



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

 www.em-consulte.com



MICROBIOLOGIE

Synergie et antagonisme en antibiothérapie

Antibiotic synergy and antagonism

É. Denes^{a,*}, N. Hidri^b

^a Service de maladies infectieuses et tropicales, CHU Dupuytren, 2, avenue Martin-Luther-King, 87000 Limoges, France

^b Laboratoire de bactériologie-virologie-hygiène, CHU Dupuytren, 87000 Limoges, France

MOTS CLÉS

Synergie ;
 Antagonisme ;
 Antibiotique ;
 Association ;
 Endocardite ;
 Aminoglycoside ;
 β-lactamine ;
 Clindamycine

KEYWORDS

Synergy;
 Antagonism;
 Antibiotic;
 Association;
 Endocarditis;
 Aminoglycoside;

Résumé

Objectif. — Faire le point sur les concepts de synergie et d'antagonisme lors de l'utilisation d'une association d'antibiotiques.

Méthode. — Revue de la littérature sur les aspects in vitro et in vivo de la synergie et de l'antagonisme.

Discussion. — La synergie et l'antagonisme peuvent se voir de différentes façons : du point de vue du bactériologiste avec des définitions bien claires ou du point de vue du clinicien qui va rechercher une efficacité accrue du traitement. Cela entraîne des divergences sur la ou les définitions à retenir. Parallèlement, alors qu'il existe des certitudes sur l'aspect in vitro, peu d'études cliniques ont validé ces notions de l'association in vivo. Les cliniciens ont transposé des résultats bruts, sans toujours avoir démontré l'intérêt pour le patient. Alors que, sur la paillasse, l'association est antagoniste, il ne semble pas y avoir de conséquence clinique. Pour certaines associations, même les résultats in vitro sont discordants entre différentes équipes.

Conclusion. — En essayant de faire le point sur cette question de tous les jours, on s'aperçoit qu'il n'existe que peu de certitudes. Cela doit renforcer le lien entre les bactériologistes et les cliniciens, en particulier lors de l'utilisation d'association inhabituelle mais aussi pour la l'indication et l'interprétation des tests in vitro, qui pourraient avoir une conséquence sur la prise en charge du patient.

© 2009 Publié par Elsevier Masson SAS.

Summary

Objective. — Update on synergy and antagonism when using antibiotics combination.

Method. — Review of the literature about in vitro and in vivo aspects of the subject.

Discussion. — The point of view about synergy and antagonism may vary. For the bacteriologist, definitions are simple. For the practitioner, definitions are less clear and the goal is to be more efficient for the patient. So there are divergences about what's the right definition. Moreover, even though there are certitudes for in vitro studies, only some clinical studies demonstrated synergism or antagonism in vivo. Clinicians extrapolate raw results, even without clear demonstration of an advantage for the patient. Moreover, conflicting results may occur between in vitro and in vivo data. For example, an association may be antagonistic in vitro but without

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : e.denes@free.fr (É. Denes).

Beta-lactam;
Clindamycin

consequence for patients. For some combinations, in vitro results can be conflicting between different teams.

Conclusion. — While trying to make this update, we noticed that for such an every day question, only little certainty exists. These doubts must strengthen the links between bacteriologists and clinicians, particularly for the use of an unusual combination, but also when there is a need for a test which could have a consequence on patients' care.

© 2009 Published by Elsevier Masson SAS.

Introduction

Lors de la prescription d'une antibiothérapie, une des questions est « dois-je prescrire un ou plusieurs antibiotiques ? ». Implicitement, on peut penser que prescrire une association d'antibiotiques sera plus bénéfique pour le patient. En réalité, ce n'est pas toujours le cas. Pire, l'association peut parfois être délétère, car annihilant l'effet escompté. Les concepts de synergie et d'antagonisme sont des notions relativement vieilles, antérieures à la découverte des antibiotiques. En 1872, Fraser mettait en avant l'action antagoniste de l'« Atropia » sur l'effet létal de la *Physostigma* chez le lapin (atropine et éserine) [1]. Il ne s'agissait pas d'antibiotiques, mais il posait les bases d'un antagonisme entre deux molécules. En matière d'antibiothérapie, les premières constatations d'une interaction entre deux antibiotiques datent des années 1950, avec les travaux de Gunnison et al., et Jawetz et Gunnison qui ont défini les interactions comme synergiques, antagonistes ou additives [2–4].

Aujourd'hui, les notions de synergie et d'antagonisme peuvent être envisagées selon le regard du microbiologiste ou du clinicien. Le premier va les définir en terme de concentration minimale inhibitrice (CMI) ou bactéricide (CMB), avec des effets mesurés in vitro, le second en terme de guérison du patient ou d'échec clinique. Ces dernières peuvent être cohérentes avec les résultats obtenus in vitro mais aussi les contredire. De même, ces tests in vitro peuvent difficilement préjuger des effets annexes des antibiotiques, tels que l'inhibition de la synthèse de toxines bactériennes.

Le propos de cette revue n'est pas de dresser une liste exhaustive de toutes les associations d'antibiotiques synergiques ou antagonistes, mais de se focaliser sur les aspects in vitro et in vivo les plus représentatifs du sujet.

Pourquoi utiliser une association d'antibiotiques ?

Lors de la décision d'antibiothérapie, on peut être amené à choisir une association d'antibiotiques pour trois principales raisons :

- l'obtention d'un spectre antibactérien plus large ;
- la prévention de la sélection de germes résistants ;
- l'augmentation de la vitesse de bactéricidie via une synergie d'action.

L'élargissement du spectre s'envisage lorsqu'une infection est potentiellement polymicrobienne ou chez des patients fragiles, atteints d'une infection sévère, d'insuffisance d'organes, néoplasies, etc. Cette attitude est valable,

par exemple, lors des infections intra-abdominales qui sont classiquement polymicrobiennes [5,6]. L'association permettra de couvrir tous les germes éventuellement en cause, ce qui ne pourrait être fait avec un seul antibiotique. Par ailleurs, pour les patients fragiles, il faut rapidement couvrir toutes les espèces potentiellement en cause, dans l'attente des résultats microbiologiques. Cela évite de perdre du temps, ce qui pourrait être délétère pour ce type de patients.

En ce qui concerne la prévention de l'émergence de mutants résistants, tout découle du fait qu'il peut exister au sein d'une population bactérienne un certain nombre de germes qui possèdent, avant la mise en route d'un traitement antibiotique, une (des) mutation(s) susceptible(s) de leur conférer une résistance au traitement. L'utilisation de cet antibiotique sur cette population va sélectionner les bactéries chez qui préexiste déjà la mutation et entraîner l'émergence, à partir de ces germes, d'une population résistante à l'antibiotique utilisé. La prescription d'une association d'antibiotiques permet de diminuer l'émergence de ces mutants résistants, comme par exemple dans la tuberculose. En effet, la probabilité de sélectionner des mutants résistants aux deux antibiotiques au cours d'une association est à peu près égale au produit des probabilités de mutation de résistance pour chaque molécule [7].

Dans certaines situations cliniques, il est nécessaire d'obtenir une bactéricidie rapide, soit parce que le système immunitaire n'a pas d'action sur le tissu infecté comme dans l'endocardite, soit parce que les défenses immunitaires du patient sont inexistantes (aplasie fébrile) ou dépassées (choc septique). Dans ces situations cliniques sévères, l'association d'antibiotiques est prescrite afin d'obtenir une synergie, c'est-à-dire que l'effet de l'association est supérieur à l'effet de chaque antibiotique considéré séparément.

Toutes les associations ne sont pas synergiques et de plus la synergie n'est pas exclusivement recherchée au cours d'une combinaison, comme par exemple lors de l'élargissement du spectre antibactérien.

Définitions

En bactériologie, les associations d'antibiotiques sont caractérisées par quatre types d'interactions [8] :

- indifférence : l'activité de l'un des antibiotiques n'est pas affectée par la présence de l'autre ;
- addition : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque antibiotique étudié séparément à la même concentration que dans l'association ;
- synergie : l'effet de l'association est significativement supérieur à la somme des activités de chaque antibiotique

étudié séparément à la même concentration [9]. La traduction arithmétique est : $1 + 1 > 2$;

- **antagonisme** : l'association diminue l'effet de l'un ou l'autre des antibiotiques. L'activité de cette association est inférieure à la somme des effets de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration [9]. De façon arithmétique : $1 + 1 < 2$.

À côté de ces définitions bactériologiques, où les deux molécules ont chacune une action antibactérienne vraie, il existe des associations qui sont synergiques dans leur action, alors que l'un des anti-infectieux n'a alors pas (ou peu) d'action directe sur la bactérie. C'est, par exemple, ce qui se passe avec l'acide clavulanique qui n'a pas, à la base, d'activité antibactérienne propre mais qui agit en synergie avec la β -lactamine associée sur des bactéries sécrétant une bêta-lactamase. Nous développerons cet aspect dans une seconde partie.

Méthodes d'étude in vitro de la synergie et de l'antagonisme

Les tests réalisés au laboratoire pour mettre en évidence une interaction entre deux antibiotiques peuvent être simples à mettre en œuvre (antibiogramme) ou plus délicates (courbes de bactéricidie).

Technique de référence : l'échiquier (ou checkerboard)

Il s'agit d'une méthode réalisée plutôt en milieu liquide qu'en gélose. On fait varier les concentrations des deux antibiotiques dans le milieu de culture. Cela impose de mesurer la CMI pour chacun des deux antibiotiques et pour l'association, et cela en testant de nombreux couples de concentrations différentes. Le résultat est exprimé en *Fractionnal Inhibitory Concentration* (FIC) index équivalent à la somme des FIC pour chaque molécule, avec $FIC_{index} = FIC_A + FIC_B = CMI \text{ de A avec B} / CMI \text{ de A seul} + CMI \text{ de B avec A} / CMI \text{ de B seul}$. Le FIC index correspond à un rapport de CMI.

Si le FIC index est inférieur à 0,75, l'association est synergique, elle est additive s'il est équivalent à 1, indifférente s'il est compris entre 1 et 2 et antagoniste s'il est supérieur à 2.

Par un repiquage secondaire sur des milieux sans antibiotiques, il est aussi possible d'étudier l'effet bactéricide de l'association. Cependant, à l'inverse de l'effet bactériostatique, la bactéricidie n'est généralement pas proportionnelle à la concentration de l'antibiotique et le nombre de survivants peut demeurer stable pour une large gamme de concentrations. Il est donc le plus souvent impossible de définir l'interaction de deux antibiotiques en fractions de concentrations actives et de calculer un index comme dans le cas précédent.

Cinétique de l'activité bactéricide des antibiotiques et de leur association (*time-killing curves*)

L'activité antibactérienne des antibiotiques isolément ou en association est déterminée par numérations successives à

intervalles de temps définis (en général, deux, quatre, six, 24 et 48 heures), du nombre de bactéries survivantes. Les résultats sont représentés sous forme de courbes appelées isobologrammes. Dans ce cas, c'est la vitesse de bactéricidie de l'association qui est comparée à chacun des deux antibiotiques étudiés isolément.

Souvent, la synergie par détermination du FIC index présage de la synergie en Time Kill méthode mais l'inverse n'est pas vrai.

Méthode utilisée en pratique courante : le E-test®

Les E-tests® (bioMérieux, France) destinés à déterminer une CMI permettent d'étudier facilement l'effet d'une association. Les E-tests® sont des bandelettes imprégnées d'un gradient croissant d'antibiotique et la CMI est lue à l'intersection de la bandelette et de l'ellipse d'inhibition de croissance. Pour mettre en évidence l'effet de l'association, il faut placer une première bandelette, imprégnée d'un antibiotique A sur la gélose pendant une heure, puis la retirer et placer au même endroit la bandelette imprégnée d'un antibiotique B. S'il y a synergie, il y aura une diminution de la CMI de l'association d'au moins deux dilutions par rapport à celle de l'antibiotique seul le plus actif.

Il s'agit d'une méthode plus simple à mettre en œuvre et qui est donc utilisée en routine pour répondre aux demandes des cliniciens.

Ce qui est démontré in vitro

Synergie

Pénicilline–aminosides

Cette association (ampicilline + gentamicine) a été décrite aussi bien pour les bactéries à Gram positif (*Enterococcus* sp.) que pour les bactéries à Gram négatif [10–12]. Lors de l'association de ces deux molécules, l'ampicilline, via son action sur la synthèse de la paroi, facilite l'entrée de la gentamicine, permettant une bactéricidie rapide. Cette synergie reste vraie tant que la gentamicine n'est pas inactivée par une enzyme.

Amoxicilline–céphalosporine de troisième génération

Une autre association synergique a été décrite pour *Enterococcus faecalis* : amoxicilline et céphalosporine injectable de troisième génération (cefotaxime ou ceftriaxone). Cette synergie est la résultante de l'action des deux β -lactamines sur des protéines liant les pénicillines (PLP) différentes [13]. En effet, l'amoxicilline entraîne une saturation partielle des PLP 4 et 5 tandis que la céphalosporine agit en saturant les PLP 2 et 3.

β -lactamines–fosfomycine

In vitro, vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, l'association fosfomycine et β -lactamine a montré une synergie [14–17]. Cela est aussi vrai pour les *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM), alors que cette souche est résistante aux β -lactamines, mais uniquement si la bactérie est sensible à la fosfomycine. Cette synergie s'explique par l'action de la fosfomycine qui diminue l'expression des PLP 2 et 4, mais

aussi celle de la PLP 2' reconnue comme support de la résistance chez les SAMR. Cette diminution d'expression des PLP 2, 4 et 2' s'accompagne d'une meilleure expression de la PLP 3 qui permet aux β -lactamines d'être efficaces [17]. Cette synergie s'exprime in vitro avec des pénicillines et des céphalosporines.

Des synergies prêtes à l'emploi

Il existe des formes galéniques d'antibiotiques qui sont comportent deux molécules agissant en synergie. Prescrites de façon quotidienne, elles permettent d'utiliser sans « s'en douter » le concept de synergie.

Triméthoprim (TMP)–sulfaméthoxazole (SMX)

L'association TMP et SMX est synergique du fait de l'action séquentielle du SMX et du TMP sur la voie de synthèse des folates (cofacteurs indispensable de la synthèse de l'ADN)[18]. Le SMX agit au niveau de la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et inhibe la formation du dihydrofolate. Cependant, comme il existe un pool de dihydrofolate, l'action du SMX n'est effective qu'après plusieurs générations bactériennes. Le TMP, quant à lui, inhibe la transformation par la dihydrofolate reductase du dihydrofolate en tétrahydrofolate (étape suivante dans le cycle). Cette inhibition est plus rapide et efficace malgré le pool existant de dihydrofolate. Cette association synergique par un blocage séquentiel de deux enzymes clés de la synthèse des folates a été mise en évidence chez *Escherichia coli* [19].

Synergistines

Les synergistines ou streptogramines représentent une famille d'antibiotiques composées de deux molécules. En France, deux produits sont disponibles, la pristinamycine et l'association quinupristine–dalbapristine, composés de streptogramine A et de streptogramine B. La pristinamycine associe la pristinamycine IIa (streptogramine A) et la pristinamycine Ia (streptogramine B). Dans l'autre association, la quinupristine est le dérivé de la pristinamycine Ia et la dalbapristine, le dérivé de la pristinamycine IIa. Chacun des constituants agit au niveau de la sous-unité 50S du ribosome lors de la phase d'élongation de la synthèse protéique [20]. Indépendamment, leur action induit une bactériostase en bloquant cette synthèse alors qu'en association leur action devient bactéricide. En effet, la streptogramine A entraîne un changement de conformation de la sous-unité ribosomale qui va permettre une augmentation d'affinité de la streptogramine B pour le ribosome. La fixation devient alors irréversible, ce qui explique la synergie et la bactéricidie [21,22]. L'action combinée à deux niveaux différents de la synthèse protéique explique aussi une part de cette synergie [23].

Antagonisme

Les résultats d'interactions du type antagonisme ne sont pas aussi clairs in vitro et leur impact in vivo n'est pas bien défini. Deux mécanismes sont cependant intéressants à décrire, même s'il y a peu de risques de les voir en pratique quotidienne.

Antagonisme de deux β -lactamines

L'interaction de deux β -lactamines souvent synergique peut aussi être aussi antagoniste. Il peut s'agir soit d'une compétition entre les deux molécules, soit de l'induction d'un mécanisme de résistance par l'une des molécules. En matière de compétition, ce n'est pas tant au niveau des PLP qu'elle se manifeste mais plus au niveau du passage des porines. En effet, si l'entrée de la molécule la plus active via les porines est gênée par l'autre β -lactamine, l'association va avoir une activité moindre [24]. Cependant, le principal mécanisme d'antagonisme est l'induction de la sécrétion d'une β -lactamase inducible comme les céphalosporinases, sécrétées par les entérobactéries dites du groupe 3 (*Enterobacter* spp, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Proteus* Indole +) et par *Aeromonas* spp ou *Pseudomonas aeruginosa*... De nombreux inducteurs ont été décrits comme la cefoxitine, le céfamandole, la céphalotine, l'imipénème, l'acide clavulanique [24,25]. L'utilisation d'une de ces molécules avec une pénicilline ou une céphalosporine entraîne une résistance au traitement par surexpression de la céphalosporinase. L'implication clinique d'un tel antagonisme n'est pas claire. L'antagonisme a été retrouvé dans des études animales, au cours de péritonites chez la souris [26,27], mais pas chez l'homme au cours des neutropénies [28].

Induction d'une résistance par les macrolides

Alors qu'il existe chez le staphylocoque un mécanisme constitutif de résistance aux macrolides et aux lincomycines, un autre mécanisme de résistance, inducible celui-là, ne s'exprime qu'en présence de macrolides possédant un noyau à 14 atomes (érythromycine, roxithromycine, clarithromycine, dirithromycine) ainsi que de l'azithromycine (à 15 chaînons). L'association de ce type d'antibiotique avec un produit de la même famille va entraîner l'expression du mécanisme de résistance et donc un antagonisme [29].

Il est vrai que l'association chez un patient de deux macrolides n'a pas lieu d'être.

Sujets à controverse

À côté de ces modèles bien définis, il existe des combinaisons pour lesquelles le résultat n'est pas bien connu.

Fucidine—fluoroquinolones

Il s'agit d'une combinaison attrayante pour les infections osseuses à staphylocoques, étant donné la bonne diffusion osseuse et la bonne biodisponibilité de ces deux molécules. Cependant, le type d'interaction n'est pas clairement défini in vitro. En effet, dans la littérature, on retrouve une indifférence avec la ciprofloxacine vis-à-vis du staphylocoque [30] tout comme avec la lévofloxacine pour le pneumocoque [31]. En revanche, d'autres équipes mettent en évidence un antagonisme vis-à-vis du staphylocoque soit avec la ciprofloxacine [32,33], soit avec toutes les quinolones [34]. Enfin, une équipe n'a mis en évidence un antagonisme qu'avec la ciprofloxacine et l'enrofloxacine, mais une indifférence avec les quinolones qui ne possèdent pas le substitut cyclopropyl en N1 (ofloxacine, péfloxacine, par exemple) [33].

Rifampicine–fluoroquinolones

Il existe, dans la littérature, quelques articles qui trouvent un antagonisme entre la ciprofloxacine ou la péfloxacin et la rifampicine [32,35,36]. Dans une autre étude, un antagonisme est révélé par les *time-killing curves* mais pas par l'activité bactéricide du sérum [37]. Parallèlement, d'autres études sont plutôt en faveur d'une addition ou d'une indifférence [38–40].

Il existe, dans la littérature, bien d'autres associations testées soit pour leur synergie, soit pour leur antagonisme. Nous ne les avons pas toutes citées en raison de leur nombre, des discordances et contradictions observées, ce qui limite leur grand intérêt.

Impact clinique, un lien avec l'in vitro ?

Toutes les données présentées ci-dessus sont issues d'études in vitro. Cependant, ce sont les conséquences in vivo qui sont les plus intéressantes. En effet, le clinicien cherche à avoir une meilleure efficacité chez le patient infecté, et redoute l'antagonisme. Que savons-nous de ces associations in vivo ?

Les endocardites

Les endocardites sont des infections qui, malgré les progrès diagnostiques et thérapeutiques, conservent une mortalité et une létalité importantes. Il est donc séduisant d'utiliser une association d'antibiotiques pour obtenir une synergie, de manière à améliorer la bactéricidie. Les différentes recommandations internationales préconisent d'ailleurs l'utilisation d'une association d'antibiotiques pour le traitement des endocardites (Tableau 1).

Cependant, la synergie recherchée cliniquement a été essentiellement étudiée lors des endocardites à entérocoques avec l'association pénicilline G et streptomycine. Il s'agit de l'une des premières synergies mise en évidence [41,42], et elle a pu être confirmée lors d'études cliniques [43]. C'est par extension que les endocardites avec d'autres germes sont désormais traitées avec une combinaison d'antibiotiques, mais les preuves de leur synergie et de leur intérêt manquent dans la littérature. Aucune étude chez l'homme n'a pu mettre en évidence une amélioration de l'efficacité de l'antibiothérapie lors de l'addition d'un aminoside à une β -lactamine ou à un glycopeptide [44–47], alors que cette synergie existe in vitro [48,49] et dans les modèles animaux [50,51]. Une méta-analyse ne retrouve d'ailleurs pas d'amélioration de la réponse clinique lors de l'adjonction d'un aminoside à une β -lactamine pour les endocardites à cocci à Gram positif [52]. Deux revues de la littérature retrouvent une amélioration de la réponse lors des infections à entérocoques et à streptocoques du groupe *viridans* mais pas pour celles à staphylocoques [53,54].

L'addition de gentamicine et de rifampicine à la vancomycine permet in vitro l'amélioration de la réponse dans un modèle d'endocardite du lapin à *S. epidermidis* [55], les doses d'antibiotiques étaient cependant doublées par rapport à celles habituellement employées chez l'homme. Ces données ne sont pas retrouvées chez l'homme sauf dans une étude rétrospective où un certain nombre de patients étaient aussi traités chirurgicalement [56]. Cependant, malgré l'absence de preuve, cette attitude a été transposée

Tableau 1 Synergie et antagonisme de certaines associations dans une sélection de tableaux cliniques.
Synergy and antagonism of selected combinations in some clinical profiles.

Tableau clinique	Association	Bactérie en cause	Synergie prouvée in vitro	Synergie prouvée in vivo	Antagonisme	Commentaires
Endocardite	Pénicilline–aminoside	<i>E. faecalis</i>	X	X		Conclusions divergentes in vivo et in vitro Conclusions divergentes in vivo et in vitro
Endocardite	β -lactamine–aminoside	<i>Streptococcus viridans</i>		X		
Endocardite	Vancomycine–aminoside–rifampicine	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	X			
Endocardite	Amoxicilline + céphalosporine	<i>E. faecalis</i>	X	X		
Infections osseuses	Acide fusidique–rifampicine	<i>Staphylococcus sp.</i>				
Infections osseuses	Fluoroquinolone–rifampicine	<i>Staphylococcus sp.</i>				
Méningites	Vancomycine–céphalosporine	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	X	X		
Méningites	Céphalosporine i.v. – fosfomycine	<i>S. aureus</i> méthicilline-R	X	X		
Méningites	Pénicilline–aureomycine	<i>Streptococcus pneumoniae</i>			X	

et appliquée dans les endocardites à *S. aureus* dont celles sur valves mécaniques.

L'association amoxicilline et céphalosporine injectable de troisième génération a été utilisée avec succès lors d'endocardites animales [57,58] et humaines [59] à *E. faecalis*. Elle a aussi été utilisée avec succès dans les infections osseuses [60].

Infections osseuses

Au cours des infections osseuses, une association est de rigueur, d'une part, parce que le site infecté est difficile à traiter, et aussi car il s'agit dans la majorité des cas d'une infection à staphylocoque. Parmi les associations, celles utilisant la rifampicine sont intéressantes du fait de son administration orale, de sa bonne diffusion osseuse et de son activité sur des germes potentiellement quiescents. Toujours grâce à leur administration orale, l'acide fusidique et les fluoroquinolones sont de bons candidats. Comme nous l'avons vu les associations acide fusidique—fluoroquinolones et rifampicine—fluoroquinolones sont, in vitro, sujets à controverse. En pratique clinique, nous n'avons pas de données sur l'association acide fusidique—fluoroquinolones mais celle-ci est classiquement utilisée sans qu'il n'y ait apparemment de conséquence délétère. En ce qui concerne l'association rifampicine—fluoroquinolones, quelques essais cliniques ont permis de démontrer l'efficacité de cette combinaison sur les infections osseuses avec ou sans matériel avec des taux de succès supérieurs à 75 % [61–63]. Cette association est maintenant reconnue comme l'une des plus intéressante pour les infections osseuses à staphylocoques [64–67]. Cependant, une équipe a récemment montré l'antagonisme de la lévofloxacine et de la rifampicine dans un modèle de matériel étranger chez le rat [68] (Tableau 1).

Méningites

Le concept de synergie intervient dans les méningites communautaires et nosocomiales. Au cours des méningites communautaires, on peut utiliser l'association céphalosporines de troisième génération plus vancomycine pour la synergie retrouvée in vitro sur le pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline [69,70]. Cette association a donc été proposée au cours des méningites à pneumocoque en cas de suspicion sur une diminution de sensibilité à la pénicilline (Tableau 1).

Nous avons vu que l'association fosfomycine— β -lactamine était synergique, et cela même sur des SARM. En clinique, cette synergie d'action a trouvé sa place, en particulier dans les infections neuroméningées postopératoires. En effet, la fosfomycine et les céphalosporines diffusent correctement dans le liquide céphalorachidien, ce qui permet d'obtenir des concentrations intéressantes à ce niveau. Plusieurs équipes, toutes françaises, ont montré l'intérêt de cette association dans les méningites en modèle animal [71] ou chez l'homme lors d'infections méningées postopératoires [72–74].

L'antagonisme n'est que rarement mis en évidence cliniquement. À notre connaissance, une seule étude l'a réellement montré. Il s'agit de l'association pénicilline plus auréomycine (tétracycline). Au cours des méningites, il a été noté dans cette étude très ancienne (1951) plus de décès

dans le groupe combinaison d'antibiotiques que dans le groupe monothérapie par pénicilline [75].

Élargissement du concept à la synergie d'action

On peut en ne prenant pas la définition bactériologique à la lettre, élargir le concept à d'autres associations. Dans le cas où l'une des deux molécules n'a pas d'action antibactérienne propre (en tout cas, sur le germe testé), la définition classique ne s'applique plus, puisque l'on considère dans celle-ci que les deux molécules associées sont actives sur le germe.

β -lactamine—inhibiteur de β -lactamase

Un des mécanismes de résistance vis-à-vis des β -lactamines est la sécrétion d'une β -lactamase qui va hydrolyser l'antibiotique et le rendre inefficace. Il est donc tentant de passer outre ce mécanisme en changeant le substrat de la β -lactamase. On peut détourner son activité en associant une autre β -lactamine, pour laquelle elle a une affinité plus grande et ainsi permettre à l'antibiotique actif de ne pas être hydrolysé et d'agir. Ce phénomène a été décrit avec l'association ampicilline—cloxacilline in vitro [76] et exporté avec succès dans les infections urinaires [77] pour des entérobactéries résistantes à l'ampicilline par sécrétion de β -lactamase.

Il existe, par ailleurs, des inhibiteurs de β -lactamase qui vont avoir un rôle de substrat suicide. Il s'agit de molécules qui possèdent une activité antibiotique minime, voire pas d'activité du tout, mais pour lesquelles les β -lactamases ont une forte affinité [78]. Trois molécules sont utilisées en clinique : l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam. La synergie d'action a été montrée in vitro mais aussi in vivo sur de nombreux germes comme les entérobactéries ou les staphylocoques [78–81]. L'aztréonam appartient aussi aux inhibiteurs de β -lactamases et inhibe les imipénémases de type métalloprotéase [82,83], mais on ne retrouve pas cet effet en association fixe d'antibiotique.

À côté de cette inhibition de l'enzyme, le sulbactam possède sur *Acinetobacter baumannii* une activité intrinsèque en tant qu'antibiotique, démontrée in vitro [84–87]. De plus, une synergie de l'association du sulbactam à une β -lactamine a été prouvée in vitro [84–88] et validée dans un modèle murin de pneumopathie. Cette étude met en évidence la supériorité des combinaisons de β -lactamines contenant du sulbactam et même l'association sulbactam plus rifampicine [89].

Clindamycine— β -lactamine et infections à *Streptococcus pyogenes*

Certains antibiotiques, outre leur action antibactérienne, possèdent des propriétés intéressantes dans la prise en charge d'une infection.

Le couple ampicilline—clindamycine est le traitement de référence des infections cutanées sévères à *Streptococcus pyogenes*. Dans l'association de ces deux antibiotiques bactéricides sur *S. pyogenes*, les propriétés de la clindamycine, telles que sa meilleure diffusion dans les tissus nécrotiques, son important effet postantibiotique, le moindre eagle

effect (ou repousse secondaire) et l'inhibition de la synthèse des toxines sont aussi mises à contribution [90].

Effet inhibiteur de la clindamycine sur la synthèse de toxine protéique

La clindamycine inhibe aussi la synthèse de différentes toxines sécrétées par *S. aureus*. Ainsi, la leucocidine de Pantone–Valentine (PVL) est une toxine dermonécrotique, impliquée dans les furoncles, les cellulites [91], mais aussi les pneumopathies nécrosantes hémorragiques [92] et les ostéomyélites [93]. Dans la prise en charge de ces infections graves, l'inhibition de la synthèse de toxine par la clindamycine est un atout majeur. Le linézolide, la rifampicine ont aussi un effet inhibiteur [94,95]. Certains auteurs recommandent ainsi le linézolide ou l'association clindamycine–vancomycine pour traiter les infections à SARM communautaires avec PVL+ [96].

Intérêt des macrolides dans la mucoviscidose

Les macrolides, outre leur effet inhibiteur sur la synthèse des toxines, possèdent des propriétés mises à profit dans la mucoviscidose [97]. Les patients sont améliorés par l'adjonction d'érythromycine ou d'azithromycine même en cas de colonisation par *P. aeruginosa*, bactérie sur laquelle ces antibiotiques sont inefficaces. Les mécanismes sous-tendant cet effet bénéfique sont encore mal élucidés et semblent s'intriquer :

- effet immunomodulateur réduisant la réponse inflammatoire locale délétère pour le poumon [98] ;
- inhibition de la synthèse des facteurs de virulence de *P. aeruginosa* régulés par le quorum-sensing, système de communication interbactérien [99–101] ;
- altération de la mobilité de *P. aeruginosa* par interférence dans la synthèse des flagelles [102] ;
- diminution de la production de biofilm [103,104] et ainsi augmentation de la sensibilité de *P. aeruginosa* à l'action du complément [102] ;
- diminution de la réponse oxydative au stress de *P. aeruginosa* [102] ;
- activité inhibitrice de l'azithromycine sur *P. aeruginosa* en phase stationnaire de croissance [102].

Mais tous ces effets sembleraient moindres en cas d'hyperexpression du système d'efflux MexXY, OprM, voire quasi annulés en cas de résistance à ces antibiotiques par méthylation ribosomale [105].

Quoi de neuf ?

En parcourant la bibliographie de cet article, on s'aperçoit que les notions d'antagonisme et de synergie sont relativement anciennes, même si certains auteurs essaient de les dépeupler de temps en temps. Récemment, l'équipe de Kishony a exploré les notions de synergie et d'antagonisme vis-à-vis de l'émergence de mutants résistants. Contrairement à ce qui est admis classiquement, ils montrent que l'association synergique érythromycine–doxycycline sélectionne plus facilement des *E. coli* résistants que l'association ciprofloxacine–doxycycline qui est antagoniste pour *E. coli*.

Cet effet est lié à la modification de la capacité répliquative de la bactérie quand celle-ci est devenue résistante à l'un des antibiotiques. En effet, si l'on compare l'action de l'un des deux antibiotiques à l'association, celle-ci sera supérieure à une combinaison antagoniste, mais inférieure à une combinaison synergique. Dans ce cas, il y aura un risque plus important de faire émerger des mutants résistants. Cela est clairement illustré par des isobogrammes [106,107]. L'impact clinique n'est pour le moment pas prouvé et tout comme les études d'associations classiques, elle ne sera pas facile à mettre en évidence.

Conclusion

Les notions de synergie ou de résistance sont bien définies in vitro et les tests sont validés. L'extrapolation de ces modèles aux situations in vivo n'est cependant pas claire. En effet, la répercussion la plus grave qu'est l'antagonisme n'a été mise en évidence que dans une étude et certains modèles bien étudiés in vitro ne se comportent pas de façon identique in vivo. Cela implique que le lien entre cliniciens et bactériologistes soit renforcé de manière à discuter au cas par cas des associations inhabituelles, qui pourraient avoir des conséquences sur le traitement de l'infection. Cela est d'autant plus vrai que si le clinicien veut faire tester une ou plusieurs associations in vitro par le bactériologiste, celui-ci – vu la complexité des techniques – ne pourra en tester que quelques-unes. Une discussion tenant compte du type d'infection (localisation et germe) est donc indispensable pour tester la ou les quelques combinaisons qui semblent intéressantes pour le traitement du patient.

Remerciements

Nous tenons à remercier le professeur Marie-Cécile Ploy pour son avis sur le sujet et le manuscrit.

Références

- [1] Fraser TR. The antagonism between the actions of active substances. *BMJ* 1872;485–7.
- [2] Gunnison JB, Shevsky MC, Bruff JA, Coleman VR, Jawetz E. Studies on antibiotic synergism and antagonism: the effect in vitro of combinations of antibiotics on bacteria of varying resistance to single antibiotics. *J Bacteriol* 1953;66:150–8.
- [3] Jawetz E, Gunnison JB. An experimental basis of combined antibiotic action. *J Am Med Assoc* 1952;150:693–5.
- [4] Jawetz E, Gunnison JB, Speck RS. Antibiotic synergism and antagonism. *N Engl J Med* 1951;245:966–8.
- [5] Bartlett JG, Louie TJ, Gorbach SL, Onderdonk AB. Therapeutic efficacy of 29 antimicrobial regimens in experimental intraabdominal sepsis. *Rev Infect Dis* 1981;3:535–42.
- [6] Weinstein WM, Onderdonk AB, Bartlett JG, Louie TJ, Gorbach SL. Antimicrobial therapy of experimental intraabdominal sepsis. *J Infect Dis* 1975;132:282–6.
- [7] Eliopoulos GM, Eliopoulos CT. Antibiotic combinations: should they be tested? *Clin Microbiol Rev* 1988;1:139–56.
- [8] Association d'antibiotiques. In: Courvalin P, editor. *L'antibiogramme*. Vigot; 1985. p. 199–218.
- [9] Berenbaum MC. What is synergy? *Pharmacol Rev* 1989;41:93–141.

- [10] Moellering Jr RC, Weinberg AN. Studies on antibiotic synerism against enterococci. II. Effect of various antibiotics on the uptake of 14 C-labeled streptomycin by enterococci. *J Clin Invest* 1971;50:2580–4.
- [11] Davis BD. Bactericidal synergism between beta-lactams and aminoglycosides: mechanism and possible therapeutic implications. *Rev Infect Dis* 1982;4:237–45.
- [12] Klastersky J, Zinner SH. Synergistic combinations of antibiotics in Gram-negative bacillary infections. *Rev Infect Dis* 1982;4:294–301.
- [13] Mainardi JL, Gutmann L, Acar JF, Goldstein FW. Synergistic effect of amoxicillin and cefotaxime against *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1984–7.
- [14] Alvarez S, Jones M, Berk SL. In vitro activity of fosfomycin, alone and in combination, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;28:689–90.
- [15] Chin NX, Neu NM, Neu HC. Synergy of fosfomycin with beta-lactam antibiotics against staphylococci and aerobic Gram-negative bacilli. *Drugs Exp Clin Res* 1986;12:943–7.
- [16] Grif K, Dierich MP, Pfaller K, Miglioli PA, Allerberger F. In vitro activity of fosfomycin in combination with various antistaphylococcal substances. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:209–17.
- [17] Utsui Y, Ohya S, Magaribuchi T, Tajima M, Yokota T. Antibacterial activity of cefmetazole alone and in combination with fosfomycin against methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;30:917–22.
- [18] Veyssier P, Bryskier A. Dihydrofolate reductase inhibitors, nitroheterocycles (furans), and 8-hydroxyquinolines. In: Bryskier, editor. *Antimicrobial agents*. ASM Press; 2005. p. 941–63.
- [19] Harvey RJ. Synergism in the folate pathway. *Rev Infect Dis* 1982;4:255–60.
- [20] Cocito C, Di Giambattista M, Nyssen E, Vannuffel P. Inhibition of protein synthesis by streptogramins and related antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1997;39(Suppl. A):7–13.
- [21] Aumercier M, Bouhallab S, Capmau ML, Le Goffic F. Irreversible binding of pristinamycin IIA (streptogramin A) to ribosomes explains its "lasting damage" effect. *J Antibiot (Tokyo)* 1986;39:1322–8.
- [22] Aumercier M, Bouhallab S, Capmau ML, Le Goffic F. RP 59500: a proposed mechanism for its bactericidal activity. *J Antimicrob Chemother* 1992;30(Suppl. A):9–14.
- [23] Vannuffel P, Cocito C. Mechanism of action of streptogramins and macrolides. *Drugs* 1996;51(Suppl. 1):20–30.
- [24] Gutmann L, Williamson R, Kitzis MD, Acar JF. Synergism and antagonism in double beta-lactam antibiotic combinations. *Am J Med* 1986;80:21–9.
- [25] Minami S, Yotsuji A, Inoue M, Mitsuhashi S. Induction of beta-lactamase by various beta-lactam antibiotics in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980;18:382–5.
- [26] Goering RV, Sanders CC, Sanders Jr WE. Antagonism of carbenicillin and cefamandole by cefoxitin in treatment of experimental infections in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1982;21:963–7.
- [27] Kuck NA, Testa RT, Forbes M. In vitro and in vivo antibacterial effects of combinations of beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1981;19:634–8.
- [28] Sanders CC, Moellering Jr RC, Martin RR, Perkins RL, Strike DG, Gootz TD, et al. Resistance to cefamandole: a collaborative study of emerging clinical problems. *J Infect Dis* 1982;145:118–25.
- [29] Weisblum B, Demohn V. Erythromycin-inducible resistance in *Staphylococcus aureus*: survey of antibiotic classes involved. *J Bacteriol* 1969;98:447–52.
- [30] Drugeon HB, Caillon J, Juvin ME. In-vitro antibacterial activity of fusidic acid alone and in combination with other antibiotics against methicillin-sensitive and -resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1994;34:899–907.
- [31] Klugman KP, Capper T, Bryskier A. In vitro susceptibility of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* to levofloxacin, selection of resistant mutants, and time-kill synergy studies of levofloxacin combined with vancomycin, teicoplanin, fusidic acid, and rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:2802–4.
- [32] Roder BL, Gutschik E. In-vitro activity of ciprofloxacin combined with either fusidic acid or rifampicin against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1989;23:347–52.
- [33] Uri JV. Antibacterial antagonism between fusidic acid and ciprofloxacin. *Acta Microbiol Hung* 1993;40:141–9.
- [34] Ertek M, Yazgi H, Erol S, Altoparlak U. Demonstration of in vitro antagonism between fusidic acid and quinolones. *J Int Med Res* 2002;30:525–8.
- [35] Fass RJ, Helsel VL. In vitro antistaphylococcal activity of pefloxacin alone and in combination with other antistaphylococcal drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:1457–60.
- [36] Van der Auwera P, Joly P. Comparative in-vitro activities of teicoplanin, vancomycin, coumermycin and ciprofloxacin, alone and in combination with rifampicin or LM 427, against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1987;19:313–20.
- [37] Hackbarth CJ, Chambers HF, Sande MA. Serum bactericidal activity of rifampin in combination with other antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;29:611–3.
- [38] Grdelski E, Kolek B, Bonner DP, Valera L, Minassian B, Fung-Tomc J. Activity of gatifloxacin and ciprofloxacin in combination with other antimicrobial agents. *Int J Antimicrob Agents* 2001;17:103–7.
- [39] Kang SL, Rybak MJ, McGrath BJ, Kaatz GW, Seo SM. Pharmacodynamics of levofloxacin, ofloxacin, and ciprofloxacin, alone and in combination with rifampin, against methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus* in an in vitro infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2702–9.
- [40] Palmer SM, Rybak MJ. Pharmacodynamics of once- or twice-daily levofloxacin versus vancomycin, with or without rifampin, against *Staphylococcus aureus* in an in vitro model with infected platelet-fibrin clots. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:701–5.
- [41] Jawetz E, Gunnison JB, Coleman VR. Combined action of penicillin with streptomycin or chloromycetin on enterococci in vitro. *Am J Med* 1950;8:532.
- [42] Moellering Jr RC, Wennersten C, Weinberg AN. Synergy of penicillin and gentamicin against enterococci. *J Infect Dis* 1971;124:5207–9.
- [43] Mandell GL, Kaye D, Levison ME, Hook EW. Enterococcal endocarditis. An analysis of 38 patients observed at the New York Hospital-Cornell Medical Center. *Arch Intern Med* 1970;125:258–64.
- [44] Drinkovic D, Morris AJ, Pottumarthy S, MacCulloch D, West T. Bacteriological outcome of combination versus single-agent treatment for staphylococcal endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:820–5.
- [45] Korzeniowski O, Sande MA. Combination antimicrobial therapy for *Staphylococcus aureus* endocarditis in patients addicted to parenteral drugs and in nonaddicts: a prospective study. *Ann Intern Med* 1982;97:496–503.
- [46] Murray RJ. *Staphylococcus aureus* infective endocarditis: diagnosis and management guidelines. *Intern Med J* 2005;35(Suppl. 2):S25–44.
- [47] Watanakunakorn C, Baird IM. Prognostic factors in *Staphylococcus aureus* endocarditis and results of therapy with a penicillin and gentamicin. *Am J Med Sci* 1977;273:133–9.

- [48] McGrath BJ, Kang SL, Kaatz GW, Rybak MJ. Bactericidal activities of teicoplanin, vancomycin, and gentamicin alone and in combination against *Staphylococcus aureus* in an in vitro pharmacodynamic model of endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2034–40.
- [49] Watanakunakorn C, Glotzbecker C. Enhancement of the effects of anti-staphylococcal antibiotics by aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother* 1974;6:802–6.
- [50] Sande MA, Courtney KB. Nafcillin-gentamicin synergism in experimental staphylococcal endocarditis. *J Lab Clin Med* 1976;88:118–24.
- [51] Sande MA, Johnson ML. Antimicrobial therapy of experimental endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1975;131:367–75.
- [52] Falagas ME, Matthaiou DK, Bliziotis IA. The role of aminoglycosides in combination with a beta-lactam for the treatment of bacterial endocarditis: a meta-analysis of comparative trials. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:639–47.
- [53] Graham JC, Gould FK. Role of aminoglycosides in the treatment of bacterial endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:437–44.
- [54] Le T, Bayer AS. Combination antibiotic therapy for infective endocarditis. *Clin Infect Dis* 2003;36:615–21.
- [55] Kobasa WD, Kaye KL, Shapiro T, Kaye D. Therapy for experimental endocarditis due to *Staphylococcus epidermidis*. *Rev Infect Dis* 1983;5(Suppl. 3):S533–7.
- [56] Karchmer AW, Archer GL, Dismukes WE. *Staphylococcus epidermidis* causing prosthetic valve endocarditis: microbiologic and clinical observations as guides to therapy. *Ann Intern Med* 1983;98:447–55.
- [57] Gavalda J, Onrubia PL, Gomez MT, Gomis X, Ramirez JL, Len O, et al. Efficacy of ampicillin combined with ceftriaxone and gentamicin in the treatment of experimental endocarditis due to *Enterococcus faecalis* with no high-level resistance to aminoglycosides. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:514–7.
- [58] Join-Lambert O, Mainardi JL, Cuvelier C, Dautrey S, Farinotti R, Fantin B, et al. Critical importance of in vivo amoxicillin and cefotaxime concentrations for synergy in treatment of experimental *Enterococcus faecalis* endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:468–70.
- [59] Gavalda J, Len O, Miro JM, Munoz P, Montejo M, Alarcon A, et al. Brief communication: treatment of *Enterococcus faecalis* endocarditis with ampicillin plus ceftriaxone. *Ann Intern Med* 2007;146:574–9.
- [60] Euba G, Lora-Tamayo J, Murillo O, Pedrero J, Cabo J, Verdaguier R, et al. Ampicillin plus Ceftriaxone combination for *E. faecalis* osteoarticular infections: a pilot study. In: *Inter-science Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)*; 2008.
- [61] Drancourt M, Stein A, Argenson JN, Zannier A, Curvale G, Raoult D. Oral rifampin plus ofloxacin for treatment of *Staphylococcus*-infected orthopedic implants. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1214–8.
- [62] Senneville E, Yazdanpanah Y, Cazaubiel M, Cordonnier M, Valette M, Beltrand E, et al. Rifampicin-ofloxacin oral regimen for the treatment of mild to moderate diabetic foot osteomyelitis. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:927–30.
- [63] Widmer AF, Gaechter A, Ochsner PE, Zimmerli W. Antimicrobial treatment of orthopedic implant-related infections with rifampin combinations. *Clin Infect Dis* 1992;14:1251–3.
- [64] Darley ES, MacGowan AP. Antibiotic treatment of Gram-positive bone and joint infections. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:928–35.
- [65] Davis JS. Management of bone and joint infections due to *Staphylococcus aureus*. *Intern Med J* 2005;35(Suppl. 2):S79–96.
- [66] Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *Lancet* 2004;364:369–79.
- [67] Zeller V, Desplaces N. Antibiothérapie des infections ostéoarticulaires à pyogènes chez l'adulte : principes et modalités. *Revue du rhumatisme* 2006;73:183–90.
- [68] Murillo O, Pachon ME, Euba G, Verdaguier R, Tubau F, Cabellos C, et al. Antagonistic effect of rifampin on the efficacy of high-dose levofloxacin in staphylococcal experimental foreign-body infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3681–6.
- [69] Desbiolles N, Piroth L, Lequeu C, Neuwirth C, Portier H, Chavanet P. Fractional maximal effect method for in vitro synergy between amoxicillin and ceftriaxone and between vancomycin and ceftriaxone against *Enterococcus faecalis* and penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3328–33.
- [70] Fitoussi F, Doit C, Benali K, Bonacorsi S, Geslin P, Bingen E. Comparative in vitro killing activities of meropenem, imipenem, ceftriaxone, and ceftriaxone plus vancomycin at clinically achievable cerebrospinal fluid concentrations against penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with meningitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:942–4.
- [71] Kazmierczak A, Pechinot A, Tremeaux JC, Duez JM, Kohli E, Portier H. Bactericidal activity of cefotaxime and fosfomycin in cerebrospinal fluid during the treatment of rabbit meningitis experimentally induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection* 1985;13(Suppl. 1):S76–80.
- [72] May T, Weber M, Gerard A, Schmit JL, Voiriot P, Czorny A, et al. Traitement des méningites bactériennes post-traumatiques et post-neurochirurgicales par la ceftriaxone seule ou en association avec la fosfomycine. *Pathol Biol (Paris)* 1987;35:839–42.
- [73] Portier H, Armengaud M, Becq-Giraudon B, Bousser J, Desbordes JM, Duez JM, et al. Traitement par l'association cefotaxime-fosfomycine des méningites de l'adulte à staphylocoques ou à enterobactéries. *Presse Med* 1987;16: 2161–6.
- [74] Stahl JP, Croize J, Baud A, Bru JP, de Rougemont P, Le Noc P, et al. Traitement des méningites bactériennes neurochirurgicales par l'association ceftriaxone-fosfomycine. *Pathol Biol (Paris)* 1986;34:479–82.
- [75] Lepper MH, Dowling HF. Treatment of pneumococcal meningitis with penicillin compared with penicillin plus aureomycin; studies including observations on an apparent antagonism between penicillin and aureomycin. *AMA Arch Intern Med* 1951;88:489–94.
- [76] Bornside GH. Synergistic antibacterial activity of ampicillin-cloxacillin mixtures against *Proteus morganii*. *Appl Microbiol* 1968;16:1507–11.
- [77] Sabath LD, Elder HA, McCall CE, Finland M. Synergistic combinations of penicillins in the treatment of bacteriuria. *N Engl J Med* 1967;277:232–8.
- [78] Bush K. Beta-lactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Clin Microbiol Rev* 1988;1:109–23.
- [79] Cullmann W, Binder S, Stieglitz M. Sulbactam and clavulanic acid: enzyme kinetics and synergy with ampicillin and mezlocillin. *Int J Antimicrob Agents* 1996;6:S1–7. Suppl.
- [80] Gin A, Dilay L, Karłowsky JA, Walkty A, Rubinstein E, Zhanel GG. Piperacillin-tazobactam: a beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combination. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2007;5: 365–83.
- [81] Yogev R, Melick C, Kabat WJ. In vitro and in vivo synergism between amoxicillin and clavulanic acid against ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type b. *Antimicrob Agents Chemother* 1981;19:993–6.
- [82] Bellais S, Mimoz O, Leotard S, Jacolot A, Petitjean O, Nordmann P. Efficacy of beta-lactams for treating experimentally induced pneumonia due to a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase-producing strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:2032–4.

- [83] Sader HS, Rhomberg PR, Jones RN. In vitro activity of beta-lactam antimicrobial agents in combination with aztreonam tested against metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. J Chemother 2005;17:622–7.
- [84] Higgins PG, Wisplinghoff H, Stefanik D, Seifert H. In vitro activities of the beta-lactamase inhibitors clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam alone or in combination with beta-lactams against epidemiologically characterized multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:1586–92.
- [85] Joly-Guillou ML, Decre D, Herrman JL, Bourdelier E, Bergogne-Berezin E. Bactericidal in-vitro activity of beta-lactams and beta-lactamase inhibitors, alone or associated, against clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: effect of combination with aminoglycosides. J Antimicrob Chemother 1995;36:619–29.
- [86] Kitsis MD, Goldstein FW, Labia R, Acar JF. Activité du Sulbactam et de l'acide clavulanique seuls et associés sur *Acinetobacter calcoaceticus*. Ann Microbiol 1983;134A:163–8.
- [87] Suh B, Shapiro T, Jones R, Satishchandran V, Truant AL. In vitro activity of beta-lactamase inhibitors against clinical isolates of *Acinetobacter species*. Diagn Microbiol Infect Dis 1995;21:111–4.
- [88] Brauers J, Frank U, Kresken M, Rodloff AC, Seifert H. Activities of various beta-lactams and beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations against *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* DNA group 3 strains. Clin Microbiol Infect 2005;11:24–30.
- [89] Wolff M, Joly-Guillou ML, Farinotti R, Carbon C. In vivo efficacies of combinations of beta-lactams, beta-lactamase inhibitors, and rifampin against *Acinetobacter baumannii* in a mouse pneumonia model. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:1406–11.
- [90] Stevens DL, Gibbons AE, Bergstrom R, Winn V. The Eagle effect revisited: efficacy of clindamycin, erythromycin, and penicillin in the treatment of streptococcal myositis. J Infect Dis 1988;158:23–8.
- [91] Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 1999;29:1128–32.
- [92] Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet 2002;359:753–9.
- [93] Bocchini CE, Hulten KG, Mason Jr EO, Gonzalez BE, Hammerman WA, Kaplan SL. Panton-Valentine leukocidin genes are associated with enhanced inflammatory response and local disease in acute hematogenous *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in children. Pediatrics 2006;117:433–40.
- [94] Dancer SJ. The effect of antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 2008;61:246–53.
- [95] Dumitrescu O, Badiou C, Bes M, Reverdy ME, Vandenesch F, Etienne J, et al. Effect of antibiotics, alone and in combination, on Panton-Valentine leukocidin production by a *Staphylococcus aureus* reference strain. Clin Microbiol Infect 2008;14:384–8.
- [96] Moellering Jr RC. Current treatment options for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis 2008;46:1032–7.
- [97] Jaffe A, Francis J, Rosenthal M, Bush A. Long-term azithromycin may improve lung function in children with cystic fibrosis. Lancet 1998;351:420.
- [98] Cigana C, Assael BM, Melotti P. Azithromycin selectively reduces tumor necrosis factor alpha levels in cystic fibrosis airway epithelial cells. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:975–81.
- [99] de Kievit TR, Iglewski BH. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. Infect Immun 2000;68:4839–49.
- [100] Nalca Y, Jansch L, Bredenbruch F, Geffers R, Buer J, Haussler S. Quorum-sensing antagonistic activities of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: a global approach. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:1680–8.
- [101] Tateda K, Comte R, Pechere JC, Kohler T, Yamaguchi K, Van Delden C. Azithromycin inhibits quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:1930–3.
- [102] Hoffmann N, Lee B, Hentzer M, Rasmussen TB, Song Z, Johansen HK, et al. Azithromycin blocks quorum sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa* and attenuates chronic *P. aeruginosa* lung infection in Cfr(-/-) mice. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:3677–87.
- [103] Gillis RJ, Iglewski BH. Azithromycin retards *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. J Clin Microbiol 2004;42:5842–5.
- [104] Ichimiya T, Takeoka K, Hiramatsu K, Hirai K, Yamasaki T, Nasu M. The influence of azithromycin on the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. Chemotherapy 1996;42:186–91.
- [105] Kohler T, Dumas JL, Van C, Delden. Ribosome protection prevents azithromycin-mediated quorum-sensing modulation and stationary-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:4243–8.
- [106] Chait R, Craney A, Kishony R. Antibiotic interactions that select against resistance. Nature 2007;446:668–71.
- [107] Hegreness M, Shores N, Damian D, Hartl D, Kishony R. Accelerated evolution of resistance in multidrug environments. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:13977–81.