

**UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DE MEDECINE**

ANNEE 2010

THESE

Pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Qualification en Médecine Interne

Par

Maeva LEFEBVRE

Née le 2 novembre 1979 à Cherbourg

Présentée et soutenue publiquement le 8 juin 2010

**Intérêts de la daptomycine dans les infections
ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus***

Président :

Directeur de thèse : Examineurs :

M le Professeur F. Raffi. PU-PH Maladies Infectieuses et Tropicales

Mme J. Caillon. MCU-PH Microbiologie

M le Professeur G. Potel. PU-PH Thérapeutiques

M le Professeur Hamidou. PU-PH Médecine Interne

Mme N. Asseray. PH Maladies Infectieuses et Tropicales

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| LISTE DES ABREVIATIONS | 4 |
| INTRODUCTION | 6 |
| LA DAPTOMYCINE | 9 |
| 1. HISTOIRE DE LA DAPTOMYCINE | 9 |
| 2. MECANISME D'ACTION DE LA DAPTOMYCINE | 10 |
| 3. PHARMACODYNAMIE DE LA DAPTOMYCINE | 11 |
| 3.1. Spectre d'action | 11 |
| 3.2. Influence des facteurs bactériens et environnementaux sur l'activité <i>in vitro</i> de la daptomycine | 13 |
| 3.3. Profil de pharmacocinétique/pharmacodynamie | 14 |
| 3.4. Tolérance | 14 |
| 3.5. Résistance | 17 |
| 4. PHARMACOCINETIQUE DE LA DAPTOMYCINE | 20 |
| 4.1. Absorption | 20 |
| 4.2. Distribution | 20 |
| 4.3. Métabolisme | 21 |
| 4.4. Elimination | 22 |
| OBJECTIFS DE L'ETUDE | 25 |
| MATERIEL ET METHODES | 26 |
| 1. EXPERIMENTATIONS <i>IN VITRO</i> | 26 |
| 1.1. Microorganismes | 26 |
| 1.2. Antibiotiques | 26 |
| 1.3. Milieux | 26 |
| 1.4. Antibiogramme | 27 |
| 1.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la daptomycine | 27 |
| 1.6. Etude des modifications morphologiques de <i>Staphylococcus aureus</i> exposé à la daptomycine par microscopie électronique à balayage | 28 |
| 1.7. Etude des cinétiques de bactéricidie de la daptomycine et de la vancomycine, seules ou en association à la rifampicine | 28 |
| 1.8. Etude des cinétiques de bactéricidie de la daptomycine en association au linézolide, à la tigécycline, à la vancomycine et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole | 29 |
| 1.9. Transport d'antibiotique (« carry-over ») | 29 |
| 2. EFFICACITE DE LA DAPTOMYCINE ET DE LA VANCOMYCINE DANS UN MODELE EXPERIMENTAL D'INFECTION OSTEO-ARTICULAIRE A <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTANT A LA METICILLINE | 30 |
| 2.1. Animaux | 30 |
| 2.2. Souche bactérienne | 30 |
| 2.3. Etude de la pharmacocinétique plasmatique spontanée de la daptomycine chez le lapin | 30 |
| 2.4. Détermination de la pharmacocinétique plasmatique humanisée de la daptomycine chez le lapin | 31 |
| 2.5. Mise au point du modèle d'ostéo-arthrite aiguë à <i>S. aureus</i> chez le lapin | 31 |
| 2.6. Détection des mutants résistants à la daptomycine et à la rifampicine | 33 |
| 2.7. Etude de la diffusion de la daptomycine dans la moelle osseuse et l'os | 33 |
| 2.8. Analyse statistique | 34 |
| 3. EXPERIENCE DE LA DAPTOMYCINE DANS LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES A STAPHYLOCOQUE AU CHU DE NANTES | 35 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| RESULTATS | 36 |
| 1. ETUDES <i>IN VITRO</i> | 36 |
| 1.1. Antibiogramme | 36 |
| 1.2. Concentration minimale inhibitrice | 36 |
| 1.3. Modifications morphologiques de <i>Staphylococcus aureus</i> exposé à la daptomycine | 37 |
| 1.4. Cinétiques de bactéricidie de la daptomycine et de la vancomycine | 39 |
| 1.5. Cinétiques de bactéricidie des associations daptomycine plus rifampicine et vancomycine plus rifampicine | 41 |
| 1.6. Cinétiques de bactéricidie des associations daptomycine plus co-trimoxazole, tigécycline, linézolide et vancomycine | 43 |
| 2. EFFICACITE DE LA DAPTOMYCINE DANS LE MODELE D'OSTEO-ARTHRITE AIGUË A <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> RESISTANT A LA METICILLINE | 45 |
| 2.1. Pharmacocinétique plasmatique spontanée de la daptomycine chez le lapin | 45 |
| 2.2. Simulation de la pharmacocinétique plasmatique humaine de la daptomycine chez le lapin | 45 |
| 2.3. Examen anatomo-pathologique de la pièce fémorale | 46 |
| 2.4. Efficacité thérapeutique de la daptomycine <i>versus</i> vancomycine, seules ou en association à la rifampicine, dans le modèle d'ostéo-arthrite aiguë à <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline chez le lapin | 47 |
| 2.5. Recherche de mutants résistants à la daptomycine et à la rifampicine | 48 |
| 2.6. Etude de la diffusion de la daptomycine dans l'os et dans la moelle osseuse | 49 |
| 3. EXPERIENCE DE LA DAPTOMYCINE DANS LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES A STAPHYLOCOQUE AU CHU DE NANTES | 50 |
| DISCUSSION | 54 |
| 1. ACTIVITE ANTI-MICROBIENNE DE LA DAPTOMYCINE <i>IN VITRO</i> | 54 |
| 2. CINETIQUES DE BACTERICIDIE DES ASSOCIATIONS ANTIBIOTIQUES | 55 |
| 3. JUSTIFICATION DU MODELE EXPERIMENTAL | 57 |
| 4. DISCORDANCE ENTRE L'ACTIVITE BACTERICIDE <i>IN VITRO</i> ET <i>IN VIVO</i> DE LA DAPTOMYCINE | 60 |
| 5. PLACE DE LA DAPTOMYCINE EN PATHOLOGIE OSTEO-ARTICULAIRE HUMAINE | 63 |
| CONCLUSION | 72 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 73 |
| LISTE DES TABLEAUX | 85 |
| LISTE DES FIGURES | 86 |
| LISTE DES PHOTOS | 87 |

LISTE DES ABREVIATIONS

AM : Antibiotique Medium

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ASC : Aire Sous la Courbe

ATCC : American Type Culture Collection

ATP : Adénosine Tri-Phosphate

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CL_{CR} : Clairance de la créatinine

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

C_{max} : Concentration maximale

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COL : Collection

CPK : Créatinine Phosphokinases

CPM : Concentration Prévenant les Mutants

DAP : Daptomycine

EARSS : European Antimicrobial Resistance Surveillance System

EMA : European Medicine Agency

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FDA : Food and Drug Administration

Ga : Gauge

GISA : Heterogeneously Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus*

hGISA : Heterogeneously Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus*

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

I : Intermédiaire

IcPTM : Infections Compliquées de la Peau et des Tissus Mous

IM : Intramusculaire

ISO : Infection du Site Opératoire

IVSE : Intraveineux à la Seringue Electrique

log : logarithme base 10

MEB : Microscopie Electronique à Balayage

MH : Mueller-Hinton

NNISS : National Nosocomial Infections Surveillance System

Q/D : Quinupristine/Dalfopristine

® : Enregistré

R : Résistant

RA : Rifampicine

RAISIN : Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

S : Sensible

SA : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

SASM : *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méricilline

Sd : Ecart-type

$t_{1/2}$: Demi-vie

TS : Trypticase Soja

UFC : Unité Formant Colonie

VA : Vancomycine

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VISA : Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*

INTRODUCTION

Les infections ostéo-articulaires sont des pathologies graves, qui engagent le pronostic fonctionnel et vital. Elles sont fréquentes et aboutissent, dans un nombre non négligeable de cas, à une évolution chronique et invalidante, dont la prise en charge thérapeutique est difficile et le coût en matière de santé publique important (1). Les infections ostéo-articulaires regroupent un ensemble hétérogène d'infections, définies selon le mode de contamination, la durée d'évolution, et selon la présence ou non de matériel étranger (2). Le taux d'incidence des arthrites et des spondylodiscites est estimé à 5,7 et 2,4/100000 habitants respectivement (3-5). Le taux d'incidence des infections sur prothèse de hanche et de genou est estimé à 1 à 2/100 et 2 à 3/100 prothèses posées en moyenne, les dernières données françaises du réseau de surveillance ISO-RAISIN rapportant 6943 infections de prothèse de hanche de score de NNIS-0 en 2006 (6). Toujours d'après la surveillance nationale RAISIN, le taux d'incidence des infections sur matériel d'ostéosynthèse était de 1% d'après 63839 interventions, variant de 0,5% pour les interventions de score de NNIS à 0 à 3,7% pour les interventions de score de NNIS supérieur à 1.

Ces infections orthopédiques sur matériel étranger sont particulièrement redoutables parce qu'il est extrêmement difficile d'obtenir l'éradication bactérienne, en particulier en l'absence d'ablation du matériel. Les difficultés thérapeutiques sont en partie dues aux stratégies développées par les bactéries pour survivre dans un environnement hostile : en présence de cristaux, de séquestres ou de métaux, les bactéries subissent en quelques heures des modifications adaptatives individuelles (métaboliques) et collectives (biofilm) permettant leur survie, la chronicisation de l'infection et la résistance aux thérapeutiques. Le biofilm est une entité dynamique constituée d'eau, de polysaccharidiques et de molécules de signalisation qui sont sécrétés par les bactéries (slime), et de bactéries engluées, communiquant et interagissant les unes avec les autres par le biais du « quorum sensing » pour former une organisation cellulaire et matricielle structurée (7-9).

Les bactéries le plus souvent isolées dans ce type d'infections sont des staphylocoques, au premier rang desquels se trouve *Staphylococcus aureus*, doté de facteurs de persistance et de virulence complexes et modulables et posant des problèmes en terme de résistance. Les staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM) représentent en effet 26% des staphylocoques dorés isolés dans les hôpitaux français (10). Leur éradication du foyer infectieux ostéo-articulaire est d'autant plus difficile que la pharmacocinétique des rares antibiotiques encore disponibles est modifiée dans l'environnement osseux (11).

Le traitement des infections ostéo-articulaires est peu consensuel puisqu'il est guidé par une conférence de consensus vieille de 19 ans, les recommandations pour la pratique clinique publiées en novembre 2009 ne concernant que les infections ostéo-articulaires sur matériel (12,13). Seuls les glycopeptides, certaines fluoroquinolones, la pristinaamycine, la clindamycine et l'acide fusidique ont une AMM spécifique aux infections osseuses et articulaires, à condition que le germe responsable soit sensible. La rifampicine est pourtant considérée comme un antibiotique de choix en raison de ses propriétés pharmacocinétiques et du maintien de son activité bactéricide sur les bactéries intracellulaires, en phase de latence ou engluées dans le biofilm qui se forme sur les matériels étrangers (8). De plus, seules 3% des souches de SARM sont résistantes à la rifampicine (10). La rifampicine ne doit jamais être administrée seule, afin d'éviter la sélection de mutants résistants. Aujourd'hui, les glycopeptides restent donc la base du traitement initial des infections ostéo-articulaires à SARM, malgré des modalités d'administration fastidieuses et une potentielle néphrotoxicité. Les nouveaux antibiotiques anti-staphylococciques n'ayant pas fait l'objet d'essais randomisés dans cette indication, leur utilisation est donc basée sur des essais cliniques de faibles valeurs, des études expérimentales et l'avis d'experts.

Parmi ces nouveaux antibiotiques anti-staphylococciques, la daptomycine possède une forte activité bactéricide *in vitro* sur la plupart des bactéries à Gram positif, notamment les souches bactériennes multirésistantes. Son efficacité dans les infections ostéo-articulaires a été peu étudiée alors qu'elle pourrait représenter une alternative intéressante à la vancomycine dans ce type d'indication.

Nous avons voulu étudier l'efficacité de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires à staphylocoque. Les études cliniques dans ce domaine étant particulièrement difficiles à mettre en œuvre et à interpréter en raison de l'hétérogénéité des infections et des prises en charge, nous avons utilisé un modèle expérimental d'infection osseuse. L'objectif de notre travail était d'étudier l'efficacité de la daptomycine *in vitro*, puis *in vivo* dans un modèle expérimental d'infection ostéo-articulaire à SARM et de la comparer à celle de la vancomycine.

Nous ferons tout d'abord un rappel sur les caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la daptomycine. Nous exposerons ensuite les méthodes utilisées

et les résultats des travaux réalisés *in vitro* et *in vivo* dans le modèle animal d'infection ostéo-articulaire aiguë à SARM. Nous rapporterons l'expérience de la daptomycine dans le traitement des infections ostéo-articulaires au CHU de Nantes. Nous discuterons enfin les résultats et les implications en pratique clinique.

1. Histoire de la daptomycine

La daptomycine (Cubicin[®], Cubist Pharmaceuticals et Novartis) est le premier représentant d'une nouvelle classe d'antibiotiques : les lipopeptides cycliques, constitués d'un cycle peptidique de 13 acides aminés et d'une queue acyl d'acide décanoyle (Figure 1). Il s'agit d'une grosse molécule hémisynthétique (PM, 1620,67 Da ; PM de la vancomycine, 1485,7 Da), dérivée d'un produit de fermentation d'un actinomycète, *Streptomyces roseosporus*, isolé du sol du Mont Ararat, en Turquie (14). La daptomycine (LY146032) a été découverte par Lilly Research Laboratories au début des années 1980s par criblage des produits de fermentation bactérienne pour leur activité antibiotique (15). Elle a été développée pour le traitement parentéral des infections graves à bactéries à Gram positif et a été étudiée dans dix-neuf essais de phase 1 et deux essais de phase 2, à la posologie de 2 mg/kg/jour puis 3 et 4 mg/kg/12 heures dans les infections compliquées de la peau et des tissus mous et dans les bactériémies et endocardites (16,17). Son développement clinique a été interrompu en 1991 en raison d'échecs dans le traitement des endocardites infectieuses aux doses de 2 et 3 mg/kg/12 heures et de toxicité musculaire (myalgies et faiblesse musculaire précédées d'une augmentation des CPK) lorsque la dose de 4 mg/kg/12 heures était utilisée. Le développement de la daptomycine a ensuite été repris par Cubist Pharmaceuticals en 1997 à la dose de 4 mg/kg/24 heures.

Suite aux résultats de deux essais cliniques randomisés ayant inclus 1092 adultes traités dans le cadre d'infections compliquées de la peau et des tissus mous (IcPTM) à bactéries à Gram positif, la daptomycine a été validée dans cette indication à la dose de 4 mg/kg/24 heures par la Food and Drug Administration (FDA) en 2003 et par la European Medicine Agency (EMA) en 2006 (18). Après la démonstration de sa non-infériorité par rapport au traitement de référence (vancomycine ou pénicilline hémi-synthétique et gentamicine) en termes d'efficacité clinique et microbiologique chez des patients atteints de bactériémie ou d'endocardite infectieuse du cœur droit à *S. aureus*, son AMM a été étendue à cette indication à la dose de 6 mg/kg/24 heures par la FDA, et au traitement des bactériémies associées à une IcPTM ou à une endocardite infectieuse du cœur droit à *S. aureus*, par l'EMA, en mars 2006 et septembre 2007 respectivement (19). Les essais cliniques ont par contre montré que, malgré la forte activité bactéricide de la daptomycine vis-à-vis de *Streptococcus pneumoniae*, son efficacité était inférieure à celle de la ceftriaxone dans le

traitement des pneumopathies communautaires (20). Silverman *et al* ont montré que le manque d'efficacité de la daptomycine dans cette indication était en rapport avec l'inactivation sélective de la daptomycine par le surfactant pulmonaire (21).

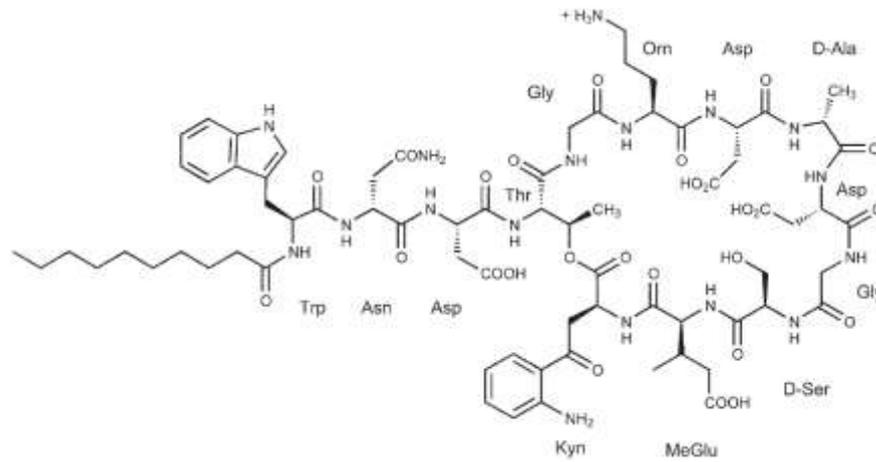


Figure 1. Formule topologique de la daptomycine (22)

2. Mécanisme d'action de la daptomycine

Bien que les études concernant la daptomycine aient débuté il y a déjà 20 ans, son mécanisme d'action n'est pas encore totalement élucidé. La plupart des études ont été réalisées sur *S. aureus*. Le mécanisme d'action de la daptomycine repose sur l'affinité de son radical décanoyle pour la bicouche lipidique de la membrane plasmique bactérienne et sur l'interaction du peptide chargé négativement avec les groupes phosphatidylglycérol membranaires, en présence d'ions calcium. Les ions calcium permettraient également aux molécules de daptomycine, une fois ancrées dans la bicouche lipidique, de s'oligomériser et de former des pores membranaires, aboutissant à la fuite du potassium, magnésium et ATP cellulaires et à la dépolarisation membranaire (Figure 2) (23,24). Certaines études ont montré l'existence d'une corrélation entre la fuite du potassium intra-cellulaire, la dépolarisation membranaire et l'activité bactéricide de la daptomycine (25), tandis qu'une étude plus récente a montré que la mort cellulaire survenait avant la dépolarisation membranaire, suggérant que la daptomycine exerce son activité bactéricide par le biais d'autres modifications membranaires (26). La bactéricidie provoquée par la daptomycine proviendrait également de l'arrêt des synthèses potassium-dépendantes des protéines et des acides nucléiques (27). Une approche récente de transcriptomique a montré que le transcriptome de *S. aureus* exposé à la daptomycine subissait une augmentation de

l'expression des gènes du stimulon du stress de paroi, en particulier le gène *vraSR*, codant pour un système à deux composants qui régule positivement la biosynthèse de la paroi bactérienne, comme lors d'une exposition à la vancomycine ou à l'oxacilline (28). Cette modification d'expression génique n'était pas obtenue par l'exposition à d'autres agents chimiques dépolarisants de membrane bactérienne, suggérant que l'inhibition de synthèse du peptidoglycane intervienne aussi dans le mode d'action de la daptomycine. Enfin, il est important de noter que la daptomycine exerce son activité bactéricide sur *S. aureus* sans lyse cellulaire, ce qui, *in vitro*, est associé à une sécrétion moindre de cytokines inflammatoires par les macrophages (29,30).

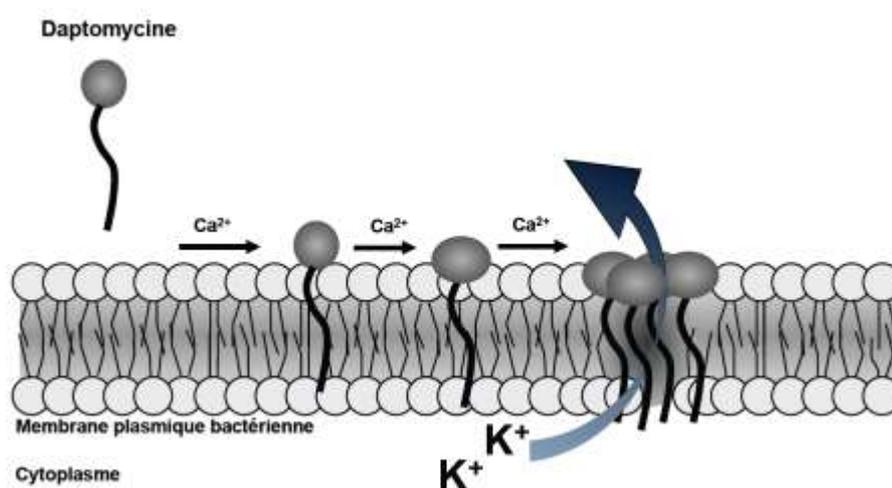


Figure 2. Mode d'action de la daptomycine

3. Pharmacodynamie de la daptomycine

3.1. Spectre d'action

La daptomycine possède une forte activité bactéricide *in vitro* sur la plupart des bactéries à Gram positif, notamment sur les souches bactériennes multirésistantes. Son spectre d'action comprend donc la plupart des bactéries à Gram positif aérobies, en particulier les staphylocoques, les streptocoques et les entérocoques, et les anaérobies, à l'exception de *Listeria monocytogenes*, *Actinomyces odontolyticus*, *Clostridium ramosum* et *Eubacterium lentum*. Elle est inactive sur les bactéries à Gram négatif (31,32).

Les concentrations critiques ont été établies par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et le European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

(EUCAST). Les souches de staphylocoques et de streptocoques (à l'exception de *S. pneumoniae*) dont la CMI est inférieure ou égale à 1 mg/l sont définies comme sensibles par le CLSI et l'EUCAST et celles dont la CMI est supérieure à 1 mg/l sont définies comme résistantes. Pour ces germes, la distribution des CMI est unimodale et inférieure à 1 mg/l et par simulation par la méthode de Monte Carlo, la probabilité d'atteindre un rapport ASC/CMI moyen égal à 438 est 77,2% pour une CMI égale à 1 mg/l et une posologie de daptomycine de 4 mg/kg/jour (33). La concentration critique est 4 mg/l pour les entérocoques selon le CLSI. La méthode du CLSI pour tester la sensibilité des souches bactériennes utilise un milieu de Mueller-Hinton supplémenté en taux physiologiques de calcium (50 mg/l) (34). Les disques de daptomycine ont été retirés du marché en raison de taux de calcium variables et de la faible diffusion de la grosse molécule de daptomycine dans la gélose, rendant la méthode non reproductible. Par contre, un certain nombre de systèmes commerciaux d'étude de la CMI sont fiables, en particulier l'Etest[®] (AB Biodisk, Solna, Suède) qui comporte un niveau stable de calcium le long du gradient de daptomycine (35,36).

La sensibilité à la daptomycine de 17193 souches bactériennes provenant de 28 hôpitaux de 12 pays européens entre 2005 et 2007 a été testée par la méthode de microdilution en milieu liquide (37). Toutes les souches étaient sensibles, à l'exception de sept souches (0,2%) de staphylocoques à coagulase négative. La CMI maximale de la daptomycine était de 1 mg/l pour *S. aureus*, 4 mg/l pour les staphylocoques à coagulase négative, 2 et 4 mg/l, pour *E. faecalis* et *E. faecium* respectivement. La même méthodologie a été utilisée pour tester la sensibilité à la daptomycine de 12443 souches provenant de 27 hôpitaux américains entre 2007 et 2008 (38). Toutes les souches étaient sensibles, à l'exception de huit souches de *S. aureus* (0,1%), six souches de staphylocoques à coagulase négative (0,5%) et 4 souches d'*E. faecium*. La CMI₉₀ était de 0,5 mg/l pour les staphylocoques, sans différence selon la sensibilité à la méticilline, 1 mg/l pour *E. faecalis* et 2 mg/l pour *E. faecium*, indépendamment de la sensibilité à la vancomycine. Ces résultats n'étaient pas différents de ceux obtenus lors des premières études de sensibilité réalisées plus de vingt ans auparavant (16).

L'activité de la daptomycine a en particulier été étudiée *in vitro* vis-à-vis de souches de SARM sensibles aux glycopeptides, de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides (GISA) et de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides hétérogènes (hGISA) (39). Les CMI étaient échelonnées entre 0,12 et 2 mg/l. A 6 heures, la daptomycine était bactéricide pour

50 et 70% des souches sensibles aux glycopeptides à 2 et 4 fois la CMI respectivement. Elle ne l'était que pour 30 et 60% des souches hGISA à 2 et 4 fois la CMI respectivement. L'augmentation d'épaisseur de la paroi bactérienne des *S. aureus* hGISA et les modifications métaboliques qui l'accompagnent pourraient être à l'origine de cette baisse de bactéricidie (40).

La daptomycine est rapidement bactéricide et son activité antibactérienne est concentration-dépendante (41-43). A 2-4 fois la CMI, elle permet une réduction du nombre de bactéries viables de 3 log en 1 heure. Enfin, la daptomycine a un effet post-antibiotique prolongé dose-dépendant sur *E. faecalis* (0,6-6,7 h) et *S. aureus* (1-6,3 h) en présence de concentrations physiologiques de calcium (43).

3.2. Influence des facteurs bactériens et environnementaux sur l'activité *in vitro* de la daptomycine

L'activité de la daptomycine dépend de la concentration de calcium libre dans le milieu. La méthode du CLSI pour tester la sensibilité des souches bactériennes en milieu liquide utilise un milieu de Mueller-Hinton supplémenté en taux physiologiques de calcium (50 mg/l) (44,45). Fuchs *et al* ont comparé la performance des Etest[®] sur gélose de Mueller Hinton supplémentée en calcium (25 mg/l) à celle du CLSI et ont évalué l'effet de la concentration de calcium dans la gélose sur la CMI (46). Ils ont montré qu'il y avait une dilution de différence au maximum entre les deux méthodes vis-à-vis des staphylocoques et que la CMI par Etest[®] était inversement corrélée au taux de calcium dans la gélose. Il n'y avait pas plus de deux dilutions de différence entre les deux méthodes lorsque les géloses contenaient plus de 20 mg/l de calcium. Au contraire, la CMI obtenue par Etest[®] sur une gélose déficiente en calcium était multipliée par 8 par rapport à la méthode de microdilution.

Bien que les concentrations de calcium ionisé soient inversement dépendantes du pH, celui-ci n'affecte pas la CMI, ni la fraction libre de la daptomycine. Par contre, il a été montré que pour un pH compris entre 6,4 et 8, en présence de sérum humain, la daptomycine était moins rapidement bactéricide lorsque le pH était plus bas, suggérant que son activité puisse être diminuée dans le pus (47).

Les études *in vitro* ont montré qu'un fort inoculum bactérien majorait significativement la CMI de la daptomycine et que la concentration prévenant les mutants (CPM) mesurée en milieu liquide augmentait parallèlement à la densité cellulaire (47,48). Dans un modèle *in*

in vitro se rapprochant de conditions *in vivo* (modèle pharmacodynamique d'endocardite), l'effet bactéricide de la daptomycine vis-à-vis de SASM ou de SARM était par contre peu affecté par les forts inoculum (49).

Enfin, Mascio *et al.* ont montré que la daptomycine, à concentration plus élevée, restait bactéricide sur les bactéries en phase stationnaire de croissance (50). Sur les bactéries dont le métabolisme était arrêté, soit par déplétion en nutriments, par un traitement par ionophore à protons (arrêt du métabolisme énergétique), par érythromycine (arrêt des synthèses protéiques), ou par le froid, la daptomycine gardait une activité bactéricide plus forte comparée à la ciprofloxacine ou à la nafcilline.

3.3. Profil de pharmacocinétique/pharmacodynamie

La daptomycine a une activité concentration-dépendante rapidement bactéricide vis-à-vis des bactéries à Gram positif *in vitro*. Dans une étude dose-efficacité utilisant le modèle d'infection de cuisse de souris à *S. aureus*, Louie *et al.* ont montré que le rapport de l'aire sous la courbe (ASC) de la concentration antibiotique en fonction du temps sur la CMI était le paramètre pharmacodynamique le mieux corrélé à l'efficacité de la daptomycine (51). D'autres auteurs, utilisant des modèles d'infection *in vitro* ou *in vivo*, trouvaient des résultats concordants, avec un rapport ASC/CMI compris entre 250 et 530 mg/l pour obtenir un effet bactériostatique de la daptomycine (41,52). Safdar *et al.* ont montré que le rapport C_{max}/CMI était aussi un paramètre pharmacodynamique bien corrélé à l'éradication bactérienne. Dans leur étude, les concentrations de daptomycine libre au pic devaient atteindre 2,5 à 7 fois et 7 à 25 fois la CMI pour obtenir un effet bactériostatique et bactéricide respectivement.

Les doses de 4 mg/kg et 6 mg/kg administrées une fois par jour chez l'homme répondent à l'optimisation des critères pharmacodynamiques définis chez l'animal (ASC/CMI et C_{max}/CMI).

3.4. Tolérance

Les premiers essais cliniques étudiant les effets de la daptomycine administrée toutes les 12 heures ont été interrompus précocement du fait d'une toxicité musculaire avec élévation de la créatinine phosphokinase (CPK) pendant l'administration et jusqu'à 14 jours après l'arrêt lorsque la dose journalière atteignait 8 mg/kg. Deux études sur les chiens ont montré que la myopathie sous daptomycine était spécifique des muscles striés squelettiques et qu'elle était associée à une dégénérescence et à une inflammation des fibres, avec une

régénération sans fibrose ni nécrose extensive des fibres musculaires (53). L'absence de rhabdomyolyse expliquait l'absence d'insuffisance rénale aiguë sous daptomycine. La toxicité était réversible à l'arrêt de l'antibiotique. Les auteurs ont démontré que la toxicité musculaire était plus étroitement liée à l'intervalle entre les perfusions de daptomycine qu'à la concentration plasmatique maximale ou qu'au rapport de ASC/CMI, suggérant que la daptomycine soit administrée en une perfusion unique par jour. Ils supposaient que le mécanisme de myotoxicité de la daptomycine était en rapport avec la fuite des CPK intracellulaires musculaires et qu'un intervalle plus long entre deux administrations permettait la régénération des myocytes.

Dans l'essai clinique comparant l'efficacité de la daptomycine administrée toutes les 24 heures dans les bactériémies et endocardites infectieuses à *S. aureus* par rapport aux traitements de référence, les effets indésirables les plus fréquemment rapportés étaient la diarrhée (1,7% dans le groupe daptomycine *versus* 9,5% dans le groupe comparateur), les nausées (1,7% *versus* 5,2%), l'élévation des CPK sériques (5% *versus* 0%) et l'insuffisance rénale (1,7% *versus* 6%) (19). Le traitement était arrêté en raison de la survenue d'effets indésirables chez 8,3 % des sujets traités par daptomycine (3 cas d'élévation de CPK sériques, 3 cas d'hypersensibilité, 1 cas de vomissements, 1 cas d'insuffisance rénale, 1 cas de thrombocytopenie et 1 arrêt cardiaque) et chez 11,2 % des sujets ayant reçu un traitement comparateur (réactions d'hypersensibilité chez 7 patients, 4 cas d'insuffisance rénale et 2 syndromes fébriles). Une élévation des CPK > 500 UI/l associée à des signes cliniques musculaires ou à une asthénie était observée chez 2,6% (3/116) des sujets du groupe daptomycine. Pour deux d'entre eux, une étiologie autre que l'administration de daptomycine pouvait expliquer cette élévation (un traitement par statine et un traumatisme musculaire). Pour tous, l'augmentation des CPK était réversible.

Dans l'essai clinique comparant l'efficacité de la daptomycine administrée toutes les 24 heures dans les IcPTM par rapport aux traitements de référence, aucune différence en termes de distribution des CPK ou d'augmentation des CPK n'était notée entre les deux groupes (2,1% dans le groupe daptomycine *versus* 1,4% dans le groupe comparateur) (18). L'augmentation des CPK était la cause de l'arrêt de traitement chez 2 des 534 patients traités par daptomycine, mais elle était, là encore, toujours réversible. Des recommandations sur la surveillance des CPK ont été incluses dans le RCP, et la publication de cas de rhabdomyolyse avec insuffisance rénale aiguë rapportés au cours de traitements associant la daptomycine à une statine suggère la nécessité d'interrompre le

traitement par statine ou de renforcer la surveillance des CPK et de la fonction rénale en cas de co-administration de la daptomycine avec d'autres traitements pourvoyeurs de rhabdomyolyse (54). Enfin, alors que l'augmentation des CPK survient généralement après sept à dix jours de traitement, des cas de toxicité précoce, survenant 48 heures voire après la première injection de daptomycine ont été récemment rapportés (55).

Plusieurs cas d'insuffisance rénale aiguë ont été rapportés sous daptomycine sans qu'une relation causale n'ait été clairement établie. Dans l'essai clinique comparant l'efficacité de la daptomycine administrée toutes les 24 heures dans les bactériémies et endocardites infectieuses à *S. aureus* par rapport aux traitements de référence, une insuffisance rénale aiguë survenait moins fréquemment dans le groupe daptomycine que dans le groupe comparateur (19). Aucune conclusion n'était possible parce que les sujets du groupe comparateur recevaient plus souvent un aminoside en association à la pénicilline ou aux glycopeptides. Il faut noter qu'une insuffisance rénale sévère peut, en soi, engendrer une augmentation des taux de daptomycine, propice à accroître le risque de développer une atteinte musculaire. Il est recommandé de surveiller la fonction rénale régulièrement en cas d'administration concomitante de substances ayant un potentiel néphrotoxique, indépendamment de la fonction rénale préexistante.

Enfin, des cas d'hépatites ont été décrits sous daptomycine, de même que des pneumopathies aiguës à éosinophiles (56-60). Les pneumopathies survenaient entre 1 et 4 semaines de traitement par daptomycine et plus rapidement en cas de réintroduction. Les patients présentaient une toux avec dyspnée et fièvre, et un aspect de verre dépoli, de micronodules ou de syndrome alvéolaire au scanner thoracique. Certains présentaient une hyperéosinophilie sanguine. Tous guérissaient à l'arrêt de la daptomycine, avec ou sans corticoïdes.

Les études de tolérance de la daptomycine à des doses supérieures à 6 mg/kg/24 heures sont pour le moment rares. Sur 61 patients recevant la daptomycine à la dose moyenne de 8 mg/kg pour une endocardite infectieuse, une infection ostéo-articulaire ou une IcPTM et une durée médiane de 25 jours, 3 cas de myotoxicité de grade 3, avec des symptômes et un taux de CPK supérieur à 10 fois la limite supérieure de la normale étaient rapportés (61). Chez ces trois patients, dont deux présentaient une obésité morbide, la dose administrée était 8 mg/kg et la toxicité était strictement réversible à l'arrêt de la daptomycine. Dans une

autre étude, évaluant la tolérance de la daptomycine à 10 et 12 mg/kg en une perfusion par jour pendant 14 jours chez 24 sujets sains, aucun cas d'élévation des CPK ou de symptôme musculaire n'était rapporté (62). Un essai de phase 2, évaluant l'efficacité et la tolérance de la daptomycine à 10 mg/kg/24 heures dans les bactériémies à SARM de l'adulte est en cours (<http://www.clinicaltrials.gov/>).

3.5. Résistance

Les souches de staphylocoques dont la CMI est inférieure ou égale à 1 mg/l sont définies comme sensibles par le CLSI et l'EUCAST et celles dont la CMI est supérieure à 1 mg/l sont définies comme résistantes.

- Emergence de souches résistantes

Dans l'étude européenne SECURE menée entre 2001 et 2002, concernant l'activité de la daptomycine sur des souches cliniques de bactéries à Gram positif, aucune souche résistante à la daptomycine n'était détectée sur les 5939 souches testées (63). Par contre, dès la commercialisation de la daptomycine aux USA, plusieurs cas d'augmentation de la CMI à la daptomycine ont été rapportés. Ces augmentations de CMI survenaient lors du traitement d'infections invasives à *S. aureus* et étaient associées la plupart du temps à un échec thérapeutique, voire au décès du patient (64-67). Chez ces patients, la daptomycine n'était administrée qu'au décours de plusieurs lignes d'antibiotiques et pour des périodes souvent prolongées (2 à 6 semaines). Dans la plupart des cas, il s'agissait d'infections difficiles à traiter, avec persistance d'un foyer infectieux ou de matériel prothétique. Dans l'étude comparant l'efficacité de la daptomycine à celle du traitement de référence dans les bactériémies et endocardites à *S. aureus*, Fowler *et al.* ont rapporté une augmentation significative de la CMI à la daptomycine chez 7 des 120 sujets traités, avec un échec clinique pour 6 d'entre eux (19). Cinq isolats étaient des SARM. La CMI à la daptomycine avant traitement était 0,25 mg/l pour cinq des sept souches et 0,5 mg/l pour les deux autres. Elle était augmentée à 2 mg/l pour une des sept souches et 4 mg/l pour les six autres en cours de traitement.

Une équipe a comparé l'efficacité de la daptomycine à celle de la vancomycine dans un modèle d'infection chronique de « cage tissulaire » à SASM chez le rat, et a étudié l'apparition de mutants résistants à la daptomycine (68). Pour les staphylocoques provenant des cages où la charge bactérienne en fin de traitement était relativement faible

(5,05 log ± 0,25), il n'y avait pas de croissance sur une gélose contenant de la daptomycine à 4 mg/l. Par contre, pour les souches bactériennes provenant de cages où la charge bactérienne était forte en fin de traitement (6,86 log ± 0,13), il y avait une croissance de sous-populations résistantes à 4 mg/l de daptomycine, avec une fréquence estimée à $2,2 \times 10^{-4}$. Les CMI en macrodilution étaient multipliées par 4 à 8, la sensibilité aux autres antibiotiques n'était pas modifiée et les souches étaient clonales. L'émergence de résistances spontanées survenait par contre avec une fréquence faible, estimée à 10^{-8} .

- Mécanismes de résistance

L'émergence spontanée *in vitro* de souches résistantes à la daptomycine est un événement rare, survenant avec une fréquence inférieure à 10^{-10} (69). Il a par contre été montré que des souches de sensibilité diminuée à la daptomycine pouvaient être obtenues après passages successifs sur des milieux contenant l'antibiotique à des concentrations croissantes (70). Friedman *et al.* obtenaient par exemple des souches de *S. aureus* résistantes, avec une CMI passant de 0,75 mg/l à 3 à 20 mg/l après 20 jours de passages sériés à des concentrations de daptomycine croissantes. Ces mêmes auteurs ont comparé les séquences génomiques des souches résistantes par rapport aux souches correspondantes sensibles afin d'identifier les gènes impliqués dans la résistance à la daptomycine. La pression de sélection bactérienne à des concentrations subinhibitrices croissantes d'antibiotique aboutissait à l'accumulation de mutations corrélant avec la diminution de la sensibilité à la daptomycine. Ces mutations étaient responsables de changement d'acides aminés au sein de quatre protéines : la lysylphosphatidylglycérol synthétase MprF, l'histidine kinase YycG, et les chaînes β et β' de l'ARN polymérase, RpoB et RpoC. Le séquençage des quatre protéines à partir de souches cliniques dont la CMI était augmentée au cours de traitements par daptomycine révélait des mutations ponctuelles dans *mprF* et une insertion de nucléotide dans *yycG*, suggérant le rôle de ces gènes dans la diminution de sensibilité à la daptomycine. MprF est une protéine impliquée dans la transformation du phosphatidylglycérol membranaire en lysylphosphatidylglycérol et pourrait donc influencer les interactions entre la daptomycine et la membrane plasmique bactérienne. La deuxième protéine impliquée dans la baisse de sensibilité de *S. aureus* à la daptomycine est l'histidine kinase YycG, composant de YycF/YycG, un des systèmes régulateurs à deux composants essentiels pour la bactérie (71). Ce système serait en particulier impliqué dans la perméabilité de la membrane plasmique bactérienne, mais son implication exacte dans la baisse de la sensibilité à la daptomycine n'est à ce jour pas connue. La troisième enzyme

impliquée dans la baisse de sensibilité de *S. aureus* à la daptomycine est l'ARN polymérase. Les mutations observées dans les deux sous-unités β et β' de l'ARN polymérase, RpoB et RpoC n'ont jamais été décrites auparavant et ne sont pas situées dans les régions de *rpoB*, connues pour conférer la résistance à la rifampicine ou à d'autres antibiotiques. On ne sait pas, à l'heure actuelle, si les mutations dans *rpoB* et *rpoC* reflètent une interaction directe entre la daptomycine et la polymérase.

D'autres auteurs ont comparé les caractéristiques phénotypiques de souches cliniques isogéniques de *S. aureus* isolées avant et en cours de traitement par la daptomycine chez des patients en échec thérapeutique. Ils ont montré que les souches résistantes présentaient une augmentation de la fluidité membranaire, une augmentation de la translocation du lysylphosphatidylglycérol sur la couche externe de la membrane plasmique et une augmentation des charges positives à la surface membranaire (72,73). Ils ont constaté une diminution de la fixation de la daptomycine, une diminution de la dépolarisation membranaire, de la perméabilité et du phénomène d'autolyse. On ne sait pas à l'heure actuelle si ces phénomènes sont directement liés aux mutations décrites précédemment et si elles suffisent à expliquer la baisse de sensibilité de *S. aureus* à la daptomycine. Camargo *et al.* ont quant à eux étudié les caractéristiques phénotypiques de souches isogéniques obtenues avant et après exposition *in vitro* à des concentrations subinhibitrices croissantes de daptomycine (74). Il n'y avait pas de modification en terme de fluidité membranaire, mais une augmentation des charges positives membranaires et une augmentation d'épaisseur de la paroi des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée à la daptomycine par rapport aux souches parentes sensibles.

- **Résistance croisée**

Le mécanisme d'action antibiotique des lipopeptides étant unique, il a été supposé lors de la commercialisation de la daptomycine qu'il n'y aurait pas de résistance croisée entre les lipopeptides et les autres classes d'antibiotiques. Plusieurs études ont pourtant trouvé une corrélation entre l'augmentation des CMI à la vancomycine et l'augmentation des CMI à la daptomycine (75-79). Ces études portaient sur des souches de patients qui avaient reçu de nombreux traitements antibiotiques ou sur des souches issues de populations où la prévalence des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides est forte. Cui *et al* ont montré sur des souches isogéniques issues de *S. aureus* intermédiaires à la vancomycine (VISA), que cette corrélation était en rapport avec un épaissement de la

paroi bactérienne, suggérant que l'effet barrière de la paroi vis-à-vis des grosses molécules de daptomycine serait responsable de la diminution de sensibilité de *S. aureus* à la daptomycine, comme cela a été précédemment décrit avec la résistance à la vancomycine sur des souches VISA (40). L'augmentation d'épaisseur de la paroi bactérienne a également été constatée chez les souches de *S. aureus* résistantes à la daptomycine par exposition croissante à la daptomycine (74). La signification clinique de ces données microbiologiques n'est pas claire. Il n'est en particulier pas établi que dans les pays d'Europe où la prévalence des staphylocoques dorés de sensibilité diminuée à la vancomycine est faible, l'exposition bactérienne préalable à la vancomycine affecte l'efficacité clinique de la daptomycine.

4. Pharmacocinétique de la daptomycine

4.1. Absorption

La daptomycine n'est pas absorbée dans des proportions significatives après administration orale. Son administration se fait par voie intraveineuse en une perfusion de 30 minutes. Il a récemment été montré que la pharmacocinétique et la tolérance de la daptomycine étaient similaires avec une perfusion de 2 minutes (80).

4.2. Distribution

Les concentrations de daptomycine sont au mieux représentées par un modèle bicompartimental, avec une phase de distribution longue, en raison de la grosse taille de la molécule et de sa forte fixation protéique (81). La pharmacocinétique de la daptomycine est linéaire jusqu'à une posologie de 8 à 10 mg/kg, administrée en une perfusion quotidienne pendant 7 jours, avec une demi-vie de 8 à 9 heures et un état d'équilibre atteint au troisième jour (82). Le volume de distribution de la daptomycine à l'état d'équilibre est approximativement 0,1 l/kg chez les volontaires sains adultes, traduisant une diffusion extra-vasculaire limitée. Les études animales sur la distribution tissulaire ont montré après l'administration en dose unique ou en doses répétées, que la daptomycine se retrouvait principalement dans les tissus fortement vascularisés et, à moindre degré, qu'elle passait la barrière hémato-encéphalique et la barrière placentaire. Le tableau I résume la distribution tissulaire de la daptomycine.

La daptomycine se lie fortement aux protéines plasmatiques humaines de manière réversible et indépendante de la concentration. La liaison protéique moyenne est de 92 %

chez des volontaires sains ou des patients traités par daptomycine, y compris ceux présentant une insuffisance rénale (83). La liaison se fait *in vitro* à 50% sur l'albumine et à 50% sur l' α 1-acide glycoprotéine mais à plus de 90% lorsque les deux protéines sont présentes. Ce phénomène de synergie est expliqué par des modifications conformationnelles que les deux protéines subissent quand elles sont en présence l'une de l'autre (81). Le taux de liaison protéique est comparable chez la souris et le lapin (51).

Tableau I. Pénétration tissulaire de la daptomycine

| Tissu | Espèce animale | C _{max} | Ratio tissu/sérum | Référence |
|-----------------------------------|-------------------------------------|------------------|-------------------|-----------|
| Liquide interstitiel - (bulle) | homme | 27,6 mg/l | 68,4% | (84) |
| - (tissus sous-cutanés) | Homme (sujets sains/diabétiques) | | 93%/74% | (85) |
| Caillots de fibrine | Rat, lapin | 3,5 μ g/g | 72,7% | (86) |
| Liquide péritonéal | Rat | 11,8 mg/l | 35,1% | (68) |
| Liquide péritonéal | Homme (sepsis à <i>E. faecium</i>) | 17 mg/l | 42% | (87) |
| LCR | Lapin | 5,2 mg/l | 5,97% | (88) |

4.3. Métabolisme

Les études *in vitro* ont mis en évidence l'inexistence ou l'existence limitée d'un métabolisme microsomique hépatique de la daptomycine chez l'homme, le cytochrome P450 (CYP450) n'intervenant que peu ou pas du tout dans le métabolisme de la daptomycine (31). Les études *in vitro* ont montré que la daptomycine n'inhibait ni n'induisait les activités des cytochromes humains CYP P 450 1A2, 2A6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4. De ce fait, aucune interaction médicamenteuse cliniquement significative impliquant ces cytochromes n'est théoriquement attendue. L'analyse des échantillons plasmatiques de sujets recevant une dose de 6 mg/kg de daptomycine n'a pas permis de mettre en évidence la présence de métabolites, suggérant un métabolisme systémique faible ou inexistant (81). D'autre part, aucun métabolite n'était trouvé dans le plasma après l'administration de médicament radiomarqué chez l'homme sur la base du radiomarquage total et des concentrations microbiologiquement actives. La quantité du radiomarquage dans les urines suggérait par contre la présence de métabolites issus du métabolisme rénal de la daptomycine en quatre métabolites microbiologiquement inactifs et aussitôt excrétés par le rein.

4.4. Elimination

Après administration intraveineuse, la clairance plasmatique de la daptomycine est approximativement de 7 à 9 ml/h/kg et sa clairance rénale se situe entre 4 et 7 ml/h/kg. La daptomycine est éliminée sous forme inchangée, essentiellement par les reins compte tenu de son caractère hydrophile.

Une étude pharmacocinétique de population portant sur 282 sujets inclus dans 15 essais de phases 1, 2 et 3 a permis de définir les facteurs de variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique de la daptomycine (89). Dans cette étude la clairance plasmatique de la daptomycine dépendait du sexe et de la température corporelle, mais surtout de la fonction rénale. En comparaison aux sujets dont la fonction rénale était normale (clairance de la créatinine (CL_{CR}) supérieure à 80 ml/min), les sujets dont la CL_{CR} était inférieure à 40 ml/min avaient une demi-vie de la daptomycine multipliée par 2,3. L'ASC chez ces patients était multipliée par 1,8 par rapport aux sujets sans insuffisance rénale. C'est en partie sur ces données que repose la recommandation d'adaptation de posologie de la daptomycine : lorsque la CL_{CR} est inférieure à 30 ml/min, la même posologie de daptomycine (4 ou 6 mg/kg) ne doit être administrée que toutes les 48 heures. Les patients hémodialysés trois fois par semaine ou bénéficiant d'une dialyse péritonéale continue ambulatoire (DPCA) avaient une ASC multipliée par 3 par rapport aux sujets dont la fonction rénale était normale. L'hémodialyse permettant par ailleurs l'élimination de seulement 15% en 4 heures de la dose administrée, et la DPCA l'élimination de 11% en 48 heures de la dose administrée, la même posologie de daptomycine (4 ou 6 mg/kg) ne doit être administrée que toutes les 48 heures dans ces situations. Burkhardt *et al.* ont par contre montré que l'hémodialyse intensive journalière, c'est à dire 12 heures d'hémodialyse tous les jours, permettait d'obtenir des taux plasmatiques de daptomycine proches des taux obtenus chez les sujets dont la fonction rénale est normale, avec la même posologie (90). La quantité de daptomycine dans le dialysat était importante (346 mg pour 660 mg administrés). Ces données doivent être interprétées avec prudence parce qu'elles sont issues de mesures réalisées après une seule injection chez un seul patient hospitalisé en réanimation pour un choc septique, avec un volume de diffusion par conséquent augmenté et un taux d'albumine diminué, facilitant l'élimination de l'antibiotique. Il se peut cependant que dans un contexte de réanimation, il ne faille pas diminuer les posologies de daptomycine chez les sujets bénéficiant d'hémodialyse intensive, sous couvert de la réalisation de dosages plasmatiques.

Aucune étude de pharmacocinétique de la daptomycine administrée lors d'une épuration rénale continue n'a été à ce jour réalisée, mais il a été montré dans un modèle *in vitro* de clairance de la daptomycine que l'hémodiafiltration continue ne permettait pas l'élimination suffisante de l'antibiotique (91).

La pharmacocinétique de la daptomycine n'est pas différente chez les sujets présentant une insuffisance hépatique modérée (score de Child-Pugh B) de celle des volontaires sains présentant les mêmes caractéristiques de sexe, d'âge et de poids après administration d'une dose unique de 4 mg/kg (92). Aucun ajustement de dose n'est donc nécessaire chez ces sujets. Enfin, la pharmacocinétique de la daptomycine n'a pas été établie chez les patients présentant une insuffisance hépatique sévère (score de Child-Pugh C). Son utilisation dans de telles circonstances n'est donc pas conseillée.

Les paramètres pharmacocinétiques de la daptomycine de différentes populations sont représentés dans le tableau II.

Tableau II. Paramètres pharmacocinétiques de la daptomycine après une injection unique

| Population Taille de l'échantillon | Poids (kg) | Dose (mg/kg) | C _{max} (mg/l) | C ₂₄ (mg/l) | ASC (µg.h/ml) | t _{1/2} (h) | Vd (l/kg) | Cl (ml/h/kg) | Référence |
|--------------------------------------------------------|---------------|-----------------|----------------------------|---------------------------|------------------|-------------------------|-------------------|---------------------|-----------|
| Volontaires sains (n=6) | 78,5 ± 9,0 | 4 | 77,5 ± 8,3 | ND | 529,7 ± 13 | 7,7 ± 0,6 | ND | 9,8 ± 0,3 ml/min | (84) |
| Volontaires sains, 18-30 ans (n=11) | 64,9 ± 9,8 | 4 | 42,3 (15,4) | ND | 300,6 (29,4) | 6,8 (7,8) | 0,14 (12,9) | 15,1 (16,4) | (93) |
| Volontaires sains, >75 ans (n=12) | 77 ± 8 | 4 | 44 (16,7) | 6,4 (29,4) | 473,7 (23,2) | 11,9 (19) | 0,15 (28,8) | 9,9 (25,1) | (93) |
| Volontaires sains obèses (n=6) | 125,8 ±17 | 4 | 67 (10,4) | 5,9 (49,4) | 547,8 (24,6) | 8,1 (21,1) | 0,18 (4,6) | 7,8 (19,8) | (94) |
| Sujets IRC, CL _{CR} 40-80 ml/min (n=80) | ND | 4 | ND | ND | 436,6 | 9,1 | ND | 10,7 ml/min | (89) |
| Sujets IRC, CL _{CR} <40 ml/min (n=16) | ND | 4 | ND | ND | 716 | 19,0 | ND | 6,2 ml/min | (89) |
| Sujets IRC dialysés (n=21) | ND | 4 | ND | ND | 1205,6 | 29,3 | ND | 4 ml/min | (89) |
| Volontaires sains IHC (n=10) | 92,7 | 6 | 113,7 (14,7) | ND | 867,4 (22,8) | 9 (19,3) | 0,08 (15,1) | 7,1 (19,5) | (92) |
| Volontaires sains (n=6) | 69,6 | 6 | 86,4 ± 7,1 | 9 | 705 ± 67 | 7,8 ± 1,0 | 0,1 ± 0,01 | 8,6 ± 0,8 | (83) |
| Volontaires sains (n=6) | 71,3 | 8 | 116,3 ± 10 | 14 | 1127 ± 161 | 9,6 ± 1,1 | 0,1 ± 0,01 | 7,2 ± 1,1 | (83) |
| Volontaires sains (n=12) | ND | 12 | 164,8 (7,4) | ND | 1269 (22,2) | 7,8 (12,1) | 0,1 (13,7) | 10,0 (23,7) | (62) |
| Neutropéniques fébriles (n=29) | 89 ± 19,9 | 6 | 48,9 ± 12,6 | 5,67 ± 3,1 | 427,3 ± 134,7 | 8,8 ± 2,4 | 0,18 ± 0,05 | 15,5 ± 5,7 | (95) |
| Brûlés (n=9) | 81 ± 20 | 6 | 53,5 ± 14,5 | ND | 388 ± 137 | 7,8 ± 4 | 0,18 ± 0,05 | 17,5 ± 7 | (96) |

Note : Les valeurs sont les moyennes ± écart-type, ou les moyennes (coefficient de variation %). C₂₄ est la concentration résiduelle de daptomycine. CL_{CR} est la clairance de la créatinine. Les autres abréviations ont été définies dans le texte.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Le but de notre étude était d'évaluer d'une part l'activité *in vitro* de la daptomycine seule ou en association à d'autres antibiotiques anti-staphylococciques sur des souches de staphylocoques dorés, d'autre part son efficacité, seule ou en association à la rifampicine, dans un modèle expérimental d'infection ostéo-articulaire aiguë à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, et de la comparer à celle de la vancomycine. Nous voulions également rapporter l'expérience de la daptomycine au CHU de Nantes dans le traitement des infections ostéo-articulaires à staphylocoque.

1. Expérimentations *in vitro*

1.1. Microorganismes

Pour les expérimentations *in vitro*, 8 souches de *Staphylococcus aureus* (SA) présentant des niveaux variables de résistance à la méticilline ont été étudiées (97) :

- 6 souches cliniques issues d'hémocultures de patients
 - SA NA7 et SA NA13 sensibles à la méticilline
 - SA NA8 et SA BCB8 présentant une résistance hétérogène à la méticilline, classe II
 - SA P9 présentant une résistance hétérogène à la méticilline, classe III
 - SA hGISA (heterogeneously Glycopeptide-Intermediate *S. aureus*) présentant une résistance homogène à la méticilline, classe IV
- 2 souches de référence
 - SA ATCC 29213 (American Type Culture Collection) sensible à la méticilline
 - SA COL présentant une résistance homogène à la méticilline, classe IV

Chaque souche bactérienne était conservée congelée à -80°C, en bouillon Trypticase-Soja (TS) additionné de 15 à 20% de glycérol réparti dans des cryotubes. Pour chaque expérimentation, les souches bactériennes étaient décongelées et repiquées 3 fois.

1.2. Antibiotiques

La daptomycine, la vancomycine, la rifampicine, le linézolide, la tigécycline et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (co-trimoxazole) étaient obtenus sous leur forme commerciale (respectivement : laboratoires Novartis, Rueil Malmaison ; Lilly, Saint-Cloud ; Aventis, Paris ; Pfizer, Paris ; Wyeth, Courbevoie ; Roche, Neuilly-sur-Seine, France).

Pour les études *in vitro*, les dilutions antibiotiques étaient réalisées à partir d'une solution stock d'antibiotique conservée à -80°C et titrant à 2000 µg/ml.

1.3. Milieux

La croissance des bactéries était effectuée sur milieu gélosé TS (Difco™, Becton Dickinson, Le Pont de Claix, France). Pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, les milieux de culture utilisés étaient du bouillon de Mueller-Hinton (BMH,

pH $7,3 \pm 0,2$ à 25°C) et de la gélose Mueller-Hinton (MH) (DifcoTM) à 4 mm d'épaisseur. Pour l'étude de la sensibilité des bactéries à la daptomycine, les milieux de culture utilisés étaient du bouillon de Mueller-Hinton II (BMH II), et de la gélose Mueller-Hinton II (MH II) (DifcoTM), supplémentés en cations (calcium 50 mg/l, magnésium 10-12,5 mg/l) avec un pH à $7,3 \pm 0,1$ à 25°C , selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2007).

1.4. Antibiogramme

Les antibiogrammes étaient réalisés sur les 8 souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations 2008 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Après inondation de géloses MH à partir d'une suspension bactérienne calibrée par néphélométrie et ajustée à 10^6 bactéries/ml, les disques d'antibiotiques étaient déposés et les géloses placées à l'étuve à 37°C pendant 18-24 heures.

1.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la daptomycine

La détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) pour chaque souche bactérienne était réalisée par les méthodes de microdilution en milieu liquide, et de diffusion en milieu gélosé.

- Microdilution en milieu liquide

L'inoculum bactérien calibré à 10^5 bactéries/ml était mis au contact de BMH II contenant les concentrations de daptomycine en progression géométrique de raison 2. La CMI, qui caractérise l'activité bactériostatique de l'antibiotique, est définie comme la plus faible concentration antibiotique capable d'inhiber la croissance bactérienne visible après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C .

- Diffusion en milieu gélosé

La CMI était déterminée à l'aide de bandelettes Etest[®] (AB Biodisk, Solna, Suède), dispensant une gamme de concentrations antibiotiques allant de 0,016 à 256 mg/l. L'inoculum était calibré à 10^7 bactéries/ml et ensemencé par écouvillonnage sur gélose MH. La CMI est la concentration où l'ellipse d'inhibition croise la bandelette avec une inhibition complète de la croissance bactérienne après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C .

1.6. Etude des modifications morphologiques de *Staphylococcus aureus* exposé à la daptomycine par microscopie électronique à balayage

Une culture de *S. aureus* en BMH était incubée à 37°C. En phase de croissance exponentielle, la population bactérienne était mise en contact avec des concentrations croissantes de daptomycine. L'activité inhibitrice de la daptomycine était évaluée par néphélométrie. La concentration étudiée pour l'étude morphologique était celle qui permettait l'inhibition de croissance des bactéries en néphélométrie. Les bactéries étaient prélevées avant et à des temps successifs de l'exposition à la concentration choisie de daptomycine, et préparées pour la microscopie électronique selon la méthode décrite par Greenwood (98).

Les bactéries étaient récupérées sur filtre Anodisc de 0,22 µm. Elles étaient lavées en tampon de phosphate de sodium à pH 7,3 (PBS), puis fixées pendant 2 heures à l'aide d'une solution à 0,25% de glutaraldéhyde en tampon PBS. Elles étaient ensuite à nouveau lavées en tampon PBS et déshydratées avec de l'éthanol à concentrations croissantes jusqu'à l'alcool absolu. Après métallisation des échantillons par un alliage or-palladium, les échantillons étaient observés à l'aide d'un microscope électronique à balayage Jeol 6400.

1.7. Etude des cinétiques de bactéricidie de la daptomycine et de la vancomycine, seules ou en association à la rifampicine

Les souches bactériennes SA ATCC 29213, BCB8, et hGISA ont été étudiées en cinétique de bactéricidie. L'inoculum bactérien calibré à 3.10^6 bactéries/ml était mis au contact de l'antibiotique.

- Pour la daptomycine, les concentrations choisies étaient 1 et 4 mg/l, correspondant à la concentration sérique résiduelle de la pharmacocinétique humaine, et 100 mg/l, correspondant à la concentration sérique au pic de la pharmacocinétique humaine.
- Pour la vancomycine, les concentrations testées étaient 1 et 4 mg/l d'une part, et 25 mg/l d'autre part, correspondant à la concentration à l'état d'équilibre cible sous perfusion continue chez l'homme.
- Pour la rifampicine, les concentrations testées sur les souches ATCC 29213 et BCB8 étaient 0,25 et 1 mg/l, correspondant à la concentration sérique résiduelle de la pharmacocinétique humaine. La rifampicine n'était pas testée sur la souche hGISA en raison de son profil de résistance.

Au temps 0, et après 2, 4, 6, 24, et 48 heures d'incubation, les bactéries survivantes étaient ensemencées à l'aide d'un ensementeur Spiral[®] (Interscience, Saint Nom la Bretèche,

France) sur des géloses sans antibiotique, puis dénombrées, avec un seuil de détection de 20 Unités Formant Colonies (UFC)/ml.

1.8. Etude des cinétiques de bactéricidie de la daptomycine en association au linézolide, à la tigécycline, à la vancomycine et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole

Les souches bactérienne BCB8 et hGISA ont été étudiées en cinétique de bactéricidie avec la daptomycine en association à l'un des quatre autres antibiotiques. L'inoculum bactérien calibré à 3.10^6 bactéries/ml était mis au contact de l'antibiotique.

Pour la daptomycine, les concentrations choisies étaient 1 et 4 mg/l, correspondant à la concentration sérique résiduelle de la pharmacocinétique humaine et les concentrations attendues dans l'os.

Pour les mêmes raisons, les concentrations testées de linézolide, de tigécycline, de vancomycine et du co-trimoxazole étaient 2 et 8 mg/l, 0,25 et 1 mg/l, 1 et 4 mg/l et 0,5 et 2 mg/l. Au temps 0, et après 6, 24, et 48 heures d'incubation, les bactéries survivantes étaient ensemencées et dénombrées selon la méthode explicitée précédemment.

1.9. Transport d'antibiotique (« carry-over »)

L'absence de carry-over de daptomycine et de vancomycine sur le milieu de subculture était vérifiée en comparant le compte bactérien provenant des suspensions bactériennes pures, diluées à 10^{-2} et 10^{-4} d'une part, et en introduisant dans la gélose de dénombrement de la cholestyramine (0,5 g/20 ml), inhibant l'activité de la daptomycine et de la vancomycine (99).

Pour la rifampicine, nous nous sommes affranchis du transport d'antibiotique en introduisant dans la gélose de dénombrement du charbon (120 mg/20 ml), inhibant l'activité de la rifampicine (100).

L'absence de carry-over de linézolide, tigécycline, et du co-trimoxazole était vérifiée en comparant le compte bactérien provenant des suspensions bactériennes pures ou diluées à 10^{-2} et 10^{-4} .

2. Efficacité de la daptomycine et de la vancomycine dans un modèle expérimental d'infection ostéo-articulaire à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

2.1. Animaux

Les études *in vivo* étaient réalisées sur des lapins New-Zealand femelles âgées de 10 semaines, pesant 2 à 2,5 kg, maintenues en cage avec accès libre à l'eau et à la nourriture. Le protocole était approuvé par le Comité d'Ethique Animale de l'Université de Nantes.

2.2. Souche bactérienne

Nous avons utilisé la souche SA BCB8.

2.3. Etude de la pharmacocinétique plasmatique spontanée de la daptomycine chez le lapin

- Prélèvements

Après la perfusion *via* la veine marginale de l'oreille, d'une dose humaine unique de 6 mg/kg de daptomycine sur 30 minutes, des prélèvements sanguins ont été effectués sur l'artère médiane de l'oreille controlatérale, aux temps 0,5, 0,75, 1, 1,25, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, et 24 heures. Chaque échantillon de sang total a été placé dans un microtube type Eppendorf (Eppendorf® SARL, Le Pecq, France) de 1,5 ml contenant 5 µl d'héparine à 25000 UI/5 ml (Héparine Choay®, Sanofi-Aventis, Paris, France). Après centrifugation des échantillons sanguins à 4°C et 7500 tr/min pendant 10 minutes, le plasma a été prélevé et congelé à -80°C pour son utilisation ultérieure.

- Dosage microbiologique

La méthode de diffusion des antibiotiques en milieu gélosé était utilisée pour le dosage plasmatique de la daptomycine. Une gamme de concentrations de daptomycine réalisée en plasma de lapin, en progression géométrique de raison 2, entre 0,5 et 256 mg/l, était distribuée dans les puits d'une gélose AM 11 (Antibiotique Medium)ensemencée avec la bactérie indicatrice *Micrococcus luteus*. Parallèlement à cette gamme étalon, les échantillons plasmatiques à doser étaient déposés. Après incubation, la droite de régression entre le logarithme des concentrations de la gamme et les diamètres d'inhibition correspondants était construite. Le seuil de détection était de 0,5 mg/l et les coefficients de variation intra et inter-expérimentation inférieurs à 10%. Les diamètres obtenus avec les échantillons à doser étaient ensuite reportés sur la droite permettant de calculer la

concentration correspondante. La moyenne et l'écart type des concentrations de daptomycine dans le plasma des lapins étaient calculés.

2.4. Détermination de la pharmacocinétique plasmatique humanisée de la daptomycine chez le lapin

La détermination de la pharmacocinétique plasmatique humanisée de la daptomycine a été réalisée à l'aide d'un système bioinformatique développé dans le laboratoire (101). La perfusion était délivrée par une pompe volumétrique Infusomat[®] (Braun Medical, Boulogne, France), gérée par un logiciel informatique d'adaptation des vitesses de perfusion à un profil mathématique établi au préalable, afin d'obtenir les paramètres pharmacocinétiques semblables à ceux obtenus chez l'homme pour une perfusion unique de 6 mg/kg sur 30 minutes.

Les paramètres pharmacocinétiques considérés étaient la concentration maximale plasmatique (C_{max}), l'aire sous la courbe de concentration en fonction du temps entre le temps 0 et l'infini (ASC), et la 1/2-vie ($t_{1/2}$). Chez les lapins traités par ce régime antibiotique, de nouveaux dosages microbiologiques étaient effectués afin de vérifier la pertinence des modalités d'administration de la daptomycine.

Les paramètres étaient obtenus par lecture directe de la courbe de concentration en fonction du temps, et à l'aide du logiciel GraphPad Prism[®] v4.0 (GraphPad Software, San Diego, USA).

2.5. Mise au point du modèle d'ostéo-arthrite aiguë à *S. aureus* chez le lapin

Nous avons utilisé, pour l'étude de l'activité de la daptomycine *in vivo*, le modèle d'ostéo-arthrite aiguë infectieuse développé par Amador *et al* (102). Nous avons au préalable réalisé un examen anatomopathologique de l'os infecté après trois jours de contact entre le fémur et la solution de *Staphylococcus aureus* afin de valider le modèle expérimental.

- Examen anatomopathologique de la pièce fémorale

Pour les analyses anatomopathologiques, des échantillons de l'extrémité distale du fémur infecté et du fémur sain étaient fixés dans une solution d'eau et de formol, déshydratés par passages successifs dans des solutions alcooliques de concentrations croissantes, puis fixés dans du méthylmétacrylate. Des coupes sagittales de 5 μ m d'épaisseur étaient réalisées à l'aide d'un microtome SM2500S. Les coupes étaient colorées par la coloration trichromique selon Masson-Goldner et analysées en microscopie optique aux grossissements 100 et 400.

- Induction de l'infection

A J0, sous anesthésie générale (AG) obtenue par 4,5 mg/kg de propofol (Propofol Fresenius[®], Fresenius Kabi Austria GmbH, Graz, Autriche) et kétamine 12,5 mg/kg (Ketamine Panpharma[®], Rotexmedica GmbH, Trittau, Allemagne) administrés par voie veineuse périphérique (veine marginée de l'oreille), le genou droit était exposé, désinfecté et rasé. Après incision parapatellaire médiale et luxation de la rotule, un trocart de Jamshidi (8 Ga) était introduit par la gorge trochléenne, dans la cavité centromédullaire fémorale, créant ainsi une solution de continuité entre la cavité articulaire fémoro-tibiale et le canal médullaire. Le trocart était alors retiré et l'incision suturée par un monofilament de polyamide 2/0 non résorbable. L'infection était induite par l'injection dans le genou par voie parapatellaire médiale, d'un ml de suspension bactérienne SA BCB8 calibrée à 10⁹ bactéries/ml.

- Randomisation des animaux

A J3, au décours d'un débridement-lavage chirurgical réalisé sous AG, l'antibiothérapie était débutée et poursuivie pendant 4 jours. Les lapins étaient randomisés pour recevoir en ouvert l'un des 5 régimes thérapeutiques, administrés selon les modalités permettant de reproduire la pharmacocinétique humaine (Tableau III).

Tableau III : Modalités des 5 régimes thérapeutiques

| Régime thérapeutique | Posologies humanisées chez le lapin |
|---------------------------------|-------------------------------------------------|
| 1. Groupe contrôle | Aucun traitement |
| 2. Vancomycine | 2 g/24 heures IVSE |
| 3. Daptomycine | 6 mg/kg/24 heures IVL |
| 4. Vancomycine + Rifampicine | 2 g/24 heures IVSE 10 mg/kg/12 heures PO |
| 5. Daptomycine + Rifampicine | 6 mg/kg/24 heures IVSE 10 mg/kg/12 heures PO |

Note. IVL, intraveineux lent ; IVSE, intraveineux à la seringue électrique; IM, intramusculaire ; PO, per os

- Evaluation de l'efficacité thérapeutique

A J7, les lapins étaient euthanasiés par une injection létale de 100 mg de thiopental sodique (Pentothal[®], Laboratoire Mayne Pharma, France), faisant suite à l'injection de 4,5 mg/kg de propofol.

A J3 et J7, le pus articulaire, la moelle osseuse et l'os spongieux étaient prélevés de manière stérile, pesés, et broyés dans 500 µl de sérum physiologique. La charge bactérienne de chaque compartiment anatomique était calculée après dénombrement d'Unités Formant Colonies (UFC) issues de l'ensemencement de 50 µl de la suspension tissulaire. Les suspensions tissulaires étaient ensemencées pures, et diluées à 10^{-2} et 10^{-4} . L'efficacité thérapeutique était quantifiée par la moyenne de $\Delta \log (\text{UFC/g}) \pm$ l'écart type, avec :

$$\Delta \log (\text{UFC/g}) = \log (\text{UFC/g})_{J7} - \log (\text{UFC/g})_{J3}$$

Le seuil de détection de cette méthode est de 20 UFC/ml de suspension bactérienne, soit 1000 UFC/g de tissu pour un échantillon tissulaire pesant 10 mg.

Le nombre de lapins dont les prélèvements étaient « stériles » était également rapporté.

2.6. Détection des mutants résistants à la daptomycine et à la rifampicine

L'émergence sous antibiothérapie de *S. aureus* résistants à la daptomycine et/ou à la rifampicine était dépistée en ensemencant la suspension tissulaire pure sur des géloses contenant respectivement de la daptomycine et de la rifampicine à 4 x CMI. Si la détection était positive (croissance bactérienne), la CMI à l'antibiotique correspondant était déterminée.

2.7. Etude de la diffusion de la daptomycine dans la moelle osseuse et l'os

- Prélèvements

Après la perfusion d'une dose humaine de 6 mg/kg de daptomycine sur 30 minutes trois jours consécutifs, 4 lapins étaient euthanasiés 1 heure après la fin de la troisième perfusion et 4 lapins 3 heures après la fin de la troisième perfusion. La moelle osseuse et l'os spongieux du fémur infecté et du fémur controlatéral étaient prélevés de manière stérile. Un millilitre de sang était prélevé par ponction intra-cardiaque de manière concomitante. Chaque échantillon de sang total était placé dans un microtube type Eppendorf de 1,5 ml contenant 5 µl d'héparine à 25000 UI/5 ml. Après centrifugation des échantillons sanguins à 4°C et 7500 tr/min pendant 10 minutes, le plasma était prélevé et congelé à -80°C pour son utilisation ultérieure. Les échantillons d'os et de moelle osseuse étaient également déposés dans des microtubes et congelés à -80°C pour leur utilisation ultérieure.

- Dosage microbiologique

La méthode de diffusion des antibiotiques en milieu gélosé était utilisée pour le dosage de la daptomycine dans le plasma, la moelle osseuse et l'os. Trois gammes de concentrations de daptomycine étaient réalisées en progression géométrique de raison 2, entre 0,5 et 128 mg/l :

- pour le dosage de la daptomycine dans le plasma, la gamme était réalisée en plasma de lapin
- pour le dosage de la daptomycine dans la moelle osseuse, la gamme était réalisée dans un mélange de moelle osseuse et de plasma de lapin (100 µl de plasma pour 100 mg de moelle osseuse)
- pour le dosage de la daptomycine dans l'os, la gamme était réalisée dans un broyat d'os et de plasma de lapin (100 µl de plasma pour 100 mg d'os).

La gamme était distribuée dans les puits d'une gélose AM 11 (Antibiotique Medium)ensemencée avec la bactérie indicatrice *Micrococcus luteus*. Parallèlement à cette gamme étalon, les échantillons plasmatiques, médullaires et osseux (100 µl de plasma de lapin pour 100 mg de tissus) à doser étaient déposés. Après incubation, la droite de régression entre le logarithme des concentrations de la gamme antibiotique et les diamètres d'inhibition correspondants était construite. Le seuil de détection était de 0,5 mg/l et les coefficients de variation intra et inter-expérimentation inférieurs à 10%. Les diamètres obtenus avec les échantillons à doser étaient ensuite reportés sur la droite permettant de calculer la concentration correspondante. La moyenne et l'écart type des concentrations de daptomycine dans le plasma, la moelle osseuse et l'os des 8 lapins étaient calculés, de même que les ratios de diffusion de la daptomycine dans l'os et la moelle osseuse (rapports des concentrations de daptomycine dans l'os sur le plasma et concentrations de daptomycine dans la moelle osseuse sur le plasma).

2.8. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées avec l'aide du logiciel GraphPad Prism® v4.0 (GraphPad Software, San Diego, USA). Pour la comparaison des variables quantitatives, nous avons vérifié que les échantillons étaient issus de distributions normales indépendantes, et que les variances étaient identiques. Nous avons ensuite procédé à un test de Newman-Keuls, comparaison de moyennes par paires, pratiqué à l'issue d'une ANOVA.

Les analyses statistiques ont porté sur les animaux décédés au cours ou en fin du 4ème jour de traitement.

3. Expérience de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires à staphylocoque au CHU de Nantes

Nous avons répertorié, à l'aide des feuilles de prescription nominative de la pharmacie centrale, les patients traités par daptomycine pour une infection ostéo-articulaire au CHU de Nantes depuis 2007.

Les caractéristiques démographiques des patients, la nature des infections ostéo-articulaires et des traitements chirurgicaux ont été colligées, de même que les modalités d'administration de la daptomycine, la nature des antibiothérapies préalables et l'évolution sous traitement, en termes d'efficacité et de tolérance.

1. Etudes *in vitro*

1.1. Antibiogramme

Les résultats des antibiogrammes des 8 souches de *S. aureus* sont rapportés dans le tableau IV. Pour chaque antibiotique testé, nous avons seulement fait figurer la catégorie clinique (sensible (S), résistant (R), et intermédiaire (I)), déduite du diamètre de la zone d'inhibition et des valeurs critiques définies par le CA-SFM (CA-SFM, 2009).

La sensibilité des souches à la daptomycine et à la tigécycline n'était pas déterminée par cette méthode parce qu'elle n'est pas validée pour ces deux antibiotiques.

Tableau IV : Antibiogramme des 8 souches de *S. aureus*

| Antibiotiques | Souches de <i>S. aureus</i> | | | | | | | |
|---------------|-----------------------------|-----|-----|------|-----|------|----|-------|
| | ATCC 29213 | COL | NA7 | NA13 | NA8 | BCB8 | P9 | hGISA |
| Oxacilline | S | R | S | S | R | R | R | R |
| Vancomycine | S | S | S | S | S | S | S | I |
| Teicoplanine | S | S | S | S | S | S | S | I |
| Rifampicine | S | S | S | S | S | S | S | R |
| Cotrimoxazole | S | S | S | S | S | S | S | S |
| Linézolide | S | S | S | S | S | S | S | S |

1.2. Concentration minimale inhibitrice

Les résultats des CMI à la daptomycine, exprimées en mg/l, figurent dans le tableau V. La concentration critique pour le genre *Staphylococcus*, définie d'après le CA-SFM et le CLSI est de 1 mg/l. Les souches dont la CMI est ≤ 1 mg/l sont sensibles, celles dont la CMI est > 1 mg/l sont résistantes. On observe, pour les 2 méthodes, que toutes les souches sont sensibles à la daptomycine, quel que soit leur niveau de résistance à la méticilline.

Tableau V. CMI à la daptomycine des 8 souches de *S. aureus*, en mg/l

| Souches de <i>S. aureus</i> | | | | | | | | |
|---------------------------------|------------|------|------|------|-----|------|------|-------|
| Méthode | ATCC 29213 | COL | NA7 | NA13 | NA8 | BCB8 | P9 | hGISA |
| Microdilution en milieu liquide | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,25 | 0,5 | 0,5 | 0,25 | 0,5 |
| Diffusion en milieu gélosé | 0,5 | 0,75 | 0,25 | 0,25 | 0,5 | 0,25 | 0,5 | 0,5 |

1.3. Modifications morphologiques de *Staphylococcus aureus* exposé à la daptomycine

Les modifications morphologiques étaient similaires pour toutes les souches de SA. Seule la souche SA BCB8 est représentée.

- Les bactéries non exposées aux antibiotiques sont représentées aux grossissements x 25000 et x 50000 sur les figures 3 et 4 respectivement.
- Les bactéries exposées à la daptomycine sont représentées aux grossissements x 25000 et x 50000 sur les figures 5 et 6 respectivement.
- Les bactéries exposées à la vancomycine sont représentées aux grossissements x 20000 et x 60000 sur les figures 7 et 8 respectivement.
- Les bactéries non exposées aux antibiotiques étaient lisses et rondes, sans être strictement sphériques, et regroupées en grappes typiques.
- La surface des bactéries exposées à la daptomycine apparaissait irrégulière, rugueuse et présentait des projections tandis que les bactéries étaient sphériques et augmentées de volume. Certaines bactéries apparaissaient sous forme de fantômes, irrégulières et vidées de leur contenu.
- La surface des bactéries exposées à la vancomycine apparaissait également irrégulière et rugueuse. Les bactéries étaient concaves et présentaient des anomalies au niveau du septum de division. Un plus grand nombre de « déchets » étaient visualisables, témoins de la lyse bactérienne.

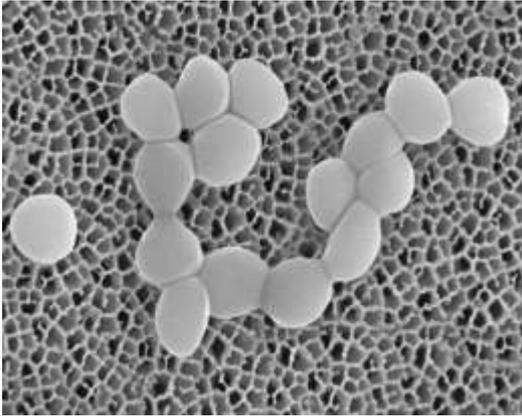


Figure 3. *S. aureus* non exposé aux antibiotiques, x 25000 en MEB

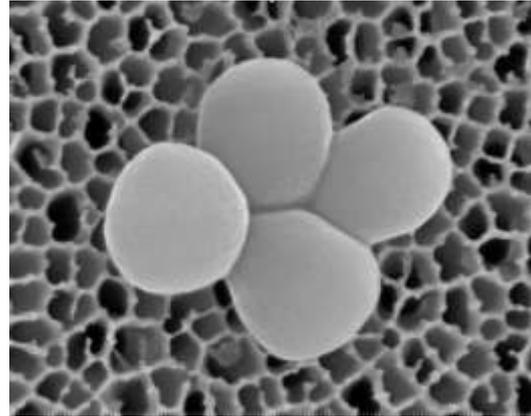


Figure 4. *S. aureus* non exposé aux antibiotiques, x 50000 en MEB

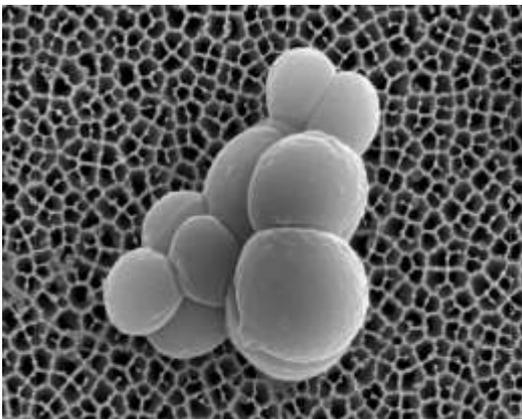


Figure 5. *S. aureus* exposé à la daptomycine, x 25000 en MEB

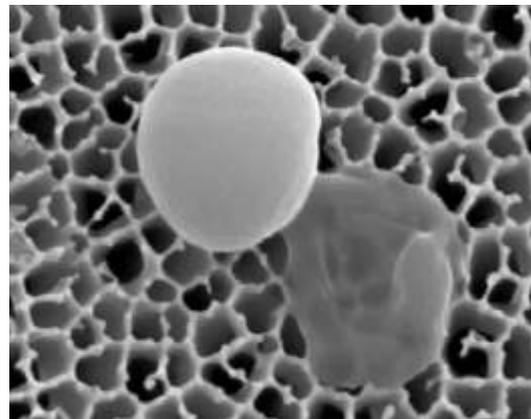


Figure 6. *S. aureus* exposé à la daptomycine, x 50000 en MEB

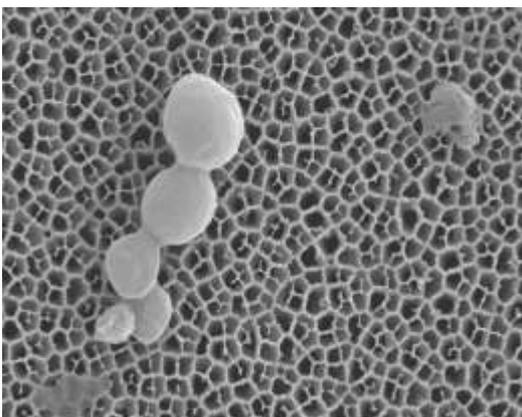


Figure 7. *S. aureus* exposé à la vancomycine, x 20000 en MEB

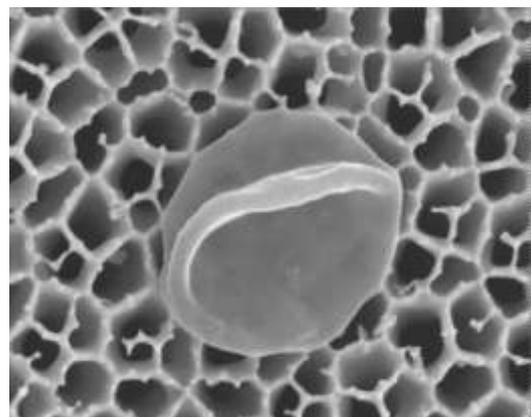


Figure 8. *S. aureus* exposé à la vancomycine, x 60000 en MEB

1.4. Cinétiques de bactéricidie de la daptomycine et de la vancomycine

Les vitesses de bactéricidie de la daptomycine sont reportées dans les figures 9 à 11. Les vitesses de bactéricidie de la vancomycine sont reportées dans les figures 12 à 14.

Les bactéries survivantes sont exprimées en log (UFC/ml) en fonction du temps. La bactéricidie est définie, à un temps et une concentration antibiotique donnés, comme la diminution d'au moins 2 log par rapport à la population bactérienne de départ. Cette représentation permet d'observer la vitesse de bactéricidie et les effets des concentrations d'antibiotique choisies.

La daptomycine était bactéricide dès 1 x CMI quelle que soit la souche bactérienne considérée (Figures 11 à 13). La bactéricidie survenait pendant la phase précoce (6 premières heures de contact entre les bactéries et l'antibiotique). Elle était d'autant plus rapide, et le $\Delta\log$ bactérien à un temps donné était d'autant plus grand que la concentration antibiotique utilisée était importante. Ainsi, sur *S. aureus* ATCC 29213, la daptomycine était bactéricide dès 6 heures pour une concentration de 1 x CMI ($\Delta\log$ à 3), et à partir de 2 heures pour une concentration de 100 x CMI ($\Delta\log$ à 5). Il s'agit d'un antibiotique bactéricide concentration-dépendant. Au cours de la phase tardive, i.e. après 6 heures d'incubation, on constatait une recroissance bactérienne pour les concentrations de daptomycine les plus faibles, phénomène inexistant pour des concentrations antibiotiques plus importantes.

Les figures 12 à 14 montrent que la vancomycine était lentement bactéricide sur les 3 souches de *S. aureus*. Au-delà d'une fois la CMI, l'augmentation de la concentration de vancomycine ne s'accompagnait pas d'une augmentation du $\Delta\log$ bactérien. Il s'agit d'un antibiotique temps-dépendant. Il n'y avait pas de recroissance bactérienne au cours de la phase tardive au-delà d'1 x CMI.

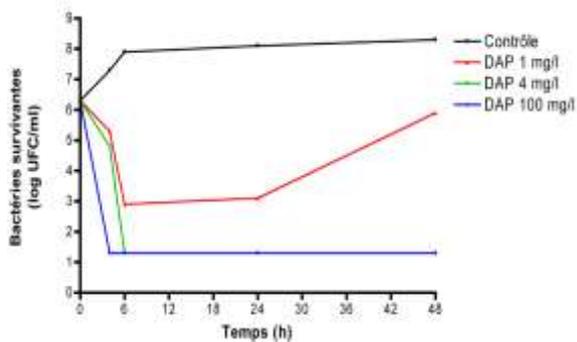


Figure 9. Cinétiques de bactéricidie de la daptomycine vis-à-vis de la souche SA ATCC 29213

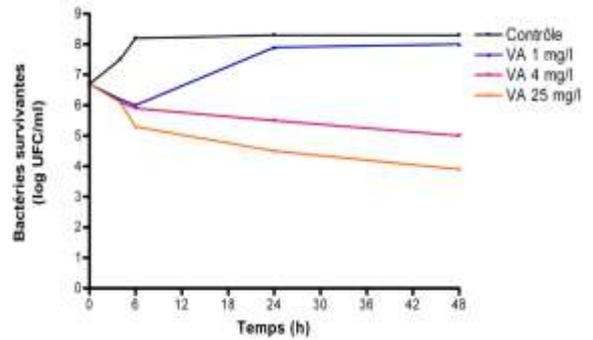


Figure 12. Cinétiques de bactéricidie de la vancomycine vis-à-vis de la souche SA ATCC 29213

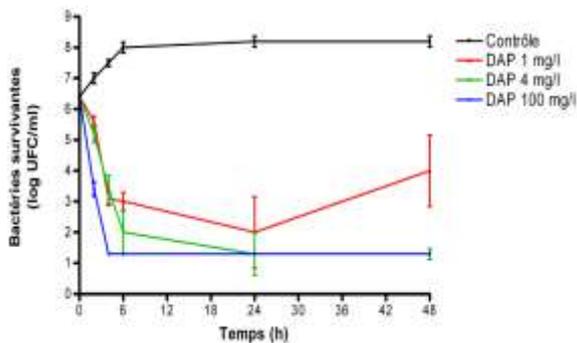


Figure 10. Cinétiques de bactéricidie de la daptomycine vis-à-vis de la souche SA BCB8 (Moyenne \pm Ecart-type, n=3)

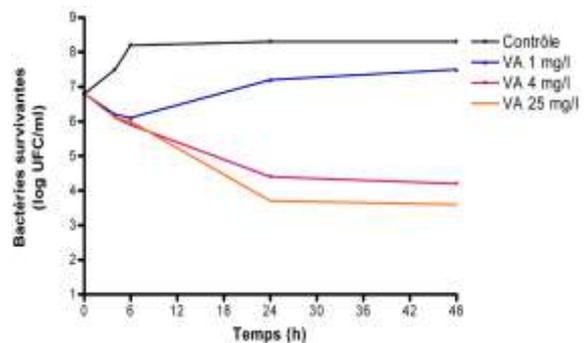


Figure 13. Cinétiques de bactéricidie de la vancomycine vis-à-vis de la souche SA BCB8

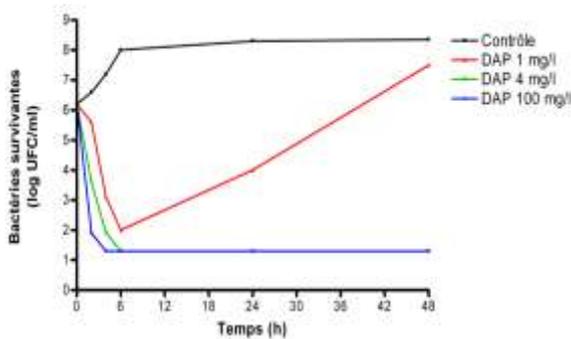


Figure 11. Cinétiques de bactéricidie de la daptomycine vis-à-vis de la souche SA hGISA

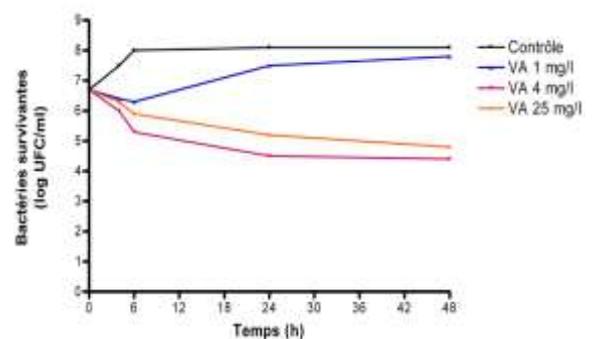


Figure 14. Cinétiques de bactéricidie de la vancomycine vis-à-vis de la souche SA hGISA

1.5. Cinétiques de bactéricidie des associations daptomycine plus rifampicine et vancomycine plus rifampicine

Les associations d'antibiotiques daptomycine + rifampicine et vancomycine + rifampicine ont été étudiées en cinétique de bactéricidie sur les souches SA ATCC 29213 et SA BCB8. SA hGISA n'était pas étudiée compte tenu de son profil de résistance à la rifampicine.

La comparaison des courbes de bactéricidie fournies par les figures 15 à 18 permet d'apprécier de façon dynamique l'effet des associations antibiotiques.

- La recroissance bactérienne survenait sous rifampicine à 4 x CMI, correspondant à l'émergence de mutants résistants (Figures 15 à 18). Ces recroissances n'étaient pas observées en présence de concentrations élevées de rifampicine ni lorsque la daptomycine ou la vancomycine étaient associées.
- Pendant les 24 premières heures, la diminution de l'inoculum bactérien était moindre lorsque la rifampicine était associée à la daptomycine : la rifampicine présentait donc un effet « antagoniste » sur la daptomycine (Figures 15 et 16). Après 24 heures, l'activité bactéricide de l'association était similaire à celle de la daptomycine seule.
- Ajoutée à la vancomycine, la rifampicine exerçait un effet « synergique » faible sur la souche SA ATCC 29213 (Figure 17). Le nombre de bactéries survivantes était en effet plus faible quand la vancomycine était associée à la rifampicine. Sur la souche SA BCB8, le même effet « antagoniste » qu'avec la daptomycine était observé quand la rifampicine était ajoutée à la vancomycine (Figure 18).

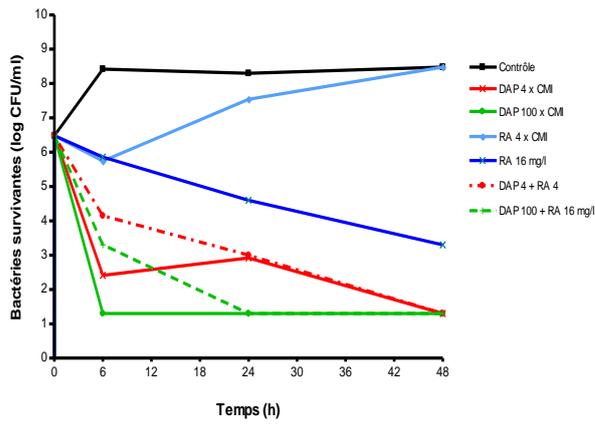


Figure 15. Cinétiques de bactéricidie de l'association daptomycine + rifampicine vis-à-vis de la souche SA ATCC 29213

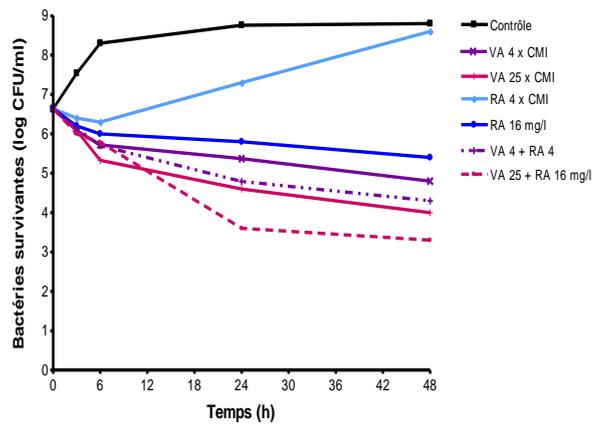


Figure 17. Cinétiques de bactéricidie de l'association vancomycine + rifampicine vis-à-vis de la souche SA ATCC 29213

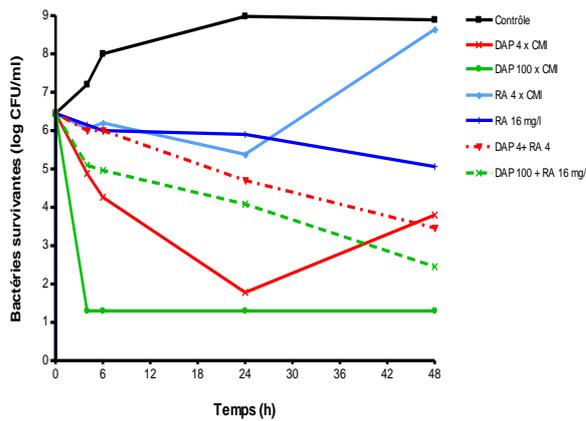


Figure 16. Cinétiques de bactéricidie de l'association daptomycine + rifampicine vis-à-vis de la souche SA BCB8

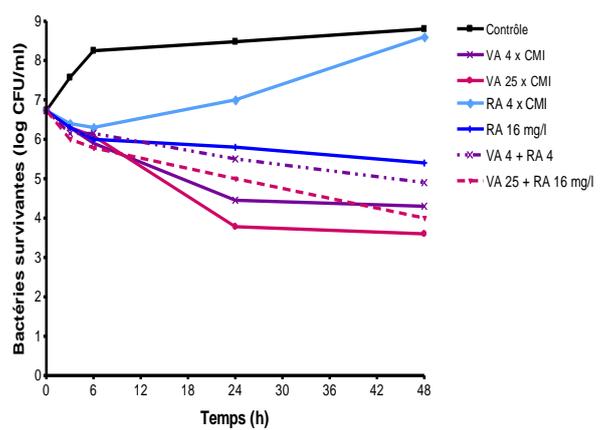


Figure 18. Cinétiques de bactéricidie de l'association vancomycine + rifampicine vis-à-vis de la souche SA BCB8

1.6. Cinétiques de bactéricidie des associations daptomycine plus co-trimoxazole, tigécycline, linézolide et vancomycine

Les vitesses de bactéricidie des associations daptomycine et triméthoprime-sulfaméthoxazole, tigécycline, linézolide et vancomycine sont reportées dans les figures 19 à 22 pour la souche SA BCB8. Les vitesses de bactéricidie des mêmes associations antibiotiques pour la souche SA hGISA sont reportées dans les figures 23 à 26.

- Le co-trimoxazole et la tigécycline exerçaient une activité lentement bactéricide sur les deux souches bactériennes à la concentration la plus élevée. La plus faible concentration de tigécycline était également bactéricide sur la souche SA hGISA.
- La vancomycine au plus fort dosage exerçait une activité lentement bactéricide sur la souche SA BCB8 tandis qu'elle n'était que bactériostatique sur la souche SA hGISA.
- Le linézolide n'exerçait qu'une activité bactériostatique quels que soient le temps, la concentration antibiotique et la souche bactérienne considérés.
- Avant 24 heures, la tigécycline, le linézolide et la vancomycine exerçaient un effet faiblement « antagoniste » ou « indifférent » sur la daptomycine, la culture bactérienne étant en effet positive avec les 4 associations à 24 heures alors qu'elle était pour toutes les expérimentations stérile avec la daptomycine seule à 4 mg/l ou stérile ou faiblement positive avec la daptomycine seule à 1 mg/l. Le co-trimoxazole exerçait par contre un effet synergique dès 6 heures sur la souche SA BCB8 et faiblement antagoniste sur la souche SA hGISA.
- Après 24 heures, les 4 associations permettaient par contre une stérilisation du milieu et empêchaient ainsi la repousse bactérienne qui survenait à la concentration la plus faible de daptomycine.

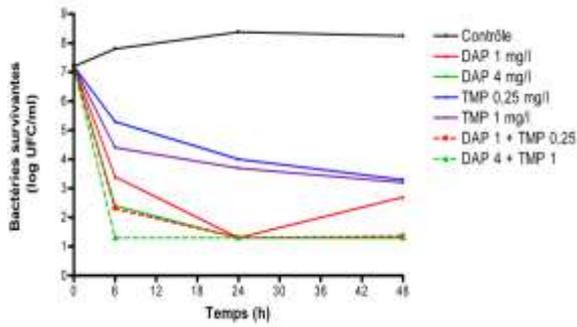


Figure 19. Cinétiques de bactéricidie de daptomycine + co-trimoxazole sur SA BCB8

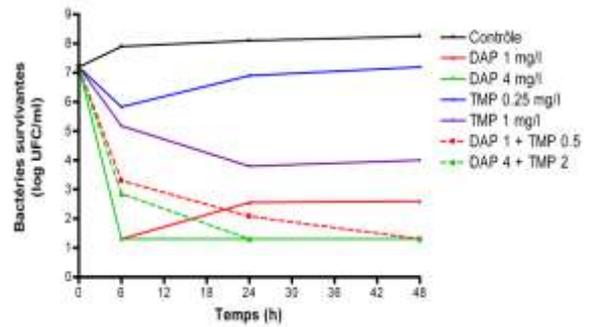


Figure 23. Cinétiques de bactéricidie de daptomycine + co-trimoxazole sur SA hGISA

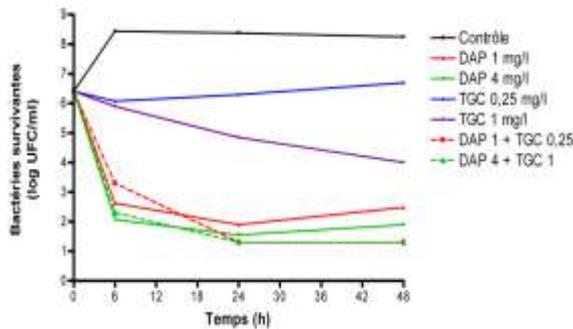


Figure 20. Cinétiques de bactéricidie de daptomycine + tigécycline sur SA BCB8

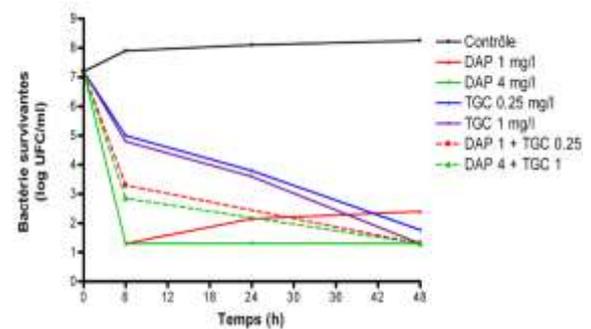


Figure 24. Cinétiques de bactéricidie de daptomycine + tigécycline sur SA hGISA

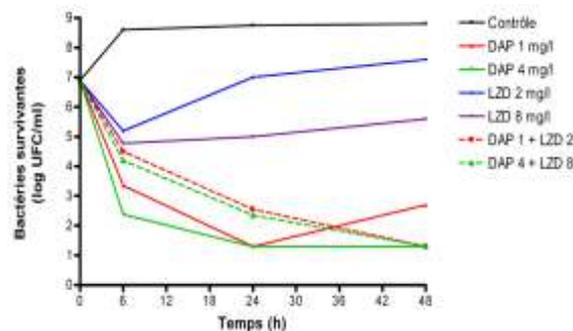


Figure 21. Cinétiques de bactéricidie de daptomycine + linézolide sur SA BCB8

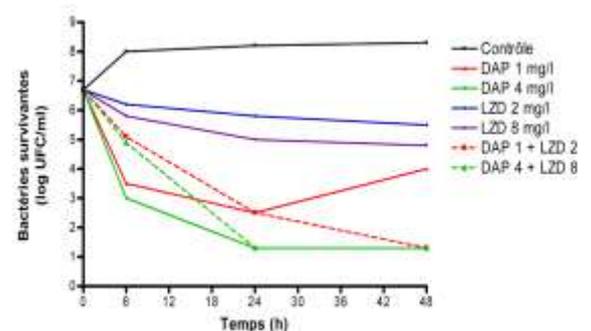


Figure 25. Cinétiques de bactéricidie de daptomycine + linézolide sur SA hGISA

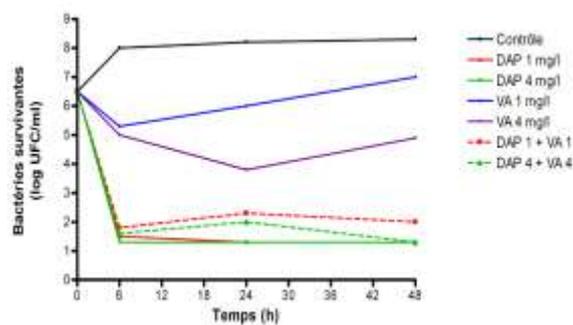


Figure 22. Cinétiques de bactéricidie de daptomycine + vancomycine sur SA BCB8

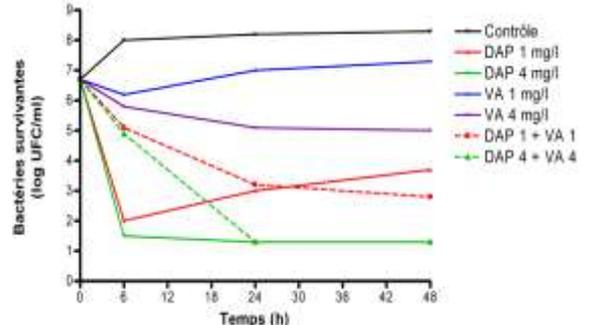


Figure 26. Cinétiques de bactéricidie de daptomycine + vancomycine sur SA hGISA

2. Efficacité de la daptomycine dans le modèle d'ostéo-arthrite aiguë à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

2.1. Pharmacocinétique plasmatique spontanée de la daptomycine chez le lapin

La pharmacocinétique plasmatique spontanée de la daptomycine chez le lapin après l'administration d'une 1ère dose utilisée chez l'homme, soit 6 mg/kg/24 heures en une perfusion de 30 minutes est représentée sur les figures 27 et 28. La pharmacocinétique de la daptomycine chez le lapin suivait un modèle à 2 compartiments, avec une demi-vie d'élimination β ($t_{1/2\beta}$) de 3,1 heures. La concentration maximale plasmatique était de 34 ± 4 mg/l. Les paramètres pharmacocinétiques figurent dans le tableau VI.

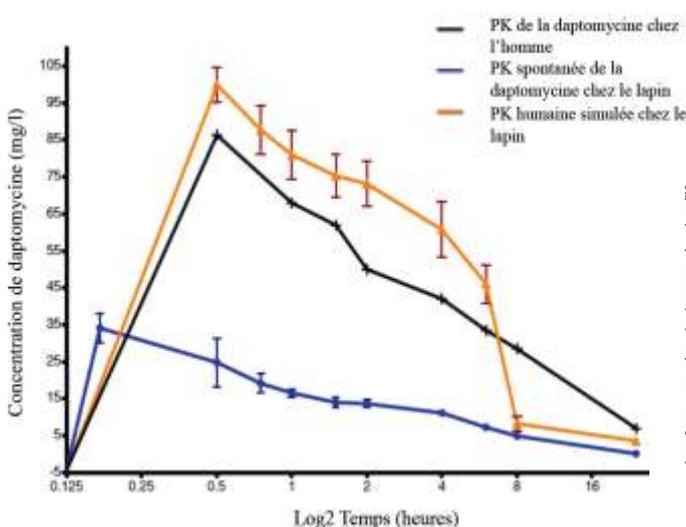


Figure 27. Cinétiques spontanée et humanisée de la daptomycine chez le lapin (Moyenne \pm Ecart-type, n = 4) et cinétique chez l'homme.

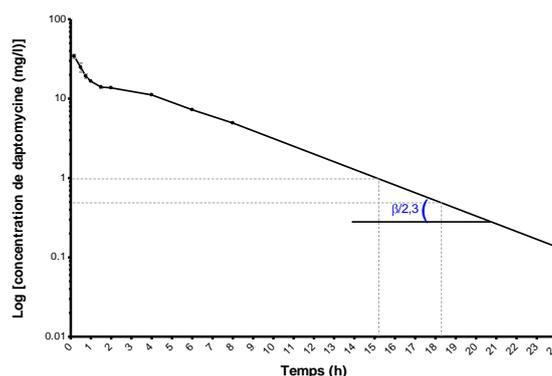


Figure 28. Concentrations plasmatiques de la daptomycine après dose unique (Moyenne \pm Ecart-type, n = 4) : modèle bi-compartimental

2.2. Simulation de la pharmacocinétique plasmatique humaine de la daptomycine chez le lapin

Sur la figure 27 est représentée la pharmacocinétique plasmatique humaine simulée chez le lapin, obtenue après une 1ère dose totale de daptomycine égale à 25 mg/kg. La concentration maximale plasmatique était de $100 \pm 9,5$ mg/l, la demi-vie d'élimination de 5,5 heures. Les paramètres pharmacocinétiques sont comparés aux données humaines dans le tableau VI.

Tableau VI. Paramètres pharmacocinétiques plasmatiques de la daptomycine

| Paramètres pharmacocinétiques plasmatiques (Moyenne ± Sd) | | | |
|------------------------------------------------------------------|------------------|-----------------------|---------------------------|
| | C_{max} (mg/l) | $t_{1/2}$ globale (h) | $ASC_{0-\infty}$ (mg.h/l) |
| PK spontanée chez le lapin | 34 ± 4 | $3,1 \pm 0,7$ | 133 ± 20 |
| PK humaine simulée chez le lapin | $100 \pm 9,5$ | $5,5 \pm 1,7$ | 808 ± 151 |
| PK humaine, d'après (83) | $86,4 \pm 7,1$ | $7,8 \pm 1$ | 705 ± 67 |

Note. $ASC_{0-\infty}$, aire sous la courbe ; C_{max} , concentration plasmatique maximale ; PK, pharmacocinétique ; Sd, écart-type ; $t_{1/2}$, demi-vie

2.3. Examen anatomo-pathologique de la pièce fémorale

L'examen anatomo-pathologique des coupes de métaphyse-épiphyse de fémur sain montrait l'absence de réaction inflammatoire. Au contraire, le fémur infecté présentait au grossissement 100 une destruction de la charpente osseuse, une désorganisation de la cavité médullaire et l'infiltration des tissus par une réaction inflammatoire œdémateuse. Au grossissement 400, la cavité médullaire présentait une réaction cellulaire inflammatoire aiguë intense, une réaction cellulaire inflammatoire chronique modérée et peu de nécrose osseuse. Les coupes de fémur sain et infecté au grossissement 100 sont représentées sur les photographies 1 et 2.

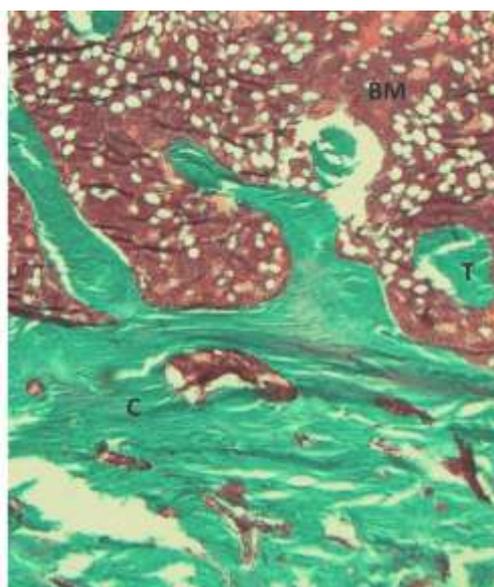


Photo 1. Coupe histologique d'un fémur sain (Trichrome de Masson, grossissement 100). BM, moelle osseuse ; C, os cortical ; T, os trabéculaire

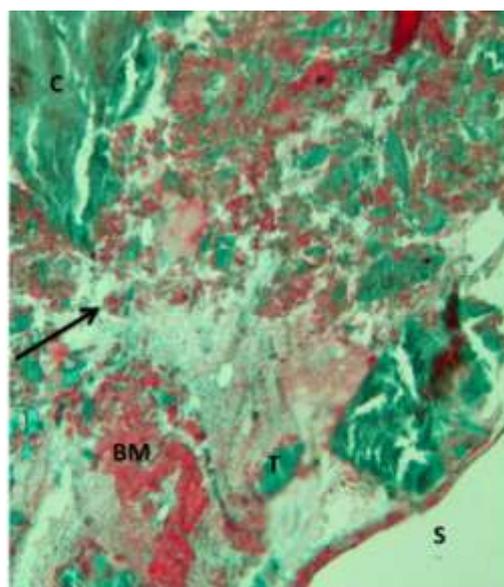


Photo 2. Coupe histologique d'un fémur infecté (Trichrome de Masson, grossissement 100). S, espace formé par le trocard

2.4. Efficacité thérapeutique de la daptomycine *versus* vancomycine, seules ou en association à la rifampicine, dans le modèle d'ostéo-arthrite aiguë à *S. aureus* résistant à la méticilline chez le lapin

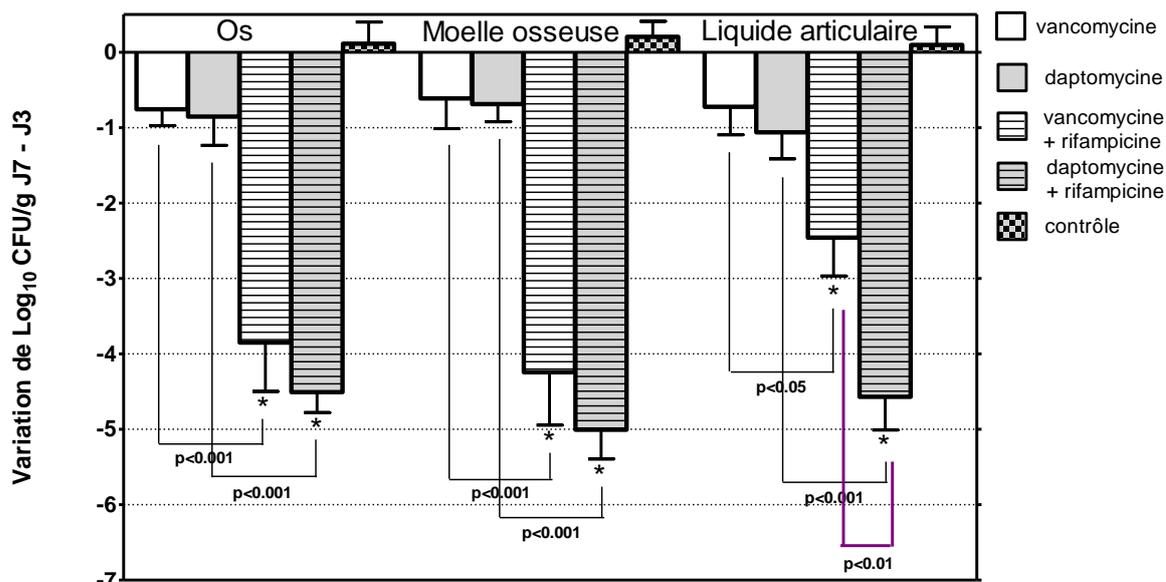
Les différences du compte bactérien entre J3 et J7, quantifiées par la moyenne des $\Delta\log$ (UFC/g de tissu) et leur écart-type, sont reportées, pour chaque groupe thérapeutique et chaque compartiment ostéo-articulaire dans la figure 29.

- Les traitements par vancomycine et par daptomycine en monothérapie entraînaient une variation de compte bactérien entre J3 et J7 proche de 1 log, c'est à dire non significativement différente de celle observée dans le groupe contrôle non traité.

- Chaque bithérapie avait par contre une activité antibactérienne significativement supérieure par rapport au groupe contrôle et au groupe monothérapie dans les 3 compartiments.

- Sous vancomycine et rifampicine, la diminution de la charge bactérienne entre J3 et J7 était proche de 4 dans les compartiments osseux et médullaire. Elle était proche de 2,5 dans le liquide articulaire.
- Sous daptomycine et rifampicine, la diminution de la charge bactérienne entre J3 et J7 était proche de 5 dans les trois compartiments ostéo-articulaires.
- Il était observé une tendance à une supériorité d'efficacité de la bithérapie daptomycine + rifampicine *versus* la bithérapie à base de vancomycine. Cette différence était significative lorsque l'on considérait le compartiment articulaire.

- Le nombre d'animaux dont les prélèvements étaient « stériles » est reporté dans le tableau VII. Aucun échantillon n'était stérile dans les groupes contrôle, vancomycine et daptomycine seules. Pour un seul animal du groupe vancomycine et rifampicine les prélèvements ostéo-articulaires étaient stériles tandis que dans le groupe daptomycine et rifampicine, le liquide articulaire était stérile pour 4 animaux, la moëlle osseuse pour 8 et l'os pour les 9 animaux.



* p < 0,01 versus contrôle

Figure 29. Efficacité des 5 régimes thérapeutiques dans le traitement de l'ostéo-arthrite aiguë expérimentale à *S. aureus* résistant à la méticilline (14 lapins dans le groupe vancomycine, 8 dans les groupes contrôle, daptomycine et vancomycine+rifampicine, 9 dans le groupe daptomycine+rifampicine)

Tableau VII. Nombre d'animaux dont les prélèvements étaient « stériles » à J7

| Groupes thérapeutiques | Liquide articulaire | Moelle osseuse | Os |
|---------------------------|---------------------|----------------|------|
| Contrôle | 0/8 | 0/8 | 0/8 |
| Vancomycine | 0/14 | 0/14 | 0/14 |
| Daptomycine | 0/8 | 0/8 | 0/8 |
| Vancomycine + Rifampicine | 1/8 | 1/8 | 1/8 |
| Daptomycine + Rifampicine | 4/9 | 8/9 | 9/9 |

2.5. Recherche de mutants résistants à la daptomycine et à la rifampicine

- Sur les 8 lapins traités par l'association vancomycine plus rifampicine, la détection de mutants résistants à la rifampicine était positive pour 1 animal. Il s'agissait d'un animal en échec thérapeutique : $\Delta \log$ (UFC/g) = -0,20 ; -0,84 ; -1,06 dans les compartiments articulaire, médullaire et osseux respectivement. Les souches de *S. aureus* issues des prélèvements ostéo-articulaires de J7 chez ce lapin avaient une CMI réalisée par Etest® > 32 mg/l versus 0,008 mg/l pour la souche inoculée à J0.

- Dans le groupe traité par la bithérapie à base de daptomycine, aucune souche de sensibilité diminuée à la daptomycine ni à la rifampicine n'était détectée.
- Dans le groupe traité par daptomycine en monothérapie, 5 souches de SA BCB8, issues de 3 lapins, étaient dépistées sur géloses avec daptomycine. Quatre avaient une CMI à la daptomycine à 2 mg/l, la dernière avait une CMI égale à 4 mg/l.

2.6. Etude de la diffusion de la daptomycine dans l'os et dans la moelle osseuse

Les figures 30 et 31 représentent les droites de régression entre le logarithme des concentrations de la gamme antibiotique dans l'os ou la moelle osseuse et les diamètres d'inhibition correspondants.

- La concentration moyenne (\pm écart type) de daptomycine dans la moelle osseuse des fémurs infectés était de $23,5 \mu\text{g/g} \pm 3,9$ et $14 \mu\text{g/g} \pm 6,4$ 1 heure et 3 heures après la fin de la perfusion. Pour les fémurs controlatéraux, aux mêmes temps, la concentration moyenne de daptomycine dans la moelle osseuse était de $22,1 \mu\text{g/g} \pm 5,5$ et $15 \mu\text{g/g} \pm 6,3$.

- Dans le compartiment osseux, la concentration moyenne (\pm écart type) de daptomycine était de $5,9 \mu\text{g/g} \pm 0,9$ et $5,3 \mu\text{g/g} \pm 1,4$ à 1 heure et 3 heures après la fin de la perfusion pour les fémurs infectés. Pour les fémurs controlatéraux, aux mêmes temps, la concentration moyenne de daptomycine dans l'os était de $5,9 \mu\text{g/g} \pm 3,2$ et $3,2 \mu\text{g/g} \pm 0,2$.

- Les rapports des concentrations de daptomycine entre la moelle osseuse et le plasma variaient entre $0,35 \pm 0,07$ et $0,66 \pm 0,35$ selon le temps et la patte considérés.

Les rapports des concentrations de daptomycine entre l'os et le plasma variaient quant à eux entre $0,09 \pm 0,03$ et $0,18 \pm 0,15$. Ces données figurent dans le tableau VIII.

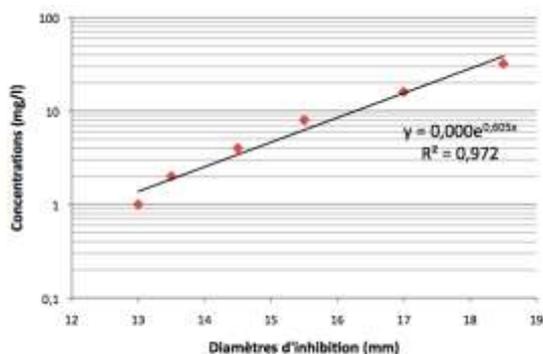


Figure 30. Gamme des concentrations de daptomycine dans la moelle osseuse

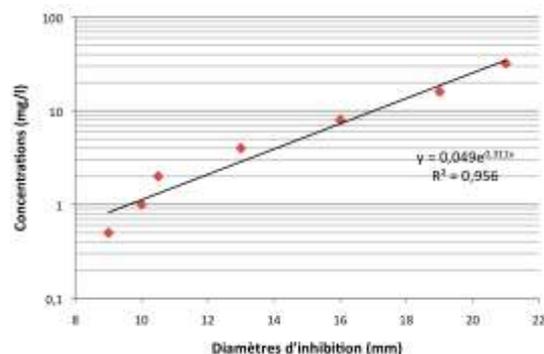


Figure 31. Gamme des concentrations de daptomycine dans l'os

Tableau VIII. Diffusion de la daptomycine dans les différents compartiments articulaires

| Concentration de daptomycine | Fémurs infectés | | Fémurs sains | |
|-------------------------------------|------------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| | T 1h | T 3h | T 1h | T 3h |
| Plasma ($\mu\text{g/ml}$) | $40 \pm 10,8$ | $38,9 \pm 15,3$ | $40 \pm 10,8$ | $38,9 \pm 15,3$ |
| MO ($\mu\text{g/g}$) | $23,5 \pm 3,9$ | $14 \pm 6,4$ | $22,1 \pm 5,5$ | $15 \pm 6,3$ |
| Os ($\mu\text{g/g}$) | $5,9 \pm 0,9$ | $5,3 \pm 1,4$ | $5,9 \pm 3,2$ | $3,2 \pm 0,2$ |
| Ratio MO/plasma | $0,66 \pm 0,35$ | $0,35 \pm 0,07$ | $0,63 \pm 0,37$ | $0,38 \pm 0,1$ |
| Ratio os/plasma | $0,16 \pm 0,05$ | $0,15 \pm 0,06$ | $0,18 \pm 0,15$ | $0,09 \pm 0,03$ |

Note. MO, moelle osseuse

3. Expérience de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires à staphylocoque au CHU de Nantes

Cinq patients ont été traités par daptomycine pour une infection ostéo-articulaire à staphylocoque entre 2007 et 2010 au CHU de Nantes.

- Le premier patient présentait à l'âge de 88 ans une infection de prothèse totale de hanche (PTH) hématogène à SARM. La PTH avait été posée en 1962 pour une arthrose et changée 4 ans avant l'épisode septique. Les hémocultures réalisées devant un syndrome fébrile aigu et une confusion permettaient la culture de SARM et la ponction articulaire retrouvait un liquide purulent confirmant l'infection de PTH. La bactérie était sensible aux glycopeptides et aux autres antibiotiques anti-staphylococciques, exception faite des fluoroquinolones, de la kanamycine et de la tobramycine. Un traitement par linézolide et gentamicine, rapidement relayée par la rifampicine était administré, permettant le retour à l'apyrexie et la stérilisation des hémocultures. Le patient était récusé pour la chirurgie en raison du risque anesthésique jugé trop important. A J26 du traitement par linézolide, le patient présentait une myélotoxicité, motivant un relais par la daptomycine, l'utilisation des glycopeptides étant contre-indiquée en raison d'une insuffisance rénale sévère multifactorielle (clairance de la créatinine à 15 ml/min). La daptomycine était administrée pendant 2 mois à la dose de 4 mg/kg/48 heures puis 4 mg/kg/j lorsque la clairance de la créatinine dépassait 30 ml/min, en association à la rifampicine. Aucun effet indésirable clinique ou biologique n'était constaté. L'évolution était favorable avec une reprise de la marche, la poursuite du traitement à domicile et le relais par une antibiothérapie orale suppressive (co-trimoxazole et rifampicine puis co-trimoxazole seul). A 30 mois, l'évolution était toujours favorable.

- Le deuxième patient, porteur d'une hémophilie A et d'une infection par le VIH, présentait à l'âge de 48 ans une infection de prothèse totale de hanche (PTH) hémotogène à SARM, multi-sensible. La PTH avait été posée en 1998 pour une arthropathie hémophilique. Le traitement chirurgical consistait en un lavage-débridement *a minima*, la prothèse ne pouvant être luxée en raison de la qualité médiocre de l'os. Sous vancomycine et gentamicine puis vancomycine et lévofloxacine, l'évolution était défavorable, avec reprise d'un syndrome fébrile et écoulement purulent sur fistule de hanche. Un nouveau lavage était réalisé, avec drainage d'un abcès et agrandissement de la fistule. L'antibiothérapie était relayée par l'association daptomycine (6 mg/kg) et doxycycline pendant 2 mois, relayée par une antibiothérapie suppressive de type lévofloxacine et rifampicine. Aucun effet indésirable n'était relevé. A 16 mois, la fistule restait perméable et l'évolution était toujours favorable.

- La troisième patiente présentait à l'âge de 72 ans une infection tardive de PTH posée en 2001 pour une arthrose, changée 2 ans avant l'épisode septique. Le sepsis de hanche évoluait depuis 9 mois, avec constitution d'une fistule et écoulement purulent, permettant le diagnostic, après ponction articulaire sous scanner, d'infection tardive de PTH à SARM multi-sensible et *Staphylococcus epidermidis* résistant à la méticilline (SERM). La CMI à la vancomycine et à la teicoplanine du SERM étaient à 2 et 8 mg/l respectivement, avec une sensibilité conservée aux autres antibiotiques anti-staphylococciques, en dehors des fluoroquinolones, de la kanamycine, de la tobramycine et des macrolides. La PTH était changée en 1 temps et l'association doxycycline et acide fusidique était administrée. L'évolution était défavorable, avec désunion de cicatrice à 3 semaines de traitement et nécessité de réaliser un changement de PTH en 2 temps. Les prélèvements per-opératoires permettaient la culture de *Pseudomonas aeruginosa* multi-sensible et une antibiothérapie par daptomycine (6 mg/kg/j) et rifampicine, ceftazidime et ciprofloxacine était administrée pendant 3 mois, arrêtée 3 semaines avant le 2^{ème} temps chirurgical. La tolérance clinique et biologique du traitement était bonne. Les prélèvements per-opératoires de la repose de PTH restaient stériles, et l'évolution clinique était favorable, avec 10 mois de recul.

- La quatrième patiente présentait à l'âge de 61 ans une infection précoce de prothèse totale de genou (PTG) qui avait été posée 6 semaines auparavant suite aux complications mécaniques d'une ostéotomie de valgisation. Une simple reprise de cicatrice était réalisée, avec administration de teicoplanine, ofloxacine et rifampicine pour des prélèvements per-opératoires positifs à SARM résistant aux fluoroquinolones et aux macrolides et à *Enterobacter cloacae*. La patiente présentait une réaction allergique et la cicatrice restait

inflammatoire. La dépose de PTG était réalisée dans le cadre d'un changement de prothèse en 2 temps et un traitement par daptomycine (6,5 mg/kg/j, pour 110 kg), ertapénème et cotrimoxazole était administré pendant 6 semaines et arrêté 14 jours avant le 2^{ème} temps chirurgical alors que les prélèvements per-opératoires étaient stériles. Aucun effet indésirable clinique ou biologique n'était rapporté. Les prélèvements réalisés pendant le 2^{ème} temps chirurgical restaient également stériles et l'évolution était favorable avec un recul de 8 mois.

- La cinquième patiente était opérée à l'âge de 75 ans d'une fracture-fracas de l'extrémité supérieure du tibia, avec pose de PTG massive, compliquée de nécrose cutanée. Malgré la réalisation d'un lambeau de jumeau interne, l'évolution était défavorable avec nécrose cutanée et nécrose du lambeau, exposition de la prothèse et sepsis. Un lavage chirurgical permettait la culture de SERM, avec une CMI à la vancomycine et à la teicoplanine à 2 et 8 mg/l respectivement, une résistance aux fluoroquinolones, aux macrolides, au cotrimoxazole et à l'acide fusidique. Un traitement par daptomycine (6 mg/kg/j) et rifampicine était administré pendant 3 mois, avec une bonne tolérance clinique et biologique. La prothèse était ensuite déposée et une arthrodèse était réalisée par un enclouage centromédullaire. Les prélèvements post-opératoires étaient positifs à *Citrobacter koseri*, traité actuellement par ceftriaxone et ciprofloxacine.

Ces données sont résumées dans le tableau IX.

Tableau IX. Caractéristiques des 5 patients traités par daptomycine pour une infection ostéo-articulaire

| Patient | Sexe/Age | Type d'infection | Documentation microbiologique | Traitement chirurgical | Antibiothérapie préalable (durée, jours) | Indication du traitement par daptomycine | Dose et durée de la daptomycine | Antibiotique anti-staphylococcique associé | Evolution | Suivi (mois) |
|---------|----------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------|
| 1 | M/88 | Infection de PTH hémotogène Bactériémie | SARM | Aucun | LZD+Gm (5) LZD+RA (21) | Myélotoxicité du LZD IRA sévère | 4 mg/kg/2 j 4 mg/kg/j 2 mois | RA | Favorable Poursuite CTM | 30 |
| 2 | M/48 | Infection de PTH hémotogène | SASM | Lavage <i>a minima</i> | VA+Gm (3) VA+LVX (28) | Echec Allergie | 6 mg/kg/j 2 mois | DOXY | Favorable Poursuite RA/LVX | 16 |
| 3 | F/72 | Infection tardive de PTH | SASM+SERM+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Changement en 2 temps long | DOXY+FA | Echec CMI VA/TEI augmentées | 6 mg/kg/j 12 semaines | RA | Favorable | 10 |
| 4 | F/61 | Infection précoce de PTG | SARM+ <i>Enterobacter cloacae</i> | Changement en 2 temps court | OFX+RA+TEI (14) | Echec Allergie | 6,5 mg/kg/j 6 semaines | CTM | Favorable | 8 |
| 5 | F/75 | Infection précoce de PTG | SERM | Lavage-débridement | Aucune | CMI VA/TEI augmentées Multi-R | 6 mg/kg/j 12 semaines | RA | Favorable Infection à <i>Citrobacter koseri</i> | 0 |

Note. CTM, co-trimoxazole ; DOXY, doxycycline ; FA, acide fusidique ; Gm, gentamicine ; IRA, insuffisance rénale aiguë ; LVX, lévofloxacine ; LZD, linézolide ; OFX, ofloxacine ; PTG, prothèse totale de genou ; PTH, prothèse totale de hanche ; RA, rifampicine ; SERM, *Staphylococcus epidermidis* résistant à la méticilline ; TEI, teicoplanine ; VA, vancomycine

Les glycopeptides, souvent associés à la rifampicine, restent à ce jour la première ligne antibiotique de référence dans les infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. Pourtant, leur utilisation est souvent responsable d'effets indésirables auditifs et néphrologiques, et, pour la vancomycine, d'une veino-toxicité nécessitant sa perfusion sur une voie veineuse centrale. C'est pourquoi de nouvelles molécules anti-staphylococciques ont été commercialisées ou sont en cours de développement.

La daptomycine, nouvellement commercialisée, possède une forte activité bactéricide *in vitro* sur la plupart des bactéries à Gram positif, notamment sur les souches de *S. aureus* multirésistantes (31,63). Sa facilité d'administration, la rareté des effets indésirables, et le maintien d'une activité bactéricide vis-à-vis des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides, font de cet antibiotique une arme potentielle dans les infections ostéo-articulaires à SARM (36,39).

Nous allons dans un premier temps analyser le résultat de nos expérimentations *in vitro*, puis justifier l'utilisation et énoncer les limites de notre modèle expérimental. Nous amènerons ensuite des hypothèses permettant d'expliquer les discordances entre l'activité bactéricide *in vitro* et *in vivo* de la daptomycine. Enfin, nous tenterons de définir la place que peut occuper la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires en thérapeutique humaine, en nous basant en particulier sur l'expérience clinique rapportée dans la littérature de la daptomycine dans les infections ostéoarticulaires chez l'homme.

1. Activité anti-microbienne de la daptomycine *in vitro*

L'activité anti-microbienne de la daptomycine est d'étude difficile en pratique courante, en raison de particularités inhérentes à la nature physico-chimique et au mode de fonctionnement de l'antibiotique. La méthode de diffusion par disque antibiotique (antibiogramme) n'est pas utilisable : les disques de daptomycine ont été retirés du marché en 2005 en raison de taux de calcium variables et de la faible diffusion de cette grosse molécule dans la gélose, rendant la méthode non reproductible (35). Pour la détermination de la CMI de nos souches de SA vis-à-vis de la daptomycine en milieu liquide, nous avons répété à plusieurs reprises les expérimentations parce que les valeurs de CMI retrouvées étaient anormalement élevées, toujours supérieures d'au moins deux dilutions par rapport aux valeurs attendues. Après vérification de chaque étape de l'expérimentation, et dosage

du calcium dans le bouillon MH que nous utilisons, nous nous sommes aperçu que le taux de calcium était inférieur à 20 mg/l, correspondant à la concentration de calcium du bouillon MH DifcoTM supplémenté en cations (calcium et magnésium). Pour atteindre une concentration de calcium de 50 mg/l et pouvoir ainsi tester l'activité antibactérienne de la daptomycine, une supplémentation en calcium était donc nécessaire.

Une fois cette difficulté levée, nos expérimentations *in vitro* ont confirmé que la daptomycine était un antibiotique concentration-dépendant. Sans parler de stérilisation bactérienne (seuil de détection microbienne en cinétique de bactéricidie 1,3 log UFC/ml), aucun autre antibiotique, à des concentrations comparables, n'exerce d'effet bactéricide aussi rapide, que ce soit vis-à-vis des souches de *S. aureus* sensibles ou résistantes à la méticilline (42). Ces résultats sont concordants avec ceux d'études antérieures, que ce soit en termes de CMI, ou de vitesse de bactéricidie, et quelle que soit la méthode utilisée (35,36,103,104).

2. Cinétiques de bactéricidie des associations antibiotiques

Concernant l'étude des cinétiques de bactéricidie de l'association daptomycine et rifampicine, nos expérimentations montraient une moindre diminution de l'inoculum bactérien lorsque la rifampicine était ajoutée à la daptomycine (effet antagoniste), quelles que soient les concentrations considérées. Cet antagonisme était particulièrement évident dans les 24 premières heures. Après 24 heures, la rifampicine empêchait par contre la repousse bactérienne que l'on observait pour les concentrations les plus faibles de daptomycine.

Le même type d'expérimentation a été réalisé dans des études antérieures. La première étude, réalisée sur 50 souches de staphylocoques, montrait un effet additif de la rifampicine vis-à-vis de la daptomycine. Une synergie était observée pour une seule souche de *S. aureus* Intermédiaire à la Vancomycine (VISA) (103). Les 2 autres travaux allaient dans le sens de nos résultats puisqu'ils montraient que la rifampicine exerçait les 24 premières heures un effet antagoniste vis-à-vis de la daptomycine, et empêchait pour certaines souches, la repousse bactérienne sous daptomycine après 24 heures (105,106).

Le mécanisme par lequel la rifampicine exerce *in vitro* un antagonisme vis-à-vis de la daptomycine est inconnu. Nous avons montré dans un travail supplémentaire qu'il n'y avait pas, *in vitro*, d'incompatibilité physique entre les 2 antibiotiques ou d'inactivation de

la daptomycine par la rifampicine (résultats non montrés). De plus, il est difficile, avec les connaissances actuelles du mode d'action des deux antibiotiques, de concevoir que la rifampicine puisse inhiber l'activité antibactérienne que la daptomycine exerce sur la cellule. On peut éventuellement imaginer que la rifampicine, en inhibant l'ARN polymérase ADN-dépendante bactérienne, provoque une modification de la structure de la membrane cytoplasmique, et par conséquent, une diminution de l'affinité de la daptomycine pour sa cible. L'autre hypothèse est que l'inhibition de l'ARN polymérase par la rifampicine interagisse avec l'inhibition de la synthèse des protéines par la daptomycine. D'autres antagonismes ont été décrits avec la rifampicine sur des souches de *S. aureus*, tels que rifampicine plus fosfomycine, rifampicine plus vancomycine ou rifampicine plus fluoroquinolones, sans qu'une explication certaine n'ait été proposée (107,108).

Nous avons choisi, pour étudier les autres associations antibiotiques le triméthoprime-sulfaméthoxazole, la tigécycline, le linézolide et la vancomycine parce qu'ils constituent les rares antibiotiques encore sensibles et efficaces dans l'os lorsque la souche bactérienne en cause dans l'infection ostéo-articulaire est un SARM ou un staphylocoque à coagulase négative résistant à la méticilline. Les souches SA BCB8 et hGISA étaient effectivement résistantes aux fluoroquinolones et à l'acide fusidique.

Pour le co-trimoxazole et la tigécycline, le degré d'activité antimicrobienne variait avec le temps, la concentration antibiotique et la souche bactérienne. A la concentration antibiotique la plus forte, les molécules étaient bactéricides sur la souche SA BCB8. Par contre, seule l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole était bactéricide sur la souche SA hGISA alors que les autres antibiotiques étaient au maximum bactériostatiques.

Avant 24 heures, la tigécycline, le linézolide et la vancomycine exerçaient un effet faiblement antagoniste ou indifférent sur la daptomycine. La culture bactérienne était en effet positive avec les associations à 24 heures alors qu'elle était stérile avec la daptomycine seule quelle que soit sa concentration. Le co-trimoxazole exerçait une activité synergique faible sur la daptomycine pour la souche SA BCB8 alors qu'elle était antagoniste sur la souche SA hGISA. Après 24 heures, les 4 associations permettaient par contre une stérilisation du milieu et empêchaient ainsi la repousse bactérienne qui survenait à la concentration la plus faible de daptomycine.

L'efficacité de la daptomycine en association à l'un des 4 antibiotiques choisis lors de nos expérimentations a été peu étudiée antérieurement. Dans une étude récente, l'association daptomycine et tigécycline était indifférente vis-à-vis de la plupart des souches de staphylocoques dorés et SCN, de même que son association à d'autres antibiotiques tels que moxifloxacine et acide fusidique (109). La valeur de ces résultats est cependant limitée parce que l'effet des associations était étudié par la superposition de bandelettes Etest[®] et le calcul de l'index FIC qui ne prend pas en compte l'aspect dynamique des associations. Par la même méthode et en vitesse de bactéricidie, les associations daptomycine et linézolide ou quinupristine/dalfopristine étaient indifférentes tandis que l'association à la vancomycine était additive par la méthode des bandelettes Etest[®] et indifférente en vitesse de bactéricidie (110). Là encore les résultats doivent être interprétés avec prudence parce que la daptomycine était étudiée à 0,5 x CMI, ce qui ne correspond pas aux concentrations attendues en pratique clinique chez l'homme.

Au total, aucun antagonisme ou synergie ne survient avec la daptomycine, mais nos expérimentations montrent un probable effet protecteur de la rifampicine, du cotrimoxazole, du linézolide et de la tigécycline sur la repousse bactérienne sous daptomycine.

3. Justification du modèle expérimental

Les modèles animaux discriminants, tels que pneumopathies, endocardites infectieuses et infections ostéo-articulaires, sont utilisés depuis une trentaine d'années, afin de relier l'activité bactéricide et l'efficacité clinique d'un nouvel antibiotique, de les comparer au traitement de référence et d'étudier la diffusion tissulaire de la nouvelle molécule (111).

Norden a conçu le premier modèle expérimental d'infection ostéo-articulaire à visée thérapeutique en injectant un agent sclérosant, le morrhuate de sodium, dans le tibia de lapins puis en inoculant une souche de *S. aureus*. Le morrhuate de sodium provoquait une ischémie qui favorisait l'infection. Ce modèle d'infection focale, proche de l'ostéomyélite hémotogène aiguë humaine, réalisait, chez 100% des animaux, des modifications de la moelle osseuse, suivies de réaction périostée et de lésions osseuses lytiques avec séquestres (112).

A notre connaissance, seules deux études chez le lapin et deux chez le rat ont évalué l'efficacité de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires. Les trois premiers travaux ont été menés au cours du développement clinique de la daptomycine par Lilly Research Laboratories entre 1980 et 1991 (112-114). Le modèle consistait en une

ostéomyélite chronique à *S. aureus* avec une charge bactérienne ostéo-médullaire de 5 log (CFU/g de tissu). Les doses d'antibiotiques utilisées étaient environ 5 fois plus faibles que celles nécessaires à l'obtention d'une pharmacocinétique humaine simulée. Les résultats de ces études faisaient penser que l'activité anti-bactérienne de la daptomycine n'était pas meilleure que celle de la vancomycine.

La dernière étude, réalisée depuis la reprise du développement clinique de la daptomycine par Cubist Pharmaceuticals en 1997, a utilisé un modèle d'ostéomyélite chronique à SARM chez le rat (115). Elle a comparé l'efficacité de la daptomycine à celle de la vancomycine, avec ou sans billes de polyméthylméthacrylate chargées en antibiotique. La dose de daptomycine utilisée permettait d'obtenir une C_{max} supérieure à 200 mg/l et une ASC supérieure à 850 mg.h/l, mais était délivrée en 2 injections par jour. Le traitement par daptomycine par voie générale était plus efficace que l'absence de traitement ou que le traitement local. Il n'était par contre pas significativement plus efficace que le traitement par vancomycine par voie générale et ne permettait pas l'éradication bactérienne.

Le modèle expérimental que nous avons utilisé pour l'évaluation de l'efficacité anti-bactérienne de la daptomycine est différent des 4 modèles précédemment décrits pour les raisons suivantes :

- L'ostéo-arthrite induite dans notre modèle animal était une infection se rapprochant d'une «ostéomyélite» de type 3A ou 4A dans la classification de Cierny-Mader (116). Les lésions histologiques étaient similaires. Il s'agissait d'une infection stable au cours de la première semaine (absence de guérison spontanée), et sévère (30% de mortalité).
- *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus souvent responsable d'infections ostéo-articulaires chez l'adulte, avec les staphylocoques à coagulase négative. Le mode d'inoculation bactérienne dans notre modèle expérimental était direct, comme cela survient le plus souvent en pathologie humaine (à l'occasion d'une plaie profonde, d'une ponction articulaire ou d'une intervention chirurgicale). En revanche, l'inoculum bactérien utilisé pour créer l'infection n'était pas conforme à la charge bactérienne responsable des pathologies ostéo-articulaires chez l'homme. Ce choix a été fait pour nous permettre d'obtenir un modèle reproductible, et parce que dans l'évolution des infections ostéo-articulaires aiguës chez l'homme, la charge bactérienne peut être considérable.
- Le problème méthodologique qui limite généralement l'extrapolation simple des données animales de pharmacodynamie à l'homme, tient à la différence en termes de pharmacocinétique : plus l'animal est petit, plus la clairance est élevée, et la demi-vie

d'élimination courte. Pour s'affranchir de ces différences de pharmacocinétique inter-espèces, nous avons utilisé une méthode de simulation de la pharmacocinétique humaine aux doses actuellement recommandées chez l'homme, pour l'administration des antibiotiques évalués dans notre modèle (101). Cela n'était pas le cas dans les 4 modèles expérimentaux précédemment décrits. Cette technique nous a ainsi permis, en écartant ce biais méthodologique majeur et en tenant compte du profil pharmacocinétique/pharmacodynamique de l'antibiotique, de rendre possible l'interprétation des expérimentations animales (52,115).

- L'utilisation de lapins comme modèle d'infection ostéo-articulaire nous a permis d'associer facilement un geste chirurgical (recommandé en thérapeutique humaine), tel que le lavage-débridement, à l'administration de l'antibiothérapie.

- Dans notre modèle expérimental, nous avons évalué l'efficacité de la daptomycine seule et en association à la rifampicine. Les modèles précédemment décrits n'ont évalué que la daptomycine en monothérapie. Cette association fait partie des recommandations nationales concernant le traitement des infections ostéo-articulaires (13).

Ces différents points ont permis d'améliorer la pertinence de notre modèle animal et de rendre plus extrapolables à l'homme les conclusions suivantes :

- L'activité anti-bactérienne de la daptomycine n'est pas différente de celle de la vancomycine dans le traitement des ostéo-arthrites aiguës à SARM.

- L'association de la rifampicine à la daptomycine ou à la vancomycine est plus efficace que la monothérapie correspondante dans le traitement des ostéo-arthrites aiguës à SARM.

- La combinaison daptomycine et rifampicine semblerait plus efficace que la bithérapie à base de vancomycine dans le traitement des ostéo-arthrites aiguës à SARM. Cette tendance nécessiterait néanmoins, pour être confirmée, une étude d'échantillons plus grands, la puissance du test de comparaison du Δ log bactérien dans l'os entre les deux groupes d'associations antibiotiques n'étant en effet que de 41% en unilatéral.

- L'association de la rifampicine à la daptomycine pourrait éviter l'émergence de mutants résistants à la daptomycine sous monothérapie. Ces données ne reposent que sur l'observation d'une augmentation de CMI à la daptomycine chez 3 animaux.

Des constatations similaires ont été faites par John *et al* dans un modèle de cage sous-cutanée infectée chez le cochon d'Inde : l'efficacité de la daptomycine en monothérapie quelle que soit la posologie était nulle alors que l'association à la rifampicine avec la dose

humaine simulée permettait la guérison de 100% des animaux et évitait l'émergence de mutants résistants à la rifampicine qui était observée avec les régimes rifampicine seule, vancomycine et rifampicine, linézolide et rifampicine (117).

Enfin, une limite significative de notre expérimentation provient de l'administration courte de l'antibiothérapie (4 jours), contrastant avec les durées très longues de traitement des infections ostéo-articulaires en pathologie humaine. Des considérations éthiques et pratiques ont influencé notre choix des modalités de traitement, et le critère d'évaluation utilisé n'a donc pas été la guérison de l'infection, mais la variation de charge bactérienne au site infectieux.

4. Discordance entre l'activité bactéricide *in vitro* et *in vivo* de la daptomycine

Des expérimentations *in vitro*, il ressort que : la daptomycine exerce une activité bactéricide intense vis-à-vis de *S. aureus* quel que soit son niveau de résistance à la méticilline, alors qu'elle n'était pas significativement plus efficace que l'absence de traitement dans notre modèle animal ; dans les premières 24 heures, la rifampicine exerçait un effet antagoniste vis-à-vis de la daptomycine *in vitro*, mais synergique *in vivo*. Ce même type de discordances a déjà été rapporté avec des couples antibiotiques et des modèles expérimentaux différents, tels que linézolide plus gentamicine et endocardite à *S. aureus* (118). Cela montre les limites des expérimentations *in vitro*.

Certains paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la daptomycine, relatifs à la molécule elle-même ou à l'environnement ostéo-articulaire infecté, pourraient jouer un rôle dans cette discordance d'activité anti-bactérienne *in vitro/in vivo*.

- Tout d'abord, nous avons montré par l'expérimentation animale que la diffusion de la daptomycine dans le compartiment osseux était faible, puisque le rapport des concentrations de daptomycine dans l'os par rapport au plasma était compris entre $0,09 \pm 0,03$ et $0,66 \pm 0,35$ selon que le dosage était réalisé 1 ou 3 heures après la perfusion et selon que les tissus étaient sains ou infectés. Les dosages étaient réalisés à l'état d'équilibre, après 4 jours de traitement, si bien que l'éventuel effet d'accumulation de l'antibiotique dans les tissus était pris en compte. Ces données sont concordantes avec le fait que la daptomycine a une diffusion extra-vasculaire limitée, comme en témoigne son faible volume de distribution à l'état d'équilibre (0,1 l/kg), et avec les faibles

concentrations de daptomycine dans l'os mesurées dans un modèle animal d'ostéomyélite chronique (113). Mader a en effet montré que, 60 minutes après une injection sous-cutanée unique de daptomycine (4 mg/kg), la concentration osseuse d'antibiotique était indétectable dans l'os sain, et inférieure à 2 mg/l en dosage microbiologique dans l'os infecté, soit un taux tissulaire égal à 1,3%. Les doses de daptomycine utilisées dans ce modèle étaient plus faibles que dans notre expérimentation. En revanche, une étude récente de pharmacocinétique a montré que la diffusion de la daptomycine dans l'os chez des sujets traités pour une infection de pied diabétique était bonne, avec un rapport des concentrations de daptomycine dans l'os par rapport au plasma à 1 (119). Les dosages tissulaires étaient réalisés par HPLC (chromatographie en phase liquide haute performance) après microdialyse, et correspondaient donc aux concentrations de daptomycine libre. Ces données ne sont pas forcément contradictoires dans la mesure où la méthode microbiologique reflète une activité antibiotique, processus dynamique qui ne correspond pas seulement à la fraction libre de l'antibiotique.

Le paramètre PK/PD le mieux corrélé à l'activité bactéricide de la daptomycine est le rapport ASC_{plasma}/CMI . Dans notre expérimentation, le rapport ASC_{os}/CMI , en utilisant d'une part les deux points de concentration de daptomycine fournis par nos résultats (concentrations à 1 heure et à 3 heures), d'autre part la fonction de la courbe représentant les concentrations tissulaires de daptomycine en fonction du temps disponible dans la littérature, était inférieur à 100 (119). Cette donnée pourrait expliquer en partie l'inefficacité de la daptomycine en monothérapie dans notre expérimentation *in vivo* bien que les cibles de PK/PD dans les tissus ne soient à l'heure actuelle pas connues.

- La daptomycine se lie aux protéines plasmatiques humaines de manière réversible et indépendante de la concentration. *In vitro* ou *in vivo* chez l'homme, la liaison protéique est en moyenne de 90% (83). Les études expérimentales ont montré que le taux de liaison protéique était comparable, de l'ordre de 93%, chez le lapin (120). Seule la fraction libre de l'antibiotique peut être distribuée au site cible, et peut exercer son activité antimicrobienne. Des études *in vitro* ont montré que : pour une fixation protéique égale à 95%, la CMI de la daptomycine vis-à-vis de *S. aureus* passait de 0,25 à 5 mg/l (121) ; le temps moyen nécessaire à la lyse de 99% d'un inoculum de départ de *S. aureus* dans un modèle pharmacodynamique double chambre passait de 0,81 à 7,66 heures lorsque le milieu était enrichi en albumine (122).

- L'activité de la daptomycine dépend de la concentration de calcium libre dans le milieu (47). L'os contient 99% du calcium de l'organisme, principalement sous forme de matrice

minérale, faite d'hydroxyapatite et de carbonate de calcium. Les flux de calcium ionisé entre l'os et le sérum sont permanents, et majorés en situation d'infection osseuse. La concentration de calcium ionisé ne paraît donc pas être un facteur limitant de l'activité anti-microbienne de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires.

- L'importance de l'inoculum bactérien peut expliquer en partie la discordance d'efficacité de la daptomycine *in vitro/in vivo*. Dans notre modèle expérimental, la concentration bactérienne dans le foyer infectieux était comprise entre 10^7 et 10^9 /g de tissu et la production de pus abondante tandis que les vitesses de bactéricidie de la daptomycine étaient réalisées à partir d'un inoculum plus faible, compris entre $3 \cdot 10^6$ et 10^7 bactéries/ml et à pH 7,4. Il a été montré qu'un fort inoculum bactérien majorait *in vitro* significativement la CMI de la daptomycine (CMI augmentée de 0,78 à 6,25 mg/l) et que l'activité bactéricide de la daptomycine était meilleure à pH 8 qu'à pH 6,4 sur les souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (47). Par contre, en modélisation pharmacodynamique d'une endocardite infectieuse à *S. aureus*, l'effet bactéricide de la daptomycine était peu affecté par les forts inoculum, contrairement à celui de la vancomycine (49).

- Dans les infections osseuses, *S. aureus* peut rester en phase stationnaire de croissance, et être phagocyté par les macrophages de l'hôte tout en conservant sa virulence (7). L'antibiotique utilisé doit donc être bactéricide sur les bactéries latentes et sur les bactéries intracellulaires, ce dont il n'est pas question dans l'étude des cinétiques de bactéricidie *in vitro*. Or, il a été montré que sur les bactéries dont le métabolisme était arrêté, soit par le froid, soit par déplétion en nutriments, arrêt des synthèses protéiques ou du métabolisme énergétique, la daptomycine, malgré des concentrations augmentées, exerçait une activité bactéricide plus lente (50). *In vitro*, une étude de bactéricidie a montré que la daptomycine ne réduisait en moyenne que d'1 log en 4 heures l'inoculum de départ si *S. aureus* était intra-macrophagique, contre plus de 3 log si *S. aureus* était extracellulaire (105). Dans cette expérimentation, la seule concentration de daptomycine utilisée était 1 x CMI. De plus, la courte durée d'exposition à l'antibiotique, dont l'administration n'était pas renouvelée en cours d'étude ne permet pas l'extrapolation de ces résultats à une situation clinique.

- Enfin, l'antibiothérapie n'est qu'un élément du traitement des infections ostéo-articulaires. Les différentes procédures médicales sont en effet fonction des éventuelles stratégies chirurgicales mises en œuvre : nettoyage et drainage ou synovectomie lors d'une arthrite, lavage-débridement avec rétention de prothèse ou changement de prothèse en 1 ou 2 temps lors d'une infection de prothèse articulaire par exemple. Ce paramètre était pris en

compte dans notre expérimentation puisque l'antibiothérapie n'était administrée qu'au décours immédiat d'un nettoyage chirurgical du genou. Les cellules immunitaires de l'hôte interviennent également dans la lutte anti-infectieuse, que ce soit de manière autonome ou en contribuant à l'effet post-antibiotique de celui-ci. Il a été montré, par la mesure de facteur de nécrose tumorale et de synthétase inductible de l'oxyde nitrique, sécrétés par une culture cellulaire de macrophages, que la réponse inflammatoire des macrophages exposés à *S. aureus* était diminuée en présence de daptomycine par rapport à la vancomycine ou à l'oxacilline (30). Ces résultats sont peut-être en rapport avec l'absence de lyse bactérienne engendrée par la daptomycine, malgré son activité bactéricide, et donc le faible relargage de substances pro-inflammatoires (29).

Finalement, de nombreux facteurs physico-chimiques ou cellulaires sont capables de moduler *in vitro* l'activité bactéricide de la daptomycine. Peut-être qu'aucun d'entre eux n'a la responsabilité exclusive de l'inefficacité de la daptomycine dans notre modèle animal, mais nous pouvons légitimement penser que la somme de tous ces facteurs contribue à l'absence d'efficacité *in vivo*.

5. Place de la daptomycine en pathologie ostéo-articulaire humaine

La prescription de l'antibiothérapie au cours des infections ostéo-articulaires répond à certaines obligations. Les antibiotiques doivent être adaptés aux bactéries isolées sur des prélèvements de bonne qualité, ils doivent être débutés en bithérapie et poursuivis pendant plus de 6 semaines, avoir une bonne diffusion osseuse et des concentrations plasmatiques élevées. Il est recommandé d'administrer initialement le traitement par voie parentérale, pour une durée habituelle de 15 jours bien qu'aucune étude ne permette de valider cette attitude. Le traitement des infections ostéo-articulaires à SARM repose donc sur l'emploi initial d'une antibiothérapie parentérale à base de glycopeptides, en association à une deuxième molécule : les fluoroquinolones, le co-trimoxazole, la clindamycine et l'acide fusidique peuvent être administrés par voie orale mais ces molécules sont fréquemment inactives sur les SARM hospitaliers ; la rifampicine est la molécule idéale pour le traitement des infections osseuses en raison de bonnes biodisponibilité et diffusion osseuse, et d'une activité bactéricide maintenue sur les bactéries en phase stationnaire de croissance (123). Un essai randomisé contrôlé a démontré, en intention de traiter, la non-infériorité d'une combinaison orale de fluoroquinolone (fléroxacine) et rifampicine, par rapport à

l'oxacilline ou la vancomycine chez 127 patients infectés à staphylocoque, parmi lesquels 66 avaient une infection ostéo-articulaire (124). De plus, la rifampicine est le seul antibiotique qui a démontré, par un essai randomisé contre placebo, que son association à la flucloxacilline ou à la vancomycine d'abord, puis à la ciprofloxacine, apportait un gain d'efficacité par rapport à la monothérapie (125). Les mutations de résistance à cet antibiotique sont par contre très fréquentes si une autre molécule ne lui est pas associée au niveau du foyer infectieux (126).

D'autres molécules, comme la quinupristine/dalfopristine (Q/D), la tigécycline et le linézolide ont été développées pour pallier les insuffisances d'activité et les difficultés d'administration des antibiotiques de référence. La Q/D et la tigécycline font respectivement partie de la famille des synergistines et des cyclines. Elles sont administrables par voie parentérale, mais, comme toute molécule de ces mêmes familles, leur activité est fréquemment altérée parmi les SARM hospitaliers. Le linézolide est le premier membre de la famille des oxazolidinones, dont les propriétés pharmacocinétiques, et l'absence de résistance croisée en font une alternative attractive dans le traitement des infections osseuses. Des séries de cas ont montré que le linézolide pouvait être efficace dans le traitement des infections à coques à Gram positif multi-résistants, mais la survenue fréquente d'une hématotoxicité lors de son utilisation au long cours justifient le développement d'autres antibiotiques anti-staphylococciques (127,128).

Dans ce contexte de niveau de preuve faible en faveur de tel antibiotique, la daptomycine mérite d'être évaluée dans le traitement des infections ostéo-articulaires humaines à SARM, en particulier combinée à la rifampicine.

- Nous avons rapporté dans ce travail 5 cas d'infections ostéo-articulaires à staphylocoque traitées par daptomycine. Il y avait 2 SARM, 1 SASM et 2 SERM. Toutes les infections étaient des infections de prothèse articulaire, qui posaient en outre des problèmes thérapeutiques particuliers : âge élevé et comorbidités, inopérabilité et rétention du matériel, résistance aux antibiotiques, en particulier SERM multi-résistants chez deux des patients. La daptomycine était administrée pour échec et/ou effet indésirable avec l'antibiothérapie antérieure, la plupart des autres molécules étant soit résistantes, soit contre-indiquées. Un seul patient recevait la daptomycine en 1^{ère} ligne thérapeutique alors que d'autres molécules étaient disponibles. La daptomycine était administrée à la dose moyenne de 5,7 mg/kg/jour (4-6,5) pendant une durée moyenne de 10 semaines (6-12). Il

n'y avait pas d'effet indésirable. L'évolution était favorable pour les 5 patients mais le rôle exact qu'a joué la daptomycine est difficile à déterminer. En effet, le 1^{er} patient évoluait favorablement sous linézolide avant de recevoir la daptomycine, la 3^{ème} patiente ne recevait pas l'antibiothérapie optimale au moment de l'échec (pas de rifampicine), la 4^{ème} patiente avait reçu un traitement inadapté, à la fois chirurgical et médical, et pour la 5^{ème} patiente, le recul est insuffisant. Dans tous les cas enfin, les antibiotiques associés à la daptomycine ont probablement contribué au succès clinique.

- Dans la littérature, 54 cas d'infections ostéo-articulaires à SARM traitées par la daptomycine et pour lesquelles les données d'efficacité sont connues ont été rapportés sous forme de cas cliniques ou de séries de cas (129-131). Ces données figurent dans les tableaux X et XI.

- Seize cas d'infections ostéo-articulaires à SARM ont été décrits sous forme de cas cliniques dans 13 articles : 10 hommes et 6 femmes avec une moyenne d'âge de 61 ans. Il s'agissait d'ostéomyélites, d'arthrites septiques ou d'infections de prothèse articulaire qui avaient bénéficié d'une ou de plusieurs lignes antibiotiques préalables, vancomycine ou linézolide pour la plupart. La daptomycine était administrée à la dose moyenne de 6 mg/kg/jour pour une durée moyenne de 6 semaines (extrêmes, 2-12 semaines). Parmi les 8 associations antibiotiques décrites, 7 comprenaient la rifampicine. Sur les 8 infections sur matériel, 4 ablations de matériel étaient réalisées, un lavage-débridement pour une infection hématogène et 2 rétentions de matériel pour refus du patient ou inopérabilité. Une donnée est manquante. Il y avait 8 évolutions favorables avec une durée de suivi comprise entre 15 jours et 13 mois. L'émergence de souches de SARM résistantes à la daptomycine concernait 5 patients en échec thérapeutique sous monothérapie, dont 2 n'avaient pas eu d'ablation de matériel. Des effets indésirables nécessitant l'arrêt du traitement survenaient chez 2 patients (2 cas de myalgies et faiblesse musculaire avec augmentation des CPK et cytolyse hépatique, dont 1 s'accompagnant d'insuffisance rénale aiguë sur rhabdomyolyse).

- Trente-sept cas d'infections ostéo-articulaires à SARM ont été décrits sous forme de 3 séries de cas. La daptomycine était administrée à la dose de 4-6 mg/kg/jour pour une durée moyenne de 5 semaines (extrêmes, 1-18 semaines). Tous les patients sauf 4 avaient reçu une antibiothérapie préalable, comprenant des glycopeptides, la rifampicine, des fluoroquinolones, le linézolide ou l'association quinupristine/dalfopriline (Q/D). Il y avait 31 évolutions favorables (84%), 100% dans les ostéomyélites et 60% dans les infections de

prothèse. Un cas de résistance à la daptomycine survenait lors du traitement d'une spondylite avec abcès épidual (132).

- Les nettes différences évolutives constatées entre les cas rapportés et les séries de cas tiennent au fait que plusieurs cas isolés ont été publiés dans le but de signaler l'émergence de souches résistantes à la daptomycine. Il est par contre difficile d'attribuer à la daptomycine les succès thérapeutiques rapportés étant donné la fréquence des antibiothérapies préalables et des associations antibiotiques. Néanmoins, le taux d'évolutions favorables est grand compte-tenu de la fréquence de l'administration de la daptomycine pour échec avec les antibiothérapies précédentes.

- Les autres données rétrospectives d'efficacité de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires proviennent de la database du programme CORE (Cubicin Outcomes Registry and Experience), étude multicentrique observationnelle et rétrospective décrivant l'utilisation de la daptomycine dans les infections à bactéries à Gram positif aux USA (133). L'évaluation était réalisée à la fin du traitement et 6 semaines après la fin du traitement.

- Du registre CORE 2004, 67 cas d'ostéomyélite étaient évaluable après la fin du traitement (134). La moitié des sujets étaient diabétiques, 33% avaient plus de 66 ans, 60% bénéficiaient d'un débridement chirurgical, 90% d'antibiothérapies antérieures et 14 des 17 prothèses ou ostéosynthèses étaient retirées. La bactérie la plus souvent cultivée était un SARM (45% des cas). La dose médiane de daptomycine administrée était 5,6 mg/kg/j (3,2 à 7,5), pour une durée médiane 35 jours (3-546) et en association dans 48% des cas (fluoroquinolones, rifampicine ou bétalactamines). L'évolution était favorable chez 82% des patients, avec une amélioration chez 19% et une guérison chez 63%, et un taux de succès meilleur lorsqu'un débridement chirurgical était réalisé (24 versus 5%, $p = 0,045$) et lorsque la dose de daptomycine était supérieure 4 mg/kg/jour (88 versus 65%, $p = 0,013$).

- Du registre CORE 2005-2006, 250 cas d'ostéomyélites étaient évaluable après la fin du traitement (135). Les caractéristiques démographiques étaient superposables à la série précédente et *Staphylococcus aureus* était encore la bactérie la plus souvent cultivée (46%), majoritairement des SARM. Trois quarts des patients avaient reçu une antibiothérapie préalable, souvent constituée de vancomycine. La daptomycine était administrée à la dose médiane de 6 mg/kg, en association à un autre antibiotique anti-staphylococcique dans plus de la moitié des cas. L'évolution était favorable dans 93% des cas, avec un taux de succès plus important lorsque la dose de daptomycine était supérieure

ou égale à 6 mg/kg/jour. Le résultat n'était pas statistiquement significatif et le traitement à fortes doses ne s'accompagnait pas d'effets indésirables plus nombreux.

- Du registre CORE 2005-2006, 22 cas d'arthrite septique étaient évaluables après la fin du traitement (136). Les caractéristiques démographiques étaient superposables aux deux séries précédentes, avec une proportion moindre de patients diabétiques (36%). *Staphylococcus aureus* était la bactérie la plus souvent cultivée (64%), dont 64% étaient résistantes à la méticilline. Tous les patients avaient reçu une antibiothérapie préalable et les deux tiers recevaient la daptomycine en association à un autre antibiotique (rifampicine le plus souvent), avec une dose médiane de 5 mg/kg/jour (3-6,3). L'évolution était favorable dans 91% des cas (41% de guérisons et 50% d'améliorations). Parmi les 8 patients qui recevaient la daptomycine en monothérapie, il n'y avait aucun échec.

- Seules deux études prospectives ont évalué l'efficacité de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires à staphylocoque.

- La première est une analyse *post-hoc* de l'étude du *S. aureus* Endocarditis and Bacteraemia Study Group et a comparé l'efficacité de la daptomycine à celle de la vancomycine pour les infections à SARM (137). Vingt-et-un patients avaient une infection ostéo-articulaire, dont 11 à SARM. Trois des 7 patients traités par daptomycine étaient guéris *versus* 1 des 4 patients traités par vancomycine. Dans deux cas associés à un échec thérapeutique sous daptomycine, la CMI de la daptomycine était augmentée à l'arrêt du traitement.

- La deuxième étude a évalué l'efficacité de la daptomycine chez des sujets porteurs d'une infection ostéo-articulaire à staphylocoque sur prothèse n'ayant pas reçu d'antibiothérapie au préalable (138). Sept des 12 patients avaient une infection à SARM. La daptomycine était administrée en monothérapie pour une durée minimale de 6 semaines à la dose de 4 mg/kg/jour avec un suivi compris entre 7 et 13 mois. Seuls 2 patients avaient une évolution favorable. Trois patients évoluaient défavorablement sous daptomycine sans retrait du matériel tandis que deux étaient non-répondeurs malgré le retrait de la prothèse.

Ces expériences cliniques montrent que la daptomycine pourrait représenter une éventuelle alternative dans les situations d'infections ostéo-articulaires en impasse thérapeutique. Néanmoins, en l'absence de nouvelles études cliniques, cette molécule ne doit être utilisée qu'en association avec un autre antibiotique anti-staphylococcique et son usage doit être réservé aux patients pour lesquels la balance bénéfice-risque est favorable.

Tableau X. Cas rapportés de traitement d'infections ostéo-articulaires à SARM par la daptomycine

| Référence | Sexe/ Age | Type d'infection | Documentation bactériologique | Antibiotique préalable (jours) | Motif du traitement par DAP | Dosage et durée de la DAP | Traitement chirurgical | Evolution | Suivi | Effets indésirables |
|-----------|--------------|---------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (139) | M/64 | SD sur matériel de laminectomie | Per-opérateur | VA/RA (42), LZD | Echec | DAP 6 mg/kg/j (42), DAP/VA/RA (42) | Ablation du matériel | Favorable | 12 mois | Aucun |
| | F/57 | SD Infection de PTG | Per-opérateur | VA/RA (42), LZD (42) | Echec | DAP 6 mg/kg/j (42), DAP/VA/RA (42) | Changement de PTG Discectomie | Favorable | 6 mois | ND |
| (140) | M/70 | Infection de PTG Bactériémie | Per-opérateur HC | VA/RA (21), LZD (14), VA/RA/MIN/ Gm (12) | Echec | DAP 6 mg/kg/2 j, DAP/RA/MIN (74) | Spacer, arthrodèse | Favorable Décès d'un sepsis à SASM | 3 mois | Aucun |
| (56) | M/52 | SD | Biopsie | VA | EI sous VA | DAP 6,5 mg/kg/j (10) | Aucun | Arrêt du traitement pour EI | 14 jours Résolution des EI à l'arrêt de DAP/statine | Douleurs et faiblesse musculaires CPK 20771 U/l Augmentation ASAT ALAT (sous statine) |
| (141) | F/53 | SD | Biopsie (SARM et ERV) | VA/LVX (56) | Echec | DAP 6 mg/kg/j (10) | Aucun | Arrêt du traitement pour EI | ND | Faiblesse musculaire Rhabdomyolyse CPK 20771 U/l Augmentation ASAT ALAT |
| (64) | M/61 | SD Bactériémie | HC | LZD (23), VA/Gm (3) | Echec | DAP/Gm 6 mg/kg/j | Aucun | Echec Résistance à la DAP (HC) | 12 jours | ND |
| (65) | F/64 | Infection de PTG Bactériémie | HC | VA/RA (42), LZD (2) | EI Echec | DAP 8 mg/kg/j (42), DAP 6 mg/kg/j (21) | Refus de la chirurgie | Echec Résistance à la DAP | 7 mois | ND |
| (130) | M/54 | Infection de PTH Bactériémie | Per-opérateur HC | LVX (2), VA (3), VA/Gm (4) | Echec | DAP/RA/VA/Gm 6 mg/kg/j (4), DAP/RA 6 mg/kg/2 j (37), 6 mg/kg/j (14) | Changement de PTH | Favorable | 28 jours | IRA (150 à 210 µM) |
| (142) | F/45 | Arthrite de genou | Ponction Per-opérateur | VA (42), VA/RA (56) | Echec | DAP 6 mg/kg/j (42) | Lavage- débridement Synovec- tomie | Favorable | 11 mois | Aucun |

| | | | | | | | | | | |
|-------|------|------------------------------------------------------|------------------|-------------|-------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|----------|-------|
| (66) | F/86 | Infection de PTG Bactériémie | Per-opérateur HC | VA (7) | Echec | DAP 6 mg/kg/j (22), DAP 6 mg/kg/2j (13) | Lavage-débridement | Echec Résistance à la DAP | 35 jours | IRA |
| | F/61 | SD Arthrite sternale | HC | VA (42) | Echec | DAP 6 mg/kg/j (42) | ND | Rechute Résistance à la DAP | 7 jours | ND |
| (67) | M/52 | SD Abscess du psoas-iliaque Arthrite de hanche | Biopsie | VA (42) | Echec | DAP 6 mg/kg/j (28) | Lavage-débridement Drainage | Echec Résistance à la DAP (HC) | 28 jours | ND |
| (143) | M/30 | Abscess épidual | ND | VA | Taux de VA insuffisants | DAP/RA 8 mg/kg/j (42) | ND | Favorable Relais CTM | 42 jours | Aucun |
| | M/72 | SD | ND | VA (3) | IRA | DAP/RA 6 mg/kg/j (42) | ND | Favorable | 42 jours | Aucun |
| (144) | M/72 | Infection de PTH | Per-opérateur | MIN | ND | DAP/CRO 8 mg/kg/j (90) | ND | Favorable | 42 jours | Aucun |
| (145) | M/87 | Infection de PTH | Biopsie | LZD/Gm (26) | EI | DAP/RA 4 mg/kg/2 j (90) | Inopérable | Favorable Traitement suppressif par CTM | 6 mois | Aucun |

Note. ALAT, alanine amino-transférase ; ASAT aspartate amino-transférase ; CPK, créatine phospho-kinase ; CRO, ceftriaxone ; CTM, co-trimoxazole ; DAP, daptomycine ; Gm, gentamicine ; HC, hémoculture ; IRA, insuffisance rénale aiguë ; LZD, linézolide ; MIN, minocycline ; ND, non disponible ; PTG, prothèse totale de genou ; PTH, prothèse totale de hanche ; RA, rifampicine ; SARM, *Staphylococcus aureus* résistant à la métilcilline ; SASM, *Staphylococcus aureus* sensible à la métilcilline ; SD, spondylodiscite ; VA, vancomycine.

Tableau XI. Séries de cas de traitement d'infections ostéo-articulaires à SARM par la daptomycine

| Référence | Type d'infection | Antibiotiques préalables | Motif du traitement par DAP | Dosage et durée de la DAP | Antibiotiques associés | Traitement chirurgical | Evolution | |
|-----------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|-----------|-----------|
| (146) | Infection de PTG | VA | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Changement de PTG | Echec | |
| | SD sur matériel | VA/RA | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Ablation du matériel | Echec | |
| | Arthrite sternale | Aucun | | 6 mg/kg/j (42) | ND | Lavage-débridement | Favorable | |
| | Infection de PTG | VA/RA | ND | 4 mg/kg/2 j (42) | ND | Changement de PTG | Favorable | |
| | Ostéomyélite | VA/CIP PA associé | ND | 4 mg/kg/2 j (42) | ND | Drainage | Favorable | |
| | Infection de laminectomie | VA/LZD | ND | 4 mg/kg/2 j (42) | ND | Ablation du matériel | Favorable | |
| | Infection de PTH | LVX | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Changement de PTH | Favorable | |
| | SD | VA/LVX | ND | 4 mg/kg/2 j (42) | ND | Aucun | Favorable | |
| | Infection de matériel | VA | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Ablation du matériel | Favorable | |
| | SD sur matériel | VA | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Ablation du matériel | Echec | |
| | Infection de PTE | VA | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Ablation de PTE | Echec | |
| | SD sur matériel | VA/RA | ND | 4 mg/kg/2 j (56) | ND | Ablation du matériel | Favorable | |
| | Ostéomyélite | LVX | ND | 6 mg/kg/j (28) | ND | Lavage-drainage | Favorable | |
| | Ostéomyélite Bactériémie | VAN/LZD | ND | 6 mg/kg/j (14) | ND | Lavage-drainage | Favorable | |
| | SD sur matériel | VA | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Ablation du matériel | Favorable | |
| | SD sur matériel | VA | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Ablation du matériel | Favorable | |
| | Infection de PTG | CEPH | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Changement de PTG | Favorable | |
| | Ostéite.pied diabétique | CEF | | 6 mg/kg/j (35) | ND | Amputation | Favorable | |
| | Ostéomyélite | VA/LVX | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Lavage-drainage | Favorable | |
| | SD | Aucun | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Incision-drainage | Favorable | |
| | SD Bactériémie | VA/LZD | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Aucun | Favorable | |
| | Ostéite hallux | VA | ND | 6 mg/kg/j (14) | ND | Amputation | Favorable | |
| | Ostéomyélite sternale | VA | ND | 6 mg/kg/j (28) | ND | Incision-drainage | Favorable | |
| | SD sur matériel | Aucun | ND | 6 mg/kg/j (42) | ND | Ablation de matériel | Favorable | |
| | (132) | Ostéomyélite | VA | ND | 4-6 mg/kg/j (8) | ND | ND | Favorable |
| | | Arthrite septique Bactériémie | Aucun | ND | 4-6 mg/kg/j (44) | ND | ND | Favorable |

| | | | | | | | |
|-------|------------------------------------------|-------------------|--------------|------------------|-------|----|---------------------------------|
| (132) | Arthrite septique Bactériémie | VA/Gm | ND | 4-6 mg/kg/j (41) | ND | ND | Rechute Résistance à la DAP |
| | Arthrite septique Bactériémie | VA/LZD/Q/D | ND | 4-6 mg/kg/j (42) | ND | ND | Favorable |
| | Ostéomyélite | VA | ND | 4-6 mg/kg/j (35) | ND | ND | Favorable |
| | Ostéomyélite | VA,Q/D,LZD,MIN/RA | ND | 4-6 mg/kg/j (28) | ND | ND | Favorable |
| | Ostéomyélite | VA | ND | 4-6 mg/kg/j (21) | ND | ND | Favorable |
| | Arthrite septique | VA,Q/D,CEF,LZD | ND | 4-6 mg/kg/j (28) | ND | ND | Favorable |
| (131) | Ostéite pied | TEI (16) | IRA Echec | 6 mg/kg/j (68) | RA | ND | Favorable |
| | Ostéite de fémur Arthrite septique | TEI (10) | Echec | 6 mg/kg/j (49) | DOX | ND | Favorable |
| | Ostéite de jambe Infection de pontage | TEI (21) | Echec | 6 mg/kg/j (128) | Aucun | ND | Décès (chirurgie du pontage) |
| | Ostéite hallux | VA (21) | Thrombopénie | 6 mg/kg/j (58) | RA | ND | Favorable |
| | Infection de PTH | TEI (35) | Allergie | 6 mg/kg/j (14) | RA | ND | Favorable |

Note. CEF, céfazoline ; CEPH, céphalexine ; DAP, daptomycine ; DOX, doxycycline ; IRA, insuffisance rénale aiguë ; LVX, lévofloxacine ; LZD, linézolide ; MIN, minocycline ; ND, non disponible ; PTE, prothèse totale d'épaule ; PTG, prothèse totale de genou ; PTH, prothèse totale de hanche ; Q/D, quinupristine/dalfopriline ; RA, rifampicine ; SD, spondylodiscite ; TEI, teicoplanine ; VA, vancomycine,

CONCLUSION

Les études *in vitro* ont montré que la daptomycine était rapidement bactéricide sur la plupart des bactéries à Gram positif, suggérant que dans l'arsenal thérapeutique anti-SARM, ce nouvel antibiotique puisse pallier l'insuffisance des glycopeptides. La daptomycine a en effet montré sa non-infériorité par rapport au traitement de référence dans les infections de la peau et des tissus mous, et dans les bactériémies et endocardites du cœur droit à *S. aureus* (18,19). Cependant, aucun essai clinique de même rigueur méthodologique n'a pu être mené dans le traitement des infections ostéo-articulaires.

Notre modèle d'ostéo-arthrite aiguë à *S. aureus* a montré l'absence de supériorité de la monothérapie de daptomycine par rapport à la vancomycine. Par contre, il a montré la supériorité des associations par rapport aux monothérapies correspondantes et une tendance à la supériorité de l'association daptomycine et rifampicine par rapport à l'association basée sur la vancomycine. Ces résultats ne sont, certes, pas strictement extrapolables à la pathologie humaine.

Notre étude a montré que la diffusion de la daptomycine dans l'os était faible, expliquant en partie son inefficacité en monothérapie, et suggérant, comme certaines études cliniques rétrospectives, l'augmentation des doses de daptomycine dans cette indication.

La réalisation d'essais cliniques de meilleure valeur méthodologique est primordiale, car si la daptomycine montrait une absence d'infériorité en terme d'efficacité clinique et microbiologique par rapport au traitement de référence, elle permettrait d'améliorer le confort des patients grâce à ses modalités d'administration et de limiter la survenue d'effets indésirables sous antibiothérapie. De tels essais pourraient en outre être motivés par l'augmentation préoccupante de la CMI de *S. aureus* vis-à-vis de la vancomycine.

Il serait enfin intéressant de réaliser une étude clinique afin d'évaluer l'efficacité de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus epidermidis*, dont la sensibilité aux glycopeptides est souvent diminuée, sur matériel orthopédique où le rôle du biofilm est primordial.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Astagneau P, Olivier M. Surveillance des infections du site opératoire : résultats de la base de données nationale ISO-Raisin 1999-2004. *Bull Epidemiol Heb* 2007;12-13:95-100.
2. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *Lancet* 2004;364:369-379.
3. Kaandorp CJ, Dinant HJ, van de Laar MA, Moens HJ, Prins AP, Dijkmans BA. Incidence and sources of native and prosthetic joint infection: a community based prospective survey. *Ann Rheum Dis* 1997;56:470-475.
4. Grammatico-Guillon L, Baron S, Ingrand P, Surer N, Rusch E, Desenclos J. Epidémiologie de la spondylodiscite infectieuse en France : l'apport du programme médical des systèmes d'information (PMSI), 2002-2003. *Bull Epidemiol Heb* 2007;43:367-370.
5. Mathews CJ, Weston VC, Jones A, Field M, Coakley G. Bacterial septic arthritis in adults. *Lancet* 2010;375:846-855.
6. Astagneau P, L'Hériteau F, Daniel F, Parneix P, Venier A, Malavaud S, et al. Reducing surgical site infection incidence through a network: results from the French ISO-RAISIN surveillance system. *J Hosp Infect* 2009;72:127-134.
7. Bernard L. Mécanismes physiopathologiques des infections sur matériel orthopédique. *Rev Rhum* 2006;73:327-31.
8. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med* 2004;351:1645-1654.
9. Sendi P, Rohrbach M, Graber P, Frei R, Ochsner PE, Zimmerli W. Staphylococcus aureus small colony variants in prosthetic joint infection. *Clin Infect Dis* 2006;43:961-967.
10. European Antimicrobial Resistance Surveillance System, Annual report 2008. Ongoing surveillance of S. Pneumoniae, S. aureus, E. coli, E. faecium, E. faecalis, K. pneumoniae, P. aeruginosa [Online]. 2008 [cited 2009 Aug 21]; Available from: URL:<http://www.rivm.nl/earss/>
11. Boselli E, Allaouchiche B. Diffusion in bone tissue of antibiotics. *Presse Med* 1999;28:2265-2276.
12. Troisième conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse. Les infections bactériennes ostéo-articulaires en dehors des infections à mycobactéries. *Med Mal Inf* 1991;20:37-44.
13. Clinical practice recommendations. Osteoarticular infections on materials (prosthesis, implant, osteosynthesis]. *Med Mal Inf* 2009;39:815-863.
14. Eisenstein BI, Oleson FB, Baltz RH. Daptomycin: from the mountain to the clinic,

- with essential help from Francis Tally, MD. *Clin Infect Dis* 2010;50 Suppl 1:S10-15.
15. Tally FP, DeBruin MF. Development of daptomycin for gram-positive infections. *J Antimicrob Chemother* 2000;46:523-526.
 16. Eliopoulos GM, Willey S, Reiszner E, Spitzer PG, Caputo G, Moellering RC. In vitro and in vivo activity of LY 146032, a new cyclic lipopeptide antibiotic. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;30:532-535.
 17. Rybak MJ, Bailey EM, Lamp KC, Kaatz GW. Pharmacokinetics and bactericidal rates of daptomycin and vancomycin in intravenous drug abusers being treated for gram-positive endocarditis and bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1109-1114.
 18. Arbeit RD, Maki D, Tally FP, Campanaro E, Eisenstein BI. The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections. *Clin Infect Dis* 2004;38:1673-1681.
 19. Fowler VG, Boucher HW, Corey GR, Abrutyn E, Karchmer AW, Rupp ME, et al. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med* 2006;355:653-665.
 20. Pertel PE, Bernardo P, Fogarty C, Matthews P, Northland R, Benvenuto M, et al. Effects of prior effective therapy on the efficacy of daptomycin and ceftriaxone for the treatment of community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2008;46:1142-1151.
 21. Silverman JA, Mortin LI, Vanpraagh ADG, Li T, Alder J. Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: in vitro modeling and clinical impact. *J Infect Dis* 2005;191(12):2149-2152.
 22. Ball L, Goult CM, Donarski JA, Micklefield J, Ramesh V. NMR structure determination and calcium binding effects of lipopeptide antibiotic daptomycin. *Org Biomol Chem* 2004;2:1872-1878.
 23. Allen NE, Hobbs JN, Alborn WE. Inhibition of peptidoglycan biosynthesis in gram-positive bacteria by LY146032. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:1093-1099.
 24. Alborn WE, Allen NE, Preston DA. Daptomycin disrupts membrane potential in growing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:2282-2287.
 25. Silverman JA, Perlmutter NG, Shapiro HM. Correlation of daptomycin bactericidal activity and membrane depolarization in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2538-2544.
 26. Hobbs JK, Miller K, O'Neill AJ, Chopra I. Consequences of daptomycin-mediated membrane damage in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:1003-1008.
 27. Straus SK, Hancock REW. Mode of action of the new antibiotic for Gram-positive pathogens daptomycin: comparison with cationic antimicrobial peptides and lipopeptides. *Biochim Biophys Acta* 2006;1758:1215-1223.

28. Muthaiyan A, Silverman JA, Jayaswal RK, Wilkinson BJ. Transcriptional profiling reveals that daptomycin induces the *Staphylococcus aureus* cell wall stress stimulon and genes responsive to membrane depolarization. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:980-990.
29. Cotroneo N, Harris R, Perlmutter N, Beveridge T, Silverman JA. Daptomycin exerts bactericidal activity without lysis of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:2223-2225.
30. English BK, Maryniw EM, Talati AJ, Meals EA. Diminished macrophage inflammatory response to *Staphylococcus aureus* isolates exposed to daptomycin versus vancomycin or oxacillin. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2225-2227.
31. Enoch DA, Bygott JM, Daly M, Karas JA. Daptomycin. *J Infect* 2007;55:205-213.
32. Huang Y, Liao C, Teng L, Hsueh P. Daptomycin susceptibility of unusual gram-positive bacteria: comparison of results obtained by the Etest and the broth microdilution method. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:1570-1572.
33. EUCAST Technical Note on daptomycin. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:599-601.
34. Fuchs PC, Barry AL, Brown SD. Daptomycin susceptibility tests: interpretive criteria, quality control, and effect of calcium on in vitro tests. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;38:51-58.
35. Jevitt LA, Thorne GM, Traczewski MM, Jones RN, McGowan JE, Tenover FC, et al. Multicenter evaluation of the Etest and disk diffusion methods for differentiating daptomycin-susceptible from non-daptomycin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 2006;44:3098-3104.
36. Sader HS, Rhomberg PR, Jones RN. Nine-hospital study comparing broth microdilution and Etest method results for vancomycin and daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:3162-3165.
37. Sader HS, Moet G, Jones RN. Update on the in vitro activity of daptomycin tested against 17,193 Gram-positive bacteria isolated from European medical centers (2005-2007). *J Chemother* 2009;21:500-506.
38. Sader HS, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria isolated from US medical centers: results of the Daptomycin Surveillance Program (2007-2008). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;65:158-162.
39. Wootton M, MacGowan AP, Walsh TR. Comparative bactericidal activities of daptomycin and vancomycin against glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* (GISA) and heterogeneous GISA isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:4195-4197.
40. Cui L, Tominaga E, Neoh H, Hiramatsu K. Correlation between Reduced Daptomycin Susceptibility and Vancomycin Resistance in Vancomycin-Intermediate

- Staphylococcus aureus. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:1079-1082.
41. Bowker KE, Noel AR, MacGowan AP. Comparative antibacterial effects of daptomycin, vancomycin and teicoplanin studied in an in vitro pharmacokinetic model of infection. *J Antimicrob Chemother* 2009;64:1044-1051.
 42. Caillon J, Juvin ME, Pirault JL, Drugeon HB. Bactericidal effect of daptomycin (LY 146032) compared with vancomycine and teicoplanin against gram-positive bacteria. *Pathol Biol* 1989;37:540-548.
 43. Hanberger H, Nilsson LE, Maller R, Isaksson B. Pharmacodynamics of daptomycin and vancomycin on *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus* demonstrated by studies of initial killing and postantibiotic effect and influence of Ca²⁺ and albumin on these drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1710-1716.
 44. Clinical and Laboratory Standards Institute 2006. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne [Online]. 2006 [cited 2010 Apr 25]; Available from: URL:<http://www.google.fr/>
 45. Clinical and Laboratory Standards Institute 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth information supplement. M100-S17; Edited by: CLSI. Wayne [Online]. 2007 [cited 2010 Apr 25]; Available from: URL:<http://www.google.fr/>
 46. Fuchs PC, Barry AL, Brown SD. Evaluation of daptomycin susceptibility testing by Etest and the effect of different batches of media. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:557-561.
 47. Lamp KC, Rybak MJ, Bailey EM, Kaatz GW. In vitro pharmacodynamic effects of concentration, pH, and growth phase on serum bactericidal activities of daptomycin and vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2709-2714.
 48. Quinn B, Hussain S, Malik M, Drlica K, Zhao X. Daptomycin inoculum effects and mutant prevention concentration with *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2007;60:1380-1383.
 49. LaPlante KL, Rybak MJ. Impact of high-inoculum *Staphylococcus aureus* on the activities of nafcillin, vancomycin, linezolid, and daptomycin, alone and in combination with gentamicin, in an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:4665-4672.
 50. Mascio CTM, Alder JD, Silverman JA. Bactericidal action of daptomycin against stationary-phase and nondividing *Staphylococcus aureus* cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:4255-4260.
 51. Louie A, Kaw P, Liu W, Jumbe N, Miller MH, Drusano GL. Pharmacodynamics of daptomycin in a murine thigh model of *Staphylococcus aureus* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:845-851.
 52. Safdar N, Andes D, Craig WA. In vivo pharmacodynamic activity of daptomycin.

Antimicrob Agents Chemother 2004;48:63-68.

53. Oleson FB, Berman CL, Kirkpatrick JB, Regan KS, Lai JJ, Tally FP. Once-daily dosing in dogs optimizes daptomycin safety. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:2948-2953.
54. Odero RO, Cleveland KO, Gelfand MS. Rhabdomyolysis and acute renal failure associated with the co-administration of daptomycin and an HMG-CoA reductase inhibitor. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:1299-1300.
55. Patel SJ, Samo TC, Suki WN. Early-onset rhabdomyolysis related to daptomycin use. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30:472-474.
56. Echevarria K, Datta P, Cadena J, Lewis JS. Severe myopathy and possible hepatotoxicity related to daptomycin. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:599-600.
57. Hayes D, Anstead MI, Kuhn RJ. Eosinophilic pneumonia induced by daptomycin. *J Infect* 2007;54:e211-213.
58. Shinde A, Seifi A, DelRe S, Moustafa Hussein WH, Ohebsion J. Daptomycin-induced pulmonary infiltrates with eosinophilia. *J Infect* 2009;58:173-174.
59. Cobb E, Kimbrough RC, Nugent KM, Phy MP. Organizing pneumonia and pulmonary eosinophilic infiltration associated with daptomycin. *Ann Pharmacother* 2007;41:696-701.
60. Miller BA, Gray A, Leblanc TW, Sexton DJ, Martin AR, Slama TG. Acute eosinophilic pneumonia secondary to daptomycin: a report of three cases. *Clin Infect Dis* 2010;50:e63-68.
61. Figueroa DA, Mangini E, Amodio-Groton M, Vardianos B, Melchert A, Fana C, et al. Safety of high-dose intravenous daptomycin treatment: three-year cumulative experience in a clinical program. *Clin Infect Dis* 2009;49:177-180.
62. Benvenuto M, Benziger DP, Yankelev S, Vigliani G. Pharmacokinetics and tolerability of daptomycin at doses up to 12 milligrams per kilogram of body weight once daily in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3245-3249.
63. Critchley IA, Draghi DC, Sahm DF, Thornsberry C, Jones ME, Karlowsky JA. Activity of daptomycin against susceptible and multidrug-resistant Gram-positive pathogens collected in the SECURE study (Europe) during 2000-2001. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:639-649.
64. Marty FM, Yeh WW, Wennersten CB, Venkataraman L, Albano E, Alyea EP, et al. Emergence of a clinical daptomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate during treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia and osteomyelitis. *J Clin Microbiol* 2006;44:595-597.
65. Skiest DJ. Treatment failure resulting from resistance of *Staphylococcus aureus* to daptomycin. *J Clin Microbiol* 2006;44:655-656.

66. Hayden MK, Rezai K, Hayes RA, Lolans K, Quinn JP, Weinstein RA. Development of Daptomycin resistance in vivo in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005;43:5285-5287.
67. Vikram HR, Havill NL, Koeth LM, Boyce JM. Clinical progression of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* vertebral osteomyelitis associated with reduced susceptibility to daptomycin. *J Clin Microbiol* 2005;43:5384-5387.
68. Vaudaux P, Francois P, Bisognano C, Li D, Lew DP, Schrenzel J. Comparative efficacy of daptomycin and vancomycin in the therapy of experimental foreign body infection due to *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:89-95.
69. Silverman JA, Oliver N, Andrew T, Li T. Resistance studies with daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1799-1802.
70. Friedman L, Alder JD, Silverman JA. Genetic changes that correlate with reduced susceptibility to daptomycin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2137-2145.
71. Martin PK, Li T, Sun D, Biek DP, Schmid MB. Role in cell permeability of an essential two-component system in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 1999;181:3666-3673.
72. Jones T, Yeaman MR, Sakoulas G, Yang S, Proctor RA, Sahl H, et al. Failures in clinical treatment of *Staphylococcus aureus* Infection with daptomycin are associated with alterations in surface charge, membrane phospholipid asymmetry, and drug binding. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:269-278.
73. Mishra NN, Yang S, Sawa A, Rubio A, Nast CC, Yeaman MR, et al. Analysis of cell membrane characteristics of in vitro-selected daptomycin-resistant strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:2312-2318.
74. Camargo ILBDC, Neoh H, Cui L, Hiramatsu K. Serial daptomycin selection generates daptomycin-nonsusceptible *Staphylococcus aureus* strains with a heterogeneous vancomycin-intermediate phenotype. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:4289-4299.
75. Sakoulas G, Alder J, Thauvin-Eliopoulos C, Moellering RC, Eliopoulos GM. Induction of daptomycin heterogeneous susceptibility in *Staphylococcus aureus* by exposure to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:1581-1585.
76. Patel JB, Jevitt LA, Hageman J, McDonald LC, Tenover FC. An association between reduced susceptibility to daptomycin and reduced susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2006;42:1652-1653.
77. Patel N, Lubanski P, Ferro S, Bonafede M, Harrington S, Evans A, et al. Correlation between vancomycin MIC values and those of other agents against gram-positive bacteria among patients with bloodstream infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:5141-5144.

78. Bennett JW, Murray CK, Holmes RL, Patterson JE, Jorgensen JH. Diminished vancomycin and daptomycin susceptibility during prolonged bacteremia with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;60:437-440.
79. Pillai SK, Wennersten C, Venkataraman L, Eliopoulos GM, Moellering RC, Karchmer AW. Development of reduced vancomycin susceptibility in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2009;49:1169-1174.
80. Chakraborty A, Roy S, Loeffler J, Chaves RL. Comparison of the pharmacokinetics, safety and tolerability of daptomycin in healthy adult volunteers following intravenous administration by 30 min infusion or 2 min injection. *J Antimicrob Chemother* 2009;64:151-158.
81. Woodworth JR, Nyhart EH, Brier GL, Wolny JD, Black HR. Single-dose pharmacokinetics and antibacterial activity of daptomycin, a new lipopeptide antibiotic, in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:318-325.
82. LaPlante KL, Rybak MJ. Daptomycin - a novel antibiotic against Gram-positive pathogens. *Expert Opin Pharmacother* 2004;5:2321-2331.
83. Dvorchik BH, Brazier D, DeBruin MF, Arbeit RD. Daptomycin pharmacokinetics and safety following administration of escalating doses once daily to healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1318-1323.
84. Wise R, Gee T, Andrews JM, Dvorchik B, Marshall G. Pharmacokinetics and inflammatory fluid penetration of intravenous daptomycin in volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:31-33.
85. Kim A, Suecof LA, Sutherland CA, Gao L, Kuti JL, Nicolau DP. In vivo microdialysis study of the penetration of daptomycin into soft tissues in diabetic versus healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3941-3946.
86. Michiels MJ, Bergeron MG. Differential increased survival of staphylococci and limited ultrastructural changes in the core of infected fibrin clots after daptomycin administration. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:203-211.
87. Burklein D, Heyn J, Kirchhoff C, Ozimek A, Traunmuller F, Joukhadar C, et al. Analysis of plasma and peritoneal fluid concentrations of daptomycin in a patient with *Enterococcus faecium* peritonitis. *Int J Antimicrob Agents* 2008;32:369-371.
88. Cottagnoud P, Pfister M, Acosta F, Cottagnoud M, Flatz L, Kühn F, et al. Daptomycin is highly efficacious against penicillin-resistant and penicillin- and quinolone-resistant pneumococci in experimental meningitis. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:3928-3933.
89. Dvorchik B, Arbeit RD, Chung J, Liu S, Knebel W, Kastrissios H. Population pharmacokinetics of daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:2799-2807.
90. Burkhardt O, Joukhadar C, Traunmüller F, Hadem J, Welte T, Kielstein JT. Elimination of daptomycin in a patient with acute renal failure undergoing extended

- daily dialysis. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:224-225.
91. Trotman RL, Williamson JC, Shoemaker DM, Salzer WL. Antibiotic dosing in critically ill adult patients receiving continuous renal replacement therapy. *Clin Infect Dis* 2005;41:1159-1166.
 92. Dvorchik B. Moderate liver impairment has no influence on daptomycin pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol* 2004;44:715-722.
 93. Dvorchik B, Damphousse D. Single-dose pharmacokinetics of daptomycin in young and geriatric volunteers. *J Clin Pharmacol* 2004;44:612-620.
 94. Dvorchik BH, Damphousse D. The pharmacokinetics of daptomycin in moderately obese, morbidly obese, and matched nonobese subjects. *J Clin Pharmacol* 2005;45:48-56.
 95. Bubalo JS, Munar MY, Cherala G, Hayes-Lattin B, Maziarz R. Daptomycin pharmacokinetics in adult oncology patients with neutropenic fever. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:428-434.
 96. Mohr JF, Ostrosky-Zeichner L, Wainright DJ, Parks DH, Hollenbeck TC, Ericsson CD. Pharmacokinetic evaluation of single-dose intravenous daptomycin in patients with thermal burn injury. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:1891-1893.
 97. Tomasz A, Nachman S, Leaf H. Stable classes of phenotypic expression in methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:124-129.
 98. Greenwood D, O'Grady F. Antibiotic-induced surface changes in microorganisms demonstrated by scanning electron microscopy. *Science* 1969;163:1076-1078.
 99. King CY, Barriere SL. Analysis of the in vitro interaction between vancomycin and cholestyramine. *Antimicrob Agents Chemother* 1981;19:326-327.
 100. Juvin ME, Potel G, Caillon J, Xiong YQ, Bugnon D, Le Conte P, et al. In vivo bactericidal activities of ciprofloxacin and pefloxacin in an experimental model of *Serratia marcescens* endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:883-885.
 101. Bugnon D, Potel G, Caillon J, Baron D, Drugeon HB, Feigel P, et al. In vivo simulation of human pharmacokinetics in the rabbit. *Bull Math Biol* 1998;60:545-567.
 102. Amador G, Gautier H, Le Mabecque V, Miegerville AF, Potel G, Bouler J, et al. In vivo assessment of the antimicrobial activity of a calcium-deficient apatite vancomycin drug delivery system in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rabbit osteomyelitis experimental model. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:950-952.
 103. Credito K, Lin G, Appelbaum PC. Activity of daptomycin alone and in combination with rifampin and gentamicin against *Staphylococcus aureus* assessed by time-kill methodology. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:1504-1507.

104. Pfaller MA, Sader HS, Jones RN. Evaluation of the in vitro activity of daptomycin against 19615 clinical isolates of Gram-positive cocci collected in North American hospitals (2002-2005). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;57:459-465.
105. Baltch AL, Ritz WJ, Bopp LH, Michelsen P, Smith RP. Activities of daptomycin and comparative antimicrobials, singly and in combination, against extracellular and intracellular *Staphylococcus aureus* and its stable small-colony variant in human monocyte-derived macrophages and in broth. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:1829-1833.
106. Rose WE, Leonard SN, Rybak MJ. Evaluation of daptomycin pharmacodynamics and resistance at various dosage regimens against *Staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibilities to daptomycin in an in vitro pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3061-3067.
107. Drugeon HB, Dellamonica P, Caillon J. Synergy, addition, indifference, antagonism and dominance. Dominance and antibiotic combination. *Pathol Biol* 1987;35:495-500.
108. Murillo O, Pachón ME, Euba G, Verdaguer 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;52:3681-3686.
109. Kuli B, de Barbeyrac B, Dauchy FA, Dutronc H, Bébéar C, Mégraud F, et al. In vitro activities of daptomycin, tigecycline, linezolid and eight other antibiotics, alone and in combination, against 41 *Staphylococcus* spp. clinical isolates from bone and joint infections. *Int J Antimicrob Agents* 2009;33:491-493.
110. Tsuji BT, Rybak MJ. Etest synergy testing of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* demonstrating heterogeneous resistance to vancomycin. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006;54:73-77.
111. Fantin B. The contribution of experimental models to the physiopathology and treatment of infectious endocarditis. *Rev Prat* 1998;48:492-496.
112. Norden CW, Niederriter K. Treatment of experimental chronic osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* with LY146032. *Infection* 1988;16:27.
113. Mader JT, Adams K. Comparative evaluation of daptomycin (LY146032) and vancomycin in the treatment of experimental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:689-692.
114. Luu QN, Buxton TB, Nelson DR, Rissing JP. Treatment of chronic experimental *Staphylococcus aureus* osteomyelitis with LY146032 and vancomycin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989;8:562-563.
115. Rouse MS, Piper KE, Jacobson M, Jacofsky DJ, Steckelberg JM, Patel R. Daptomycin treatment of *Staphylococcus aureus* experimental chronic osteomyelitis.

- J Antimicrob Chemother 2006;57:301-305.
116. Cierny G, Mader JT, Penninck JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 2003;414:7-24.
 117. John A, Baldoni D, Haschke M, Rentsch K, Schaerli P, Zimmerli W, et al. Efficacy of daptomycin in implant-associated infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: importance of combination with rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:2719-2724.
 118. Jacqueline C, Asseray N, Batard E, Le Mabecque V, Kergueris M, Dube L, et al. In vivo efficacy of linezolid in combination with gentamicin for the treatment of experimental endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents* 2004;24:393-396.
 119. Traunmüller F, Schintler MV, Metzler J, Spendel S, Mauric O, Popovic M, et al. Soft tissue and bone penetration abilities of daptomycin in diabetic patients with bacterial foot infections. *J Antimicrob Chemother* [Online]. 2010 Apr 7 [cited 2010 Apr 12]; Available from:
URL:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gate2.inist.fr/pubmed/20375031>
 120. Kaatz GW, Seo SM, Reddy VN, Bailey EM, Rybak MJ. Daptomycin compared with teicoplanin and vancomycin for therapy of experimental *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:2081-2085.
 121. Lee BL, Sachdeva M, Chambers HF. Effect of protein binding of daptomycin on MIC and antibacterial activity. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:2505-2508.
 122. Garrison MW, Vance-Bryan K, Larson TA, Toscano JP, Rotschafer JC. Assessment of effects of protein binding on daptomycin and vancomycin killing of *Staphylococcus aureus* by using an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:1925-1931.
 123. Widmer AF, Frei R, Rajacic Z, Zimmerli W. Correlation between in vivo and in vitro efficacy of antimicrobial agents against foreign body infections. *J Infect Dis* 1990;162:96-102.
 124. Schrenzel J, Harbarth S, Schockmel G, Genné D, Bregenzer T, Flueckiger U, et al. A randomized clinical trial to compare fleroxacin-rifampicin with flucloxacillin or vancomycin for the treatment of staphylococcal infection. *Clin Infect Dis* 2004;39:1285-1292.
 125. Zimmerli W, Widmer AF, Blatter M, Frei R, Ochsner PE. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. Foreign-Body Infection (FBI) Study Group. *JAMA* 1998;279:1537-1541.
 126. Drancourt M, Stein A, Argenson JN, Roiron R, Groulier P, Raoult D. Oral treatment of *Staphylococcus* spp. infected orthopaedic implants with fusidic acid or ofloxacin in combination with rifampicin. *J Antimicrob Chemother* 1997;39:235-240.

127. Senneville E, Legout L, Valette M, Yazdanpanah Y, Beltrand E, Caillaux M, et al. Effectiveness and tolerability of prolonged linezolid treatment for chronic osteomyelitis: a retrospective study. *Clin Ther* 2006;28:1155-1163.
128. Falagas ME, Siempos II, Papagelopoulos PJ, Vardakas KZ. Linezolid for the treatment of adults with bone and joint infections. *Int J Antimicrob Agents* 2007;29:233-239.
129. Falagas ME, Giannopoulou KP, Ntziora F, Papagelopoulos PJ. Daptomycin for treatment of patients with bone and joint infections: a systematic review of the clinical evidence. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30:202-209.
130. Burns CA. Daptomycin-rifampin for a recurrent MRSA joint infection unresponsive to vancomycin-based therapy. *Scand J Infect Dis* 2006;38:133-136.
131. Seaton RA, Macconnachie AA. Experience with daptomycin in an infectious diseases service over 1 year: utility in an outpatient parenteral antibiotic programme. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31:492-497.
132. Finney MS, Crank CW, Segreti J. Use of daptomycin to treat drug-resistant Gram-positive bone and joint infections. *Curr Med Res Opin* 2005;21:1923-1926.
133. Rolston KVI, Segreti J, Lamp KC, Friedrich LV. Cubicin Outcomes Registry and Experience (CORE) methodology. *Am J Med* 2007;120(Suppl 1):S4-5.
134. Lamp KC, Friedrich LV, Mendez-Vigo L, Russo R. Clinical experience with daptomycin for the treatment of patients with osteomyelitis. *Am J Med* 2007;120(Suppl 1):S13-20.
135. Crompton JA, North DS, McConnell SA, Lamp KC. Safety and efficacy of daptomycin in the treatment of osteomyelitis: results from the CORE Registry. *J Chemother* 2009;21:414-420.
136. Forrest GN, Donovan BJ, Lamp KC, Friedrich LV. Clinical experience with daptomycin for the treatment of patients with documented gram-positive septic arthritis. *Ann Pharmacother* 2008;42:213-217.
137. Lalani T, Boucher HW, Cosgrove SE, Fowler VG, Kanafani ZA, Vigliani GA, et al. Outcomes with daptomycin versus standard therapy for osteoarticular infections associated with *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:177-182.
138. Rao N, Regalla DM. Uncertain efficacy of daptomycin for prosthetic joint infections: a prospective case series. *Clin Orthop Relat Res* 2006;451:34-37.
139. Antony SJ. Combination therapy with daptomycin, vancomycin, and rifampin for recurrent, severe bone and prosthetic joint infections involving methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Scand J Infect Dis* 2006;38:293-295.
140. Carlyn C, Baltch A, George M, Smith R. Daptomycin in the treatment of persistent bacteremia with invasive complications caused by a small colony variant of

- methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an orthopedic patient. *Infect Dis Clin Pract* 2006;14:394-398.
141. Kazory A, Dibadj K, Weiner ID. Rhabdomyolysis and acute renal failure in a patient treated with daptomycin. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:578-579.
 142. Dretler R, Branch T. MRSA knee infection treated successfully with daptomycin after two failed prolonged high-dose courses of vancomycin. *Infect Dis Clin Pract* 2005;13:327-329.
 143. Burdette SD. Daptomycin for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections of the spine. *Spine J*. 2009;9(6):e5-8.
 144. De Rosa FG, Mollaretti O, Cometto C, Pagani N, Montrucchio C, Di Perri G. Early experience with high-dosage daptomycin for prosthetic infections. *Clin Infect Dis* 2009;49:1772-1773.
 145. Grossi O, Talarmin JP, Boutoille D, Frioux R, Corvec S, Raffi F. Conservative treatment of a hip prosthesis infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using prolonged antibiotic therapy based on linezolid followed by daptomycin. *Med Mal Inf* 2008 Déc;38:10-12.
 146. Antony S, Angelos E, Stratton CW. Clinical experience with daptomycin in patients with orthopaedic-related infections: a prospective case series. *Infect Dis Clin Pract* 2006;14:144-149.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Pénétration tissulaire de la daptomycine

Tableau II : Paramètres pharmacocinétiques de la daptomycine après une injection unique

Tableau III : Modalités des 5 régimes thérapeutiques

Tableau IV : Antibiogramme des 8 souches de *S. aureus*

Tableau V : CMI à la daptomycine des 8 souches de *S. aureus*, en mg/l

Tableau VI : Paramètres pharmacocinétiques plasmatiques de la daptomycine

Tableau VII : Nombre d'animaux dont les prélèvements étaient « stériles » à J7

Tableau VIII : Diffusion de la daptomycine dans les différents compartiments articulaires

Tableau IX : Caractéristiques des 5 patients traités par daptomycine pour une infection ostéo-articulaire

Tableau X : Cas rapportés de traitement d'infections ostéo-articulaires à SARM par la daptomycine

Tableau XI : Séries de cas de traitement d'infections ostéo-articulaires à SARM par la daptomycine

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Formule topologique de la daptomycine

Figure 2 : Mode d'action de la daptomycine

Figures 3 à 8 : Morphologie de *Staphylococcus aureus* en MEB

- 3 et 4 : Sans antibiotique
- 5 et 6 : Sous daptomycine
- 7 et 8 : Sous vancomycine

Figures 9 à 14 : Cinétiques de bactéricidie de la daptomycine et de la vancomycine sur différentes souches de *Staphylococcus aureus*

- 9 à 11 : Cinétiques de bactéricidie de la daptomycine
- 12 à 14 : Cinétiques de bactéricidie de la vancomycine

Figures 15 à 18 : Cinétiques de bactéricidie des associations daptomycine et rifampicine, et vancomycine et rifampicine sur différentes souches de *Staphylococcus aureus*

- 15 et 16 : Cinétiques de bactéricidie de l'association daptomycine et rifampicine
- 17 et 18 : Cinétiques de bactéricidie de l'association vancomycine et rifampicine

Figures 19 à 26 : Cinétiques de bactéricidie des associations daptomycine et cotrimoxazole, tigécycline, linézolide et vancomycine

- 19 à 22 : Cinétiques de bactéricidie des associations sur la souche SA BCB8
- 23 à 26 : Cinétiques de bactéricidie des associations sur la souche SA hGISA

Figure 27 : Cinétiques spontanée et humanisée de la daptomycine chez le lapin et cinétique chez l'homme

Figure 28 : Concentrations plasmatiques de la daptomycine après dose unique

Figure 29 : Efficacité des 5 régimes thérapeutiques dans le traitement de l'ostéo-arthrite aiguë expérimentale à *S. aureus* résistant à la méticilline

Figure 30 : Gamme des concentrations de daptomycine dans la moelle osseuse

Figure 31 : Gamme des concentrations de daptomycine dans l'os

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Coupe histologique d'un fémur sain

Photo 2 : Coupe histologique d'un fémur infecté

NOM : LEFEBVRE **PRENOM :** MAEVA

Titre de la thèse : Intérêts de la daptomycine dans les infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus*

Résumé de la thèse :

La vancomycine est l'antibiotique de référence dans les infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. Le traitement de telles infections est long et coûteux, grevé d'effets indésirables et d'un taux d'échec non négligeable.

L'efficacité de la daptomycine, premier représentant de la classe des lipopeptides, a été évaluée *in vitro* et *in vivo*, seule ou en association à la rifampicine dans un modèle d'ostéo-arthrite aiguë à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline chez le lapin. Cinq cas d'infections ostéo-articulaires à staphylocoque traitées par daptomycine au CHU de Nantes ont été rapportés.

In vitro, la daptomycine était rapidement bactéricide sur l'ensemble des souches bactériennes et la rifampicine exerçait sur elle un effet « antagoniste » à 24 heures. Dans le modèle expérimental, après quatre jours de monothérapie par la daptomycine, la réduction de la charge bactérienne au foyer infectieux n'était pas différente de celle obtenue sous vancomycine. Par contre, associée à la rifampicine, la daptomycine exerçait une activité bactéricide significativement plus importante que celle obtenue par les deux monothérapies et par l'association vancomycine et rifampicine dans le liquide articulaire. Enfin, l'évolution des cinq sujets traités par daptomycine au CHU de Nantes était favorable.

L'association daptomycine et rifampicine pourrait être une alternative au traitement conventionnel des infections ostéo-articulaires et doit être évaluée par des essais thérapeutiques.

Mots clés :

Daptomycine
Infection ostéo-articulaire
Staphylococcus aureus
Modèle expérimental