

Les faux amis de la flore cutanée

Comment prendre en compte les résultats ?

(*Staphylococcus epidermidis*, *Cutibacterium acnes* et *Corynebacterium* spp.)

E. Senneville

CH G. Dron Tourcoing
CRIOAC Lille-Tourcoing
Lille Université

Conflits potentiels d'intérêts

Consultant ou membre d'un conseil scientifique	MSD, Sanofi-Aventis, Mölnycke, Urgo, Baxter
Conférencier ou auteur/rédacteur rémunéré d'articles ou documents	Basiléa, MSD, Novartis, Pfizer, Bayer, Corrévio, Cepheid
Prise en charge de frais de voyage, d'hébergement ou d'inscription à des congrès ou d'autres manifestations	MSD, Pfizer, Sanofi-Aventis, Bayer, Débio, Correvio, Shionogi
Investigateur principal d'une recherche ou d'une étude clinique	MSD, Sanofi-Aventis
Intérêts financiers	Aucun

Faux amis de la flore cutanée et infections

- Cathéters
- Matériel prothétique ou autre dispositif interne
- Plaie chronique
- ...

Cas clinique (1)

- Monsieur H., 71 ans, est à 18 mois d'une PTH de première intention pour arthrose
- N'a jamais été bien
- La radio est belle (selon le chirurgien); quelques zones de lyse osseuse au contact de la tige fémorale (selon le radiologue); vous réservez (à juste titre) votre avis
- Apyrétique; cicatrice un peu sensible et discrètement rénitente
- La CRP a tendance à augmenter depuis 3 mois (passée de 8 à 26 mg/L), NFS normale
- Vous êtes parvenu à faire réaliser une ponction articulaire en consultation externe par le chirurgien (le patient ayant échappé à l'antibiothérapie automatique-encore en vogue actuellement dans certaines sectes- par Pristinamycine)
- Résultat de la culture (à J7) : *C. acnes* sensible à tout excepté au métronidazole ; présence de « nombreux leucocytes »

Faux amis (fausses amies)

- Faux(sses) à au moins deux titres :
 - Sont là mais n'ont rien fait
→ surprescription antibiotique
 - Sont là mais on n'en tient pas compte
→ échec patient

Microbiologie des IPOAs

Infection	% of patients with prosthetic joint infection					
	Hip and knee					
	All time periods ^a	Early infection ^b	Hip ^c	Knee ^c	Shoulder ^d	Elbow ^e
<i>Staphylococcus aureus</i>	27	38	13	23	18	42
Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i>	27	22	30	23	41	41
<i>Streptococcus</i> species	8	4	6	6	4	4
<i>Enterococcus</i> species	3	10	2	2	3	0
Aerobic Gram-negative bacilli	9	24	7	5	10	7
Anaerobic bacteria	4	3	0	5		
<i>Propionibacterium acnes</i>			?	« très nombreux leucocytes »		1
Other anaerobes					3	0
Culture negative	14	10	7	11	15	5
Polymicrobial	15	31	14	12	16	3
Other	3					

Tande AJ *et al.* Clin Microbiol Rev 2014

Virulence et pronostic

- Virulents (*S. aureus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., BGN)
- Non virulents (SCN, *C. acnes*, diphtéroïdes)

- Infections de prothèse ostéo-articulaire
 - aiguës tardives (948 patients traités par DAIR : rémission = 56% ; 35-94%)
 - chroniques (4.570 patients traités par R1/2T : rémission = 90% ; 87 - 100%)
 - aucune différence selon le caractère « virulent » ou non « virulent » (Fink B *et al.* J Arthroplasty 2017)

- *S. aureus* vs. SCN : taux de rémission comparables (Holmberg A *et al.* Acta Orthop 2015; Geurts JAP *et al.* Acta Orthop 2013; Rodríguez D *et al.* Clin Microbiol Infect 2010)

- Rémission *S. aureus* > SCN (Kuiper JWP *et al.* Acta Orthop 2013)

ICM 2018 : définition de l'IPOA

- $\geq 4^*$ échantillons
- « no touch »
- changement des outils de prélèvement

*Bémer P *et al.* J Clin Microb 2016

Major Criteria (at least one of the following)			Decision
Two positive growths of the same organism using standard culture methods			
Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis			
Minor Criteria	Threshold		Combined preoperative and postoperative score: ≥ 6 Infected 3 to 5 Inconclusive* < 3 Not Infected
	Acute [€]		
Serum CRP (mg/L)	10		
<i>or</i> D-Dimer (ug/L)			
Elevated S			
	1.0		
	90	70	
Positive Culture		2	
Positive Histology		3	
Positive Intraoperative Purulence [¥]		3	

[€]This criteria were never validated on acute infections. [¥] No role in suspected adverse local tissue reaction.

*Consider further molecular diagnostics such as next-generation sequencing

**Avis collégial
Équipe multidisciplinaire**

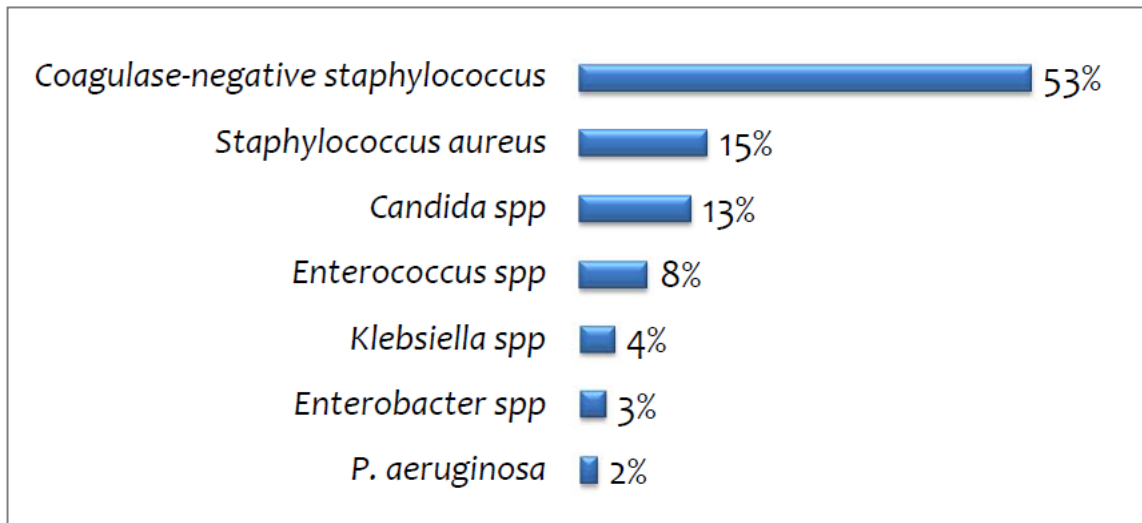
Cas clinique (2)

- Monsieur H est admis 3 semaines plus tard pour changement en un temps de la totalité de ses implants
- Le lendemain de son admission il fait 38° C et une série d'hémoculture (flacon a/ana) est réalisée; il est porteur d'un cathéter périphérique mis en place à son admission
- L'anesthésiste décide de reporter le bloc
- Le lendemain, l'interne du laboratoire signale que cette hémoculture est positive à cocci à Gram positif « évoquant un staphylocoque »
- L'anesthésiste prescrit de la vancomycine en intra-veineux
- Le lendemain, le laboratoire confirme qu'il s'agit bien d'un staphylocoque (*S. epidermidis*)

Bactériémies sur cathéter

Multicentrique;
rétrospectif
58 unités de Soins
Intensifs au Canada

Voies centrales
891 épisodes /
446.137 cathéter-
jours
Taux d'incidence : 1,7
(adultes)



Fontela PS *et al.* Am J Infect Control 2012

Bactériémie à *S. epidermidis*

- Taux de contamination des hémocultures: 6-12%
- Si positive à *S. epidermidis*, contamination :
 - > 90% si 1 positive en 48h
 - < 10% si ≥ 2 en 48h
- Prévalence de la méti-résistance élevée (>40%)
- Antibiotiques « utiles » anti-SERM : vancomycine, daptomycine, ceftaroline, dalbavancine, linézolide, ..
- Prescription des anti-SERM dans ce contexte : injustifiée > 1 fois sur 3

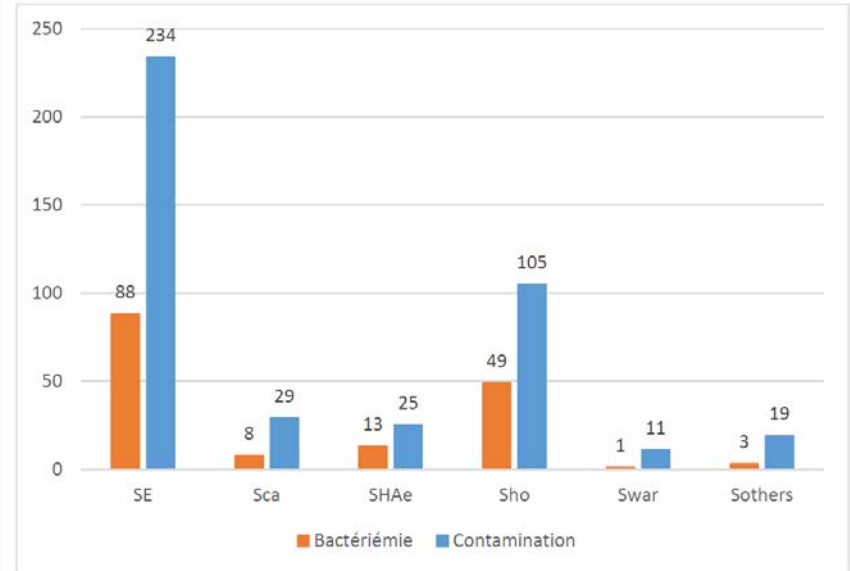
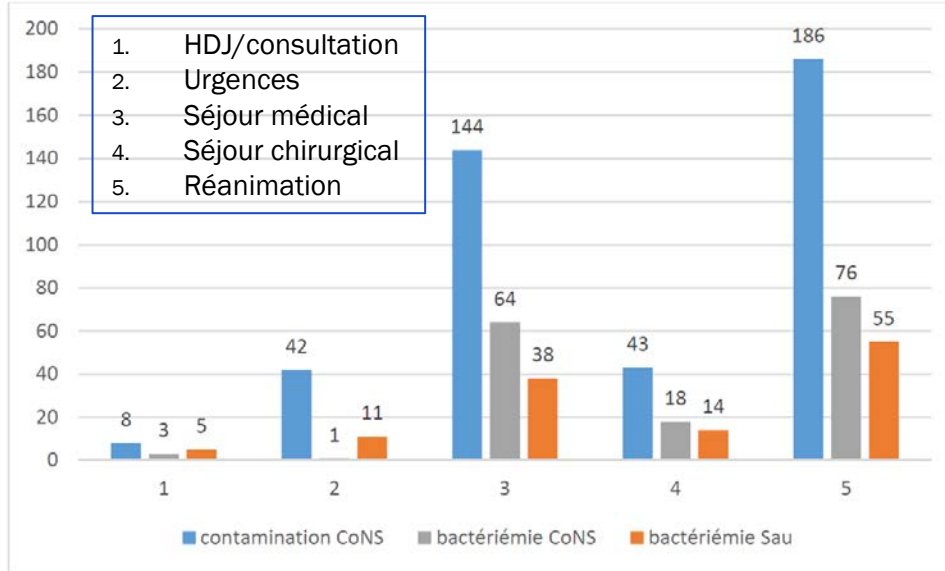
Méti-résistance chez *Staphylococcus* spp.

(CRIOAC Lille-Tourcoing)

	2002	2008	2009	2010	2011	Mean % (\pm SD)
<i>Staphylococcus aureus</i>						
Methicillin	27.9	21.1	21.1	23.7	20.6	22.9 (\pm 3.1)
Levofloxacin	27	22.2	23	31.8	17.7	24.3 (\pm 3.1)
Rifampicin	13.1	6.6	5.3	2.6	1	5.7 (\pm 3.1)
Vancomycin	0	0	0	0	0	0.0 (\pm 0.0)
Teicoplanin	0	0	0	0	0	0.0 (\pm 0.0)
Linezolid	NT	0	0	0	0	0.0 (\pm 0.0)
CoNS						
Methicillin	30.4	44.3	54.4	49.8	43.9	44.6 (\pm 9.0)
Levofloxacin	20.3	32.5	41.2	24.5	34.1	30.5 (\pm 8.2)
Rifampicin	13	18.3	18.5	20.2	18.5	17.7 (\pm 2.7)
Vancomycin	0.4	0	0	0	2.3	0.5 (\pm 1.0)
Teicoplanin	3.7	14.9	21.3	7.4	22	13.9 (\pm 8.2)
Linezolid	NT	1.2	2	1	3.5	1.9 (\pm 1.1)

Titécat M *et al.* Orthop Traumatol Surg Res. 2013

Bactériémies à staphylocoques en Pédiatrie CHU de Lille



Thèse de Doctorat en Médecine AG Chapoutot Lille 2015

Bactériémie à *S. epidermidis*

- **Clinique**

- ? (fièvre, FC, PAs...; SIRS) : contradictoire (Rakhonen M *et al.* Eur J Clin Microb Inf Dis 2012; Elzi L *et al.* Clin Microb Inf 2012)

- **Contexte**

- Cathéter périphérique/central/autre
- Présence d'un matériel prothétique (cardiaque, ostéo-articulaire, autre)

Bactériémie à *S. epidermidis*

- **Biomarqueurs**
 - CRP?, PCT?
- **La souche**
 - Identité (MALDI-Tof?)
 - Marqueurs associés à la pathogénicité
 - mecA
 - Biofilm, adhérence, ..

Bactériémie à *S. epidermidis*

- **Délai de culture**

- et charge bactérienne

- < 16h : > 100 CFU/mL

- > 20h : < 10 CFU/mL

- et pronostic

- < 24h : mortalité et défaillance d'organe

Savithri MB *et al.* Crit Care Res 2011

- **Qualité de Prélèvements**

- Ponction unique (4-6 flacons: 30-60ml)

- Ponction périphérique (et/ou sur cathéter pour TDP)

La solution?

“The accurate differentiation of a contaminant from a true pathogen relies on a **multidisciplinary approach** and the **clinical judgement of experienced practitioners.**”

Dargère S *et al.* Clin Microb Inf 2018

Cas clinique (3)

- En cours d'hospitalisation, Monsieur H. qui est diabétique de type 2 signale à l'équipe un mal perforant plantaire du côté controlatéral à sa PTH depuis 6 mois traité plusieurs fois par amoxicilline-acide clavulanique
- Actuellement il existe une inflammation autour de la plaie qui vous fait évoquer l'existence d'une infection et un prélèvement de la plaie a été fait par une infirmière qui est maintenant en vacances
- Le résultat du prélèvement indique « type de prélèvement non renseigné » mais un milieu de transport avec un fragment d'allure tissulaire est tracé
- La culture est positive à *C. striatum*, *E. faecium* et *S. epidermidis* (multi-résistants)

Éléments d'interprétation

- **Examen direct**

- Concordance
/ culture

- VPP d'un ED+ = 93%

- VPP si CGP = 75%

- VPP si BGN = 82%

The utility of Gram stains and culture in the management of limb ulcers in persons with diabetes

Gram stain result on light microscopy	Growth of Gram-negative microorganisms (single species)	Growth of Gram-positive microorganism (single species)
Gram-negative bacilli	38	0
Gram-positive cocci	2	15

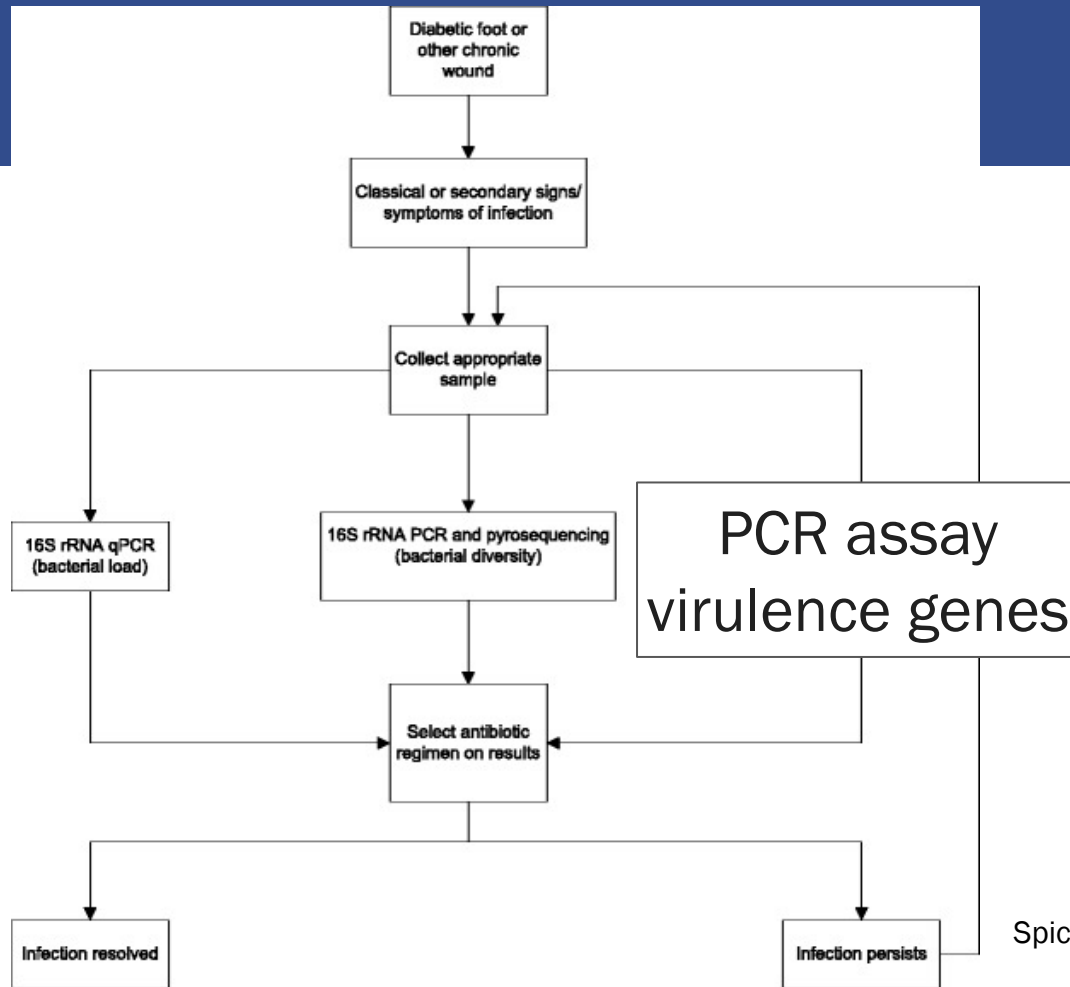
Abbas ZG *et al.* Int Wound J 2012

- **Quantification**

- Relation ($> 10^5$ UFC/g) avec infection non validée dans le mal perforant diabétique

Spichler A *et al.* BMC Med 2015

Le futur est (déjà) là



Spichler A *et al.* BMC Med 2015

Le futur est (déjà) là

16S rRNA Bacterial Taxonomic Profile		gram -	gram +
		KLEB (64%)	COJK (31%)
A Patient: YYY, XXXX			
DOB: 12/27/1922			
Sex: M			
MRN: 58201592			
Age: 92			
Ordered by: Lipsky, Benjamin			
Collected: 1/21/2014			
Received: 1/21/2014			
Specimen: 38556			
Lab Acc: 61728			
Specimen Description: L foot tissue; surgical specimen			
Special Request: identify all isolates			
B Test Overview: Bacterial profiles result from amplifying and sequencing regions in the small subunit (SSU) ribosomal RNA (rRNA) gene from genomic DNA.			
F Antibiotic Class	Specific Agents*		
Aminoglycosides	amikacin		
	gentamicin		
	tobramycin		
Carbapenems	ertapenem		
	imipenem		
	meropenem		
Glycopeptides	vancomycin		
	teicoplanin		
Lincosamides	clindamycin		
	lincomycin		
	cephalexin		
Cephalosporins Moderate Spectrum	cefazolin		
	cefaclor		
	cefuroxime		
	cefotixin		
	cefotaxime		
Cephalosporins Broad Spectrum	ceftriaxone		
	cefepime		
	ceftazidime		
	cefepime		
Tetracyclines	doxycycline		
	minocycline		
	aztreonam		

nitrofurantoin
sodium fusidate

tissues are the preferred specimen, (2) The material should not be contaminated with exogenous bacteria, (3) Tissue samples should not be pre-treated with formaldehyde or stains, or imbedded in paraffin, (4) Clinical factors (e.g. antibiotic therapy or debridement) may affect results, (5) All bacteria will be reported (live or dead); avoid necrotic tissue, (6) The abundance of bacteria depends on the amount of extracted microbial DNA, PCR amplification efficiency, and copy number of the 16S genes in bacterial genomes
D Resistance and Virulence: Unknown based on this test

Macrolides	trim + sulf		
	azithromycin		
	clarithromycin		
Nitroimidazoles	metronidazole		
	tinidazole		
Quinolones	ciprofloxacin		
	moxifloxacin		
	levofloxacin		
Rifamycins	rifampicin		
	rifabutin		
Penicillins Narrow Spectrum	benzylpenicillin		
	procaine penicillin		
	phenoxymethyl-penicillin		
Penicillins Moderate to Broad Spectrum	flucloxacillin		
	dicloxacillin		
	amoxicillin		
Penicillins Moderate to Broad Spectrum	amoxicillin + clavulanic acid		
	piperacillin + tazobactam		
	ticarcillin + clavulanic acid		

* not a complete list of all agents by class

Legend

Sensitive	█
Resistant	█
No Data	█

E Bacterial Taxonomic Profile: total reads with identified taxa = 17,160

%	Category	Code	Species and Taxonomic Lineage
64	Anaerobic gram - rods	KLEB	Klebsiella oxytoca - Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae; Klebsiella
31	Aerobic gram + rods	COJK	Corynebacterium jeikeium - Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria; Actinobacteridae; Actinomycetales; Corynebacterineae; Corynebacteriaceae; Corynebacterium

Spichler A *et al.* BMC Med 2015

BMJ Open CODIFI (Concordance in Diabetic Foot Ulcer Infection): a cross-sectional study of wound swab versus tissue sampling in infected diabetic foot ulcers in England

- (1) presence of **isolates likely to be pathogens**;
- (2) the number of **bacterial pathogens** reported per sample; and
- (3) the prevalence among **likely pathogens** of resistance to antimicrobials”
«decision by the microbiology laboratory to report only pathogens that they deemed clinically significant»

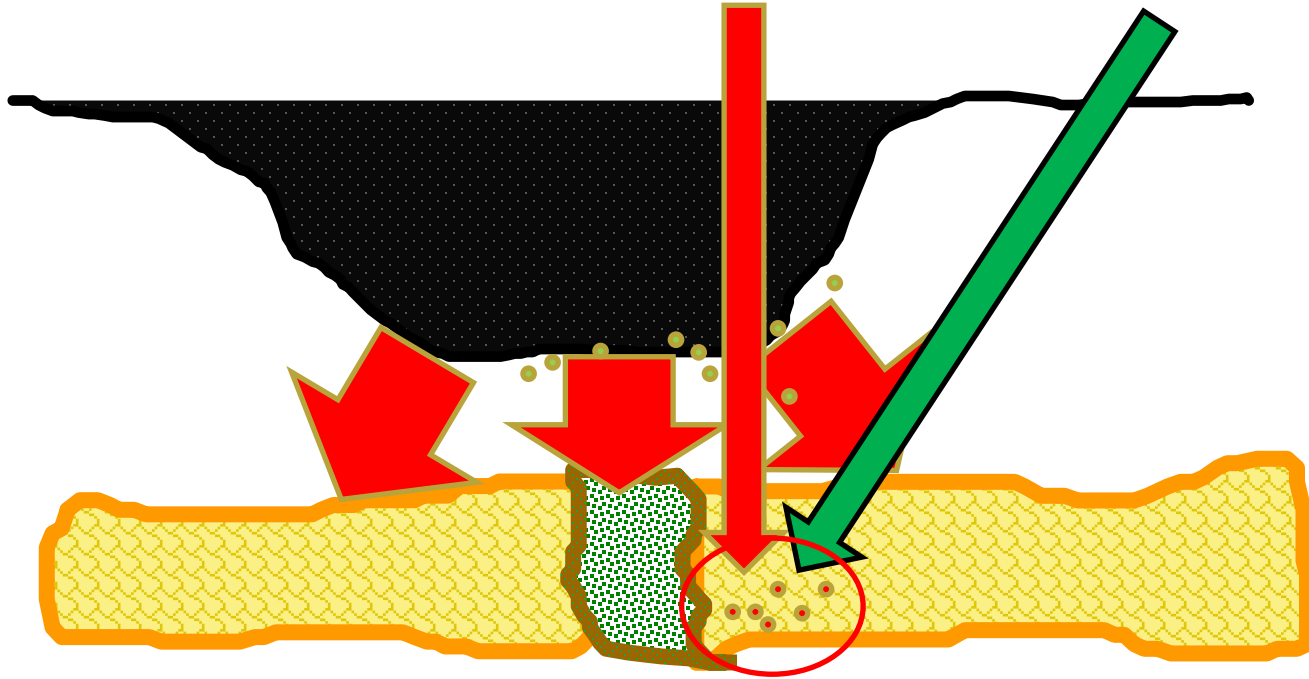
Nelson A et al. BMJ Open 2018

Microbiologie des ostéites du pied diabétique

Variables	Present study	Senneville et al. [14]	Aragon-Sanchez et al. [11]
Number of samples	80	76	176
Number of isolates	129	125	204
Mean number of isolates per sample	1.6 ± 1	1.54	–
Number of culture negative samples (%)	2 (2.5%)	2 ^a	20 (11%)
Number (%) of isolates, by pathogen			
<i>Gram-positive</i>			
Staphylococci	61 (47%)	65 (52%)	117 (57%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	43 (33%)	33 (26%)	95 (47%)
MRSA	24 (19%)	12 (10%)	35 (17%)
Central nervous system	18 (14%)	32 (26%)	22 (11%)
Streptococci	12 (9%)	15 (12%)	7 (3%)
Enterococci	15 (12%)	10 (8%)	2 (1%)
Corynebacteriae	5 (4%)	3 (2%)	–
<i>Gram-negative bacilli</i>	26 (20%)	23 (18%)	59 (29%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 (8%)	3 (2%)	18 (9%)
Anaerobes	5 (4%)	6 (5%)	–

Lesens O et al. CMI 2012

Documentation microbiologique de l'Ostéite du Pied Diabétique (OPD; approche médicale)



Documentation microbiologique de l'OPD : performance des prélèvements superficiels

Isolates	No. of cultures				Correlation ^a (%)	Correlation ^a only in cases of positive TCB cultures (%)
	Total	Per-wound biopsy (PWB)	Transcutaneous biopsy (TCB)	Both		
<i>Staphylococcus aureus</i>	27	8	0	19	70.4	79.2
CNS	22	8	7	7	31.8	43.8
Enterococci	10	3	1	6	60	66.7
Streptococci	16	7	1	8	50	57.1
Corynebacteria	18	7	1	10	55.6	71.4
Gram-negative bacilli	27	11	8	8	29.6	36.4
Anaerobes	2	1	0	1	50	50
Total	122	45	18	59	48.4	58.4

Couturier, 2019

38 Per wound / transcutaneous biopsy 42

Histologie

Qualité des Prélèvements +++ et indications

- Pas d'infection : pas de prélèvement
- Infection de tissus mous : pas de prélèvement superficiel (écouvillons)
 - Ponction
 - Biopsie
 - Curetage-écouvillon
- Chirurgie tissus mous ± OS : per-opératoires + précautions (« no-touch » et changement des outils de prélèvement)



Les *faux amis* de la flore cutanée (*S. epidermidis*, *C. acnes* et *Corynebacterium* spp.)

SITUATIONS, PRÉLÈVEMENTS	PRÉCAUTIONS		COMMENT PRENDRE EN COMPTE LES RÉSULTATS ?
Bactériémie : - Hémocultures	Répéter sur 48h 48h	Périphérique +/- cathéter	Identification d'espèce (délai de pousse +/- facteurs de virulence)
IPOAs : - Ponction articulaire articulaire	Toujours si suspicion	Désinfection cutanée cutanée	N prélèvements POS. \geq 2
- Prélèvements per- per- opératoires	multiples (4-5)	« no touch », changer changer d'ustensiles	Leucocytes Biomarqueurs (local, syst.) syst.) Clinique++
Plaie chronique + Ostéite chronique chronique	Rien en l'absence d'infection	Prélèvements tissulaires Bionsie osseuse	Clinique Examen direct Histologie