



**DIU Infections ostéo-articulaires
Rennes, 22 novembre 2016**

Physiopathologie des IOA – ATELIER

Dr. Florent Valour

florent.valour@chu-lyon.fr

Maladies infectieuses et tropicales

Centre de Référence inter-régional pour la prise en charge des IOA complexes

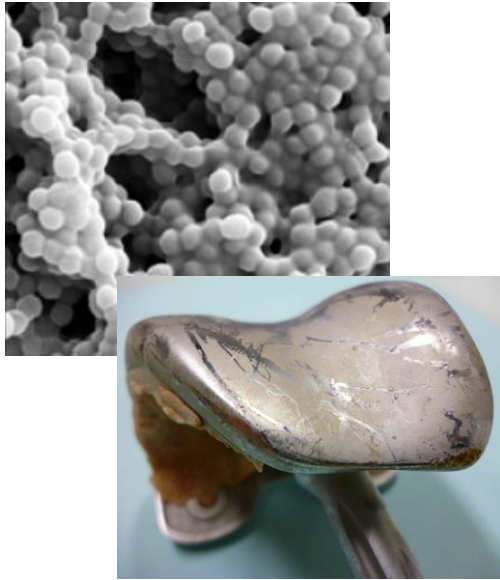
Hospices Civils de Lyon

INSERM U1111 – Centre International de Recherche en Infectiologie

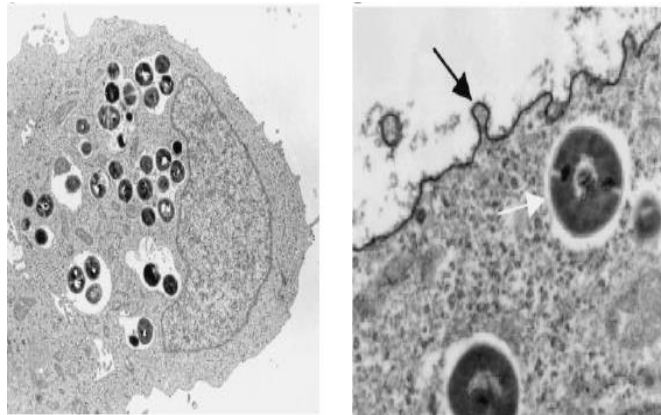
Université Claude Bernard Lyon 1

Chronicité et persistance MECANISMES BACTERIENS

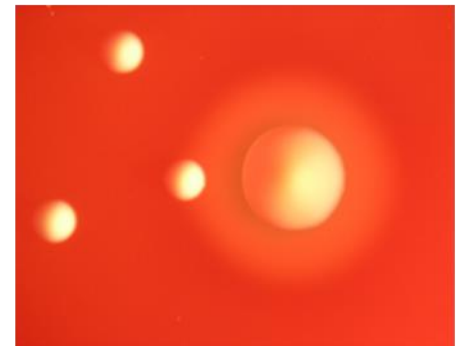
BIOFILM



VIE INTRACELLULAIRE



SMALL COLONY VARIANT (SCV)



A propos du biofilm

A propos du biofilm

Le biofilm est associé aux situations cliniques suivantes :

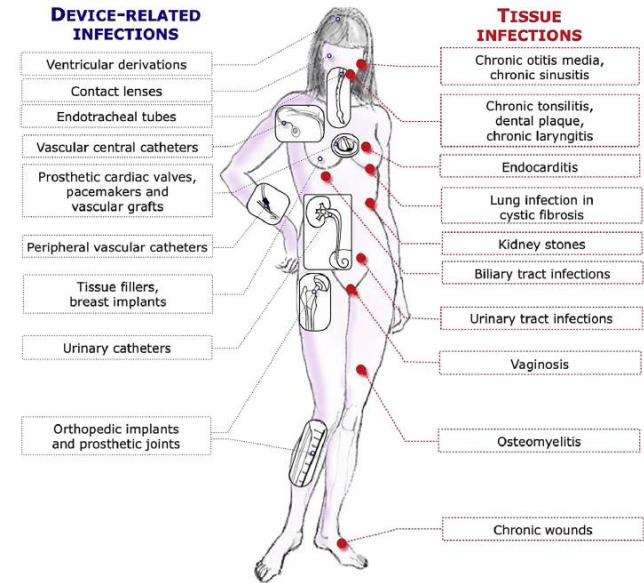
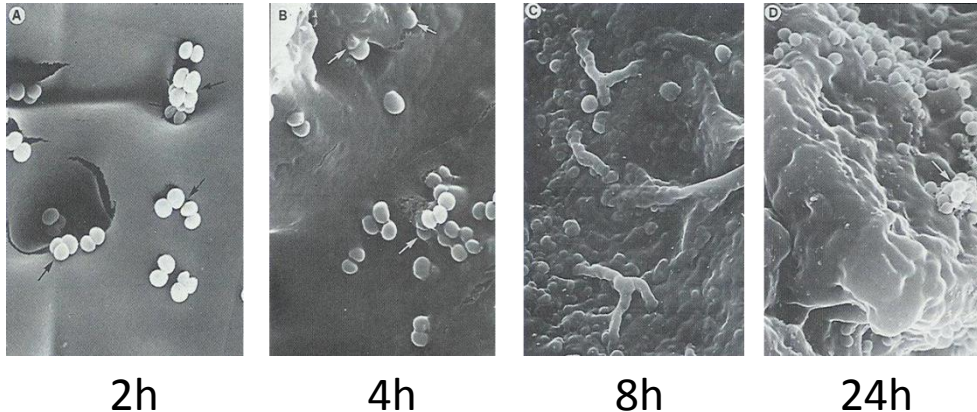
- A. Infections chroniques
- B. Ostéite chronique sans matériel
- C. Infection aiguë sur prothèse articulaire
- D. Endocardite infectieuse
- E. Infection urinaire

A propos du biofilm

Le biofilm est associé aux situations cliniques suivantes :

- A. Infections chroniques
- B. Ostéite chronique sans matériel
- C. Infection aiguë sur prothèse articulaire
- D. Endocardite infectieuse
- E. Infection urinaire

Microphotographies Olson, Ruseska, Costerton J. Biomed Mater Res 1988

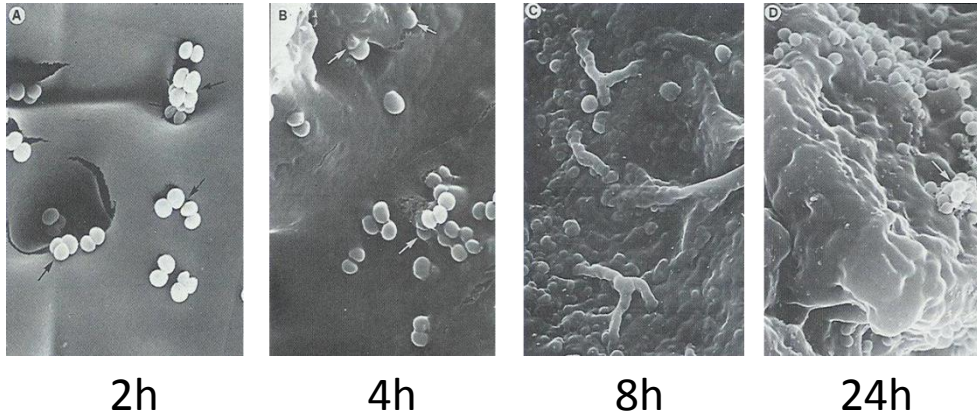


A propos du biofilm

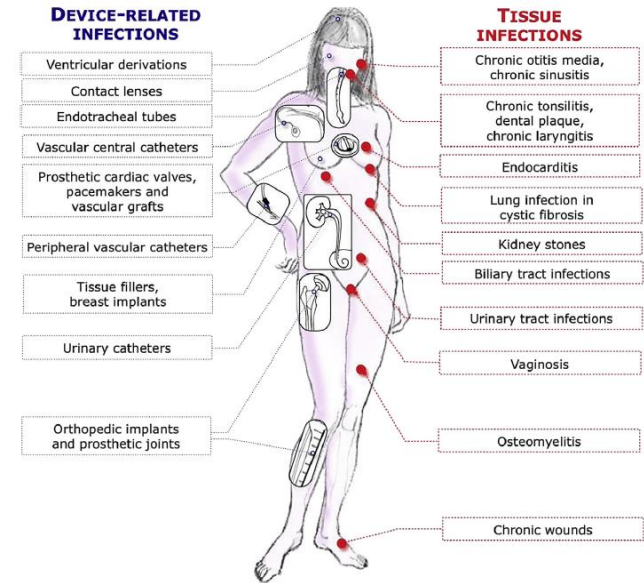
Le biofilm est associé aux situations cliniques suivantes :

- A. Infections chroniques
- B. Ostéite chronique sans matériel
- C. Infection aiguë sur prothèse articulaire
- D. Endocardite infectieuse
- E. Infection urinaire

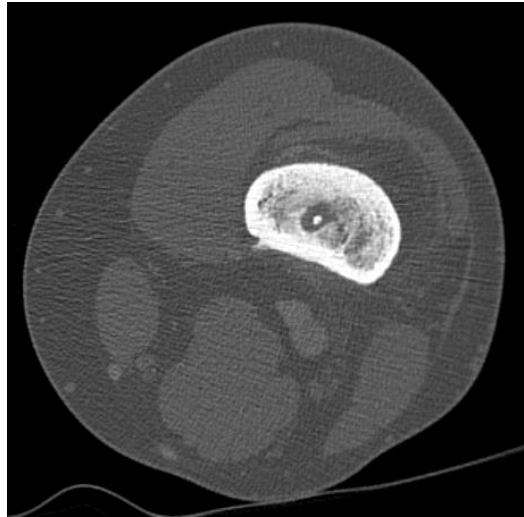
Microphotographies Olson, Ruseska, Costerton J. Biomed Mater Res 1988



Sur matériel ... mais pas que !



A propos du biofilm



36 ans

Préparateur de commande

Allergie à l'oxacilline

1993 (14 ans) : ostéomyélite aiguë

Ponction : *S. aureus* méti-S

Antibiothérapie 6 semaines

Bonne évolution immédiate

Douleurs récidivantes

Quelques jours (hiver)

Déc 2015 : douleurs continues,

Insomniantes, boiterie

AINS

Fémorotomie, curetage

Prlvmts : stériles, PCR 16+ MSSA

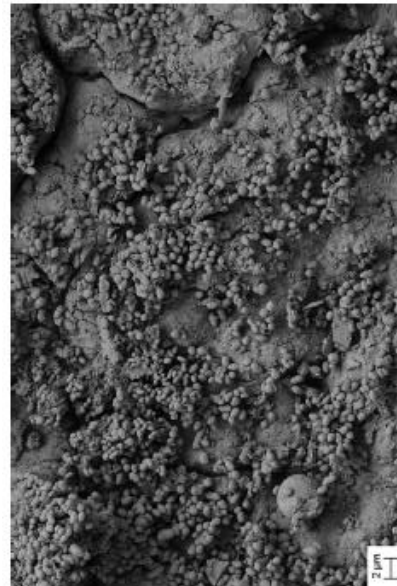
Redon + MSSA

CEFAZOLINE – RIFAM (2 sem)

RIFAM – OFLOXACINE (total : 3 ms)

Bonne évolution

A propos du biofilm



36 ans

Préparateur de commande

Allergie à l'oxacilline

1993 (14 ans) : ostéomyélite aiguë

Ponction : *S. aureus* méti-S

Antibiothérapie 6 semaines

Bonne évolution immédiate

Douleurs récidivantes

Quelques jours (hiver)

Déc 2015 : douleurs continues,

Insomniantes, boiterie

AINS

Fémorotomie, curetage

Prlvmts : stériles, PCR 16+ MSSA

Redon + MSSA

CEFAZOLINE – RIFAM (2 sem)

RIFAM – OFLOXACINE (total : 3 ms)

Bonne évolution

A propos du biofilm

A propos du diagnostic des IOA associées au biofilm :

- A. le biofilm peut être responsable de faux négatifs des prélèvements bactériologiques
- B. l'existence d'un biofilm justifie la multiplication du nombre de prélèvements (3 à 6)
- C. l'existence d'un biofilm justifie le prolongement des cultures jusqu'à 14 jours
- D. la mise en culture des sonicats de prothèse articulaire augmente la rentabilité diagnostique des IOA

A propos du biofilm

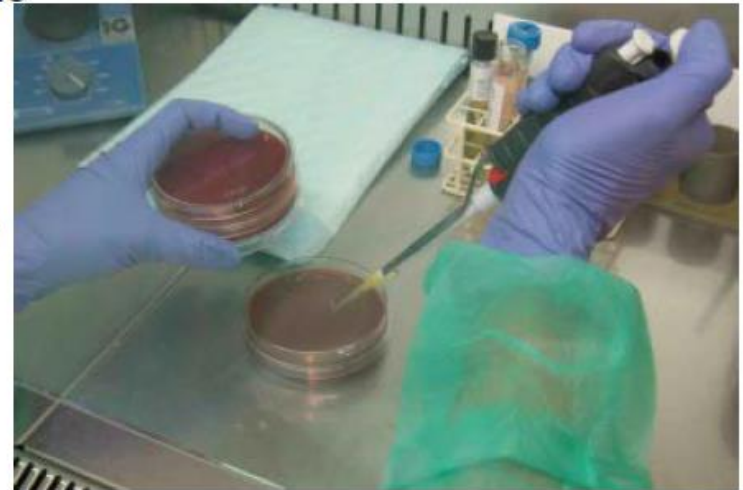
A propos du diagnostic des IOA associées au biofilm :

- A. le biofilm peut être responsable de faux négatifs des prélèvements bactériologiques**
- B. l'existence d'un biofilm justifie la multiplication du nombre de prélèvements (3 à 6)**
- ~~C. l'existence d'un biofilm justifie le prolongement des cultures jusqu'à 14 jours~~
- D. la mise en culture des sonicats de prothèse articulaire augmente la rentabilité diagnostique des IOA**

A propos du biofilm

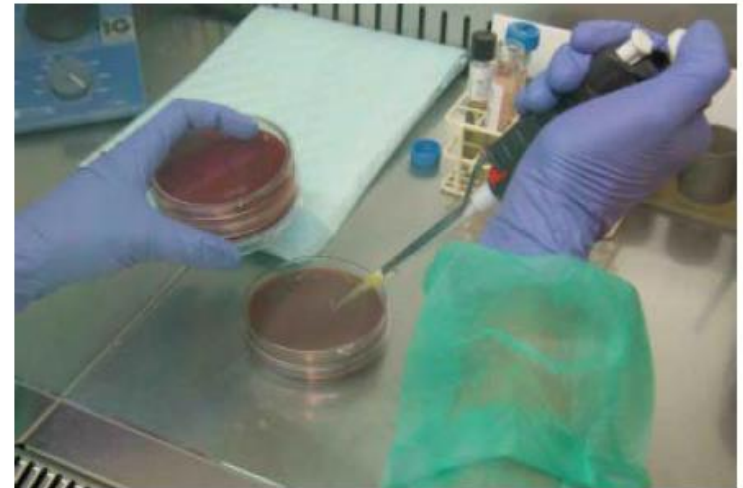
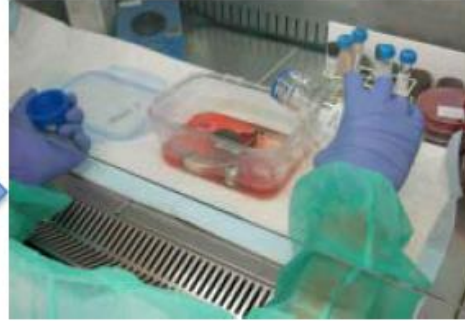
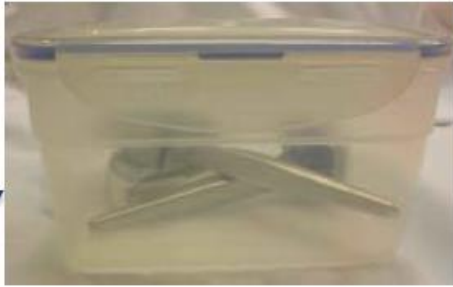


Culture bactérienne classique
(1-10 prélèvements
per-opératoires)



A propos du biofilm

Prothèses explantées



A propos du biofilm

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection

Andrej Trampuz, M.D., Kerryl E. Piper, M.S., Melissa J. Jacobson, A.S.,
Arlen D. Hanssen, M.D., Krishnan K. Unni, M.D., Douglas R. Osmon, M.D.,
Jayawant N. Mandrekar, Ph.D., Franklin R. Cockerill, M.D.,
James M. Steckelberg, M.D., James F. Greenleaf, Ph.D., and Robin Patel, M.D.



331 patients

79 PJI « cliniques »

14+ uniquement en sonication

Se culture sonicat = 78,5%

Se culture tissu = 60,8%

Se culture LA = 56,3%

252 « aseptique »

3 sonicats+ (2 SCN et 1 coryné)

A propos du biofilm

Test	Patients with Prosthetic-Joint Infection (N = 79)	Patients with Aseptic Failure (N = 252)	Sensitivity	Specificity	Positive Predictive Value	Negative Predictive Value
	<i>no. of patients with positive specimens*</i>		<i>% (95% confidence interval)</i>			
Synovial-fluid culture	18/32	2/108	56.3 (37.7–73.6)	98.1 (93.5–99.8)	90.0 (68.3–98.8)	88.3 (81.2–93.5)
Periprosthetic-tissue culture†						
≥1 positive culture	58	23	73.4 (62.3–82.7)	90.9 (86.6–94.1)	71.6 (60.5–81.1)	91.6 (87.4–94.7)
≥2 positive cultures	48	2	60.8 (49.1–71.6)	99.2 (97.2–99.9)	96.0 (86.3–99.5)	89.0 (84.7–92.4)
Sonicate-fluid culture†‡						
≥1 CFU	64	28	79.0 (68.5–87.3)	88.5 (83.9–92.2)	68.8 (58.4–78.0)	93.9 (88.9–95.8)
≥2 CFU	63	8	79.7 (69.2–88.0)	96.8 (93.8–98.6)	88.7 (79.0–95.0)	93.8 (90.2–96.4)
≥3 CFU	63	5	79.7 (69.2–88.0)	98.0 (95.4–99.4)	92.6 (83.7–97.6)	93.9 (90.3–96.5)
≥4 CFU	62	5	78.5 (67.8–86.9)	98.0 (95.4–99.4)	92.5 (83.4–97.5)	93.6 (89.9–96.2)
≥5 CFU	62	3	78.5 (67.8–86.9)	98.8 (96.6–99.8)	95.4 (87.1–99.0)	93.6 (90.0–96.2)
≥6 CFU	62	3	78.5 (67.8–86.9)	98.8 (96.6–99.8)	95.4 (87.1–99.0)	93.6 (90.0–96.2)
≥7 CFU	60	3	75.9 (65.0–84.9)	98.8 (96.6–99.8)	95.2 (86.7–99.0)	92.6 (89.2–95.7)
≥8 CFU	59	3	74.7 (63.6–83.8)	98.8 (96.6–99.8)	95.2 (86.5–99.0)	92.6 (88.8–95.4)
≥9 CFU	58	3	73.4 (62.3–82.7)	98.8 (96.6–99.8)	95.1 (86.3–99.0)	92.2 (88.4–95.1)
≥10 CFU	57	3	72.2 (60.9–81.7)	98.8 (96.6–99.8)	95.0 (86.1–99.0)	91.9 (88.0–94.8)
≥25 CFU	55	2	69.6 (58.2–79.5)	99.2 (97.2–99.9)	96.5 (87.9–99.6)	91.2 (87.2–94.3)
≥50 CFU	54	1	68.4 (56.9–78.4)	99.6 (97.8–100.0)	98.2 (90.3–100.0)	90.9 (86.9–94.1)
Gram's staining of sonicate fluid	34/76	0/250	44.7 (33.3–56.6)	100.0 (98.5–100.0)	100.0 (89.7–100.0)	85.6 (81.1–89.4)

A propos du biofilm

A propos du traitement des IOA associées au biofilm :

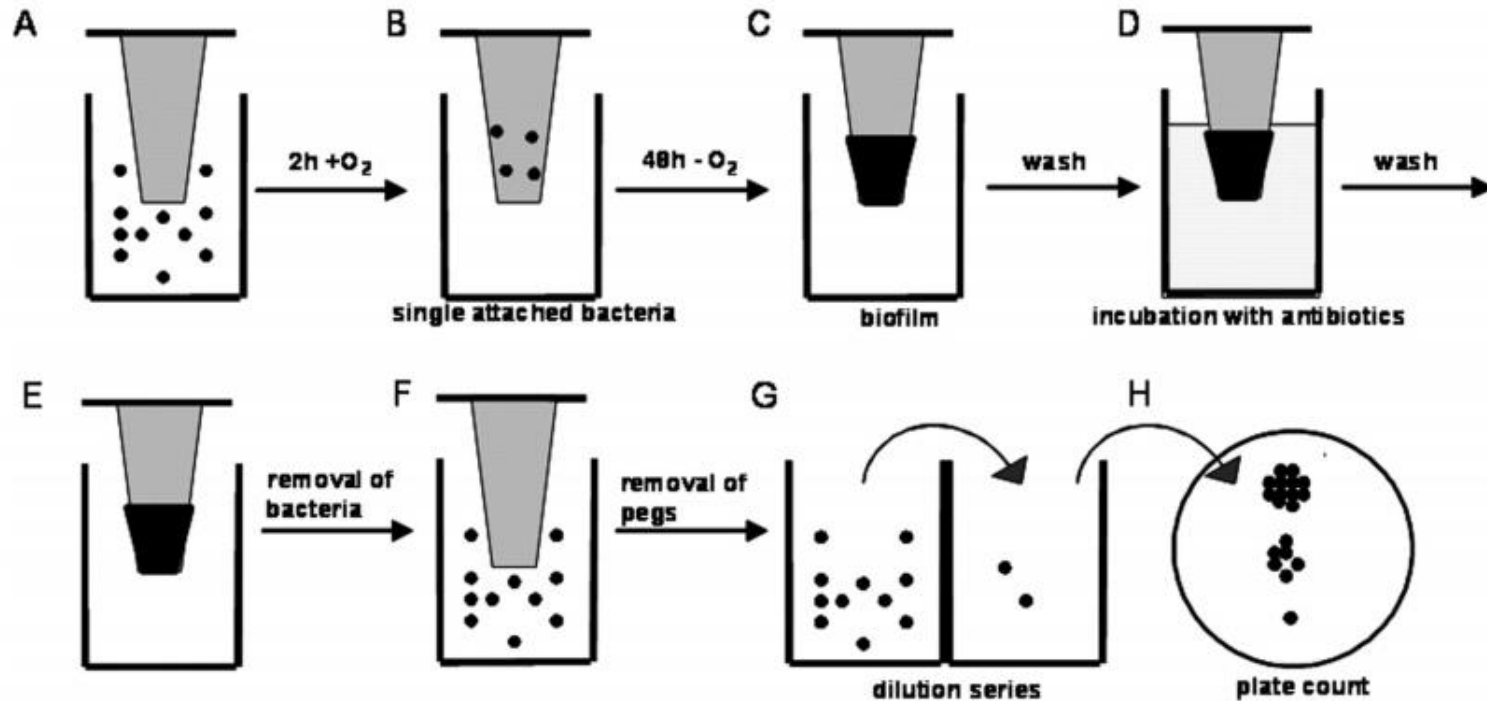
- A. Les antibiogrammes fournis par le laboratoire de bactériologie concernant des prélèvements osseux tiennent en compte la « tolérance » des bactéries en biofilm à certains antibiotiques
- B. Les tests spécifiques de sensibilité/tolérance des bactéries en biofilm sont prédictifs du succès thérapeutique clinique
- C. L'utilisation de prothèse imprégnées d'antibiotiques (gentamicine) pourrait prévenir la formation de biofilm
- D. Les bactéries en biofilm sont 100 à plus de 1000 fois moins sensibles à certains antibiotiques que leurs homologues planctoniques
- E. Les fluoroquinolones doivent être privilégiées en cas d'infection à BGN

A propos du biofilm

A propos du traitement des IOA associées au biofilm :

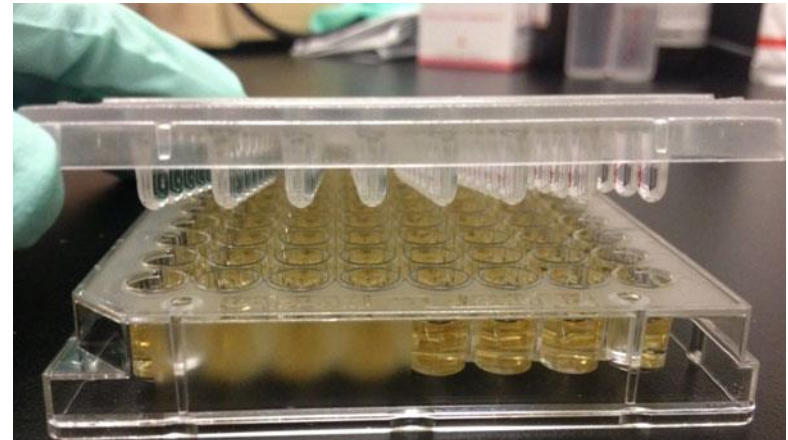
- ~~A. Les antibiogrammes fournis par le laboratoire de bactériologie concernant des prélèvements osseux tiennent en compte la « tolérance » des bactéries en biofilm à certains antibiotiques~~
- ~~B. Les tests spécifiques de sensibilité/tolérance des bactéries en biofilm sont prédictifs du succès thérapeutique clinique~~
- C. L'utilisation de prothèse imprégnées d'antibiotiques (gentamicine) pourrait prévenir la formation de biofilm**
- D. Les bactéries en biofilm sont 100 à plus de 1000 fois moins sensibles à certains antibiotiques que leurs homologues planctoniques**
- E. Les fluoroquinolones doivent être privilégiées en cas d'infection à BGN**

A propos du biofilm : détermination de la CMB



Détermination de la MBEC
(minimal biofilm eradication concentration)

Méthode de Calgary



A propos du biofilm

Role of Biofilms in Antimicrobial Resistance

RODNEY M. DONLAN

ASAIO Journal 2000

Table 2. Antibiotic Susceptibility of *P. aeruginosa* ATCC 27853 as a Planktonic Population (MIC) and as a Biofilm Population (MBEC) as Derived by the NCCLS Assay and an Assay with the CBD*

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$) NCCLS Assay†	MIC ($\mu\text{g/ml}$) Assay with CBD†	MBEC ($\mu\text{g/ml}$) A_{650} †	MBEC ($\mu\text{g/ml}$) 0 CFU/peg‡
Amikacin	2	4	16	16
Aztreonam	2	4	>1,024	>1,024
Ceftazidime	1	2	>1,024	>1,024
Ciprofloxacin	0.25	0.25	4	4
Gentamicin	2	4	128	128
Imipenem	1	4	>1,024	>1,024
Piperacillin	2	16	>1,024	>1,024
Tobramycin	0.5	1	2	2

Table 3. Antibiotic Susceptibility of *S. aureus* ATCC 29213 as a Planktonic Population (MIC) and as a Biofilm Population (MBEC) Derived by the NCCLS Assay and an Assay with the CBD*

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$) NCCLS assay†	MIC ($\mu\text{g/ml}$) Assay with CBD†	MBEC ($\mu\text{g/ml}$) A_{650} †	MBEC ($\mu\text{g/ml}$) 0 CFU/peg‡
Cefazolin	0.5	0.5	>1,024	>1,024
Ciprofloxacin	0.25	0.5	512	512
Clindamycin	0.12	0.25	128	256
Gentamicin	0.5	0.5	2	2
Oxacillin	0.12	0.25	>1,024	>1,024
Penicillin	1	4	128	128
Vancomycin	1	1	>1,024	>1,024

A propos du biofilm

L'antibiotique « anti-biofilm » idéal doit avoir les caractéristiques suivantes :

- A. bactéricide
- B. actif sur les bactéries en phase stationnaire
- C. effet inoculum marqué
- D. bonne diffusion intra-osseuse
- E. exister

A propos du biofilm

L'antibiotique « anti-biofilm » idéal doit avoir les caractéristiques suivantes :

- A. **bactéricide**
- B. **actif sur les bactéries en phase stationnaire**
- ~~C. effet inoculum marqué~~
- ~~D. bonne diffusion intra-osseuse~~
- E. **exister**

A propos du biofilm

Les antibiotiques suivants pourraient être utilisés en prévention de formation de biofilm (en coatant des biomatériaux par exemple) du fait de leur capacité d'inhiber les étapes précoces de formation (adhésion) :

- A. Linézolide
- B. Vancomycine
- C. Acide fusidique
- D. Daptomycine
- E. Cotrimoxazole

A propos du biofilm

Les antibiotiques suivants pourraient être utilisés en prévention de formation de biofilm (en coatant des biomatériaux par exemple) du fait de leur capacité d'inhiber les étapes précoces de formation (adhésion) :

A. Linézolide

B. Vancomycine

~~C. Acide fusidique~~

D. Daptomycine

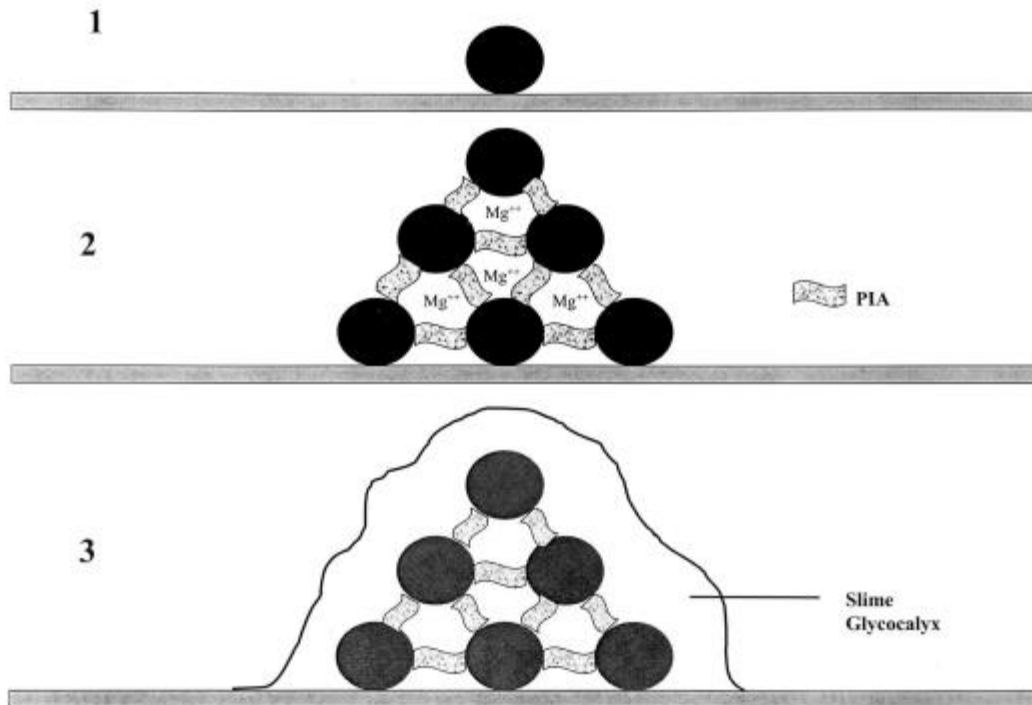
~~E. Cotrimoxazole~~

A propos du biofilm

Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately?

W. Michael Dunne, Jr. *

CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, Apr. 2002, p. 155–166



1. Adhésion précoce

Physique +++

Hydrophobicité

Forces électrostatiques

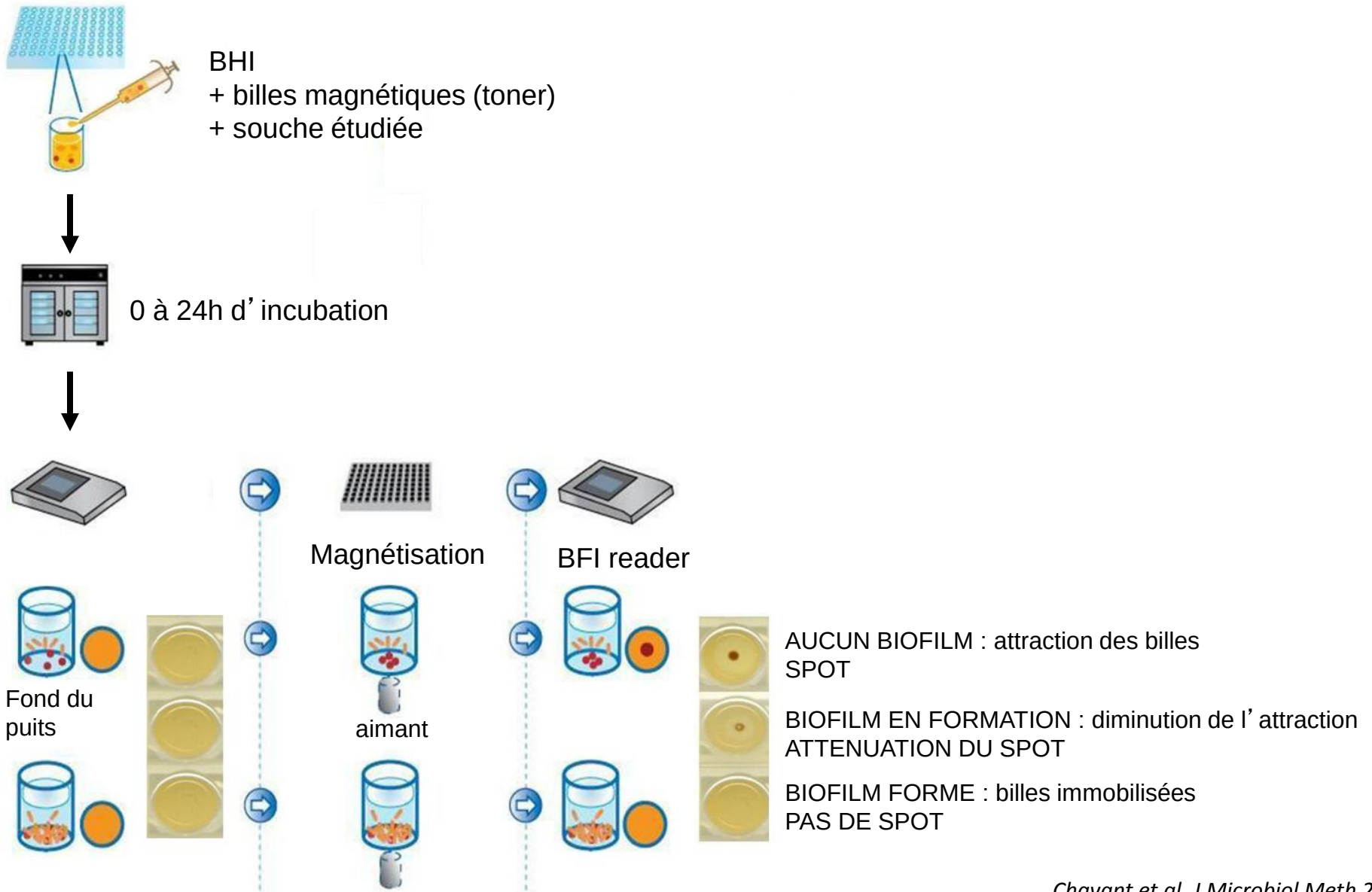
2. Adhésion inter-cellulaire

Forces convalantes

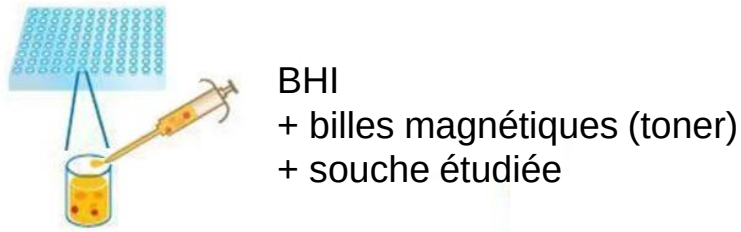
3. Maturation

Sécrétion du slime

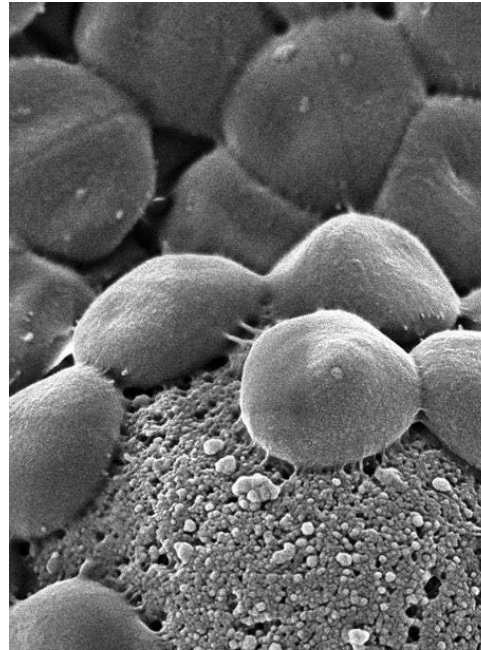
A propos du biofilm



A propos du biofilm



0 à 24h d'incubation



Nette diminution de l'adhésion de *S. aureus* en présence de

- linézolide
- daptomycine
- vancomycine

à concentration proche de la CMI

Pas/peu d'effet si ATB ajouté après la phase d'adhésion (y compris à 100 x CMI)



Magnétisation



aimant



BFI reader



Fond du puits



AUCUN BIOFILM : attraction des billes
SPOT

BIOFILM EN FORMATION : diminution de l'attraction
ATTENUATION DU SPOT

BIOFILM FORME : billes immobilisées
PAS DE SPOT

A propos du biofilm

Les antibiotiques suivants doivent être utilisés en priorité pour leur activité « anti-biofilm », notamment dans les cas où le risque de formation de biofilm est important (par ex, changement prothétique en 1 temps) :

- A. Linézolide
- B. Vancomycine
- C. Clindamycine
- D. Daptomycine
- E. Rifampicine

A propos du biofilm

Les antibiotiques suivants doivent être utilisés en priorité pour leur activité « anti-biofilm », notamment dans les cas où le risque de formation de biofilm est important (par ex, changement prothétique en 1 temps) :

A. Fluoroquinolones → BGN

~~B. Vancomycine~~

~~C. Clindamycine~~

D. Daptomycine → CGP

E. Rifampicine → CGP

J Antimicrob Chemother 2014; **69** Suppl 1: i37–i40
doi:10.1093/jac/dku254

**Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy**

Impact of bacterial biofilm on the treatment of prosthetic joint infections

Cédric Jacqueline* and Jocelyne Caillon

Antibiotics	Inhibition of biofilm formation (adhesion)	Biofilm penetration	Bactericidal activity in biofilm
Vancomycin	+	++	+
Linezolid	+	++	+
Daptomycin	+	+++	++
Rifampicin	+	+++	++
Moxifloxacin	+	++	++
Rifampicin + daptomycin	+	+++	+++
Rifampicin + vancomycin	+	++	++
Rifampicin + linezolid	+	+++	+++

Le réservoir intra-cellulaire

A propos du réservoir intracellulaire

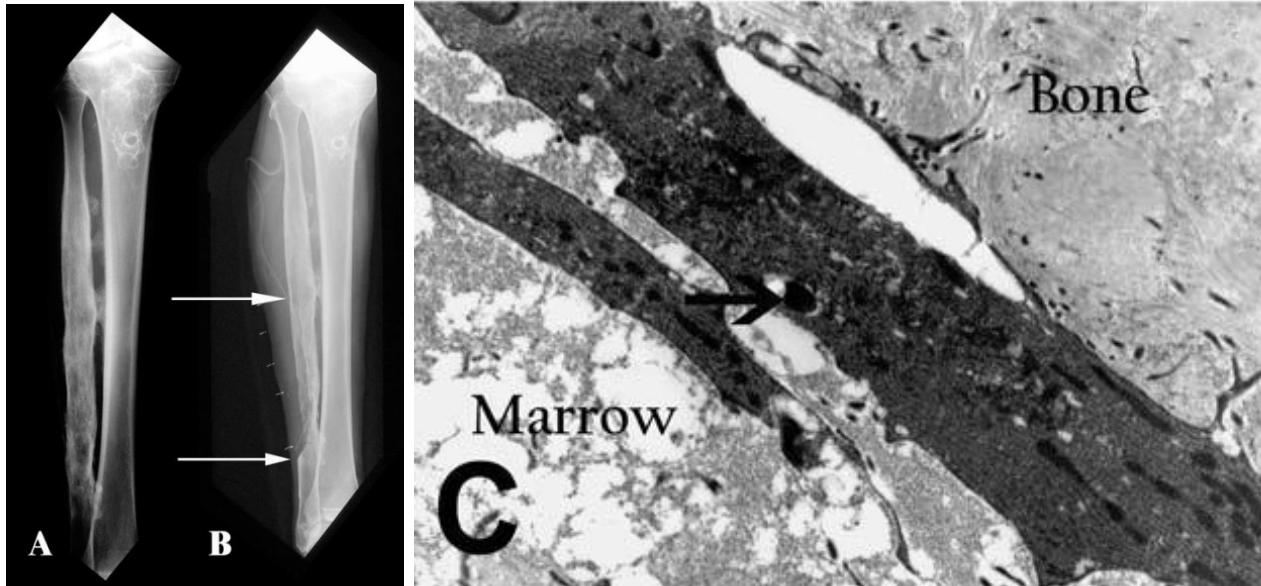
A propos du réservoir intra-cellulaire des staphylocoques :

- A. Les staphylocoques à coagulase négative persistent dans les ostéoblastes
- B. L'internalisation et la persistance de *S. epidermidis* dans les ostéoblastes est un mécanisme majeur de la chronicité des IOA
- C. Toutes les souches de *S. aureus* ont la même capacité de persistance intra-cellulaire
- D. Les souches capables de persister longtemps en intracellulaire sont généralement peu cytotoxiques
- E. L'éradication du réservoir intracellulaire pourrait représenter un enjeu important pour limiter la chronicisation et les récives des IOA staphylococciques

A propos du réservoir intracellulaire

A propos du réservoir intra-cellulaire des staphylocoques :

- ~~A. Les staphylocoques à coagulase négative persistent dans les ostéoblastes~~
- ~~B. L'internalisation et la persistance de *S. epidermidis* dans les ostéoblastes est un mécanisme majeur de la chronicité des IOA~~
- ~~C. Toutes les souches de *S. aureus* ont la même capacité de persistance intra-cellulaire~~
- D. Les souches capables de persister longtemps en intracellulaire sont généralement peu cytotoxiques**
- E. L'éradication du réservoir intracellulaire pourrait représenter un enjeu important pour limiter la chronicisation et les récides des IOA staphylococciques**



Bosse, 2005
Ostéite chronique
ME

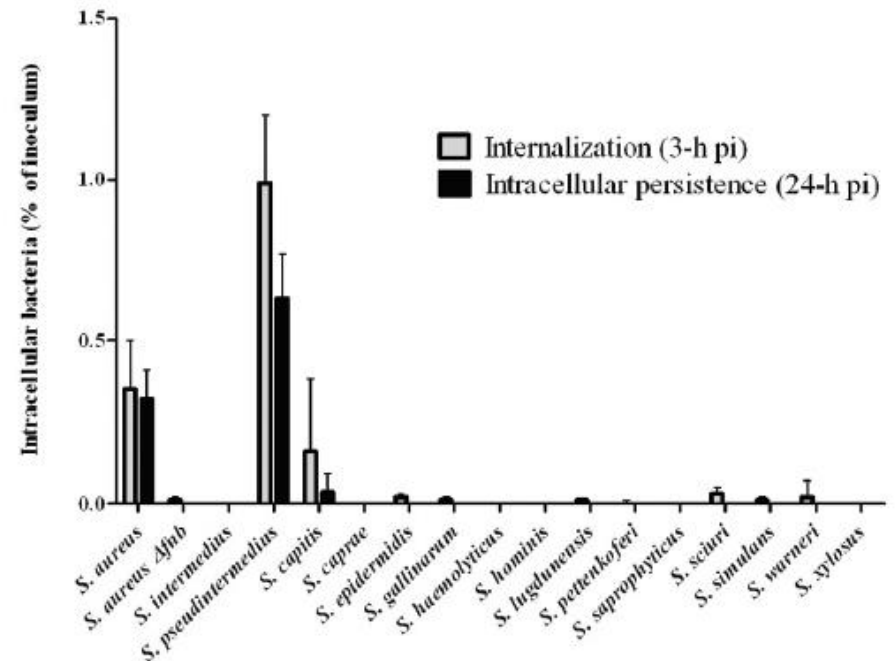
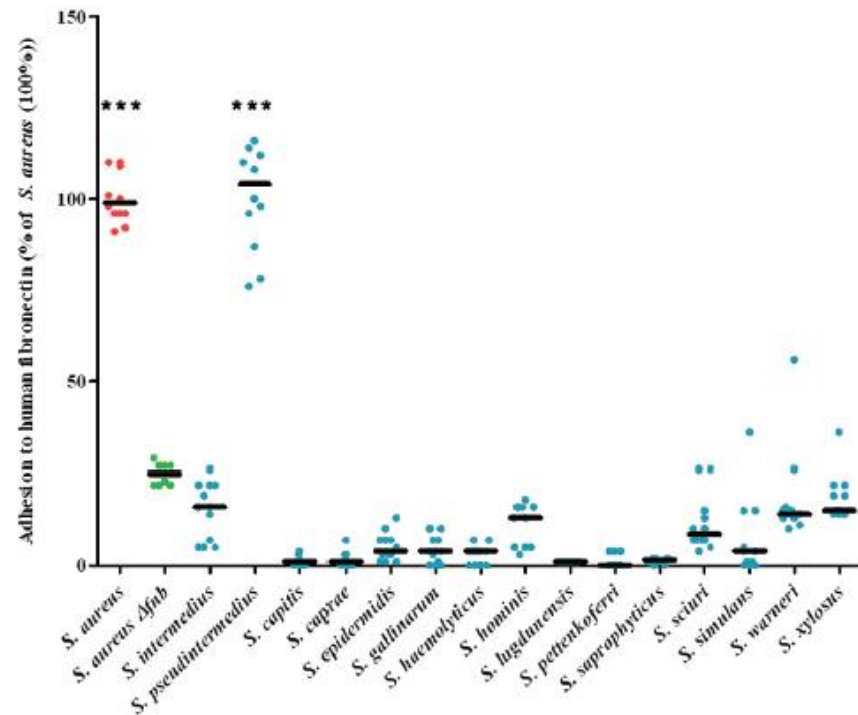
A propos du réservoir intracellulaire

Pathophysiological Mechanisms of *Staphylococcus Non-aureus* Bone and Joint Infection: Interspecies Homogeneity and Specific Behavior of *S. pseudintermedius*

Yousef Maali^{1,2}, Patricia Martins-Silvões^{1,2}, Florent Valour^{1,3}, Daniel Bouvard^{4,5}, Jean-Philippe Rasigade^{1,6}, Michele Bes⁶, Marisa Haenni⁷, Tristan Ferry^{1,3}, Frédéric Laurent^{1,2,6*} and Sophie Trouillet-Assant^{1,2†}

Evaluation de l'adhésion et internalisation dans les ostéoblastes de 16 espèces de SCN (souches cliniques responsables d'IOA)

Faible capacité d'internalisation et de persistance des SCN à l'exception de *S. pseudintermedius*



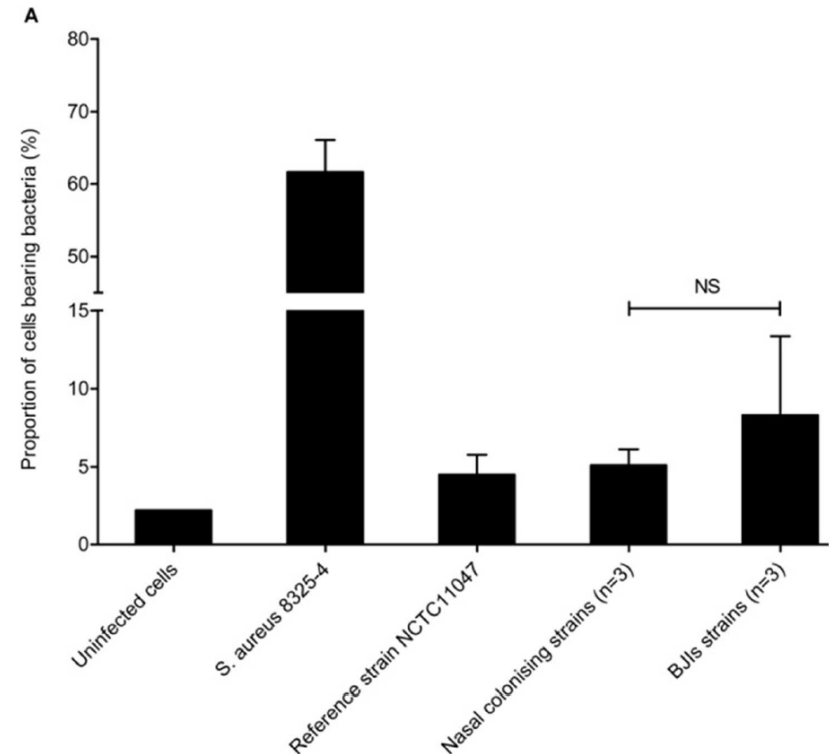
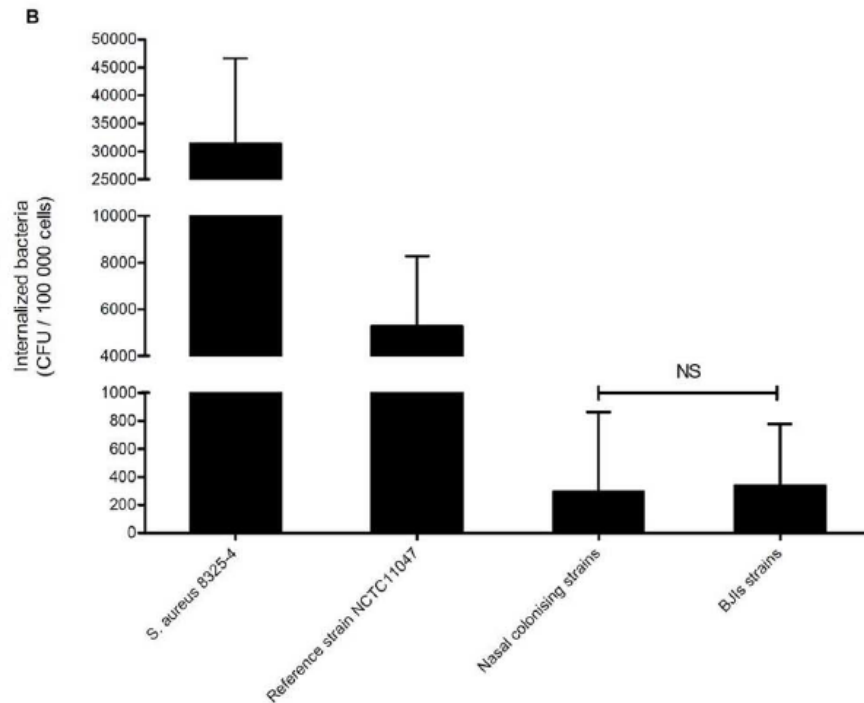
A propos du réservoir intracellulaire

Staphylococcus epidermidis in Orthopedic Device Infections: The Role of Bacterial Internalization in Human Osteoblasts and Biofilm Formation

Florent Valour^{1,2,3,*}, Sophie Trouillet-Assant^{1,2}, Jean-Philippe Rasigade^{1,2}, Sébastien Lustig^{1,4,7}, Emmanuel Chanard⁵, Hélène Meugnier^{6,7}, Sylvestre Tigaud², François Vandenesch^{1,6,7,8}, Jérôme Etienne^{1,4,7,8}, Tristan Ferry^{1,3,7}, Frédéric Laurent^{1,2,7,8}, on behalf of the Lyon BJI Study Group[†]

BJI, n=15

Nasal carriage, n=22



A propos du réservoir intracellulaire

May 2013 | Volume 8 | Issue 5 | e63176

PLOS ONE

PSMs of Hypervirulent *Staphylococcus aureus* Act as Intracellular Toxins That Kill Infected Osteoblasts

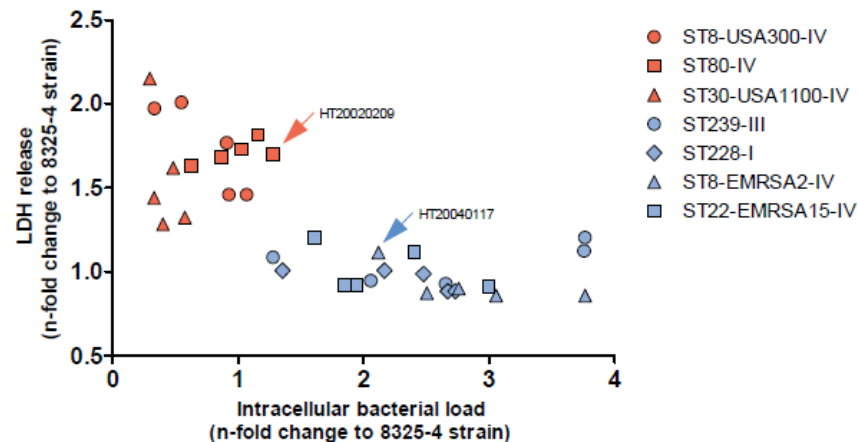
Jean-Philippe Rasigade^{1,2,3*}, Sophie Trouillet-Assant¹, Tristan Ferry¹, Binh An Diep⁴, Anaïs Sapin³, Yannick Lhoste³, Jérémy Ranfaing¹, Cédric Badiou¹, Yvonne Benito², Michèle Bes², Florence Couzon¹, Sylvestre Tigaud³, Gérard Lina^{1,2}, Jérôme Etienne^{1,2}, François Vandenesch^{1,2}, Frédéric Laurent^{1,2,3}

HA-MRSA (n=15)

- Infections post-opératoires
- Sur matériel
- Indolentes : chronicisation, récidue
- **Faible cytotoxicité**
- **Survie intracellulaire +++**

CA-MRSA (n=20)

- Ostéomyélites (enfants) +++
- Progression rapide, inflammation majeure, destruction osseuse, dommages tissulaires
- **Cytotoxicité +++**
- **Faible survie intracellulaire**
- **Dommages tissulaires (rôle de la PVL)**



A propos du réservoir intracellulaire

Delta-toxin production deficiency in *Staphylococcus aureus*: a diagnostic marker of bone and joint infection chronicity linked with osteoblast invasion and biofilm formation

Clin Microbiol Infect 2015; **21**: 568.e1–568.e11

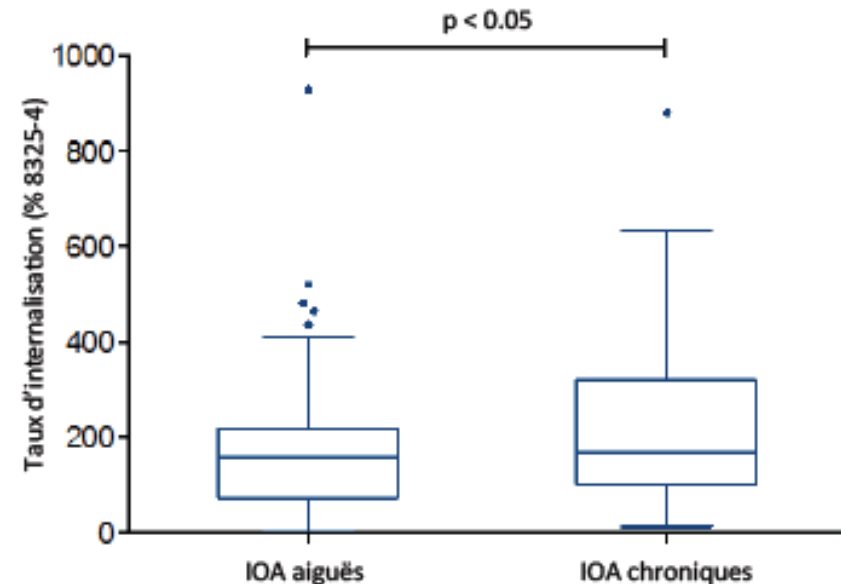
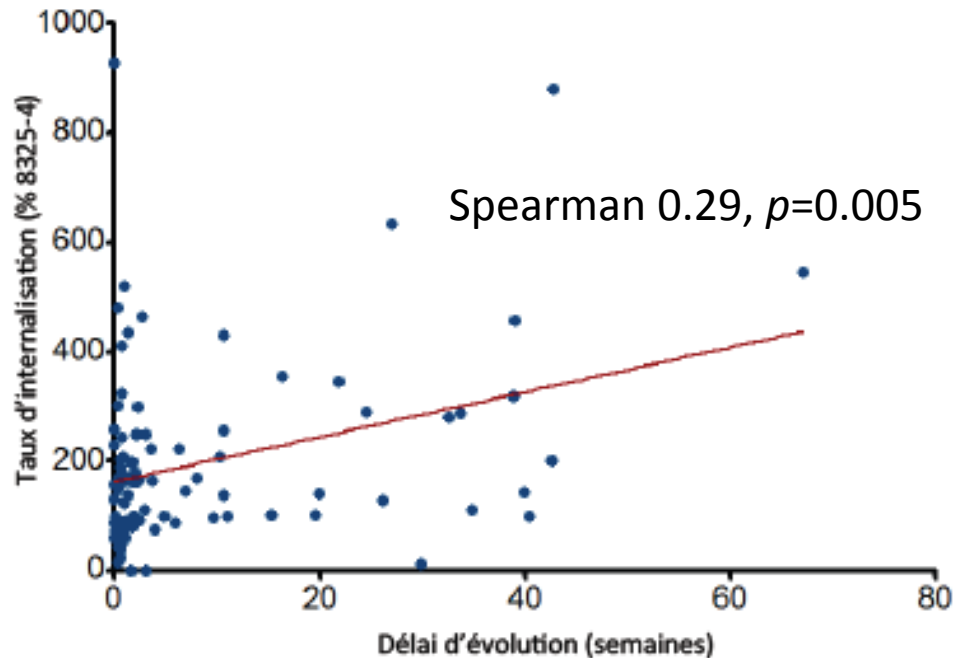
F. Valour^{1,2,3,4}, J.-P. Rasigade^{2,3,4}, S. Trouillet-Assant³, J. Gagnaire², A. Bouaziz¹, J. Karsenty¹, C. Lacour², M. Bes^{2,3}, S. Lustig^{3,4,5}, T. Béné⁶, C. Chidiac^{1,3,4}, J. Etienne^{2,3,4}, F. Vandenesch^{2,3,4}, T. Ferry^{1,3,4} and F. Laurent^{2,3,4}, on behalf of the Lyon BJI Study Group

95 couples patient-souche inclus

IOA aiguës
n=64

IOA chroniques
n=31

Délai d'évolution > 4 semaines



A propos du réservoir intracellulaire

Cibler le réservoir intra-cellulaire :

- A. Les CMI des bactéries planctoniques sont un bon reflet de l'activité intra-cellulaire des antibiotiques
- B. L'oxacilline est inactive car elle ne diffuse pas en intra-cellulaire
- C. La daptomycine est inactive car elle ne diffuse pas en intra-cellulaire
- D. La rifampicine et l'ofloxacine font partie des molécules les plus actives
- E. Le pH a un impact majeur sur l'activité de nombreuses molécules telles que l'oxacilline, la daptomycine ou encore la rifampicine

A propos du réservoir intracellulaire

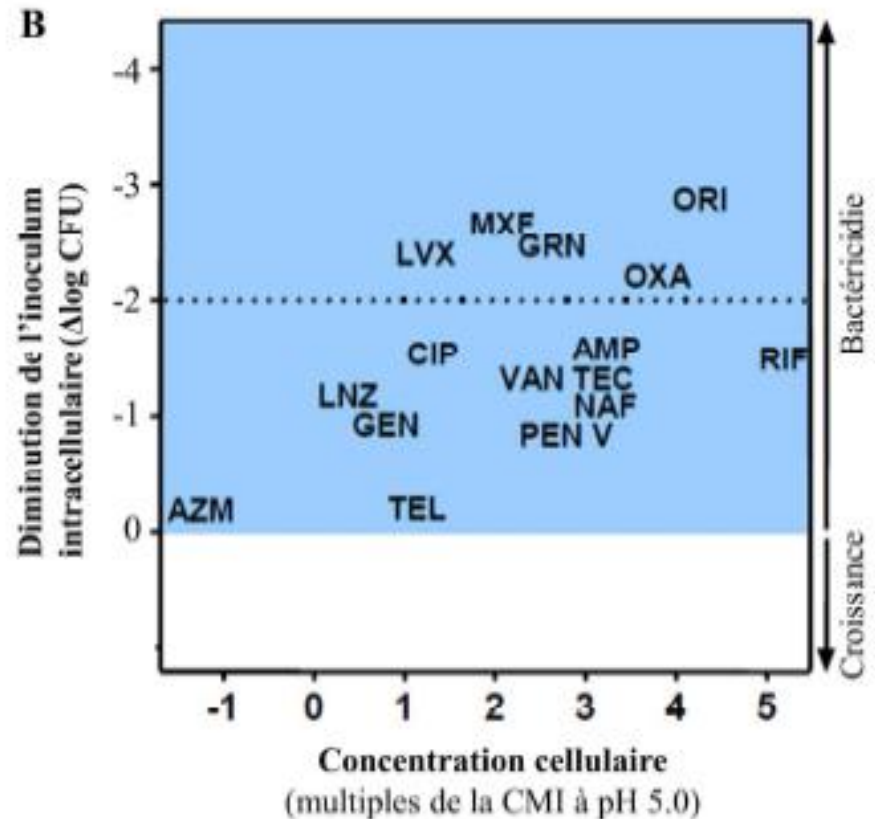
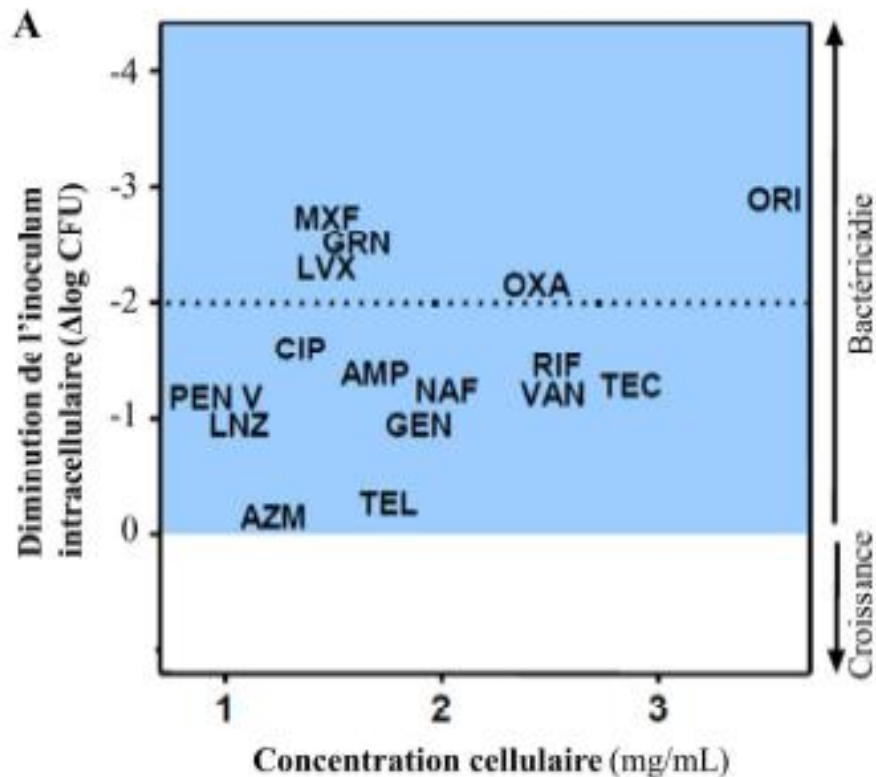
Cibler le réservoir intra-cellulaire :

- ~~A. Les CMI des bactéries planctoniques sont un bon reflet de l'activité intra-cellulaire des antibiotiques~~
- ~~B. L'oxacilline est inactive car elle ne diffuse pas en intra-cellulaire~~
- ~~C. La daptomycine est inactive car elle ne diffuse pas en intra-cellulaire~~
- D. La rifampicine et l'ofloxacine font partie des molécules les plus actives**
- E. Le pH a un impact majeur sur l'activité de nombreuses molécules telles que l'oxacilline, la daptomycine ou encore la rifampicine**

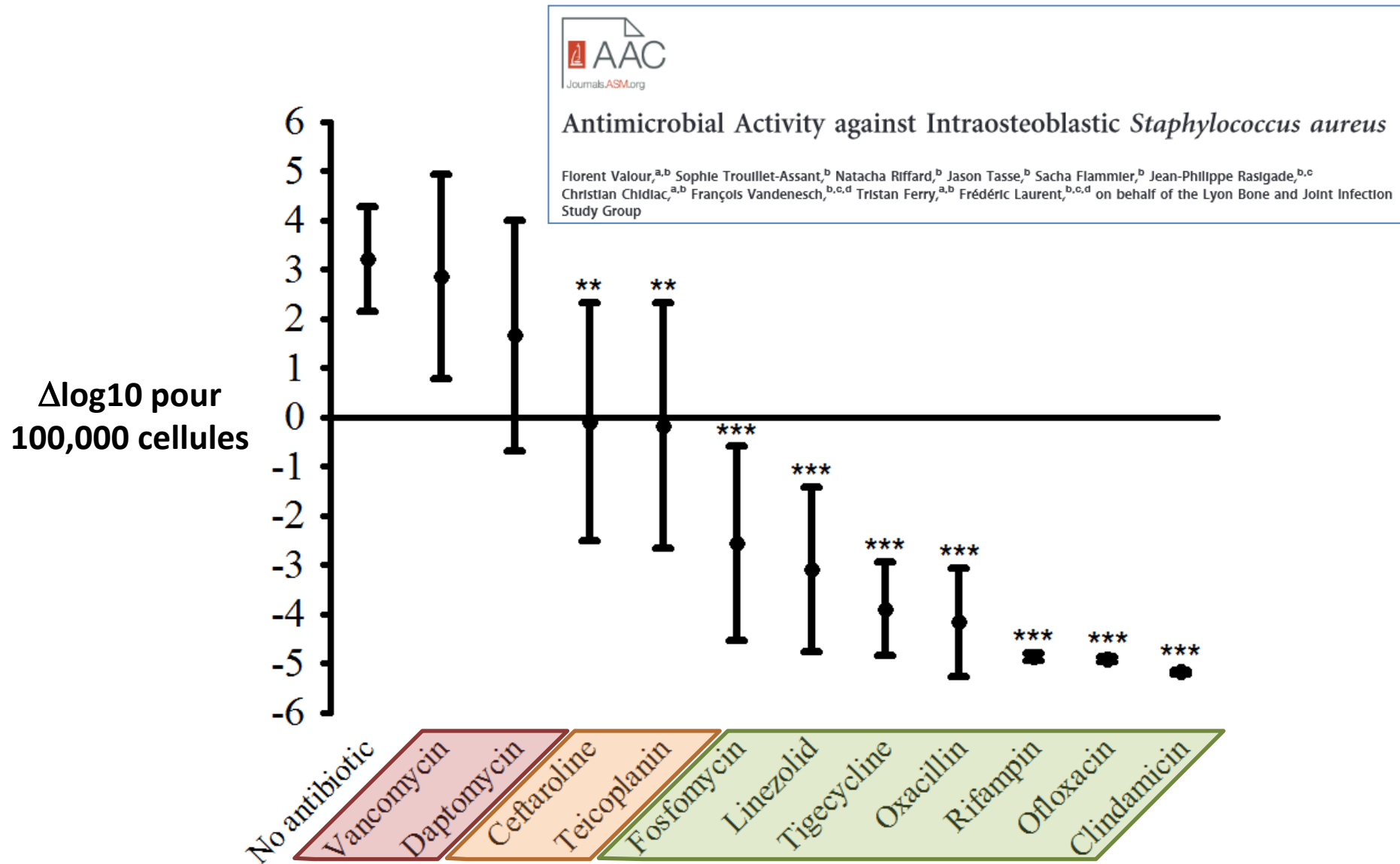
A propos du réservoir intracellulaire

Modèle d'infection de monocytes – macrophages humains

S. Lemaire, PM Tulkens - Université Catholique de Louvain



A propos du réservoir intracellulaire



A propos du réservoir intracellulaire

Impact du pH intralysosomal

	SASM			SARM		
	pH 7	pH 5	p-value	pH 7	pH 5	p-value
Daptomycin	0,25	1,83	0,002	0,29	2,00	0,002
Oxacillin	0,50	0,06	0,047	106,70	0,35	0,001
Ceftaroline	4,00	0,08	0,059	8,00	0,062	0,047

- Intracellular restauration of oxacillin activity against MRSA is (at least partly) due to a major decrease in MICs at the intralysosomal acidic pH
- Intracellular weak activity of daptomycin might be partly due to its decrease in activity at acidic pH

Ce qui est petit est mignon ... sauf les SCVs !

A propos des SCVs

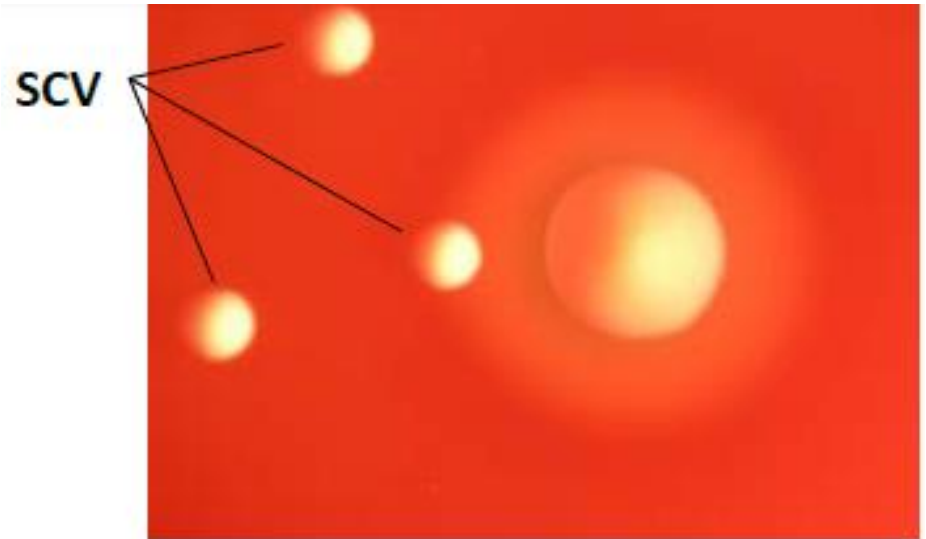
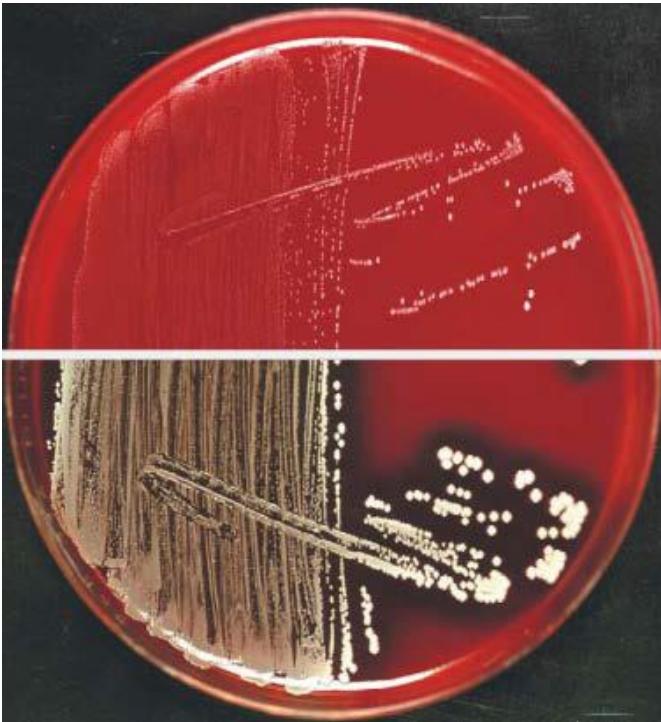
Par rapport à une colonie « standard », un small colony variant :

- A. peut être différencié par son fond génétique
- B. a une capacité d'adhésion augmentée
- C. peut émerger au sein du biofilm
- D. peut émerger au sein des ostéoblastes
- E. peut émerger sous la pression de certains antibiotiques

A propos des SCVs

Par rapport à une colonie « standard », un small colony variant :

- ~~A. peut être différencié par son fond génétique~~
- B. a une capacité d'adhésion augmentée**
- C. peut émerger au sein du biofilm**
- D. peut émerger au sein des ostéoblastes**
- E. peut émerger sous la pression de certains antibiotiques**



A propos des SCVs

A propos du diagnostic de « small colony variant » au laboratoire :

- A. les SCVs peuvent être isolés ou associés à des colonies « classiques »
- B. la culture est plus lente
- C. la perte de caractères distinctifs peut mener à des difficultés de diagnostic d'espèce
- D. la sonication peut permettre de mieux les détecter
- E. leur présence doit être signalée par le biologiste car elle guide la prise en charge

A propos des SCVs

A propos du diagnostic de « small colony variant » au laboratoire :

- A. les SCVs peuvent être isolés ou associés à des colonies « classiques »
- B. la culture est plus lente
- C. la perte de caractères distinctifs peut mener à des difficultés de diagnostic d'espèce
- D. la sonication peut permettre de mieux les détecter
- ~~E. leur présence doit être signalée par le biologiste car elle guide la prise en charge~~

A propos des SCVs

A propos du diagnostic de « small colony variant » au laboratoire :

- A. les SCVs peuvent être isolés ou associés à des colonies « classiques »
- B. la culture est plus lente
- C. la perte de caractères distinctifs peut mener à des difficultés de diagnostic d'espèce
- D. la sonication peut permettre de mieux les détecter
- E. ~~leur présence doit être signalée par le biologiste car elle guide la prise en charge~~



A propos des SCVs

A propos du diagnostic de « small colony variant » au laboratoire :

- A. les SCVs peuvent être isolés ou associés à des colonies « classiques »
- B. la culture est plus lente
- C. la perte de caractères distinctifs peut mener à des difficultés de diagnostic d'espèce
- D. la sonication peut permettre de mieux les détecter
- E. ~~leur présence doit être signalée par le biologiste car elle guide la prise en charge~~

Exemples : *S. aureus* et slidex, coagulase, DNase ...

A propos des SCVs

Small colony variant-producing *S aureus* prosthesis joint infection highlighted by sonication and treated with prolonged high doses of daptomycin

Camille Piffaut,¹ Sébastien Lustig,^{2,3,4} Frédéric Laurent,^{1,2,4,5,6} Christian Chidiac,^{2,4,5,7} Tristan Ferry,^{2,4,5,6,7} on behalf of the Lyon BJI Study Group

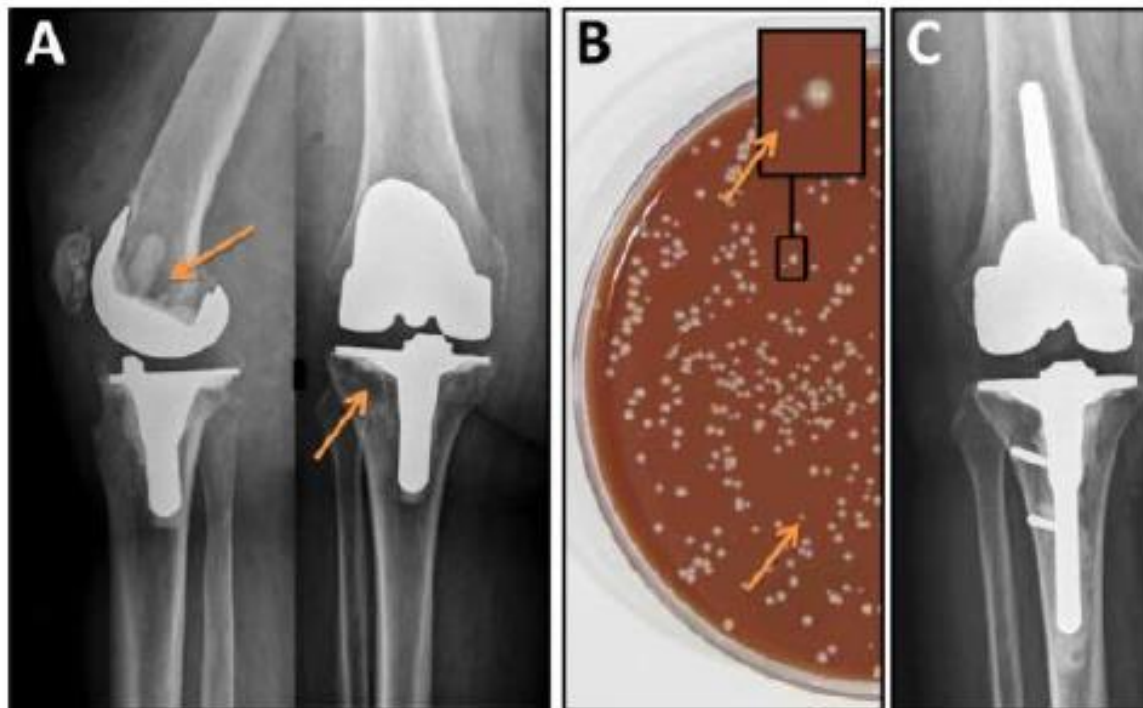


Figure 1 Periprosthetic pathological lucencies (A, arrows), associated with MSSA SCV in cultures (small colonies) obtained with sonication from prosthesis explantation (B, arrows). After reimplantation and a total of 3 months of antimicrobial therapy, no relapse occurred at 1 year (C, x-ray).

A propos des SCVs

J Antimicrob Chemother 2013; **68**: 1455–1464
doi:10.1093/jac/dkt072 Advance Access publication 13 March 2013

**Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy**

Antibiotic activity against small-colony variants of *Staphylococcus aureus*: review of *in vitro*, animal and clinical data

Laetitia G. Garcia¹, Sandrine Lemaire¹, Barbara C. Kahl², Karsten Becker², Richard A. Proctor³, Olivier Denis⁴,
Paul M. Tulkens¹ and Françoise Van Bambeke^{1*}

Données *in vitro*

- Limites
- caractère révertant
 - CMI développées pour bactéries à croissance rapide

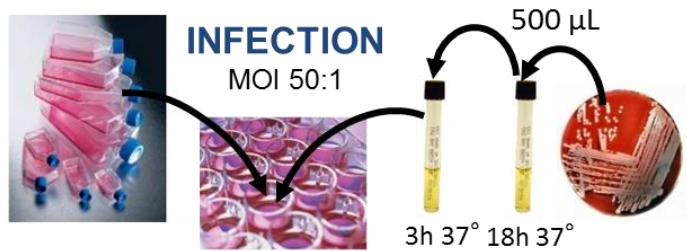
Réduction d'activité

- aminoside +++
- cotrimoxazole +++
- ATB actifs sur la paroi : BL, GP, DAP (données variables)

Données *in vivo* : conflictuelles +++

Très peu de données cliniques

A propos des SCVs

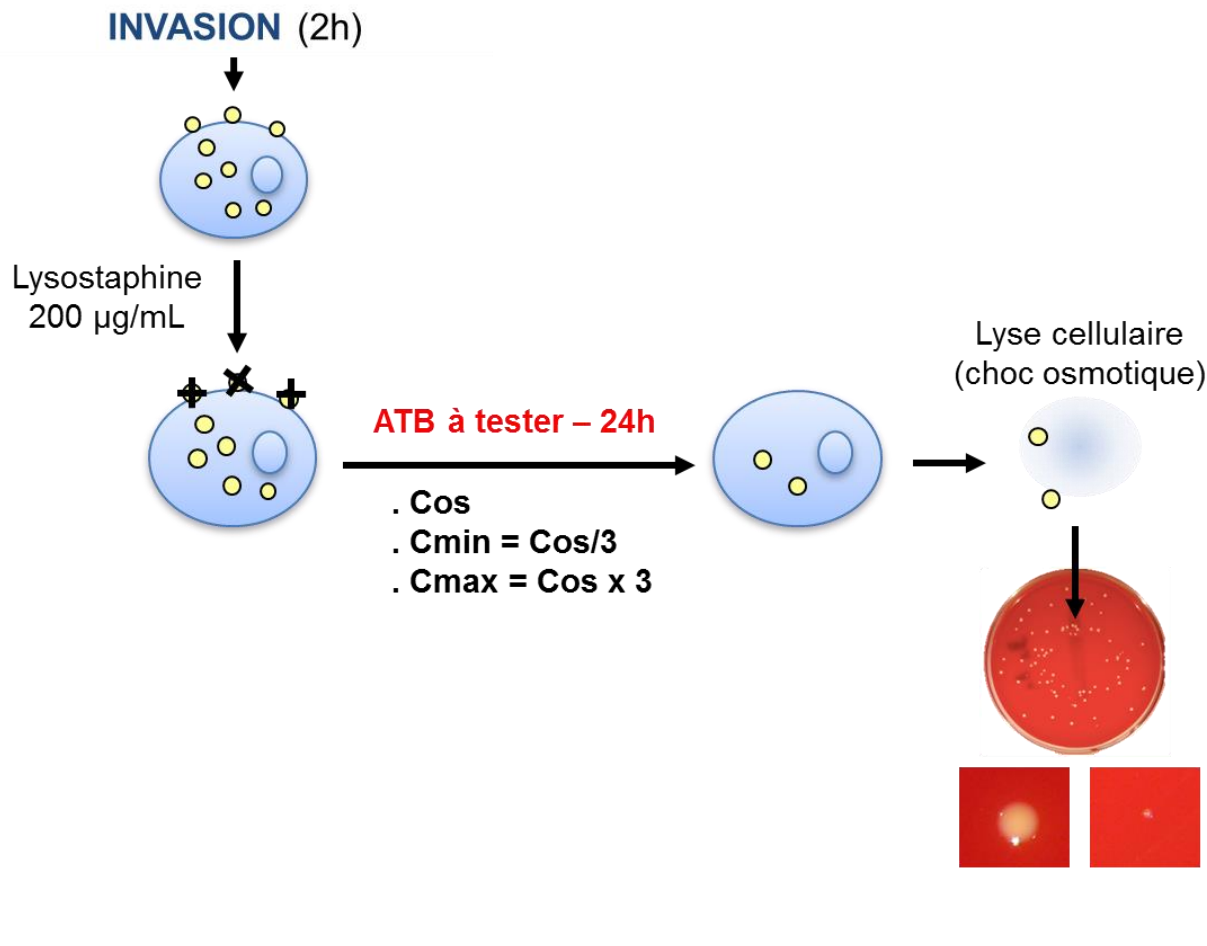


S. aureus



Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*

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

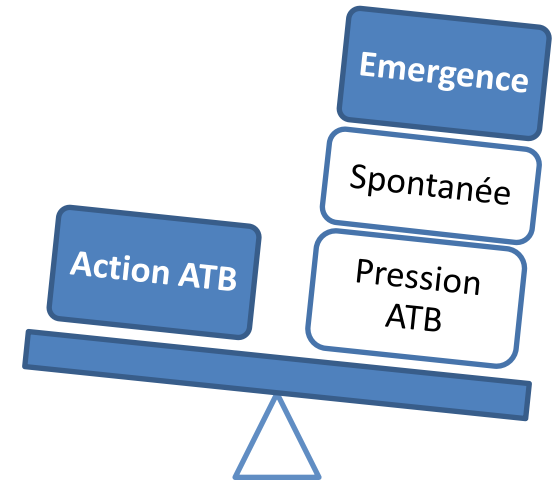
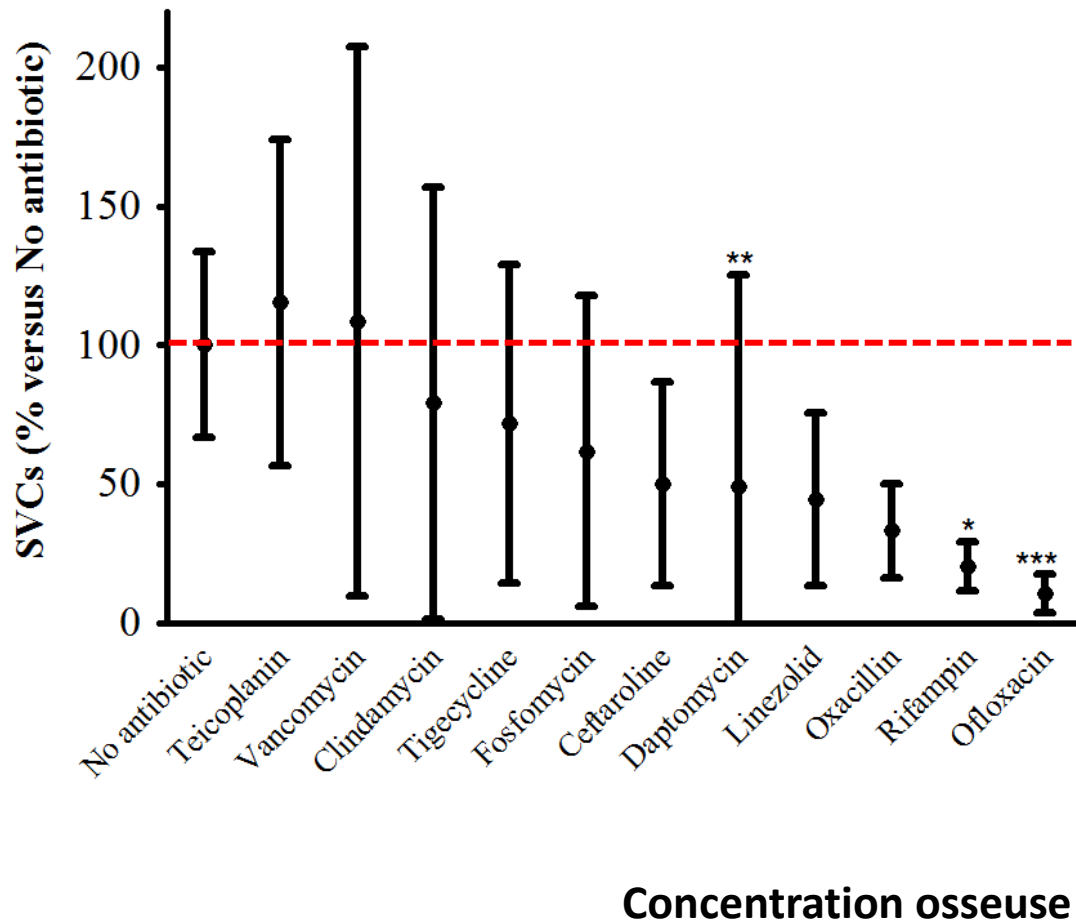


A propos des SCVs



Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*

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



A propos des SCVs

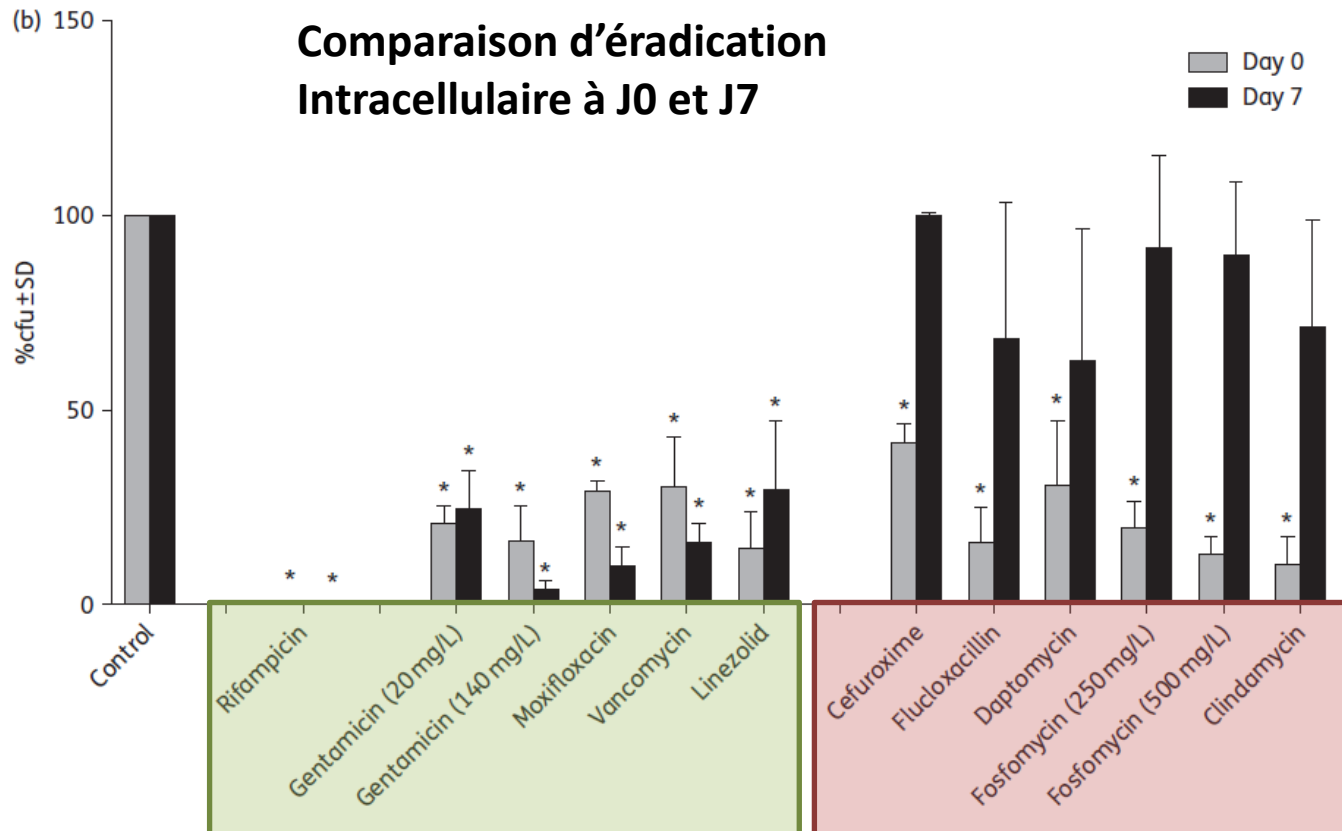
J Antimicrob Chemother 2016; 71: 438–448
doi:10.1093/jac/dkv371 Advance Access publication 20 November 2015

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

***Staphylococcus aureus* develops increased resistance to antibiotics
by forming dynamic small colony variants during chronic osteomyelitis**

L. Tuschcherr^{1*†}, C. A. Kreis^{2†}, V. Hoerr^{1,3†}, L. Flint⁴, M. Hachmeister⁴, J. Geraci¹, S. Bremer-Streck⁵,
M. Kiehntopf⁵, E. Medina⁶, M. Kribus⁷, M. Raschke², M. Pletz⁸, G. Peters⁴ and B. Löffler^{1,9}

Modèle cellulaire et *in vivo*
Ostéomyélite aiguë à chronique



A propos des SCVs

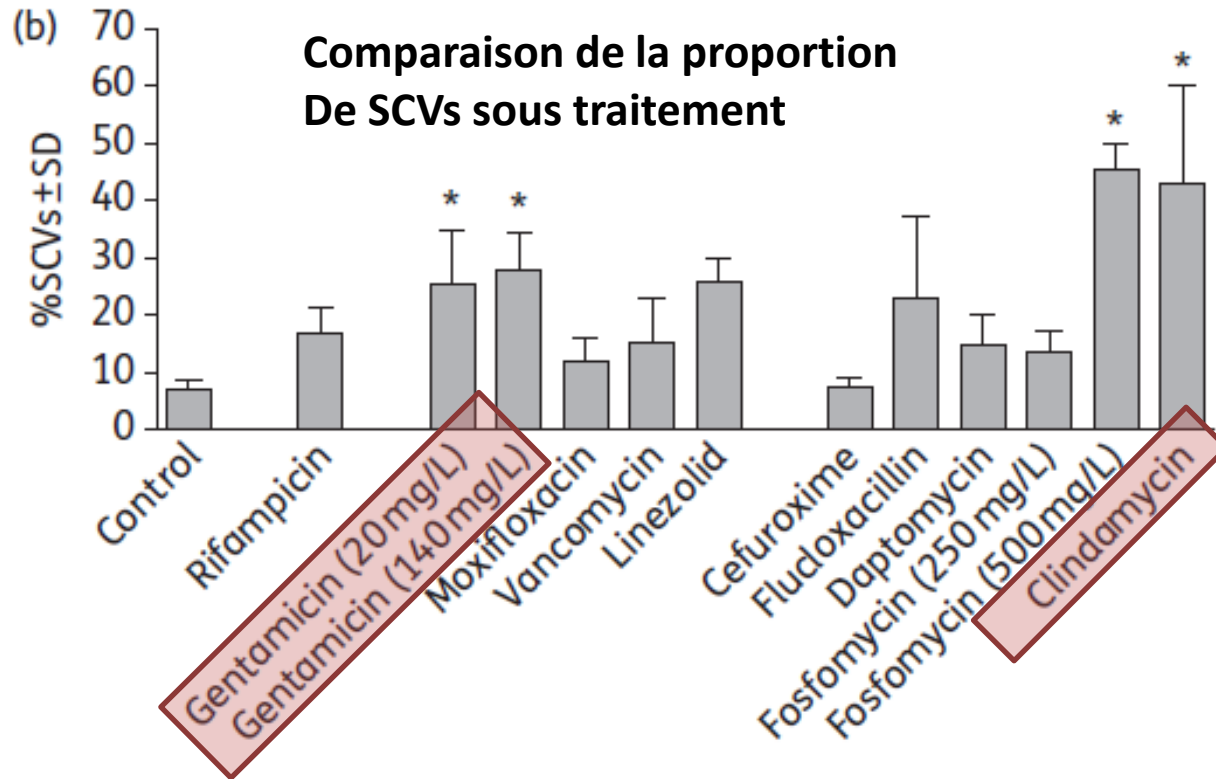
J Antimicrob Chemother 2016; 71: 438–448
doi:10.1093/jac/dkv371 Advance Access publication 20 November 2015

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

***Staphylococcus aureus* develops increased resistance to antibiotics by forming dynamic small colony variants during chronic osteomyelitis**

L. Tuchscher^{1*†}, C. A. Kreis^{2†}, V. Hoerr^{1,3†}, L. Flint⁴, M. Hachmeister⁴, J. Geraci¹, S. Bremer-Streck⁵, M. Kiehntopf⁵, E. Medina⁶, M. Kribus⁷, M. Raschke², M. Pletz⁸, G. Peters⁴ and B. Löffler^{1,9}

Modèle cellulaire et *in vivo*
Ostéomyélite aiguë à chronique



A propos des SCVs

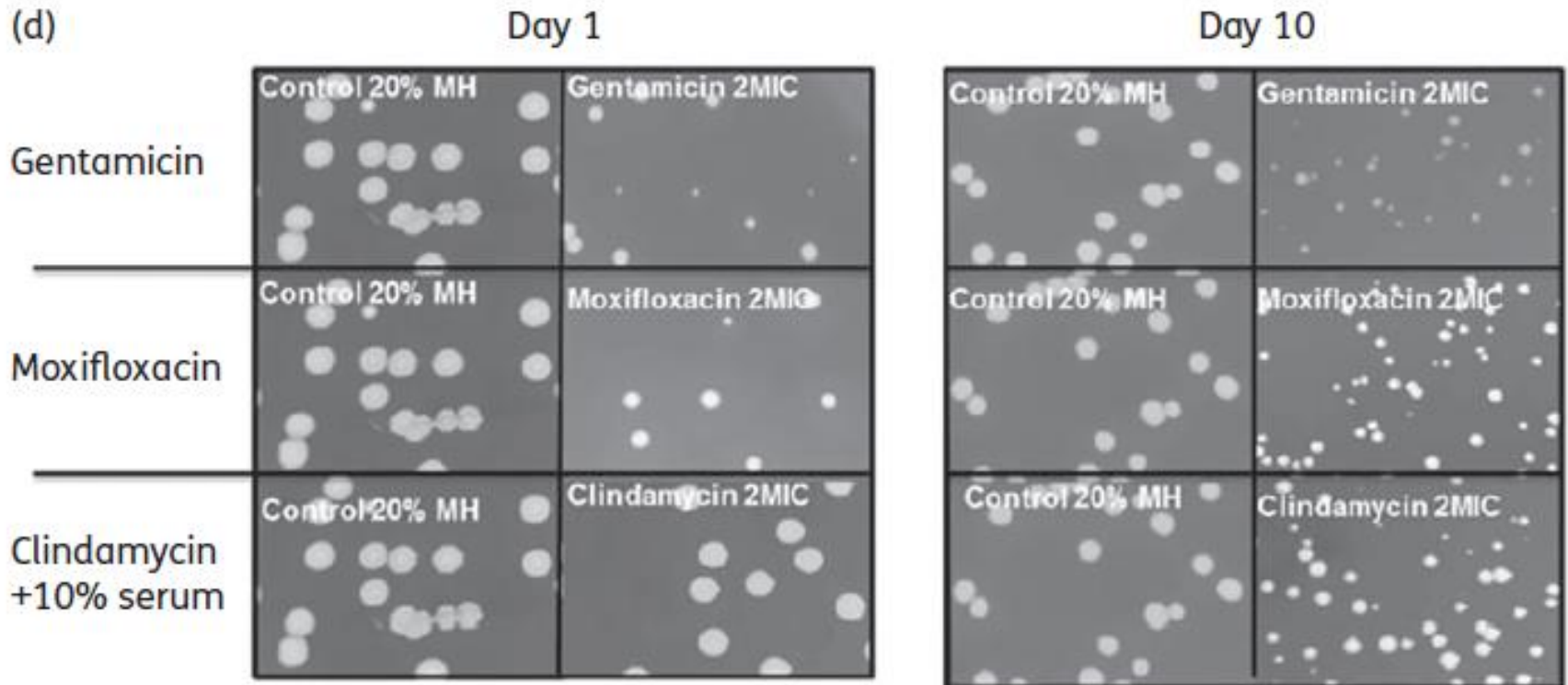
J Antimicrob Chemother 2016; **71**: 438–448
doi:10.1093/jac/dkv371 Advance Access publication 20 November 2015

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

Staphylococcus aureus develops increased resistance to antibiotics by forming dynamic small colony variants during chronic osteomyelitis

L. Tuchscher^{1*†}, C. A. Kreis^{2†}, V. Hoerr^{1,3†}, L. Flint⁴, M. Hachmeister⁴, J. Geraci¹, S. Bremer-Streck⁵, M. Kiehntopf⁶, E. Medina⁶, M. Kribus⁷, M. Raschke², M. Pletz⁸, G. Peters⁴ and B. Löffler^{1,9}

Modèle cellulaire et *in vivo*
Ostéomyélite aiguë à chronique



A propos des SCVs

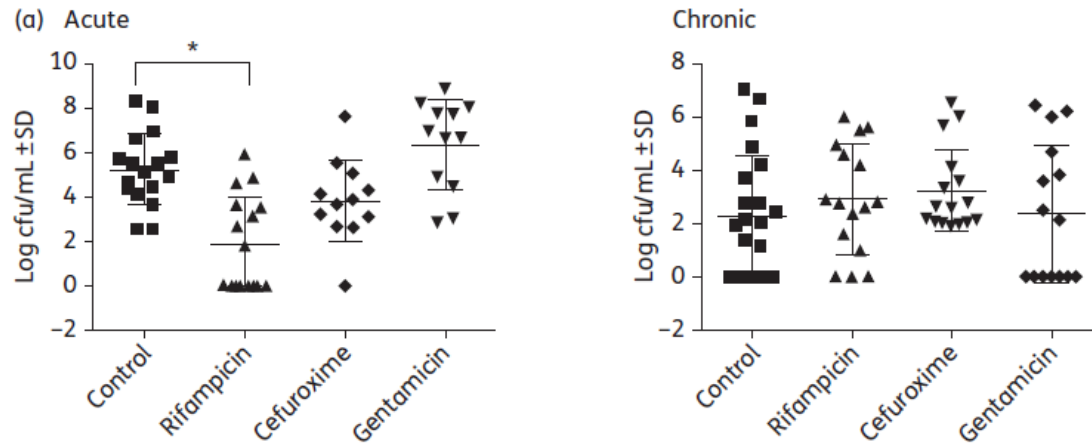
J Antimicrob Chemother 2016; 71: 438–448
doi:10.1093/jac/dkv371 Advance Access publication 20 November 2015

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

Staphylococcus aureus develops increased resistance to antibiotics by forming dynamic small colony variants during chronic osteomyelitis

L. Tuchscherer^{1*†}, C. A. Kreis^{2†}, V. Hoerr^{1,3†}, L. Flint⁴, M. Hachmeister⁴, J. Geraci¹, S. Bremer-Streck⁵, M. Kiehntopf⁵, E. Medina⁶, M. Kribus⁷, M. Raschke², M. Pletz⁸, G. Peters⁴ and B. Löffler^{1,9}

Modèle cellulaire et *in vivo*
Ostéomyélite aiguë à chronique



Modèle animal
Ostéomyélite tibiale hémotogène

A propos des SCVs

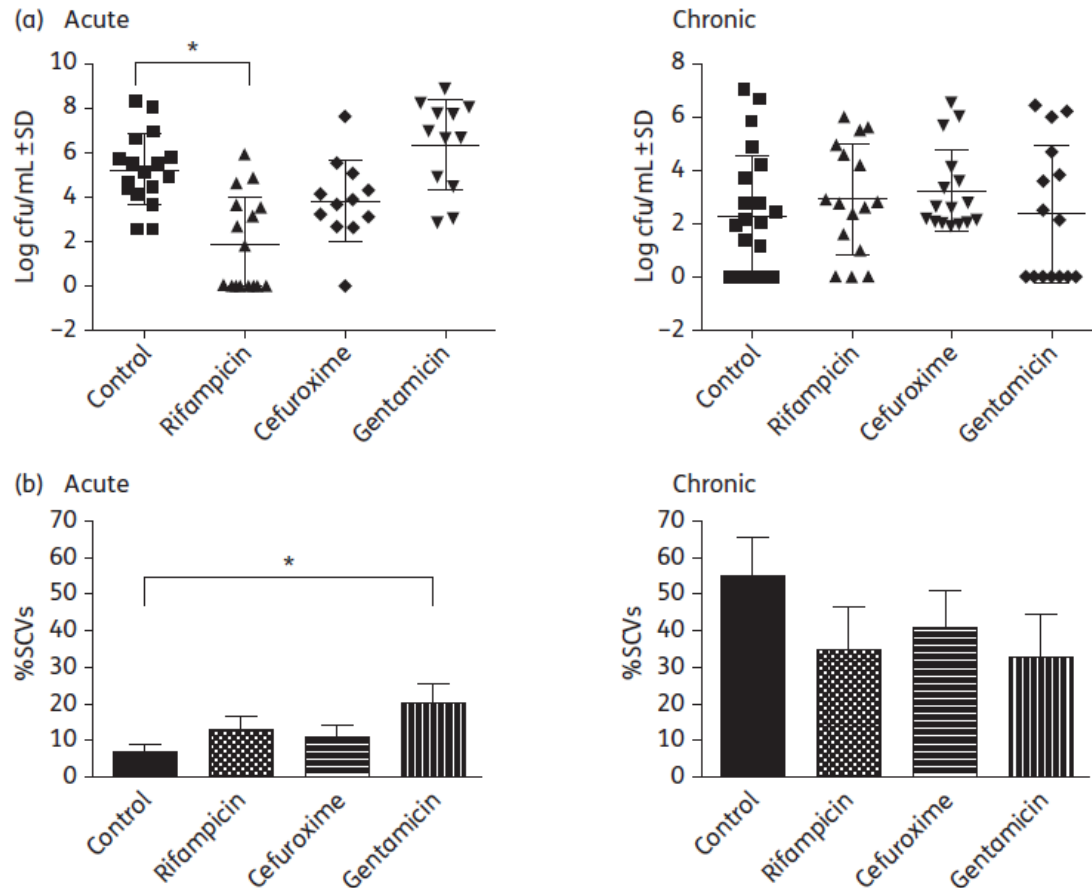
J Antimicrob Chemother 2016; 71: 438–448
doi:10.1093/jac/dkv371 Advance Access publication 20 November 2015

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

Staphylococcus aureus develops increased resistance to antibiotics by forming dynamic small colony variants during chronic osteomyelitis

L. Tuchscherer^{1*†}, C. A. Kreis^{2†}, V. Hoerr^{1,3†}, L. Flint⁴, M. Hachmeister⁴, J. Geraci¹, S. Bremer-Streck⁵, M. Kiehntopf⁵, E. Medina⁶, M. Kribus⁷, M. Raschke², M. Pletz⁸, G. Peters⁴ and B. Löffler^{1,9}

Modèle cellulaire et *in vivo*
Ostéomyélite aiguë à chronique



Modèle animal
Ostéomyélite tibiale hémotogène

A propos des SCVs

Clinical Characteristics and Outcomes of Prosthetic Joint Infection Caused by Small Colony Variant Staphylococci

Aaron J. Tande,^{a,b} Douglas R. Osmon,^a Kerryl E. Greenwood-Quaintance,^b Tad M. Mabry,^c Arlen D. Hanssen,^c Robin Patel^{a,b,d}

September/October 2014 Volume 5 Issue 5 e01910-14

Retrospective series of 113 patients with staphylococcal PJI, with prospective testing of archived sonicate fluid samples

38 subjects (34%) with SCVs and 75 (66%) with only normal-phenotype (NP) bacteria

Characteristic ^d	SCV ^b		P value
	Yes (n = 38)	No (n = 75)	
Orthopedic history			
Joint age in days, median (range)	1,295 (216–13,712)	646 (23–11,883)	0.007
Prior arthroplasty revision	32 (84.2)	52 (70.3)	0.17
Time since last surgery in days, median (range)	743 (31–10,030)	306 (20–8,686)	<0.0001
Cemented arthroplasty	33 (86.8)	60 (80.0)	0.44
Antibiotic-loaded cement in place ^e	8 (44.4)	16 (39.0)	0.78
Aminoglycoside in cement ^e	7 (38.9)	8 (19.5)	0.19
PJI history			
Sinus tract	11 (28.9)	19 (25.3)	0.82
Duration of PJI symptoms in days, median (range)	491 (14–2,306)	165 (2–1,656)	0.0003
Prior surgery for this PJI	23 (60.5)	28 (37.3)	0.03
Cumulative antibiotic days in prior 6 mo, median (range)	66 (0–180)	13 (0–180)	0.37
Receiving 120 or more days of antibiotics in prior 6 mo	16 (42.1)	17 (22.7)	0.048
Serum WBC in 10 ⁹ cells/liter, median (range)	7.4 (4.5–11.7)	7.9 (3–23.3)	0.13
Serum ESR in mm/h, median (range)	46 (5–111)	43 (3–123)	0.54
Serum CRP in mg/liter, median (range)	23 (5–222)	44 (3–269)	0.2
Preoperative SF aspirate			
SF WBC in cells/ μ l, median (range)	26 (68.4)	51 (68.0)	
	28,574 (8,175–155,000)	44,275 (629–1,071,472)	0.13
SF neutrophil %, median (range)	88 (79–98)	91 (51–100)	0.84

Remerciements : Lyon BJI study group

Infectiologie – Coordonateur : *Tristan Ferry* – *Tristan Ferry, Florent Valour, Thomas Perpoint, André Boibieux, François Biron, Patrick Miaillhes, Florence Ader, Julien Saison, Sandrine Roux, Claire Philit, Fatiha Daoud, Johanna Lippman, Evelyne Braun, Christian Chidiac, Yves Gillet, Laure Hees*

Chirurgie orthopédique et du rachis – *Sébastien Lustig, Philippe Neyret, Michel-Henry Fessy, Anthony Viste, Philippe Chaudier, Romain Desmarchelier, Sébastien Martres, Franck Trouillet, Antoine Schneider, Romain Gaillard, Cédric Barrey, Francesco Signorelli, Emmanuel Jouanneau, Timothée Jacquesson, Ali Mojallal, Fabien Boucher, Hristo Shipkov, Mehdi Ismail, Joseph Chateau*

Microbiologistes – *Frederic Laurent, François Vandenesch, Jean-Philippe Rasigade, Céline Dupieux*

Médecine nucléaire – *Isabelle Morelec, Marc Janier, Francesco Giammarile*

Pharmacologie – *Michel Tod, Marie-Claude Gagnieu, Sylvain Goutelle*

Attaché de recherche clinique – *Eugénie Mabrut*

