

Fonctionnalisation du titane

Améliorer la protection antibactérienne et l'ostéointégration des implants médicaux



ISIFC 3^{ème} année – PROMO 21

Dulac Térance, Zwingelstein Thibaut, Leblois Thérèse, Humblot Vincent, Figarol Agathe
 Institut Femto Sciences et Techniques, équipe BIND (BioInterfaces aNd Devices)
 15B Avenue des Montboucons, Besançon
 Contact : terence.dulac@edu.univ-fcomte.fr

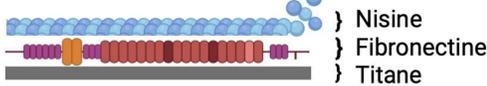
Introduction

La pose d'**implants médicaux** engendre un taux d'échecs de 2 à 5%. Il en résulte des **infections** conduisant jusqu'à **25% de mortalité** dans ces cas. Afin de prévenir cela, les **antibiotiques** sont employés mais posent une problématique : l'**apparition d'antibiorésistance**. Ce projet prévoit le développement d'un **revêtement** favorisant l'**intégration osseuse** et ayant un effet **antibactérien sans utiliser d'antibiotique** ! Pour cela, nous souhaitons développer un microdispositif de type « **lab-on-chip** » où l'on cultiverait des **cellules osseuses** et étudierait leur comportement au sein de notre revêtement.

Matériels et Méthodes

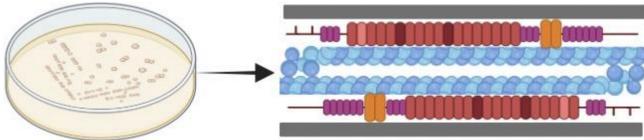
Chimie et bactériologie :

La **fibronectine** est chimisorbée (liée de façon covalente) et la **nisine** est physisorbée (liée faiblement) sur du titane brut.



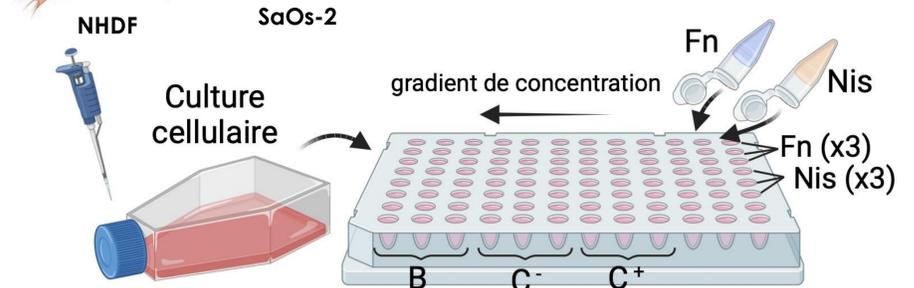
- La **Fibronectine**, appartenant à la matrice extracellulaire, constitue un **support cellulaire** et favorise l'**ostéointégration**.
- La **Nisine**, un des seuls agents antimicrobiens accepté par la FDA, est **relarguée** par la surface pour **éliminer les bactéries**.

- Avec le revêtement testé, on réalise un sandwich au sein duquel on dépose 10 µL de solution bactérienne de **S.aureus**. Puis on disperse le liquide sur une boîte de culture et les colonies sont comptées.



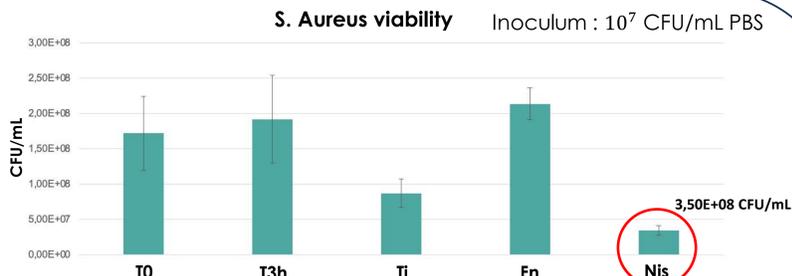
Biologie :

Des **fibroblastes** (NHDF) et des **ostéoblastes** (SaOs-2) ont été cultivés pour étudier la **cytotoxicité** du titane et des molécules du revêtement.

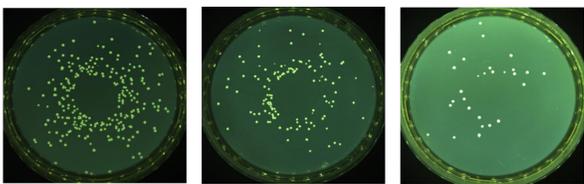


Des tests de **mortalité cellulaire**, basés sur le relargage d'une enzyme (**LDH**) par les cellules lysées, et de **viabilité**, mesurant l'activité mitochondriale traduite par la réduction d'un sel (**MTT**). Ces tests mettent les cellules en présence de Fibronectine et de Nisine.

Résultats



Le **Titane seul** (Ti) induit une réduction de la viabilité de *S. aureus* (-50% après 3 heures d'incubation) / **Ti + Fibronectine** (TiFn) « augmente » la viabilité de 10% / TiFn + Nisine élimine 80% des bactéries après 3 h d'incubation.



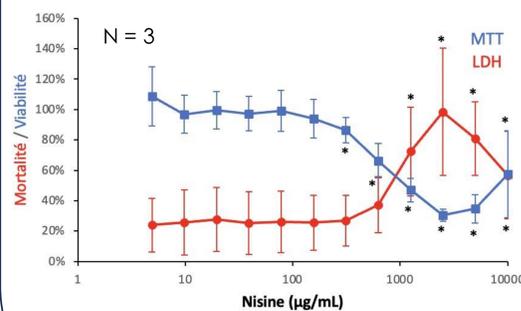
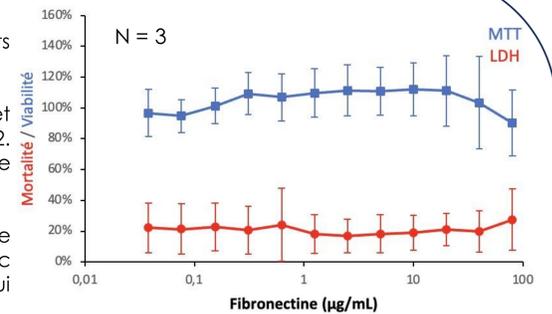
Le nombre de **colonies bactériennes** diminue de **20%** avec la fibronectine, et de **65%** avec l'action de la Nisine, au bout de **3 heures** par rapport au Ti seul.

Les résultats ne sont pas encore optimaux. Par ailleurs des **tests similaires** seront mis en place pour évaluer l'action antimicrobienne du **peptide RGD**, un peptide antimicrobien qui pourrait substituer à la nisine.

Tests faits sur les **SaOs-2**, résultats similaires sur NHDF.

- La **Fn** semble avoir un léger effet bénéfique sur la viabilité des SaOs-2. En effet, la **viabilité moyenne** est de **105%**.

- De plus, la **mortalité moyenne** est de **21%**, inférieure à celle des C⁻ (avec seulement du milieu de culture) qui est à 26%.



- La **Nis** a un **effet significatif sur la viabilité** à partir de **312,5 µg/mL**. La viabilité la plus faible est obtenue pour **2500 µg/mL**.

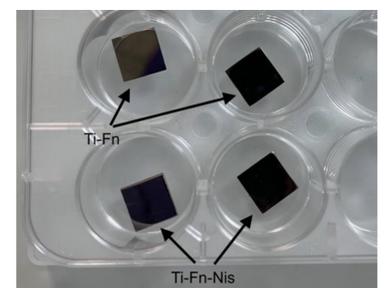
- Par ailleurs, une **mortalité significativement supérieure** apparaît à partir de **1250 µg/mL**.

- Toutefois les **concentrations en Nis** utilisées étaient de **50 µg/mL**.

Des tests similaires sont en cours de réalisation pour évaluer la **toxicité cellulaire du peptide RGD** sur ces deux mêmes types cellulaires.

Conclusion

- ✓ La **fonctionnalisation de surfaces en titane**, à l'aide de fibronectine et de nisine, a été entreprise et a présentée des résultats concluants pour favoriser le développement des cellules (= **ostéointégration**) et éliminer les bactéries (= **effet antibactérien**). Par ailleurs, des évaluations plus poussées restent à conduire concernant le **peptide RGD** qui constitue un agent très prometteur pour la fonctionnalisation.
- Par la suite, le **développement de conditions d'études dynamiques** reste à réaliser pour s'approcher au mieux des **conditions physiologiques des cellules et bactéries**.



Titane fonctionnalisé :