITES - PRATICIEN HOSPITALIER
MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES
TOULOUSE***

Je te remercie sincèrement pour ta confiance accordée dans ce projet, pour ton encadrement constant et tes conseils toujours enrichissants. Merci pour ta pédagogie qui renforce notre passion pour notre spécialité, pour ta bienveillance à toute épreuve. Enfin, merci pour ta vision de la médecine et ton humanité exemplaire avec les patients. C'est une chance et un honneur de t'avoir comme directeur de thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PIERRE TATTEVIN

***PROFESSEUR DES UNIVERSITES - PRATICIEN HOSPITALIER
MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES
RENNES***

*Je vous remercie pour la participation au projet et pour l'accueil dans votre service.
Merci pour votre investissement dans notre spécialité qui contribue à son rayonnement. Merci
pour votre implication dans la recherche et votre sens de la pédagogie. Je vous remercie de me
faire l'honneur de participer à cette soutenance.*

A MADAME LE PROFESSEUR LAURENCE ARMAND

**PROFESSEUR DES UNIVERSITES - PRATICIEN HOSPITALIER
BACTERIOLOGIE
CHU BICHAT**

Je vous remercie pour votre engouement pour ce projet et l'accueil bienveillant et cordial dans votre laboratoire. Merci pour votre aide et vos conseils. Je vous suis particulièrement reconnaissant de m'avoir donné la possibilité de présenter les premières données du projet dans votre service et pour les discussions constructives qui en ont suivies. Merci pour votre implication en recherche clinique et fondamentale. Merci de me faire l'honneur de composer ce jury.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GUILLAUME MARTIN-BLONDEL

***PROFESSEUR DES UNIVERSITES - PRATICIEN HOSPITALIER
MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES
TOULOUSE***

Je te remercie pour le partage de tes connaissances et tes enseignements riches et formateurs. Merci pour ton apprentissage d'une rigueur au service du patient. Merci pour ton implication modèle en clinique et en recherche. Je te remercie pour ta participation à ce jury de thèse.

A MADAME LE DOCTEUR CLEMENCE MASSIP

***MAITRE DE CONFERENCE DES UNIVERSITES - PRATICIEN HOSPITALIER
BACTERIOLOGIE
TOULOUSE***

Je vous remercie pour vos idées et votre réflexion bactériologique qui ont enrichis ce projet. Vous nous confirmez que la transversalité de nos disciplines est vouée à un bel avenir. Merci pour votre motivation et votre investissement. Merci pour votre participation à ce jury de thèse.

AUX PARTICIPANTS DU PROJET CHIMERE :

Au Dr Maëlys CROLLE, merci pour ton aide précieuse dans cette étude et pour nos échanges enrichissants. Ce projet n'aurait pas pu se concrétiser sans ton implication personnel et ta participation à la paillasse.

Un grand merci pour l'hospitalité et l'efficacité Rennaises.

Au Dr Audrey LE BOT, merci pour ta disponibilité, ta réactivité, ton investissement dans ce projet et ton intérêt porté sur ce sujet.

Au Dr David LUQUE PAZ pour ton accueil et ton dynamisme dans notre belle spécialité.

.

Merci au Pr CATTOIR pour nos échanges et l'engagement de votre laboratoire dans le projet.

Merci au Dr François GUERRIN pour votre participation personnelle et votre efficacité.

Sincères remerciements au CHU Bichat pour leur accueil, leur aide et leurs conseils.

Merci au Pr Yazdan YAZDANPANAHI pour l'intérêt porté au projet et la participation de votre service.

Merci au Pr Xavier DUVAL pour nos échanges et vos conseils.

A Signara GUEYE, merci pour ton efficacité et ta bonne humeur. Sans ton aide précieuse, j'aurais probablement perdu quelques doigts dans les congélateurs du laboratoire.

Merci à la pharmacie de l'Embouchure pour le flacon d'ISTOPEN®

« La science remplace du visible compliqué par de l'invisible simple »

Jean PERRIN

Physicien français 1870-1942



Image générée par intelligence artificielle DALL-E
« Réseaux de *Staphylococcus aureus* à la manière du peintre Robert Delaunay »

SOMMAIRE

I. ABREVIATIONS.....	1
1. Abréviation du texte français.....	1
2. Abréviation du texte anglais	1
II. INTRODUCTION.....	2
1. L’endocardite infectieuse à <i>S. aureus</i>	2
a. Epidémiologie	2
b. Un cadre nosologique spécifique	4
c. Physiopathologie	5
2. Les bêta-lactamines dans l’endocardite infectieuse à SAMS	8
a. Les bêta-lactamines efficaces sur le SAMS.	8
b. Les recommandations thérapeutiques dans l’EI à SAMS	9
c. PAS versus CFZ.....	10
3. <i>bla_Z</i> : bêta-lactamase de <i>Staphylococcus aureus</i>	12
a. <i>S. aureus</i> et résistance aux pénicillines	12
b. Méthode de caractérisation de <i>bla_Z</i>	14
c. Impact thérapeutique de <i>bla_Z</i>	16
III. SCIENTIFIC ARTICLE: “<i>bla_Z</i> beta-lactamase impacts treatment outcomes in infective endocarditis due to methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>”	18
1. Introduction.....	18
2. Material and method	19
a. Study design	19
b. Inclusion and exclusion criteria.....	19
c. Data collection.....	19
d. <i>bla_Z</i> sequencing	19
e. CFZ inoculum effect experimentation	20
f. Solid-state antibiotic susceptibility testing.....	20
g. Statistical analysis	20
h. Declaration of the study and submission to an ethics committee	21
3. Results	21
a. Cohort description	21
b. <i>bla_Z</i> study: description and analysis	24
c. Impact of microbiological characteristics on treatment outcome	27
d. Predictive factors of therapeutic failure in MSSA IE	32
4. Discussion.....	36
IV. CONCLUSION	39
V. BIBLIOGRAPHIE.....	42

I. ABREVIATIONS

1. Abréviation du texte français

BAV : bloc auriculo ventriculaire

CFZ : céfazoline

CMI : concentration minimale inhibitrice

C1G : céphalosporine de première génération

DFG : débit de filtration glomérulaire

EI : endocardite infectieuse

PAS : pénicilline anti staphylococcique

PCR : *polymerase chain reaction*

PLP : protéine de liaison des pénicillines

SAMS : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

UFC : unité formant colonie

2. Abréviation du texte anglais

ASP : *anti staphylococcal penicillin*

CFZ : cefazolin

CFZ InE : cefazolin inoculum effect

IE : infective endocarditis

MSSA : meticillin susceptible *Staphylococcus aureus*

II. INTRODUCTION

1. L'endocardite infectieuse à *Staphylococcus aureus*

a. Épidémiologie

Staphylococcus aureus est une bactérie de la flore commensale cutanéomuqueuse de nombreux mammifères ¹. Chez l'homme ses sites de portage correspondent aux fosses nasales, aux aisselles, au périnée et on estime que 25 à 30% de la population est porteuse saine. Ce portage peut être transitoire ou prolongé ². Il existe de nombreuses espèces de *Staphylococcus spp.* au niveau cutané et muqueux. Cependant *S. aureus* se distingue par ses capacités de virulence et de pathogénicité. Il est responsable chez l'homme de nombreuses infections parfois très superficielles ou, au contraire, invasives et potentiellement mortelles. A titre d'exemple, *S. aureus* est le 2^e germe d'intérêt clinique isolé d'hémoculture après *Escherichia coli* ³.

Au décours d'un épisode bactériémique, *S. aureus* peut s'implanter sur les valves cardiaques et se multiplier pour former une végétation et donner un tableau d'endocardite infectieuse (EI). Cette infection reste rare et on estime son incidence à 34 par million d'habitants en France. On peut distinguer les EI survenant sur valves cardiaques natives ou sur valves cardiaques prothétiques. L'épidémiologie microbienne est différente entre ces deux types d'EI, cependant *S. aureus* reste le germe majoritairement retrouvé dans les deux situations. Il est impliqué dans 21% des cas des EI sur valve prothétique et dans 23-30% des cas des EI sur valve native en France ⁴.

Ce n'est que récemment que ce germe est devenu le premier agent pathogène responsable d'EI au niveau mondial, en dépassant les EI à *Streptococcus spp.* Ainsi, durant ces 50 dernières années, le pourcentage d'EI à *S. aureus* parmi l'ensemble des EI a presque doublé, passant de 18% dans les années 1960 à environ 30% dans les années 2000. Ce changement épidémiologique est partiellement expliqué par l'augmentation de l'utilisation de drogues intraveineuses, le vieillissement de la population et l'augmentation d'implantation de dispositifs intravasculaires et intracardiaques ⁵.

L'une des principales préoccupations de santé publique pour *S. aureus* est l'émergence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). Cette résistance est liée à la modification des Protéines de Liaison des Pénicillines (PLP) à la surface de la bactérie. Or il

s'agit de la cible d'action des bêtalactamines. Cette modification de PLP acquise rend donc les souches résistantes à l'ensemble des bêtalactamines, à l'exception des céphalosporines de 5^e génération. Cette épidémie de SARM, très présente sur le continent américain, est en revanche en nette régression sur le continent européen depuis le début des années 2000. Ainsi la majorité des infections invasives à *S. aureus* sont liées à des souches sensibles à la méticilline (*Staphylococcus aureus* méticilline sensible : SAMS). En 2021 en France, le SARM ne représente que 0,15 souche pour 1000 journées hospitalières d'après les données de Surveillance et Prévention de l'Antibiorésistance en Etablissements de Santé (SPARES) contre 0,68 souche pour 1000 journées hospitalières en 2003 (**figure 1**). La France est en dessous de la moyenne européenne avec 11% des souches responsables d'infection invasive de *S. aureus* présentant une résistance à la méticilline contre 15,8 au niveau européen en 2021 (source : Santé Publique France, réseau EARS-Net). En Europe et en France, l'EI à *S. aureus* est donc très majoritairement liée à des souches sensibles à la méticilline contrairement aux Etats-Unis où la proportion de SARM dans les EI peut atteindre 23% des épisodes ⁵. Les bêtalactamines restent donc la classe d'antibiotiques de prédilection dans l'arsenal thérapeutique des EI à *S. aureus*.

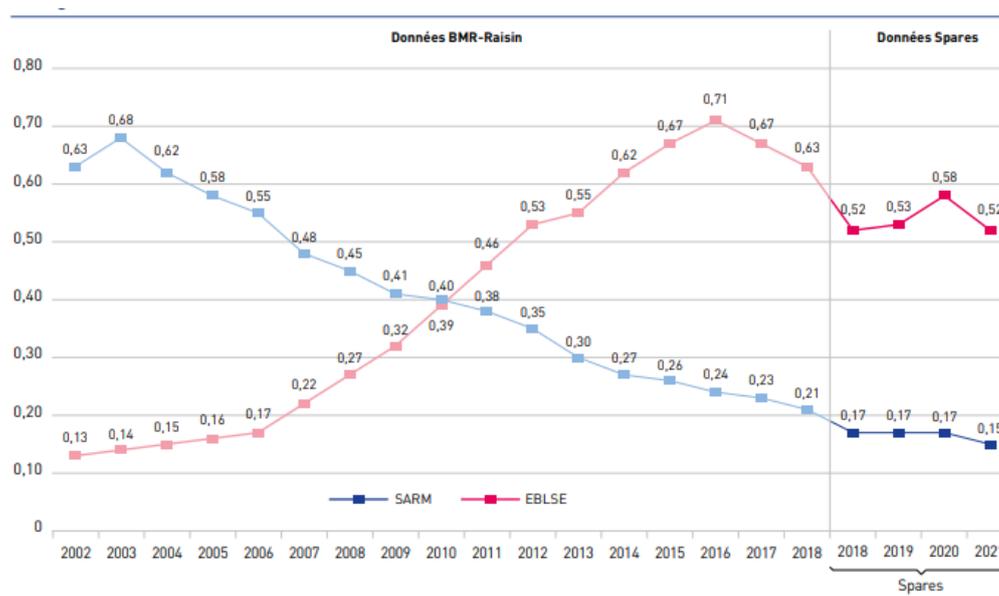


Figure 1 : Evolution entre 2002 et 2021 de l'incidence (nombre de souches pour 1000 journées hospitalières) des *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et des Entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre élargi (EBLSE) (nombre d'établissements participants variable chaque année, changement de méthode de surveillance en 2018). Source : Santé Publique France.

Malgré ces options thérapeutiques, l'EI est une infection grave et grevée d'une lourde mortalité. On estime que 20% des patients présentant une EI vont décéder, et ce taux n'a pas diminué depuis les années 1980 ⁵. Par ailleurs, *S. aureus* est un facteur de risque indépendant

de décès au cours de cette infection (OR = 2,9 ; p = 0.008) ⁶. D'autres facteurs de risque de mortalité ont été identifiés au cours d'une EI. On peut citer l'âge, les comorbidités du patient évaluées par l'index de comorbidité de Charlson, la taille de la végétation cardiaque ^{6,7}. Bien que les chirurgies cardiaques au cours des EI soient des opérations lourdes et à haut risque, elles correspondent à un facteur protecteur, soulignant le mauvais pronostic des EI malgré une antibiothérapie adaptée ⁸.

b. Un cadre nosologique spécifique

Il est donc important de différencier une EI d'une bactériémie à *S. aureus* du fait de leur différence de gravité et de mortalité. Or les symptômes et les signes cliniques au cours de ces deux cadres nosologiques sont proches. On retrouve dans les deux cas un tableau septique et des hémocultures positives à *S. aureus*. Le délabrement valvulaire à l'origine de turbulences du flux sanguin peut être à l'origine d'un souffle cardiaque mais ce signe clinique, tardif dans cette infection, est retrouvé dans beaucoup d'autres atteintes des valves cardiaques et manque donc de spécificité et de sensibilité. Quelques signes cliniques sont cependant spécifiques comme les taches de Roth au fond d'œil et les faux panaris d'Osler, mais ces signes manquent souvent au tableau initial. Les critères de Dukes ont été établis dans l'objectif de mieux diagnostiquer les EI. Ils comprennent des examens complémentaires paracliniques comme l'échographie cardiaque qui permettent de rechercher la végétation valvulaire. La dernière version de ces critères, paru en mai 2023, a par ailleurs redéfini ces critères en incorporant d'autres examens paracliniques, comme la tomographie par émission de positons et la scintigraphie ⁹.

Comme dit précédemment, l'EI à *S. aureus* est une infection rare, contrairement aux bactériémies à *S. aureus*. Il est donc nécessaire de mieux cibler les cas d'hémocultures positives à *S. aureus* pour lesquelles il est utile de poursuivre par des explorations paracliniques. Les scores PREDICT ou VIRSTA permettent ainsi de cibler les patients ayant une bactériémie à *S. aureus* qui bénéficieraient d'une échographie cardiaque. Ces scores se basent sur des variables liées aux antécédents du patients et à la présentation clinique de la bactériémie. Il est intéressant de noter que le seul item en commun dans ces deux scores est la bactériémie prolongée supérieure à 72 heures pour le score PREDCIT et supérieur à 48 heures pour le score VIRSTA ^{10,11}. Il existe également un score prédictif d'EI à *S. aureus* nommé « POSITIVE » incluant le délai de positivité des flacons d'hémocultures, ainsi d'après ce score il est nécessaire de rechercher une EI dans les cas d'hémocultures positives avec un délai de pousse inférieur à 9 heures. Cependant ce score nécessite une standardisation en termes de prélèvement et

d'incubation qui sont difficilement reproductibles en clinique ¹². Ces scores mettent ainsi en lumière certaines différences majeures entre l'EI et les autres bactériémies à *S. aureus*. La bactériémie au décours d'une EI semble prolongée, et l'inoculum bactérien du secteur sanguin paraît supérieur aux autres bactériémies à *S. aureus*. La différence de gravité entre une EI et une bactériémie semble donc résider, entre autres, dans la différence d'inoculum bactérien au décours de ces deux tableaux. Il est donc licite de s'interroger sur l'effet de celui-ci au sein de la végétation lors d'une EI à SAMS et de se questionner sur l'influence de cet inoculum sur l'efficacité du traitement. Pour appréhender cette question, il est tout d'abord nécessaire de redéfinir les mécanismes aboutissant à la formation de la végétation caractérisant l'EI.

c. Physiopathologie

L'EI survient au décours d'un épisode bactériémique. La porte d'entrée principale de *S. aureus* dans la circulation sanguine est cutanée et fait suite au portage de la bactérie. Cette bactériémie peut survenir lors d'injection de drogues intraveineuses, d'infection de cathéter ou de toutes autres lésions cutanées colonisées par *S. aureus*. La bactérie se multiplie dans la circulation sanguine mais l'inoculum dans le compartiment sanguin reste très faible. Ainsi, lors d'un épisode bactériémique, la charge bactérienne est estimée à une trentaine d'unités formant colonie (UFC) par millilitre de sang ¹³. Le diagnostic d'une bactériémie nécessite donc une étape de multiplication sur milieu de culture pour enrichir cet inoculum. Ces flacons d'hémocultures permettent de porter le diagnostic de bactériémie une fois l'inoculum suffisant pour être détecté (**figure 2**).

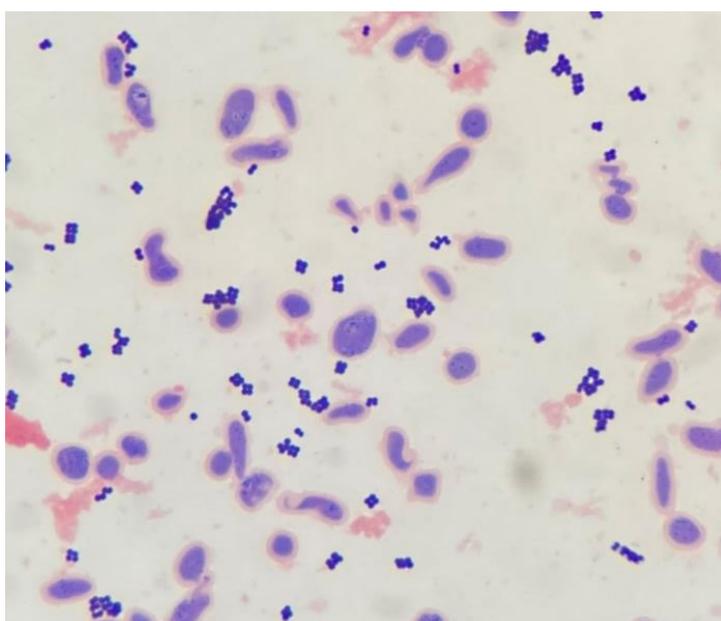


Figure 2 : *Staphylococcus aureus* en coloration de Gram sur flacon d'hémoculture après incubation permettant la croissance de l'inoculum. On remarque les tétrades caractéristiques de *Staphylococcus spp.*

Au décours de cette bactériémie, *S. aureus* peut provoquer une infection à distance de la porte d'entrée et notamment au niveau des valves cardiaques. Cette greffe bactérienne survient sur valvules pathologiques. En effet, l'endothélium présent à leur surface est un rempart efficace contre les infections. Dans certains cas, cet endothélium peut être lésé. Ces lésions peuvent être congénitales, mécaniques (lors de l'utilisation de drogues intra veineuses, de geste de cathétérisation) ou survenir à la suite de différentes pathologies valvulaires. Ces dommages vont être à l'origine de l'exposition du sous-endothélium propice à l'agrégation plaquettaire. C'est sur ce terrain valvulaire que *S. aureus* va pouvoir s'implanter et recruter un agglomérat de fibrine et de plaquettes permettant la formation d'une végétation¹⁴. A contrario, les prothèses valvulaires d'origines mécaniques ou biologiques ne possèdent pas ce rempart naturel et sont donc beaucoup plus à risque de s'infecter lors d'une bactériémie.

Il est intéressant de noter que ce processus n'est pas passif, et que la résultante de l'infection valvulaire dépend à la fois de facteurs de l'hôte sus cités, mais également de facteurs bactériens. Dans ce sens, certains clones de *S. aureus* semblent plus à risque de provoquer une EI. Une étude de 2011 a ainsi comparé des souches de *S. aureus* responsables d'EI à des souches de *S. aureus* responsables d'infection des tissus mous et a retrouvé des différences significatives de répartition des génotypes clonaux responsables de ces infections. La pathogénicité de génotypes particuliers pouvait s'expliquer par le portage de certains gènes de virulence codant pour des adhésines¹⁵.

La virulence de *S. aureus* réside également dans sa capacité à produire du biofilm. Un biofilm est défini par des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface¹⁶. De ce fait une végétation cardiaque peut être définie comme un type de biofilm. Il apporte une protection mécanique contre le système immunitaire de l'hôte¹⁷ et constitue également un rempart contre la diffusion des antibiotiques jusqu'à la cible bactérienne. Or, au sein de cette végétation la concentration bactérienne peut être très élevée, les études menées sur modèle animal retrouvent ainsi une concentration bactérienne de *S. aureus* de l'ordre de 10^7 à 10^9 UFC par gramme de végétation¹⁸.

Les complications des EI sont multiples, premièrement la bactériémie à *S. aureus* entretenue par le relargage de bactéries via la végétation est à l'origine d'un sepsis pouvant aboutir à un état de choc septique. Ce sepsis est responsable de la mortalité précoce au cours de l'EI. Il a par ailleurs été montré que la concentration bactérienne sanguine de *S. aureus* durant

une EI était significativement plus élevée qu'au décours d'autres causes de bactériémie (environ 1000 UFC/ml) ¹³. Le développement de la végétation peut aboutir à différentes complications. D'une part elle peut se rompre aboutissant à un phénomène embolique dans la circulation d'aval. Dans les EI du cœur droit ces emboles sont essentiellement pulmonaires et sans conséquences majeures mais pour les EI du cœur gauche les complications emboliques peuvent être gravissimes pour les localisations neurologiques. En effet, les emboles dans la circulation encéphalique aboutissent à un accident vasculaire cérébral ischémique. Ce risque embolique est d'autant plus important que la taille de la végétation est grande. Par ailleurs la bactériémie lors des EI peut provoquer des anévrismes mycotiques avec risque de rupture et d'hémorragie intra parenchymateuse ou d'abcès cérébraux. Enfin, localement, la multiplication bactérienne dans la végétation évolue vers un délabrement des valves et aboutit à un choc cardiogénique par rupture de pilier ou perforation. Il existe également un risque d'extension et de formation d'abcès intra-cardiaque. Ces abcès peuvent se compliquer de troubles de la conduction intra-cardiaque, dont le plus grave est le bloc auriculo-ventriculaire de type 3 (BAV3) ^{19,20}.

On retient donc 3 mécanismes responsables de la gravité du tableau et correspondant aux causes principales de décès au décours d'une EI : i. le sepsis lié à la bactériémie à *S. aureus* pouvant aboutir à un état de choc septique, ii. Les complications locales mécaniques ou de conduction aboutissant à un choc cardiogénique, iii. Les complications emboliques dont les localisations neurologiques font la gravité. Or pour ces trois causes de décès, l'inoculum bactérien est directement impliqué. D'une part la bactériémie est plus longue avec un inoculum circulant élevé au cours d'une EI. La taille de la végétation, reflet de la réplication et de l'inoculum bactérien, est directement corrélée au risque embolique. Enfin, les complications intra-cardiaques sont les signes d'une infection localement avancée. Il semble donc impératif de réduire au plus vite l'inoculum bactérien au cours de la prise en charge des EI. Ainsi son traitement réside dans une antibiothérapie rapidement bactéricide. A défaut, l'option chirurgicale reste le meilleur traitement pour réduire cet inoculum sans délai mais s'avère risquée et grevée de lourdes comorbidités. L'optimisation de la prise en charge des patients réside donc dans la compréhension des mécanismes pouvant aboutir au retard ou à l'échec antibiotique dans ce cadre nosologique.

2. Les bêtalactamines dans l'endocardite infectieuse à SAMS

a. Les bêtalactamines efficaces sur le SAMS.

S. aureus est naturellement sensible aux pénicillines. Albert Alexander, le premier patient à avoir été traité par antibiotique, a reçu un traitement par pénicilline G (la première pénicilline utilisée en clinique) dans un contexte d'infection streptococcique et staphylococcique en 1941. Seulement 2 ans après l'introduction de cet antibiotique des résistances sont décrites pour la pénicilline G chez des souches de *S. aureus* par production de bêtalactamases. Cette résistance initialement nosocomiale s'est rapidement disséminée au niveau communautaire pour atteindre 90% des souches circulantes dans les années 1970²¹. Le portage de cette bêtalactamase rend la souche résistante à la pénicilline G mais également à d'autres classes de pénicilline comme les pénicillines A (amoxicilline, ampicilline...).

Les pénicillines anti staphylococciques (PAS) sont des pénicillines semi-synthétiques développées dans le but de résister à l'hydrolyse des bêtalactamases de *S. aureus*. Cette classe a été développée dans les années 1960 à la suite de l'expansion mondiale des clones de *S. aureus* résistants à la pénicilline G. Ces molécules sont également connues sous le nom de pénicillines M (en référence au premier représentant de cette classe : la méticilline). Les PAS les plus utilisées aujourd'hui sont la nafcilline et l'oxacilline et ses dérivés comme la cloxacilline, la flucloxacilline. Elles se caractérisent par l'ajout synthétique d'un noyau (par exemple un noyau isoxazolyl pour l'oxacilline et ses dérivés) à la structure acide 6-amino-penicilline des pénicillines²². Il est à noter que cette modification de structure a pour effet d'augmenter les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de cette classe pour *S. aureus*. Ainsi les CMI sont multipliées par 15 entre la pénicilline G et les PAS²³.

Une autre approche pour lutter contre l'expansion des souches porteuses de bêtalactamases est le développement d'inhibiteurs de ces enzymes associés aux pénicillines sensibles à leur hydrolyse. Cette stratégie permet de restaurer une sensibilité de la souche. Ainsi l'amoxicilline sensible à l'hydrolyse de la bêtalactamase voit son efficacité restaurée par l'ajout d'acide clavulanique, un inhibiteur de pénicillinase. La question principale avec ces associations est la diffusion des deux molécules au site d'action empêchant leur utilisation lorsque le site de l'infection est difficilement accessible.

Les souches porteuses de bêtalactamase restent sensibles aux autres représentants des bêtalactamines. Ainsi un SAMS résistant à la pénicilline reste sensible aux céphalosporines, et

aux carbapénèmes. On peut citer les céphalosporines de première génération (C1G) qui ont été développées dans les années 1970 pour pallier l'émergence des résistances aux pénicillines des *S. aureus*. Le représentant de cette classe encore utilisé en clinique actuellement est la céfazoline (CFZ).

Par définition, les souches de SAMS restent également sensibles aux antibiotiques utilisés contre le SARM. Ainsi la Vancomycine peut également être utilisée en cas d'allergie aux bêtalactamines. Mais de nombreux articles ont montré la supériorité des bêtalactamines sur les glycopeptides dans les bactériémies à SAMS²⁴. La Daptomycine a montré une bonne efficacité pour la stérilisation de la végétation en contexte d'EI¹⁸. Cette molécule a d'ailleurs l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans les EI du cœur droit. Cependant cet antibiotique fonctionne sur les souches résistantes à la méticilline et est donc à conserver pour cette indication ou en cas d'allergie aux bêtalactamines.

b. Les recommandations thérapeutiques dans l'EI à SAMS

En août 2023, l'*European Society of Cardiology* a publié de nouvelles recommandations de prise en charge thérapeutique des EI. Ces recommandations européennes préconisent en cas d'EI à SAMS sur valve native l'utilisation de cloxacilline ou de flucloxacilline à la dose de 200-300 mg/kg/jour en 4 à 6 injections intraveineuse (12 g par jour maximum). La nouveauté de ces recommandations est l'ajout de la CFZ dans l'arsenal thérapeutique de première intention à la posologie de 6 g par jour répartis en 3 injections. Ces recommandations ne précisent pas d'adaptation thérapeutique des souches de SAMS sensibles à la pénicilline. Pour les EI à SAMS sur valve prothétique, il est recommandé d'adjoindre à la bêtalactamine de la rifampicine à la posologie journalière de 20 mg/kg/jour (900 mg par jour maximum) et de la gentamicine à la posologie journalière de 3mg/kg.

Ces nouvelles recommandations intègrent les résultats de l'étude POET²⁵ et préconisent un relais antibiotique oral après le 10^e jour d'antibiothérapie intra veineuse bien conduite et après le 7^e jour post chirurgical chez un patient stable selon certaines conditions²⁶. Cette modification de prise en charge thérapeutique des EI corrobore l'idée que la phase précoce de cette infection fait toute la gravité du tableau et qu'il est nécessaire d'adapter au mieux l'antibiothérapie initiale. De même il est intéressant de constater que la prise en charge d'une bactériémie à SAMS repose également sur les PAS et la CFZ. Malgré un pronostic et une

gravité très différente, la sanction thérapeutique entre ces deux cadres nosologiques est identique en termes de molécule et de posologie.

Par ailleurs, ces dernières années, l'intérêt des molécules associées aux bêtalactamines dans l'EI à SAMS a été débattu. En effet d'une part l'utilisation d'aminosides comme la gentamicine est en recul. Ainsi depuis 2015, les recommandations européennes ont restreint son utilisation dans les EI sur valve prothétique pendant les deux premières semaines de traitement et des articles récents remettent en question son utilisation dans l'EI à *S. aureus*²⁷. Par ailleurs l'utilisation de rifampicine dans les EI prothétiques n'a jamais démontré de réduction de mortalité ou de diminution de rechute à la fin de l'antibiothérapie^{28,29}. Les bêtalactamines restent donc le traitement central dans cette indication.

c. PAS versus CFZ

De 2016 à 2018, une pénurie mondiale de PAS a obligé l'utilisation d'alternatives dans les infections invasives à SAMS et notamment dans l'EI. Les bêtalactamines étant les meilleures molécules dans cette indication, le choix s'est porté sur celle utilisée en seconde intention : la CFZ. Cependant cette molécule possède plusieurs avantages par rapport aux PAS.

Tout d'abord la demi-vie de la CFZ est de l'ordre de 90 à 150 min ce qui s'avère beaucoup plus long que les PAS. A titre d'exemple la demi-vie d'élimination de la cloxacilline est de 45 min chez les patients ayant une fonction rénale normale. En perfusion discontinue les concentrations résiduelles optimales de CFZ sont plus facilement atteintes par rapport au PAS comme le suggère cet article de 2023 comparant la CFZ et la flucoxacilline³⁰. Les PAS sont également particulièrement instables une fois reconstituées, cela a particulièrement été montré pour la cloxacilline. Sa dégradation est notamment favorisée par la chaleur, le pH et le type de soluté utilisé justifiant d'autant plus le fractionnement des injections sur la journée^{31,32}. Or la CFZ est stable et peut être injectée en continu. Cette modalité d'injection paraît la plus adaptée pour l'efficacité temps-dépendante des bêtalactamines.

Au niveau rénal, les posologies de CFZ sont adaptables au débit de filtration glomérulaire (DFG) du patient jusqu'au stade de dialyse. Tandis que l'utilisation des PAS lors d'insuffisance rénale est plus incertaine : la cloxacilline ne peut pas être utilisée en dessous de 30 ml/min de DFG. La posologie d'oxacilline peut être utilisée avec une posologie éventuellement adaptée à 8 g/j en dessous de 30 ml/min de DFG mais est formellement contre

indiquée si une insuffisance hépatique est associée à l'insuffisance rénale. En effet, en dessous de ce DFG, c'est l'excrétion extra rénale qui prédomine pour ce type de molécule et celle-ci est très variable entre les patients (source GPR). Un des effets secondaires particulièrement retrouvés dans la classe des PAS est la néphrite immuno-allergique à l'origine d'insuffisances rénales particulièrement sévères. Sur ce plan, la CFZ est mieux tolérée. La CFZ est donc particulièrement adaptée pour traiter des infections invasives à SAMS dans un contexte de fonction rénale dégradée, or cette comorbidité est souvent retrouvée au décours d'une EI du fait du choc septique à l'origine d'une défaillance rénale, des comorbidités et de l'âge du patient.

En revanche, le spectre des C1G, dont la CFZ fait partie, est plus large que les PAS. En effet, ces dernières ciblent essentiellement les espèces de *Staphylococcus spp.* et les espèces de *Streptococcus spp.* Les C1G élargissent ce spectre en comprenant, en plus de ces dernières espèces, les entérobactéries des groupes 0, 1, et 2. Les entérobactéries du groupe 3 sont naturellement résistantes par production d'une céphalosporinase naturelle. La CFZ est donc potentiellement plus délétère sur le microbiote intestinal que les PAS, cependant aucune étude n'a directement comparé les conséquences digestives de ces deux classes d'antibiotique. Des infections à *Clostridioides difficile* ont été rapportées après l'exposition brève à des C1G dont la CFZ³³.

L'un des freins à l'utilisation de la CFZ était sa diffusion considérée comme faible au niveau méningé. Or les atteintes cérébrales au cours de l'EI sont fréquentes. Ainsi, les recommandations américaines préconisent de ne pas utiliser la CFZ pour traiter une EI avec atteinte cérébrale³⁴. En effet, des études sur modèle rat montraient une moindre pénétration méningée de la molécule comparée à d'autres céphalosporines³⁵. Cependant ces modèles ne peuvent être comparés aux situations pathologiques cliniques où la barrière hémato encéphalique devient plus perméable par l'inflammation. Plusieurs articles récents ont d'ailleurs replacé la CFZ dans cette indication montrant des résultats comparables à la pénétration méningée de la cloxacilline^{36,37}.

La CFZ semble montrer plusieurs avantages par rapport aux PAS et son utilisation dans les infections invasives à SAMS paraît légitime. Cependant son équivalence d'efficacité par rapport aux PAS est débattue chez les SAMS porteurs de bêtalactamase.

3. *bla_Z* : bêtalactamase de *Staphylococcus aureus*

d. *S. aureus* et résistance aux pénicillines

Les souches sauvages de *Staphylococcus aureus* sont naturellement sensibles à l'ensemble des pénicillines. Cependant, après exposition aux antibiotiques, la bactérie a rapidement développé deux mécanismes responsables de résistance aux pénicillines. Le plus connu et suivi est la modification des PLP de la membrane cytoplasmique bactérienne. En effet l'acquisition de PLP2a rend les souches de *S. aureus* insensibles aux bêtalactamines à l'exception des dernières générations de céphalosporine (céphalosporines de 5^e génération). Il s'agit donc d'une modification de la cible d'action ne permettant plus aux bêtalactamines d'agir. Les souches porteuses sont qualifiées de résistantes à la méticilline : SARM. Ce mécanisme de résistance est rare en France et exceptionnel au cours d'une endocardite infectieuse. Le propos se portera donc sur le second mécanisme de résistance bien plus représenté dans les souches de *S. aureus* circulantes actuellement en France.

L'autre moyen par *S. aureus* de devenir résistant à certaines bêtalactamines est l'acquisition d'une bêtalactamase. Cette enzyme est codée par le gène *bla_Z* chez *S. aureus* et concerne aujourd'hui 90 % des souches circulantes bien que plusieurs articles récents montrent une augmentation des souches sensibles à la pénicilline^{38,39}. Son spectre d'action concerne les pénicillines, avec une efficacité particulière pour les pénicillines G et A. Cependant cette enzyme garde une activité hydrolytique contre d'autres bêtalactamines. Ainsi la classification de *bla_Z* reposait initialement sur la capacité hydrolytique résiduelle des C1G et a permis de regrouper ces bêtalactamases en quatre sous-types : A, B, C et D (**figure 3**). Ces sous-types se distinguent également par leur support moléculaire : les sous types A, C et D ont un support plasmidique. Le sous-type B a un support chromosomique par incorporation d'un phage de groupe II dans le chromosome bactérien⁴⁰.

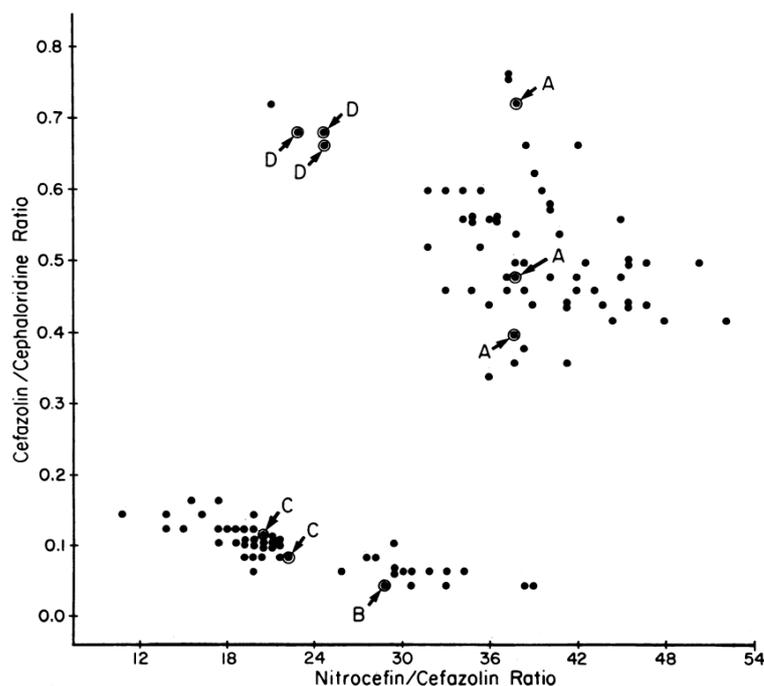


Figure 3 : ratio d'hydrolyse de céphalosporine de première génération en fonction du type de *bla_Z*. Figure extraite de l'article "Use of Extracts versus Whole-Cell Bacterial Suspensions in the Identification of *Staphylococcus aureus* beta lactamase Variants" Douglas S. 198 ⁴¹.

Ces sous-types de *bla_Z* se différencient aussi par leur fréquence. Ainsi le sous-type C semble souvent prédominant suivi des sous-types A et B. Le sous-type D est rare et ce quel que soit le pays où l'étude épidémiologique a eu lieu et correspondent à moins de 5% des souches circulantes ⁴². En France l'épidémiologie des *bla_Z* portées par *S. aureus* est peu connue. Seul un article s'est intéressé au type de *bla_Z* porté par les souches de *S. aureus* dans les infections orthopédiques post-opératoires ⁴³. Par ailleurs certains articles montrent une corrélation entre le portage de sous-type de *bla_Z* et le portage de résistance à d'autres classes antibiotiques. Par exemple la résistance à l'érythromycine et à la clindamycine, correspondant au phénotype MLSB inducible, est associée au portage de *bla_Z* de sous-type A et est au contraire très peu associée au sous-type C dans une étude de Corée du Sud. Ce résultat pouvait s'expliquer par des gènes de résistance portés par le même support plasmidique ⁴⁴.

Il est intéressant de noter que l'expression de *bla_Z* chez *S. aureus* est régulable et la bactérie est capable de moduler la transcription de ce gène. Ceci est rendu possible notamment par un rétrocontrôle du gène *bla_Z* par *bla_I* et *bla_R*. En effet, *bla_I* est capable, dans sa forme active, d'inhiber la transcription de *bla_Z*. Or *bla_I* peut être inactivé par une sous-unité de *bla_R*. Cette dernière possède un site de liaison aux pénicillines. Il existe donc un rétro-contrôle de *bla_Z* qui est influencé, en partie, par la présence de bêtalactamine dans le milieu extérieur ⁴⁵.

Cette bêta-lactamase peut être exprimée sur la membrane cellulaire de la bactérie mais également au niveau extracellulaire ⁴⁶. Un test phénotypique permettant de mettre en évidence ce phénomène est le « cloverleaf test ». Ce test consiste à mettre en co-culture en milieu solide une souche *bla_Z* négative et une souche *bla_Z* positive en croix par-dessus la première souche. Un disque de pénicilline G est placé au croisement. La souche *bla_Z* positive va pousser à proximité du disque et la souche *bla_Z* négative à distance, cependant la souche *bla_Z* positive va favoriser la pousse de la souche *bla_Z* négative qui se trouve à proximité par l'hydrolyse locale de l'antibiotique. Le résultat de ce test est une zone d'inhibition de croissance bactérienne en forme de trèfle à quatre feuilles ⁴⁷ (**figure 4**). Ce résultat souligne l'importance de l'excrétion des bêta-lactamases dans le milieu extérieur et son influence sur la protection de la bactérie productrice mais également de son voisinage et interroge sur les concentrations extra-cellulaires de cette enzyme en présence d'un inoculum bactérien élevé.

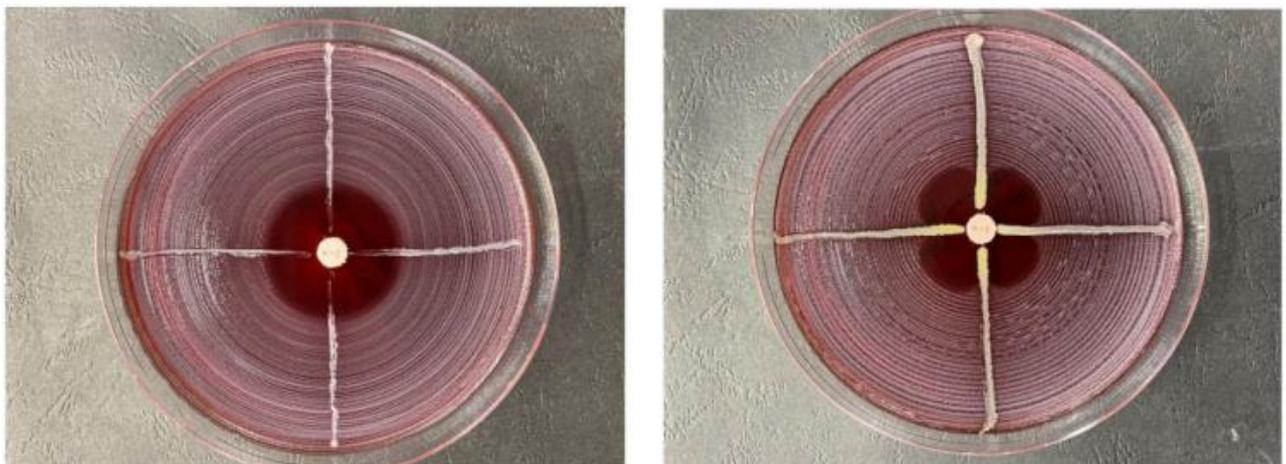


Figure 4 : « cloverleaf test » tiré de l'article de Skov et al, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2021 ⁴⁷ montrant le résultat du test avec une souche de *S. aureus bla_Z* négative (à gauche) et *bla_Z* positive (à droite).

e. Méthode de caractérisation de *bla_Z*

Pour distinguer au sein des souches de SAMS, les souches porteuses de *bla_Z* et les souches sans bêta-lactamase il existe plusieurs méthodes plus ou moins sensibles. Celle retenue par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM) 2022 est l'interprétation du diamètre d'inhibition de disque chargé en pénicilline G en milieu solide. Il est possible de distinguer les souches en utilisant des disques de pénicilline G chargé à 1 unité. Un diamètre supérieur ou égal à 26 mm avec une bordure floue au niveau de la zone d'inhibition est en faveur de l'absence de bêta-lactamase. En revanche, un diamètre inférieur à 26mm et/ou une bordure nette au niveau de la zone d'inhibition est en faveur d'un portage de

bla_Z par la souche. Ce test était décrié pour son manque de sensibilité avec une superposition des diamètres entre les souches sauvages et porteuses de *bla_Z*. Cependant cette méthode a été rendue plus sensible et spécifique par l'utilisation de disques chargés à 1 unité au lieu de 10 unités auparavant ⁴⁸.

Il existe également des tests rapides chromogéniques permettant de distinguer les souches avec une activité hydrolytique des bêtalactamines et donc porteuses de *bla_Z* comme le test à la nitrocefine. La problématique principale de ces tests phénotypiques est une sensibilité imparfaite ne permettant pas de garantir l'absence de *bla_Z* lorsque le test est négatif. Outre ces tests, le « cloverleaf » test est également pertinent pour déterminer la présence de pénicillinase et s'avère d'une sensibilité et d'une sensibilité remarquable mais nécessite une certaine expertise technique ⁴⁸. Le test de référence est la réalisation d'une PCR (*Polymerase Chain Reaction*) du gène *bla_Z* et n'est pas couramment pratiqué en routine. L'avantage de cette technique est également de déterminer le sous type de *bla_Z* puisque les 4 sous-types de *bla_Z* possèdent des mutations spécifiques dans leur séquence ⁴⁹. Les codons en positions 128 et 216 permettent de distinguer les 4 sous types de *bla_Z* : pour le sous-type A une thréonine est codée en position 128 et une sérine est codée en position 216. Pour le sous-type B : une lysine est codée en position 128 et une asparagine est codée en position 216. Pour le sous-type C une thréonine est codée en position 128 et une asparagine est codée en position 216. Enfin pour le sous-type D, une alanine est codée en position 128 et une sérine est codée en position 216 ⁴⁰.

Les capacités hydrolytiques de l'enzyme codée par *bla_Z* sont également responsables d'un autre effet *in vitro* : lorsqu'on étudie certaines souches porteuses de *bla_Z* à fort inoculum, ces souches deviennent résistantes à certains antibiotiques. Cet « effet inoculum » est décrit essentiellement pour la CFZ chez *S. aureus*. Deux définitions ont été proposées pour cet effet, la première correspond à une multiplication de la CMI par quatre entre un inoculum standard (environ 10⁵ UFC/ml) et un inoculum élevé (10⁷ UFC/ml), la seconde correspond à l'atteinte ou le dépassement de la CMI critique pour la CFZ. Cependant il n'existe pas de CMI critique pour la CFZ retenue par le CASFM et l'EUCAST. La plupart des articles retiennent une concentration critique de 16 mg/L. La technique de référence faite en milieu liquide est difficilement réalisable en routine (**figure 5**). Certaines équipes ont tenté de développer des tests rapides colorimétriques permettant de mettre en évidence l'effet inoculum pour la CFZ mais cette technique manque de sensibilité ⁵⁰. De plus, cet effet est mal corrélé à la présence d'une *bla_Z*. Les souches possédant un effet inoculum pour la CFZ se retrouvent essentiellement chez les souches portant une *bla_Z* de sous type A ou C mais cette corrélation est imparfaite ⁵¹.

Il est important de préciser qu'un effet inoculum ne se définit qu'entre une souche bactérienne et un antibiotique donné. Or, a contrario de l'effet inoculum pour la CFZ, l'effet inoculum des PAS pour *S. aureus* a été peu étudié puisque ces antibiotiques sont considérés comme résistants à l'hydrolyse des *blaz*. Pourtant de rares articles ayant intégré les PAS à la recherche d'effet inoculum chez le SAMS ont confirmé la présence d'un effet inoculum avec certaines molécules du groupe des PAS ^{52,53}.

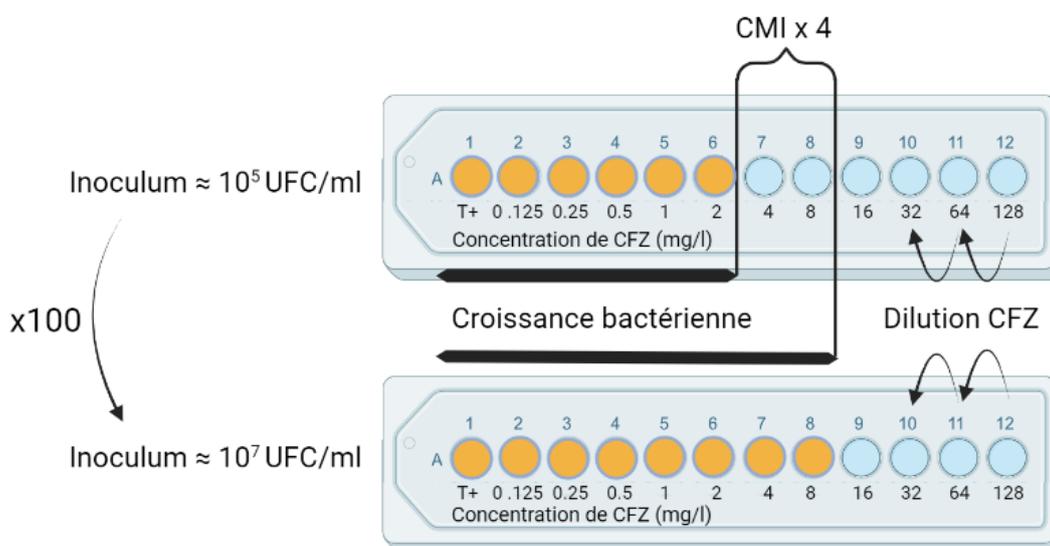


Figure 5 : méthode par microplaque de dilution de la recherche d'un effet inoculum pour la céfazoline chez *Staphylococcus aureus*. (T+ : témoin positif ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice, CFZ : céfazoline)

f. Impact thérapeutique de *blaz*

Beaucoup d'études se sont intéressées à comparer l'efficacité de la CFZ aux PAS pour traiter une bactériémie à SAMS. Ainsi, plusieurs méta-analyses ont retrouvé une équivalence ou une supériorité de la céfazoline comparée aux PAS dans les bactériémies à SAMS ⁵⁴⁻⁵⁷. Un essai clinique français multicentrique randomisé en double aveugle comparant la CFZ à la cloxacilline dans les bactériémies à SAMS est en cours et permettra de répondre à la question de l'équivalence de ces deux traitements ⁵⁸. Cependant cette question reste débattue dans l'EI à SAMS. En effet, dès la sortie sur le marché de la CFZ dans les années 1970, des échecs thérapeutiques ont été décrits au cours d'EI. Ces échecs étaient expliqués par l'effet inoculum pour la CFZ et cet effet correspondait au principal frein à l'utilisation de cette molécule dans

cette infection^{59,60}. Certains experts ont même qualifié la CFZ de “drug for my mother-in-law but not for my mother”⁶¹. Cependant son utilisation forcée récente en période de pénurie de PAS a permis de montrer l'équivalence de la CFZ face aux PAS dans cette indication sur des cohortes rétrospectives^{62,63}. A la lumière de ces dernières données, on peut légitimement se poser la question du positionnement de cet antibiotique dans l'EI à SAMS.

Chez les souches de *S. aureus* sauvages, la pénicilline G reste la molécule la plus efficace. Son efficacité est telle qu'elle reste plus efficace que la Vancomycine sur le SARM non porteur de *bla_Z* d'après une étude sur modèle animal⁶⁴. Plusieurs articles ont montré l'équivalence de la pénicilline G face à la CFZ ou aux PAS pour le traitement d'une bactériémie à *S. aureus* non porteur de bêtalactamase⁶⁵⁻⁶⁷. Cependant, il n'existe pas de test pratiqué en routine apportant la certitude qu'une souche ne soit pas porteuse de *bla_Z*. Or la pénicilline G est beaucoup plus susceptible à l'hydrolyse par *bla_Z* que les PAS et la CFZ. Les souches sensibles à la pénicilline G étant considérées comme peu fréquentes, la pénicilline G a donc rapidement été remplacée par les PAS et la CFZ.

L'effet inoculum pour la CFZ est bien documenté *in vitro*. Un modèle animal d'EI à SAMS porteur de *bla_Z* de type A chez le rat a également permis de mettre en évidence l'effet inoculum pour la CFZ *in vivo*¹⁸. Cependant les preuves de l'impact clinique de cet effet manquent. Au décours de bactériémies traitées par C1G, quelques articles décrivent une différence de mortalité entre les souches avec effet inoculum et les souches sans effet inoculum pour la CFZ. Cependant ces articles manquent d'un bras contrôle par PAS^{51,68}. Un seul article s'est intéressé à l'effet inoculum de la CFZ au décours des EI à SAMS et ne retrouvait pas de conséquence clinique dans les cas avec des souches présentant cet effet, cependant les effectifs dans cette étude étaient limités à 20 souches dont seulement 4 présentaient un effet inoculum pour la CFZ⁴².

A la lumière des mécanismes de résistance aux bêtalactamines de *S. aureus*, et de la physiopathologie de l'EI, on peut se poser plusieurs questions : i. Quel est l'épidémiologie de *bla_Z* dans les EI à SAMS en France ? ii. La présence de *bla_Z* influence-t-elle l'issue thérapeutique d'une EI à SAMS ? iii. L'issue thérapeutique dépend-elle du choix de la bêtalactamine utilisée ?

III. SCIENTIFIC ARTICLE: “*bla_Z* betalactamase impacts treatment outcomes in infective endocarditis due to methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*”

1. Introduction

Infective endocarditis (IE) caused by *Staphylococcus aureus* is a highly fatal infection. It is estimated that 20% to 30% of patients will die within 6 months. This mortality rate has been stable since the 1980s⁵. In Europe, resistance to methicillin is rare in *S. aureus* and most IEs are caused by methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA). The new ESC recommendations, published in August 2023, suggest cefazolin (CFZ) or anti staphylococcal penicillins (ASP) as first-line treatment.

S. aureus frequently carries a gene coding for a betalactamase called *bla_Z*. Little is known about the epidemiology of *bla_Z* in France⁴³. Moreover, the influence of *bla_Z* as a prognostic factor in the course of an infection has been little studied, particularly during IE. However, certain *bla_Z* subtypes are responsible for a CFZ inoculum effect (CFZ InE). This effect corresponds to an increase in the minimum inhibitory concentration (MIC) of a bacterial strain when the bacterial inoculum is large. It is defined by a 4-fold increase in the MIC between a standard inoculum (~10⁵ CFU/ml) and a high inoculum (~10⁷ CFU/ml). There are 4 subtypes of *bla_Z*: A, B, C and D according to their hydrolytic profile for first-generation cephalosporin of the enzyme coded. Despite the description of this effect, the efficacy of CFZ has been shown to be equivalent to the use of PAS in the treatment of MSSA IE^{42,62,63}. However, in this infection, the inoculum within vegetation is particularly high, and beta-lactamase carriage could influence the outcome of treatment. This raises the question of the influence of *bla_Z* on therapeutic outcome, depending on the betalactam used in this particular nosological context.

In this work, we first sought to characterize the epidemiology of *bla_Z* in *S. aureus* strains responsible for IE. Next, we studied the influence of *bla_Z* on the therapeutic outcome of these infections. We sought to highlight the phenotypic impact of *bla_Z* in MSSA IE depending on the betalactam used. Finally, we propose ways to improve the identification of the risk of therapeutic failure in MSSA IEs using a predictive score for therapeutic failure.

2. Material and method

g. Study design

This retrospective multicentric study includes patients who presented with definite or possible infective endocarditis according to modified Duke's criteria over the period from February 2016 to February 2022. The three French university centers that included patients are University Hospital Bichat in Paris, University Hospital of Rennes, University Hospital of Toulouse.

h. Inclusion and exclusion criteria

For 2 centers, patients were recruited by cross-referencing « Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information » (PMSI) data coded as "endocarditis" with the list of blood cultures positive for MSSA. For the third center, patients were recruited from the center's cohort. From this list, only patients with a definite or possible *S. aureus* infective endocarditis according to the modified Duke's criteria, on native or prosthetic valves, and whose strains were still preserved in the bacteriology laboratory were included. Exclusion criteria were IE on cardiac implantable electronic devices, vascular prosthesis infection, polymicrobial IE, MRSA IE, IE treated for less than 72 hours with one of the betalactam antibiotics of interest (CFZ and ASP).

i. Data collection

Data for this study were collected from each patient's electronic record, and bacteriological data were extracted from each center's electronic laboratory record. For the Charlson score and SOFA score, the variables were scored at 0 in the absence of information in the patient's electronic record. The SOFA score was not calculated for patients transferred to one of the recruiting centers 72 hours after initiation of the betalactam of interest. The primary endpoint was 30-day mortality. The secondary endpoints were 14-day mortality, and the duration of bacteremia calculated between the start of probabilistic treatment and the patient's last positive blood culture.

j. *blaz* sequencing

Bacterial DNA extraction was performed from bacterial colonies grown for 24 h on columbia blood agar (COS) at $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Strain DNA was extracted by enzymatic and thermal lysis. The DNA extracted for each strain was used to amplify a 355-bp region in the *blaz* gene

by a real-time PCR technique. PCR was performed using the following primers: CAAAGATGATATAGTTGCTTATTC and CATATGTTATTGCTTGCACCAC. The betalactamase subtype of each strain was classified according to the amino acids located at positions 128 and 216 of the *bla_Z* gene. For subtype A *bla_Z*, threonine is in position 128 and serine in position 216; for subtype B *bla_Z*, lysine is in position 128 and asparagine in position 216; for subtype C *bla_Z*, threonine is in position 128 and asparagine in position 216; and for subtype D *bla_Z*, alanine is in position 128 and serine in position 216.

k. CFZ inoculum effect experimentation

CFZ MICs were assessed in liquid medium on 96-well plates. An inoculum of 2.10^5 CFU/ml was used to assess the MIC in standard inoculum. An inoculum of 2.10^7 CFU/ml was used to assess MIC in high inoculum. Cultures were incubated at 37°C in aerobic atmosphere. The experiment was performed in duplicate and read by two observers blind to the type of *bla_Z* carried by the strain. When there was a discrepancy, a triplicate was performed. Strain ATCC 29213 was used as a control.

l. Solid-state antibiotic susceptibility testing

Antimicrobial susceptibility testing was performed on Mueller-Hinton solid media. One IU-loaded penicillin G discs were used. Inhibition diameters were read manually, blind to the strain analyzed.

m. Statistical analysis

The descriptive study was presented by frequency for qualitative variables, and by the median with interquartile range for quantitative variables. The Chi² test was used to compare qualitative variables. The Log-rank test was used to compare survival curves. Univariate and multivariate analysis for 1-month survival was performed using a generalized linear model. Ordinal and qualitative variables were used to create the multivariate model from variables with $p < 0.2$ in the univariate analysis. Quantitative variables were transformed into ordinal variables for multivariate analysis. The “vegetation size” variable was divided into three classes: ≤ 8 mm,]8-15] mm and > 15 mm. The Charlson score variable was divided into two classes: $<$ or ≥ 5 . The quantitative variable “SOFA score” has been modified for a dichotomous variable “amine intake”. Some variables were not used: “grade 2 or 3 acute renal failure” and “rifampicin intake”. These variables were considered as non-explanatory variables therefore not included in the multivariate model. In addition, “*bla_Z* carriage” is redundant with “penicillin G class” and it was not included in the model. α risk was set at 5%. R statistical analysis software was used.

n. Declaration of the study and submission to an ethics committee

The project has been registered by the *Commission Nationale de l'Information et des Libertés* (French National Commission for Information and Freedom) (MR005 declaration: 2206725 v 0). It has also been approved by the *Comité d'Ethique de Recherche en Maladies Infectieuses et Tropicales* (French Ethics Research Infectious and Tropical Diseases Committee) (n° CER-MIT: 2023-0703).

3. Results

a. Cohort description

244 patients presented possible or definite infective endocarditis according to Duke's criteria during the period to February 2016 to February 2022, and for whom *S. aureus* strains were still available in the bacteriology laboratory. 24 patients were excluded: 2 had presented MRSA IE, 6 patients had presented polymicrobial IE, 14 had presented IE on endovascular catheter and 2 had not received either CFZ or ASP. 220 patients were included. The analysis of *bla_Z* subtypes was performed excluding the D subtype strain (a single patient). The analysis comparing ASP to CFZ did not include 11 patients who switched from ASP to CFZ or from CFZ to ASP within the first 72 hours of treatment and 4 patients whose documented treatment was started late (patients excluded from treatment analysis) (**figure 6**).

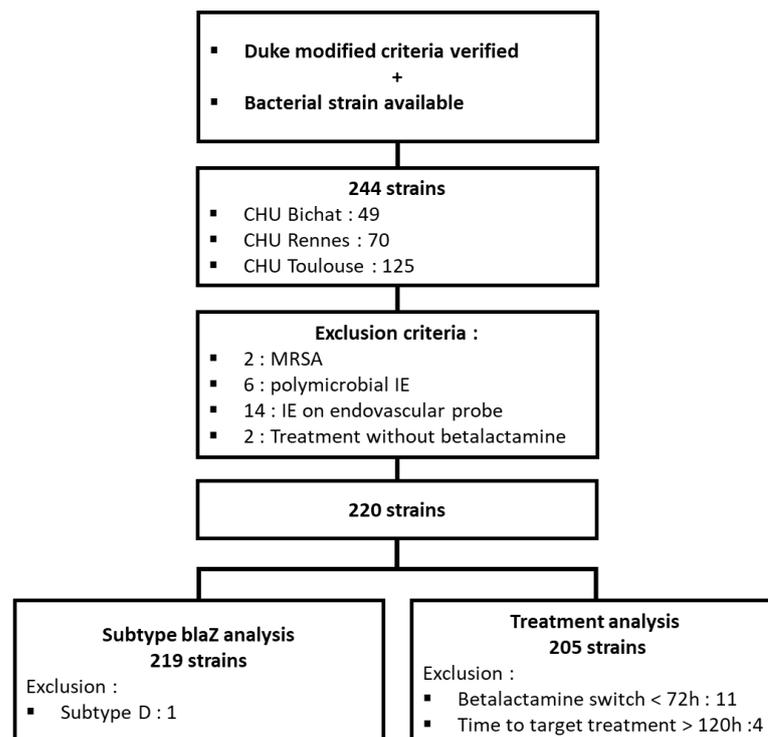


Figure 6 : Flowchart of the study.

The median age of patients was 65 years (IQR 49-73). The male/female sex ratio was 2.3 (153/67). Patients had a median Charlson score of 3 (IQR 1-6). Intravenous drug use is found in 15% of patients. The median SOFA score at entry was 4 (IQR 2-7).

90.5% of episodes met the definition of a definite IE and 9.5% met the definition of a possible IE. Most endocarditis episodes were due to aortic involvement (35%), followed by mitral (27.3%) and tricuspid involvement (17%). 13% of IE episodes corresponded to multiple valve damage. Three quarters of episodes occurred on native valves, and one quarter on prosthetic valves. The size of the vegetation was specified in 75% of cases, with a median size of 13 mm (IQR 8-20).

Local complications were firstly abscess (22%), secondly valve decay or perforation (16%), thirdly atrio ventricular block type 3 (8.6%). 39% of patients had a neurological complication, 38% had an embolic process leading to stroke, 13% had a hematoma or abscess, and only around 3% had a visualizable mycotic aneurysm. 20% of patients died within the first month of treatment, with 15% dying within the first 2 weeks. 17% of patients developed acute renal failure grade 2 or higher during the first three weeks of treatment.

36% of the cohort received CFZ as initial treatment, while 64% received ASP. 34% of patients received aminoglycoside therapy with betalactam, mainly in the context of prosthetic valve infection, sometimes in the context of treatment failure. 23% of patients were treated by rifampicin with the betalactam of interest, solely in the context of prosthetic valve infection. 35% of patients underwent emergency cardiac surgery (**table 1**).

Table 1 : Description of the cohort of patients with MSSA infective endocarditis.

Characteristic	N = 220 ¹
DEMOGRAPHIC DATA	
Center	
CHU Bichat	46 (21%)
CHU Rennes	65 (30%)
CHU Toulouse	109 (50%)
Age	65 (49, 73)
Sexe ratio Male/Female	153 (70%) / 67 (30%)
BMI	24 (22, 29)
Intravenous drug user	32 (15%)
Charlson score index	3.0 (1.0, 6.0)
Diabetes	
no	162 (74%)
uncomplicated	31 (14%)
complicated	27 (12%)
Pulmonary pathology	21 (9.5%)
Liver pathology	17 (7.7%)
Dementia	5 (2.3%)
Solid cancer	15 (6.8%)
Hemopathy	3 (1.4%)
Chronic kidney disease	27 (12%)
Prior peripheral vascular pathology	24 (11%)
Prior heart attack	43 (20%)
Prior cardiac insufficiency	21 (9.5%)
Prior stroke and transient ischaemic attack	16 (7.3%)
Neurological complications of IE	86 (39%)
Emboli or stroke	83 (38%)
Hematoma or abscess	29 (13%)
Mycotic aneurysm	7 (3.2%)
SOFA score	4.0 (2.0, 7.0)
Unknown	18 (8.2%)
Occurrence of grade 2 or 3 acute renal failure	31 (17%)
Unknown	35 (15.9%)
D14 death	32 (15%)
D30 death	45 (20%)
PATHOLOGIC DATA	
Modified Duke classification	
definite endocarditis	199 (90.5%)
possible endocarditis	21 (9.5%)
Affected valve	
Aortic	77 (35%)
Mitral	60 (27.3%)
Tricuspid	38 (17%)
Multiple	28 (13%)
Undetermined and other	16 (7.7%)

Table 1 : Description of the cohort of patients with MSSA infective endocarditis.	
Characteristic	N = 220¹
Valve type	
Native valve	164 (75%)
Prosthetic valve	56 (25%)
Vegetation size	
Unknown	13 (8, 20)
intracardiac abscess	50 (22.7%)
perforation or decay	48 (22%)
atrio ventricular block III	35 (16%)
Emergency surgery	19 (8.6%)
BACTERIAL DATA	
<i>bla_Z</i> presence	77 (35%)
<i>bla_Z</i> type	162 (73.7%)
absence	
A	58 (26.3%)
B	58 (26.3%)
C	58 (26.3%)
D	45 (20.5%)
	1 (0.5%)
Penicillin G diameter	12 (10, 36)
Cefazolin inoculum effect	
absence	
presence	120 (55%)
not available (<i>bla_Z</i> negative)	42 (19%)
	58 (26%)
TREATMENT DATA	
Beta-lactamine used	
CFZ	79 (36%)
ASP	141 (64%)
Betalactam switch in 72 hours	11 (5.0%)
Aminoside use	74 (34%)
Rifampicin use	51 (23%)

¹n (%); Median (IQR)

b. *bla_Z* study: description and analysis

Subtypes A and B *bla_Z* are equally represented at 26.3%. and subtype C represented 20.5% of strains. Only one strain carried a subtype D *bla_Z*. In all, 73.7% of strains carried *bla_Z* and 26.3% did not. The CFZ InE is essentially found for subtype A in 53.4% of cases, compared with 8.6% and 13.3% for subtypes B and C. There was no geographical difference in the distribution of *bla_Z* subtypes between centers (p= 0.57, Chi2 test) (**figure 7**).

We can observe that the study of the diameter of the inhibition zone around 1 IU of penicillin G disk has good sensitivity for determining the strains carrying *bla_Z* from the wild strains. Only one strain is misclassified, bearing the C *bla_Z* subtype even though its diameter is greater than 30 mm. There is a variability of diameter and this whatever the subtype of *bla_Z*. We separated these strains into three classes: strains with a diameter around penicillin G less than or equal to 10 mm, strains with a diameter greater than 10 mm and less than or equal to 30 mm and strains with a diameter greater than 30 mm (**figure 8**).

The survival at one month of patients with IE caused by MSSA strains without *bla_Z* is significantly higher than the group of patients with IE caused by MSSA carrying *bla_Z* ($p = 0.028$, log-rank test). Survival was 90% in the *bla_Z* negative MSSA group compared with 76% in the *bla_Z* positive group. Interestingly, this difference in survival occurred within the first 2 weeks of treatment, with 95% survival in the *bla_Z* negative group versus 82% in the *bla_Z* positive group, i.e. a difference of 13% at day 15 versus 14% at day 30 (**figure 9**). Among patients with *bla_Z* positive strains, there was no difference in one-month survival according to *bla_Z* subtype ($p = 0.33$, log-rank test) (**figure 10**).

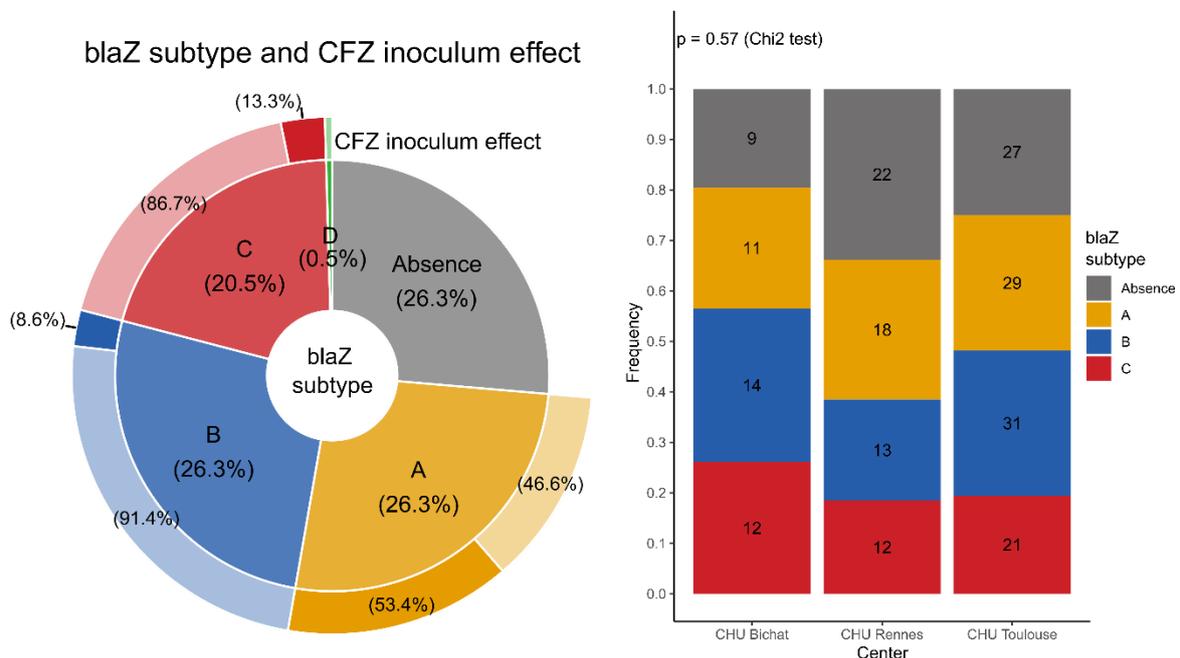


Figure 7: To the left: pie chart of *bla_Z* subtypes from MSSA strains of infectious endocarditis (internal disk) and presence of a CFZ inoculum effect according to *bla_Z* subtype (external disk, dark color: presence, light color: absence). To the right: bar chart of *bla_Z* subtype frequency by inclusion center (no heterogeneous distribution, $p = 0.57$, Chi2 test).

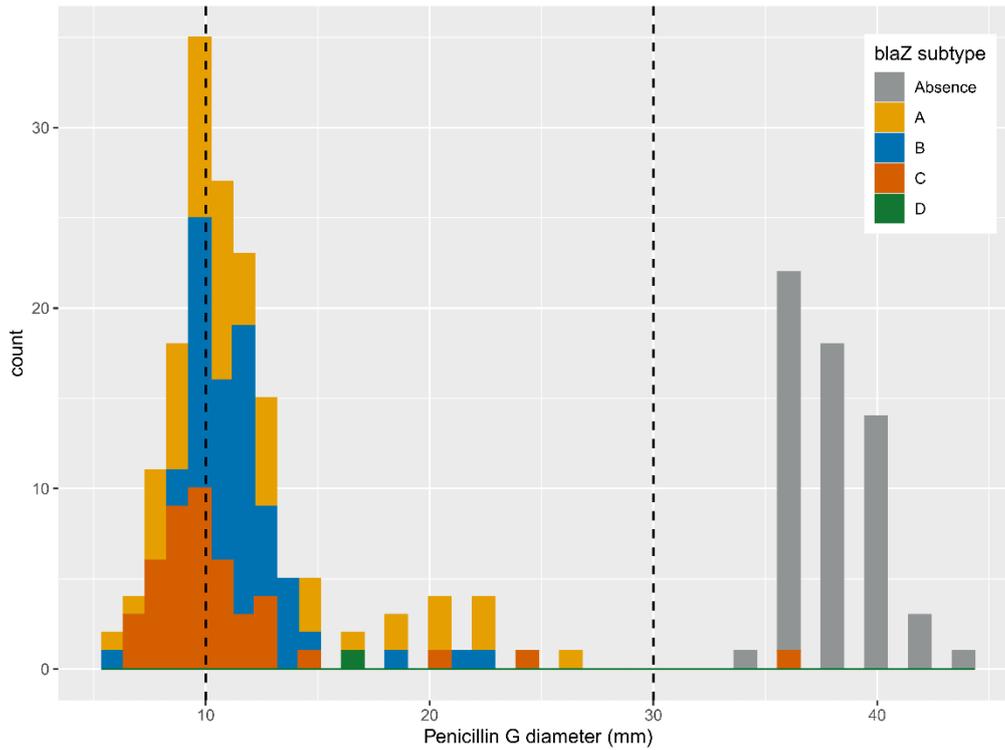


Figure 8: Histogram of penicillin G disc inhibition diameters by *bla_Z* subtype.

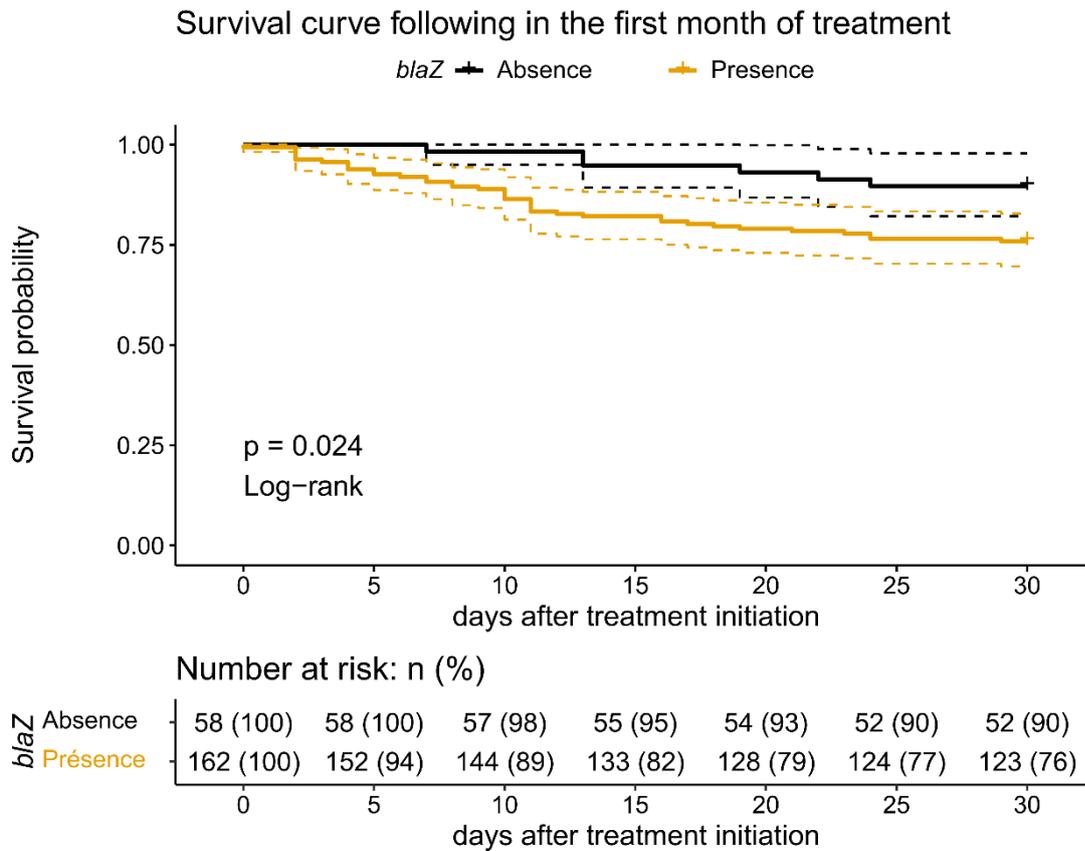


Figure 9 : Survival curve according to presence of *bla_Z*, in orange: presence ; in black : absence (survival difference of 14% at day 30, p = 0.028, log-rank test).

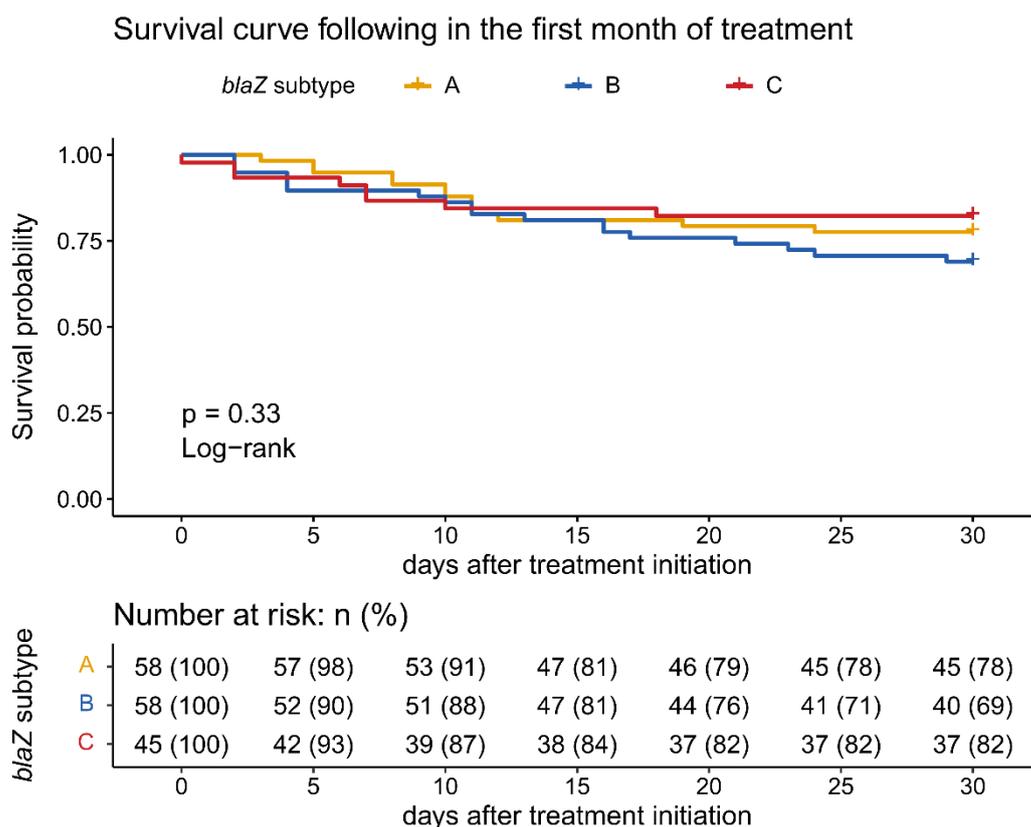


Figure 10 : Survival curve according to *bla_Z* subtype, in orange: subtype A ; in blue: subtype B ; in red: subtype C (no significant survival difference, $p = 0.41$, log-rank test).

c. Impact of microbiological characteristics on treatment outcome

There was no significant difference in survival between patients treated with CFZ and those treated with ASP at one month ($p = 0.96$, log-rank test). Survival at one month was approximately 80% regardless of treatment (**figure 11**). Knowing that the presence of *bla_Z* is a mortality factor, we sought to see its impact in patients treated with ASP and in patients treated with CFZ. Surprisingly, the presence of *bla_Z* had a greater impact on patients treated with ASP than with CFZ. Indeed, the difference in mortality between patients with a *bla_Z* positive strain and those with a *bla_Z* negative strain was 16% in the ASP group ($p = 0.044$, log-rank test). In the CFZ group, this difference was not significant ($p = 0.81$, log-rank test) (**figure 12**). To investigate this difference, we sought to correlate the phenotypic characteristics of the strains with mortality at 1 month.

To explore this question, we studied patient survival following bacterial inhibition diameter around the penicillin risk. The three categories described above were used to classify patients. Patient survival at one month was studied according to the betalactam used. In the ASP group, the small-diameter group, survival at one month was 64% vs. 85% in the intermediate-diameter group vs 92% in the large diameter group (corresponding approximately to patient

MSSA strains without *bla_Z*). These survival rates were significantly different ($p = 0.0026$, log-rank test). In contrast, in the CFZ group, there was no difference in survival between the three groups ($p = 0.92$, log-rank test) (**figure 13**). The other phenotypic characteristic of *bla_Z* explored is the CFZ InE. In the group of patients carrying a MSSA *bla_Z* positive strain, there was a significant difference in one-month survival between patients carrying a MSSA strain responsible for a CFZ InE and patients carrying strains without CFZ InE when they received CFZ treatment (88% vs 60%, $p = 0.015$, log-rank test). In the group of patients treated with ASP for MSSA *bla_Z* positive, there was no difference between the group with CFZ InE and the group without CFZ InE (78% vs 77%, $p = 0.93$, log-rank test) (**figure 14**). This result suggests that the hydrolytic specificity of *bla_Z* has an influence on the patient's survival.

The determinants of failure on CFZ are different from those of failure on ASP, and while the CFZ InE is predictive of failure on CFZ, sensitivity to penicillin G is predictive of failure on ASP. Among these *bla_Z* carrying strains, a comparison between penicillin G diameter classes and the presence of a CFZ InE reveals a trend towards a link between these two variables ($p = 0.08$, Chi2 test, unreported results), but this link is not specific, and some strains with a CFZ InE do not systematically have a small diameter to penicillin G.

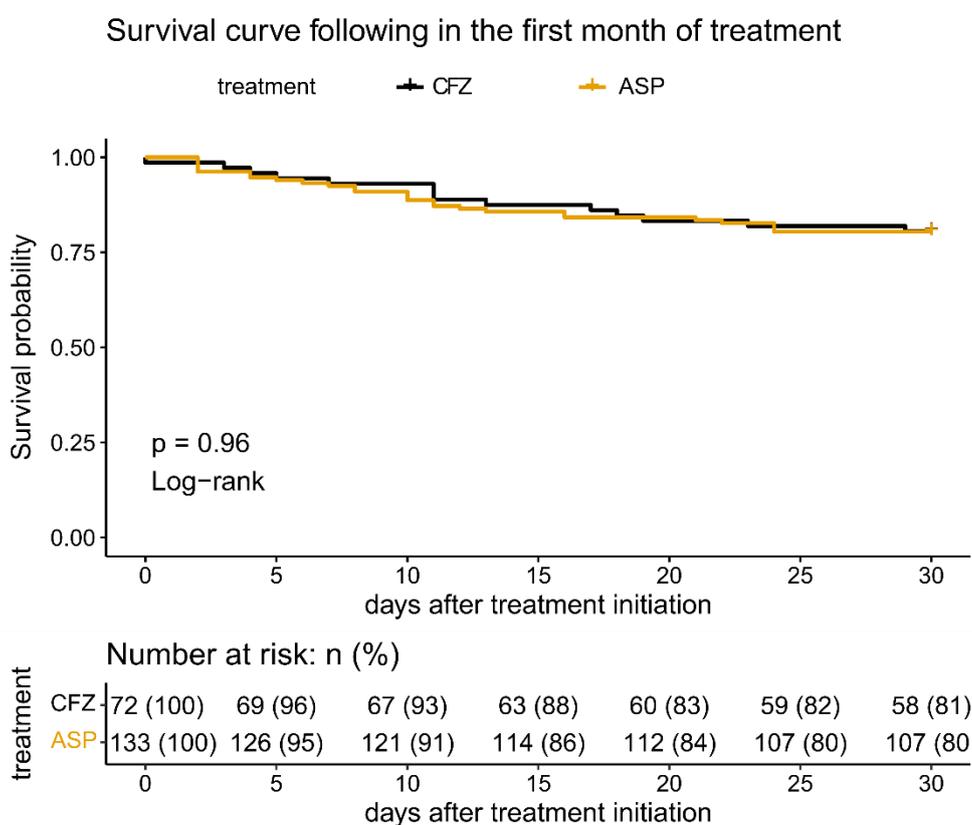
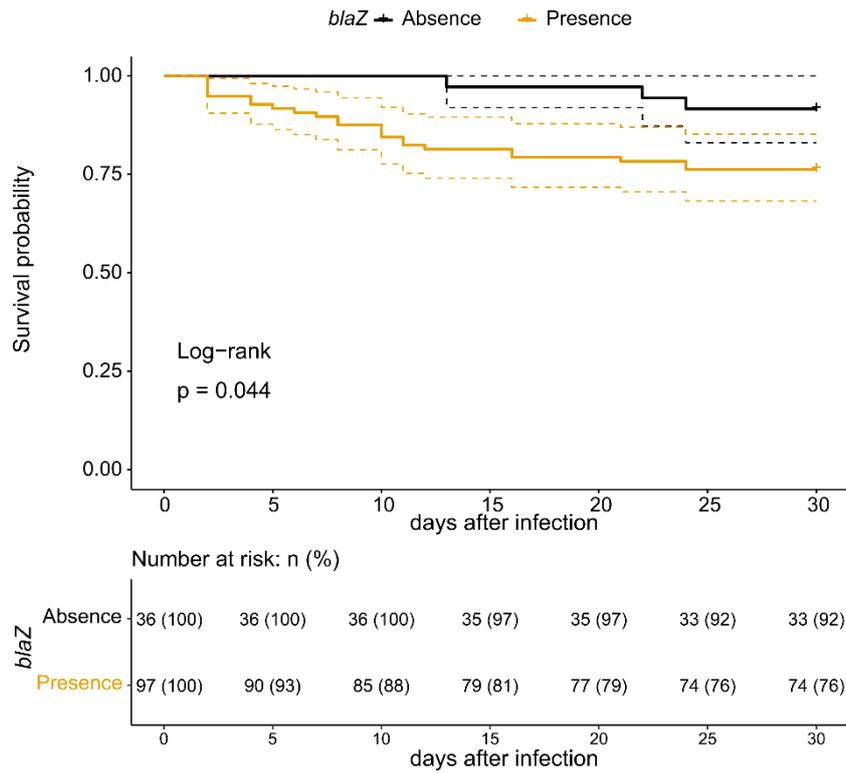


Figure 11: Survival curve according to betalactam received, in orange: anti-staphylococcal penicillin (ASP), in black: Cefazolin (CFZ) (no survival difference, $p = 0.95$, log rank test).

Survival curve following in the first month of treatment by ASP



Survival curve following in the first month of treatment by CFZ

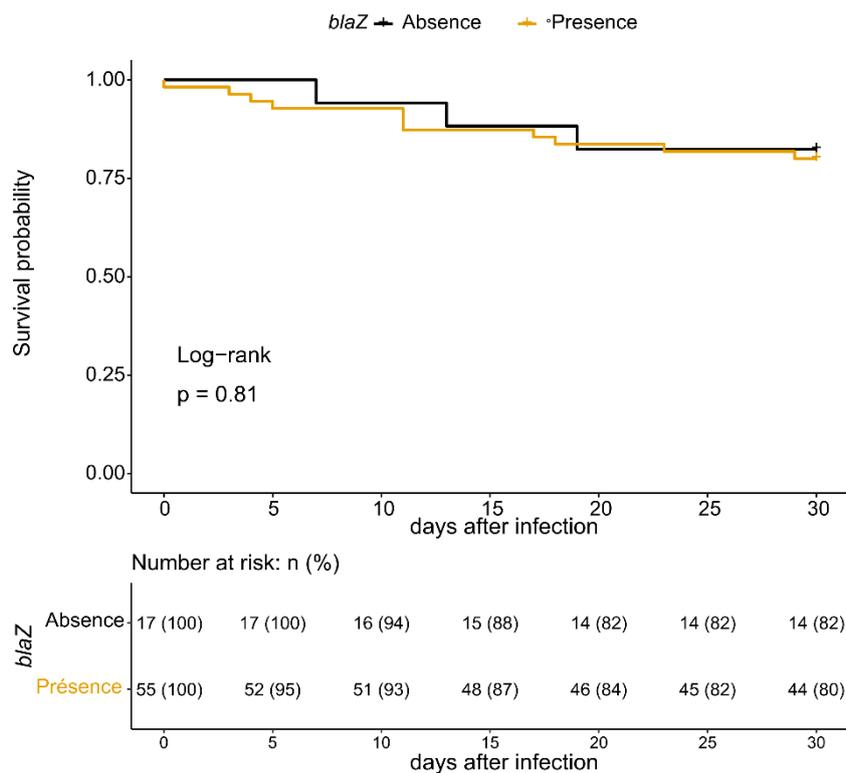


Figure 12: Survival curve according to the presence of *blaZ*, in orange: presence; in black: absence. **To the top:** patients treated with anti-staphylococcal penicillin (ASP). **Below:** patients treated with cefazolin (CFZ).

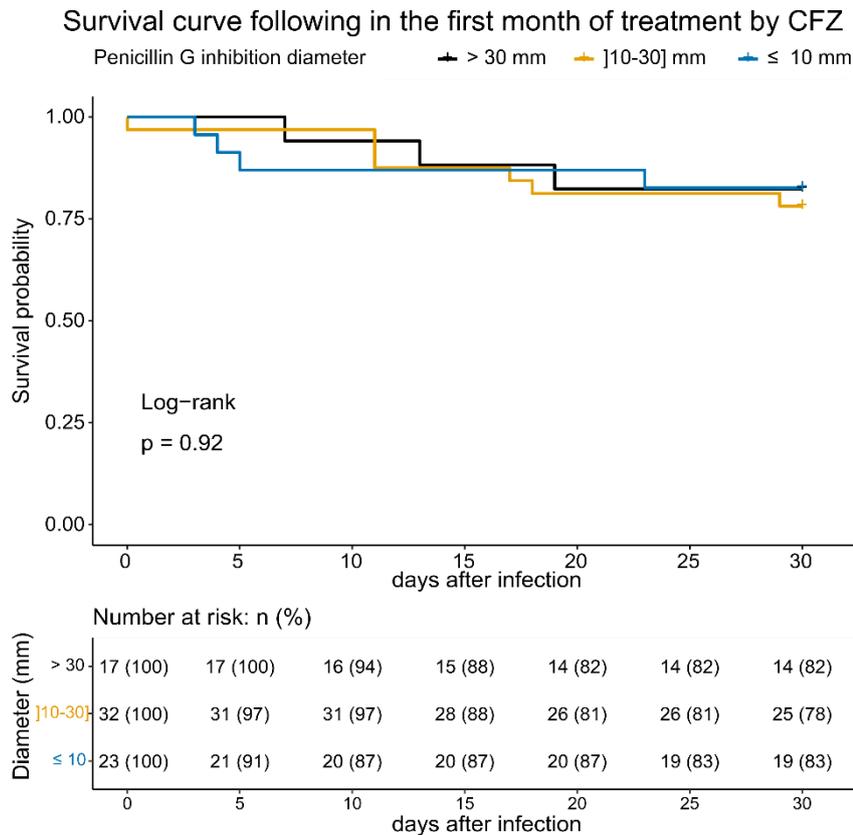
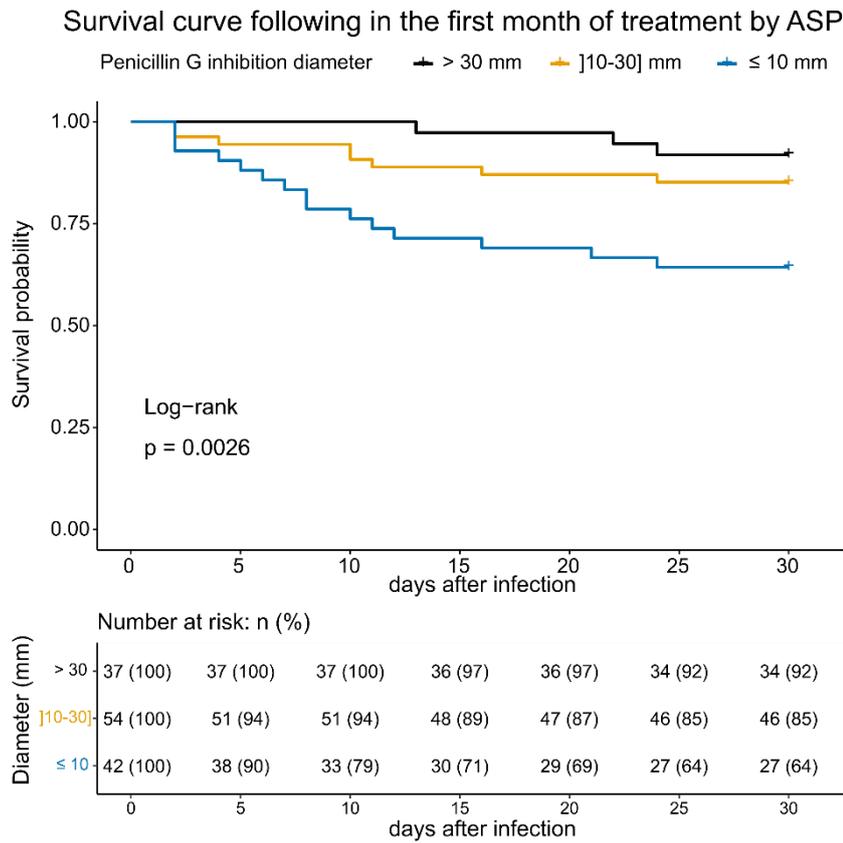
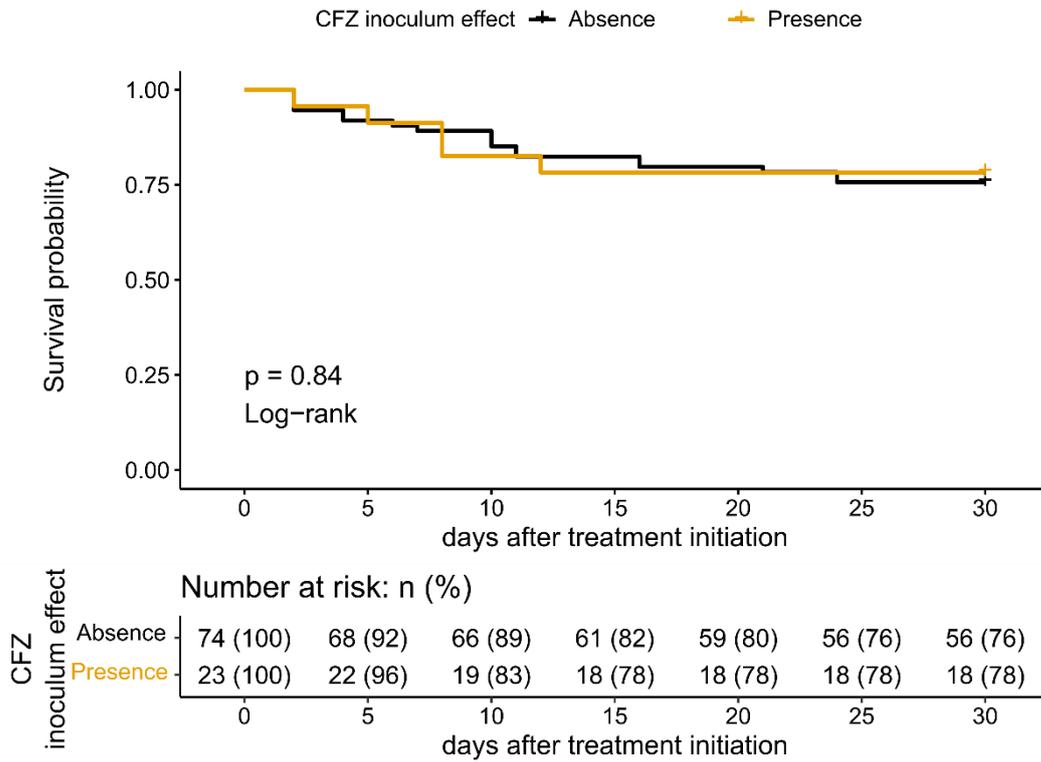


Figure 13: Survival curve according to inhibition diameter around the penicillin G disc, in orange: presence; in black: absence. **To the top:** patients treated with anti-staphylococcal penicillin (ASP). **Bellow:** patients treated with ceftazolin (CFZ).

Survival curve following in the first month of treatment by ASP



Survival curve following in the first month of treatment by CFZ

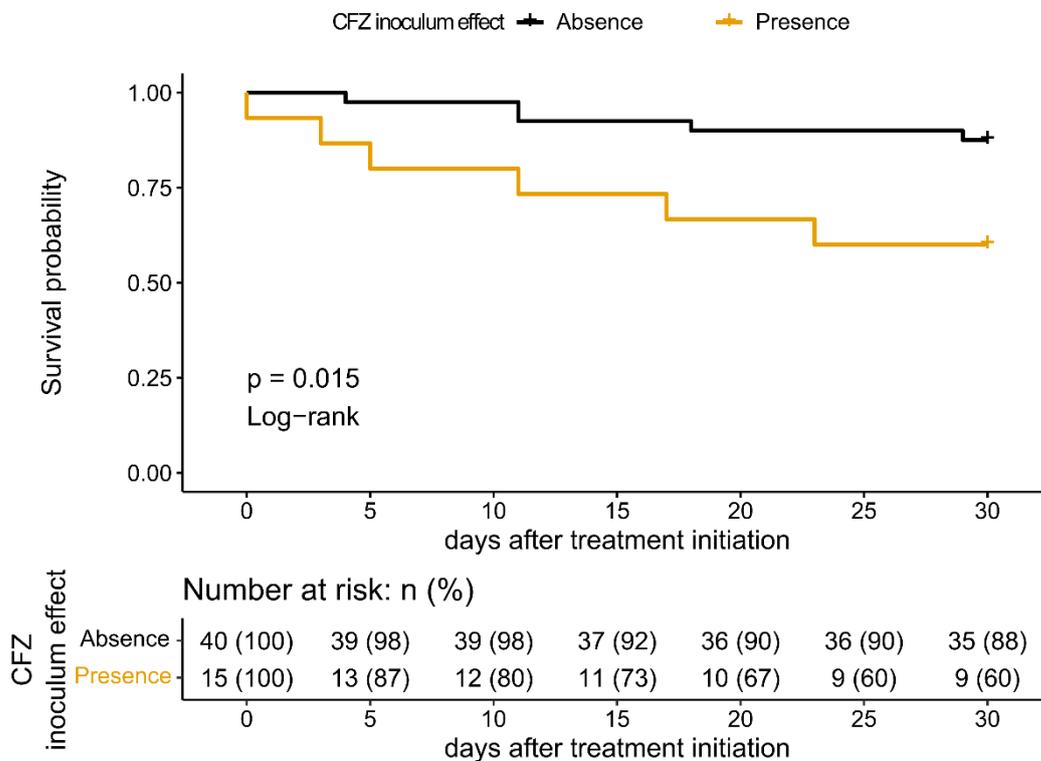


Figure 14: Survival curve according to presence of cefazolin inoculum effect, in orange: presence; in black: absence. **To the top:** in patient treated with anti-staphylococcal penicillin (ASP). **Below:** in patient treated with cefazolin (CFZ).

d. Predictive factors of therapeutic failure in MSSA IE

To better help clinicians assess the prognosis of MSSA IEs, we aimed to develop a predictive score for the risk of treatment failure. We first selected left-heart IEs because of the low mortality of right-heart IEs. Given the influence of betalactam choice on therapeutic outcome, we focused on patients treated with ASP. Death at day 30 was compared in univariate analysis with all the variables collected. **Table 2** summarizes the variables for which the univariate analysis found an association with death at day 30 with $p \leq 0.2$.

In the multivariate model, only the variables “vegetation size category”, “penicillin G size category” and “amine intake” were risk factor and had an increased OR with $p < 0.05$. Interestingly, only the emergency surgery variable was a significant protective factor, with an OR of 0.13 ($p=0.02$) (**table 3**).

The prognostic score for therapeutic success was created from the variables "vegetation size" and "penicillin G diameter" to guide the clinician in determining therapeutic success or failure. The variable "amine intake" was not included in this score, since this data alone is informative about the severity of the initial clinical picture but has little bearing on therapeutic success. These variables were used to create a prognostic score for one-month post-treatment mortality in left valve MSSA IEs treated by ASP. Variables were scored at 0, 1 and 2 points. The score ranges from 0 to 4. A score of 0/4 corresponds to 100% survival and 4/4 to around 50% survival (**figure 15**). This score will have to confirm its clinical relevance in an external cohort.

Table 2: Variable associated with the mortality at day 30 with p value ≤ 0.2 in univariate analysis.

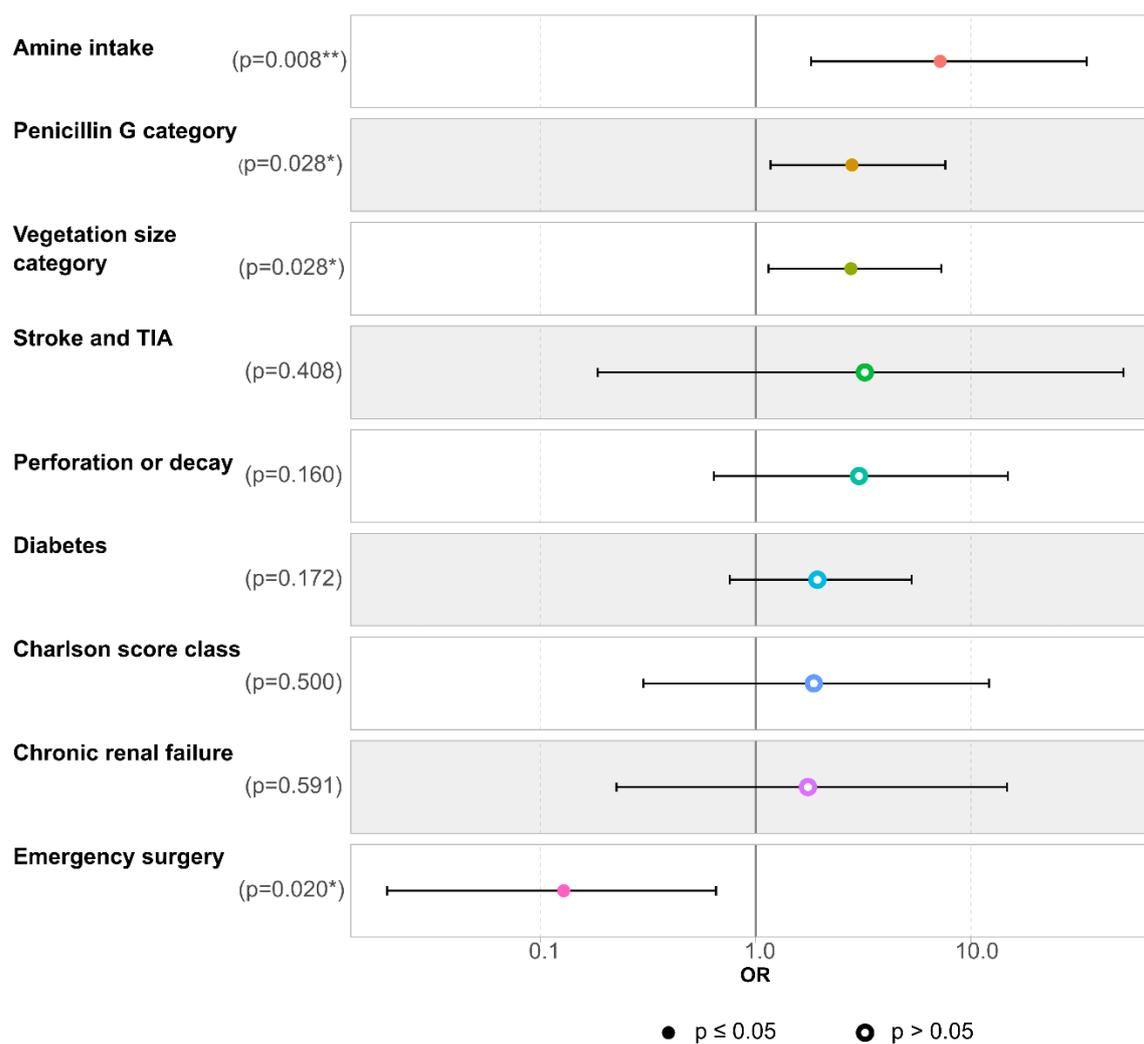
Characteristic	N	OR¹	95% CI¹	p-value
Vegetation size (mm)	92	1.11	1.04, 1.18	0.001
Vegetation size category	119	1.91	1.13, 3.31	0.017
Penicillin G (mm)	119	0.95	0.90, 0.99	0.020
Penicillin G category	119	2.65	1.45, 5.17	0.002
Charlson score (point)	119	1.16	1.01, 1.33	0.036
Charlson score category	119	3.01	1.26, 7.44	0.015
SOFA score	108	1.28	1.14, 1.45	<0.001
Amine intake	103	4.52	1.68, 12.5	0.003
Diabetes	119	1.68	0.93, 3.01	0.080
Stroke and TIA	119	3.71	0.65, 21.2	0.12
Chronic renal failure	119	6.04	1.89, 20.4	0.003
Perforation and decay	119	3.02	1.14, 7.88	0.024
Emergency surgery	119	0.55	0.21, 1.34	0.2
Presence of blaZ	119	4.07	1.29, 18.0	0.031
Rifampicin intake	119	0.00	0.00, +∞	>0.9
grade 2 or 3 ARF	99	2.85	0.68, 10.5	0.13

¹ OR = Odds Ratio, CI = Confidence Interval

Table 3: Multivariate analysis of variable associated with the mortality at day 30 with $p \leq 0.2$

Characteristic	OR ¹	95% CI ¹	p-value
Amine intake	7.19	1.81, 34.5	0.008
Penicillin G category	2.80	1.17, 7.60	0.028
Vegetation size category	2.77	1.15, 7.27	0.028
Stroke and TIA	3.21	0.18, 51.1	0.4
Perforation and decay	3.02	0.64, 14.8	0.2
Diabetes	1.94	0.76, 5.31	0.2
Charlson score category	1.86	0.30, 12.1	0.5
Chronic renal failure	1.75	0.23, 14.7	0.6
Emergency surgery	0.13	0.02, 0.65	0.020

¹ OR = Odds Ratio, CI = Confidence Interval



Point(s)	0	1	2
Vegetation size (mm)	≤ 8]8-15]	> 15
Peni G diameter (mm)	> 30]10-30]	≤ 10

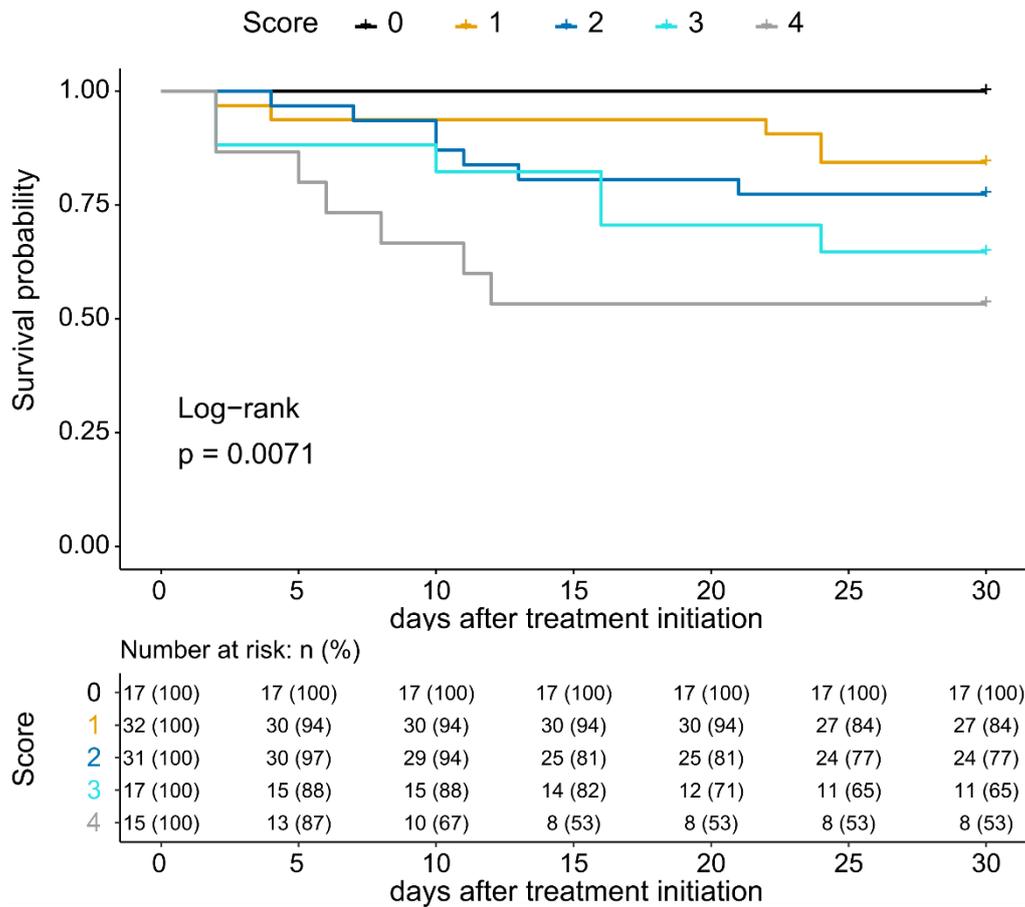


Figure 15: Predictive score for treatment failure in ASP-treated SAMS IEs. Only two items were used to produce this score: the size of the cardiac vegetation and the inhibition diameter around the penicillin G disc.

4. Discussion

MSSA IEs are associated with high mortality whatever the betalactam used. In this cohort, we found a one-month mortality of 20%, most of which occurred in the first 2 weeks (15%). The seriousness of this infection therefore mainly lies in its initial phase, and the question of optimizing the treatment received is therefore crucial.

Firstly, *bla_z* carriage appears to play an important role in the causes of antibiotic failure. Our results show a significant proportion of strains not carrying *bla_z*, about one quarter in the French context, and confirm the results of a previous study showing an increase in the frequency of strains carrying no *bla_z*^{38,39}. There does not appear to be any geographical variation in the distribution of these strains across the 3 French centers. It should be borne in mind, however, that this study focused on strains responsible for IEs, and it would be interesting to investigate *bla_z* carriage in the various infections caused by *S. aureus*.

This data is an interesting finding for therapeutic management. Indeed, discrimination of these strains could enable therapeutic adaptation in patients carrying *bla_z* negative strains, since these strains have much lower MICs to penicillin G than ASP and CFZ²³. In addition to its efficacy, the use of penicillin G has the potential to reduce the ecological impact of prolonged antibiotic therapy for the treatment of IEs.

It would therefore be interesting to be able to determine with certainty which strains are *bla_z* carriers and which are not, for therapeutic and prognostic purposes. The reference diagnostic test remains the sequencing of the *bla_z* gene. However, our study shows a good correlation between molecular biology results and the diameter around the penicillin G disc. All *bla_z* negative strains had a diameter greater than 30mm. Only one MSSA strain carrying type C *bla_z* had a diameter greater than 30mm. This test has shown clinical relevance in identifying MSSA bacteremia that may benefit from penicillin G⁶⁷, and its use in IE could be of interest.

There was no difference in mortality between *bla_z* subtypes. However, it is important to remember that this classification of *bla_z* subtypes is based on the C1G hydrolytic profile. Indeed, in terms of frequency, some subtypes are anecdotic, notably subtype D. In the light of these data, it would be pertinent to study *bla_z* in greater depth to refine its classification and

identify subtypes at risk of therapeutic failure depending on the betalactam used. Some studies have refined the identification of CFZ InE on MSSA strain ⁶⁹.

There was no overall difference in survival between the use of ASP and CFZ. This result is in line with several meta-analyses comparing ASP with CFZ in MSSA bacteraemia ^{54–57}. But there are differences in survival between the ASP and CFZ treatments when the microbiological characteristics of the MSSA strains are taken into account, notably the CFZ InE and the penicillin G susceptibility for ASP. The CFZ InE, found essentially on strains carrying subtype A *bla_Z*, is a predictive factor of therapeutic outcome only in patients who received CFZ. This result also confirms the conclusions of CFZ treatment of MSSA bacteremia ^{51,68}. In contrast, penicillin G susceptibility, as measured by the size of the inhibition diameter around the penicillin G disc, was a predictor of therapeutic success only in patients receiving ASP. However, the strains that had a CFZ InE were not necessarily those with a small inhibition diameter around penicillin G. This data supports the idea of a hydrolytic specificity of *bla_Z*. Indeed, some authors had already demonstrated that the CFZ InE was not linked to the quantity of *bla_Z* produced by the strain ⁷⁰. On the other hand, the inoculum effect is not specific to CFZ, and recent articles have identified an oxacillin inoculum effect in MSSA strains independent of *bla_Z* sub-type ^{52,53}. Moreover, the problem of reduced sensitivity to penicillin reminds the borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA). The resistance of these strains is linked to overexpression of *bla_Z*, which confers resistance to ASP. It would therefore be interesting to study the hydrolytic profile of *bla_Z* and the quantity produced by different strains, both on the bacterial surface and extracellularly. This hypothesis is even more credible as it is known that *bla_Z* expression can be regulated, notably by exposure to betalactam antibiotics ⁴⁵.

The influence of *bla_Z* on therapeutic outcome opens new therapeutic perspectives. On the one hand, we have betalactamase inhibitors such as clavulanic acid, which are effective against *bla_Z*, and the question of adding this molecule to ASP or CFZ antibiotic therapy seems pertinent. On the other hand, our results can partially explain the findings of articles using ertapenem and CFZ in the salvage treatment of persistent MSSA bacteremia⁷¹.

Based on these results, we were able to construct a prognostic score, which predicts mortality in MSSA IEs of the left heart treated by ASP. This score ranges from 0 to 4. The score includes vegetation size and diameter around the penicillin G disc. This criterion is particularly relevant, as it enables us to discriminate between strains with and without *bla_Z*, as well as between strains with *bla_Z* and those most at risk of therapeutic failure. To perform this test, we

used penicillin G disks with 1 IU of penicillin G, which have the advantage to discriminate well *bla_z* positive strains from *bla_z* negative strains. However, the discrimination of the strains most at risk of failure could be increased by using 10 IU disks. It will be necessary to validate this prognostic score on a cohort external to the project to verify its clinical applicability.

Our study has several biases. Firstly, it is a retrospective and observational study. The choice of treatment may have been influenced by the severity of the clinical picture. This bias is counterbalanced by the constrained use of CFZ from 2016 to 2018 during the ASP shortage, which limits the bias between the 2 groups. Despite tri-centric data collection, the number of subjects in subgroup studies remains limited. There is a risk of influence by circulating hospital clones, and a whole genome sequence of the strains would have enabled us to verify this risk. The use of other antibiotics such as rifampicin or aminoglycosides in prosthetic IEs is a possible bias in the comparison of treated groups. With the same idea, the use of surgery and the time to operation may have influenced survival at 1 month of treatment and reduced the proportion of treatment failure.

We have shown the impact of *bla_z* in an infection characterized by a high inoculum. Bacterial inoculum has an impact on antibiotic efficacy, and the therapeutic outcome may differ from the results of in vitro studies. These data on IEs raise the question of this effect on other infections involving biofilm and with high inoculum, such as osteoarticular infections.

In conclusion, our study shows the impact of *bla_z* during MSSA IEs treated with ASP or CFZ. The proportion of *bla_z* negative strains is not negligible. Taken together, these data could enable better-targeted antibiotic adaptation and improve therapeutic success of MSSA IEs. *Bla_z* also appears to be as risk factor for treatment failure and an interesting target for improving the antibiotic sensitivity of strains.

IV. CONCLUSION

Cette étude a confirmé l'impact de *bla_z* dans le traitement d'une EI à SAMS. Cet effet semble dépendre à la fois du profil hydrolytique de l'enzyme et de la quantité d'enzymes produites. L'impact de *bla_z* semble être aussi important que la taille de la végétation cardiaque, qui a déjà été décrite comme un facteur pronostique majeur dans les IE sur valves cardiaques gauches. L'ensemble de ces données nous a permis de construire un score pronostique de survie après un mois de traitement. Après validation externe, ce score pourrait aider le clinicien à mieux évaluer le risque d'échec de l'antibiothérapie et d'influencer la décision d'une chirurgie en urgence.

Nos résultats ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques pour la prise en charge des EI à SAMS. D'une part, la fréquence élevée des souches sensibles à la pénicilline G nous incite à identifier ces souches en pratique clinique, afin d'adapter l'antibiothérapie par pénicilline G. Cet antibiotique a été le premier à être utilisé en pratique clinique, et a démontré son efficacité, sa sécurité et son faible impact écologique. Ce résultat soulève également des questions des facteurs qui ont conduit à l'émergence des souches porteuses de *bla_z* et des facteurs actuels expliquant leur déclin.

Les recommandations récentes de l'ESC préconisent l'utilisation de CFZ ou de PAS en première intention. Notre étude met en évidence des caractéristiques phénotypes des souches bactériennes qui pourraient influencer le choix de la bêtalactamine. Nos résultats soulignent également l'importance d'une bactéricidie rapide. En effet, la plupart des décès surviennent dans les 2 semaines suivant l'initiation antibiotique. Il est donc primordial, dans une EI à *S. aureus*, d'introduire la molécule la plus bactéricide le plus rapidement possible. Nous proposons l'algorithme de le **figure 16** dans le choix de la bêtalactamine de première intention. D'autre part, l'enzyme codée par *bla_z* est une bonne candidate comme nouvelle cible thérapeutique pour renforcer l'effet de la bêtalactamine utilisée. De plus, pour les souches à haut risque d'échec, l'utilisation d'antibiotiques ne faisant pas partie du groupe des bêtalactamines, comme la daptomycine, pourrait être discutée.

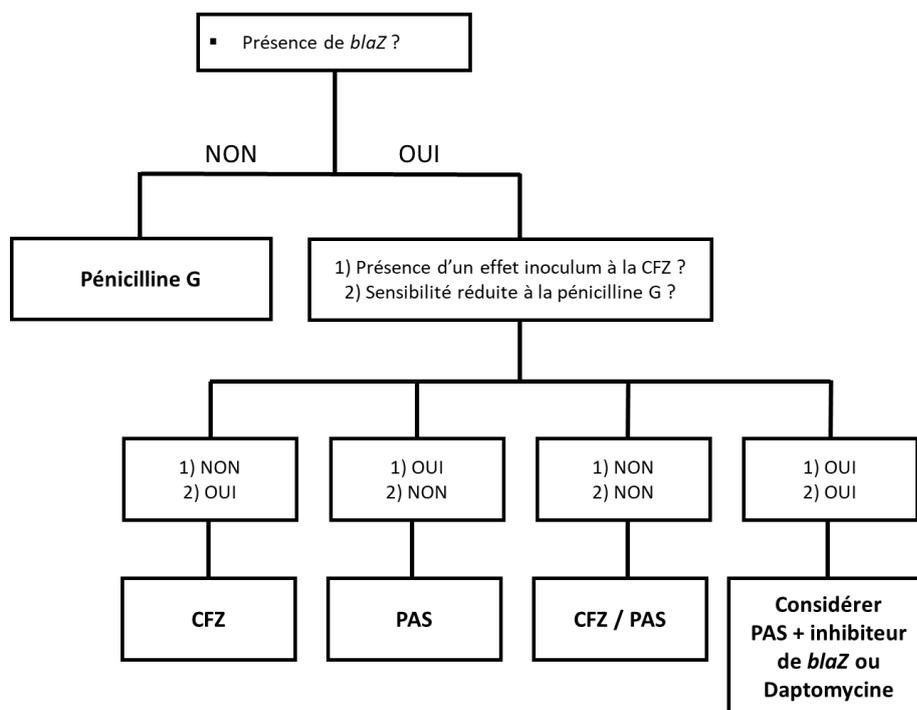


Figure 16 : Proposition d’algorithme de choix de bêta-lactamine après documentation dans une EI à SAMS.

Il persiste cependant la problématique des tests bactériologiques permettant de discerner ces différents profils. Le diamètre d’inhibition à la pénicilline G est un bon test pour discriminer les souches *bla_Z* négatives et pour cibler les souches à risque d’échec thérapeutique sous PAS et peut être réalisé rapidement en routine. En revanche, la réalisation d’une PCR ciblant *bla_Z* ou le test recherchant l’effet inoculum à la CFZ semblent plus complexes à appliquer en routine avec des délais de rendu des résultats plus long perdant l’intérêt d’une adaptation antibiotique.

Enfin, nos résultats soulignent la divergence entre le rendu des résultats *in vitro* et la clinique du patient au décours d’une EI à SAMS. Cette variabilité est, en partie, due à l’inoculum bactérien particulièrement important dans cette infection et à une pénétration réduite de l’antibiotique au niveau du site d’action. En effet, dans la bactériémie primaire à SAMS, l’antibiotique n’a pas de barrière physique à franchir et l’inoculum bactérien est faible dans le secteur vasculaire. Une végétation cardiaque, en revanche, s’apparente à un biofilm que les molécules antibiotiques peuvent difficilement pénétrer. Cet obstacle est suivi d’une interaction avec les bêta-lactamases codées par *bla_Z*, tant au niveau extracellulaire qu’au niveau de la paroi bactérienne. L’inoculum bactérien au sein de la végétation étant majeur, nous expliquons les échecs thérapeutiques par un déséquilibre entre des concentrations d’antibiotiques trop faibles pour atteindre adéquatement les PLP à la surface des bactéries et des mécanismes de défense bactériens fortement concentrés au sein de la végétation (**figure 17**).

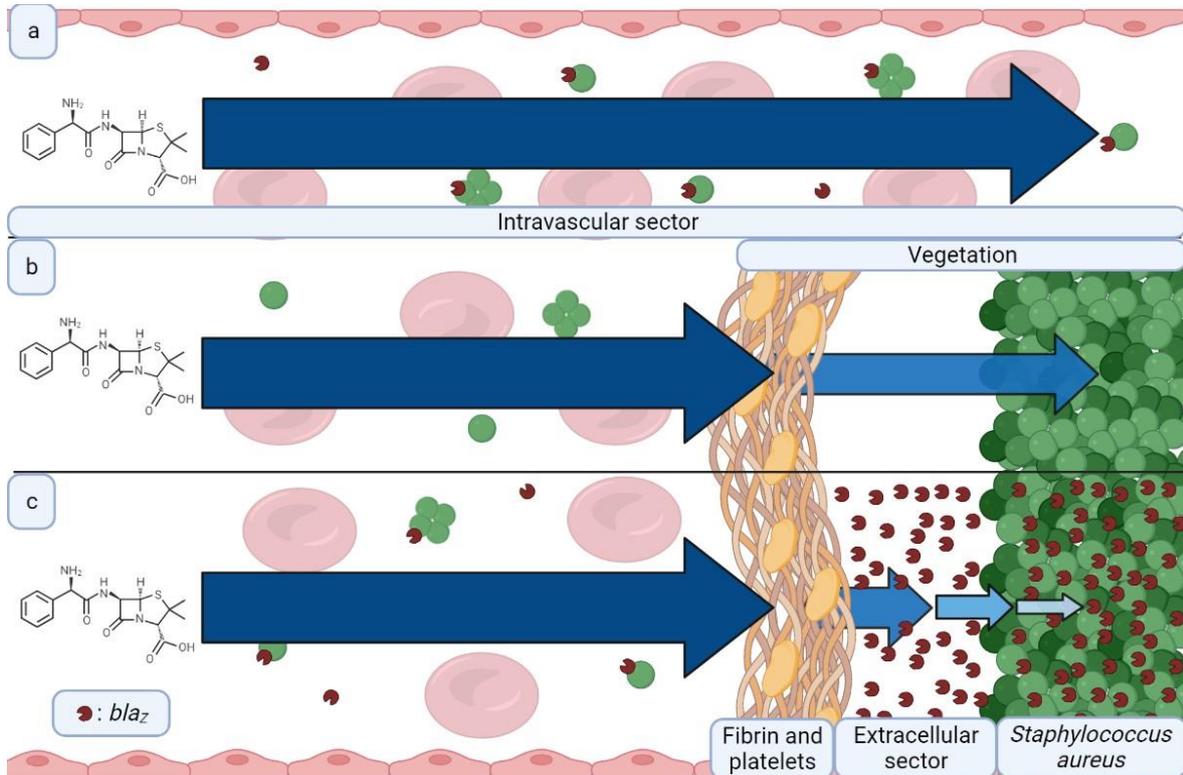


Figure 17 : Action de la bêtalactamine après une infection invasive à SAMS. **a :** bactériémie à SAMS *bla_z* positif. **b :** endocardite infectieuse à SAMS *bla_z* négatif. **c :** endocardite infectieuse à SAMS *bla_z* positif.

le 11/09/2023
 Vu et permis d'imprimer
 Le Président de l'Université Toulouse III – Paul Sabatier
 Faculté de Santé
 Par délégation,
 La Doyenne-Directrice
 Du Département de Médecine, Maïeutique, Paramédical
 Professeure Odile RAUZY

[Signature]

Le Président du jury,

[Signature]
 Professeur Pierre DELOBEL
 HPPS : 10004286842
 Service des Maladies Infectieuses et Tropicales
 CHU de Toulouse - Hôpital Purpan
 Place Baylac - TSA 40031
 31059 TOULOUSE Cedex 9
 Tél. 05 61 77 75 08 - Fax 05 61 77 21 38

V. BIBLIOGRAPHIE

1. Sung, J. M. L., Lloyd, D. H. & Lindsay, J. A. Staphylococcus aureus host specificity: comparative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray. *Microbiology (N Y)* **154**, 1949–1959 (2008).
2. Mehraj, J. *et al.* Epidemiology of Staphylococcus aureus nasal carriage patterns in the community. *Curr Top Microbiol Immunol* **398**, 55–87 (2016).
3. Uslan, D. Z. *et al.* Age- and Sex-Associated Trends in Bloodstream Infection: A Population-Based Study in Olmsted County, Minnesota. *Arch Intern Med* **167**, 834–839 (2007).
4. Selton-Suty, C. *et al.* Preeminence of staphylococcus aureus in infective endocarditis: A 1-year population-based survey. *Clinical Infectious Diseases* vol. 54 1230–1239 Preprint at <https://doi.org/10.1093/cid/cis199> (2012).
5. Slipczuk, L., Codolosa, J. N., Davila, C. D., Romero-Corral, A. & Yun, J. Infective Endocarditis Epidemiology Over Five Decades: A Systematic Review. *PLoS One* **8**, 82665 (2013).
6. Hill, E. E. *et al.* Clinical and echocardiographic risk factors for embolism and mortality in infective endocarditis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **27**, 1159–1164 (2008).
7. Fedeli, U., Schievano, E., Buonfrate, D., Pellizzer, G. & Spolaore, P. Increasing incidence and mortality of infective endocarditis: And population-based study through a record-linkage system. *BMC Infect Dis* **11**, (2011).
8. Marques, A. *et al.* Risk factors for in-hospital mortality in infective endocarditis. *Arq Bras Cardiol* **114**, 1–8 (2020).
9. Fowler, V. G. *et al.* The 2023 Duke-ISCVID Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria. *Clin Infect Dis* (2023) doi:10.1093/cid/ciad271.
10. Tubiana, S. *et al.* The VIRSTA score, a prediction score to estimate risk of infective endocarditis and determine priority for echocardiography in patients with Staphylococcus aureus bacteremia. *Journal of Infection* **72**, 544–553 (2016).

11. Palraj, B. R. *et al.* Predicting risk of endocarditis using a clinical tool (PREDICT): Scoring system to guide use of echocardiography in the management of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clinical Infectious Diseases* **61**, 18–28 (2015).
12. Kahn, F. *et al.* Time to blood culture positivity in *Staphylococcus aureus* bacteraemia to determine risk of infective endocarditis. *Clinical Microbiology and Infection* **27**, 1345.e7-1345.e12 (2021).
13. Nieman, A. E., Rozemeijer, W., Savelkoul, P. H. M. & Schade, R. P. Bacterial DNA load in *Staphylococcus aureus* bacteremia is significantly higher in intravascular infections. *PLoS One* **17**, (2022).
14. Iung, B. Infective endocarditis. Epidemiology, pathophysiology and histopathology. *Presse Medicale* vol. 48 513–521 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.04.009> (2019).
15. Nienaber, J. J. C. *et al.* Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Endocarditis Isolates Are Associated With Clonal Complex 30 Genotype and a Distinct Repertoire of Enterotoxins and Adhesins. doi:10.1093/infdis/jir389.
16. Costerton, J. W., Stewart, P. S. & Greenberg, E. P. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science* vol. 284 1318–1322 Preprint at <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318> (1999).
17. Flemming, H. C. & Wingender, J. The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* vol. 8 623–633 Preprint at <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415> (2010).
18. Nannini, E. C., Singh, K. V., Arias, C. A. & Murray, B. E. In vivo effects of cefazolin, daptomycin, and nafcillin in experimental endocarditis with a methicillin-susceptible *staphylococcus aureus* strain showing an inoculum effect against cefazolin. *Antimicrob Agents Chemother* **57**, 4276–4281 (2013).
19. Fernández Guerrero, M. L., Álvarez, B., Manzarbeitia, F. & Renedo, G. Infective endocarditis at autopsy: A review of pathologic manifestations and clinical correlates. *Medicine* vol. 91 152–164 Preprint at <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e31825631ea> (2012).
20. Vincent, L. L. & Otto, C. M. Infective Endocarditis: Update on Epidemiology, Outcomes, and Management. *Current Cardiology Reports* vol. 20 Preprint at <https://doi.org/10.1007/s11886-018-1043-2> (2018).

21. Chambers, H. F. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg Infect Dis* **7**, 178–182 (2001).
22. Marcy, S. M. & Klein, J. O. The isoxazolyl penicillins: oxacillin, cloxacillin, and dicloxacillin. *Med Clin North Am* **54**, 1127–1143 (1970).
23. Gudiol, C., Cuervo, G., Shaw, E., Pujol, M. & Carratalà, J. Pharmacotherapeutic options for treating *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* vol. 18 1947–1963 Preprint at <https://doi.org/10.1080/14656566.2017.1403585> (2017).
24. McConeghy, K. W., Bleasdale, S. C. & Rodvold, K. A. The empirical combination of vancomycin and a β -lactam for staphylococcal bacteremia. *Clinical Infectious Diseases* **57**, 1760–1765 (2013).
25. Pries-Heje, M. M. *et al.* Five-Year Outcomes of the Partial Oral Treatment of Endocarditis (POET) Trial. *New England Journal of Medicine* **386**, 601–602 (2022).
26. Delgado, V. *et al.* 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *Eur Heart J* (2023) doi:10.1093/eurheartj/ehad193.
27. Lebeaux, D., Fernández-Hidalgo, N., Pilmis, B., Tattevin, P. & Mainardi, J. L. Aminoglycosides for infective endocarditis: time to say goodbye? *Clinical Microbiology and Infection* vol. 26 723–728 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.10.017> (2020).
28. Ryder, J. H. *et al.* Deconstructing the Dogma: Systematic Literature Review and Meta-analysis of Adjunctive Gentamicin and Rifampin in Staphylococcal Prosthetic Valve Endocarditis. *Open Forum Infect Dis* **9**, (2022).
29. Le Bot, A. *et al.* Is rifampin use associated with better outcome in staphylococcal prosthetic valve endocarditis? A multicenter retrospective study. doi:10.1093/cid/ciaa1040/5876044.
30. Campbell, P. O. *et al.* Frequency of pharmacological target attainment with flucloxacillin and cefazolin in invasive methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infection: a prospective cohort study in hospitalized patients. *Int J Antimicrob Agents* **61**, (2023).
31. Walker, S. E., Dufour, A. & Iazzetta, J. *Concentration and Solution Dependent Stability of Cloxacillin Intravenous Solutions*. vol. 51 (1998).

32. Loeuille, G. *et al.* Stability Studies of 16 Antibiotics for Continuous Infusion in Intensive Care Units and for Performing Outpatient Parenteral Antimicrobial Therapy. *Antibiotics* **11**, (2022).
33. Privitera, G. *et al.* Prospective Study of *Clostridium difficile* Intestinal Colonization and Disease following Single-Dose Antibiotic Prophylaxis in Surgery. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY* vol. 35 (1991).
34. Baddour, L. M. *et al.* Infective endocarditis in adults: Diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: A scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* vol. 132 1435–1486 Preprint at <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000296> (2015).
35. Radouane, A., Péhourcq, F., Tramu, G., Creppy, E. E. & Bannwarth, B. Influence of lipophilicity on the diffusion of cephalosporins into the cerebrospinal fluid. *Fundam Clin Pharmacol* **10**, 309–313 (1996).
36. Le Turnier, P. *et al.* Should we reconsider cefazolin for treating staphylococcal meningitis? A retrospective analysis of cefazolin and cloxacillin cerebrospinal fluid levels in patients treated for staphylococcal meningitis. *Clinical Microbiology and Infection* **26**, 1415.e1-1415.e4 (2020).
37. Grégoire, M. *et al.* High-dosage cefazolin achieves sufficient cerebrospinal diffusion to treat an external ventricular drainage-related staphylococcus aureus ventriculitis. *Antimicrob Agents Chemother* **63**, (2019).
38. Jin, Y. *et al.* Genomic epidemiology and characterisation of penicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* isolates from invasive bloodstream infections in China: an increasing prevalence and higher diversity in genetic typing be revealed. *Emerg Microbes Infect* **11**, 326–336 (2022).
39. Chabot, M. R., Stefan, M. S., Friderici, J., Schimmel, J. & Larioza, J. Reappearance and treatment of penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a tertiary medical centre. *J Antimicrob Chemother* **70**, 3353–3356 (2015).
40. Kishan Voladri, R. R., Kernodle, D. S. & Pont, D. Characterization of a Chromosomal Gene Encoding Type B-Lactamase in Phage Group II Isolates of *Staphylococcus aureus*. **42**, 3163–3168 (1998).
41. Kernodle, D. S., McGraw, P. A., Stratton, C. W. & Kaiser, A. B. Use of Extracts versus Whole-Cell Bacterial Suspensions in the Identification of *Staphylococcus aureus* β -Lactamase Variants. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY* vol. 34 (1990).

42. Bourreau, A., Le Mabecque, V., Broquet, A. & Caillon, J. Prevalence of a cefazolin inoculum effect associated with blaZ gene types, and clinical outcomes among methicillin-susceptible Staphylococcus aureus blood isolates of patients with infective endocarditis. *Infect Dis Now* **53**, (2023).
43. Trouillet-Assant, S. *et al.* Methicillin-susceptible strains responsible for postoperative orthopedic infection are not selected by the use of cefazolin in prophylaxis. *Diagn Microbiol Infect Dis* **84**, 266–267 (2016).
44. Song, K. H. *et al.* Characteristics of cefazolin inoculum effect-positive methicillin-susceptible staphylococcus aureus infection in a multicentre bacteraemia cohort. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **36**, 285–294 (2017).
45. Clarke, S. R. & Dyke, K. G. H. *The signal transducer (BlaRI) and the repressor (BlaI) of the Staphylococcus aureus β -lactamase operon are inducible.* *Microbiology* vol. 147 (2001).
46. Lee, J. *et al.* Staphylococcus aureus extracellular vesicles carry biologically active β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* **57**, 2589–2595 (2013).
47. Skov, R. *et al.* Evaluation of methods for detection of β -lactamase production in MSSA. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **76**, 1487–1494 (2021).
48. Skov, R. *et al.* Evaluation of methods for detection of β -lactamase production in MSSA. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **76**, 1487–1494 (2021).
49. Richmond, M. H. Wild-Type Variants of Exopenicillinase from Staphylococcus aureus. *Biochem. J* **94**, 584 (1965).
50. Rincon, S. *et al.* A Test for the Rapid Detection of the Cefazolin Inoculum Effect in Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus. *J Clin Microbiol* **59**, (2021).
51. Nannini, E. C. *et al.* Inoculum effect with cefazolin among clinical isolates of methicillin-susceptible Staphylococcus aureus: Frequency and possible cause of cefazolin treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother* **53**, 3437–3441 (2009).
52. Song, K. H. *et al.* Inoculum effect of methicillin-susceptible Staphylococcus aureus against broad-spectrum beta-lactam antibiotics. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **38**, 67–74 (2019).

53. George, C. R. R., Lahra, M. M., Nguyen, T. & Gatus, B. Disc Test for Detecting *Staphylococcus aureus* Strains Producing Type A and Type C β -Lactamases. *Microbiol Spectr* (2023) doi:10.1128/spectrum.00220-23.
54. Bidell, M. R., Patel, N. J. & O'Donnell, N. Optimal treatment of MSSA bacteraemias: a meta-analysis of cefazolin versus antistaphylococcal penicillins. *J Antimicrob Chemother* **73**, 2643–2651 (2018).
55. Rindone, J. P. & Mellen, C. K. Meta-analysis of trials comparing cefazolin to antistaphylococcal penicillins in the treatment of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Br J Clin Pharmacol* **84**, 1258–1266 (2018).
56. Lee, B. J. *et al.* Cefazolin vs. anti-staphylococcal penicillins for treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in acutely ill adult patients: Results of a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* **53**, 225–233 (2019).
57. Weis, S. *et al.* Cefazolin versus anti-staphylococcal penicillins for the treatment of patients with *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin Microbiol Infect* **25**, 818–827 (2019).
58. Burdet, C. *et al.* Efficacy of cloxacillin versus cefazolin for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteraemia (CloCeBa): Study protocol for a randomised, controlled, non-inferiority trial. *BMJ Open* **8**, (2018).
59. Potel, G., Montassier, E. & Batard, E. Céfazoline : une alternative à la cloxacilline ? *Journal des Anti-Infectieux* vol. 18 182–186 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2016.09.001> (2016).
60. Li, J., Echevarria, K. L. & Traugott, K. A. β -Lactam Therapy for Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Comparative Review of Cefazolin versus Antistaphylococcal Penicillins Running title: Cefazolin vs Antistaphylococcal Penicillins for MSSA Bacteremia. doi:10.1111/j.1875-9114.2016.01892.x.
61. Fernández-Guerrero, M. L. & De Górgolas, M. *Cefazolin Therapy for Staphylococcus aureus Bacteremia*. <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/41/1/127/324467>.
62. Lefèvre, B. *et al.* Antistaphylococcal penicillins vs. cefazolin in the treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infective endocarditis: a quasi-experimental monocentre study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **40**, 2605–2616 (2021).

63. Lecomte, R. *et al.* Comparative outcomes of cefazolin versus antistaphylococcal penicillins in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infective endocarditis: a post hoc analysis of a prospective multicentre French cohort study. *Clinical Microbiology and Infection* **27**, 1015–1021 (2021).
64. Thomas, P. M., Deming, M. A. & Sarkar, A. β -Lactamase Suppression as a Strategy to Target Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Proof of Concept. *ACS Omega* **7**, 46213–46221 (2022).
65. Moriyama, Y., Ishikane, M., Mezaki, K. & Ohmagari, N. Comparison of penicillins (penicillin G and ampicillin) and cefazolin as a definitive therapy against penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (PSSA) bacteremia in Japan: a retrospective cohort study. *Journal of Infection and Chemotherapy* **26**, 358–362 (2020).
66. Reynolds, G., Crawford, S., Cuenca, J., Ghosh, N. & Newton, P. Penicillin versus anti-staphylococcal beta-lactams for penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* blood stream infections: a retrospective cohort study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **41**, 147–151 (2022).
67. Mok, H. T. *et al.* Treatment outcomes with benzylpenicillin and non-benzylpenicillin antibiotics, and the performance of the penicillin zone-edge test versus molecular detection of *blaZ* in penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (PSSA) bacteraemia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2023) doi:10.1093/jac/dkad263.
68. Miller, W. R. *et al.* Open Forum Infectious Diseases Impact and Mechanism of the Cephalosporin Inoculum Effect in MSSA Infections • OFID • 1 Open Forum Infectious Diseases ® The Cefazolin Inoculum Effect Is Associated With Increased Mortality in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia. doi:10.1093/ofid/ofy123.
69. Lee, S. H. *et al.* Association between Type A *blaZ* Gene Polymorphism and Cefazolin Inoculum Effect in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*. (2016) doi:10.1128/AAC.01517-16.
70. Lee, S. H. *et al.* Association between type A *blaZ* gene polymorphism and cefazolin inoculum effect in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* **60**, 6928–6932 (2016).
71. Ulloa, E. R. *et al.* Cefazolin and ertapenem salvage therapy rapidly clears persistent methicillin-susceptible *staphylococcus aureus* bacteremia. *Clinical Infectious Diseases* **71**, 1413–1418 (2020).

Impact de *bla_Z* dans le traitement des endocardites infectieuses à *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline

RESUME EN FRANÇAIS :

L'endocardite infectieuse à *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline (SAMS) est une infection grevée d'une lourde mortalité. Les pénicillines anti staphylococciques et la céfazoline sont généralement les bêtalactamines utilisées dans le traitement de cette infection. Actuellement la majeure partie des souches responsables d'infection chez l'homme sont porteuses d'une bêtalactamase codée par le gène *bla_Z*. Il existe quatre sous-types de *bla_Z* différenciés par leur capacité hydrolytique des céphalosporines de première génération. Une première partie descriptive de cette étude s'est intéressée à l'épidémiologie de *bla_Z* dans l'endocardite infectieuse à SAMS en France. Une seconde partie explicative s'est intéressée à rechercher un lien entre la mortalité à un mois d'une endocardite infectieuse à SAMS et le portage de *bla_Z*. Les caractéristiques phénotypiques des souches dues à cette bêtalactamase ont été corrélés à la mortalité à 1 mois dans les sous-groupes de traitement céfazoline et pénicillines anti-staphylococciques. Suivant ces résultats, un score prédictif d'échec thérapeutique a été réalisé en intégrant les facteurs microbiologiques et pathologiques prédictifs d'un décès à un mois de traitement.

TITRE EN ANGLAIS: Impact of *bla_Z* in the treatment of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* infective endocarditis.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Maladies infectieuses et tropicales

MOTS-CLÉS : endocardite infectieuse, *Staphylococcus aureus*, bêtalactamase, *bla_Z*, effet inoculum, céfazoline, pénicilline M, cloxacilline, oxacilline, pénicilline anti staphylococcique.

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Pr Pierre DELOBEL