

BCG et infections cutanées chroniques

élaboration d'un modèle animal

ACHILLES'IL



Achilles'IL-BCG : BCG en Intra-Lésionnel dans les IPD

Nicolas BLONDIAUX, MCU-PH

Laboratoire – Microbiologie, CH G. Dron, Tourcoing

CIIL, Inserm U1019 – CNRS UMR9017



Infections du pied diabétique

20% des
hospitalisations

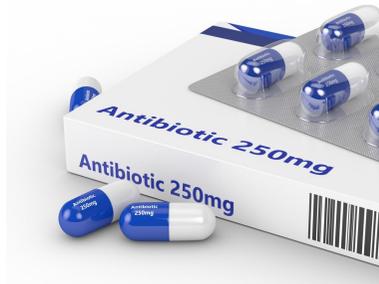


**50% des
amputations**
des MI =
diabétiques

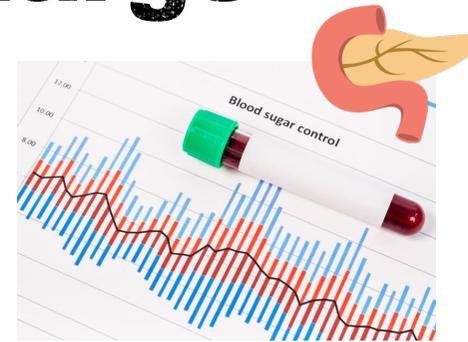
**1 amputation
toutes les 20 sec**
dans le monde



IPD : prise en charge



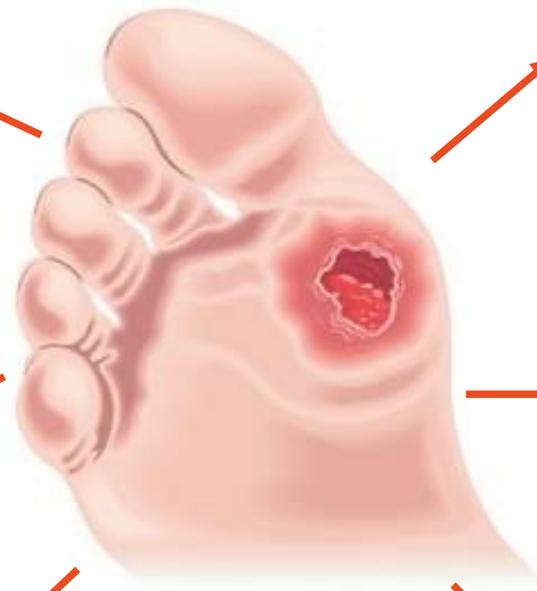
infectiologie



endocrinologie



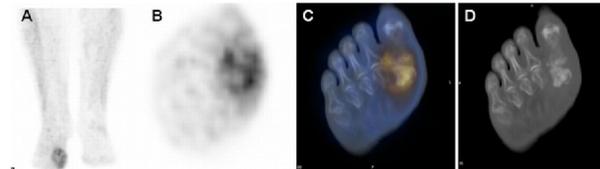
microbiologie clinique



rééducation fonctionnelle



chirurgie orthopédique et vasculaire



imagerie médicale



Pour quelle réussite ?

persistance : 20 à 25%
récidive : 40% à un an



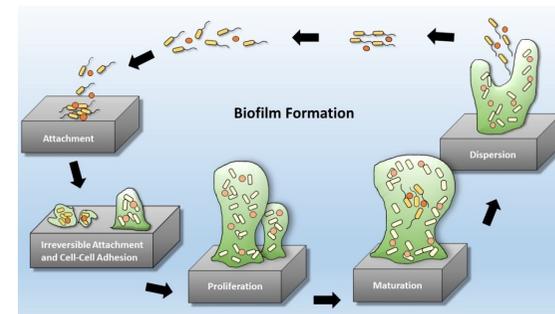
Résistance

Biofilm

Dysimmunité

Artériopathie

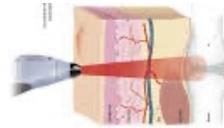
*cible PK/PD
non atteinte*



Thérapies alternatives



low-level laser therapy



Mathur, *Lasers Med Sci* 2017

inactivation bactérienne photodynamique



Kashef, *Iran J Microbiol* 2011

rHu-G-CSF



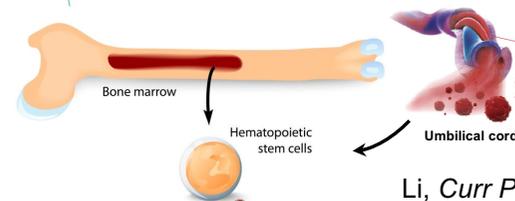
Barrientos, *Wound Repair Regen* 2014

bacteriophages



Chhibber, *PLoS ONE* 2013

cellules souches



Li, *Curr Pharm Des* 2014

oxygénothérapie hyperbare



Londahl, *Diabetes Care* 2010



la « BCG-thérapie »



Albert Calmette
(1863-1933)



Camille Guérin
(1872-1961)

Propriétés immunomodulatrices découvertes dès les **années 1970**

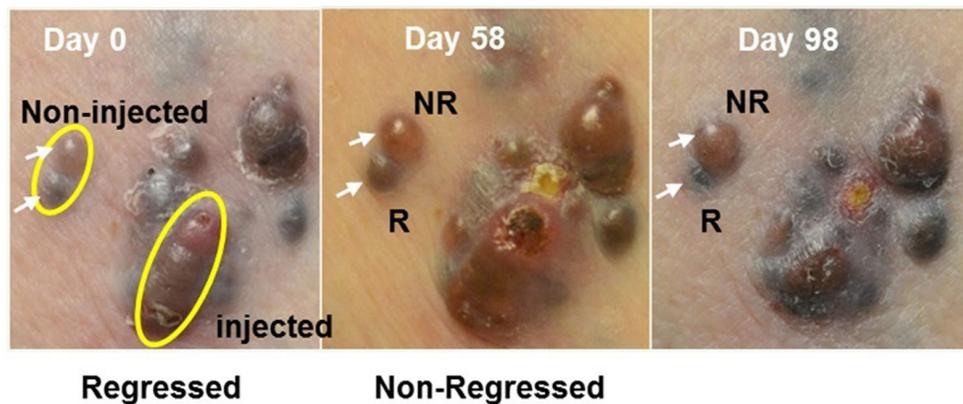
- ✓ Instillation intra-vésicale pour le traitement de tumeurs vésicales superficielles

Morales, *J Urol* 1976

Et depuis ...

Mélanome métastatique
inopérable

Pre-ILBCG (d0) Post-ILBCG (d135)



Yang, *Front Oncol* 2017



... et dans la plaie ?

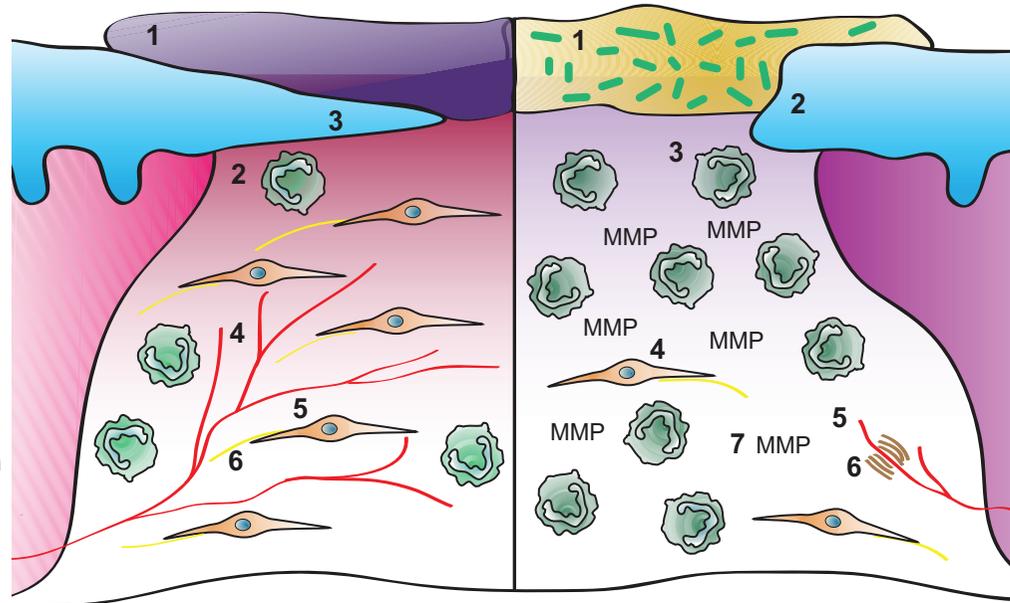
Plaie en voie de guérison / Plaie chronique infectée

Initial phase:

1. Scab formation
2. Immune cell infiltration

Healing phase:

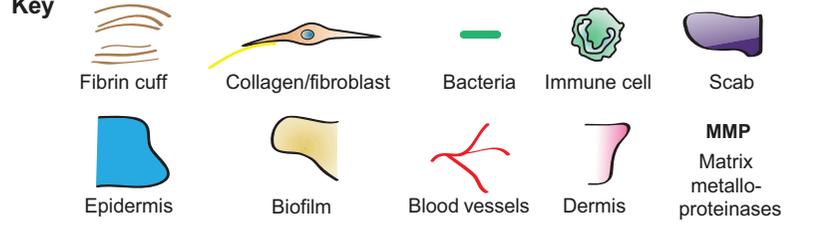
3. Re-epithelialisation
4. Angiogenesis
5. Fibroblast migration
6. Collagen deposition



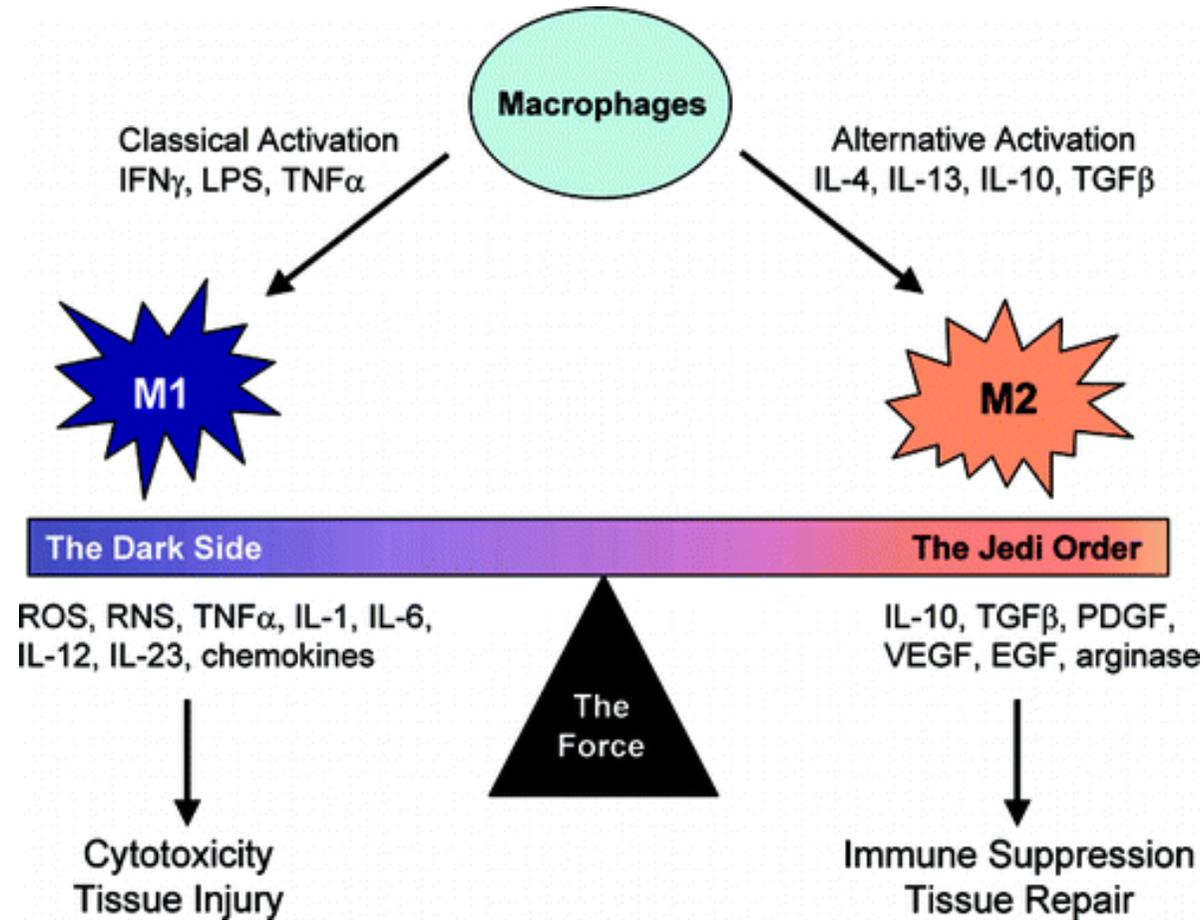
Chronic wound abnormalities:

1. Infection/biofilm
2. Hyperproliferative epidermis/ stalled re-epithelialisation
3. Persistent inflammation
4. Fibroblast senescence
5. Impaired angiogenesis
6. Fibrin cuffs (barrier to oxygen)
7. Elevated MMPs

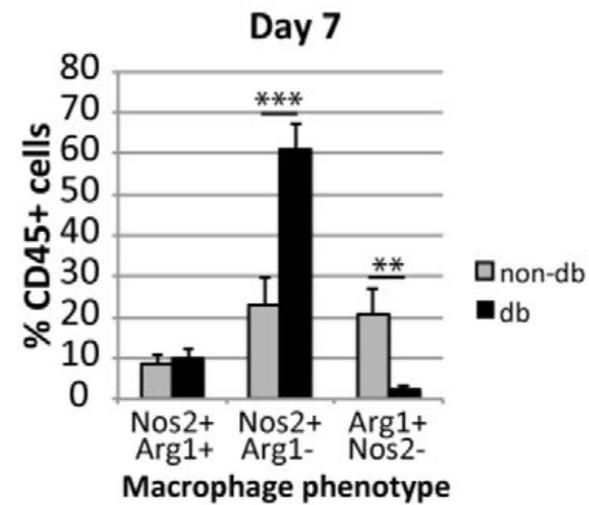
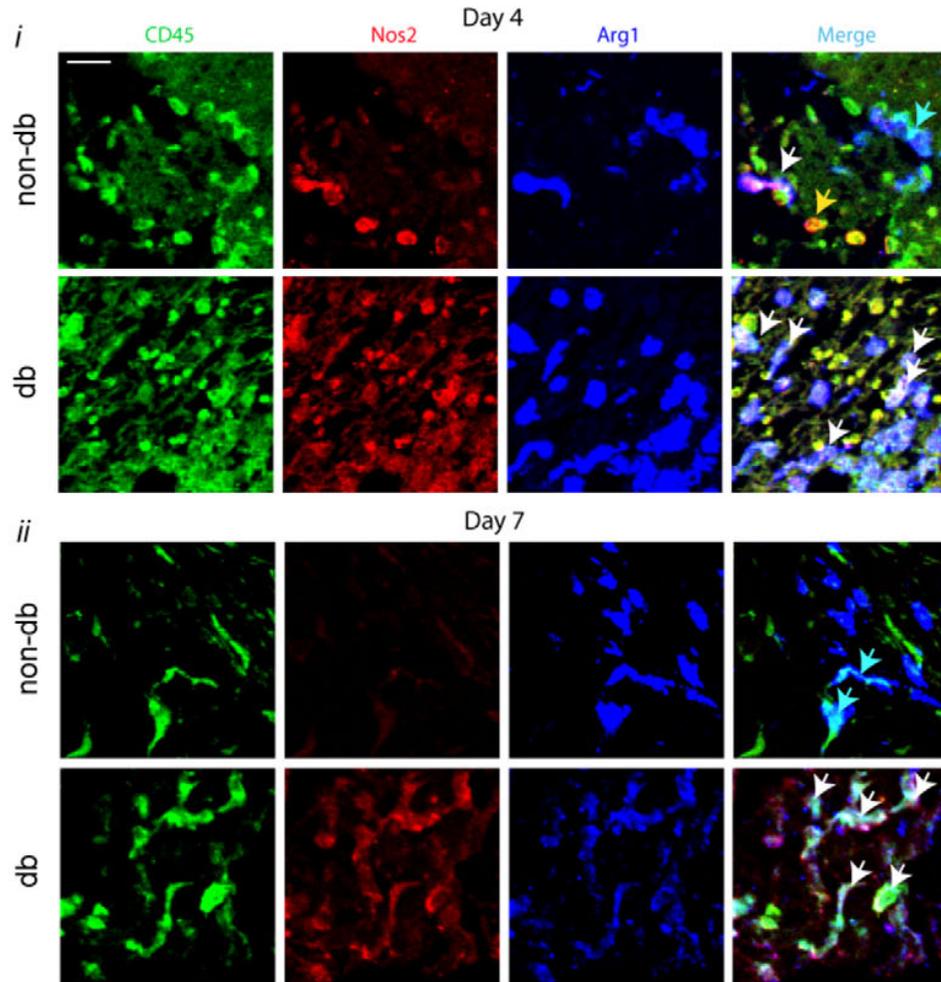
Key



Bring balance to the Force

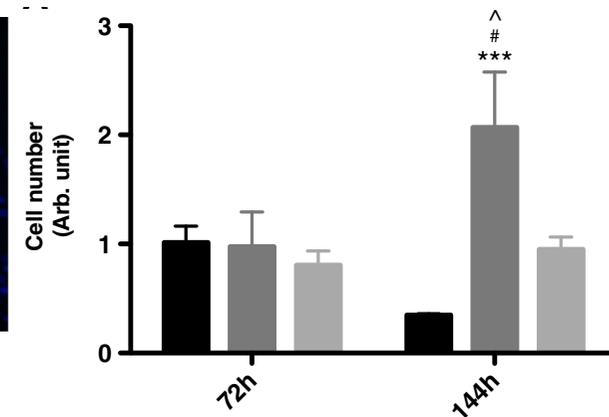
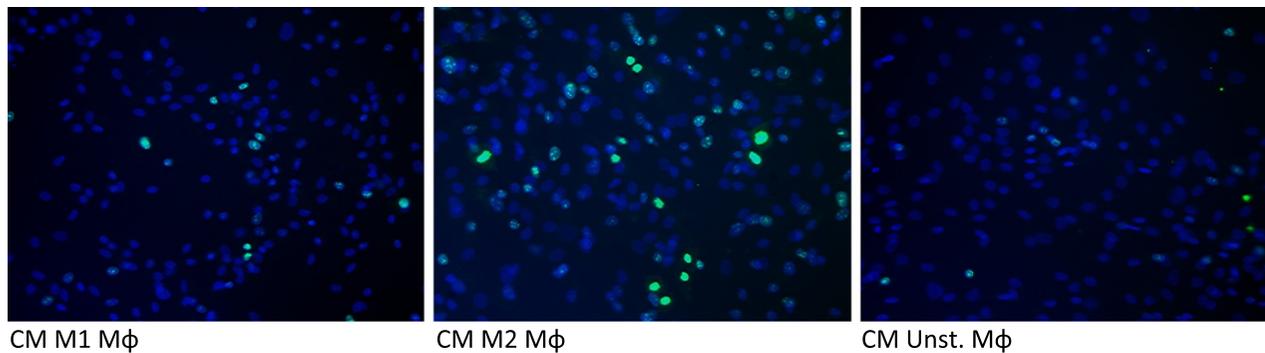


Perturbation du spectre d'activation macrophagique



Polarisation M2 nécessaire à la réparation cutanée

Les macrophages M2 promeuvent la prolifération des fibroblastes cutanés



Ploeger, *Cell Comm Signal* 2013

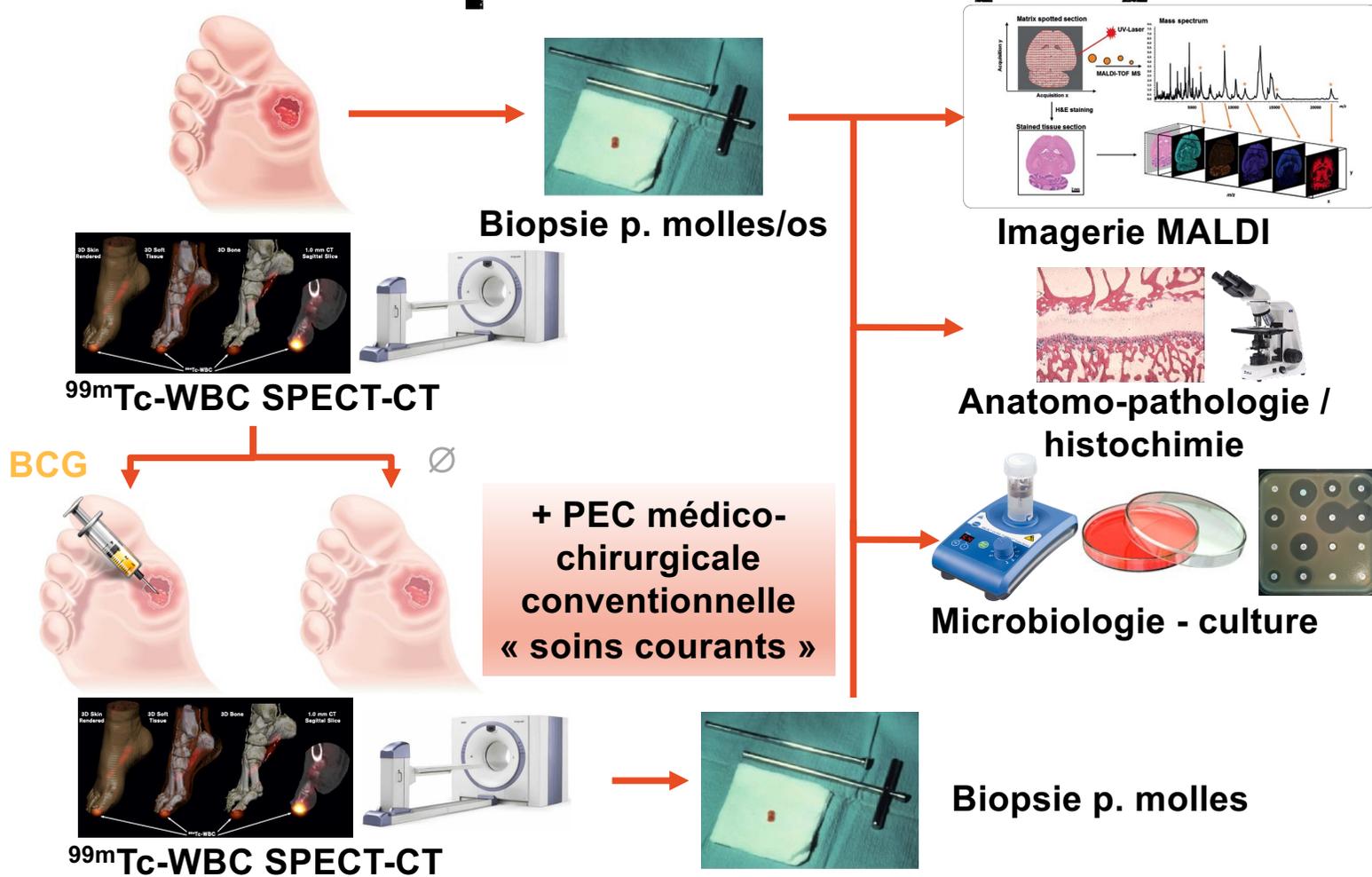
 **frontiers**
in Immunology

***Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette–Guérin Alters Melanoma Microenvironment Favoring Antitumor T Cell Responses and Improving M2 Macrophage Function**

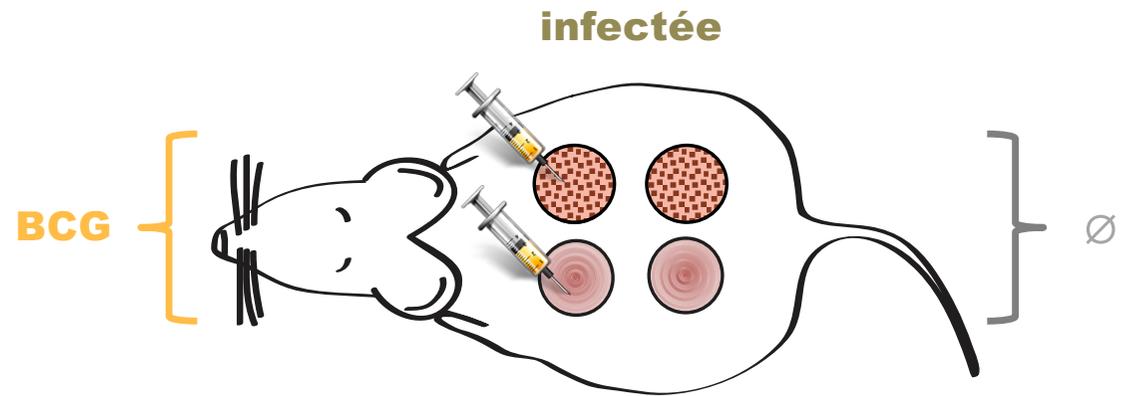
Ricardo D. Lardone^{1*†}, Alfred A. Chan^{1,2}, Agnes F. Lee¹, Leland J. Foshag³, Mark B. Faries⁴, Peter A. Sieling^{1†} and Delphine J. Lee^{1,2*}



BCG et infection du pied diabétique : notre projet



Modèle animal de pied diabétique



non-infectée



Guérison ?



Modèle animal de pied diabétique



Rat Goto-Kakizaki (GK)

Modèle non-obèse de T2D
Polygénique
Troubles métaboliques, hormonaux et vasculaires similaires à l'homme
Hyperglycémie, polyurie, sécrétion anormale d'insuline en réponse au glucose (*in vivo* et dans les cellules pancréatiques isolées)
Complications tardives : rétinopathie, microangiopathie, neuropathie et néphropathie



Rat Zucker Diabetic Fatty (ZDF)

Modèle obèse de T2D
Mutation *lepr*
Troubles métaboliques, hormonaux et vasculaires similaires à l'homme
Hyperglycémie, polyurie, hypertriglycémie
Complications tardives : rétinopathie, microangiopathie, neuropathie et néphropathie



Souris BKS.Cg-*Dock7*^m+/+*Lepr*^{db}J
(*db/db*)

Modèle obèse de T2D
Mutation spontanée homozygote *lepr*
Troubles métaboliques, hormonaux et vasculaires similaires à l'homme
Hyperglycémie, polyurie, hypertriglycémie
Atrophie des îlots bêta pancréatique.
Complications tardives : microangiopathie, neuropathie et néphropathie



Modèle animal de pied diabétique



Disponible qu'au Japon (1 élevage)

Fat Goto (Kakizaki) (GK)

Modèle non-obèse de T2D
Polygénique
Troubles métaboliques, hormonaux et vasculaires similaires à l'homme
Hyperglycémie, polyurie, sécrétion anormale d'insuline en réponse au glucose (*in vivo* et dans les cellules pancréatiques isolées)
Complications tardives : rétinopathie, microangiopathie, neuropathie et néphropathie



Problème hébergement IPL niv.2 chir spé

Rat Zucker Diabetic Fatty (ZDF)

Modèle obèse de T2D
Mutation *lepr*
Troubles métaboliques, hormonaux et vasculaires similaires à l'homme
Hyperglycémie, polyurie, hypertriglycémie
Complications tardives : rétinopathie, microangiopathie, neuropathie et néphropathie

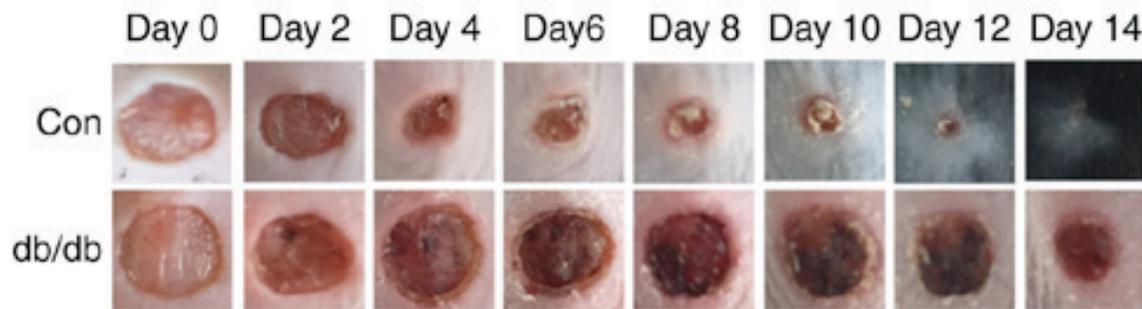


Souris BKS.Cg-*Dock7*^m+/+*Lepr*^{db}J
(*db/db*)

Modèle obèse de T2D
Mutation spontanée homozygote *lepr*
Troubles métaboliques, hormonaux et vasculaires similaires à l'homme
Hyperglycémie, polyurie, hypertriglycémie
Atrophie des îlots bêta pancréatique.
Complications tardives : microangiopathie, neuropathie et néphropathie



Problématique du modèle souris



Han, *Mol Med Rep* 2017

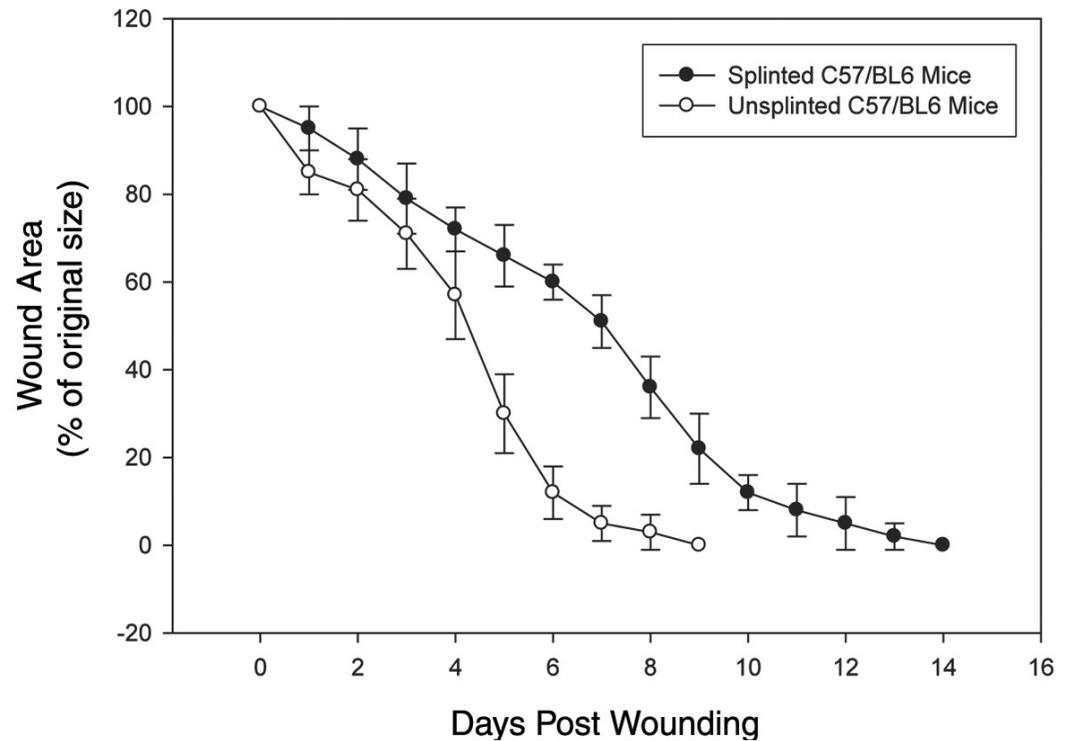
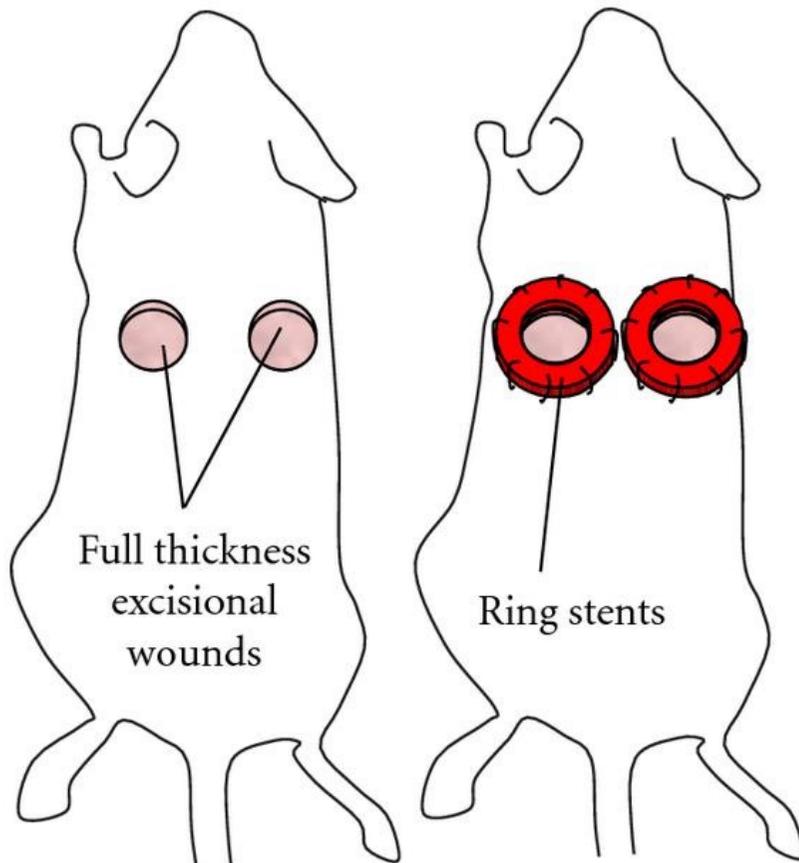


Critique récurrente de ce modèle = fermeture de la plaie, en majorité :

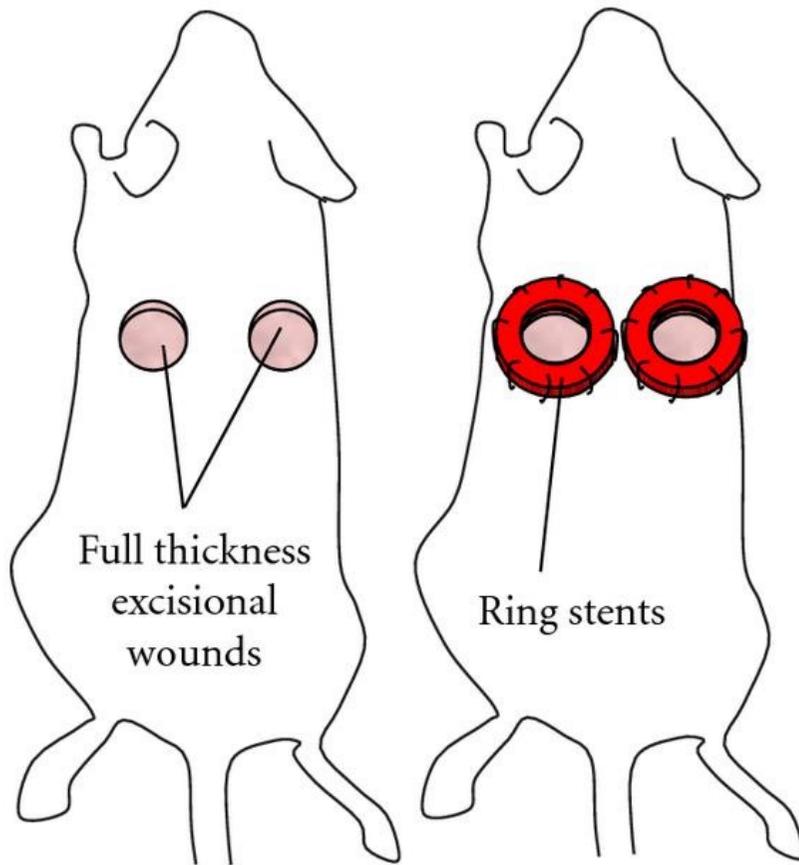
- chez la souris : **rétractation**
- chez l'homme : **réépithélialisation** et **tissu de granulation**



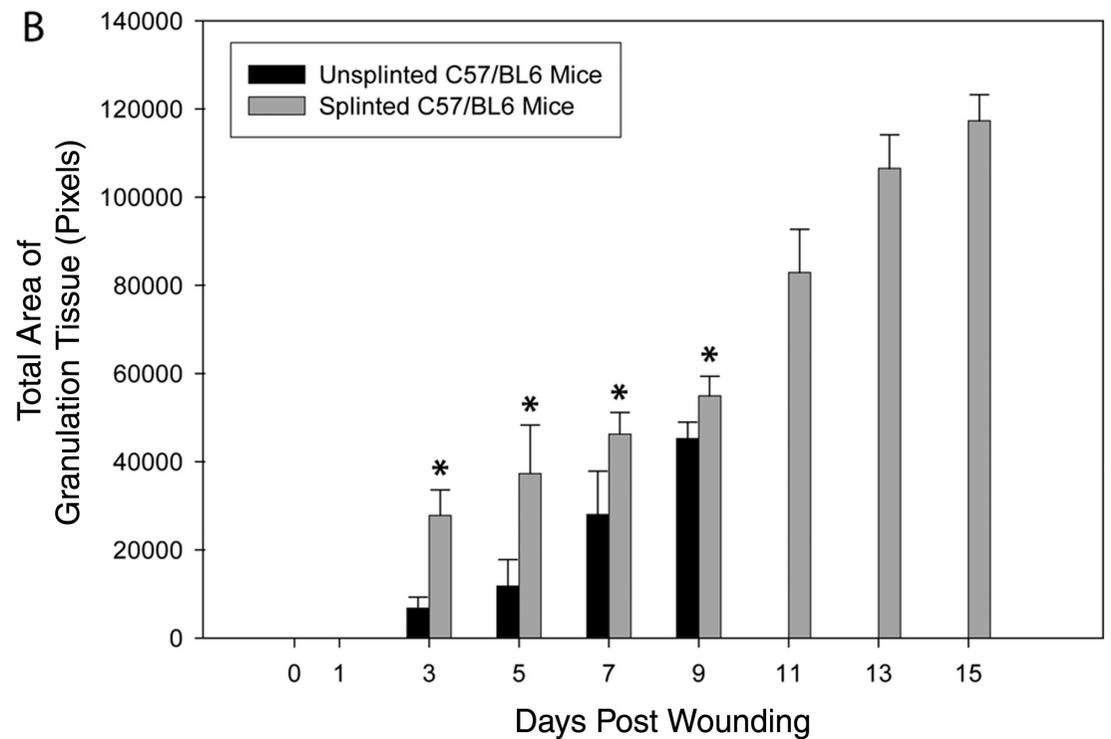
Pose d'« attelles » anti-rétractation



Pose d'« attelles » anti-rétractation



Wong, *BioMed Res Int* 2011



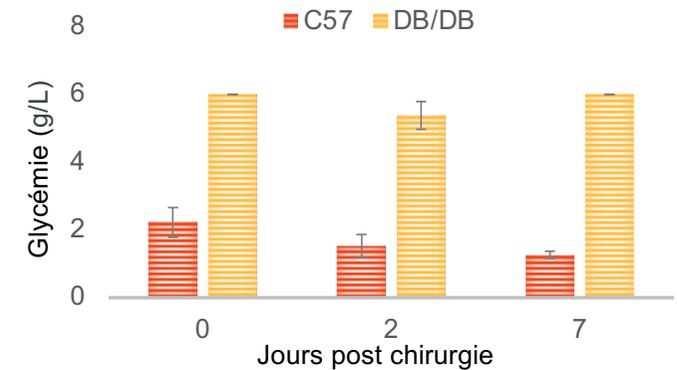
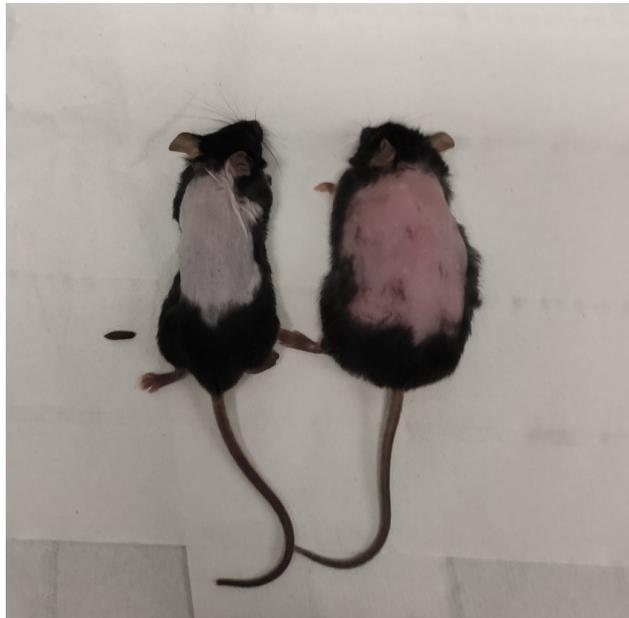
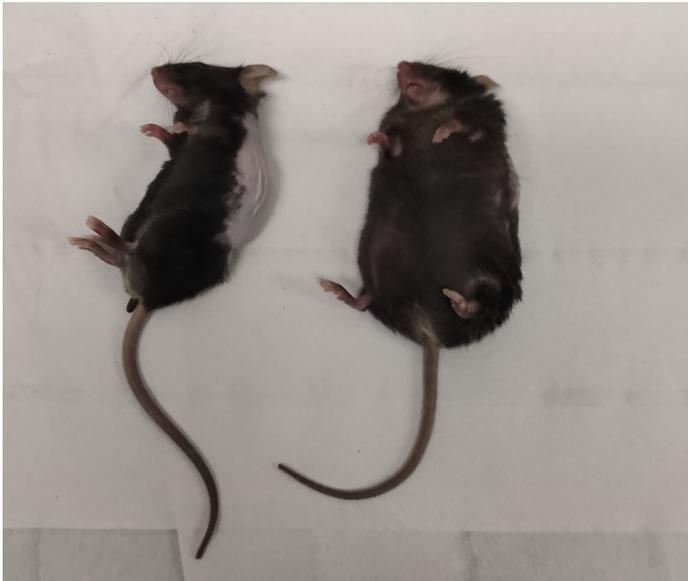
Galiano, *Wound Rep Reg* 2004



Préparation des animaux

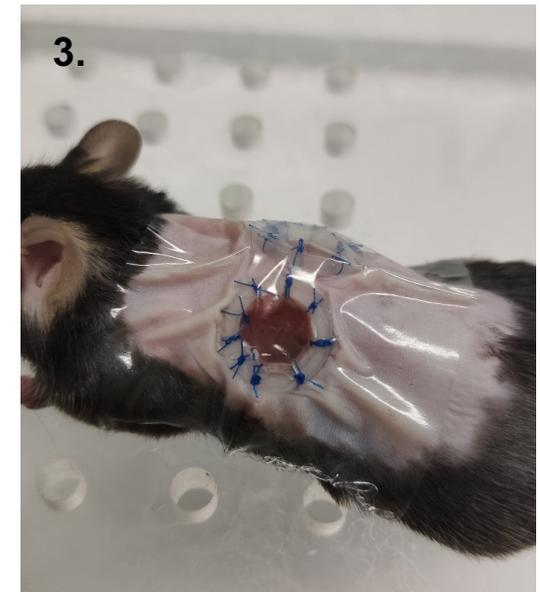
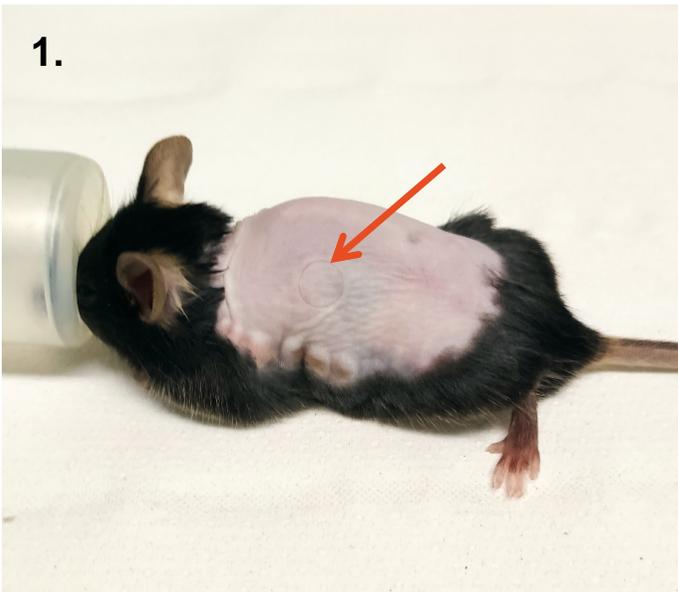
Dépilation la veille **sous anesthésie générale**
avec induction par inhalation d'isoflurane à 5%, puis maintien au masque par inhalation d'isoflurane à 2%.

Peau du dos tondue et application d'une crème dépilatoire enrichie à l'*Aloe vera*
pour une peau sans trace de poil.



Procédure chirurgicale

1. **incision** réalisée au « punch » à biopsie 6 mm
2. **attelle en silicone** collée autour de la plaie puis fixée par 7-8 points de suture
3. protection par un **pansement** adhésif transparent (type Tegaderm 3M)

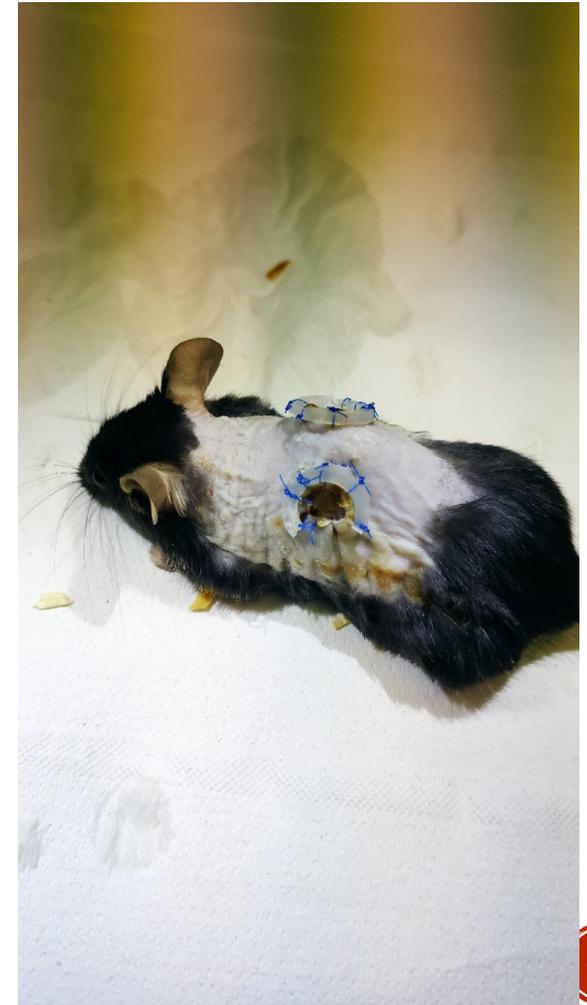


Problématiques post-chirurgie

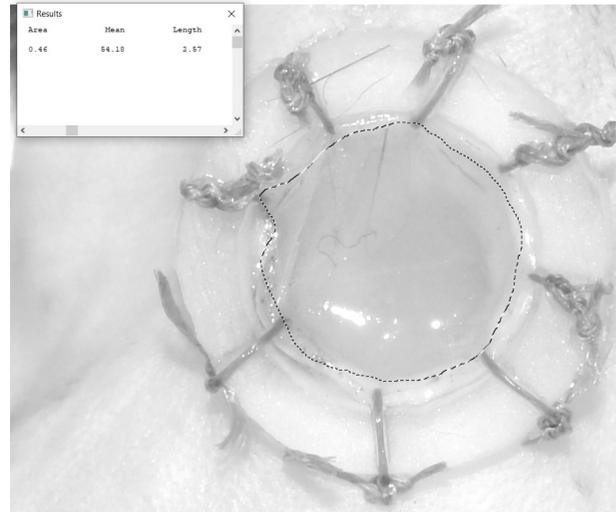
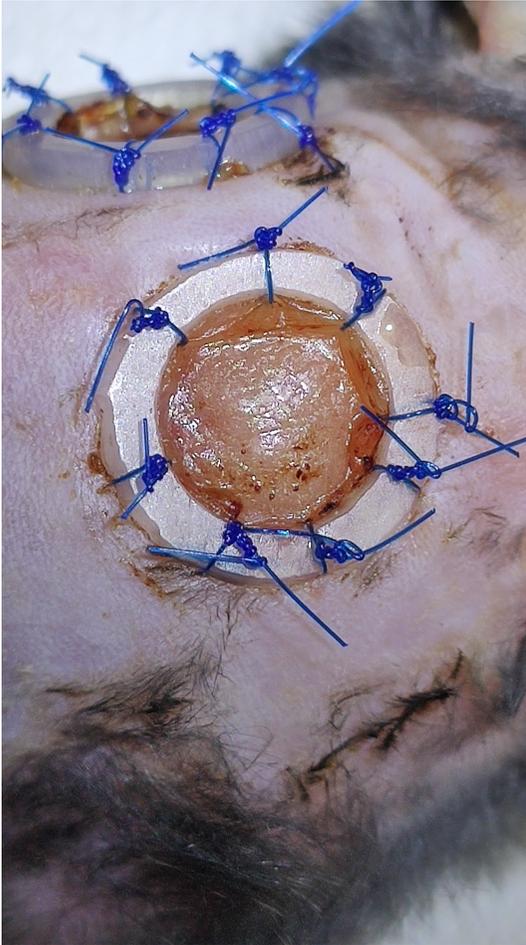
anneau trop haut
retrait avec pattes arrières

anneau trop bas
grignotage

co-herbergement
retrait mutuel



Réparation cutanée : mesures



loupe trinoculaire fermeture de la plaie



doppler laser reperfusion (*en cours*)



Cicatrisation j+7

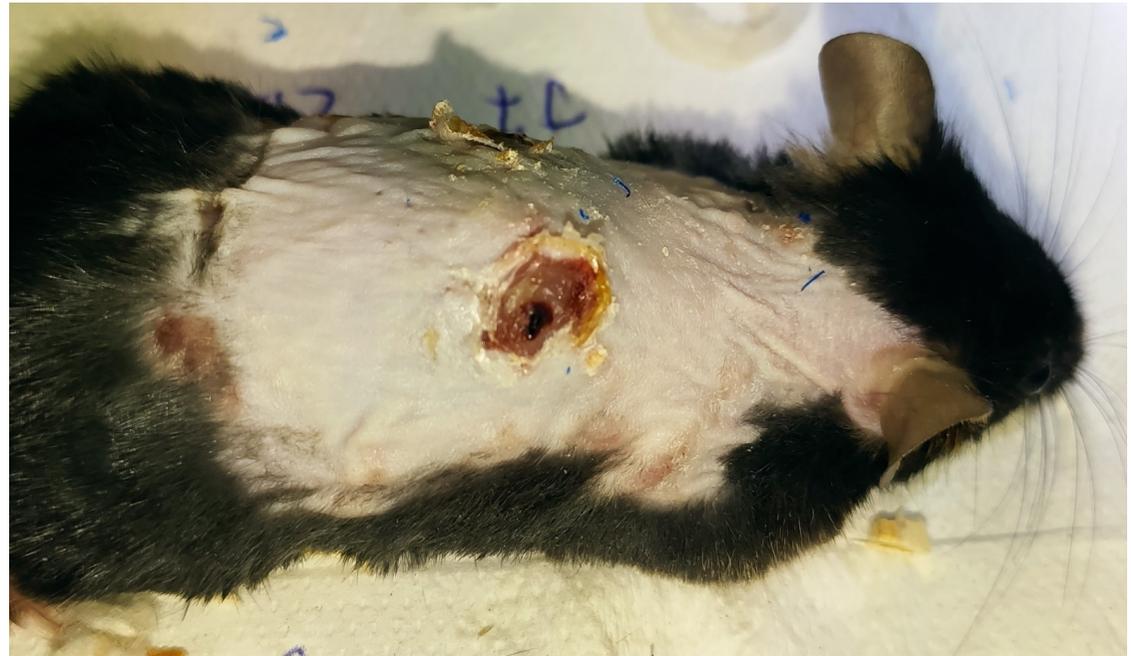


70-80%
C57BL/6J

20-30%
db/db



Dépose des anneaux

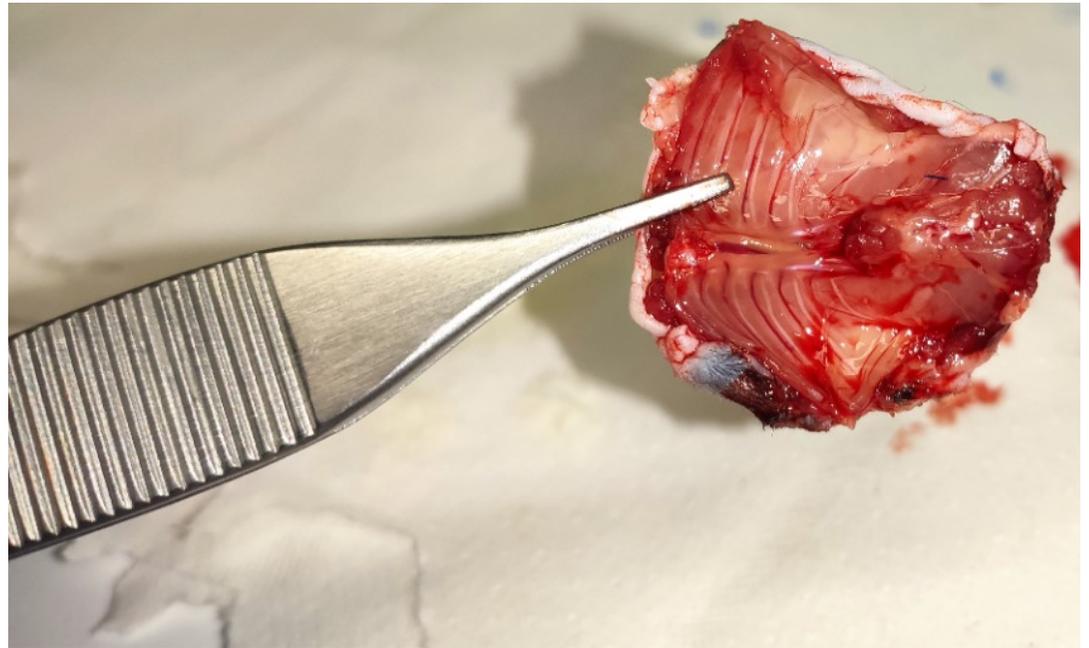


j+7 et j+14

points de suture et anneau retirés
précautionneusement pour ne pas induire de
déchirure et de déformation des berges



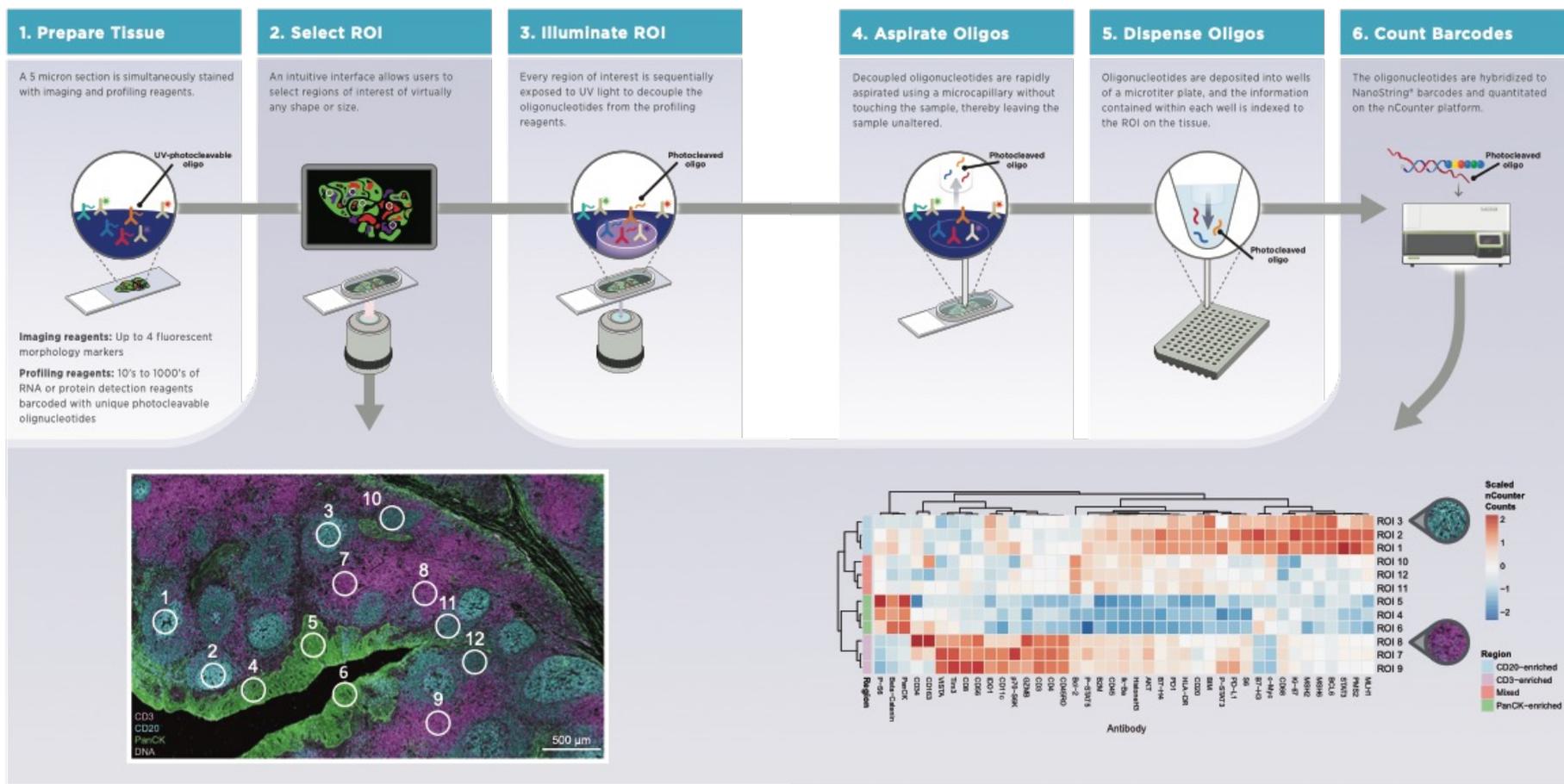
Récupération des plaies en post-mortem précoce



Exérèse au large de la zone des plaies
Échantillons placés dans du papier alu refroidi puis congelé sur carboglace (-80°C)



Whole transcriptome spatial analysis

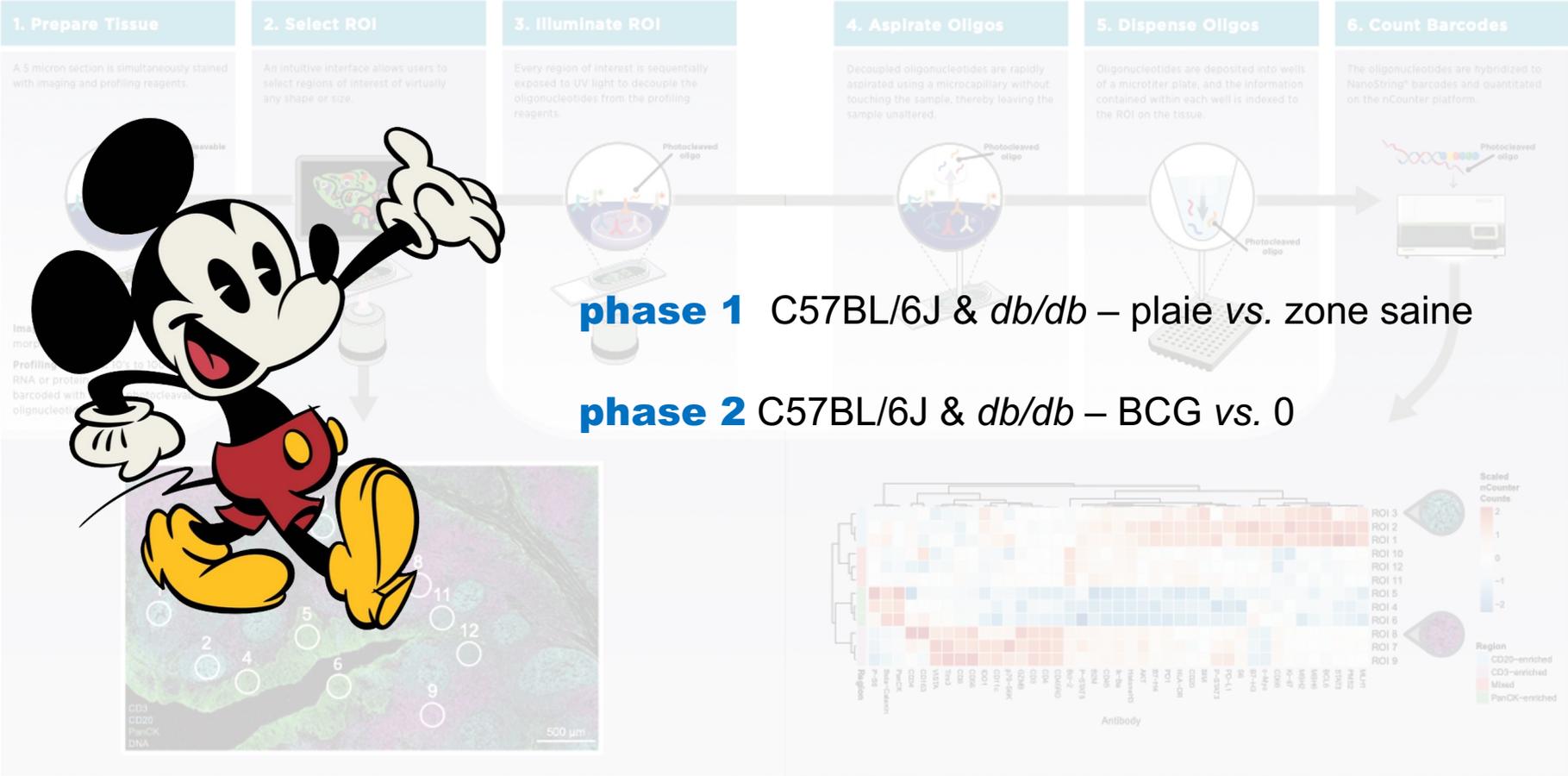


ImaLink platform by

ImaBiotech
Revealing Biological Secrets



Whole transcriptome spatial analysis



ImaLink platform by

ImaBiotech
Revealing Biological Secrets



Projet *Achilles'IL-BCG*

Coordination :

Nicolas Blondiaux – Alain Baulard – Loïc Coutte



Centre Hospitalier
de Tourcoing



CENTER FOR INFECTION
& IMMUNITY OF LILLE

Partenariats :

Institut Pasteur de Lille - PLEHTA

David Hannebique

Loïc Chollet

Thierry Chassat



ImaBiotech

David Bonnel

Mathieu Gaudin

Richard Ruez



CH de Tourcoing

SUMIV

Prof. Éric Senneville

Olivier Robineau



Financements

Région Hauts-de-France

i-Site ULNE

SantélyS



Soutien de projet

PreciDIAB



Eurasanté



Clubster NSL

