

Andréa CARA¹, Mathilde BALLETT^{2,3}, Tristan FERRY^{1,2,4,5}, Frédéric LAURENT^{1,2,3,5}, Jérôme JOSSE^{1,2,5}

¹ CIRI - Centre International de Recherche en Infectiologie, Inserm U1111, CNRS UMR5308, ENS de Lyon, UCBL1, Lyon, France; ² Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon France; ³ Laboratoire de Bactériologie, Institut des Agents Infectieux, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France; ⁴ Service de Maladies Infectieuses, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France; ⁵ Centre Interrégional de Référence des Infections Ostéo-articulaires complexes (CRIOA Lyon), Hospices Civils de Lyon, France

IOA-15

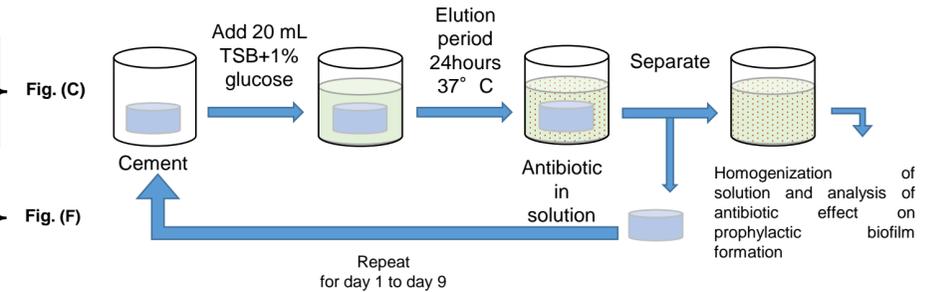
RESUME

Une procédure en deux étapes peut être proposée pour gérer les infections articulaires prothétiques : après le retrait de la prothèse infectée, un espaceur en ciment osseux est inséré pour éviter le remplissage par du tissu fibreux. Après une antibiothérapie adaptée et efficace, l'espaceur est récupéré et une nouvelle prothèse est implantée. Les ciments osseux chargés d'antibiotiques (ALBC) sont fréquemment utilisés dans les procédures en 2 étapes. Ils fournissent une libération locale d'antibiotiques pour prévenir la néoformation du biofilm. Nous proposons ici d'étudier *in vitro* l'effet prophylactique du ciment seul (sans antibiotique), du ciment G (gentamicine), du ciment G + V (gentamicine + vancomycine) et du ciment G + C (gentamicine + clindamycine), afin d'évaluer l'intérêt de combinaison d'antibiotiques dans les ALBC pour prévenir la formation de biofilm.

MATERIEL ET METHODES

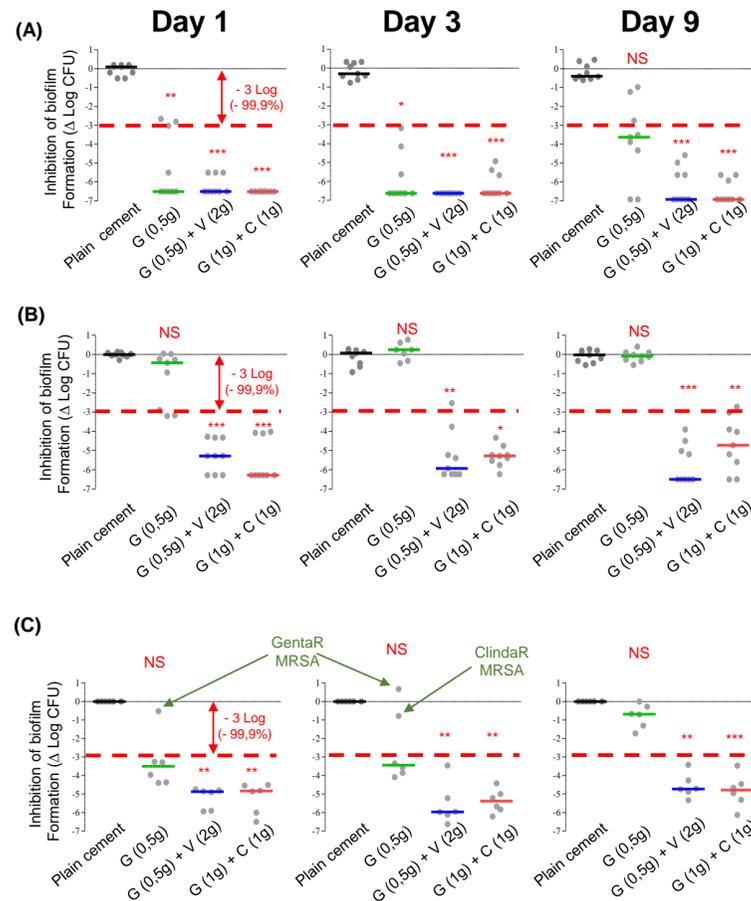
Clinical strains used in this study

| | |
|---|----------|
| Methicillin-susceptible <i>S.aureus</i> (MSSA) | Fig. (A) |
| Methicillin-resistant <i>S.aureus</i> (MRSA) | |
| Gentamicin-resistant MRSA | Fig. (B) |
| Vancomycin-resistant MSSA | |
| Clindamycin-resistant MRSA | |
| Clindamycin-resistant MSSA | |
| <hr/> | |
| Methicillin-susceptible <i>S.epidermidis</i> (MSSE) | |
| Methicillin-resistant <i>S.epidermidis</i> (MRSE) | Fig. (D) |
| Gentamicin-resistant MSSE | Fig. (E) |
| Vancomycin-resistant MRSE | |
| Clindamycin-resistant MRSE | |



Des cylindres normalisés fabriqués à partir de ciment (sans antibiotique), de ciment G (gentamicine), G + V (gentamicine et vancomycine) et de ciment G + C (gentamicine et clindamycine) disponibles dans le commerce ont été incubés dans du bouillon de soja tryptique (TSB) avec 1% de glucose durant 1 à 9 jours à 37 ° C avec un changement de milieu chaque jour. Des biofilms de 6 souches cliniques de *Staphylococcus aureus* et de 5 souches cliniques de *Staphylococcus epidermidis* présentant des susceptibilités spécifiques aux antibiotiques ont été cultivés pendant 24 heures sur une plaque à 96 puits dans des solutions d'éluant résultant de la libération *in vitro* d'ALBC à 1, 3 et 9 jours. Les biofilms ont ensuite été rincés doucement en utilisant notre méthode innovante de rinçage vapeur (Tasse et al., 2018) et le nombre de cellules viables dans le biofilm a été évalué par comptage sur gélose.

S.aureus

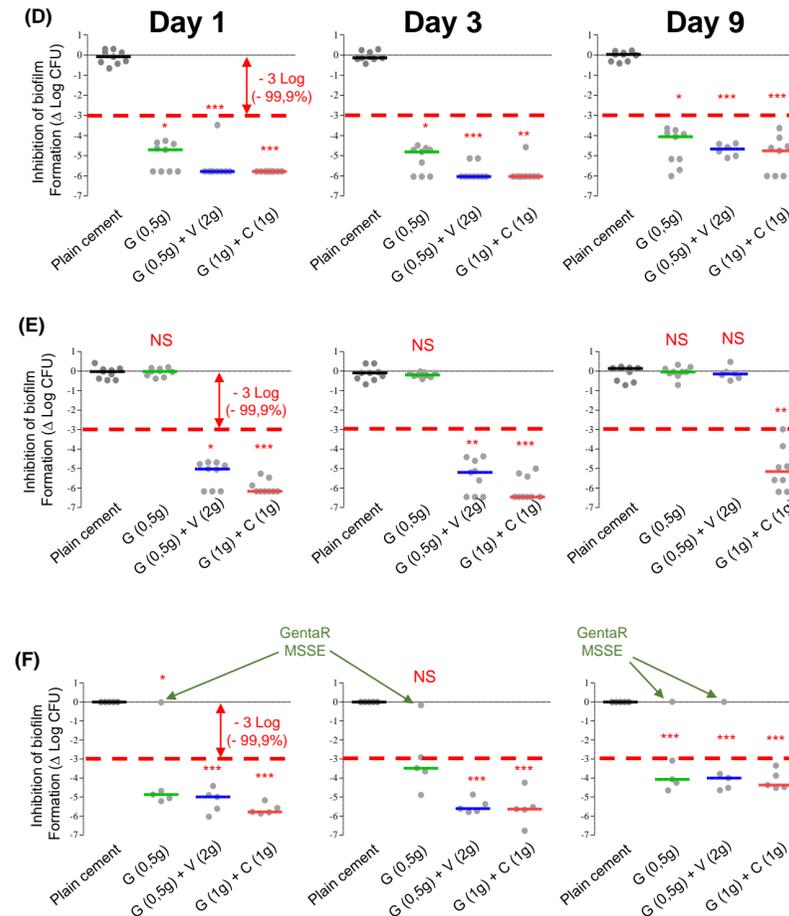


- G + V et G + C diminuent significativement la formation de biofilm à J1, J3 et J9 par rapport au ciment ordinaire.
- G diminue significativement la formation de biofilm au Jour 1, au Jour 3 mais pas au Jour 9
- Les combinaisons d'antibiotiques semblent plus efficaces que la gentamicine seule contre la formation de biofilm à MSSA au jour 9

- G + V et G + C diminuent significativement la formation de biofilm à J1, J3 et J9 par rapport au ciment ordinaire.
- G n'est pas efficace contre la formation de biofilm de la souche MRSA GentaR
- Les combinaisons d'antibiotiques semblent plus efficaces que la gentamicine seule contre la formation de biofilm de la souche MRSA GentaR

- Effet anti-biofilm significatif pour G + V et G + C au jour 1, 3 et 9
- G n'a eu aucun effet anti-biofilm contre toutes les souches de *S. aureus*
- G + V et G + C conservent leur effet anti-biofilm contre le MRSA de GentaR et contre le MRSA de ClindaR (qui devient tolérante à la gentamicine au jour 9)

S.epidermidis



- G, G + V et G + C diminuent significativement la formation de biofilms à J1, J3 et J9 par rapport au ciment seul
- Aucun effet anti-biofilm acquis pour les combinaisons d'antibiotiques par rapport à la Gentamicine seule

- G + V et G + C diminuent significativement la formation de biofilm à J1 et J3 par rapport au ciment seul
- G + C conserve son effet anti-biofilm même à J9
- Pas d'effet anti-biofilm pour G
- Les combinaisons d'antibiotiques (en particulier le G + C) sont plus efficaces que la gentamicine seule

- Effet anti-biofilm significatif pour G, G + V et G + C à J1, J3 et J9
- Les combinaisons d'antibiotiques semblent plus efficaces que la gentamicine seule contre la souche MSSE GentaR
- G + C conserve son effet anti-biofilm contre la souche MSSE GentaR (qui devient tolérante à la vancomycine au jour 9)

Effet des ALBC sur (A) la formation de biofilm de MSSA, (B) la formation de biofilm de MRSA résistante à la gentamicine, (C) la formation de biofilm de *S. aureus* (toutes les souches fusionnées), (D) la formation de biofilm de MRSE, (E) la formation de biofilm de MSSE résistante à la gentamicine et (F) la formation de biofilm de *S. epidermidis* (toutes les souches fusionnées) Trois expériences indépendantes en triplicat pour chaque condition: une souche (9 valeurs) pour (A) (B) (D) et (E) et six et cinq souches (une moyenne par souche) pour (C) et (F) respectivement, * signifie $p < 0,05$ par rapport au ciment seul, test de Kruskal-Wallis avec test post-hoc de Dunn.

CONCLUSION

Nos résultats *in vitro* suggèrent que l'association de la gentamicine à la vancomycine ou à la clindamycine augmente l'effet anti-biofilm prophylactique par rapport aux ALBC chargés de gentamicine seule. Ces découvertes sont particulièrement pertinentes car les ciments G + C et G + V sont toujours efficaces contre les souches résistantes à la gentamicine, à la vancomycine et à la clindamycine. Cette étude a été financée par Heraeus Medical, mais la société n'a pas participé au processus expérimental et à l'analyse des données.