

36^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse

Lundi 12 et mardi 13 décembre 2016
Palais des Congrès de Paris

Physiopathologies des infections ostéo-articulaires liées aux staphylocoques à coagulase-négative : spécificité de l'espèce *S. lugdunensis*

**Y. Maali, L. d'Anthouard, P. Martins-Simões, A. Jammot, A. Monteix, F. Valour, F. Vandenesch, T. Ferry,
F. Laurent, S. Trouillet-Assant**

Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI), Inserm U1111, CNRS UMR5308,
Université Lyon 1, ENS de Lyon

Equipe : Pathogénèse des infections à staphylocoques
Lyon



Introduction

Infections ostéo-articulaires (IOA)

Mortalité (5%) et **morbidité** (40%)

Prise en charge **longue** et **coûteuse**

35 000 IOA/an en France*

➔ **Enjeu majeur de santé publique**

**Coût individuel
&
sociétal**

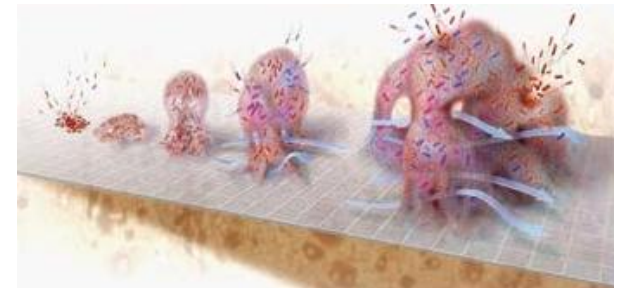
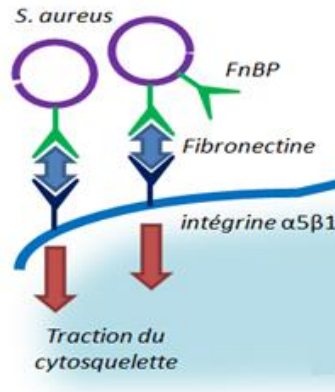
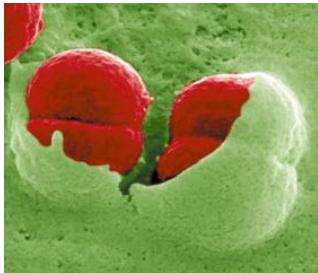
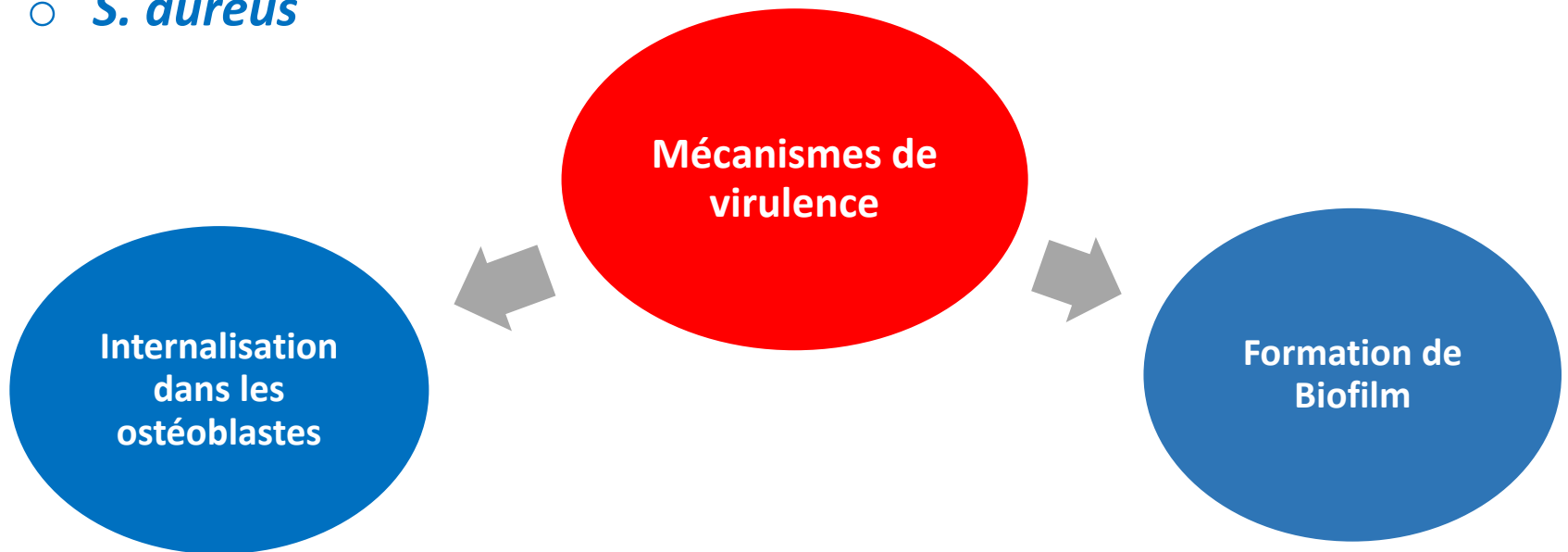


*Grammatico et al., 2012, J Hosp Infect ²

Introduction

Staphylococcus : Première étiologie des IOA

- *S. aureus*



Introduction

Staphylococcus : Première étiologie des IOA

○ **Staphylocoques à Coagulase-négative (SCN)**

S. epidermidis

S. capitis

S. lugdunensis

S. warneri

...



- **Considérés comme une seule entité microbiologique**
- **Prise en charge et traitements uniformes**
- **Mécanismes physiopathologiques peu étudiés**

Quels sont les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les IOA aux SCN ?

- Adapter les prises en charge préventives et curatives des IOA
- Définir de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles



Approche

Recueil - Critères d'inclusions

- Souches **SCN** issues d'IOA monomicrobiennes
- Au minimum 3 prélèvements positifs

S. epidermidis n=5

S. capitis n=5

S. caprae n=5

S. haemolyticus n=3

S. warneri n=5

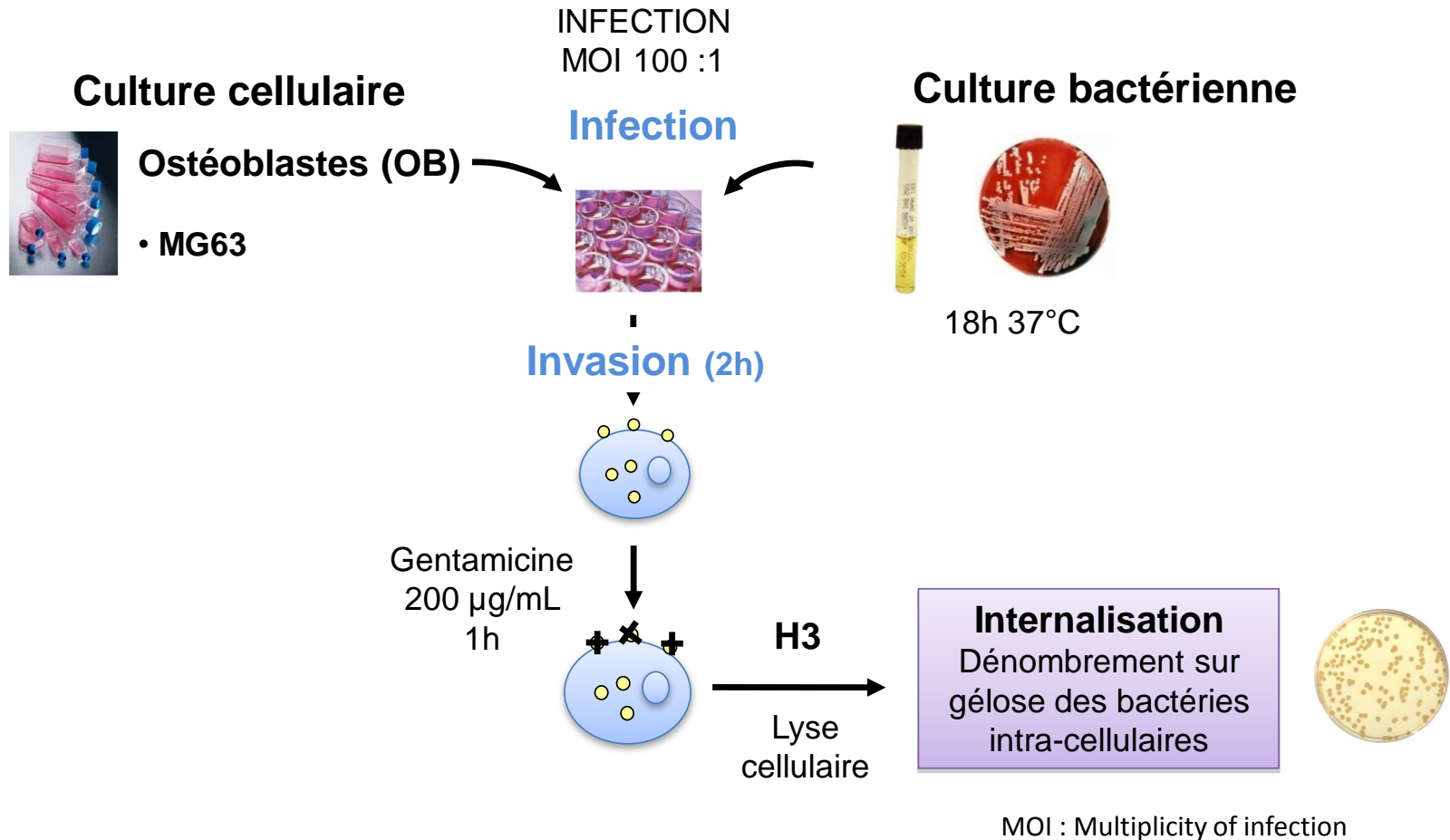
S. lugdunensis n=7

30 souches
+ souches de référence
+ témoins positifs
+ témoins négatifs

- **Internalisation dans les cellules osseuses**
- **Capacité de formation du Biofilm**

Méthode - Invasion intracellulaire

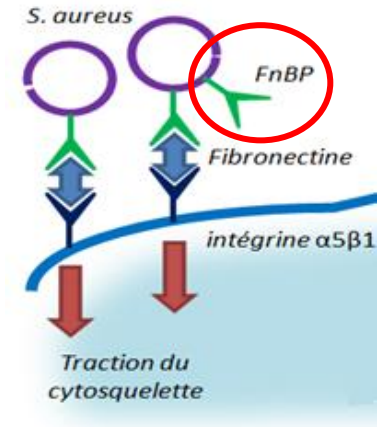
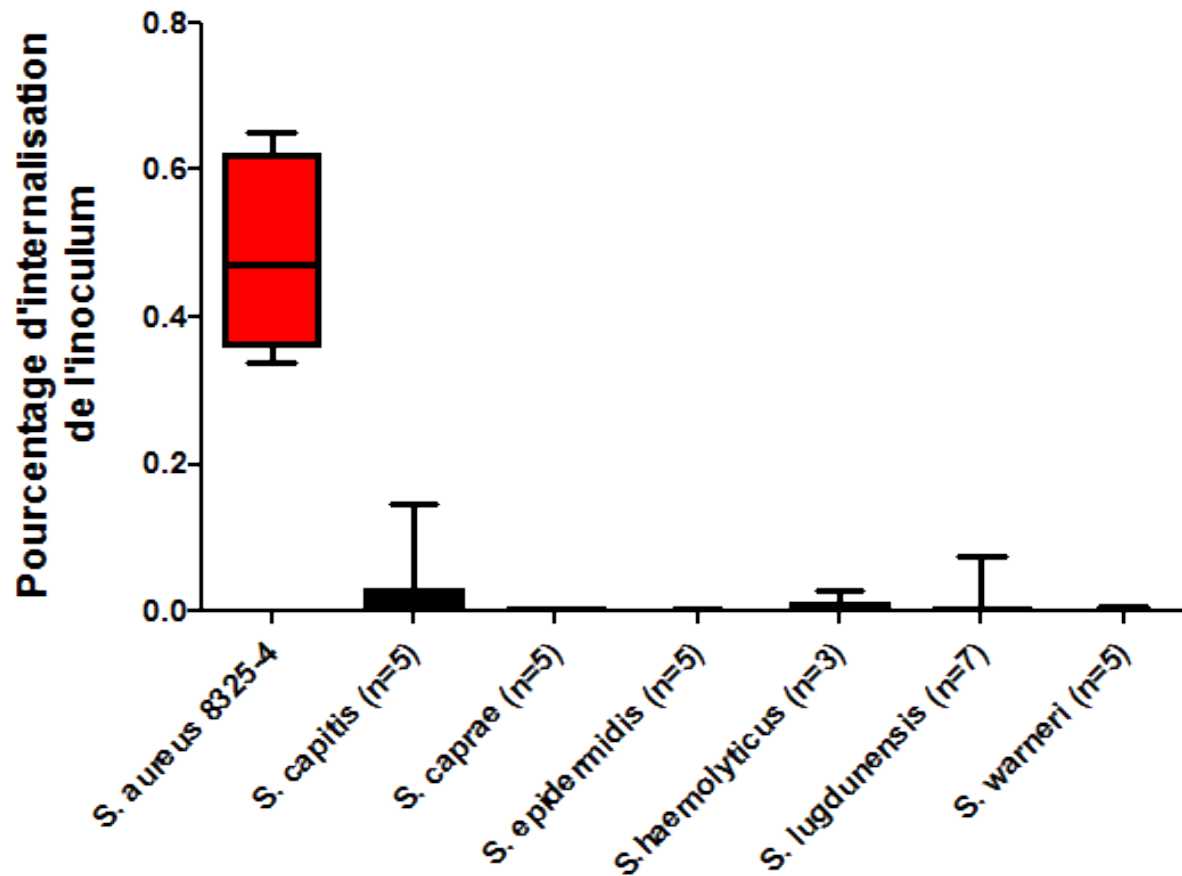
Gentamicin Protection assay (GPA)



Résultats - Invasion intracellulaire

Gentamicin Protection assay

Invasion à 3h post-infection



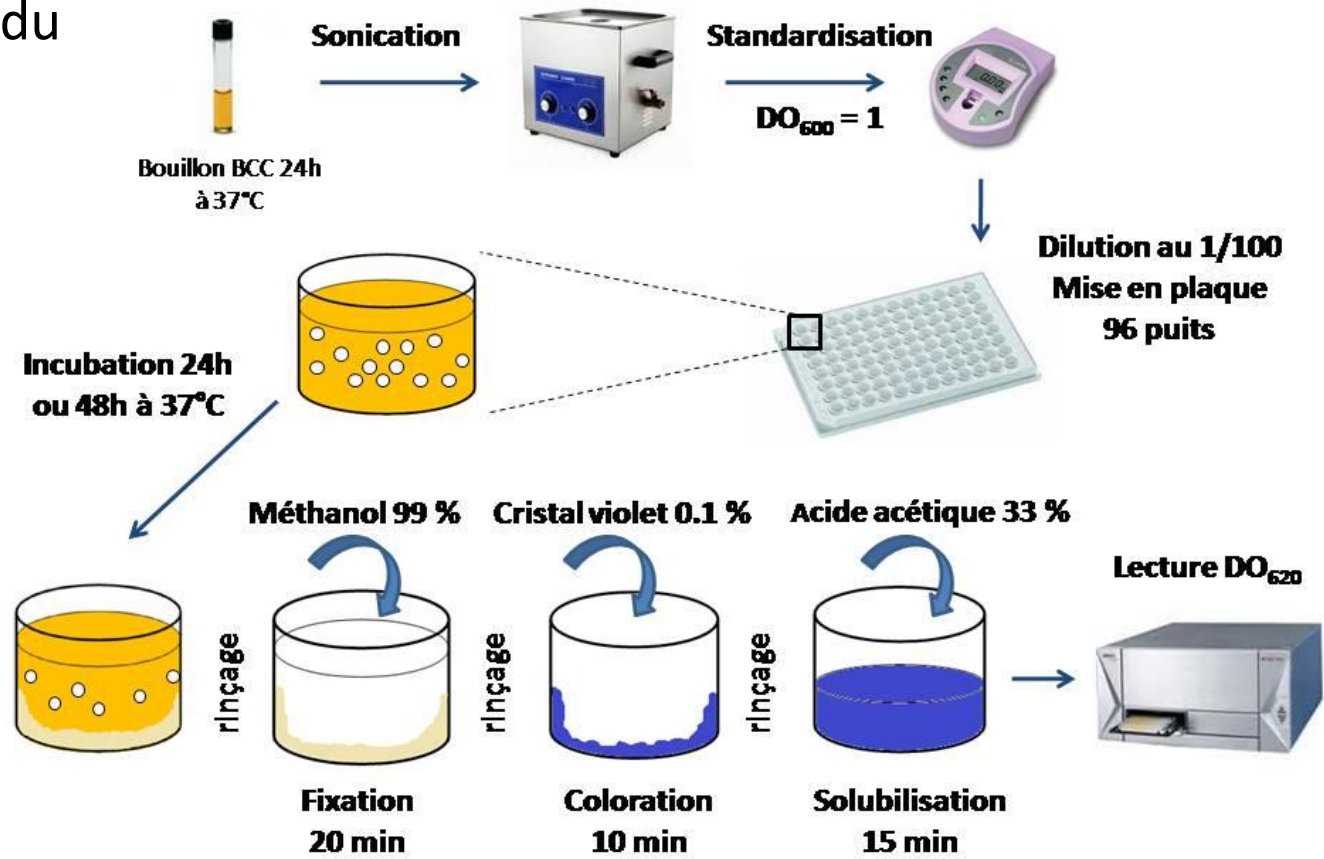
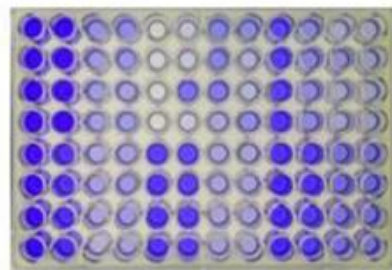
Absence FnBP-like

L'internalisation des bactéries dans les cellules osseuses ne semble pas être un mécanisme impliqué dans les IOA des SCN

Méthode - Biofilm

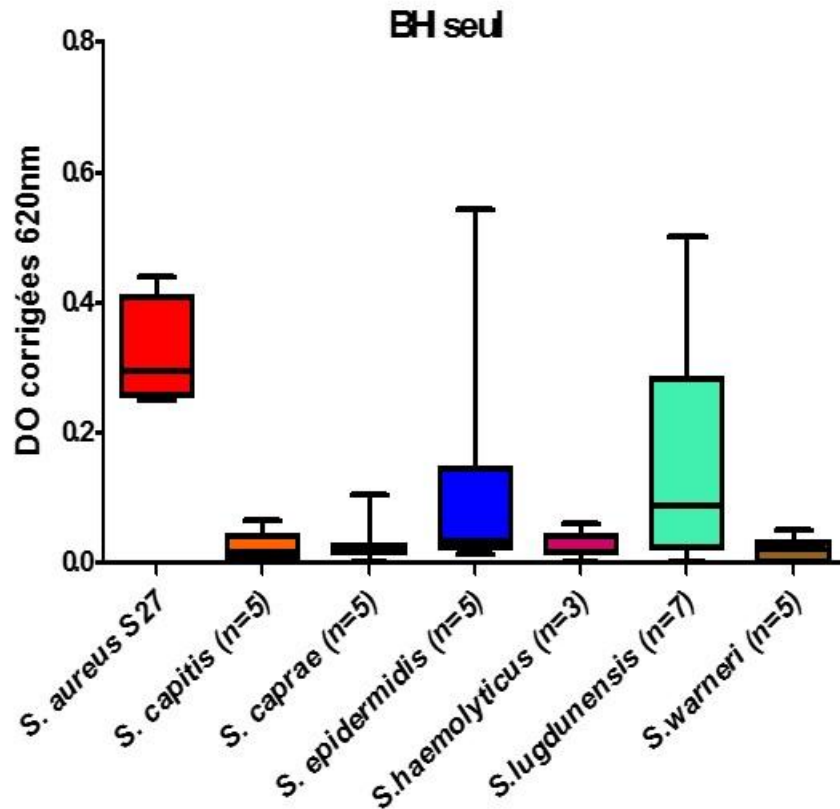
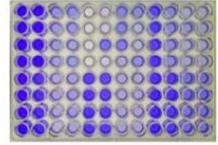
Technique de coloration au cristal violet

Mesure quantitative du biofilm mature



Résultats - Biofilm

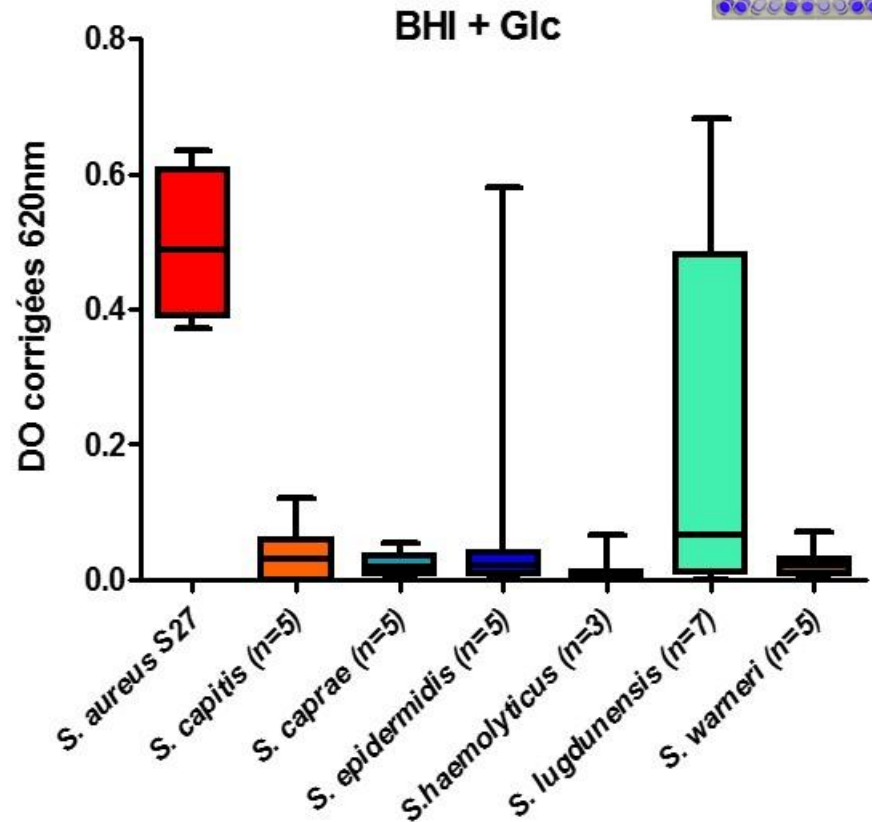
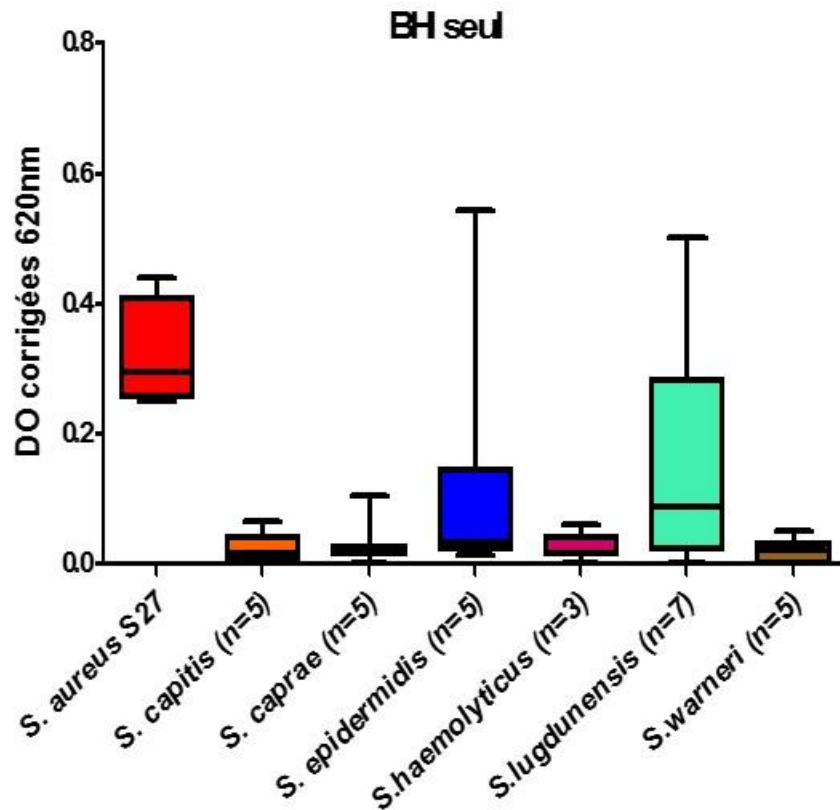
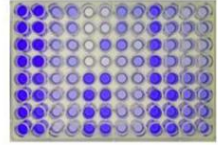
Méthode: Etude du biofilm à 24h par coloration au cristal violet



- *S. lugdunensis* forme un **biofilm** à 24h

Résultats - Biofilm

Méthode: Etude du biofilm à 24h par coloration au cristal violet

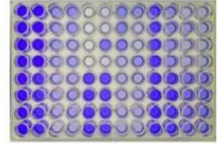


- *S. lugdunensis* forme un **biofilm** à 24h
- Le glucose ne semble pas être un activateur de la formation de biofilm
- **Variabilité intra-espèce** au sein de *S. lugdunensis*

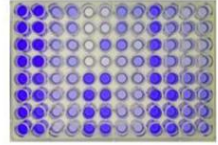
Résultats – Biofilm *S. lugdunensis*

1) Biofilm chez *S. lugdunensis* caractéristique des souches d'IOA ?

- Intégration de **10** souches de **portages nasal** de *S. lugdunensis*

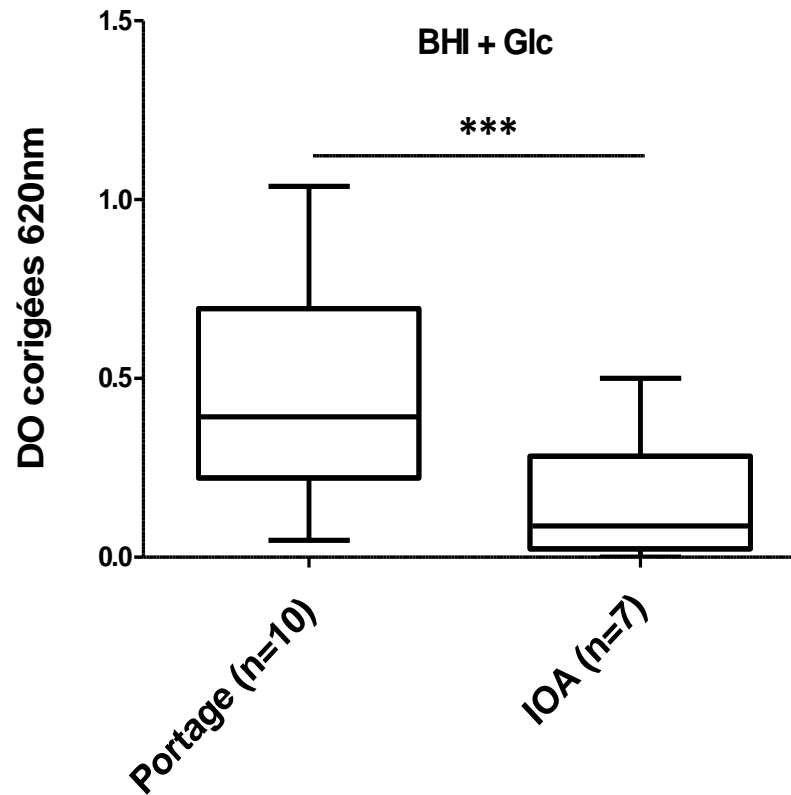


Résultats – Biofilm *S. lugdunensis*



1) Biofilm chez *S. lugdunensis* caractéristique des souches d'IOA ?

- Intégration de **10** souches de **portages nasal** de *S. lugdunensis*



Biofilm souches de portage significativement supérieur au biofilm souches cliniques

2) Variabilités intra-espèce expliquées par des variabilités génétiques ?

MLST (Multilocus sequence typing)



Multi-Virulence-Locus Sequence Typing of *Staphylococcus lugdunensis* Generates Results Consistent with a Clonal Population Structure and Is Reliable for Epidemiological Typing

Jennifer Didi,^a Ludovic Lemée,^{a,b} Laure Gibert,^{a,b} Jean-Louis Pons,^c Martine Pestel-Caron^{a,b}

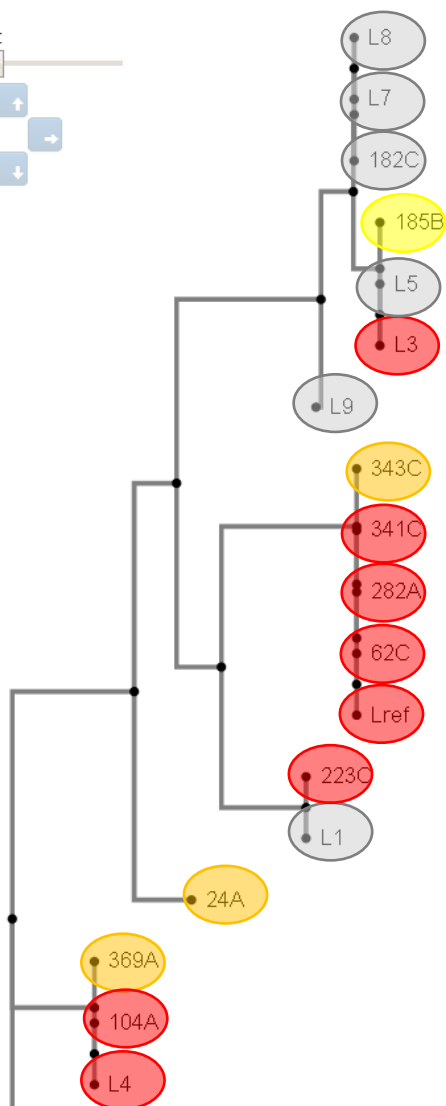
- *aroE*
- *dat*
- *ddl*
- *gmk*
- *ldh*
- *recA*
- *yqiL*

Base de données MLST *S. lugdunensis*
<http://bigsd.b.pasteur.fr/staphlugdunensis/>

Détermination des **Sequence Type (ST)** pour chaque souche (Portages et IOA)

Résultats – Biofilm *S. lugdunensis*

Zoom:







Origine **ST**

IOA	41
IOA	41
Portage	41
Portage	44
IOA	44
IOA	44
IOA	25
Portage	27
Portage	27
Portage	27
Portage	27
Portage	27
Portage	29
IOA	29
Portage	46
Portage	38
Portage	38
IOA	38

Arbre de phylogénie basé sur les séquences de 7 gènes de ménages

Classification *Christensen et al, 1985*

-  Non producteur
-  Faiblement producteur
-  Moyen producteur
-  Fort producteur

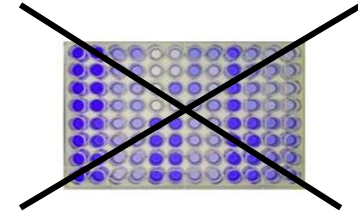
Corrélation entre le placement dans l'arbre et le niveau de production de biofilm

SVG

0.01

Méthode – Biomatériaux

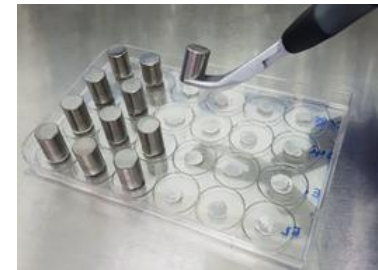
- **CoNS** impliqués dans les **IOA sur matériels**
 - **Inox**
 - **Titane**



- Adaptation du modèle *in vitro* d'étude du biofilm



Systeme calgary

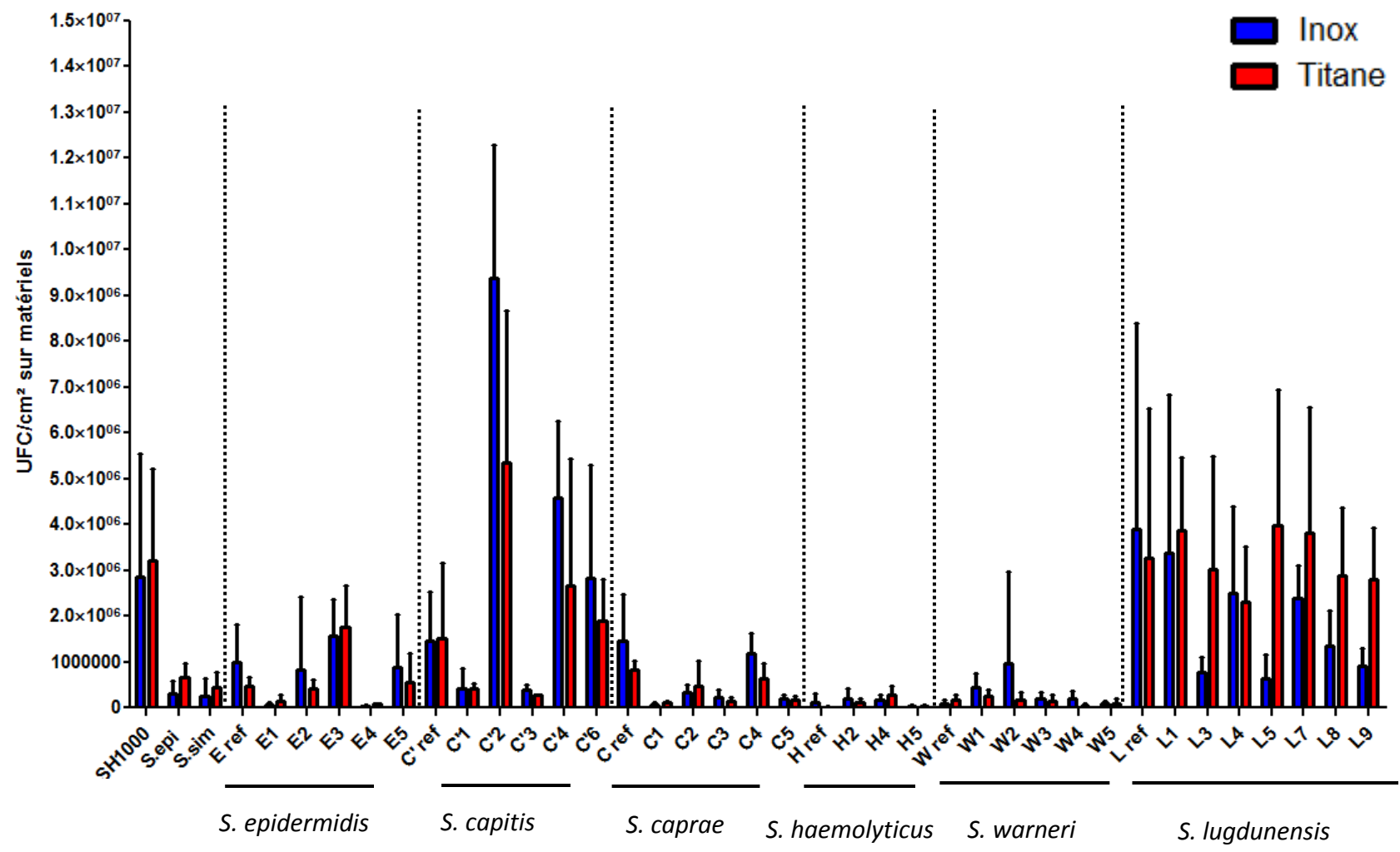


Systeme calgary sur biomateriaux

- **Plus proche** des conditions **physiopathologiques**

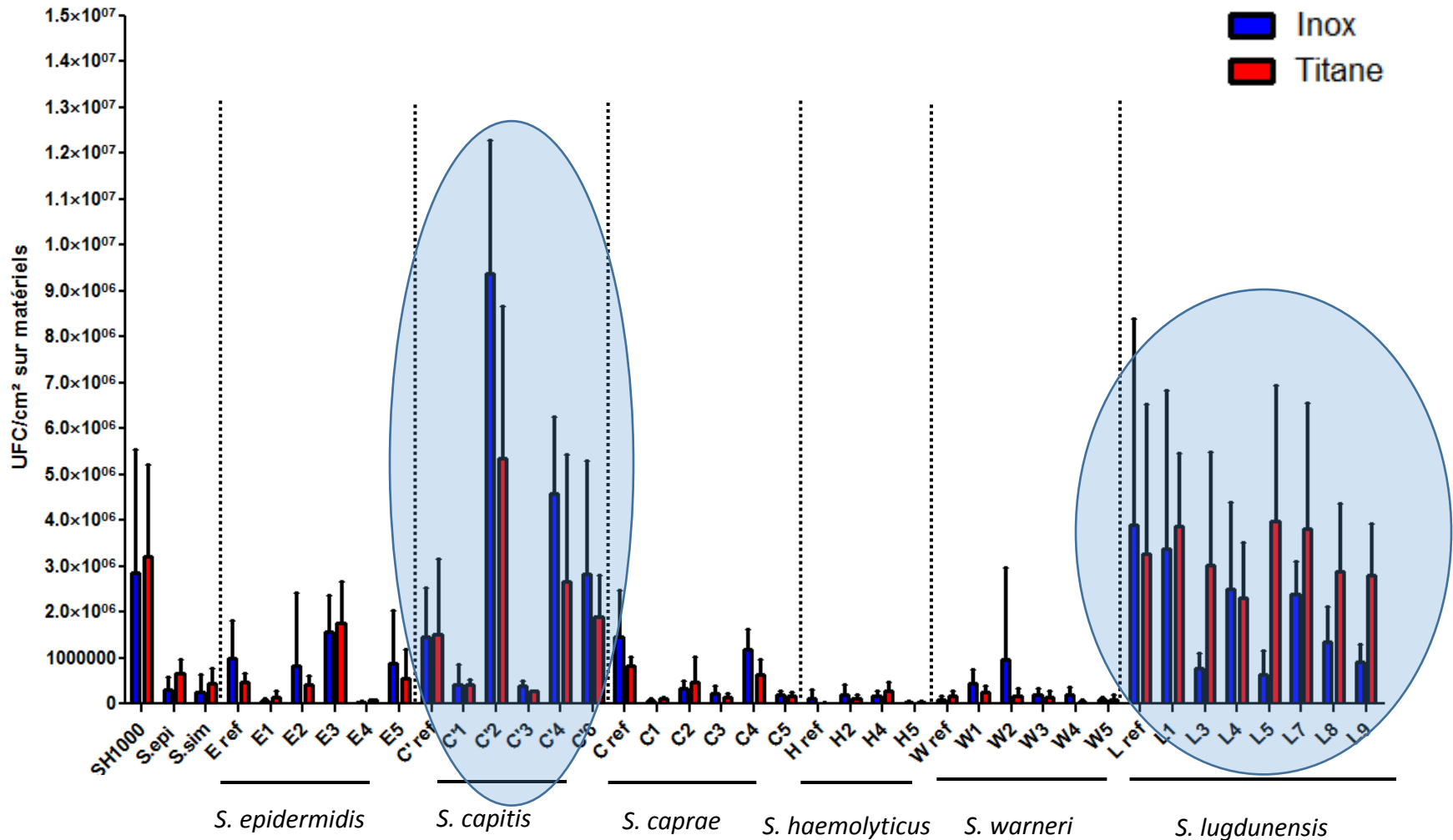
Résultats – Biomatériaux

Biofilm sur matériels à 24h d'incubation



Résultats – Biomatériaux

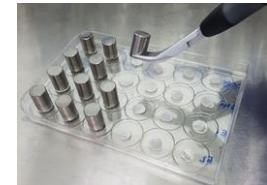
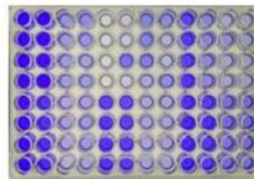
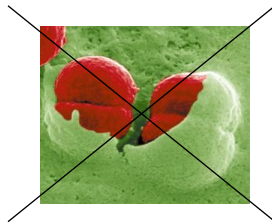
Biofilm sur matériels à 24h d'incubation



- *S. lugdunensis* et *S. capitis* forment un biofilm sur matériels
- Préférences selon le matériel

Conclusion

Espèces	Internalisation	Biofilm sur plastique	Biofilm sur matériels
<i>S. capitis</i>	∅	∅	+
<i>S. caprae</i>	∅	∅	∅
<i>S. epidermidis</i>	∅	∅	∅
<i>S. lugdunensis</i>	∅	+	+
<i>S. haemolyticus</i>	∅	∅	∅
<i>S. warneri</i>	∅	∅	∅



Nécessité de **mimer** au mieux les conditions **physiopathologiques**

- **Facteur surface** (biofilm sur le polyéthylène)
- **Facteur sérum** (pré-incubation des matériaux avec du sérum)



**CIRI – INSERM U1111
CNR des Staphylocoques**



**Laboratoires de bactériologie
Hôpital Croix-Rousse et GHE**



Pr. Francois Vandenesch
Pr. Jérôme Etienne
Pr. Gérard Lina
Dr. Anne TRISTAN
Dr. Olivier DAUWALDER
Dr. Oana DUMITRESCU
Dr. Hélène MEUGNIER
Dr. Yvonne BENITO
Dr. Elisabeth HODILLE
Dr. Michèle BES
Cédric BADIOU



Pr. Frédéric LAURENT



Dr. Sophie ASSANT



P. Martins-Simoes

Jason TASSE
William MOUTON
Marine BUTIN
Virginie TAFANI
Alice MONTEIX
Andrea CARA
Lélia ABAD
Régis VILLET
Jérôme JOSSE
Pierre Antoine CLERC



Dr. Florent VALOUR



Pr. Tristan FERRY

**Dr. Céline DUPIEUX
Dr. Chantal ROURE**

**Dr. Hélène SALORD
Dr. Sylvestre TIGAUD**

**Christine COURTIER
Christine GARDON
Caroline BOUYEYRON**

Classement selon *Christensen et al.* (1985)

- Détermination du cut-off (ODc)

Moyenne de la Σ des DO des contrôles négatifs + 3 x l'écart type (SD)

- Comparaison du cut-off avec les moyennes des OD de chaque souches :

$$OD \leq ODc$$

Non producteur

$$ODc < OD \leq 2 \times ODc$$

Faiblement producteur

$$2 \times ODc < OD \leq 4 \times ODc$$

Modérément producteur

$$4 \times ODc < OD$$

Fortement producteur