

# Souches de *Staphylococcus aureus* intermédiaire à la vancomycine (VISA) : adaptées pour devenir chroniques ?

Sophie Trouillet-Assant, Virginie Tafani, Florent Valour, David Cameron,  
Anton Peleg, Tristan Ferry, Frédéric Laurent.

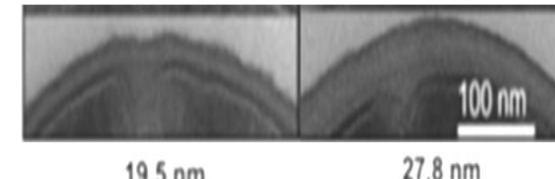
Institut des agents infectieux - Hôpital Nord, Hospices Civils de Lyon  
Centre National de Reference des Staphylocoques, Lyon  
Centre International de Recherche en Infectiologie - INSERM U1111, Lyon  
Monash University, Melbourne, VIC Australia



# *S. aureus* : problème avec souches VISA

- ✓ Utilisation intensive antibiotique → Pression de sélection
- ✓ 1961: MSSA (Méticilline Sensible SA) → Résistance
- ✓ 1997: VSSA (Vancomycine Sensible SA) → MRSA (Méticilline Résistant SA)
- ✓ 1997: VSSA (Vancomycine Sensible SA) → VISA (Vancomycine Intermediate SA)

VSSA



## ✓ Caractérisation des souches VISA vs. VSSA

- Phénotypique: **épaississement de la paroi**
- Génotypique: **Accumulation de mutations not<sup>t</sup> dans divers locus régulateurs (*yycl* et *stp1*)**
- Clinique: **Echecs thérapeutiques, bactériémies persistantes et hospitalisations prolongées**  
**MAIS** - pas d'instabilité clinique aiguë  
- pas plus de mortalité  
→ **Infections chroniques**

# De VSSA à VISA : Changement de résistance...et virulence?

Hypothèse: les diverses mutations qui apparaissent lors du switch VSSA-VISA pourraient également impacter la pathogénie

Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?

- **3 paires de souches cliniques VSSA-VISA**

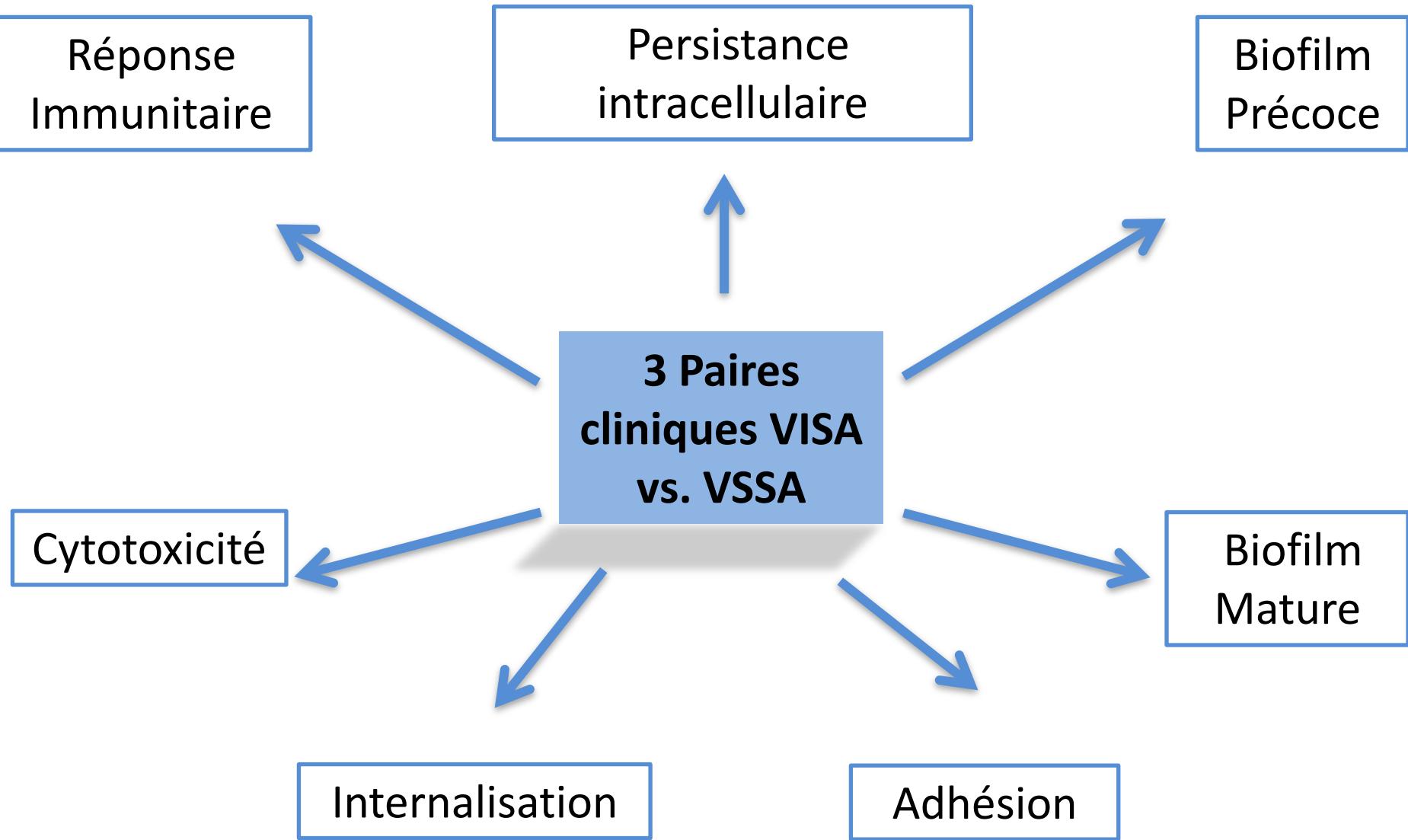
3 Patients  
(bactériémie persistante)

Traitement  
vancomycine

VSSA → VISA

- + 2 souches isogéniques issues des souches VSSA cliniques
    - VSSA  $\Delta$  *yycl*
    - VSSA  $\Delta$  *stp1*
- ↑ de la résistance à la vancomycine

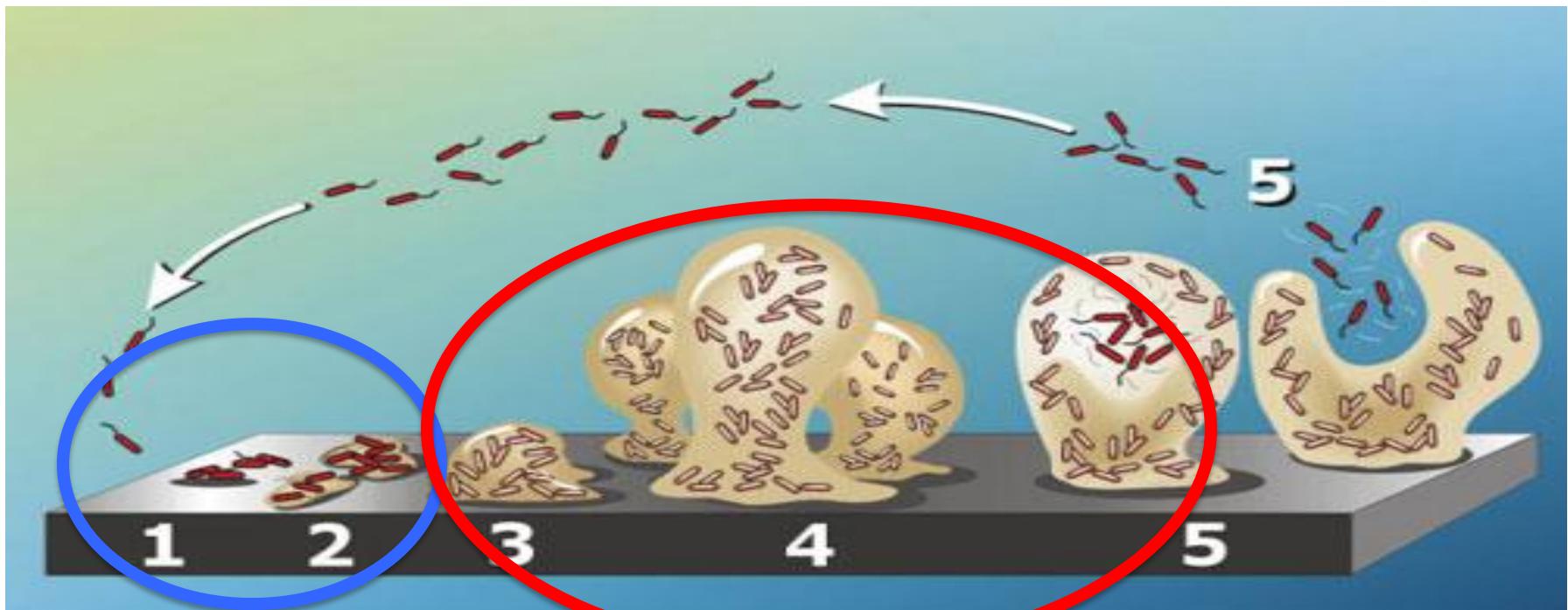
# Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?



# De VSSA à VISA: Quel impact sur la formation du biofilm?

## Adhésion au matériel Biofilm précoce

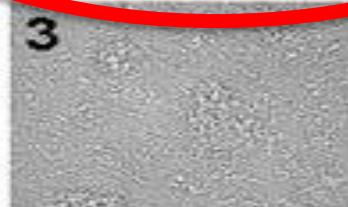
## Biofilm Mature



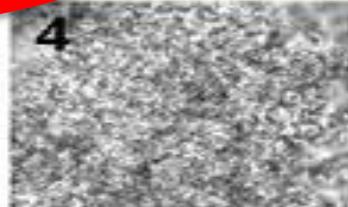
Polymer surface:  
hydrophobicity, AtIE,  
Aae and teichoic acids



Host matrix proteins:  
SdrF, SdrG, SdrH,  
Ebp, AtIE and Aae



PNAG,  
teichoic acids,  
Bap and  
Aap

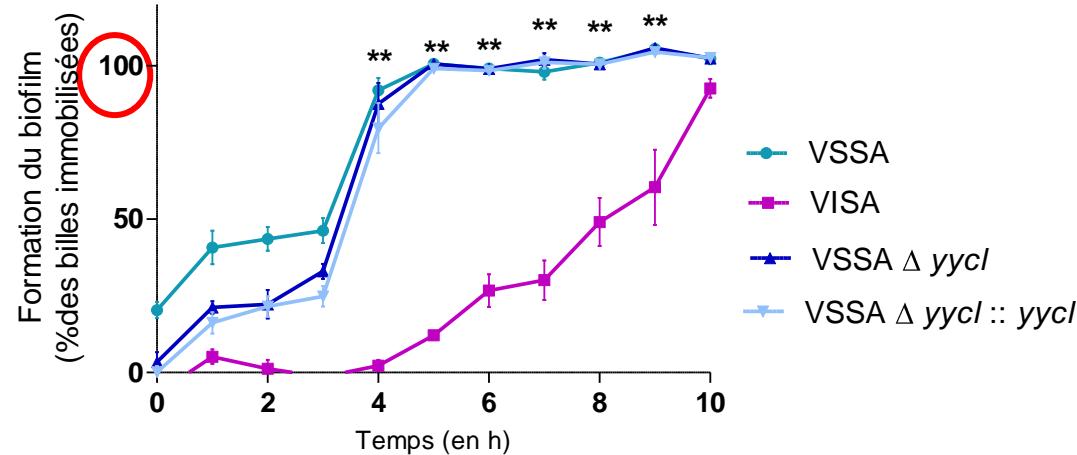


PSM<sup>+</sup>?  
Proteases?



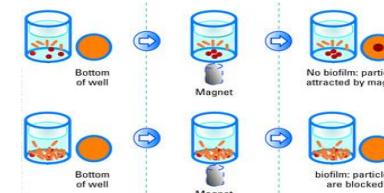
# De VSSA à VISA: Quel impact sur la formation du biofilm précoce?

## Patient 1

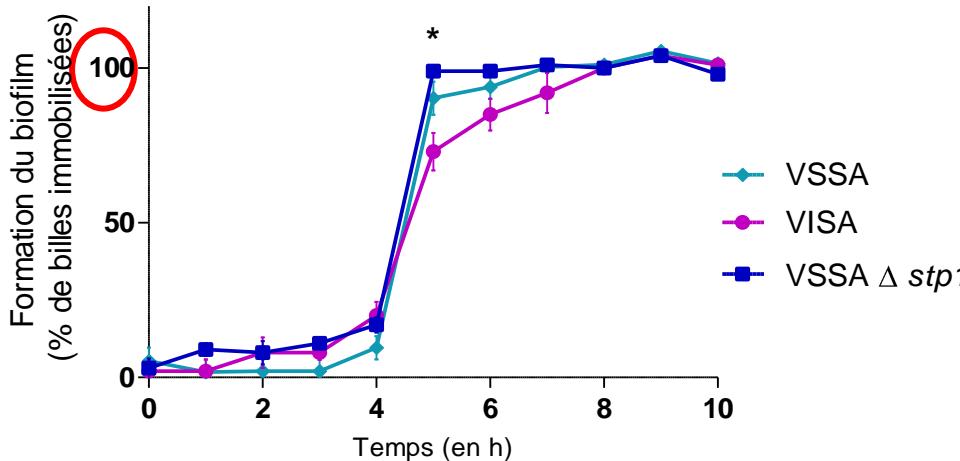


## Biofilm précoce Premières heures

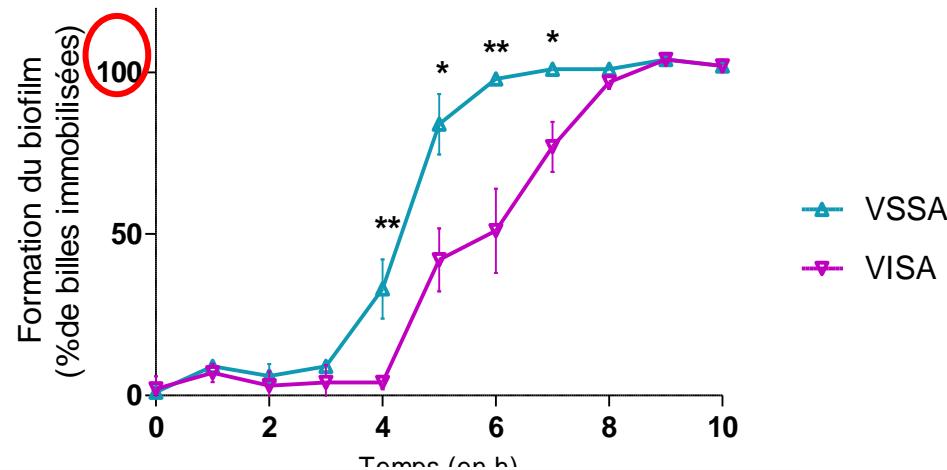
### Biofilm Ring Test®



## Patient 2



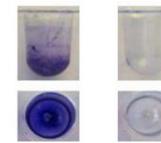
## Patient 3



- VISA: Initiation du biofilm plus lente vs. VSSA
- *yycl* et *stp1*: aucun impact

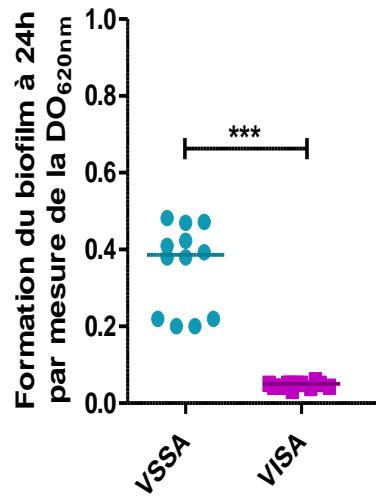
# De VSSA à VISA: Quel impact sur la formation du biofilm mature?

## Biofilm mature Après 24h

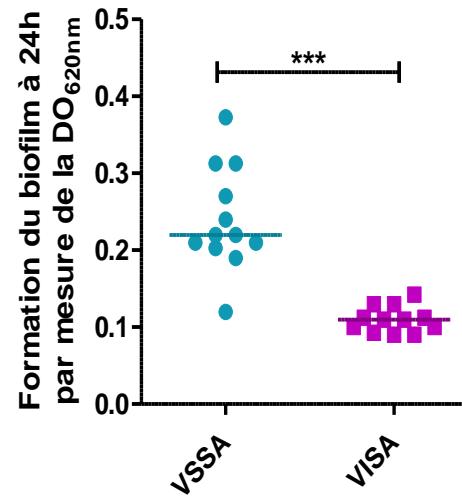


Méthode de coloration au cristal violet

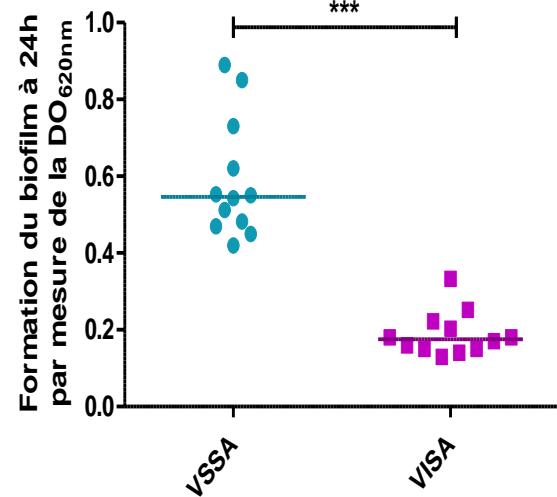
Patient 1



Patient 2



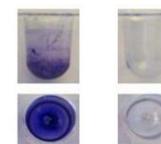
Patient 3



- VISA: significativement moins de biofilm mature vs. VSSA

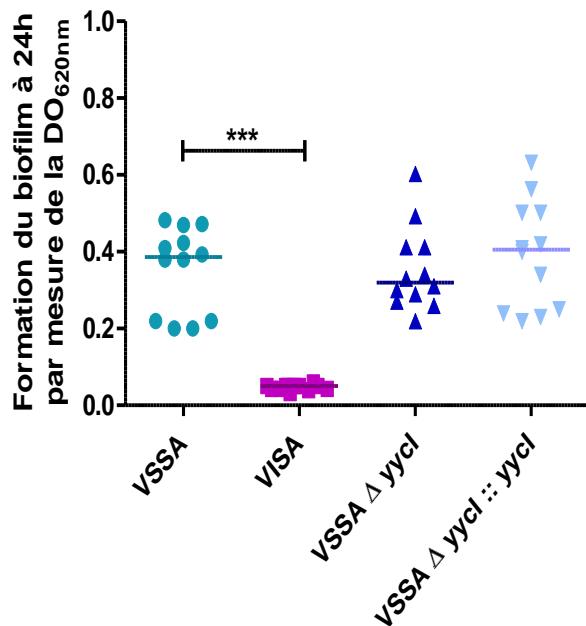
# De VSSA à VISA: Quel impact sur la formation du biofilm mature?

## Biofilm mature Après 24h

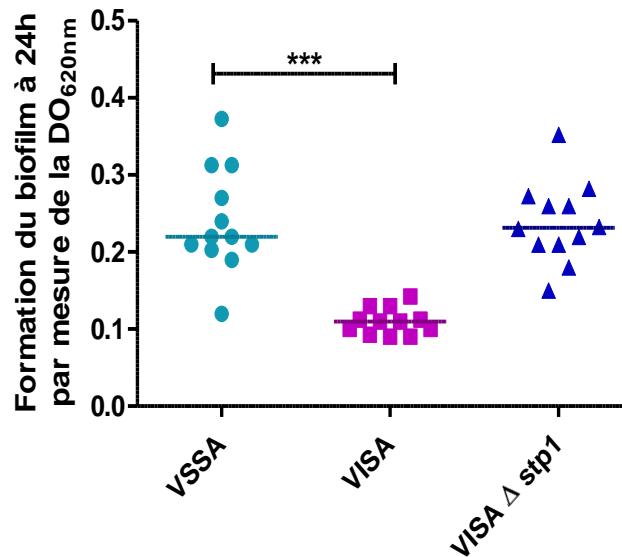


Méthode de coloration au cristal violet

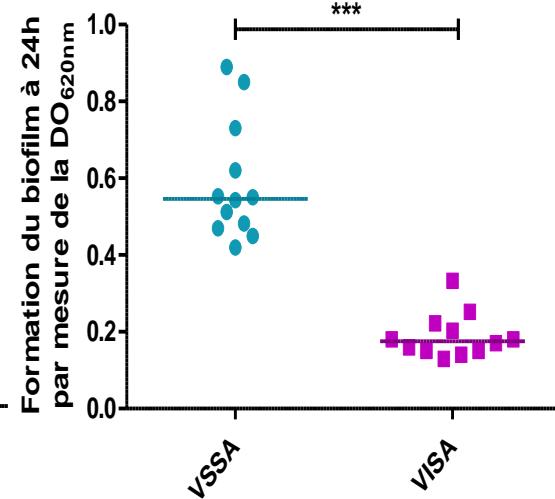
Patient 1



Patient 2

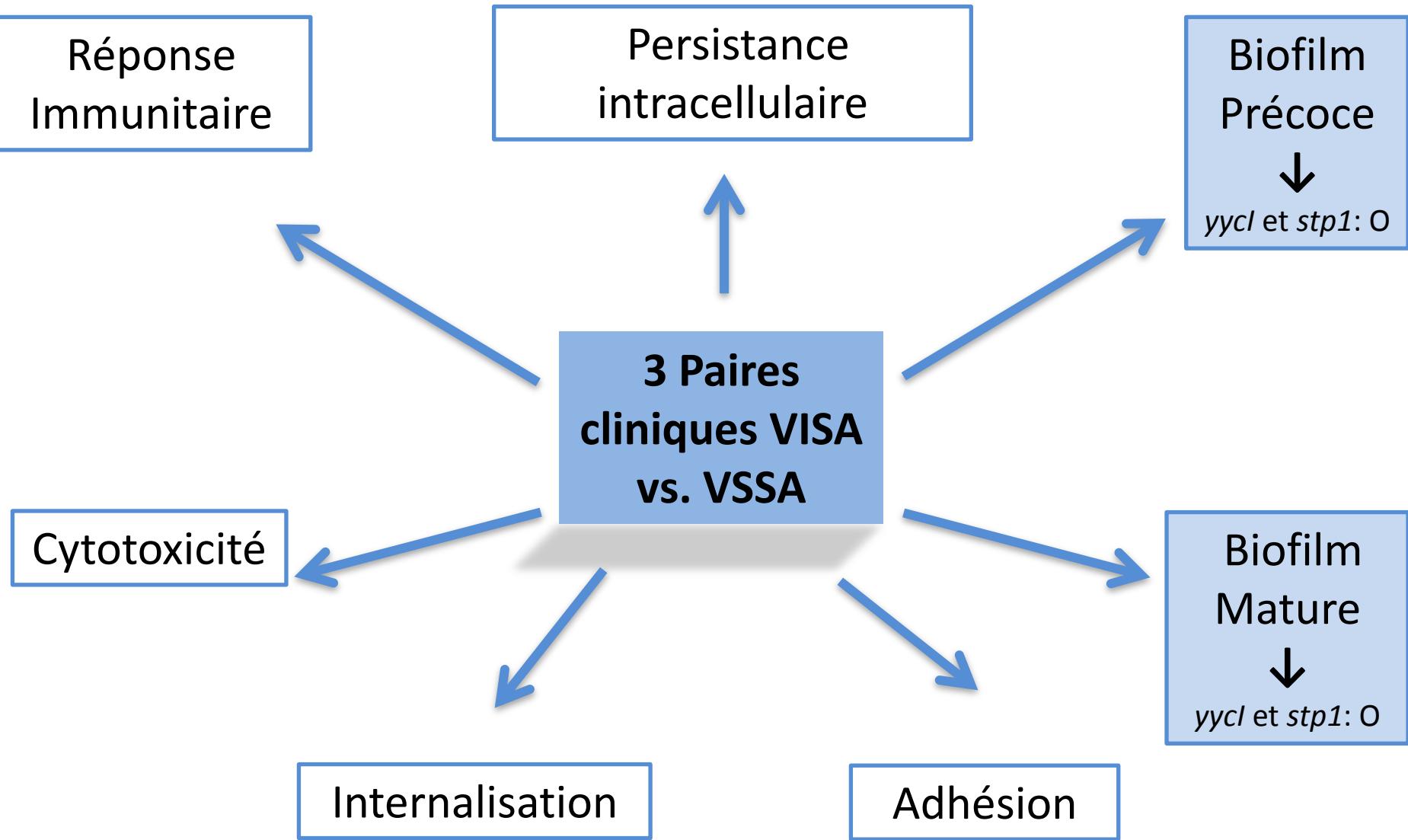


Patient 3

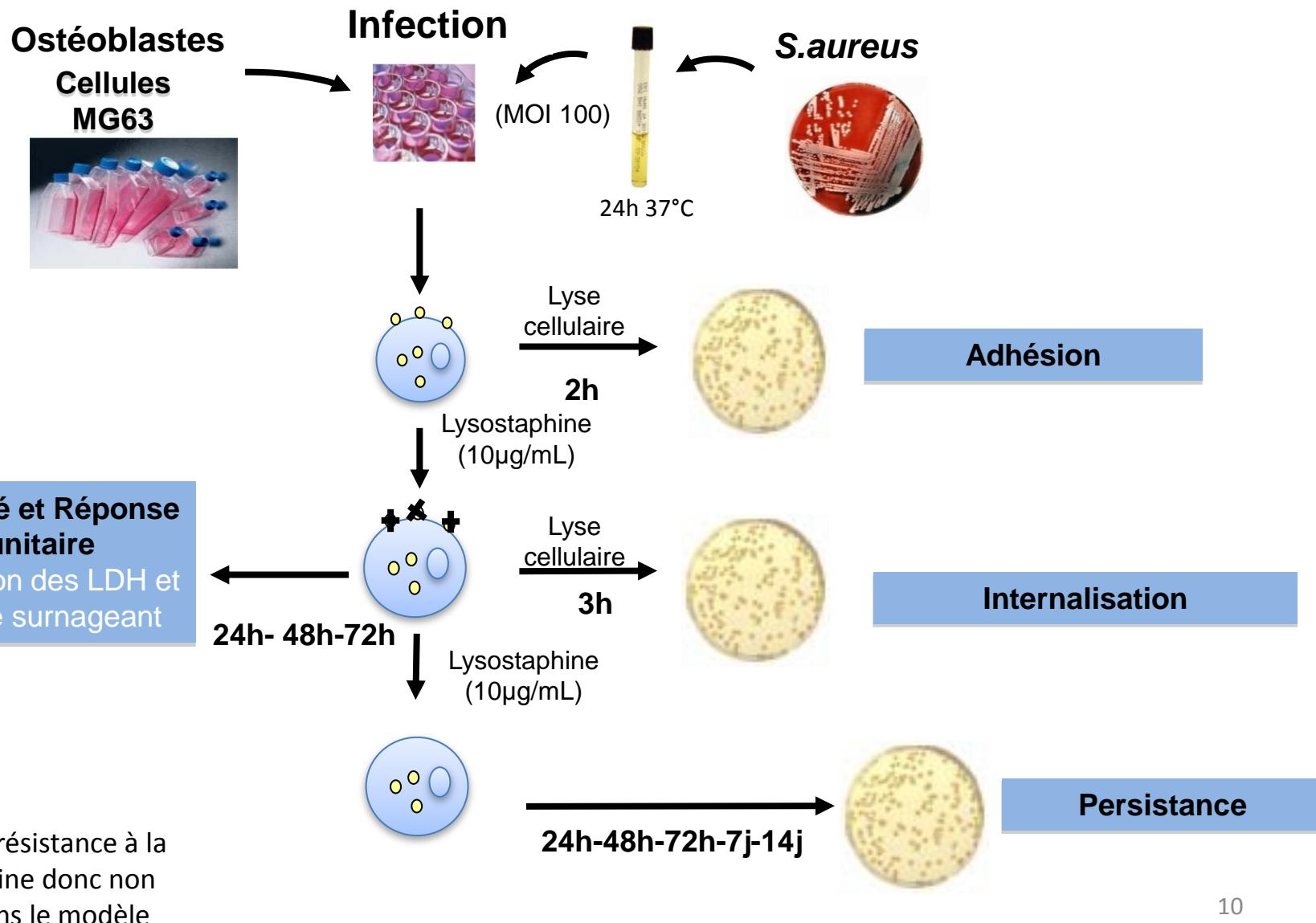


- VISA: significativement **moins de biofilm mature** vs. VSSA
- *yycl* et *stp1*: aucun impact

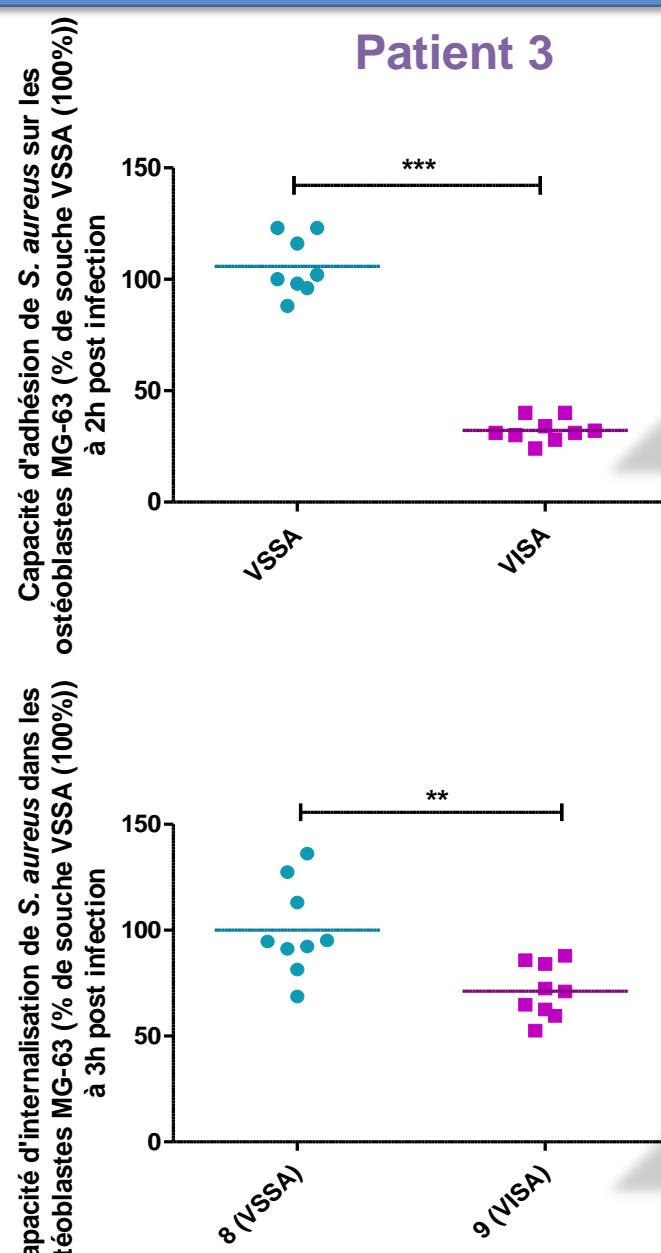
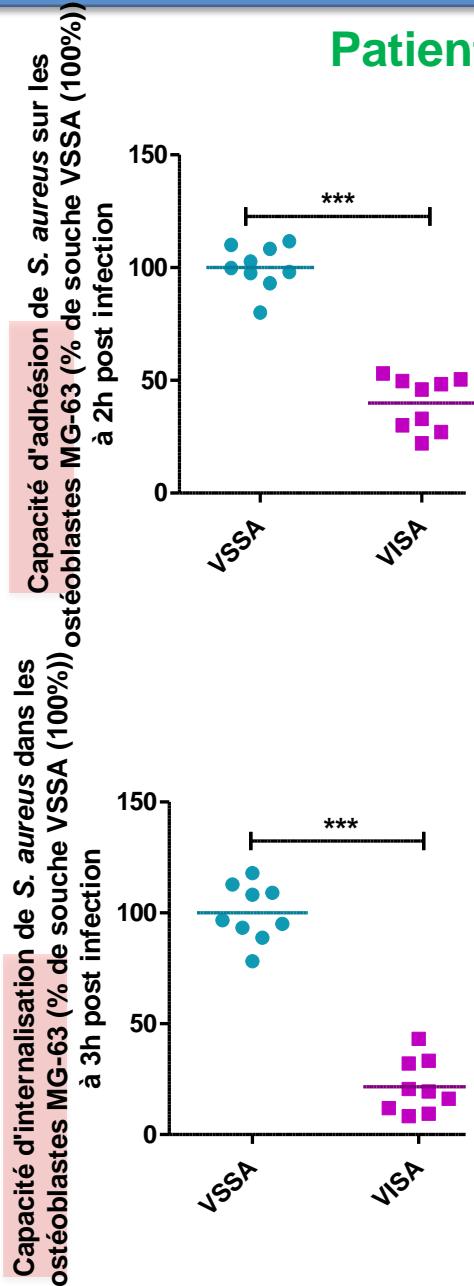
# Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?



# Infection *in vitro* dans les ostéoblastes MG-63 (sur les patients 2 and 3)



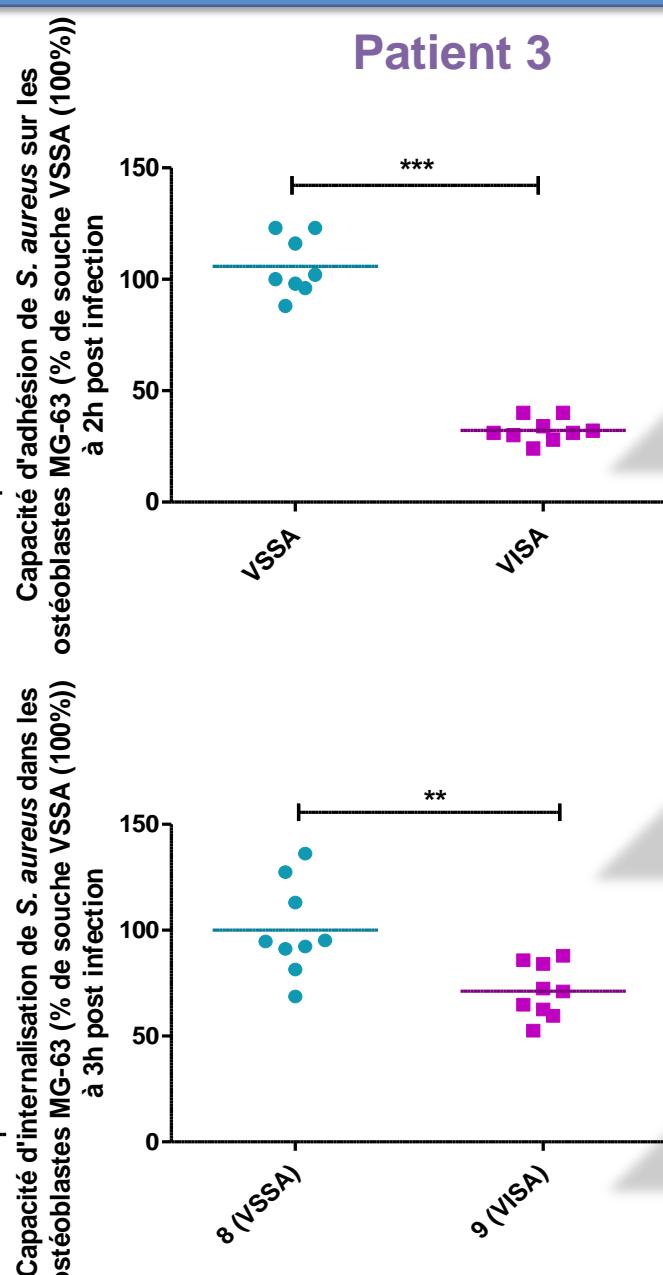
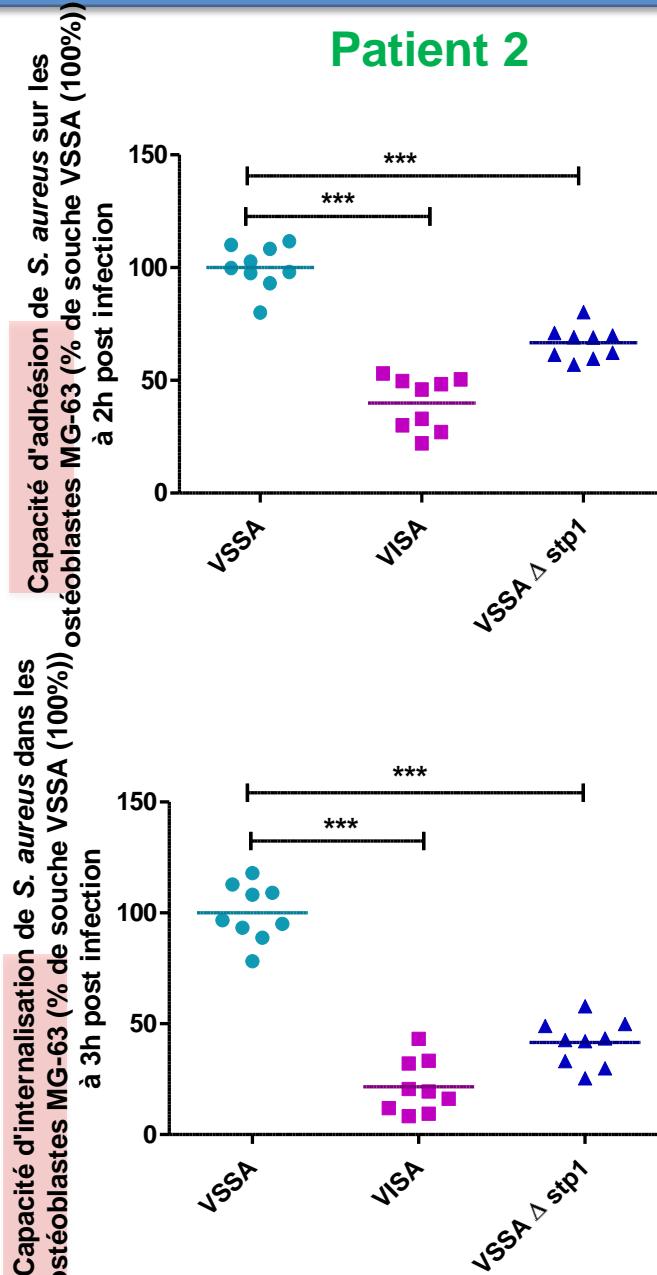
# De VSSA à VISA: Quel impact sur l'adhésion/l'internalisation?



**VISA:**  
Baisse significative  
de l'adhésion  
vs. VSSA

**VISA:**  
Baisse significative  
de l'internalisation  
vs. VSSA

# De VSSA à VISA: Quel impact sur l'adhésion/l'internalisation?

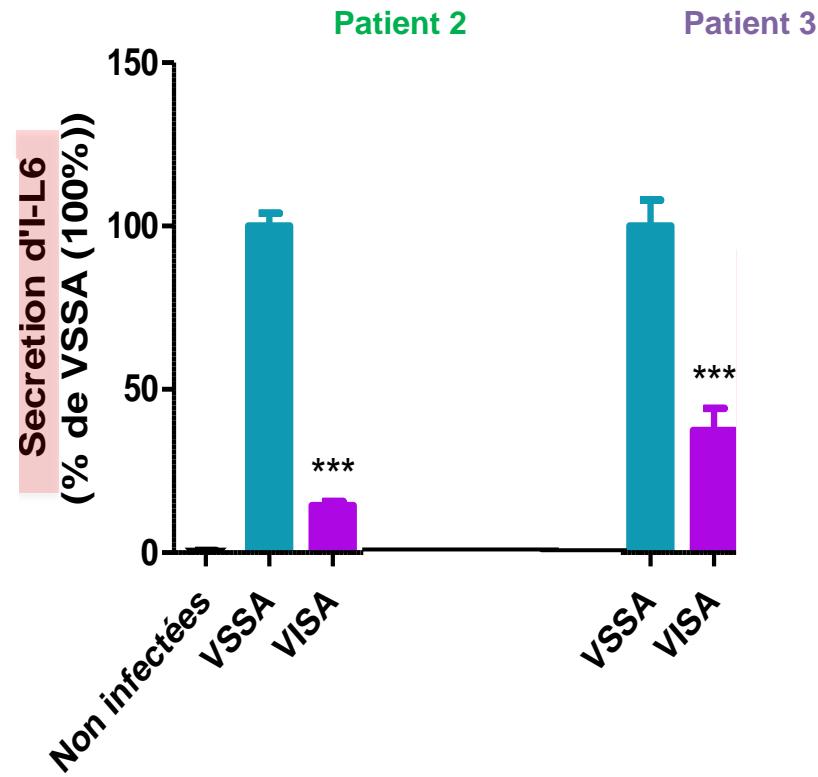
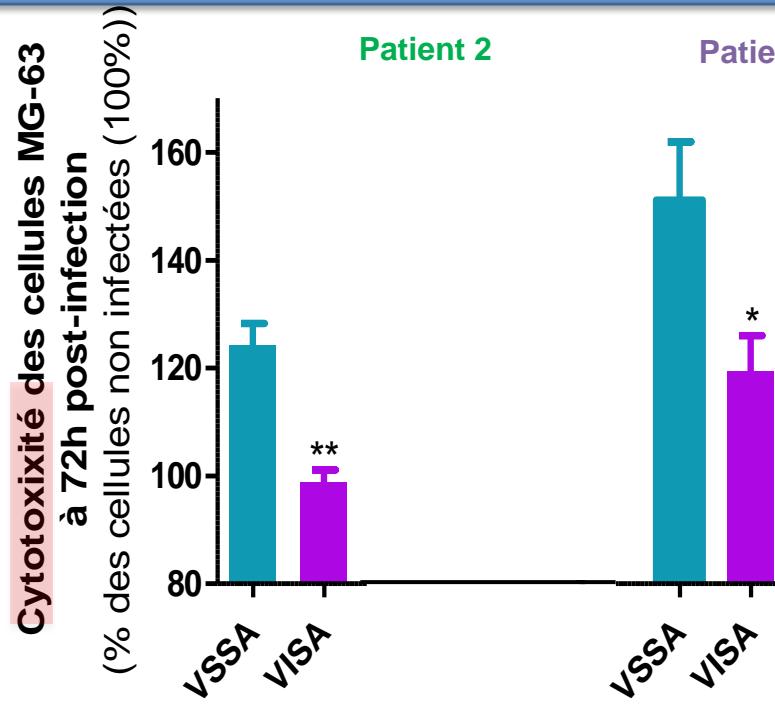


**VISA:**  
Baisse significative  
de l'adhésion  
vs. VSSA

**$\Delta stp1$ :**  
Baisse significative  
de l'adhésion et  
l'internalisation vs.  
VSSA

**VISA:**  
Baisse significative  
de l'internalisation  
vs. VSSA

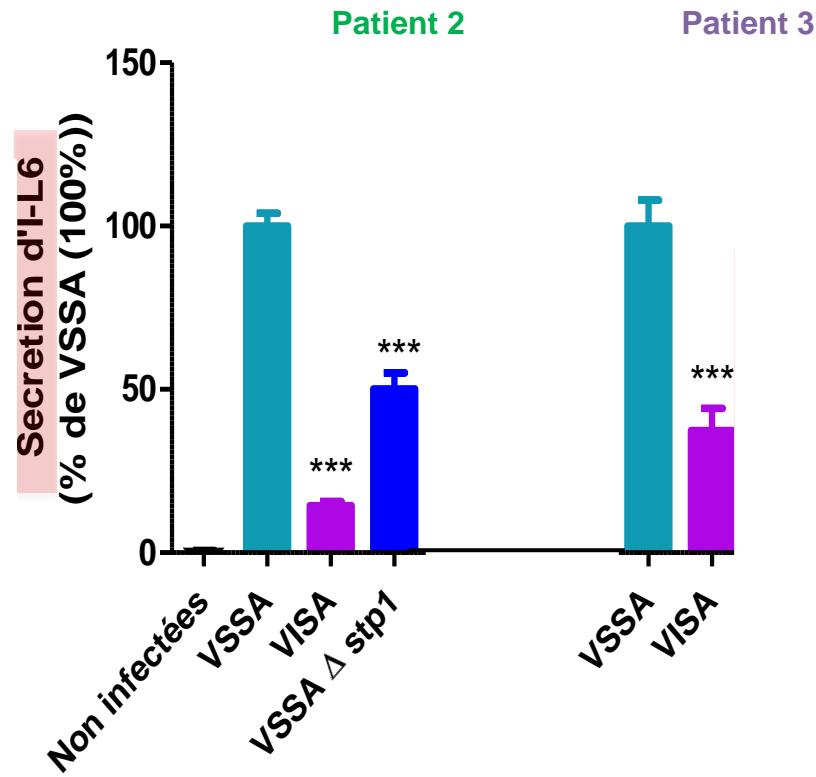
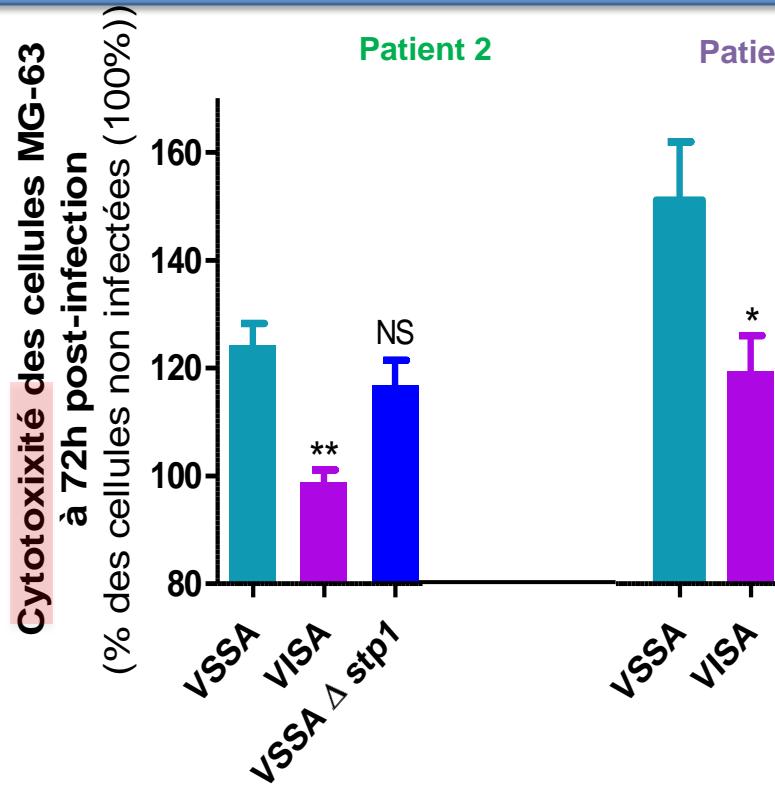
# De VSSA à VISA: Quel impact sur la cytotoxicité/la réponse immunitaire ?



**VISA:**  
Baisse significative de la  
cytotoxicité vs. VSSA

**VISA:**  
Baisse significative de la  
réponse immunitaire vs. VSSA

# De VSSA à VISA: Quel impact sur la cytotoxicité/la réponse immunitaire ?



**VISA:**  
Baisse significative de la cytotoxicité vs. VSSA

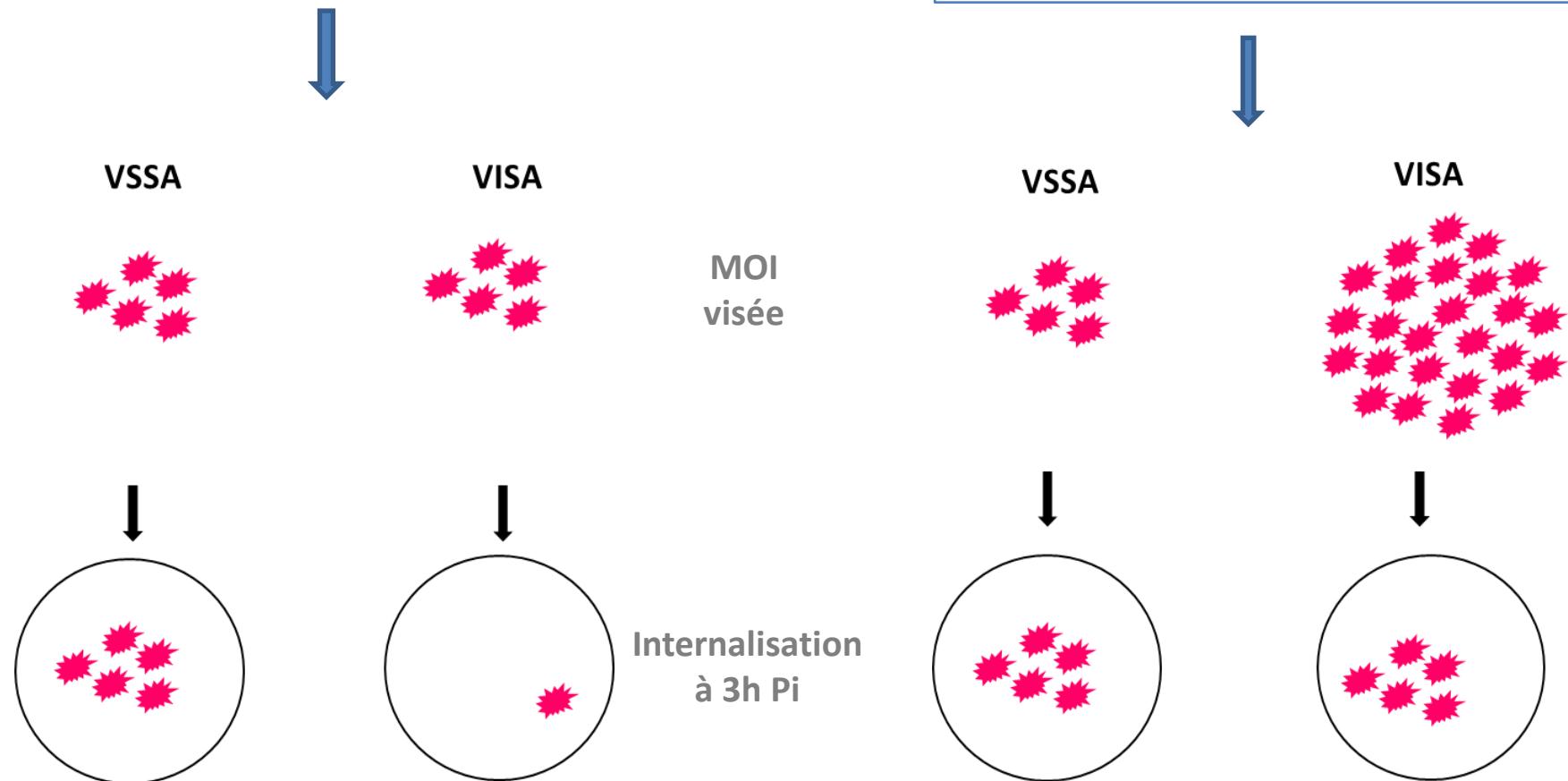
**$\Delta stp1$ :**  
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

**VISA:**  
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

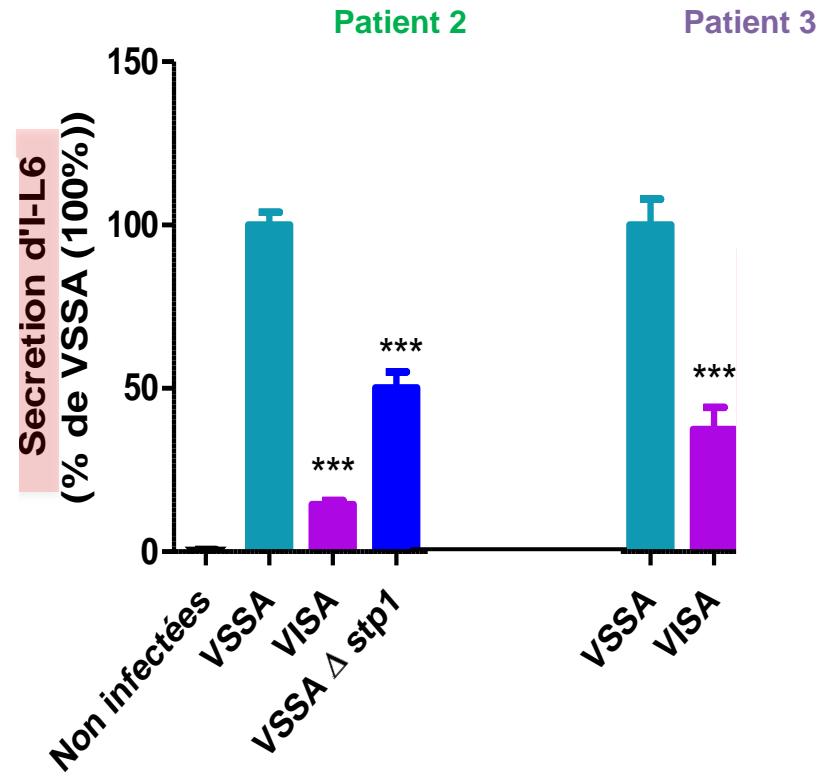
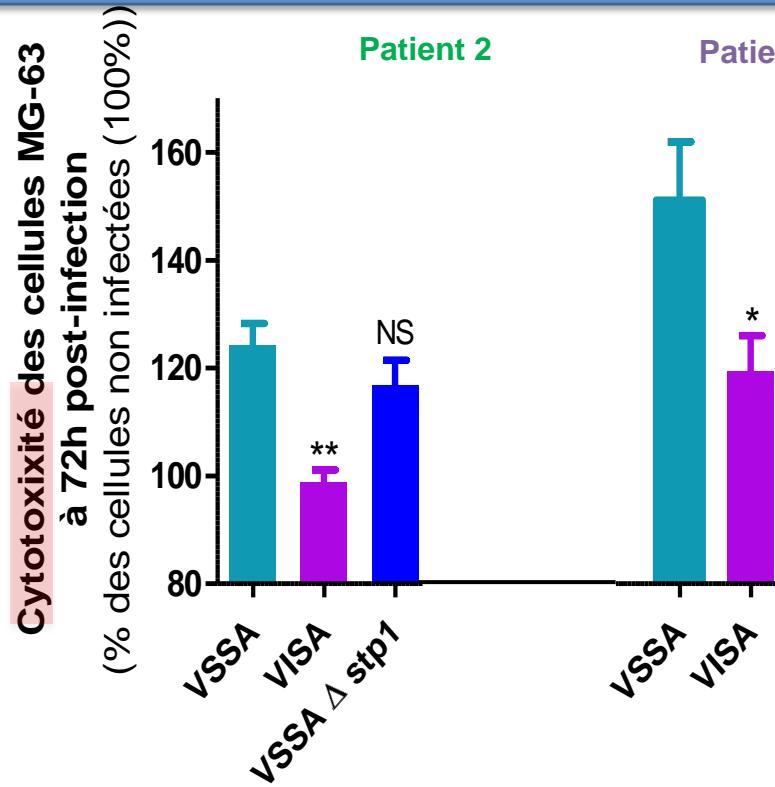
# La virulence intracellulaire

- VISA moins internalisées que VSSA
- Résultats cytotoxicité et réponse immunitaire biaisés?

- MOI « corrigée » permettant d'obtenir le même nombre de bactéries intracellulaires /cellule à 3h Pi



# De VSSA à VISA: Quel impact sur la cytotoxicité/la réponse immunitaire ?

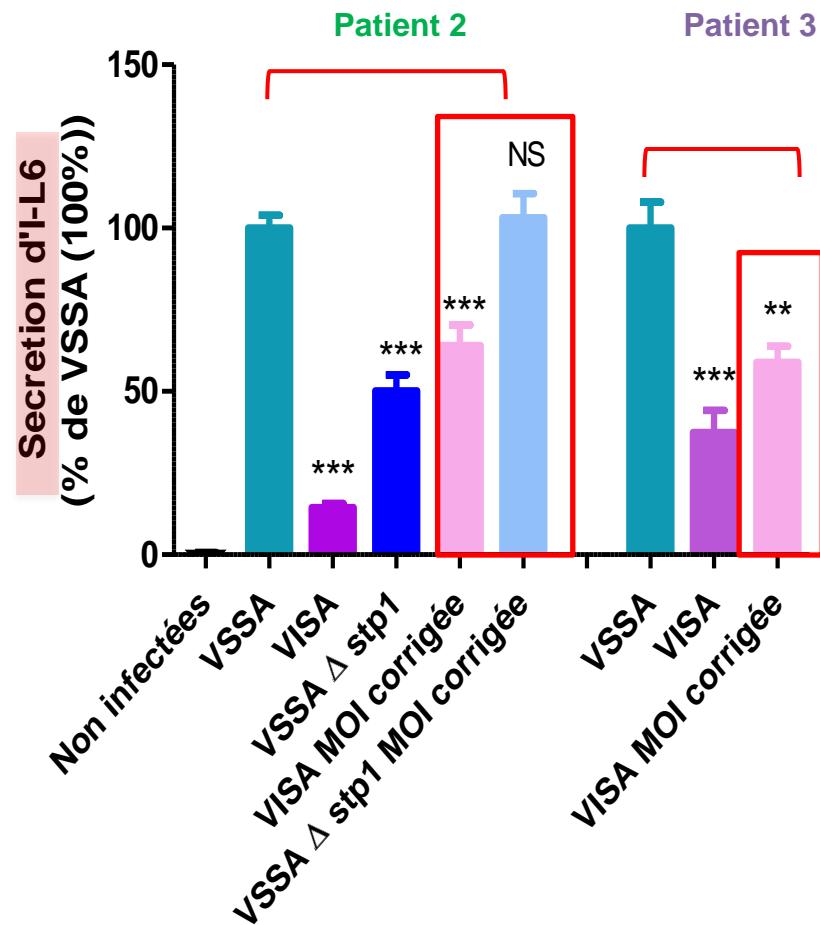
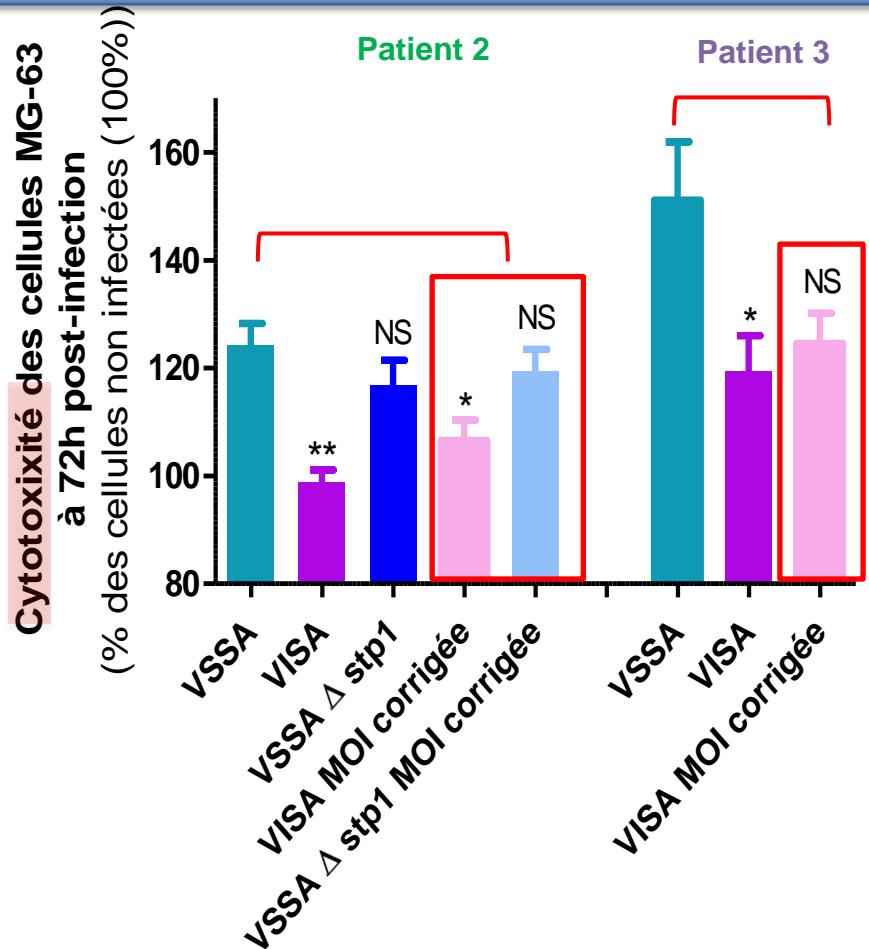


**VISA:**  
Baisse significative de la cytotoxicité vs. VSSA

**$\Delta$  stp1:**  
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

**VISA:**  
Baisse significative de la réponse immunitaire vs. VSSA

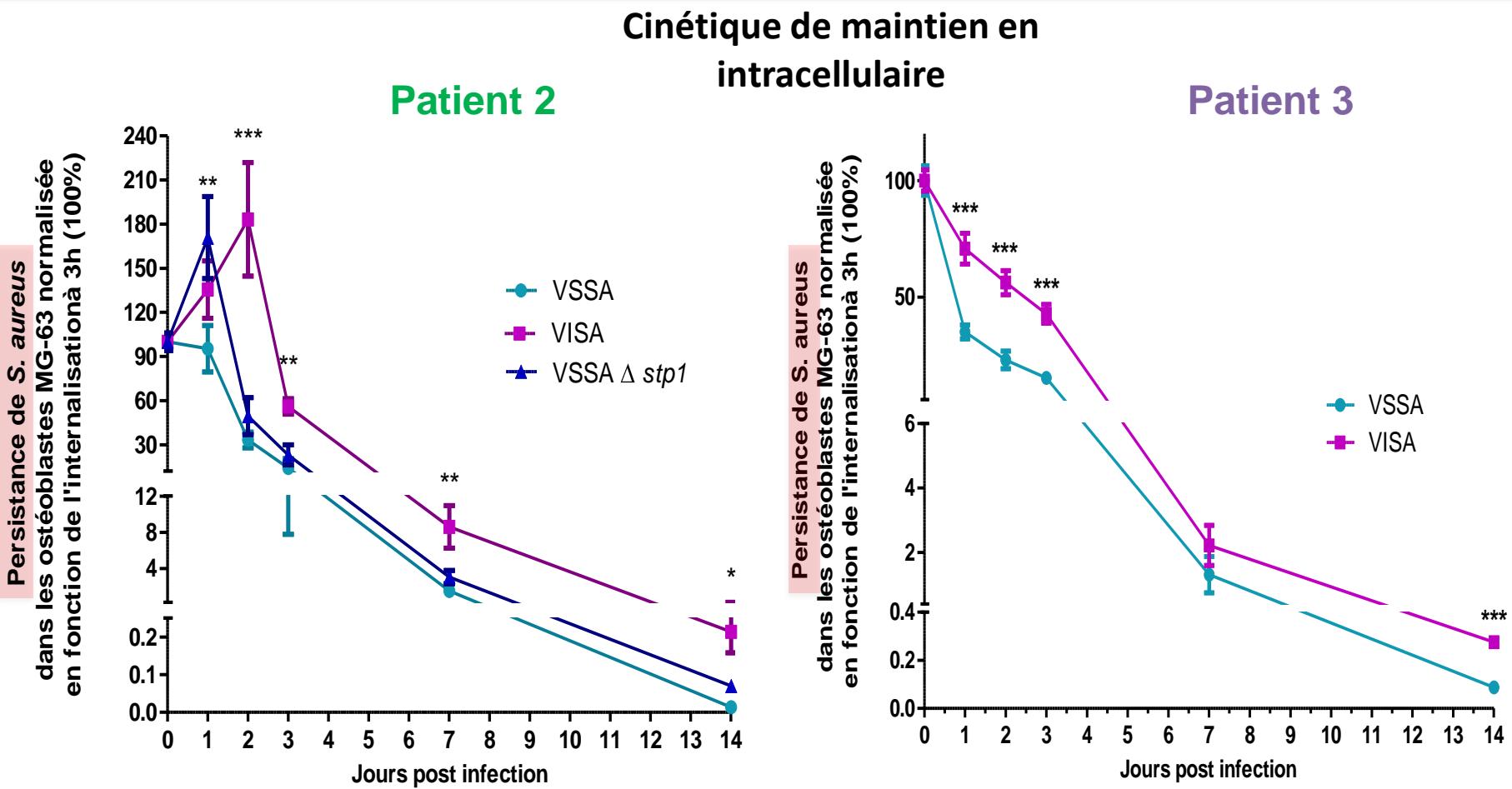
# De VSSA à VISA: Quel impact sur la cytotoxicité/la réponse immunitaire ?



Même nombre de bactéries internalisées à 3h entre « MOI corrigée » et VSSA à 3h Pi

- **VISA: moins cytotoxiques vs. VSSA**
- **VISA: baisse de la réponse immunitaire vs. VSSA**
- **stp1: aucun impact**

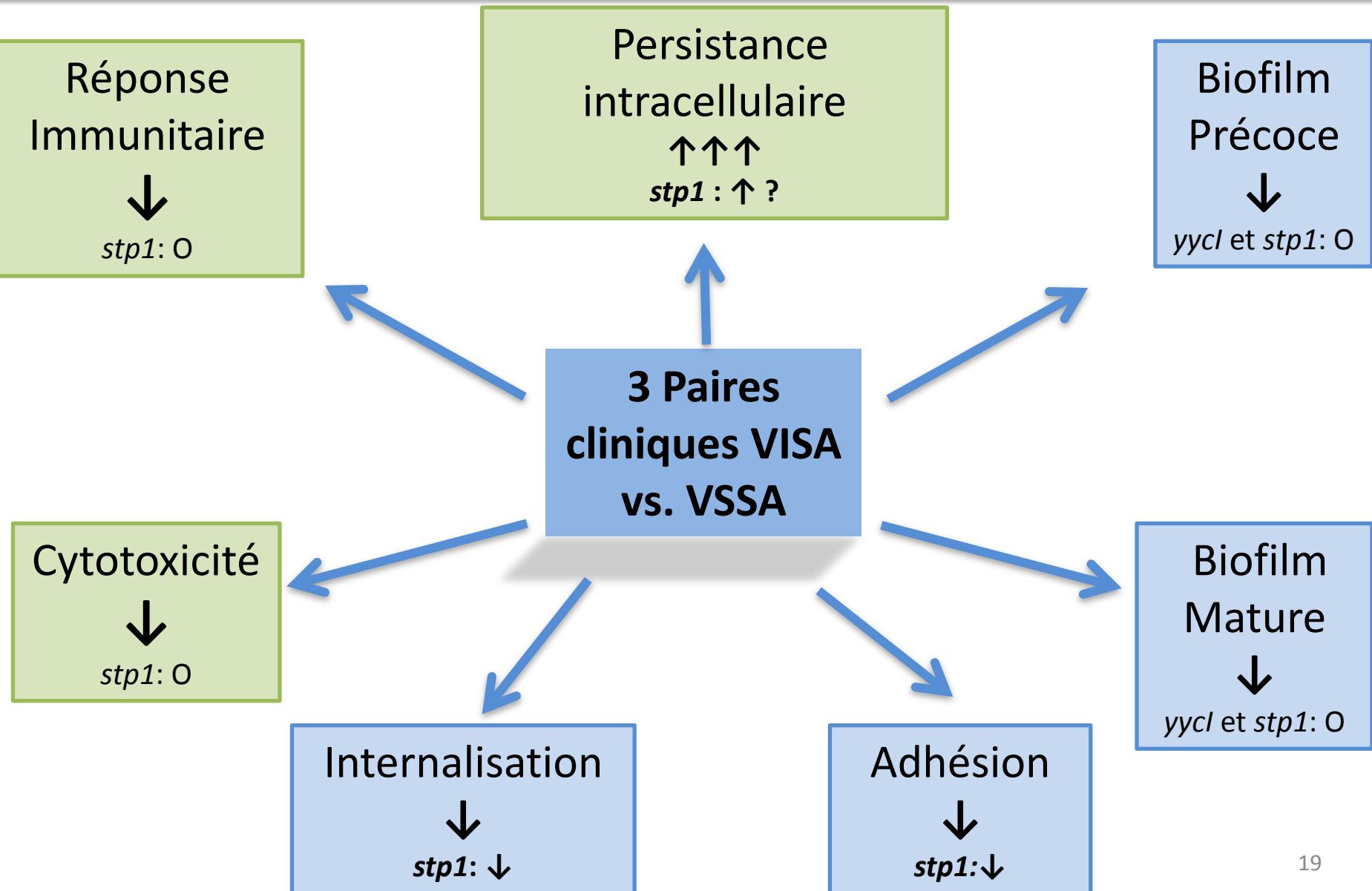
# De VSSA à VISA: Quel impact sur la persistance en intracellulaire?



**VISA: persistent en plus grand nombre dans le compartiment intracellulaire vs. VSSA**

**VSSA  $\Delta$  stp1: phenotype légèrement différent vs. VSSA**

# Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?



# Est ce que des mécanismes impliqués dans la virulence sont modifiés lors du switch VSSA à VISA ?

- ✓ **Diminution** de la formation de biofilm, de l'adhésion et l'internalisation pour VISA
  - Probablement impactée par la **modification de la paroi bactérienne**
- ✓ **Modification** de l'expression des facteurs pathogéniques qui abaissent la réponse immunitaire pour VISA
  - Favorise la **persistance intracellulaire**
- ✓ Implication **stp1** ?: **baisse de l'adhésion/ l'internalisation mais pas dans le biofilm**
  - Phénotype VISA: **accumulation de mutations**
- ✓ **Take home message:**  
VISA = sanctuarisation intracellulaire
  - Utiliser des antibiotiques avec une **activité intracellulaire !**



**Dr. Sophie ASSANT-TROUILLET**



**Pr. Tristan FERRY**



**Dr. Florent VALOUR**



**Pr. Sébastien LUSTIG**



**Pr. Frédéric LAURENT**

**Céline DUPIEUX  
Jason TASSE  
Patricia SIMOES  
Yousef MAALI  
William MOUTON  
Andréa CARA  
Alice MONTEIX  
Régis VILLET**

...



**Pr. Francois VANDENESCH  
Pr. Jérôme ETIENNE  
Pr. Gérard LINA  
Dr. Anne TRISTAN  
Dr. Michèle BES  
Dr. Olivier DAUWALDER  
Dr. Oana DUMITRESCU  
Dr. Hélène MEUGNIER**



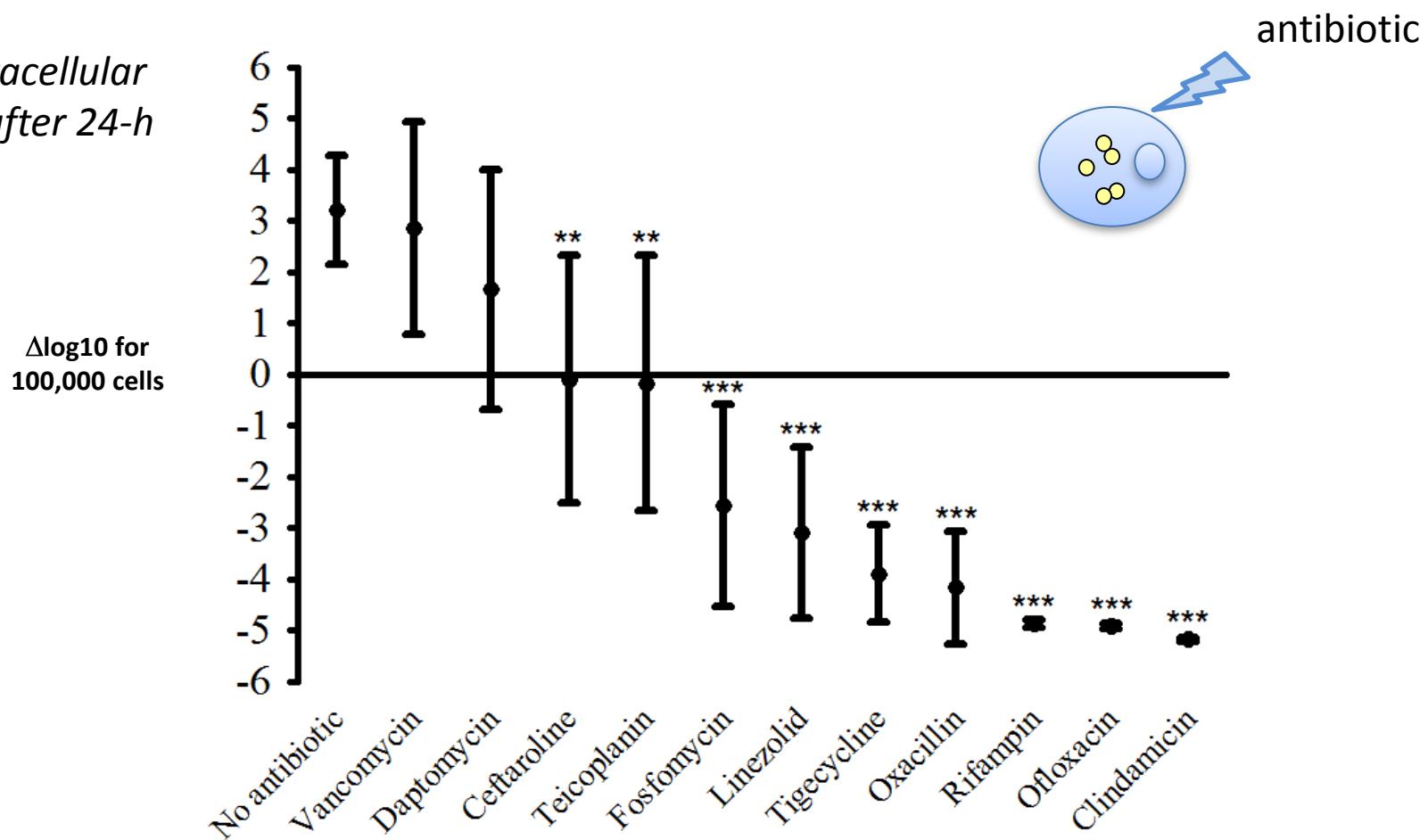
MONASH University

**Pr. Anton Peleg  
Dr. David Cameron  
Pr. Benjamin Howden**

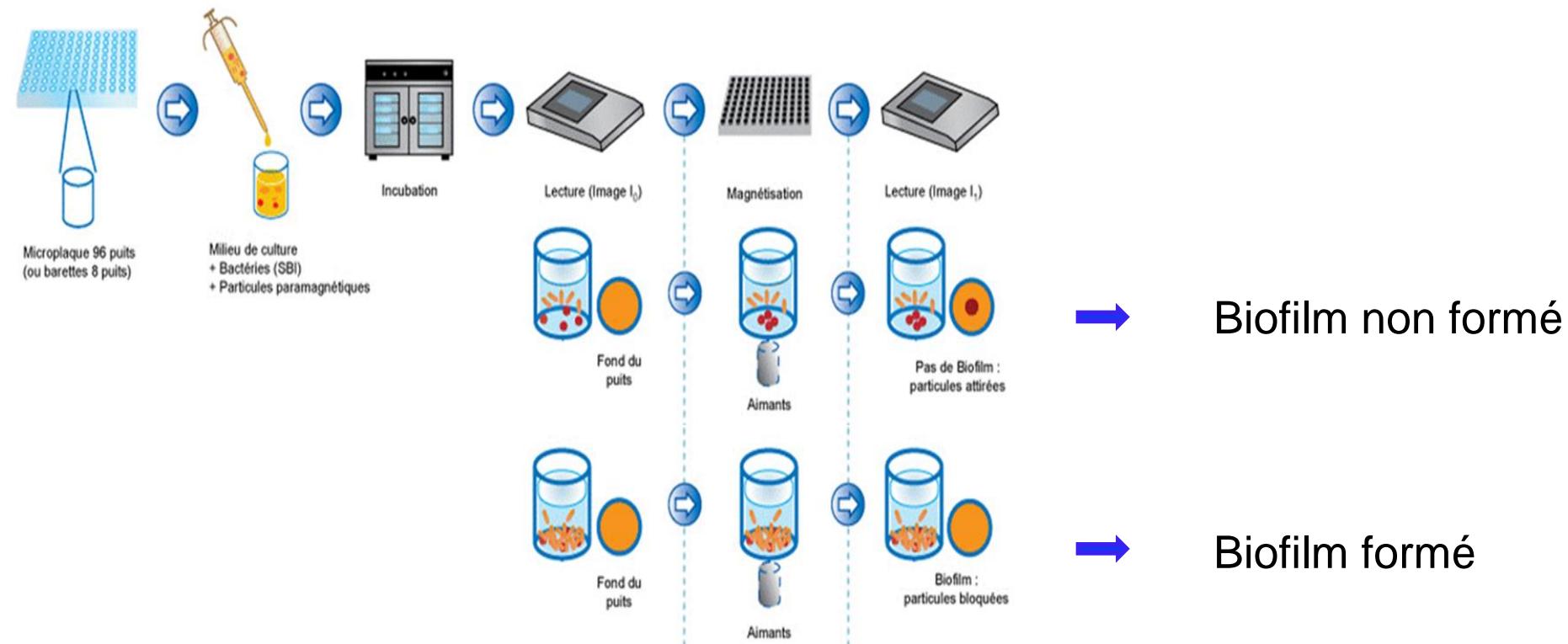
# Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*

Florent Valour,<sup>a,b</sup> Sophie Trouillet-Assant,<sup>b</sup> Natacha Riffard,<sup>b</sup> Jason Tasse,<sup>b</sup> Sacha Flammier,<sup>b</sup> Jean-Philippe Rasigade,<sup>b,c</sup> Christian Chidrac,<sup>a,b</sup> François Vandenesch,<sup>b,c,d</sup> Tristan Ferry,<sup>a,b</sup> Frédéric Laurent,<sup>b,c,d</sup> on behalf of the Lyon Bone and Joint Infection Study Group

*CFU of intracellular  
*S. aureus* after 24-h  
exposition*



# Biofilm Ring Test®



Chavant et al. (2007) J Microbiol Methods 68:605-612