

Best of Microbiologie 2015-2016

Pascale Bémer, Bactériologie, CHU de Nantes
7^{ème} Journée du CRIOGO, Tours 2016

Quoi de neuf dans la
résistance ?

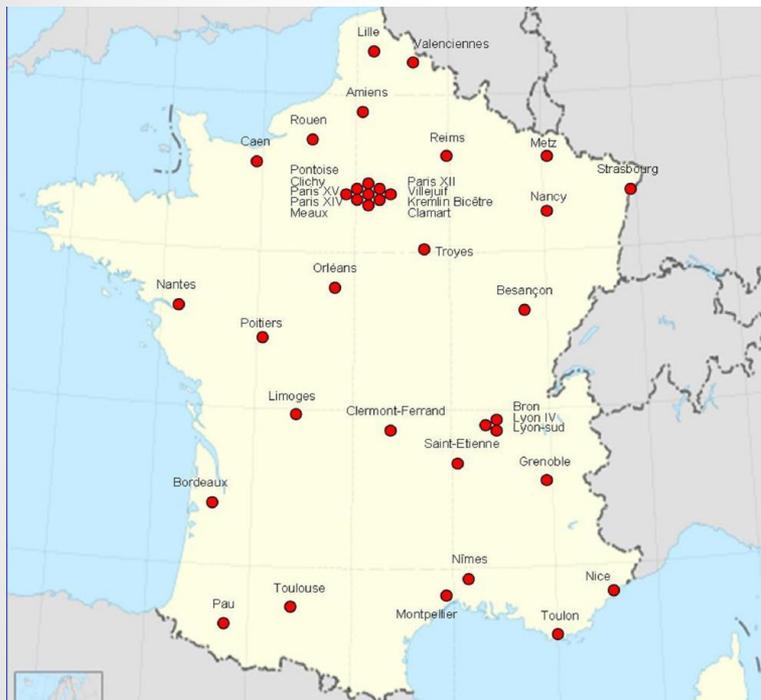
...

Susceptibility trends including emergence of linezolid resistance among coagulase-negative staphylococci and meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* from invasive infections

Decousser et al, IJAA 2015

Souches de SARM isolées d'IOA

| Origin/antimicrobial MIC (mg/L) agent | | | | %S ^{a,b} |
|--|-------------------|-------------------------|---------------|-------------------|
| | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ Range | | |
| Vancomycin | 1 | 1 | 0.5-2 | 100 |
| Daptomycin | 0.5 | 0.5 | 0.25-1 | 100 |
| Teicoplanin | 0.5 | 1 | 0.12-4 | 99.3 |
| Linezolid | 2 | 4 | 0.06-4 | 100 |
| Gentamicin | 0.5 | 2 | ≤0.25 to >2 | 86.8 |
| Levofloxacin | 8 | 8 | 0.06 to >8 | 19.1 |
| Fusidic acid | 0.25 | 2 | ≤0.03 to >2 | 86.8 |
| Rifampicin | 0.015 | 0.06 | <0.008 to >4 | 91.2 |
| Tigecycline | 0.12 | 0.12 | <0.03-0.5 | 100 |



Microbs Study Group, 37 centres
Octobre 2011-février 2012
367/1062 SARM
197 bactériémies (54%)
136 IOA (37%)

Susceptibility trends including emergence of linezolid resistance among coagulase-negative staphylococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from invasive infections

Decousser et al, IJAA 2015

- 695 SCN
- 172 IOA (25%)
 - *S. epidermidis* 63%
 - *S. lugdunensis* 15%
- Résistance linézolide (LZD)
 - Transférable, gène *cfr*
 - Non transférable :
 - mutation ADNr 23S, L3

| | MIC (mg/L) | | | %S ^{a,b} |
|--------------|-------------------|-------------------|--------------|-------------------|
| | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | Range | |
| Vancomycin | 2 | 2 | 0.5–4 | 100 |
| Daptomycin | 0.5 | 1 | 0.12–2 | 99.4 |
| Teicoplanin | 2 | 8 | 0.12–16 | 85.6 (P<0.05) |
| Linezolid | 1 | 2 | 0.25 to >32 | 99.4 |
| Gentamicin | 0.25 | 2 | ≤0.25 to >2 | 62.9 (P<0.05) |
| Levofloxacin | 0.5 | 8 | 0.12 to >8 | 57.5(P<0.05) |
| Fusidic acid | 0.5 | 2 | ≤0.03 to >2 | 55.1(P<0.05) |
| Rifampicin | 0.015 | 4 | ≤0.008 to >4 | 84.4 |
| Tigecycline | 0.06 | 0.25 | ≤0.03–0.5 | 100 |

- 10/695 (1,4%) SCN R LZD, tous métiR, 1 IOA
- 8 SERM
 - Mutations ADNr 23S et /ou L3
 - Gène *cfr* présent dans 5 souches de SERM
 - Souches reliées (ST2, CHU Lille/Amiens)

Nouvelles approches diagnostiques

...

- Leucocyte-estérase
- Sérologie bactérienne

Place de la leucocyte estérase dans le diagnostic des IPOA

- 2 études princeps
 - Parvizi, JBJS 2011
 - Sensibilité 80%
 - Spécificité 100%
 - Lecture impossible en présence de sang
 - Wetters, J. Arthrop, 2012
 - VPP élevée
- Critère diagnostique mineur des IPOA
 - Dernière conférence de consensus Parvizi, 2013

Use of leucocyte esterase reagent strips in the diagnosis or exclusion of prosthetic joint infection

Shafafy, Bone and Joint Journal 2015

| Items | Negative (CaCELLS/ μ l) | Positive (CaCELLS/ μ l) | | | |
|-----------------------------|--|---|---|--|--|
| LEU 2 (minutes) |  0 |  15 |  70 |  125 |  500 |

Résultats semi-quantitatifs
Cut-off optimal dans les IP ?



Lecture automatisée
Subjectivité de la lecture diminuée

- 105 liquides synoviaux
 - 21 IP (dont 15 sur PTG)
- Corrélation significative
 - Cytologie liquide synovial
 - Cut-off de 1600 PNN/ μ L
 - Bandelette LE : 125 PNN
 - SE 81% - SP 93%
 - VPP 74% - VPN 95%
- Finalement, plutôt un test d'élimination

Leukocyte Esterase: Metal-on-Metal Failure and Periprosthetic Joint Infection

Tischler, Parvizi, J Arthroplasty, 2016

- 61 révisions de PTH
 - 56 « métalloses » : inflammation due à la production de particules de métal, 5 suspicions d'IP

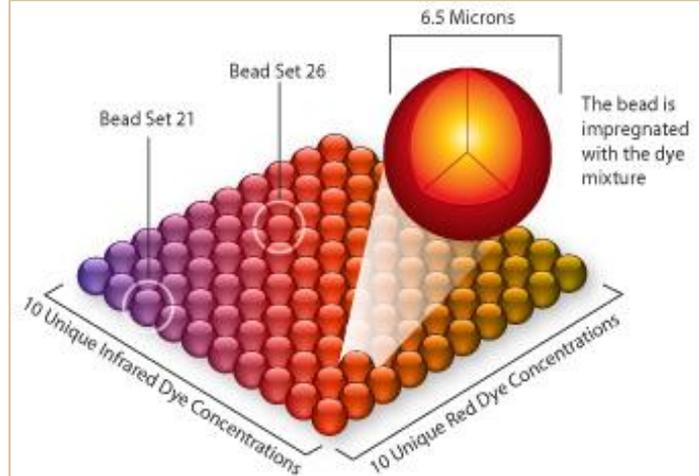
| Cultures | LE ++ | LE + | LE - | Total |
|--------------|-------|------|------|-------|
| + | 2 | 0 | 0 | 2 |
| - | 6 | 14 | 39 | 59 |
| Total | 8 | 14 | 39 | 61 |

- Compte moyen de PNN : 1291/ μ L
- SE 80% - SP 93% - VPP 50% - **VPN élevée : 98.1%**
- Intérêt en per-opératoire, limite : sang ++

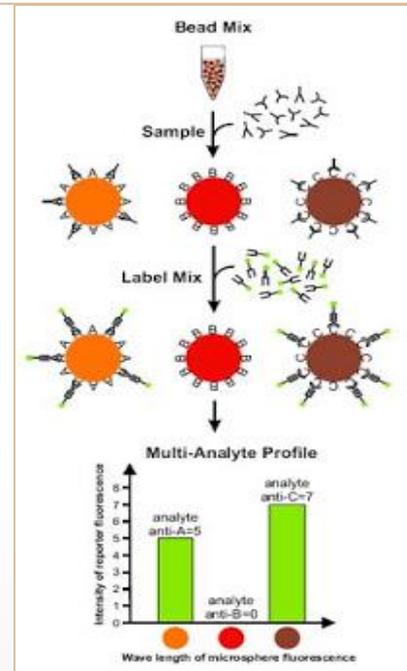
Sérologie des infections sur prothèses ostéo-articulaires – test BJI InoPlex®

■ Microbilles de polystyrène

- Deux fluorochromes à l'intérieur,
- Chaque bille a son propre code couleur
- Antigènes reconnus
 - *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. ludunensis*
 - *S. agalactiae*, *P. acnes*



- Incubation des billes avec le sérum du patient
- Addition d'un conjugué marqué à 1 fluorochrome
 - Phycoérythrine émettant dans le vert
 - Seuil de fluorescence détermine la positivité
- Billes aspirées dans une veine liquide
- Excitation par lasers rouge et vert en sortie de flux



Multiplex Antibody Detection for Noninvasive Genus-Level Diagnosis of Prosthetic Joint Infection

Marmor, JCM 2016

- 1ère étude prospective CRIOAC IDF
 - Croix ST Simon/Garches/AP
- 455 patients
 - 176 IP (39%)
 - PTH 56,2%, PTG 36,4% , PTE 7,4%
 - > 3 mois 82,2%, < 3 mois 18,8%
 - CRP \geq 10 mg/L : 84%
 - VS \geq 10 mM/H : 81%

Multiplex Antibody Detection for Noninvasive Genus-Level Diagnosis of Prosthetic Joint Infection

Marmor, JCM 2016

| Characteristic | All cases | | Time since insertion ≤3 mo | | Time since insertion >3 mo | |
|--------------------------------|-----------|------|----------------------------|------|----------------------------|------|
| | SE % | SP % | SE % | SP % | SE % | SP % |
| <i>Staphylococcus</i> | 72,3 | 80,7 | 60 | 42,9 | 76 | 82 |
| <i>S. aureus</i> , n=54 | 66,7 | | | | | |
| <i>S. epidermidis</i> , n=35 | 74,3 | | | | | |
| <i>S. lugdunensis</i> , n=9 | 100 | | | | | |
| <i>Strep. agalactiae</i> , n=8 | 75 | 92,6 | | | | |
| <i>Propionib. acnes</i> , n=13 | 38,5 | 84,8 | | | | |

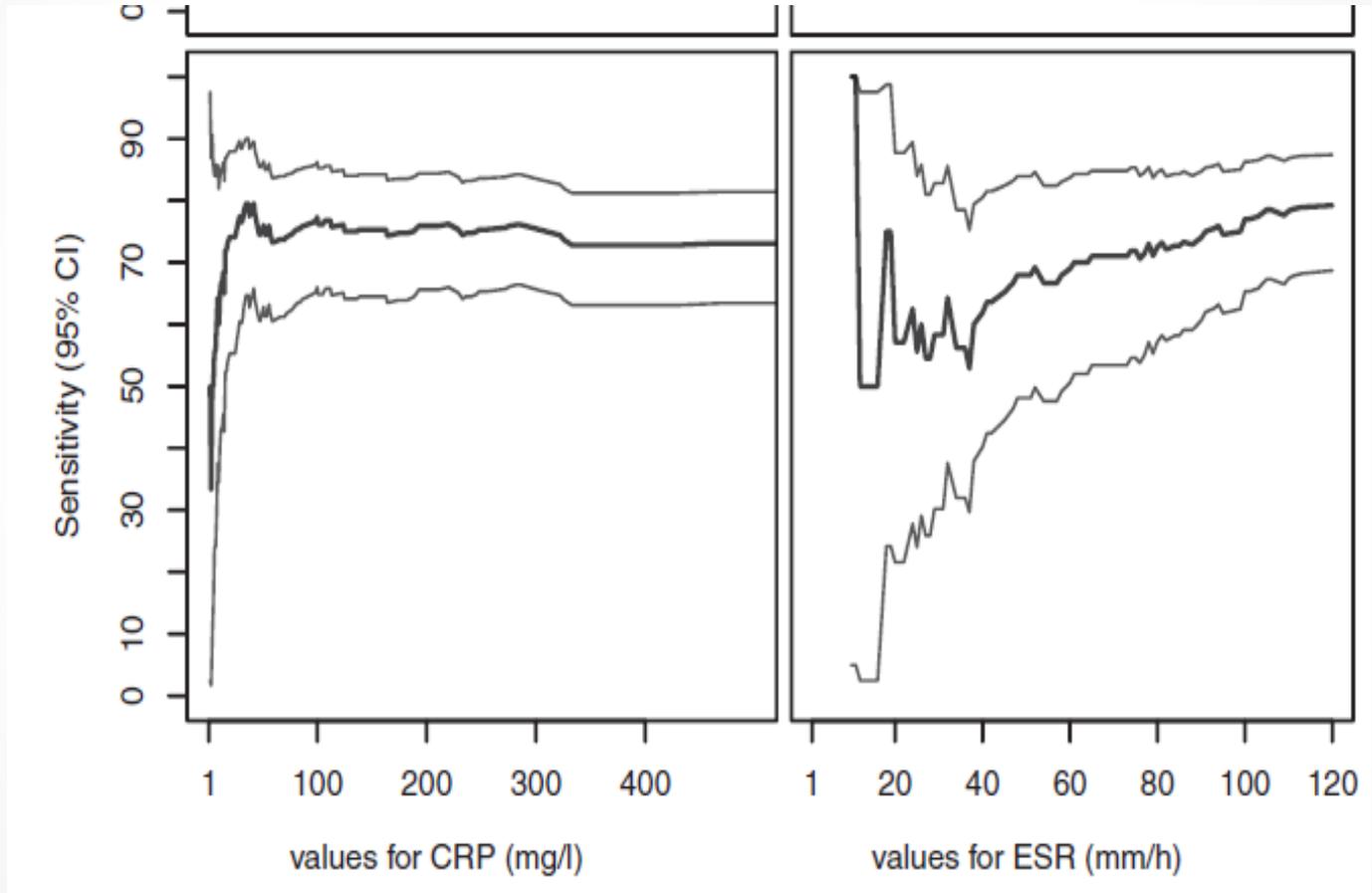
• Réactions faussement positives

- 6/11 (54,6%) des IP à staph « autres »
- 5/22 (22,7%) des IP à strepto « autres »
- 2/3 des IP à *Propionibacterium avidum*

• Réactions indéterminées

- 6% des sérums
- À retester 4 à 6 semaines après

Anticorps anti-staphylococciques : corrélation avec les valeurs de CRP et de VS



CRP

VS

Quoi de neuf dans le diagnostic
bactériologique ?

...

Utilisation des flacons d'hémocultures pour les prélèvements per-opératoires

Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles
Peel, Patel, mBio 2016

How Many Samples and How Many Culture Media To Diagnose a Prosthetic Joint Infection: a Clinical and Microbiological Prospective Multicenter Study? CRIOGO 2016

- Etude prospective monocentrique
- 369 patients, 2013-14
 - 117 (32%) IP (82% IP chroniques)
- Comparaison
 - Milieux solides/liquides AE/ANA
 - Hémocultures AE/ANA
- HC recommandées
 - SE HC AE 82% HC ANA 90% versus 60 à 75% autres milieux
 - Temps de détection ≤ 24 h

- Etude prospective multicentrique
- 264 patients, 2010-12
 - 215 (81%) IP (78% IP chroniques)
- Comparaison
 - Milieux solides/liquides AE/ANA
 - Hémocultures AE
- HC recommandées
 - SE 83% versus 70% avec milieux solides ou liquides seuls
 - Temps de détection ≤ 24 h

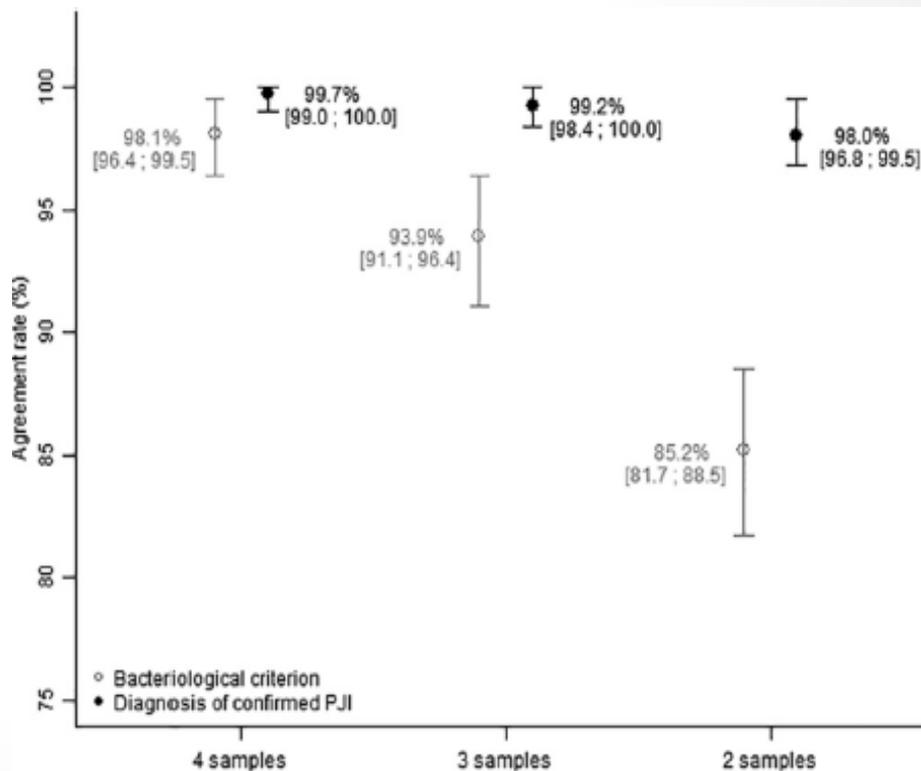
Faut-il remettre en cause le « dogme » des 5 prélèvements?

Optimal periprosthetic tissue specimen number for diagnosis of prosthetic-joint infection

Peel, Patel, JCM 2016

How Many Samples and How Many Culture Media To Diagnose a Prosthetic Joint Infection: a Clinical and Microbiological Prospective Multicenter Study CRIOGO JCM 2016

- Etude prospective monocentrique
- 499 patients, 2013-14
 - 1437 prélèvs périprothétiques
- Comparaison
 - Culture conventionnelle
 - Milieux solides + liquides
 - Hémocultures AE/ANA
- Concordance optimale
 - Soit 3 Pensemencés dans HC
 - Soit 4 P et culture conventionnelle

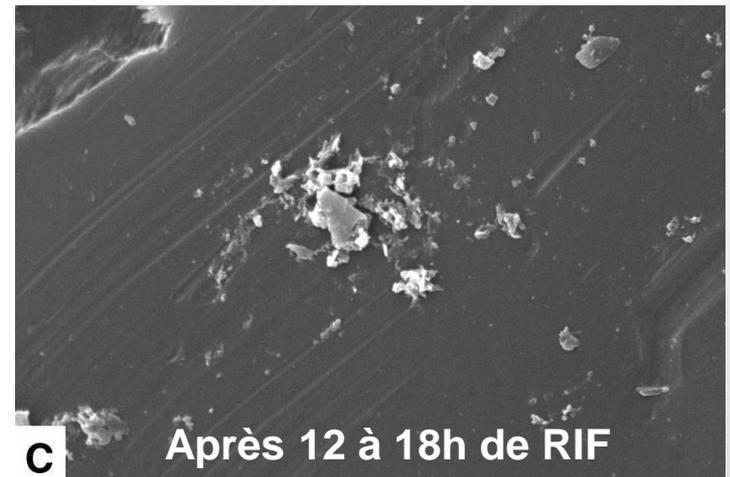
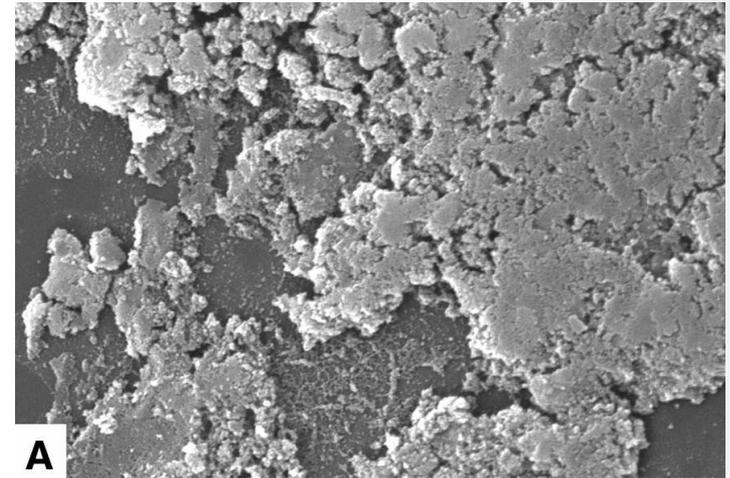
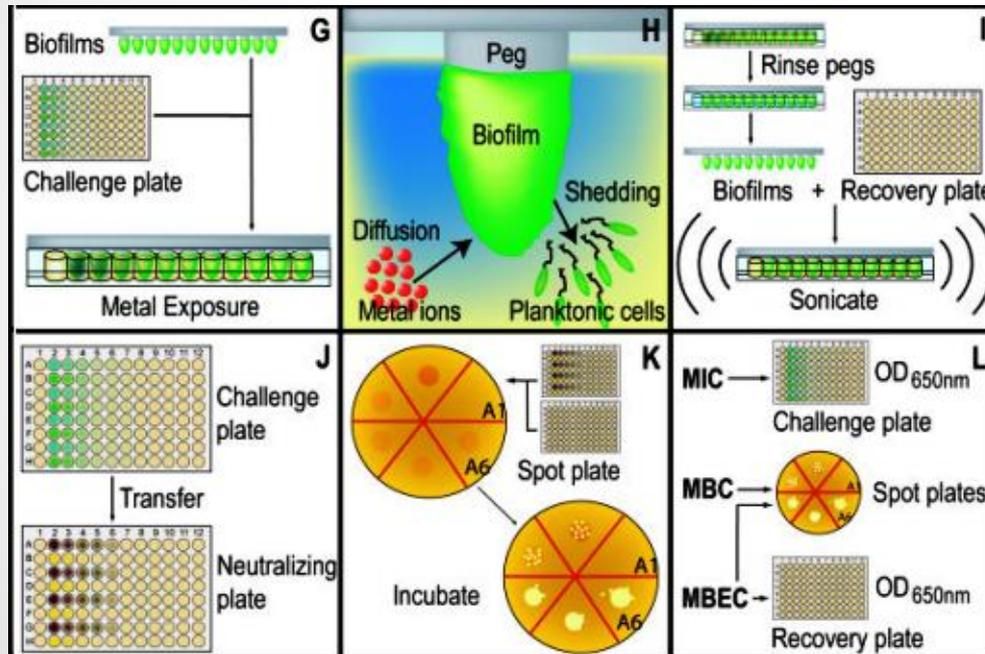


Quoi de neuf dans la
physiopathologie ?

...

Rifamycin Derivatives Are Effective Against Staphylococcal Biofilms In Vitro and Elutable From PMMA

Sanchez, Clin Orthop Relat Res 2015

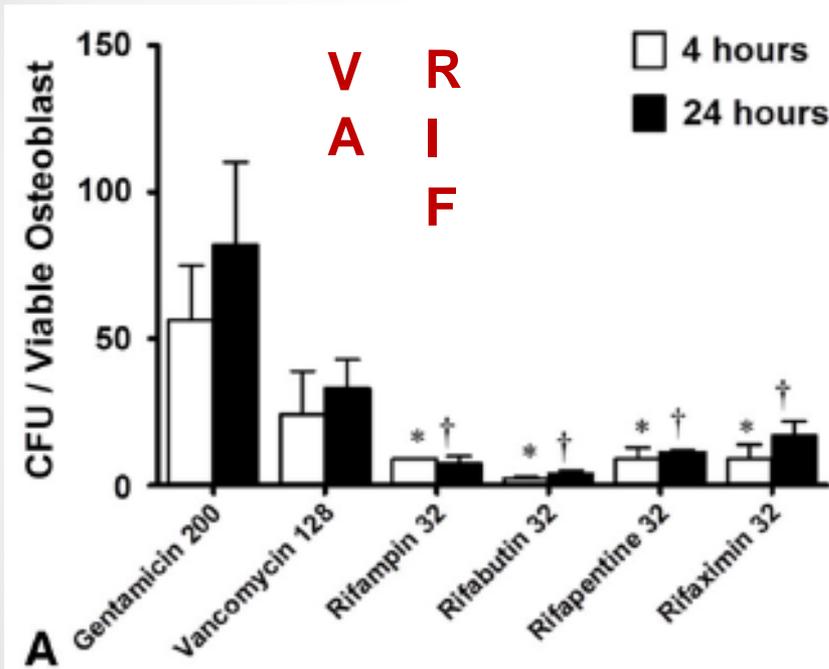


The MBEC High-throughput (HTP) Assay System de Calgary

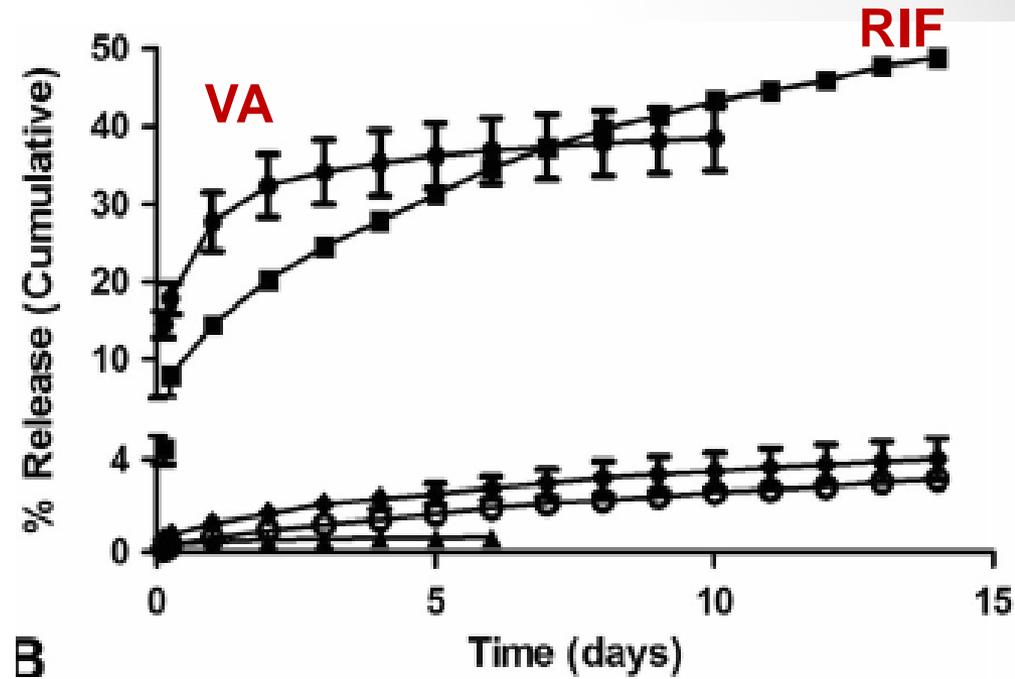
Microscopie électronique à balayage

Rifamycin Derivatives Are Effective Against Staphylococcal Biofilms In Vitro and Elutable From PMMA

Sanchez, Clin Orthop Relat Res 2015



Effet des rifamycines sur la survie de *S. aureus* dans les ostéoblastes



Relargage des billes de PMMA de la VA et des rifamycines

Superantigens in *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic joint infection

Kim, Patel, Mayo Clinic, Diagn Microbiol Infect Dis 2015

Superantigènes (SAGs) de *S. aureus* = exotoxines

- Entérotoxines (SEs) et *Toxic shock syndrome toxin-1* (TSST-1)
- Connus dans l'endocardite, le syndrome du choc toxique

• Objectifs :

- Prévalence des SAGs dans les IP
- Présence dans le biofilm
- Corrélation à la méticillino-résistance

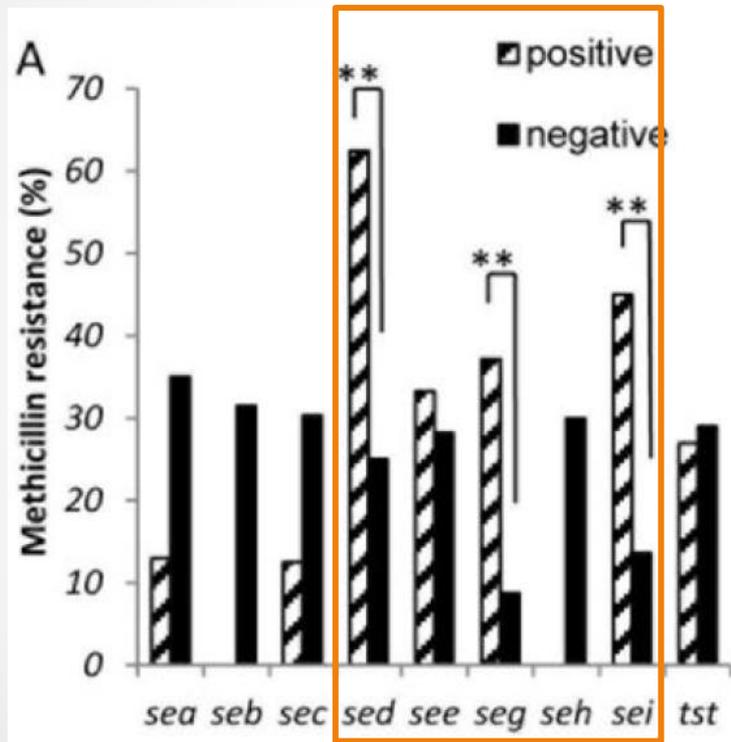
• Patients inclus :

- 83 IPOA
- 77% d'IP retardées ou tardives

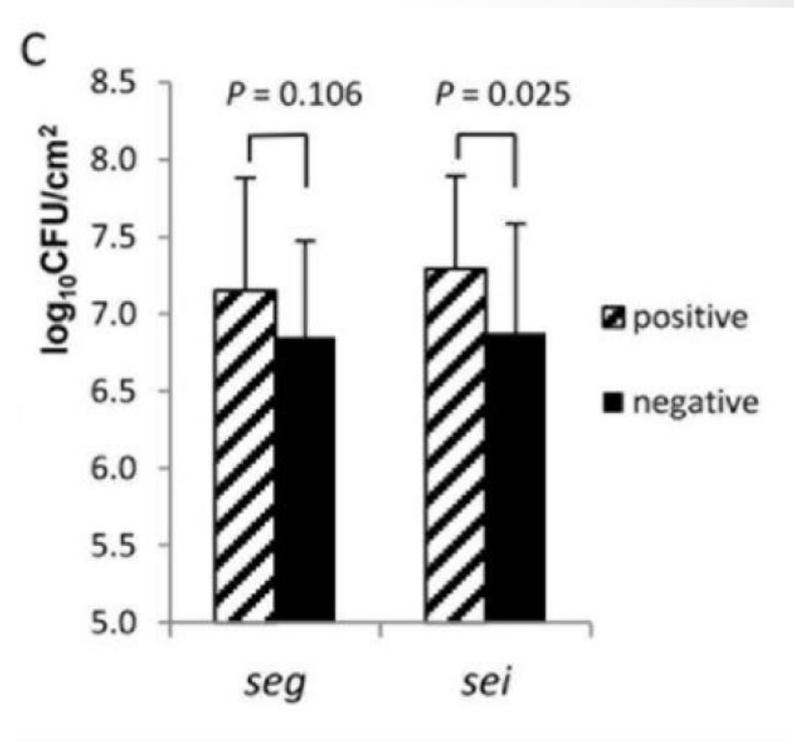
| SAGs | |
|------------|-------------------|
| ≥ 1 gène | 78 (92,9%) |
| seg | 59 (70,2) |
| sei | 40 (47,6%) |
| sea | 23 (27,4) |
| tst | 15 (17,9%) |

Superantigens in *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic joint infection

Kim, Patel, Mayo Clinic, Diagn Microbiol Infect Dis 2015



Résistance à la méticilline



Formation du biofilm pour les sérotypes seg/sei

Merci pour votre attention

...

