



Université Claude Bernard



Lyon 1

# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **19 octobre 2020**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame ABAD Lélia**

Titre de la thèse : « *Activité des antibiotiques sur le biofilm et les bactéries intracellulaires au cours des infections ostéo-articulaires à Staphylococcus aureus* »

## Résumé



Principale cause des infections ostéo-articulaires (IOA), *S. aureus* est responsable de formes particulièrement difficiles à traiter, notamment du fait de mécanismes phénotypiques associés à un échappement au système immunitaire de l'hôte et à l'action des antibiotiques incluant la formation de biofilm et la constitution d'un réservoir intracellulaire. En conséquence, la capacité des antibiotiques à cibler ces mécanismes de persistance bactérien pourrait être essentielle dans le choix des stratégies thérapeutiques. Dans ce contexte, nous avons évalué l'activité de nouvelles molécules anti-staphylococciques (daptomycine, oxazolidinones, rifamycines) et de nouvelles stratégies (associations thérapeutiques, alcalinisation lysosomale) dans des modèles *in vitro* de formation de biofilm et d'infection ostéoblastique.

Concernant les nouvelles molécules évaluées, nous avons mis en évidence une faible activité intraostéoblastique et anti-biofilm des oxazolidinones, faisant d'elles de mauvais candidat dans la stratégie d'éradication des réservoirs associés à la chronicité des IOA. Les rifamycines, comme décrit dans la littérature, ont rapportées une bonne activité intracellulaire, anti-biofilm et anti-toxinique. La rifabutine s'est toutefois démarquée par son profil, associant une meilleure éradication de l'inoculum intracellulaire à faible concentration (dès 0,1x CMI) et activité anti-biofilm en comparaison à la rifampicine. Ces résultats ont confirmé qu'au sein d'une même classe d'antibiotiques, la CMI pourtant identique n'est pas suffisante pour appréhender l'activité de molécules contre les mécanismes de persistance bactérienne. Parmi les nouvelles stratégies évaluées, nous avons testé la daptomycine seule ou en association avec des bêta-lactamines, montrant une synergie intracellulaire avec l'oxacilline, y compris sur une souche de *S. aureus* résistante à la méthicilline, probablement du fait du pH acide intralysosomal. En effet, les conditions physico-chimiques intracellulaires – et notamment le pH – pouvant impacter fortement l'activité des antibiotiques. Nous avons donc enfin évalué la potentialisation de l'action des antibiotiques par alcalinisation phagolysosomale. Parmi les agents lysosomotropiques évalués, l'hydroxychloroquine permettait une alcalinisation efficace (pH lysosomal augmenté à 7,4) sans cytotoxicité. Son utilisation en tant qu'adjuvant au cotrimoxazole, à la clindamycine, la daptomycine et la levofloxacine permettait multiplier la bactéricidie intracellulaire par 2,7 à 6,5 de ces

molécules. Par ailleurs, en plus de son action alcalinisante lysosomotrope, l'hydroxychloroquine permet d'augmenter le flux autophagique faisant d'elle un antibactérien indirect. Ces résultats préliminaires *in vitro* nécessitent néanmoins une confirmation *in vivo*, notamment sur modèles animaux d'IOA chroniques.

**Mots-clés** : *Staphylococcus aureus* ; Infections ostéo-articulaires ; Internalisation ; Biofilm ; Small colony variants ; Antibiotiques ; Alcalinisation, Hydroxychloroquine ; Oxazolidinones ; Rifamycines