

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale



Université Montpellier 1
FACULTÉ
de
MÉDECINE
Montpellier-Nîmes

Infections des plaies

+ Définitions



■ Plaies aiguës

- traumatisme
- post-opératoire (ISO)
- piqûre, morsure...

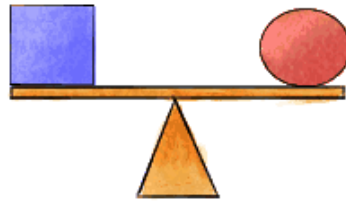
cocci à Gram positif aérobies
+/- BGN, BMR
+ bactériologie spécifique

■ Plaies chroniques

- ulcères (de jambe)
- escarres de décubitus
- MPP

} Bactériologie complexe

+ PEAU et BACTERIES



Microflore bactérienne résidente, permanente
= Flore commensale

Microflore bactérienne transitoire, contaminante
= Portage de bactéries pathogènes



Flore bactérienne commensale

Aspect quantitatif



- 10^2 à 10^5 bactéries / cm^2
- Humidité
 - Sudation
 - Macération
- Température
 - $34-35^\circ \text{C}$



Flore bactérienne commensale

Aspect qualitatif



- Bactéries à Gram +
 - Aérobie :
 - Staphylocoques à coagulase négative, Microcoques
 - Corynéformes (*Corynebacterium* spp.)
 - Anaérobies :
 - *Propionibacterium*
 - *Peptostreptococcus*...



Flore bactérienne commensale

Localisation et caractérisation



- Forte adhésion aux kératinocytes
- Présence
 - à la partie supérieure des follicules pileux
 - des glandes sébacées
- Résistance
 - dessiccation
 - lysozyme (sueur)
 - pH très bas (sébum)
 - fortes concentrations de NaCl (sueur)



Flore bactérienne commensale

Défense anti-bactérienne



- Rôle de barrière par
 - Leur forte adhésion aux kératinocytes
 - Leur production de métabolites
 - Leur production d'agents anti-bactériens ?

- ➔ inhibition de l'adhésion d'autres bactéries notamment celles de la flore contaminante



Flore bactérienne commensale

Défense anti-bactérienne



- Fait partie intégrante des moyens de défense de la peau, complémentaire
 - Des propriétés physico-chimiques locales
 - Des défenses immunologiques
 - Humorale = Ig dans la sueur
 - Cellulaire = cellules de Langerhans

+ Flore bactérienne contaminante

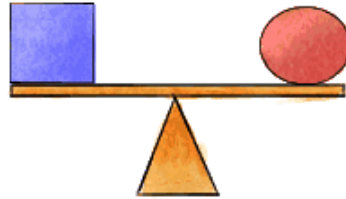
- Incapable de se multiplier et de persister sur une peau saine
- Mais !
 - en cas de brèche cutanée
 - de destruction de la flore résidente
 - d'états pathologiques ou états physiologiques modifiant les défenses immunitaires

+ Flore bactérienne contaminante

■ Bactéries

- de l' environnement = *Pseudomonas aeruginosa*,
Acinetobacter spp.
- des flores digestive, génito-urinaire, buccale
- d' orifices naturels : *S. aureus*

+ La colonisation doit cependant être distinguée de l'infection



Contamination/ Colonisation

Phénomène normal

Microorganismes peu virulents

Microflore bactérienne résidente

= Flore commensale

Microflore bactérienne transitoire

= Portage de bactéries pathogènes

Infection

Pathogènes usuels impliqués

Virulents

Retard de cicatrisation

Extension des lésions



**COMMENT FAIRE LA DISTINCTION
ENTRE INFECTION ET COLONISATION
BACTERIENNE D'UNE PLAIE
CHRONIQUE ?**

+ Distinction colonisation/infection

- Critères cliniques
- Critères biologiques (?)
- Critères d'imagerie (?)
- Critères microbiologiques (?)



+ Distinction colonisation/infection

- **Critères cliniques**
- Critères biologiques (?)
- Critères d'imagerie (?)
- Critères microbiologiques (?)





ULCÈRES DE JAMBE D'ORIGINE VEINEUSE

Cellulite

Retard de cicatrisation malgré un traitement compressif approprié
Augmentation de la température cutanée locale
Augmentation de la douleur
ulcéreuse/modification de la nature de la douleur
Apparition d'un ulcère dans la marge inflammatoire d'un ulcère préexistant
Extension du lit de la plaie dans des marges inflammatoires

Coloration, par exemple rouge brique, sombre et mat
Tissu de granulation friable, saignant facilement
Augmentation de la viscosité de l'exsudat
Augmentation du volume de l'exsudat
Odeur nauséabonde
Assombrissement de la couleur de la plaie
Apparition subite/augmentation de volume d'une croûte
Apparition subite de taches noires nécrotiques
Agrandissement de l'ulcère

ESCARRES

Cellulite

Modification de la nature de la douleur
Crépitements
Augmentation du volume de l'exsudat
Pus
Exsudat séreux avec inflammation
Érythème en expansion
Des tissus viables deviennent croûteux
Chaleur des tissus environnants
Arrêt de la cicatrisation malgré des mesures adéquates

Élargissement de la plaie malgré réduction de pression
Érythème
Tissu de granulation friable, saignant facilement
Odeur nauséabonde
Œdème

LÉGENDE

IMPORTANCE ÉLEVÉE Score moyen 8 ou 9

IMPORTANCE MOYENNE Score moyen 6 ou 7

IMPORTANCE RÉDUITE Score moyen 4 ou 5



DOCUMENT
DE RÉFÉRENCE



Classification anatomoclinique consensuelle de l'escarre EPUAP-NPUAP, 2009

EPUAP : European Pressure Ulcer Advisory Panel (www.npuap.org)

NPUAP : American National Pressure Ulcer Advisory Panel (www.epuap.org)

Stade I: Erythème non blanchâtre

Stade II: perte cutanée partielle

Stade III: perte cutanée totale

Stade IV: Perte tissulaire totale

| Classification clinique de l'infection (IDSA) et définitions | IWGDF grade [4,81] (IDSA classification) [16] |
|---|--|
| <p>Non infecté:</p> <p>Absence de symptômes ou de signes généraux ou locaux d'infection</p> | <p>1 (Non infecté)</p> |
| <p>Infecté</p> <ul style="list-style-type: none"> • Au moins 2 des constatations suivantes sont présentes: <ul style="list-style-type: none"> ○ Gonflement local ou induration ○ Erythème > 0.5 cm* autour de l'ulcère ○ Sensibilité locale ou douleur ○ Chaleur locale ○ Emission de pus • Les autres causes d'inflammation de la peau doivent être éliminées (traumatisme, goutte, neuro-ostéoarthropathie de Charcot en phase aiguë, fracture, thrombose, stase veineuse) • Infection touchant seulement la peau et/ou le tissu sous-cutané (sans atteinte des tissus plus profonds et sans signes généraux [voir ci-dessous]. En cas d'érythème, il doit s'étendre à moins de 2 cm* autour de la plaie • Pas de signes ou de symptômes généraux d'infection (voir ci-dessous) | <p>2 (Infection légère)</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Infection touchant les structures plus profondes que la peau et les tissus sous-cutanés (os, articulation, tendon) ou érythème s'étendant à plus de 2 cm* des bords de la plaie. • Pas de signes ou de symptômes généraux d'infection (voir ci-dessous) | <p>3 (Infection modérée)</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> • Toute infection du pied avec signes du syndrome systémique inflammatoire. Ce syndrome se manifeste par 2 ou plus des constatations suivantes : <ul style="list-style-type: none"> ○ Température > 38° ou < 36°C ○ Fréquence cardiaque > 90 battements/minute ○ Fréquence respiratoire > 20 cycles/min ou PaCO₂ < 32 mmHg ○ Leucocytose > 12 000 or < 4 000 GB/mm³ ou présence de 10% de formes immatures | <p>4 (Infection sévère)</p> |

Classification du Consensus International du Pied Diabétique: Classification de l'infection des plaies

*Dans n'importe quelle direction

+ En pratique...



- ❑ Arrêt du processus de cicatrisation
- ❑ Signes inflammatoires : érythème, œdème, chaleur
- ❑ Écoulement purulent ; majoration des exsudats
- ❑ Tissu de granulation : décoloration ou assombrissement, friabilité
- ❑ Odeurs
- ❑ Altération de l' état local
- ❑ Majoration de douleurs locales

+ Distinction colonisation/infection



- Critères cliniques
- Critères biologiques (?)
- Critères d'imagerie (?)
- Critères microbiologiques (?)

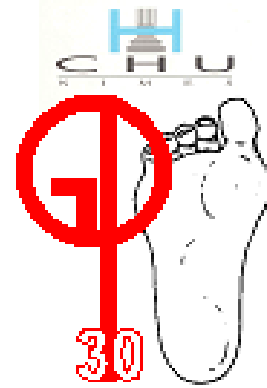
+ Critères biologiques ?



Intérêt de la modélisation



Objectifs



■ PRINCIPAL

- Intérêt du dosage de nouveaux marqueurs biologiques (Procalcitonine, CRP ultrasensible) dans le diagnostic d'infection du pied chez le sujet diabétique

■ SECONDAIRES

- Intérêt des marqueurs traditionnels de l'inflammation/infection (CRP, orosomucoïde, haptoglobine, albumine, Globules blancs, neutrophiles) dans le diagnostic d'infection du pied chez le sujet diabétique

+ Méthodes

□ Type d' Étude

Prospective, monocentrique, multidisciplinaire
Inclusion successive

□ Étude des marqueurs de l' inflammation

- Comparaison Grade 1 vs (Grades 2-3) et Grade 1 vs Grade 2 (test du Chi-deux ou Fischer exact)
- Si $p < 0,20$: procédure stepwise, courbe ROC, AUC (Hanley)

+ NSN

100

Groupe 1

**Plaies du pied et/ou
de la cheville**

100

Groupe 2

Diabétique sans plaie

Sous groupe 1a

Grades 1

COLONISES

Sous groupe 1b

Grades 2 - 4

INFECTES



+ Résultats

Populations étudiées semblables...

| | Groupe 1 (plaie) n = 93 | Groupe 2 (Ø plaie) N= 102 | p |
|--------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|--------------|
| Age médiane, ans | 68 [43-95] | 64 [26-90] | - |
| Sexe masculin (%) | 56 (60.2) | 61 (59.8) | - |
| Type 1/2 | 12 / 81 | 17 / 85 | - |
| HbA_{1c} | 7.4 [4.9 – 9.3] | 7.3 [4.2 – 9.4] | - |
| Durée du diabète | 18.4 [6 – 35] | 17.3 [1-33] | - |
| ATCD plaie | 57 (65) | 6 (6) | 0.003 |
| Dyslipidémie | 51 (58) | 78 (78) | 0.01 |

+ Résultats



Inclusion: 93 plaies

Inclusion: 102 témoins

Grade 1*
(n=24) 25.8%

Grade 2*
(n=22) 23.7%

Grade 3*
(n=40) 43.0%

Grade 4*
(n=7) 7.5%

*Grades selon IWGDF

+ Résultats



Inclusion: 93 plaies

Inclusion: 102 témoins

Grade 1*
(n=24) 25.8%

Grade 2*
(n=22) 23.7%

Grade 3*
(n=40) 43.0%

Grade 4*
(n=7) 7.5%

| | | | | | |
|--------|--------|-------|-------|-------|------|
| Oroso | 0,90 | 1,30 | 1,37 | 1,60 | 0,85 |
| Hapto | 1,60 | 2,80 | 2,71 | 3,22 | 1,71 |
| Album. | 39,3 | 35,6 | 33,8 | 30,3 | 37,3 |
| CRP | 6,00 | 24,50 | 34,00 | 146 | 5,45 |
| PCT | 0,10 | 0,20 | 0,20 | 0,84 | 0,04 |
| GB | 6950 | 8000 | 7500 | 13500 | 6725 |
| Neutro | 3969,5 | 5170 | 4896 | 11732 | 4260 |

+ Résultats

Inclusion: 93 plaies

Grade 1*
(n=24) 25.8%

Grade 2*
(n=22) 23.7%

Grade 3*
(n=40) 43.0%

Grade 4*
(n=7) 7.5%

Inclusion: 102 témoins

Pas de différence significative sur les résultats bruts
Pas de test proposé (Plaie/Abs. Plaie)
Validation de nos tests

+ Résultats



Inclusion: 93 plaies

Inclusion: 102 témoins

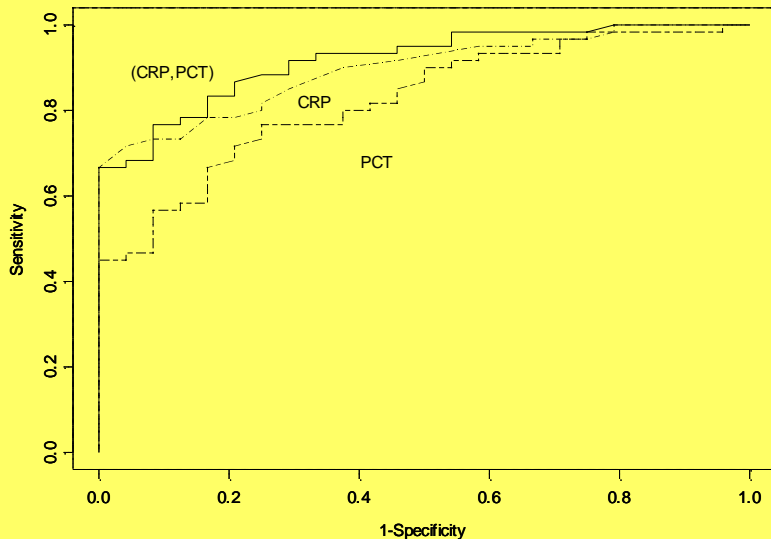
Grade 1*
(n=24) 25.8%

Grade 2*
(n=22) 23.7%

Grade 3*
(n=40) 43.0%

Grade 4*
(n=7) 7.5%

ROC curves



| | AUC | écart type |
|-------------------------------|-------|------------|
| Oroso | 0.792 | 0.060 |
| Hapto | 0.801 | 0.054 |
| Albumine | 0.741 | 0.066 |
| CRP | 0.895 | 0.043 |
| PCT | 0.823 | 0.053 |
| GB | 0.646 | 0.068 |
| Neutro | 0.666 | 0.067 |
| Oroso + Hapto + CRP + PCT (1) | 0.919 | 0.034 |
| CRP + PCT (1) | 0.917 | 0.035 |

+ Résultats

Inclusion: 93 plaies

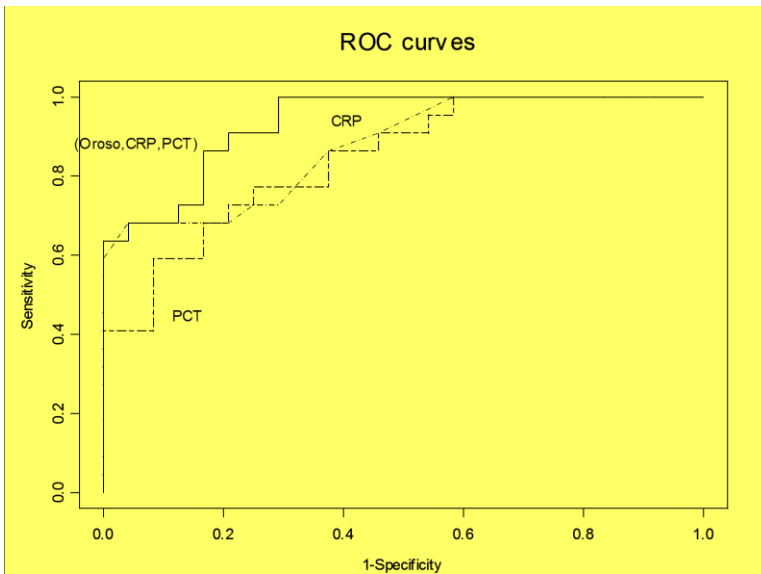
Inclusion: 102 témoins

Grade 1*
(n=24) 25.8%

Grade 2*
(n=22) 23.7%

Grade 3*
(n=40) 43.0%

Grade 4*
(n=7) 7.5%



| | | |
|---------------------------|-------|-------|
| CRP | | |
| Seuil 17 mg/l | | |
| Se 72,7 % | | |
| Sp 100 % | | |
| VPP 79,3 % | | |
| VPN 100% | | |
| Oroso + Hapto + CRP + PCT | 0.951 | 0.028 |
| CRP + PCT | 0.947 | 0.029 |

+ Résultats

Évaluation du test: PCT + CRP

Sensibilité= 90,9% (sd=0.061)

Spécificité= 82,6% (sd=0.079)

VPN= 90,5% (sd=0.064)

VPP= 83,3% (sd=0.079)

+ Résultats



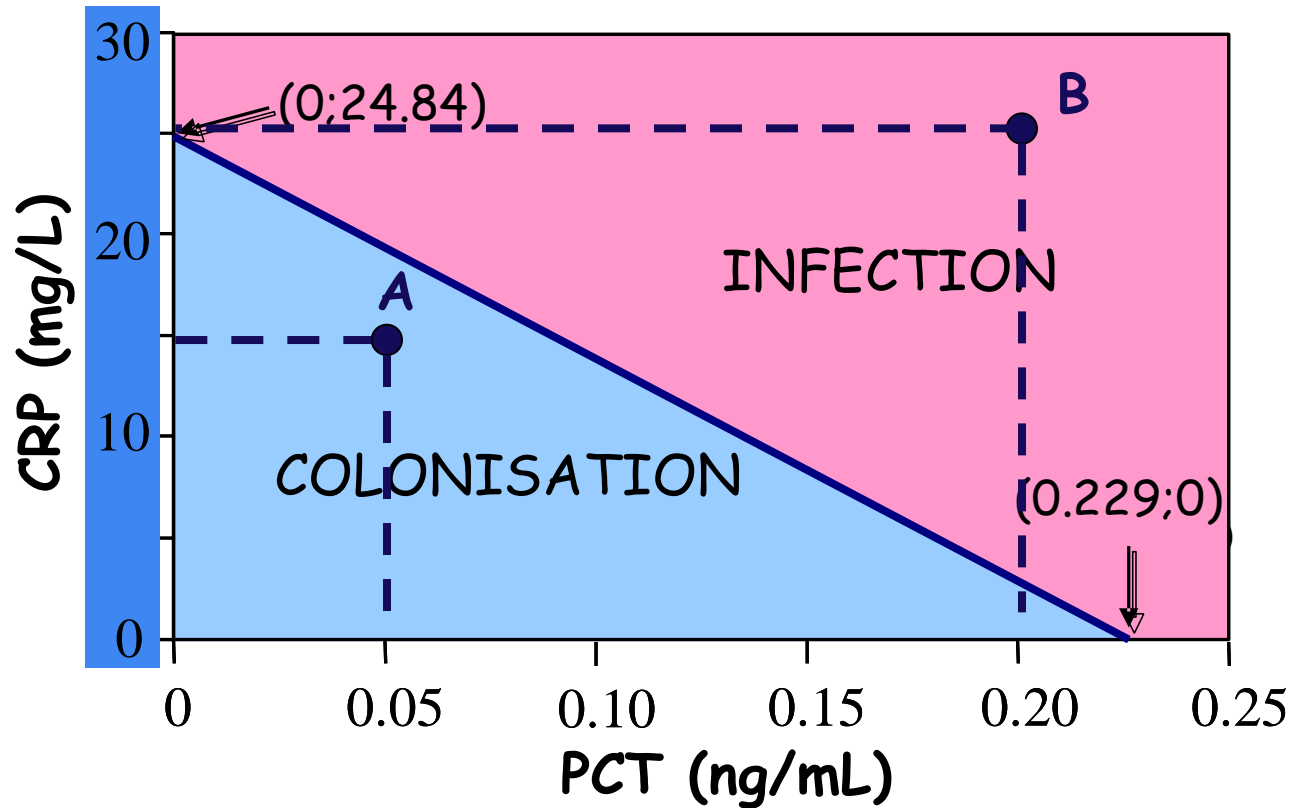
Analyse statistique

Une procédure stepwise est réalisée puis établissement des coefficients de régression logistique

$$[0.162 \times \text{CRP (mg/l)}] + [17.437 \times \text{PCT (ng/l)}]$$

Cut off = 4

+ Conduite à tenir pour le clinicien face à une plaie du pied chez le diabétique





Critères biologiques ?



Intérêt des marqueurs de l' inflammation

- **La CRP = meilleur marqueur (première étude)**
- dosage du couple **PCT/ CRP** et score simplifié reliant ces deux paramètres : nouvel outil permettant de distinguer plaies colonisées et plaies infectées

Avenir: Valider le score simplifié reliant CRP/PCT (étude prospective)

**Intérêt: Bon usage des ATB et
Maîtrise émergence de la multiR**

+ Distinction colonisation/infection

- Critères cliniques
- Critères biologiques (?)
- Critères d'imagerie (?)
- Critères microbiologiques (?)



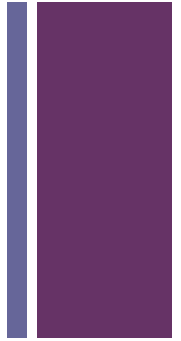


- Radiographies standard
 - **Sensibilité 43 – 75 %**
 - **Spécificité 75 – 83 %**

- IRM
 - Valeur prédictive négative = 100%
 - Valeur prédictive positive variable

- Scint Tc99
 - Valeur prédictive négative = 95%
 - Valeur prédictive positive variable 55 – 69%

- Scinti leuco*
 - Valeur prédictive négative = 91%
 - Valeur prédictive positive = 75%





- TEP – TDM FDG
 - Valeur prédictive négative = 95%
 - Valeur prédictive positive = 87%



Prise en charge des ostéites pelviennes secondaires aux escarres

Tableau 2. Validité des différentes techniques d'imagerie pour le diagnostic d'ostéite sur escarres.

| Type d'imagerie | Nombre d'escarres | | | | Sensibilité % | VPP % | |
|---------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|-------|--------------------|
| | Total | BO + Imagerie + | BO + Imagerie - | BO - Imagerie + | | | BO - Imagerie - |
| IRM osseuse | 39 | 34 | 3 | 2 | 0 | 91,9 | 94,4 |
| TDM osseuse | 19 | 13 | 6 | 0 | 0 | 68,4 | 100 |
| Scintigraphie Tc99 ^m | 7 | 6 | 1 | 0 | 0 | 85,7 | 100 |

IRM : imagerie par résonance magnétique; TDM : tomodensitométrie; Tc : technecium; BO : biopsie osseuse; VPP : valeur prédictive positive.

Brunel AS et al. JNl 2013

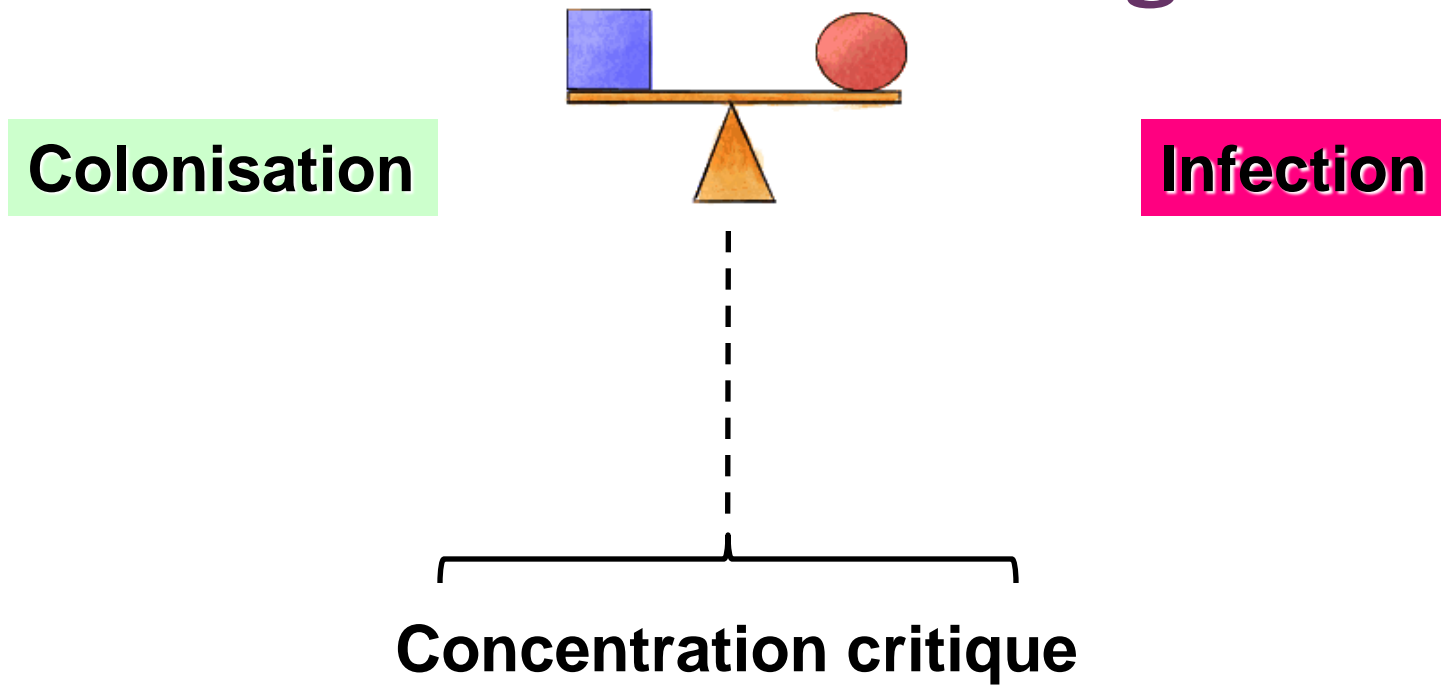
+ Distinction colonisation/infection

- Critères cliniques
- Critères biologiques (?)
- Critères d'imagerie (?)
- Critères microbiologiques (?)





La distinction colonisation/infection peut-elle être basée sur la bactériologie ?



+ Colonisation critique

- Identification d'un seuil de charge bactérienne frontière ($> 10^5$ UFC/g de tissus)
- Seuil entre colonisation et infection
- Prédiction de l'évolution vers l'infection
- ...et antibio-prévention ??

- Mais...

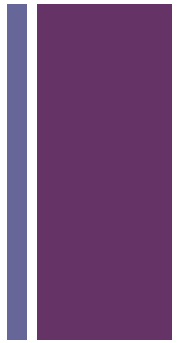


+ Colonisation critique

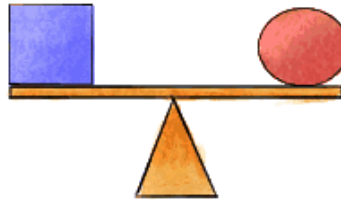
C'est un concept quantitatif
et non pas qualitatif...



La distinction colonisation/infection peut-elle être basée sur la bactériologie ?



Colonisation

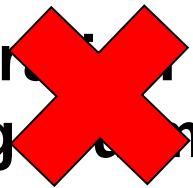


Infection

Concentration critique
 10^5 CFU/g cm^3 tissu

10^6 *S. epidermidis*

10^4 *S. aureus*



+ Distinction colonisation/Infection: espèces bactériennes et degré de virulence

Colonisation

Bactéries de la flore commensale:

SCN

Corynébactéries

Infection

S. aureus +++

Streptocoques β -hémolytiques

Anaérobies

Entérobactéries: *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp.

Entérocoques

Pseudomonas aeruginosa

+ Epidémiologie des ostéites du pied

| Bactéries | Senneville CID 2006 | Wheat APMR 1986 | Lavery JFAS 1995 | Newman JAMA 1991 |
|--------------------------|------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| Cocci à Gram + | | | | |
| <i>S. aureus</i> | 26 | 40 | 47 | 31 |
| SCN | 25 | 10 | 11 | 50 |
| Streptococci | 12 | 45 | 61 | 27 |
| <i>Enterococcus</i> sp. | 8 | 30 | 28 | 8 |
| Autre | 5 | 10 | - | - |
| Bacilles à Gram - | | | | |
| Entérobactéries | 11 | 55 | 14 | 20 |
| <i>Pseudomonas</i> sp. | 3 | 5 | 11 | 15 |
| Anaérobies | 6 | 60 | 15 | 4 |
| Polymicrobien | - | 70 | 83 | - |

+ Distinction colonisation/Infection: espèces bactériennes et degré de virulence

Colonisation

Bactéries de la flore commensale:
SCN
Corynébactéries



Infection

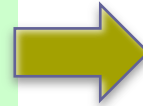
S. aureus +++
Streptocoques β -hémolytiques
Anaérobies
Entérobactéries: *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*,
Enterobacter sp., *Klebsiella* sp.

Entérocoques
Pseudomonas aeruginosa

+ Distinction colonisation/Infection: espèces bactériennes et degré de virulence

Colonisation

Bactéries de la flore commensale:
SCN
Corynébactéries



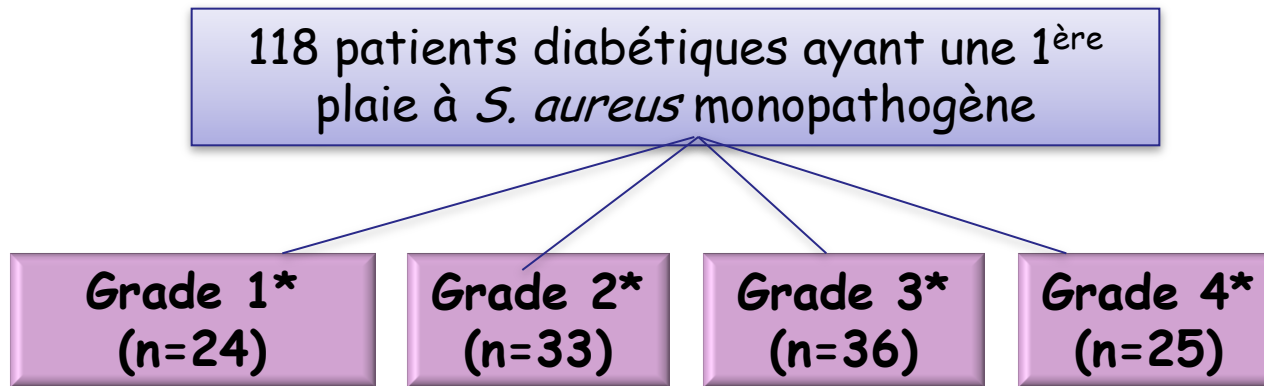
Infection

S. aureus +++

Streptocoques β -hémolytiques
Anaérobies
Entérobactéries: *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*,
Enterobacter sp., *Klebsiella* sp.

Entérocoques
Pseudomonas aeruginosa

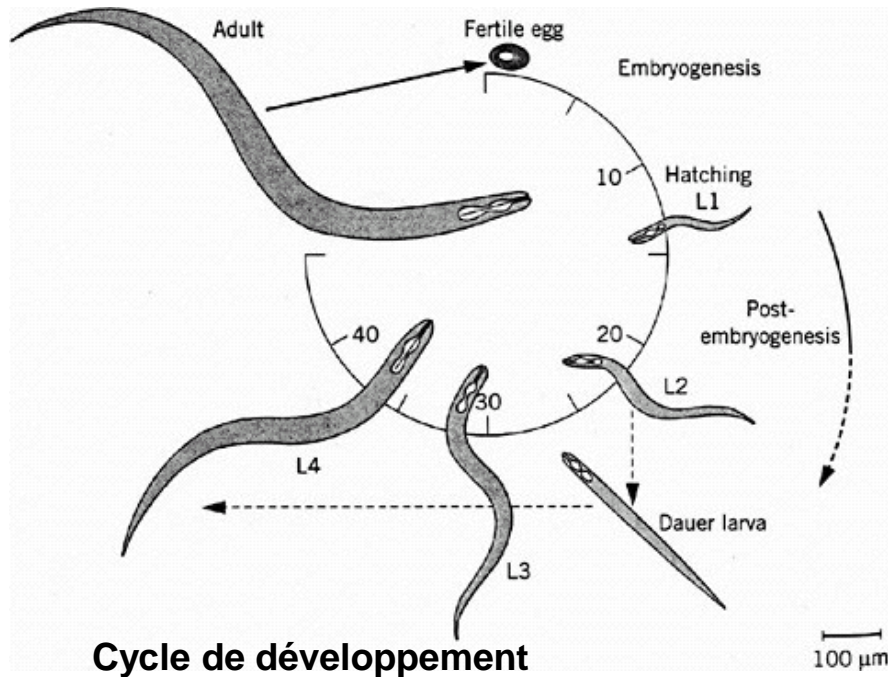
+ Etude pilote sur les populations de *Staphylococcus aureus*



*Grades selon le Consensus International sur le pied diabétique

+ Evaluation de la virulence de *S. aureus* par le modèle *C. elegans*

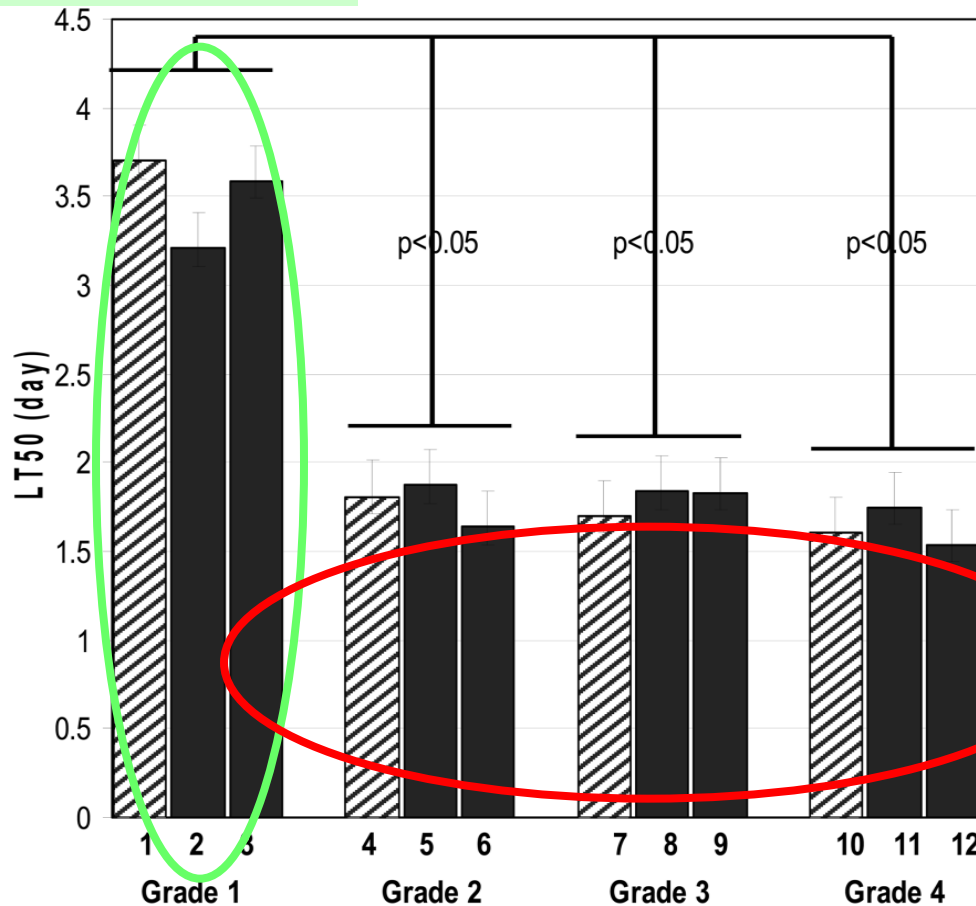
- ⊙ Nématode hermaphrodite
- ⊙ Taille: 1mm de Long (adulte)
- ⊙ Génome: 100 Mb
- ⊙ Nb de gènes: 19100
- ⊙ Habitat: sols



- ⊙ Cycle: 3 jours à 25° C
- ⊙ 1 adulte: 300 – 350 oeufs
- ⊙ Durée de vie: 3 semaines à 25° C
- ⊙ Nourriture de base: OP50

+ Comparaison de la virulence des souches de *S. aureus* isolées à différents Grades

Souches colonisantes



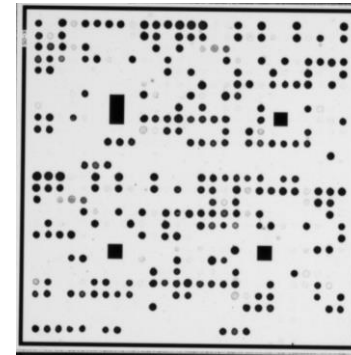
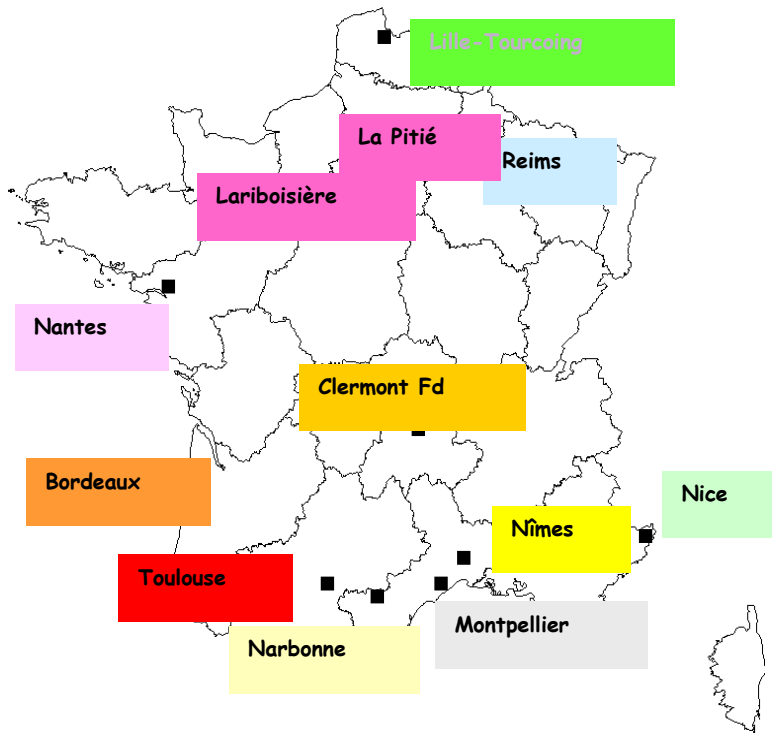
L' étude démontre la co-existence de deux populations de *S. aureus* :
1/ souches colonisantes (Grade 1) avec une faible virulence
2/ souches infectantes (Grade 2-4) avec une virulence importante indépendamment à la résistance à la méticilline

Souches Infectantes

Noir: MSSA
Rayé: MRSA



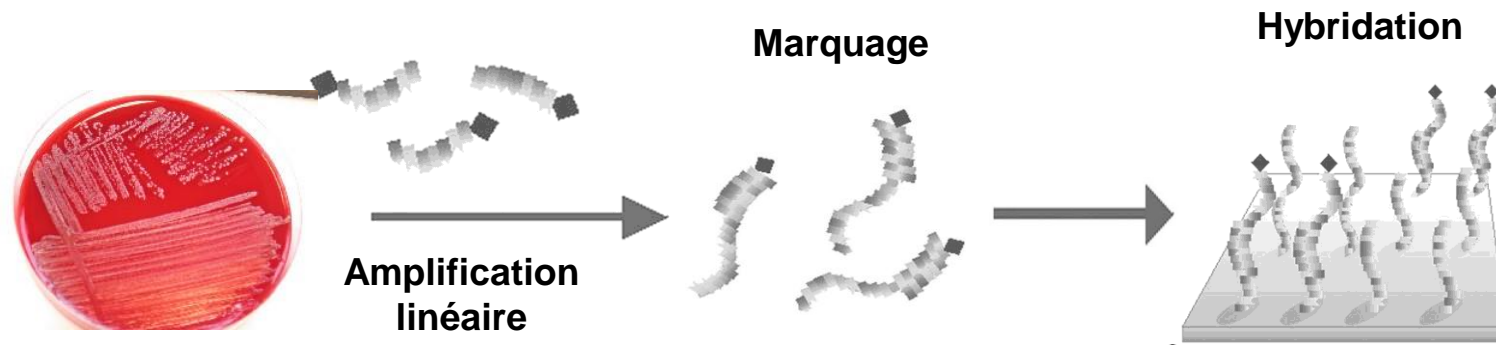
Existe-t-il une population de *S. aureus* colonisante?



Recrutement: Avril 2008-Juin 2010
12 Cliniques du Pied

Biopuce à ADN
StaphyType (Clondiag/Alere)

+ Biopuces à ADN



**Staphytype96®
(Alere SA- Clondiag)**



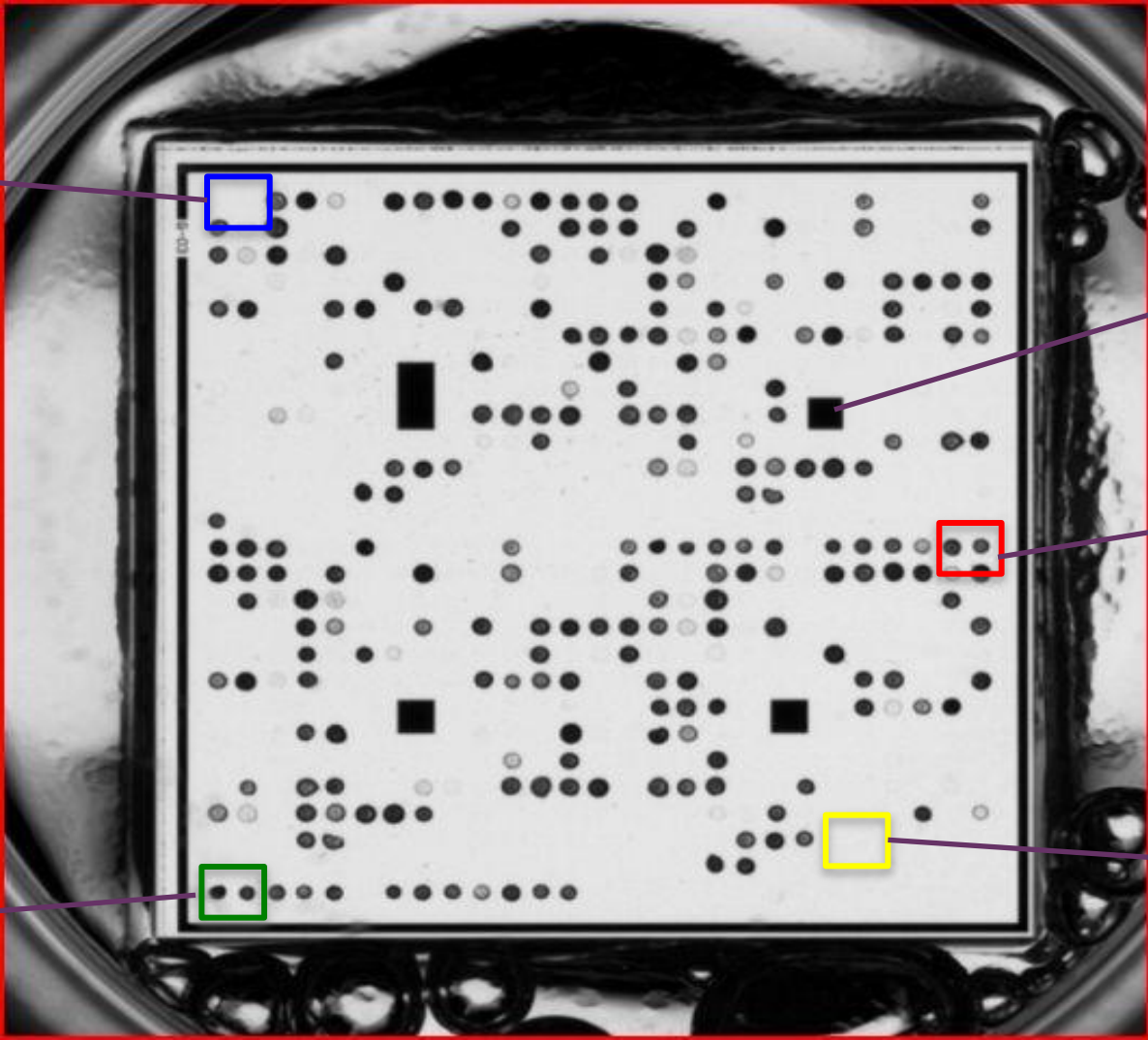
Révélation

**334 gènes de
résistance,
virulence et de
ménage**

+



Contrôle -



Témoin de position

Gène présent

Gène absent

Contrôle +



Inclusion: 195 patients

CC8/CC5 clones= 44/75
n=59%

Grade 1* (n=75)

Grade 2* (n=38)

Grade 3* (n=70)

Grade 4* (n=12)

CC8/CC5 clone= 6/120
n=5%

Suivi durant 1 mois

Bonne évolution

CC8/CC5 clones= 22/33
n=66%

CC8/CC5 clones= 0/18
n=0%

Evolution favorable n=33

Mauvaise évolution n=18
Median 14,5 j

Cicatrisation n=24

S. aureus n=33

S. aureus n=18
Grade 2 n=3
Grade 3 n=14
Grade 4 n=1

CC8/CC5 clones= 19/24
n=79%

CC8/CC5 clones= 30/33
n=91%

CC8/CC5 clones= 0/18
n=0%



Existe-t-il des marqueurs des souches colonisantes ?



Colonisation



Infection localisée



Infection généralisée

cap8

*sea, sei,
lukDE, hlgv*

edin

CC8/CC5

CC45

Ostéite

ST398



+ Distinction colonisation/Infection: espèces bactériennes et degré de virulence

Colonisation

Bactéries de la flore commensale:
SCN
Corynébactéries

Infection

S. aureus +++
Streptocoques β -hémolytiques
Anaérobies
Entérobactéries: *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*,
Enterobacter sp., *Klebsiella* sp.

Entérocoques
Pseudomonas aeruginosa

+ Rôle pathogène de *P. aeruginosa* et *Enterococcus* sp. ?

Ertapenem versus piperacillin/tazobactam for diabetic foot infections (SIDESTEP): prospective, randomised, controlled, double-blinded, multicentre trial

Benjamin A Lipsky, David G Armstrong, Diane M Citron, Alan D Tice, David E Morgenstern, Murray A Abramson *Lancet* 2005; 366: 1695–703

| | Ertapenem (n=173)* | Piperacillin/tazobactam (n=151)* | Observed differences (95% CI) |
|--|--------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| Gram-positive aerobic cocci | 149/176 (84.7%) | 132/166 (79.5%) | 5.1 (-3.1 to 13.6) |
| Enterococcus† | 19/22 (86.4%) | 8/9 (88.9%) | -2.5 |
| Enterococcus faecalis | 13/15 (86.7%) | 12/16 (75.0%) | 11.7 (-19.2 to 41.1) |
| Staphylococcus aureus | 75/90 (83.3%)‡ | 62/79 (78.5%) | 4.9 (-7.6 to 17.2) |
| Meticillin resistant | 14/18 (77.8%) | 10/15 (66.7%) | 11.1 (-19.8 to 42.7) |
| Meticillin susceptible | 60/71 (84.5%) | 52/64 (81.3%) | 3.3 (-9.9 to 17.1) |
| Streptococcus agalactiae | 15/21 (71.4%) | 22/26 (84.6%) | -13.2 (-38.3 to 10.9) |
| Gram-negative aerobic bacilli | 64/73 (87.7%) | 43/56 (76.8%) | 10.9 (-2.3 to 25.2) |
| Enterobacteriaceae§ | 36/42 (85.7%) | 26/33 (78.8%) | 6.9 (-11.1 to 25.9) |
| Pseudomonas aeruginosa | 15/18 (83.3%) | 7/10 (70.0%) | 13.3 (-18.2 to 48.7) |
| Gram-positive anaerobic cocci | 66/74 (89.2%) | 48/62 (77.4%) | 11.8 (-0.8 to 25.2) |
| Peptostreptococcus magnus | 34/38 (89.5%) | 24/27 (88.9%) | 0.6 (-15.4 to 20.6) |
| Peptostreptococcus asaccharolyticus | 10/11 (90.9%) | 7/11 (63.6%) | 27.3 (-10.9 to 58.6) |
| Gram-positive anaerobic bacilli¶ | 23/26 (88.5%) | 12/17 (70.6%) | 17.9 (-6.9 to 45.1) |
| Gram-negative anaerobic bacilli | 33/40 (82.5%) | 28/40 (70.0%) | 12.5 (-7.2 to 31.3) |
| Gram-negative anaerobic coccobacilli** | 21/25 (84.0%) | 11/16 (68.8%) | 15.3 (-10.8 to 43.3) |

Data are number of pathogens with associated favourable assessment/number of pathogens assessed (observed response) unless otherwise indicated. *Number observed calculated by pooling across baseline severity. †No species identified. ‡Oxacillin susceptibility not provided for one isolate. §Includes Enterobacter spp, Escherichia spp, Klebsiella spp, Morganella spp, Proteus spp, Providencia spp, and Serratia spp. ¶Includes Clostridium spp, Eubacterium spp, and Propionibacterium spp. ||Includes Porphyromonas spp and Prevotella spp. **Includes Bacteroides spp.

Table 5: Favourable clinical response rates, for species with at least 20 isolates at FUA, by baseline pathogen

+ Distinction colonisation/Infection: espèces bactériennes et degré de virulence

Colonisation

Bactéries de la flore commensale:
SCN
Corynébactéries

Infection

S. aureus +++
Streptocoques β -hémolytiques
Anaérobies
Entérobactéries: *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*,
Enterobacter sp., *Klebsiella* sp.

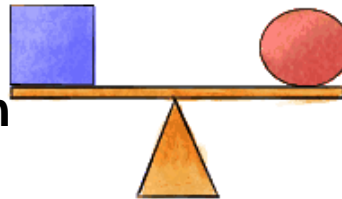
Bactéries à potentiel de virulence peu connu:
Entérocoques
Pseudomonas aeruginosa



La distinction colonisation/infection peut-elle être basée sur la bactériologie ?



Contamination/ Colonisation



Infection

Microflore bactérienne résidente
= Flore commensale

Pathogènes usuels impliqués

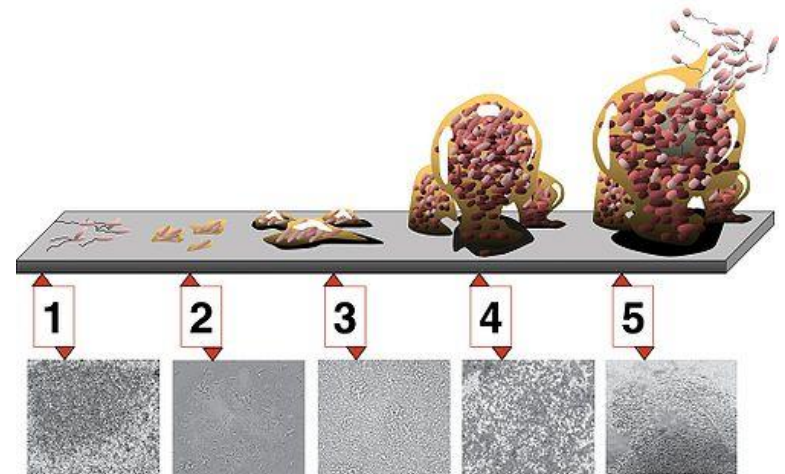
Microflore bactérienne transitoire
= Portage de bactéries pathogènes

Non le diagnostic ne peut pas être bactériologique

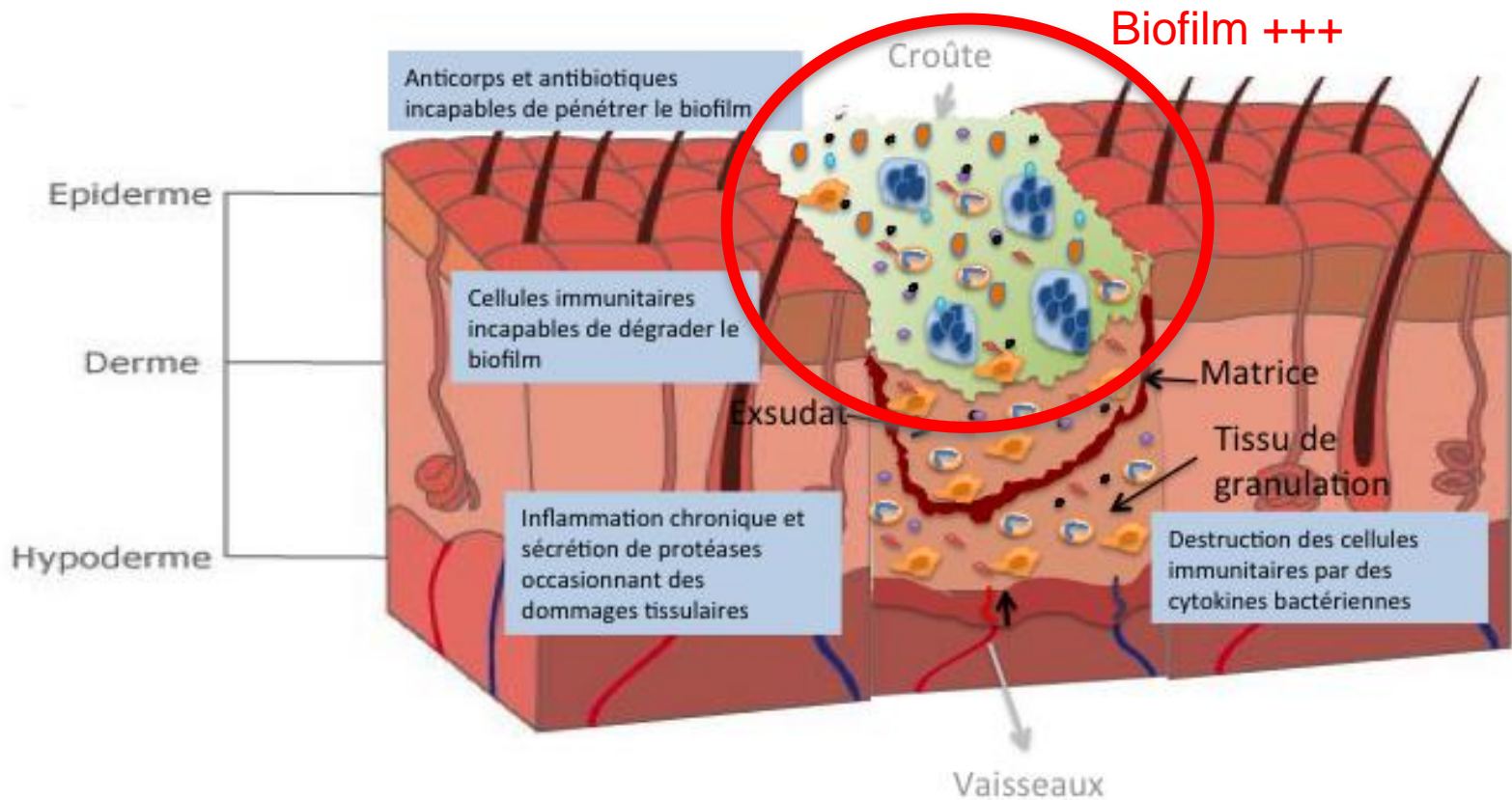
+ Distinction colonisation/Infection: espèces bactériennes et degré de virulence – Organisation en Biofilm

▪ Deux critères:

- Communauté de microorganismes (mono ou polymicrobien) fixée à une surface
- Maintenu par la sécrétion d'une matrice extracellulaire adhésive et protectrice (polymères complexes : Extracellular Polymeric Substance (EPS) = polysosides, ADN)



+ Distinction colonisation/Infection: espèces bactériennes et degré de virulence – Organisation en Biofilm

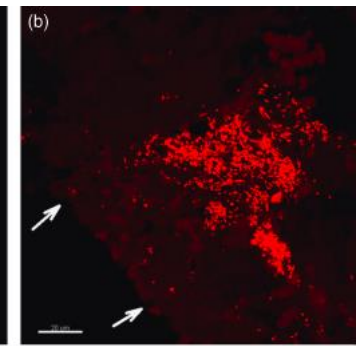
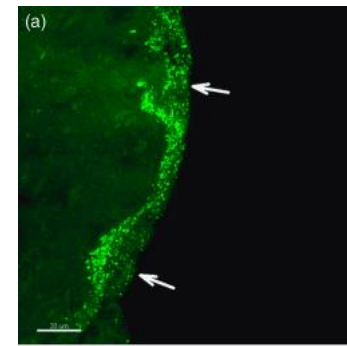
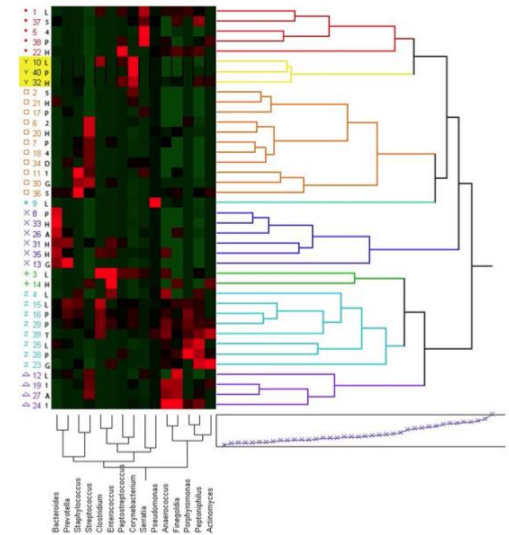




Etude du microbiote cutané: Notion de FEPs – Organisation en biofilm

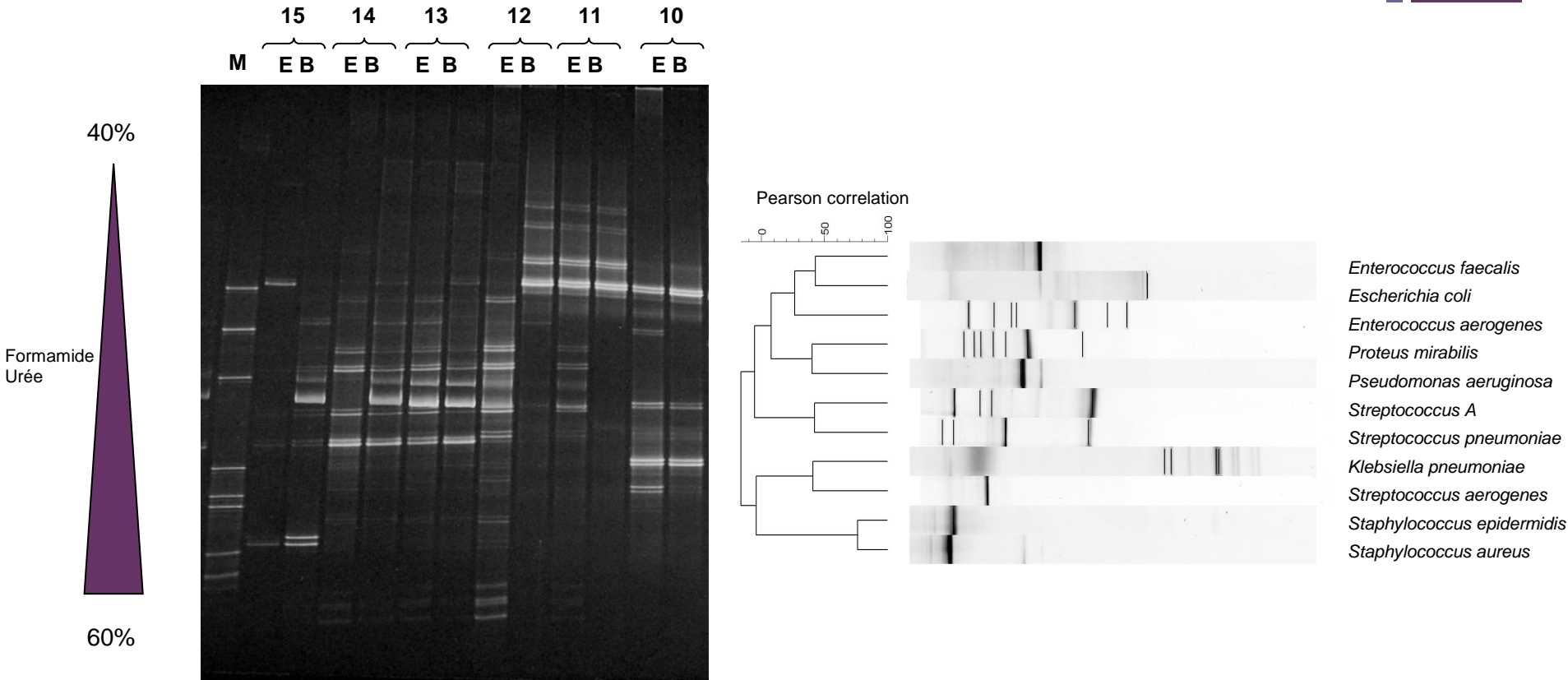
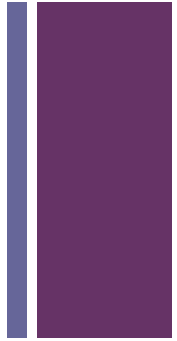


- ❑ **Biofilms "pathologiques" (≠ Biofilm naturel)**
= organisation non aléatoire bactérienne en agrégats enfermés dans une matrice EPS
- ❑ Très nombreuses espèces: 5,4 espèces / plaie
- ❑ Organisation des agrégats en **Pathogroupes: FEP (Functionally Equivalent Pathogroups)**
- ❑ **Caractéristiques des FEP:**
 - Relations symbiotiques/synergiques des groupes de bactéries
 - Partage de nutriments (catabolisme/anabolisme)
 - Distribution non aléatoire des bactéries
 - Résistance aux ATB
 - Plaies polymicrobiennes mais que quelques espèces peuvent s'organiser en FEP





Etude du microbiote cutané: Profils de migration obtenus par DGGE



+ Etude du microbiote cutané: Profils de migration obtenus par DGGE

- 20 patients étudiés

Dans 7 cas :
aucune espèce n'a été détectée par culture alors que la DGGE a identifié au moins 2 espèces pathogènes

Nombre d'espèces moyen identifiées par:

DGGE: 3 esp. $\pm 2,5$
Culture: 0,8 esp. $\pm 1,2$

Dans 5 cas :
Au moins une espèce pathogène supplémentaire a été détectée par DGGE et non par culture

Dans 8 cas :
- L' (les) espèces pathogènes ont été détectées par DGGE et culture;
- l' (les) espèce(s) supplémentaire(s) n'étaient pas pathogène(s)

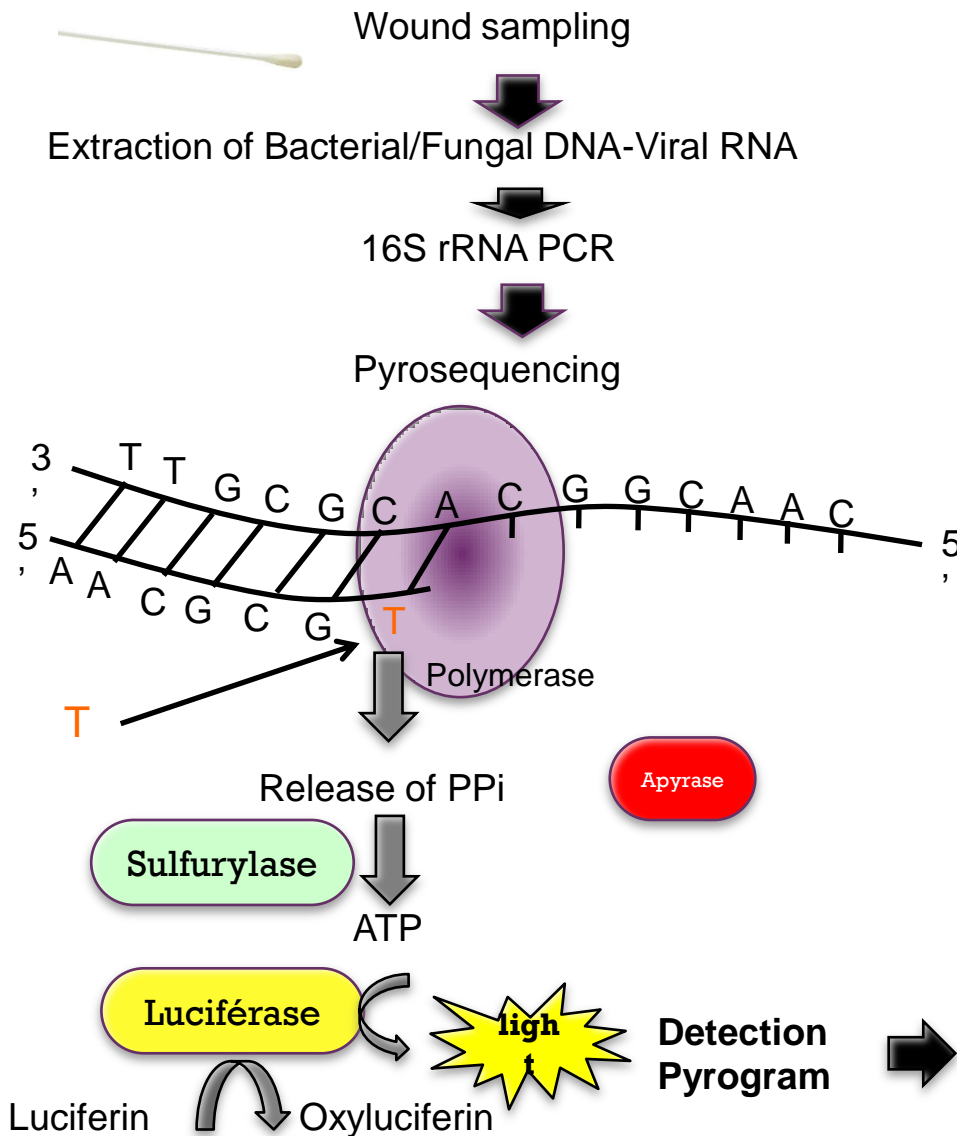
+ Etude du microbiote cutané: Profils de migration obtenus par DGGE

- ❑ **12 cas sur 20:** Identification d'espèces pathogènes ou potentiellement pathogènes par DGGE non isolées par culture classique
- ❑ **Erreur** dans le spectre de prescription antibiotique. En effet, dans ces cas, l'antibiothérapie ciblée soit du *S. aureus* alors qu'un bacille à Gram négatif était identifié par DGGE en plus, soit l'inverse.



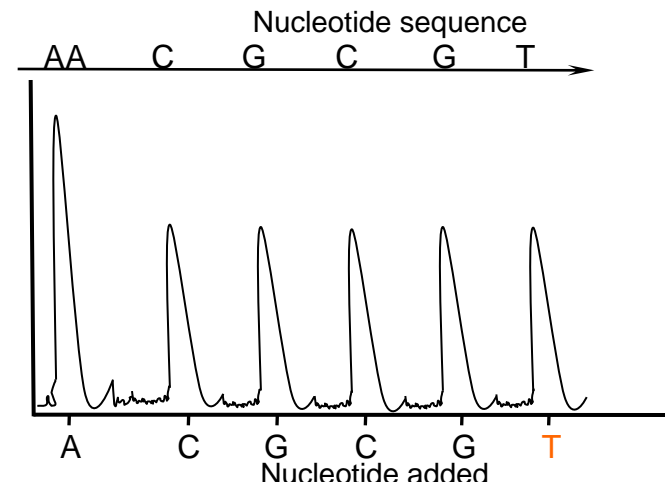
+ Etude du microbiote cutané: Pyroséquençage

Lipsky BA et al. Diabetes 2014



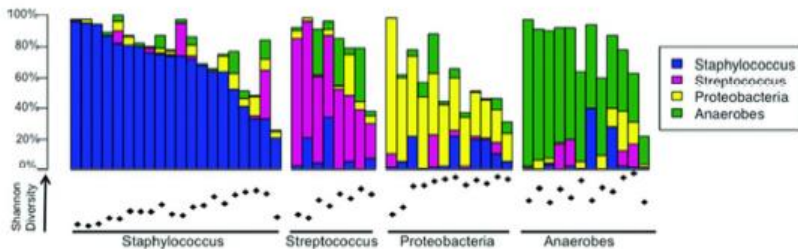
DFU Microbiome:
Species
identification/phylogeneti
c
analyses

Blastn/tBlastn
Sequence and pathway
databases : metagenomic



+ Etude du microbiote cutané: Pyroséquençage

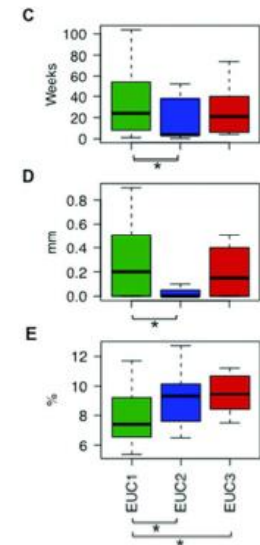
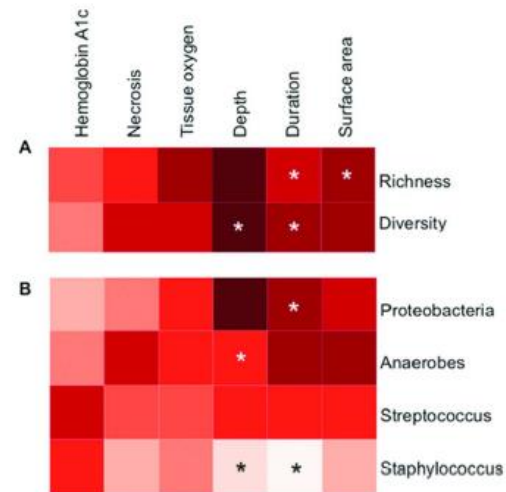
- 13 phyla
- Firmicutes (Gram +) +++
dont *Staphylococcus* species
- 4 clusters



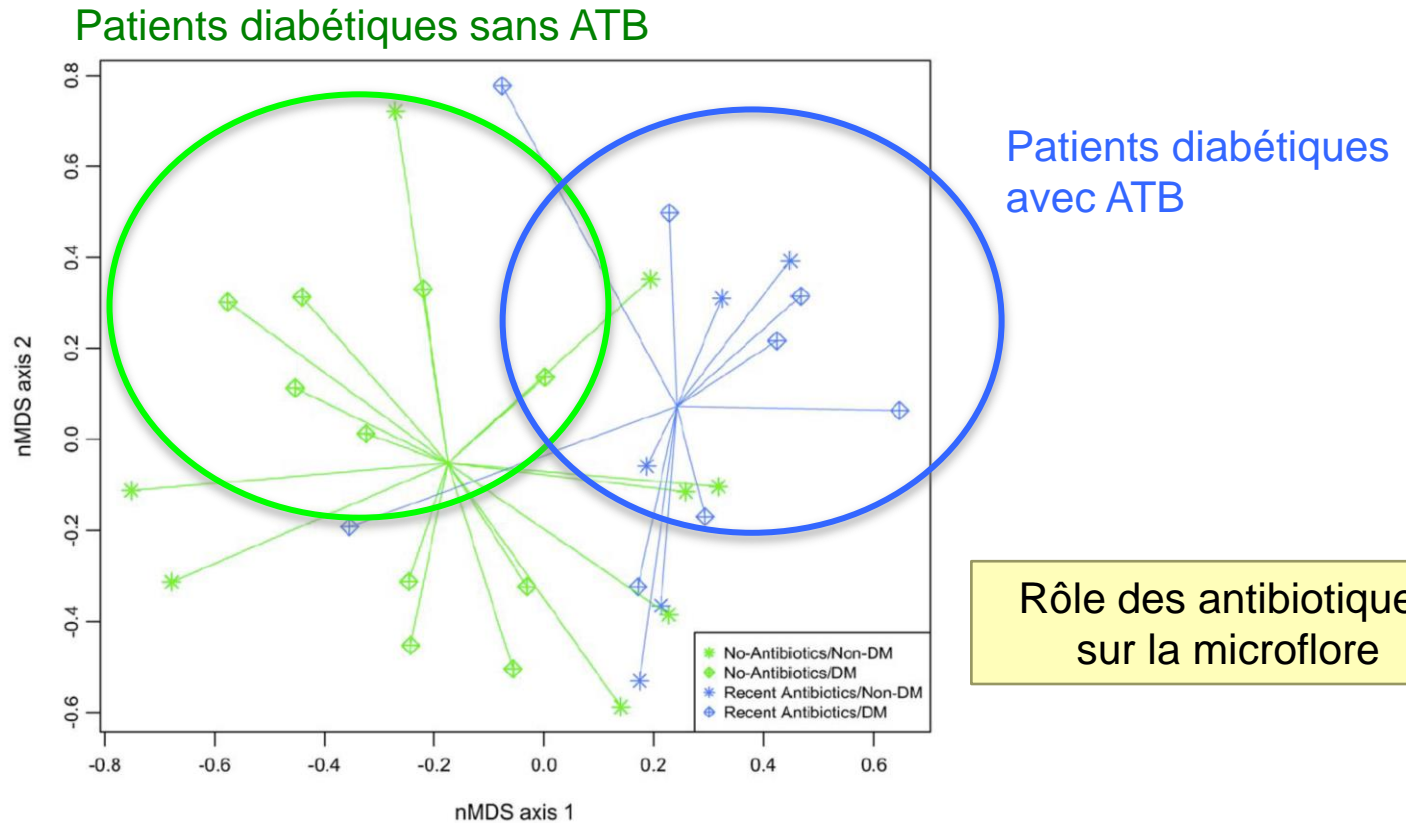
- Durée de l'ulcère corrélée avec diversité et Proteobactéries
- Profondeur de l'ulcère corrélée avec anaérobies
- HbA1c élevé corrélée avec colonisation par *Staphylococcus* et *Streptococcus*

| Bacteria | Cultures | 16S sequencing |
|-----------------------|----------|----------------|
| <i>Staphylococcus</i> | 40% | 94% |
| Anaerobes | 27% | 100% |
| Proteobacteria | 35% | 100% |
| <i>Streptococcus</i> | 37% | 83% |

Mauvaise concordance
culture/pyroséquençage



+ Etude du microbiote cutané: Pyroséquençage





Comment faire la distinction infection / colonisation sur des plaies chroniques ?



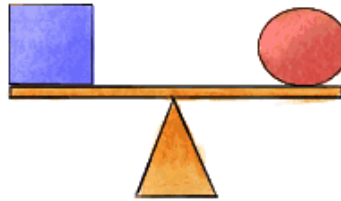
- Classification clinique ...
- Plaie chronique = Organisation complexe des bactéries en Pathogroupes formant un biofilm pathologique
- Toutes les bactéries peuvent participer à la pathogénicité
- Toutes les bactéries participent à la chronicité de la lésion expliquant la difficulté de guérison
- Existence d'autres bactéries non cultivables, de virus, de parasites ?

+

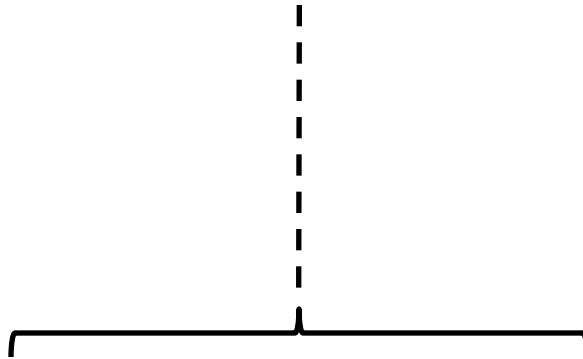
Comment faire la distinction infection / colonisation sur des plaies chroniques ?



Colonisation



Infection



**Isolement de bactéries sur les plaies
Identification des bactéries réellement infectantes
→ EFFECTUER un PRELEVEMENT DE QUALITE**

**+ Comment faire la distinction
infection / colonisation sur des
plaies chroniques ?**

**Les prélèvements bactériologiques ne
sont indiqués qu' en cas d' infection
établie cliniquement**



Comment faire la distinction infection / colonisation sur des plaies chroniques ?



- ❑ Des protocoles conçus conjointement par les cliniciens et les microbiologistes sont indispensables :
Prise en Charge MULTIDISCIPLINAIRE+++

- ❑ Définir les objectifs de l'analyse,
la manière de prélever selon les différentes présentations cliniques,
le matériel de prélèvement à utiliser,
les conditions de transport,
les techniques analytiques
l'interprétation des résultats de la culture



Comment faire la distinction infection / colonisation sur des plaies chroniques ?



LE DEBRIDEMENT ...

Objectifs

Exciser les parties molles nécrosées, les tissus dévitalisés et contaminés et les tissus fibreux pour ne laisser en place que du tissu sain et ainsi faciliter la cicatrisation

Types de débridement

Débridement chirurgical :

Action **diagnostique**: Exploration de la plaie

pronostique: Réalisation de prélèvements bactériologiques fiables

thérapeutique: Exérèse des tissus nécrosés et réduction de l'inoculum bactérien

préventive: Correction des déformations du pied



Comment faire la distinction infection / colonisation sur des plaies chroniques ?

☐ Types de débridement

Débridement médical :

au moyen d'une curette ou d'un scalpel stériles

- un **nettoyage** doit être réalisé avec une gaze imbibée de sérum physiologique stérile

NB: **utilisation d'antiseptiques** possible, mais à éliminer par du sérum physiologique stérile avant de réaliser le prélèvement

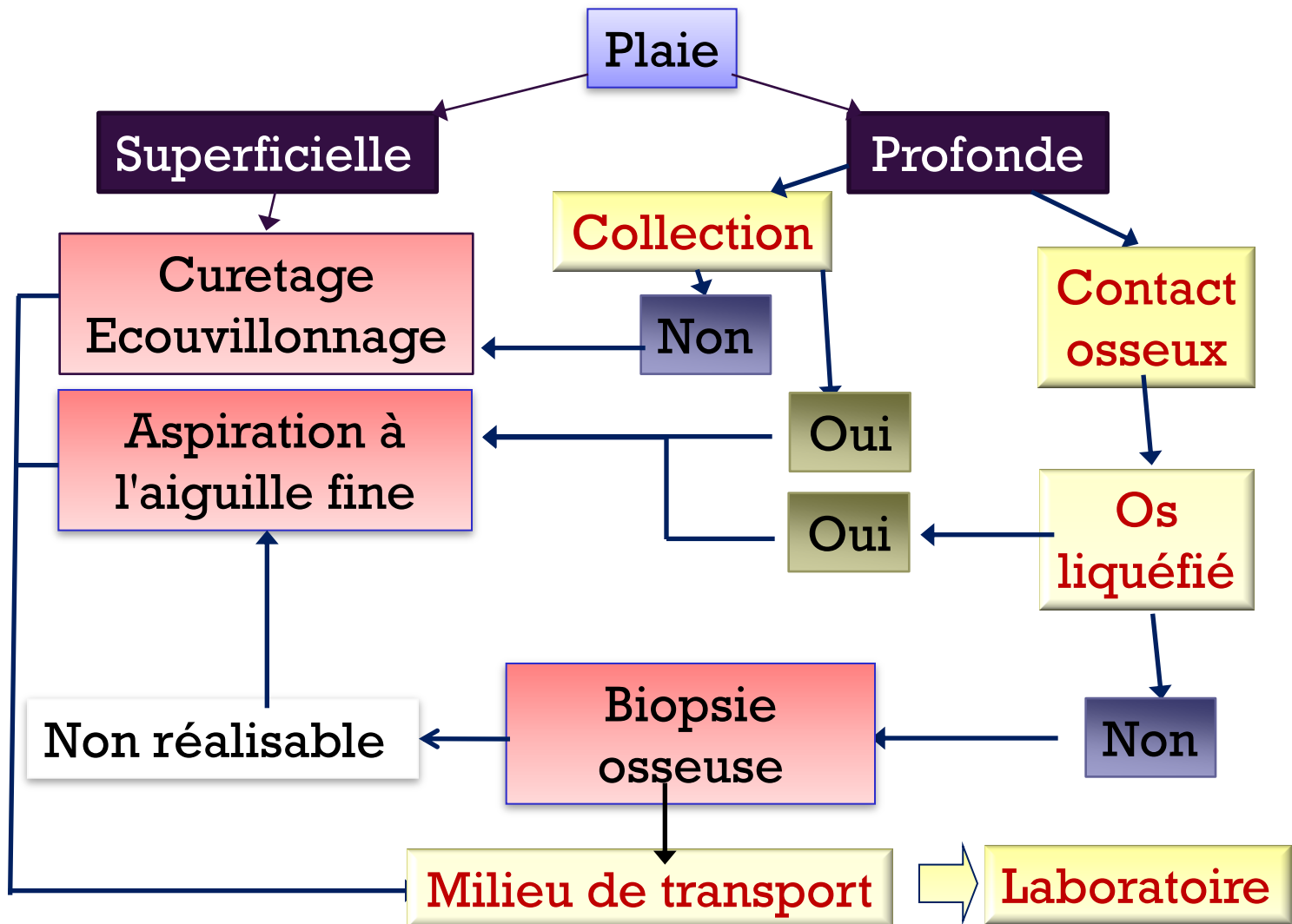


+ Comment faire la distinction infection / colonisation sur des plaies chroniques ?



- ❑ Organisation en FEP → Retard de cicatrisation : **Débridement +++**
- ❑ Nombreuses communautés bactériennes: **Nécessité absolu du débridement de la plaie et nettoyage vigoureux** (sf si artérite)
- ❑ Distribution bactérienne non au hasard: **Privilégier les prélèvements profonds**
- ❑ Organisation en biofilm: **Garder plus longtemps les milieux de culture**
- ❑ Nombreuses bactéries non (ou difficilement) cultivables: **Développer les outils de biologie moléculaire**

+ Qualité du prélèvement



+ Milieu transport SSTI: E-swab

- ❑ Maintient viabilité des bactéries aérobie, anaérobie et fastidieuses pendant 48 h à température ambiante ou à 4° C
- ❑ Automatisation (rapidité)



+ Milieu transport Os: Ultra Turax

- ❑ Diminutions des contaminations
- ❑ Optimisation temps (manipulation)
- ❑ Prélèvement directement dans le poudrier
- ❑ Eau qualité biologie moléculaire: congélation
- ❑ Ensemencement sous hotte
- ❑ Dispenseur/Agitateur/Homogénéisateur



+ Principe de l'interprétation des résultats

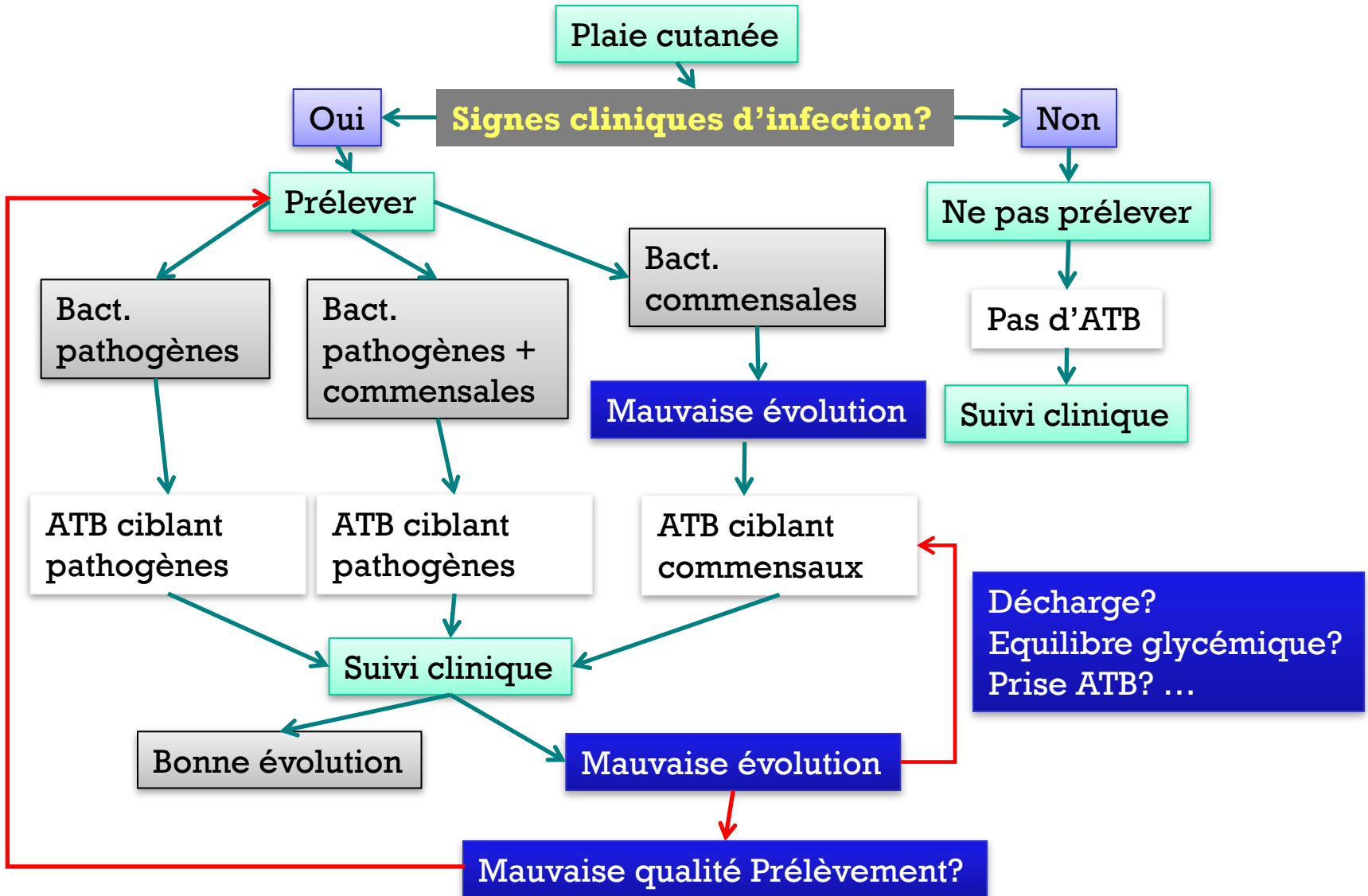


Il n'existe à ce jour aucun moyen formel permettant de différencier une colonisation d'une infection!!!

L'interprétation doit tenir compte:

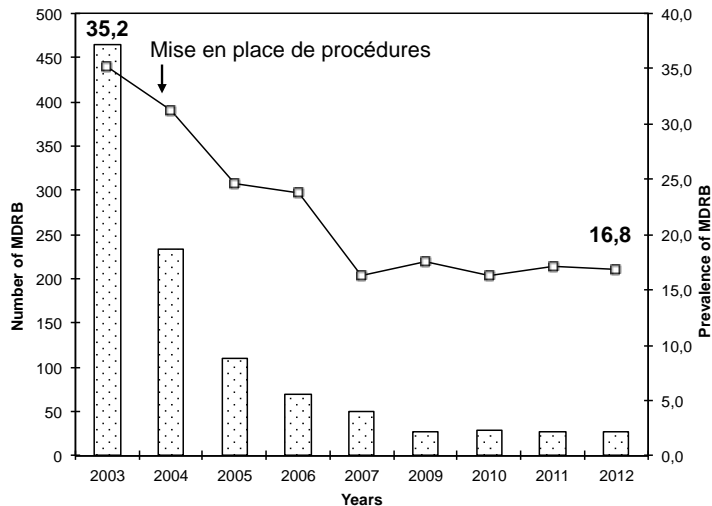
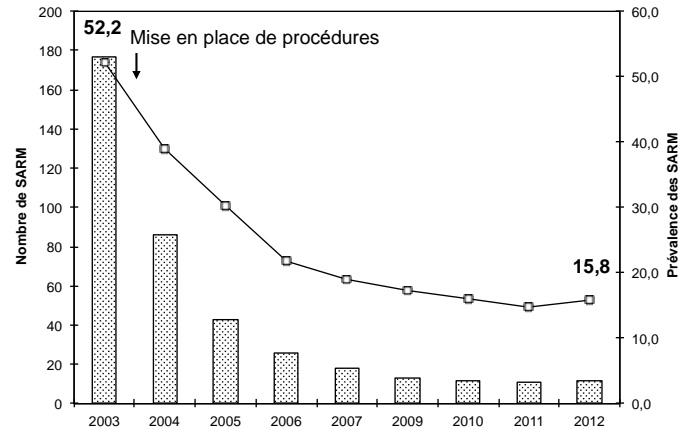
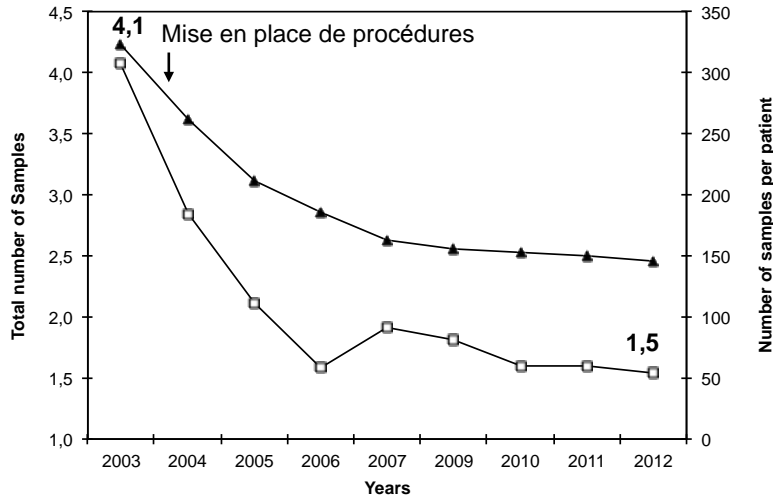
- des conditions de recueil du prélèvement
- du délai de transport du prélèvement au laboratoire
- des conditions de transport du prélèvement
- du type de bactéries isolées
- de la localisation des bactéries isolées
- du nombre de prélèvements où la même bactérie est isolée
(cas des bactéries commensales)
- **de la clinique +++**

Interprétation des résultats: Schéma théorique





Rôle du bon usage des prélèvements dans le but d'un bon usage des antibiotiques: Mise en place de procédures au CHU de Nîmes



Efficacité de la prise en charge multidisciplinaire

Depuis 2003:

*Nb de BMR divisé par 2

*Economie

. Prélèvements 21 000 €

. ATB 162 000€

*Nb amputations divisé par 3





Conclusion



Il n' existe à ce jour aucun moyen formel permettant de différencier une colonisation d' une infection!!!

Colonisation = Physiologique
Infection = Pathologique

Pour aider à cette distinction:

la clinique

le débridement

la qualité des prélèvements microbiologiques

le nombre de prélèvements où la même bactérie est isolée

les espèces bactériennes identifiées

+ Remerciements

Membres de l'unité 1047:

Dr Catherine DUNYACH-REMY (PH C)
Nourredine MESSAD (Doctorant InfectioPôle)
Christelle NGBA (Doctorante InfectioPôle)

Diabétologues CHU Nîmes:

Dr Jean-Louis RICHARD (PH)
Dr Nathalie JOURDAN (PH)
Dr Sophie SCHULDINER (PH)



Collaborateurs :

Pr D. RAOULT
Pr B. LA SCOLA



Pr G. LINA
Pr F. VANDENESCH
Dr F. LAURENT



Dr E. LEMICHEZ (DR)
Dr L. LANDRAUD



E. SKAAR



T. PRASJNAR
S. RENSCHAW



C. MALPICA
F. CORDONER



CW. DYKES
G. SKORSKI

