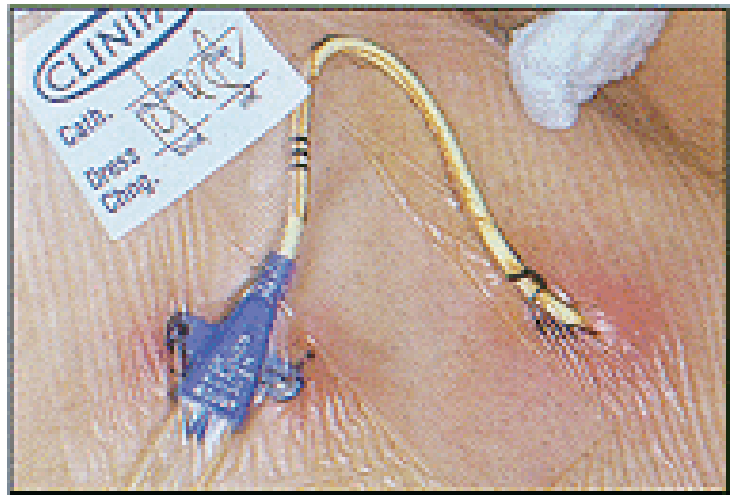
Staphylococcus aureus et dispositifs invasifs

des particularités microbiologiques à la réalité des infections bactériémiques

des particularités microbiologiques ?

Pr Frédéric LAURENT
CNR des Staphylocoques
Institut des Agents Infectieux
Hospices Civiles de Lyon

Comment en arrive-t-on là avec ***S. aureus*** ?



Comment en arrive-t-on là avec ***S. aureus*** ?

Comment en arrive-t-on là avec ***S. aureus*** ?

Staphylococcus aureus : une bactérie **sur-équipée**

Pathogène majeur +++ : 20-30% des inf. communautaires
20-30% des inf. nosocomiales

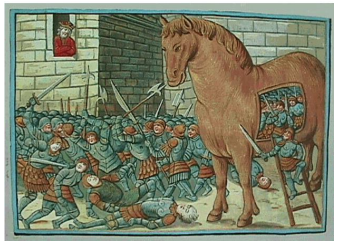
Adhésines

Enzymes

Toxines

Capsule

Biofilm

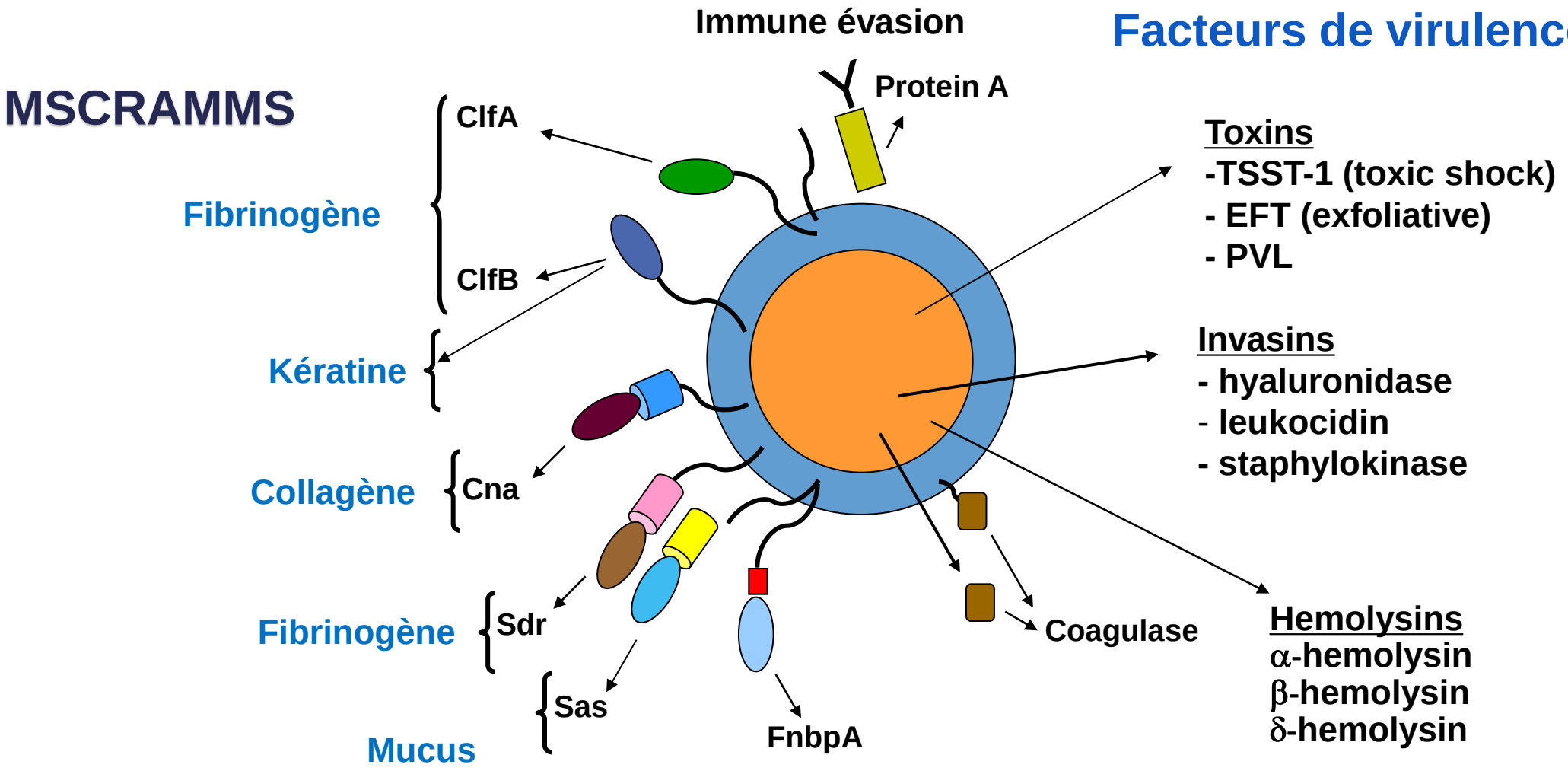


Internalisation

Virulence et redondance !

Staphylococcus aureus et adhésion

Adhésion : MSCRAMMS (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules)



Ph. Moreillon, adapted from Foster, T. 2005

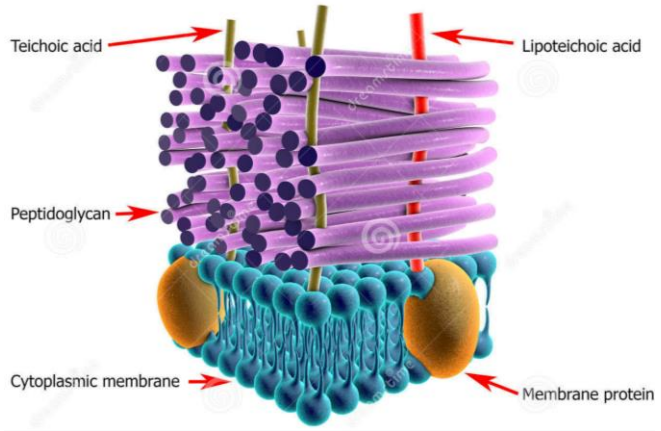
Facteurs d'adhésion impliqués dans la **colonisation nasale** à *S. aureus*

Iron surface determinant A

➡ adhésion (Cell. epith.)

➡ acquisition du fer

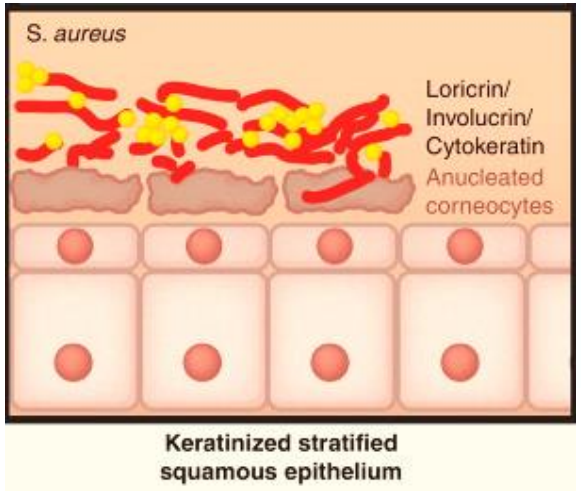
(Clarke J, J Infect Dis, 2006)

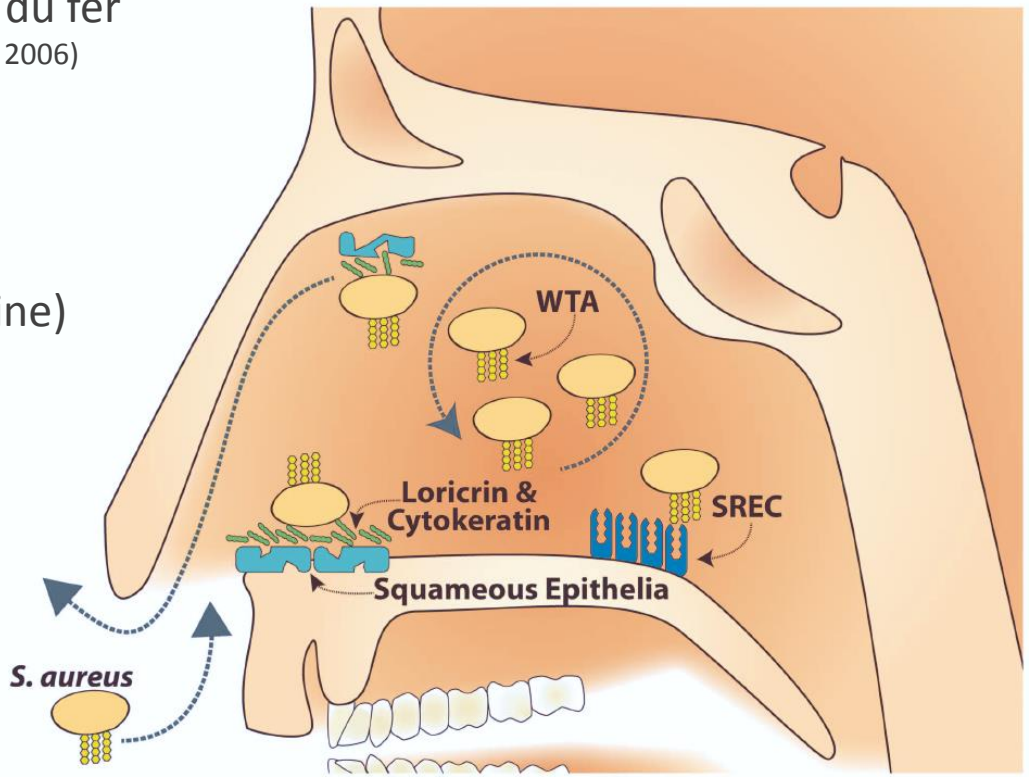


Clumping factor B

➡ Adhésion (Loricrine, Cytokératine)

(Wertheim HFL, PLOS med, 2008)

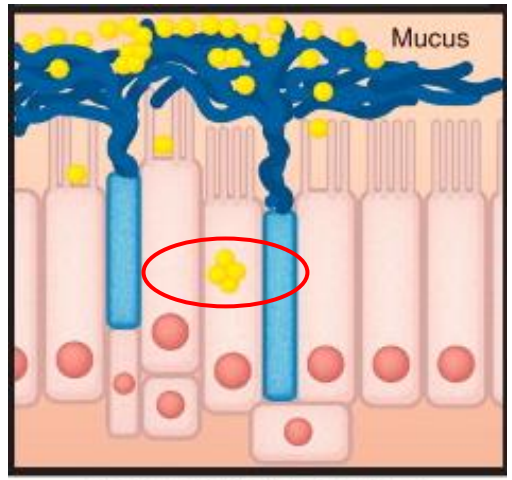




Acides teichoïques

➡ Adhésion (SREC-I)

(Baur et al. PLOS pathog, 2014)



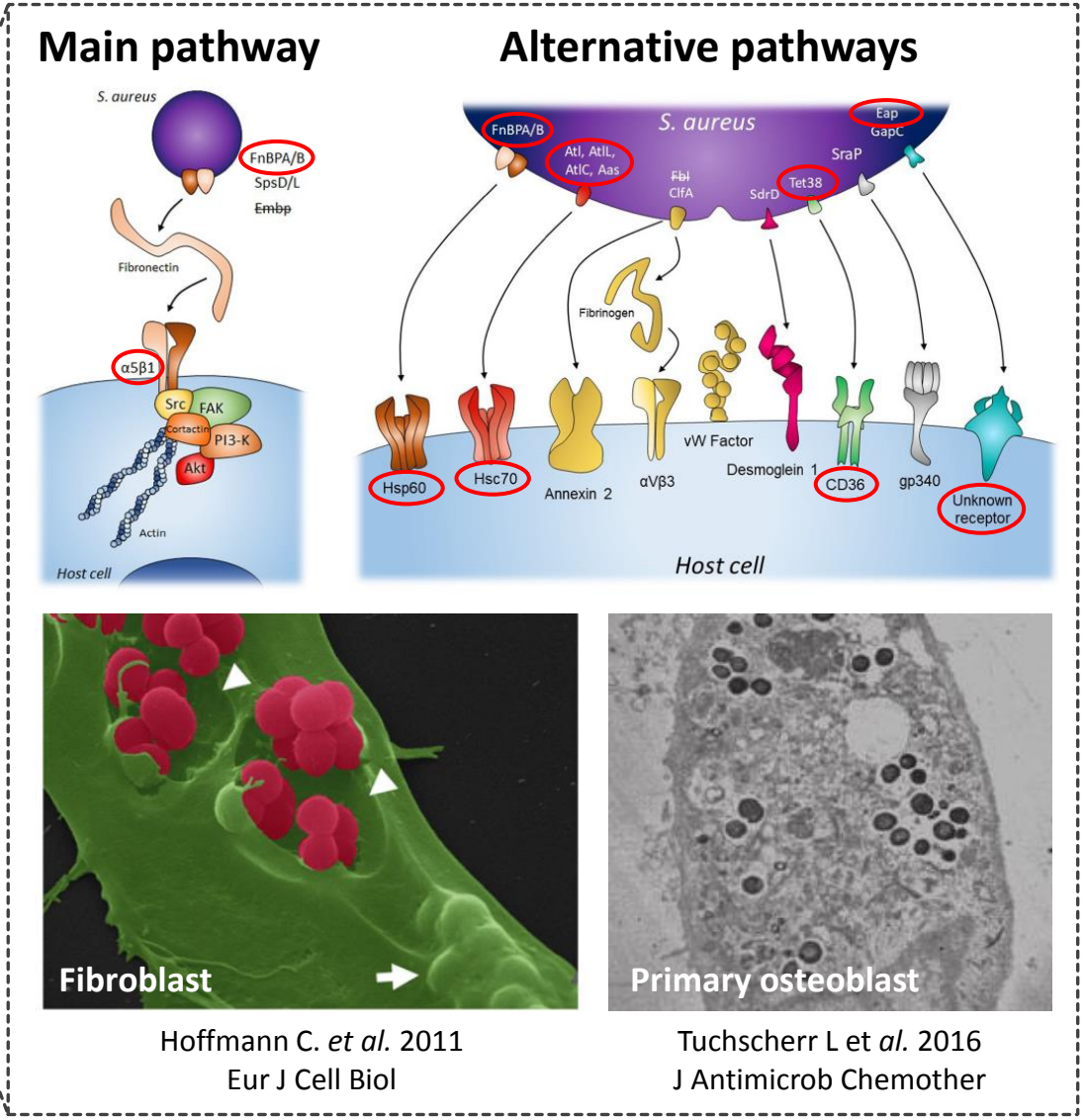
➡ Effet du niveau d'expression ?

d'après Weidenmaier et al., Trends in microbiol., 2012 ; Baur et al. PLOS Pathog., 2014

Physiopathologie de la colonisation : persistence !

From colonization to infection

Facteurs d'hôte		Facteurs bactériens
	Adhésion	
Clearance mécanique		Adhésion
	Invasion	**Internalisation par les cellules hotes**
Immunité innée		
	Colonisation	Immune evasion
Immunité adaptive		Biofilm
Commensalisme		Toxines
	Infection	

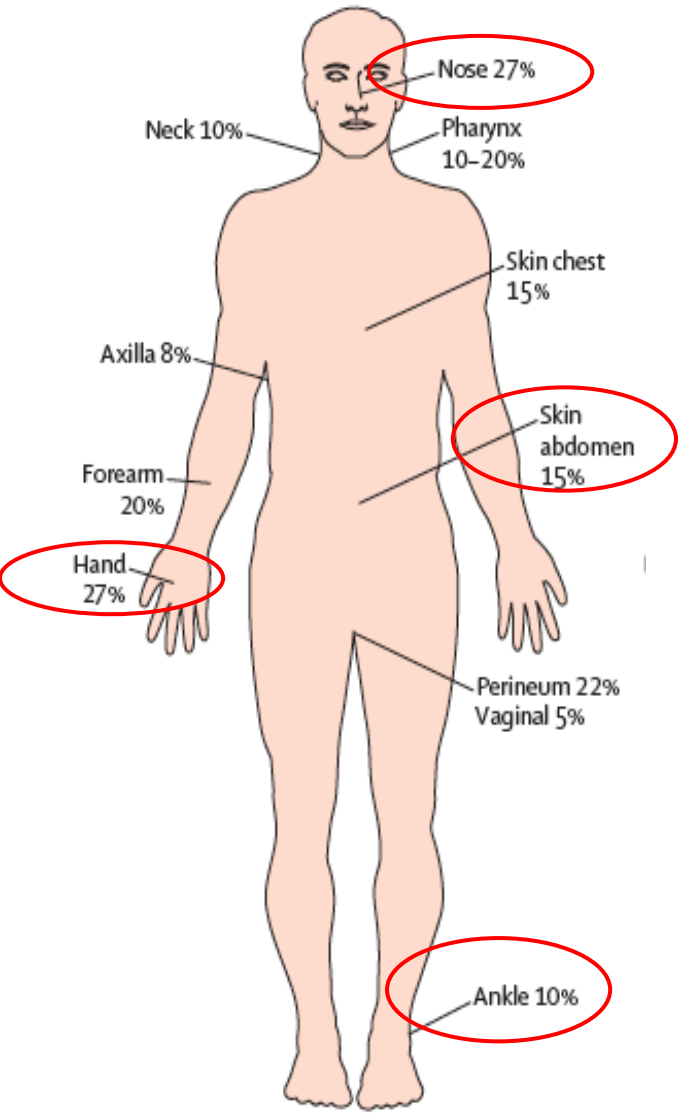


Hoffmann C. *et al.* 2011
Eur J Cell Biol

Tuchscherr L et *al.* 2016
J Antimicrob Chemother

Josse J et al. Front Microbiol 2017; Hoffmann C. *et al.* Eur J Cell Biol 2011; Tuchscherr L et *al.* J Antimicrob Chemother 2016

Physiopathologie de la colonisation : persistence de la colonisation

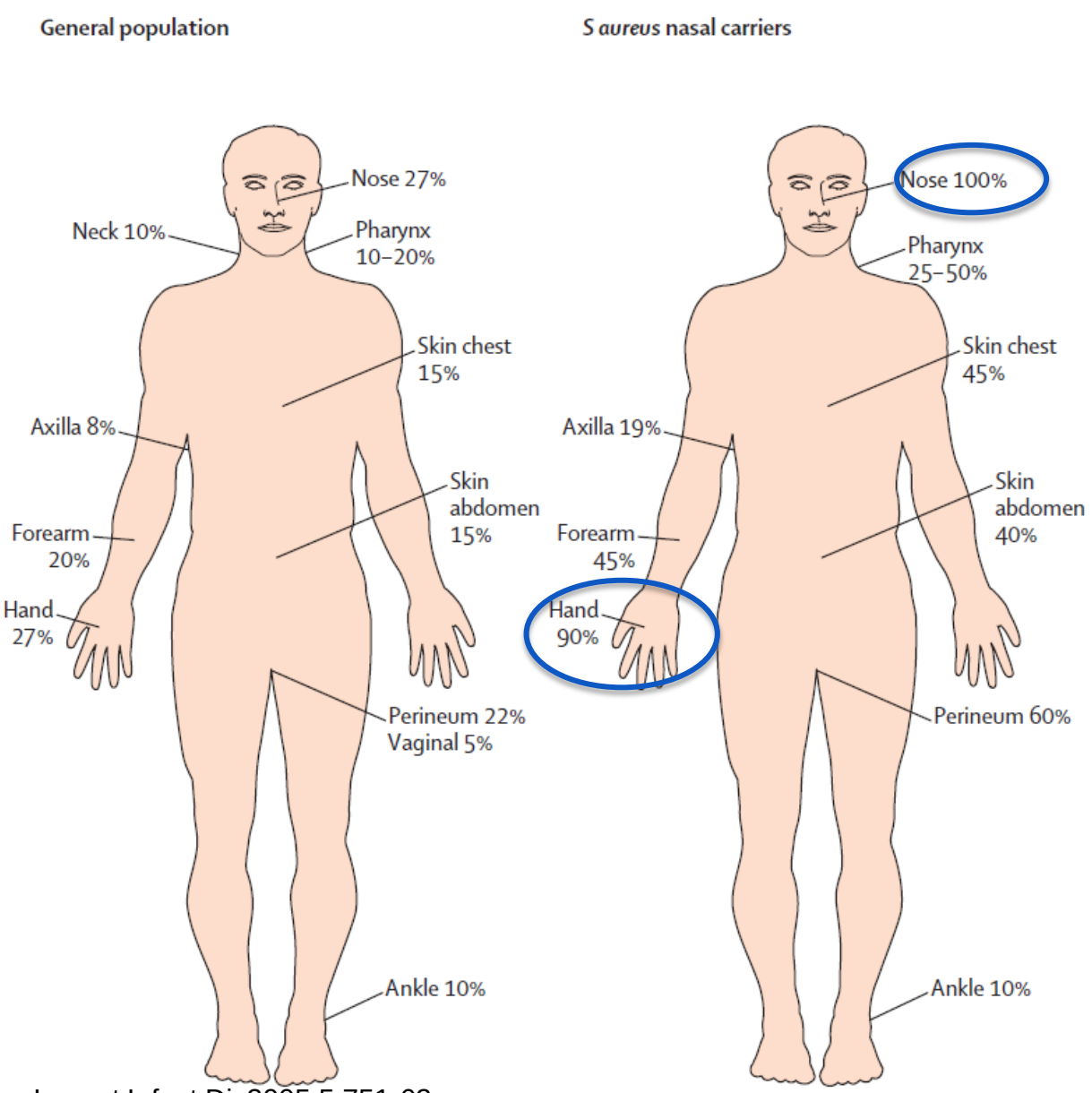


Lancet Infect Dis2005;5:751-62

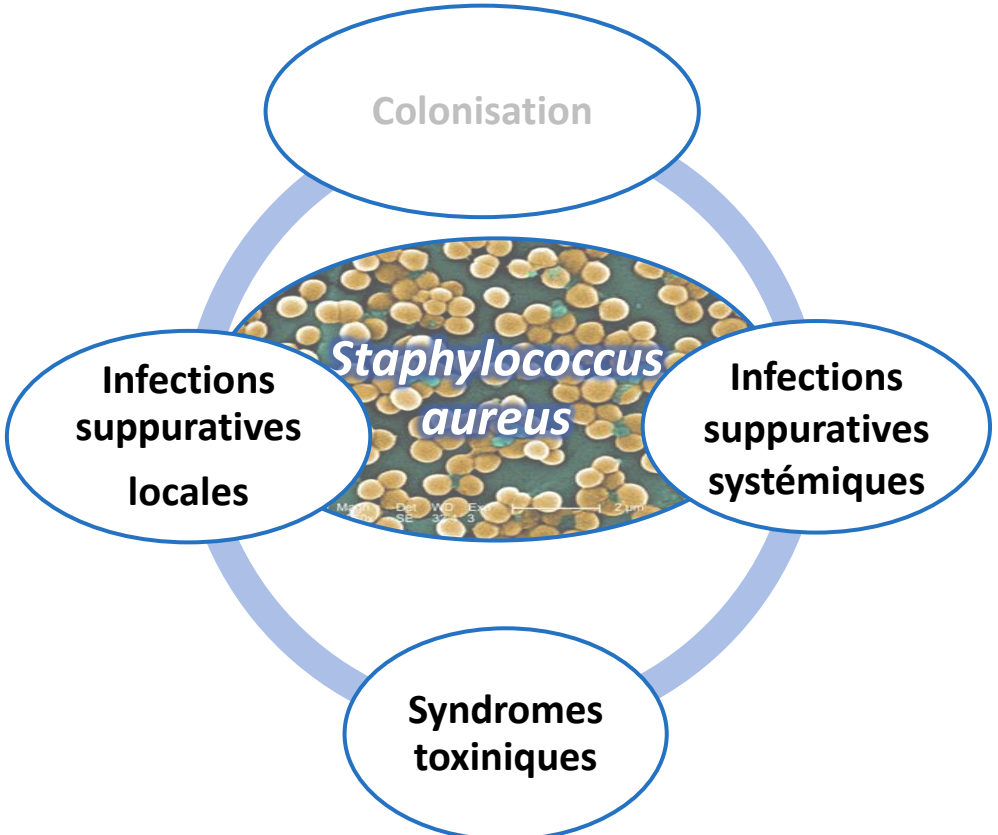
- **Reclassification** : 2 catégories (van Belkum *et al.* 2009)
  - ✓ **Persistants** : index de portage ≥ 0,8
  - ✓ **Non persistants** : index de portage < 0,8
- **Portage nasal persistant**
  - ✓ **Charge bactérienne nasale élevée** (> 10^3 UFC) (Verhoeven PO, 2012)
  - ✓ Durée de colonisation **> 154 j** (van Belkum A *et al.* 2009)
  - ✓ **Affinité particulière pour une souche de *S. aureus*** (van Belkum A, 2009)
  - ✓ **Risque + élevé d'infection** à *S. aureus*
    - ➢ dialyse péritonéale (Nouwen JL, 2005)
    - ➢ chirurgie orthopédique (Kalmeijer MD, 2002)
    - ➢ Hémodialyse (Verhoeven PO, 2015)
- **Déterminants multifactoriels** : hôte, environnement, virulence bactérienne

Wertheim *et al*. 2005; Verhoeven et al. 2013

De la colonisation à l'infection de cathéter à *S. aureus*

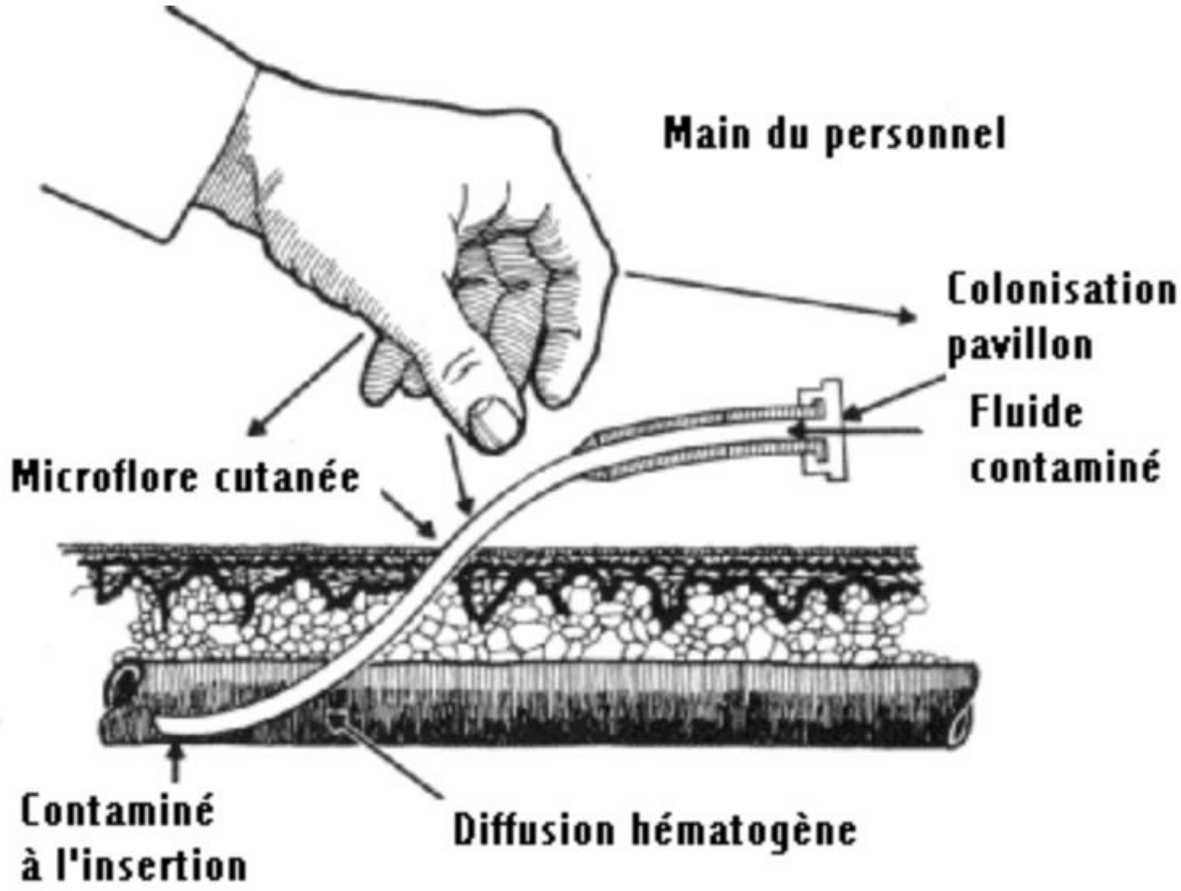


Lancet Infect Dis2005;5:751-62



De la colonisation à la **contamination** du cathéter

- **Contamination extra-luminale**
  - principale voie de contamination
  - la plus précoce.
  - initiale (pose) ou secondaire (migration des micro-organismes)
- **Contamination endo-luminale**
  - plus tardive
  - prédominante si pose > 7 jours
  - Facteurs favorisants : manipulations des lignes, branchements ou injections.
- **Colonisation de la portion intra-vasculaire**
  - favorisée par thrombus au niveau du KT



De la colonisation à la **contamination** du cathéter

- **Contamination extra-luminale**
  - principale voie de contamination
  - la plus précoce.
  - initiale (pose) ou secondaire (migration des micro-organismes)
- **Contamination endo-luminale**
  - plus tardive
  - prédominante si pose > 7 jours
  - Facteurs favorisants : manipulations des lignes, branchements ou injections.
- **Colonisation de la portion intra-vasculaire**
  - favorisée par thrombus au niveau du KT

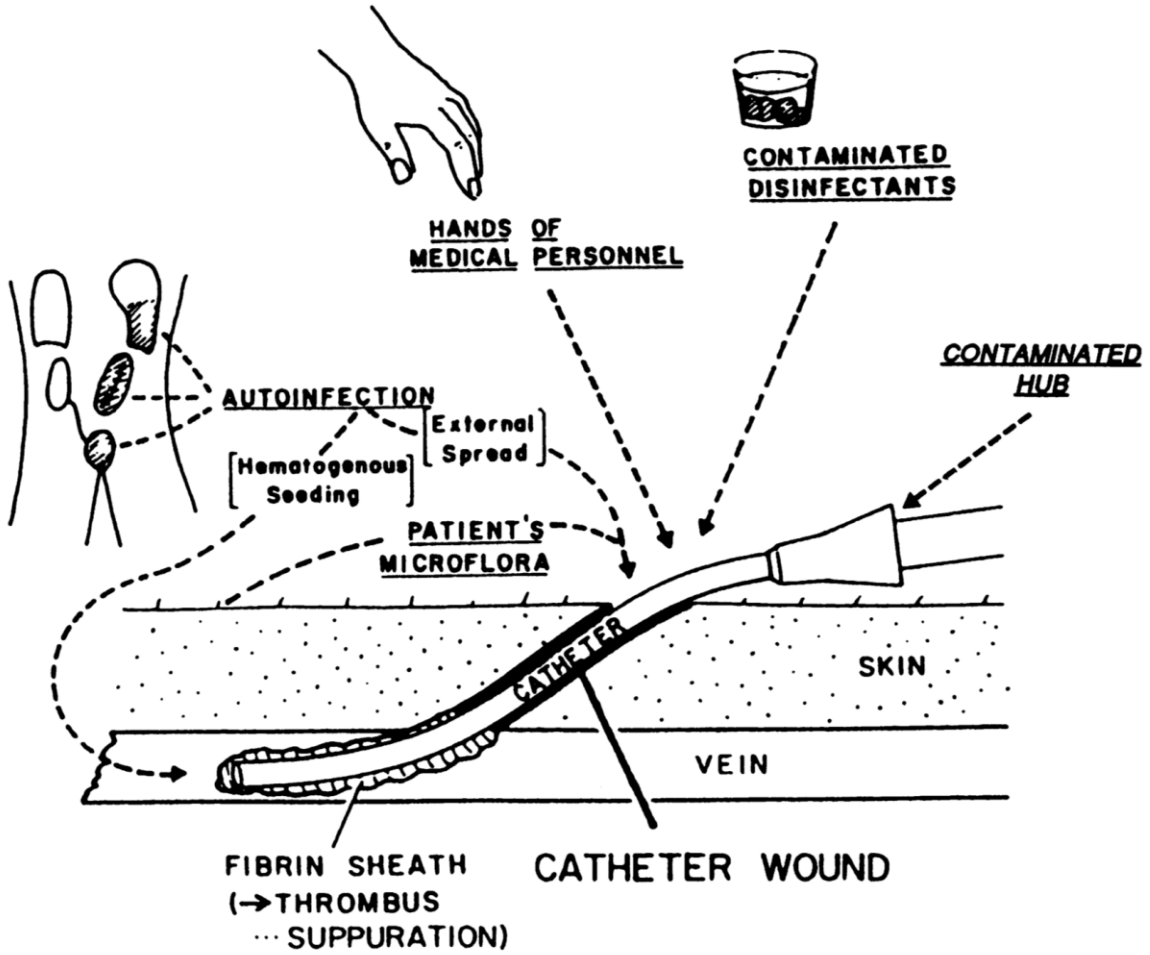
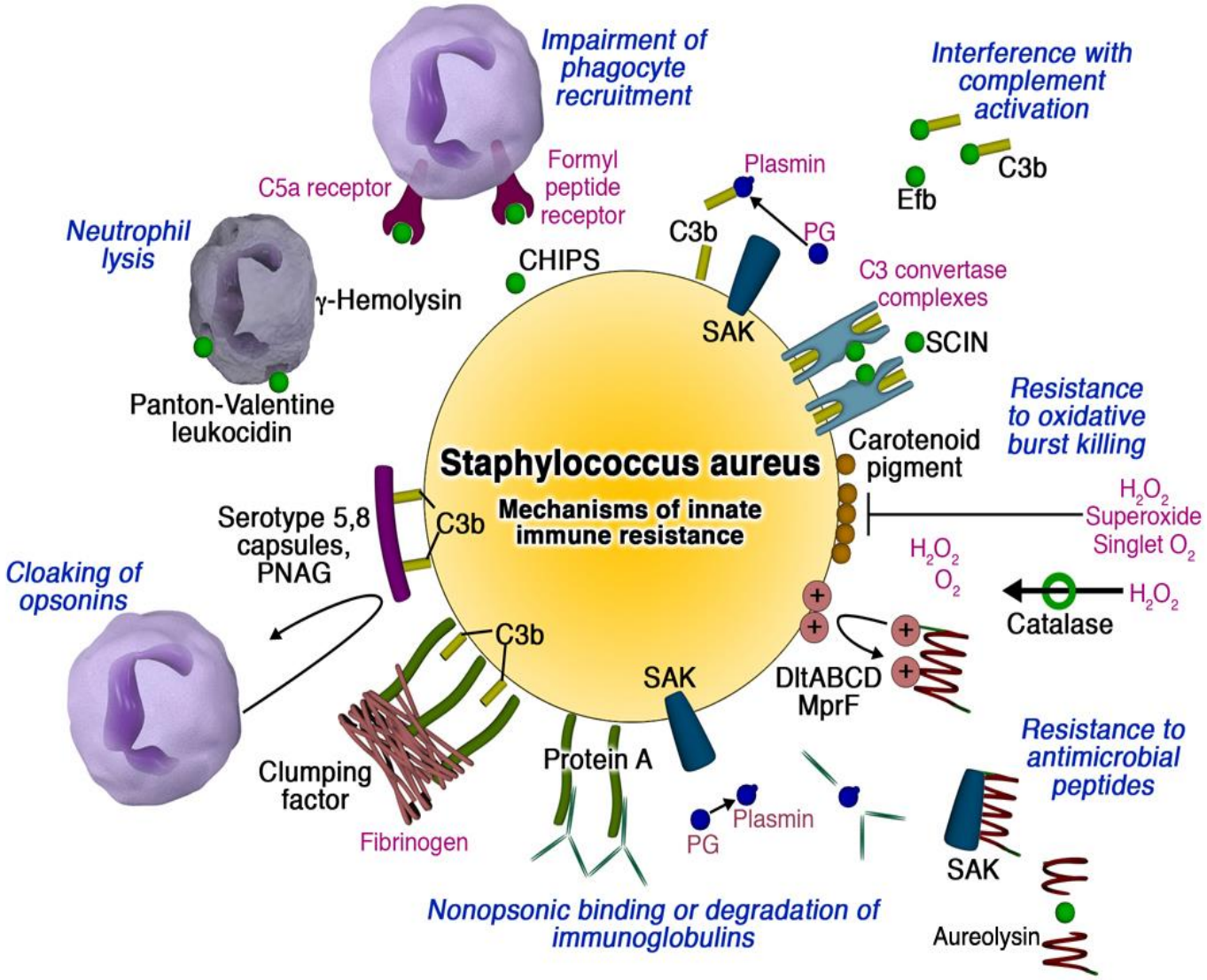


FIG. 3. Sources of catheter-related infections. Adapted from reference 107 with permission.

Echappement au système immunitaire



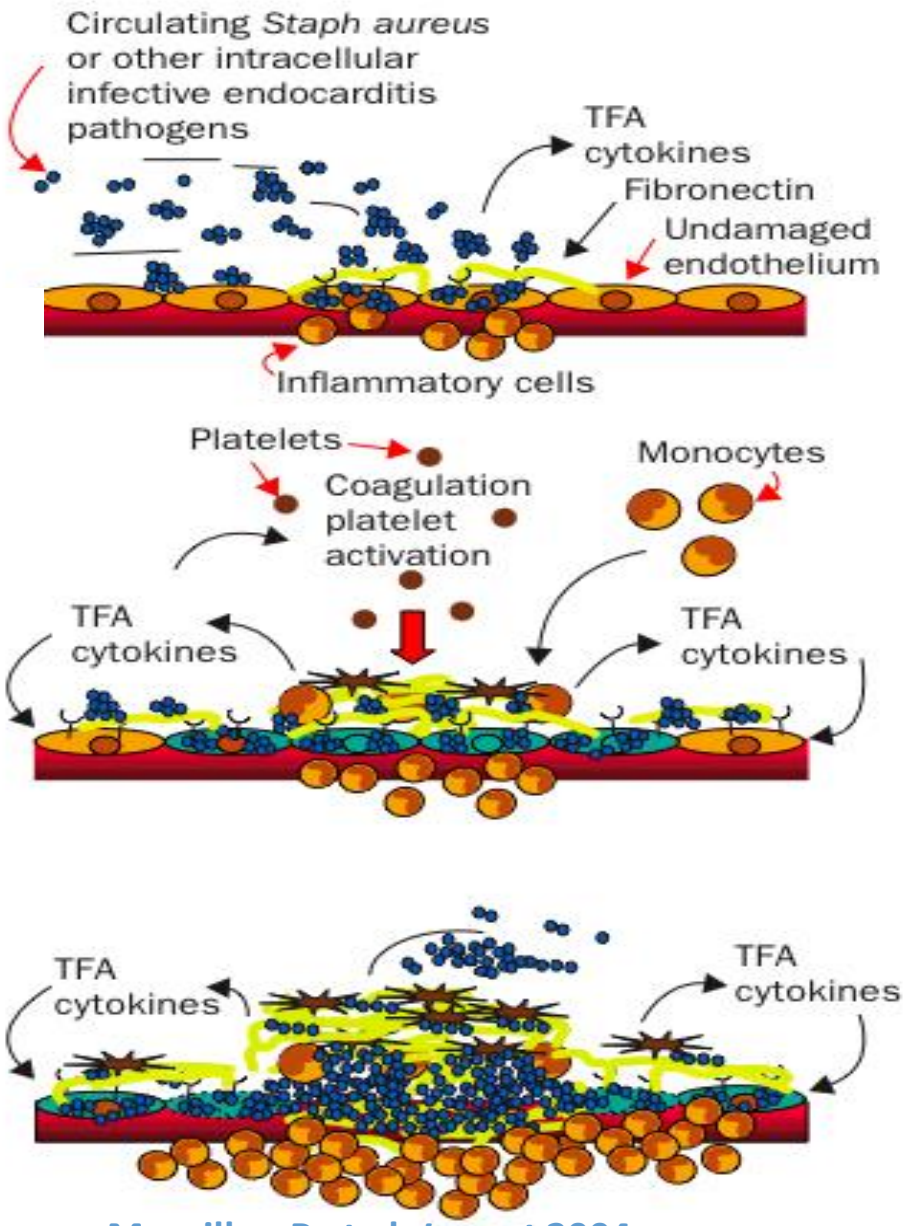
. Protéine A : lie le fragment Fc des Ig et empêche l'opsonisation et la phagocytose

. Exopolysaccharide : formation de biofilm

. Leucocidines : lyse des polynucléaires

. Catalase : détoxification des radicaux libres

Cathéters et **microthrombus**



Moreillon P et al. *Lancet* 2004

Pose KT =

- ✓ **rupture de la barrière cutanée**
- ✓ **microlésions de l'endothélium vasculaire**

ClfA: clumping factor A

- nécessaire à l'induction et à la persistance de l'infection
- isolat *clfA* - moins virulents qu'un isolat isogénique *clfA* +
- *Lactotoccus lactis clfA* + devient pathogène
- bénéfice de l'utilisation d'anticorps anti-ClfA

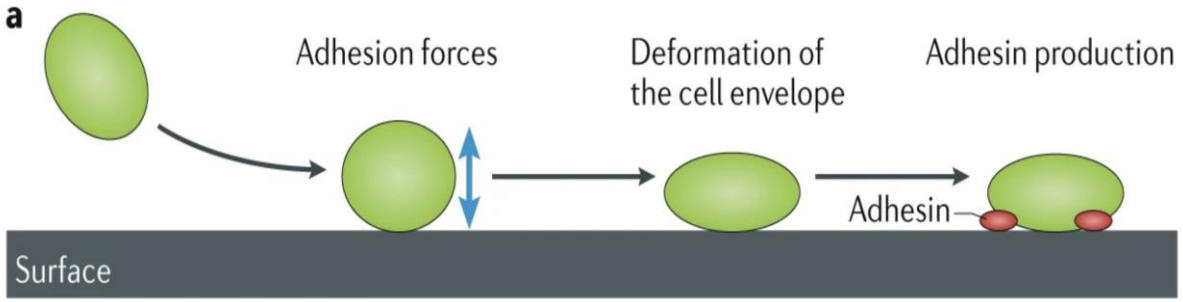
FnBP: fibronectin binding protein

- favorise l'internalisation dans les cellules endothéliales

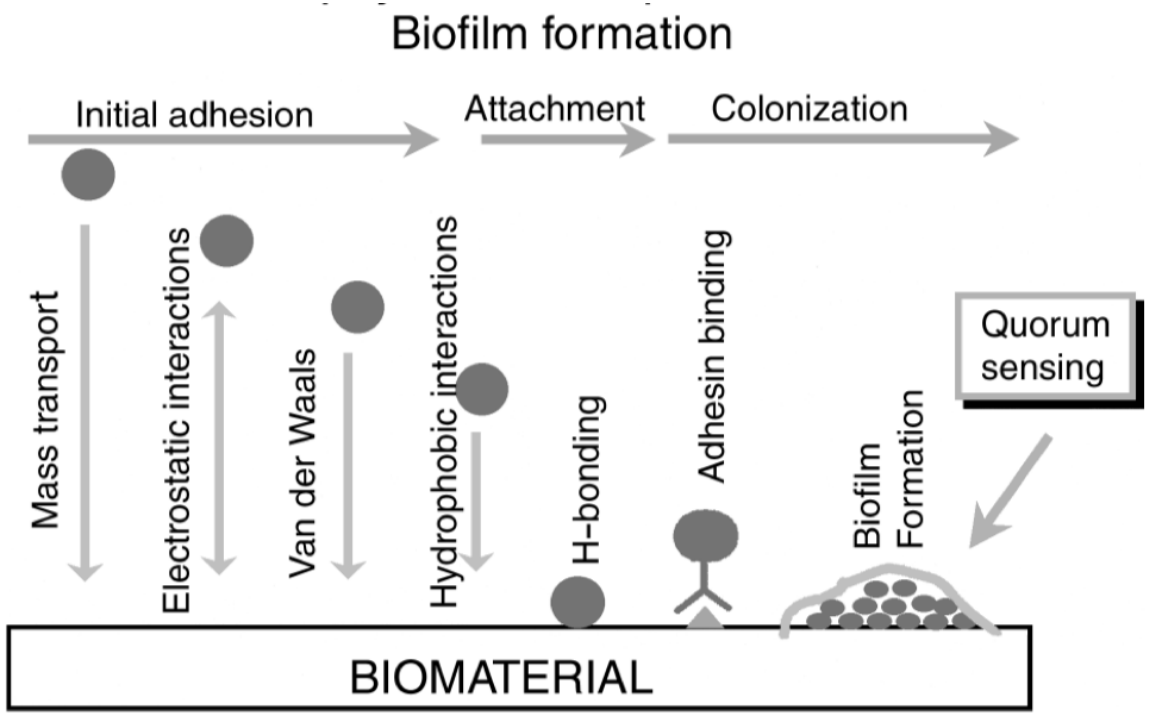
Tous les isolats de *S. aureus*
(MRSA comme MSSA)
possèdent les gènes codant ClfA et FnBP

Cathéters et **biofilm**

- Processus de colonisation du cathéter :
  1. **Adhérence initiale** :
     - phénomènes électrostatiques
     - hydrophobicité des bactéries
  2. **Formation du biofilm**
     - adhésines
     - récepteurs spécifiques de la paroi bactérienne

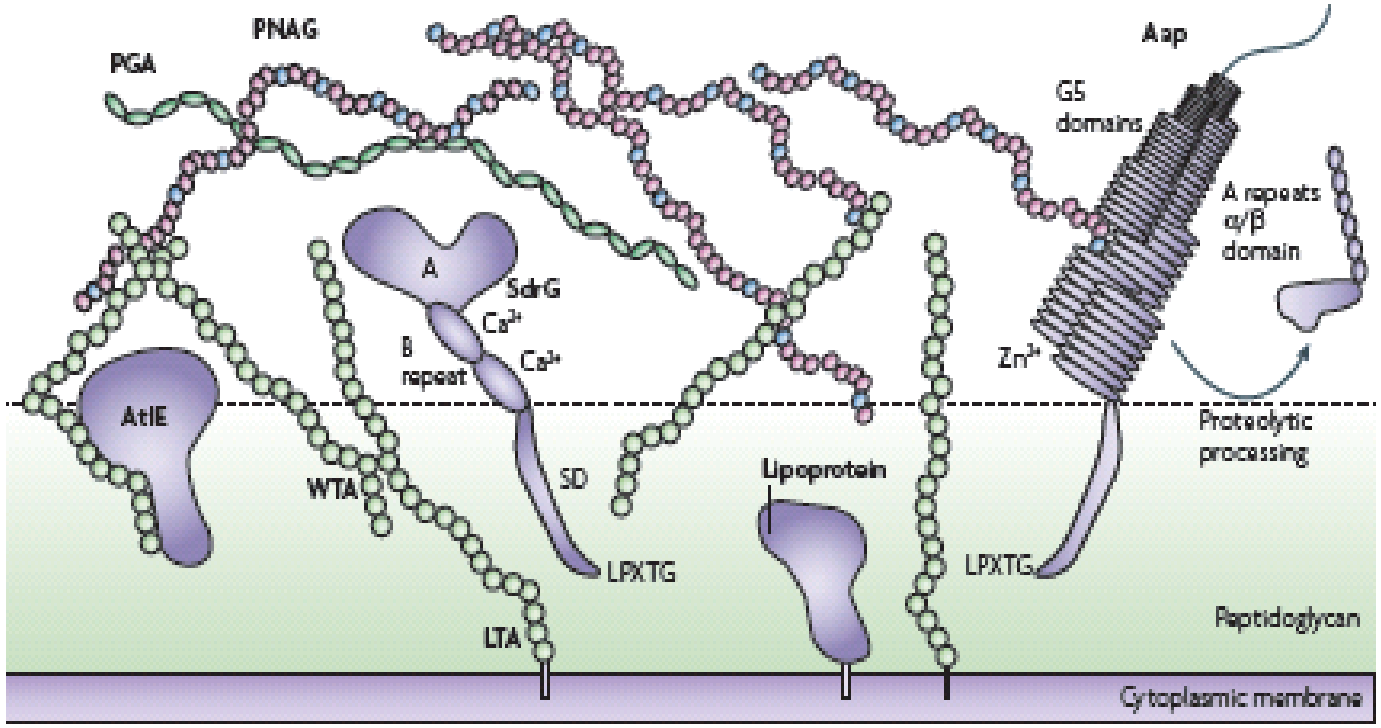


Nat Rev Microbiol 16, 616–627 (2018)



Clin Microbiol Infect 2002; 8: 256–264

Cathéters et **biofilm**



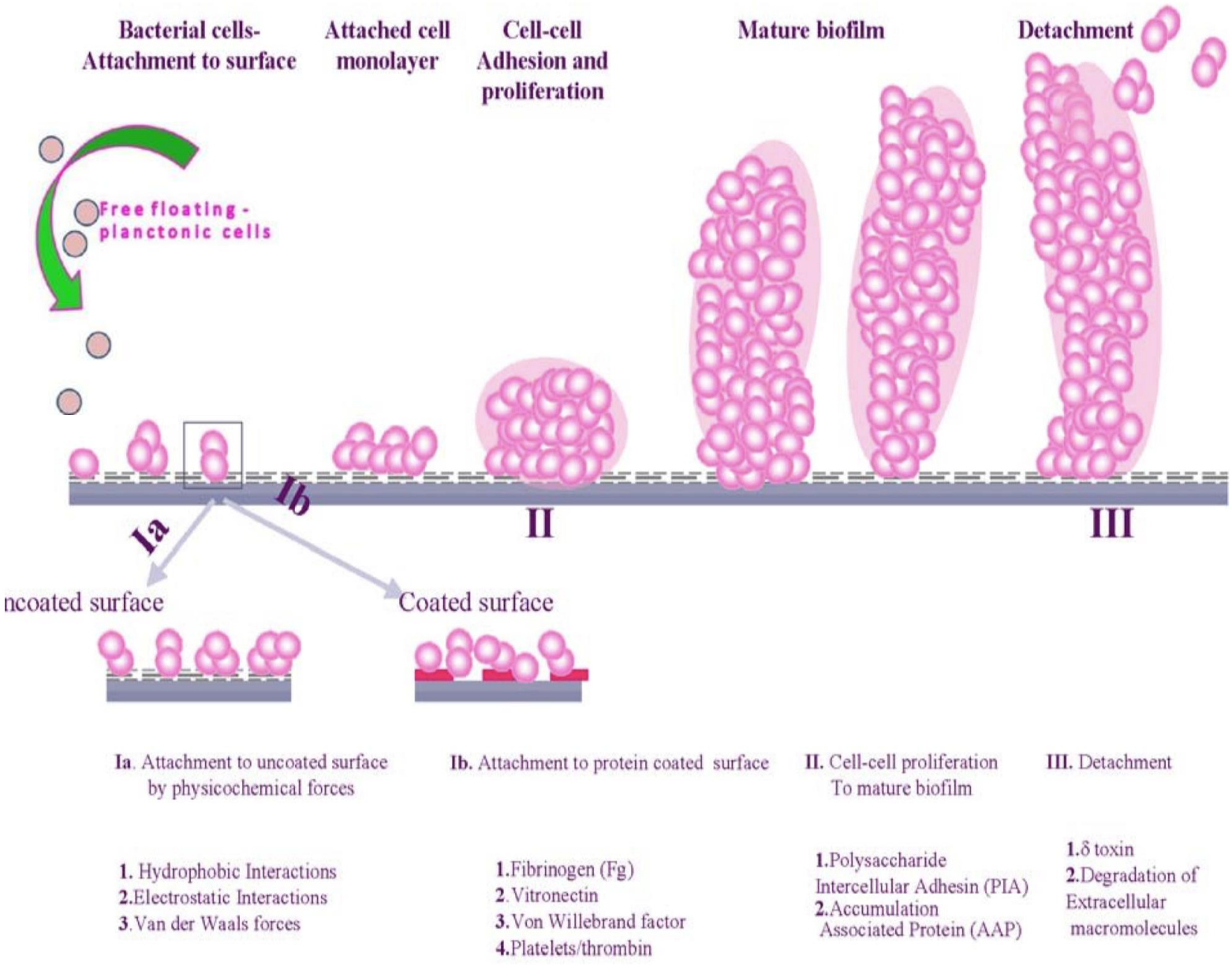
Aap = Adhesion-associated-protein
AtlE = Autolysine E
Bap = Bone-associated-protein
LTA = Lipo-Teichoic Acid

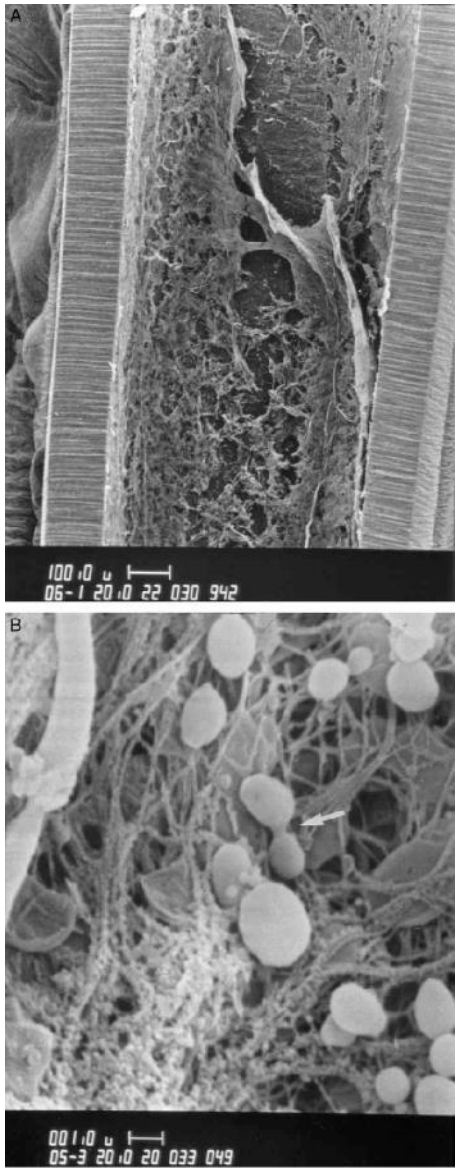
PGA = Poly-gamma-Glutamyl Acid
PNAG = Poly-N-acetyl-glucosamine ;
Sdr = Serin domain repeat
WTA = Wall Techoic Acid

Otto, M. Nat Rev Microbiol, 2009.

Cathéters et **biofilm**

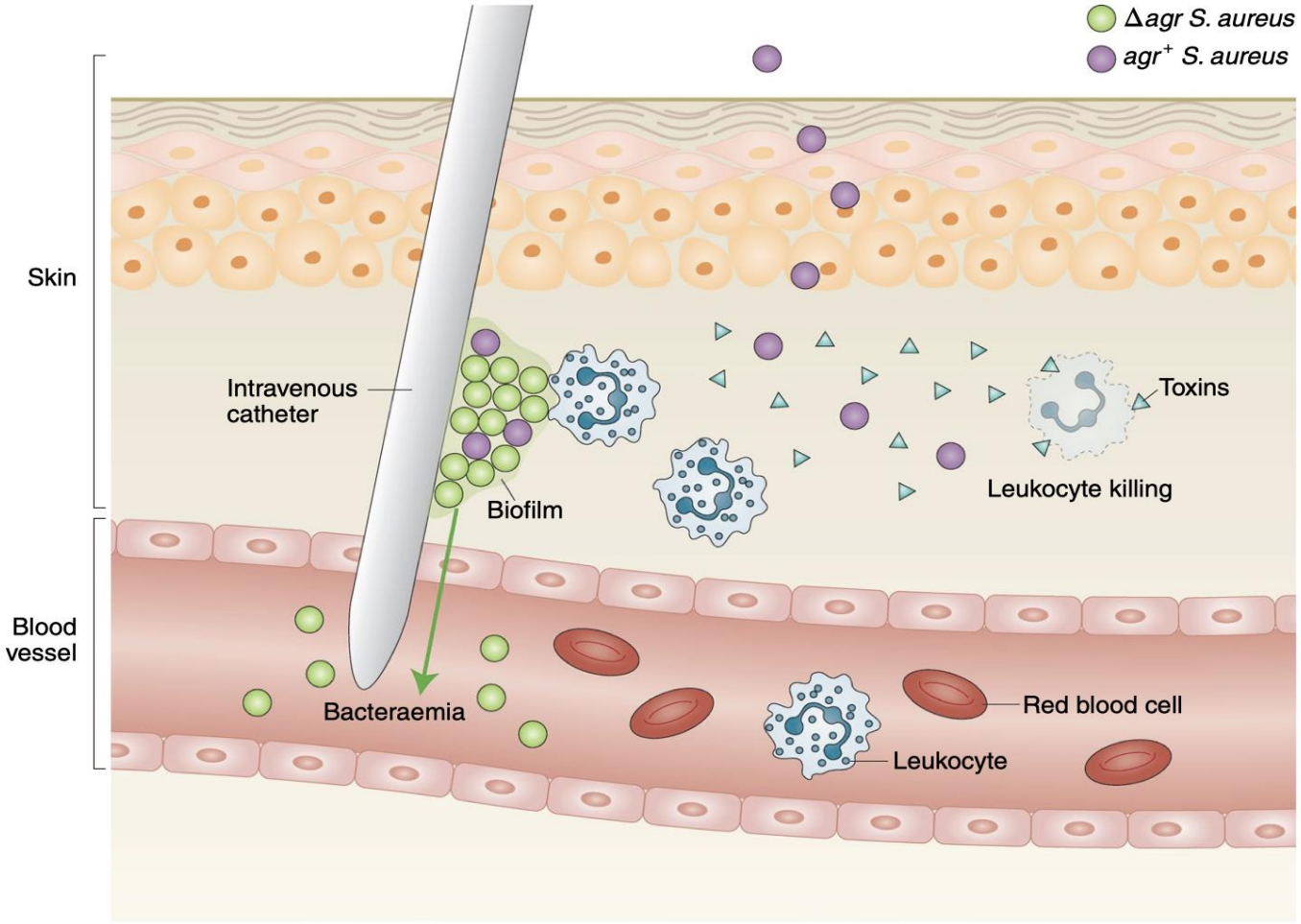
Eur Cell Mater. 2004 Dec 7;8:37-57.





Uçkay et al, Annals of medicine 2009

Cathéter et biofilm : : **modification du comportement de** *S. aureus*



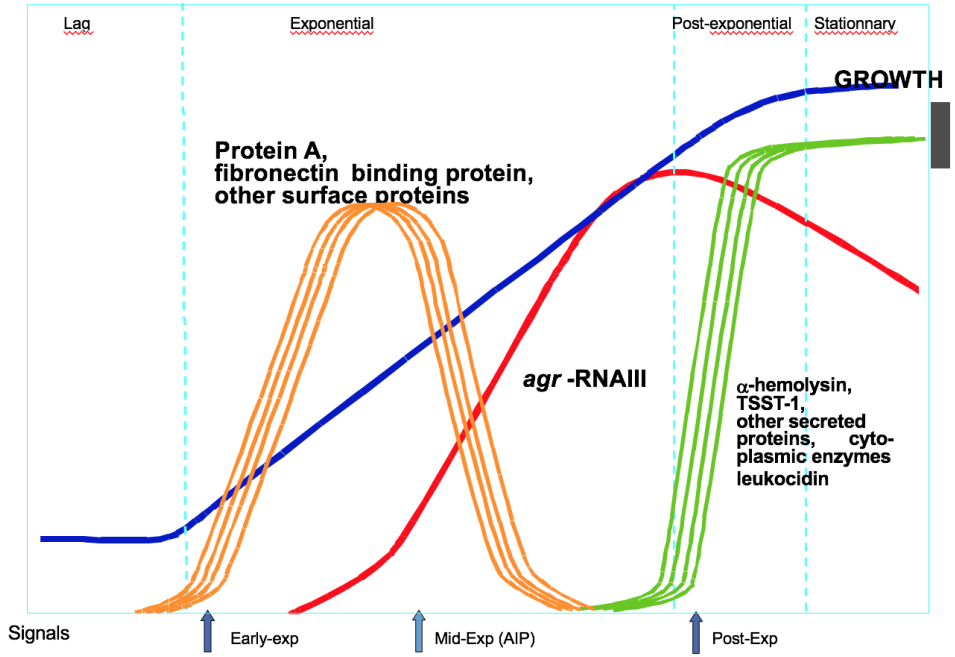
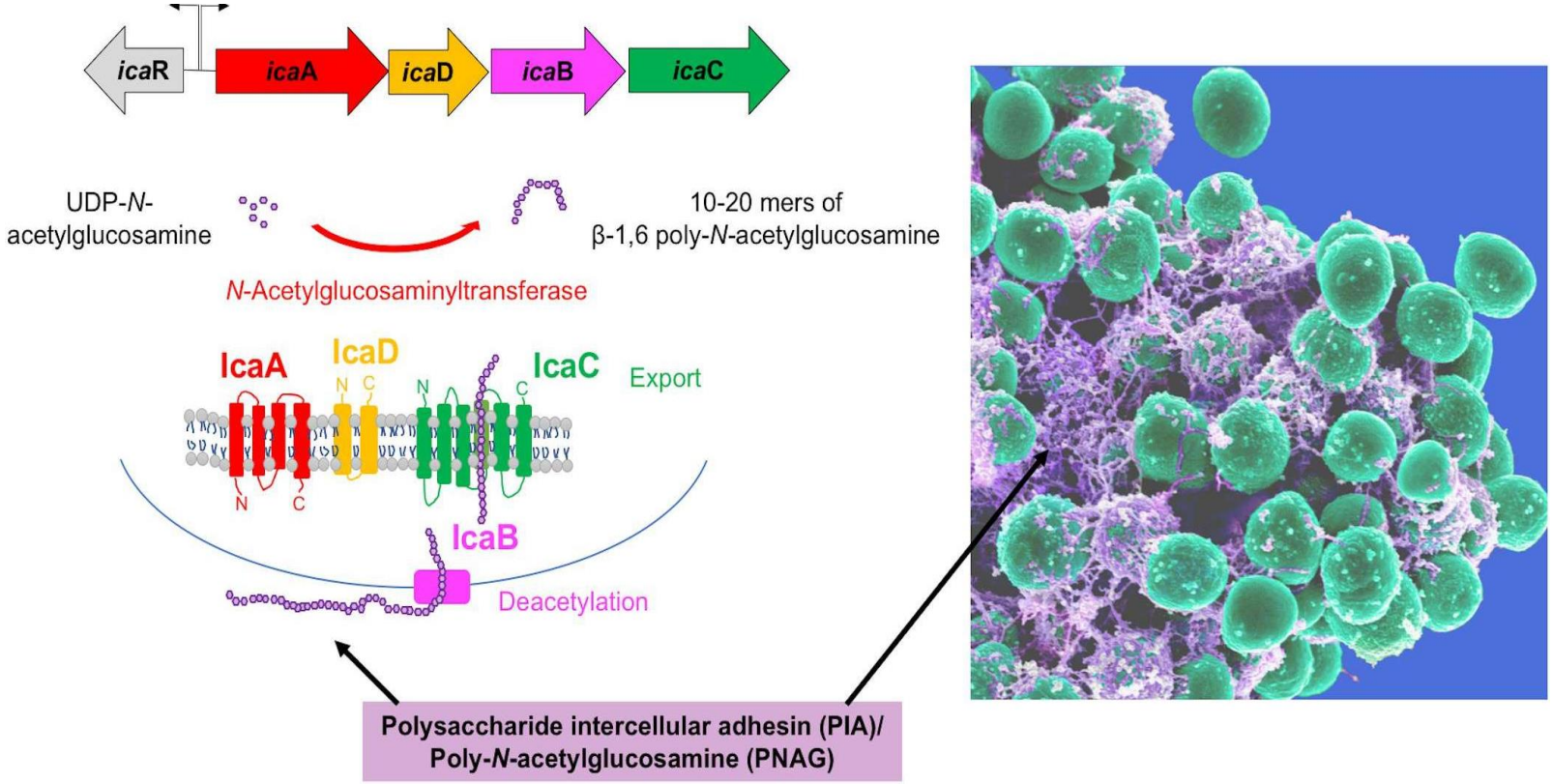


Fig. 1 | A model for Agr in biofilm-associated disease. Agr-dependent toxin release leads to the killing of host immune cells and the release of products (for example, NETs) that promote bacterial biofilm development on abiotic surfaces such as indwelling medical catheters. Emergent Agr-dysregulated strains drive the formation of denser biofilms that resist leukocyte penetration and enable bacterial persistence.

Nat Microbiol. 2019 Jul;4(7):1073-1074.

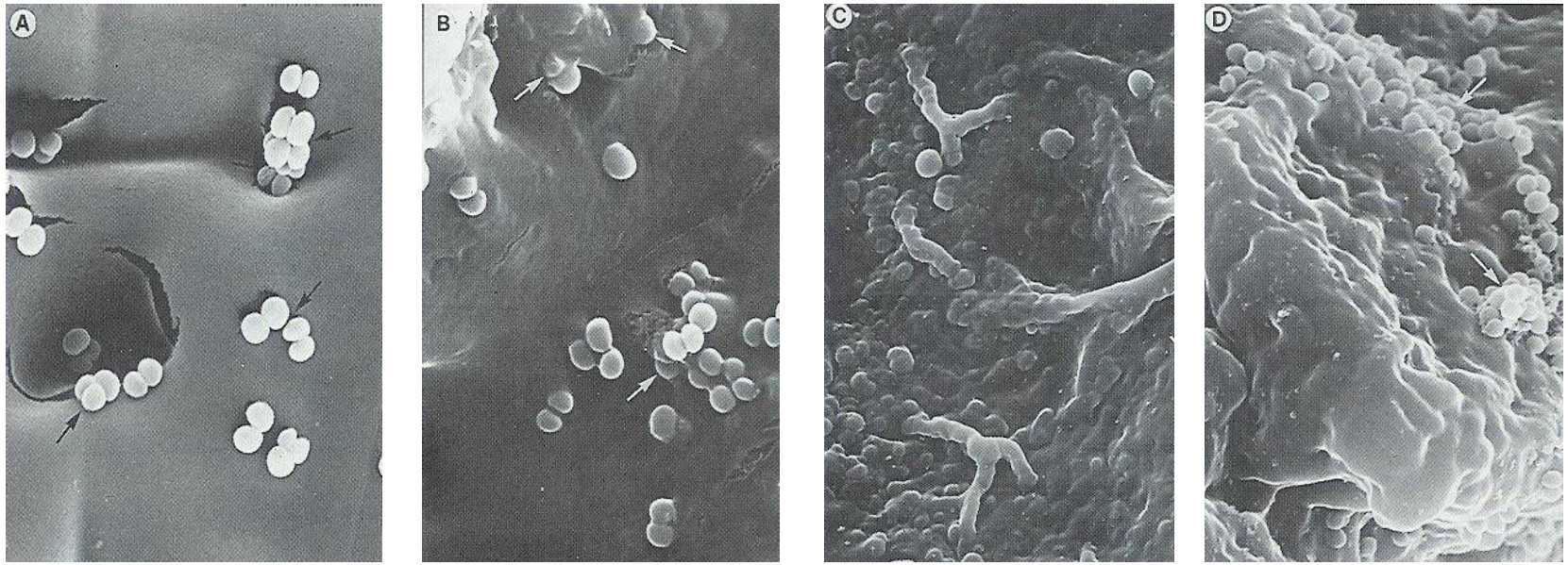
Cathéter et biofilm : **composition de la matrice**



- ✓ polysaccharide intercellular adhesion (PIA)
- ✓ exopolysaccharide
- ✓ proteins such as accumulation-associated protein (Aap)
- ✓ extracellular matrix binding protein (Embp)
- ✓ teichoic acids
- ✓ extracellular DNA (eDNA)
- ✓ Channels in the biofilm are formed by Phenol-soluble modulins (PSMs)

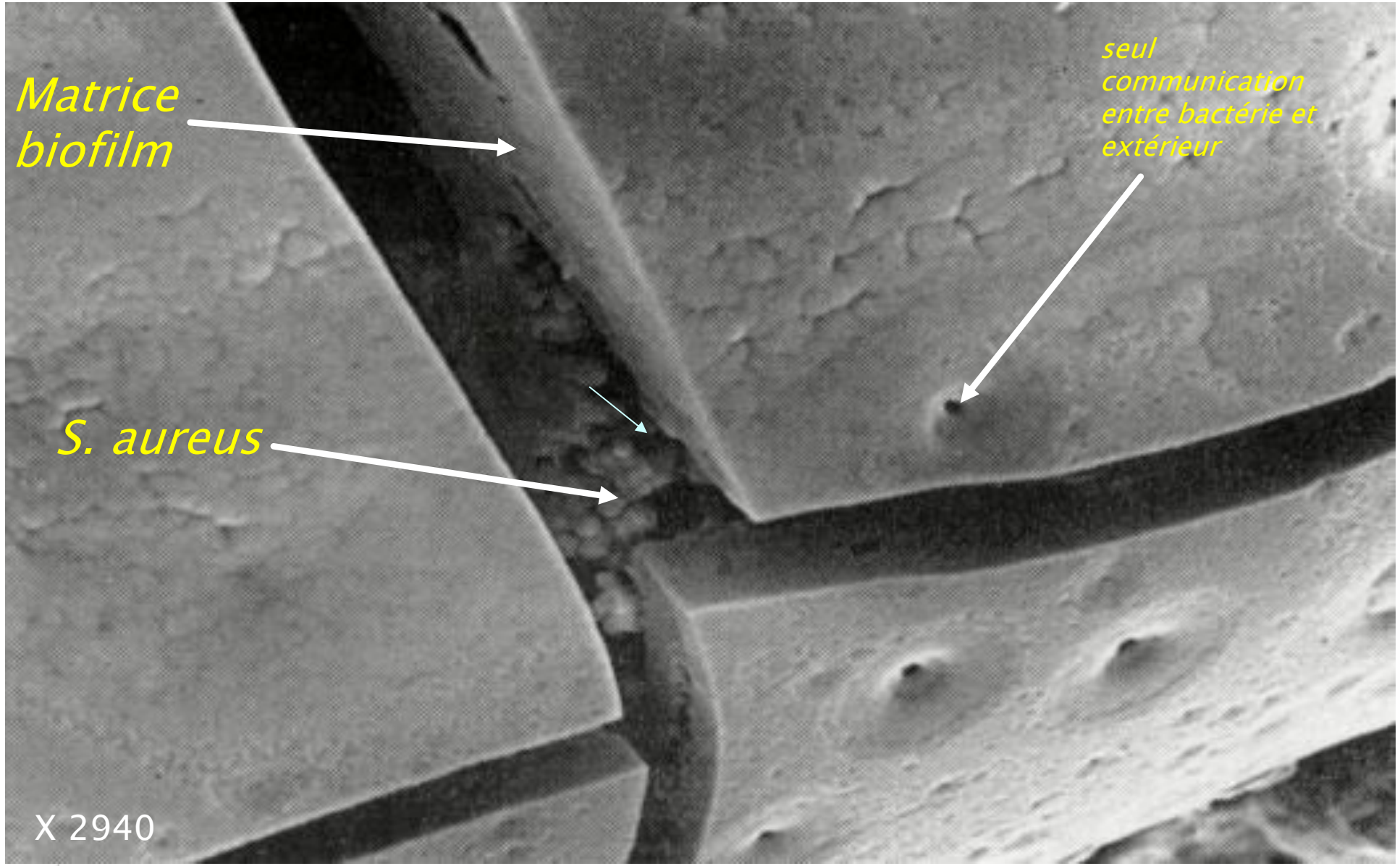
Cathéter et biofilm : **structure de la matrice *in vitro***

Bactéries IOA = +/- biofilm / intracellulaire



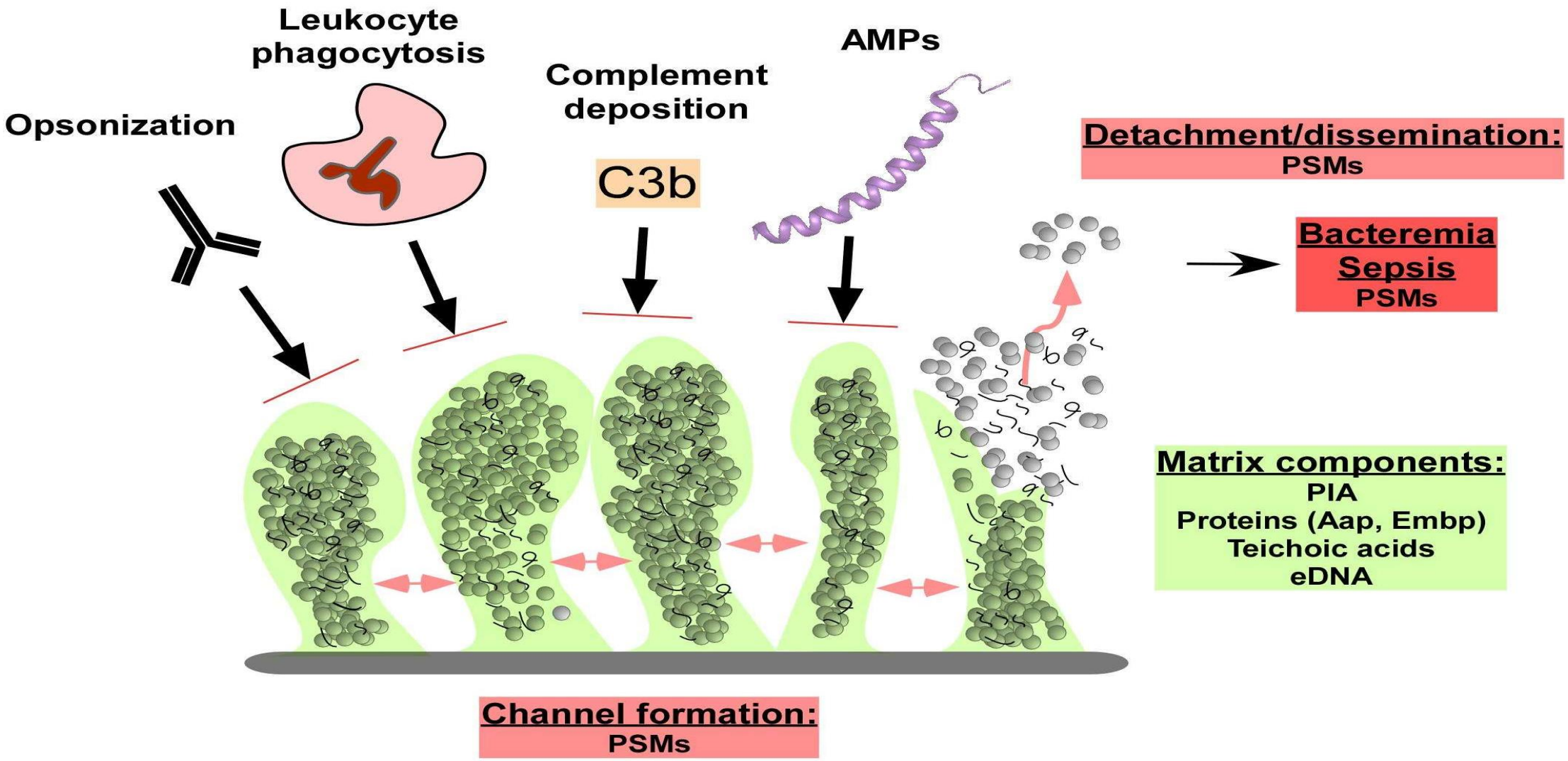
Olson, et al. J. Biomed Mater Res **1988**

Cathéter et biofilm : **structure de la matrice *in vitro***



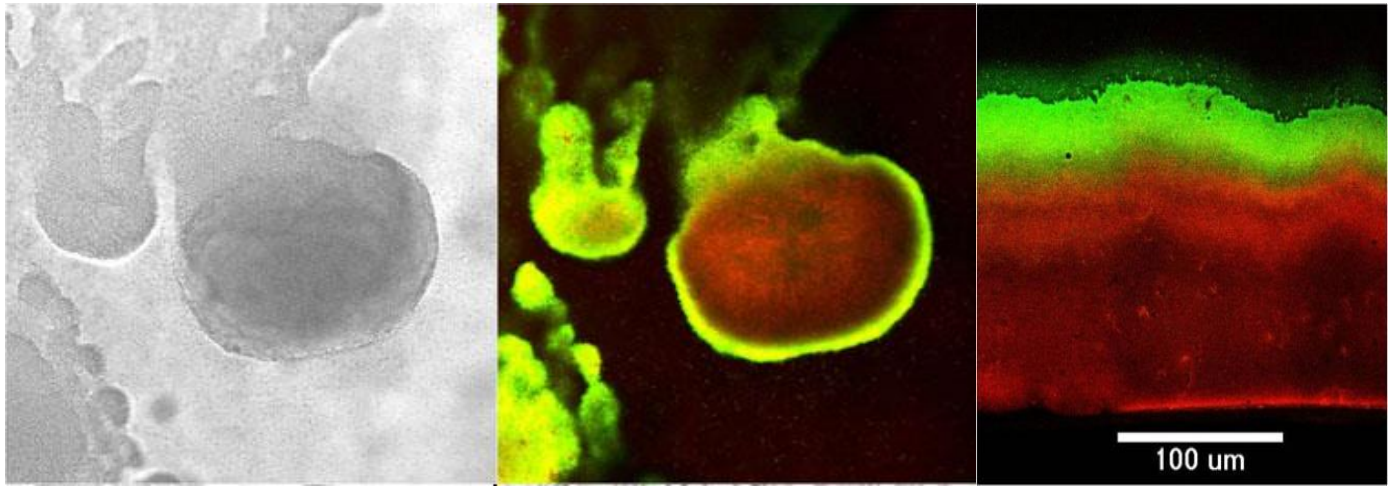
Biofilm et immunité

Front Microbiol. 2018 Feb 28;9:359.

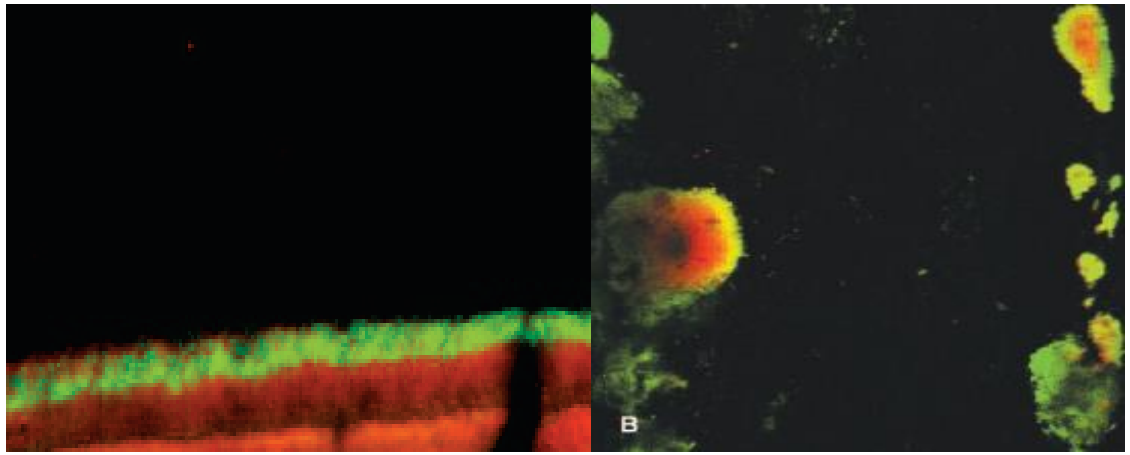


Biofilm et état métabolique des bactéries

Mesure de la synthèse protéique
Expression GFP



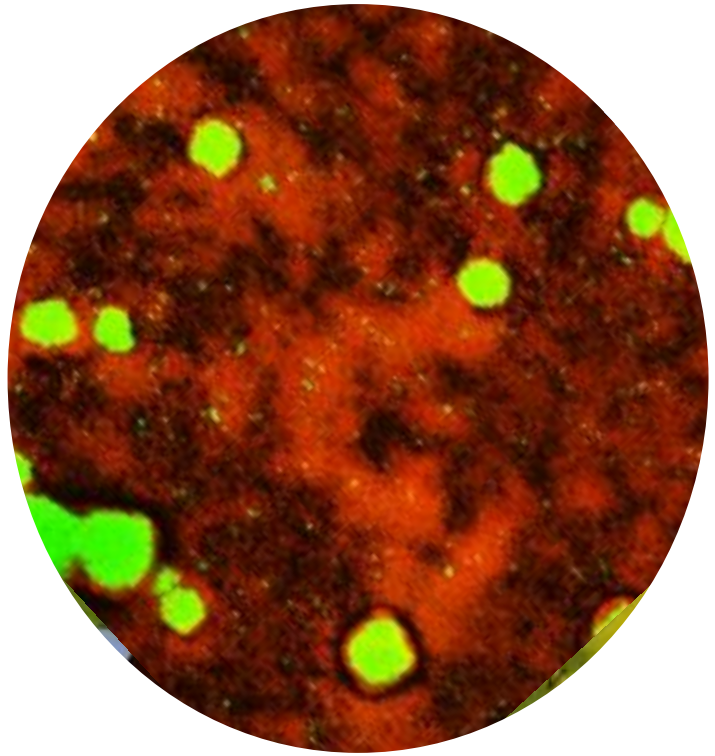
Mesure de la synthèse ADN
5 bromo2-deoxyuridine (BrdU)



… des bactéries très peu actives

Biofilm *staphylococcus* *(Rani et al.,*, 2007)

Biofilm et antibiotiques



microcolonies biofilm = le village gaulois

antibiotiques = les romains

Biofilm et antibiotiques

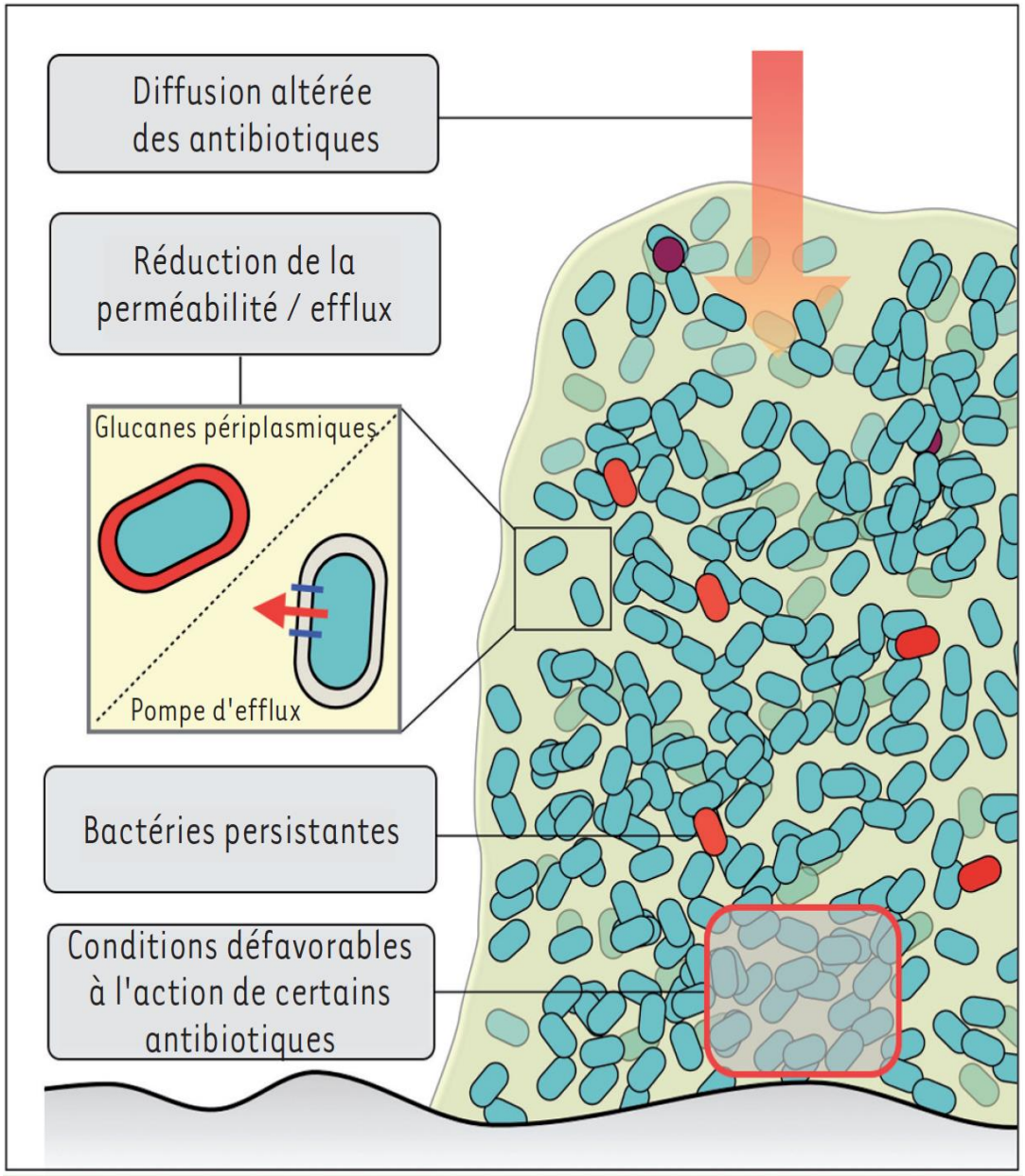
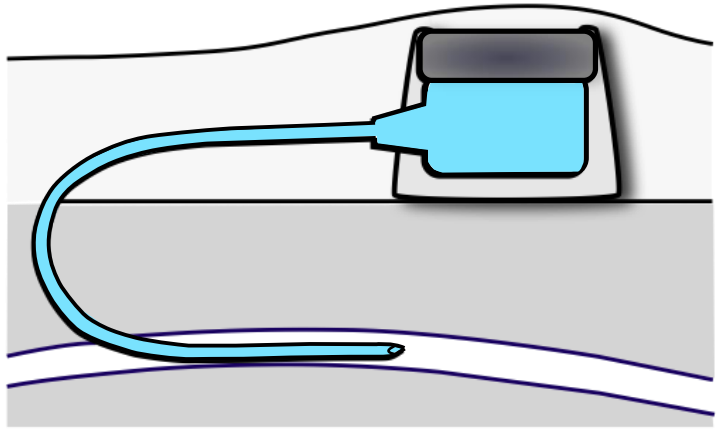


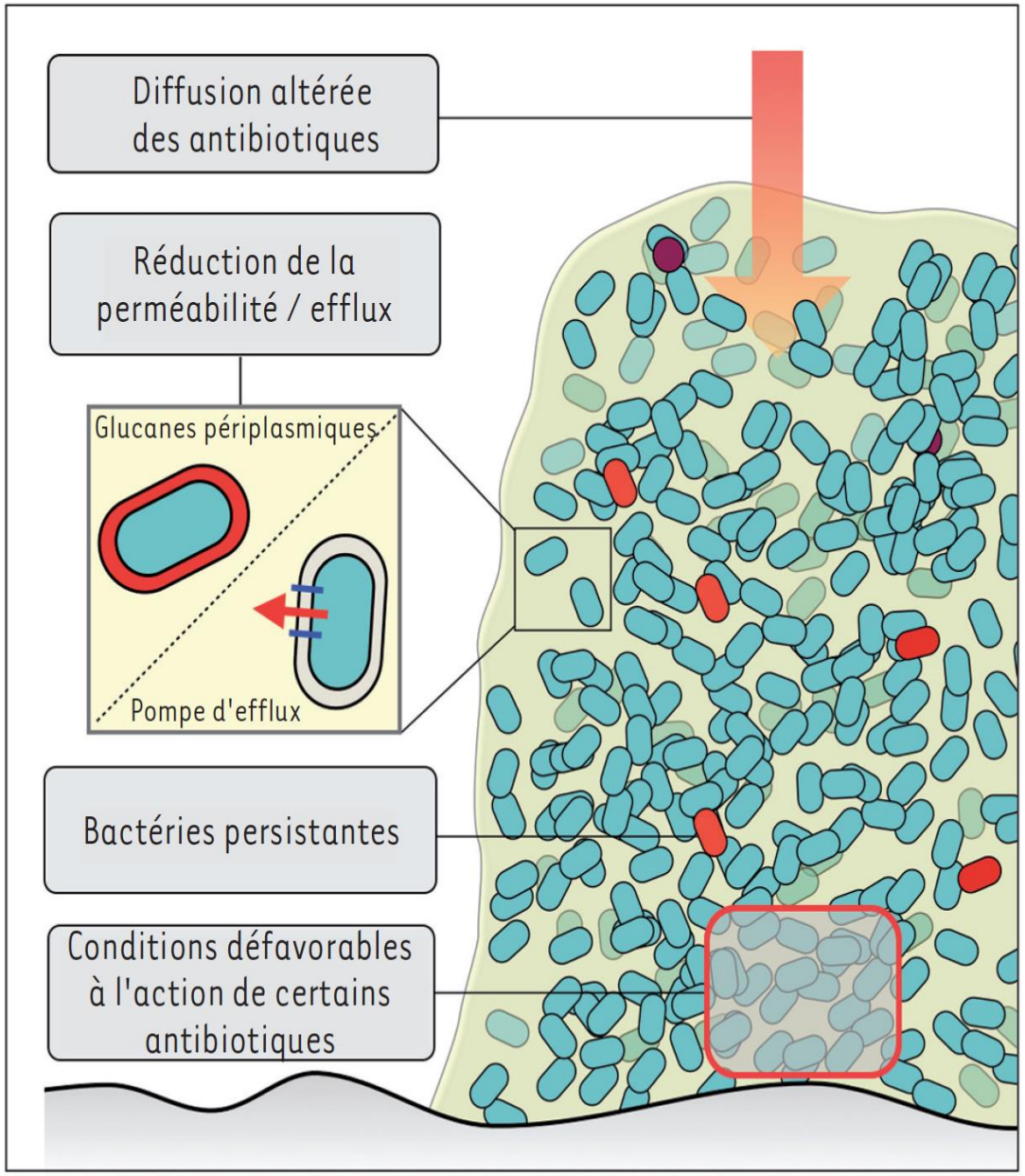
Table 1. Susceptibility testing results for planktonic and adherent (biofilm) staphylococci

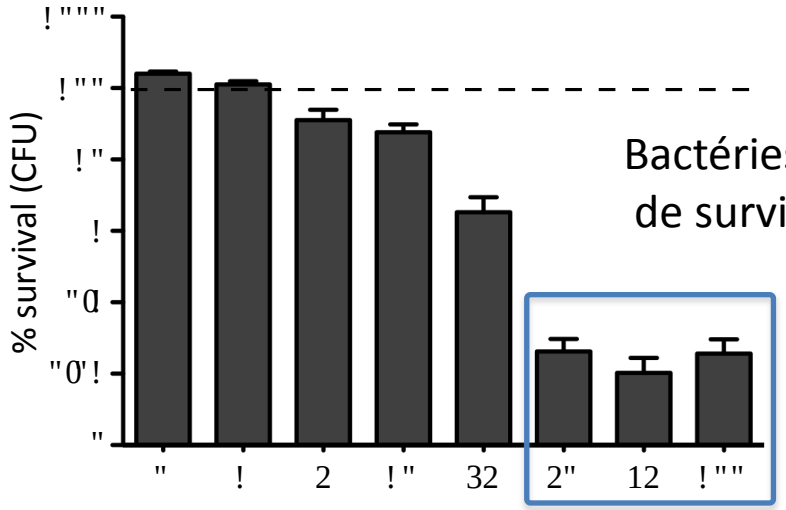
Drug	*S. epidermidis* (ATCC35984)				*S. aureus* (ATCC35556)			
	Planktonic organisms		Presence of biofilm		Planktonic organisms		Presence of biofilm	
	MIC (mg/l)	MBC (mg/l)	MBIC (mg/l)	MBEC (mg/l)	MIC (mg/l)	MBC (mg/l)	MBIC (mg/l)	MBEC (mg/l)
Daptomycin	0.5	0.5	4	8	0.25	0.25	4	16
Vancomycin	2	2	4	8	1	1	4	16

MBIC, minimum biofilm inhibitory concentration; MBEC, minimum biofilm eradication concentration.



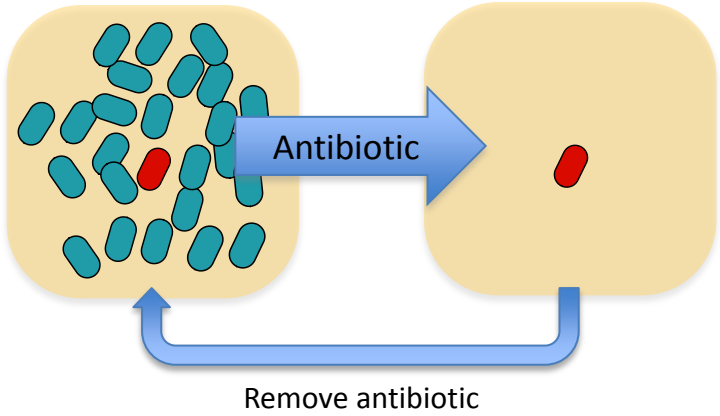
Biofilm et antibiotiques

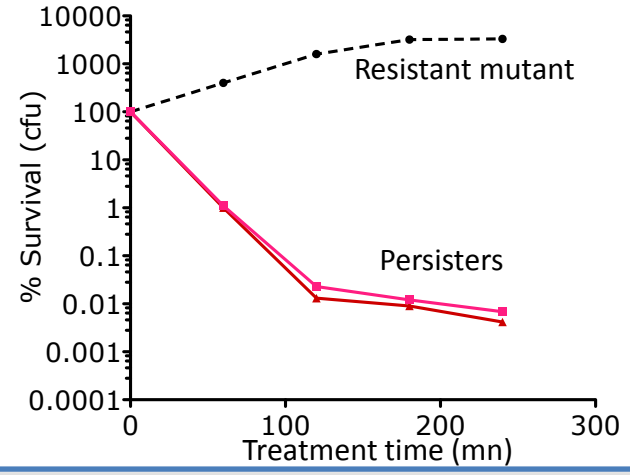




Bactéries tolérantes capables de survivre en présence de 1000x CMI

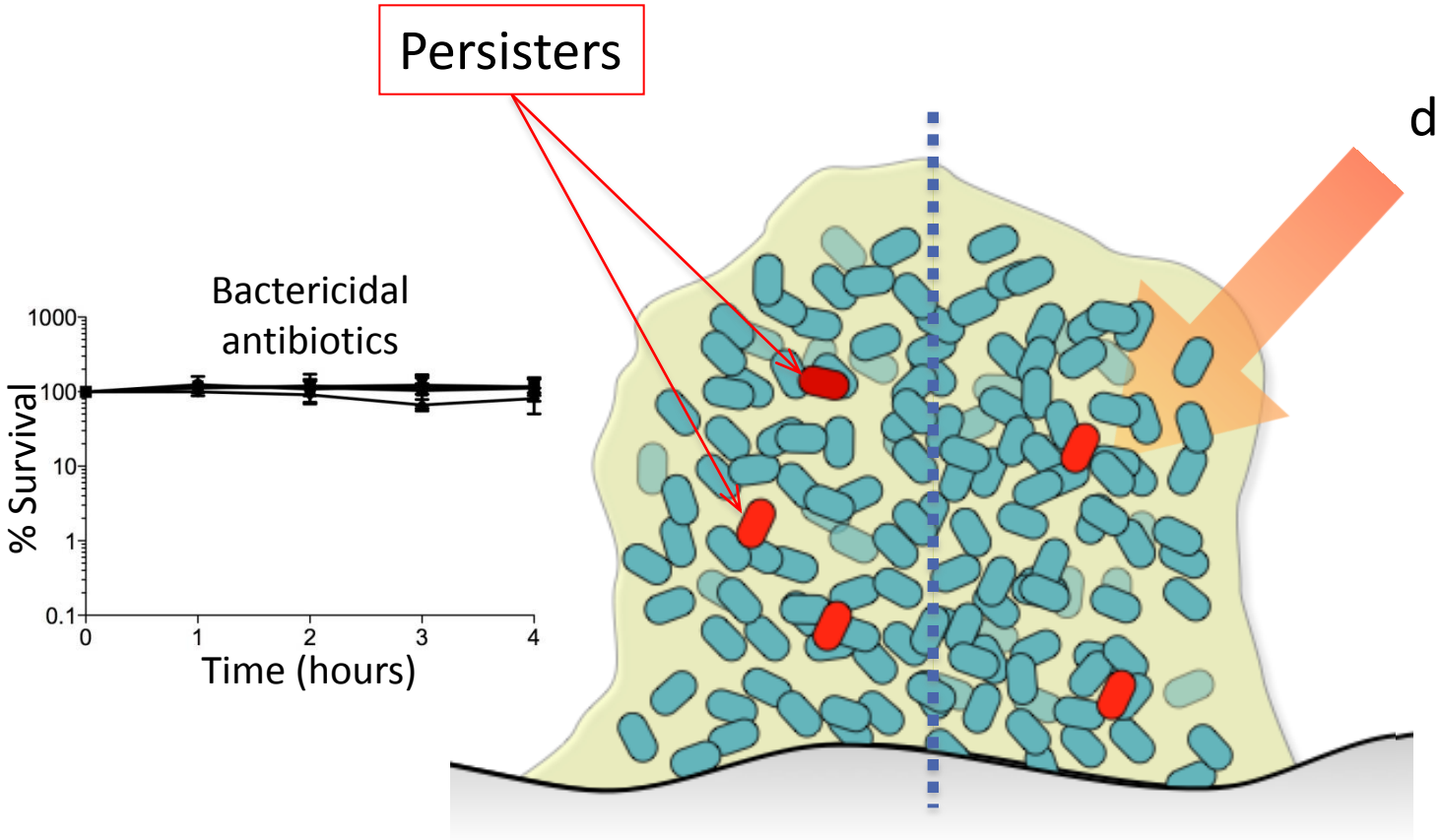
Les persisters ne sont pas des mutants





Lewis, K. 2007 Nat Rev Microbiol ; Lebeaux, D. *et al* 2014 MMBR

Comment lutter contre ces persisters ?



Lebeaux, D. *et al* 2015 J Antimicrob Chemother
Lebeaux, D. *et al* 2014 J Infect Dis
Chauhan A., Lebeaux, D. *et al* 2012 Antimicrob Agents Chemother
Chauhan A., Lebeaux, D. *et al* 2012 PLoS One

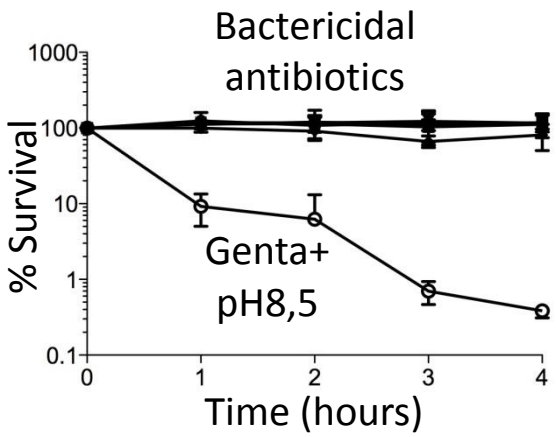
D'après Lebeaux et al.

Comment lutter contre ces persisters ?

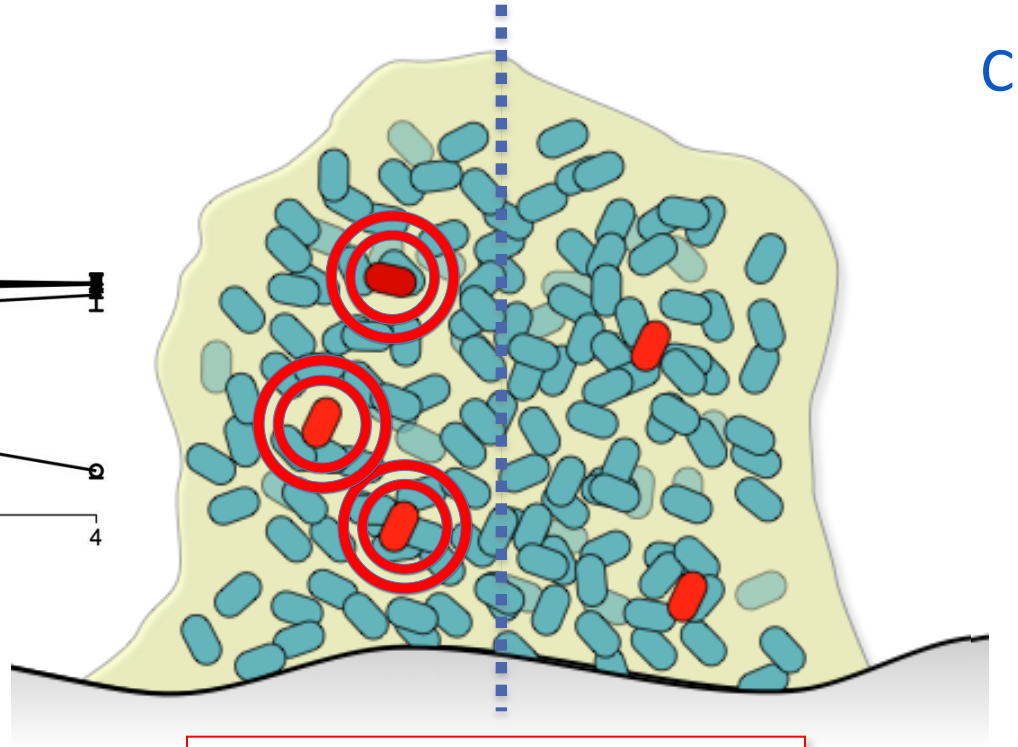
Anti-persisters?

Anti-matrice
+ antibiotiques ?

Modifier le pH



Chélater ?



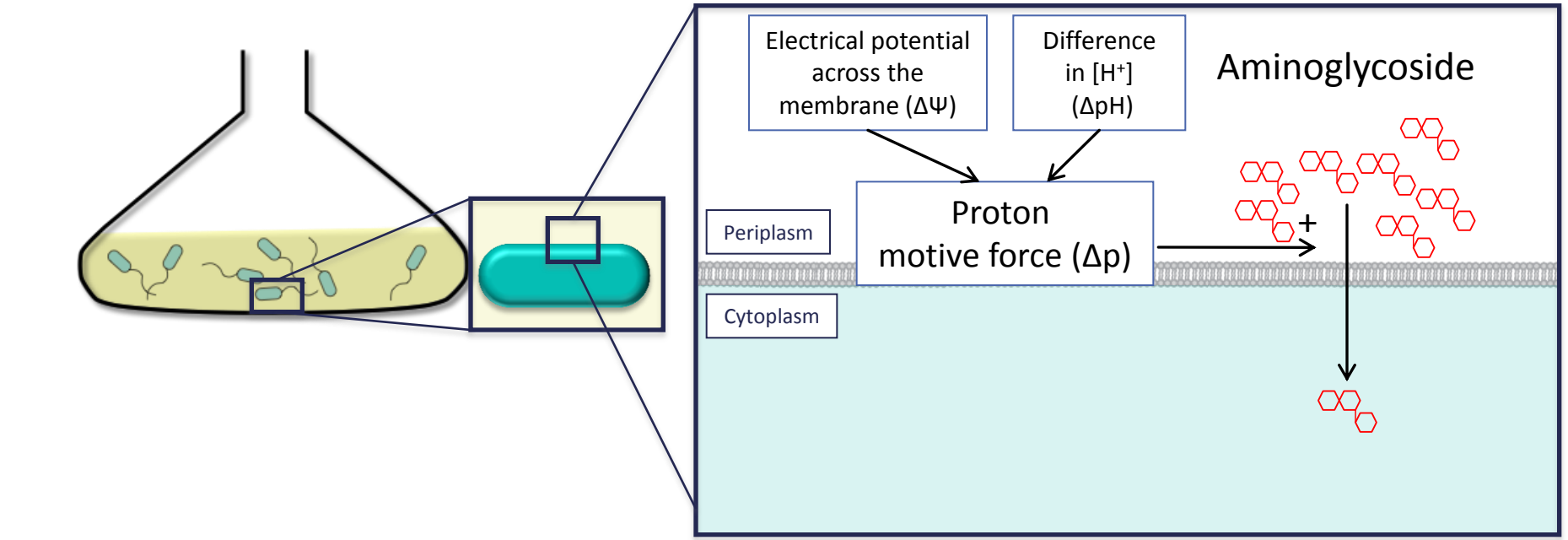
Gentamicin + EDTA

Lebeaux, D. *et al* 2015 J Antimicrob Chemother
Lebeaux, D. *et al* 2014 J Infect Dis
Chauhan A., Lebeaux, D. *et al* 2012 Antimicrob Agents Chemother
Chauhan A., Lebeaux, D. *et al* 2012 PLoS One

Banin, E. *et al* AEM 2006
Turakhia, M.H. *et al* AEM 1983

D'après Lebeaux et al.

Comment lutter contre ces persisters ?



Organism tested	No. of strains tested	Median MIC (μg/ml) at indicated pH					
		5.0	5.2	5.5	6.5	7.4	8.5
Klebsiella	13	125		62	7	2	0.5
Proteus	5	175		150	12	6	0.7
Enterobacter	10	162		40	5	2.5	0.5
Serratia	13	160		150	9.5	3	0.6
S. aureus	36		25	12.5		0.19	0.09

Sabath,L.D. *et al* 1974 Antimicrob Agents Chemother
Taber, H.W. *et al* 1987 Microbial Rev
Lebeaux, D. *et al* 2014 J Infect Dis

D'après Lebeaux et al.

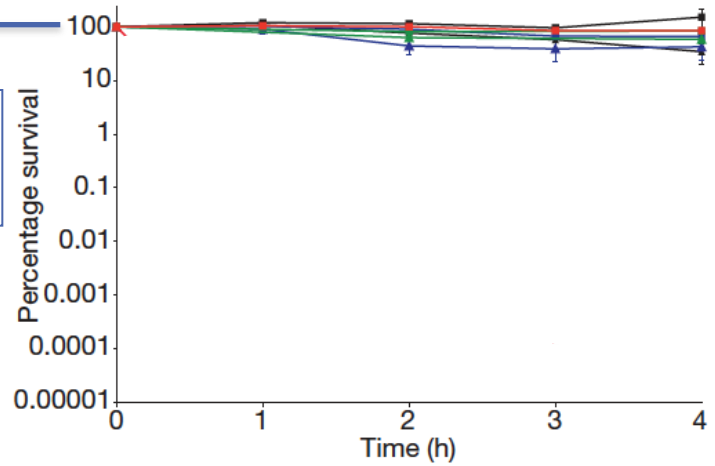
How can we eradicate biofilms/persisters ?

Adjuvant

aminosides

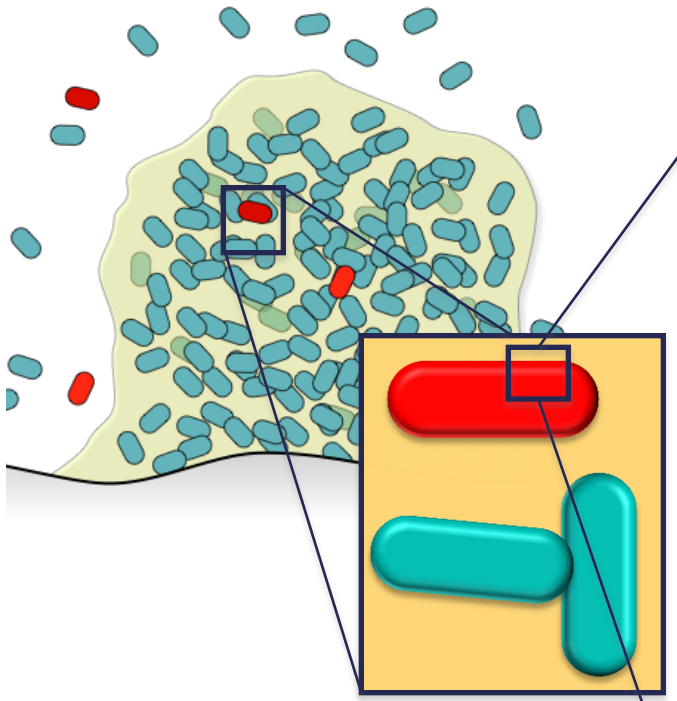
Sucres

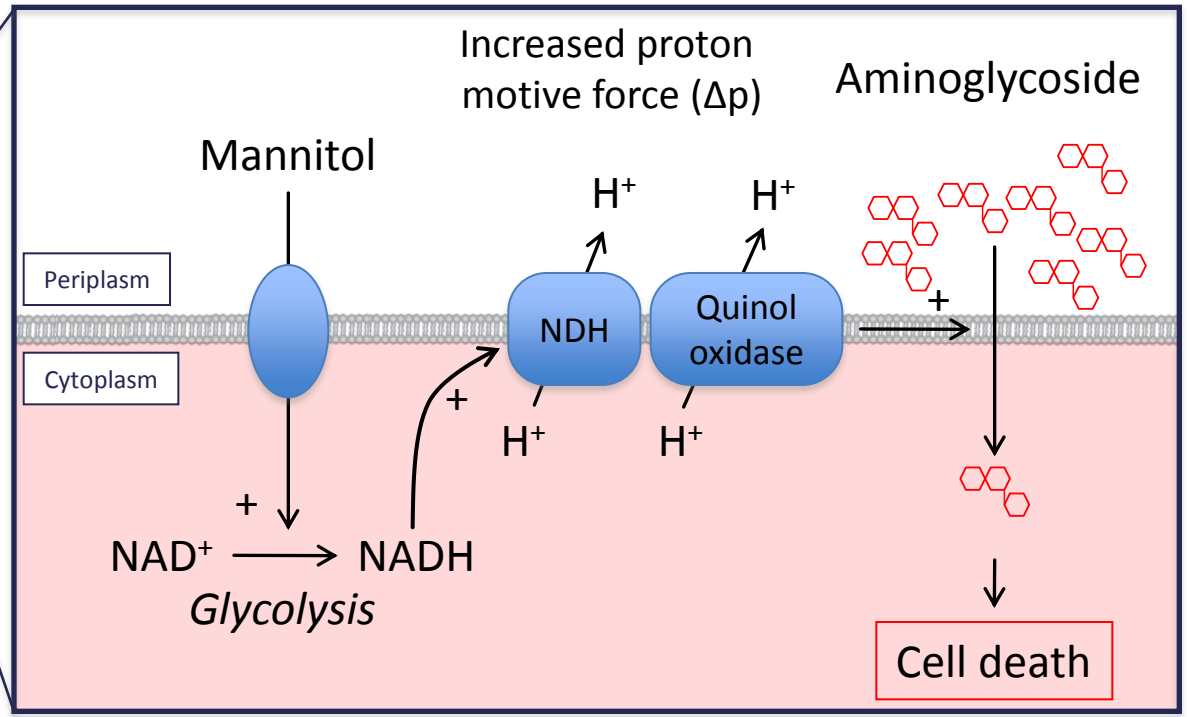
100% persisters



Antibiotique Seul

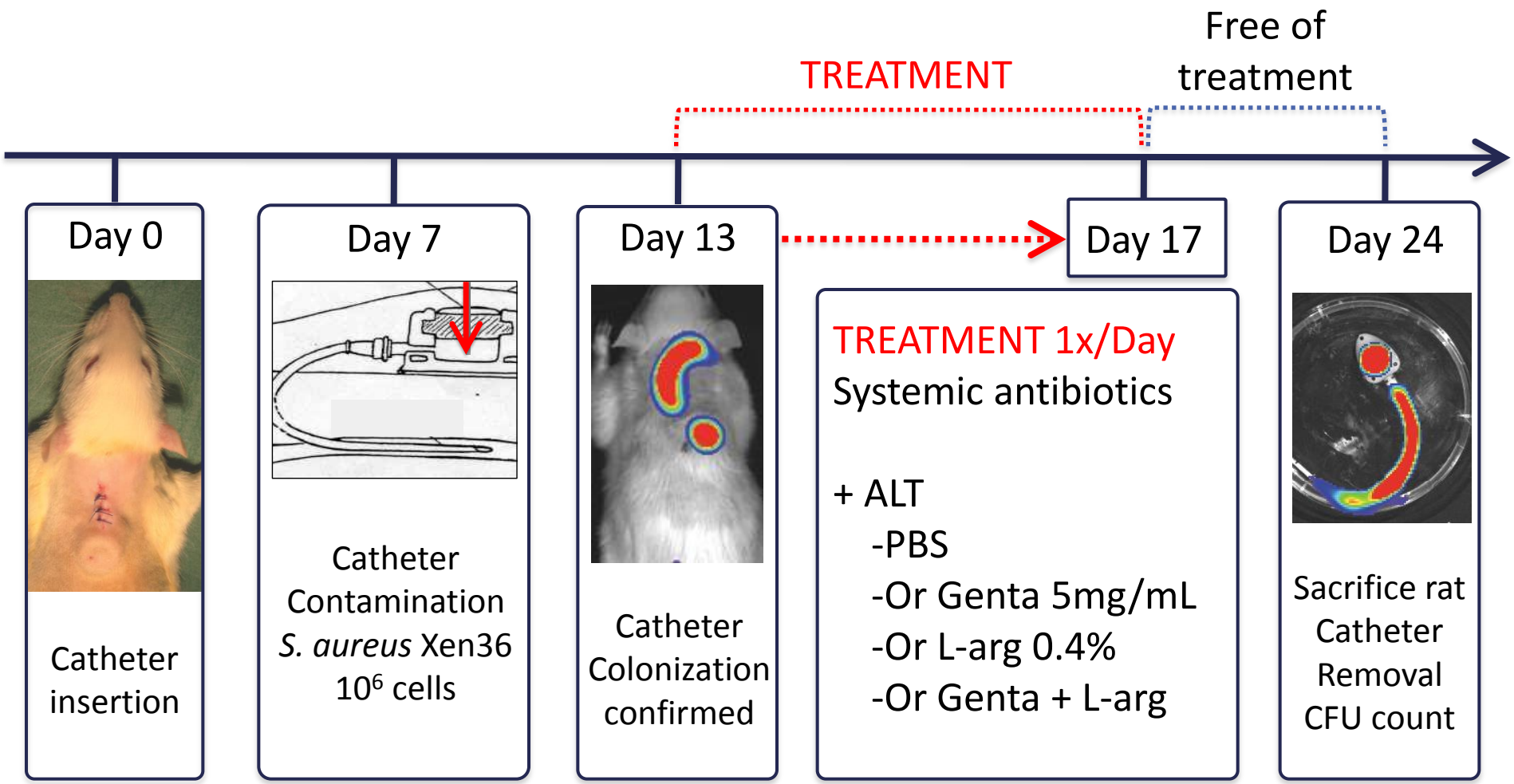
D'après Lebeaux et al.





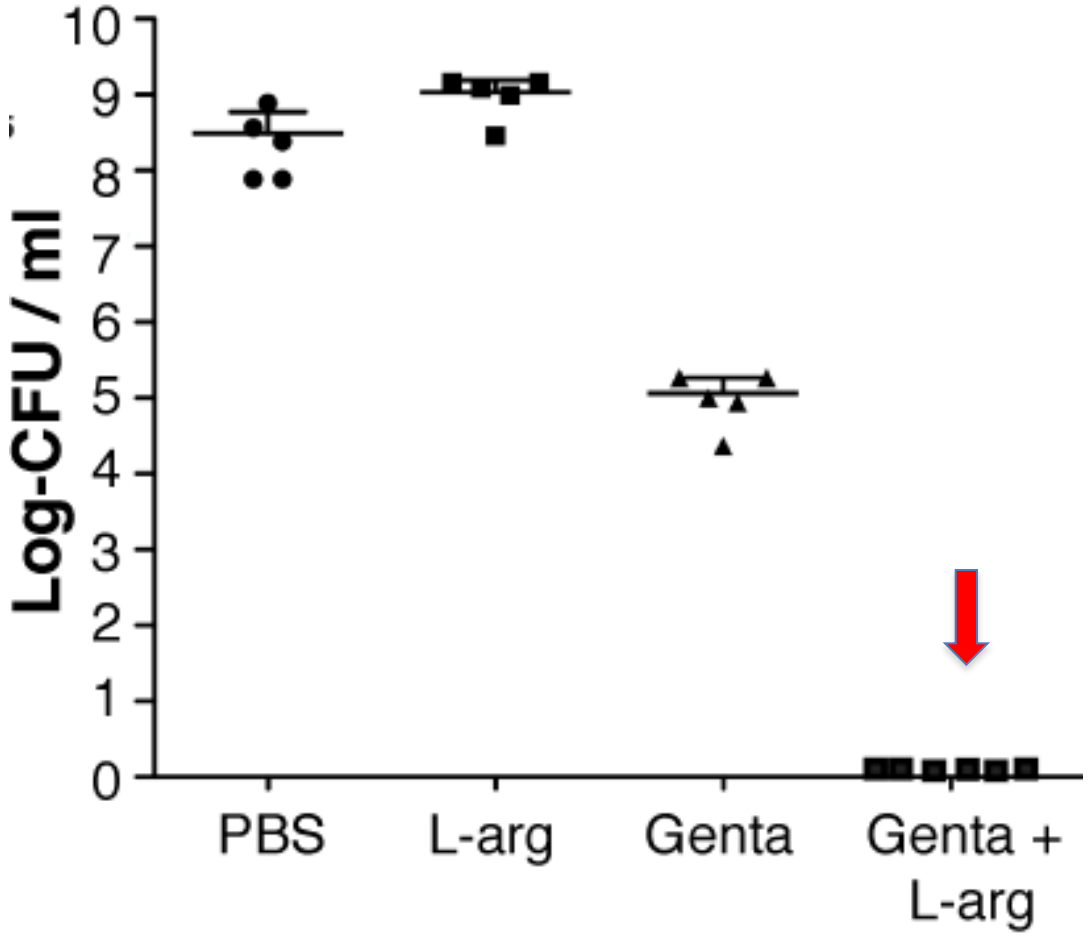
Allison, K.R. *et al* 2011 Nature 473, 216

Comment lutter contre ces persisters ?



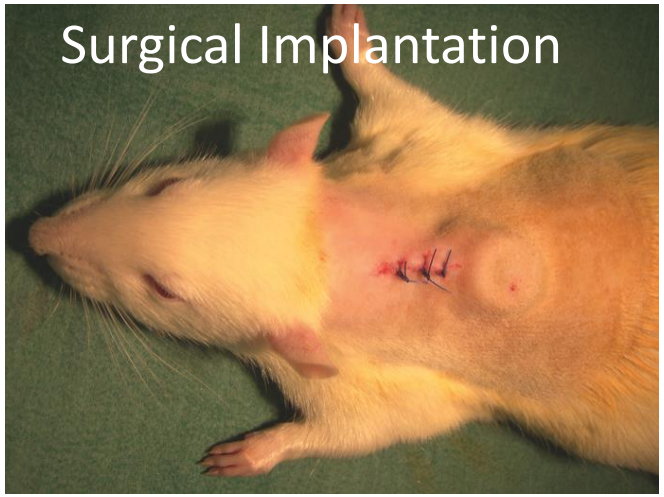
Lebeaux, D. *et al* 2014 J Infect Dis / Chauhan A *et al* 2012 PLoS One

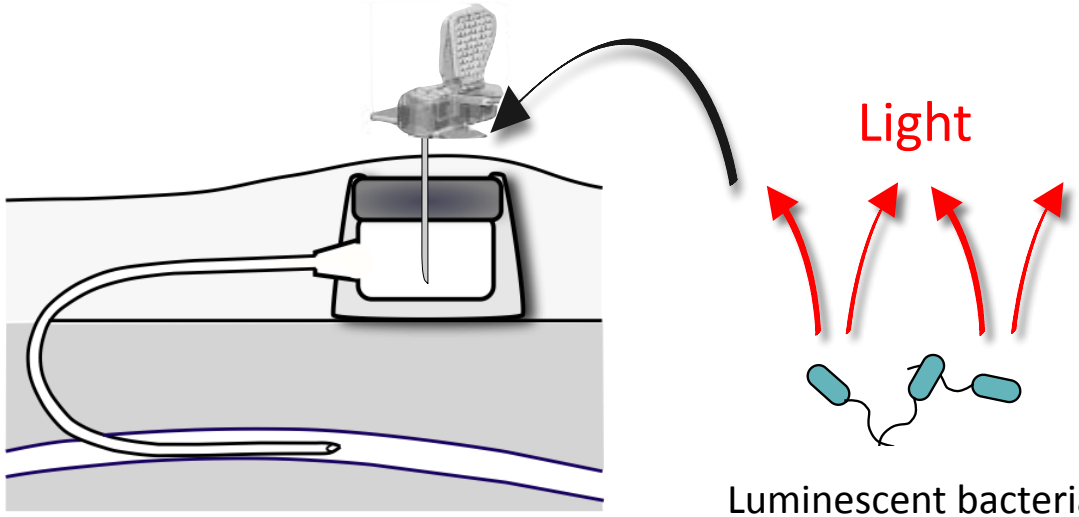
L-arginine + gentamicin permet une éradication du biofilm

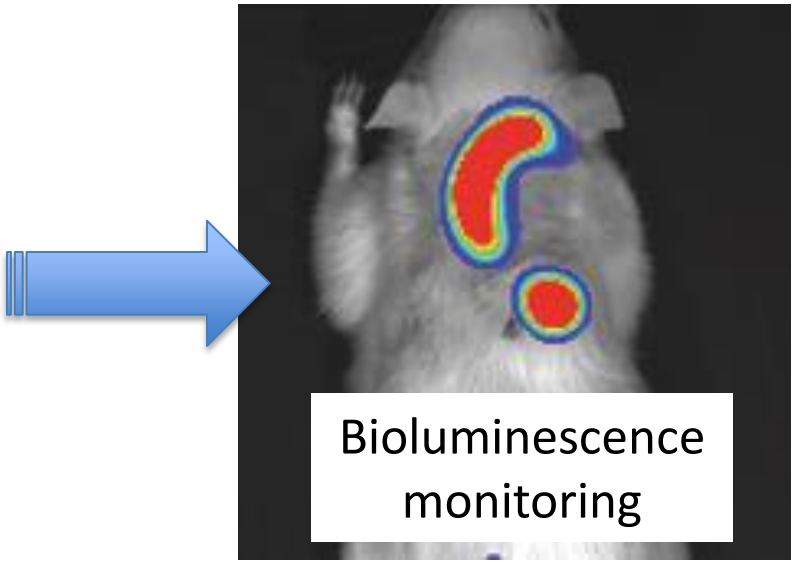


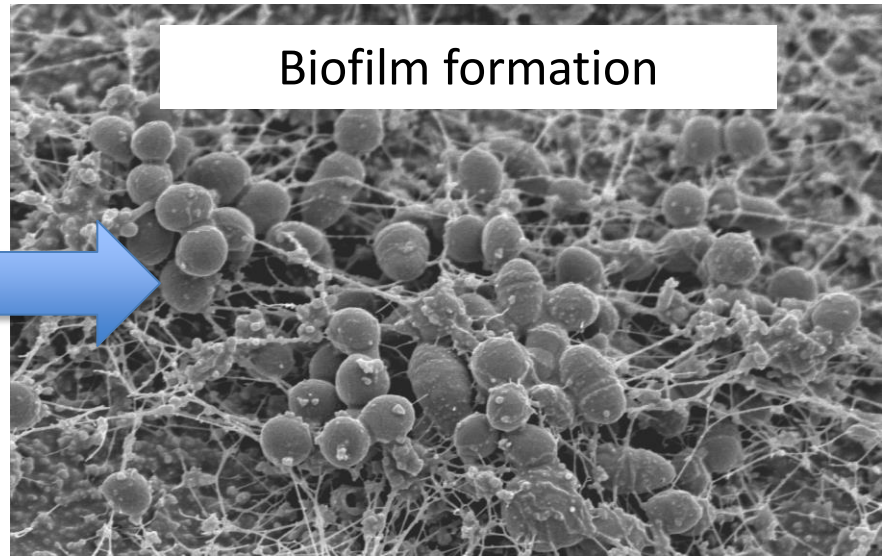
Lebeaux, D. *et al* 2014 J Infect Dis

Nouvelles approches contre les biofilm sur cathéter





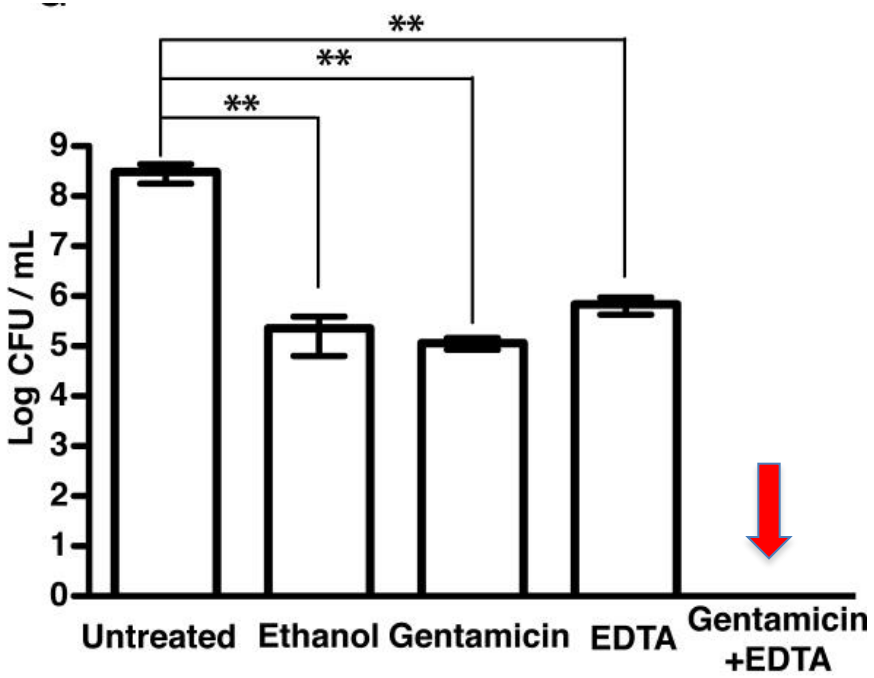




Lebeaux, D. *et al* 2014 J Infect Dis / Chauhan A. *et al* 2012 PLoS One

D'après Lebeaux et al.

Nouvelles approches contre les biofilm sur cathéter



- Staphylococcus aureus -

in vivo spectrum

- *S. aureus*
- *S. epidermidis*
- *E. coli*
- *P. aeruginosa*

in vitro

- 18 clinical strains (CRBSI)

Lebeaux, D. *et al* 2015 J Antimicrob Chemother
Chauhan A, Lebeaux D *et al* 2012 Antimicrob Agents Chemother
Lebeaux, D. *et al* 2012 Medicine (Baltimore)

S. aureus : Pourquoi lui ?

- Il est **dans la place !**
- Il est **sur-équipé**, même si équipé différemment d'une souche à l'autre
- Il **adhère** +++
- Il fait du **biofilm** dense +++ (régulation +++)
- Une fois dans le biofilm, **les antibiotiques ne l'atteignent plus**
- Il sait **disséminer** et donner **des « métastases septiques »**

Le mieux … c'est de l'empêcher de commencer son implantation

- ✓ **Limiter la colonisation**
- ✓ **Dépister et décoloniser ("search and destroy")**
- ✓ **Ne pas contaminer à la pose du cathéter !**

CQFD : connaître et respecter les protocoles de pose !


Après les épidémies porcines et aviaires: le coronavirus
Ne serait-il pas plus prudent...
d'abattre tout le troupeau?
Pigr

New approaches for biofilm eradication

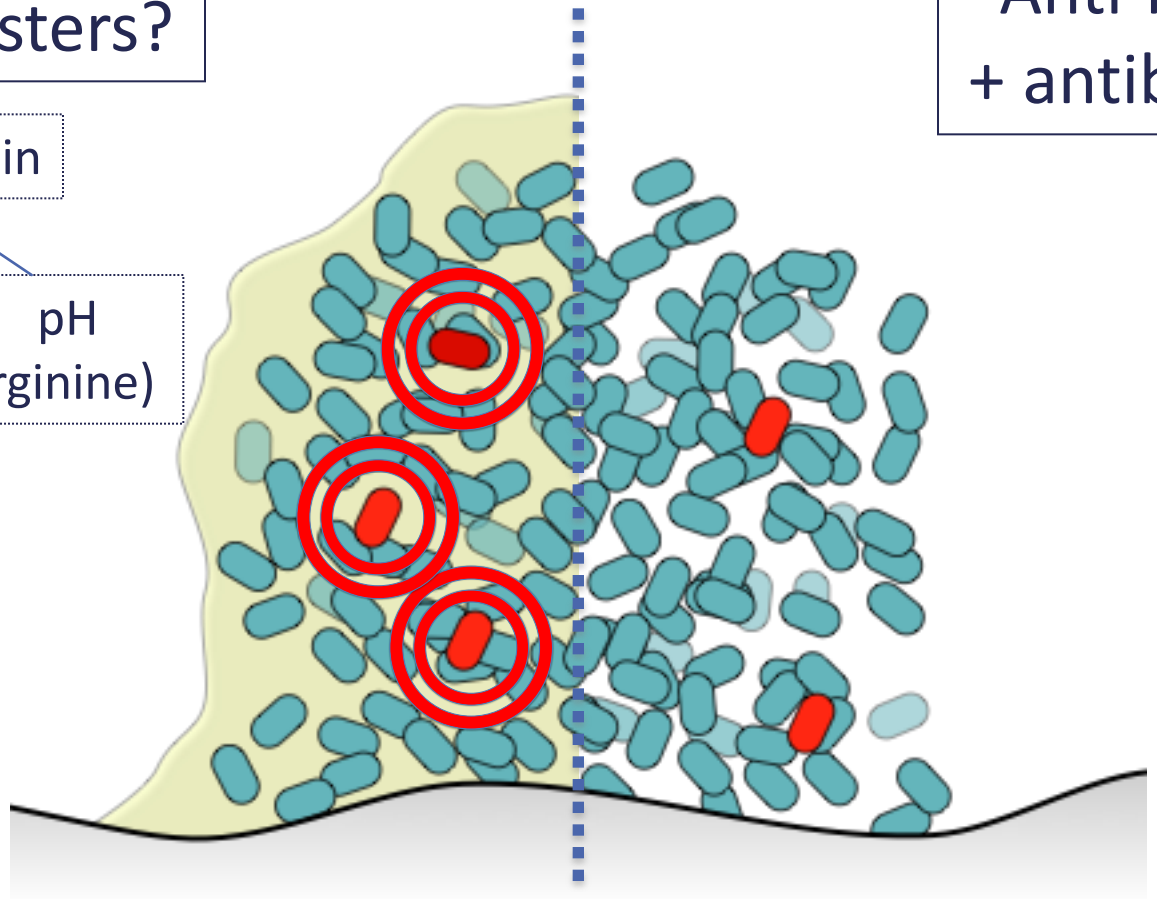
Anti-persisters?

Gentamicin

Sugar

↑ pH
(L-arginine)

Anti-matrix
+ antibiotics?



Lebeaux, D. *et al* 2014 J Infect Dis
Allison, K.R. *et al* 2011 Nature 473, 216