

Impact des biomatériaux sur le biofilm des Staphylocoques à coagulase négative (SCoN)

Yousef Maali, Alice Monteix, Pierre-Antoine Clerc, Jason Tasse, Florent Valour, Tristan Ferry, Jérôme Josse, Sophie Trouillet-Assant, Frédéric Laurent.

Equipe "Pathogénie des staphylocoques", Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Inserm U1111, CNRS UMR5308, Université Lyon 1, ENS de Lyon
Centre National de Référence des staphylocoques, Hospices Civils de Lyon
Centre Interrégional Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes – Lyon
Institut des Agents Infectieux, Hospices Civils de Lyon

Les Infections Ostéo-Articulaires (IOA)

« Infections touchant l'os, une articulation ou une prothèse articulaire »

- 70 patients /100 000 habitants par an en France

- Mortalité 5% (≈2000/an) et morbidité 40%

- Prise en charge **longue et coûteuse** = Impact sociétal et budgétaire



Prothèse de hanche
140 000 /an en France



Prothèse de genou
95 000 /an en France



Matériel d'ostéosynthèse
260 000 / an en France

Enjeu majeur de santé publique

Etiologie

Staphylococcus représente le genre le plus isolé (>65%)

Taux important de rechute

- 10 à 20 % en moyenne
- **80% dans les cas les plus graves**

Formes cliniques sévères chez *S. aureus*

Staphylocoques à coagulase-négatives (SCoN)

1^{ère} étiologie dans les **IOA sur matériel** et dans les **IOA complexe**

Considérés comme **une seule entité** microbiologique

Mécanismes physiopathologiques **peu étudiés**



Zimmerli et al. N Engl J Med, 2004

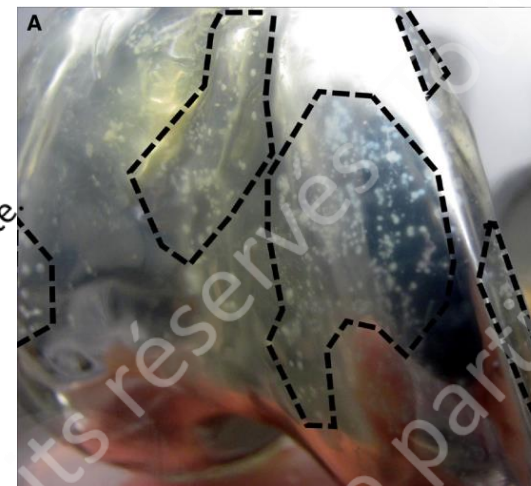
Titecat et al. OTSR, 2013

Problématique

La présence de matériel augmente le risque de survenue d'IOA liées aux SCoN

- Surface d'ancrage pour les bactéries
- Déficit immunologique localisé

➔ **Biofilm**



Tête fémorale extraite d'une arthroplastie totale du genou infectée

Y a-t-il des différences de comportement entre les SCoN dans la formation du biofilm ?

Y a-t-il un impact des biomatériaux sur la capacité à former un biofilm par les SCoN ?

Modèle d'étude – Outils

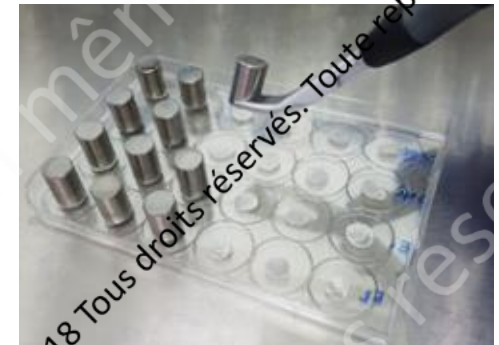
S. epidermidis n=5
S. capitis n=5
S. caprae n=5
S. haemolyticus n=5
S. warneri n=5
S. lugdunensis n=5

Souches cliniques issues d'IOA
monomicrobiennes

Collaboration avec le groupe **Lépine**

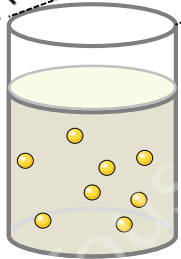
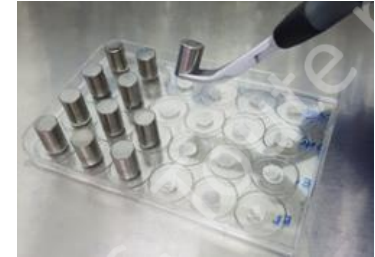
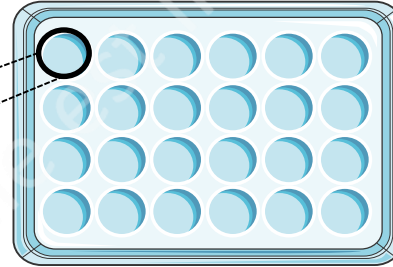
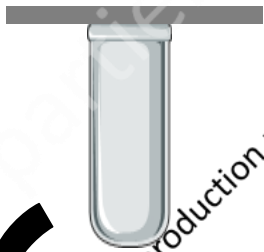


- Titane (TA6V)
- Acier inoxydable (AISI 316L)
- Polyéthylène de très haut poids moléculaire (UHMWPE)



Méthode expérimentale

Couvercle
avec plots



Inocula bactériens
standardisés

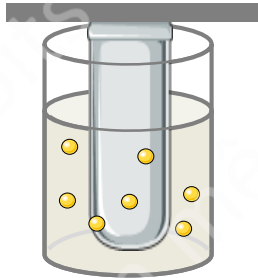
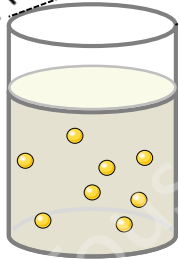
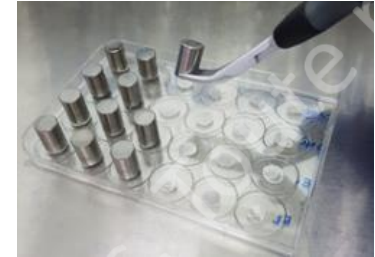
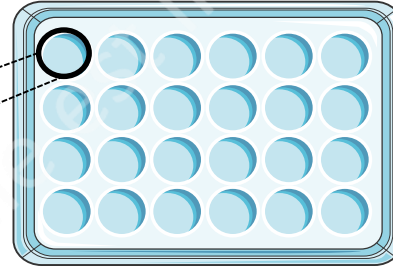


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

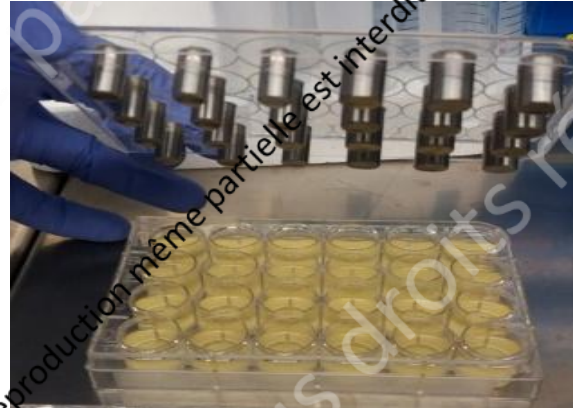
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Méthode expérimentale

Couvercle
avec plots



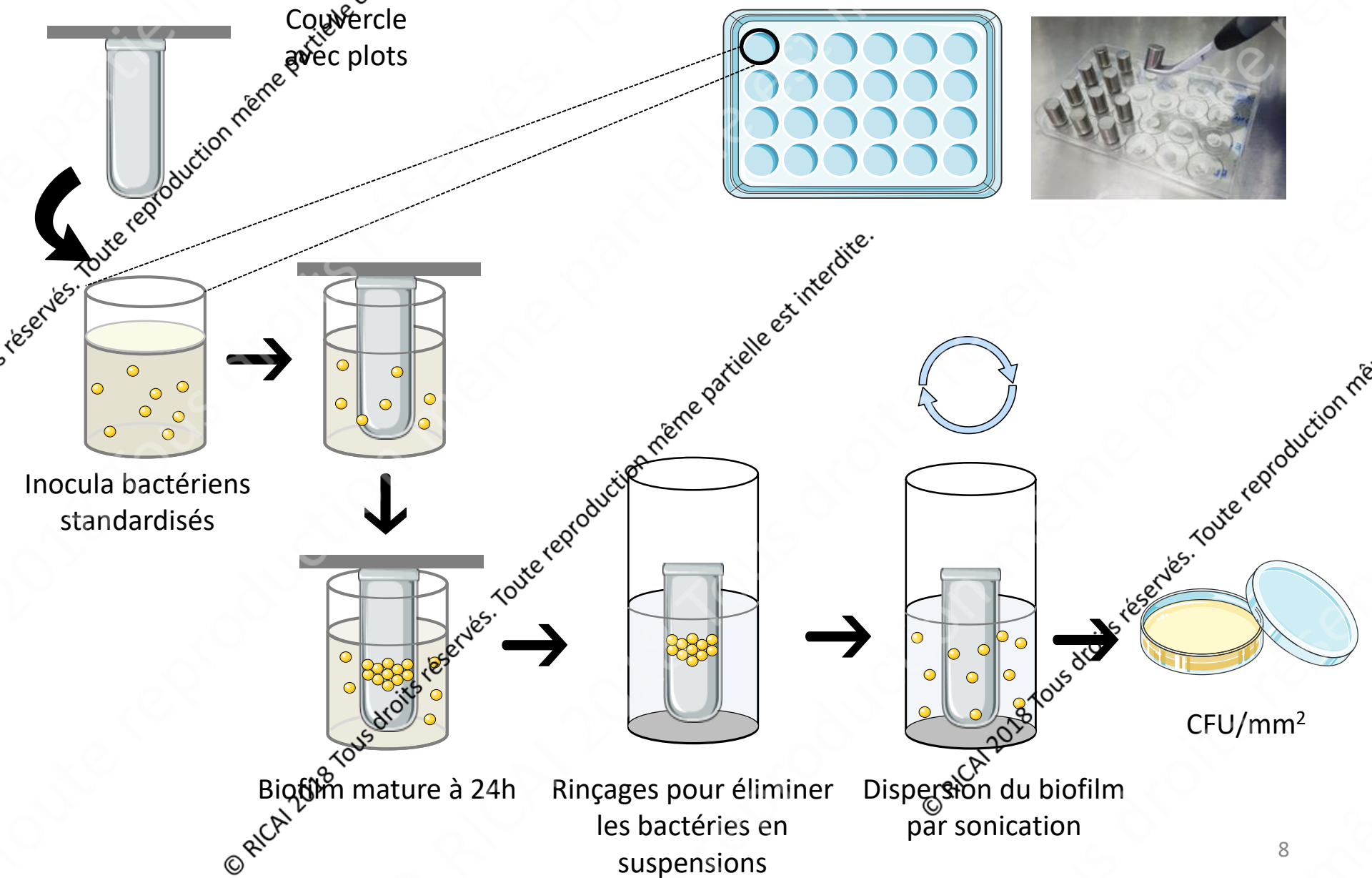
Inocula bactériens
standardisés



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

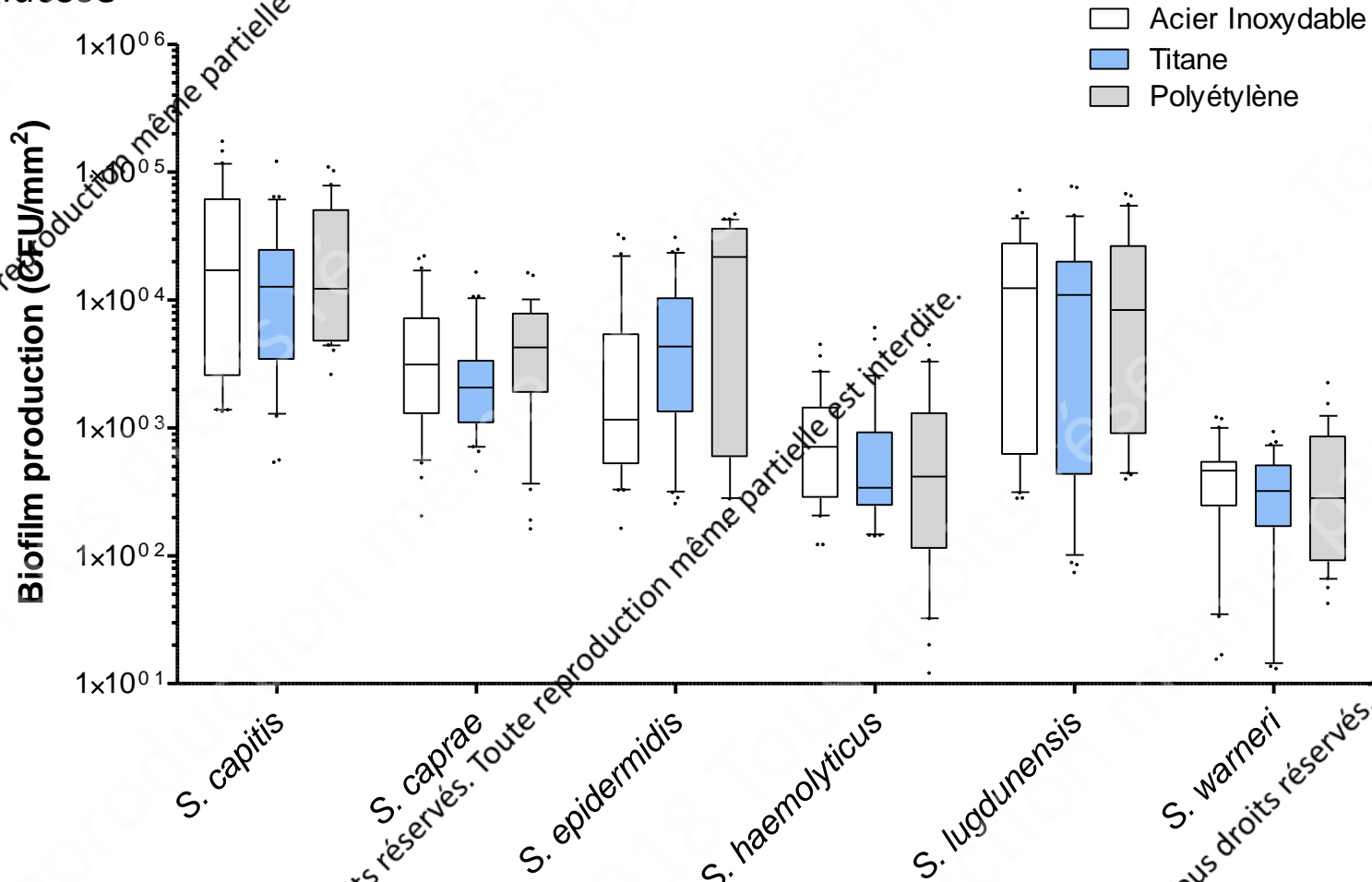
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Méthode expérimentale



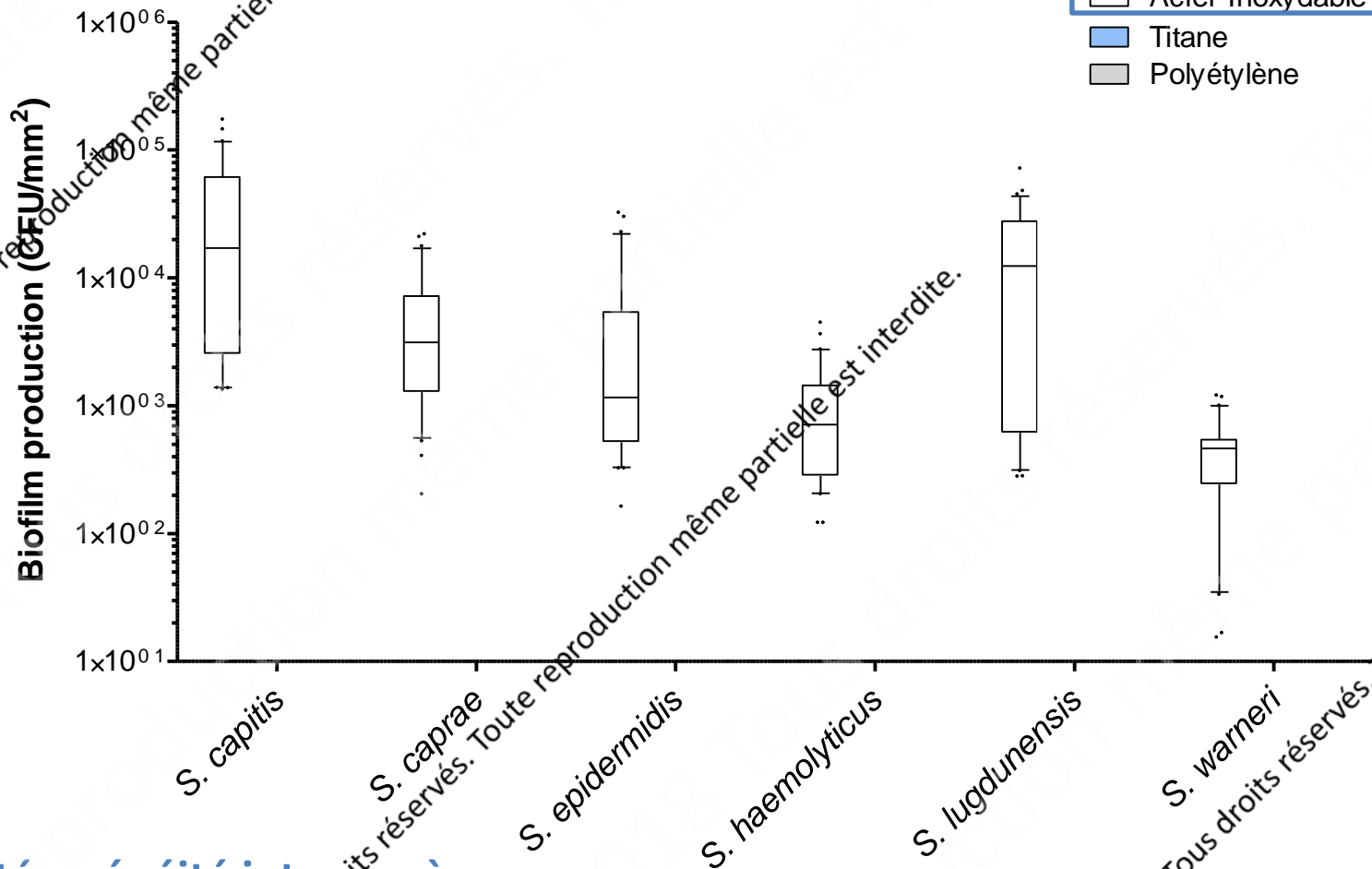
Résultats

BHI 1% glucose



Résultats – Effet de l'espèce?

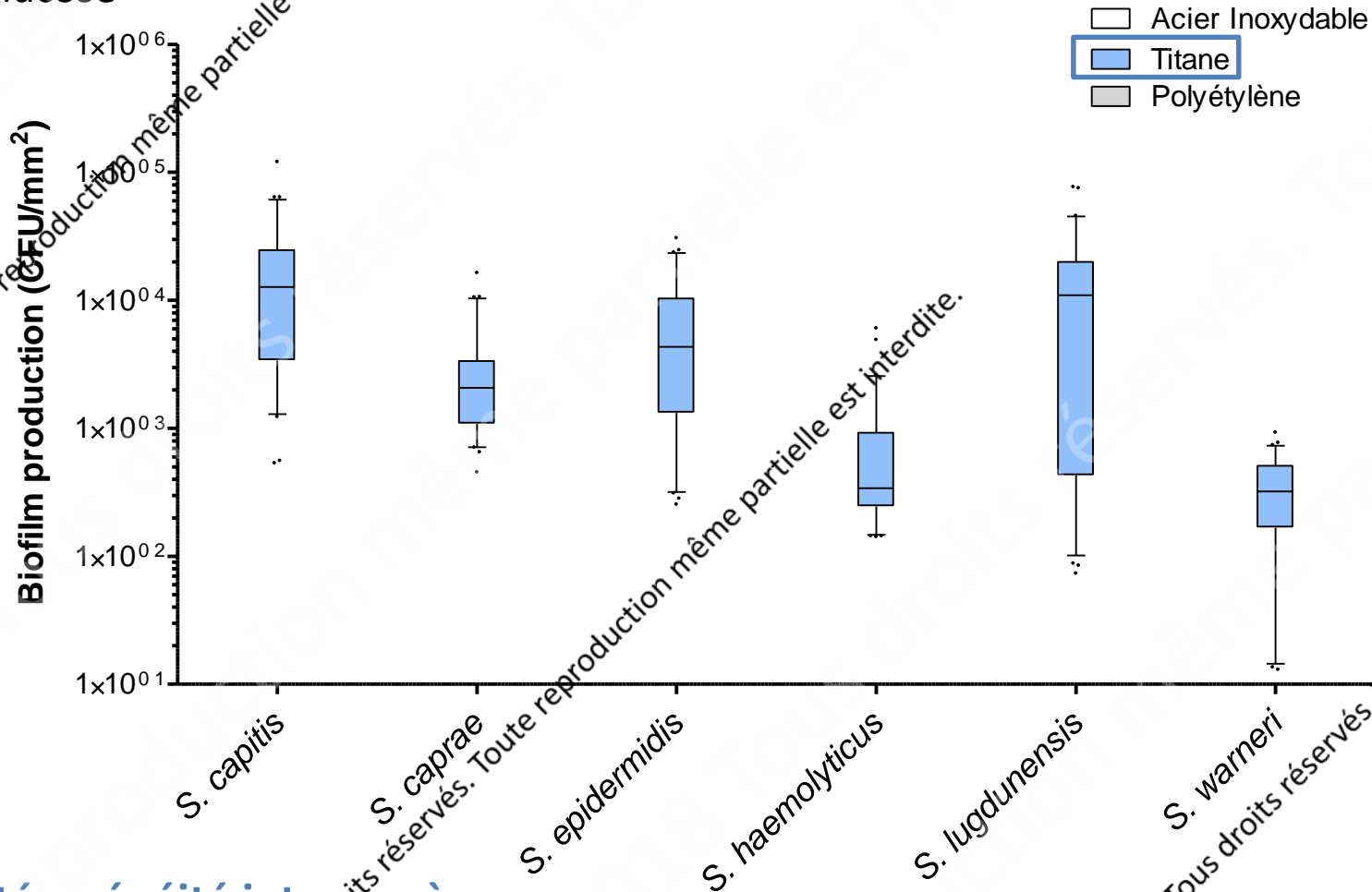
BHI 1% glucose



- **Hétérogénéité intra-espèce**
- Hétérogénéité inter-espèces (Kruskal-Wallis: $p < 0.0001$) -> **Effet espèce dépendant**
S. haemolyticus et *S. warneri* se distinguent des autres espèces
(Test de Dunn's : $p < 0.0001$)

Résultats – Effet de l'espèce?

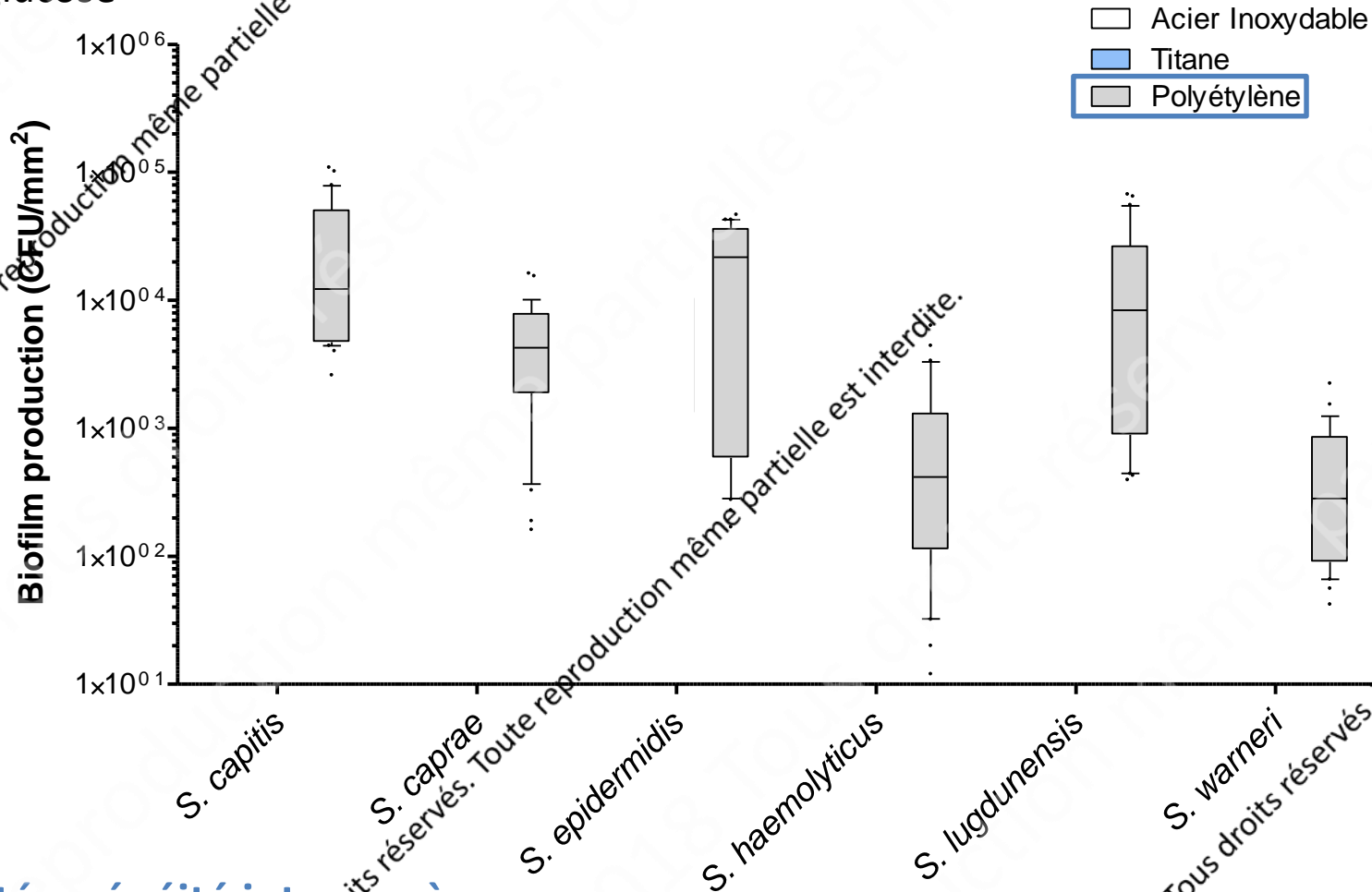
BHI 1% glucose



- **Hétérogénéité intra-espèce**
- Hétérogénéité inter-espèces (Kruskal-Wallis: $p < 0.0001$) -> **Effet espèce dépendant**
S. haemolyticus et *S. warneri* se distinguent des autres espèces
(Test de Dunn's : $p < 0.0001$)

Résultats – Effet de l'espèce?

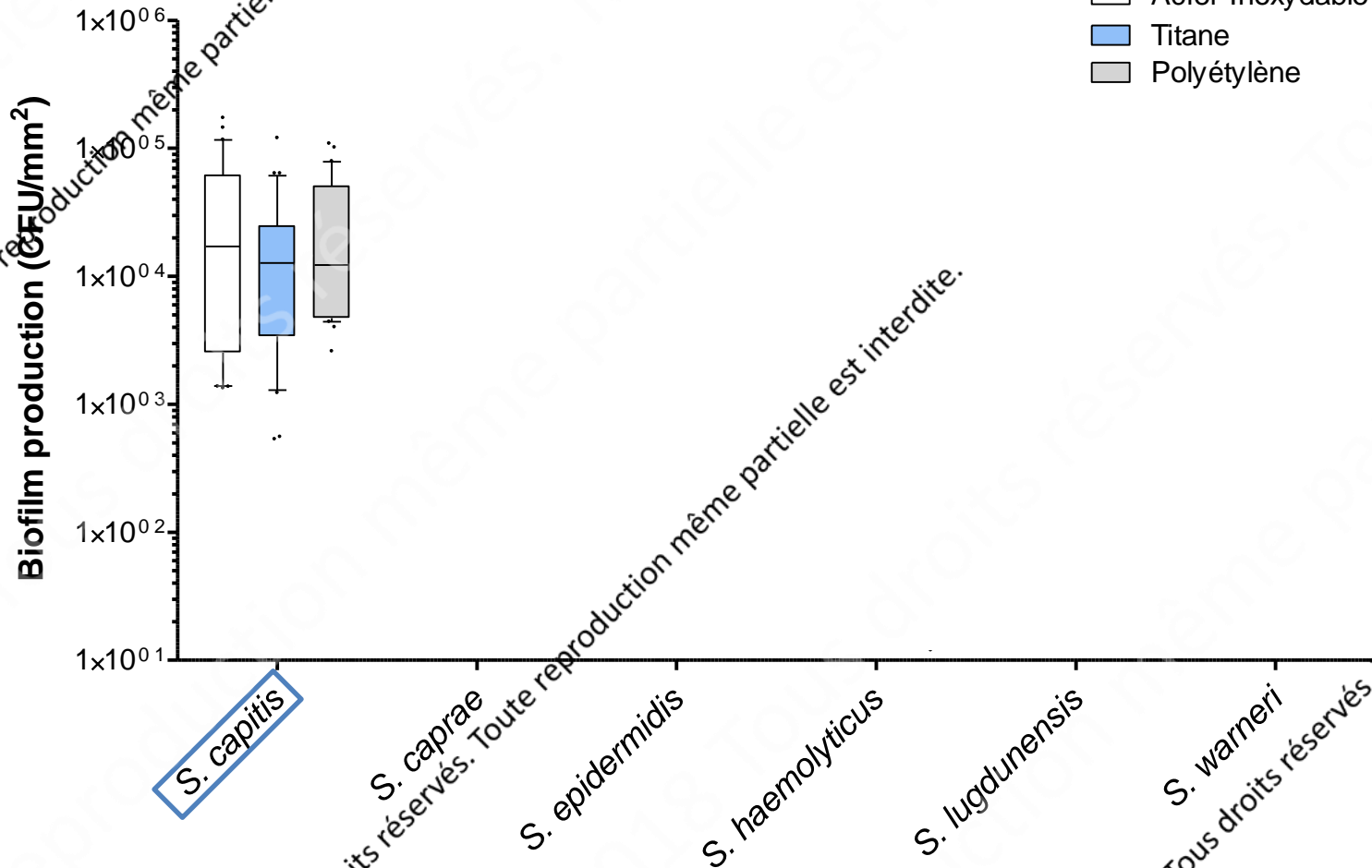
BHI 1% glucose



- **Hétérogénéité intra-espèce**
- Hétérogénéité inter-espèces (Kruskal-Wallis: $p < 0.0001$) -> **Effet espèce dépendant**
S. haemolyticus et *S. warneri* se distinguent des autres espèces
(Test de Dunn's : $p < 0.0001$)

Résultats – Effet du biomatériau?

BHI 1% glucose

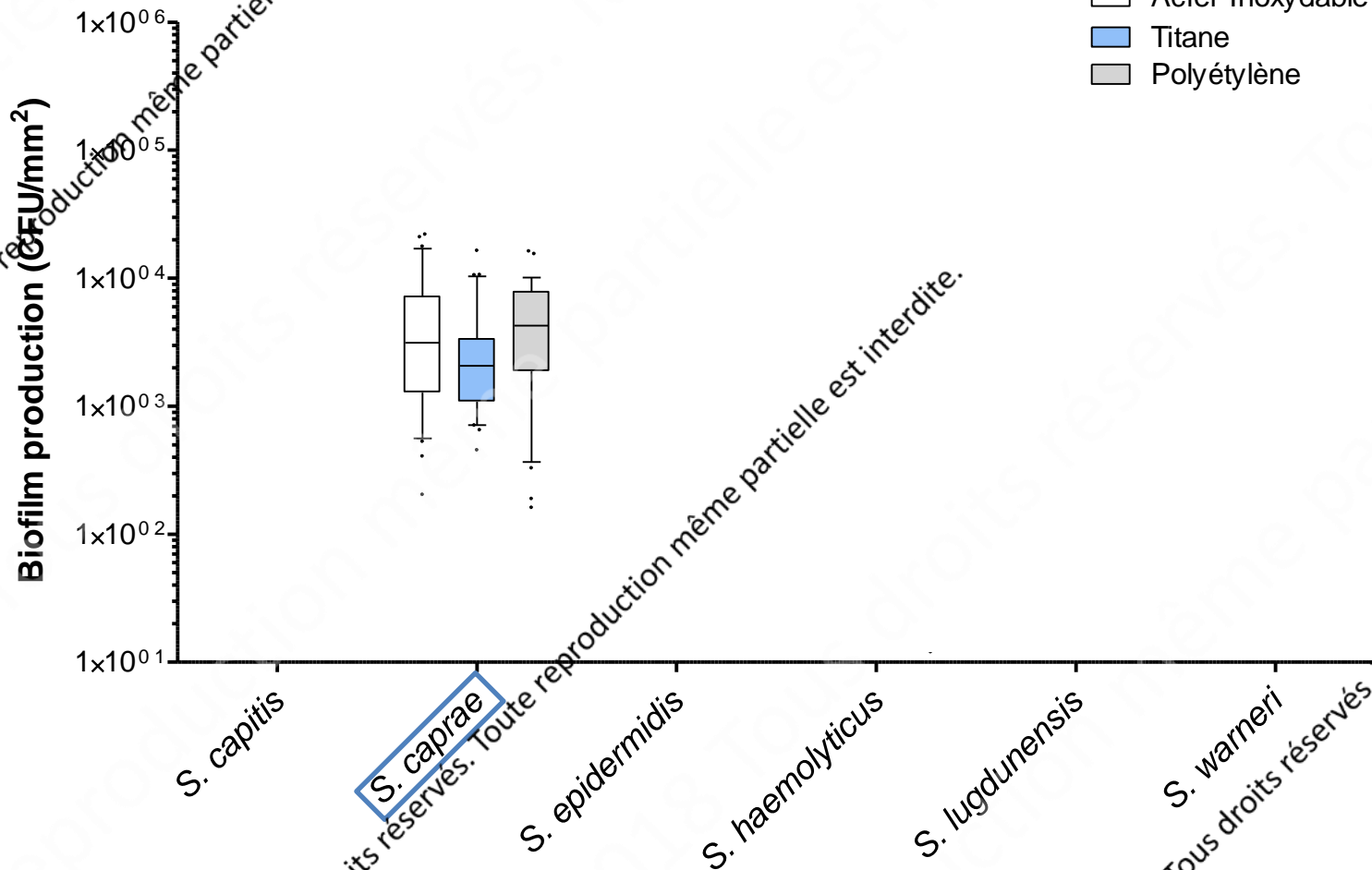


Homogénéité inter-biomatériaux (Kruskal-Wallis: NS)

-> Comportement identique entre les biomatériaux

Résultats – Effet du biomatériau?

BHI 1% glucose

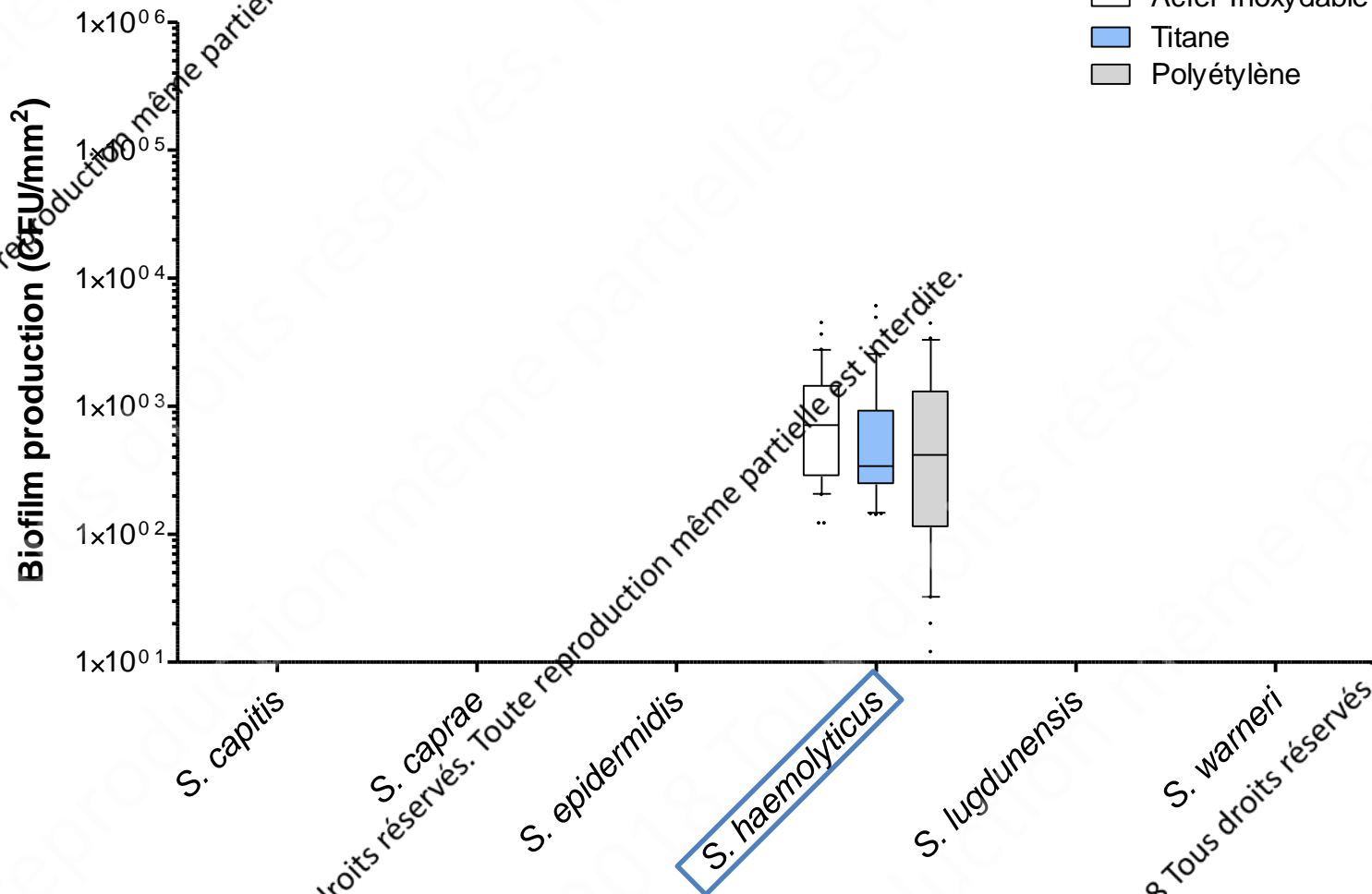


Homogénéité inter-biomatériaux (Kruskal-Wallis: NS)

-> Comportement identique entre les biomatériaux

Résultats – Effet du biomatériau?

BHI 1% glucose

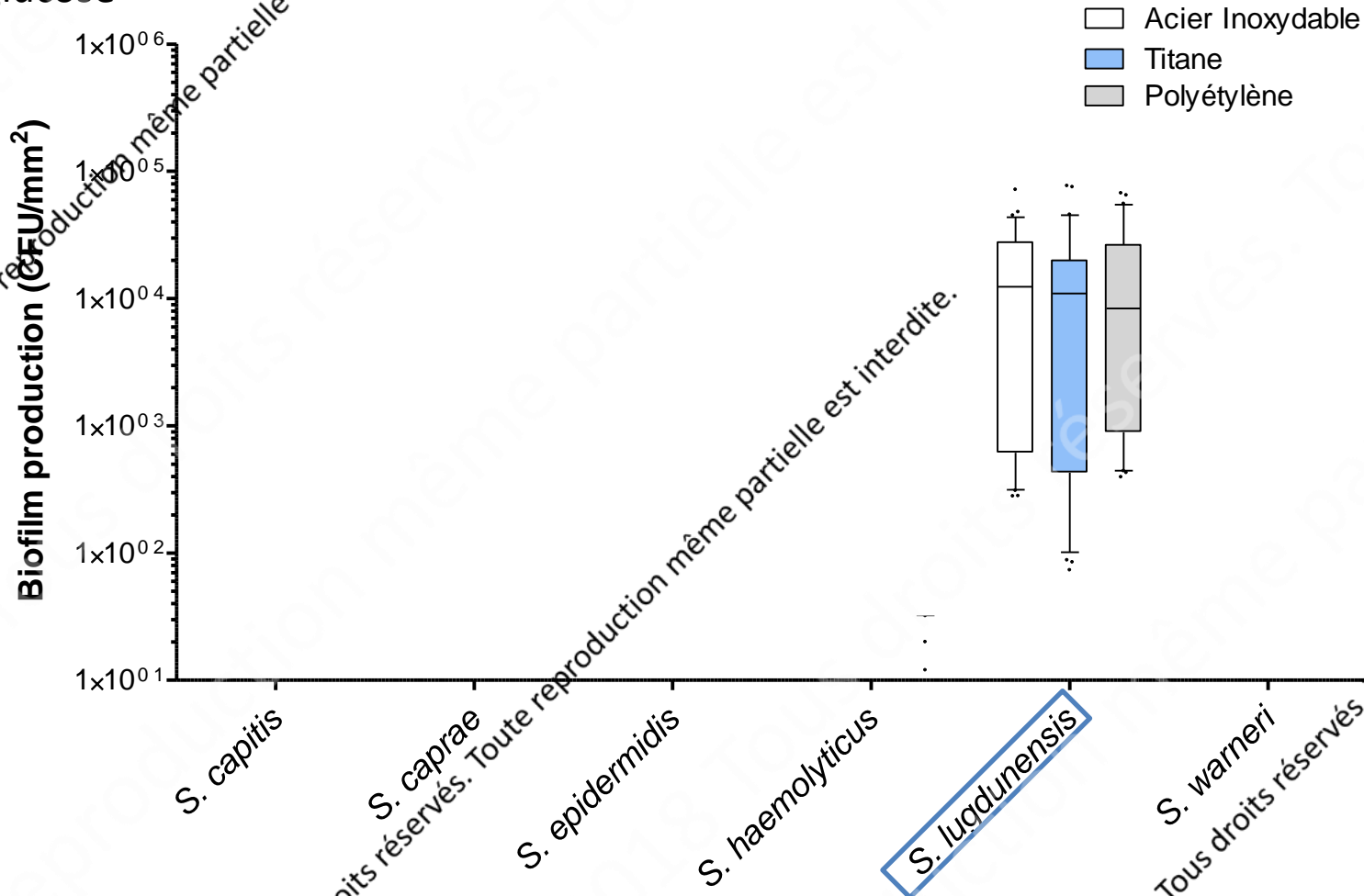


Homogénéité inter-biomatériaux (Kruskal-Wallis: NS)

-> Comportement identique entre les biomatériaux

Résultats – Effet du biomatériau?

BHI 1% glucose



Homogénéité inter-biomatériaux (Kruskal-Wallis: NS)

-> Comportement identique entre les biomatériaux

Résultats – Effet du biomatériau?

BHI 1% glucose

Biofilm production (CFU/mm²)

1x10⁶
1x10⁵
1x10⁴
1x10³
1x10²
1x10¹

S. capitis

S. caprae

S. epidermidis

S. haemolyticus

S. lugdunensis

S. warneri

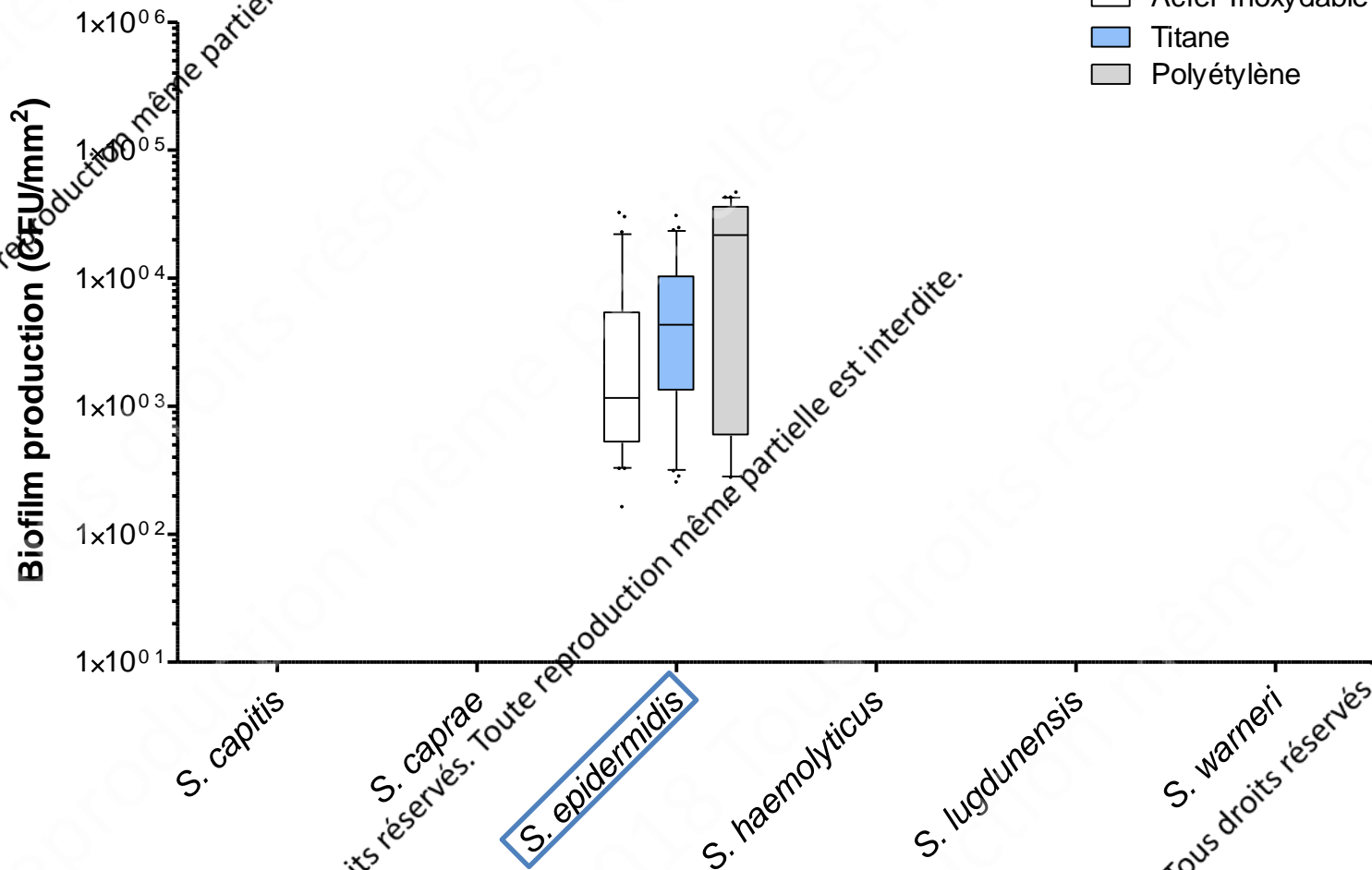
- Acier Inoxydable
- Titane
- Polyéthylène

Homogénéité inter-biomatériaux (Kruskal-Wallis: NS)

-> Comportement identique entre les biomatériaux

Résultats – Effet du biomatériau?

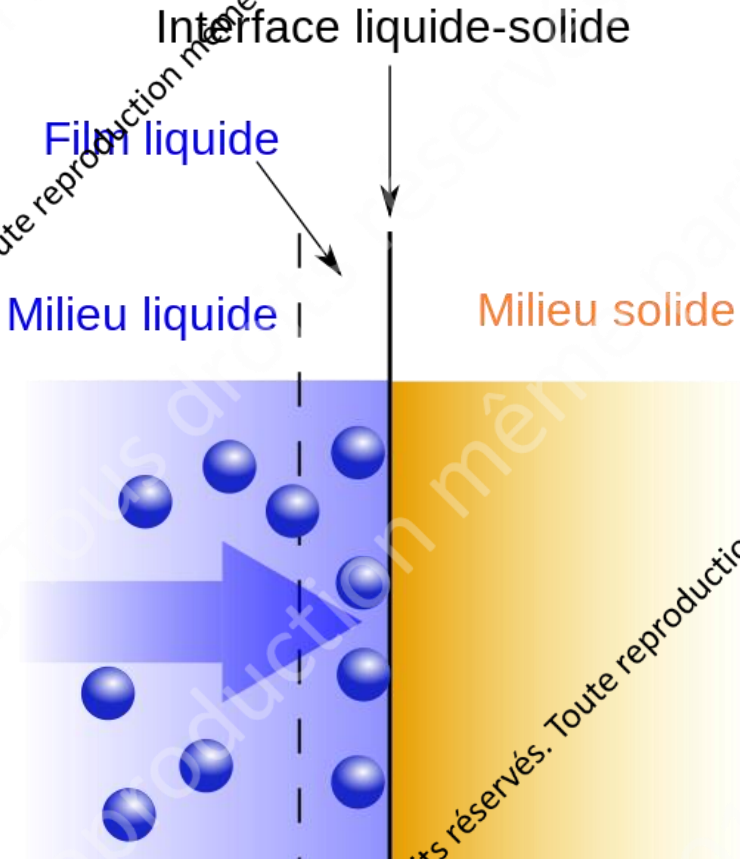
BHI 1% glucose



Hétérogénéité inter-biomatériaux : (Kruskal-Wallis : $p < 0.05$)

S. epidermidis forme plus de biofilm sur polyéthylène (UHMWPE)

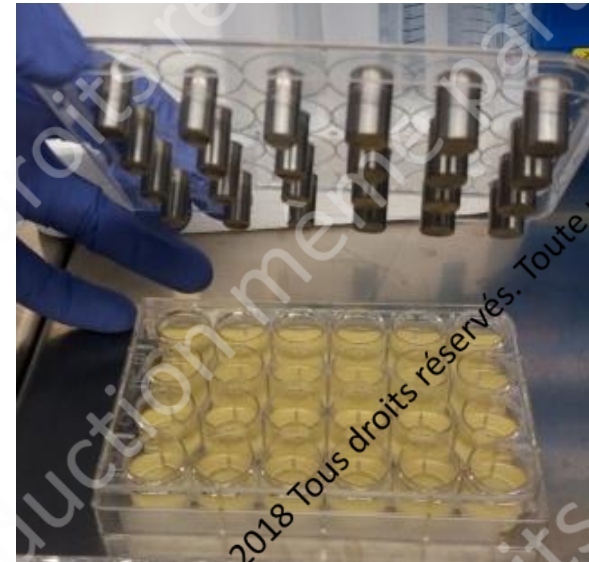
Méthode expérimentale – Coating en sérum humain



Adsorption des protéines de la matrice extracellulaire sur les biomatériaux

Etape initiale supplémentaire :

Pré-incubation en sérum humain



Méthode expérimentale – Coating en sérum humain

Coating sérum humain (25%)

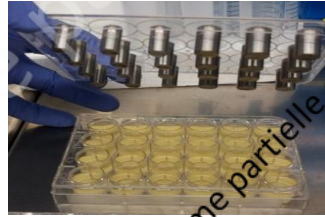
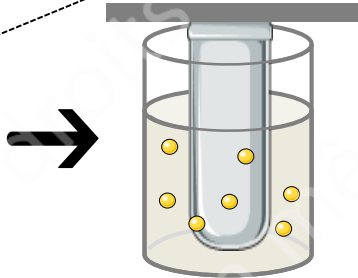
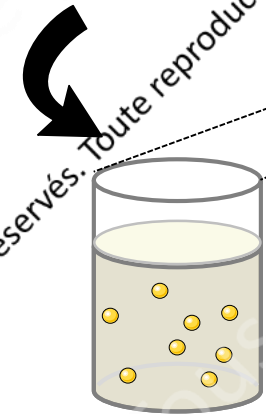
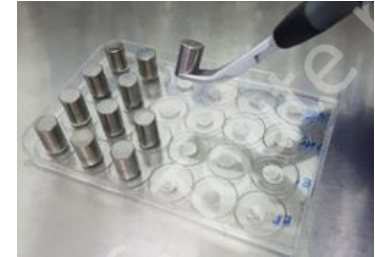
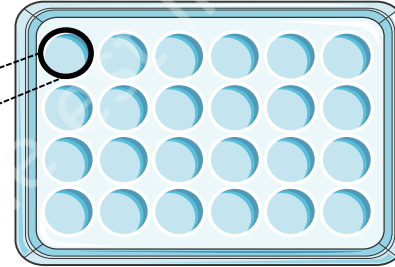
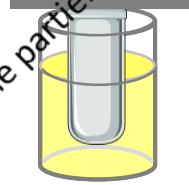


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

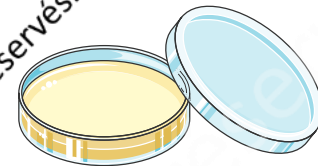
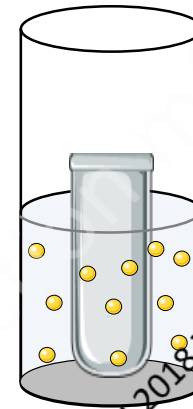
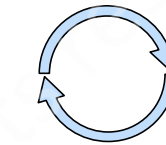
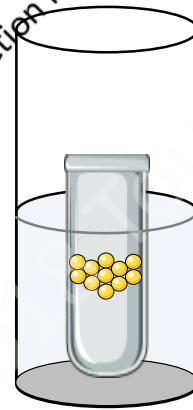
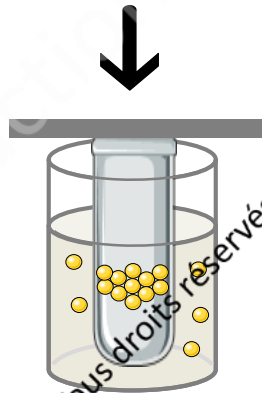
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Méthode expérimentale – Coating en sérum humain

Coating sérum humain (25%)



Inocula bactériens standardisés



CFU/mm²

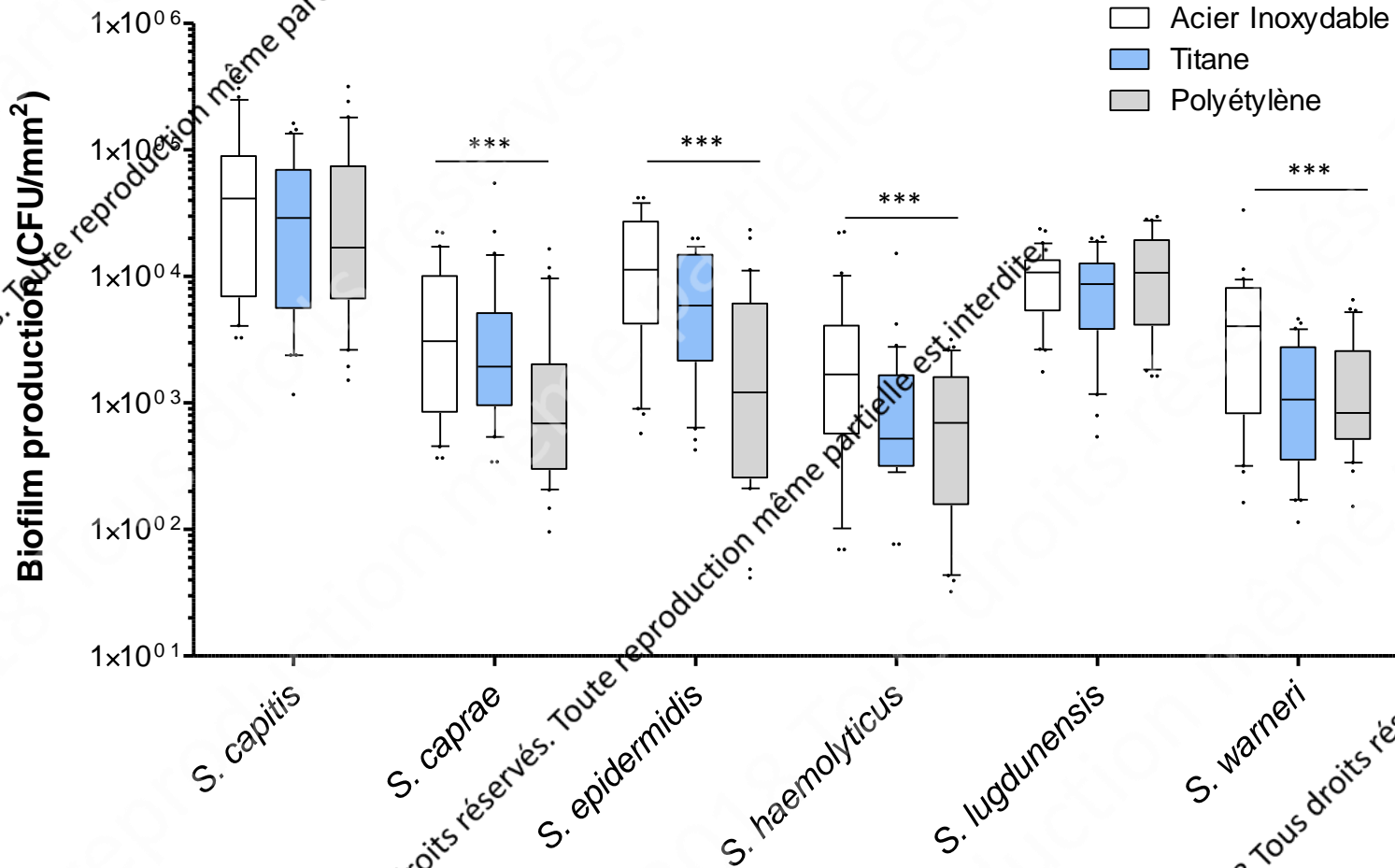
Biofilm mature à 24h

Lavages pour éliminer les bactéries en suspensions

Dispersion du biofilm par sonication

Résultats – Effet du coating en sérum humain?

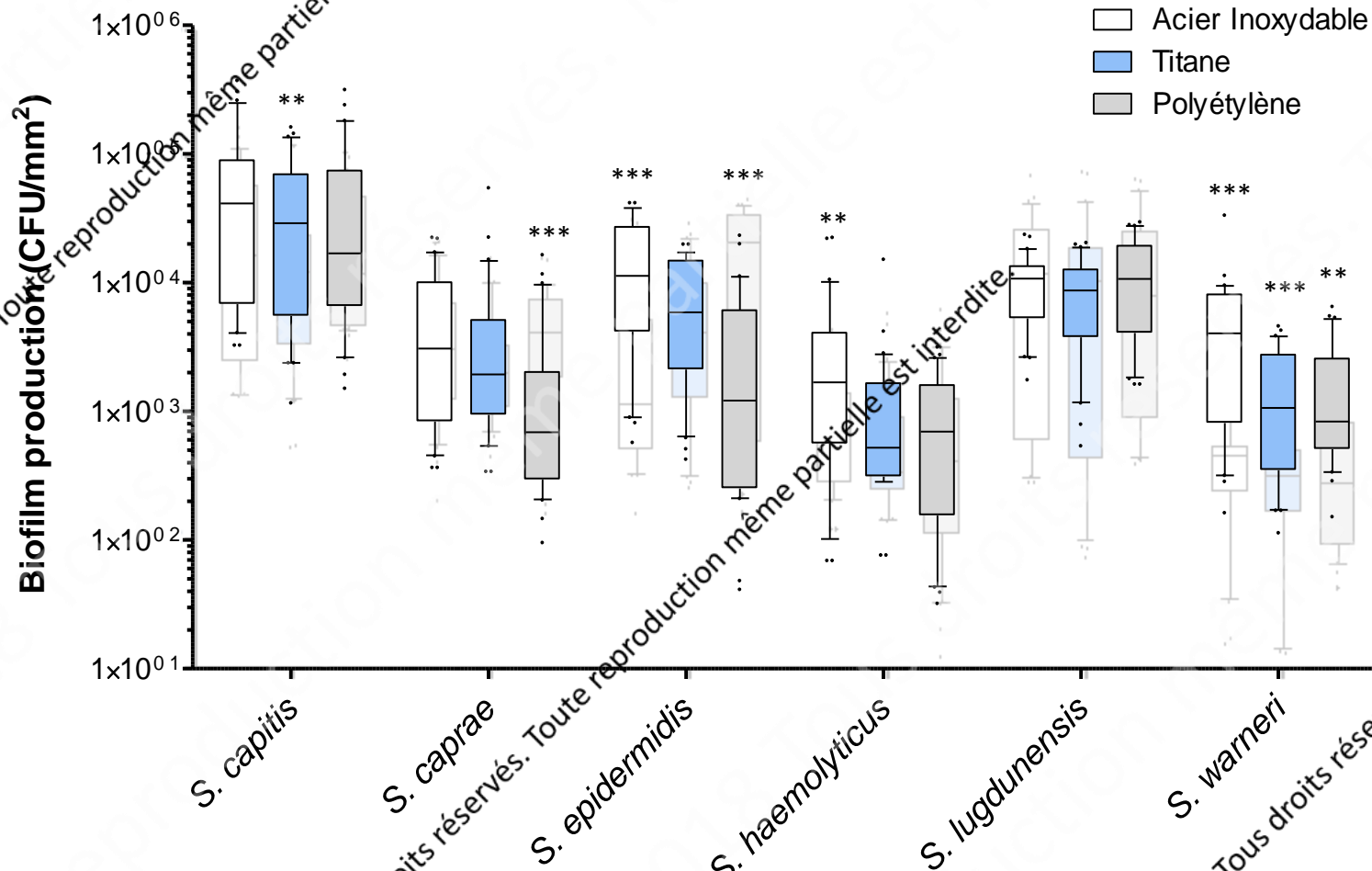
BHI 1% glucose



Hétérogénéité inter-biomatériaux pour 4 espèces (Kruskal-Wallis : $p < 0.0001$)

Résultats – Effet du coating en sérum humain?

BHI 1% glucose



Test de comparaison (Wilcoxon test) : coating sérum / absence de coating

Différences significatives pour certains couples espèces/biomatériaux avec vs. sans coating

➤ Différence systématique chez *S. warneri* avec + de biofilm après coating

Conclusion

Biofilm SCoN sur biomatériaux

1) Y a-t-il des différences de comportement entre les SCoN vis-à-vis du biofilm ?

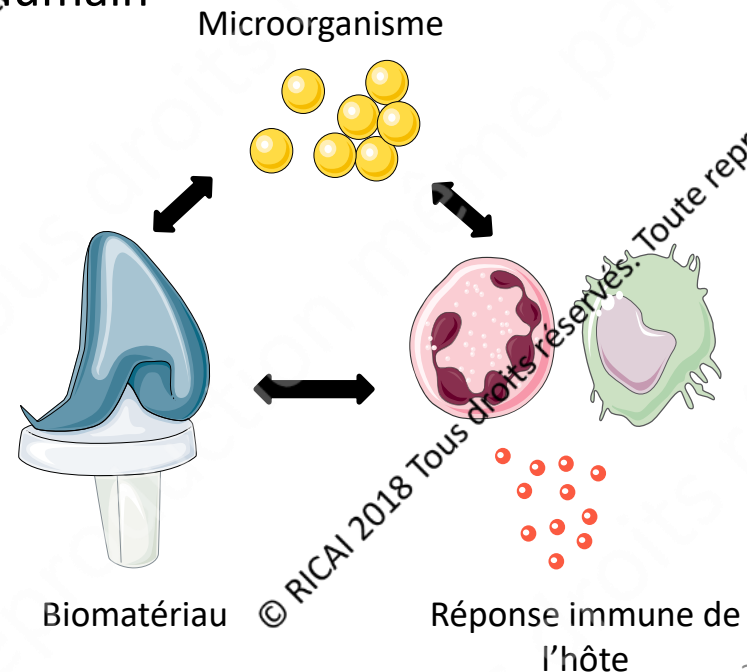
Variabilité entre espèces

2) Y a-t-il un impact des biomatériaux sur la capacité à former un biofilm ?

Variabilité entre les couples espèces / biomatériaux

Variabilité accrue en présence de sérum humain

**Importance en clinique:
Incite à ne plus considérer les
SCoN comme une seule entité
microbiologique**



Merci pour votre attention !



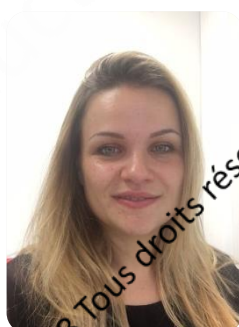
CIRI – INSERM U1111
CNR des Staphylocoques



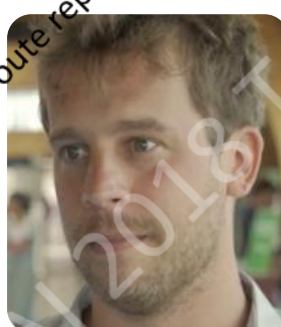
Laboratoires de bactériologie
Hôpital Croix-Rousse



Pr. Frédéric
Laurent



Dr. Sophie
Trouillet-Assant



Dr. Florent
Valour



Pr. Tristan
Ferry

Pr. Francois VANDENESCH
Pr. Gérard LINA
Pr. Jérôme ETIENNE
Dr. Anne TRISTAN
Dr. Karen MOREAU
Dr. Olivier DAUWALDER
Dr. Michèle BES

Dr. Jérôme JOSSE
Dr. Alan DIOT
Dr. Patricia MARTINS-SIMÕES
Dr. Marine BUTIN
Dr. Céline DUPIEUX
Dr. Jason TASSE
William MOUTON
Virginie TAFANI
Alice MONTEN
Andrea CARA
Lélia APAD
Camille KOLENDA
Camille ANDRE
Marie LELOIRE
Marine BERGOT
Alison FAURE
Anaïs BARRAY