

Infections ostéo-articulaire à *S. aureus* : activité intra-ostéoblastique et anti-biofilm des rifamycines

L. Abad¹⁻⁴, J. Josse¹, J. Tasse¹, S. Lustig^{2,3,6}, T. Ferry^{1-3,5}, A. Diot¹, F. Laurent¹⁻⁴, F. Valour^{1-3,5}

¹CIRI – Centre International de Recherche en Infectiologie, Inserm, U1111, Lyon, France

²Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires complexes (CRIOAc Lyon), Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

³Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

⁴Laboratoire de bactériologie, Institut des agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁵Service des Maladies infectieuses et tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

⁶Service de Chirurgie orthopédique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Les infections-ostéoarticulaires

Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

- 1^{er} agent étiologique : *S. aureus*
- Mécanismes de persistance
 - Formation de biofilm
 - Internalisation dans les cellules osseuses



Chronicité

20% échecs
cliniques

Les infections-ostéoarticulaires : rifamycines

Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

Rifampicine

- Anti-biofilm
- Diffusion en intracellulaire

Supériorité clinique

Les infections-ostéoarticulaires : rifamycines

Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

Rifampicine

- Anti-biofilm
- Diffusion en intracellulaire

Supériorité clinique

Inconvénients

- Mauvaise tolérance
- Inducteur enzymatique
 - Interactions médicamenteuses ++

Les infections-ostéoarticulaires : rifamycines

Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

Rifampicine

- Anti-biofilm
- Diffusion en intracellulaire

Supériorité clinique

Rifapentine & rifabutine

- Meilleure pénétration tissulaire
- Meilleure concentration intracellulaire
- Toxicité diminuée
- Inducteur enzymatique plus faible

Manque de données *in vitro*
et *in vivo* pour les IOA

Alternatives thérapeutiques à la rifampicine ?

Comparaison de l'activité de la rifampicine, rifapentine et rifabutine

Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

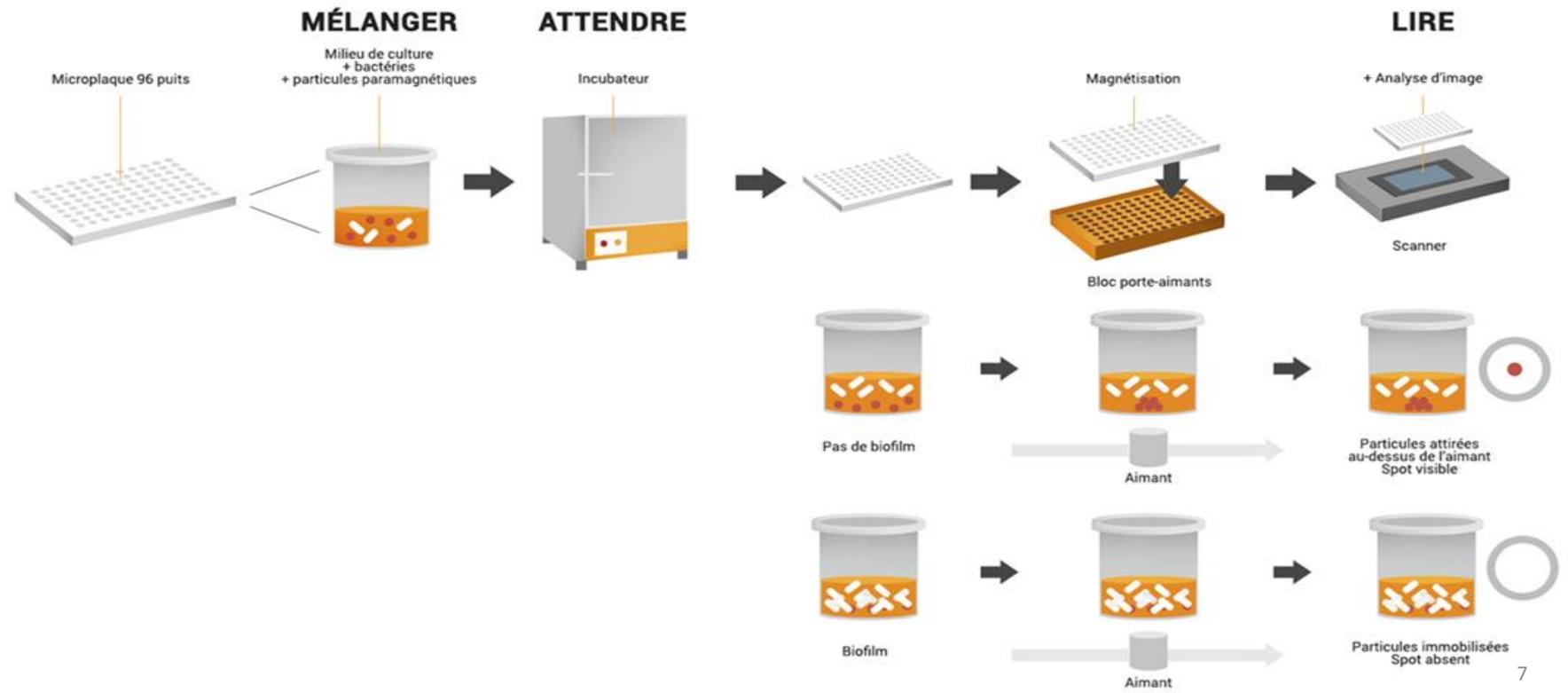
- Capacité à prévenir la formation de biofilm
- Capacité à éradiquer un biofilm mature
- Capacité à éradiquer le réservoir intracellulaire
 - Modèle d'infection « aigu »
 - Modèle d'infection « chronique »

	CMI (mg/L)		
	Rifampicine	Rifapentine	Rifabutine
6850	0,016	0,063	0,031
souche clinique 1	0,008	0,031	0,031
souche clinique 2	0,031	0,063	0,063

3 souches de *S.aureus* à CMI identiques

Prévention de la formation du biofilm : Antibiofilmogramme™

CMib: concentration minimale inhibant la formation de biofilm



Prévention de la formation du biofilm : Antibiofilmogramme™

Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

	CMI (mg/L)			CMIb (mg/L)		
	Rifampicine	Rifapentine	Rifabutine	Rifampicine	Rifapentine	Rifabutine
6850	0,016	0,063	0,031	0,05	0,1	0,05
souche clinique 1	0,008	0,031	0,031	0,0125	0,0125	0,025
souche clinique 2	0,031	0,063	0,063	0,025	0,05	0,05

Capacité à prévenir la formation de biofilm équivalente

Eradication d'un biofilm mature : CMEB

Introduction

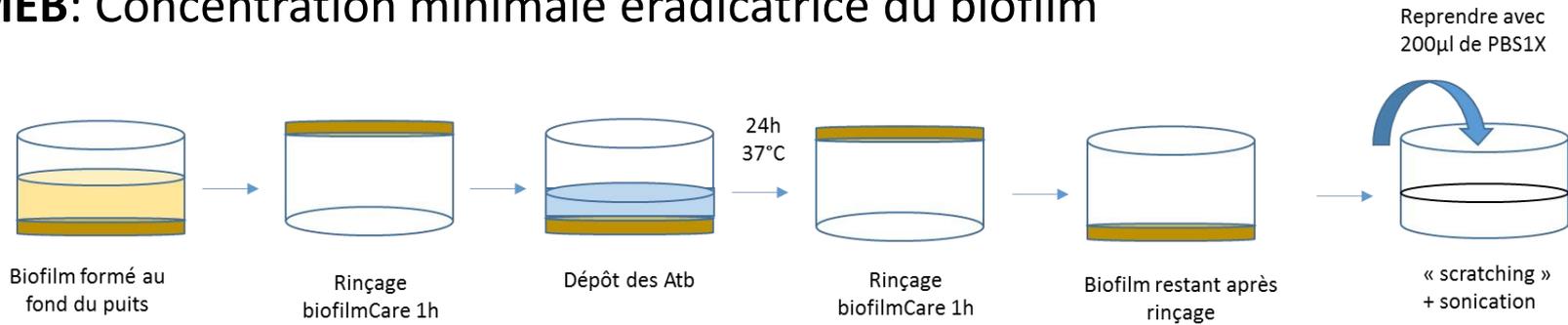
Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

CMEB: Concentration minimale éradicatrice du biofilm



Reprendre avec
200 μ l de PBS1X

Biofilm formé au
fond du puits

Rinçage
biofilmCare 1h

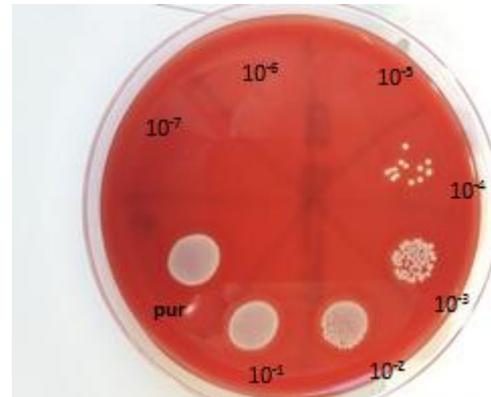
Dépôt des Atb

24h
37°C

Rinçage
biofilmCare 1h

Biofilm restant après
rinçage

« scratching »
+ sonication



24h
37°C

Dépôt des spots
de 10 μ L

Eradication d'un biofilm mature : CMEB

Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

	CMI (mg/L)			CMIb (mg/L)			CMEB ₉₀ (mg/L)		
	Rifampicine	Rifapentine	Rifabutine	Rifampicine	Rifapentine	Rifabutine	Rifampicine	Rifapentine	Rifabutine
6850	0,016	0,063	0,031	0,05	0,1	0,05	50	0,39	0,19
souche clinique 1	0,008	0,031	0,031	0,0125	0,0125	0,025	3,125	0,78	0,19
souche clinique 2	0,031	0,063	0,063	0,025	0,05	0,05	>100	0,19	0,78

- CMEB₉₀ rifampicine 10 à 100 fois supérieures rifabutine et rifapentine
- Rifabutine et rifapentine activité antibiofilm ++

Activité sur *S.aureus* en intracellulaire

Introduction

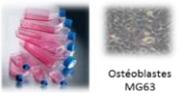
Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

Ostéoblastes MG63



- Souches utilisées
- 6850
 - 2 souches cliniques d'IOA



Ajustement inoculum

INFECTION
(MOI 100:1)



INTERNALISATION

2h, 37°C



ELIMINATION DES
BACTERIES
EXTRACELLULAIRES

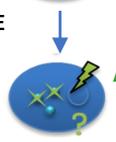
Lysostaphine (1h, 37°C)



INCUBATION EN PRESENCE
D'ANTIBIOTIQUE

3h infection aigu

37°C



ATB 24h, 37°C

Activité sur *S.aureus* en intracellulaire

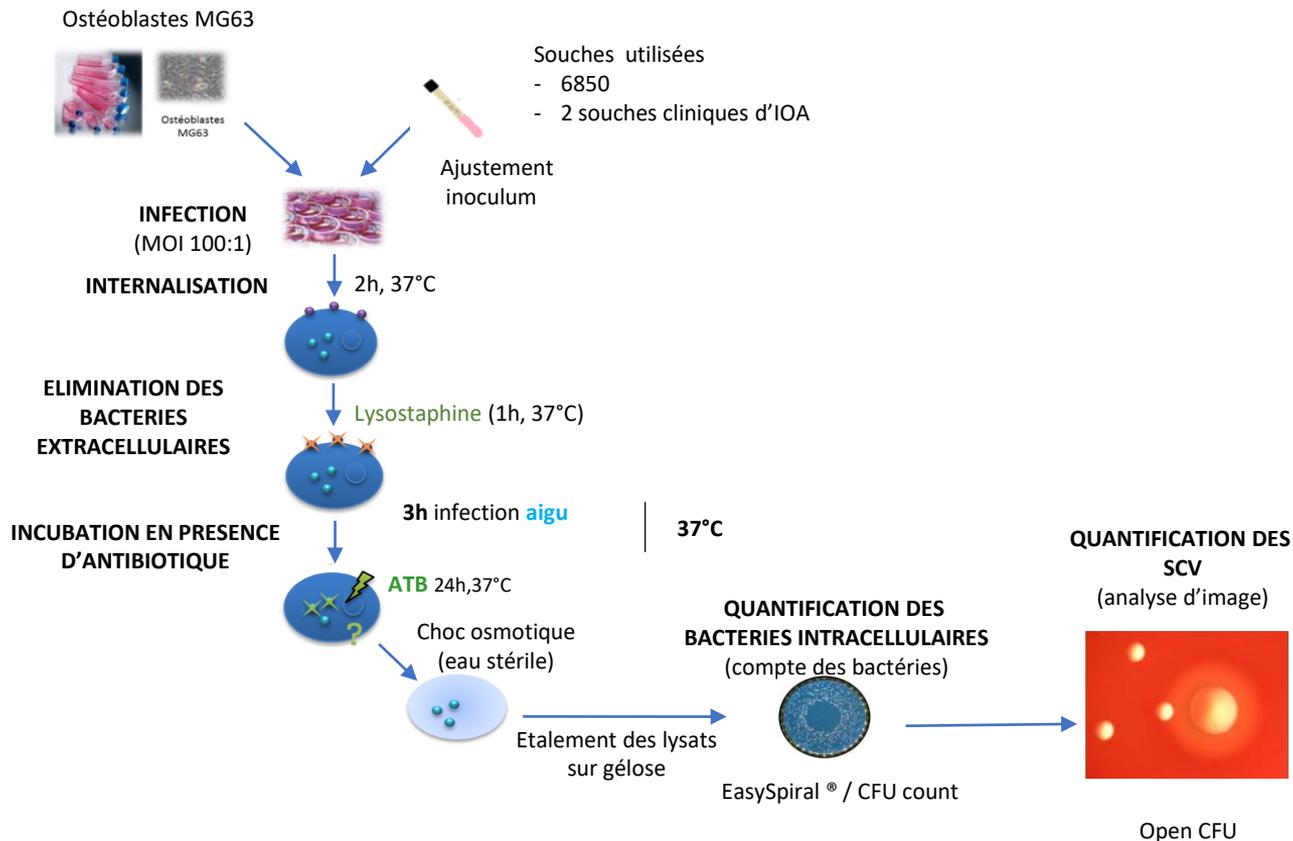
Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion



Activité sur *S.aureus* en intracellulaire

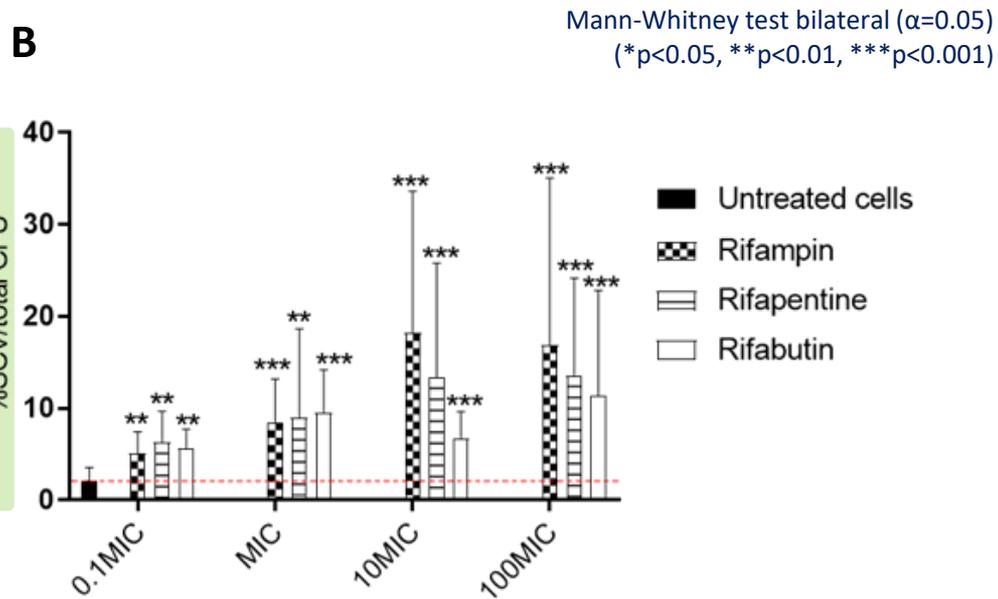
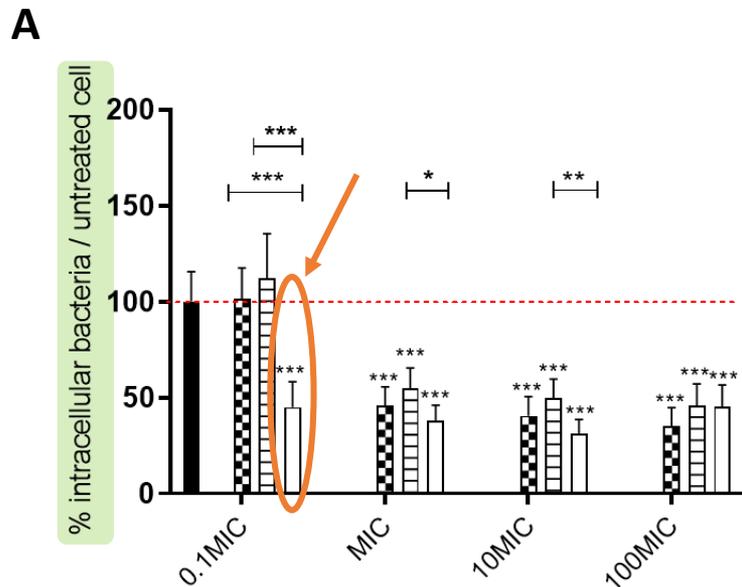
Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion



- Seule la rifabutine à 0,1CMI permet la diminution des bactéries intracellulaires de **50 %**
- Augmentation dose-dépendante de la proportion de SCV

Activité sur la viabilité cellulaire

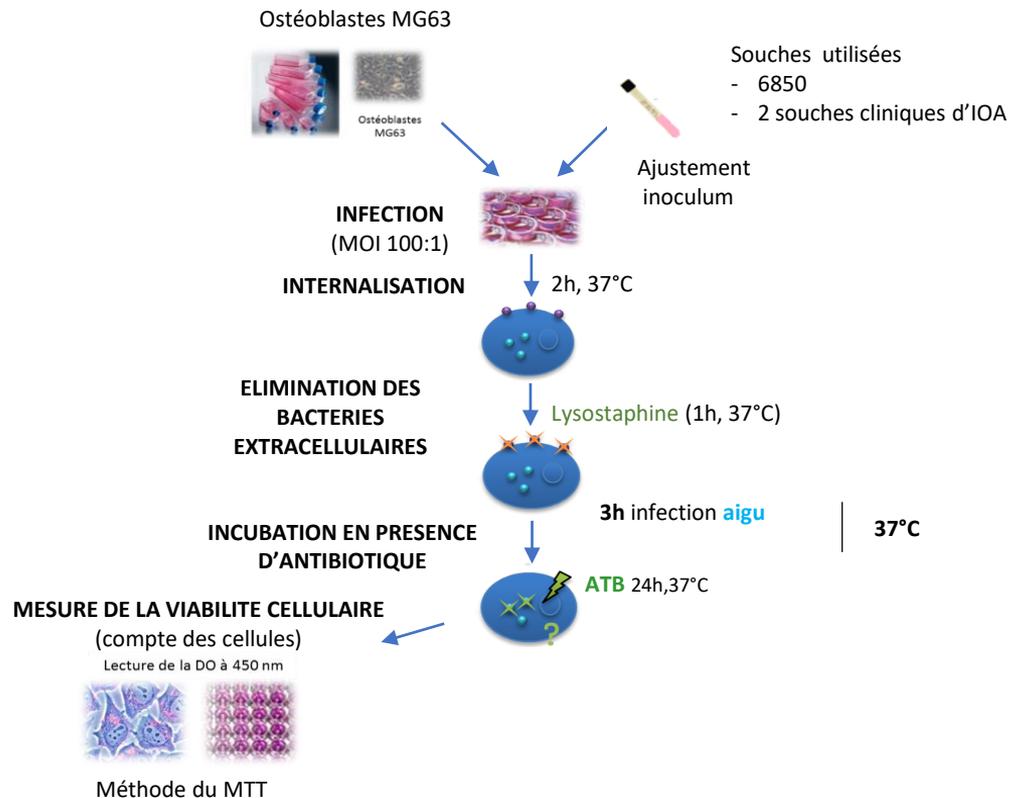
Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion



Activité sur la viabilité cellulaire

Introduction

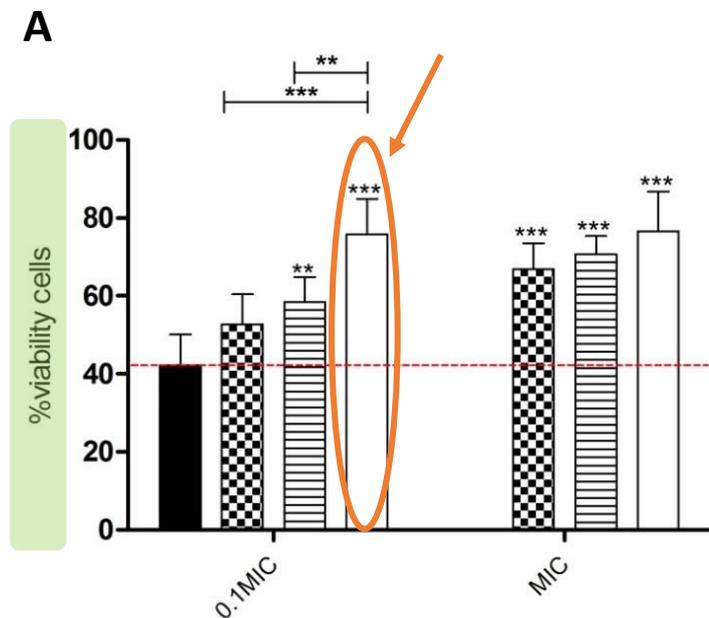
Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

Mann-Whitney test bilatéral ($\alpha=0.05$)
(* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$)



- **Même profil** de toutes les rifamycines pour une concentration = CMI sur la viabilité cellulaire
- **Rifabutine** significativement **plus efficace** sur le **maintien de la viabilité cellulaire** dès 0,1CMI

Activité sur la viabilité cellulaire

Introduction

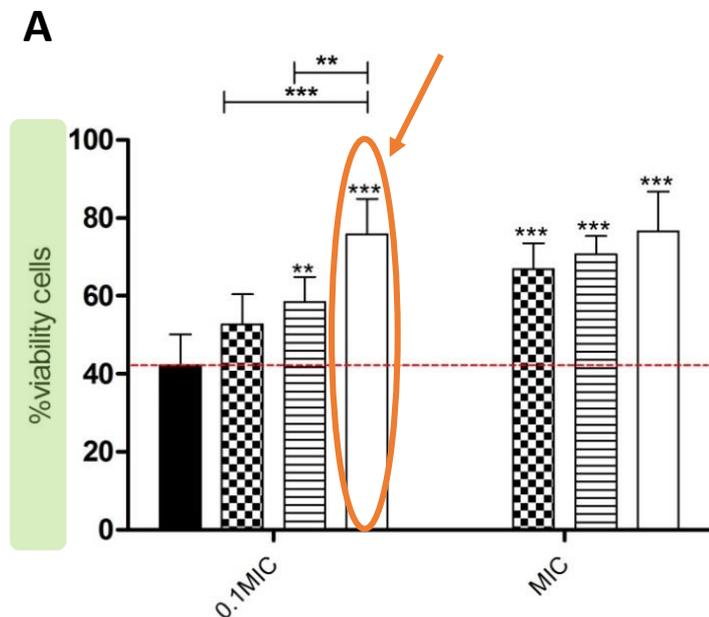
Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

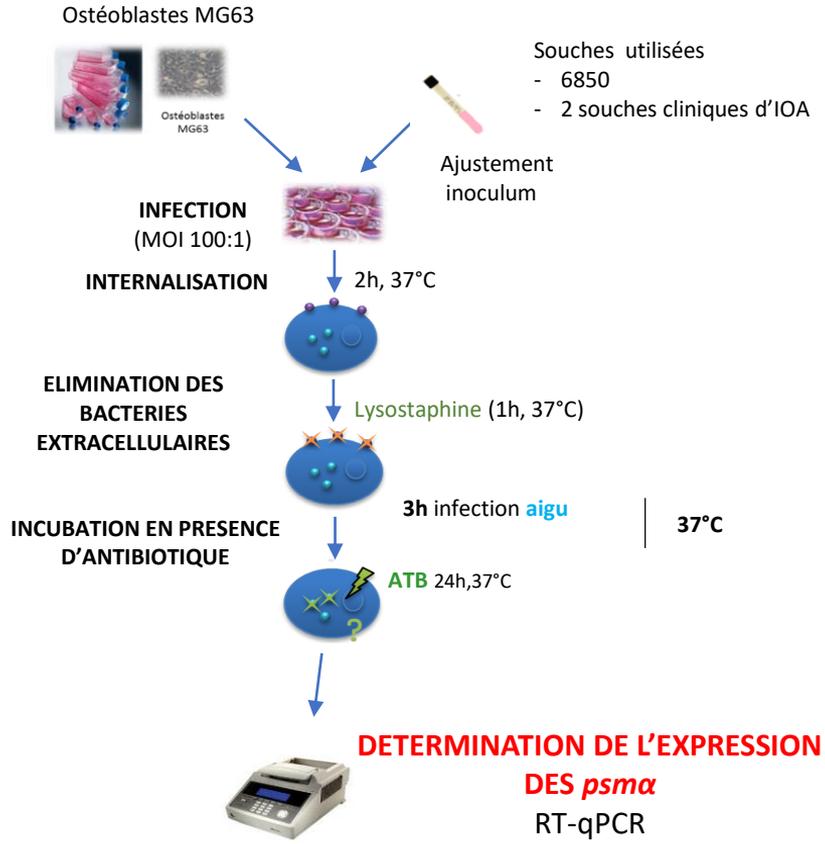
Mann-Whitney test bilatéral ($\alpha=0.05$)
(* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$)



- **Même profil** de toutes les rifamycines pour une concentration = CMI sur la viabilité cellulaire
- **Rifabutine** significativement **plus efficace** sur le **maintien de la viabilité cellulaire** dès 0,1CMI

Activité anti-PSM (toxines intracellulaires) ?

Activité anti-PSMs



Activité anti-PSMs

Introduction

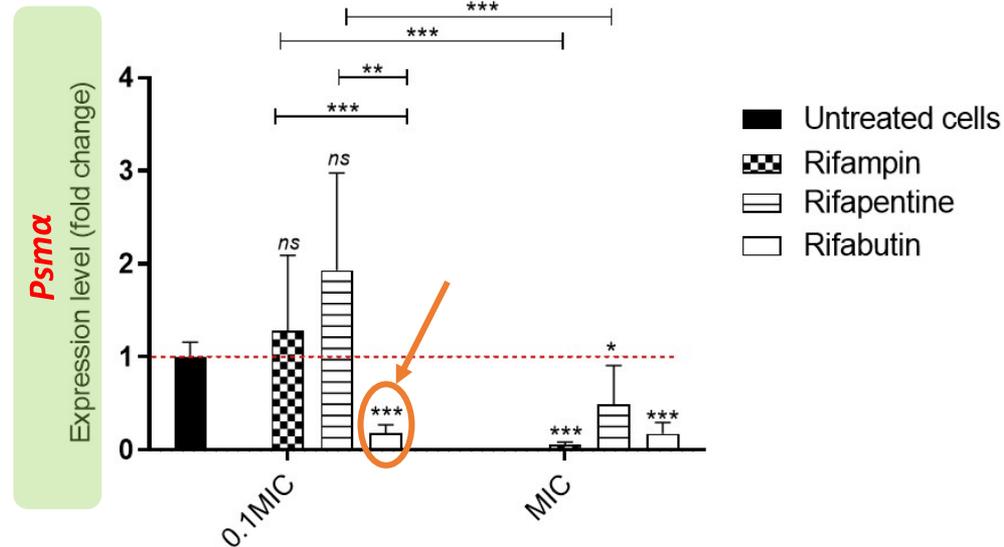
Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

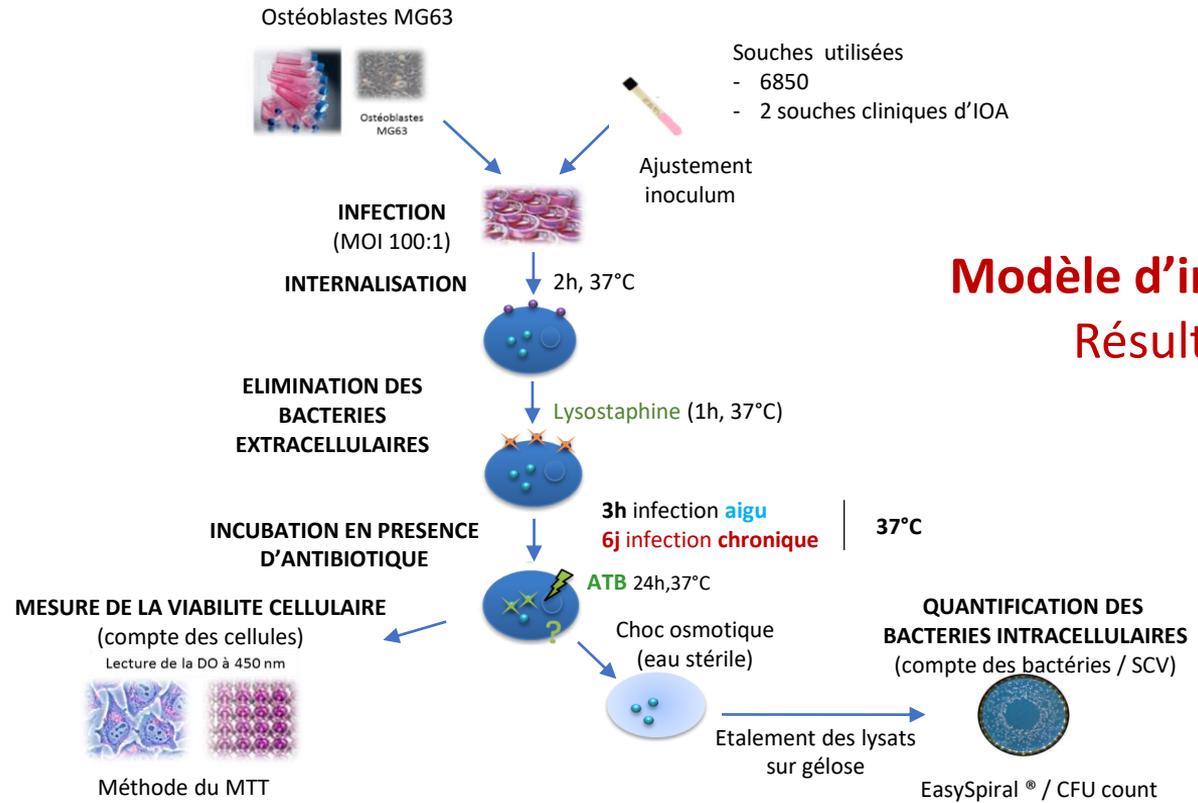
B



Rifabutine à 0,1CMI :

- **augmente** significativement la **viabilité cellulaire**
- **diminue** significativement l'**expression des PSMs**

Activité sur *S.aureus* intracellulaire : modèle chronique



Modèle d'infection chronique
Résultats similaires

Comparaison de l'activité rifampicine vs. rifapentine vs. rifabutine

Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion

Pour des CMI équivalentes :

- Rifampicine, rifapentine et rifabutine : même capacité à prévenir la formation biofilm
- Rifapentine et rifabutine : $CMEB_{90}$ 10 à 100 x plus faibles que la rifampicine
- Dès 0,1CMI, seule la rifabutine
 - **éradique les *S. aureus* intracellulaire** dans nos **modèles d'infection aiguë et chronique**
 - **prévient la cytotoxicité** induite par l'infection au moins en partie du fait de son **activité anti-PSMs**

Comparaison de l'activité rifampicine vs. rifapentine vs. rifabutine

Introduction

Objectifs

Méthodes

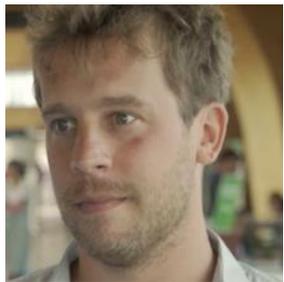
Résultats

Conclusion

Rifabutine : alternative thérapeutique dans le traitement des IOA ?

- Efficace à plus faible concentration que rifapentine et rifampicine
 - Utilisation à plus faible concentration = **prévention**
 - de l'émergence de SCVs
 - des effets indésirables systémiques
- Etudes *in vivo* nécessaires pour confirmer ces résultats prometteurs

Remerciements



Dr. Florent VALOUR



Pr Frédéric LAURENT



Dr. Alan DIOT



Dr. Jason TASSE



Pr. Tristan FERRY



Dr. Jérôme JOSSE



Pr. Sebastien-LUSTIG

Pr. François VANDENESCH

Pr. Jérôme ETIENNE

Pr. Gérard LINA

Dr. Anne TRISTAN

Dr. Michèle BES

Dr. Patricia MARTINS-SIMOES

Dr. Céline DUPIEUX

Dr Clara SINEL

Camille ANDRE

Andrea CARA

Marine BERGOT

Allison FAURE

Camille KOLENDA

Marie CHEVIGNON

Rifamycines : activité en intracellulaire sur un modèle d'infection chronique

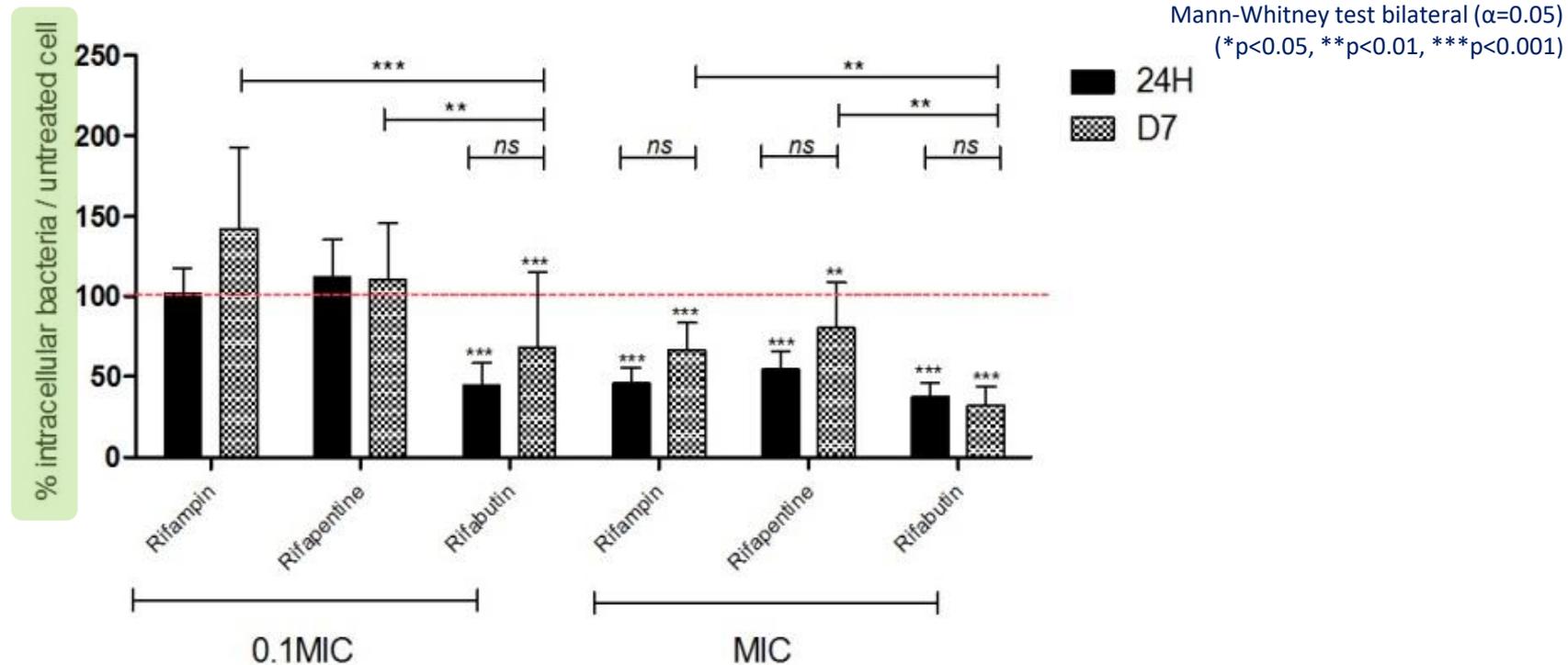
Introduction

Objectifs

Méthodes

Résultats

Conclusion



Rifabutine reste efficace à 0,1CMI sur les bactéries ayant persistées 7 jours