

CONGRÈS
FRANÇAIS
d'HÉMOSTASE

Hôpitaux
Universitaires
de Marseille | ap.
hm

Aix*Marseille
université

MEPHI
Microbes Evolution Phylogeny and Infections

MÉDITERRANÉE
INFECTION

10-12
MAI
2023



Palais des Congrès

SAINT-MALO

Le Grand Large



Caractérisation des interactions entre plaquettes et *Escherichia coli*

Antoine MARIOTTI, Pr. Laurence CAMOIN

Laboratoire d'Hématologie - CHU Timone, Marseille
UMR-258 - Marseille

Interactions entre plaquettes et *Escherichia coli*

Rôle des plaquettes dans la réponse inflammatoire et anti-infectieuse

Participation aux phénomènes d'immuno-thromboses

Martinod K, Deppermann C. *Platelets*. 2021;32(3):314-324.
Mandel J, et al. *Int J Mol Sci*. 2022;23(7):3868.

Interactions entre les plaquettes sanguines et les bactéries Gram positives bien documentées

Hannachi N, Camoin-Jau L. *Int J Antimicrob Agents*.
2020;55(3):105890.

Peu de données disponibles sur les interactions entre les plaquettes et les bactéries Gram négatives

Escherichia coli impliquée dans 27,1% (6,5 - 57%) des bactériémies

- Fréquence augmentée chez certaines populations à risque

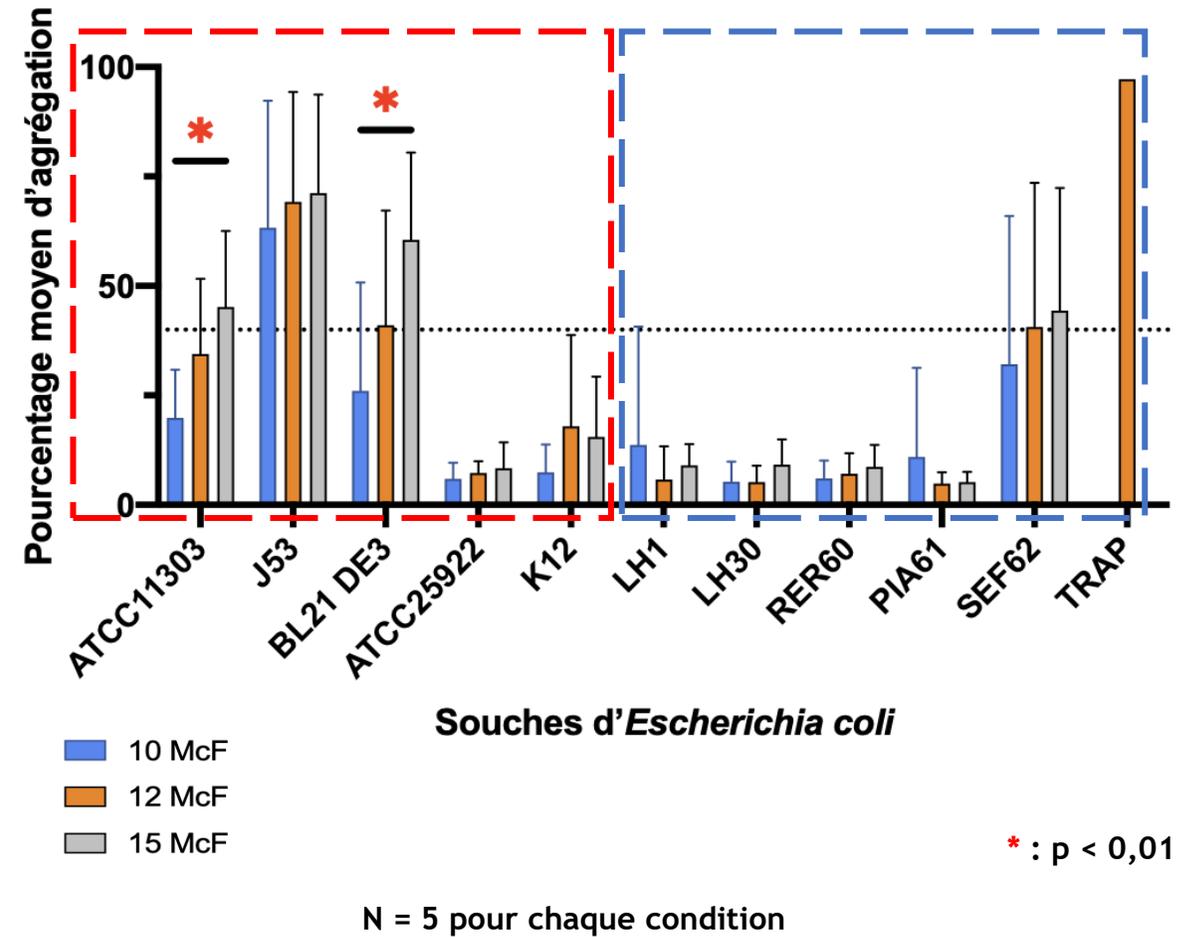
Bonten M, et al. *Clin Infect Dis*. 2021;72(7):1 211-1219.

Objectifs de l'étude

Évaluer les caractéristiques d'un large panel de souches d'*Escherichia coli* et déterminer les mécanismes de l'agrégation plaquettaire

4 souches sur 10 induisent une agrégation plaquettaire

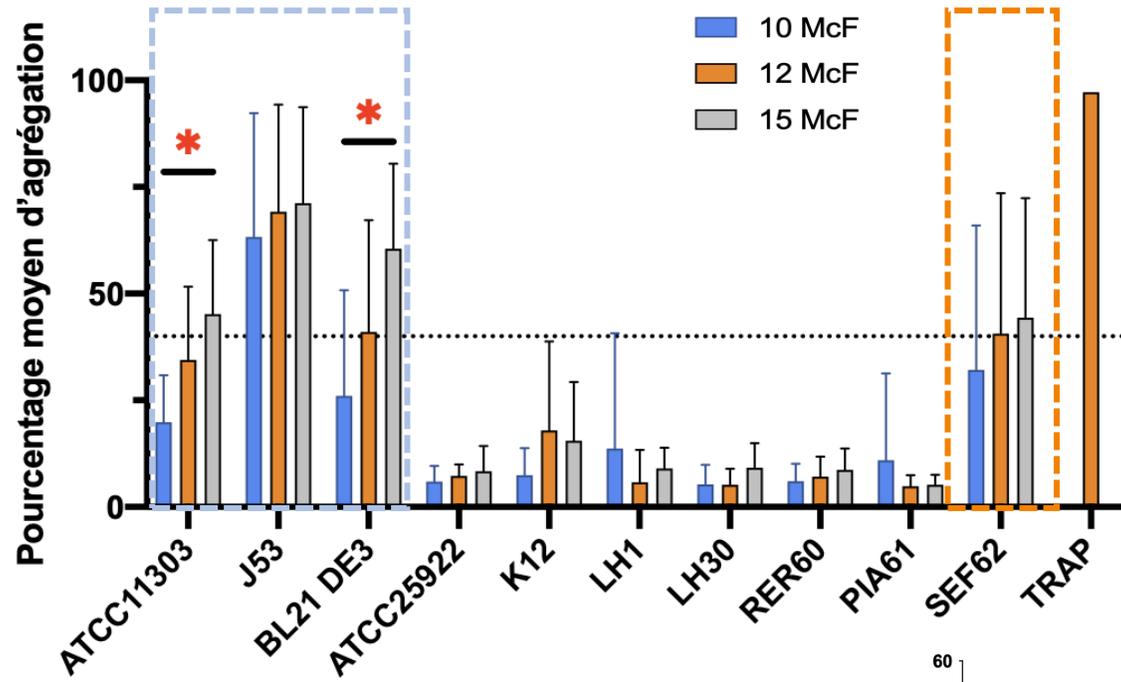
Souches d' <i>Escherichia coli</i>	Origine	Sensibilité à la colistine	Mécanisme de résistance
ATCC11303	Souche de référence	Sensible	S/O
J53	Souche de référence	Sensible	S/O
BL21 DE3	Souche de référence	Sensible	S/O
ATCC25922	Souche de référence	Sensible	S/O
K12	Souche de référence	Sensible	S/O
LH1	Humaine	Résistant	Gène mcr-1
LH30	Humaine	Résistant	Gène mcr-1
RER60/Q1065	Humaine (prélèvement pharyngé)	Résistant	Mécanisme inconnu
PIA61/Q1066	Humaine (prélèvement rectal)	Résistant	Mécanisme inconnu
SEF62/Q6269	Humaine (urine)	Résistant	Mécanisme inconnu



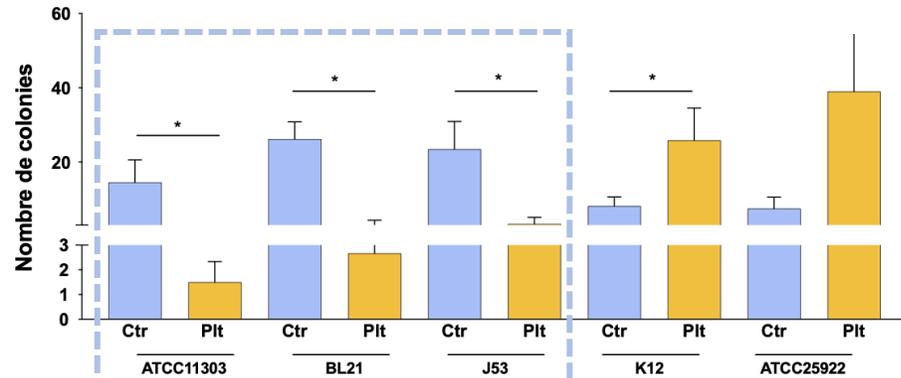
PRP préparé selon les recommandations SSC/ISTH 2013

Corrélation inverse entre agrégation plaquettaire et fonction bactéricide des plaquettes

Diminution de la croissance bactérienne en présence de souche pro-agrégante

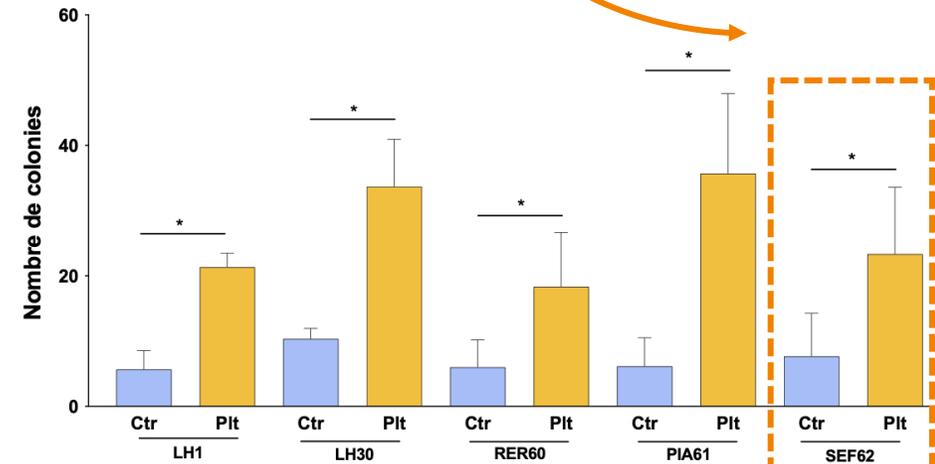


Augmentation de la croissance bactérienne avec les souches non agrégantes

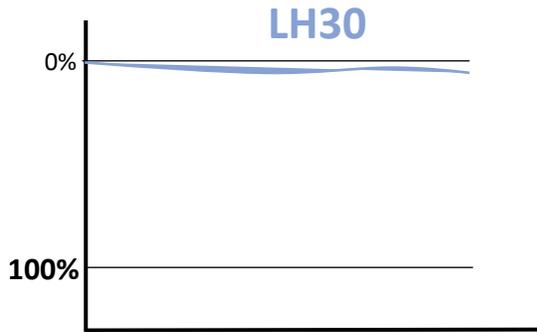


Souches d'*Escherichia coli*

* : $p < 0,05$
 ## : $p < 0,01$
 *** : $p < 0,001$
 #### : $p < 0,0001$



Aspect hétérogène des agrégats *plaquettes-Escherichia coli*

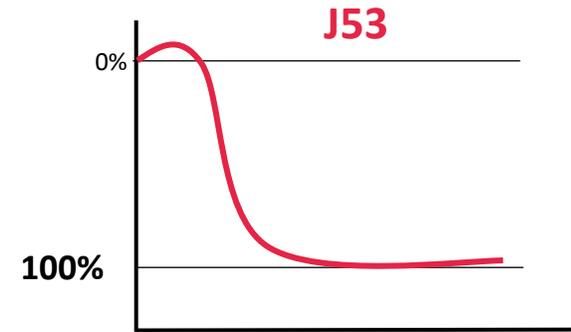
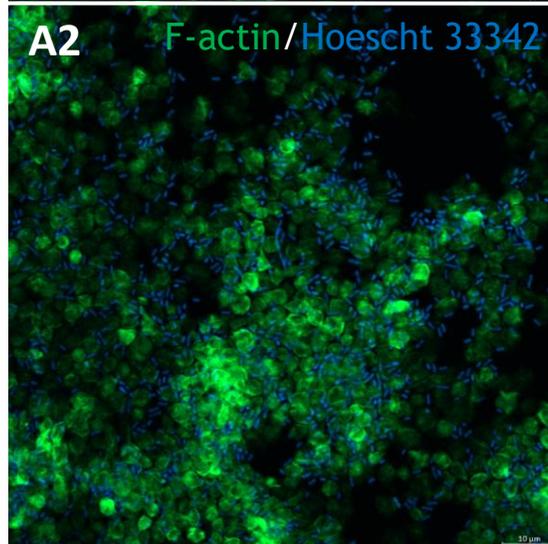
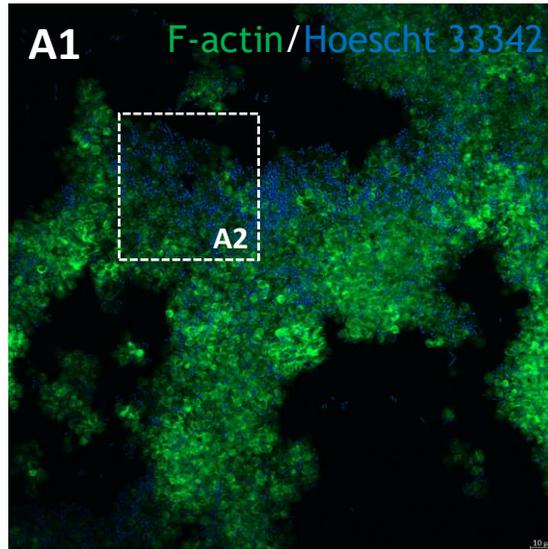


Absence d'agrégation plaquettaire

Bacilles intercalés entre les plaquettes

Aspect cytologique de plaquettes au repos

Rares plaquettes activées (pseudopodes)

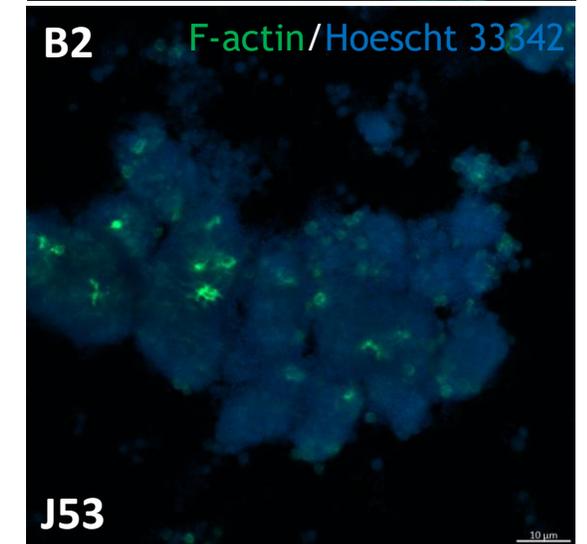
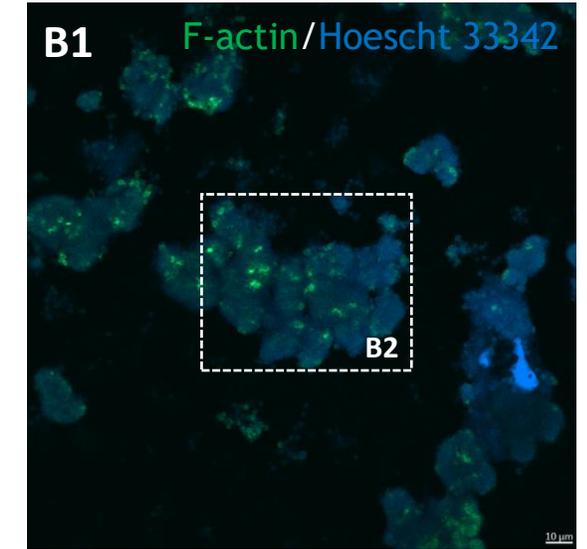


Forte agrégation plaquettaire

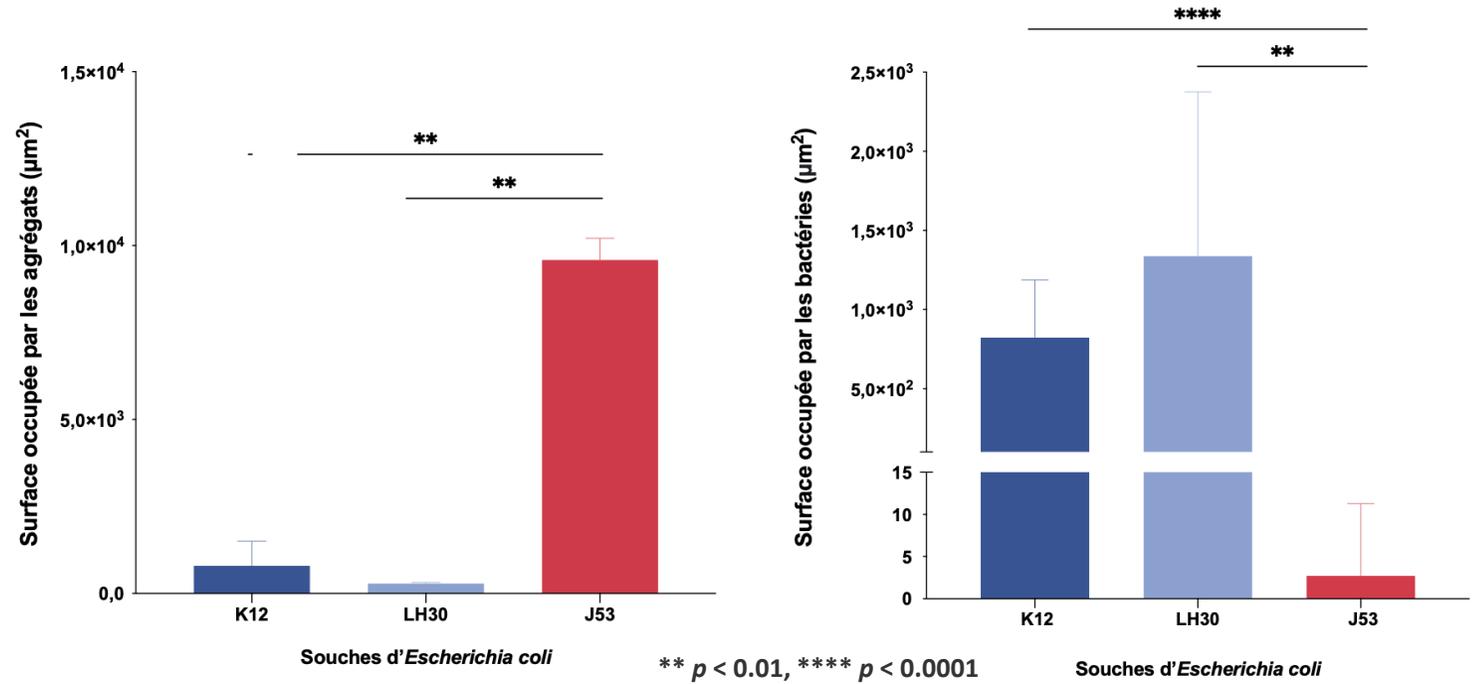
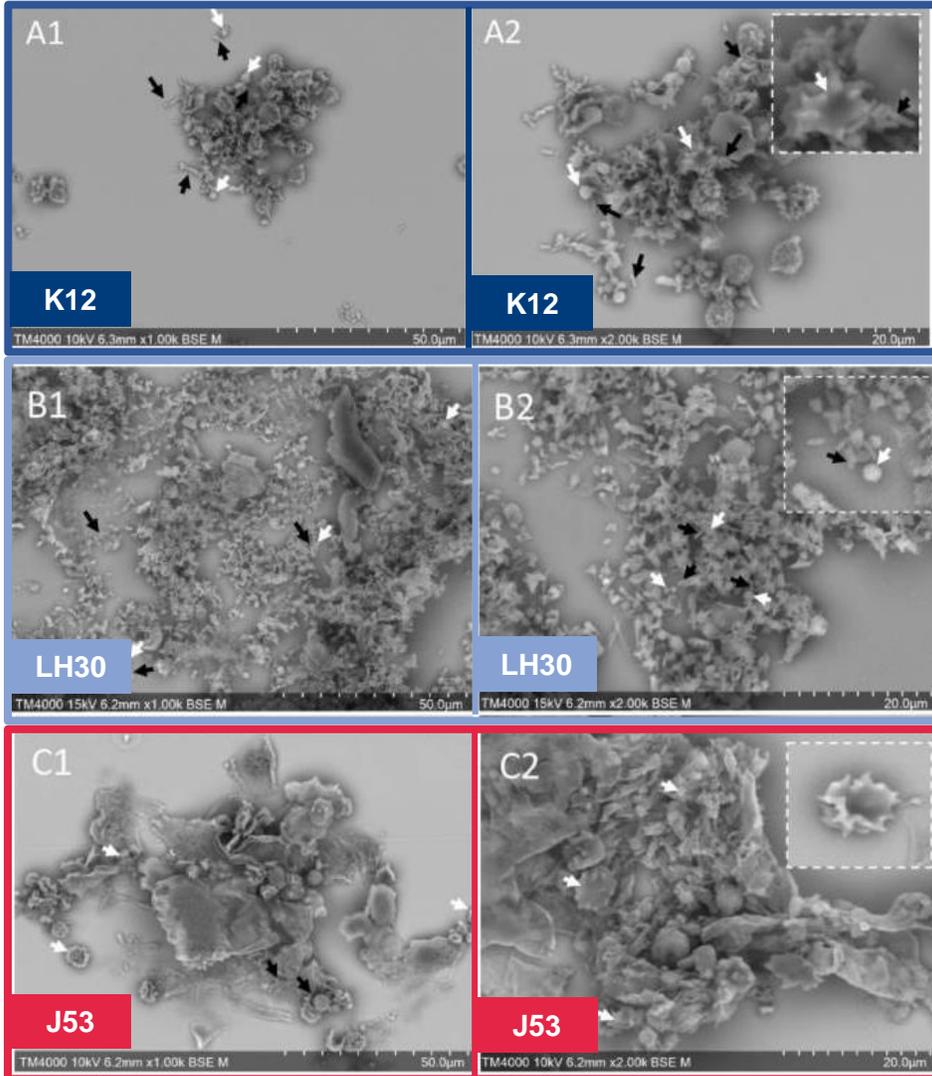
« Matrice amorphe »

Agrégats avec peu de plaquettes visibles, peu individualisables

Absence de bacilles libres



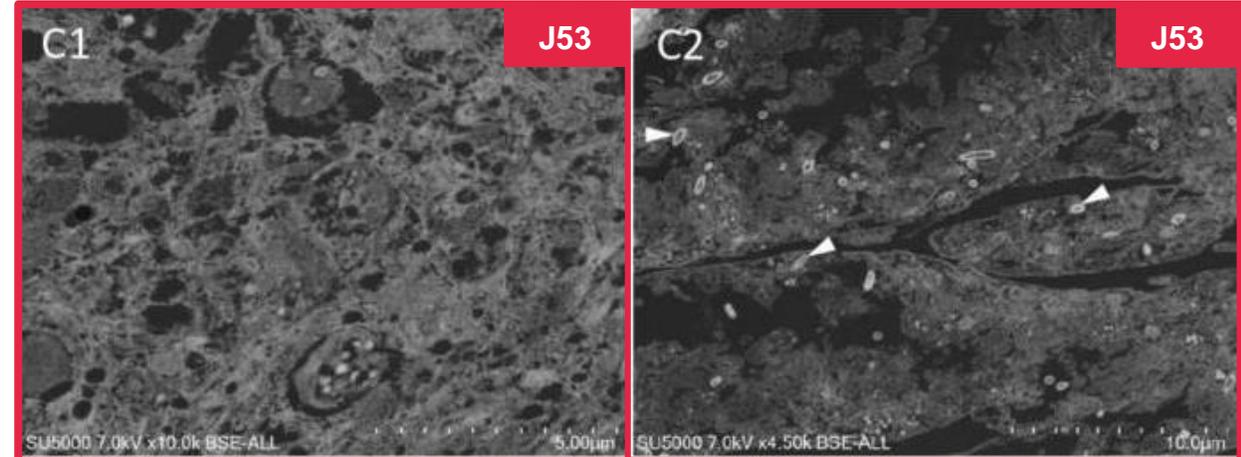
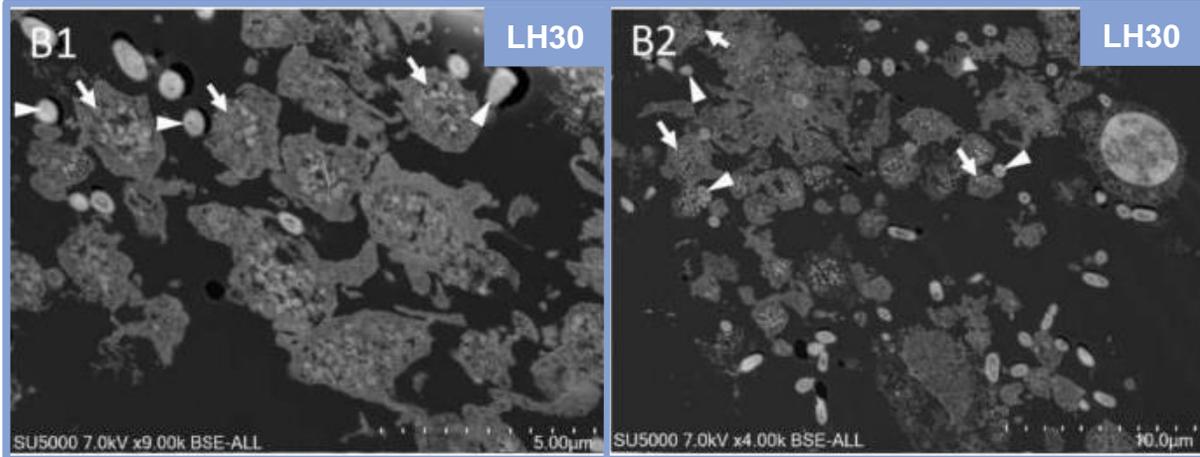
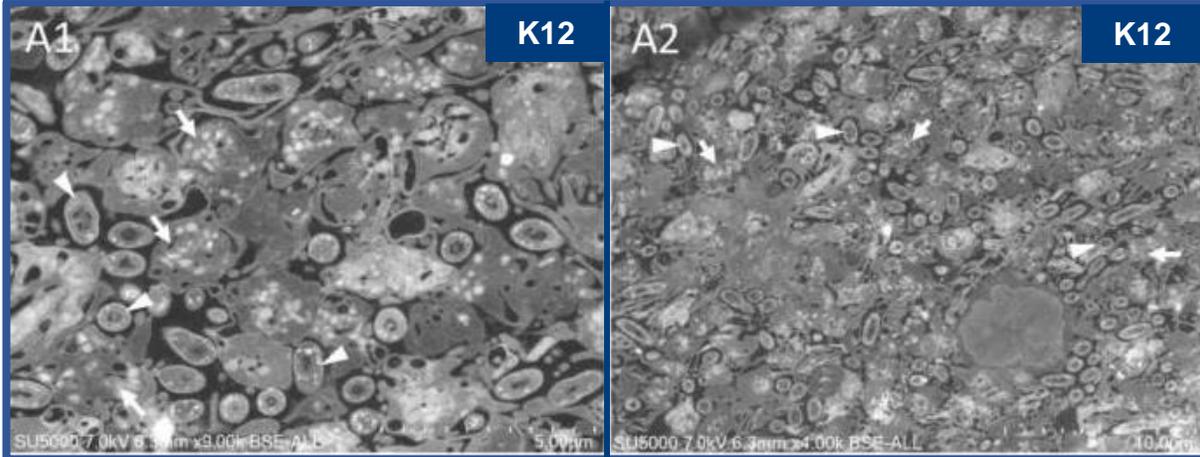
Structure des agrégats souche-dépendant



Souche	Plaquettes visibles	Bactéries visibles	Surface occupée par les agrégats
K12	+++	+++	-
LH30	+++	+++	-
J53	+	-	+++

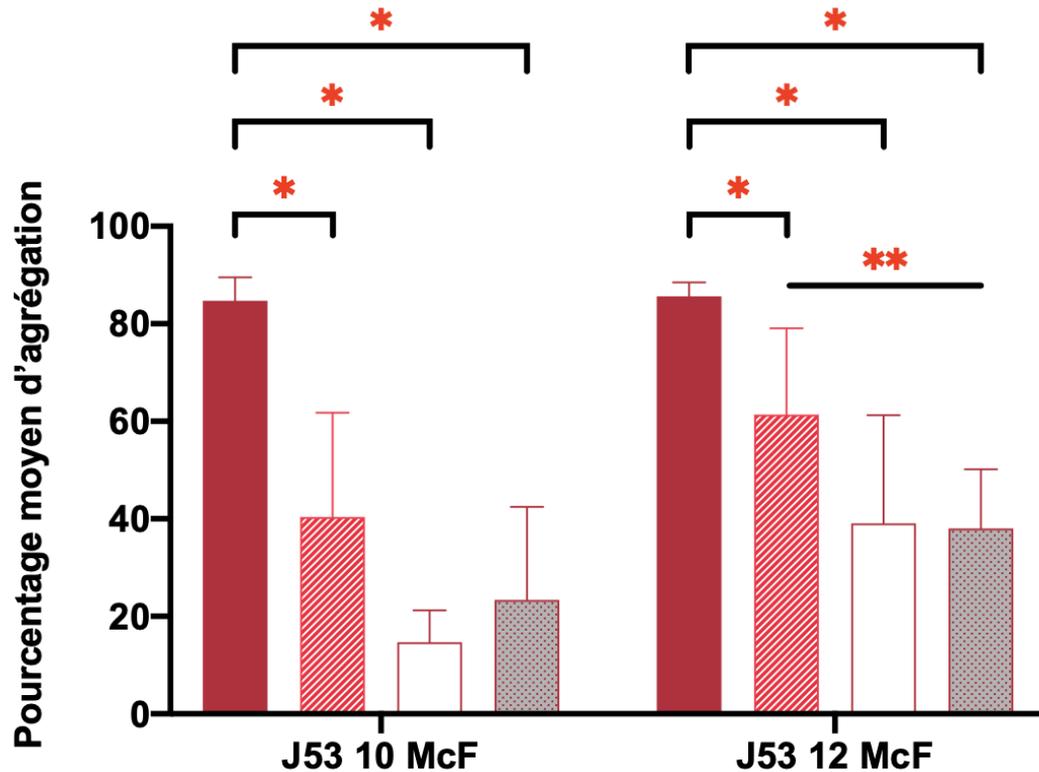
Flèche blanche : plaquette Flèche noire : bactérie

Structure des agrégats souche-dépendant (coupes ultrafines)



Souche	Intégrité plaquettaire	Localisation des bactéries par rapport aux plaquettes
K12	Conservée	Au sein des agrégats
LH30	Conservée	Côte à côte
J53	Altérée Aspect en « matrice amorphe »	Piégées dans la matrice amorphe

Les antiplaquettaires diminuent l'agrégation plaquettaire induite par la souche J53



Aspirine	-	+	-	+	-	+	-	+
Ticagrelor	-	-	+	+	-	-	+	+

N = 5 pour chaque condition

* = p < 0,01, ** = p < 0,05

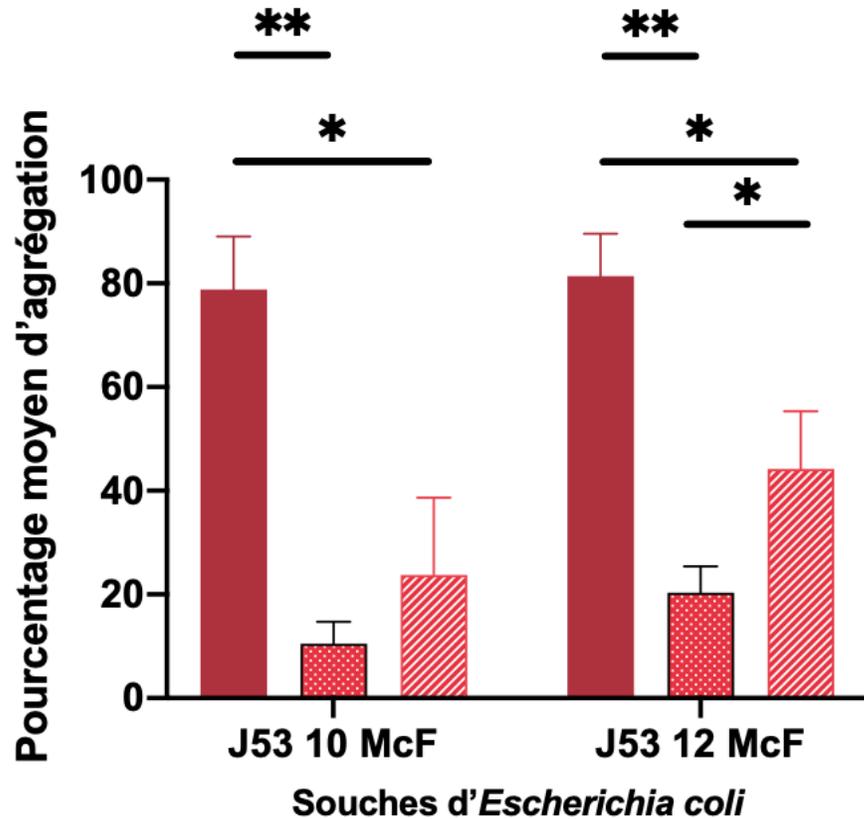
Diminution de l'agrégation plaquettaire après pré-incubation du PRP en présence d'aspirine (1 mM) ou de ticagrelor (10 µM)

Diminution plus importante du ticagrelor que de l'aspirine, mais non significative (p = 0,08)

Absence de supériorité de la bithérapie aspirine et ticagrelor par rapport à une monothérapie par ticagrelor seule

Persistance d'une agrégation concentration-dépendante en présence d'antiplaquettaire

Agrégation plaquettaire dépendante de la réorganisation du squelette d'actine



- Pas de traitement
- Cytochalasine D
- Ticagrelor

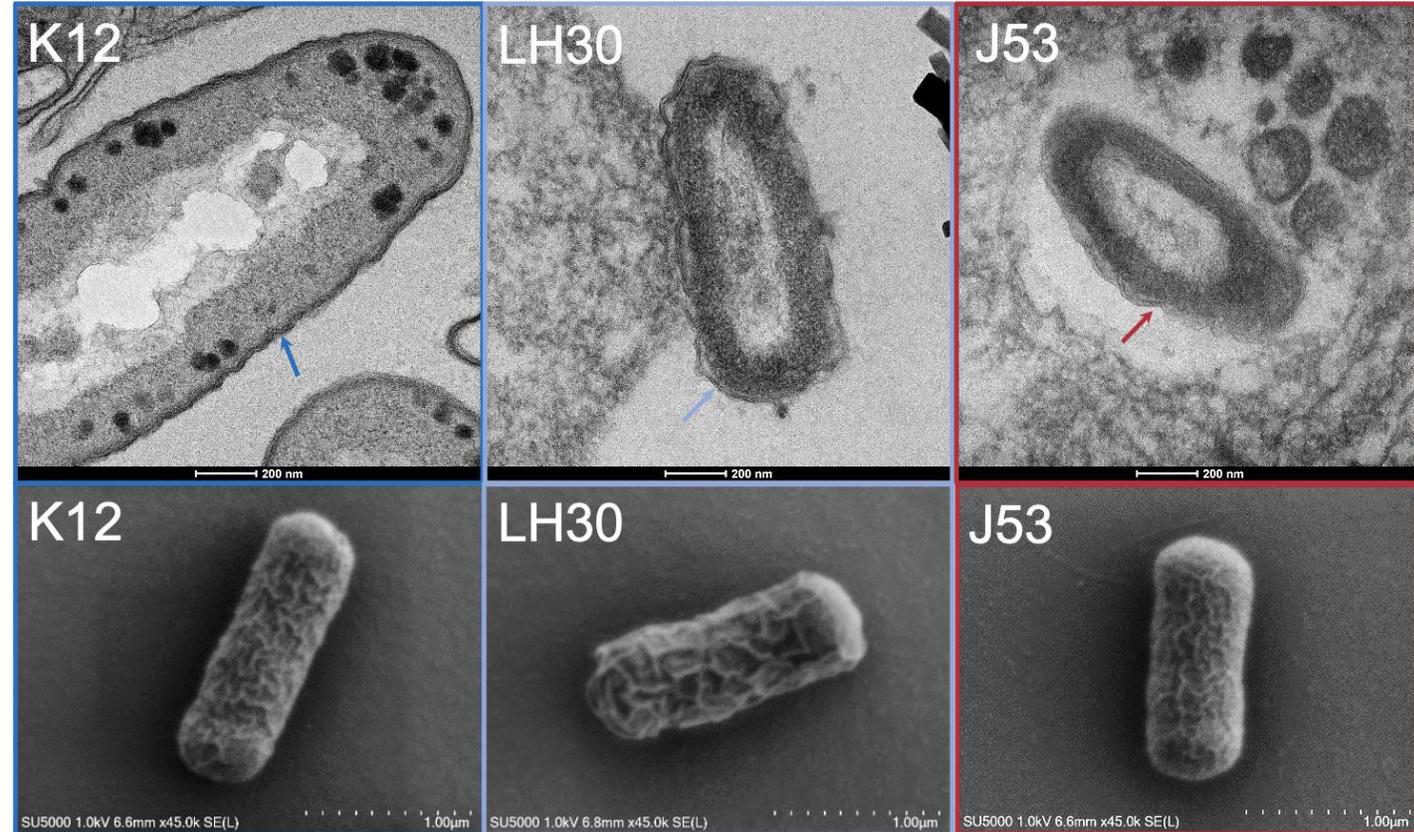
Inhibition supérieure au ticagrelor en présence d'un inhibiteur de la polymérisation de l'actine (cytochalasine D, 25 μ M)

Agrégation induite par la souche J53 induisant un remaniement du squelette d'actine intra-plaquettaire ?

N = 4 pour chaque condition

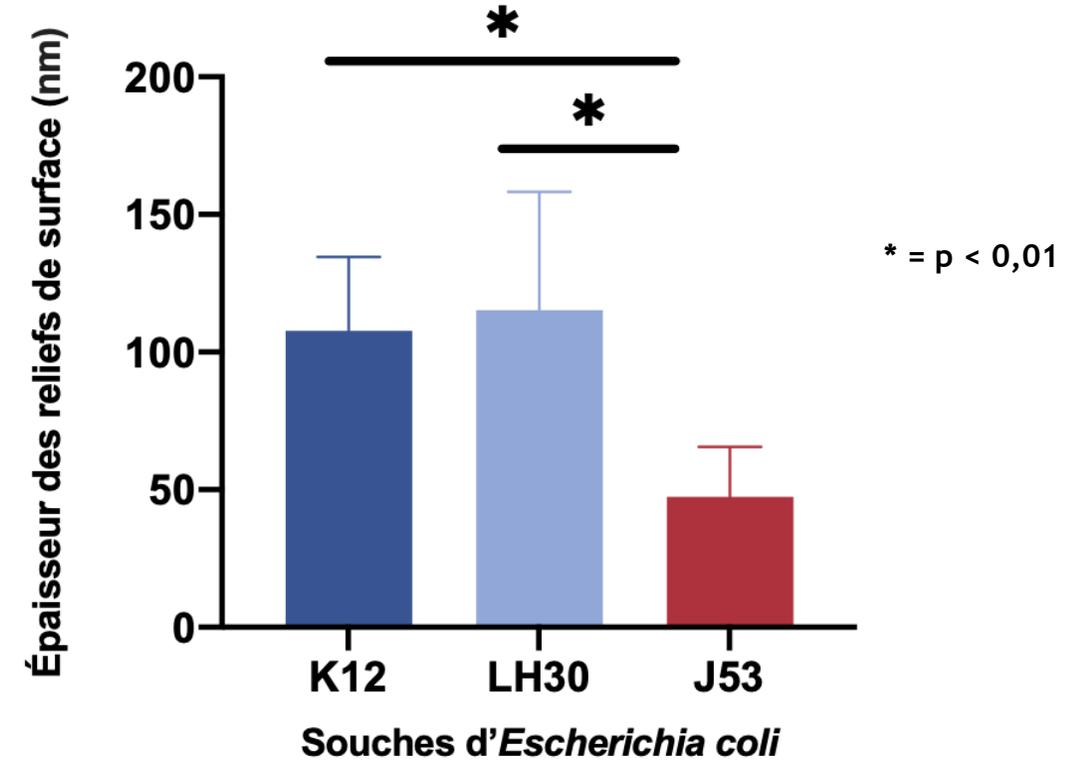
* = $p < 0,01$

Hétérogénéité de l'ultrastructure des souches d'*Escherichia coli*



Flèches : paroi bactérienne

Phénomène « d'encombrement stérique » empêchant l'interaction plaquette-bactérie



Mutations génétiques de gènes (*wbbL*) impliqués dans la synthèse de la paroi

Conclusion

L'agrégation plaquettaire induite par les souches d'*Escherichia coli* serait :

- souche-dépendante
- inversement proportionnelle à l'activité bactéricide des plaquettes sur ces souches

La structure des agrégats semble est :

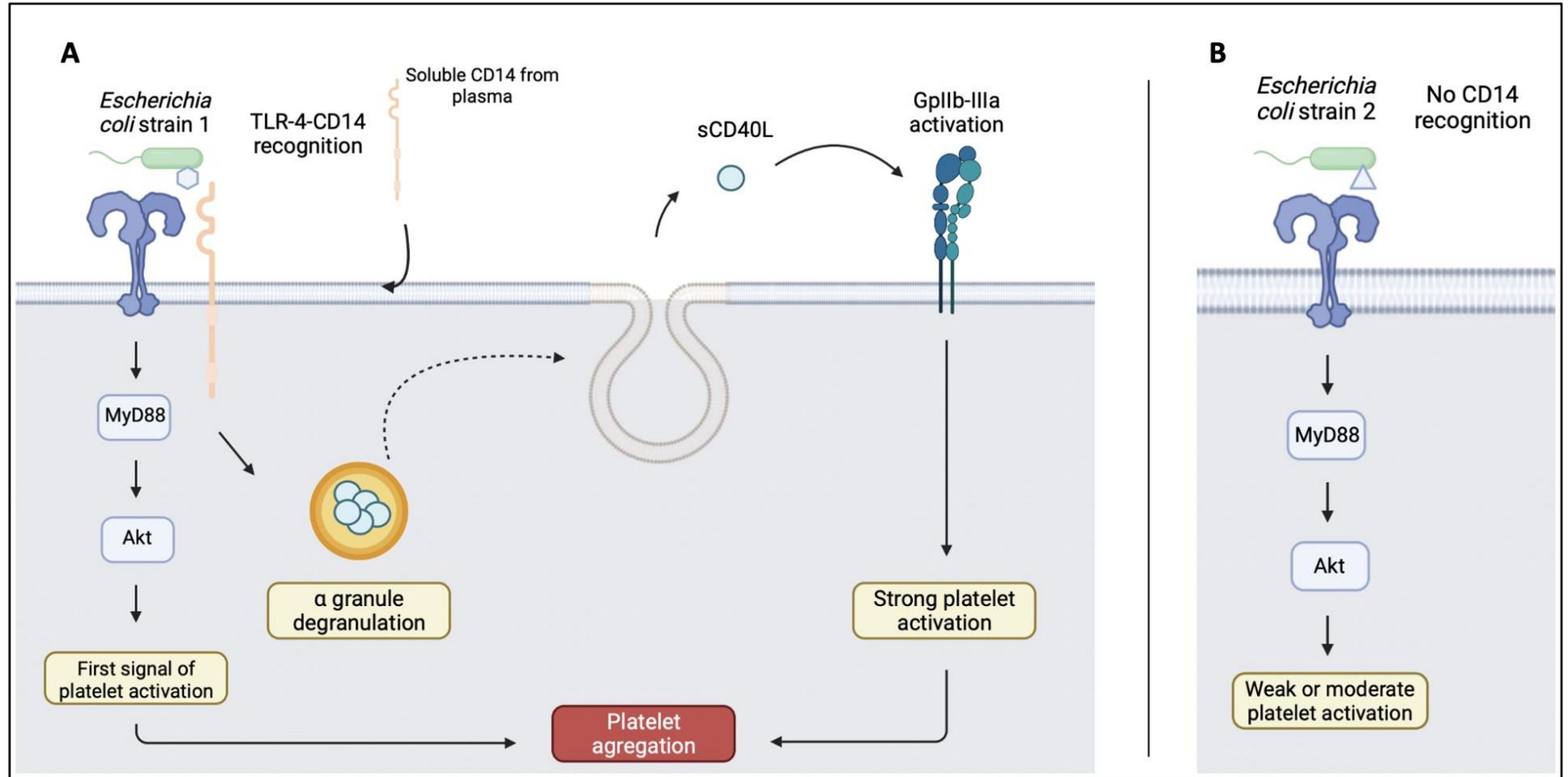
- souche-dépendante
- dépendante de la membrane de la bactérie

Agrégation *Escherichia coli* - plaquettes

- significativement diminuée par le ticagrelor
- secondaire à un remaniement du squelette d'actine responsable d'une dégranulation

Effet différencié des bactéries sur les plaquettes en fonction de leur LPS

Liaison au TLR-4 plaquettaire LPS-dépendante



Remerciements

Hôpitaux
Universitaires
de Marseille | ap.
hm

Dr Jean Pierre Baudoin
Dr Amina Ezzeroug
Dr Nadji Hannachi



Aix * Marseille
université



MEPHI
Microbes Evolution Phylogeny and Infections