

DIPLÔME INTER-UNIVERSITAIRE

Prévention et prise en charge des Infections Ostéo Articulaires

Prélèvements, diagnostic microbiologique,
Résistance

« Du bloc au labo, parcours d'un prélèvement »

Rennes, 24 novembre 2020

Pascale Bémer, Frédérique Lartigue, Stéphane Corvec

Organisation de l'enseignement

- Infections ostéo-articulaires : généralités
- Focus sur le diagnostic des infections de prothèse
- Typage moléculaire et antibiorésistance

Première partie : Infections ostéo-articulaires

- Physiopathologie
- Agents infectieux
- Prélèvements et prise en charge au laboratoire

Physiopathologie des arthrites aiguës

- 50% des IOA de l'adulte
- Facteurs favorisant l'infection
 - Vascularisation membrane synoviale, matrice extracellulaire (adhérence), tropisme articulaire des bactéries
- Développement d'une inflammation
 - Hyperplasie synoviale, destruction cartilage, lyse osseuse, hyperpression intra articulaire
- Contamination
 - Hématogène le plus souvent (mono arthrite)
 - Inoculation directe plus rare (infiltration, arthroscopie, morsure)

Physiopathologie des IOA de l'enfant

- Ostéomyélites/ostéoarthrites
- Contamination hématogène
 - Vascularisation os en croissance (métaphyse des os longs)
- Développement d'une ostéothrombophlébite
 - Ischémie locale avec nécrose osseuse, séquestres
- Destruction du cartilage de conjugaison
 - Troubles de croissance des os longs

Physiopathologie des IOA liées aux soins sans matériel (1)

- Ostéites, ostéoarthrites post-opératoires
- Contamination
 - Par effraction cutanée : bactéries cutanées ou de l'environnement
 - Ou en per-opératoire
 - Ou par la cicatrice lors d'une chirurgie propre
- Persistance intracellulaire des bactéries
 - Dormance bactérienne avec possible réveil septique plusieurs années après avec la même bactérie (*S. aureus* souvent très sensible aux antibiotiques)

Physiopathologie des IOA liées aux soins avec matériel (2)

- Ostéosynthèse : proche des ostéites postopératoires
- Prothèse
 - Inoculation peropératoire, postopératoire précoce ou par voie hématogène à partir d'un foyer à distance
 - Infection précoce, retardée ou tardive
- Formation d'un biofilm
 - Adhésion des bactéries, complexe polysaccharidique (slime)
 - Bactéricidie des polynucléaires et diffusion des antibiotiques modifiées
 - Inflammation avec résorption ostéoclastique et descellement
 - Impact sur la stratégie chirurgicale : lavage *vs* changement pièces mobiles *vs* dépose/repose ?

Physiopathologie des infections disco-vertébrales (spondylodiscites)

- 10% des IOA
- Sans matériel
 - Contamination hématogène :
 - Corps vertébral très vascularisé : micro-thrombi septiques
 - Extension vers le disque intervertébral, puis vertèbre adjacente
 - Rupture corticale osseuse avec complications mécaniques
 - Abscesses dans l'espace inter- ou para-vertébral ou épidual
 - Atteinte lombaire (50-70%), puis thoracique (20-40%)
- Sur matériel : cf IOA post-opératoires

Bactéries isolées dans les arthrites aiguës

Mode de contamination

Bactéries les plus fréquemment retrouvées

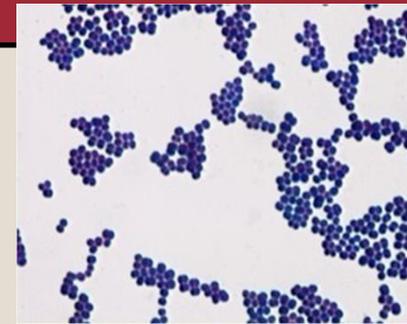
Hématogène

Staphylococcus aureus

Streptococcus spp, entérobactéries

Pseudomonas aeruginosa

Polyarticulaire : *Neisseria gonorrhoeae*



S. aureus

Inoculation directe

Infiltration, arthroscopie : ***S. aureus***, staphylocoques à coagulase négative

Morsure animale : *Pasteurella* spp, *Capnocytophaga* spp

Morsure humaine : *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*

Bactéries isolées dans les ostéomyélites

Mode de contamination	Age ou terrain	Bactéries les plus fréquemment retrouvées
	Nouveau-né	<i>S. aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>
Hématogène	Nourrisson, enfant	<i>S. aureus</i> , <i>Kingella kingae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>
	Drépanocytaire	<i>Salmonella</i> spp



S. agalactiae



E. coli



K. kingae

Bactéries isolées dans les infections disco-vertébrales (spondylodiscites)

Mode de contamination

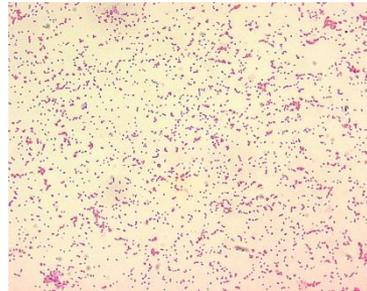
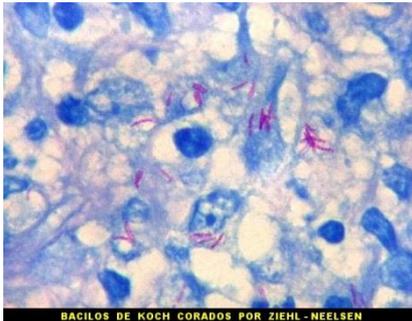
Bactéries les plus fréquemment retrouvées

S. aureus, streptocoques, entérobactéries

Hématogène

1^{ère} cause mondiale : Mal de Pott dû à *Mycobacterium tuberculosis*

En provenance d'une zone d'endémie : *Brucella* spp



Brucella spp

Bactéries isolées dans les IOA liées aux soins

Mode de contamination

Bactéries les plus fréquemment retrouvées

Hématogène

Staphylococcus aureus

Streptococcus spp, entérobactéries

Contamination directe au foyer de fracture

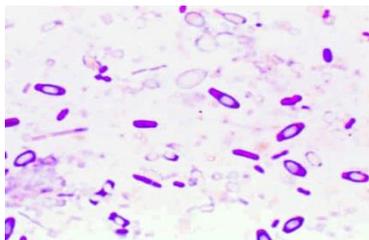
S. aureus, entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*

Bacillus spp, *Clostridium* spp, inf. polymicrobiennes

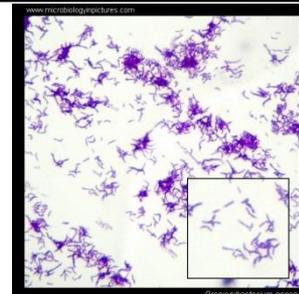
Contamination per-opératoire ou post-opératoire

S. aureus, staphylocoques à coagulase négative

Cutibacterium acnes, inf. polymicrobiennes



Clostridium spp



Prélèvements et prise en charge au laboratoire

Infections d'origine hématoogène

	Prélèvements nécessaires au diagnostic
Arthrites aiguës	Hémocultures +++ même en l'absence de fièvre
Ostéomyélites/ostéoarthrites	Ponction articulaire +++
Infections disco-vertébrales sans matériel	+/- ponction d'abcès, biopsie osseuse ou ponction disco-vertébrale

IOA liées aux soins

Prélèvements nécessaires au diagnostic

Ostéoarthrites post-op

Ponction articulaire +++

Ostéites

Ponction d'abcès, biopsie tissulaire/osseuse

Infections sur matériel
(synthèse/prothèse)

+/- Ponction articulaire

Règles générales concernant les prélèvements

- A distance d'au moins 15 jours d'une antibiothérapie
- Instruments différents pour prélèvements différents
- Pas d'écouvillonnage de cicatrice même si désunion
- Pas de prélèvement d'orifice de fistule
- Délai d'acheminement < 4 h recommandé

Limiter la circulation de l'air

- Limiter le nombre de personnes en salle d'opération
- Limiter les déplacements :
 - **Intraoperative Door Openings and Surgical Site Infection: A Causal Association? G Birgand, CID 2020**
- Désinfecter fréquemment les mains
- Détecter les fautes d'asepsie
- Changer régulièrement de gants



Ponction articulaire (1)

- Au mieux réalisée en radiologie ou au bloc opératoire
- Eventuellement radioguidée
- Respect des conditions d'asepsie chirurgicale

Ponction articulaire (2)

- Une partie du liquide recueillie dans un tube hépariné pour l'examen direct :
 - Cytologie et colorations
- Une partie du liquide recueillie dans un tube stérile
 - Cultures
- Une partie du liquide inoculée dans un flacon d'hémoculture
 - HC anaérobie au moins; éventuellement HC aérobie chez l'enfant (*K. kingae*, germe aérobie strict)
 - Attention : performances des flacons différentes selon les fournisseurs (Jeverica et al, Anaerobe 2020)

Diagnostic des bactériémies: point d'attention

Recommandations

Postulat
1 à 10 UFC/ml
Adulte

Adulte : 10 ml par
flacon

2 à 3 couples de flacons (ae/ana):
40 à 60 ml

Detailed Analysis of the Characteristics of Sample Volume in Blood Culture Bottles

Henning C et al, JCM 2019

Volumes prélevés : 8 à 10 ml pour
18% des flacons
< 8 ml pour 47% des flacons



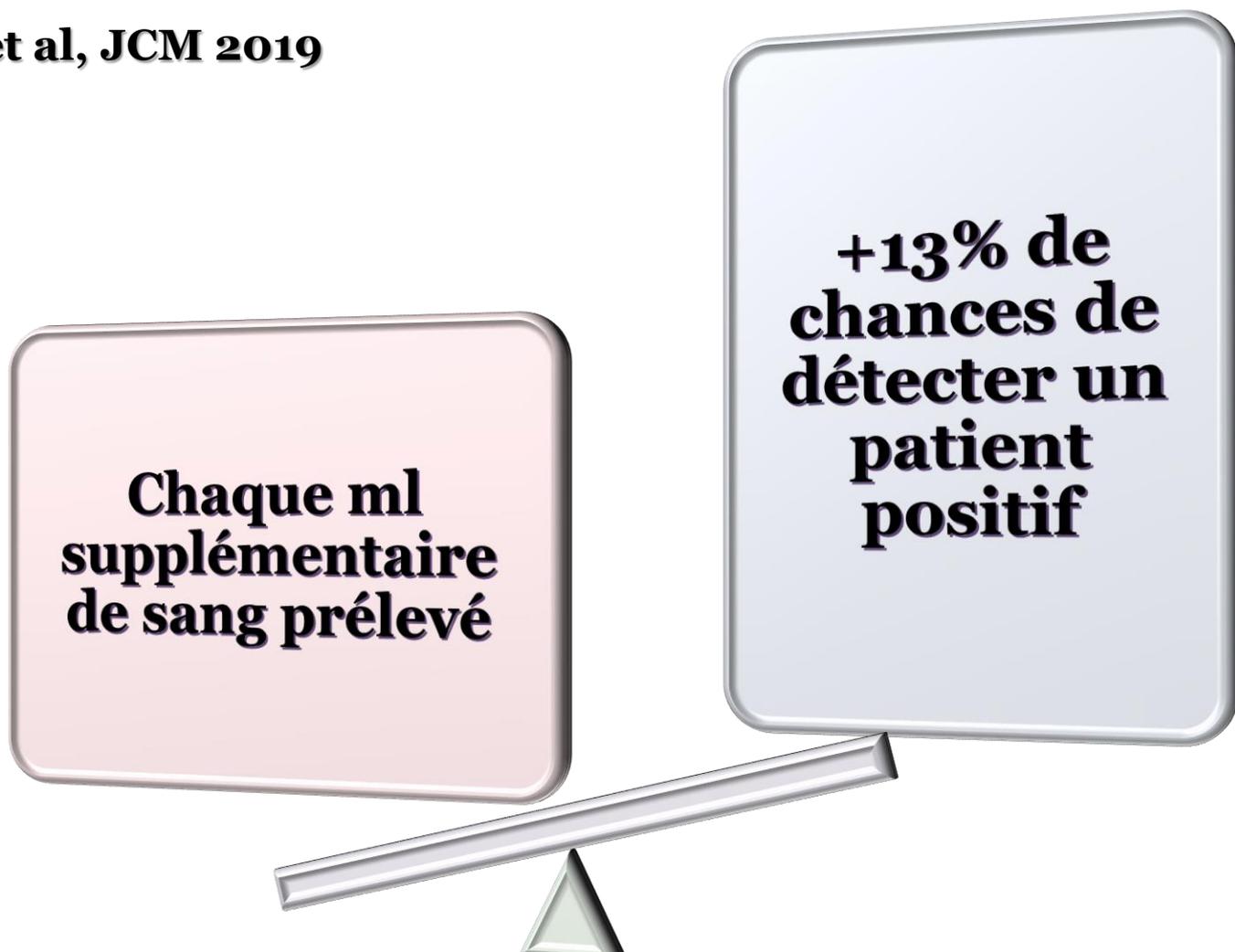
Diminuent pendant la nuit

Diminuent avec l'âge

Supérieurs
chez l'homme

Detailed Analysis of the Characteristics of Sample Volume in Blood Culture Bottles

Henning C et al, JCM 2019



**Chaque ml
supplémentaire
de sang prélevé**

**+13% de
chances de
détecter un
patient
positif**

Autres types de prélèvements

Ponction d'abcès

- Pas de pré-traitement
- Examen direct souvent contributif:
 - Aspect bactérien monomorphe le plus souvent
 - Appréciation semi-quantitative des polynucléaires (altérés)
- Principes des cultures :
 - Milieux de culture enrichis
 - Incubation aé/anérobie
 - Délais d'incubation 48h

Biopsie tissulaire ou osseuse

- Broyage nécessaire
- Examen direct peu contributif (lyse cellulaire)
- Principes des cultures :
 - Milieux de culture enrichis
 - Incubation aé/anérobie
 - Délais d'incubation prolongés

Recherches particulières

- Certaines recherches (**Mycobactéries, Fungi**) ne seront réalisées que sur **prescription médicale ciblée, et conditions de prélèvement spécifiques (savoir y penser++)**.
- Pour enfants < 5 ans, recherche systématique de ***Kingella kingae*** sur liquide articulaire par PCR

Points forts à retenir

- La physiopathologie renseigne sur le type de prélèvement à réaliser
- De la qualité des prélèvements (à commencer par l'HC) découle la documentation bactériologique
- *S. aureus* reste la bactérie la plus souvent retrouvée
- Un pus aseptique en l'absence d'antibiotique doit faire rechercher :
 - Une tuberculose osseuse, des fungi

Deuxième partie : focus sur le diagnostic des infections de prothèse

- Nouveau score diagnostique MSIS de l'IP
- Diagnostic préopératoire
- Place de la ponction articulaire
- Diagnostic peropératoire

Nouveau score diagnostique MSIS (Musculoskeletal Infection Society) de l'infection de prothèse

N. Shohat et al / The Journal of Arthroplasty 34 (2019) S325–S327

Major criteria (at least one of the following)	Decision
Two positive growth of the same organism using standard culture methods	Infected
Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis	

Minor Criteria	Threshold		Score	Decision
	Acute [‡]	Chronic		
Serum CRP (mg/L) <i>or</i> D-Dimer (ug/L)	100 Unknown	10 860	2	Combined preoperative and postoperative score: ≥6 Infected 3-5 Inconclusive* <3 Not Infected
Elevated Serum ESR (mm/hr)	No role	30	1	
Elevated Synovial WBC (cells/μL) <i>or</i> Leukocyte Esterase	10,000 ++	3,000 ++	3	
<i>or</i> Positive Alpha-defensin (signal/cutoff)	1.0	1.0	3	
Elevated Synovial PMN (%)	90	70	2	
Single Positive Culture			2	
Positive Histology			3	
Positive Intraoperative Purulence [‡]			3	

Ponction articulaire +++

SE = 97,7%
SP = 99,5%

[‡] These criteria were never validated on acute infections. [‡] No role in suspected adverse local tissue reaction. *Consider further molecular diagnostics such as Next-Generation Sequencing

Fig. 1. Proposed 2018 ICM criteria for PJI

Diagnostic préopératoire VS et CRP

- 2000-2011: Mayo Clinic (McArthur et al Bone Joint J 2015)

IPT	VS et CRP ↑	VS ↑ et CRP -	VS- et CRP↑	VS et CRP -
Genou (538)	82% (440)	3% (16)	11% (61)	4% (21)
Hanche (414)	75% (310)	2% (9)	19% (78)	4% (17)
Total (952)	79% (750)	2,5% (25)	14,5% (139)	4% (38)

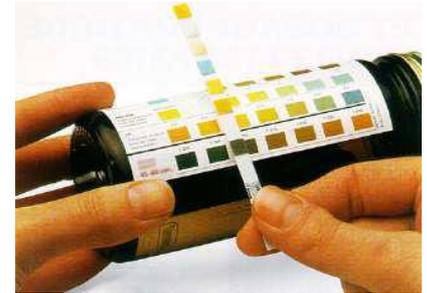
➤ Sensibilité de VS= 81% et **CRP=93%**

Diagnostic préopératoire

Place des biomarqueurs synoviaux

- Leukocyte estérase
- Alpha défensine
- CRP synoviale
- Calprotectine synoviale

Leukocyte estérase



- Seuil positif = 2+
- **Avantages** (Mitchell et al. 2017)
 - Simple,
 - coût très faible (20 cent.)
 - Score MSIS
- **Limites** (Shahi et al 2017)
 - VPN faible/ faible spécificité
 - Inutilisable sur liquide hémorragique
 - Lecture subjective

Alpha défensine



- **Tests disponibles**

- ELISA : 24h
- Test rapide unitaire (Synovasure, Zimmer): 5 minutes
- Pas de différence significative entre les 2 techniques (Deirmengian et al 2020)

- **Avantages**

- Plus sensible et spécifique que les autres marqueurs sériques ou synoviaux (Mitchell et al. 2017)
- Bonne spécificité → **confirmation d'une infection**
- Sensibilité variable en fonction des études (Renz et al 2018, Deirmengian et al 2020)
- Pas d'influence d'un traitement antibiotique préalable (Han et al 2019)
- Résultat rapide

- **Inconvénients**

- Faux positifs : métallose (Han et al 2019), intervention chirurgicale < 2 mois
- Faux négatifs: germe à croissance lente, fistule
- Coût

CRP synoviale

- Seuil 12,2 mg/l
- Sensibilité 90%
- Spécificité 97 %

Calprotectine synoviale

- ✓ Protéine pro inflammatoire de l'immunité innée (macrophages et PNN)
- ✓ Marqueur synovial des arthrites rhumatoïdes
- Dosage par **ELISA** => labo spécialisé (technique au coup par coup)



Synovial Fluid Calprotectin for the Preoperative Diagnosis of Chronic Periprosthetic Joint Infection

Paolo Salari, MD ^{a,*}, Marco Grassi, MD ^a, Barbara Cinti, BS ^b, Nicoletta Onori, BS ^b, Antonio Gigante, MD ^a

Etude prospective observationnelle
Ponction pré-op sur PTG uniquement -
76 patients inclus (37% infectés)

Exclusion : infection aigue (< 3 mois) /
ATB moins de 2 semaines /maladies
inflammatoires systémiques

Résultats :

- Aucun FN, 2 FP (53 et 58 mg/l) avec seuil > 50 mg/L
- taux moyen positif = 320 mg/L

Mais ... petit effectif, un seul type de prothèse, pas de patient sous ATB

Calprotectine synoviale

- **Test rapide unitaire** (Lyfstone SA)
 - Etude norvégienne (Trotter et al 2020)
 - 69 liquides articulaires (congelés): 52 PTH, 17 PTG
 - Infections classées selon MSIS: 24 infectées/45 non infectées
- Sensibilité 75% et Spécificité 75,56%



Enquête à propos de l'utilisation des marqueurs synoviaux de l'inflammation dans les CRIOAC

- 30 CRIOAC:
 - 9 centres référents
 - 21 centres associés
- 27 Centres ont répondu
- **18 centres (67%) n'utilisent aucun de ces marqueurs**
 - 2 centres référents/16 centres associés

Indication et condition de réalisation de la ponction articulaire

- **Indication**

- Suspicion d'infection sur prothèse
 - Signes cliniques et radiologiques
 - épanchement intra-articulaire
 - abcès au contact du matériel ostéo-articulaire (SPILF 2009)
 - Signes biologiques: CRP, VS
- « **la pierre angulaire** » du diagnostic d'IPOA
- score diagnostique MSIS (Parvizi et al 2018, Shohat et al 2019)
- Ne doit pas retarder la prise en charge médico-chirurgicale (HAS 2014, Karczewski et al 2018)

- **Conditions strictes d'asepsie chirurgicale**, mais ne nécessite pas de « bloc opératoire » (SPILF 2009, Kuritzkes et al 2019, AHRQ 2014)

Mode de recueil du liquide articulaire

- Au moins **1 flacon d'hémoculture anaérobie** et **1 pot stérile**

Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles

Peel, Patel, mBio 2016

- Etude prospective monocentrique
- 369 patients, 82% IP chroniques
- Comparaison
 - Milieux solides/liquides AE/ANA
 - Hémocultures

• HC recommandées

- SE 82% versus 60 à 75% avec milieux solides ou liquides seuls
- Temps de détection \leq 24 h

How Many Samples and How Many Culture Media To Diagnose a Prosthetic Joint Infection: a Clinical and Microbiological Prospective Multicenter Study? Bémer et al, JCM 2016

- Etude prospective multicentrique
- 264 patients, 78% IP chroniques
- Comparaison
 - Milieux solides/liquides AE/ANA
 - Hémocultures

• HC recommandées

- SE 83% versus 70% avec milieux solides ou liquides seuls
- Temps de détection \leq 24 h

Analyse cytologique du liquide articulaire

Recommandations	Taux de leucocytes (/mm ³)	PNN
France (SPILF2009, HAS2014, REMIC2018)	> 1700	> 65%
ESCMID	> 3000	>70%
MSIS	> 3000	>70%

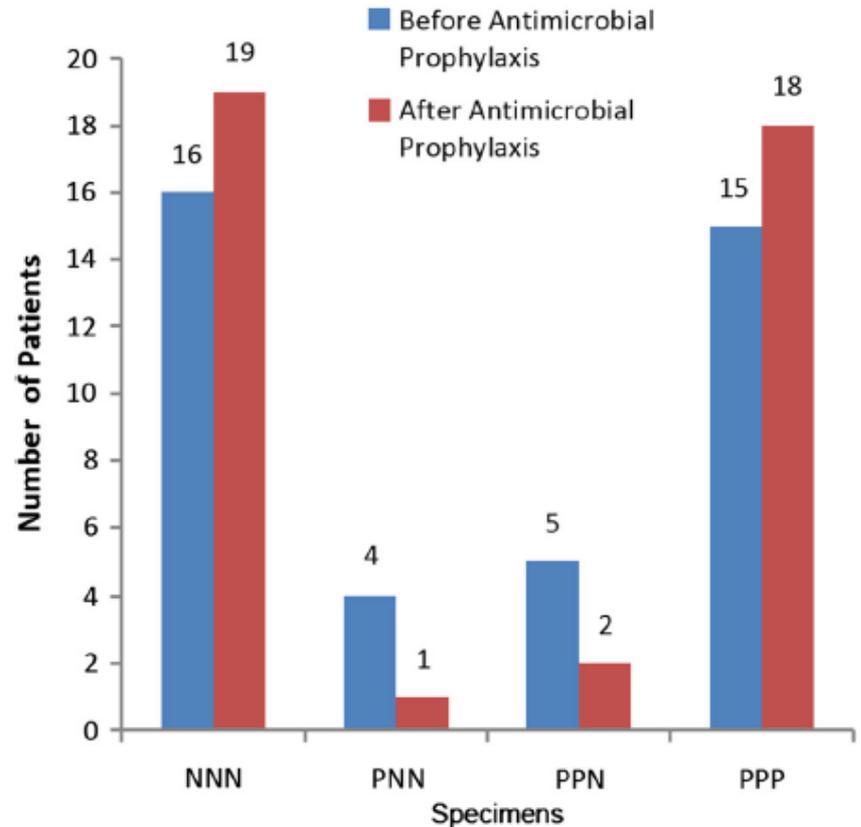
Intérêt d'une biopsie percutanée

- Biopsie tissulaire au Tru-Cut (HAS 2014)
 - **Intérêt:**
 - Meilleure sensibilité que le LA pour l'identification d'un pathogène
 - Permet de confirmer l'implication d'un pathogène opportuniste
 - **Inconvénients:**
 - Nécessite un bloc opératoire
 - Plus invasive que la PA donc plus iatrogène (infections bactériennes, lésions nerveuses, vasculaires et/ou de la surface prothétique)
 - Coût

Diagnostic peropératoire

Impact de l'antibioprophylaxie?

- 40 patients: 29 IPTH et 11 IPTG
 - Après arthrotomie: 3 prélèvements
 - 2g Céfazoline
 - Puis 3 nouveaux prélèvements
- **L'antibioprophylaxie ne négative pas les prélèvements**



Bedencic et al 2016

Y a-t-il des prélèvements à exclure?

- Prélèvements **superficiels de plaies ou de fistules** par écouvillonnage : colonisées par la flore cutanée (REMIC 2018)
 - 45 IPOA: 53% concordance entre fistule et prélèvements per-opératoires (Tétréault 2013)
- **Ecouvillonnage**
 - 117 IPOA: sensibilité et spécificité plus faibles des cultures d'écouvillonnages que des cultures de biopsies (Aggarwal et al, 2013)



Y a-t-il des prélèvements à privilégier?

- **Le liquide articulaire**
- **Prélèvements au contact du matériel** (SPILF 2009, REMIC 2018)
 - biopsies de la membrane d'interface > capsule articulaire ou LA
(Bjerkan et al, 2012)
 - CRIOGO (Bémer et al, 2016) : prélèvements au contact du matériel et des LA > prélèvements osseux
 - Biopsies synoviales, sous-aponévrotiques et capsulaires en fonction de l'aspect peropératoire

Nombre de prélèvements à réaliser

- ❑ Recommandations françaises (SPILF 2009, REMIC 2018) : au moins 5 prélèvements dans des sites anatomiques différents
- ❑ Etude rétrospective monocentrique (Kheir et al, 2018) : pour obtenir 2 cultures positives, au moins **4 prélèvements**
- ❑ Etude prospective multicentrique CRIOGO (Bémer et al, 2016) : **4 prélèvements** suffisent en utilisant le broyage automatisé et l'enrichissement en flacon hémocultures
- ❑ Etude de la Mayo Clinic (Peel et al, 2016) :
 - Soit 3 prélèvements péri-prothétiquesensemencés en flacon d'hémoculture
 - Soit 4 prélèvementsensemencés sur géloses et milieux de culture liquides
 - 5 prélèvements ou plus n'augment pas la précision diagnostique

Analyse histologique

- Recommandations des sociétés savantes (SPILF 2009, IDSA 2013), critère mineur du MSIS
- Orienter vers une **infection à mycobactérie ou fongique**
- **Score de PNN:**
 - 5 à 10 PNN/champ dans au moins 5 champs (Shohat et al 2019, Zmistowski et al 2014)
 - Ou 23 PNN dans moins de 10 champs (Morawietz et al 2009, Bémer et al 2018)
 - Techniques d'immunohistochimie et d'histochimie permettent d'abaisser le seuil de détection des PNN (Borie et al 2018)

Redons

- La mise en culture des redons n'est pas recommandée

Prise en charge des prélèvements au laboratoire

Broyage, intérêt de la sonication



- Le **broyage automatisé** est fortement recommandé
 - Biopsies (os, tissus)
 - Libère les bactéries du biofilm
 - Ensemencement dans des milieux enrichis solides et liquides, et pour mycobactéries à la demande du clinicien (SPILF 2009)
 - Proscrire l'usage du mortier et du pilon (REMIC 2018)
- La sonication du matériel n'est pas obligatoire



Intérêt de l'examen direct

- **LA préopératoire:**
 - Cytologie: taux de leucocytes et formule
 - Coloration de Gram après cytocentrifugation
- **Prélèvements per-opératoires:** recherche de PNN et bactéries (coloration de Gram)
 - **Sensibilité=0 à 27%/Spécificité= 98%** (Atkins et al 1998, REMIC 2018, Tande et al 2017)
 - **La coloration de Gram n'est pas utile!** (Osmon et al 2013)

Choix et nombre de milieux de culture

- Au minimum:
 - Une gélose au sang cuit supplémentée sous CO₂
 - Un milieu pour bactéries anaérobies (REMIC 2018), qu'il soit liquide ou solide
 - Un flacon d'hémoculture, de préférence anaérobie (Bémer et al, 2016)



Durée d'incubation

- Milieu solide : 7 jours
- Milieu liquide : 10 jours
 - afin d'isoler les « Small colony variants » (SCV)
 - afin d'isoler le *C. acnes*
 - afin d'isoler différentes bactéries ou morphotypes



Identification bactérienne

- Identification protéomique par Maldi Tof
 - Sur les différents morphotypes de colonies

Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

- **Antibiogramme ou antifongigramme**
 - Sur les **différents morphotypes** de colonies, notamment pour les **staphylocoques**
 - Plusieurs phénotypes de résistance pour une même espèce bactérienne (REMIC 2018)
 - SCV: Résistance accrue à de nombreux antibiotiques (Loss et al 2019, Jiang et al 2018, Tande et al 2014)
- **Un seul antibiogramme** pour les **pathogènes stricts** (REMIC 2018, SPILF 2019, Osmon et al 2013)
- **Au moins 2 antibiogrammes** pour les micro-organismes de la **flore cutanée**
 - 1 antibiogramme sera réalisé si présence d'au moins 2 prélèvements positifs à la même bactérie de la flore cutanée (contamination?)

Que faire en cas de cultures stériles?

La biologie moléculaire

- **Si traitement antibiotique préalable** (ou fenêtre < 3 semaines)
 - Performance très variable:
 - bonne spécificité
 - Gain de sensibilité P/R à la culture principalement pour les patients traités (Bémer et al 2014, Zmistowski et al 2014, Hartley et al 2014, Morgenstern et al 2018)
 - Recherche des gènes de résistance à la méticilline du staphylocoque
- **Si recherche de germes rares** qui ne poussent pas en culture classique (*Mycoplasma*, *Tropheryma whipplei*, *Coxiella burnetii*...)
 - Seul un résultat positif est réellement contributif
 - Décision du biologiste après dialogue avec le clinicien (REMIC 2018, HAS 2014)

Principales techniques moléculaires

- **PCR spécifiques** : *S. aureus*, *Mycoplasma*, *Tropheryma whippelii*, *Coxiella burnetii*... (Hartley et al 2014, Lévy et al 2012)
- **PCR 16S+séquençage**:
 - Etude CRIOGO 300 prothèses (Bémer et al 2014)
 - PCR large spectre mais sensibilité limitée
 - Interprétation fonction de la clinique et microbiologie (Plouzeau et al 2015)
- **PCR multiplexées**:
 - Identification et détection de gènes de résistances
 - Sensibilités variables (Malandain et al 2018)
 - Panels parfois incomplets (pas de *C. acnes*, ou de corynébactéries)
 - Coût très important (>100 €/prélèvement)
- **Approches de métagénomique en séquençage haut débit (NGS)**
(Thoendel et al 2018): pas en routine

Conservation des prélèvements et des souches

- Conservation des prélèvements:
 - À -80°C ou à défaut -20°C
 - Jusqu'au rendu définitif du résultat, idéalement 2 à 4 mois après ce rendu
 - Intérêt: recherches complémentaires (mycobactéries, champignons, techniques de BM)
- Conservation des souches
 - Congélation > tubes gélosés (HAS 2014, REMIC 2018)
 - 3 ans
 - Intérêt:
 - Antibiogrammes complémentaires avec nouvelles molécules
 - Typage des différentes souches en cas de reprise ou récurrence

Points forts à retenir

- Si suspicion d'IP → **ponction articulaire**
 - Prélèvement: 1 flacon hémoculture anaérobie+1 pot stérile, 1 biopsie percutanée
 - Cytologie: 3000 GB, 70% PNN
- Diagnostic peropératoire:
 - Au moins 4 prélèvements
 - Broyage+++
 - Au moins 1 gélose sang cuit, 1 milieu anaérobie, 1 flacon d'hémoculture anaérobie
 - Incubation: milieu solide 7 jours, liquide 10 jours
 - Antibiogramme:
 - 1 seul pour les pathogènes stricts
 - Au moins 2 antibiogrammes pour les micro-organismes de la flore cutanée
 - BM:
 - Si traitement antibiotique préalable
 - Si recherche de germes rares

Troisième partie : typage moléculaire et antibiorésistance

Stéphane Corvec, CRIOGO, CHU Nantes

IOAP : principales résistances aux antibiotiques & rôle et intérêt du typage moléculaire

1. Focus sur les principales résistances rencontrés dans les IOAP

- ✓ Cocci à Gram positif résistant, ex du Linézolide
- ✓ Bacilles à Gram négatif BLSE
- ✓ Bacille à Gram négatif carbapénémases
- ✓ Bactéries pan-résistantes et alternatives aux antibiotiques

2. Typage moléculaire et diagnostic

- ✓ Electrophorèse en Champ Pulsé
- ✓ Multi-Locus Sequence Typing
- ✓ Single-Locus Sequence Typing
- ✓ Whole Genome Sequencing



IOAP et résistance au linézolide

Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2017) 36:1549–1552
DOI 10.1007/s10096-017-2966-z



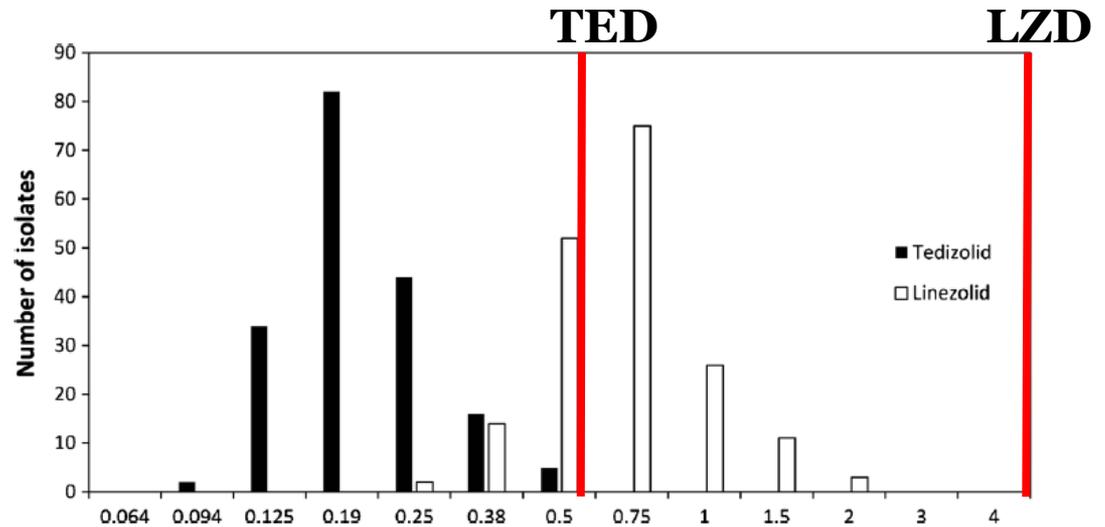
ORIGINAL ARTICLE

In vitro activity of tedizolid and linezolid against *Staphylococcus epidermidis* isolated from prosthetic joint infections

C. Littorin¹ · B. Hellmark^{1,2} · Å. Nilsson-Augustinsson^{3,4} · B. Söderquist^{1,5}

- ✓ Distribution des CMI
- ✓ Break points
- ✓ Myélotoxicité

Fig. 1 Distribution of the minimum inhibition concentrations (MICs) of tedizolid and linezolid, as determined with Etest, for 183 isolates of *Staphylococcus epidermidis* obtained from prosthetic joint infections



Linézolide	4	4	10	21 ^C	21 ^C	C. Examiner la bordure de la zone d'inhibition à la lumière. La résistance inducible peut nécessiter une incubation prolongée à 48 heures pour être détectée.
Tédizolide	0,5	0,5	2	21 ^D	21 ^D	D. Les souches sensibles au linézolide sont aussi sensibles au tédizolide. Pour les souches résistantes au linézolide, la sensibilité au tédizolide doit être déterminée par mesure de la CMI.

IOAP et résistance au linézolide !!

M^a José Zamora-López
Patricia Álvarez-García
Jesús Martínez-López
M^a Ángeles Pallarés-
González
Marta García-Campello

Staphylococcus epidermidis resistente a linezolid en
paciente con prótesis articular

Servicio de Microbiología. Hospital de Pontevedra.

- ✓ Patient reprise prothèse
 - ✓ *S. epidermidis* R-LZD
 - ✓ Abs de gène *cfr* plasmidique
 - ✓ Présence mutation G2576T dans ARN 23S
- => Exposition au LZD ?

Chiffres nantais :

- ✓ Surtout *S. epidermidis*
- ✓ Clone particulier ?
- ✓ Diffusion ?

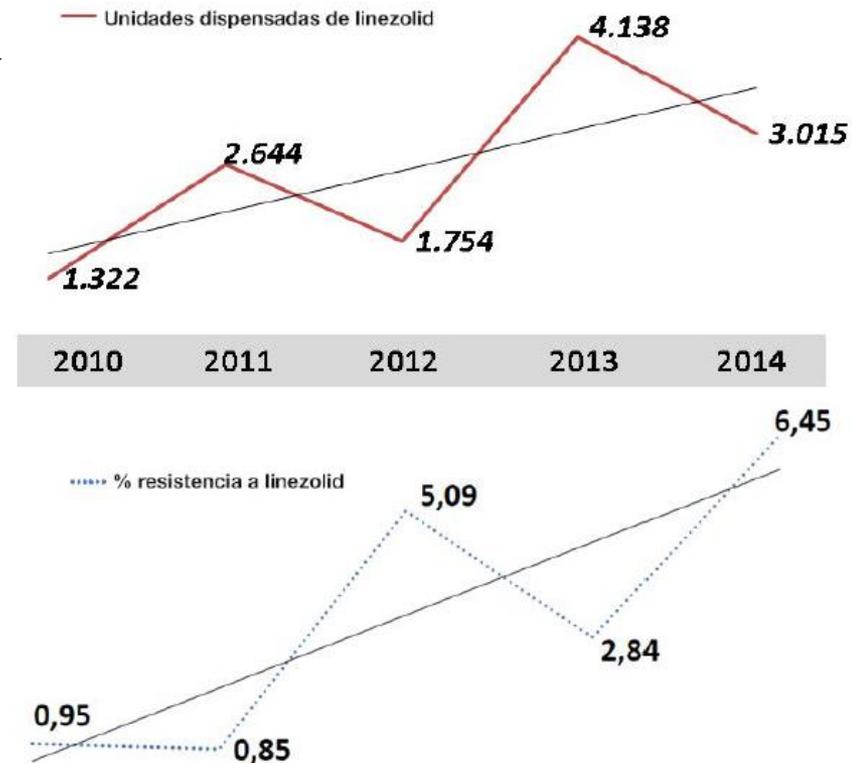


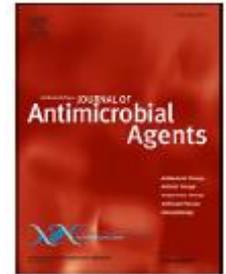
Figura 1

Consumo y % de resistencia a linezolid en función del tiempo.

IOAP et résistance au linézolide ??

Bacteriological relevance of linezolid vs. vancomycin in postoperative empirical treatment of osteoarticular infections: a retrospective single-center study

E. Takoudju^a, P. Bémer^{a,e}, S. Touchais^{c,e}, N. Asseray^{b,e}, S. Corvec^{a,e}, L. Khatchatourian^{b,e}, N. Serandour^{d,e}, D. Boutoille^{b,e,*}, on behalf of the Nantes Bone and Joint Infections Study Group



ORIGINAL ARTICLE

European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases

<https://doi.org/10.1007/s10096-019-03594-z>



Probabilistic chemotherapy in knee and hip replacement infection: the place of linezolid

Luc Deroche¹  • Chloé Plouzeau¹ • Pascale Bémer² • Didier Tandé³ • Anne Sophie Valentin⁴ • Anne Jolivet-Gougeon⁵ • Carole Lemarié⁶ • Laurent Bret⁷ • Marie Kempf⁶ • Geneviève Héry-Arnaud³ • Stéphane Corvec² • Christophe Burucoa¹ • Cédric Arvieux⁸ • Louis Bernard⁹ • and the CRIOGO (Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest) Study Group

(13.7%). Infections were polymicrobial for 28 (15.3%) patients. All combinations were highly effective: CTX+VAN, CTX+LZD, TZP+VAN, and TZP+LZD (93.4%, 94%, 98.4%, and 98.9% of all cases respectively). Use of LZD instead of VAN in combination with a broad-spectrum beta-lactam covers almost all of the bacteria isolated in PJI. This association should be considered in probabilistic chemotherapy, as it is particularly easy to use (oral administration and no vancomycin monitoring).

IOAP et résistance par production de BLSE

Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2017) 36:1039–1041
DOI 10.1007/s10096-010-0950-y

BRIEF REPORT

Antibiotic resistance in orthopaedic surgery: acute knee prosthetic joint infections due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae*

J. C. Martínez-Pastor · F. Vilchez · C. Pitart ·
J. M. Sierra · A. Soriano

Table 1 Demographic, clinical and microbiological data, antimicrobial therapy and outcome of patients with a prosthetic joint infection due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae*

No.	Age/ sex	Date of primary arthroplasty	Fever	CRP (mg/dl)	ESBL-producing <i>Enterobacteriaceae</i>	First antibiotic regimen (days of treatment)	Sequential oral antibiotic (days of treatment)	Outcome (no. of days) ^c
1	78/F	21/6/04	No	17.2	<i>E. coli</i> RC, RCo, SG	Ertapenem 1 g/24 h Iv (60) ^a Amoxicillin 1 g/8 h Po (60) ^b	–	Relapse (180)
2	74/F	14/4/05	Yes	19	<i>E. coli</i> RC, SCo, SG	Ertapenem 1 g/24 h Iv (30)	Cotrimoxazole 800 mg/12 h (180)	Failure (210)
3	74/M	20/6/05	No	6.7	<i>E. coli</i> RC, SCo, SG	Imipenem 1 g/8 h Iv (50)	–	Failure (50)
4	59/M	10/10/05	No	21	<i>E. coli</i> RC, SCo, SG	Meropenem 1 g/8 h Iv (30)	–	Failure (30)
5	62/F	6/7/06	No	2.6	<i>E. coli</i> RC, SCo, SG	Imipenem 1 g/8 h Iv (15) Ciprofloxacin 400 mg/8 h Iv (15)	Cotrimoxazole 800 mg/12 h (150)	Remission (365)
6	66/F	19/12/06	No	12	<i>E. coli</i> RC, SCo, SG	Ertapenem 1 g/24 h Iv (75)	Cotrimoxazole 800 mg/12 h (180)	Remission (365)
7	60/F	15/2/07	No	2.8	<i>K. pneumoniae</i> RC, SCo, RG	Ertapenem 1 g/24 h Iv (110) ^a	Cotrimoxazole 800 mg/12 h (90)	Remission (180)

M male; F female; R resistant; S susceptible; C ciprofloxacin; Co cotrimoxazole; G gentamycin; Iv intravenous; Po per os

^aFirst 10 days with meropenem 1 g/8 h iv

^bFor the treatment of *E. faecalis* (polymicrobial infection)

^cNumber of days: (1) after open debridement in case of failure or reinfection and (2) after finishing antibiotic in case of relapse or remission

- ✓ **5,3% des PJI avec BLSE**
- ✓ **DAIR = Echec dans 60 %**
- ✓ **CIP-R dans 60 %**
- ✓ **Impact du biofilm**

IOAP et résistance par production de BLSE

International Journal of Antimicrobial Agents 53 (2019) 294–301



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Antimicrobial Agents

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijantimicag



Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative prosthetic joint infections: Role of surgery and impact of colistin administration

Antonios Papadopoulos^a, Alba Ribera^b, Andreas F Mavrogenis^c, Dolores Rodriguez-Pardo^d, Eric Bonnet^e, Mauro José Salles^f, María Dolores del Toro^g, Sophie Nguyen^h, Antonio Blanco-Garcíaⁱ, Gábor Skaliczki^j, Alejandro Soriano^k, Natividad Benito^l, Sabine Petersdorf^m, Maria Bruna Pasticciⁿ, Pierre Tattevin^o, Zeliha Kocak Tufan^p, Monica Chan^q, Nuala O'Connell^r, Nikos Pantazis^s, Aikaterini Kyprianou^a, Carlos Pigrau^d, Panayiotis D Megaloiconomos^c, Eric Senneville^h, Javier Ariza^b, Panayiotis J Papagelopoulos^c, Efthymia Giannitsioti^{a,*}, on behalf of the ESCMID Study Group for Implant-Associated Infections (ESGIAI)¹

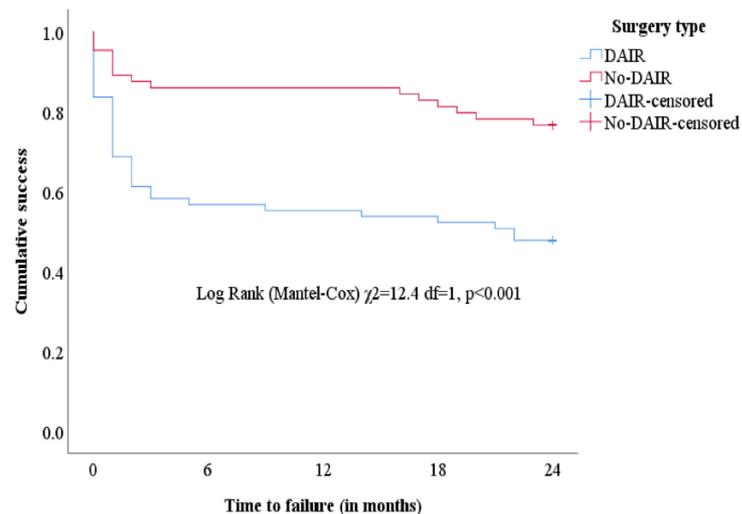


Fig. 2. Cumulative success of DAIR versus non-DAIR surgical treatment of prosthetic joint infections. DAIR, debridement, antibiotics and implant retention.

Idem si infection précoce ou tardive

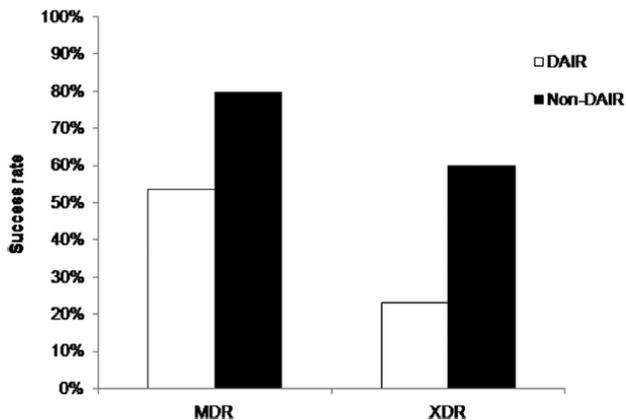


Fig. 3. Proportion of success depending on type of surgery nested within prosthetic joint infections caused by multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Gram-negative bacteria. DAIR, debridement, antibiotics and implant retention.

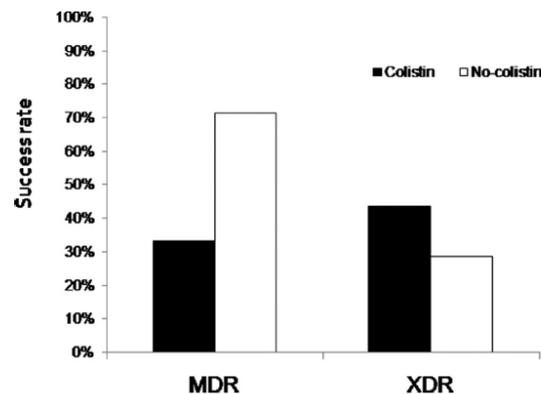


Fig. 4. Proportion of success depending on colistin administration nested within prosthetic joint infections caused by multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Gram negative bacteria.

MDR : R à au moins 1 ATBs dans 3 familles

XDR : R à au moins 1 ATBs dans toutes les familles sauf 2

IOAP et résistance par production de BLSE



Activities of Fosfomycin, Tigecycline, Colistin, and Gentamicin against Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in a Foreign-Body Infection Model

Stéphane Corvec,^{a,b} Ulrika Furustrand Tafin,^a Bertrand Betrisey,^a Olivier Borens,^c Andrej Trampuz^{a,d}

- ✓ Difficile à traiter
- ✓ Impact de la chirurgie
- ✓ Bithérapie
- ✓ Biofilm

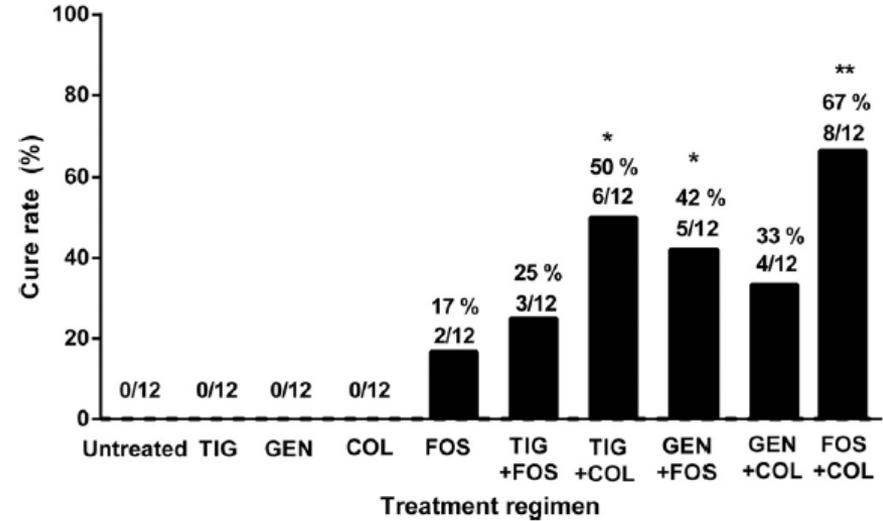


FIG 4 Rate of cure of cage-associated infection. The values are numbers of cage cultures without growth of *E. coli* divided by the total number of cages in the treatment group ($n = 12$). Significant differences compared to untreated controls are indicated with asterisks (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$).

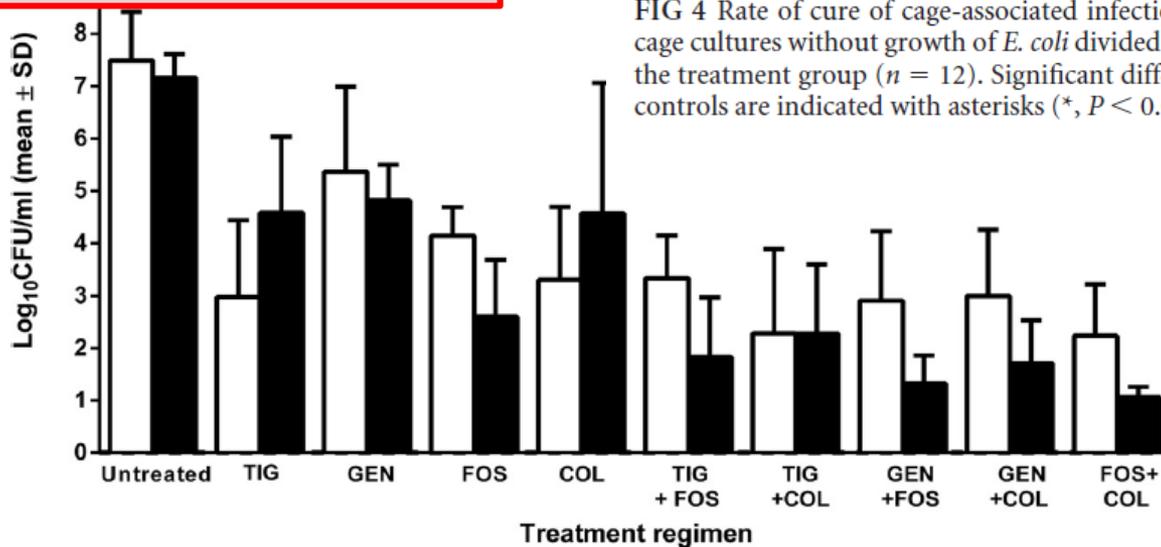


FIG 3 Activities against planktonic bacteria in cage fluid aspirated during treatment (i.e., day 5; open bars) and 5 days after end of treatment (i.e., day 10; closed bars). In each group, fluid from 12 cages (from 3 animals) was investigated. The y axis shows \log_{10} CFU/ml in aspirated cage fluid, expressed as means \pm standard deviations (SD).

IOAP et résistance par production de BLSE

Table 1. Antimicrobial minimal inhibitory concentrations of the *E. hormaechei* subspecies *hoffmanni*.

Antimicrobials	MIC (mg/L) (Clinical Categorization)
	EUCAST Breakpoints ⁱ
β-lactams	
Amoxicillin	>256 (R)
Amoxicillin + clavulanate ^a	>256 (R)
Ticarcillin	>256 (R)
Ticarcillin + clavulanate ^a	64 (R)
Piperacillin	>256 (R)
Piperacillin + tazobactam ^b	128 (R)
Temocillin	>32 (R)
Cefoxitin	>256 (R)
Aztreonam	>32 (R)
Cefotaxime	>32 (R)
Ceftazidime	>32 (R)
Ceftazidime + avibactam ^c	8 (S)
Cefepime	>32 (R)



microorganisms



Case Report

Compassionate Use of Cefiderocol to Treat a Case of Prosthetic Joint Infection Due to Extensively Drug-Resistant *Enterobacter hormaechei*

Soline Siméon ¹, Laurent Dortet ², Frédérique Bouchand ³, Anne-Laure Roux ⁴, Rémy A. Bonnin ², Clara Duran ¹, Jean-Winoc Decousser ^{5,6}, Simon Bessis ¹, Benjamin Davido ¹, Grégory Sorriaux ⁷ and Aurélien Dinh ^{1,*}

Abstract: We report the case of a 67-year old man with a right knee prosthetic joint infection due to extensively drug-resistant *Enterobacter hormaechei*. The resistance phenotype was due to the overproduction of the intrinsic cephalosporinase (ACT-5) associated with the production of three acquired β-lactamases (CTX-M-15, TEM-1B and OXA-1), and a putative membrane decreased permeability. He was first treated with colistin-tigecyclin due to adverse drug reactions; treatment was switched to cefiderocol for a 12-week antibiotic duration, with a favorable outcome.

Quinolones	
Levofloxacin	>32 (R)
Ciprofloxacin	>32 (R)
Cyclines	
Tigecycline ^h	1 (S)
Eravacycline ^h	2 (S)
Other	
Sulfamethoxazole-trimethoprim	>32 (R)
Chloramphenicol	>256 (R)
Colistin	0.5 (S)

Nouvelles options :

- ✓ Ceftazidime/Avibactam
- ✓ Cefotolozane/tazobactam
- ✓ Cefiderocol
- ✓ Phages

IOAP et résistance par production de carbapénémase



Article Orthopedic Implant-Associated Infection by Multidrug Resistant *Enterobacteriaceae*

Bernadette G. Pfang¹, Joaquín García-Cañete¹, Julia García-Lasheras¹, Antonio Blanco¹,
Álvaro Auñón², Raul Parron-Camero², Alicia Macías-Valcayo³ and Jaime Esteban^{3,*}



Time trends in the aetiology of prosthetic joint infections:
a multicentre cohort study^{*}

N. Benito^{1,2,3,*}, M. Franco^{1,2,23}, A. Ribera^{3,4}, A. Soriano^{3,5}, D. Rodríguez-Pardo^{3,6}, L. Sorlí⁷,
G. Fresco^{3,8}, M. Fernández-Sampedro^{3,22}, M. Dolores del Toro^{3,9}, L. Guío^{3,10}, E. Sánchez-Rivas^{3,11},
A. Bahamonde¹², M. Riera^{3,13}, J. Esteban¹⁴, J.M. Baraia-Etxaburu¹⁵, J. Martínez-Alvarez¹⁶,
A. Jover-Sáenz¹⁷, C. Dueñas¹⁸, A. Ramos¹⁹, B. Sobrino²⁰, G. Euba^{3,4}, L. Morata^{3,5}, C. Pigrau^{3,6},
P. Coll^{3,21}, I. Mur¹, J. Ariza^{3,4}, the REIPI (Spanish Network for Research in Infectious Disease) Group for
the Study of Prosthetic Joint Infections

Complex prosthetic joint infections due to carbapenemase- producing *Klebsiella pneumoniae*: a unique challenge in the er- of untreatable infections*

Int J Infect Dis. 2014 August ; 25: 73–78. doi:10.1016/j.ijid.2014.01.028

Jorgelina de Sanctis^{a,b,c,*}, Lucilela Teixeira^{a,b,c}, David van Duin^{a,b,c}, Camila Odio^d,
Geraldine Hall^{a,b,c}, J. Walton Tomford^{a,b,c}, Federico Perez^{e,f,g}, Susan D. Rudin^e, Robert A
Bonomo^{e,f,g,h,i}, Wael K. Barsoum^j, Michael Joyce^j, Viktor Krebs^j, and Steven Schmitt^{a,b,c}

Enjeux et défis de demain :

- ✓ Epidémiologie qui se modifie !
- ✓ Bactérie délicate à traiter et difficile à éradiquer
- ✓ Pan ou toto-R = rechute
- ✓ Chirurgies répétées - DMS - Coût – Qualité de vie
- ✓ Morbidité et mortalité

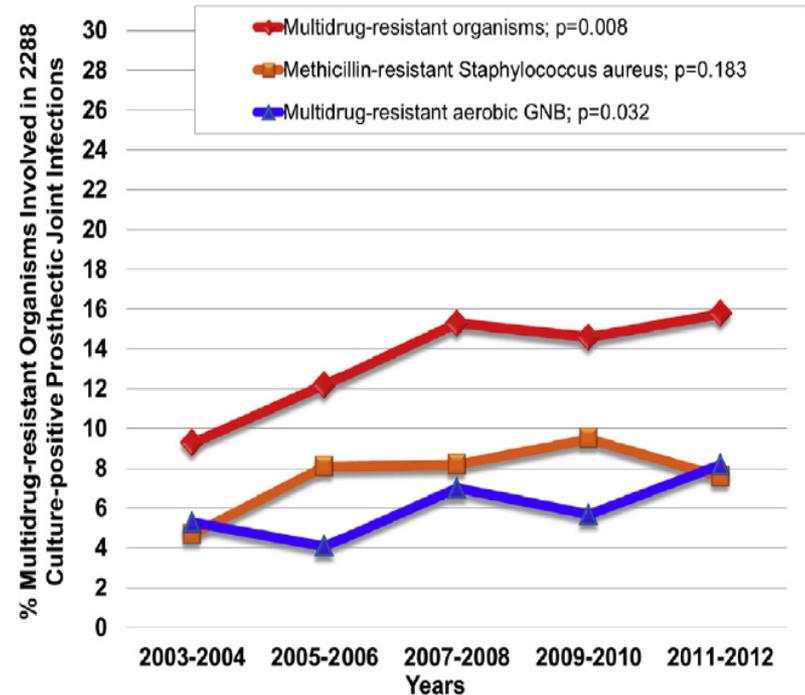


Fig. 2. Trends in the multidrug-resistant organisms involved in prosthetic joint infections. GNB indicates Gram-negative bacilli. p values indicate p for trend from 2003–2004 to 2011–2012.

IOAP et résistance par production de carbapénémase

Case Report

Prosthetic Joint Infection from Carbapenemase-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Successfully Treated with Ceftazidime-Avibactam

Hindawi

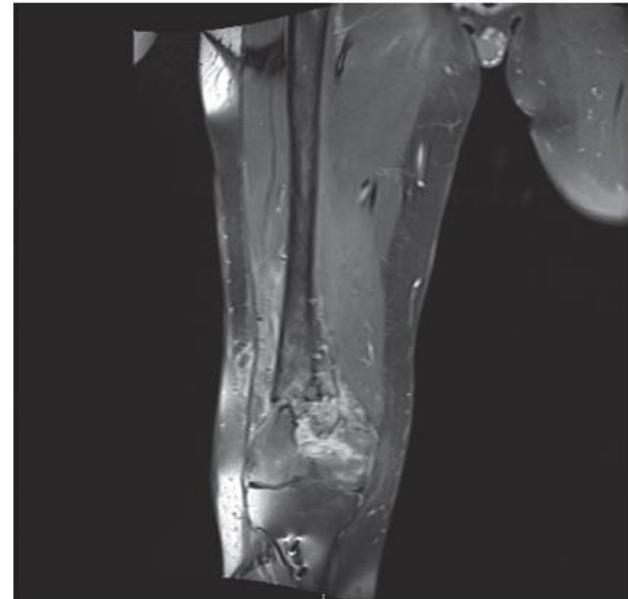
Case Reports in Infectious Diseases

Volume 2018, Article ID 1854805, 5 pages

<https://doi.org/10.1155/2018/1854805>

A. Schimmenti,¹ E. Brunetti,^{1,2} E. Seminari,² B. Mariani,³ P. Cambieri,³ and P. Orsolini^{2,4}

Antibiotic	R/S	MIC mg/L
Amikacin	R	>16
Amoxicillin/cavulanate	R	>32/2
Ampicillin	R	>8
Cefepime	R	>8
Cefotaxime	R	>4
Ceftazidime	R	>8
Cefuroxime	R	>8
Ciprofloxacin	R	>1
Ertapenem	R	>1
Fosfomycin	S	≤16
Gentamicin	R	>256
Imipenem	R	>32
Levofloxacin	R	>2
Meropenem	R	>32
Piperacillin	R	>16
Piperacillin/tazobactam	R	>16/4
Tigecycline	S	0.25
Tobramycin	R	>4
Trimethoprim-sulfamethoxazole	S	≤1/19



- ✓ KPC = CS + FOS + TIG
- ✓ Risque de persistance
- ✓ Risque de sélection de résistance

Variable	Case 1	Case 2	Case 3
Age (years), sex	58, male	72, male	70, female
Comorbidities	Osteoarthritis, diabetes	Osteoarthritis, coronary artery disease, congestive heart failure	RA on immunosuppression with methotrexate and hydroxychloroquine
Onset of first PJI (months from index surgery)	60	36	1
Primary organism PJI	MSSA	VSE, VRE, <i>Proteus mirabilis</i>	<i>Corynebacterium sp</i> and VSE
Onset of CRKP PJI (months from first PJI)	2	2	5
Number of procedures (<i>n</i>)	10	12	57
Antibiotics	Oxacillin; piperacillin–tazobactam; daptomycin and oral doxycycline; tigecycline and fluconazole; colistin, amikacin, and tigecycline	Ciprofloxacin, linezolid, and rifampin; daptomycin and ciprofloxacin; vancomycin and tigecycline → doxycycline; oxacillin, oxacillin and tigecycline → doxycycline	Vancomycin; tigecycline; colistin; tigecycline; tigecycline; tigecycline and vancomycin → oral ciprofloxacin and clindamycin; tigecycline; colistin; tigecycline, and amikacin; ciprofloxacin
WBC ×10 ⁹ /l (median (IQR))	9.07 (0.63, 12.49)	8.45 (7.73, 9.75)	8.92 (7.40, 11.68)
Hospital LOS (days)	51	101	225
Hospitalization costs (\$)	N/A	N/A	850 000
Functional status	Above-the-knee amputation	Full	Disarticulated
Outcomes	Died	Died	Alive with major disability

RA, rheumatoid arthritis; PJI, prosthetic joint infection; MSSA, methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*; VSE, vancomycin-susceptible *Enterococcus sp*; VRE, vancomycin-resistant *Enterococcus sp*; CRKP, carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*; WBC, white blood cell count; IQR, interquartile range; LOS, length of stay; N/A, not available.

IOAP et toto-résistance

Phage Therapy for Limb-threatening Prosthetic Knee *Klebsiella pneumoniae* Infection: Case Report and In Vitro Characterization of Anti-biofilm Activity

Edison J. Cano,^{1,2} Katherine M. Caffisch,^{2,3} Paul L. Bollyky,⁴ Jonas D. Van Belleghem,⁴ Robin Patel,^{1,2,5} Joseph Fackler,⁶ Michael J. Brownstein,⁶ Bri'Anna Horne,⁶ Biswajit Biswas,⁷ Matthew Henry,^{7,8} Francisco Malagon,⁷ David G. Lewallen,⁹ and Gina A. Suh¹

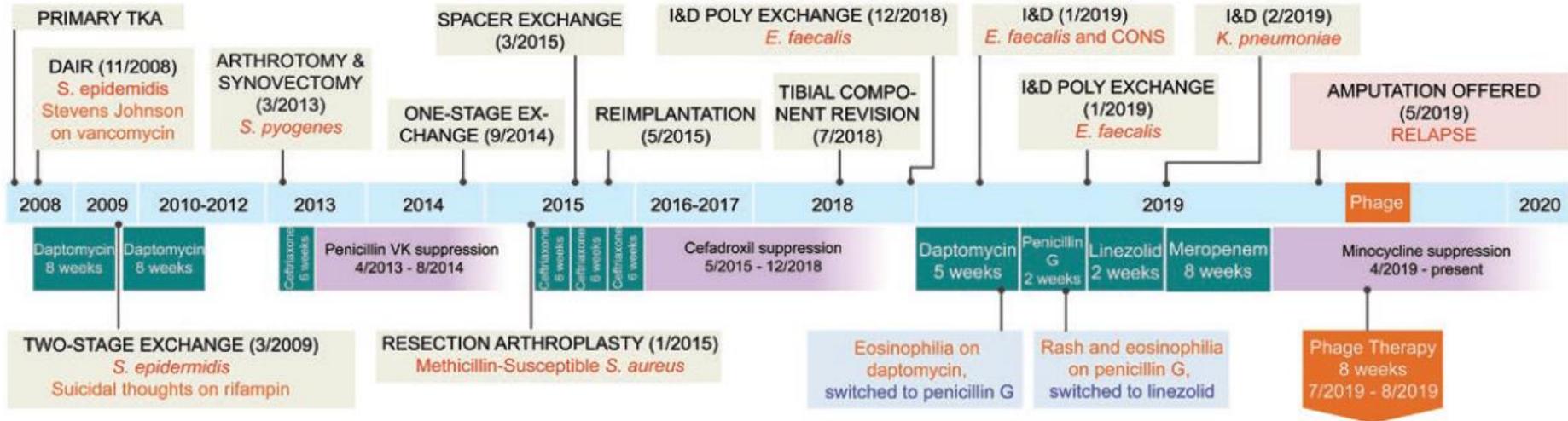
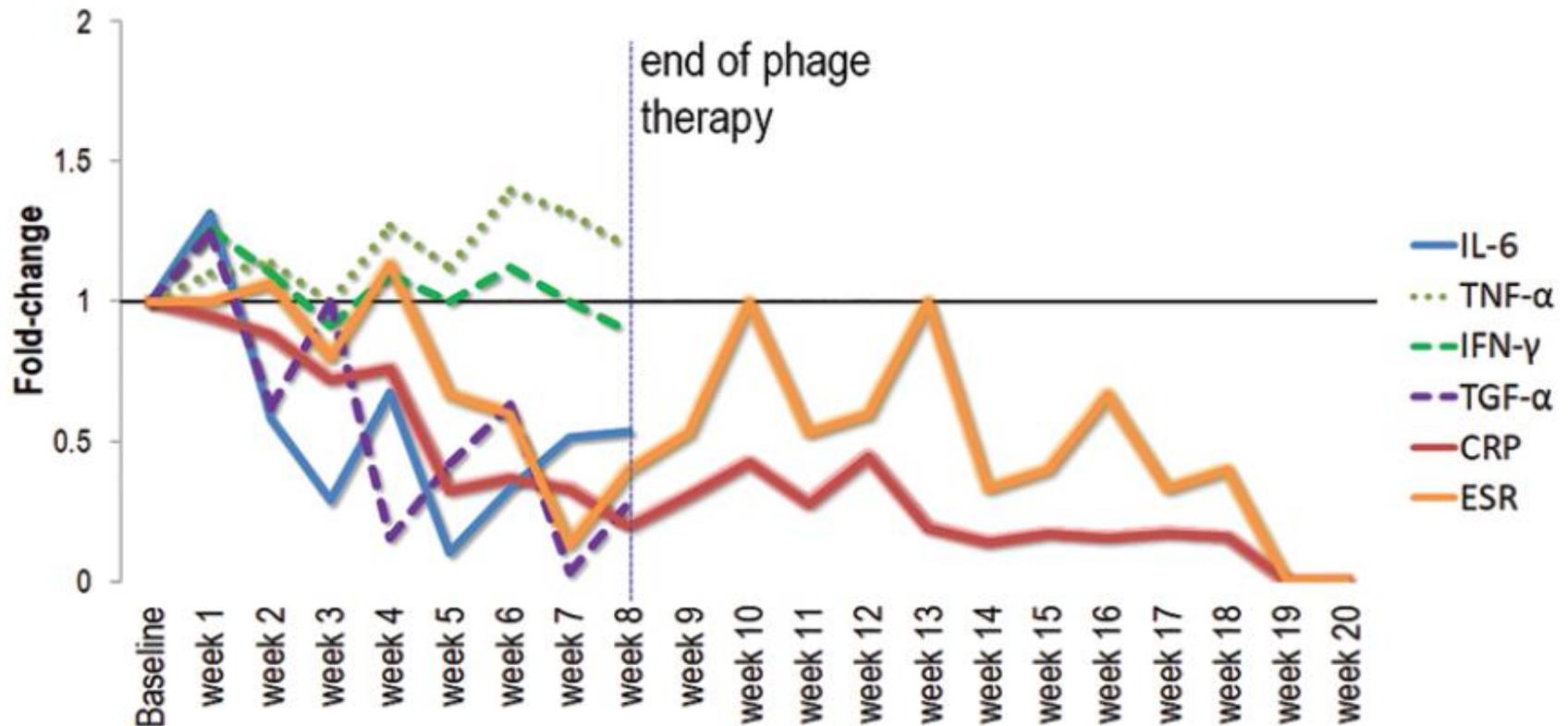


Figure 1. Summary of the patient's clinical course, timeline of surgical interventions, intraoperative cultures, antibiotics administered, and adverse events.

Multi-opéré, multi-infecté, 14 ans de galère => Amputation

Association Minocycline 100 mg * 2/J + phage $6,3 \cdot 10^{10}$ phages/50 mL 30'

IOAP et toto-résistance



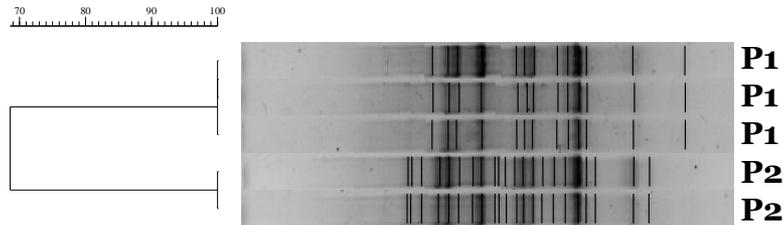
IFN- γ : interferon- γ ; IL-1 β : interleukin-1 β ; IL-2 interleukin-2; IL-6: interleukin 6; TGF- α : transforming-growth factor- α ; TNF- α : tumor necrosis factor- α .

- ✓ Echec de la banque de phages : lyse sur le long terme !
- ✓ Phages en trouver un ou un cocktail qui fonctionne !
Isolement, production, purification
- ✓ TTT par phages : sûr, efficace et bien toléré !
- ✓ Problème des circuits, des autorisations, de la sélection

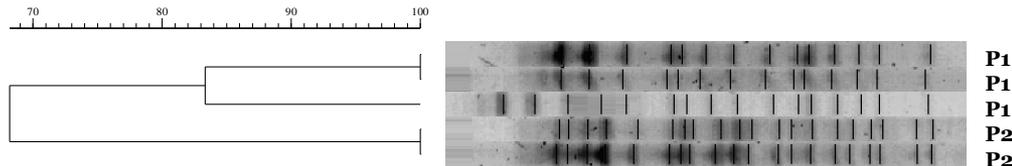
Intérêt du typage dans les IOAP

Electrophorèse en Champ Pulsé

Deux patients opérés à un jour d'intervalle infectés à *P. aeruginosa* sérovar O6 ?
Phénotype identique de type hyperproduction du système d'efflux actif MexAB-OprM



Profil ERIC-2 PCR différents

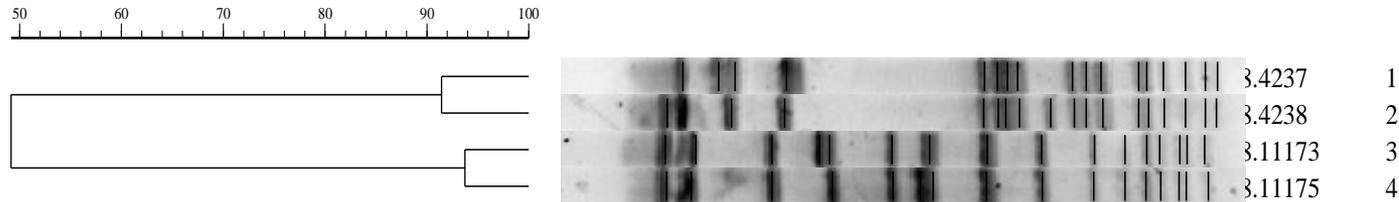


- ✓ Absence de lien génétique entre ces deux infections
- ✓ Enquête autour des cas : chirurgien, durée de la chirurgie, salle, délai de survenue, etc...

Intérêt du typage dans les IOAP

Electrophorèse en Champ Pulsé

Madame D, hémophile, reprise pour sa PTH : Echec de traitement du *S. epidermidis* ?
 Rechute (même souche) , récurrence = réinfection, contamination ?



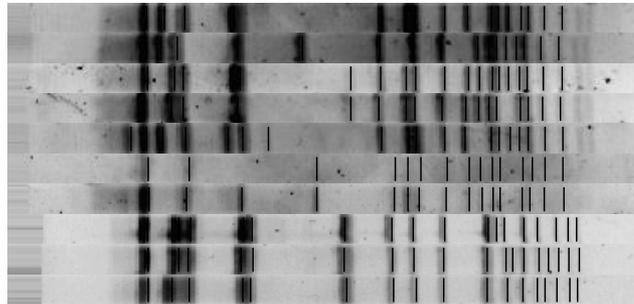
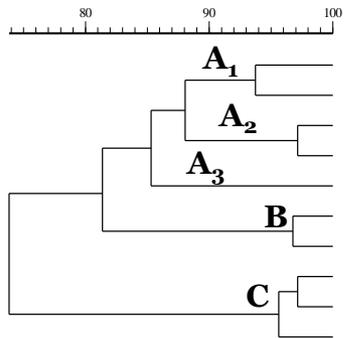
	Nature	Date	PG	Oxa	K	T	G	FQ	Va	Tec	E	L	PT	Tet	Tig	AF	SXT	FOS	LZD	NF	RIF	
1	Ticoma	04.08	R	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R
2	Ticoma	04.08	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R
3	Os	10.08	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	I	R	S	S	S	S
4	Sous.cut	10.08	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	-	S	R	R	S	S	S	S

- ✓ **1^{er} épisode** de sepsis polyclonal ?, avec pulsotype proche mais phénotype différent
- ✓ **2^{ème} épisode** = rechute de sepsis et non récurrence, pulsotype proche et phénotype id Ttt par Tigécycline + Linézolide
- ✓ Hématome surinfecté = *P. aeruginosa* + *K. pneumoniae*

Intérêt du typage dans les IOAP

Electrophorèse en Champ Pulsé

M. V, multi-opéré pour sa PTG : 18/06/2007, 25/09/2007, 29/05/2008, 18/09/2008
 Rechute (même souche) , récurrence = réinfection, contamination ?



		PeniG	OXA	K	T	G	FQ	Van	Tec	E	L	PT	TET	Mino	AF	SXT	FOS	LZD	RIF
5	S. epi blanc	29/05/2008	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R
7	S. epi blanc	29/05/2008	R	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	I	R	S	R
1	S. epi	18/09/2008	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S	R
2	S. epi blanc	18/09/2008	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S	R
4	S. epi	18/09/2008	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R
10	S. epi blanc	25/09/2007	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	R	I	S	S	S	R
11	S. epi gris	25/09/2007	R	R	R	R	S	R	S	I	R	R	S	R	I	S	S	S	R
A	S. epi grosse	18/06/2007	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	I	S	S	S	S
C	S. epi petite	18/06/2007	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	I	S	S	S	S
D	S. epi petite	18/06/2007	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	I	S	I	S	S	S	S

- ✓ **Clone C**, sepsis avec différents morphotypes, même pulsotype et même phénotype
- ✓ **Clone B**, reprise liquide articulaire, phénotype de R différents : AG, macrolides, LZD
- ✓ 2008, Mai clone A1 94% similitude mais 3 bandes de différence et phénotype différent
 Septembre, clone A2 et A3 avec différence de phénotype
- ✓ Evolution d'un sepsis chronique dans le temps, infection polyclonale ?

Intérêt du typage dans les IOAP

Electrophorèse en Champ Pulsé

> Scand J Infect Dis. 2012 Aug;44(8):610-4. doi: 10.3109/00365548.2012.664778. Epub 2012 Mar 4.

Genotypic and phenotypic characterization of *Staphylococcus epidermidis* causing chronic relapsing prosthetic joint infections

Benoît Henry¹, Stéphane Corvec, Lise Crémet, Aurélie Guillouzouic, Julie Marraillac, Marie-Emmanuelle Juvin, Sophie Touchais, Nathalie Asseray, David Boutoille, Alain Reynaud, Pascale Bémer

Table II. Characteristics of the *Staphylococcus epidermidis* strains studied.

Patient No.	No. of surgeries	Type of surgery	Date of isolation	Antibiotic susceptibility patterns							<i>SmaI</i> patterns	Characterization of infection ^a	
				OXA	LVX	CLI	FOF	RIF	FA	SXT			
1	2	First stage	18/7/2008	R	R	R	S	S	S	R	B1	Superinfection	
		Second stage	12/12/2008	S	S	S	S	S	S	S	B2		
2	2	First stage	13/5/2008	R	R	R	R	R	R	S	C1	Superinfection	
		Second stage	23/6/2008	R	R	R	R	R	R	S	C2		
3	2	First stage	9/1/2008	S	S	S	S	S	S	S	D1	Superinfection	
		Second stage	7/3/2008	R	R	R	S	R	R	R	D2		
4	2	First stage	25/3/2008	S	S	S	R	S	S	S	E1	Superinfection	
		Second stage	7/4/2008	R	S	R	S	S	S	S	E2		
7	2	First stage	8/4/2008	R	R	R	S	R	S	R	F1	Superinfection	
		Second stage	14/10/2008	R	R	S	R	S	S	R	F2		
9	2	First stage	18/7/2007	R	R	S	S	S	R	S	G1	Superinfection	
		Second stage	1/8/2007	R	R	R	R	S	R	R	G2		
6	4	First stage	18/6/2007	R	R	R	S	S	S	S	I1	Superinfection	
		Second stage	25/9/2007	R	R	R	S	R	S	S	I2		
		One-stage exchange	29/5/2008	R	R	R	R	R	R	S	I3		
		One-stage exchange	18/9/2008	R	R	R	R	R	R	S	I3		
5	2	One-stage exchange	20/4/2007	R	S	S	S	S	S	S	A1	Superinfection	
		One-stage exchange	24/9/2008	R	S	S	S	S	S	S	A1		
8	2	Surgical debridement	21/6/2007	R	R	S	S	S	S	S	J1	Superinfection	
		One-stage exchange	7/12/2007	R	R	S	S	S	S	S	J1		Recurrence
		One-stage exchange	7/12/2007	S	S	S	R	S	S	S	J2		Polyclonal

✓ Classification infections

✓ Echec microbiologique

✓ Echec thérapeutique

✓ Polyclonalité

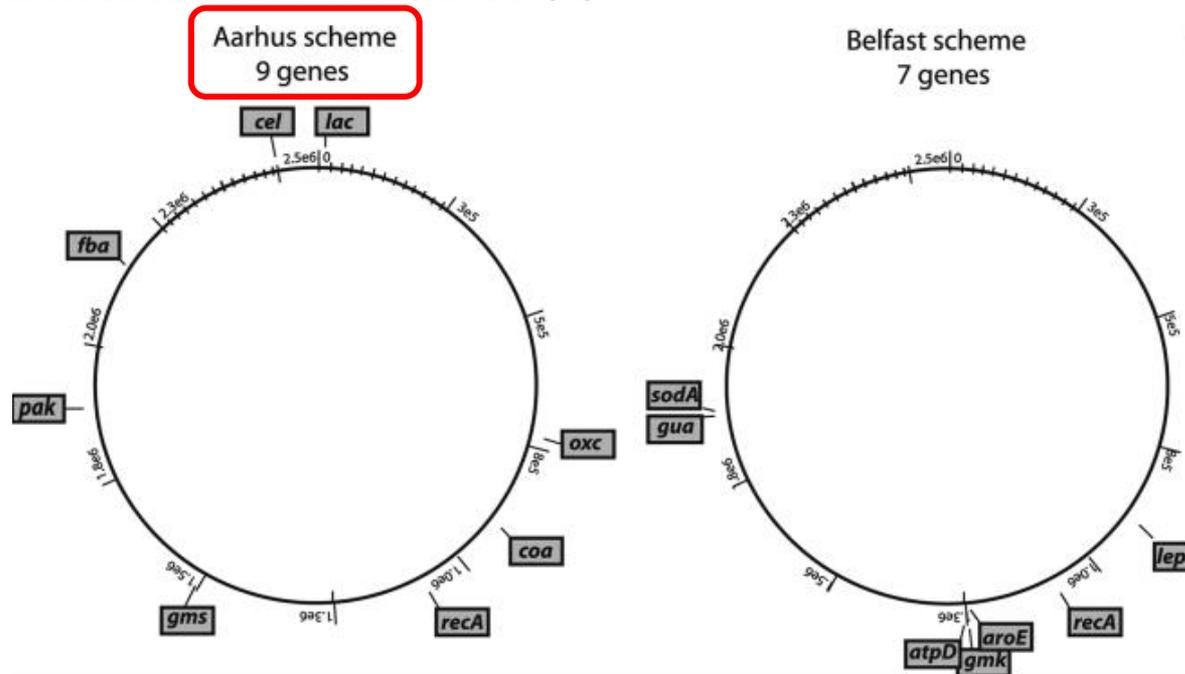
OXA, oxacillin; LVX, levofloxacin; CLI, clindamycin; FOF, fosfomycin; RIF, rifampicin; FA, fusidic acid; SXT, co-trimoxazole; R, resistant; S, susceptible.

^aSuperinfection: new strain(s) added to the initial infection; recurrence: persistence of initial infection; polyclonal: more than 1 type of isolate from a single infective episode.

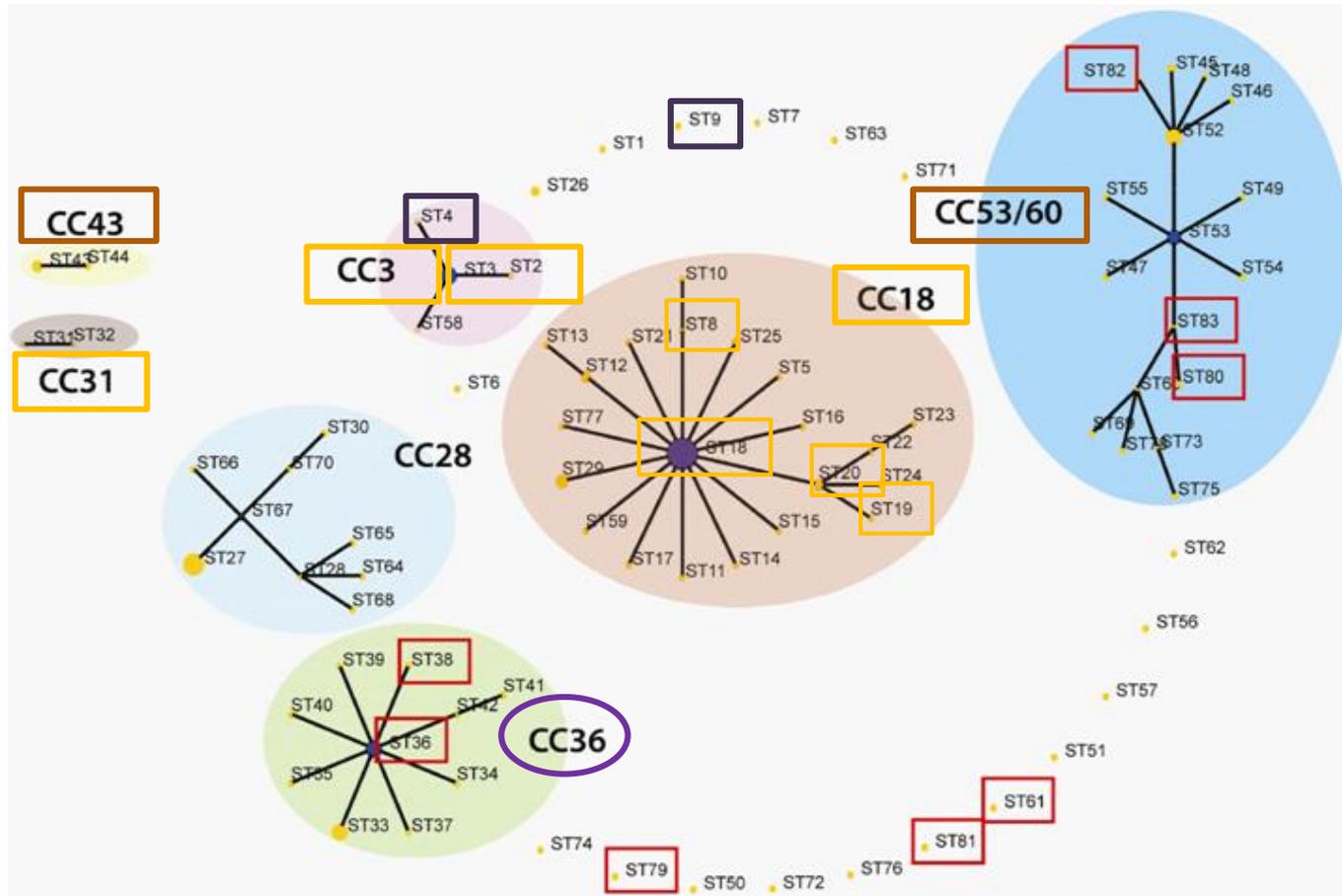
Typage moléculaire : « sequence type » »

Macro-épidémiologie : circulation des principaux clones

But : Horloge moléculaire stable pendant l'évolution
 Séquençage de 7-9 gènes de ménage = métabolisme
 Un allèle par gène
 ST : combinaison des allèles
 Différence entre ST et CC



Phylogénie de *C. acnes* : tropisme ?



Mak et al., The prostate, 2013

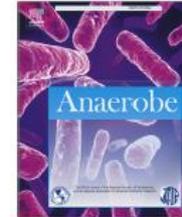
- Bone Infections
- Acne
- Opportunistic infections
- Prostate Infections

Intérêt du typage dans les IOAP

Multi-Locus Sequence Typing

Tropism and virulence of *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) *acnes* involved in implant-associated infection

Guillaume Ghislain Aubin ^{a,b}, Jean-Philippe Lavigne ^{c,d}, Yohan Foucher ^e, Sarah Dellière ^b, Didier Lepelletier ^{b,f}, François Gouin ^g, Stéphane Corvec ^{b,h,*}



Comparison of the population structures of *Cutibacterium acnes* isolates involved in spine instrumentation infection (Spl), prosthetic joint infection (PJI) and acne lesion (AL).

MLST Clonal complex (CC)	Clade	Spl isolates (%) n = 58	PJI isolates (%) n = 14	AL isolates (%) n = 14	p-value
CC18	IA1	32 (55.2)	4 (28.6)	6 (42.9)	p = 0.021
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)	
CC53	II	2 (3.4)	4 (28.6)	2 (14.3)	
CC107	IC	1 (1.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	

- ✓ Comme pour *S. aureus*,
- ✓ intérêt de distinguer les grands clones à tropisme osseux
- ✓ Infection sur **prothèses articulaires** : Phylotypes IB et II, clones CC36 et CC53
- ✓ Infection sur **instrumentation rachidienne** : Phylotypes IA₁ et IA₂, clones CC18 et CC28
- ✓ Génome conservé, core G à 83 % : difficulté définir des profils de virulence
- ✓ Caractérisation à faire un biofilm ?

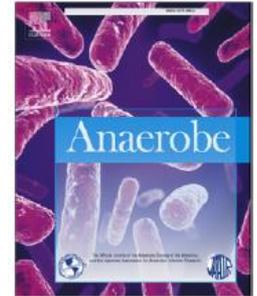
Intérêt du typage dans les IOAP

Single-Locus Sequence Typing

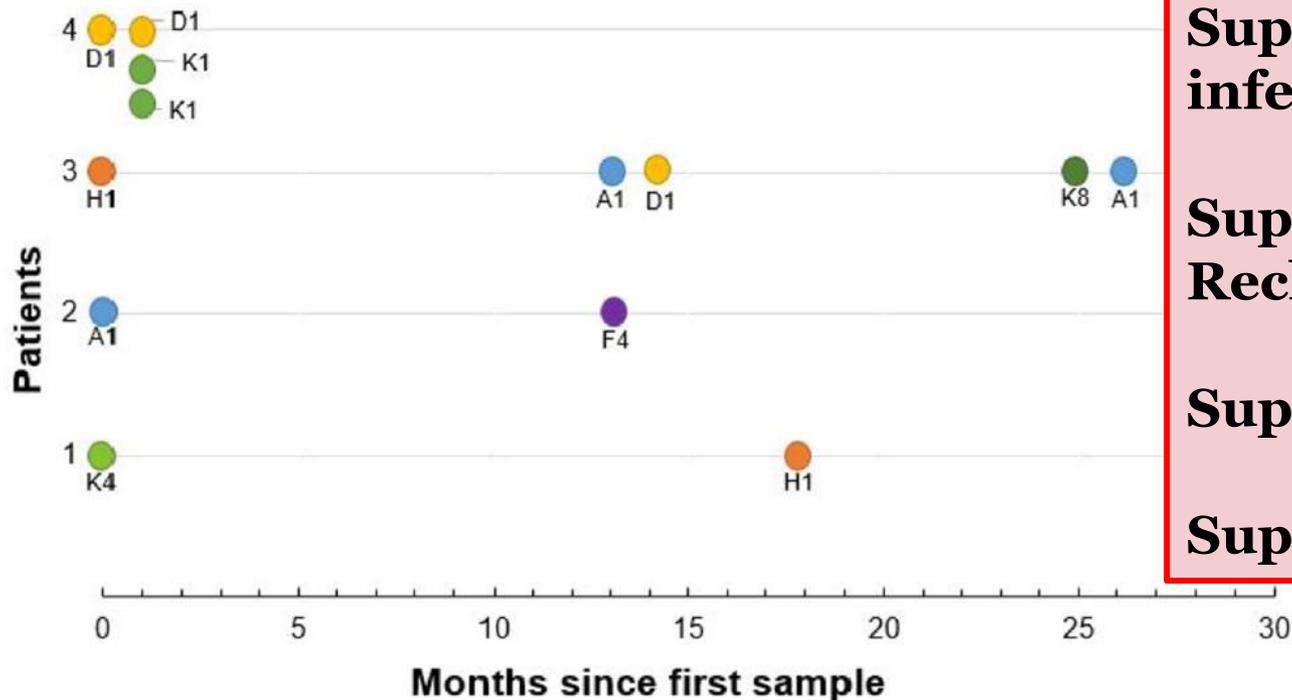
Clonal diversity of *Cutibacterium acnes* (formerly *Propionibacterium acnes*) in prosthetic joint infections

C. Liew-Littorin ^{a,*}, H. Brüggemann ^b, S. Davidsson ^c, Å. Nilsson-Augustinsson ^d,
B. Hellmark ^a, B. Söderquist ^{a,e}

Anaerobe 59 (2019) 54–60



Timeline of patients presenting with recurrent infections



**Superinfection
infection polyclonale ?**

**Superinfection
Rechute**

Superinfection

Superinfection

Intérêt du typage dans les IOAP

Single-Locus Sequence Typing

Clonal diversity of *Cutibacterium acnes* (formerly *Propionibacterium acnes*) in prosthetic joint infections

C. Liew-Littorin ^{a,*}, H. Brüggemann ^b, S. Davidsson ^c, Å. Nilsson ^d,
B. Hellmark ^a, B. Söderquist ^{a,e}

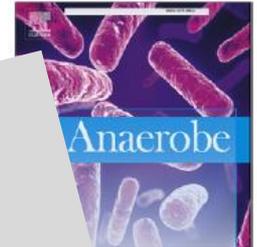


Table 3

C. acnes isolated from multiple tissue samples of eight patients

(*) types among their

Patients	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6	Sample 7
1, Shoulder							A1
2, Shoulder							
3, Hip							
4, Hip							
5, Shoulder							
6, Hip							
7, Shoulder							A1
8, Shoulder							

Une seule colonie ?
Typage systématique ?
Antibiotype ?

- 1- Infection avec D2
- 2&6- Différents types de *C. acnes*, contamination, infection
- 3- Infection avec D2 mais 1 type ou 2 nouveaux types différents = contamination ?
- 4- 3 types de *C. acnes* ! Intérêt du multipicking !!
- 5- Echantillon 2 contaminé ?
- 7- Infection avec D2 mais contamination cutanée avec A1 très probable
- 8- Infection polyclonale ou deux nouveaux types différents = contaminants ?

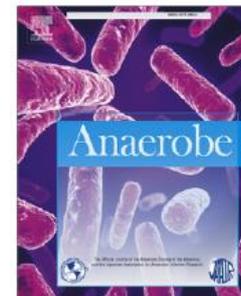
Intérêt du typage dans les IOAP

Single-Locus Sequence Typing

Clonal diversity of *Cutibacterium acnes* (formerly *Propionibacterium acnes*) in prosthetic joint infections

C. Liew-Littorin ^{a,*}, H. Brüggemann ^b, S. Davidsson ^c, Å. Nilsson-Augustinsson ^d,
B. Hellmark ^a, B. Söderquist ^{a,e}

Anaerobe 59 (2019) 54–60



Molecular Typing of Multiple Isolates
Is Essential to Diagnose *Cutibacterium
acnes* Orthopedic Device–related
Infection

CID 2019:68 (1 June) • Sayed et al

✓ Notion d’infections homotypiques
et hétérotypiques

Faten El Sayed,^{1,2,©} Anne-Laure Roux,^{1,2} Guillaume Sapriel,^{3,4} Elsa Salomon,^{1,2}
Thomas Bauer,^{3,5} Jean-Louis Gaillard,^{1,2} and Martin Rottman^{2,6}

***Cutibacterium acnes* Isolates from Deep Tissue Specimens
Retrieved during Revision Shoulder Arthroplasty: Similar
Colony Morphology Does Not Indicate Clonality**

February 2020 Volume 58 Issue 2 e00121-19

Journal of Clinical Microbiology

Roger E. Bumgarner,^a Della Harrison,^a Jason E. Hsu^b

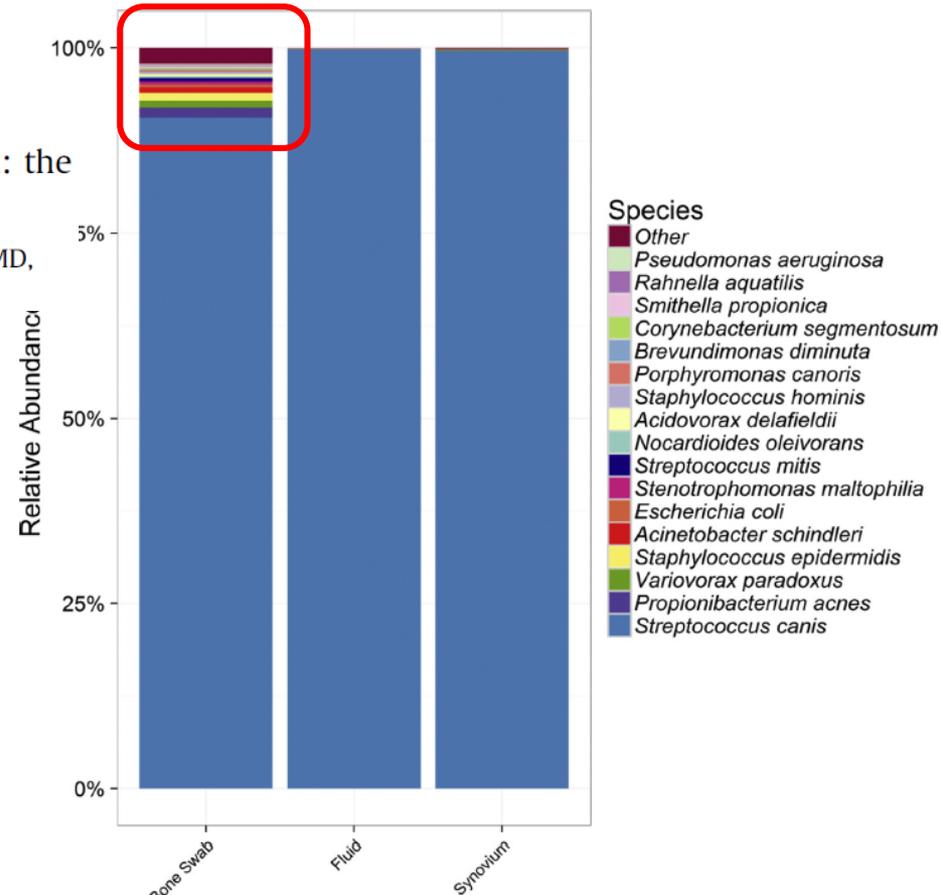
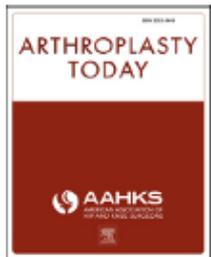
Conclusion. In this study, up to four different subtypes of *Cutibacterium* were observed in the deep tissues of a single patient. *C. acnes* clonality of deep specimens at the time of revision shoulder arthroplasty cannot be assumed. Thus, sequence-based characterization of virulence and antibiotic resistance may require testing of multiple deep specimens.

Intérêt du typage/diagnostic dans les IOAP

Whole Genome Sequencing

Diagnosis of *Streptococcus canis* periprosthetic joint infection: the utility of next-generation sequencing

Majd Tarabichi, MD, Abtin Alvand, MD, PhD, FRCS (Tr&Orth), Noam Shohat, MD, Karan Goswami, MD, Javad Parvizi, MD, FRCS*

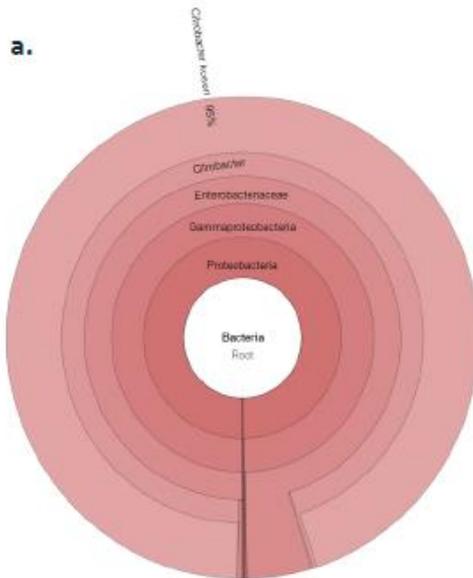


A 62-year-old man who had undergone a primary knee arthroplasty 3 years earlier, presented to the emergency department with an infected prosthesis. He underwent prosthesis resection. All cultures failed to identify the infecting organism. Analysis of the intraoperative samples by next-generation sequencing revealed *Streptococcus canis* (an organism that resides in the oral cavity of dogs). It was later discovered that the patient had sustained a dog scratch injury several days earlier. The patient reports that his dog had licked the scratch. Treatment was delivered based on the sensitivity of *S. canis*, and the patient has since undergone reimplantation arthroplasty.

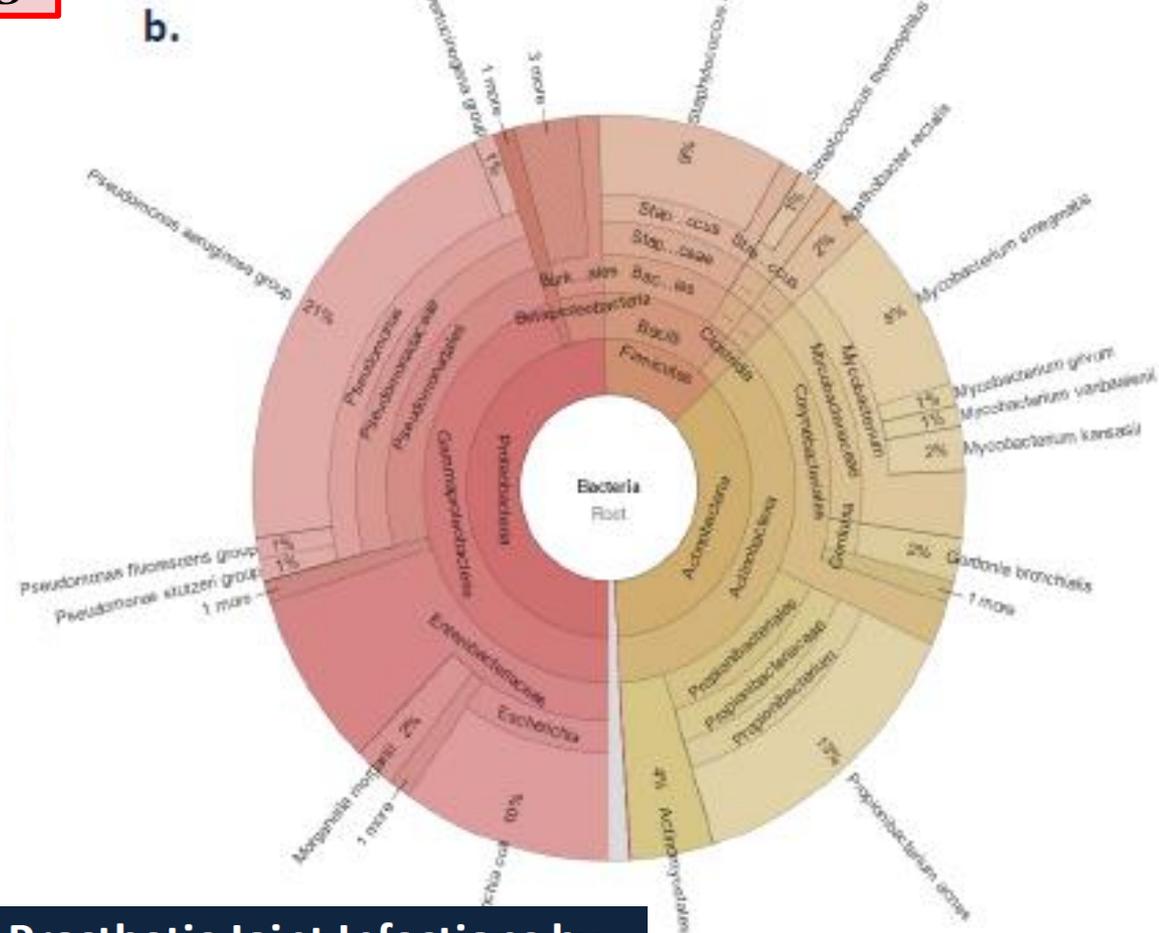
Intérêt du typage/diagnostic dans les IOAP

Culture stérile, 105 reads

Whole Genome Sequencing



221516 reads



Molecular Diagnosis of Prosthetic Joint Infections by Next-Generation Sequencing

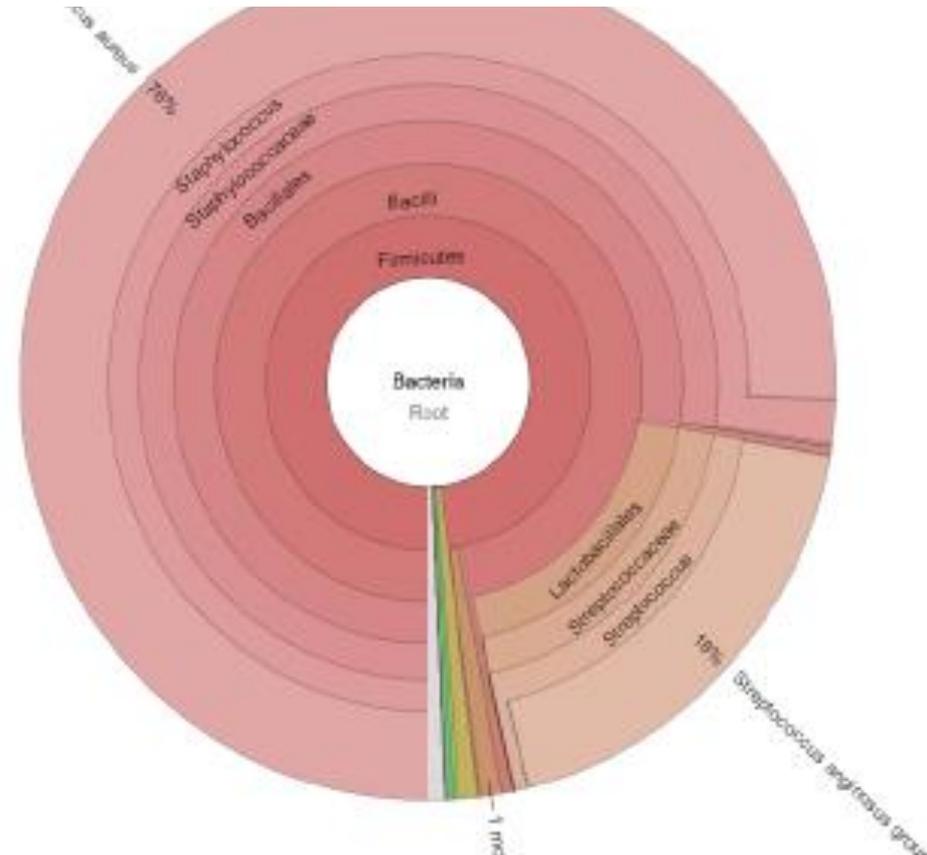
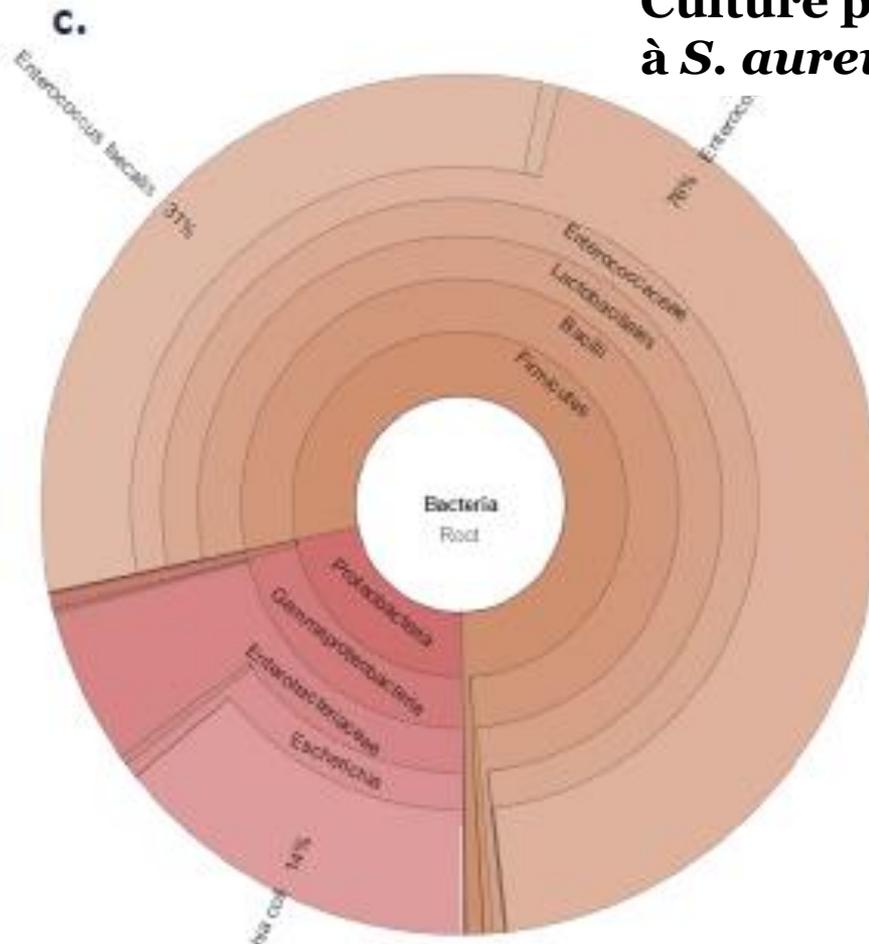
Teresa L. Street,^{a#} Nicholas D. Sanderson,^a Bridget Atkins,^b Andrew J. Brent,^{a,b} Dona Foster,^a Martin McNally,^b Sarah Oakley,^c Adrian Taylor,^b Tim E. A. Peto,^{a,d} A. Sarah Walker,^{a,d} Derrick W. Crook,^{a,d}

^aNuffield Department of Clinical Medicine, University of Oxford, John Radcliffe Hospital, Oxford, UK; ^bBone Infection Unit, Nuffield Orthopaedic Centre, Oxford University Hospitals NHS Trust, Oxford, UK; ^cMicrobiology Laboratory, John Radcliffe Hospital, Oxford University Hospitals NHS Trust, Oxford, UK; ^dNational Institute for Health Research Oxford Biomedical Research Centre, John Radcliffe Hospital, Oxford, UK; [#]teresa.street@ndm.ox.ac.uk

Intérêt du typage/diagnostic dans les IOAP

Whole Genome Sequencing

Culture positive à *S. aureus*, mais NGS positif à *S. aureus* à 122528 reads et *S. anginosus* 29441



Culture positive à *E. faecalis* and *E. coli* 221516 reads :
35349 reads *Enterococcus* & 14486 *E. faecalis*, *Enterobacteriaceae* 9662,
E. coli 6503

Intérêt du typage/diagnostic dans les IOAP

Whole Genome Sequencing

Next-generation sequencing infection: is more sensitive

Allison J. Rao, MD, Ian S. MacLean, MD, Grant E. Garrigues, MD, Nikhil N. Verma,

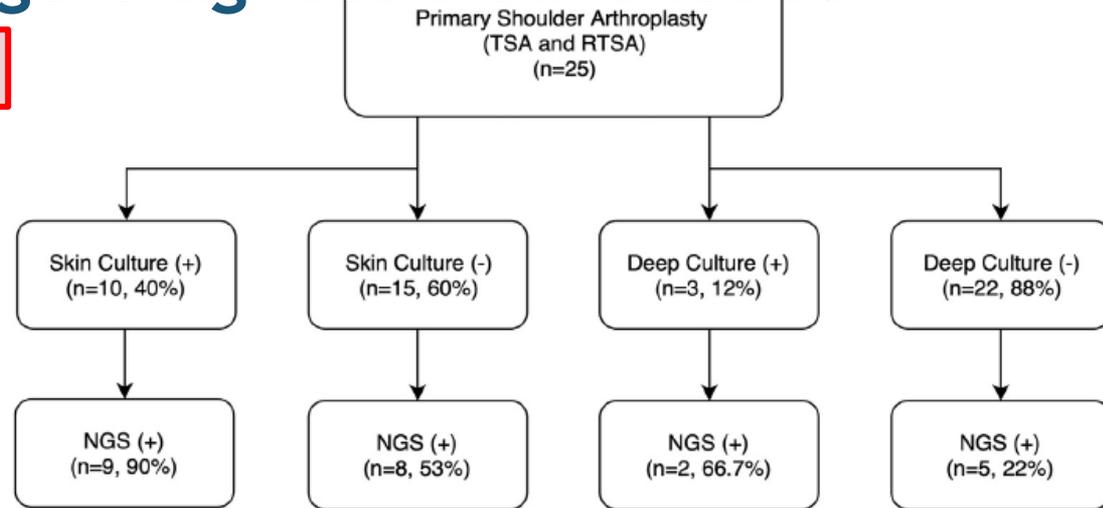


Figure 2. Concordance of standard culture and next-generation sequencing (NGS) results.

- ✓ Effectif petit donc prudence sur les % ;
- ✓ Manque de précision quant à l'homogénéisation des prélèvements
- ✓ Absence de milieu liquide pour la culture, absence de flacon d'hémoculture
- ✓ Manque de précisions méthodologiques notamment sur le seuil de 10 % en termes de charge bactérienne (nombre de reads ?) ou de bruit de fond potentiel
- ✓ Taux de positivité en NGS à *E. coli* et culture négative (5 patients en superficiel et 4 en profond, mêmes ? et rôle des réactifs de biologie moléculaire ?
- ✓ **Etonnant les bactéries détectées en superficiel :**
Arthrobacter sp. (bactérie de l'environnement), *Porphyromonas uenonis* et *Ureaplasma urealyticum* (flore buccale et rhinopharynx = contaminants ?) ou en profond : *Neisseria shayegani* (flore orale), *Catenabacterium mitsuokai* et *Megamonas funiformis* (flore fécale) !

Points forts à retenir

- Case report et miniséries avec des BMR / BHRe
- Intérêt des nouveaux antibiotiques et nouvelles approches
- Typage non urgent mais...
- Intérêt diagnostique, médico-légal...
- Arrivée du WGS, ne pas vouloir aller trop vite !