

Physiopathologie des infections ostéo-articulaires

Entre virulence et persistance

Florent Valour

florent.valour@chu-lyon.fr

Service des maladies infectieuses et tropicales
Centre de référence pour la prise en charge des IOA complexes (CRIOAc Lyon)
Hospices Civils de Lyon



INSERM U1111 – Equipe « Pathogénèse des infections à staphylocoques »
Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI)
Université Claude Bernard Lyon 1



1993 Mohamed, 14 ans, pas d'antécédent

Tableau brutal : fièvre à 39°C avec frissons, douleurs et impotence fonctionnelle du MI gauche

Arthrite du genou clinique + douleur intense à la palpation de l'épiphyse fémorale inférieure

Hémocultures positives à *S. aureus* méti-S (par ailleurs multi-sensible)

Radiographies simples normale

Echo : épanchement articulaire, pas de collection. Ponction positive à MSSA

Diagnostic d'**OSTÉOMYÉLITE AIGUË HÉMATOGÈNE**

OXACILLINE IV + acide fusidique

Rash à J8 : relais à J8 par CLINDAMYCINE per os pour 6 semaines au total

Bonne évolution immédiate

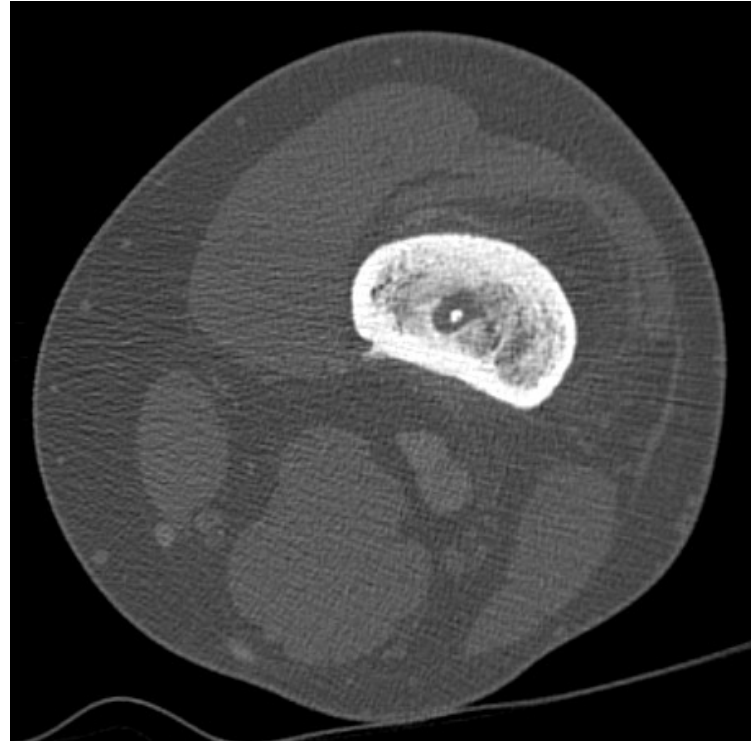
Douleurs récidivantes (quelques jours, tous les hivers)



2015-16 36 ans, préparateur de commandes

Persistance de l'épisode douloureux hivernal ...

Douleurs devenant continues, insomniantes avec boiterie



2015-16 36 ans, préparateur de commandes

Persistance de l'épisode douloureux hivernal ...

Douleurs devenant continues, insomniantes avec boiterie

OSTEITE (très) CHRONIQUE

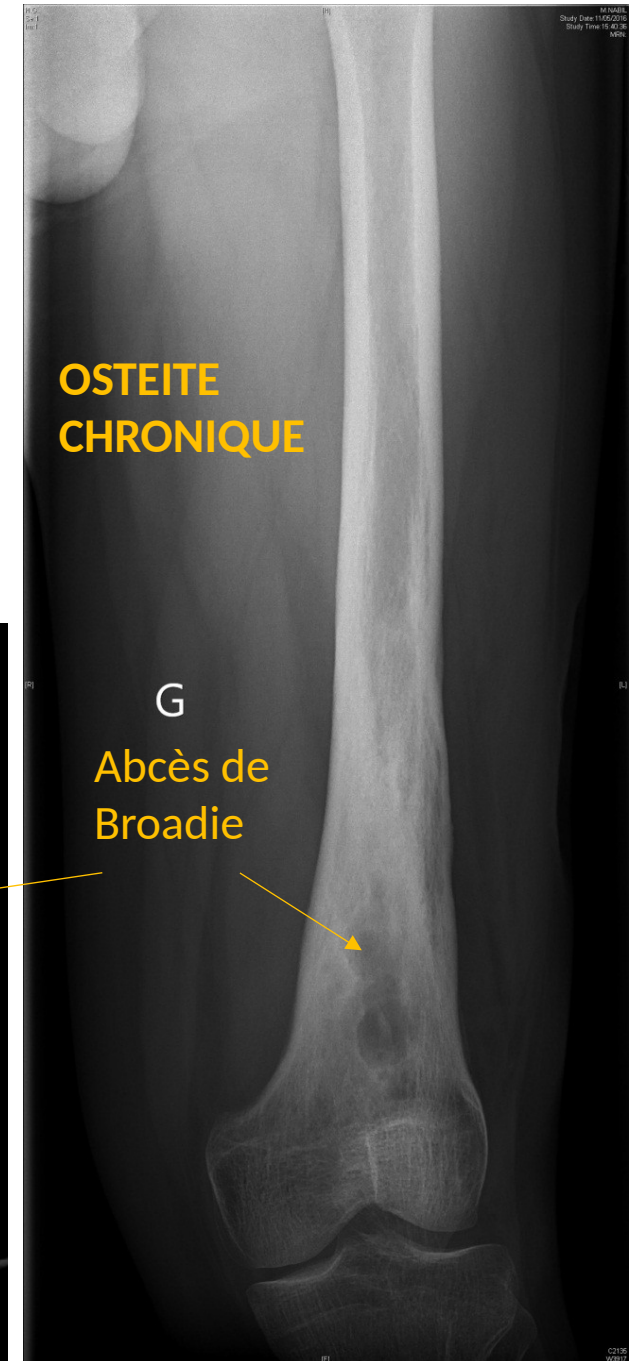
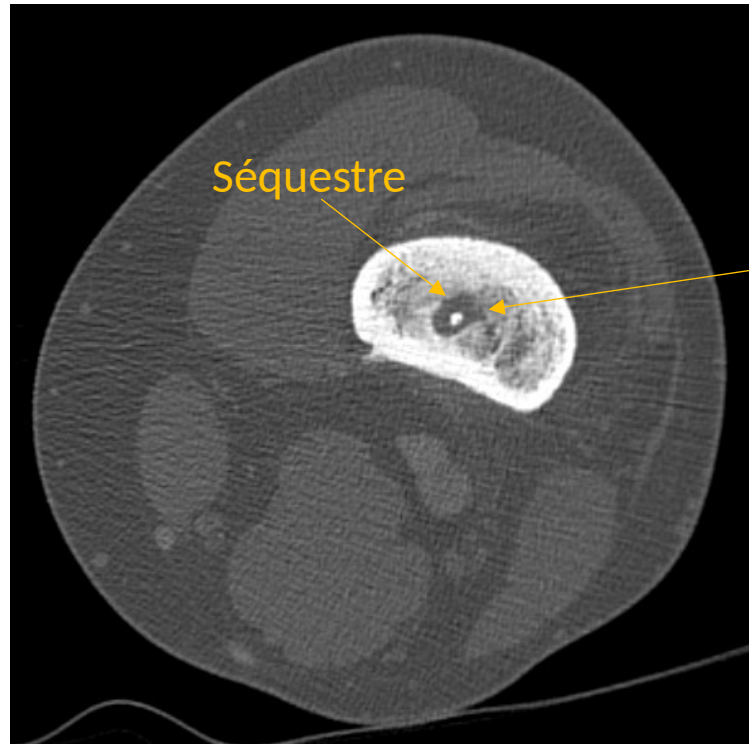
Fémorotomie, curetage

Prlvmts : stériles, PCR 16+ MSSA – Redon + MSSA

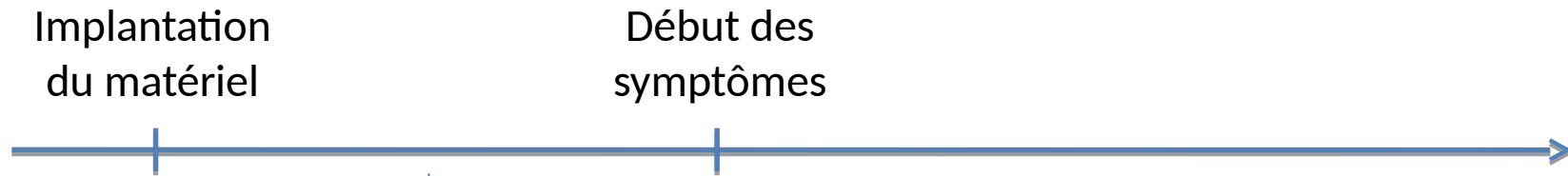
CEFAZOLINE – RIFAM (2 sem)

RIFAM – OFLOXACINE (total : 3 ms)

Bonne évolution



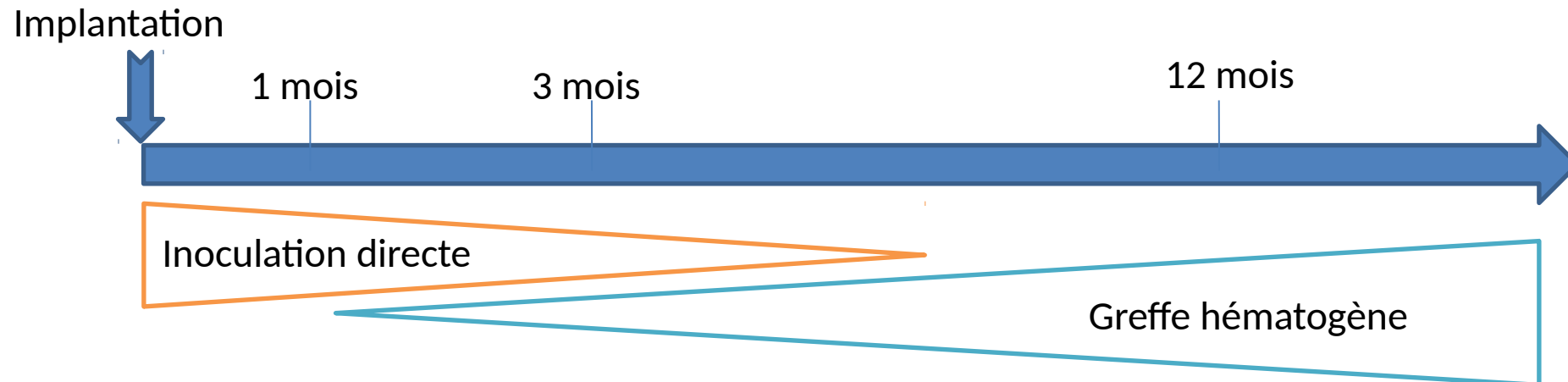
Mécanismes de survenue



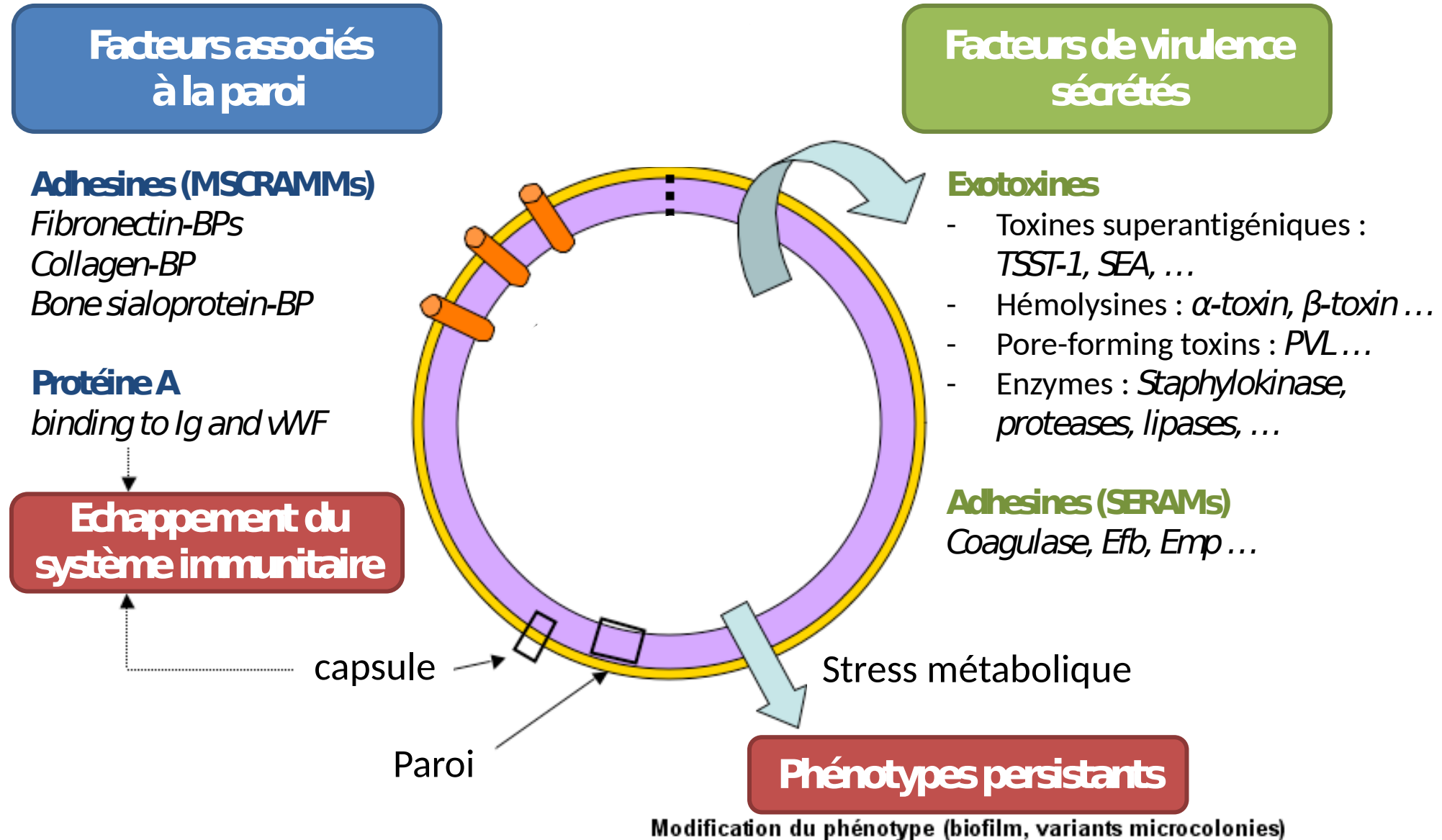
PRECOCE (< 1-3 mois) Inoculation chirurgicale +++
Germes à croissance rapide : *S. aureus*, BGN, streptocoques

RETARDEE (1-3 à 12-24 ms) Inoculation chirurgicale +
Germes indolents : SCN, corynebactéries, *Propionibacterium*

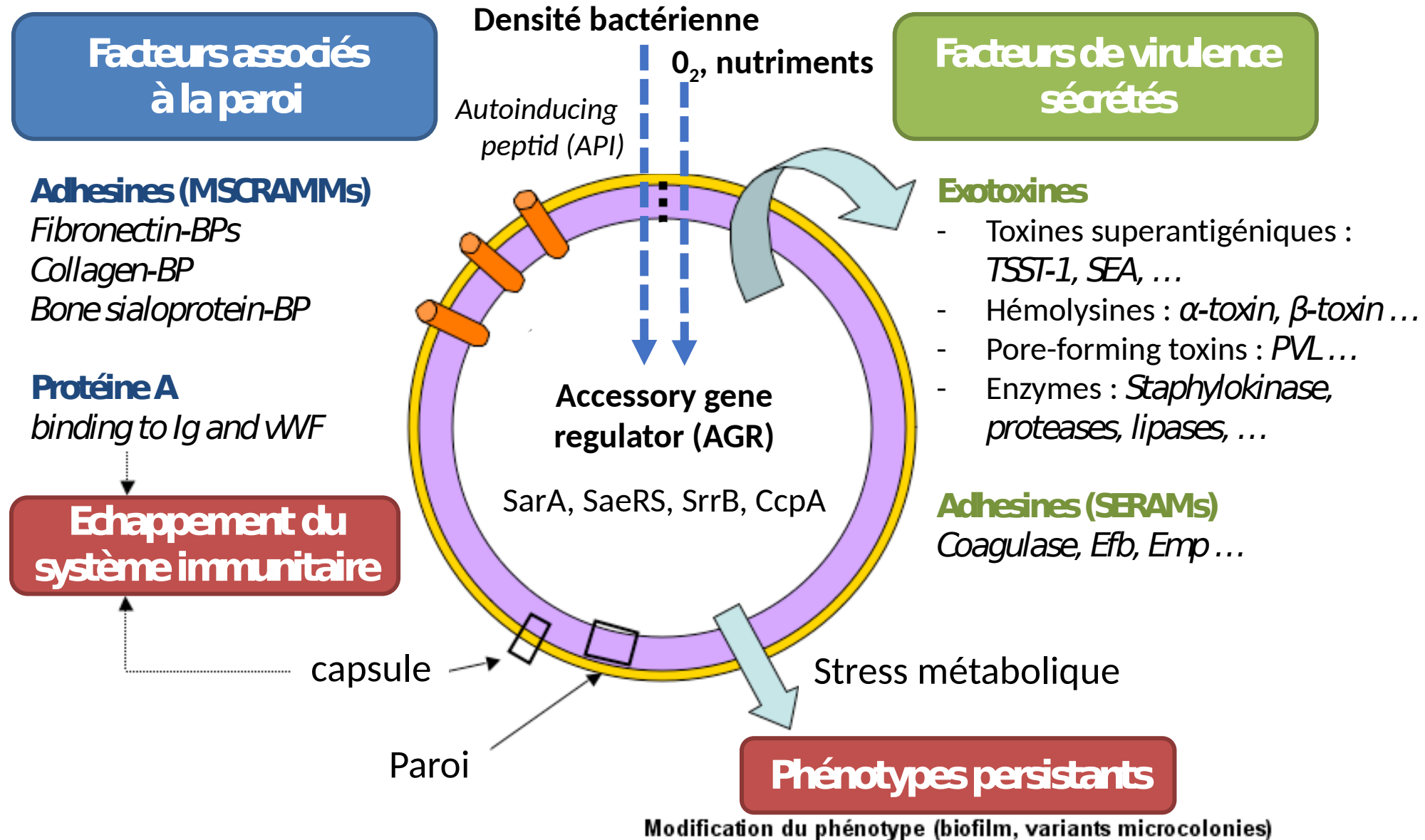
TARDIVES (> 12-24 mois) Hématogènes ++



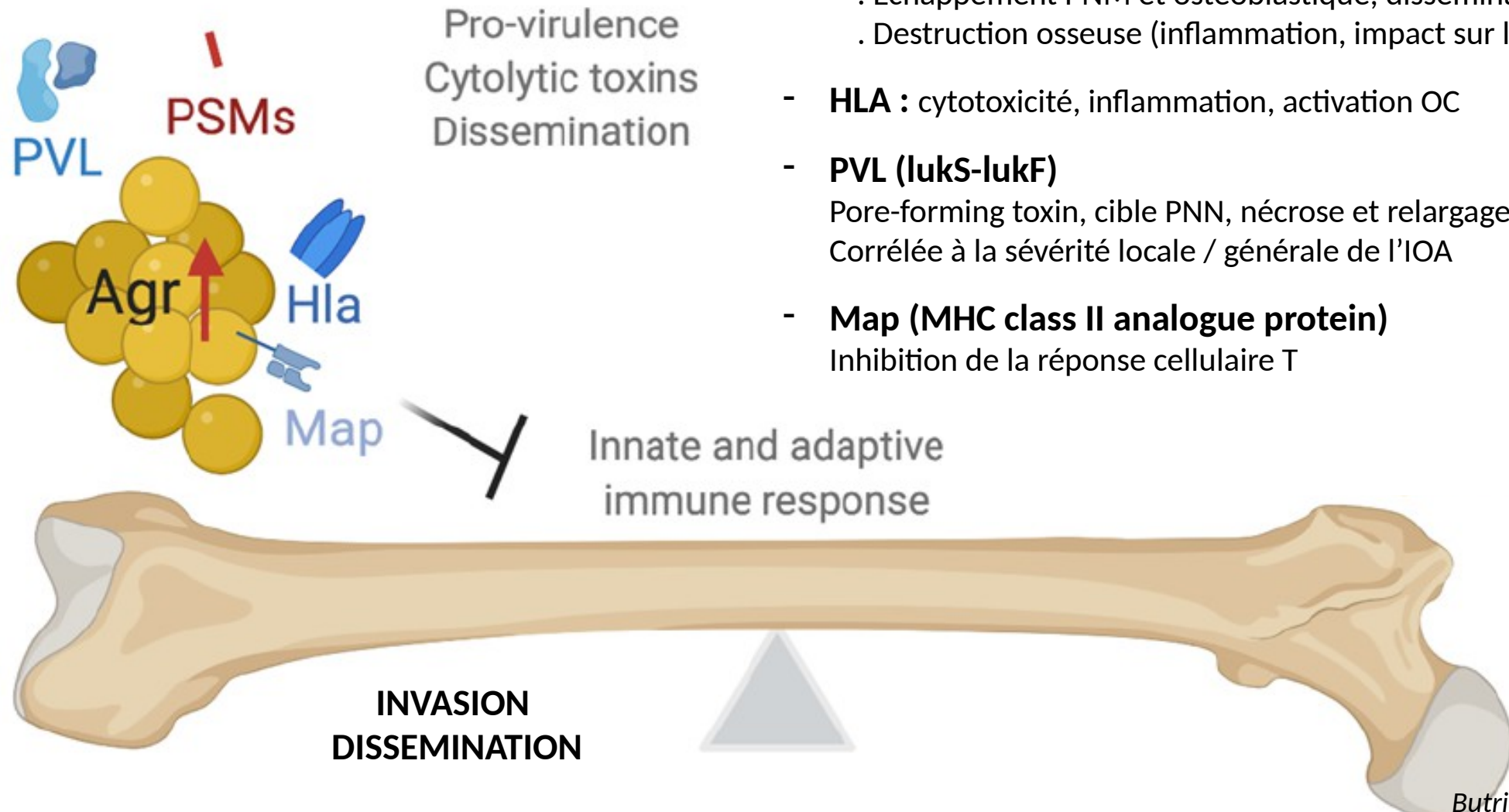
Staphylococcus aureus : entre virulence et persistance



Staphylococcus aureus : entre virulence et persistance

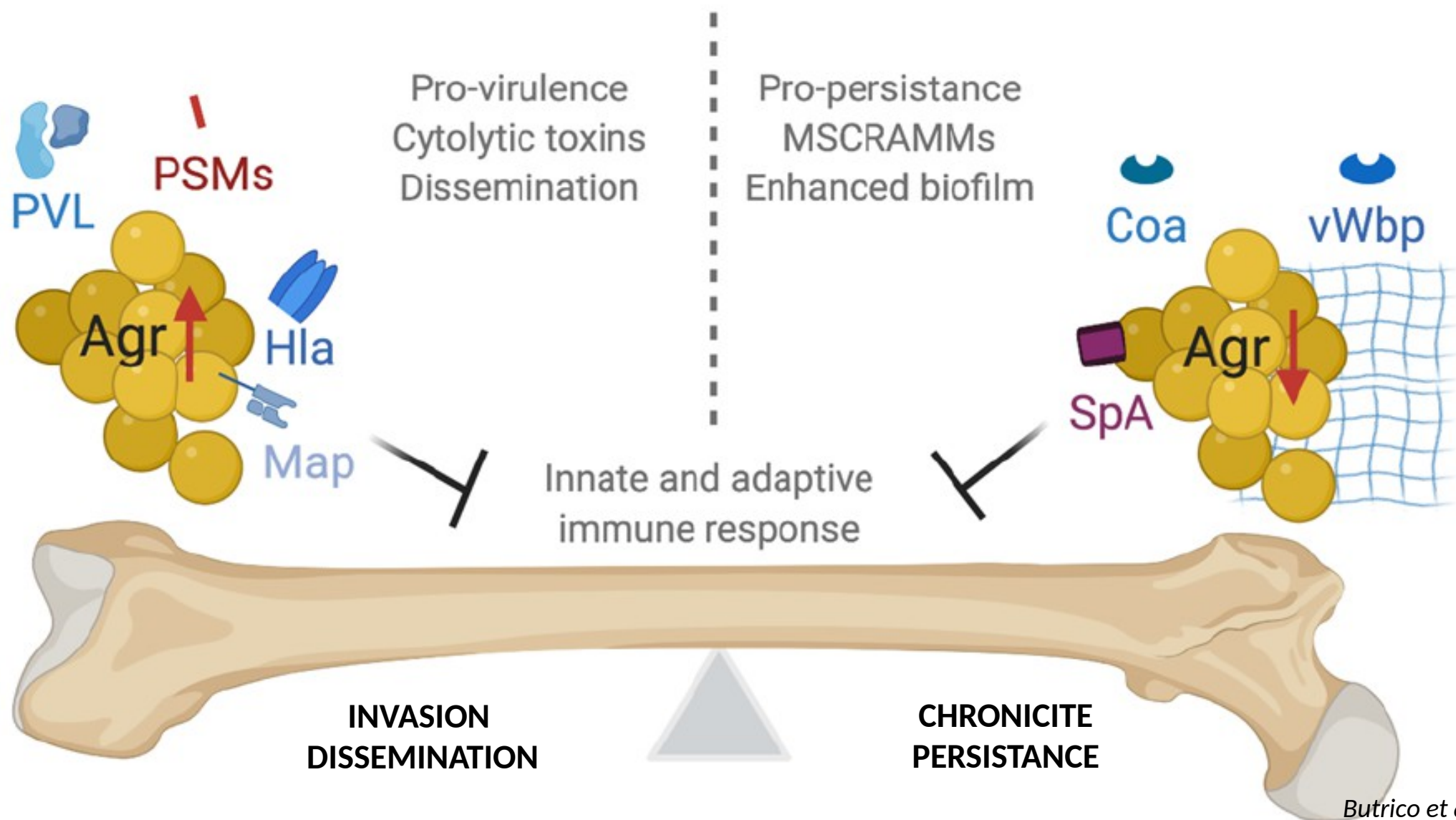


Initiation de l'infection : toxines et adhésines

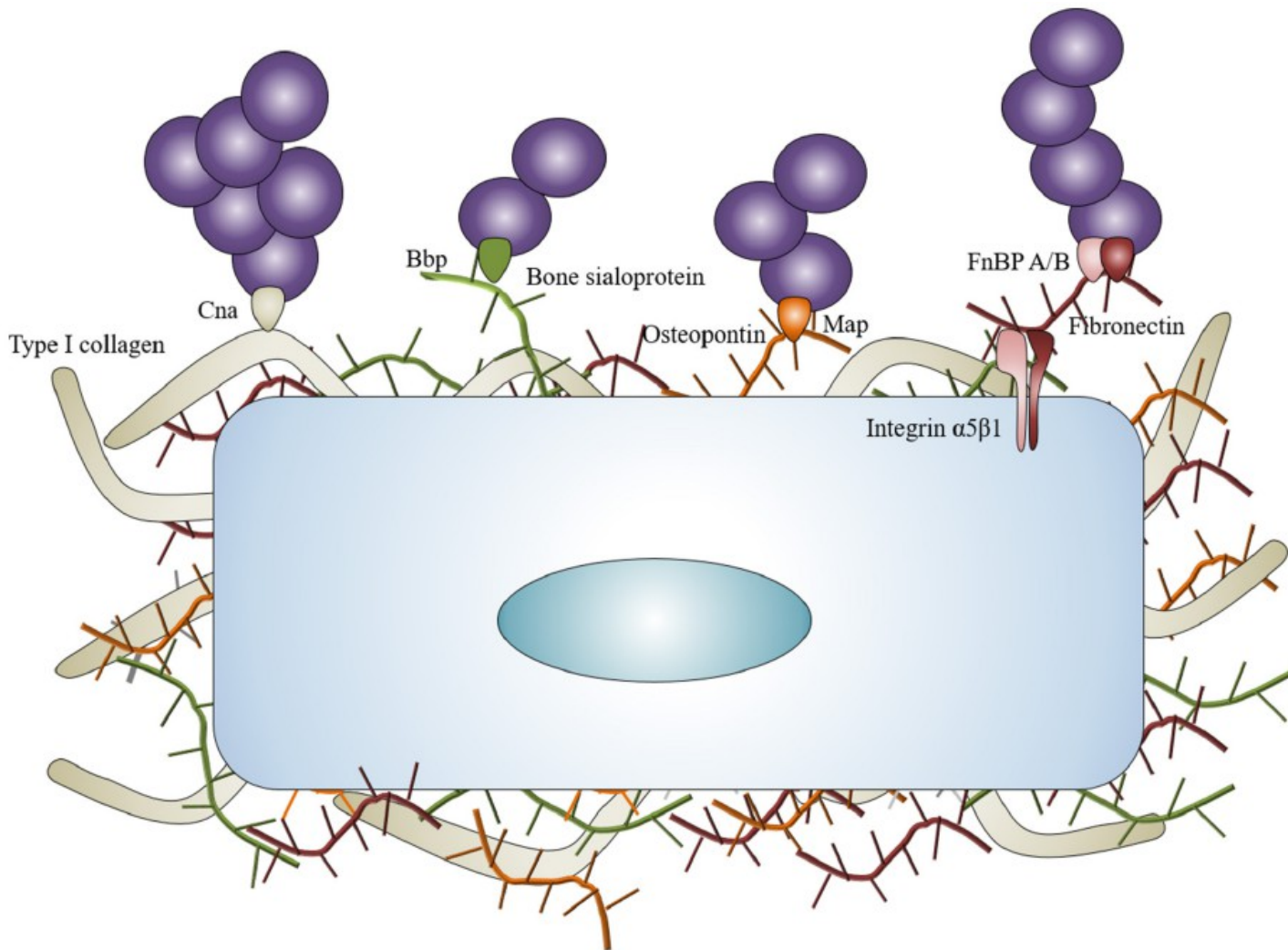


- **PSMs : α et β , delta-hémolysine (hld)**
 - . Cytotoxicité (incluant cellules osseuses)
 - . Activation neutrophilique et relargage cytokinique
 - . Echappement PNM et ostéoblastique, dissémination
 - . Destruction osseuse (inflammation, impact sur le remodelage)
- **HLA : cytotoxicité, inflammation, activation OC**
- **PVL (lukS-lukF)**
Pore-forming toxin, cible PNN, nécrose et relargage cytokinique
Corrélée à la sévérité locale / générale de l'IOA
- **Map (MHC class II analogue protein)**
Inhibition de la réponse cellulaire T

Initiation de l'infection : toxines et adhésines



Initiation de l'infection : toxines et adhésines



IOA d'INOCULATION

Quantité de *S. aureus* nécessaire à l'obtention d'une infection / 100 000 en présence de matériel

Idem S. epidermidis, P. acnes

Elek et al 1957 – Zimmerli et al, JID 1982

IOA HEMATOGENES

Sendi	2010	30	40%
Murdoch	2001	44	34%
Lalani	2008	29	38%

Risque de greffe bactérienne en cas de bactériémie
S. aureus = 40% vs autres germes = 1-2%

Initiation de l'infection : rôle du matériel

Semin Immunopathol (2011) 33:295–306
DOI 10.1007/s00281-011-0275-7

REVIEW

Pathogenesis of implant-associated infection: the role of the host

Werner Zimmerli • Parham Sendi

Type de biomatériaux

- Métaux
- Polymères
- Substituts osseux



« BIOCOMPATIBILITE »

1. Couverture du matériel par matrice extracellulaire

Collagène, fibrine, fibrinogène ...

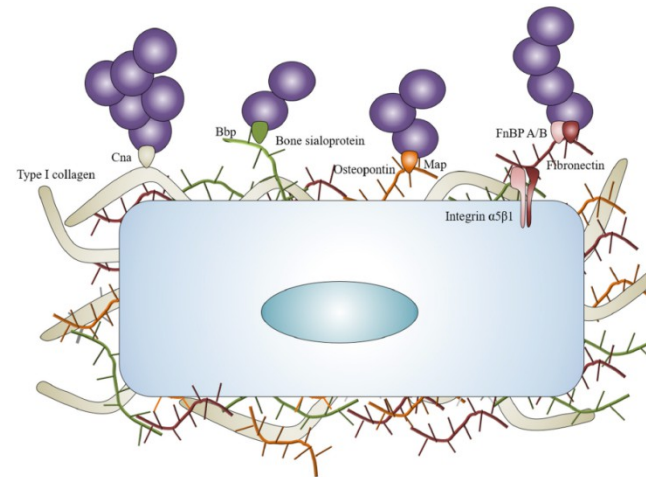
→ Adhésion, initiation de la formation de biofilm

2. Inhibition locale de l'immunité innée

- inhibition de la phagocytose
- dégranulation des PNN
- mort cellulaire
- activation du complément

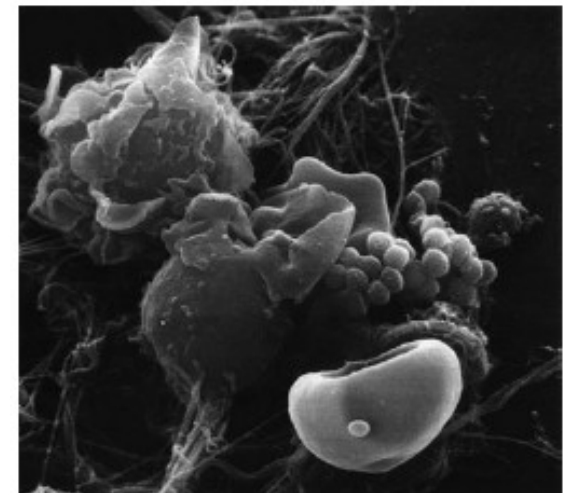
→ Diminution +++ de la clairance bactérienne

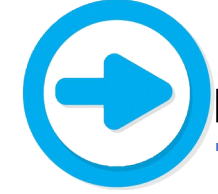
→ Descellement aseptique (?)



Pathogenesis of Foreign Body Infection Evidence for a Local Granulocyte Defect

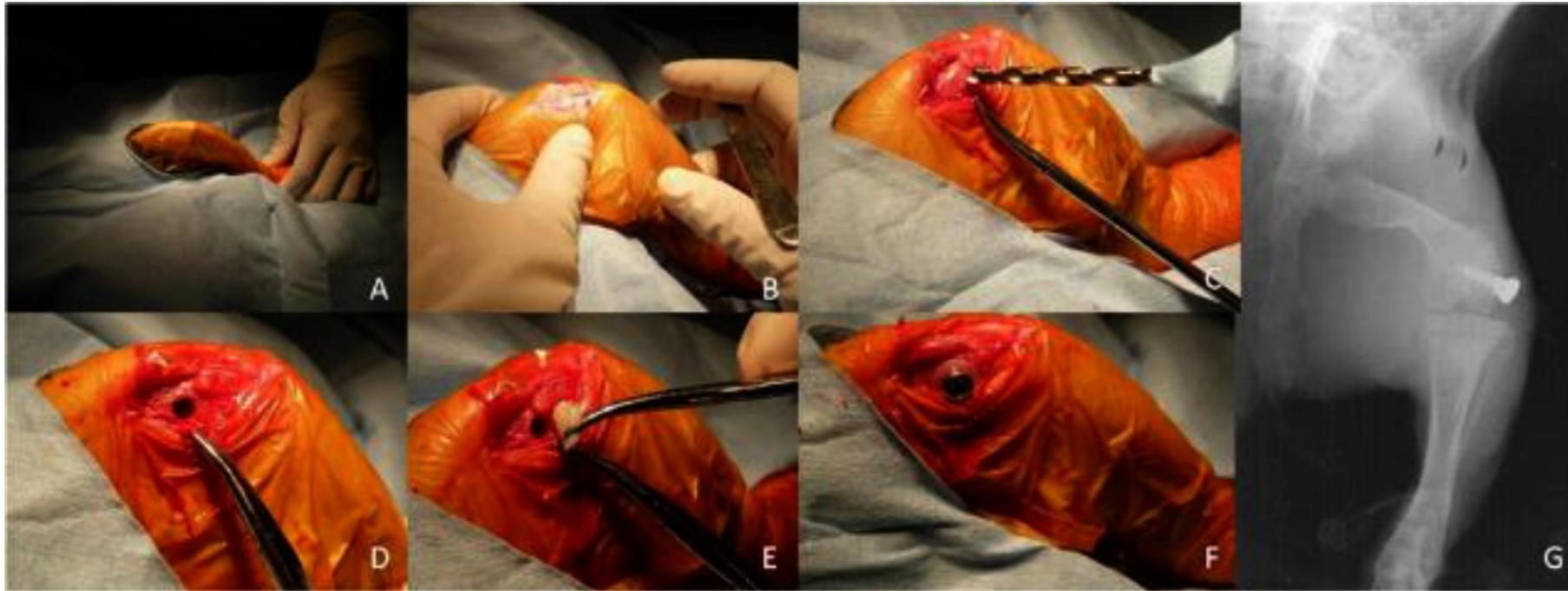
Werner Zimmerli, P. Daniel Lew,
and Francis A. Waldvogel
Infectious Disease Division, Department of Medicine, University
Hospital, 1211 Geneva 4, Switzerland





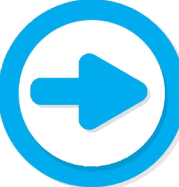
mplications thérapeutiques : thérapies et prophylaxies ciblées ?

Modèle lapin d'infection de prothèse articulaire à *S. aureus* USA300

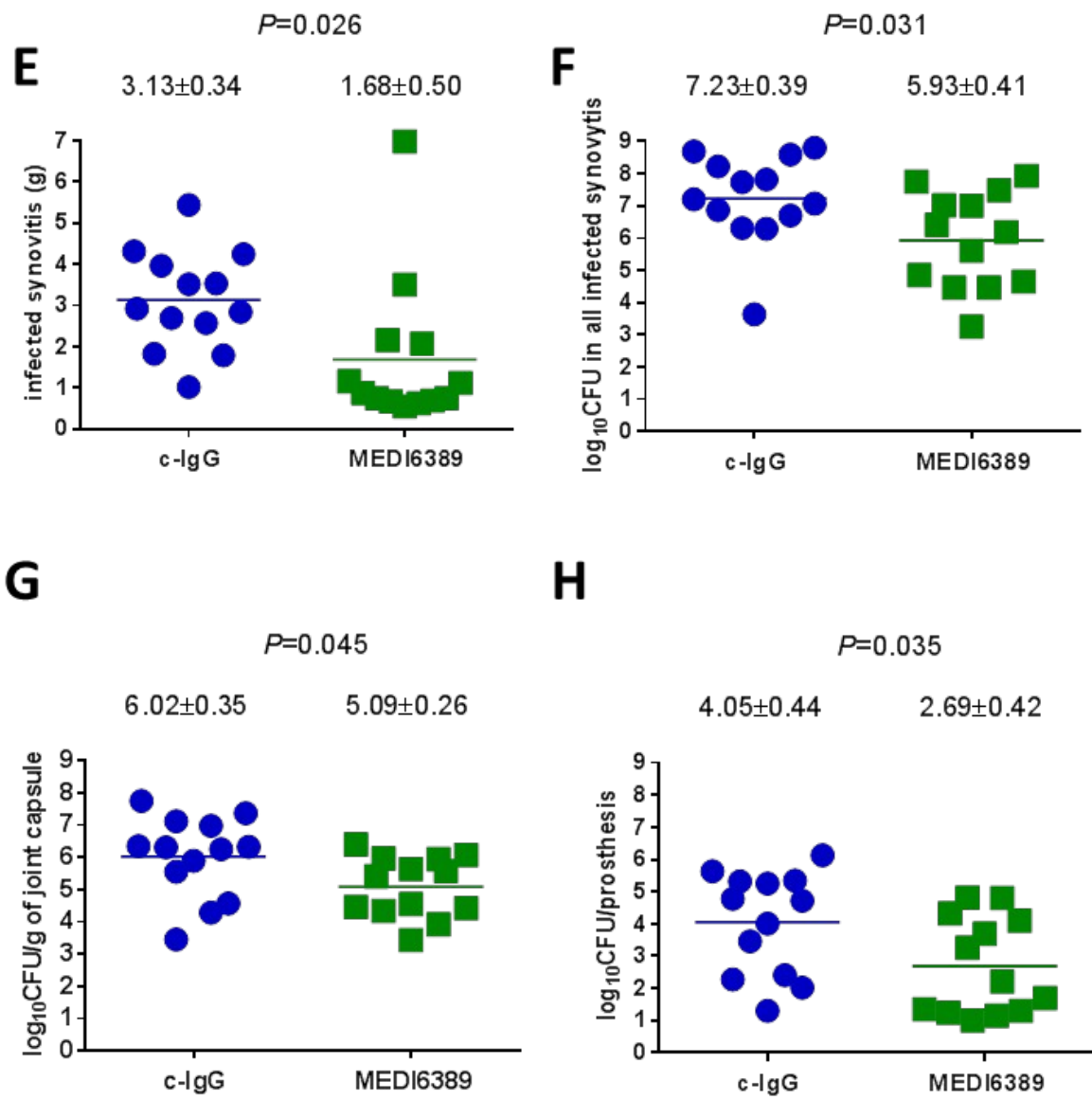
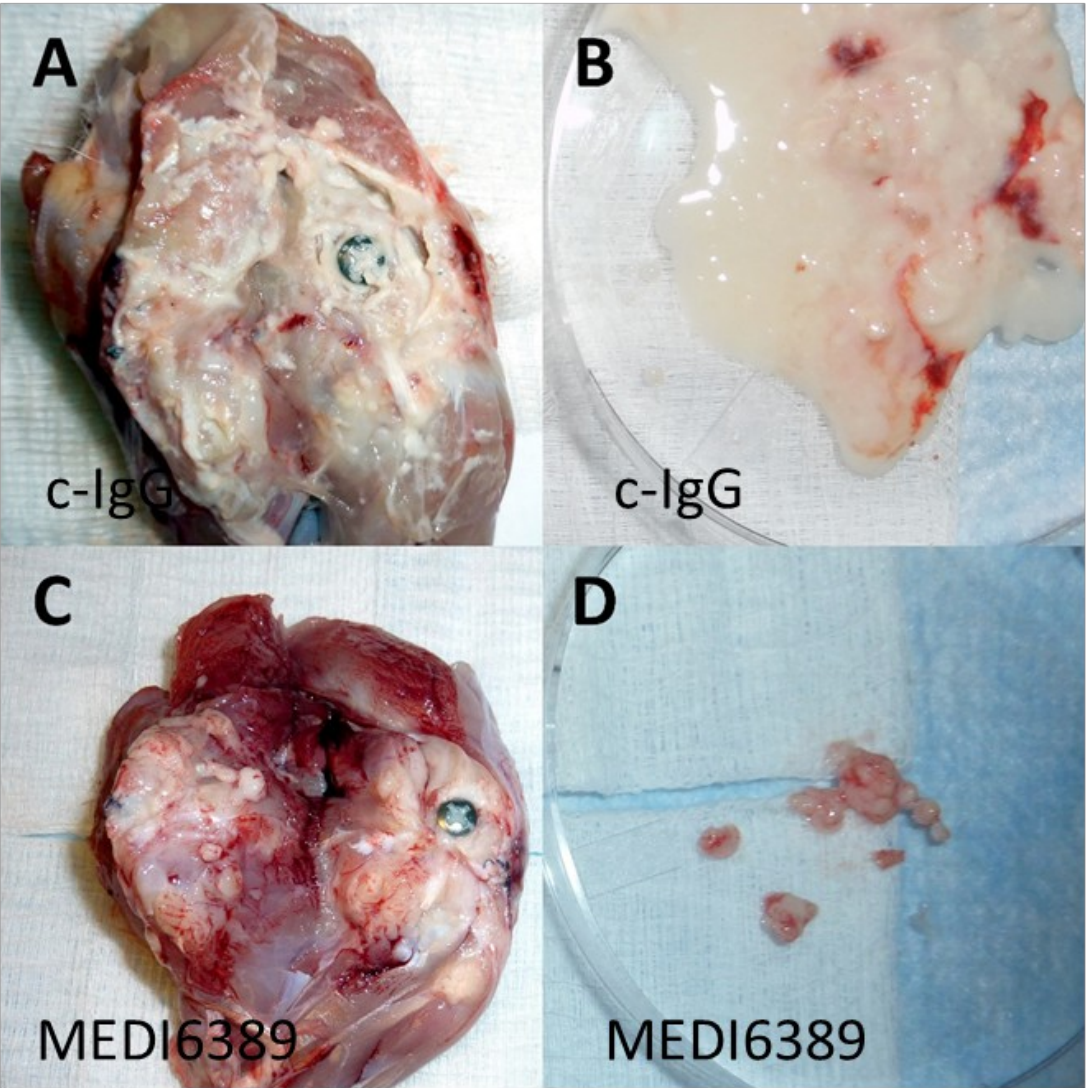


Randomisation pour injection 12h pré-opératoire

- Ig polyvalentes
- MEDI6389 : mAb anti-*S. aureus* ciblant AT, PVL, lukED, gamma-hémolysine et ClfA



mplications thérapeutiques : thérapies et prophylaxies ciblées ?



Chronicité : importance du concept



Inoculation

Diagnostic
Début de prise en charge

3-4 sem

< 3-4 semaines

IOA AIGUE

- Réplication bactérienne +++
- Infection suppurative
- Congestion vasculaire



**TRAITEMENT
CONSERVATEUR**

Risque de récurrence

Chronicité : importance du concept



Inoculation

Diagnostic
Début de prise en charge

3-4 sem

???



< 3-4 semaines

IOA AIGUE

- Réplication bactérienne +++
- Infection suppurative
- Congestion vasculaire



**TRAITEMENT
CONSERVATEUR**

Risque de récidence

> 3-4 semaines

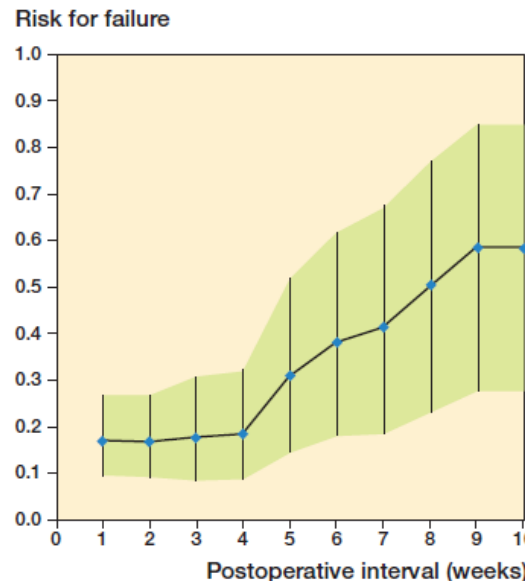
IOA CHRONIQUE

- Tissu osseux ischémique
- Séquestre osseux
- Descellement
- Ralentissement de la croissance bactérienne

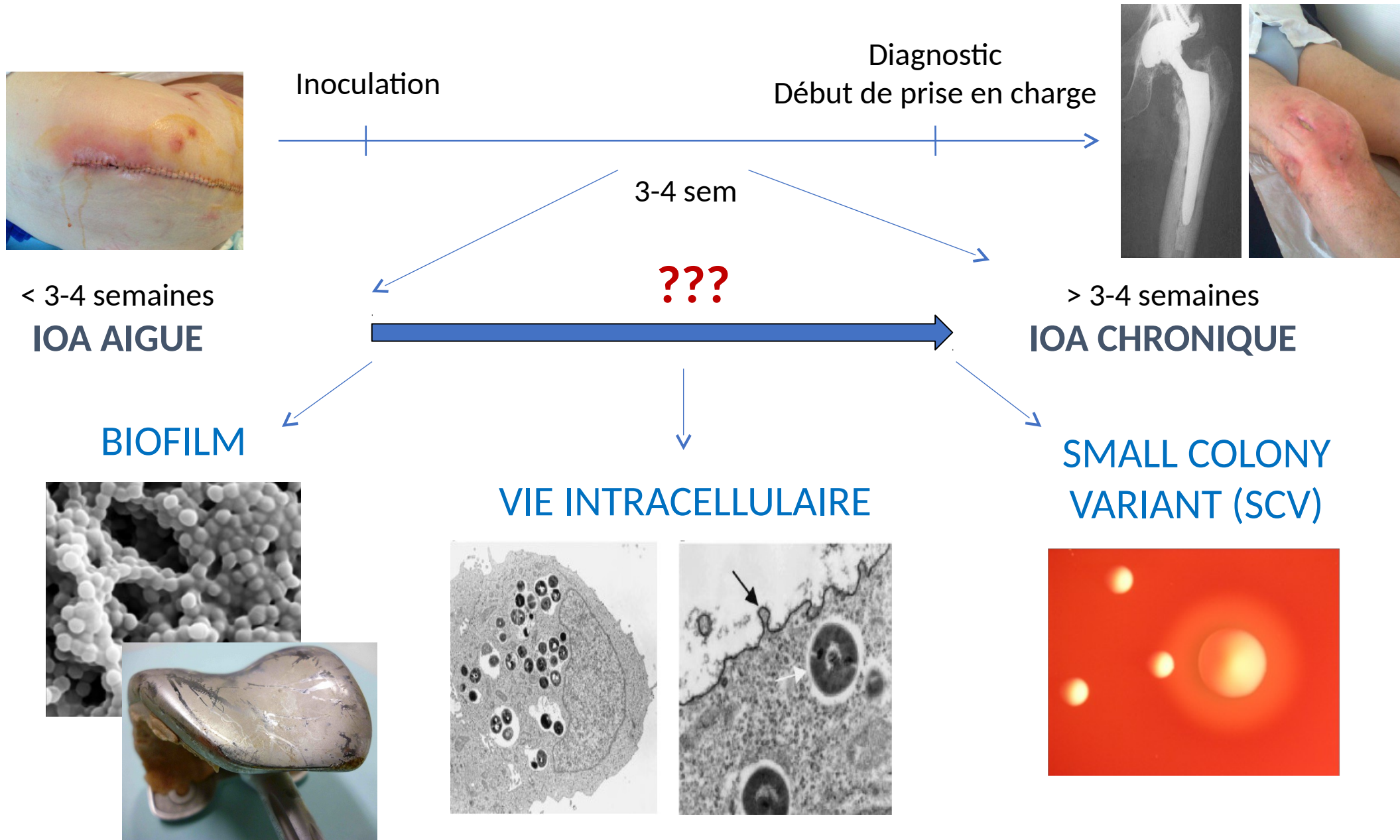


**ABLATION DES
IMPLANTS**

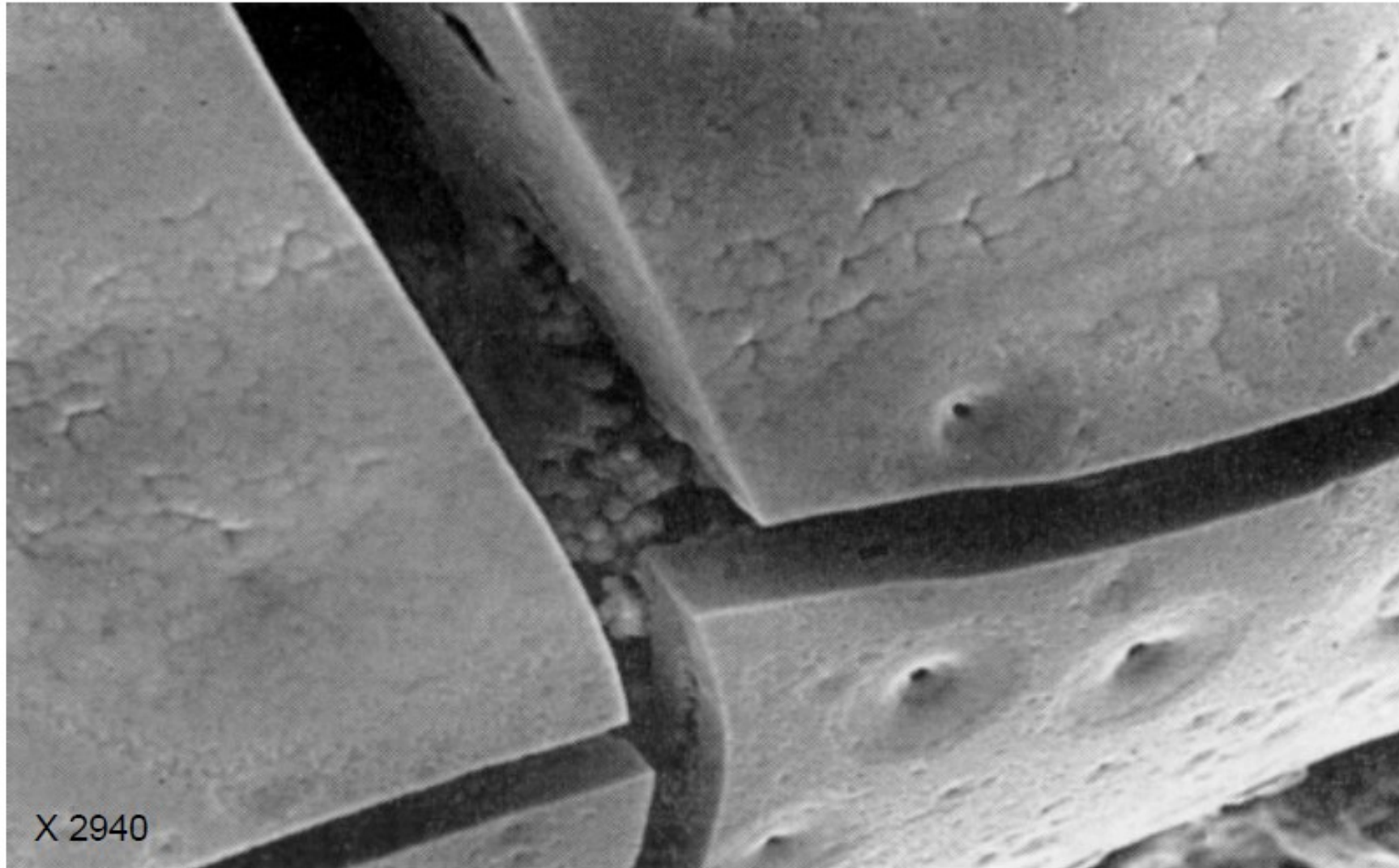
Taux élevé d'échec
thérapeutique



Chronicité : importance du concept



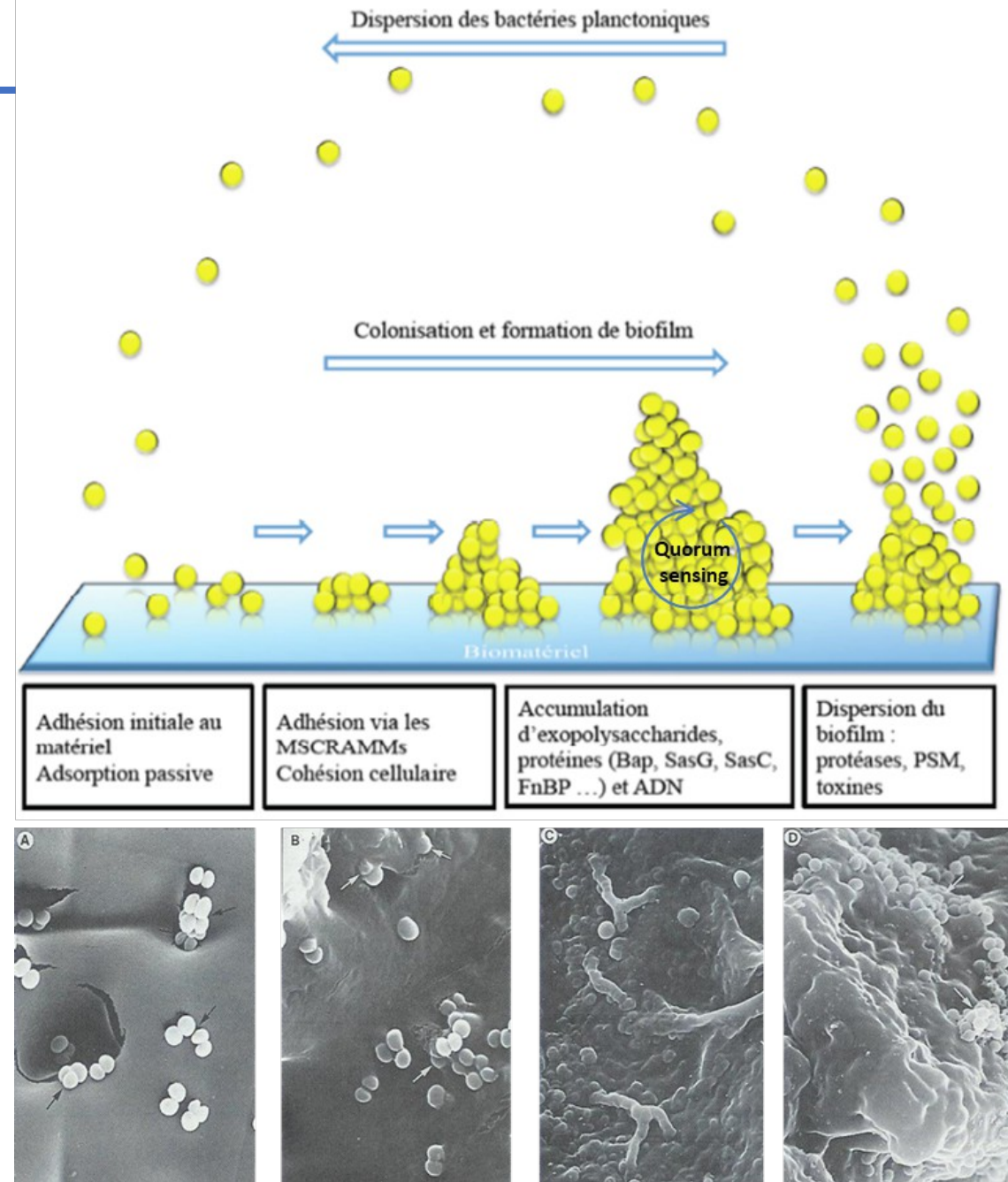
Biofilm



Biofilm et séquestre osseux
Evans et al. *Clin Orthop* 1998: 243-249

Biofilm

- **Adhésion**
Adhésines
- **Multiplication**
- **Cohésion**
PNAG (*ica*), FnBP, ADN ...
- **Maturation**
- **Coordination : « quorum sensing »**
(densité bactérienne, environnement)

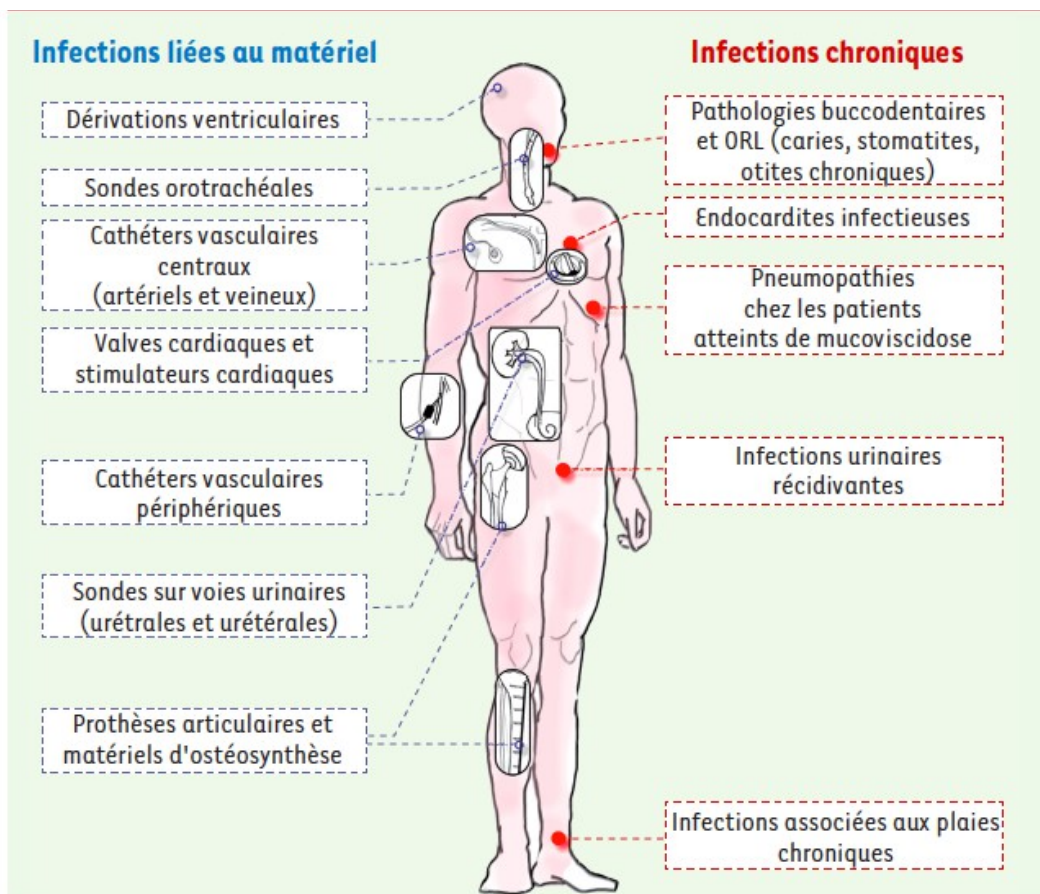




Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

ESCMID GUIDELINES

ESCMID* guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014

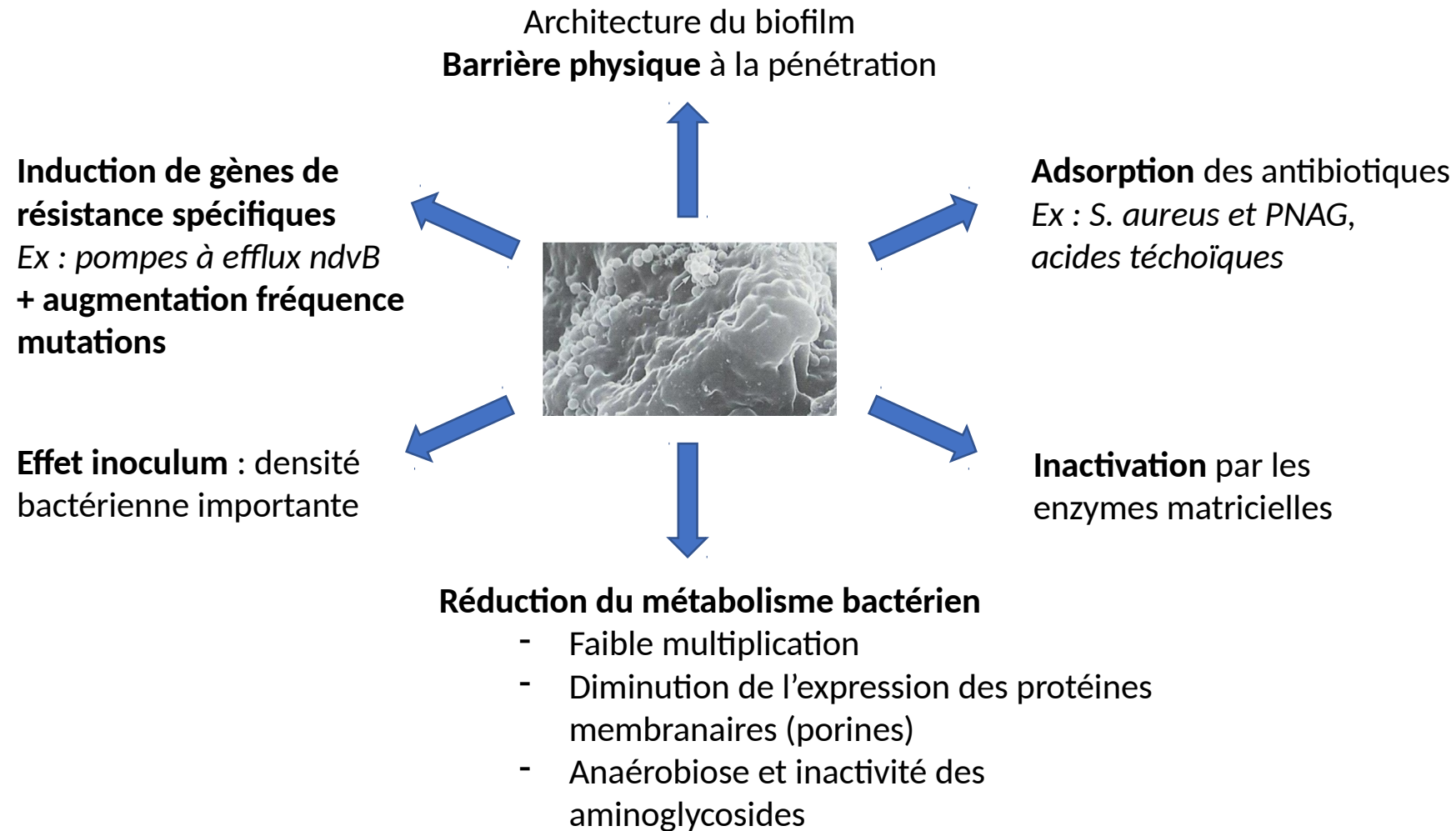


- Aucun test de sensibilité aux antibiotiques des bactéries en biofilm n'est prédictif du succès thérapeutique actuellement
- En cas d'infection sur matériel, éradication par ATB seuls possible uniquement si évolution ≤ 3 (hématogène) à 4 (inoculation) sem
- Importance des ATB « anti-biofilm », notamment en cas de traitement conservateur



Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

Mécanisme de « tolérance » aux antibiotiques ($\neq$ résistance)





Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein 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



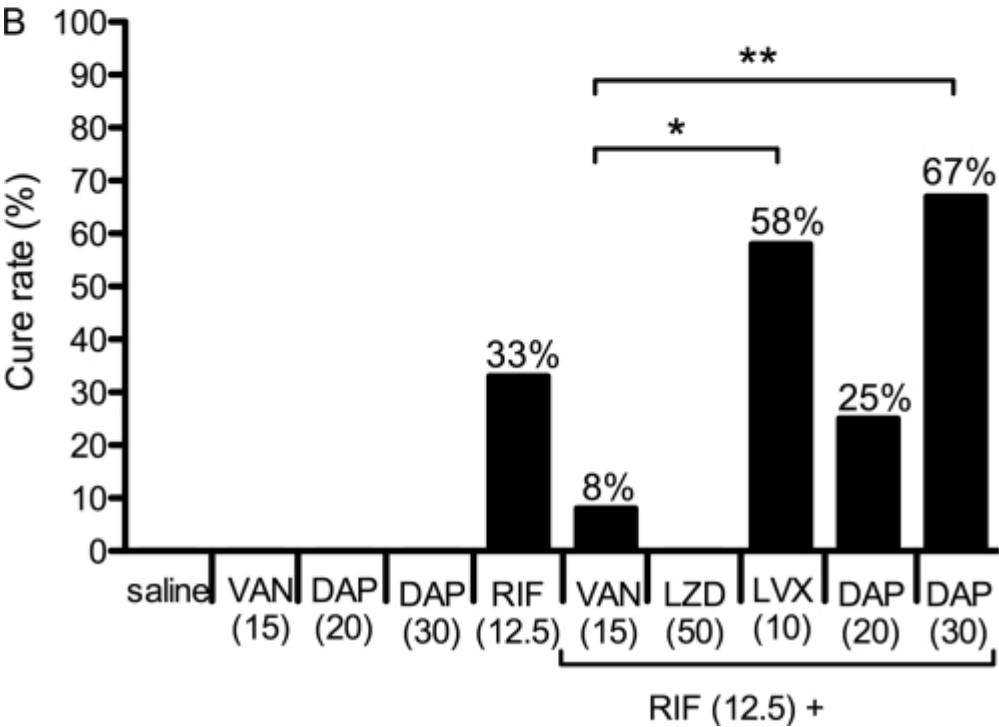
Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, July 2009, p. 2719–2724
0066-4804/09/\$08.00+0 doi:10.1128/AAC.00047-09
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 53, No. 7

Efficacy of Daptomycin in Implant-Associated Infection Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Importance of Combination with Rifampin[▽]

Anne-Kathrin John,¹ Daniela Baldoni,¹ Manuel Haschke,² Katharina Rentsch,³
Patrick Schaerli,⁴ Werner Zimmerli,⁵ and Andrej Trampuz^{1,6*}



Cure rate of adherent MRSA in explanted cages

SARM et DAP-RMP

TABLE 3. Rates of emergence of rifampin resistance in cage fluid during and after treatment (planktonic bacteria) and in culture from explanted cages (adherent bacteria)

Treatment (dose) ^a	Planktonic bacteria ^b		Adherent bacteria ^c after treatment (day 12)
	During treatment (day 6)	After treatment (day 12)	
RIF (12.5)	2/12 (17)	2/12 (17)	3/12 (25)
VAN (15) + RIF (12.5)	4/12 (33)	5/12 (42)	7/12 (58)
LZD (50) + RIF (12.5)	0/12 (0)	0/12 (0)	1/12 (8)
LVX (10) + RIF (12.5)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)
DAP (20) + RIF (12.5)	0/12 (0)	0/12 (0)	2/12 (17)
DAP (30) + RIF (12.5)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)



Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, July 2009, p. 2719-2724
0066-4804/09/\$08.00+0 doi:10.1128/AAC.00047-09
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

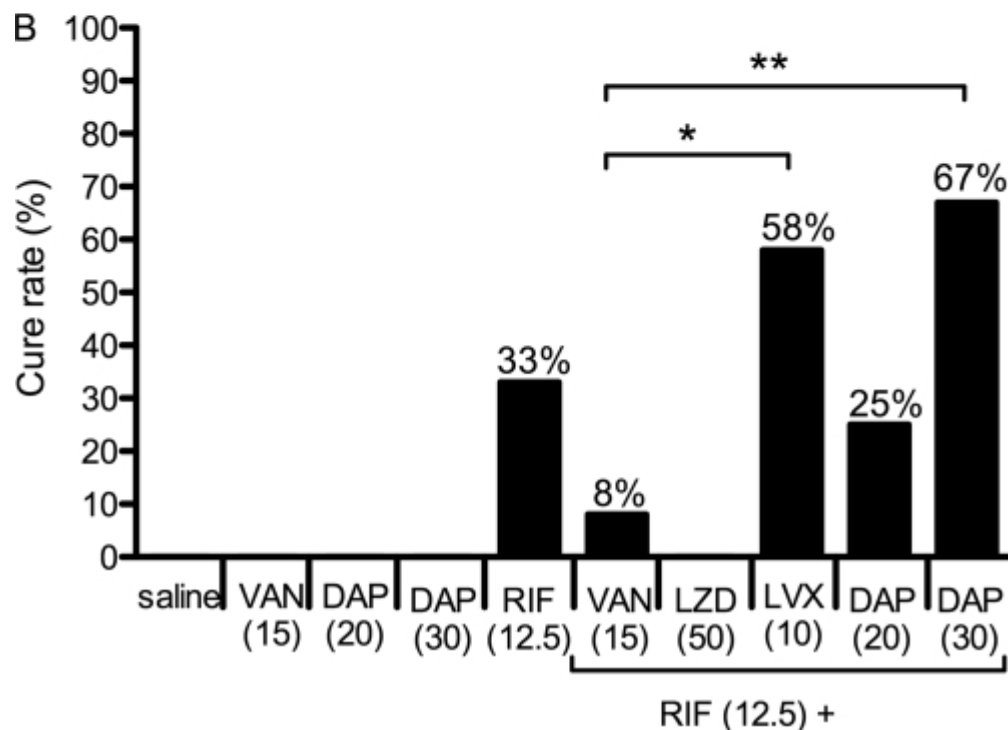
Vol. 53, No. 7

Efficacy of Daptomycin in Implant-Associated Infection Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Importance of Combination with Rifampin[▽]

Anne-Kathrin John,¹ Daniela Baldoni,¹ Manuel Haschke,² Katharina Rentsch,³
Patrick Schaerli,⁴ Werner Zimmerli,⁵ and Andrej Trampuz^{1,6*}

Outcome and Predictors of Treatment Failure in Total Hip/Knee Prosthetic Joint Infections Due to *Staphylococcus aureus*

Eric Senneville, Donatienne Joulie, Laurence Legout, Michel Valette, Hervé Dezègue, Eric Beltrand, Bernadette Roseló, Thibaud d'Escrivan, Caroline Loiez, Michèle Caillaux, Yazdan Yazdanpanah, Carlos Maynou, and Henri Migaud
Centre National de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Nord-Ouest, Roger Salengro Faculty Hospital of Lille, Lille, France



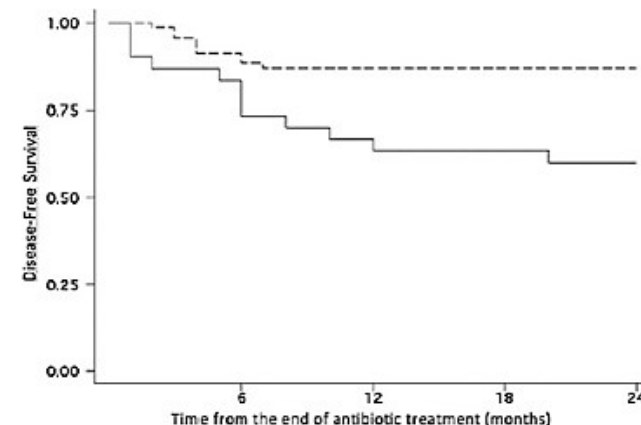
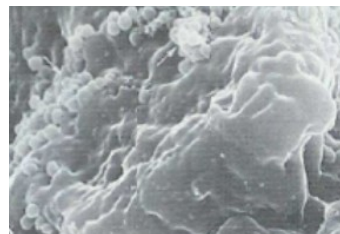
Cure rate of adherent MRSA in explanted cages

Facteurs protecteurs (univarié)

- ASA score ≤ 2
- ATB empirique post-opératoire adéquate
- **Combinaison à base de rifampicine**

Facteurs protecteurs (multi-varié)

- ASA score ≤ 2
- **Rifampicine - FQ**





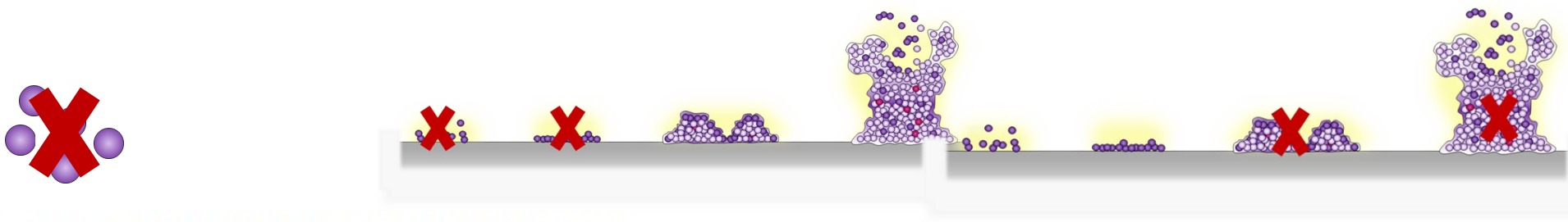
Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

J Antimicrob Chemother 2020; 75: 1466–1473
doi:10.1093/jac/dkaa061 Advance Access publication 3 March 2020

Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy

Antibiofilm and intraosteoblastic activities of rifamycins against *Staphylococcus aureus*: promising *in vitro* profile of rifabutin

Lélia Abad^{1–3}, Jérôme Josse¹, Jason Tasse¹, Sébastien Lustig^{2,4,5}, Tristan Ferry^{1,2,4,6}, Alan Diot¹,
Frédéric Laurent^{1–4,*†} and Florent Valour^{1,2,4,6†}



Isolate	MIC (mg/L)			bMIC (mg/L)			MBEC ₉₀ (mg/L)		
	rifampicin	rifapentine	rifabutin	rifampicin	rifapentine	rifabutin	rifampicin	rifapentine	rifabutin
6850	0.016	0.062	0.031	0.05	0.1	0.05	50	0.39	0.19
Clinical isolate 1	0.008	0.031	0.031	0.0125	0.0125	0.025	3.125	0.78	0.19
Clinical isolate 2	0.031	0.062	0.062	0.025	0.05	0.05	>100	0.19	0.78



Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Apr. 1991, p. 741-746
0066-4804/91/040741-06\$02.00/0
Copyright © 1991, American Society for Microbiology

Vol. 35, No. 4

Killing of Nongrowing and Adherent *Escherichia coli* Determines Drug Efficacy in Device-Related Infections

ANDREAS F. WIDMER,^{1†} ADRIAN WIESTNER,¹ RENO FREI,² AND WERNER ZIMMERLI^{1*}

TABLE 6. Killing of glass-adherent *E. coli* ATCC 25922

Drug	CFU/slide (mean ± SE)		% Killing	Log killing
	Controls	After treatment ^a		
Co-trimoxazole	153 ± 19	576 ± 129	0	0
Aztreonam	241 ± 17	14 ± 7	94.3	1.25
Fleroxacin	338 ± 10	39 ± 20	88.4	0.93
Ciprofloxacin	531 ± 56	0 ± 0	>99.9	>3

^a Adherent bacteria were incubated at drug concentrations corresponding to twice the MBC determined in the logarithmic growth phase (see text).



Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Apr. 1991, p. 741-746
0066-4804/91/040741-06\$02.00/0
Copyright © 1991, American Society for Microbiology

Vol. 35, No. 4

Killing of Nongrowing and Adherent *Escherichia coli* Determines Drug Efficacy in Device-Related Infections

ANDREAS F. WIDMER,^{1†} ADRIAN WIESTNER,¹ RENO FREI,² AND WERNER ZIMMERLI^{1*}

TABLE 6. Killing of glass-adherent *E. coli* ATCC 25922

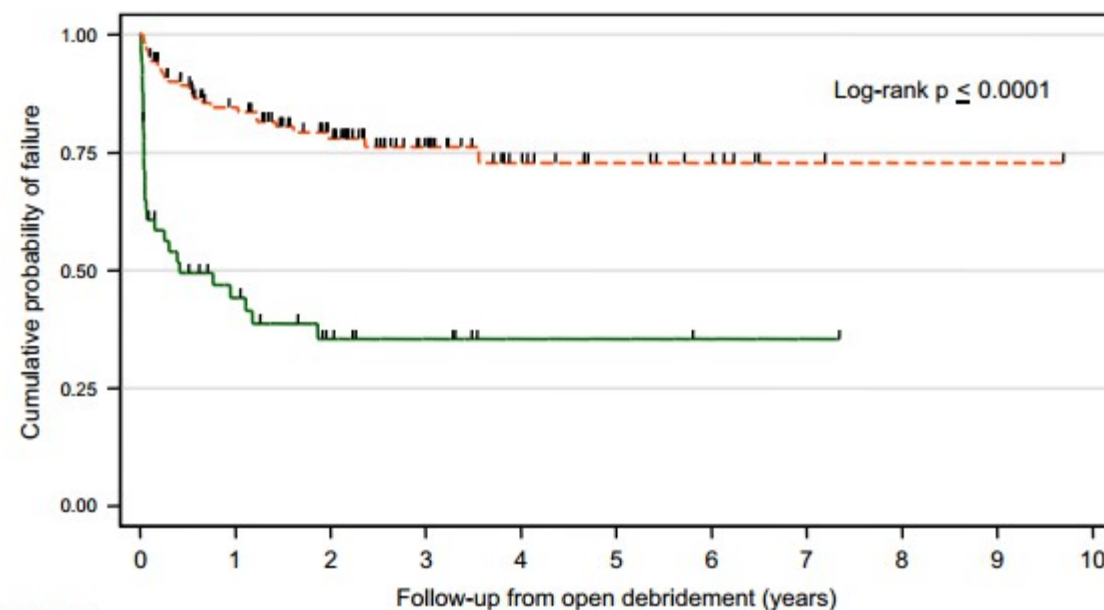
Drug	CFU/slide (mean ± SE)		% Killing	Log killing
	Controls	After treatment ^a		
Co-trimoxazole	153 ± 19	576 ± 129	0	0
Aztreonam	241 ± 17	14 ± 7	94.3	1.25
Fleroxacin	338 ± 10	39 ± 20	88.4	0.93
Ciprofloxacin	531 ± 56	0 ± 0	>99.9	>3

^a Adherent bacteria were incubated at drug concentrations corresponding to twice the MBC determined in the logarithmic growth phase (see text).

Gram-negative prosthetic joint infection: outcome of a debridement, antibiotics and implant retention approach. A large multicentre study

D. Rodríguez-Pardo¹, C. Pigrau¹, J. Lora-Tamayo², A. Soriano³, M. D. del Toro⁴, J. Cobo⁵, J. Palomino⁶, G. Euba², M. Riera⁷, M. Sánchez-Somolinos⁸, N. Benito⁹, M. Fernández-Sampedro¹⁰, L. Sorli¹¹, L. Guio¹², J. A. Iribarren¹³, J. M. Baraia-Etxaburu¹⁴, A. Ramos¹⁵, A. Bahamonde¹⁶, X. Flores-Sánchez¹⁷, P. S. Corona¹⁷ and J. Ariza² on behalf of the REIPI Group for the Study of Prosthetic Infection*

Clinical Microbiology and Infection, Volume 20 Number 11, November 2014



N at risk (fails)

Not ciprofloxacin treatment	49	(26)	17	(3)	9	(0)	6	(0)	2	(0)	2	(0)	1	(0)	1	(0)	0	(0)	0	(0)	0
Ciprofloxacin treatment	124	(18)	87	(6)	59	(1)	32	(1)	16	(0)	10	(0)	6	(0)	2	(0)	1	(0)	1	(0)	0

— Patients not treated with ciprofloxacin
- - - Patients treated with ciprofloxacin



Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Oct. 2011, p. 4821–4827
0066-4804/11/\$12.00 doi:10.1128/AAC.00141-11
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

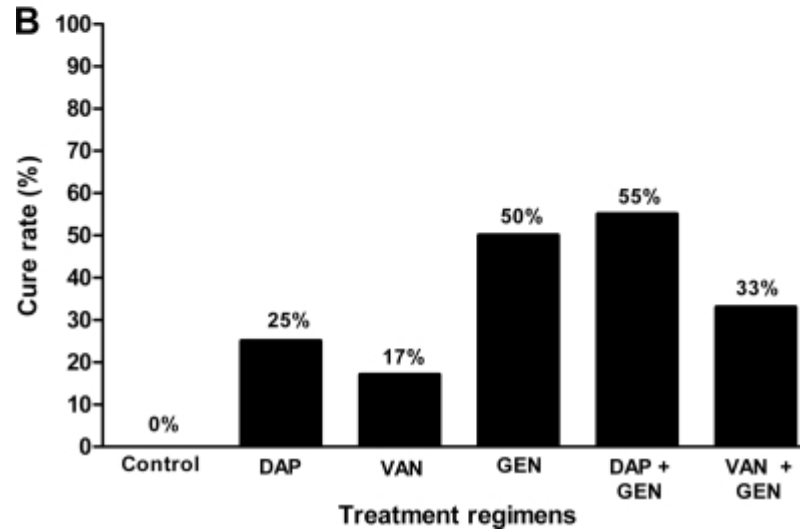
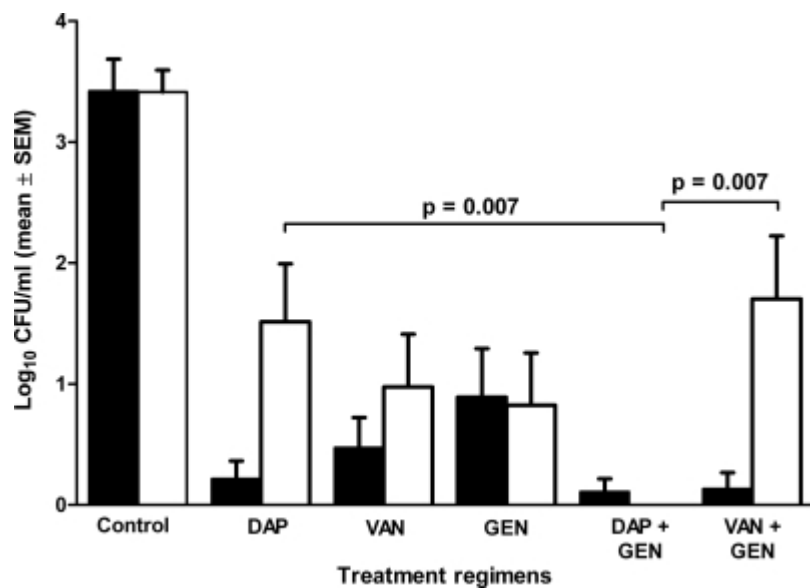
Vol. 55, No. 10

Gentamicin Improves the Activities of Daptomycin and Vancomycin against *Enterococcus faecalis* In Vitro and in an Experimental Foreign-Body Infection Model[▽]

Ulrika Furustrand Tabin,¹ Ivana Majic,² Cyrine Belkhodja Zalila,¹ Bertrand Betrisey,¹ Stéphane Corvec,^{1,3} Werner Zimmerli,⁴ and Andrej Trampuz^{1,2*}

ENC et DAP-GEN

Pas de données cliniques



Bactéries planctonique : fin de traitement et J5

Cure rate : adherent enc



Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

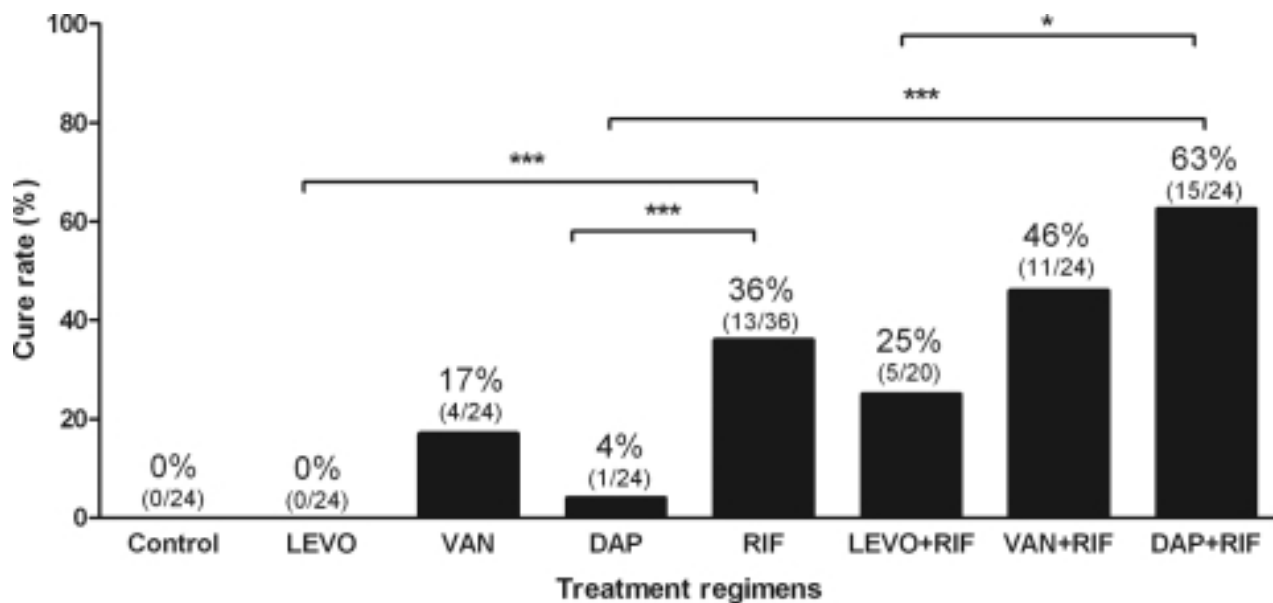


Role of Rifampin against *Propionibacterium acnes* Biofilm *In Vitro* and in an Experimental Foreign-Body Infection Model

Ulrika Furustrand Tabin,^a Stéphane Corvec,^{a,b} Bertrand Betrisey,^a Werner Zimmerli,^c and Andrej Trampuz^a

Propioni et RMP

Pas de données cliniques



Cure rate : adherent enc



Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

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	+	+++	+++



Implications thérapeutiques : tolérance anti-microbienne au sein du biofilm

International Journal of
Molecular Sciences

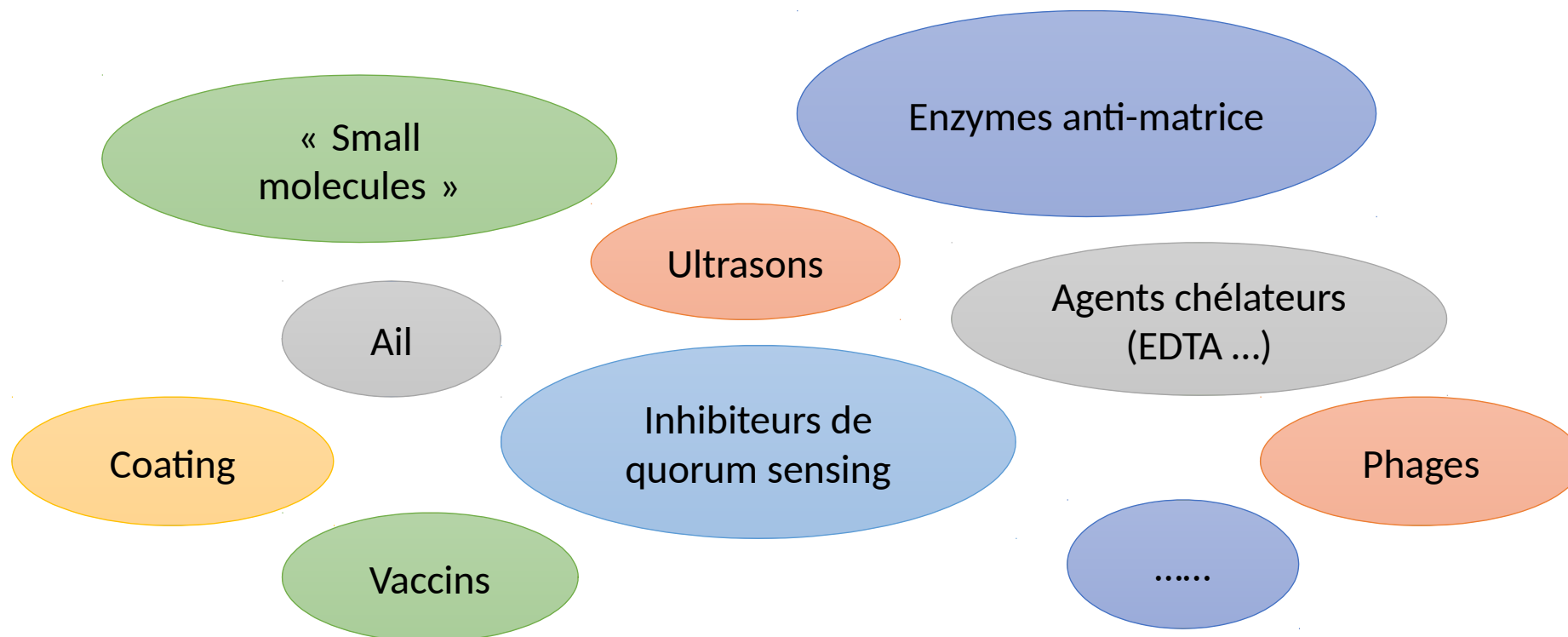
ISSN 1422-0067

www.mdpi.com/journal/ijms

Review

Novel Strategies for the Prevention and Treatment of Biofilm Related Infections

Meng Chen ¹, Qingsong Yu ² and Hongmin Sun ^{3,*}



Interactions avec les cellules osseuses

Van de Velde H.

Etude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène.

La Cellule 1894;10:403-60.



THE SURVIVAL OF STAPHYLOCOCCI WITHIN HUMAN LEUKOCYTES*

BY DAVID E. ROGERS,† M.D., AND RALPH TOMPSETT, M.D.

(From the Department of Medicine, New York Hospital-Cornell Medical Center, New York)

PLATES 8 TO 10

(Received for publication, October 10, 1951)

Interactions avec les cellules osseuses

Staphylococcus aureus persistence in non-professional phagocytes

Bettina Löffler*, Lorena Tuchscher, Silke Niemann, Georg Peters

International Journal of Medical Microbiology 304 (2014) 170–176

Décrit avec de nombreux types cellulaires

- Cellules endothéliales
- Cellules épithéliales
- Kératinocytes
- Fibroblastes
- Leucocytes

Interactions avec les cellules osseuses

Staphylococcus aureus persistence in non-professional phagocytes

Bettina Löffler*, Lorena Tuchscher, Silke Niemann, Georg Peters

International Journal of Medical Microbiology 304 (2014) 170–176

Décrit avec de nombreux types cellulaires

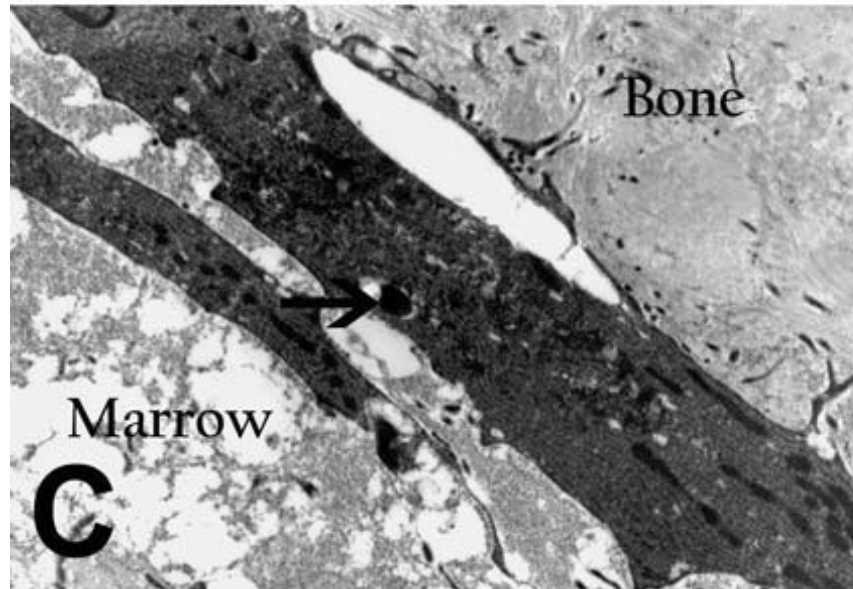
- Cellules endothéliales
- Cellules épithéliales
- Kératinocytes
- Fibroblastes
- Leucocytes
- **et les cellules osseuses !**

Mini Review

Interaction of staphylococci with bone

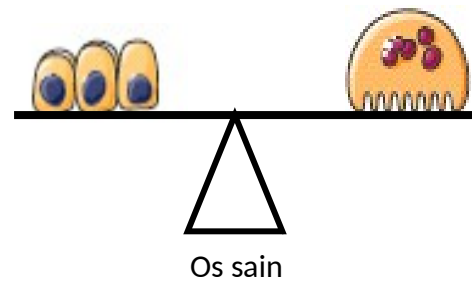
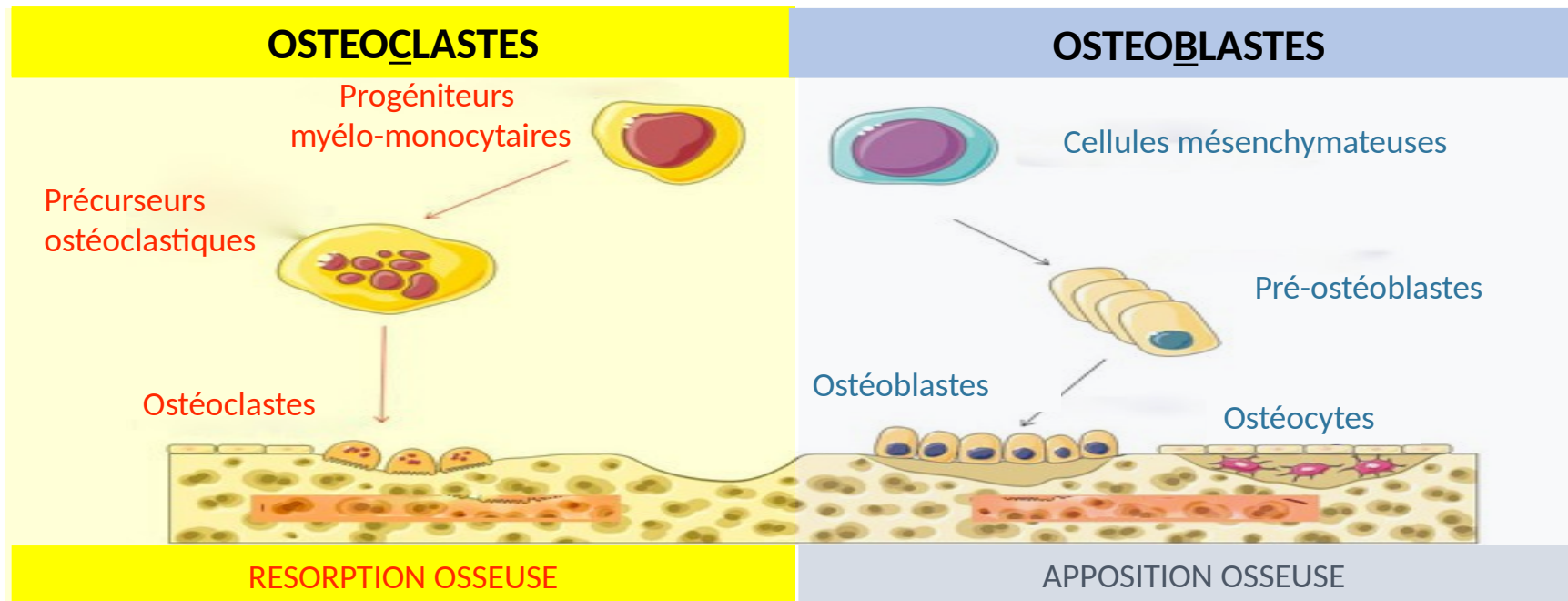
John A. Wright, Sean P. Nair*

International Journal of Medical Microbiology 300 (2010) 193–204



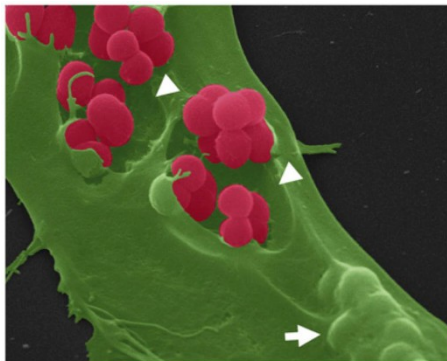
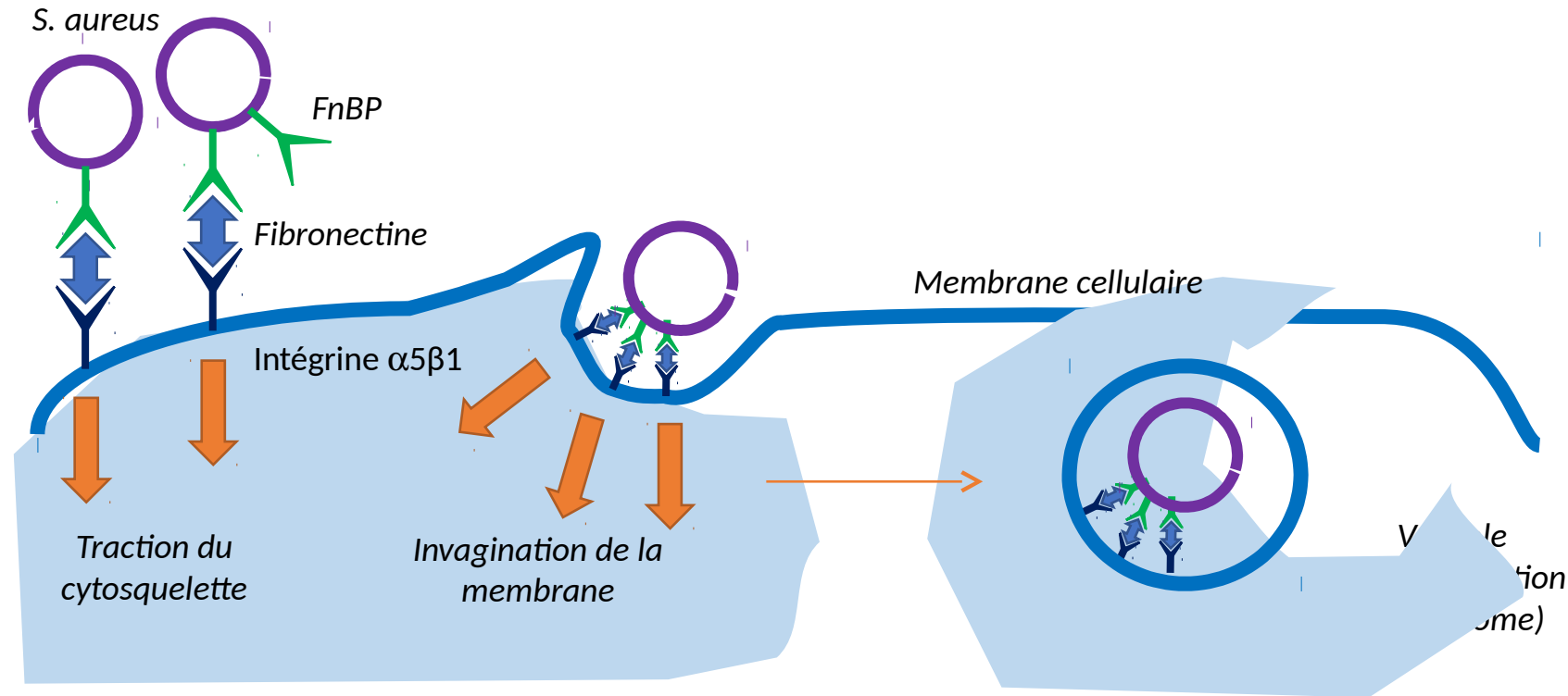
Bosse, 2005
Ostéite chronique
ME

Interactions avec les cellules osseuses



Equilibre OB / OC

Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes



Microscopie électronique
Hoffmann et al.
Eur J Cell Biol 2011



in Cellular and Infection Microbiology

REVIEW

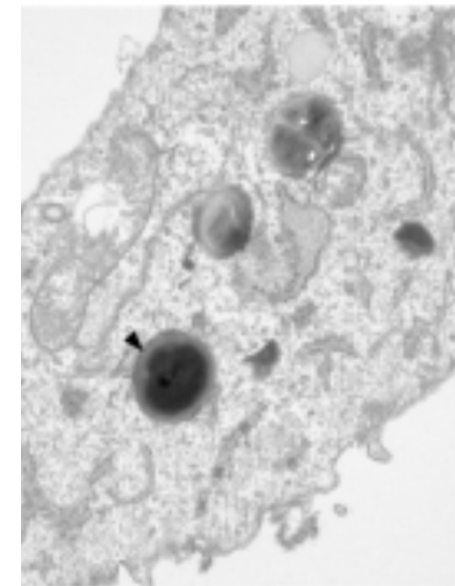
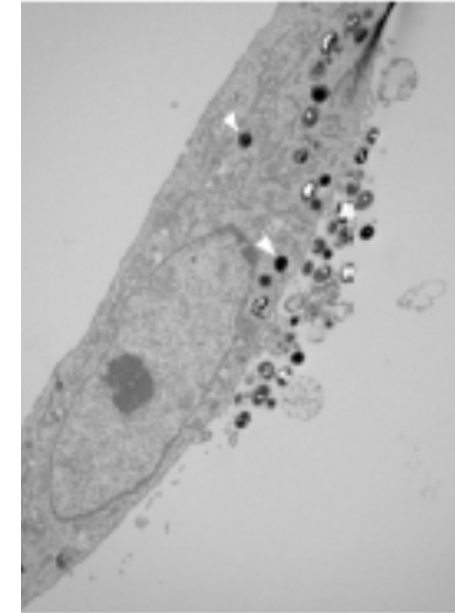
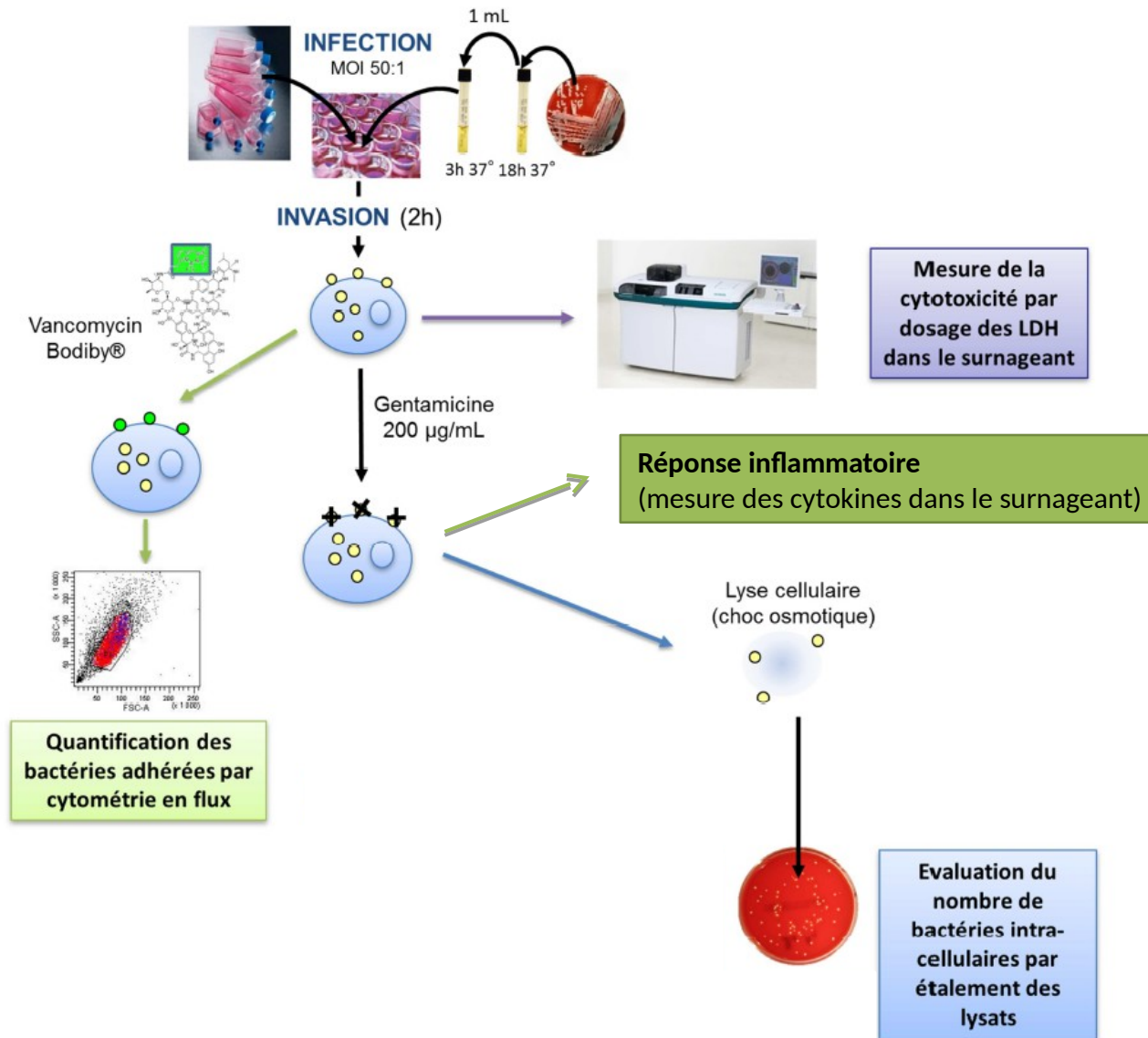
published: 26 November 2015
doi: 10.3389/fcimb.2015.00085

Staphylococcus aureus vs. Osteoblast: Relationship and Consequences in Osteomyelitis

Jérôme Josse, Frédéric Velard and Sophie C. Gangloff*

EA 4691 Biomatériaux et inflammation en site osseux, Pôle Santé, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes



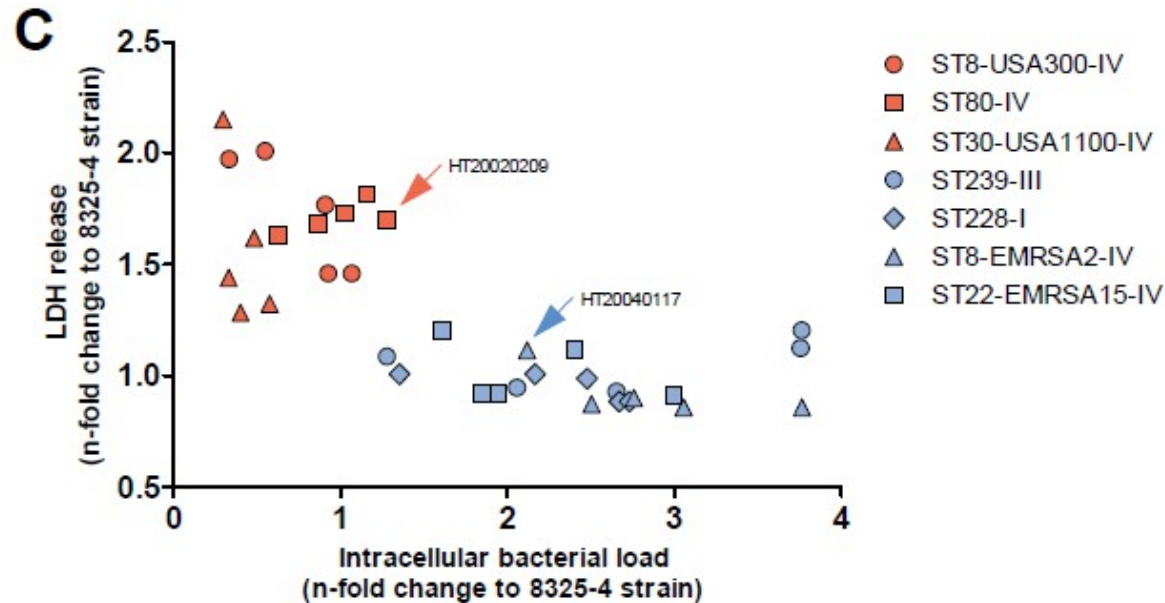
Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes

May 2013 | Volume 8 | Issue 5 | e63176



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, récidence
- **Faible cytotoxicité**
- **Survie intracellulaire +++**

CA-MRSA (n=20)

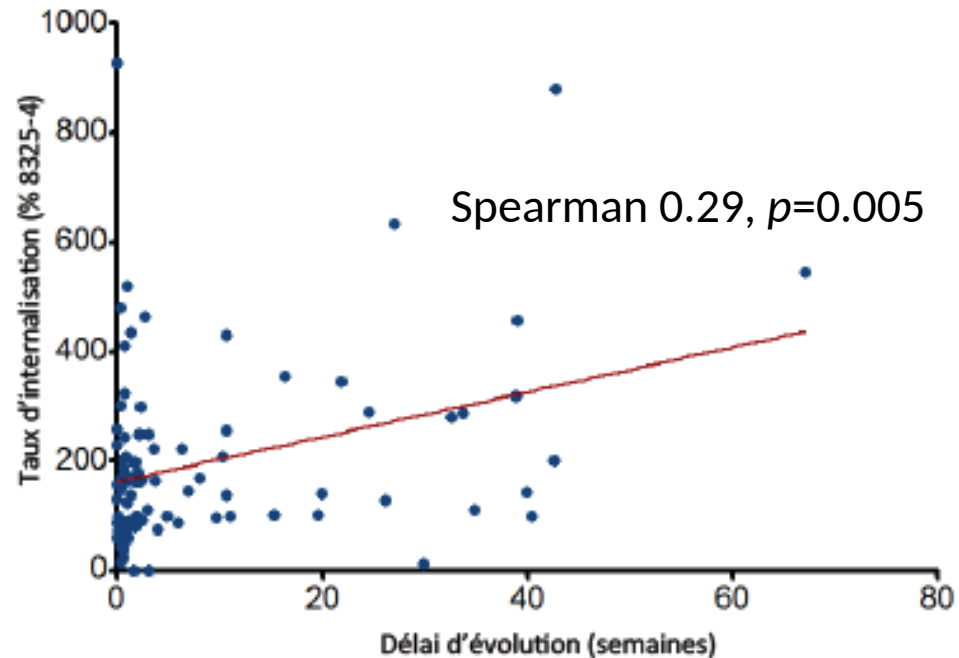
- Ostéomyélites (enfants) +++
- Progression rapide, inflammation majeure, destruction osseuse, dommages tissulaires
- **Cytotoxicité +++**
- **Faible survie intracellulaire**
- Dommages tissulaires (rôle de la PVL)

Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes

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

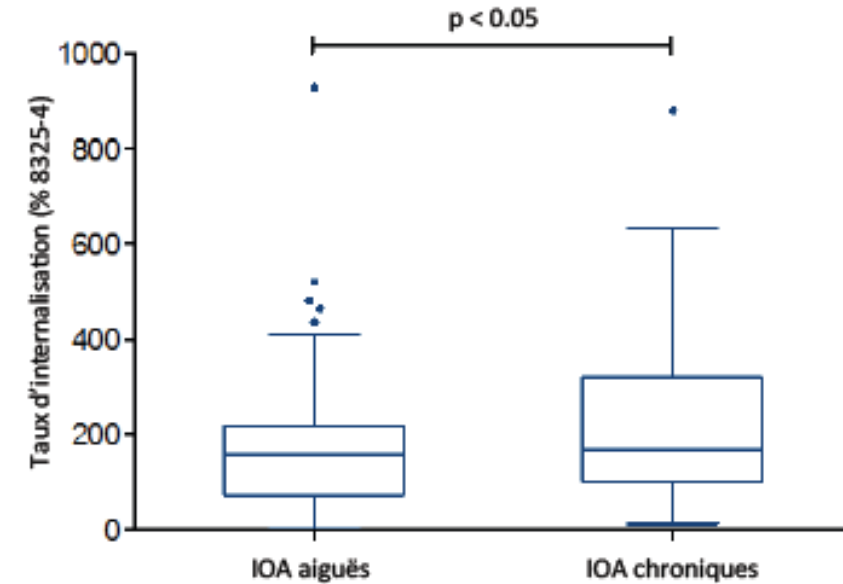


95 couples patient-souche inclus

IOA aiguës
 $n=64$

IOA chroniques
 $n=31$

Délai d'évolution > 4 semaines



Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes

Cellular Microbiology (2016) 18(10), 1405–1414

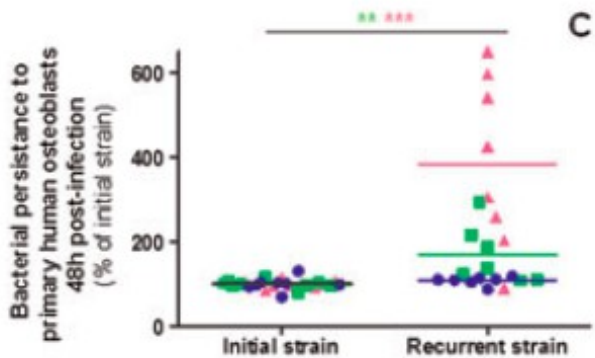
doi:10.1111/cmi.12582
First published online 1 April 2016

Adaptive processes of *Staphylococcus aureus* isolates during the progression from acute to chronic bone and joint infections in patients

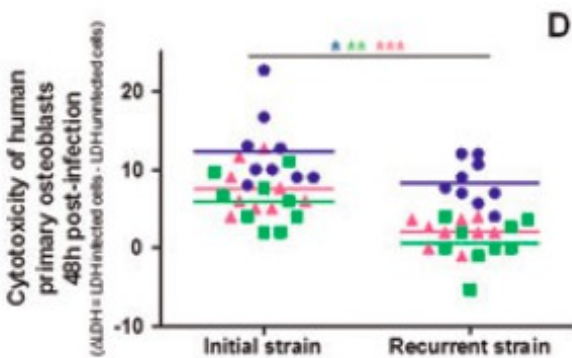
Sophie Trouillet-Assant,^{1,2*,†} Lucie Lelièvre,^{1,†}
Patrícia Martins-Simões,^{1,2} Luiz Gonzaga,³
Jason Tasse,^{1,2} Florent Valour,^{1,4}
Jean-Philippe Rasigade,^{1,2,5} François Vandenesch,^{1,2,5}
Rafael Lucas Muniz Guedes,³
Ana Tereza Ribeiro de Vasconcelos,³
Jocelyne Caillon,⁶ Sebastien Lustig,⁷ Tristan Ferry,^{1,4}
Cédric Jacqueline,^{6,†} Guilherme Loss de Moraes^{3,†} and
Frédéric Laurent^{1,2,5,†}

¹Centre International de Recherche en Infectiologie,
INSERM U1111, Pathogenesis of staphylococcal
infections, University of Lyon 1, Lyon, France.

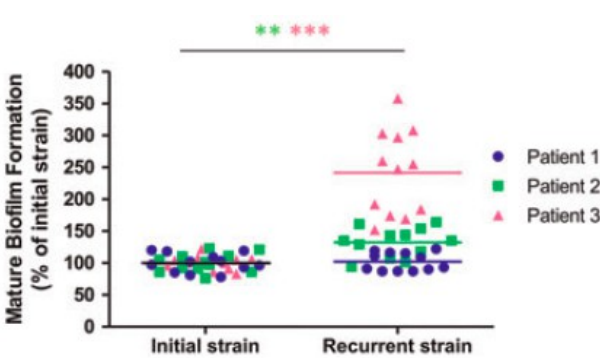
Patient no.	Sex, age (year)	Site of infection	Duration of symptoms (days) ^a	Surgical treatment	Duration of antibiotherapy (days)	Time to failure or relapse (days) ^b
1	M, 26	Tibia osteosynthesis material	12	Material removed	82	0
2	M, 80	Total knee arthroplasty	3	Irrigation and debridement	191	10
3	F, 82	Total hip arthroplasty	3	Irrigation and debridement	98	36



↑ Persistence



↓ Cytotoxicité



↑ Biofilm

PHENOMENES ADAPTATIFS

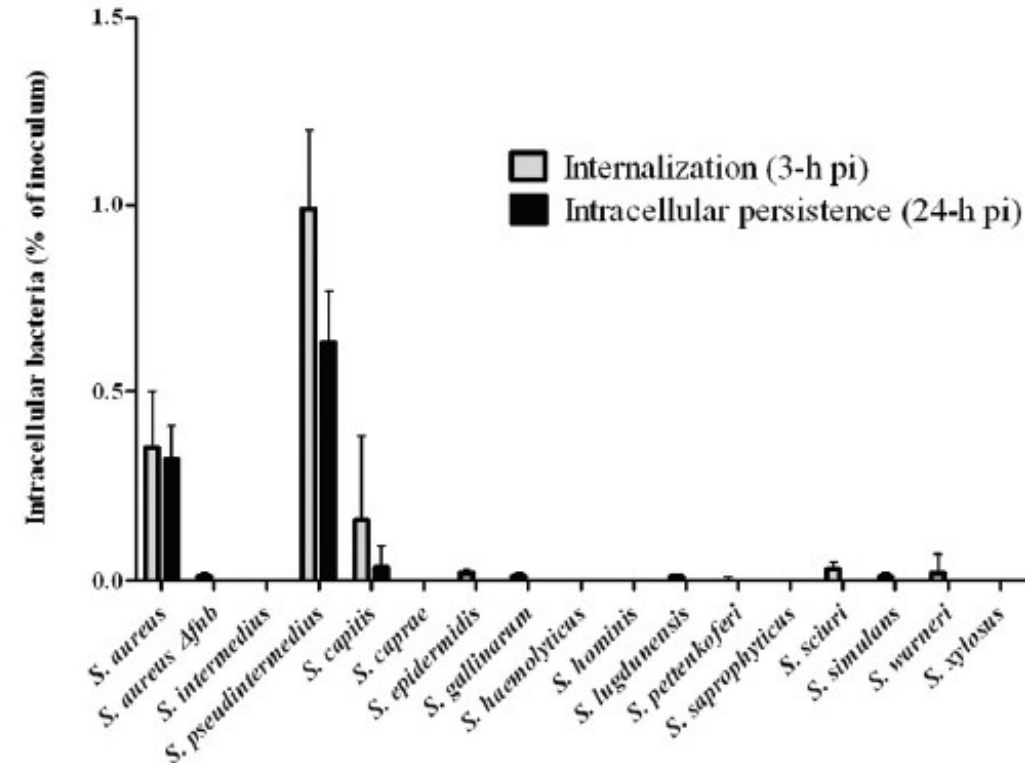
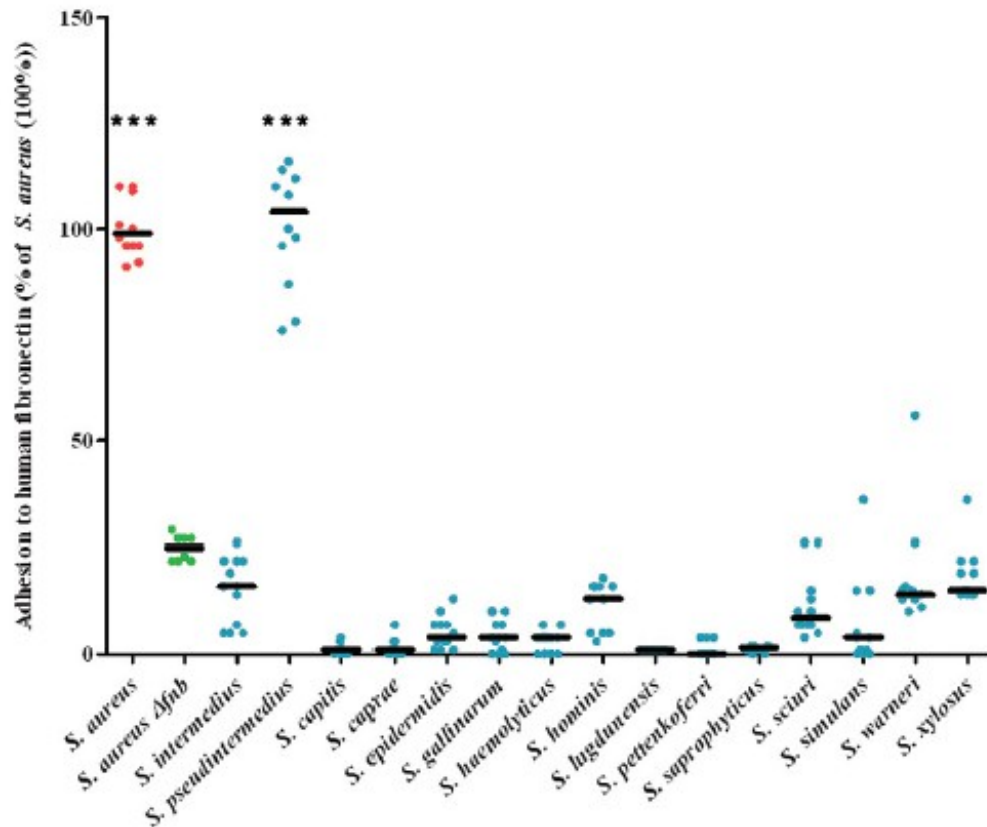
Interactions avec les cellules osseuses : ostéoBlastes

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

Yousef Maali^{1,2}, Patricia Martins-Simões^{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*

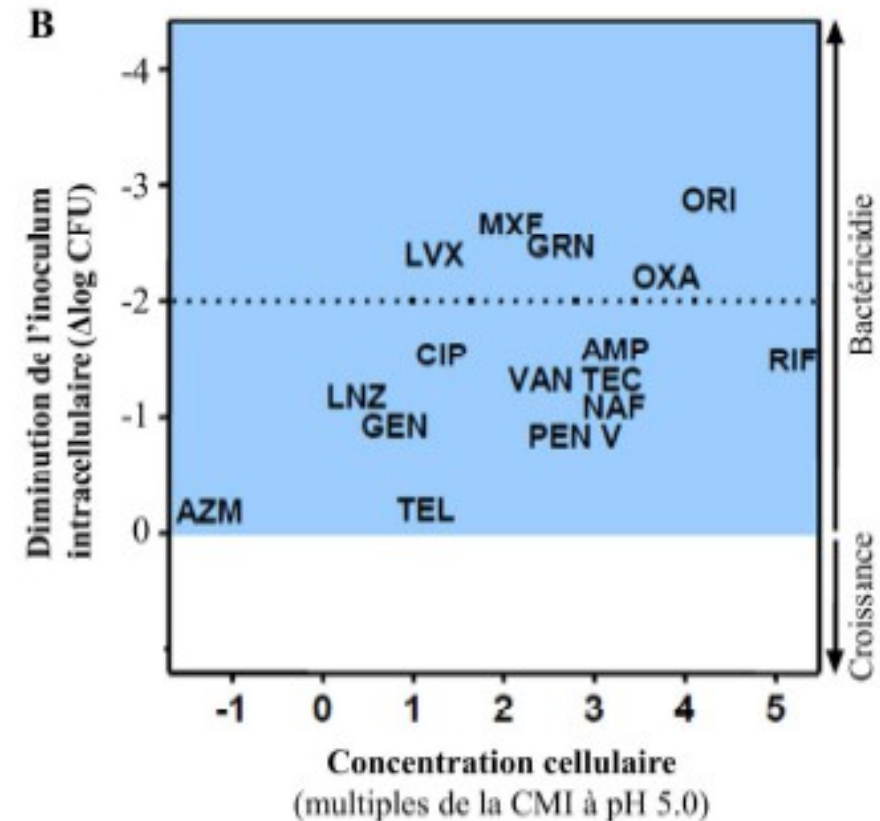
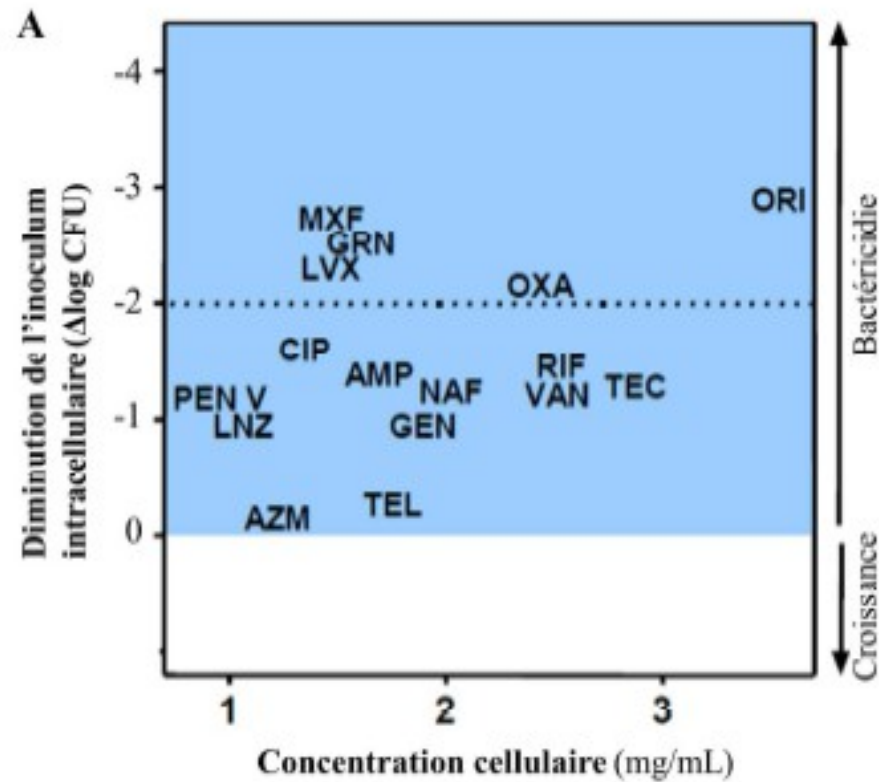




mplications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

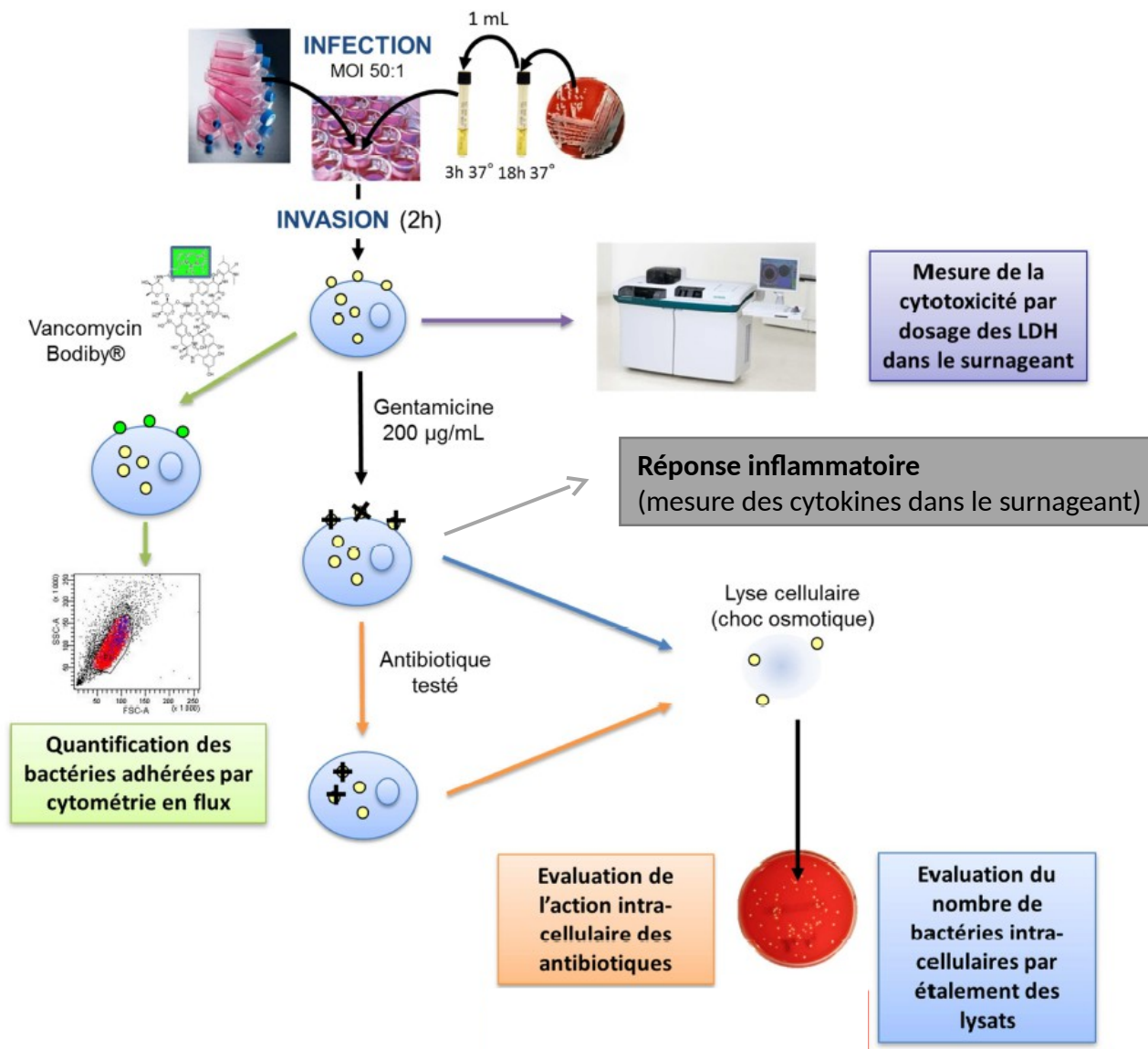
Modèle d'infection de monocytes – macrophages humains

S. Lemaire, PM Tulkens - Université Catholique de Louvain





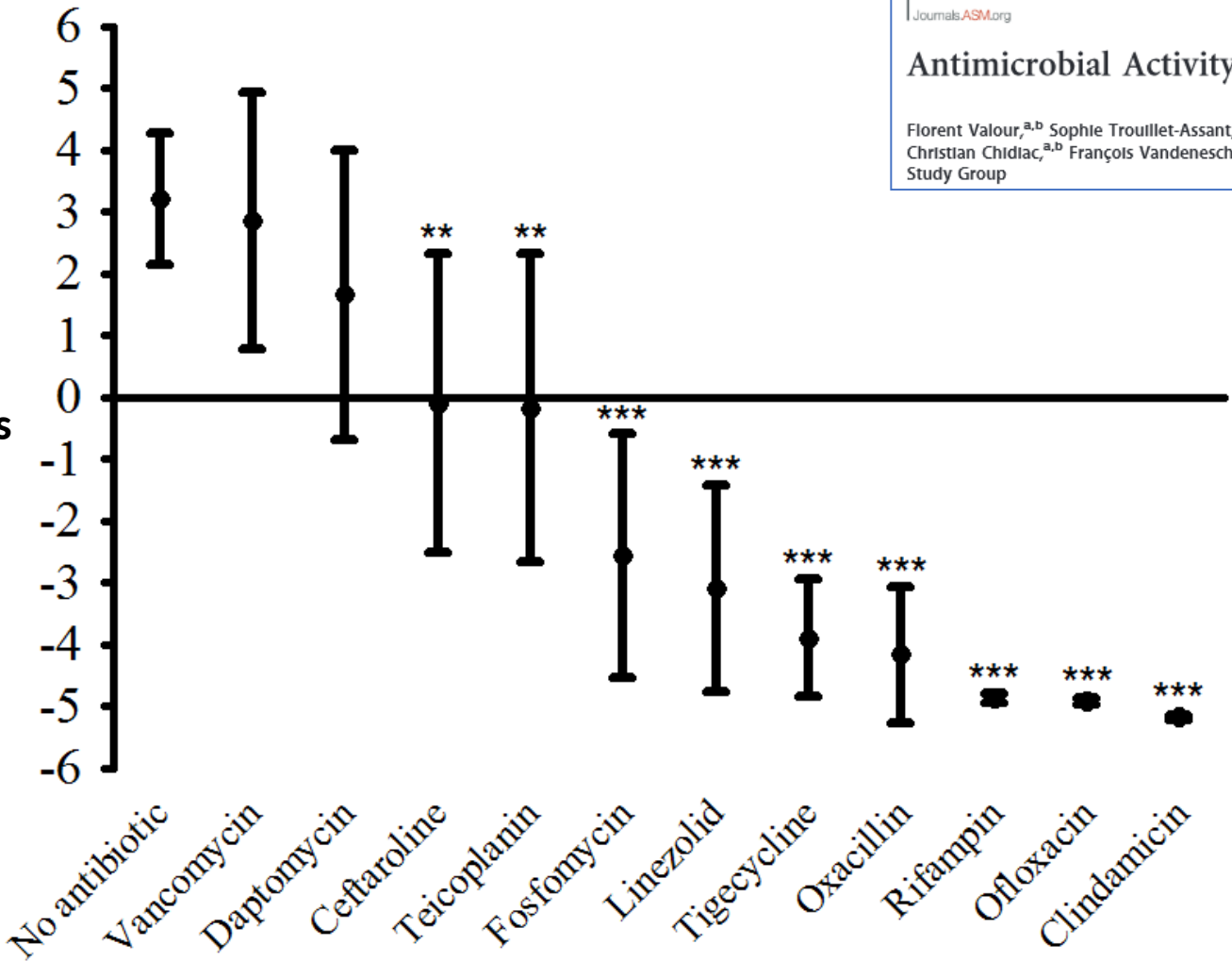
Applications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire





mplications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

$\Delta\log_{10}$ pour
100,000 cellules

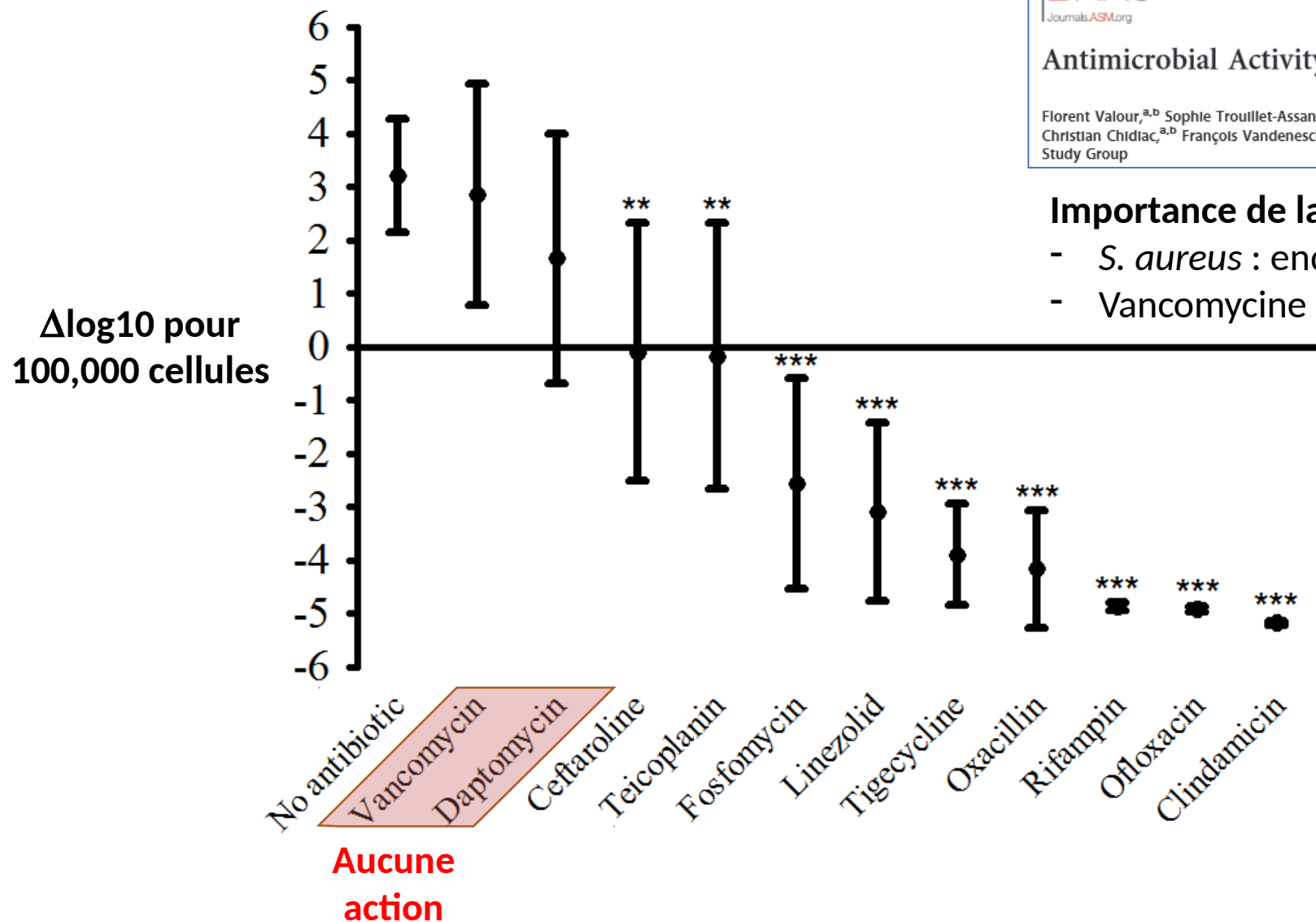


Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*

Florent Valour,^{a,b} Sophie Trouillet-Assant,^b Natacha Riffard,^b Jason Tasse,^b Sacha Flammier,^b Jean-Philippe Rastgade,^{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



mplications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire



Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*

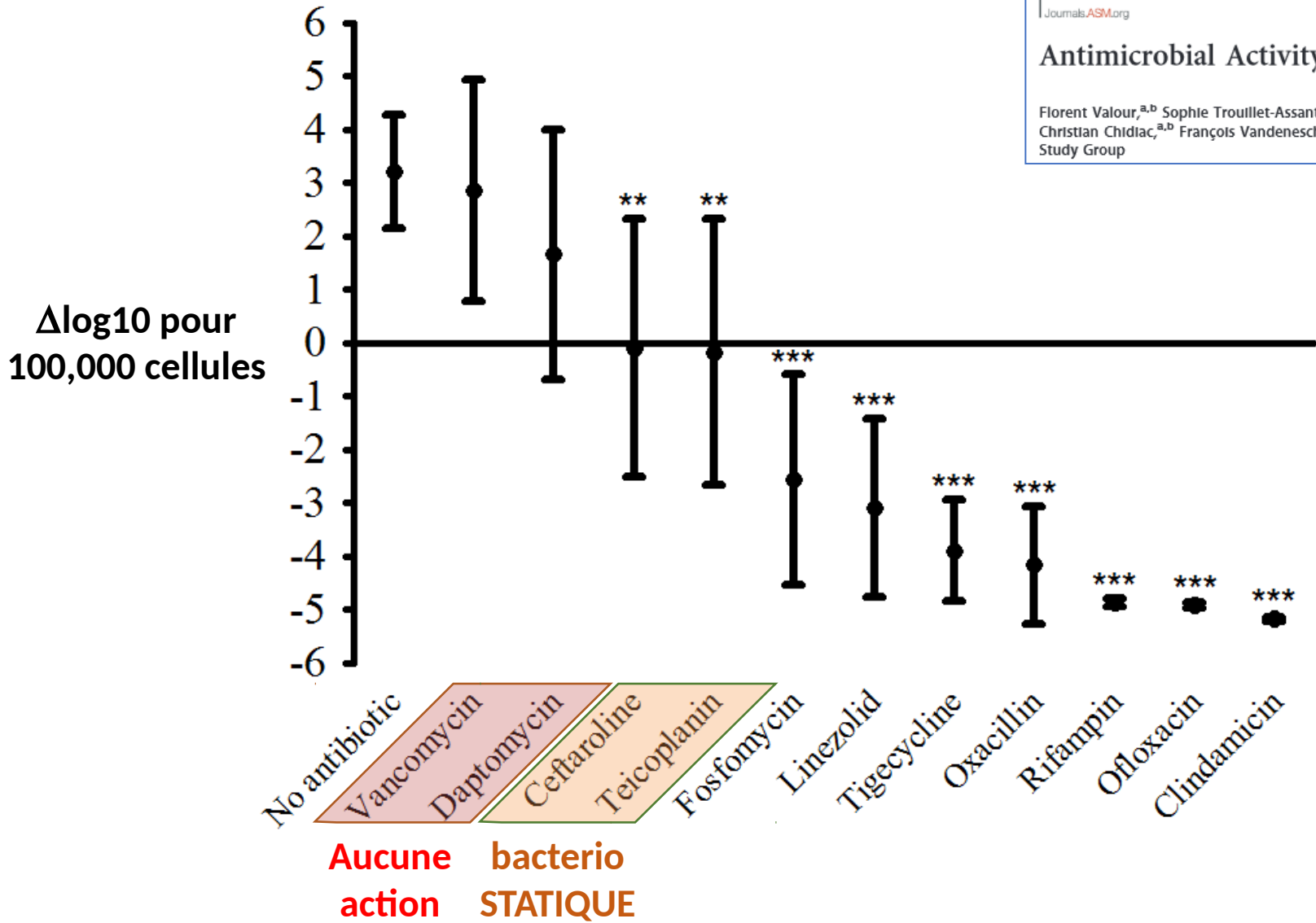
Florent Valour,^{a,b} Sophie Trouillet-Assant,^b Natacha Riffard,^b Jason Tasse,^b Sacha Flammier,^b Jean-Philippe Rastgade,^{b,c} Christian Chidiac,^{a,b} François Vandenesch,^{b,c,d} Tristan Ferry,^{a,b} Frédéric Laurent,^{b,c,d} on behalf of the Lyon Bone and Joint Infection Study Group

Importance de la localisation intra-cellulaire

- *S. aureus* : endolysosomal, cytoplasme (30%)
- Vancomycine : très lente diffusion lysosomale



mplications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

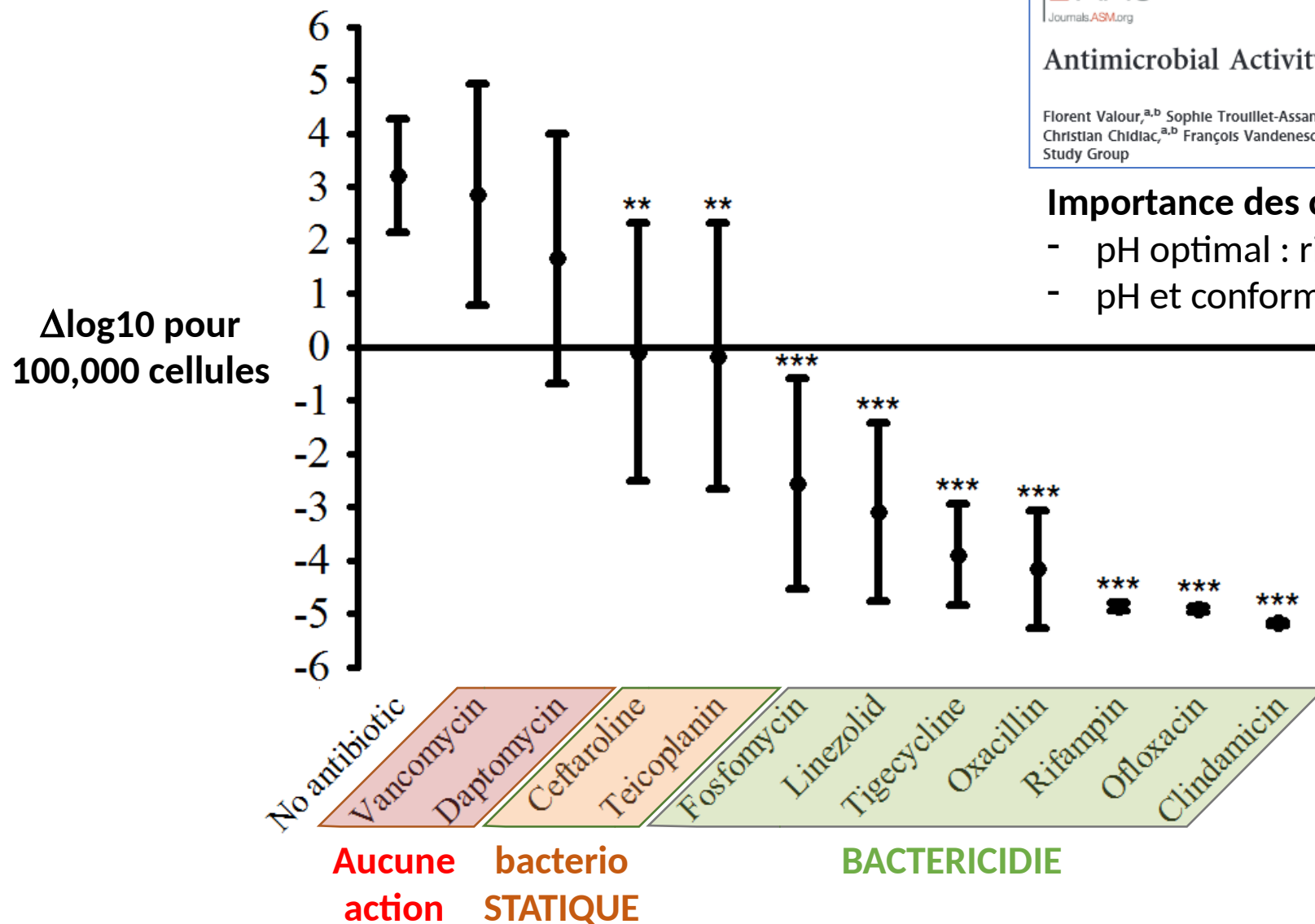


Antimicrobial Activity against Intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*

Florent Valour,^{a,b} Sophie Trouillet-Assant,^b Natacha Riffard,^b Jason Tasse,^b Sacha Flammier,^b Jean-Philippe Rastgade,^{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



mplications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire



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 Rastgade,^{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

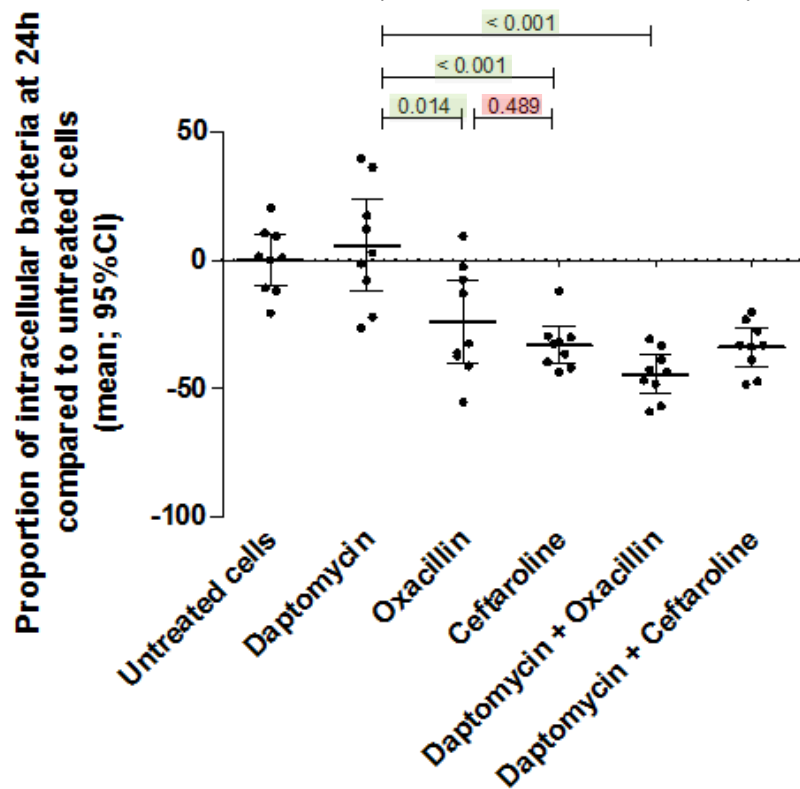
Importance des conditions physico-chimiques

- pH optimal : rifampicine
- pH et conformation PLP : oxacilline

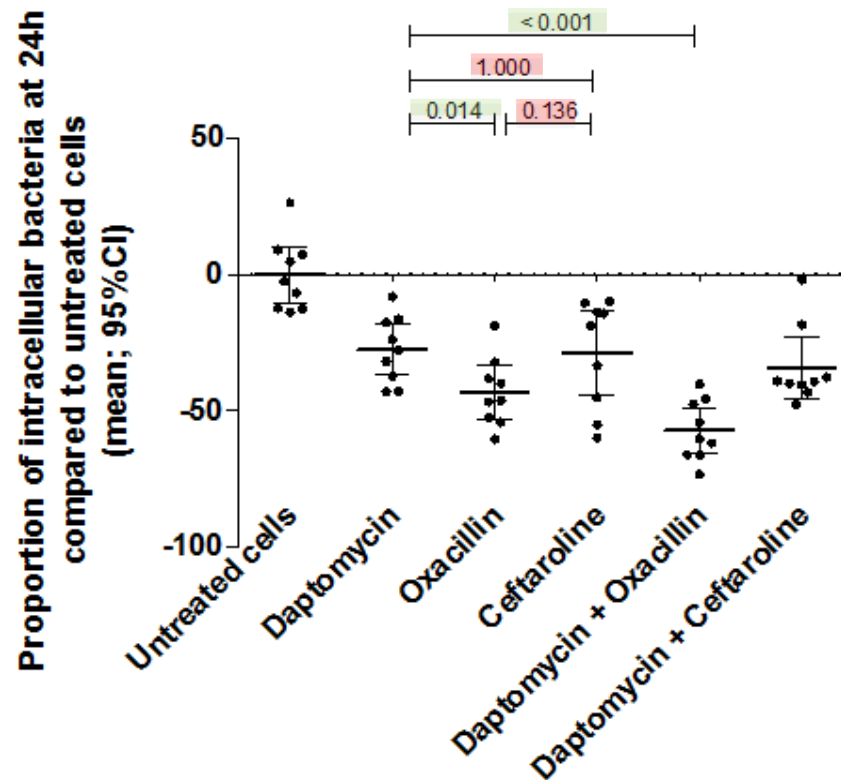


Applications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

MSSA



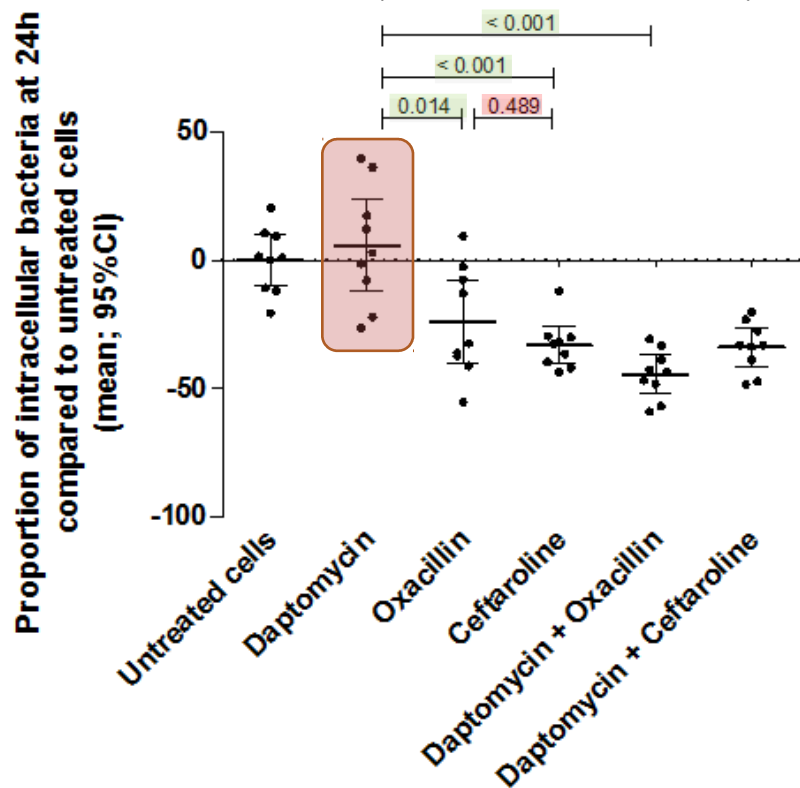
MRSA



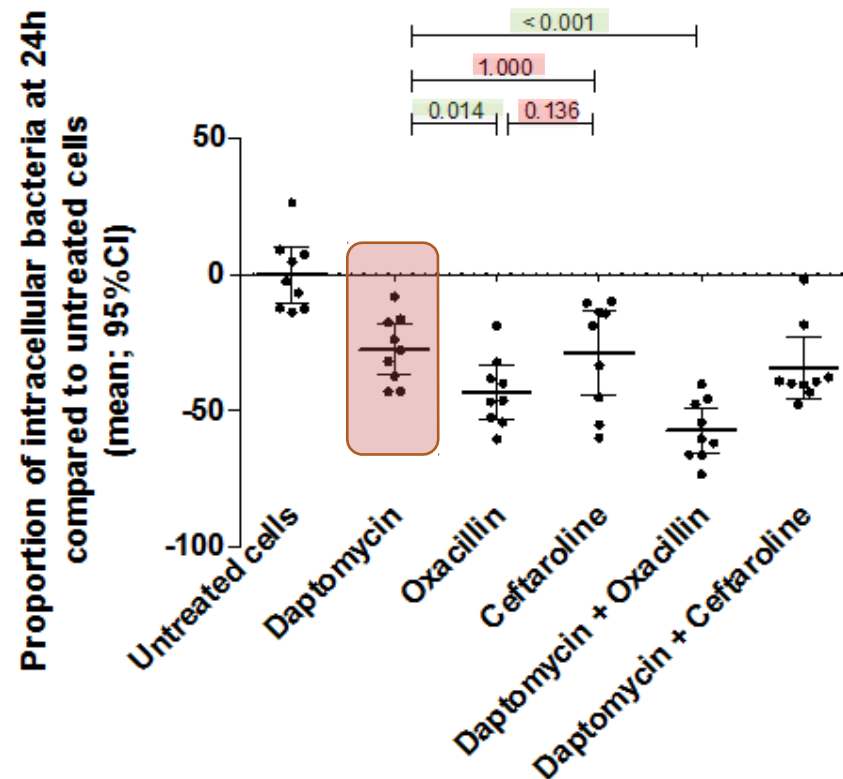


Applications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

MSSA



MRSA

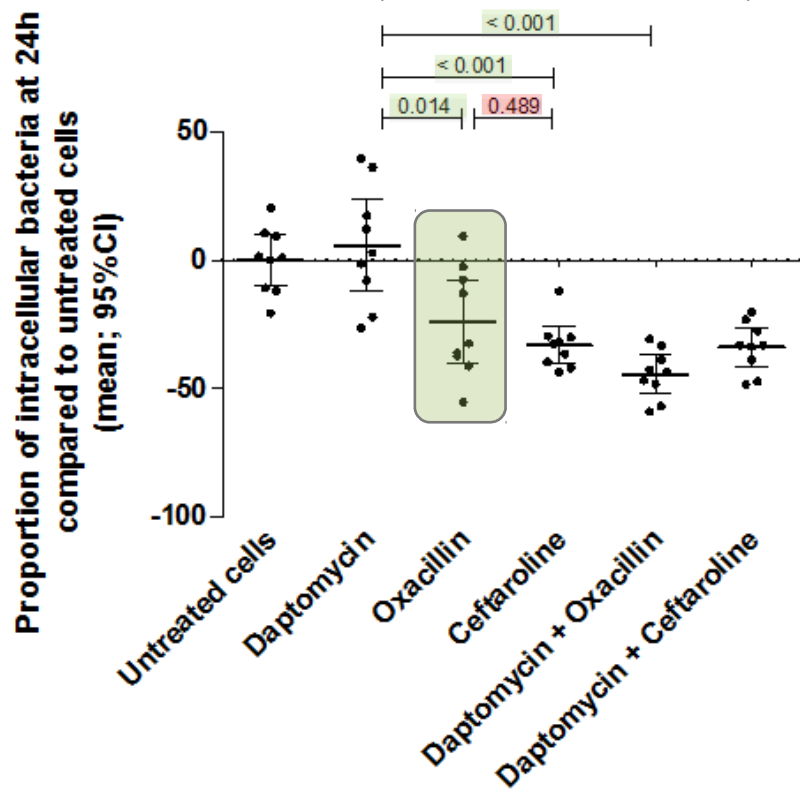


→ Confirmation of the weak intraosteoblastic activity of daptomycin against MSSA/MRSA

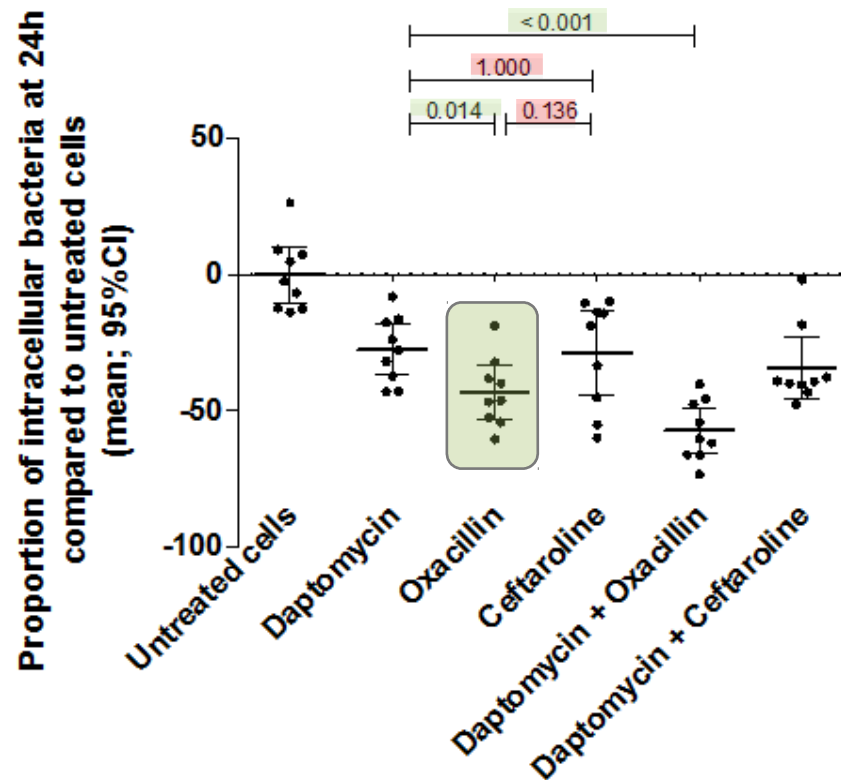


Applications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

MSSA



MRSA

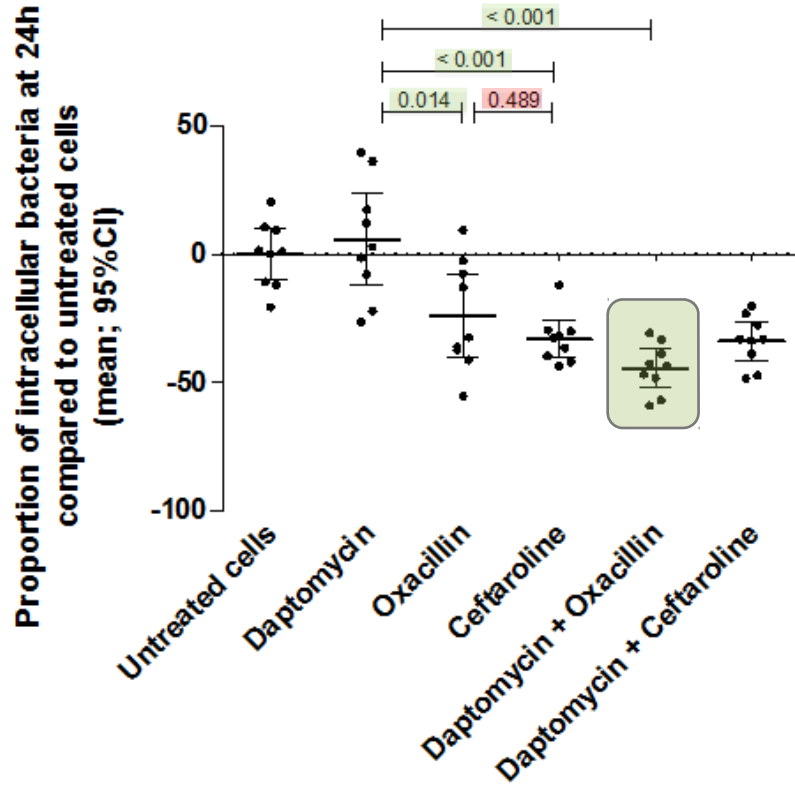


→ Acceptable efficacy of oxacillin against intracellular *S. aureus* INCLUDING MRSA

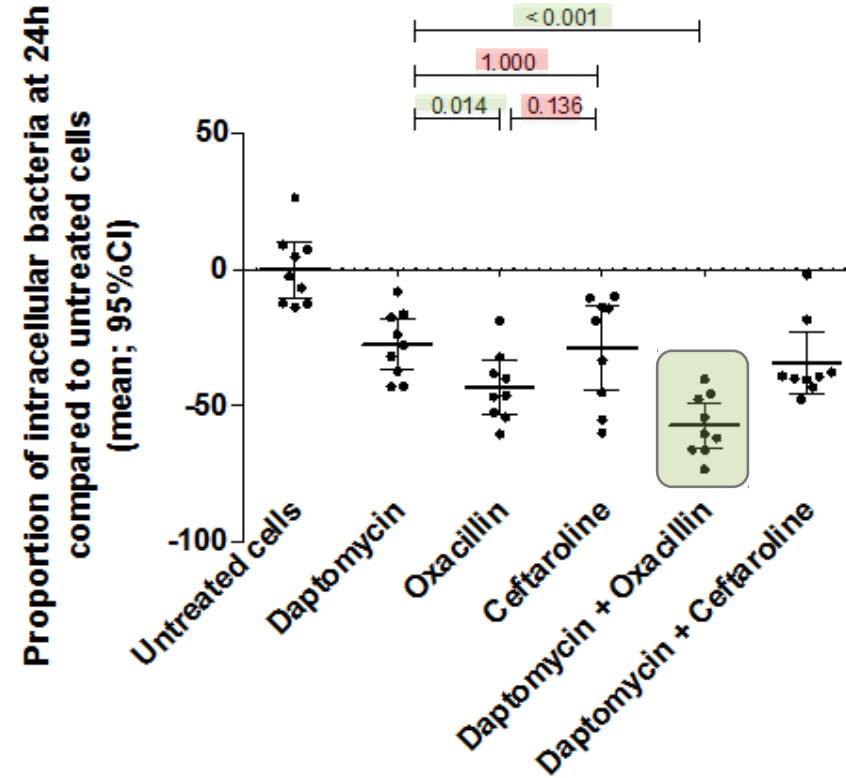


Applications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

MSSA



MRSA



→ Superiority of the daptomycin-oxacillin combination compared to each molecule alone not observed for the daptomycin-ceftarolin combination



Applications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

Importance du pH intracellulaire

CMI	pH7,5	pH5
Oxacilline	0,0625	0,0625
Céfazoline	0,125	0,0125
RF	0,0075	0,0009
RB	<0,0035	0,125
RP	0,007	<0,0035
Fosfomycine	0,25	2
Vancomycine	2	1
Daptomycine	1	4
Linezolide	4	4
Lévofoxacine	0,25	2
Ofloxacine	0,5	2
Téicoplanine	0,5	0,0625
Tigécycline	0,25	1
Cotrimoxazole	0,5	2
Clindamycine	8	>32
Doxycycline	0,125	0,0625
NH ₄ Cl	>100	>100
Hydroxychloroquine	>100	>100
Amantadine	>100	>100

- Perte d'efficacité à pH alcalin
- Gain d'efficacité à pH alcalin
- Aucun changement

Lysosomal alkalization to potentiate eradication of intraosteoblastic *Staphylococcus aureus* in the bone and joint infection setting

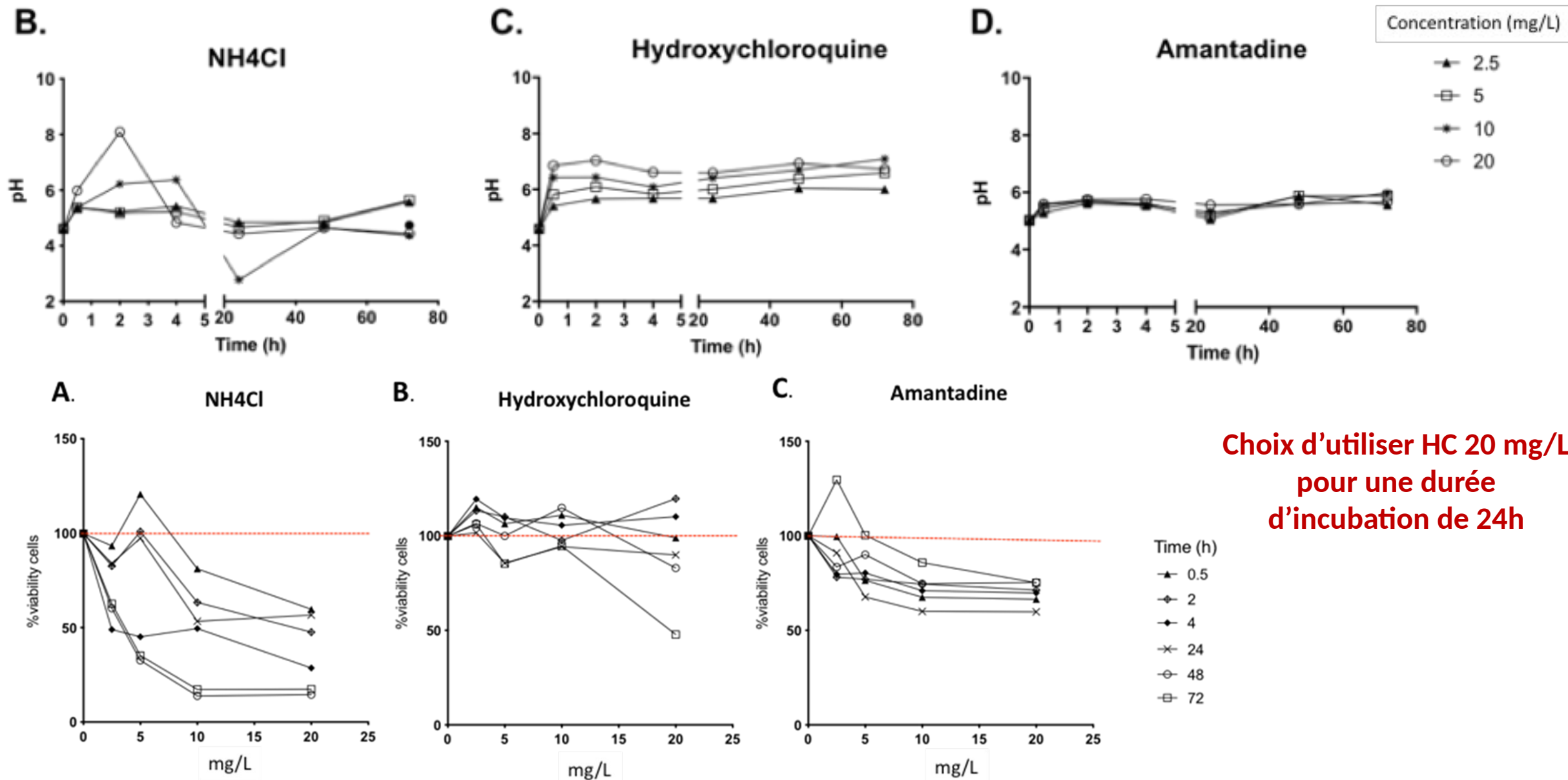
Lélia ABAD¹⁻³, Pierre CHAUVELOT^{4,5}, Camille ANDRE^{2,3}, Estelle AUDOUX⁶, Jérôme JOSSE^{1,2}, Céline DUPIEUX¹⁻⁴, Sébastien LUSTIG^{2,4,7}, Tristan FERRY^{1,2,4,5}, Paul VERHOEVEN⁶, Alan DIOT¹, Frédéric LAURENT^{1-4,8}, Florent VALOUR^{1,2,4,5**}

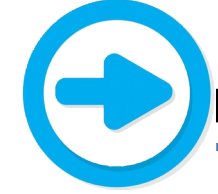
CMI **augmentée à pH 5** pour :

- Rifabutine
- Fosfomycine
- Daptomycine
- Lévofoxacine
- Ofloxacine
- Tigécycline
- Cotrimoxazole
- Clindamycine



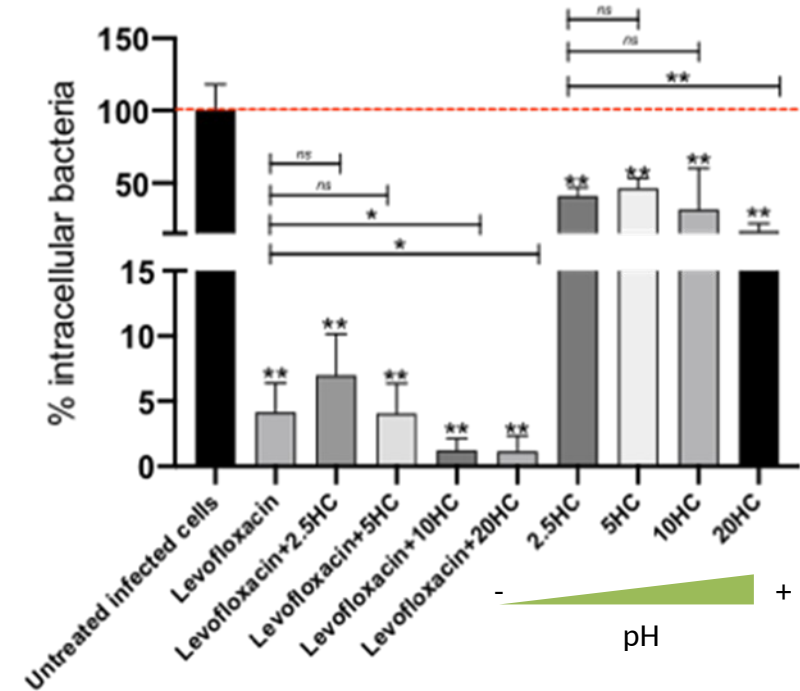
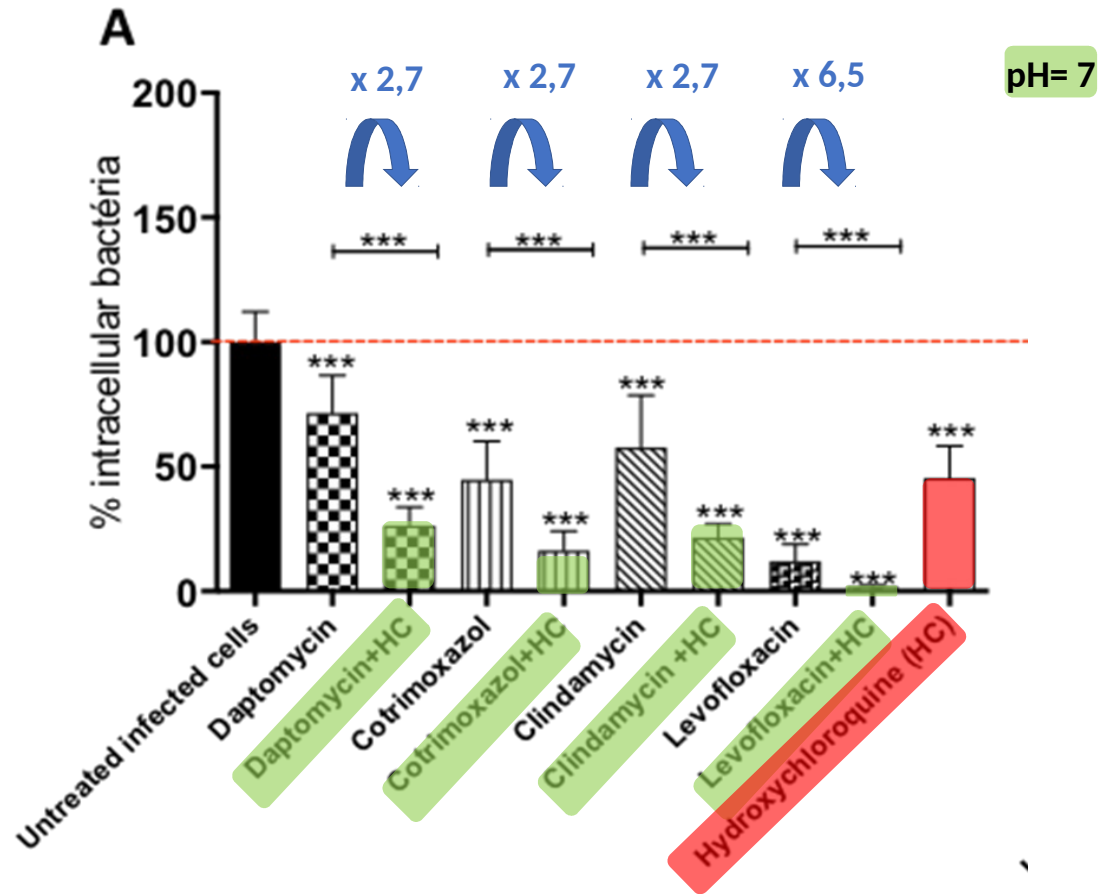
mplications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire





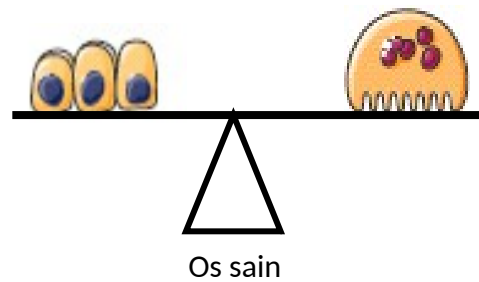
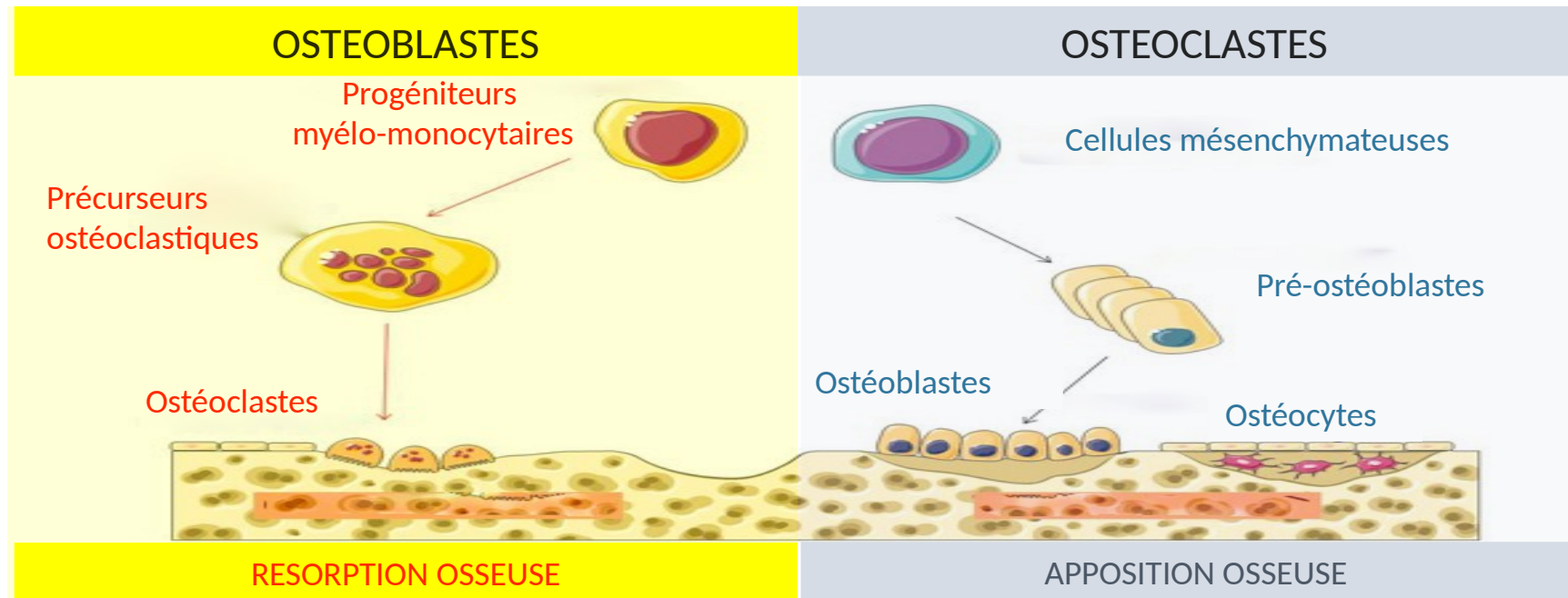
Applications thérapeutiques : cibler le réservoir intracellulaire

Trois souches poolées



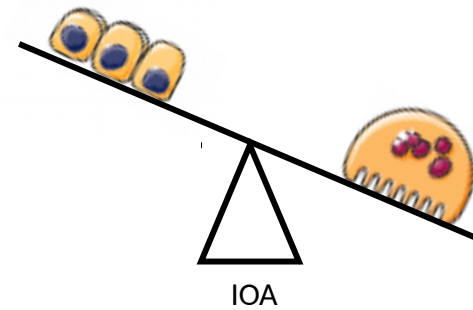
- A partir de 2,5 mg/L, HC augmente le flux autophagique
- A partir de 10 mg/L, HC alcalinise les lysosomes et donc restaure l'activité de certains ATB

Interactions avec les cellules osseuses : ostéoClastes



Os sain

Equilibre OB / OC



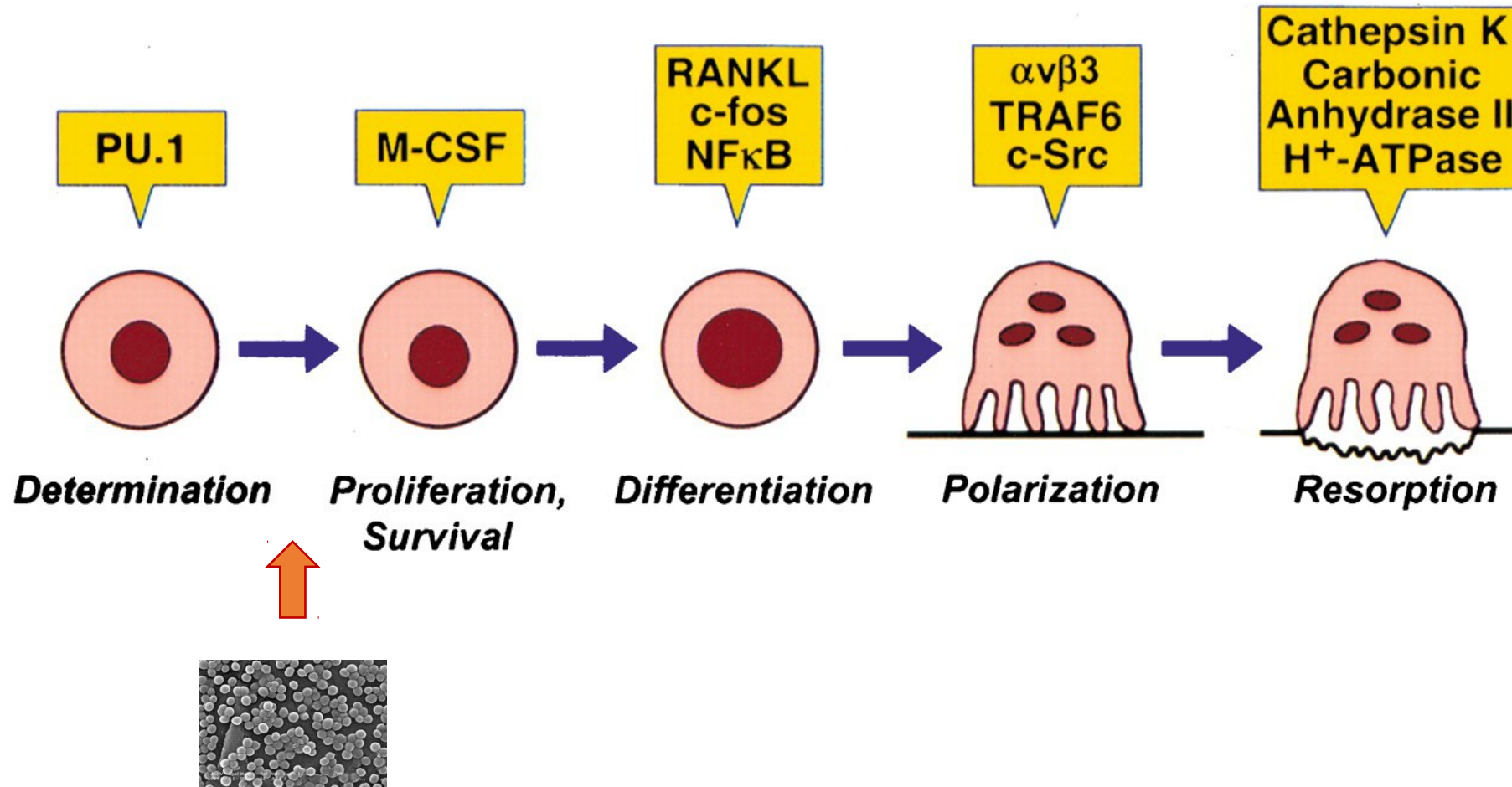
IOA

Ostéolyse progressive

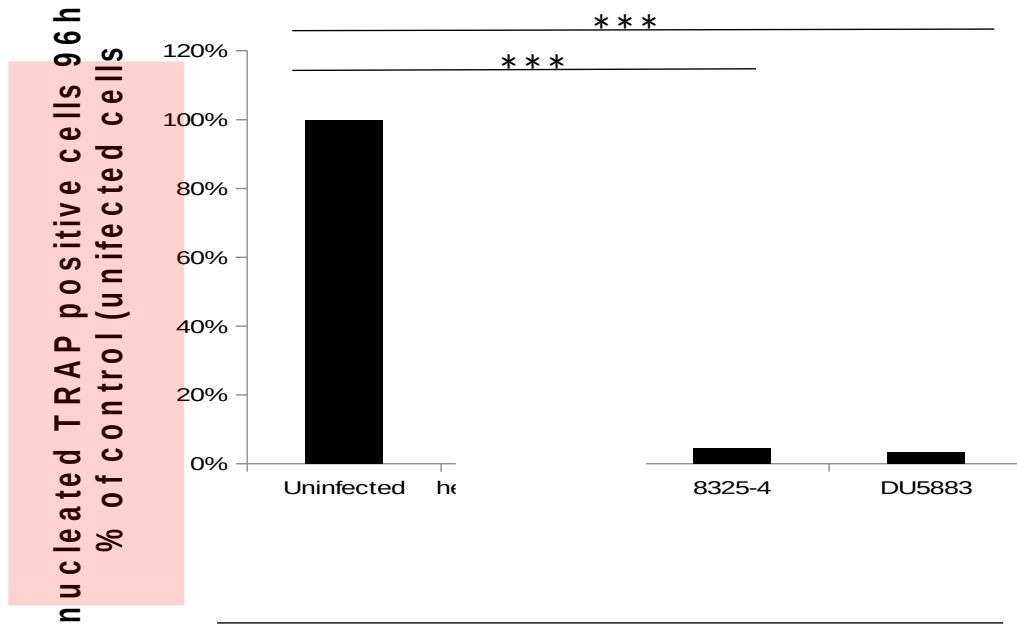
- Descellement prothétique
- Séquestres



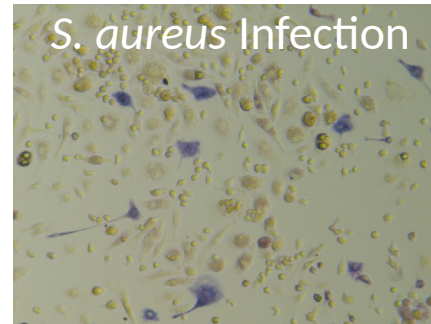
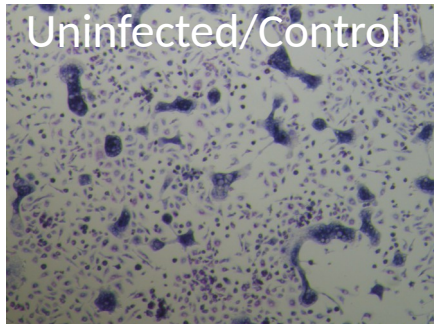
Interactions avec les cellules osseuses : ostéoClastes



Interactions avec les cellules osseuses : ostéoClastes

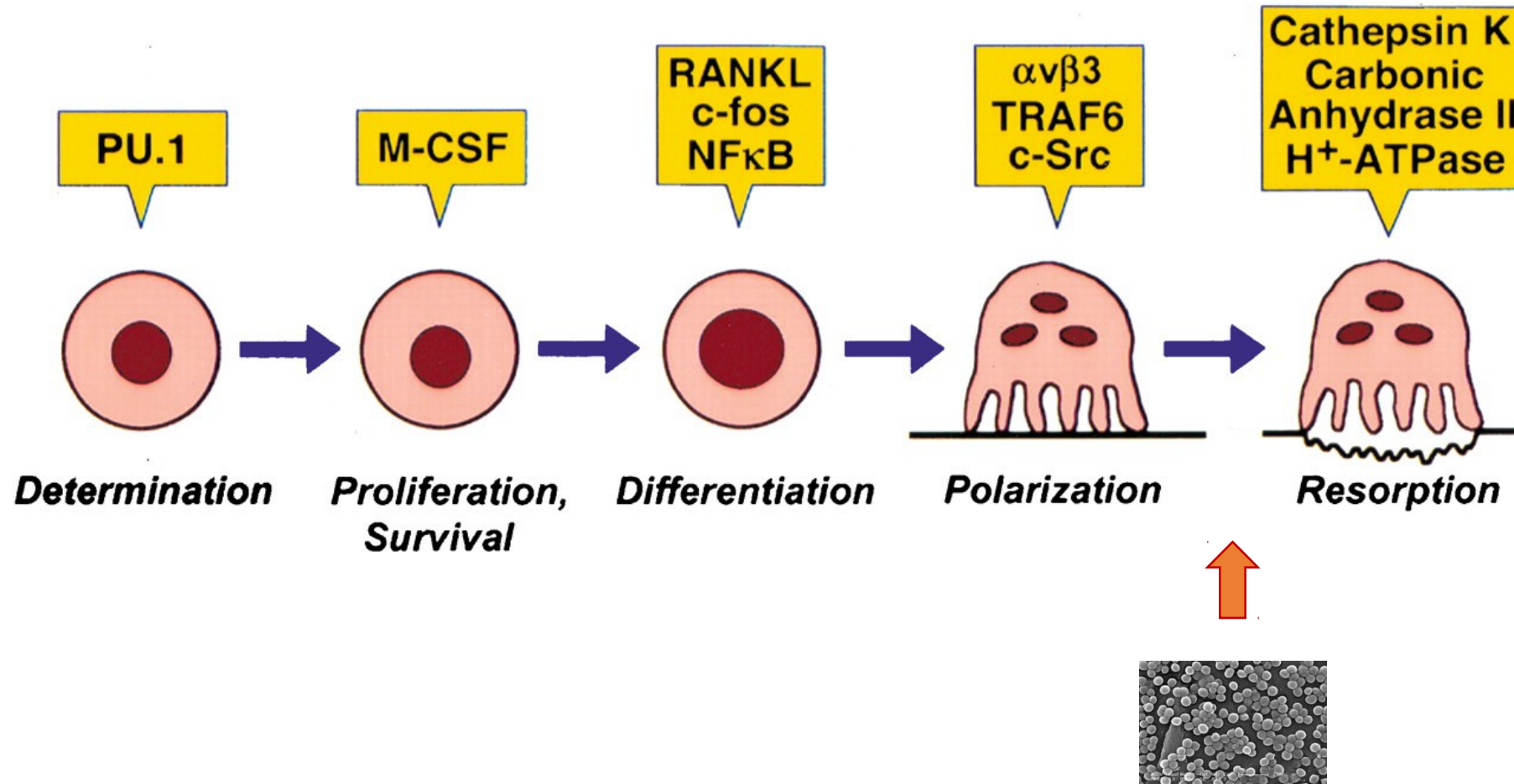


Infection par *S. aureus*
Inhibition de
l'ostéoclastogenèse

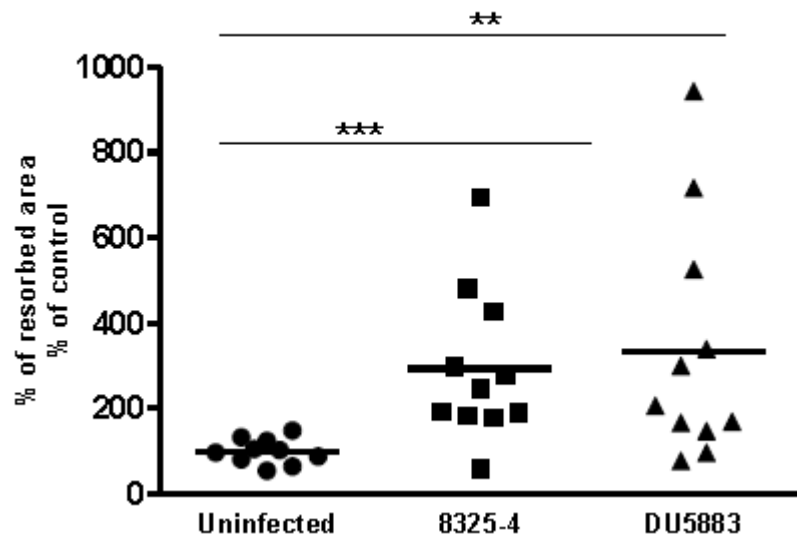
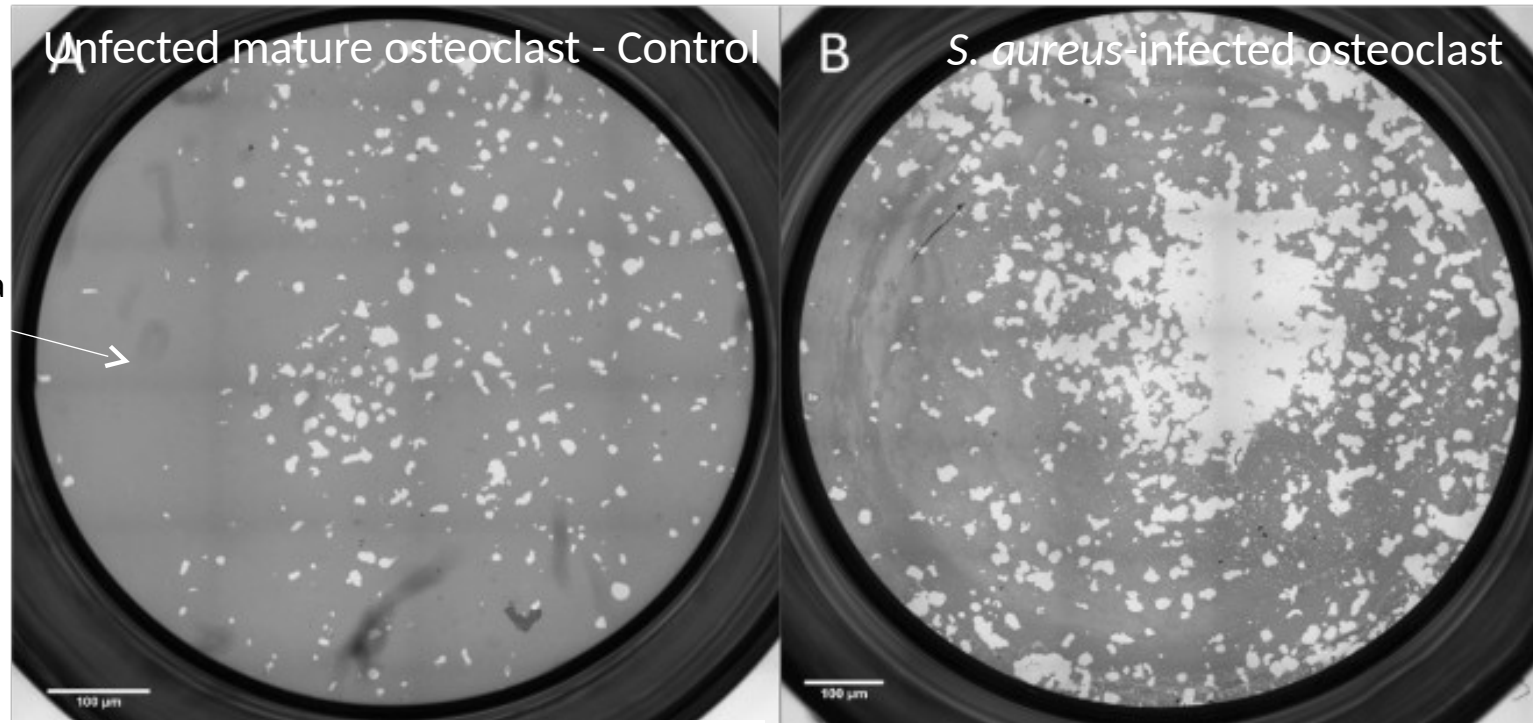


- Typage cytométrique = **macrophages**
- **Relargage de cytokines pro-inflammatoires**
- Surnageant = **boost de la résorption osseuse**
par des ostéoclastes non infectés

Interactions avec les cellules osseuses : ostéoClastes

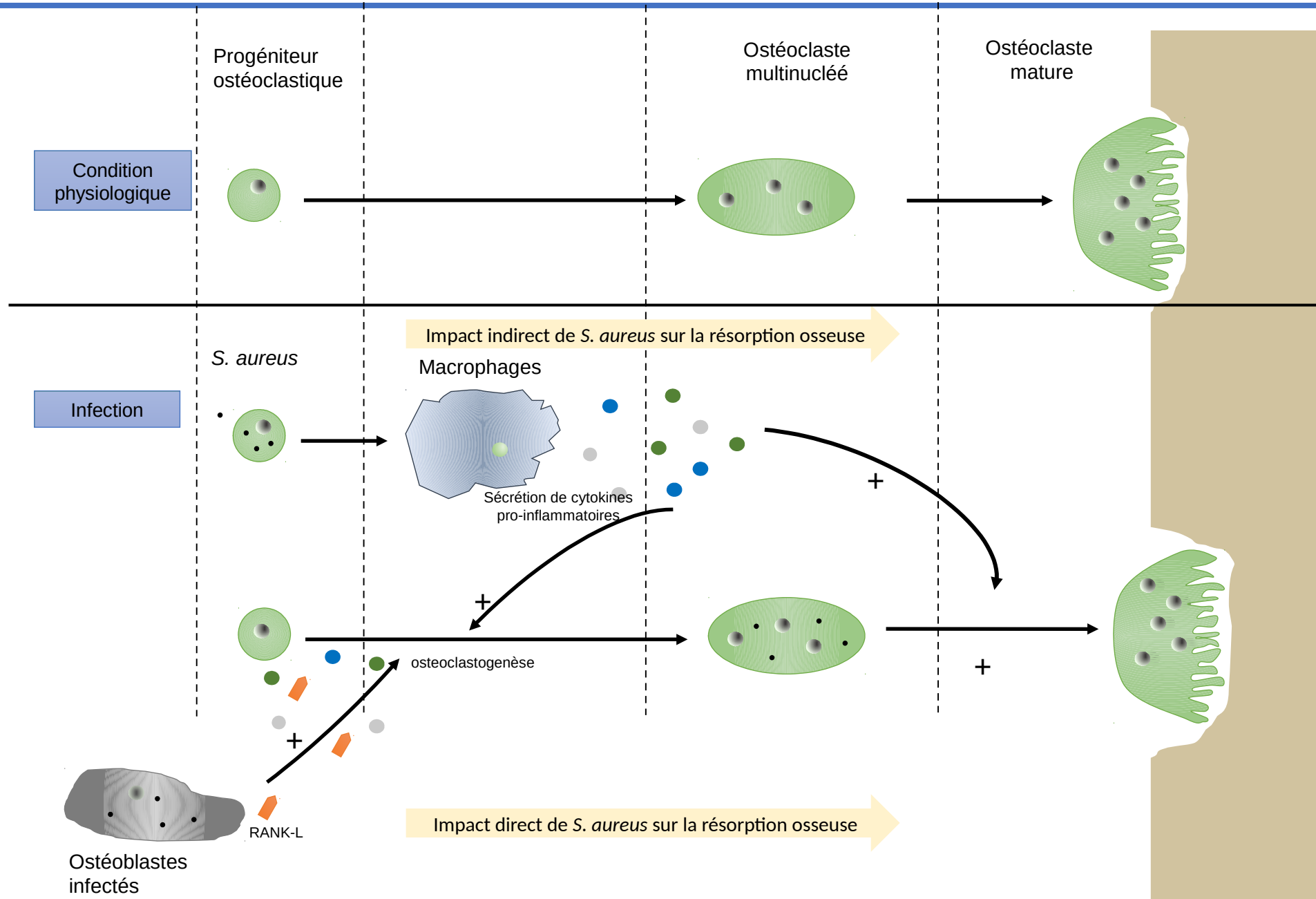


Interactions avec les cellules osseuses : ostéoClastes



Infection par *S. aureus*
Augmentation de la résorption
osseuse par les OC matures

Interactions avec les cellules osseuses : ostéoClastes

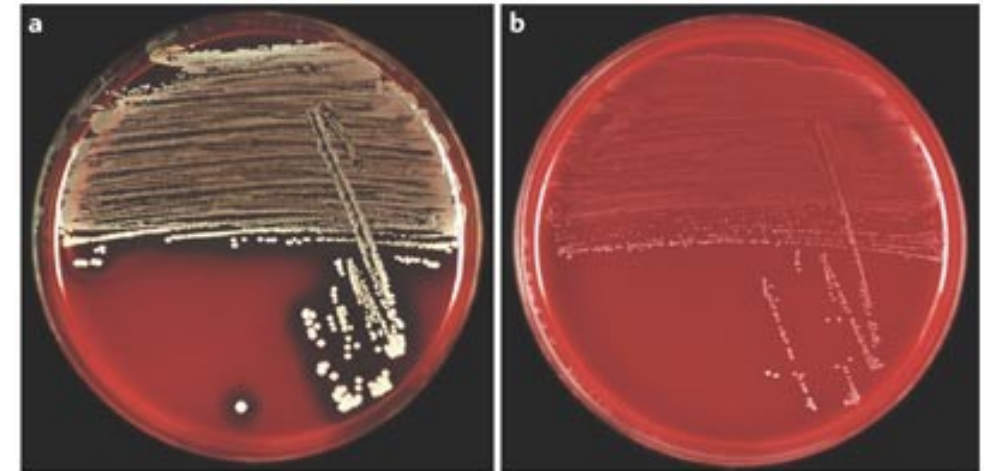
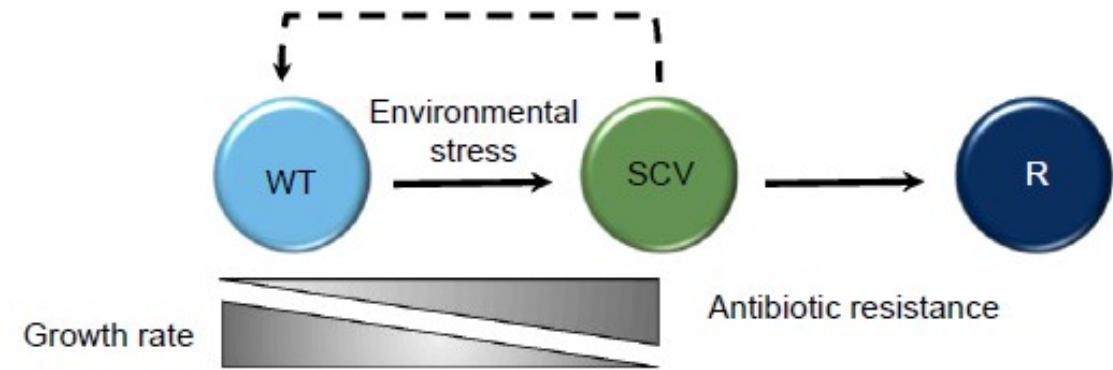


Small colonic variants (SCVs)

Modifications phénotypiques réversibles

Adaptation à un environnement hostile : os, biofilm, intracellulaire

- Croissance lente (temps de doublement x 10)
- Petites colonies atypiques
- Résistance accrue aux antibiotiques
- Adhérence +++
- Survie intracellulaire +++
- Révertant

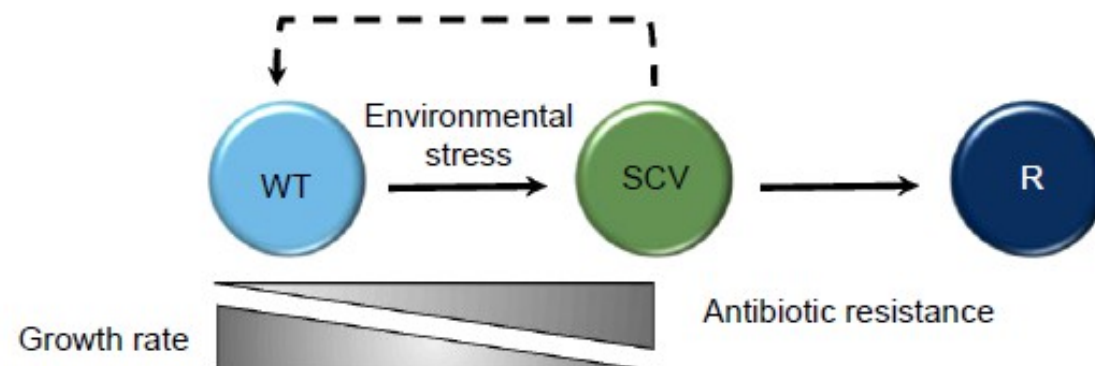


Small colony variants (SCVs)

Modifications phénotypiques réversibles

Adaptation à un environnement hostile : os, biofilm, intracellulaire

- Croissance lente (temps de doublement x 10)
- Petites colonies atypiques
- Résistance accrue aux antibiotiques
- Adhérence +++
- Survie intracellulaire +++
- Révertant



Staphylococcus aureus Small Colony Variants in Prosthetic Joint Infection

Parham Sendi,¹ Markus Rohrbach,² Peter Graber,¹ René Frei,³ Peter E. Ochsenr,² and Werner Zimmerli¹

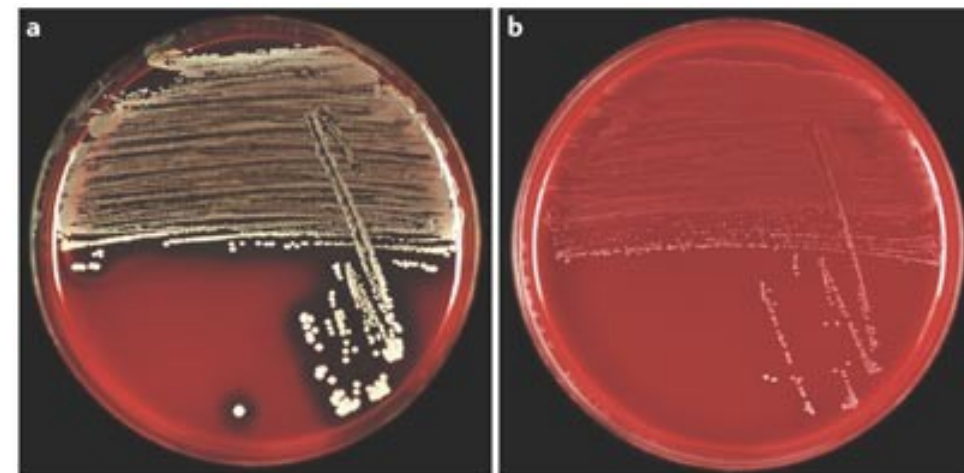
¹Unit of Infectious Diseases, Basel University Medical Clinic Liestal and ²Clinic of Orthopedic Surgery, Kantonsspital, Liestal, and ³Microbiology Laboratory, University Hospital Basel, Basel, Switzerland

Sendi et al. *Clin Infect Dis.* 2006

Décrits dans de nombreuses situations cliniques
(IOA, infections / matériel, mucoviscidose ...)

... et chez de nombreuses espèces

(staphylocoques, *Pseudomonas*, *E. coli*, *P. acnes* ...)



Small colonic variants (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*}

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. Kiehnopf⁵, E. Medina⁶, M. Kribus⁷, M. Raschke², M. Pletz⁸, G. Peters⁴ and B. Löffler^{1,9}

Modèle cellulaire

Données *in vitro*

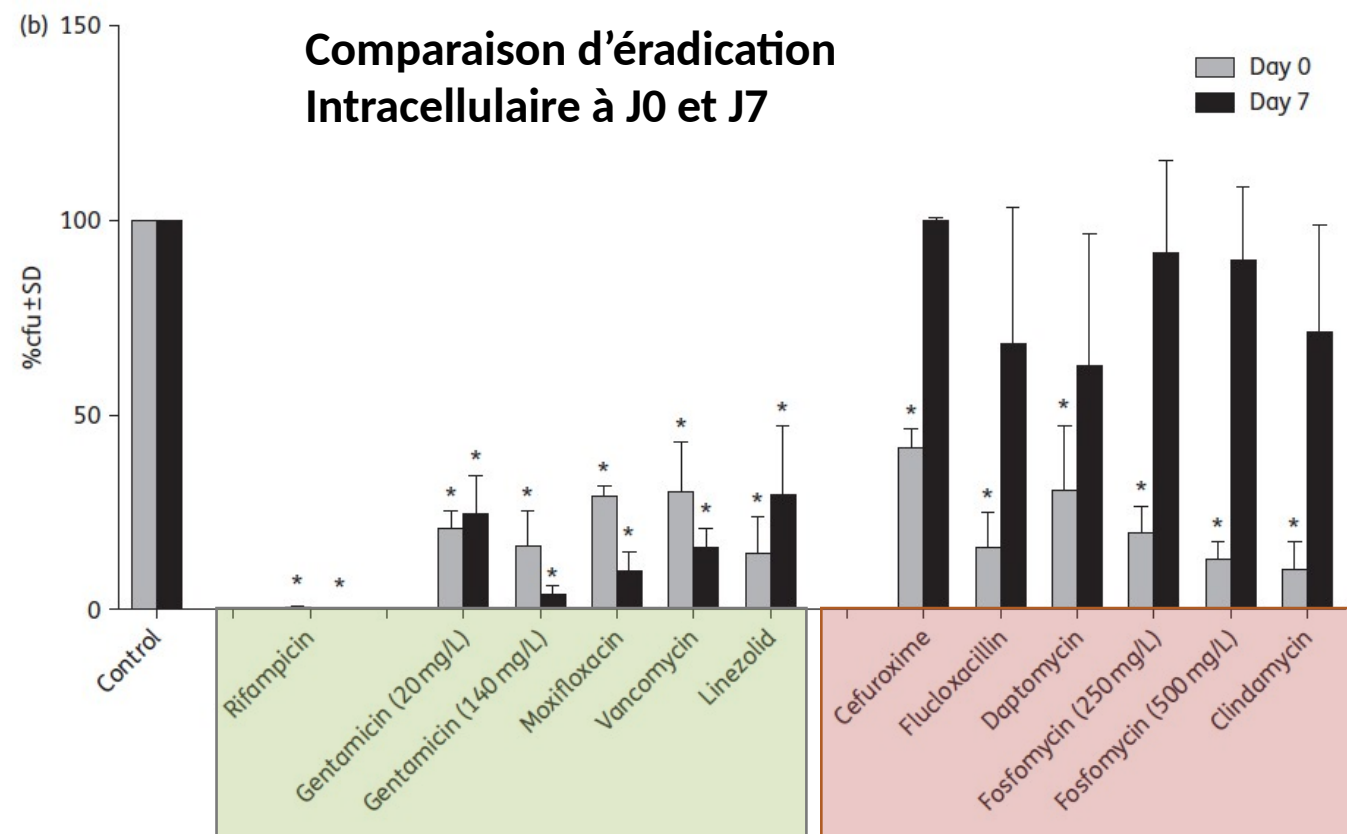
Limites - caractère révertant
- CMI développées pour bactéries à
croissance rapide

Réduction d'activité

- aminoside +++
- cotrimoxazole +++
- ATB actifs sur la paroi : BL, GP, DAP

Données *in vivo* : conflictuelles +++

Très peu de données cliniques



Small colonic variants (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 *in vivo* : conflictuelles +++

Très peu de données cliniques

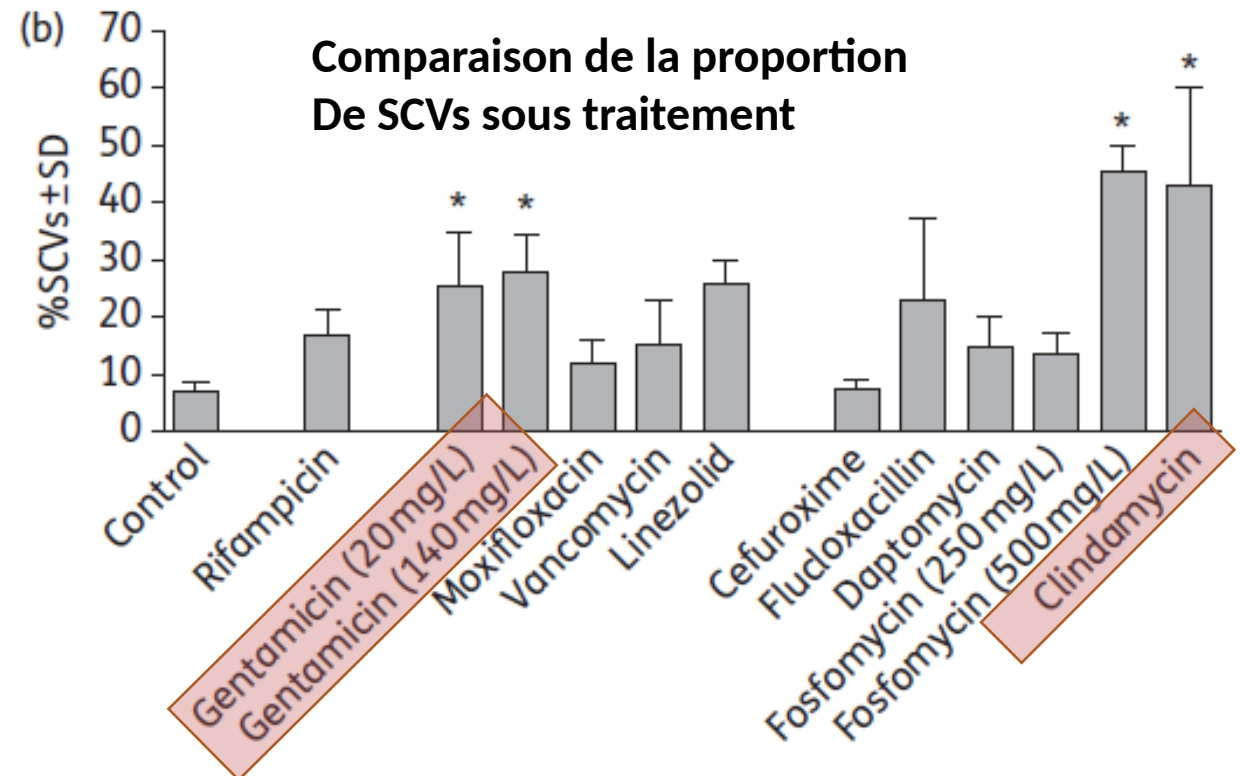
J Antimicrob Chemother 2016; **71**: 438–448
doi:10.1093/jac/dkv371 Advance Access publication 20 November 2015

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



Small colonic variants (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*}

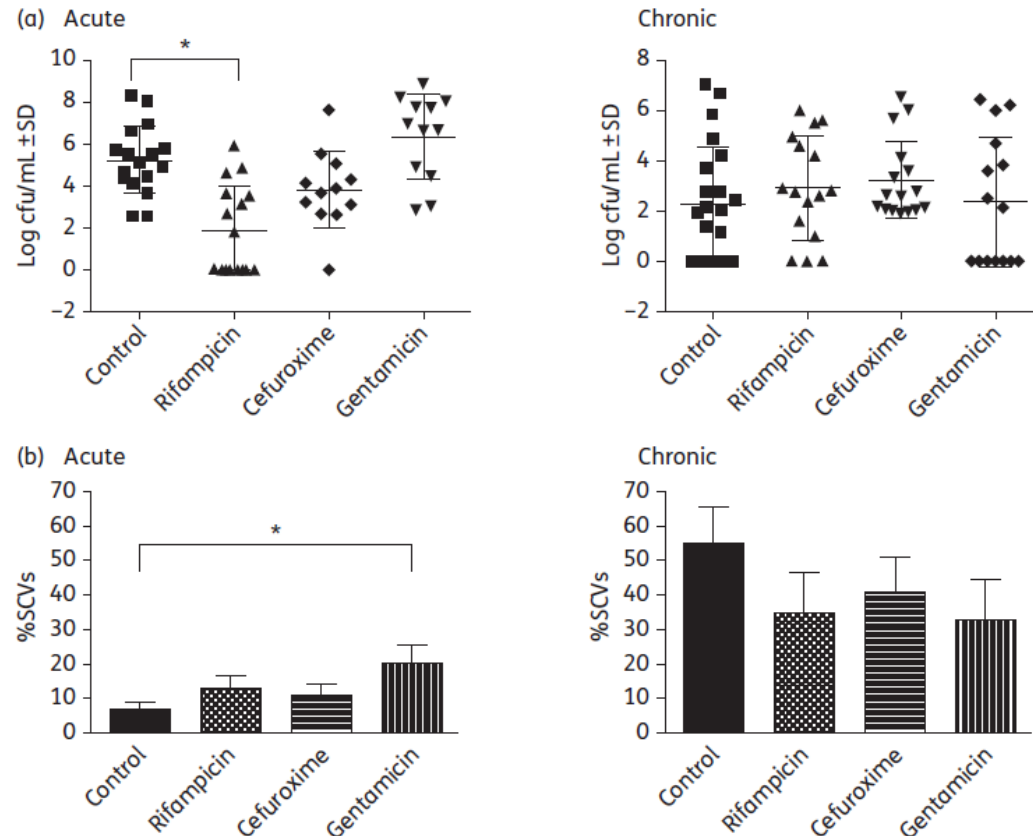
J Antimicrob Chemother 2016; **71**: 438–448
doi:10.1093/jac/dkv371 Advance Access publication 20 November 2015

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. Kiehnopf⁵, E. Medina⁶, M. Kribus⁷, M. Raschke², M. Pletz⁸, G. Peters⁴ and B. Löffler^{1,9}

Modèle animal : ostéomyélite tibiale hémotogène



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 *in vivo* : conflictuelles +++

Très peu de données cliniques

Small colonie variants (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 ^a	8 (44.4)	16 (39.0)	0.78
Aminoglycoside in cement ^a	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)	
SF neutrophil %, median (range)	28,574 (8,175–155,000)	44,275 (629–1,071,472)	0.13
	88 (79–98)	91 (51–100)	0.84

Small colonie variants (SCVs)

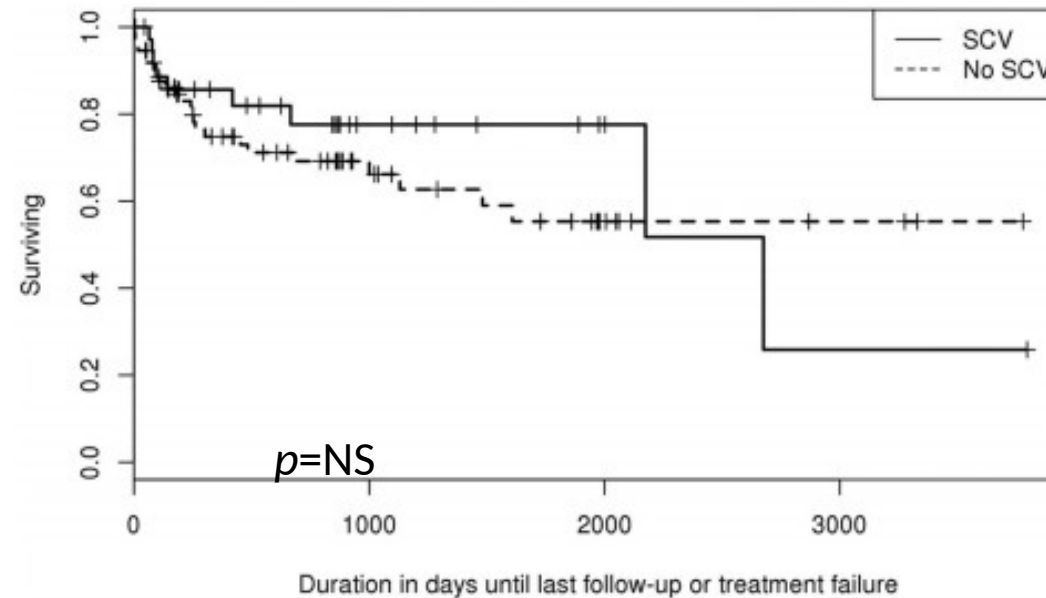
Clinical Characteristics and Outcomes of Prosthetic Joint Infection Caused by Small Colony Variant Staphylococci

Aaron J. Tande,^{a,b} Douglas R. Osmon,^a Kerry 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



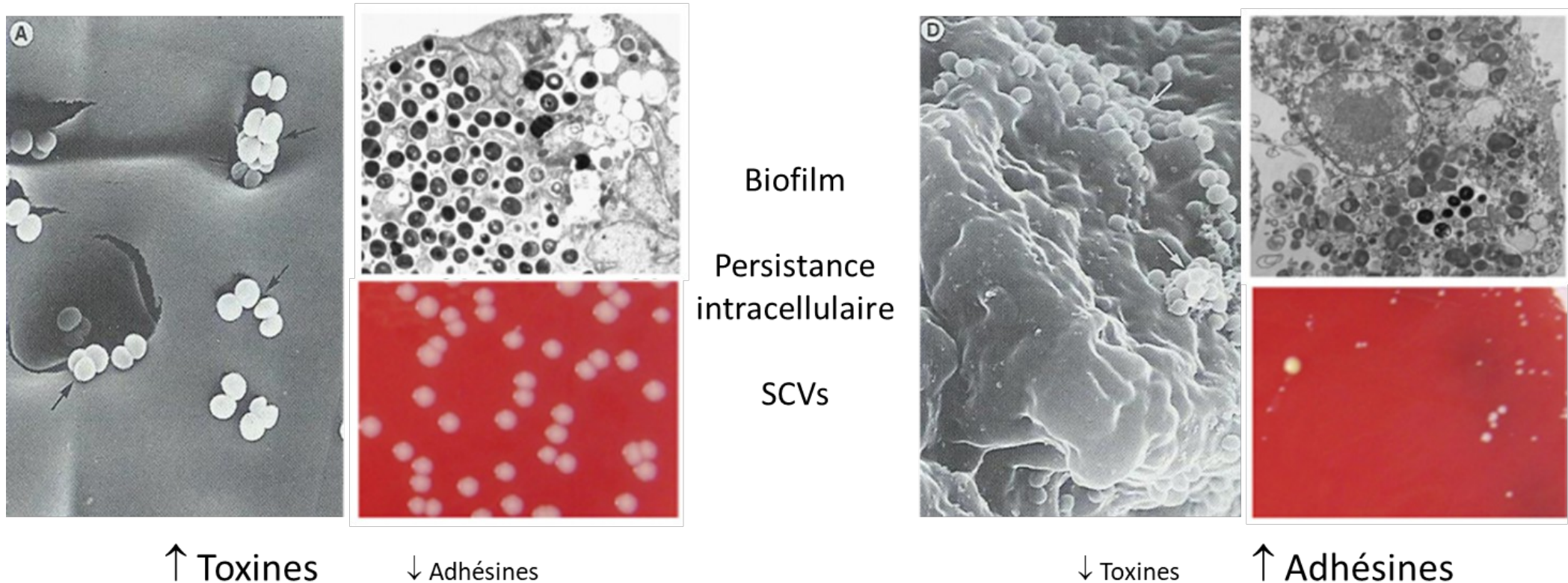
Treatment failure predictive factor = *S. aureus* (HR, 4.03; 95%CI, 1.80-9.04)

SCVs associés à la chronicité sans impact sur le pronostic

Adaptation bactérienne

IOA aiguë

IOA chronique



Agression tissulaire

Réponse immunitaire / inflammatoire

- Destruction cellulaire
- Invasion et destruction tissulaire

↓ Inflammation, dommages tissulaires

- Échappement au système immunitaire
- « Tolérance » aux antibiotiques



DEBRIDEMENT, ABLATION MATERIEL
CHOIX DES ANTIBIOTIQUES : rmp, fq, dap
THERAPEUTIQUES CIBLEES ?

DR. JEKYLL and MR. HYDE

