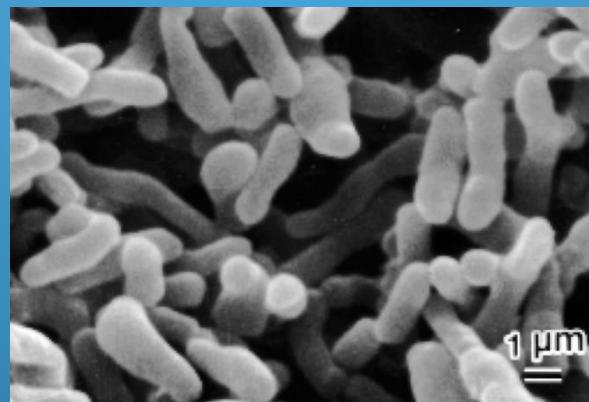


# *Physiopathologie des infections à Cutibacterium acnes*



Pr Stéphane CORVEC  
Faculté de Médecine - Université de Nantes  
INSERM U 1302 Equipe 2  
Service de Bactériologie - CHU de Nantes

# Les objectifs pédagogiques

- ✓ Connaître le contexte des infections à *C. acnes*
- ✓ Connaître les interactions entre *C. acnes* et cellules hôtes
- ✓ Connaître le rôle du biofilm de *C. acnes*
- ✓ Connaître l'impact de la formation de granulome

# Plan

- 1- Contexte des infections à *C. acnes* (sur matériel)**
- 2- Rappels sur *Cutibacterium acnes***
- 3- Organisation du génome**
- 4- Facteurs de virulence**
- 5- Interactions de *C. acnes* avec les cellules hôtes**
- 6- Impact du phylotype de *C. acnes* et biofilm**
- 7- Persistance de *C. acnes* et granulome**
- 8- Ce qu'il faut retenir**

# Plan

**1- Contexte des infections à *C. acnes* (sur matériel)**

**2- Rappels sur *Cutibacterium acnes***

**3- Organisation du génome**

**4- Facteurs de virulence**

**5- Interactions de *C. acnes* avec les cellules hôtes**

**6- Impact du phylotype de *C. acnes* et biofilm**

**7- Persistance de *C. acnes* et granulome**

**8- Ce qu'il faut retenir**

# Les infections à *C. acnes*

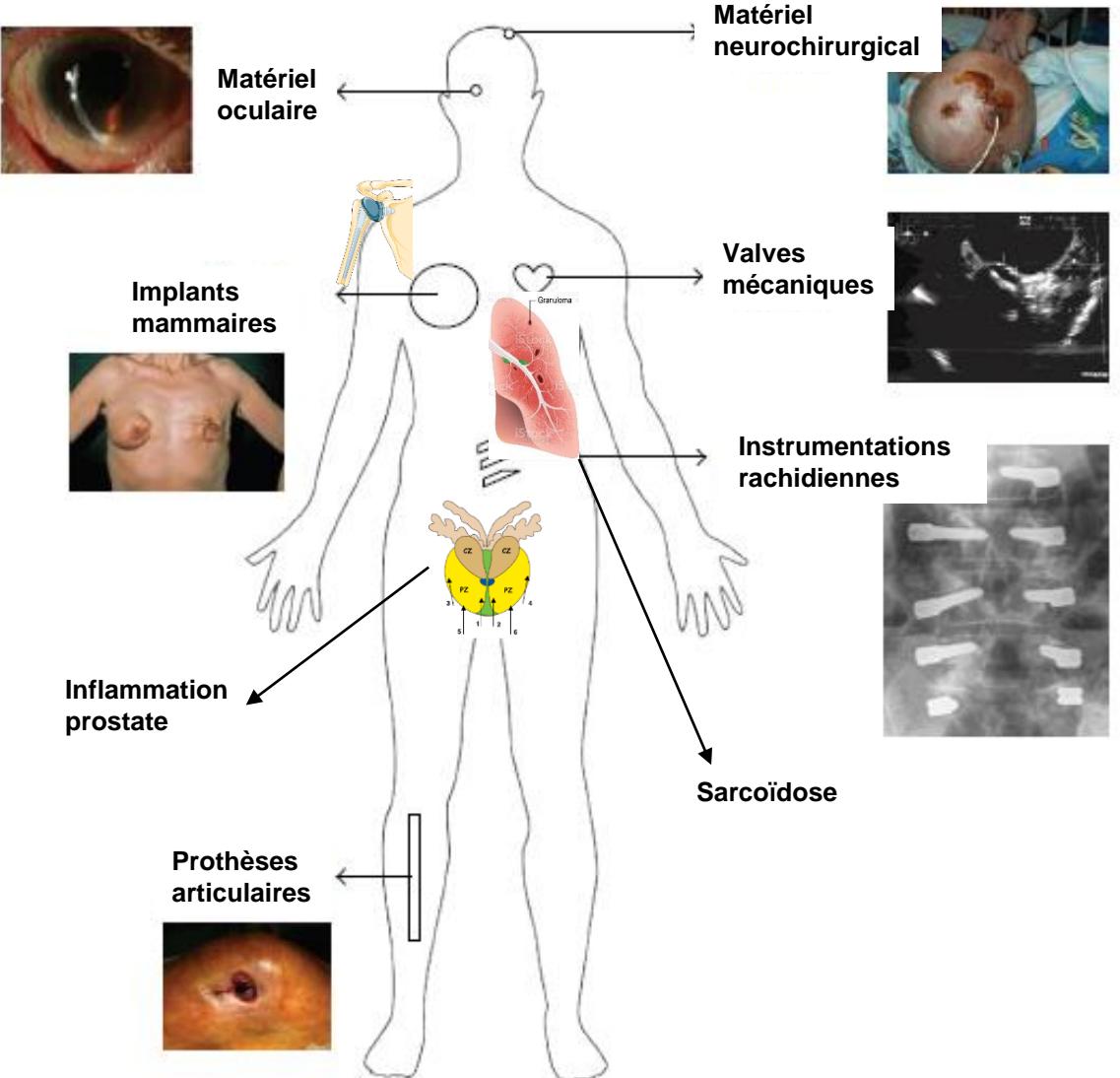


FIGURE 1: Diversity of implant-associated infections caused by *P. acnes*.

**10 % infections ostéo-articulaires**

Descellement aseptique

- Culture longue et délicate
- Chronicité

**<100 cas d'endocardites**

**54 % liquide sonication implants mammaires**

- Contamination ?

**15 % dispositifs neurochirurgicaux**



**BIOFILM**

# Ex : infection sur matériel articulaire

## Infection prothèse d'Epaule :

- ✓ Une vraie spécificité d'articulation 3 à 7,5 %
- ✓ Un mode de contamination particulier

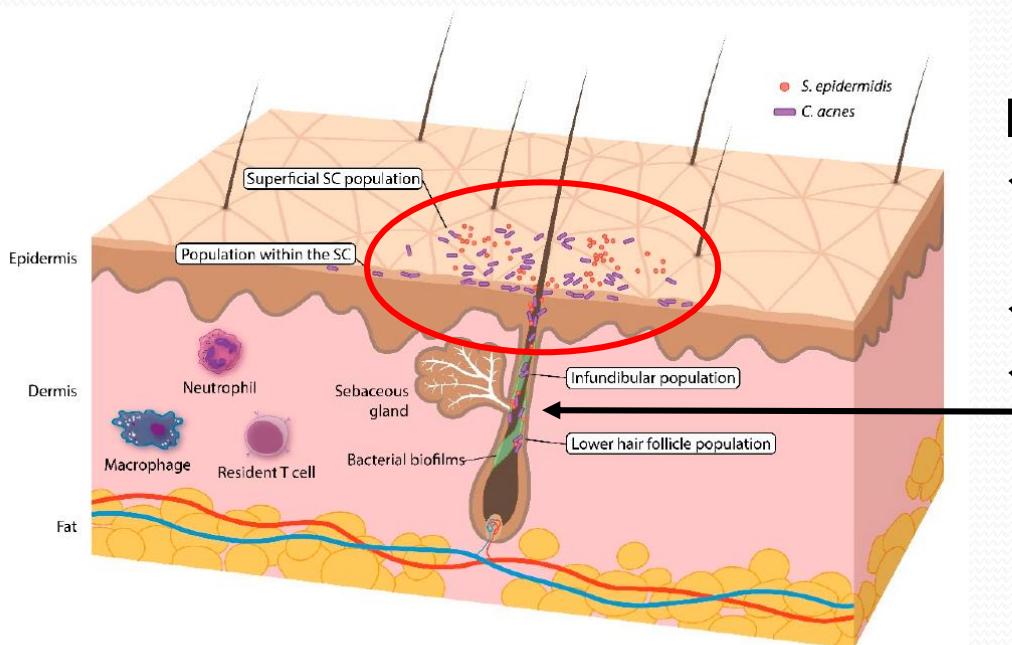
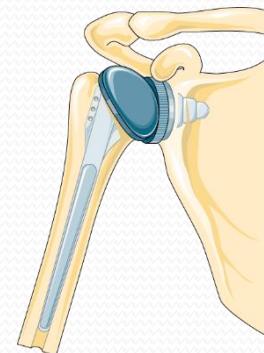
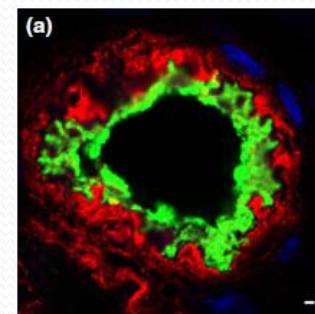


Figure 1. Overview of the skin (pilosebaceous unit) and the *C. acnes* population within it.



## Microbiote cutané de l'épaule :

- ✓ *C. acnes* bactérie prédominante :  $> 10^6$  bactéries/unité
- ✓ Densité unité entre 80 et 100/cm<sup>2</sup>
- ✓ 6 phylotypes principaux mais IB et II retrouvés sepsis

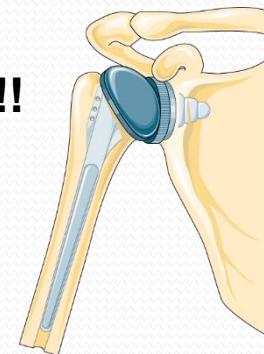


# Contexte de l'arthroplastie d'épaule



## ***Cutibacterium acnes*, un leader incontesté !!**

- ✓ % de *C. acnes* : 28 à 79 % !
- ✓ Probablement plus de 50 %
- ✓ *C. acnes* pas si non virulent que cela

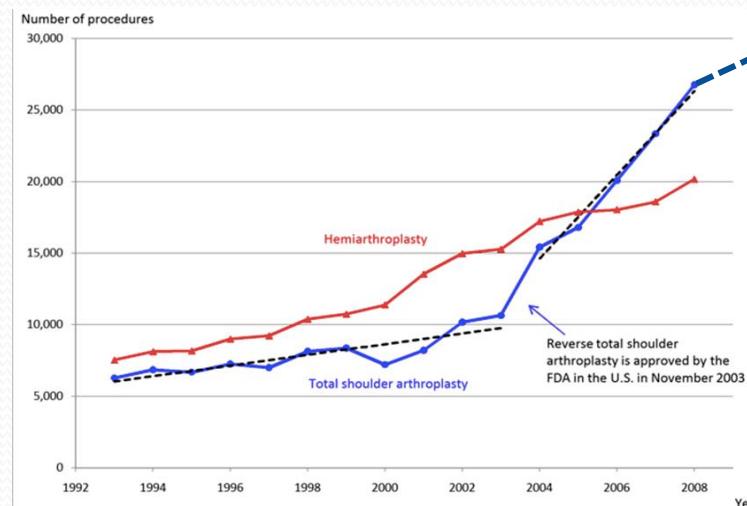


**Table I** Reported causative organisms identified by preoperative or intraoperative culture

Organism	Prevalence (%)
<i>Propionibacterium acnes</i>	38.9
<i>Staphylococcus aureus</i>	14.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14.5
Coagulase-negative staphylococcus (not otherwise specified)	14.0
Other	3.42
Gram-negative rods	2.5
<i>Corynebacterium</i> spp	2.3
<i>Pseudomonas</i> spp	2.1
<i>Peptostreptococcus</i> spp	1.8
<i>Streptococcus</i> spp (not otherwise specified)	1.48
Viridans streptococci	0.99
<i>Escherichia coli</i>	0.66
<i>Proteus mirabilis</i>	0.5
<i>Candida albicans</i>	0.49
<i>Serratia marcescens</i>	0.33

## **Facteurs de risque**

- ✓ Homme
- ✓ Age jeune
- ✓ Chirurgie préalable
- ✓ Infiltration



# Plan

1- Contexte des infections à *C. acnes* (sur matériel)

2- Rappels sur *Cutibacterium acnes*

- La bactérie *C. acnes*
- *C. acnes* à travers l'histoire
- Phylogénie et taxonomie
- Aspects cliniques

3- Organisation du génome

4- Facteurs de virulence

5- Interactions de *C. acnes* avec les cellules hôtes

6- Impact du phylotype de *C. acnes* et biofilm

7- Persistance de *C. acnes* et granulome

8- Ce qu'il faut retenir

# *Cutibacterium acnes*

- ✓ Bacille Gram +, anaérobiose aérotolérant
- ✓ Pousse en culture lente, parfois β-hémolytique
- ✓ Commensale peau et muqueuse buccale
- ✓ Pathogène opportuniste : infection ostéo-articulaire (+/- sur matériel), ophtalmique, dentaire, valves cardiaques
- ✓ Trop souvent considéré comme un contaminant
- ✓ Différences en termes de métabolisme, d'antigénicité...



# Evolution de *Cutibacterium acnes*

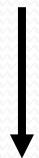
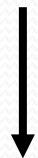
Unna  
Première  
description

Girchrist

Bergey et al.

Douglas &  
Gunter

Scholz et al.



1896

1900

1923

1946

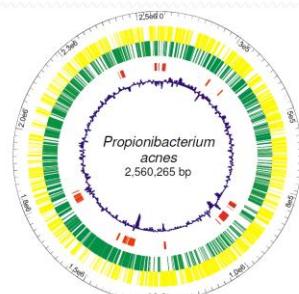
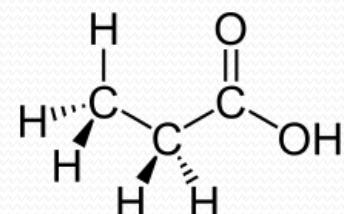
2016

*Bacillus acnes*

*Corynebacterium acnes*



*Propionibacterium acnes*



*Cutibacterium acnes*

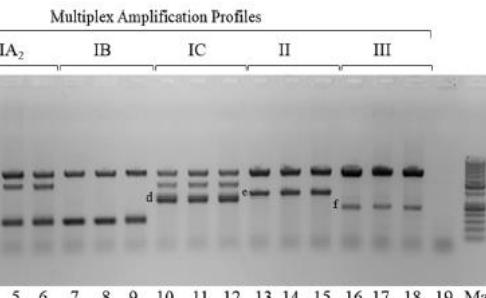
# Trois niveaux de caractérisation possibles

## Phylogenotypes

n = 6



- IA1
- II
- III



Barnard et al., JCM 2015

## MLST Complexes clonaux

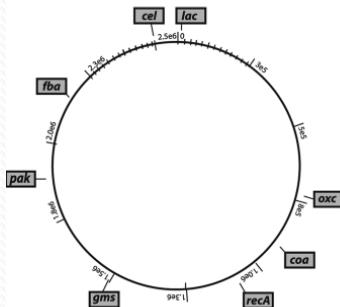
n = 156



IA1

- CC18
- CC28

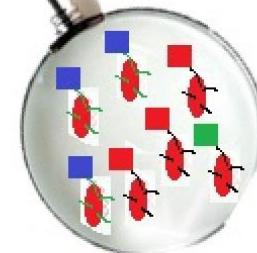
Aarhus scheme  
9 genes



Kilian et al., JCM 2012

## SLST-types

n = 162



CC18

- D1
- A1
- A5

Filter applied

- Complete Genome
- Only Core Genome
- Type I, II, III Separation
- Type I Subtype Separation
- Cluster Separation
- Final Candidates

Scholz et al., PloS One 2014

# Pathologies liées à *C. acnes* : tropisme

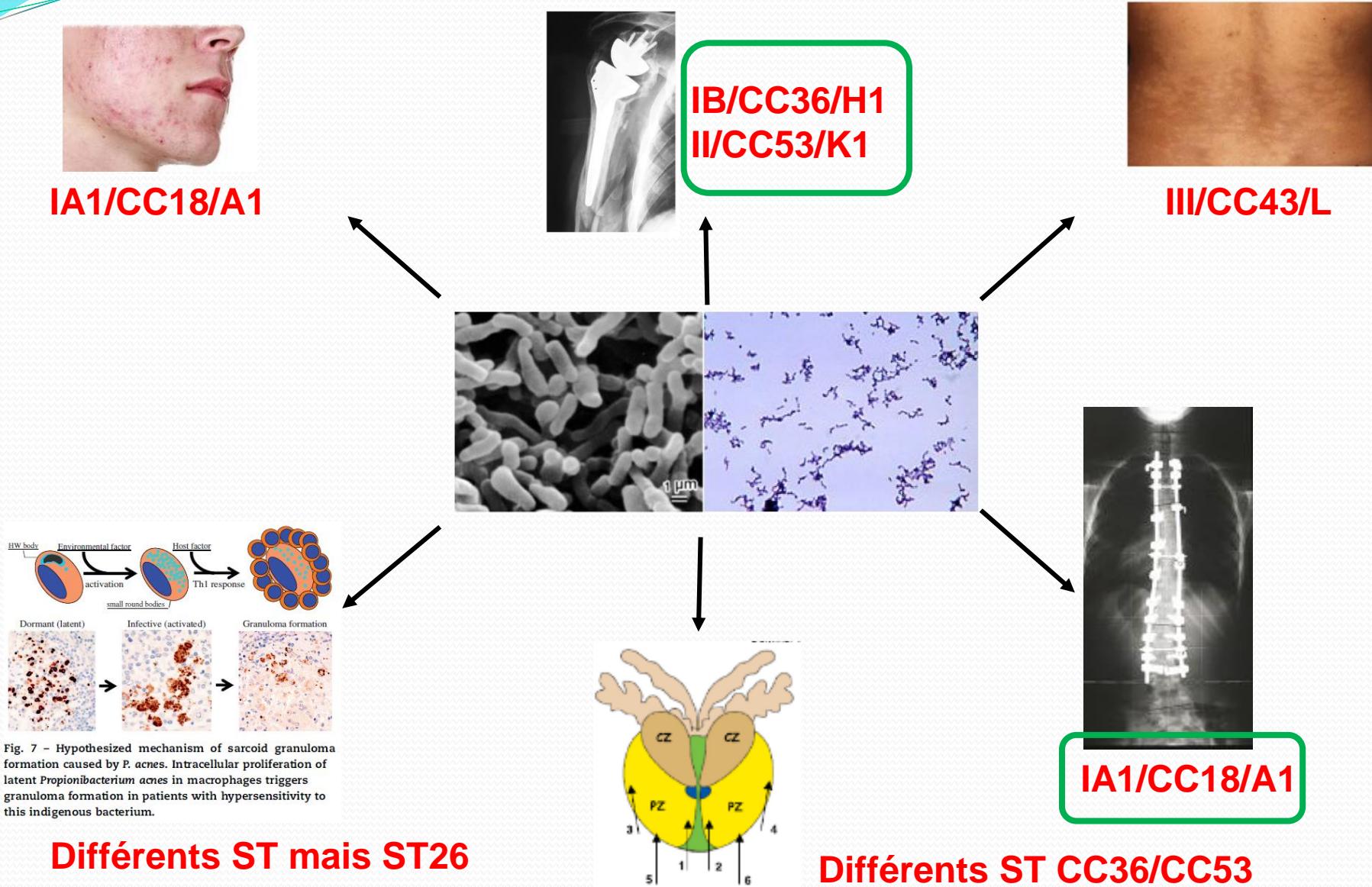


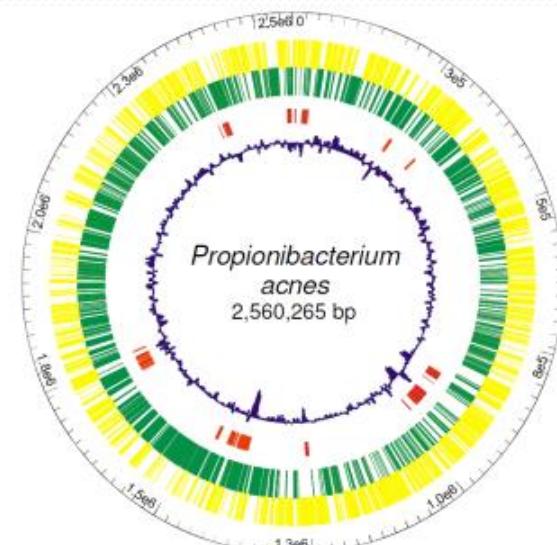
Fig. 7 – Hypothesized mechanism of sarcoid granuloma formation caused by *P. acnes*. Intracellular proliferation of latent *Propionibacterium acnes* in macrophages triggers granuloma formation in patients with hypersensitivity to this indigenous bacterium.

# Plan

- 1- Contexte des infections à *C. acnes* (sur matériel)**
- 2- Rappels sur *Cutibacterium acnes***
- 3- Organisation du génome**
- 4- Facteurs de virulence**
- 5- Interactions de *C. acnes* avec les cellules hôtes**
- 6- Impact du phylotype de *C. acnes* et biofilm**
- 7- Persistance de *C. acnes* et granulome**
- 8- Ce qu'il faut retenir**

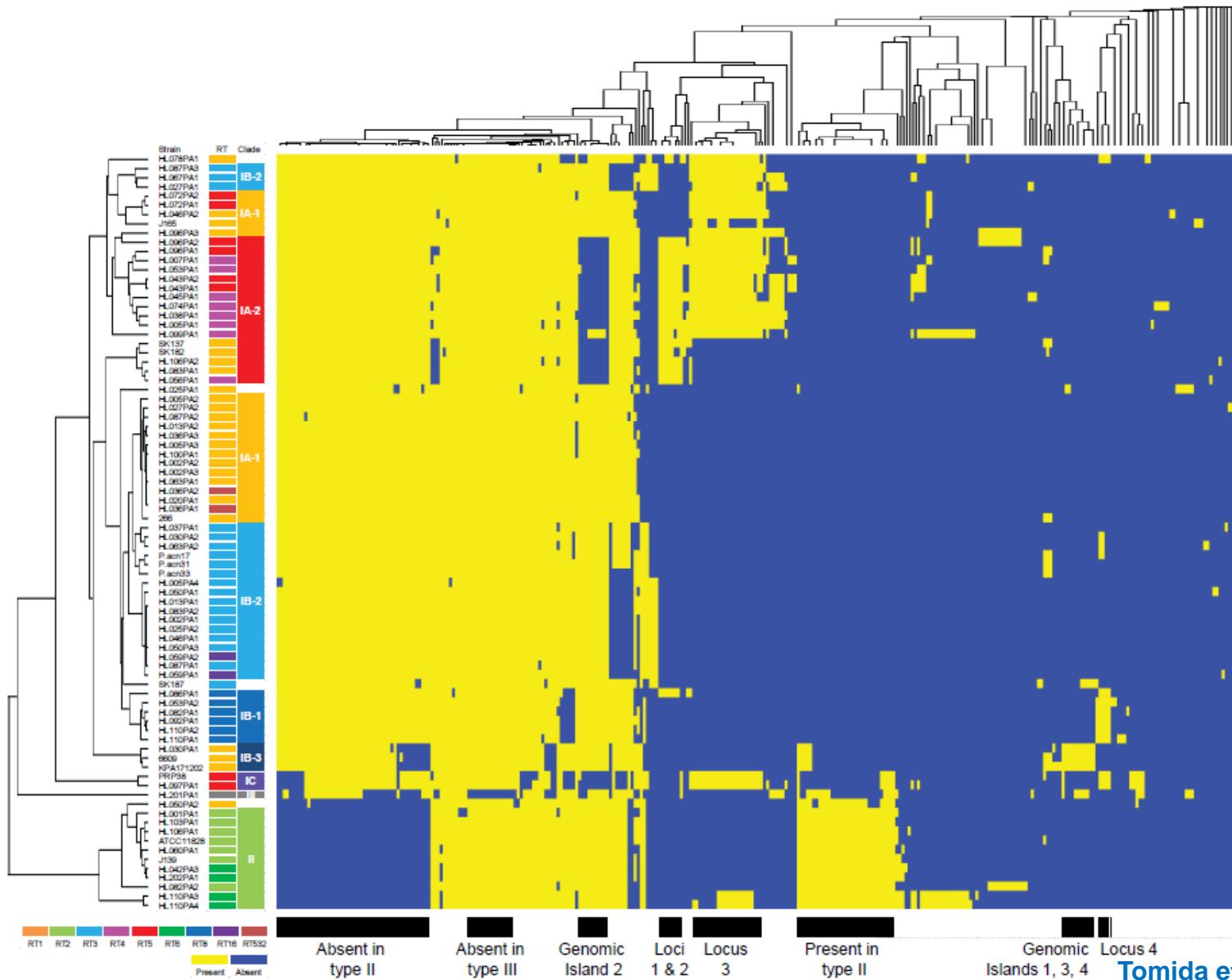
# Organisation du génome

- ✓ 1 chromosome - 2,5 Mb - GC % 60
- ✓ 2300/2400 gènes
- ✓ Core génome 85 %
- ✓ Architecture génomique conservée
- ✓ Premier plasmide R décrit récemment

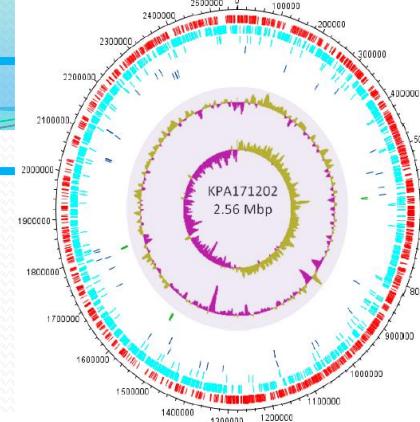


Species	Strain	Genome size (Mb)	GC%	No. of scaffolds	No. of genes	No. of proteins
<i>Cutibacterium acnes</i>	KPA171202	2.56026	60		2,371	2,277
	SK137	2.49533	60.1		2,353	2,278
	266	2.49458	60		2,332	2,250
	66609	2.56028	60		2,378	2,282
	ATCC 11828	2.48863	60		2,318	2,198
	Type IA2 Pacn33	2.48962	60		2,327	2,241
	Type IA2 Pacn17	2.52289	60.1		2,354	2,274
	Type IA2 Pacn31	2.49877	60		2,324	2,246
	C1	2.519	60.1		2,377	2,276
	HL096PA1	2.54977	60.15		2,414	2,336
	hdn-1	2.49456	60		2,327	2,247
	KCOM 1861	2.52244	60		2,337	2,208
	PA_15_1_R1	2.54796	60.15		2,409	2,324
	PA_21_1_L1	2.56035	60		2,380	2,276
	PA_15_2_L1	2.54001	60.1		2,382	2,300
	PA_12_1_L1	2.49196	60		2,337	2,261

# Organisation du génome



# Décryptage du génome



**Table 2.** Key *P. acnes* proteins with putative effects on the host.

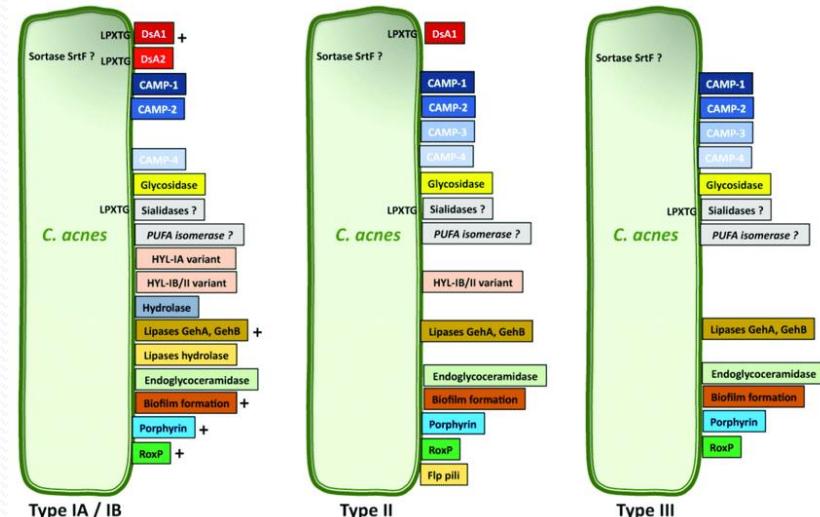
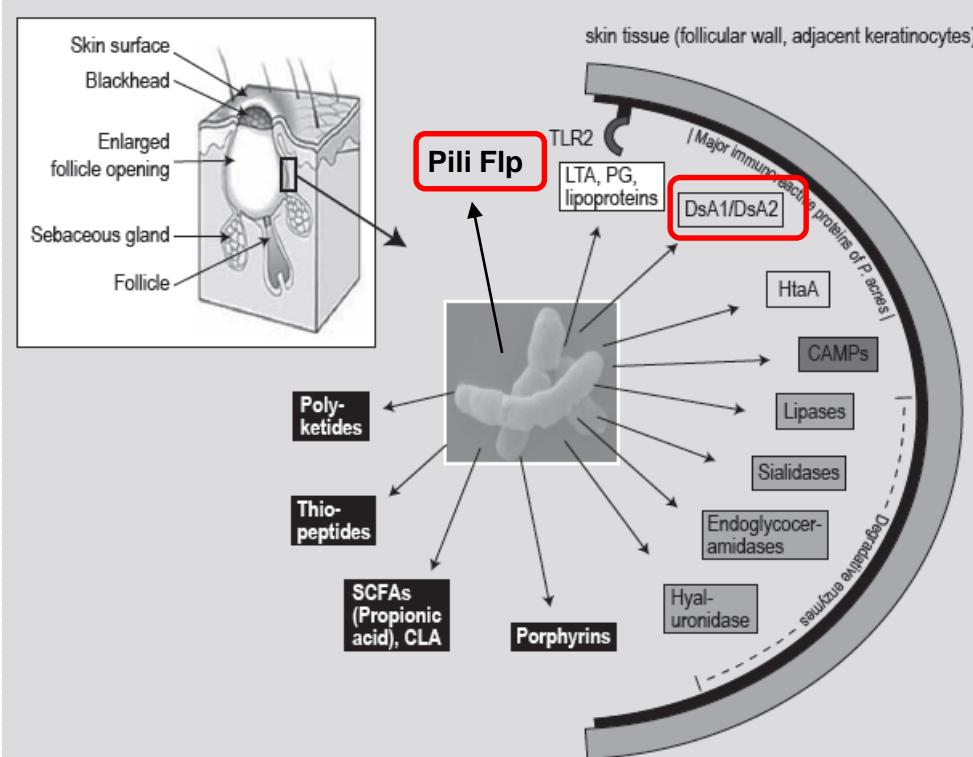
Putative Gene Function	KPA171202 ORF Number	Potential Effect on the Host
CAMP-factors	PPA0687, PPA1198, PPA1231, PPA1340, PPA2108	Haemolytic, cytotoxic
Haemolysins	PPA0565, PPA0938, PPA1396	Haemolytic
GehA lipases	PPA1796, PPA2105	Tissue damage
Sialidases	PPA0684, PPA0685, PPA1560	Tissue damage
Hyaluronate lyase (HYL)	PPA0380	Tissue damage
Endoglycoceramidases	PPA0644, PPA2106	Tissue damage
Endo-β-N-acetylglucosaminidase	PPA0990	Tissue damage
Dermatan sulphate adhesin (DsA1) (PTR) *	PPA2127	Colonization/adhesion/ Fibrinogen-binding/inflammation
Dermatan sulphate adhesin (DsA2) (PTR) *	PPA2210	Colonization/adhesion/inflammation
PTRs *	PPA1715, PPA1879, PPA180, PPA1881, PPA1906, PPA2130, PPA2270	Colonization/adhesion/inflammation
GroEL	PPA0453, PPA1772, PPA1773	Inflammation
DnaK	PPA1098, PPA2040	Inflammation
Dnaj	PPA0916, PPA2038	Inflammation

\* PTs: Proline-Threonine Repeats likely involved in cell-cell and/or cell-matrix interactions.

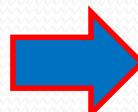
# Plan

- 1- Contexte des infections à *C. acnes* (sur matériel)**
- 2- Rappels sur *Cutibacterium acnes***
- 3- Organisation du génome**
- 4- Facteurs de virulence**
- 5- Interactions de *C. acnes* avec les cellules hôtes**
- 6- Impact du phylotype de *C. acnes* et biofilm**
- 7- Persistance de *C. acnes* et granulome**
- 8- Ce qu'il faut retenir**

# *Cutibacterium acnes* : 2 visages



- ✓ Facteurs de virulence liés Adhésines
- ✓ Facteurs de virulence libérés



- ✓ ***C. acnes* et virulence :**
  - Lipase
  - Hémolysines
  - Hyaluronidase
  - Sialidases
  - Etc...

# C. acnes & adhérence au tissu hôte

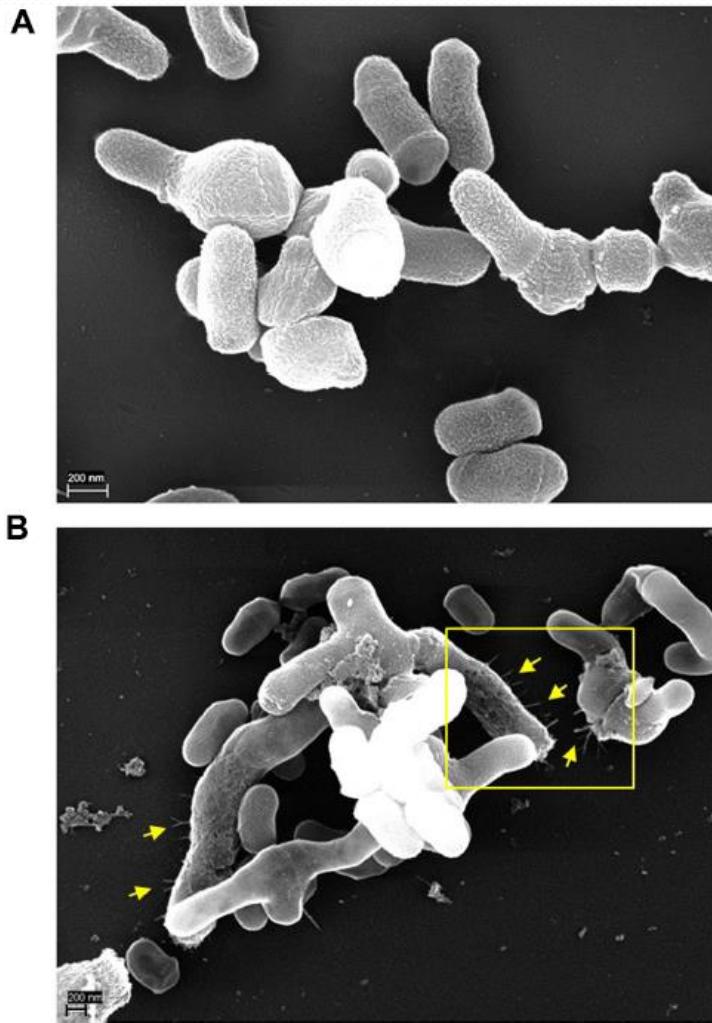
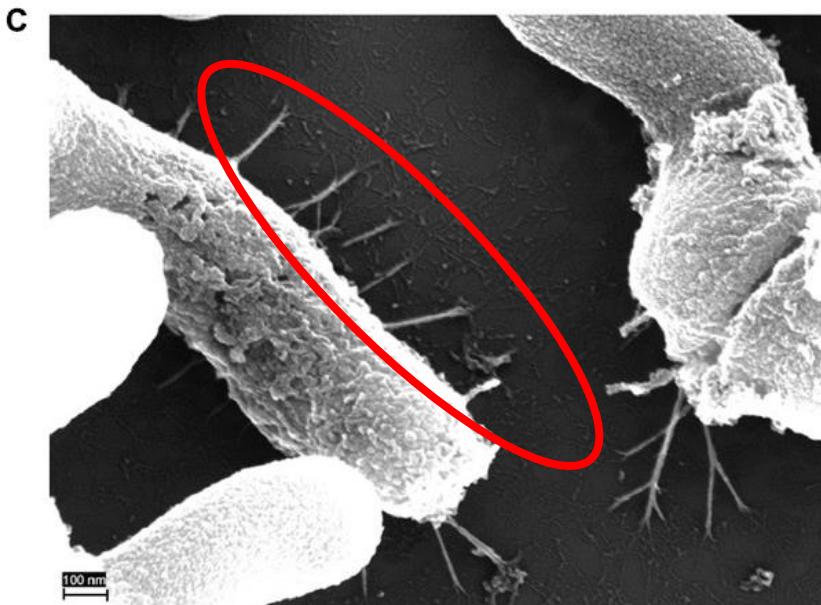
## ✓ Pili adhésine Flp

Plasmide / phylotypes II, IA

Locus *tad* « tight adherence »

Fimbriae protéine de bas PM

## ✓ Dermatan sulfate Adhesines



Pili qui peuvent supporter la colonisation et la persistance d'infection à C. acnes

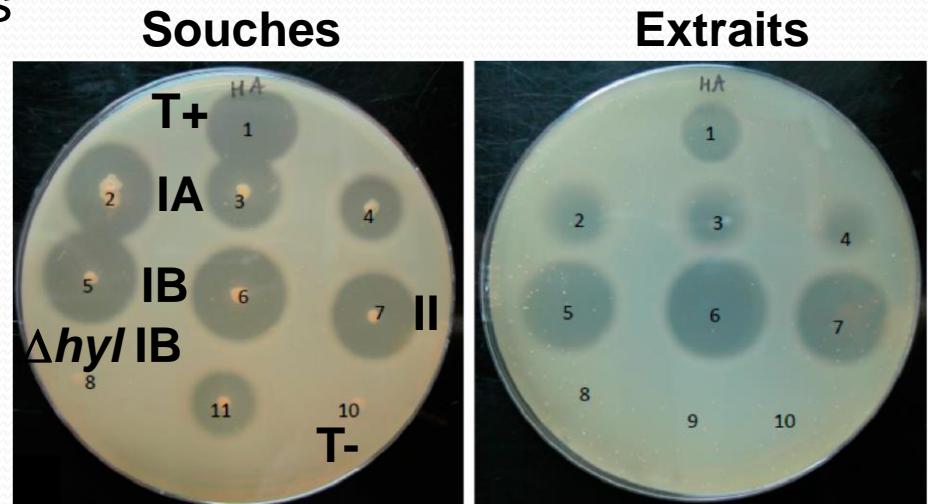
# C. acnes & invasion du tissu hôte

## ✓ Dégradation du tissu de l'hôte : Hyaluronate lyase

Facteur de dispersion dans les tissus

Acquisition de nutriments

Diversité génétique



2 variants

HYL/IB et II : activité enzymatique +++  
=> dégradation complète

Infections invasives

HYL/IA : activité enzymatique faible

Acné

# C. acnes & invasion du tissu hôte

## ✓ Enzymes :

Sialidases

Lipases

Endoglycocéramidases

Peptidases extracellulaires

## ✓ Facteurs CAMP :

Effet cytotoxique sur les macrophages et kératinocytes

=> responsable de souches hémolytiques IA exclusivement

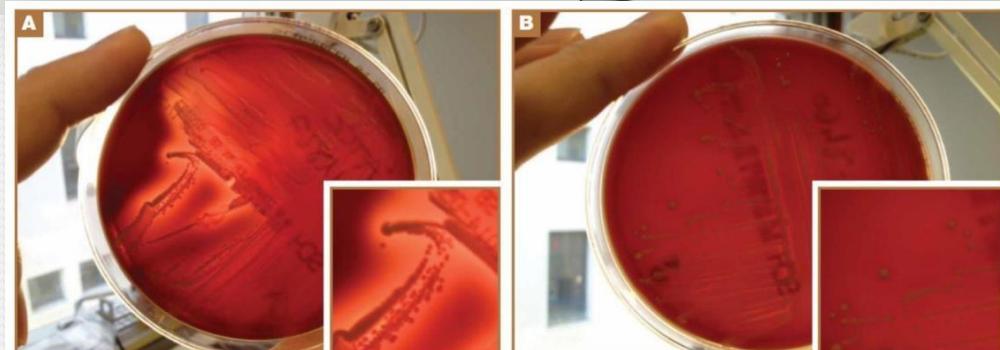
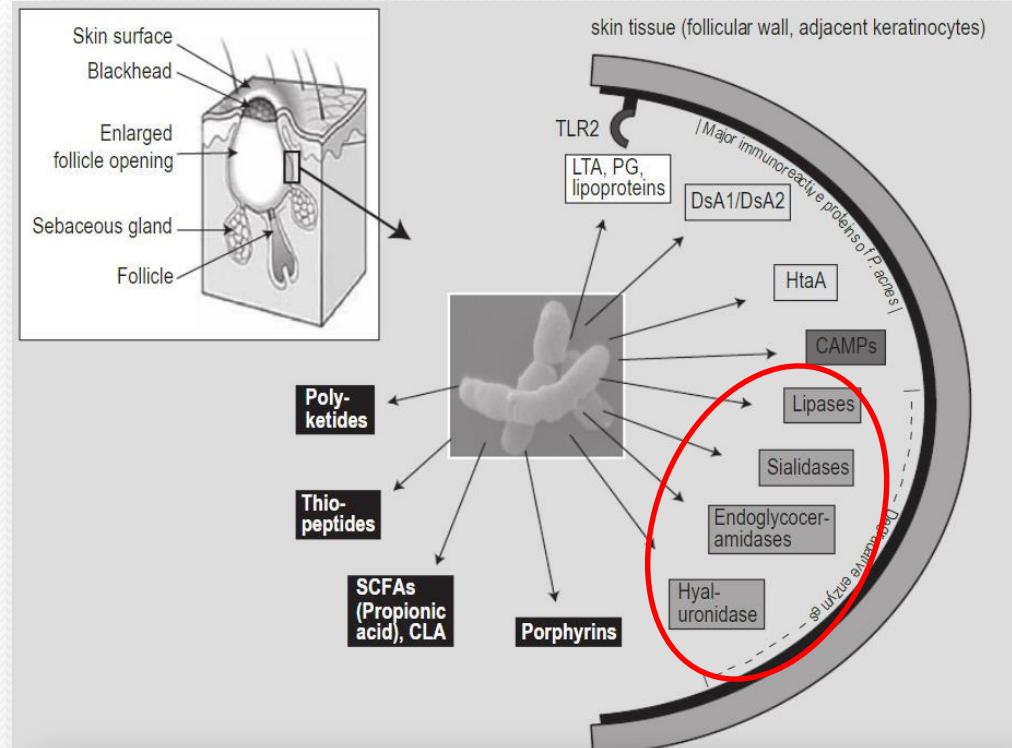


Figure. (A) Hemolytic and (B) nonhemolytic strains of *Propionibacterium acnes* belonging to genetic phylogroup (A) IA or IB and (B) II or III.

# C. acnes & inflammation du tissu hôte

## ✓ Interaction avec le système immunitaire :

Voie des TLR<sub>2</sub> & Camp1

Activation de l'inflammasome

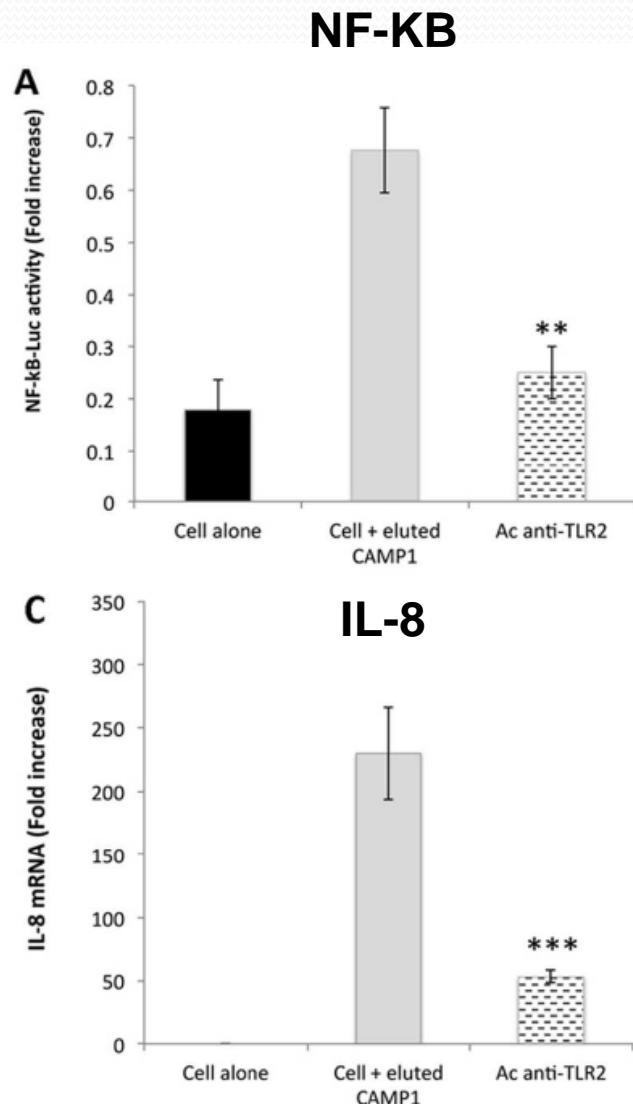
Rôle de toxine formant des pores

Souches **II** et **IB**

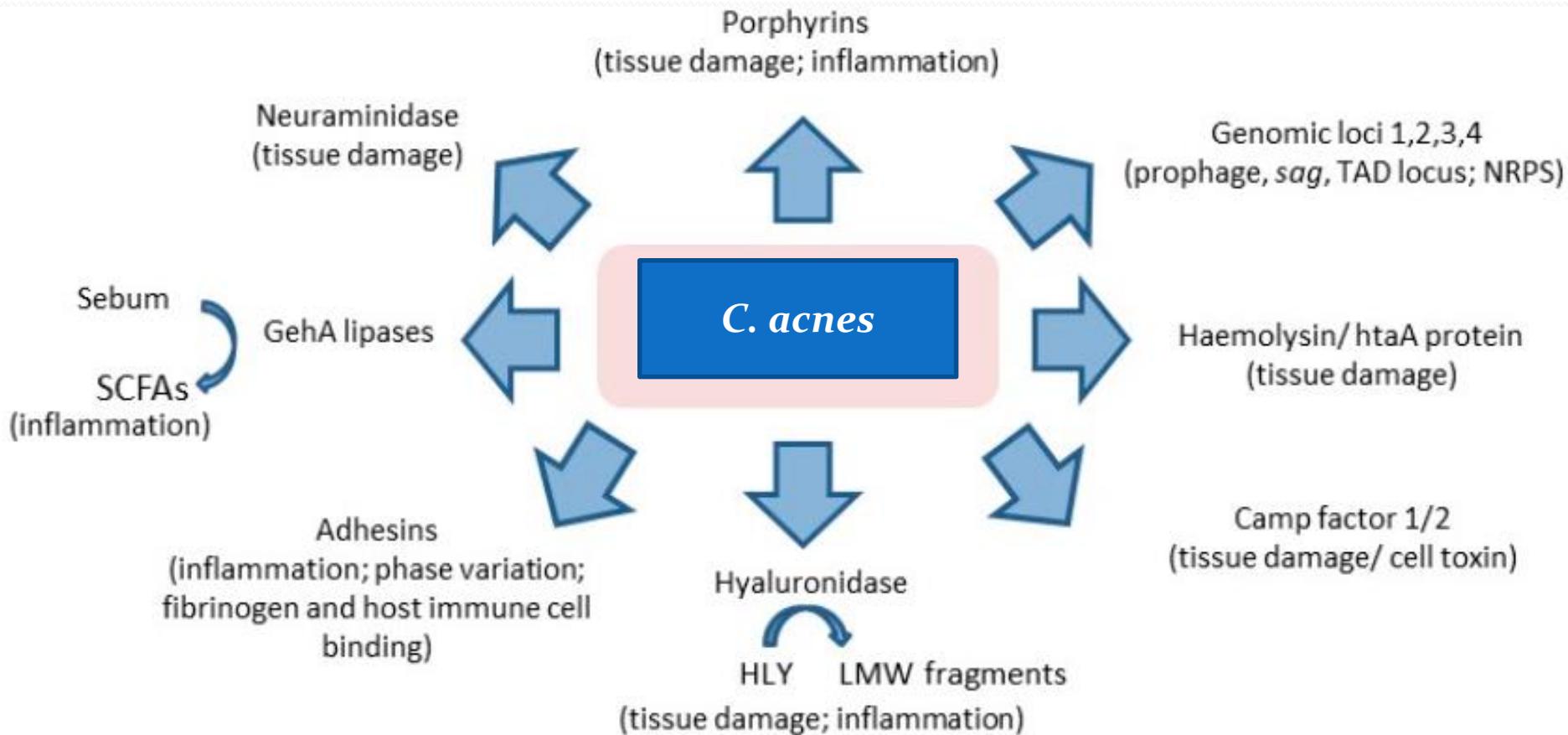
**Forte interaction**



- ↗ TNFα
- ↗ sécrétion IL-8 proinflammatoire



# Facteurs de virulence de *C. acnes*



# Plan

1- Contexte des infections à *C. acnes* (sur matériel)

2- Rappels sur *Cutibacterium acnes*

3- Organisation du génome

4- Facteurs de virulence

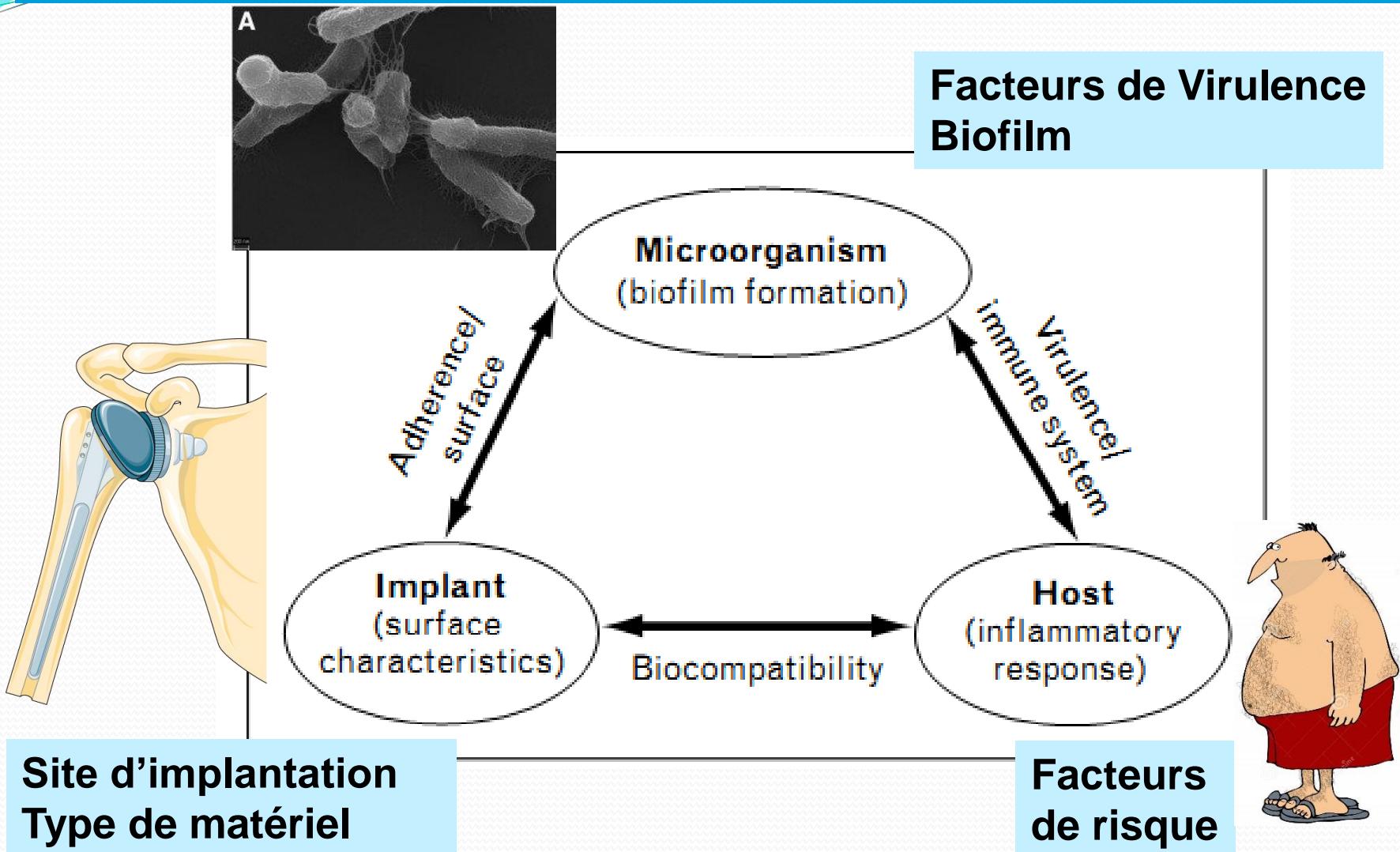
5- Interactions de *C. acnes* avec les cellules hôtes

6- Impact du phylotype de *C. acnes* et biofilm

7- Persistance de *C. acnes* et granulome

8- Ce qu'il faut retenir

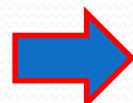
# Infection sur matériel : un ménage à trois !



# Phylogénie de *C. acnes* et implants

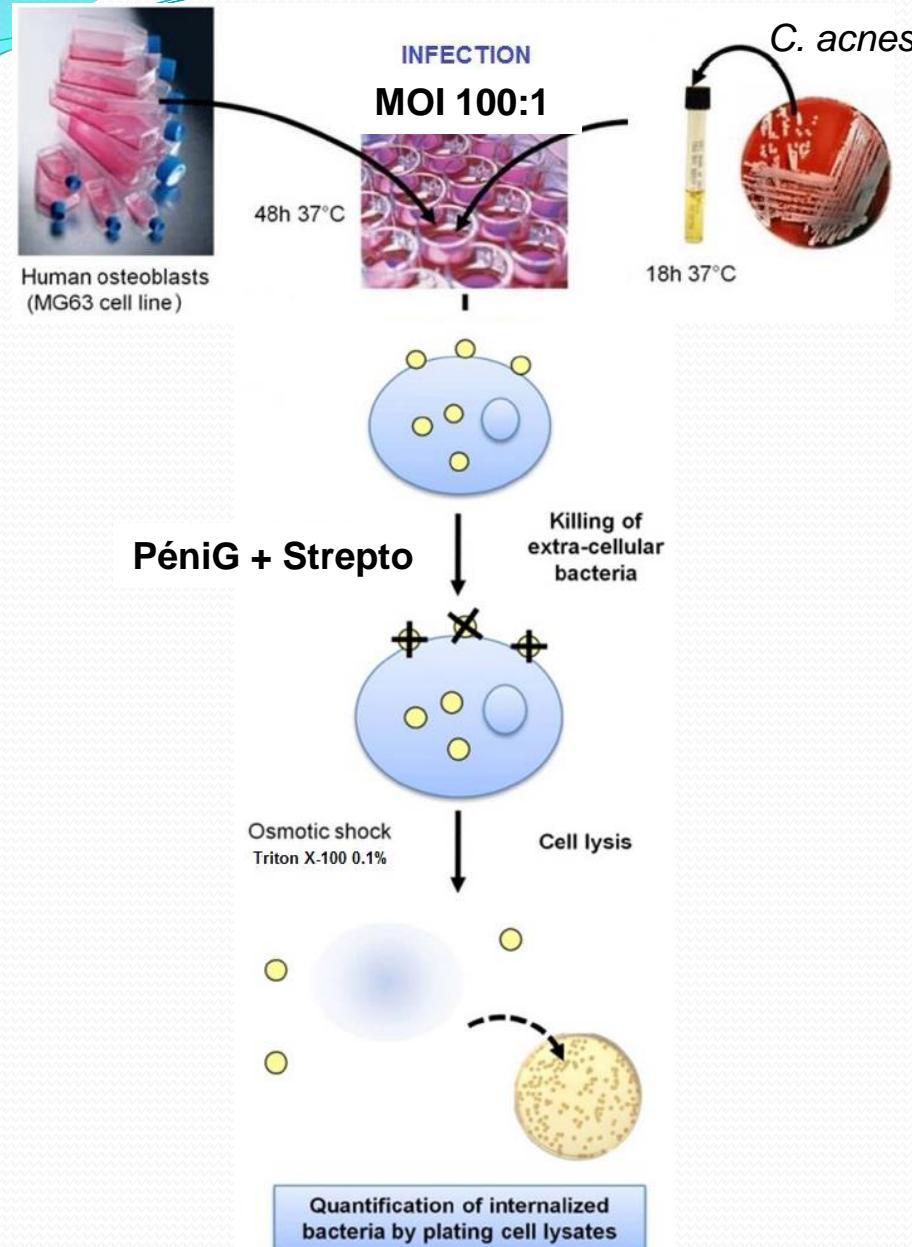


MLST Clonal complex (CC)	Clade	SpI isolates (%) n = 58	PJI isolates (%) n = 14	AL isolates (%) n = 14	p-value
CC18	IA1	32 (55.2)	4 (28.6)	6 (42.9)	
CC3	IA1	1 (1.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	
CC28	IA2	15 (25.9)	0 (0.0)	2 (14.3)	
CC36	IB	7 (12.1)	6 (42.9)	4 (28.6)	p = 0.021
CC53	II	2 (3.4)	4 (28.6)	2 (14.3)	
CC107	IC	1 (1.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	



Prédominance des IB CC36 et II CC53  
dans les infections de prothèses articulaires

# Interactions *C. acnes* - ostéoblastes



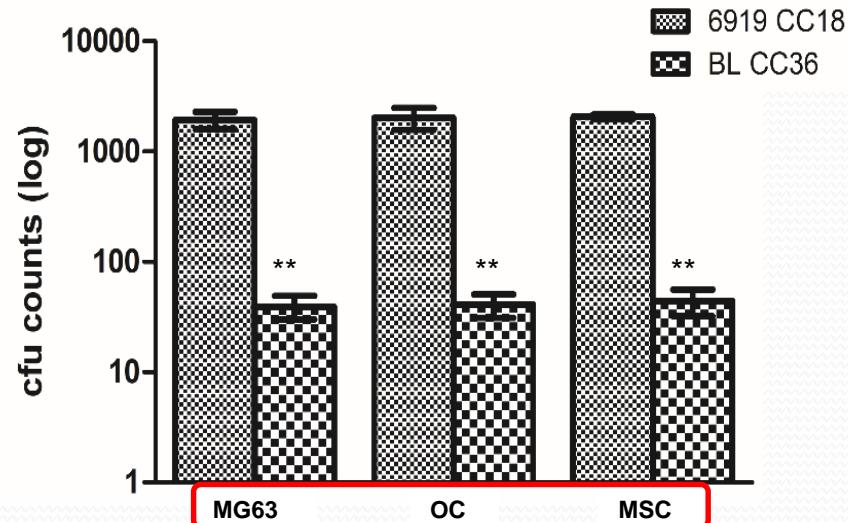
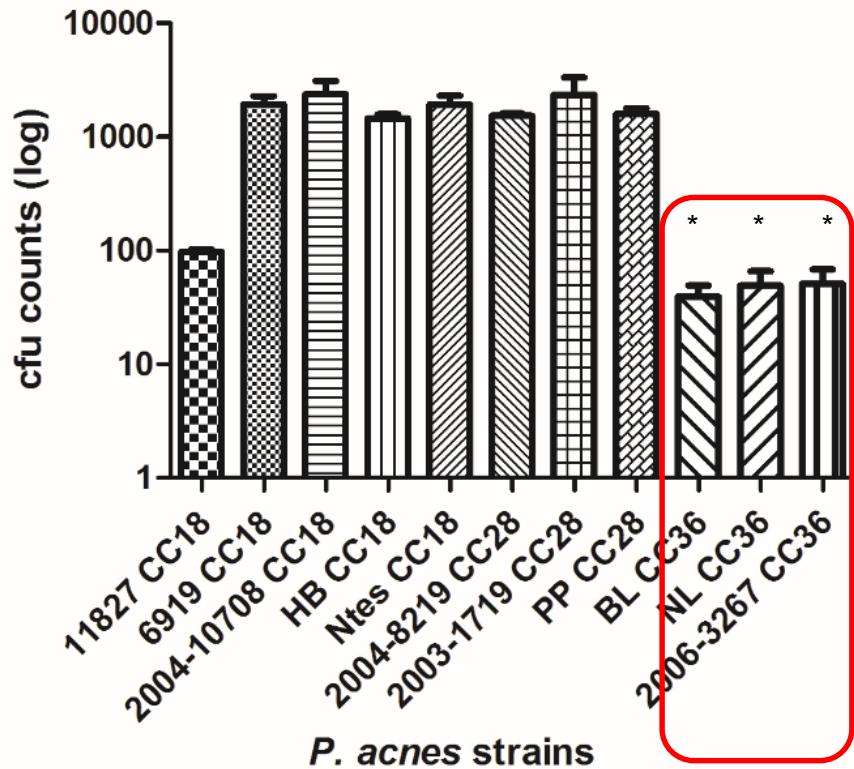
## Test d'internalisation :

- Ostéoblastes
- Ostéoclastes : résorption osseuse ?
- Précurseurs ostéoclastes
- Cellules souches mésenchymateuses

## Microscopie confocale



# Interactions *C. acnes* - ostéoblastes



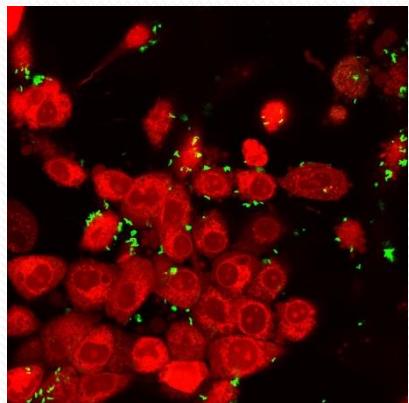
IB CC36, 100 fois moins internalisé  
Dissémination, infection profonde



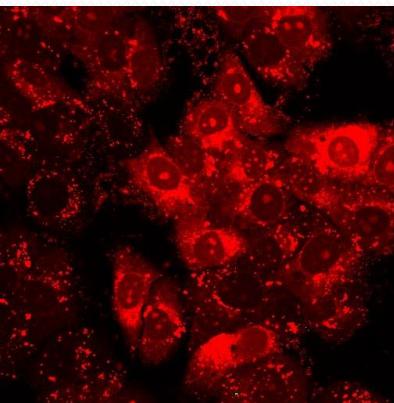
Cellules souches  
mésenchymateuses

# Interactions *C. acnes* - ostéoblastes

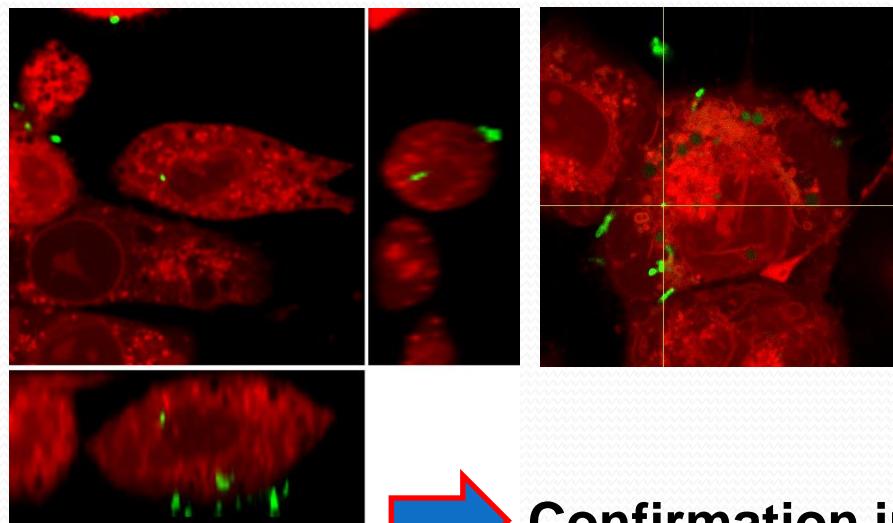
CC18 *C. acnes*



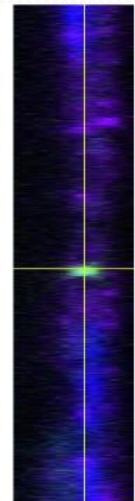
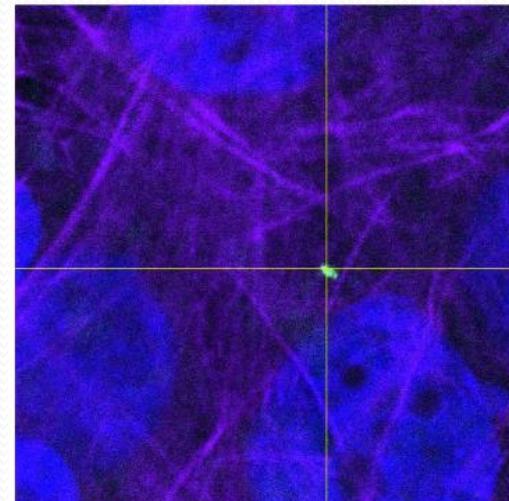
CC36 *C. acnes*



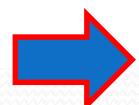
CC18 *C. acnes*



CC18 *C. acnes*

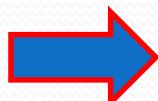
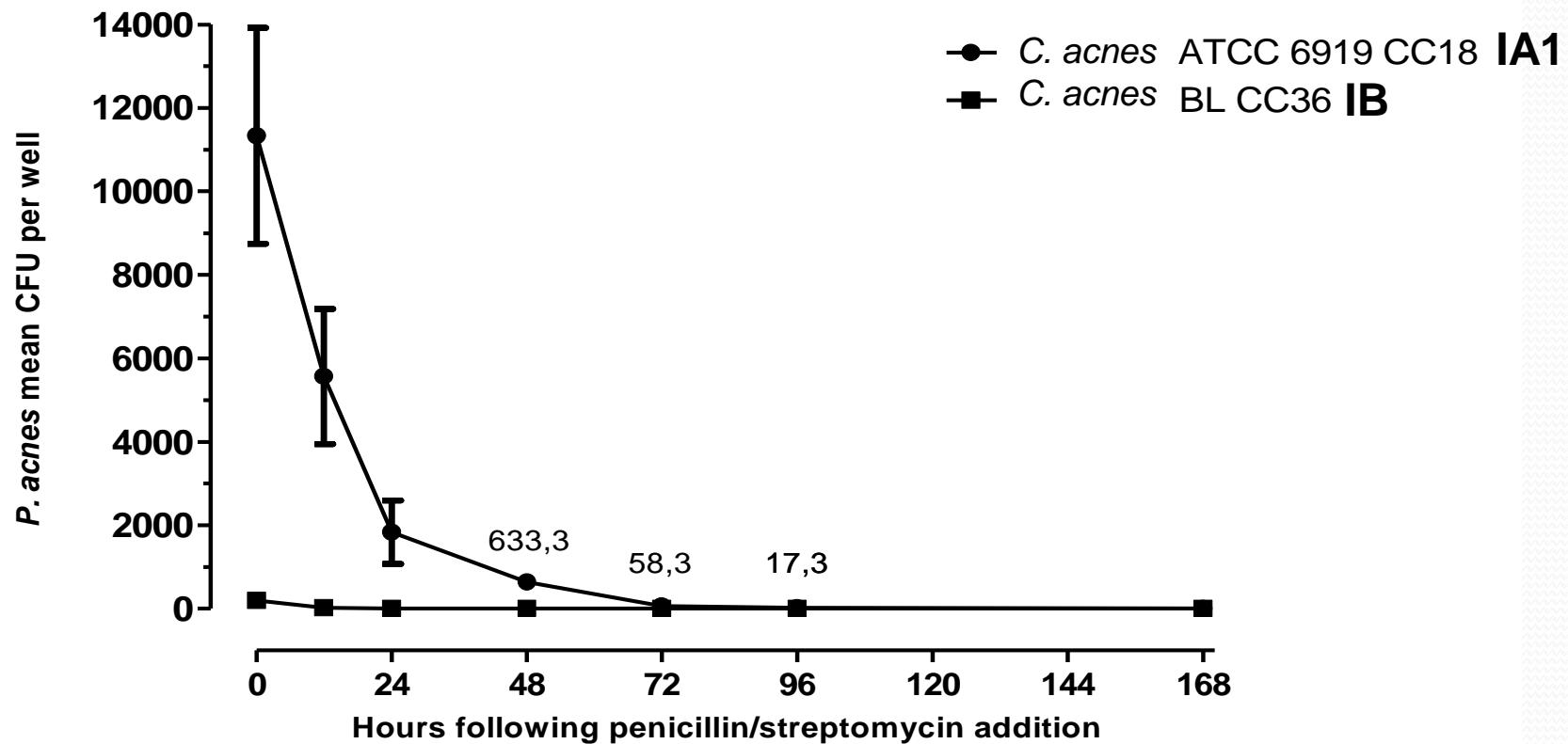


Marquages différents



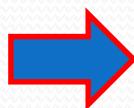
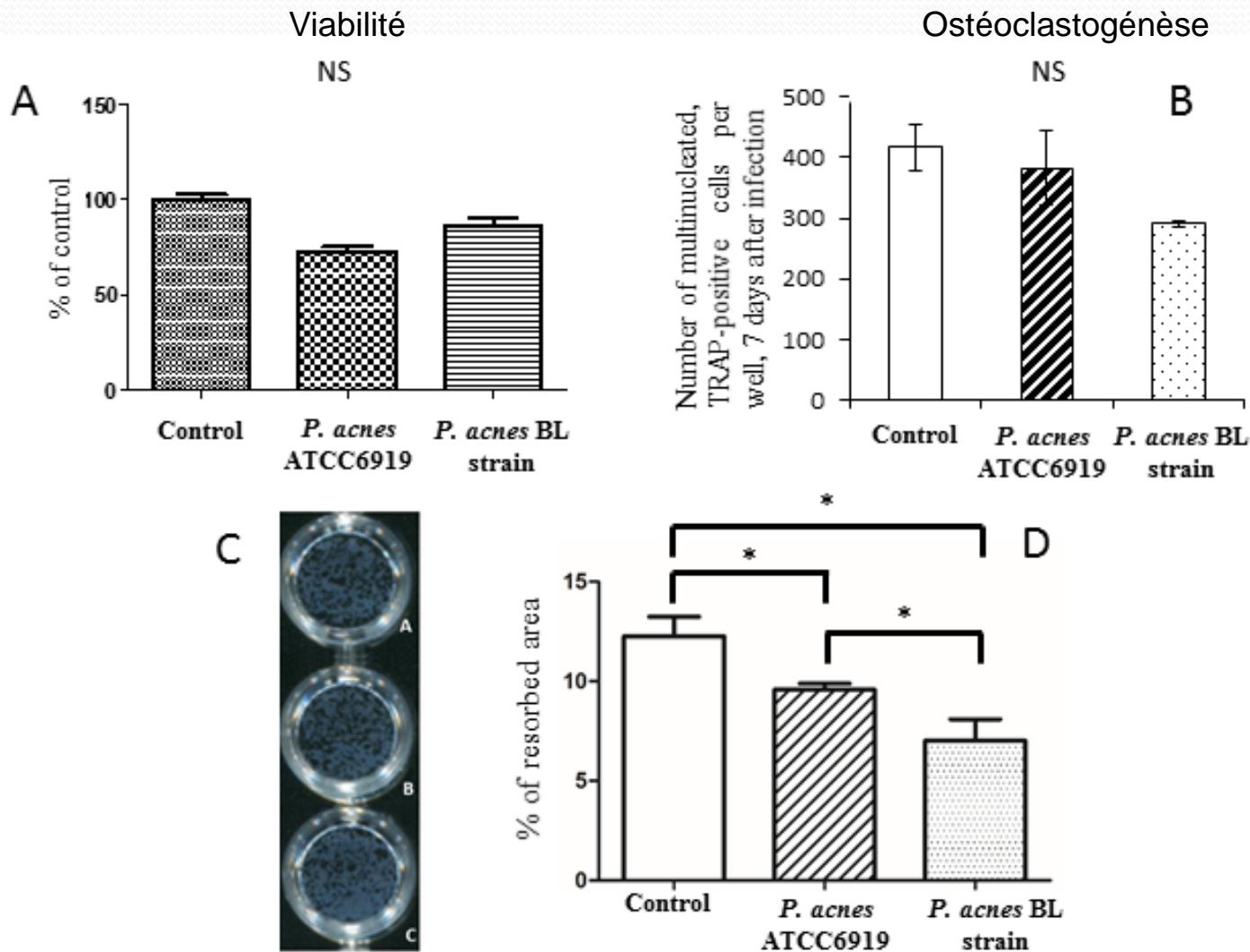
Confirmation internalisation de *C. acnes* IA<sub>1</sub> CC18

# Interactions *C. acnes* - ostéoblastes



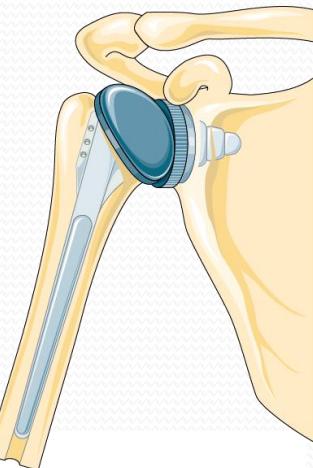
Persistante intracellulaire de *C. acnes*  
Origine du descellement progressif

# Interactions *C. acnes* - ostéoclastes



Diminution capacité de résorption osseuse (IB CC36 +++)

# Persistante de *C. acnes* dans les macrophages

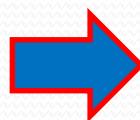
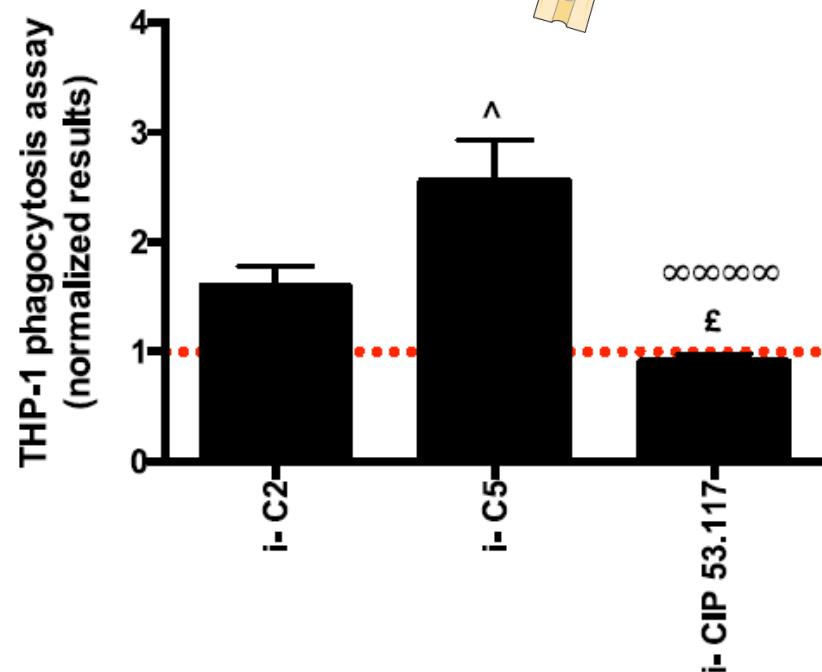


- ✓ Persistante de *C. acnes* ?
- ✓ Test de phagocytose par THP-1 après internalisation

- ✓ Augmentation de la phagocytose des isolats internalisés

- ✓ Infections à *C. acnes* :  
torpides, chroniques => PTE

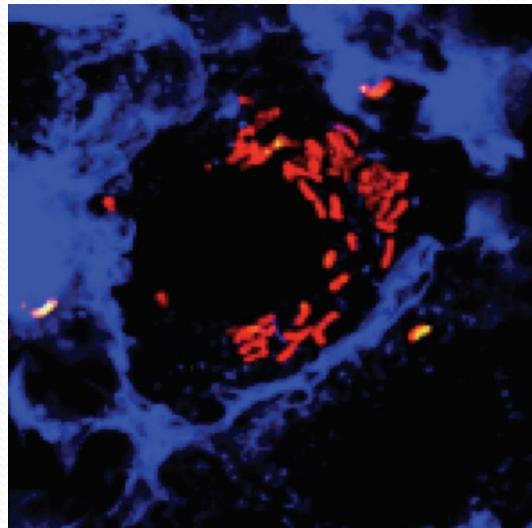
- ✓ Abs de signes syst, inflammation  
CRP normale



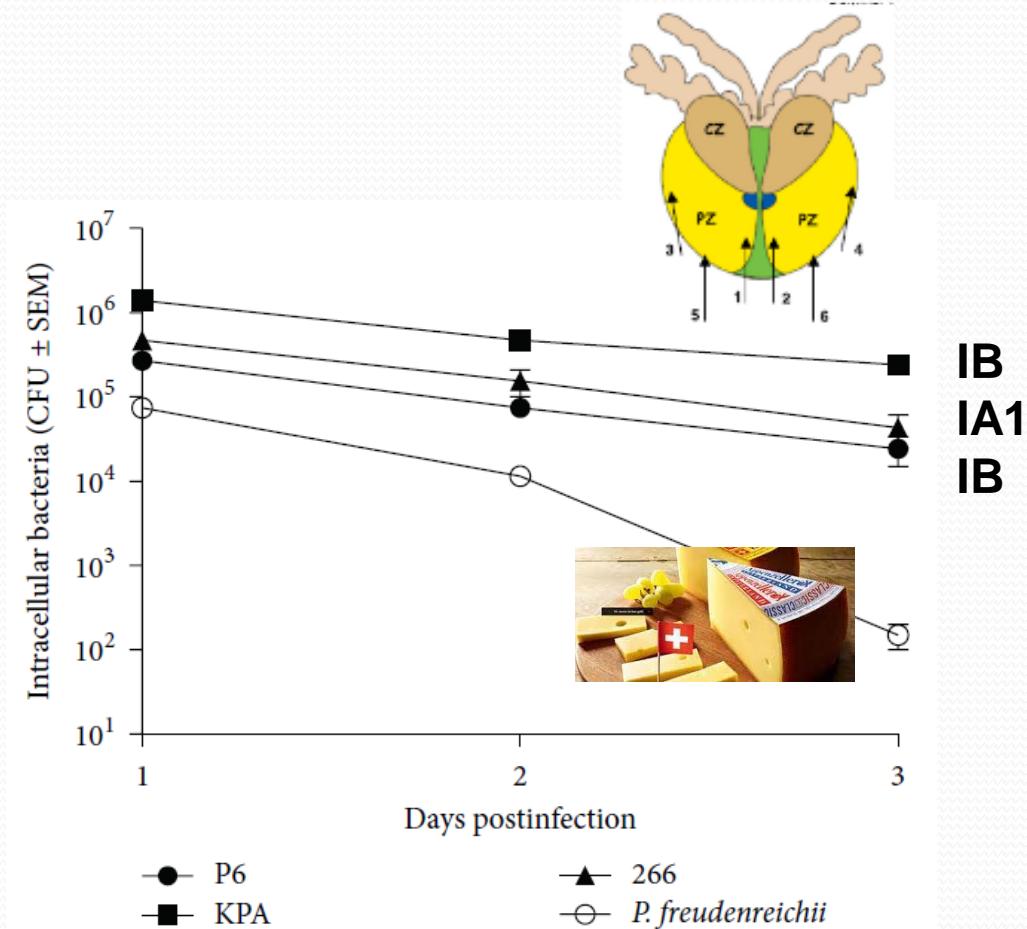
Persistante de *C. acnes* dans cellules immunitaires

# Persistante de *C. acnes* dans les macrophages

- ✓ Persistante de *C. acnes* ?
- ✓ Tissu prostatique



Actine en bleu, *C. acnes* en rouge



→ Persistante de *C. acnes* dans les macrophages  
au niveau prostate : rôle dans l'inflammation chronique ?

# Plan

- 1- Contexte des infections à *C. acnes* (sur matériel)**
- 2- Rappels sur *Cutibacterium acnes***
- 3- Organisation du génome**
- 4- Facteurs de virulence**
- 5- Interactions de *C. acnes* avec les cellules hôtes**
- 6- Impact du phylotype de *C. acnes* et biofilm**
- 7- Persistance de *C. acnes* et granulome**
- 8- Ce qu'il faut retenir**

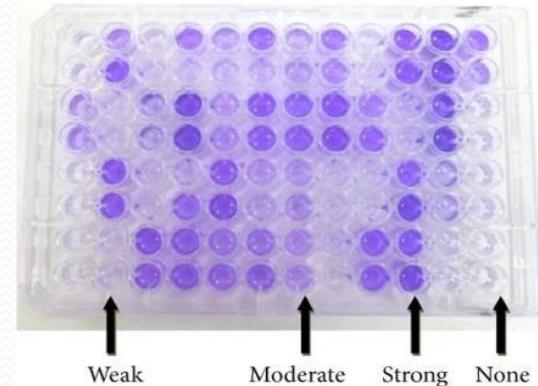
# La capacité à produire du biofilm dépend du type de *C. acnes*

- ✓ Rôle majeur du biofilm - conditionnement
- ✓ Détermination biomasse totale à un temps t :

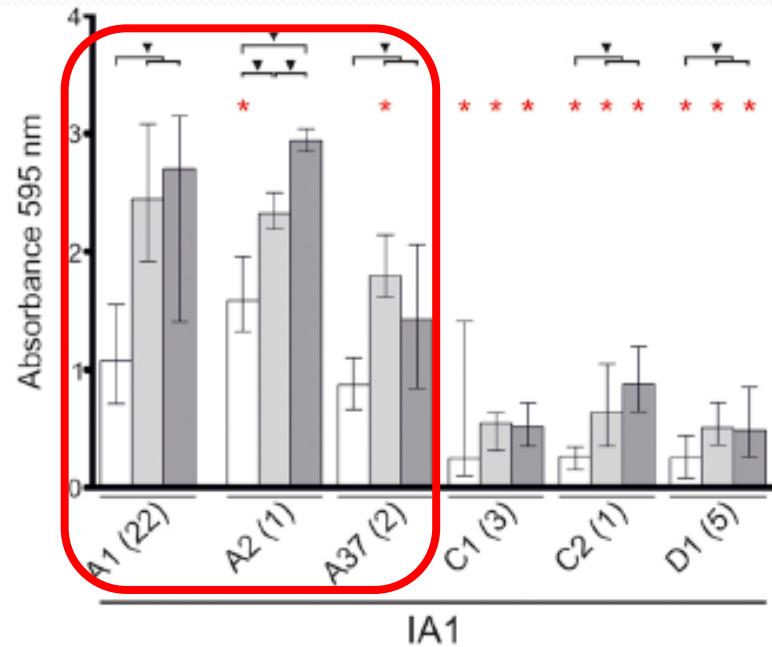
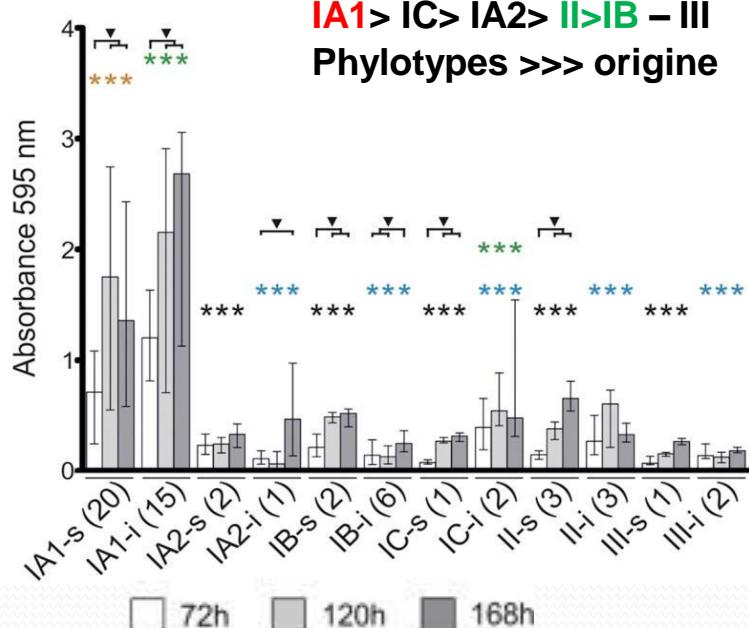
Méthode de Christensen modifiée

Bactéries vivantes et mortes

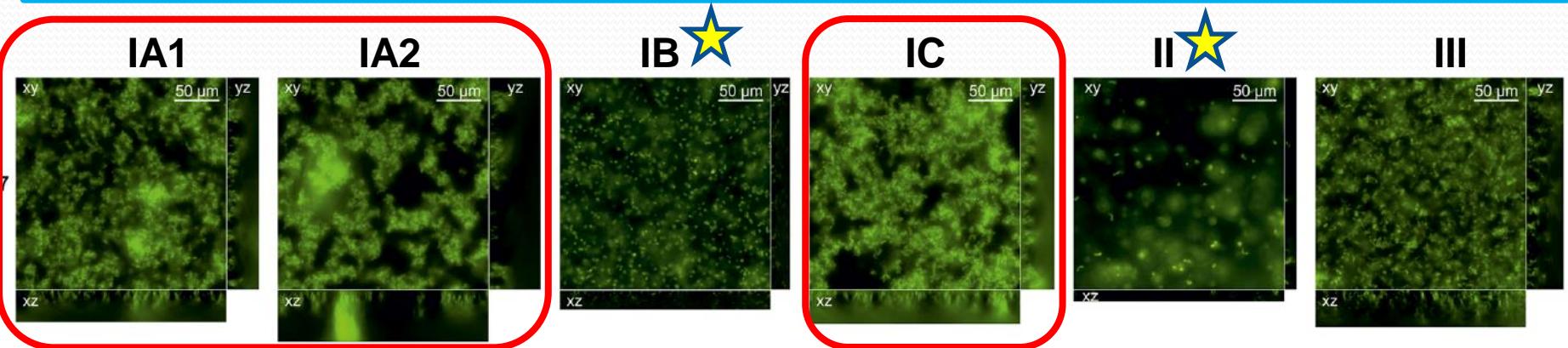
Variations conditions : milieu, glucose, pH



A



# La capacité à produire du biofilm dépend du type de *C. acnes*



**Microscopie du biofilm :** adhérence, structure, biomasse, épaisseur

- ✓ Attachement à une surface abiotique
- ✓ Système de chambre tri-D
- ✓ Processus dynamique

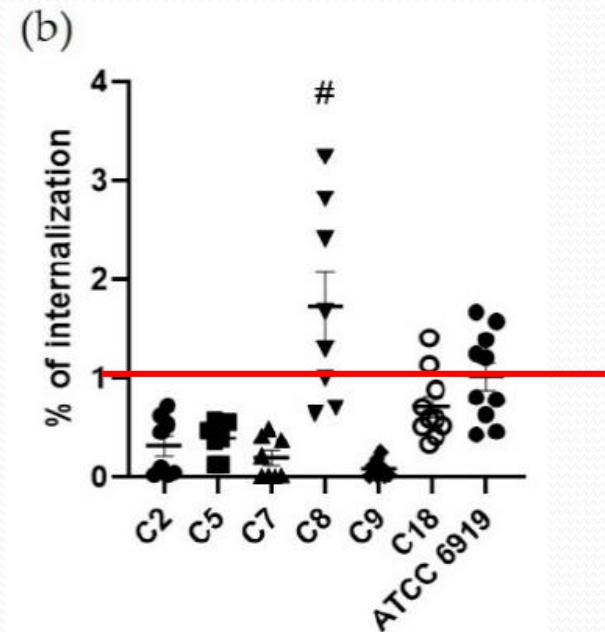
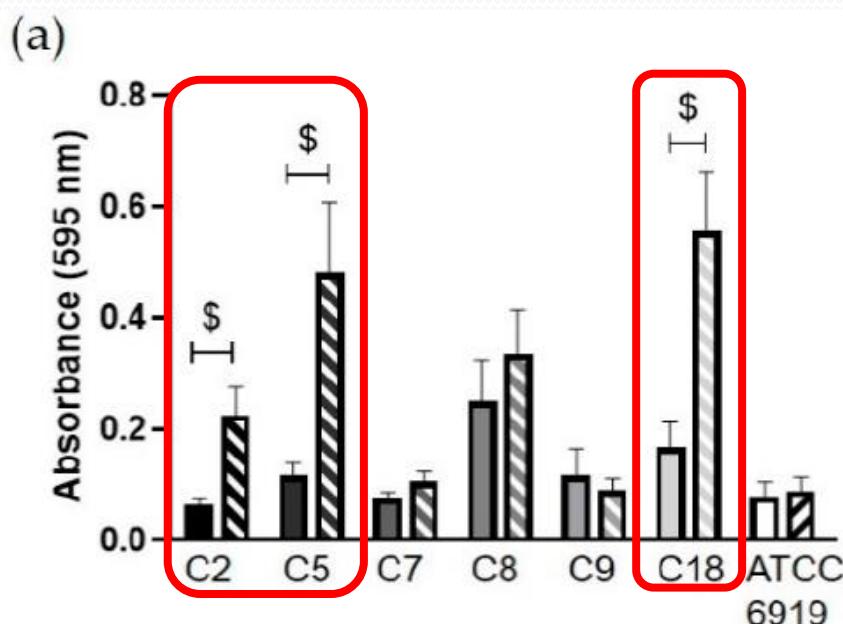
## Résultats :

- ✓ Confirmation d'une structure plus développée pour les phylotypes IA<sub>1</sub>, IA<sub>2</sub> et IC
- ✓ Effet souche ?

=> Connaître les limites de la technique

# Biofilm de *C. acnes* après internalisation

- ✓ Analyse comparative capacité à produire du biofilm de *C. acnes* avant et après internalisation dans ostéoblastes
- ✓ Méthode Biofilm Crystal violet, souches commensales

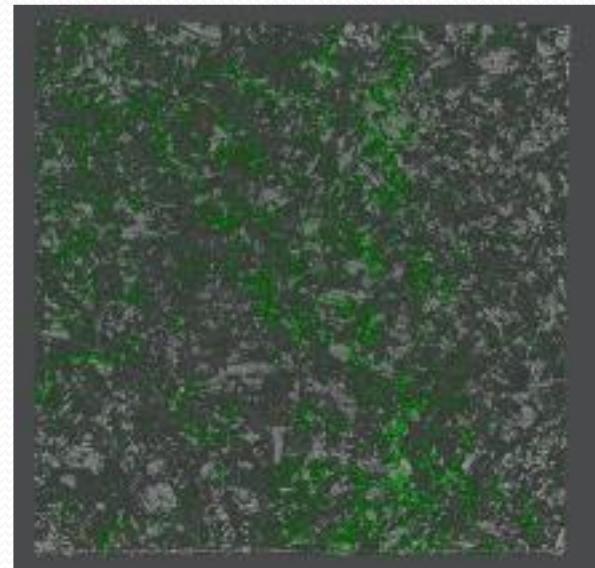
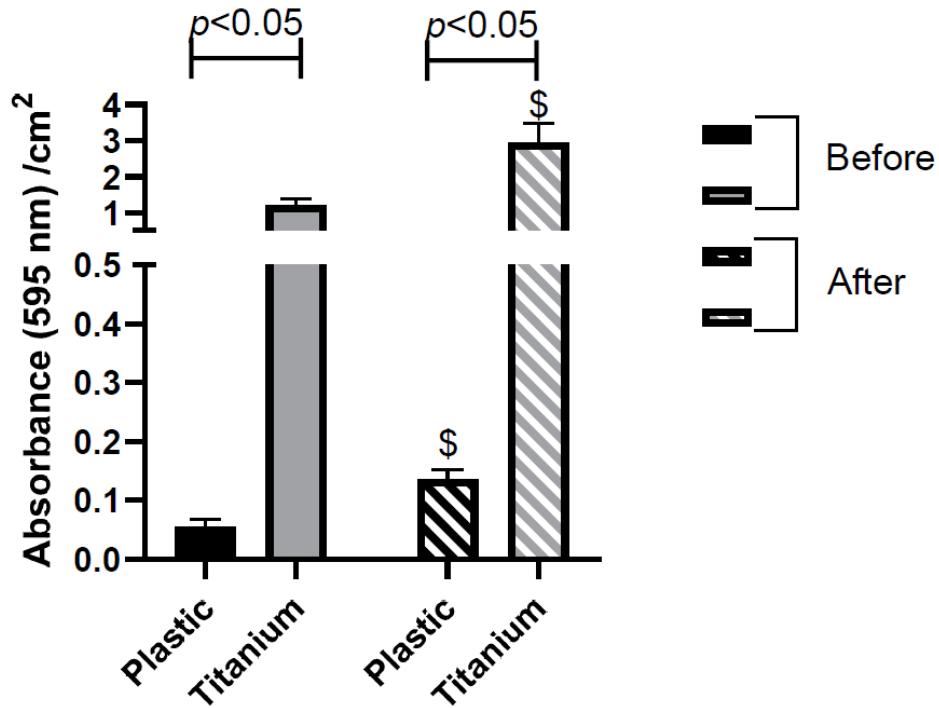


- ✓ Augmentation production biofilm après internalisation (IA<sub>1</sub>, IC)
- ✓ Souche dépendant

- ✓ Internalisation 1 %
- ✓ Abs de cytotoxicité cellulaire par un test LDH

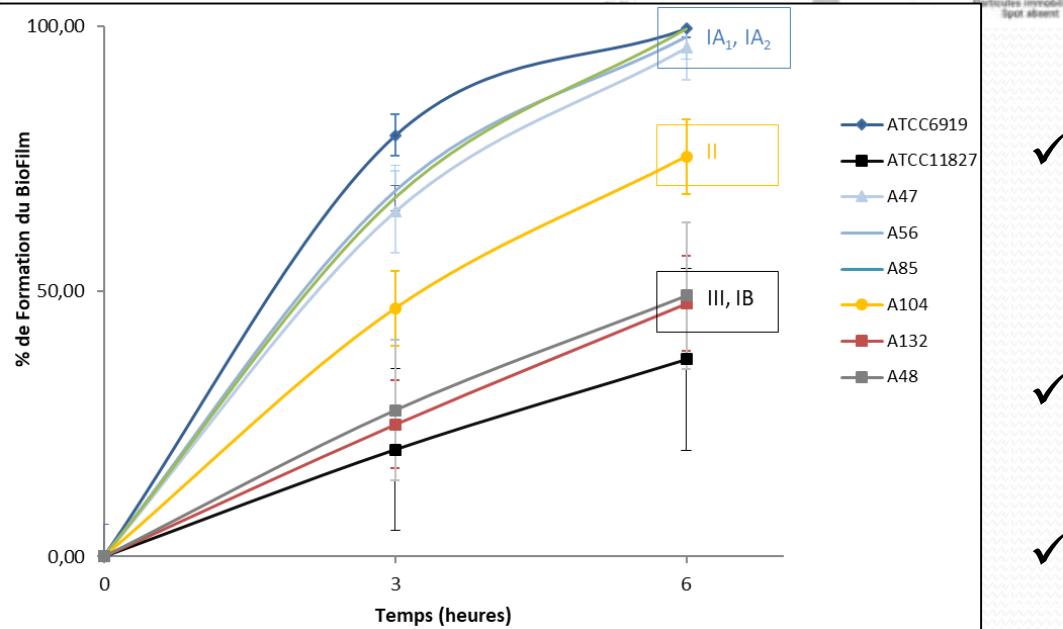
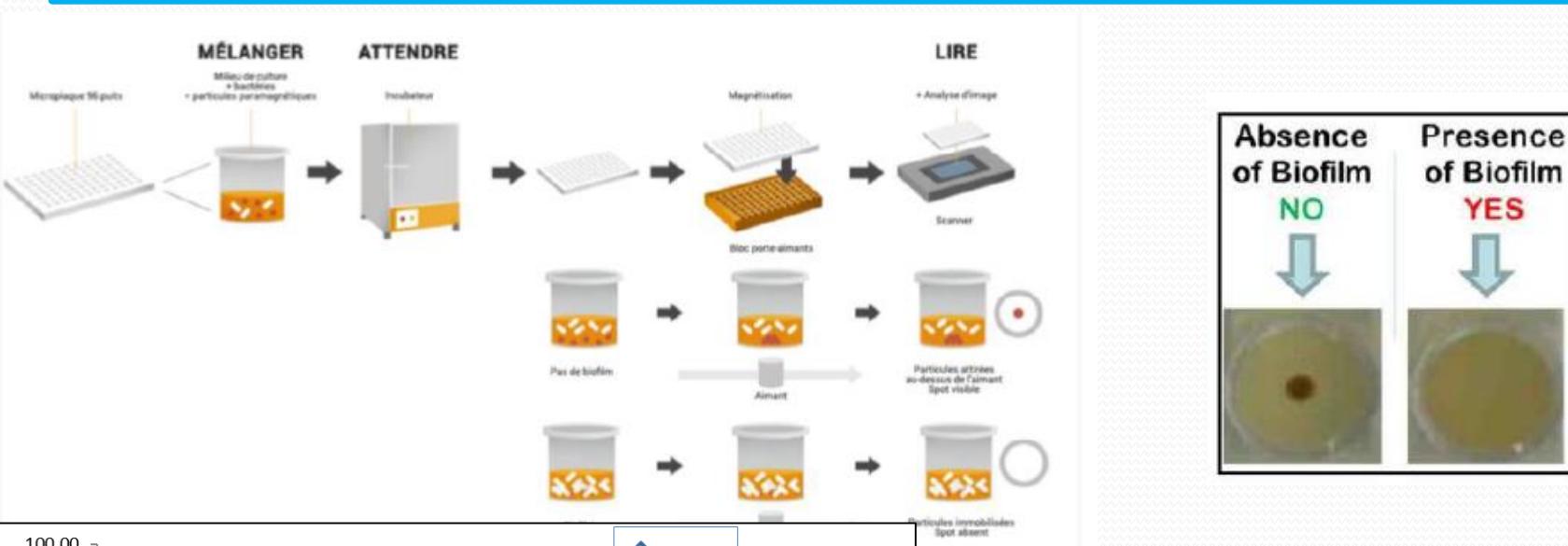
# Impact de la surface sur la formation du biofilm

- ✓ Formation du biofilm avant et après internalisation : plastique vs titane avec souches de différents phylotypes IA<sub>1</sub> !



- ✓ Augmentation facteur 22 production de biofilm
- ✓ Adaptation à l'environnement
- ✓ Souches phylotypes IB et II impliquées infections sur implants

# Impact de la méthode de détermination du biofilm de *C. acnes*

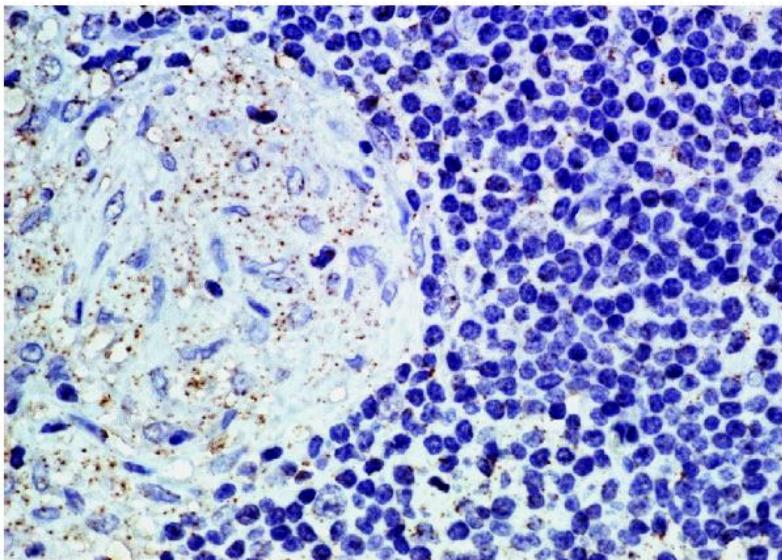


- ✓ Capacité plus importante des « phylotypes cutanés » à produire du biofilm :
- ✓ 1<sup>ère</sup> étapes d'adhérence
- ✓ SLST D1>>A1>K

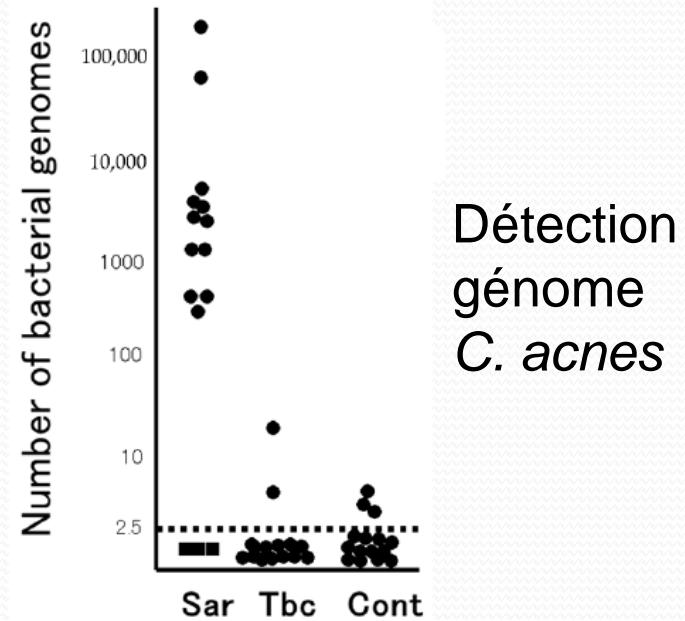
# Plan

- 1- Contexte des infections à *C. acnes* (sur matériel)**
- 2- Rappels sur *Cutibacterium acnes***
- 3- Organisation du génome**
- 4- Facteurs de virulence**
- 5- Interactions de *C. acnes* avec les cellules hôtes**
- 6- Impact du phylotype de *C. acnes* et biofilm**
- 7- Persistance de *C. acnes* et granulome**
- 8- Ce qu'il faut retenir**

# Interactions *C. acnes* – cellules immunitaires

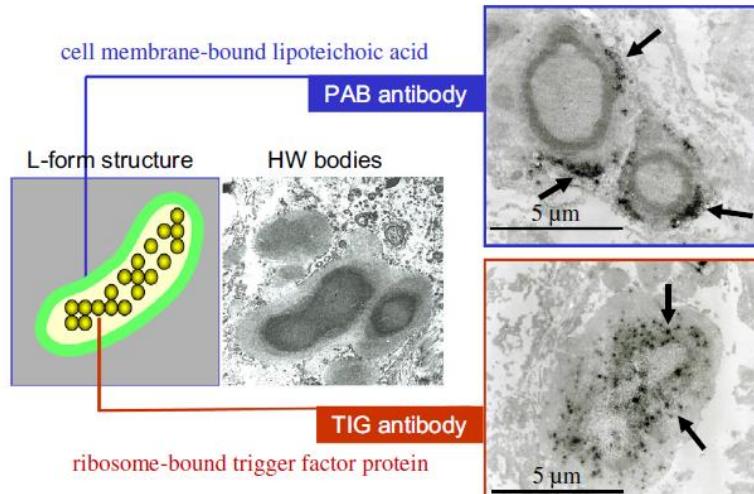


Granulome pulmonaire détection de *C. acnes*

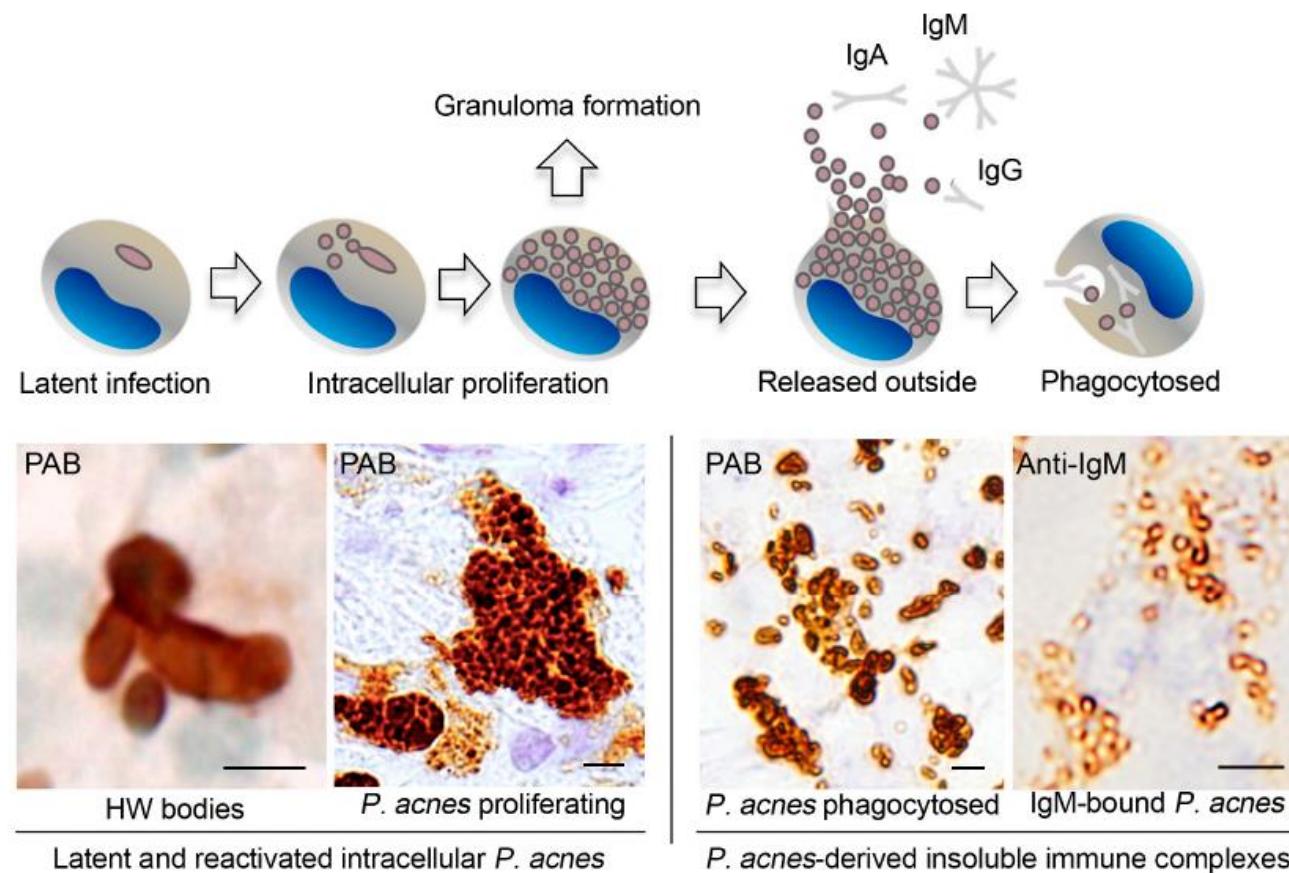


Détection génome *C. acnes*

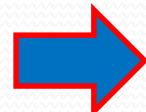
- ✓ Infection latente au niveau pulmonaire et ganglionnaire
- ✓ Bactérie avec paroi bactérienne déficiente
- ✓ Mais forme dormante qui peut proliférer fonction stimuli



# Interactions *C. acnes* – cellules immunitaires



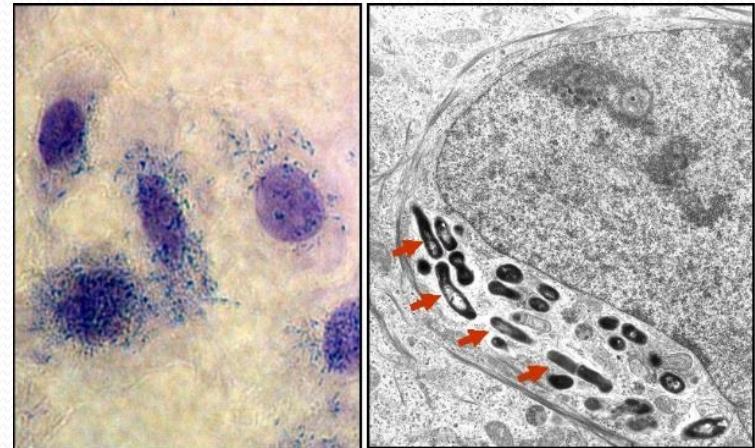
- ✓ Rôle des macrophages dans la sarcoïdose et la prostate
- ✓ Différents stades et formation complexes immuns
- ✓ Inflammation chronique au niveau de la prostate



Modèle expérimental de granulome : preuve de concept

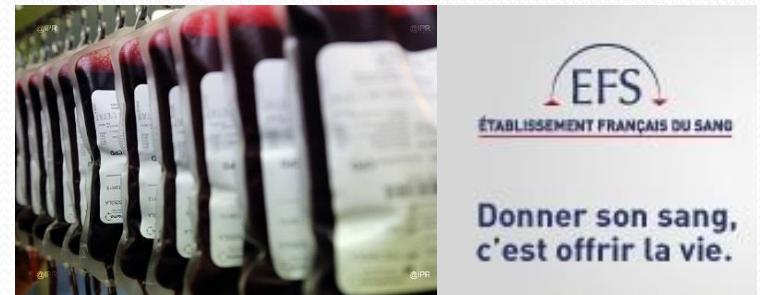
# Interactions *C. acnes* – cellules immunitaires

- ✓ 3 isolats de *C. acnes* :
  - ATCC6919 : **CC18, IA<sub>1</sub>**, acné
  - BL : **CC36, IB** IOA sur prothèse
  - S8 : **CC28, IA<sub>2</sub>**, sarcoïdose

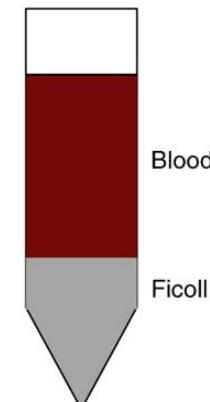


## Méthodes :

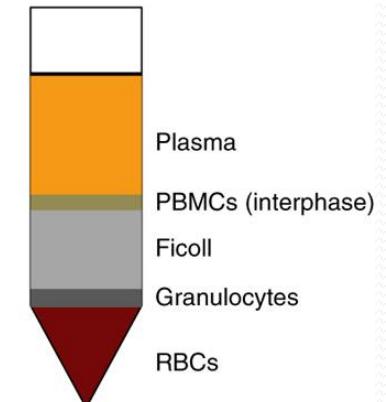
- ✓ CLP (EFS) → PBMC : Infection
- ✓ Agrégation cellulaire
- ✓ Observation granulomes
- ✓ Cytométrie en flux



Layers before Ficoll spin



Layers after Ficoll spin



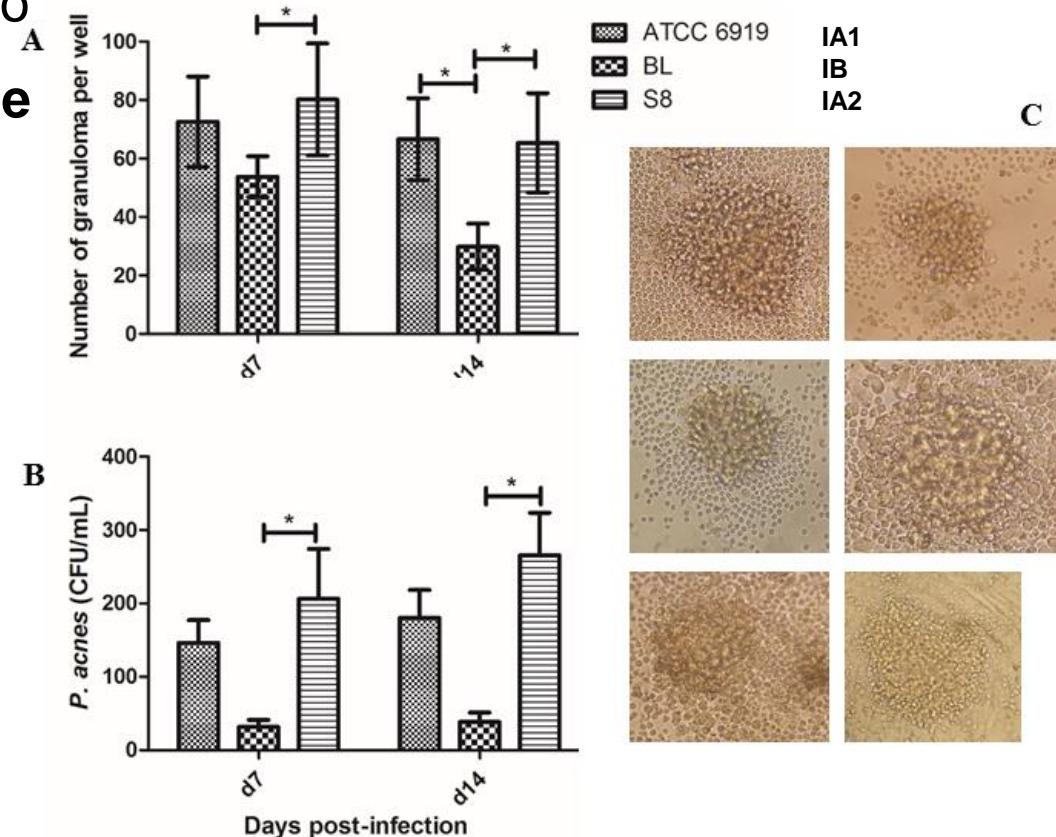
# Interactions *C. acnes* – cellules immunitaires

✓ Mise au point sur PBMC fraîchement recueillies

✓ MOI retenue 1b:1000 Mono

✓ Réponse granulomateuse

p < 0,05

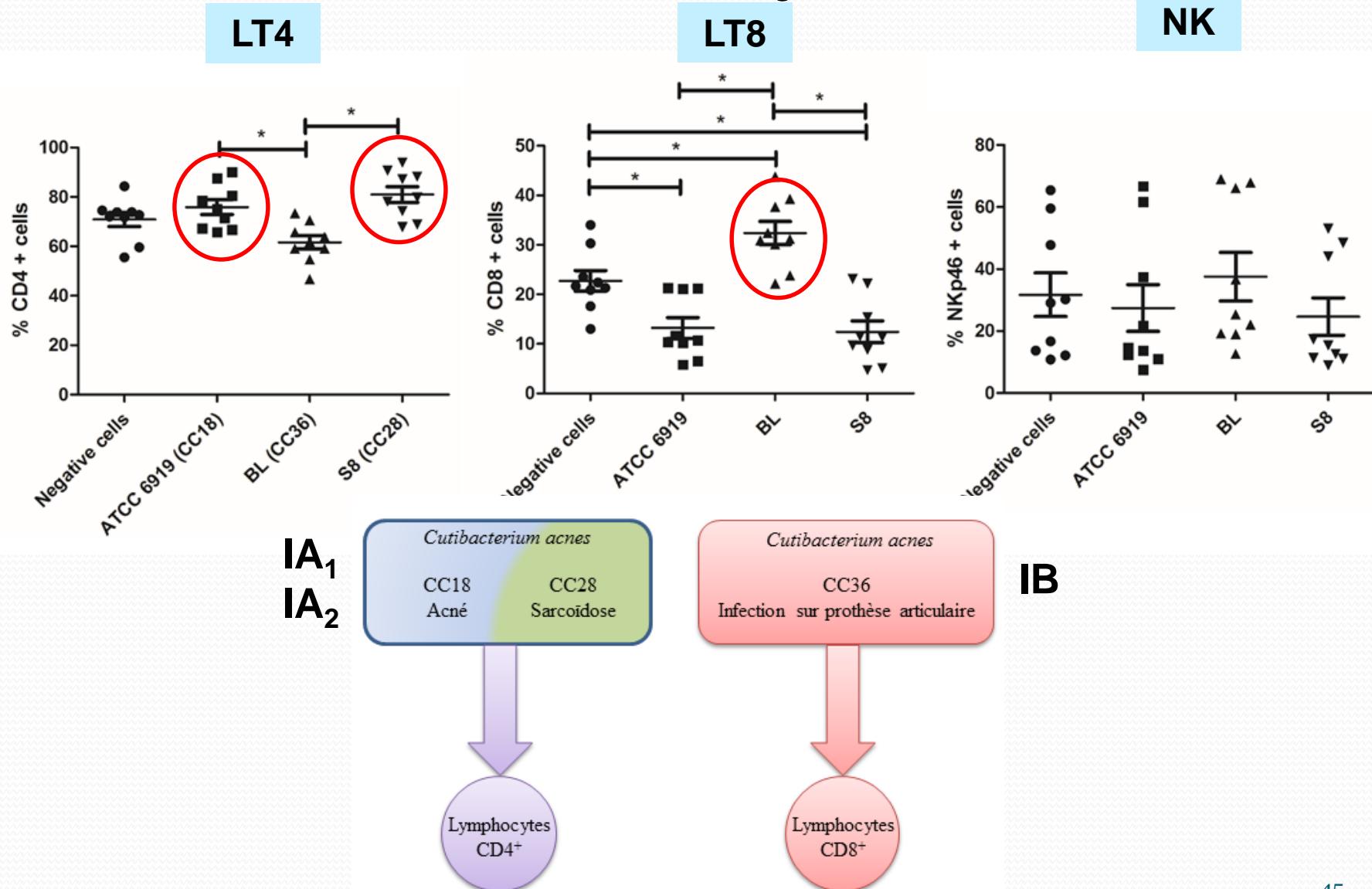


→ Nb de granulomes formés + important avec ATCC6919 et S8

→ Charge bactérienne plus importante avec isolat S8

# Interactions *C. acnes* – cellules immunitaires

- ✓ Quel recrutement cellulaire au sein des granulomes ?

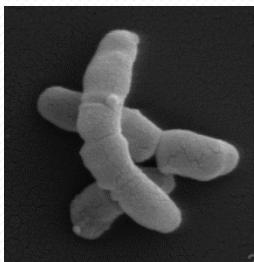


# Interactions de *C. acnes*

## Rôle de l'implant Adhérence



## Identification & phylotype de *C. acnes*

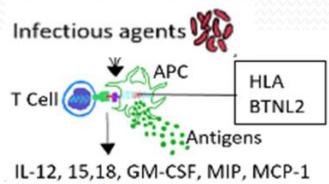


## Granulome Persistance Macrophage++

Cultures prolongées  
Délai de positivité



## Stimulation lymphocytaire



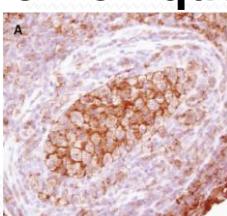
IL-12, 15, 18, GM-CSF, MIP, MCP-1

CD4+ T Cell

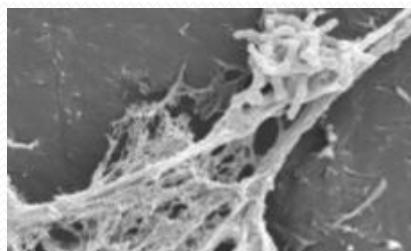
Th1 Cells

IL-2, IFN- $\gamma$

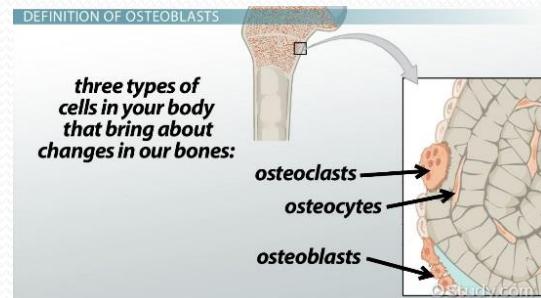
## Inflammation chronique



## Tolérance biofilm



## Interactions avec Ostéoblastes et clastes Internalisation/persistante



# Ce qu'il faut retenir

- ↳ Importance du phylotype dans la physiopathologie : **tropisme**
- ↳ Internalisation, persistance et/diffusion avec destruction des tissus  
=> **différence IB/II vs IA<sub>1</sub>**
- ↳ Capacité à former du biofilm différente en fonction du phylotype :  
=> **modification métabolisme**
- ↳ Stimulation de l'immunité, recrutement cellulaire lymphocytaire  
=> **évolution clinique, impact cytokinique local à étudier**
- ↳ Des questions à résoudre : internalisation des autres phylotypes ?  
mécanismes de régulation ?