

# Virulence et effets des antibiotiques chez les staphylocoques à coagulase négative responsables de bactériémies liées au cathéter

Clotilde Chatre,

Catherine Dunyach-Remy, Hélène Marchandin, Rémi Fournier, Albert Sotto, Jacques Reynes,  
Jean-Philippe Lavigne

*Inserm U1047, virulence bactérienne et maladies infectieuses, Université de Montpellier, Nîmes*

*Service de Microbiologie, CHU Nîmes*

*LaboSud Oc Biologie, Montpellier*

*Département des maladies infectieuses et tropicales, CHU Montpellier*

# Staphylocoques à coagulase négative (SCN)

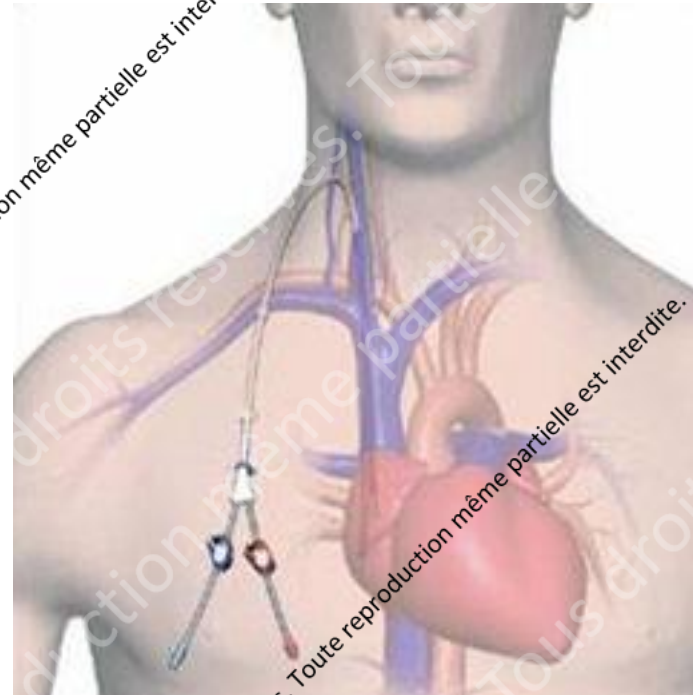
*S. epidermidis*

*S. haemolyticus*  
*S. hominis*

*S. capitis*

*S. saprophyticus*

*S. lugdunensis*



Matériel  
étranger

Immuno-  
dépression

1<sup>er</sup> micro-organisme responsable de bactériémie liée au cathéter: SCN: **30,4%**

Becker, 2014, *Clinical Microbiology Review*

# Staphylocoques à coagulase négative (SCN)

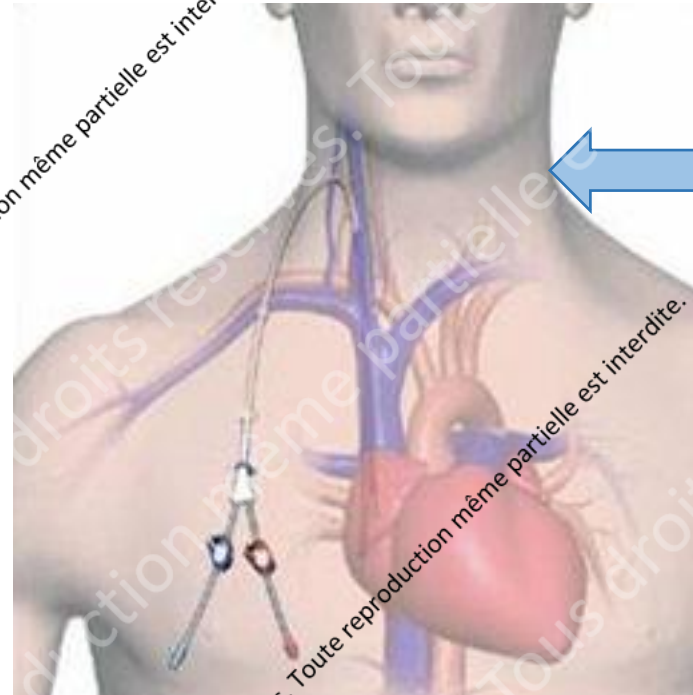
*S. epidermidis*

*S. haemolyticus*  
*S. hominis*

*S. capitis*

*S. saprophyticus*

*S. lugdunensis*



Formation de  
biofilm

Matériel  
étranger

Immuno-  
dépression

1<sup>er</sup> micro-organisme responsable de bactériémie liée au cathéter: SCN: **30,4%**

Becker, 2014, Clinical Microbiology Review

# Staphylocoques à coagulase négative (SCN)

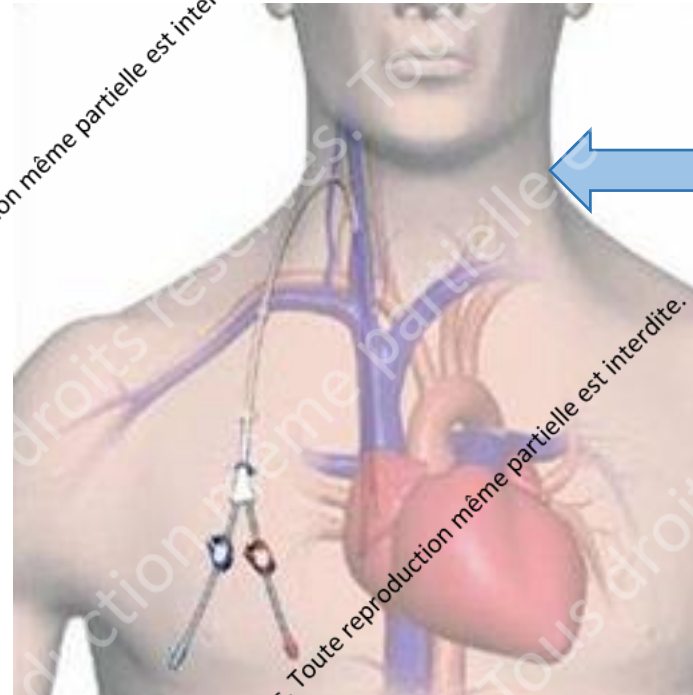
*S. epidermidis*

*S. haemolyticus*  
*S. hominis*

*S. capitis*

*S. saprophyticus*

*S. lugdunensis*



Formation de biofilm

Adhésion

Colonisation

Infection

Echappement au système immunitaire

Matériel étranger

Immuno-dépression

1<sup>er</sup> micro-organisme responsable de bactériémie liée au cathéter: SCN: **30,4%**

Becker, 2014, *Clinical Microbiology Review*

# PROBLEMATIQUE

- Les SCN
  - sont exposés aux antibiotiques
  - sont capables de modifier leur phénotype de virulence

Quel est l'impact des antibiotiques sur la virulence des bactéries?

# OBJECTIFS

SCN issus de  
bactériémies  
liées au  
cathéter

1- Caractérisation de la  
pathogénicité des SCN

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# OBJECTIFS

SCN issus de  
bactériémies  
liées au  
cathéter

1- Caractérisation de la  
pathogénicité des SCN

2- Rôle des antibiotiques sur  
la virulence et la résistance



# Patients

- **36** patients avec une bactériémie liée au cathéter à SCN
  - 72 souches (Hémoculture + Cathéter)
  - 90% *S. epidermidis*
- 3 centres d'inclusions (Janvier-Décembre 2015)
  - CHU Nîmes
  - CHU Montpellier
  - Laboratoires privés de l'Hérault
- Haute morbi-mortalité
  - Score de Mac Cabe: 25% pathologie fatale à 1 an
  - Score de Charlson: 33% >5 (mortalité 85% à 1 an)
  - Âge médian: 66 ans [0-86]
  - 42% de femmes



© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



# Objectif 1: caractérisation de la pathogénicité des SCN

Gènes de virulence

*C. elegans* Fer 15

Biofilm

Clonalité

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Objectif 1: caractérisation de la pathogénicité des SCN

Gènes de virulence



- PCR
- 14 gènes de virulence
  - Protéines d'adhésion
  - Toxines
  - Séquence d'insertion *IS256* liée à la pathogénicité

*C. elegans* Fer 15

Biofilm

Clonalité

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Objectif 1: caractérisation de la pathogénicité des SCN

Gènes de virulence

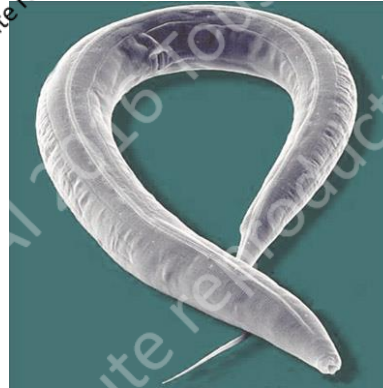
*C. elegans* Fer 15

Biofilm

Clonalité



- Modèle de virulence *in vivo*
- Courbes de survie
- DL 50 (survie de 50% de vers)



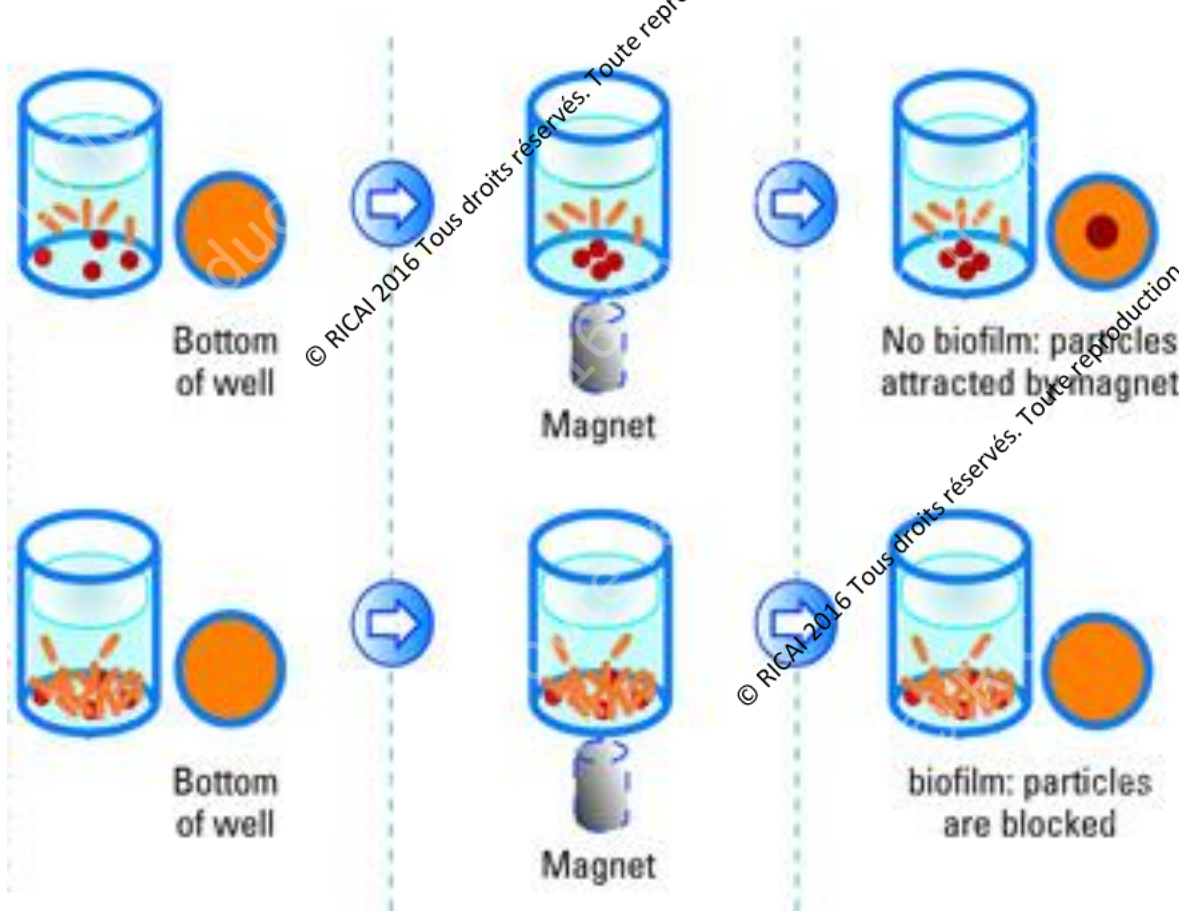
# Objectif 1: caractérisation de la pathogénicité des SCN

Gènes de virulence

*C. elegans* Fer 15

Biofilm

Clonalité



- Technique **BioFilm Ring Test**<sup>®</sup> (BioFilm Control)
- Initiation de la formation de biofilm

# Objectif 1: caractérisation de la pathogénicité des SCN

Gènes de virulence

*C. elegans* Fer 15

Biofilm

Clonalité

## Rep PCR

- Séquences répétitives non codantes
- Similarité intra patient
  - >95% entre le cathéter et l'hémoculture
- Similarité inter-patient
  - 2 principaux groupes clonaux
  - Clones minoritaires
  - Non clonal

## MLST

- Séquençage de 7 gènes de ménage
- Base de données internationale
- 75%: complexe clonal 2
- ST 87 le plus fréquent

# Objectif 1: caractérisation de la pathogénicité des SCN

Gènes de virulence

*C. elegans* Fer 15

Biofilm

Clonalité

Polymorphisme dans la virulence des souches de SCN  
Pas de caractéristique spécifique de virulence  
Pas de lien entre virulence et clonalité

Intérêt d'évaluer l'impact des antibiotiques sur la virulence et la résistance bactérienne

## Objectif 2: Effets des antibiotiques sur la résistance et la virulence

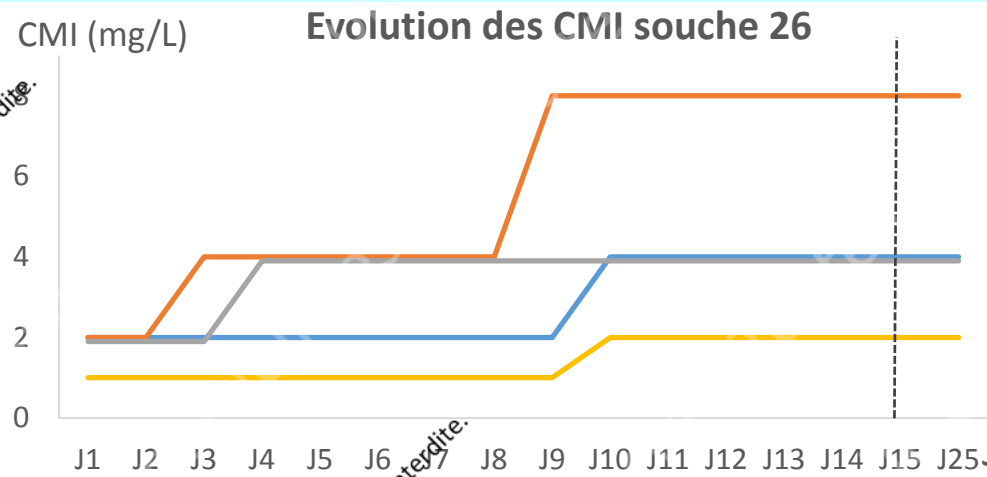
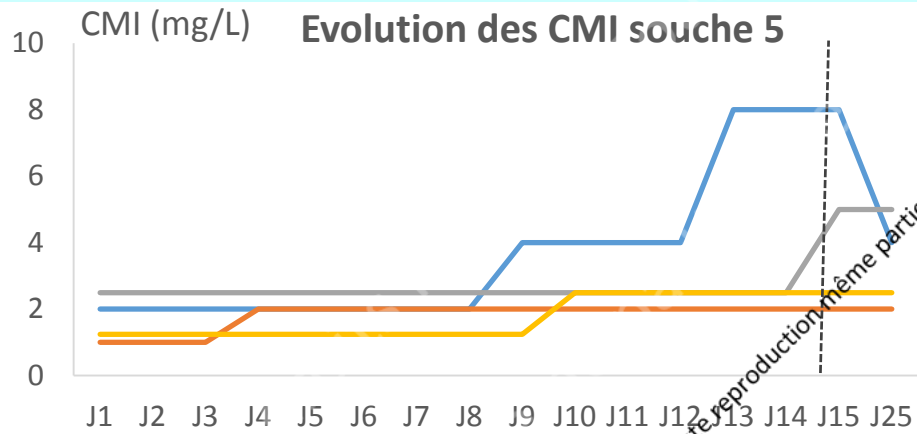
- 5 souches de *S. epidermidis* représentatives du panel de virulence

<i>S. epidermidis</i>	Virulence <i>C. elegans</i>	Formation de biofilm	Opéron <i>ica</i> ADBC	Système <i>agr</i>	ST
Souche 5	Faible	Moyenne	+	Groupe 3	35
Souche 26	Moyenne	Moyenne	-	Groupe 2	264
Souche 82	Faible	Rapide	+	Groupe 3	2
Souche 97	Elevée	Lente	+	Groupe 3	35
Souche 105	Elevée	Moyenne	-	Groupe 2	87

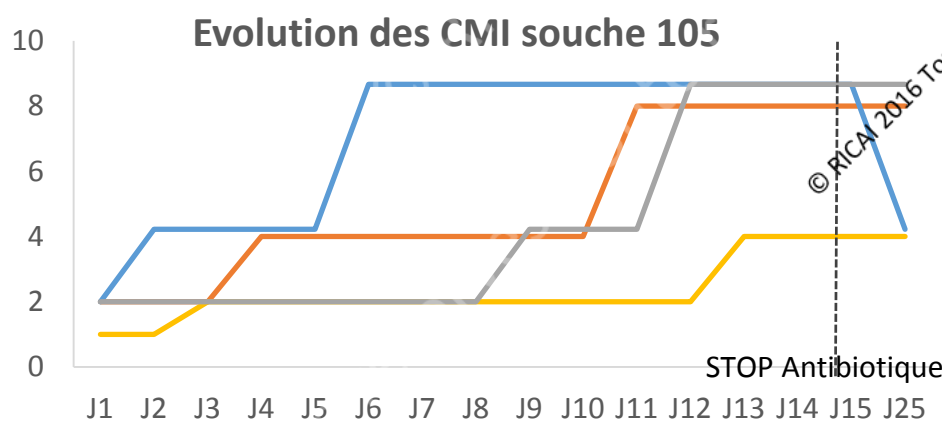
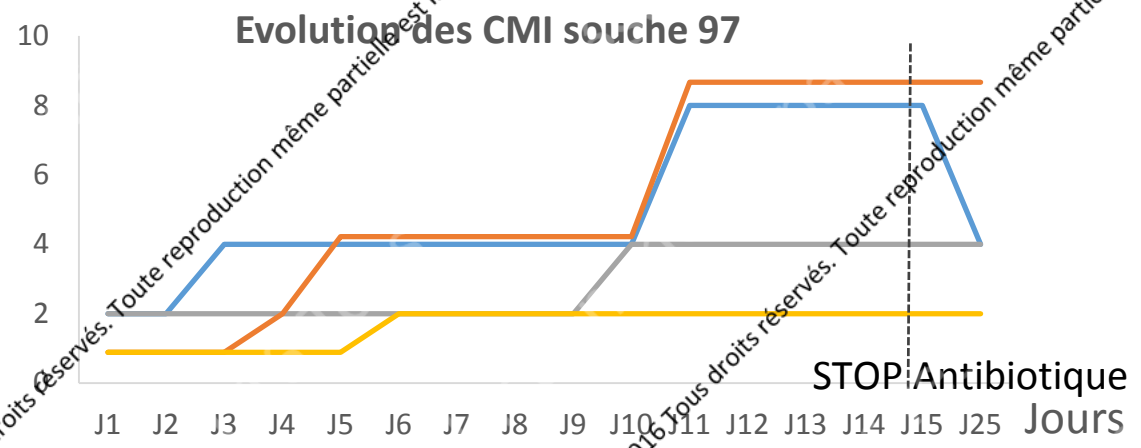
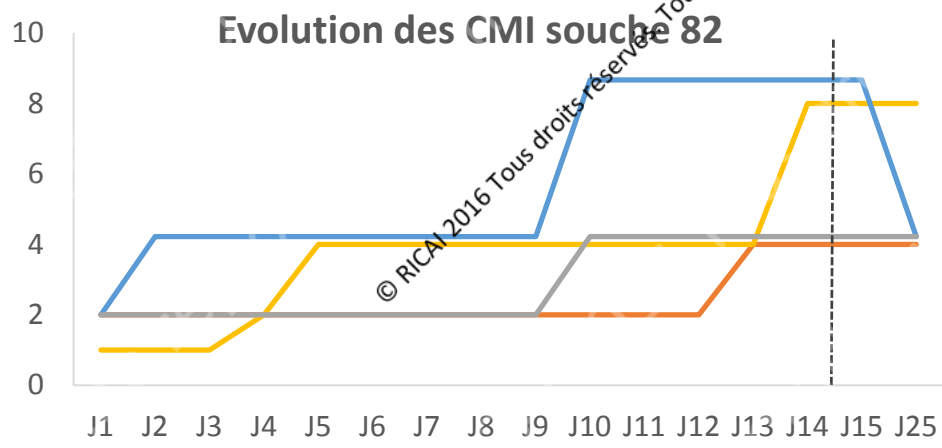
- Exposition **15 jours**, concentration sub-inhibitrice (0,5xCMI)
- Ceftobiprole, daptomycine, linézolide ou vancomycine
- Evaluation quotidienne de la CMI en milieu liquide



# Effets des ATB sur la résistance



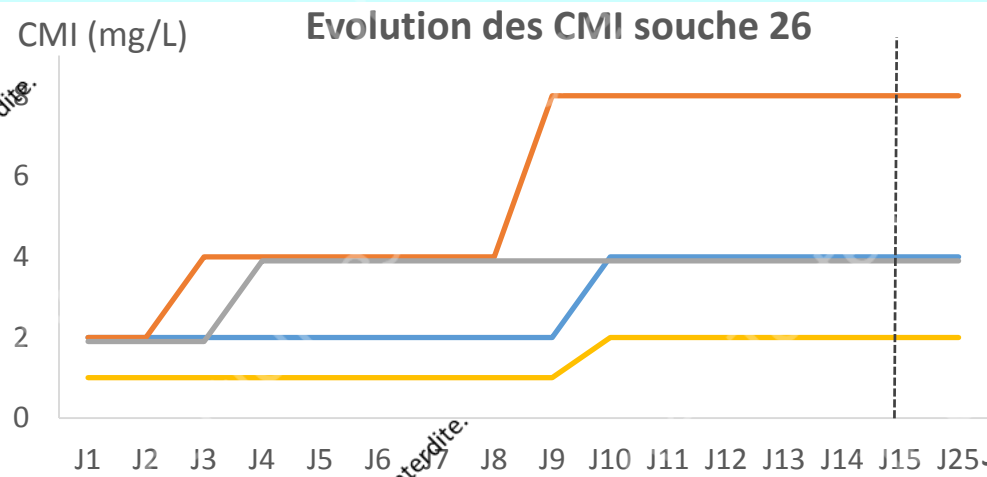
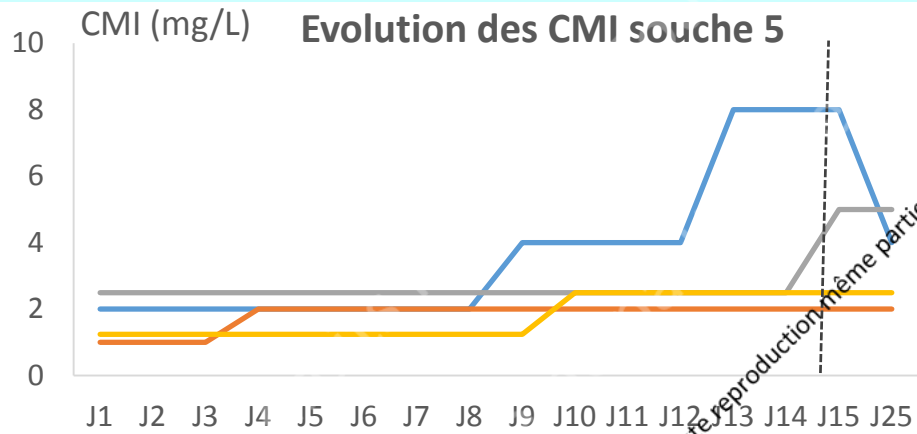
- Vancomycine
- Daptomycine
- Linezolid
- Ceftobiprole



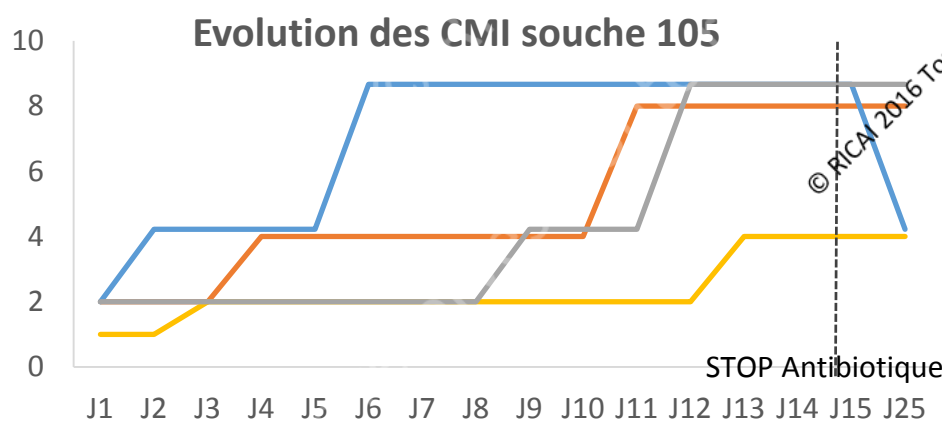
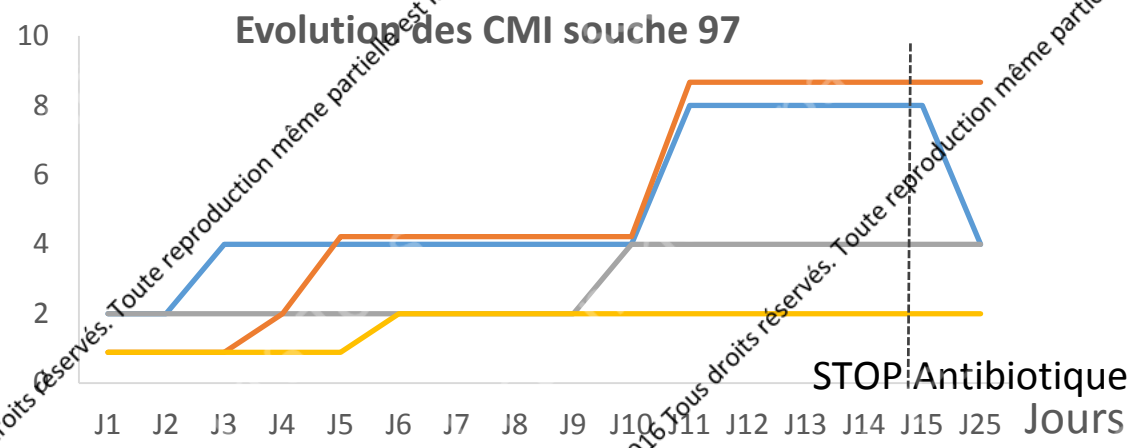
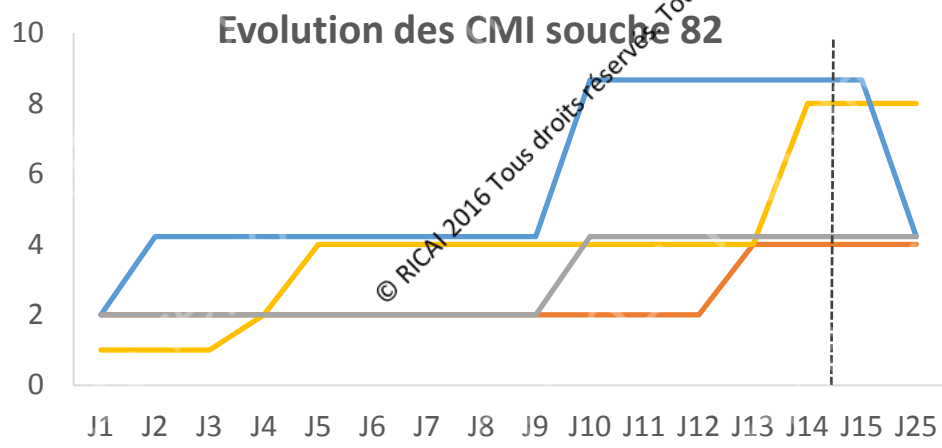
STOP Antibiotique

© RICA 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Effets des ATB sur la résistance

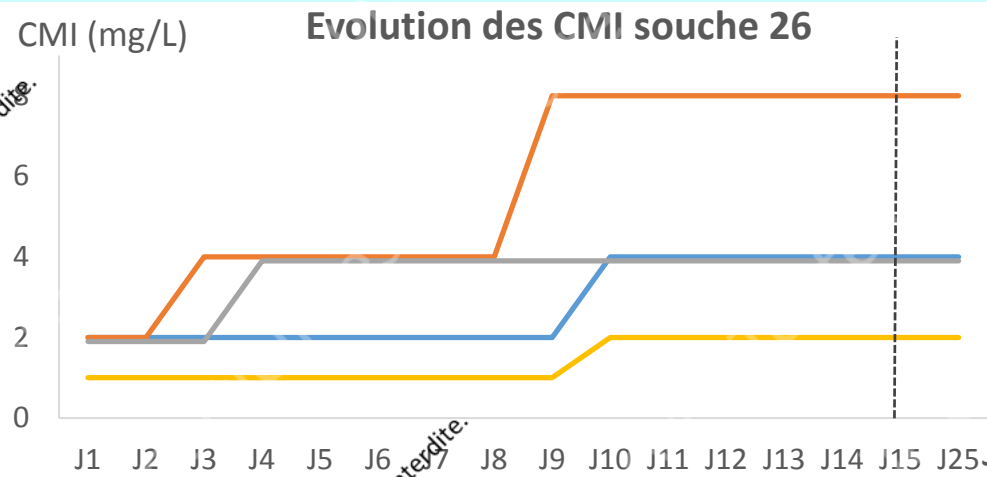
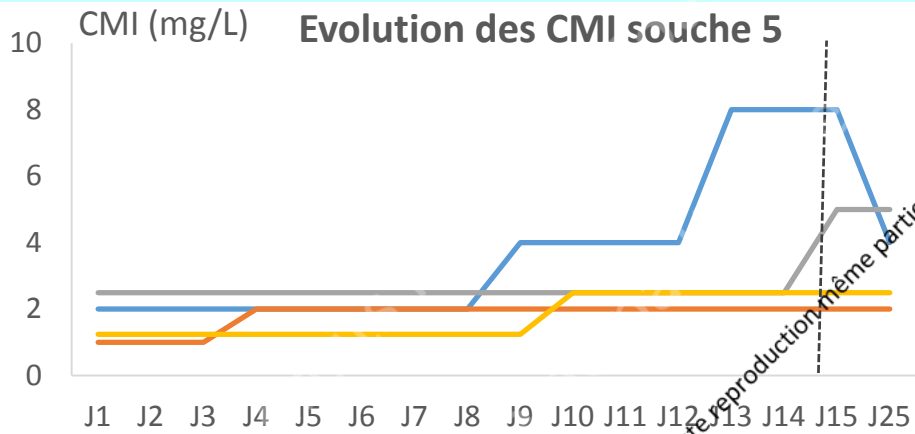


- Vancomycine
- Daptomycine
- Linezolide
- Ceftobiprole

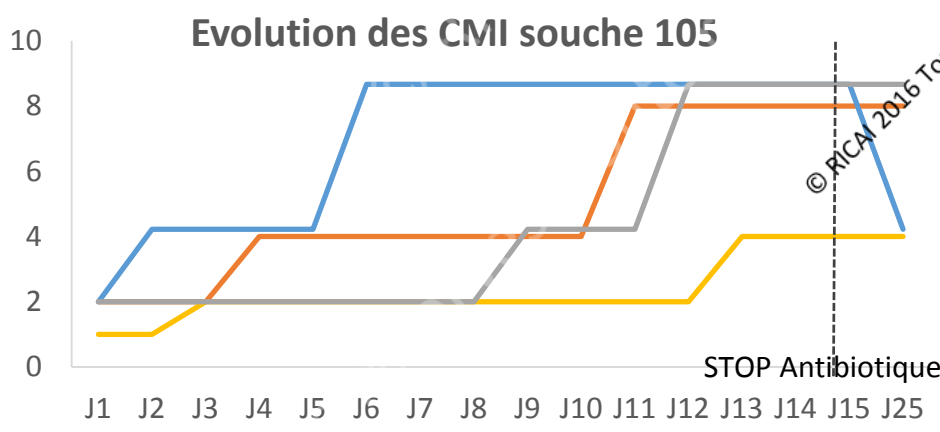
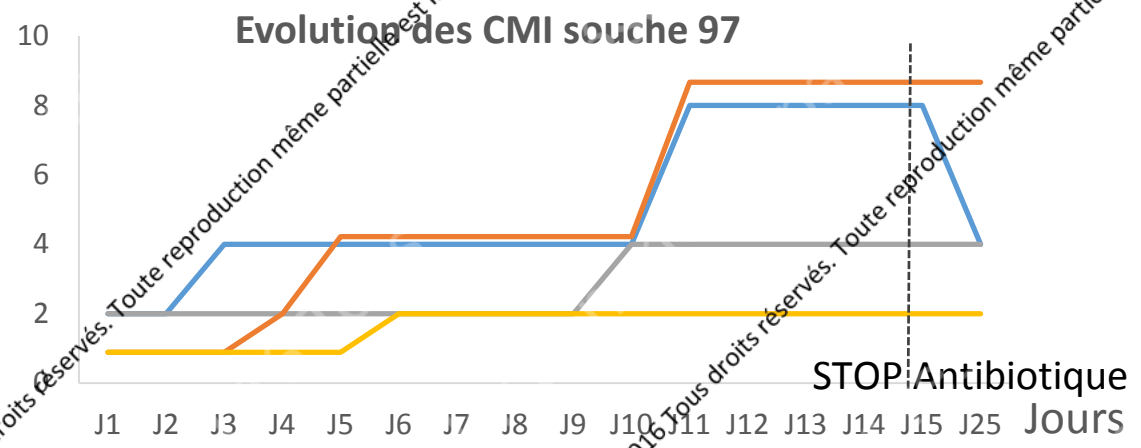
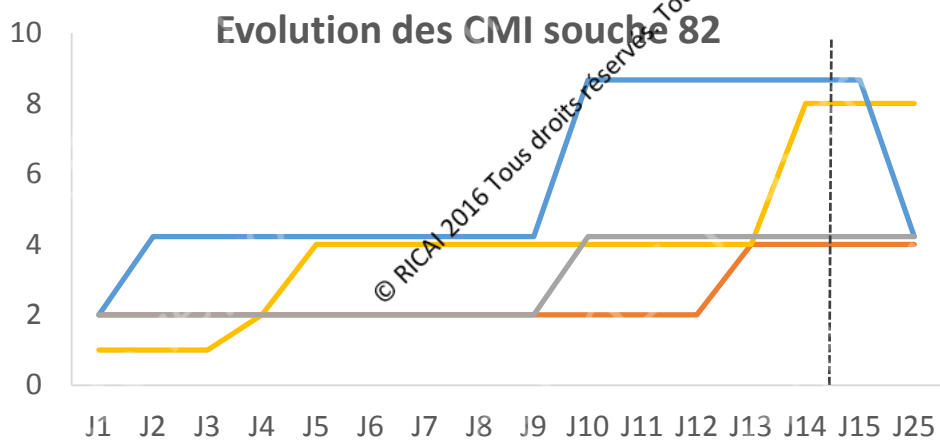


**Daptomycine et vancomycine: acquisition de résistance**

# Effets des ATB sur la résistance

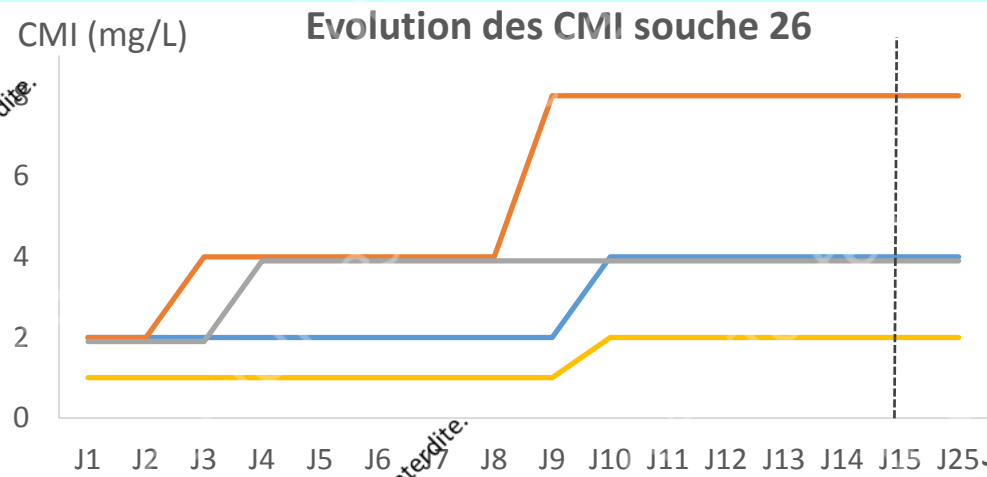
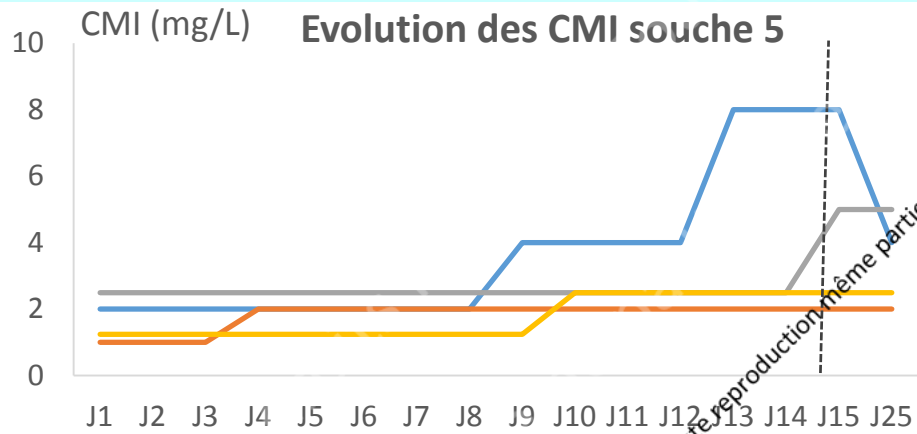


- Vancomycine
- Daptomycine
- Linezolide
- Ceftobiprole

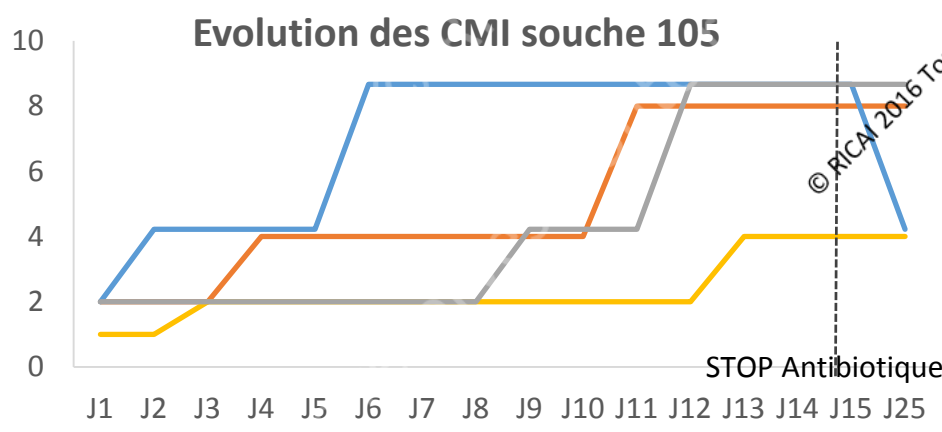
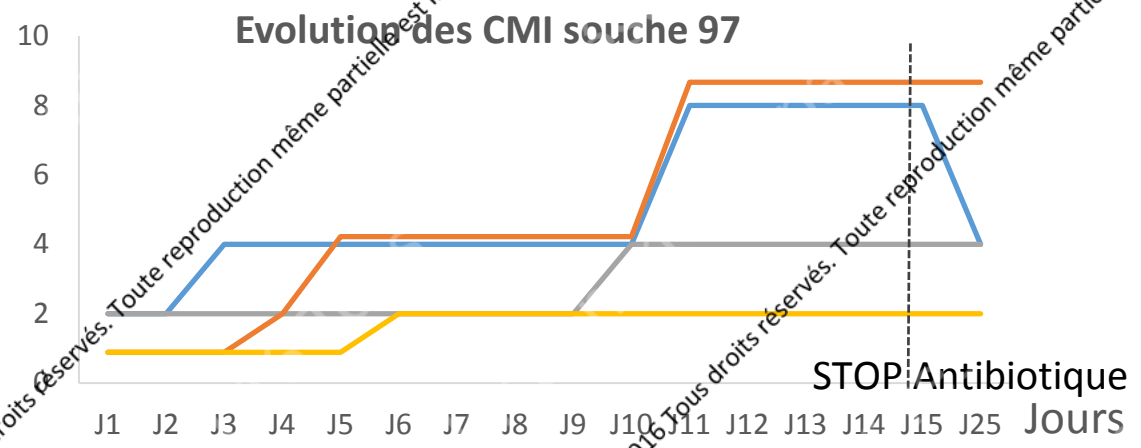
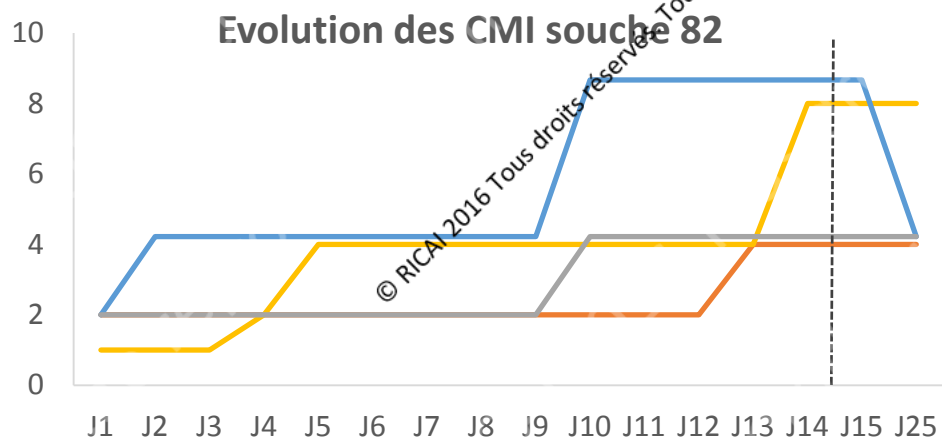


Linézolide: une seule souche résistante, tardivement

# Effets des ATB sur la résistance

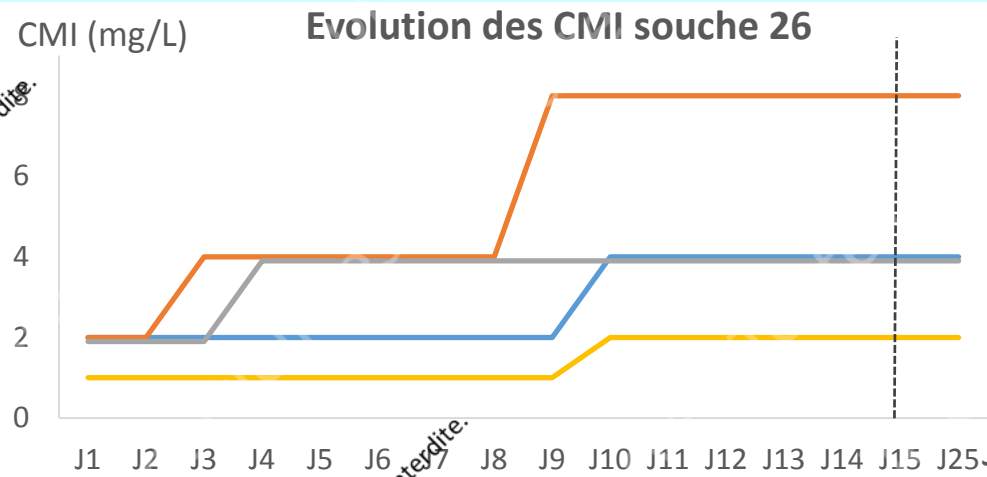
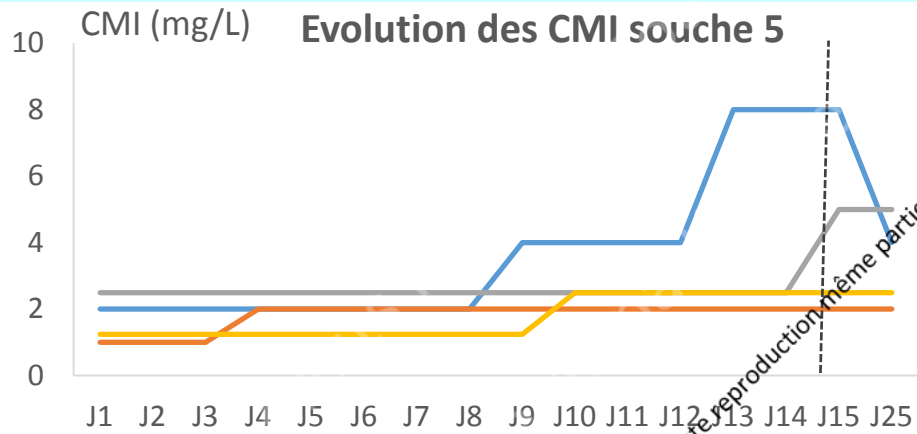


- Vancomycine
- Daptomycine
- Linezolide
- Ceftobiprole

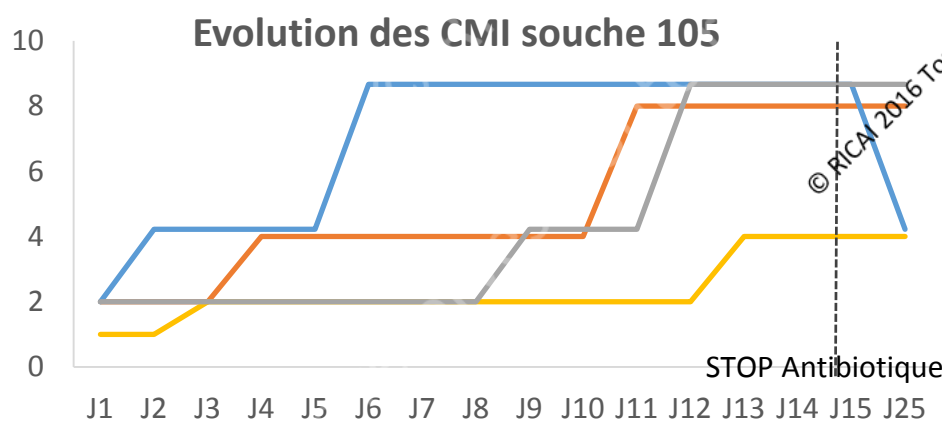
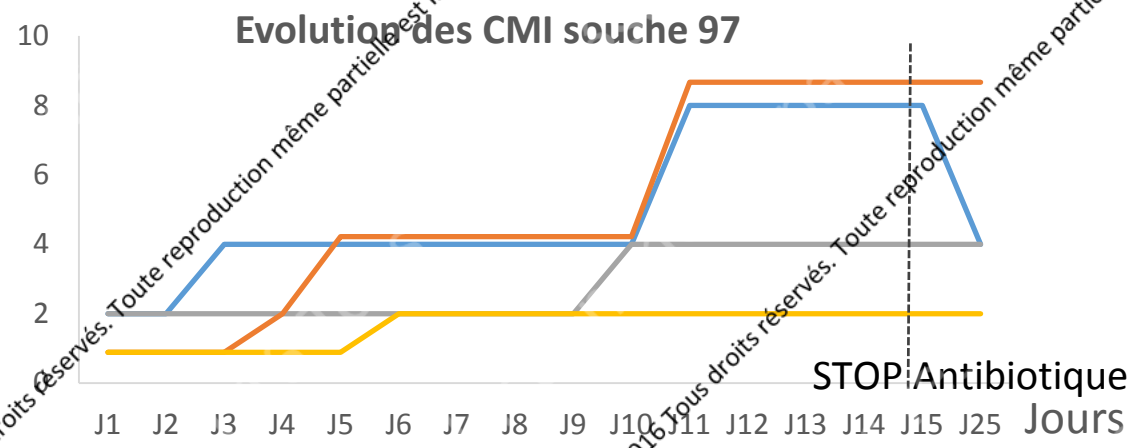
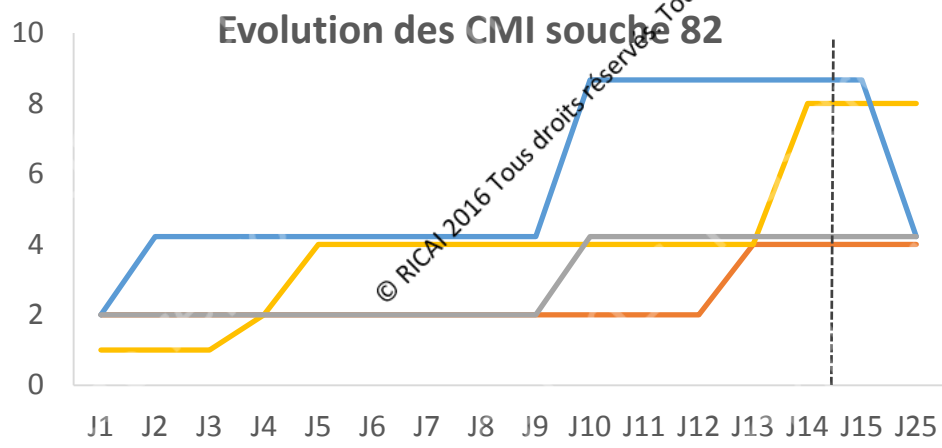


Ceftobiprole: résistance pour 2 souches

# Effets des ATB sur la résistance



- Vancomycine
- Daptomycine
- Linézolide
- Ceftobiprole



Arrêt des ATB 10 jours: maintien des CMI sauf vancomycine (les souches restant résistantes)

# Effets des ATB sur la résistance: résistance croisée

	Ceftopibrole				
	Sauvage	Cefto-E	Dapto-E	Liné-E	Vanco-E
Souche 5	1	2	1	1	0,25
Souche 26	1	2	2	1	1
Souche 82	2	4	0,25	1	2
Souche 97	1	2	2	2	2
Souche 105	1	4	2	2	2

	Linézolide				
	Sauvage	Liné-E	Cefto-E	Dapto-E	Vanco-E
Souche 5	2	2	2	2	2
Souche 26	2	4	2	2	2
Souche 82	2	4	2	2	2
Souche 97	2	4	2	2	2
Souche 105	2	8	2	2	2

	Daptomycine				
	Sauvage	Dapto-E	Cefto-E	Liné-E	Vanco-E
Souche 5	1	2	1	1	4
Souche 26	2	8	2	1	4
Souche 82	1	8	2	2	4
Souche 97	1	8	2	2	2
Souche 105	2	8	2	2	4

	Vancomycine				
	Sauvage	Vanco-E	Cefto-E	Dapto-E	Liné-E
Souche 5	2	8	2	2	1
Souche 26	2	4	2	4	1
Souche 82	2	8	4	2	1
Souche 97	2	8	2	4	2
Souche 105	2	8	2	4	2

# Effets des ATB sur la résistance: résistance croisée

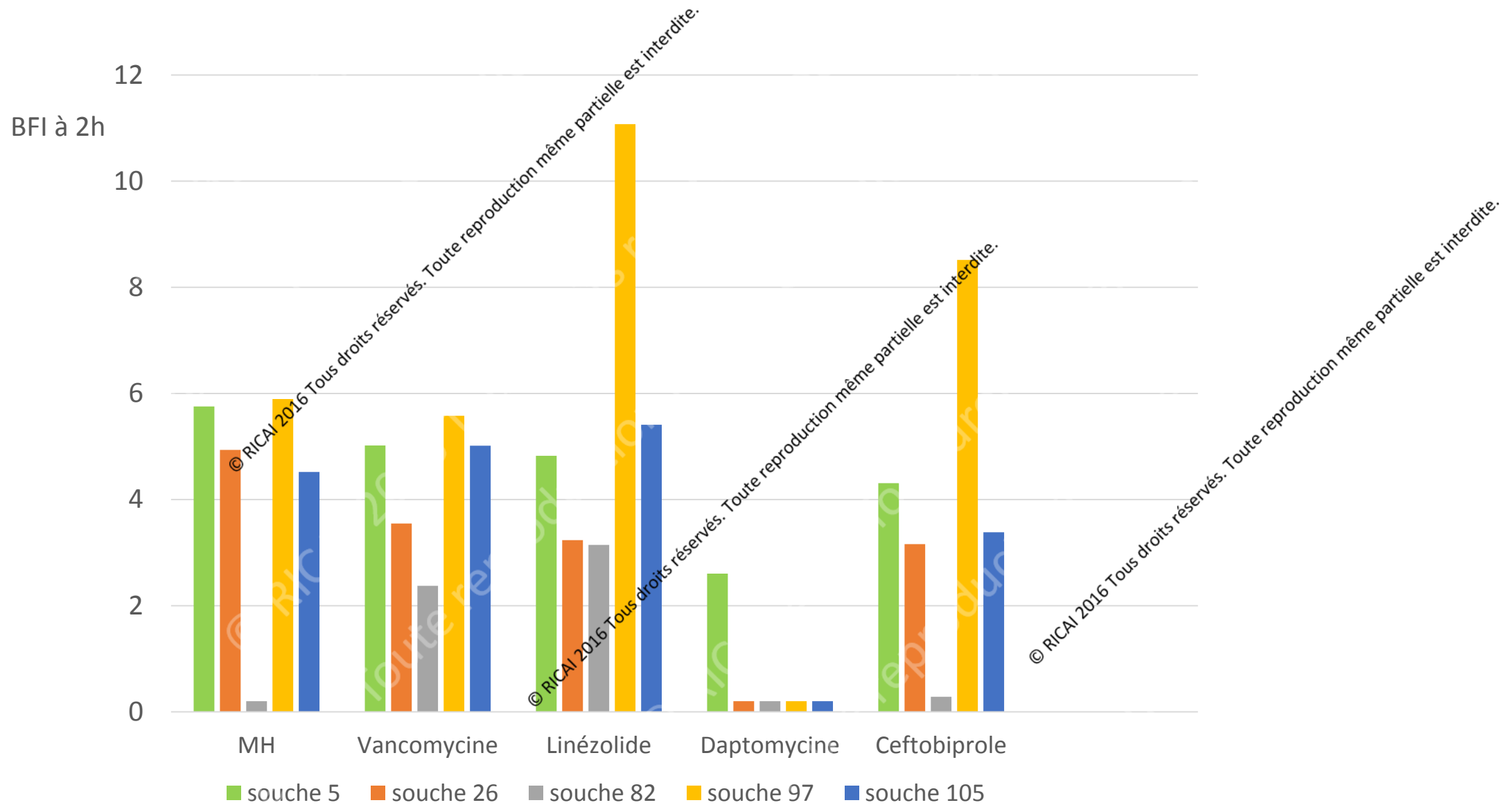
	Ceftopibrole						Linézolide				
	Sauvage	Cefto-E	Dapto-E	Liné-E	Vanco-E		Sauvage	Liné-E	Cefto-E	Dapto-E	Vanco-E
Souche 5	1	2	2	2	2		2	2	2	2	
Souche 26	1	2	2	2	2		2	2	2	2	
Souche 82	2	4	2	2	2		2	2	2	2	
Souche 97	1	2	2	2	2		2	2	2	2	
Souche 105	1	4	2	2	2		2	2	2	2	

Résistance croisée entre Daptomycine et Vancomycine

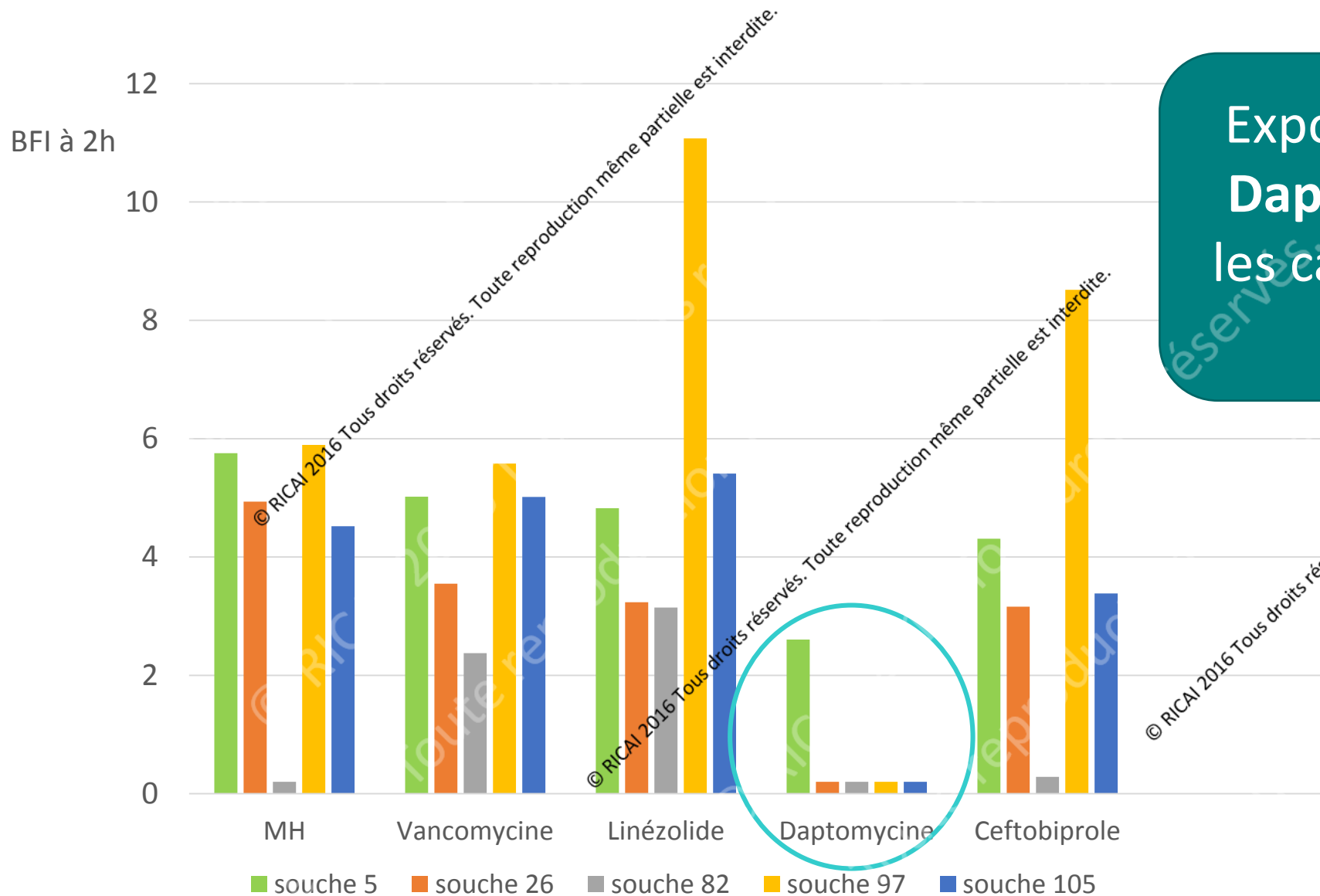
	Daptomycine						Vancomycine				
	Sauvage	Dapto-E	Cefto-E	Liné-E	Vanco-E		Sauvage	Vanco-E	Cefto-E	Dapto-E	Liné-E
Souche 5	1	2	1	1	4	Souche 5	2	8	2	2	1
Souche 26	2	8	2	1	4	Souche 26	2	4	2	4	1
Souche 82	1	8	2	2	4	Souche 82	2	8	4	2	1
Souche 97	1	8	2	2	2	Souche 97	2	8	2	4	2
Souche 105	2	8	2	2	4	Souche 105	2	8	2	4	2



# Effets des ATB sur la virulence: formation de biofilm après exposition



# Effets des ATB sur la virulence: formation de biofilm après exposition



Exposition prolongée à la **Daptomycine**: augmente les capacités de formation de biofilm

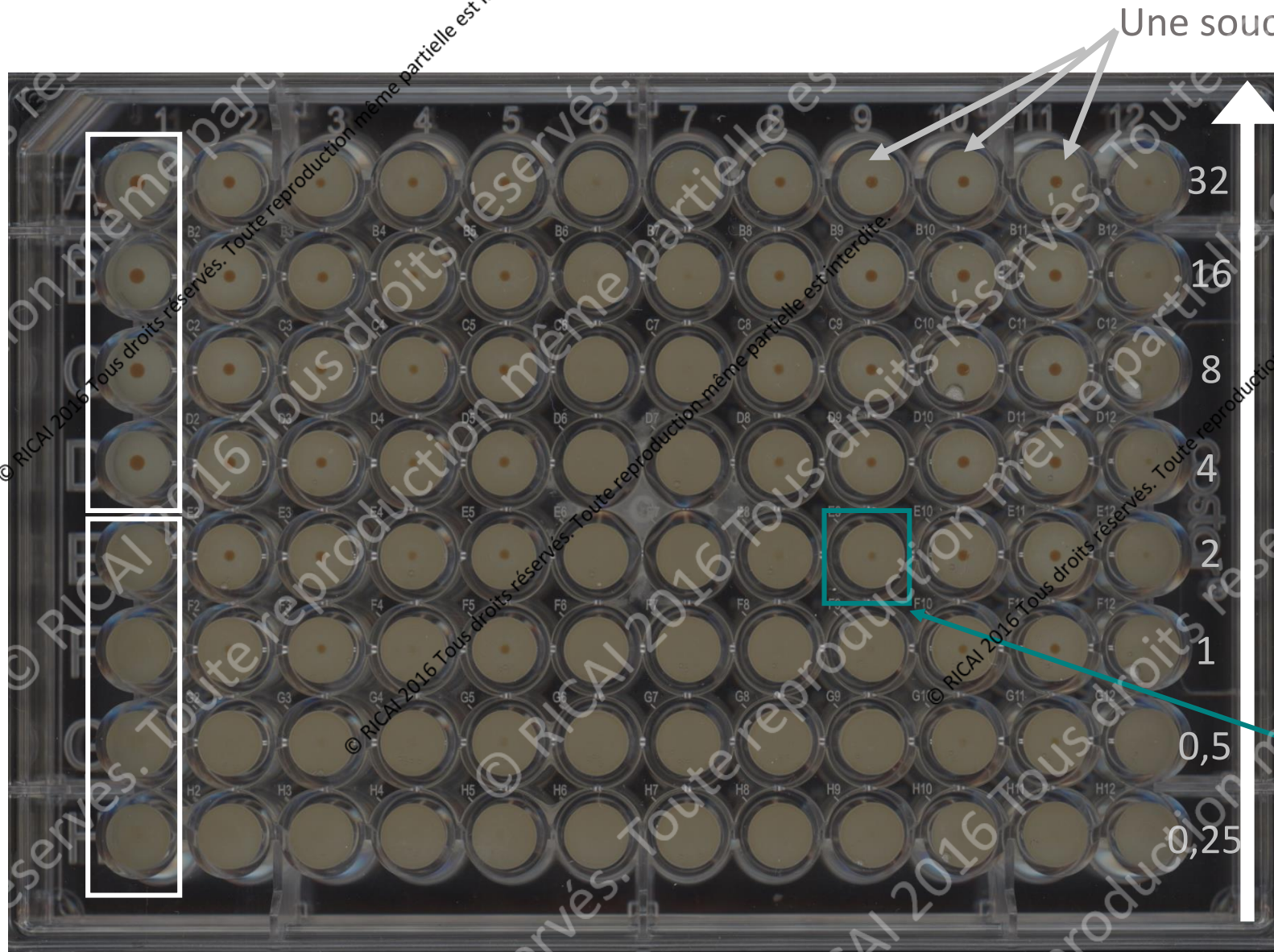
# Effets des ATB sur la virulence: Antibiofilmogram<sup>®</sup> (BioFilm Control)

## • Evaluation des capacités des antibiotiques à inhiber la formation de biofilm

- Ceftobiprole
- Daptomycine
- Linézolide
- Vancomycine
- Rifampicine

Témoins négatifs: pas de bactéries

Témoins positifs: pas d'ATB



Une souche par colonne

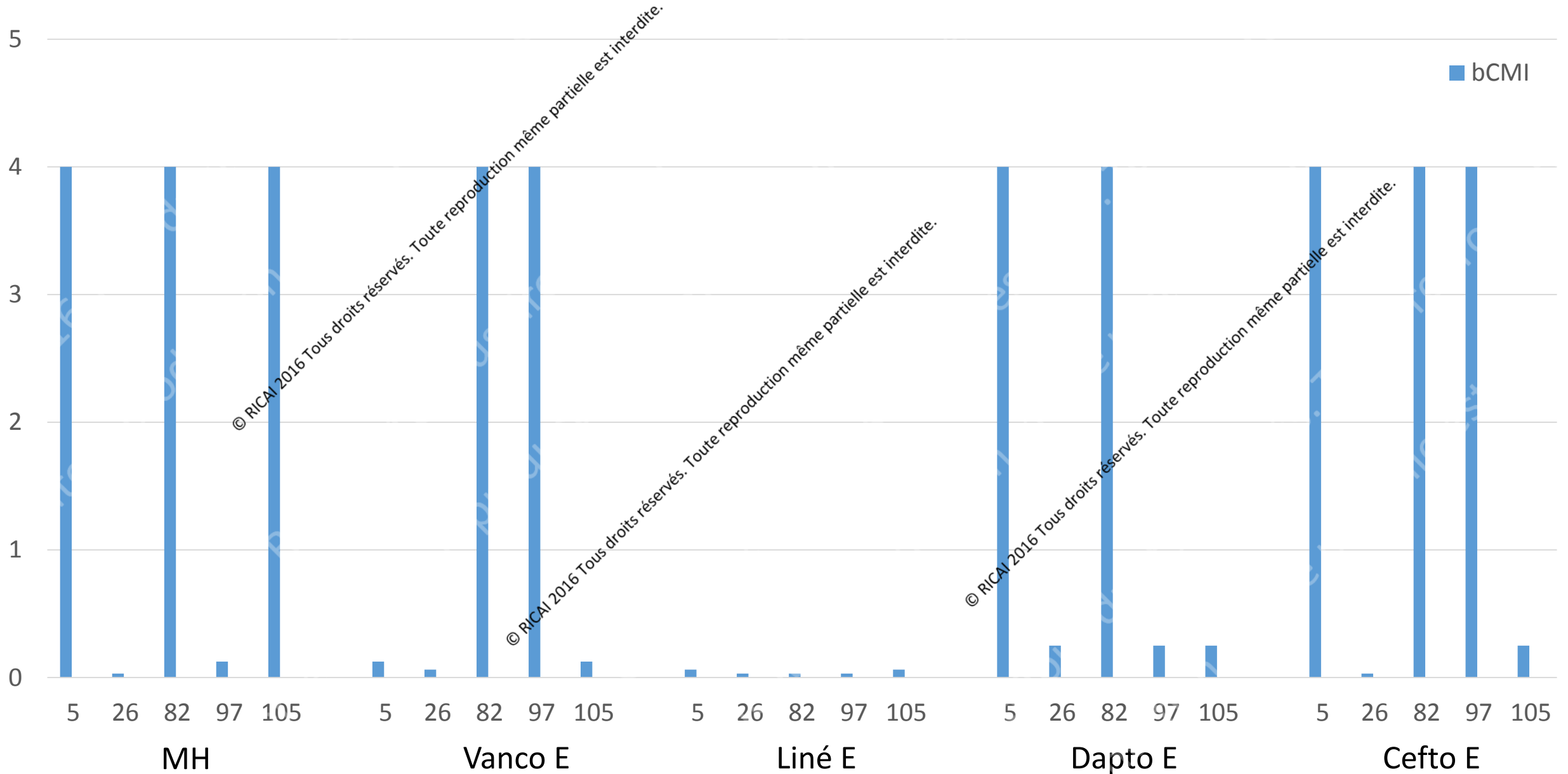
Exemple  
Linézolide  
à 6h

Concentrations  
croissantes d'ATB  
mg/L

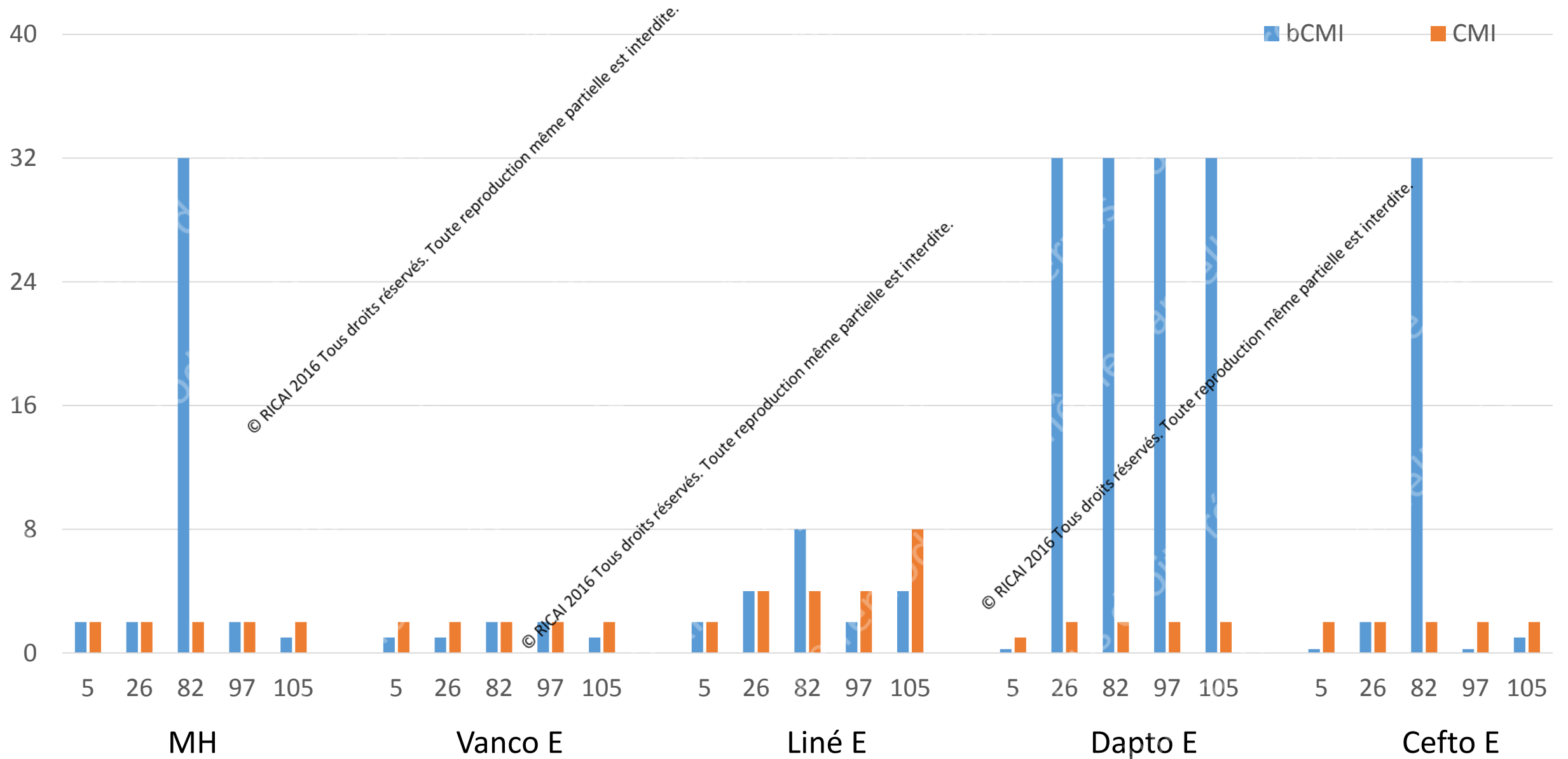
**bCMI**

concentration  
minimale d'ATB  
pour laquelle la  
formation d'un  
point central est  
visible

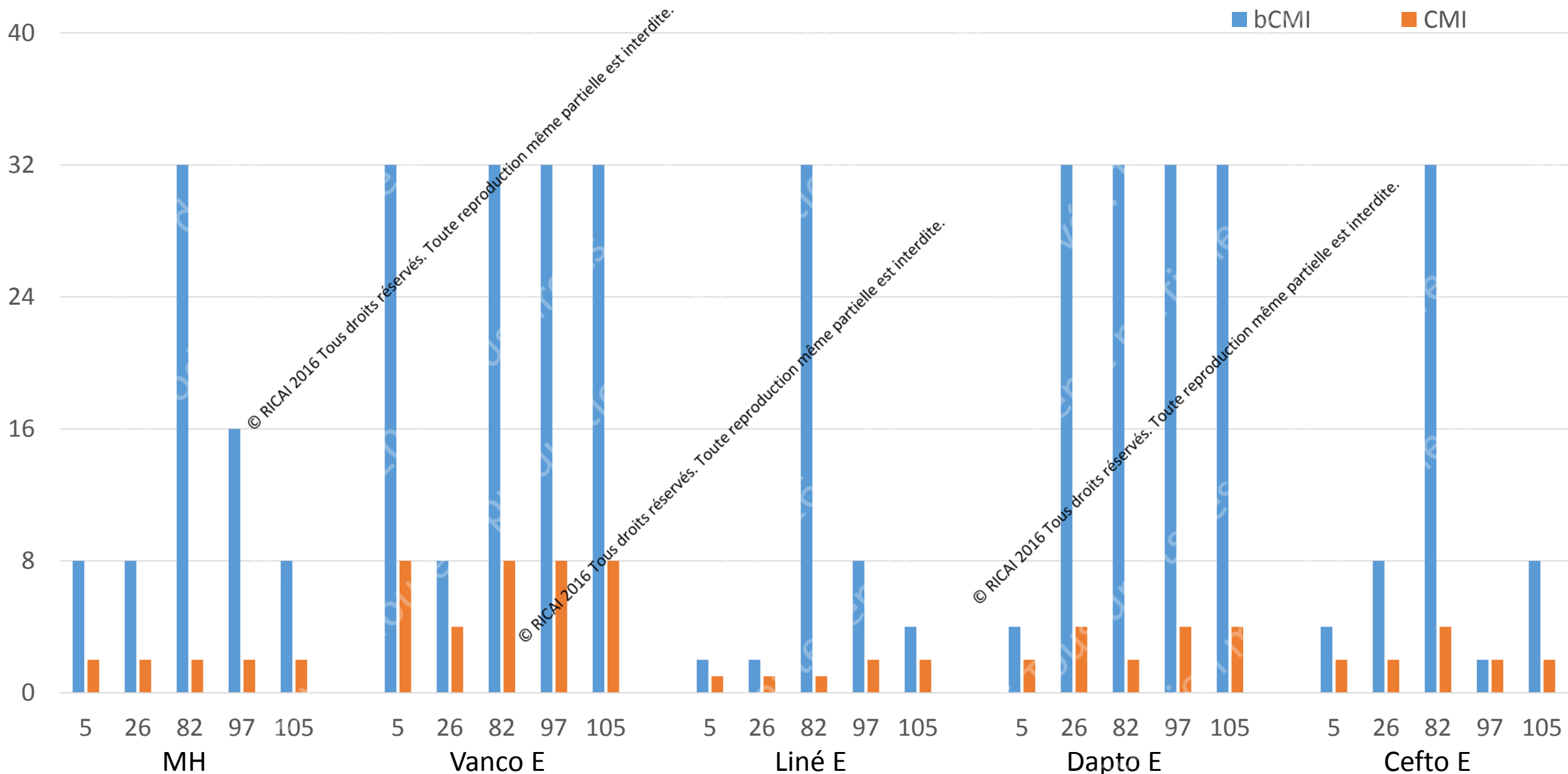
# Antibiofilmogram<sup>®</sup> Rifampicine



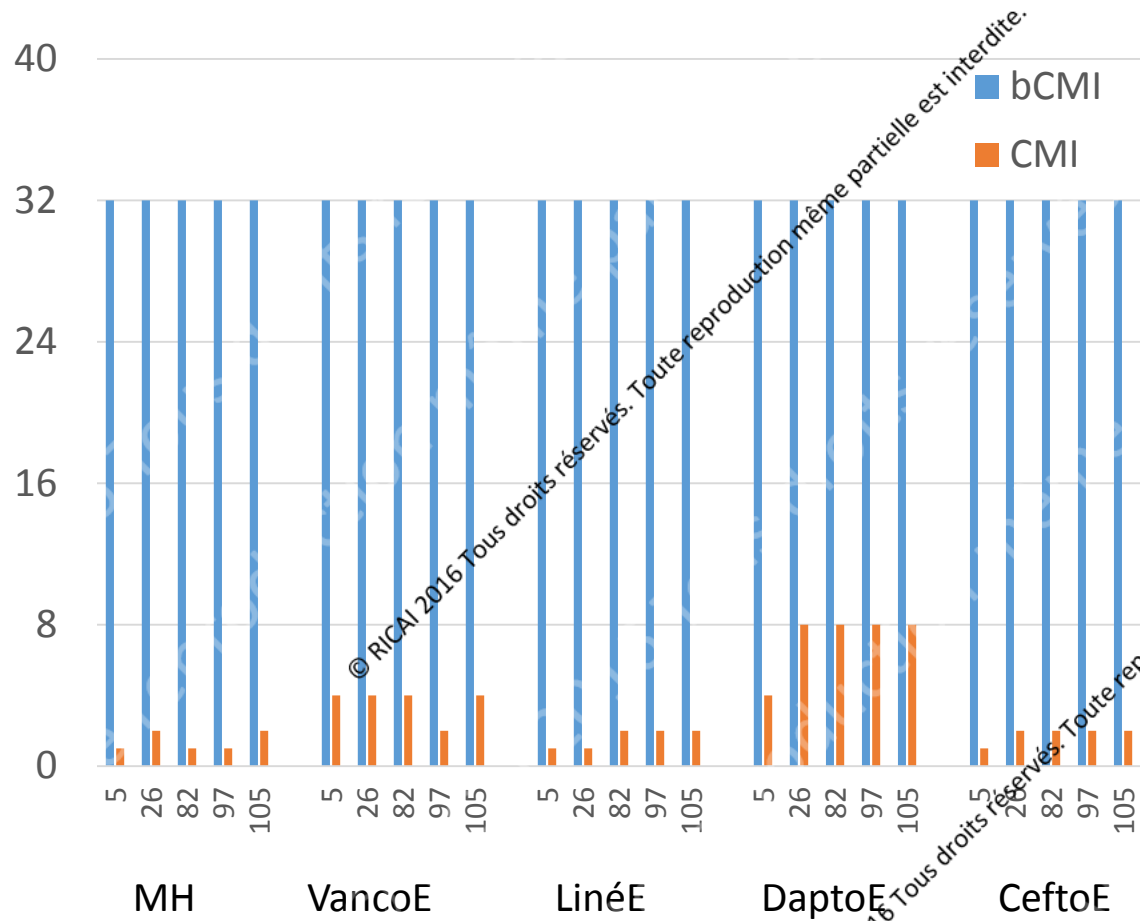
# Antibiofilmogram<sup>®</sup> Linézolide



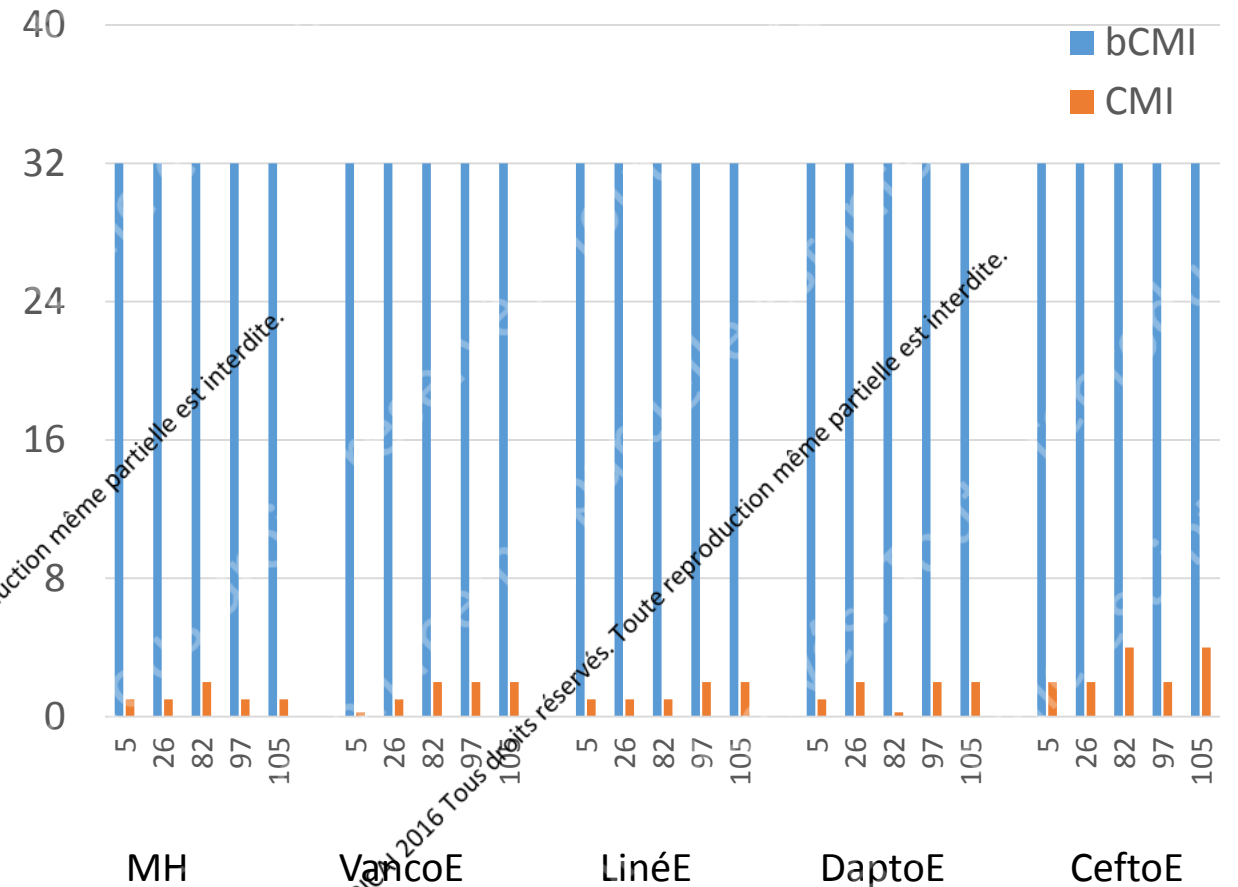
# Antibiofilmogram<sup>®</sup> Vancomycine



# Antibiofilmogram<sup>®</sup> Daptomycine



# Antibiofilmogram<sup>®</sup> Ceftobiprole



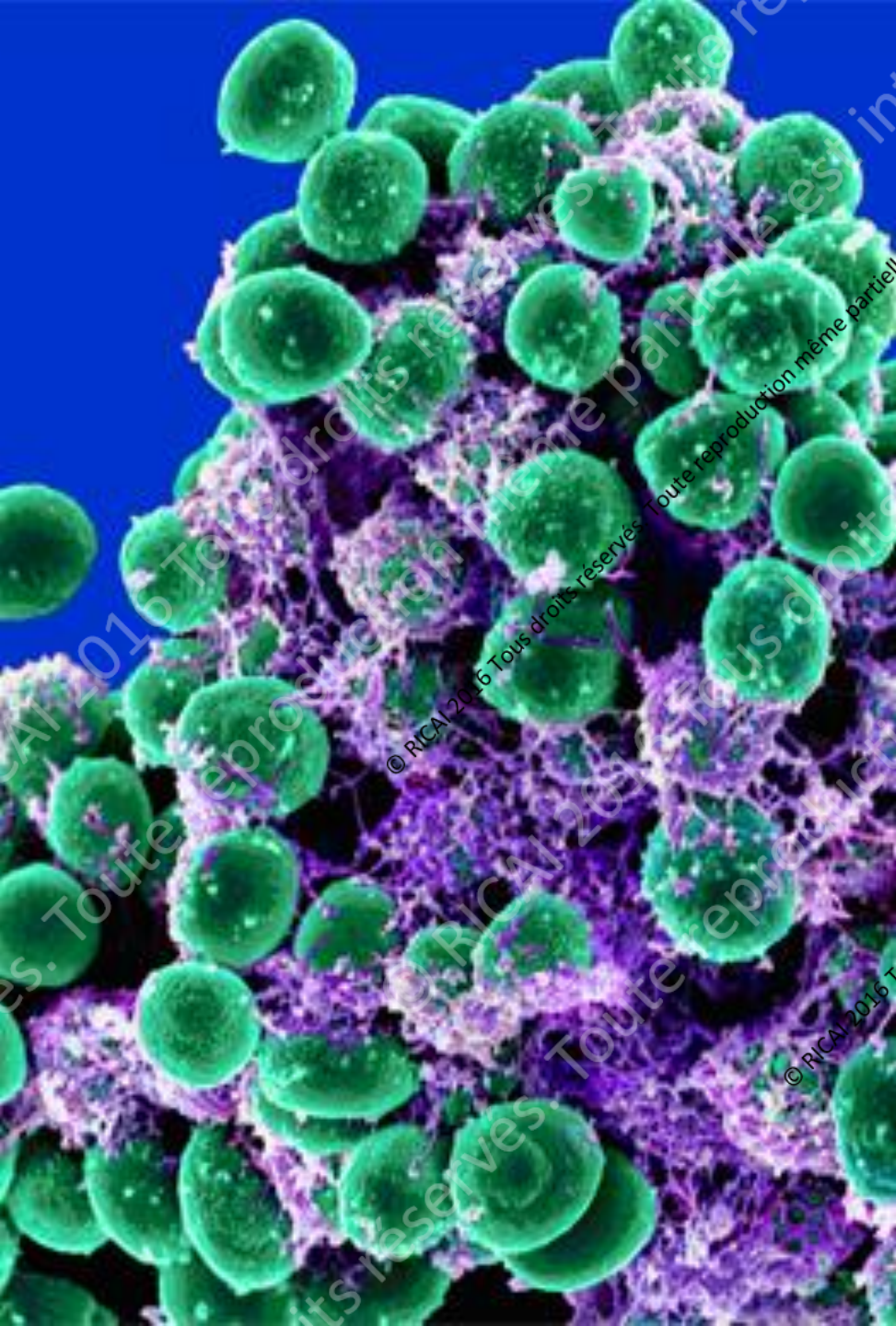
Daptomycine et Ceftobiprole: inefficaces pour inhiber la formation de biofilm



# Conclusion

- Polymorphisme des SCN impliqués dans les bactériémies liées au cathéter
- Résistance croisée entre daptomycine et vancomycine
  - Mécanismes impliquant la paroi bactérienne
  - Implication clinique lors de traitement séquentiel en cas d'échec thérapeutique
- Augmentation de la formation de biofilm des *S. epidermidis* exposés à la daptomycine
- Linézolide et rifampicine les plus efficaces pour inhiber la formation de biofilm
  - Effet synergique
  - Implication clinique en cas de nécessité de poser du matériel en contexte septique
- Ceftobiprole et daptomycine: inefficaces

# Perspectives



- Comprendre les mécanismes de modification du phénotype de virulence
  - Recherche de modification d'expression de gènes de virulence
- Modification du phénotype post exposition: effets sur la virulence des SCN *in vivo*
  - Modèle *C. elegans*
- Pérennité des modifications du phénotype de virulence et de résistance
  - Nouvelle évaluation à distance de l'arrêt des ATB



**Inserm**



LABOSUD  
OCBIOLOGIE



© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

# Merci pour votre attention

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2016 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.