

# Best of Microbiologie

8<sup>ème</sup> journée scientifique du CRIOGO, Poitiers

Dr Rachel Chenouard, Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU  
d'Angers

# Physiopathologie

# Survival of *Staphylococcus epidermidis* in Fibroblasts and Osteoblasts

Perez, Patel, Infect Immun, 2018

*S. epidermidis* = responsable d'infections chroniques sur matériel, notamment d'IPOA

Pathogénicité :

- Formation de biofilm
- Autre mécanisme ?
  - Persistance intracellulaire -> échappement à la réponse immunitaire

3 types cellulaires

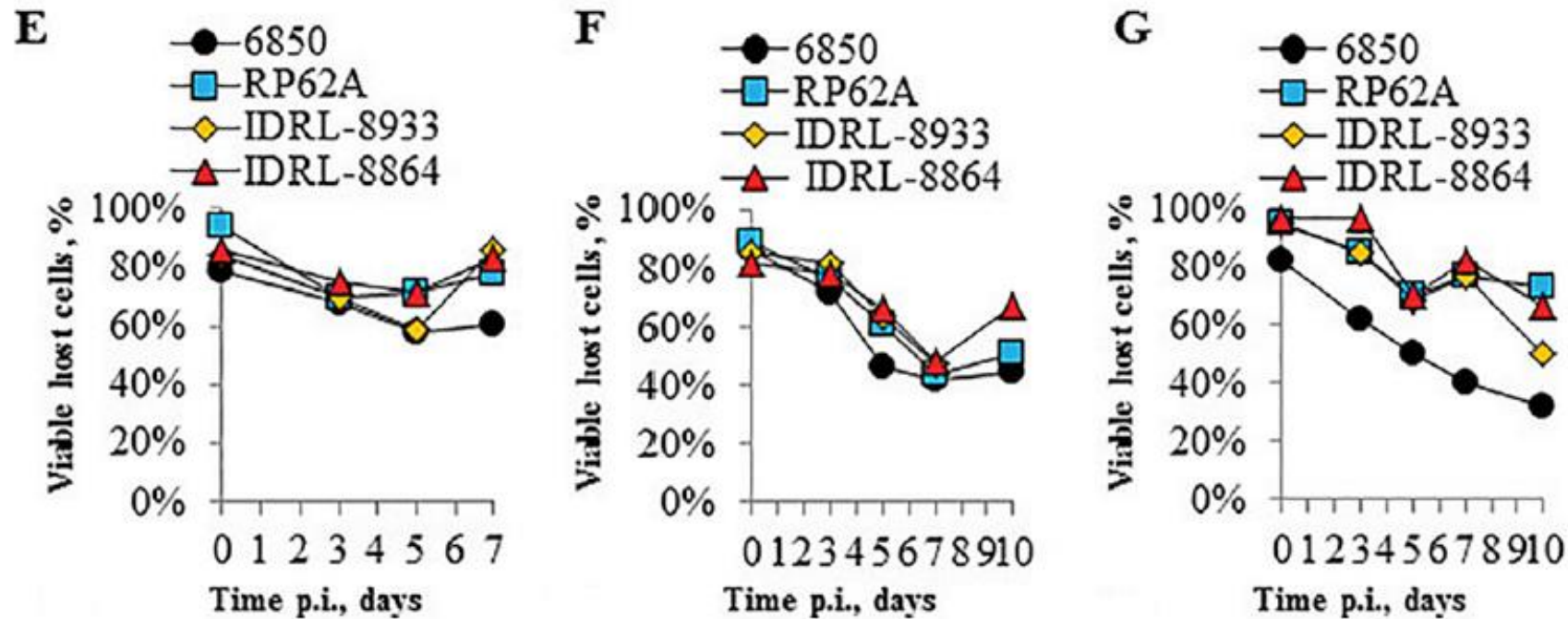
- Fibroblastes humains (MRC5)
- Ostéoblastes humains (NHOst)
- Ostéoblastes murins (MC3T3)

4 souches

- *S. aureus* (sepsis) 6850
- *S. epidermidis* (sepsis) RP62A
- *S. epidermidis* (IPOA) IDRL-8933
- *S. epidermidis* (IPOA) IDRL-8864

# Survival of *Staphylococcus epidermidis* in Fibroblasts and Osteoblasts

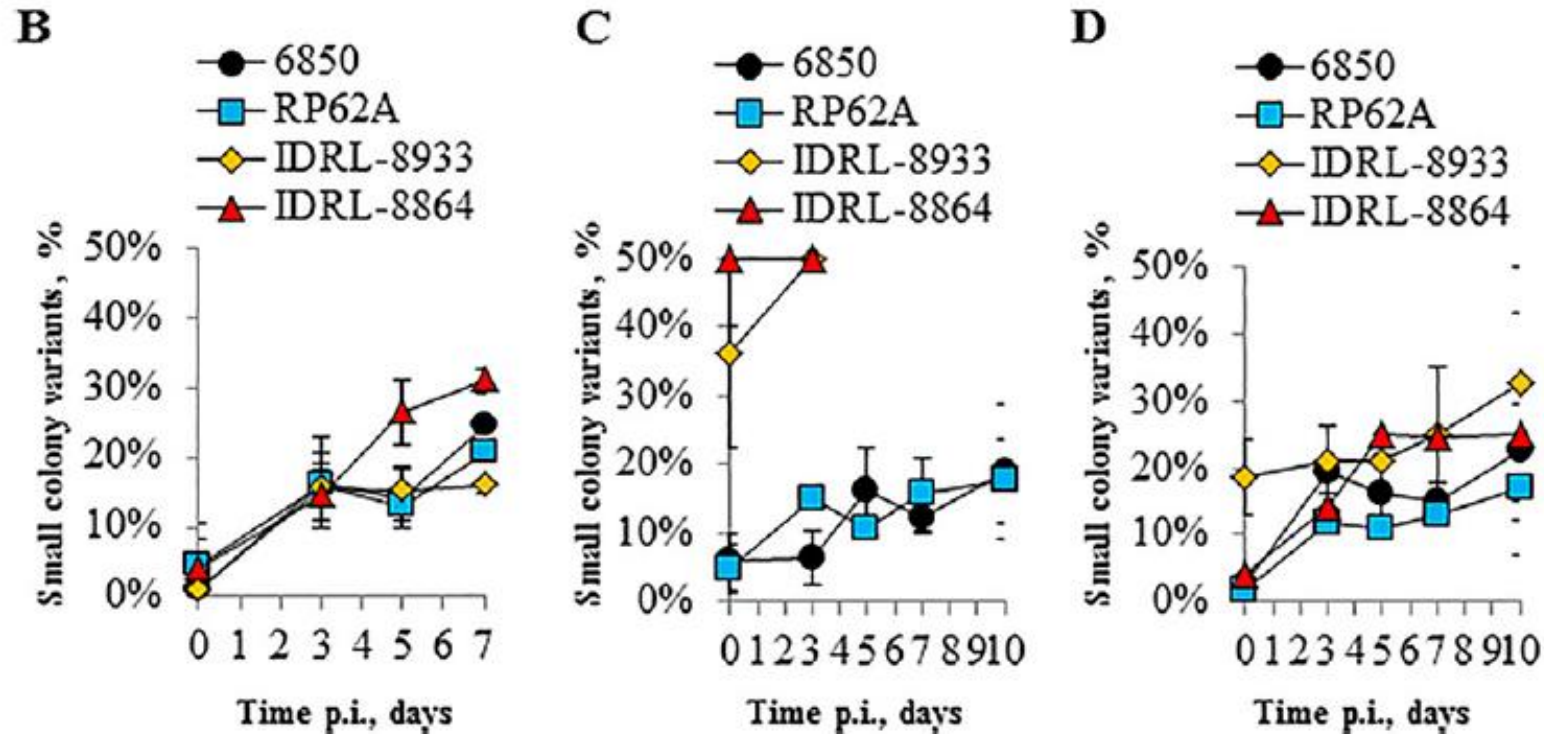
Perez, Patel, Infect Immun, 2018



Invasion et persistance du *S. epidermidis* dans les fibroblastes et ostéoblastes, sans cytotoxicité majeure

# Survival of *Staphylococcus epidermidis* in Fibroblasts and Osteoblasts

Perez, Patel, Infect Immun, 2018



Augmentation du nombre de Small Colony Variants

# Biomarqueurs

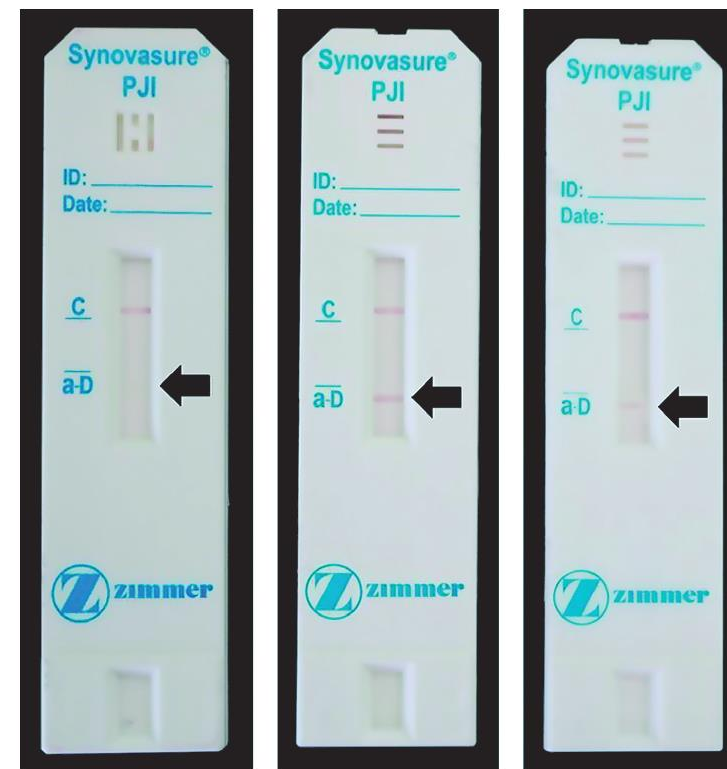
Alpha-défensine

Calprotectine

Spectroscopie infrarouge

# Alpha-défensine

- Peptide anti-microbien libéré par les PNN
- Liquide synovial
- Études princeps:
  - Deirmengian, 2014
    - Sensibilité = 97 %    Spécificité = 96 %
  - Bingham, 2014
    - Sensibilité = 100 %    Spécificité = 95 %
- Test ELISA
- Test immunochromatographique



## Synovasure 'quick test' is not as accurate as the laboratory-based $\alpha$ -defensin immunoassay

Suen, Bone Joint J, 2018

- Revue de la littérature
- 10 études, 759 patients
- ELISA (7 études, 640 patients)
  - Sensibilité poolée = 0,953
  - Spécificité poolée = 0,965
- ICT (3 études, 119 patients)
  - Sensibilité poolée = 0,774
  - Spécificité poolée = 0,913

## Alpha-defensin and the Synovasure lateral flow device for the diagnosis of prosthetic joint infection

Marson, Bone Joint J, 2018

- Revue de la littérature
- 11 études, 1063 patients
- ELISA (5 études)
  - Sensibilité poolée = 0,95
  - Spécificité poolée = 0,97
- ICT (6 études)
  - Sensibilité poolée = 0,85
  - Spécificité poolée = 0,90



- ELISA :
  - Plus sensible et spécifique – seuil = 5,2 mg/L
  - Laboratoire - Centrifugation
  - Résultat = 24h
  - Faux-positifs : métallose, 2<sup>ème</sup> temps reprise de prothèse
  
- ICT :
  - Per-opératoire
  - Résultat = 20min
  - Coût
  - Faux-négatifs

A interpréter avec précaution  
Nécessité d'évaluation par de grandes séries  
Infections aiguës vs chroniques

# Synovial calprotectin : a potential biomarker to exclude a prosthetic joint infection

Wouthuyzen-Bakker, Bone Joint J, 2017

- Protéine libérée par les PNN lors de l'activation
- Dosage sérique (PR), fécal (MICI)
- Étude prospective, 61 patients
  - Liquide synovial
  - PTH, PTG, PTE
  - 19 IPOA
    - < 3 mois : 10 / > 3 mois : 9
  - 42 reprises non septiques

Sensibilité = 89 %

Spécificité = 90 %

VPP = 81 %

VPN = 95 %

Seuil moyen IPOA = 991mg/L

Test d'élimination

# Validation de l'intérêt d'une nouvelle méthode utilisant la spectroscopie infrarouge pour le diagnostic rapide d'arthrite septique

Albert, Congrès Rhumatologie, 2018

- Liquide synovial – suspicion d'arthrite septique
- 6 centres de l'Ouest de la France
- 402 patients
  - 30 septiques, 372 non septiques
- Spectre d'absorption infrarouge, algorithme SYNOFAST
- Sensibilité = 97 %    spécificité = 71 %

# Biologie moléculaire

# Métagénomique et IPOA

- Whole Genome Sequencing
- Extraction et séquençage de tous les acides nucléiques présents dans un échantillon
- IPOA:
  - Identification de pathogènes non détectés par culture ou PCR spécifiques ou PCR ARNr16S
  - Mise en évidence de gènes de résistance ou mutations

# Identification of Prosthetic Joint Infection Pathogens Using a Shotgun Metagenomics Approach

Thoendel, Mayo Clinic, CID, 2018

- 408 liquides de sonication
- 213 IPOA
  - 59 % PTG, 41 % PTH
  - CRP = 31,8 mg/L
  - VS = 40 mm/h
- 195 reprises aseptiques
  - 79 % PTG, 21 % PTH

# Identification of Prosthetic Joint Infection Pathogens Using a Shotgun Metagenomics Approach

Thoendel, Mayo Clinic, CID, 2018

Case Classification Samples, No.	Identical findings	Organisms not identified by Metagenomics	New organisms detected by Metagenomics
<b>Aseptic failure N = 195</b>	188 (96,4 %)	-	8 (3,6 %)
<b>Culture-positive PJI N = 115</b>	99 (86,1 %)	6 (5,2 %)	11 (9,6 %)
<b>Culture-negative PJI N = 98</b>	55 (56,1 %)	-	43 (43,9 %)

Grand nombre d'espèces additionnelles  
Problèmes de contamination (ADN humain, ADN microbien dans réactifs)  
Coût +++ Temps +++

# Clinical metagenomics of bone and joint infections: a proof of concept study

Ruppé, Sci Rep, 2017

- 24 séquencés
- 14 patients
  - 3 PTG, 6 ostéosynthèses, 5 sans matériel

	Métagénomique ID au rang d'espèce	Métagénomique ID au rang de genre
<b>Culture monomicrobienne n = 8 échantillons</b>	8/8	8/8
<b>Culture polymicrobienne n = 16 échantillons (55 bactéries)</b>	32/55 (58,2 %)	41/55 (74,5 %)

+ 273 bactéries non retrouvées à la culture  
182 « pathogènes possibles »  
91 « contaminants »



# Clinical metagenomics of bone and joint infections: a proof of concept study

Ruppé, Sci Rep, 2017

Patient	Sample number	Monomicrobial or polymicrobial	Culture (proportion in %)	Species identified in metagenomic sequencing ( $\geq 0.1\%$ abundance)
H	158	Polymicrobial	<i>Enterococcus faecalis</i> (42.6), <i>Streptococcus anginosus</i> (42.6), <i>Corynebacterium coyleae</i> (14.9)	<i>Enterococcus faecalis</i> (3.8), <i>Streptococcus anginosus</i> (1.3), <i>Olsenella</i> sp oral taxon 809 (69.8), <i>Mogibacterium</i> sp CM50 (6.5), <i>Slackia</i> unclassified (3.8), <i>Peptoniphilus harei</i> (1.6), <i>Atopobium</i> sp oral taxon 199 (1.5), <i>Fingoldia magna</i> (1.4), <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> (1.2), <i>Anaerococcus lactolyticus</i> (1.2), <i>Peptoniphilus</i> sp oral taxon 375 (1.1), <i>Slackia exigua</i> (1.0), <i>Porphyromonas asaccharolytica</i> (0.8), <i>Actinomyces turicensis</i> (0.8), <i>Subdoligranulum</i> unclassified (0.7), <i>Peptoniphilus lacrimalis</i> (0.7), <i>Eggerthella</i> unclassified (0.4), <i>Olsenella uli</i> (0.4), <i>Anaerococcus vaginalis</i> (0.2), <i>Lachnospiraceae bacterium</i> 5 1 57FAA (0.2), <i>Dialister invisus</i> (0.2), <i>Clostridium clostridioforme</i> (0.2), <i>Actinomyces europaeus</i> (0.2), <i>Porphyromonas somerae</i> (0.2), <i>Clostridiales bacterium</i> BV3C26 (0.1), <i>Anaerococcus obesiensis</i> (0.1), <i>Parvimonas</i> unclassified (0.1), <i>Helcococcus kunzii</i> (0.1), <i>Prevotella timonensis</i> (0.1), <i>Facklamia hominis</i> (0.1), <i>Eggerthella lenta</i> (0.1)

**Merci pour votre attention**