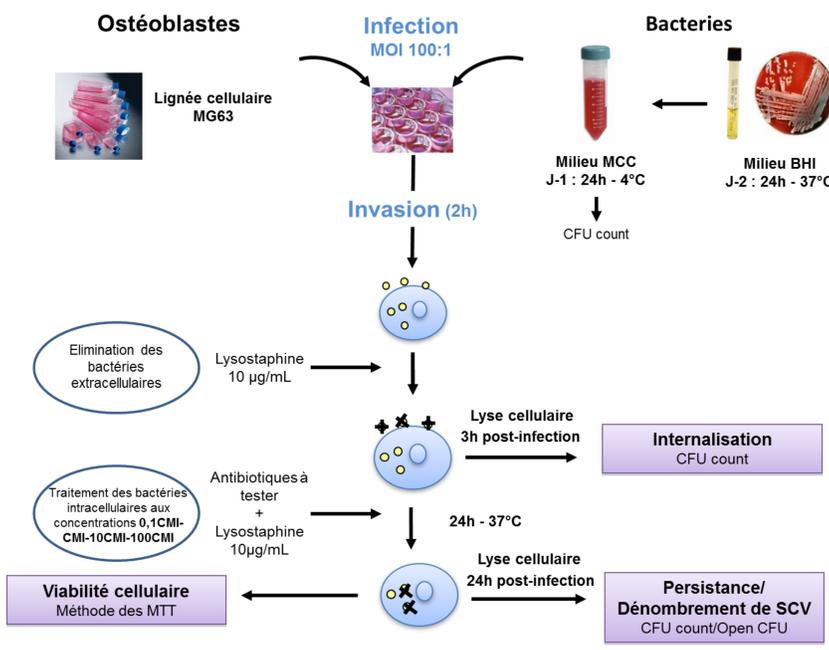


Introduction

Staphylococcus aureus (SA) représente un agent étiologique particulièrement difficile à éradiquer au cours des infections ostéo-articulaires (IOA). Trois facteurs de persistance sont impliqués : la formation de biofilm, la capacité de SA à envahir et persister au sein des ostéoblastes et l'émergence du morphotype Small Colony Variant (SCV). L'utilisation d'associations thérapeutiques à base de rifampicine supportée par de nombreuses études (*in vitro*, *in vivo* et cliniques), est toutefois à risque d'émergence de résistance, d'intolérances et d'interactions médicamenteuses. Dans ce contexte, les rifamycines (rifabutine et rifapentine) ont été peu évaluées, notamment vis-à-vis de leur capacité à éradiquer SA en biofilm et en intracellulaire. Cette étude a pour but d'étudier et de comparer la capacité de la rifampicine, rifapentine et rifabutine à éradiquer les SA intracellulaires dans un modèle d'infection *in vitro* d'ostéoblastes MG63. En parallèle, l'émergence de SCVs après traitement a été évaluée. Ces rifamycines ont été évaluées aux quatre concentrations suivantes : 0,1CMI, CMI, 10CMI et 100CMI (correspondant à la concentration osseuse retrouvée en clinique). Ce panel de concentrations, cliniquement pertinent, permet d'étudier le possible effet dose des antibiotiques.

Matériels & Méthodes

Toutes les expériences ont été répétées trois fois.
 Trois souches ont été testées : une souche de référence 6850 et deux souches cliniques d'IOA chroniques



Résultats

µg/mL	CMI		
	6850	Souche clinique n°1	Souche clinique n°2
RF	0.016	0.031	0.008
RB	0.031	0.063	0.031
RP	0.063	0.063	0.031

Tableau 1: CMI calculée des trois souches *S. aureus* (6850; souches cliniques n°1 et n°2) à la rifampicine, rifapentine, rifabutine.

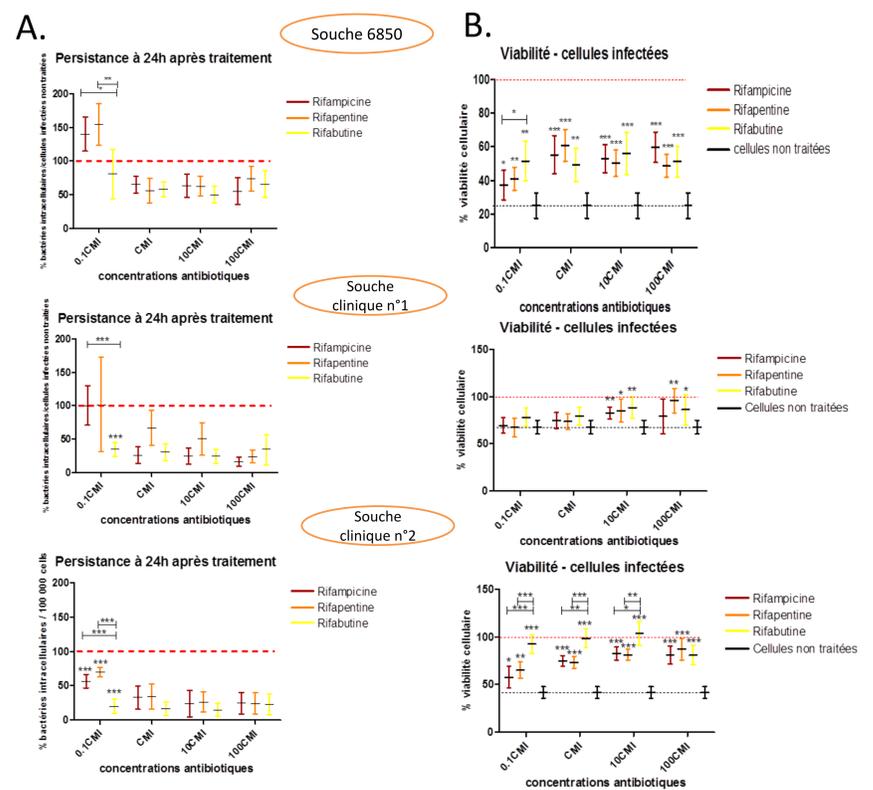


Figure 1: Activité intracellulaire de la rifampicine, rifapentine, rifabutine sur trois souches *S. aureus* (6850; souches cliniques n°1 et n°2) A. Comparaison de la capacité des antibiotiques à éradiquer les bactéries intracellulaires aux quatre concentrations (0,1CMI;CMI;10CMI;100CMI). B. Comparaison de la capacité des antibiotiques à augmenter la viabilité cellulaires aux quatre concentrations (0,1CMI;CMI;10CMI;100CMI). grâce à la méthode MTT.

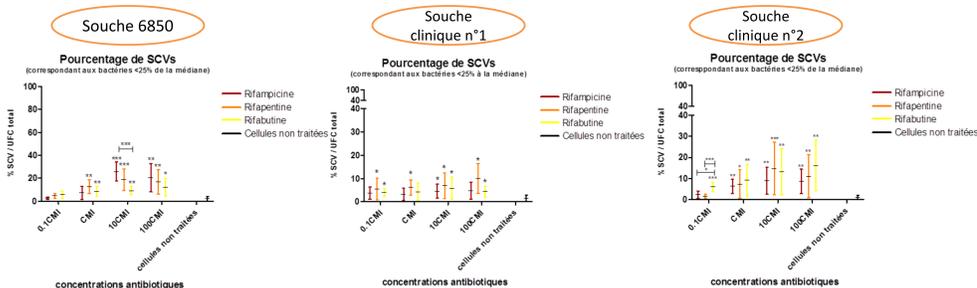


Figure 2: Pourcentage de SCVs intracellulaires avec l'utilisation de concentrations croissantes la rifampicine, rifapentine, rifabutine sur les trois souches *S. aureus* (6850; souche clinique n°1 et n°2).

- **Souche 6850** : La rifabutine à 0,1CMI est capable de diminuer significativement le nombre de SA intracellulaires après 24h de traitement par rapport à la rifampicine ($p < 0,05$) et la rifapentine ($p < 0,01$). La viabilité cellulaire est augmentée significativement avec la rifampicine, rifapentine et rifabutine à 0,1CMI de $+11,3\%$ ($p < 0,05$); $+15,3\%$ ($p < 0,01$) et $+26,1\%$ ($p < 0,01$). Concernant l'émergence de SCVs, il y a une augmentation significative des SCVs à partir de la CMI pour la rifapentine et la rifabutine, respectivement de $+11,4\%$ ($p < 0,01$) et $+7,3\%$ ($p < 0,01$). Il y a une augmentation significative du nombre de SCVs pour la rifampicine à partir de 10CMI de $+23,7\%$ ($p < 0,001$). A la concentration 10CMI la proportion de SCVs induite par la rifabutine est significativement inférieure à celle induite par la rifampicine ($p < 0,001$).
- **Souche clinique n°1** : La rifabutine à 0,1CMI est capable de diminuer significativement ($p < 0,001$) de **65,8% le nombre de SA intracellulaires** après 24h de traitement par rapport à la condition non traitée. La rifampicine et la rifapentine n'ont pas d'effet significatif à 0,1CMI. L'émergence de SCVs est significative à partir de 0,1CMI pour la rifapentine et rifabutine de $+4,4\%$ ($p < 0,05$) et $+2,7\%$ ($p < 0,05$). Pour la rifampicine à partir de 10CMI de $+3,2\%$ ($p < 0,05$).
- **Souche clinique n°2** : La rifampicine, la rifapentine et la rifabutine à 0,1CMI diminuent significativement le nombre de SA intracellulaires respectivement de $-43,8\%$; $-31,2\%$; $-79,1\%$ ($p < 0,001$). La rifabutine est significativement plus efficace que la rifampicine ($p < 0,001$) et la rifapentine ($p < 0,001$). A 0,1CMI la rifabutine augmente la proportion de SCVs de $+5\%$ ($p < 0,001$). Concernant la rifampicine et la rifapentine l'augmentation de SCVs est significative à la CMI de $+5\%$ ($p < 0,01$) et $+6,3\%$ ($p < 0,05$).

Conclusions

Les trois rifamycines sont efficaces dans l'élimination des bactéries intracellulaires, un des phénotypes bactériens associés aux IOA chroniques. La rifabutine semble efficace à plus faibles concentrations, suggérant une accumulation plus importante de la molécule en intraostéoblastique. Cela pourrait être expliqué par son coefficient de partition huile/eau 100 fois supérieur à celui de la rifampicine. La possibilité d'utiliser la rifabutine à des doses plus faibles, et donc d'éviter l'apparition d'effets secondaires et l'émergence de SCVs, pourrait en faire une alternative intéressante à la rifampicine dans le traitement des IOA. Ces trois molécules seront prochainement évaluées sur leurs capacités à éradiquer et à prévenir la formation de biofilm, un autre facteur de chronicité et de rechute dans les IOA.

Lélia Abad

Centre de Biologie Nord - Laboratoire de Bactériologie
 Hôpital de la Croix-Rousse
 103 Grande Rue de la Croix Rouse
 69004 LYON,
 France
 lelia.abad@chu-lyon.fr

