



Microbiologie du *Cutibacterium* *acnes*

REUNION BIBLIOGRAPHIQUE DU
CRIOGO



CRIOGO

Laboratoire de Bactériologie

Christopher HESLAN & Zahida MAMOU

(Internes de biologie médicale)



Mercredi 20 Mars 2019

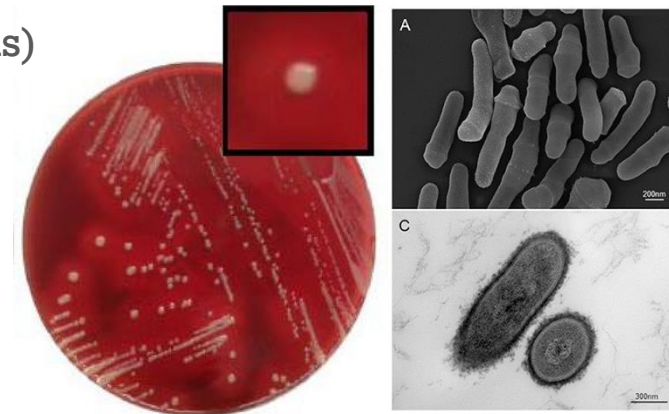
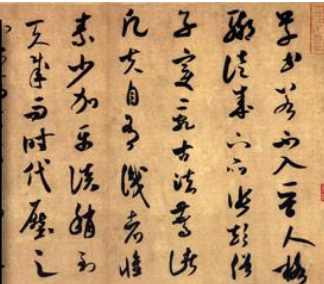
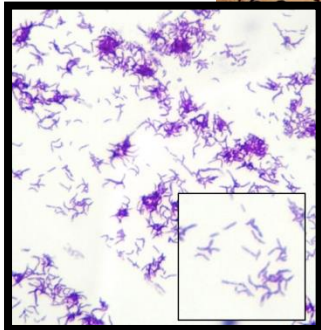


+ *Cutibacterium acnes* : généralités

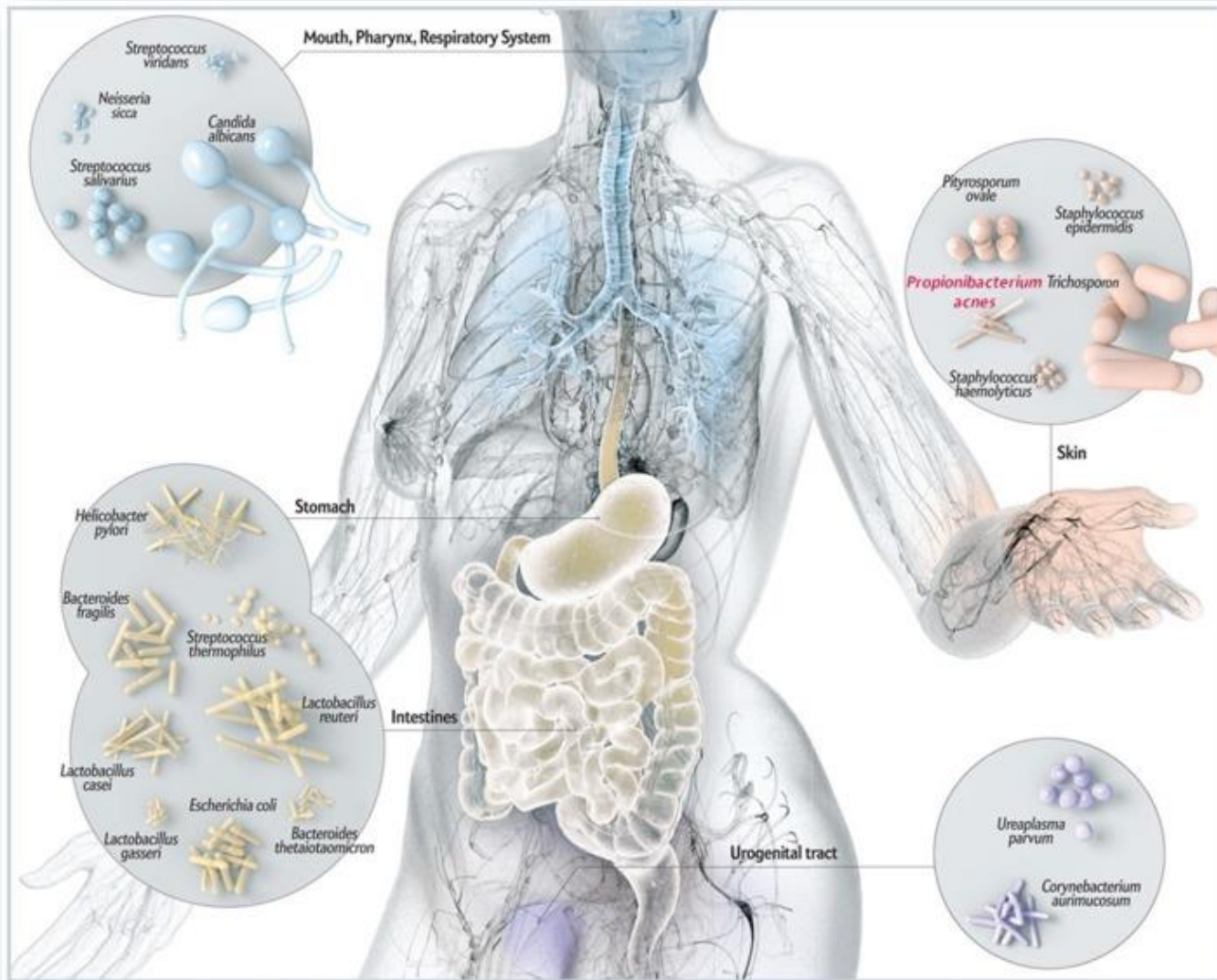
- Isolé il y a 100 ans (*Acnes vulgaris*)
 - *Propionibacterium* (fermentation de lactose en acide propionique)
 - Propionibactéries classiques vs. Propionibactéries cutanées
 - 2016: nouvelle taxonomie « *Cutibacterium acnes* »
- BGP anaérobie préférentiel aérotoleérant
 - Croissance optimale < 21% O₂
 - Capacité de survie *in vitro* ana ≈ 8 mois
 - Résistance accrue au stress mécanique, température...
 - Pousse lente sur différents milieux (Milieux gélosés et bouillons)
 - T° croissance 30-37°C
 - Tps de pousse (Hémoc 2 – 15 J, plus long pour tissus)



Orla-Jensen (1870-1949)



+ Niche écologique:



■ Microbiome cutané:

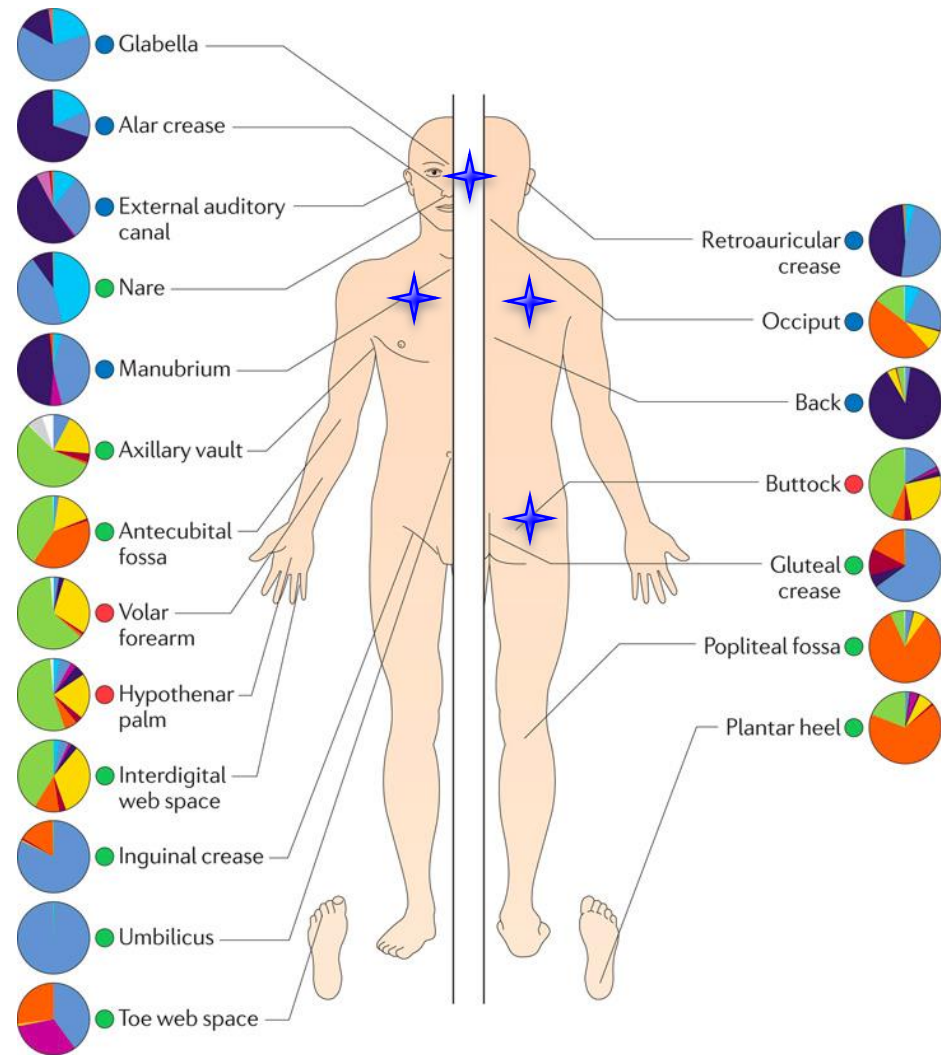
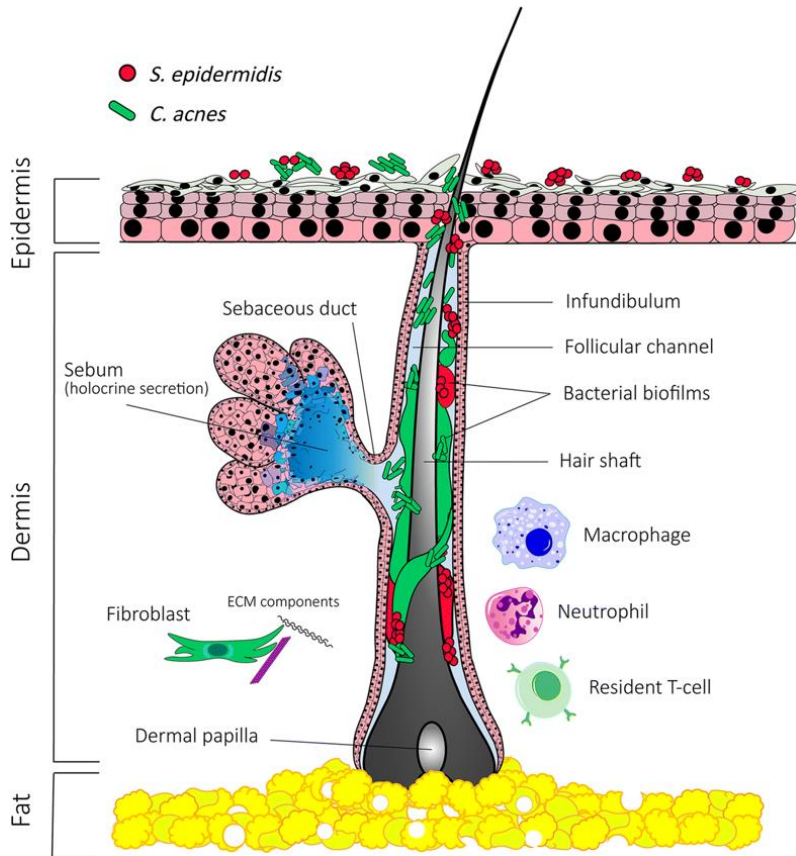
- Propionibactéries (23%)
- Staphylocoques (16,8%)
- Corynébactéries (22,8%)
- Autres ...



Niche écologique:

■ *C. acnes*:

- Très lipophile
- Glandes sébacées et follicules pileux



Actinobacteria	Bacteroidetes	Proteobacteria
● Corynebacteriaceae	● Cyanobacteria	● Divisions contributing <1%
● Propionibacteriaceae	● Firmicutes	● Unclassified
● Micrococcaceae	● Other Firmicutes	● Sebaceous
● Other Actinobacteria	● Staphylococcaceae	● Moist
		● Dry

+ *C. acnes*, différents phylotypes:

Multilocus Sequence Typing and Phylogenetic Analysis of *Propionibacterium acnes*

Mogens Kilian, Christian F. P. Scholz, and Hans B. Lomholt

Journal of
Clinical Microbiology®
AMERICAN
SOCIETY FOR
MICROBIOLOGY

The Opportunistic Pathogen *Propionibacterium acnes*: Insights into Typing, Human Disease, Clonal Diversification and CAMP Factor Evolution

Andrew McDowell^{1*}, István Nagy², Márta Magyar², Emma Barnard¹, Sheila Patrick¹

■ MLST₉ & MLST₇

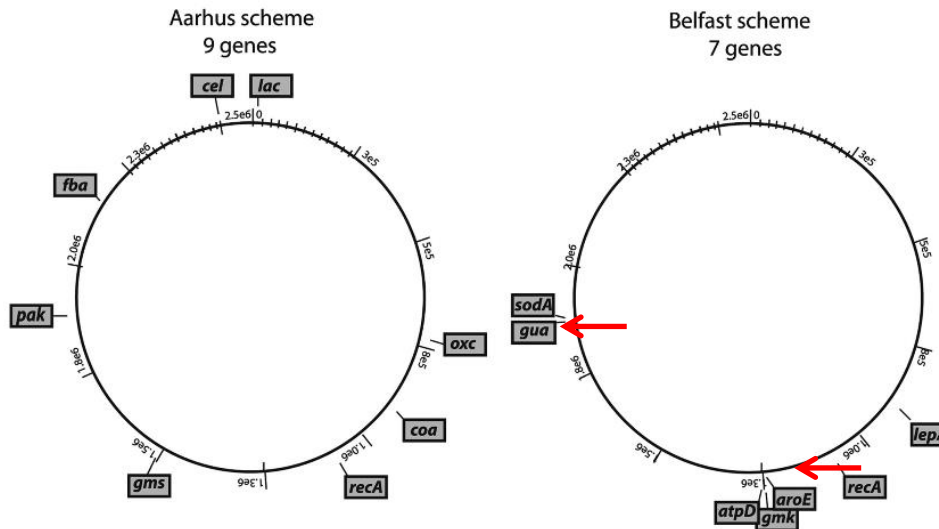
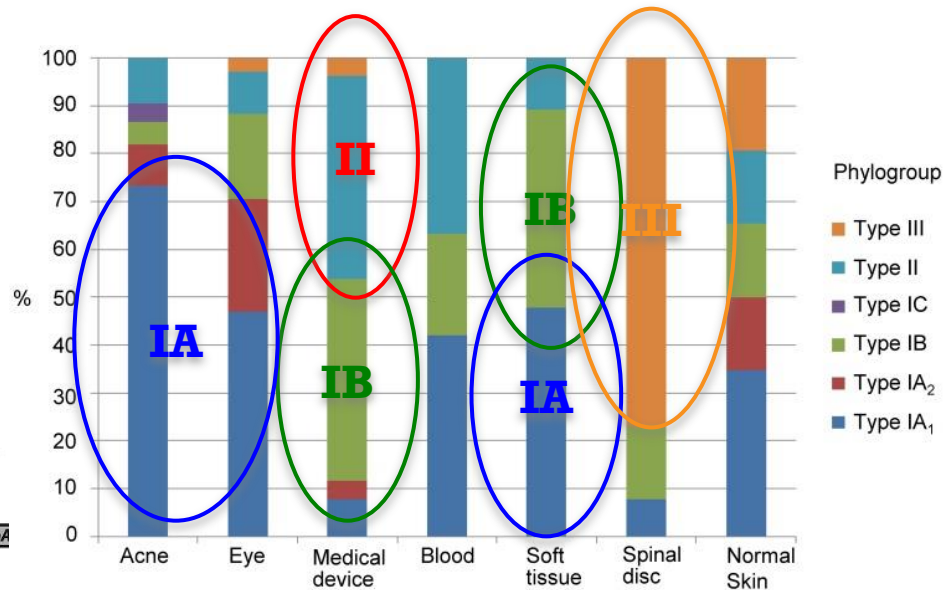


FIG 1 Map of the *P. acnes* genome with the location of the nine genes used in the Aarhus MLST scheme and seven genes used in the Belfast MLST scheme.

■ MLST₄: 6 groupes phylogénétiques (Phylotypes)



+ *C. acnes*, différents phylotypes:

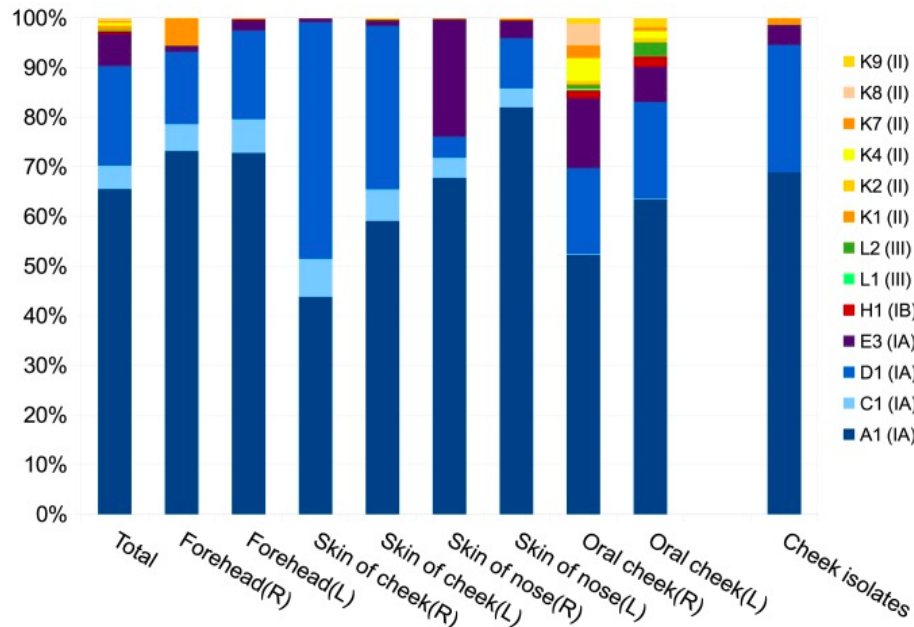
A Novel High-Resolution Single Locus Sequence Typing Scheme for Mixed Populations of *Propionibacterium acnes* *In Vivo*

Christian F. P. Scholz*, Anders Jensen, Hans B. Lomholt, Holger Brüggemann, Mogens Kilian

Multiplex Touchdown PCR for Rapid Typing of the Opportunistic Pathogen *Propionibacterium acnes*

Emma Barnard, István Nagy, [...], and Andrew McDowell

■ SLST:



16S rRNA
ATPase (IA₁, IA₂ & IC)
sodA (IA₂ & IB)

atpD (II)
recA (III) gène ménage
Gène toxique (IC)

TABLE 2 Multiplex PCR assay accuracy

Phylogroup ^a	No. of isolates/total no. that were ^b :		Sensitivity (%)	Specificity (%)
	Positive	Negative		
IA ₁	145/145	0/145	100	100
All others	0/216	216/216		
IA ₂	20/20	0/20	100	100
All others	0/341	341/341		
IB	65/65	0/65	100	100
All others	0/296	296/296		
IC	7/7	0/7	100	100
All others	0/354	354/354		
II	45/45	0/45	100	100
All others	0/316	316/316		
III	30/30	0/30	100	100
All others	0/331	331/331		

+ Phylotypes & pathologies humaines: Qu'en est-il des IOA?

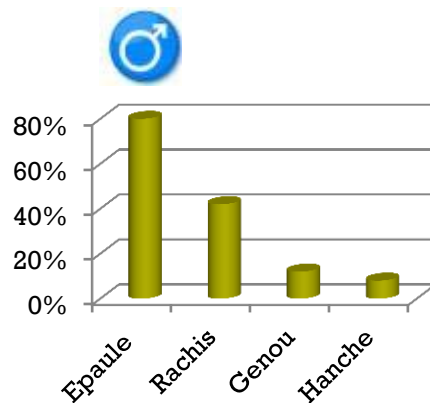
Species of *Propionibacterium* and *Propionibacterium acnes* phylotypes associated with orthopedic implants ☆

Marta Fernandez Sampedro^a, Kerryl E. Piper^a, Andrew McDowell^d, Sheila Patrick^d, Jayawant N. Mandrekar^b, Mark S. Rouse^a, James M. Steckelberg^a, Robin Patel^{a,c,*}

Diagnostic
Microbiology &
Infectious Disease

■ Objectifs:

- Association entre IOA avérée à *C.acnes* et phylotype?
- Association entre type de prothèse et phylotype de *C.acnes* ?



Cutibacterium acnes isolé d'un prélèvement ortho (n=61)

Infection sur matériel orthopédique (n=25)

- Prothèse purulente
- Inflammation dans tissus péri-prothétiques
- Fistule au contact du matériel
- ≥2 cultures per-op + & culture LS +

Infection à C.acnes certaine (n=24)
4 critères présents

Infection à C.acnes probable (n=1)
1 des 3 premiers critères
≥2 Cultures + OU LS +

Echec aseptique à C.acnes certain (n=30)
Absence de critères d'infections
Cultures - & LS +

Echec aseptique (n=36)
Absence de critères d'infection du prothèse

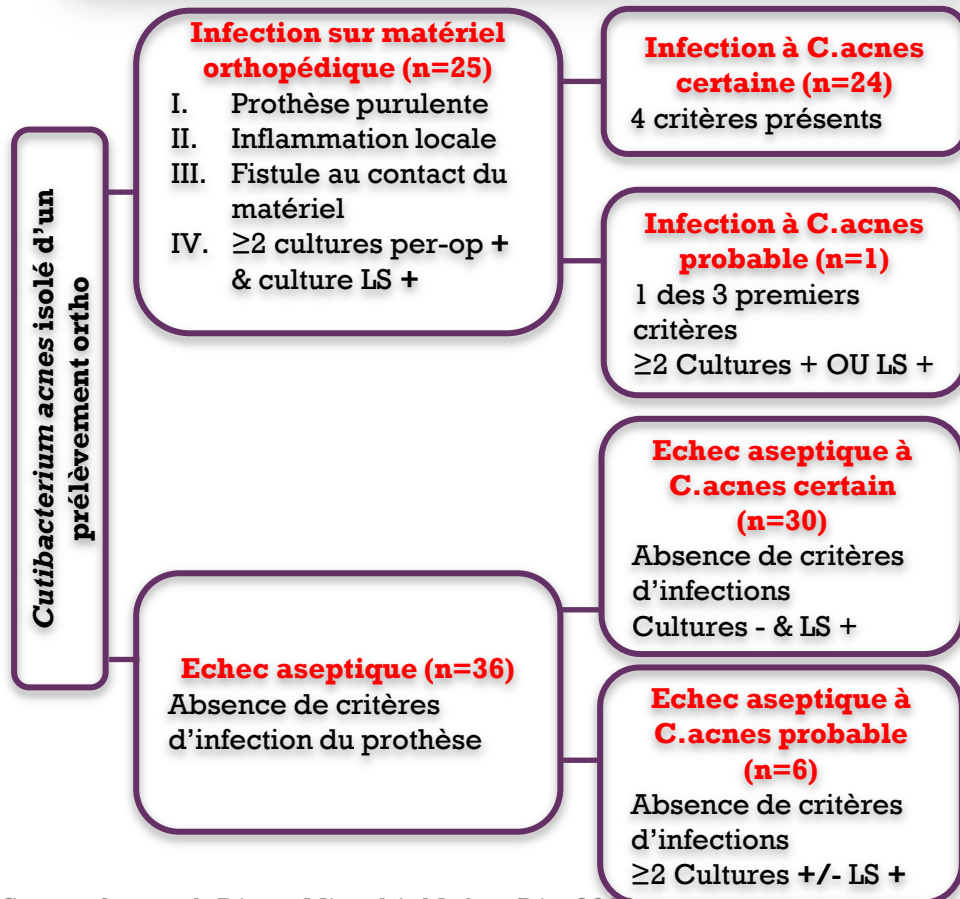
Echec aseptique à C.acnes probable (n=6)
Absence de critères d'infections
≥2 Cultures +/- LS +

+ Phylotypes & pathologies humaines: Qu'en est-il des IOA?

Species of *Propionibacterium* and *Propionibacterium acnes* phylotypes associated with orthopedic implants[☆]

Marta Fernandez Sampedro^a, Kerryl E. Piper^a, Andrew McDowell^d, Sheila Patrick^d,
Jayawant N. Mandrekar^b, Mark S. Rouse^a, James M. Steckelberg^a, Robin Patel^{a,c,*}

Diagnostic
Microbiology &
Infectious Disease



Distribution of *P. acnes* phylotypes I and II among orthopedic implant types

	Shoulder (n = 10)	Spine (n = 26)	Hip (n = 12)	Knee (n = 13)
Definite <i>P. acnes</i> orthopedic implant infection				
Type I	5 (5 IB)	8 (2 IA, 6 IB)	1 (1 IA)	1 (1 IB)
Type II	3	5	0	1
Probable <i>P. acnes</i> orthopedic implant infection				
Type I	1 (1 IA)	0	0	0
Type II	0	0	0	0
Probable <i>P. acnes</i> aseptic failure				
Type I	0	2 (2 IB)	0	0
Type II	0	2	1	0
Definite <i>P. acnes</i> orthopedic aseptic failure				
Type I	0	7 (3 IA, 4 IB)	5 (3 IA, 2 IB)	8 (4 IA, 4 IB)
Type II	1	2	5	3

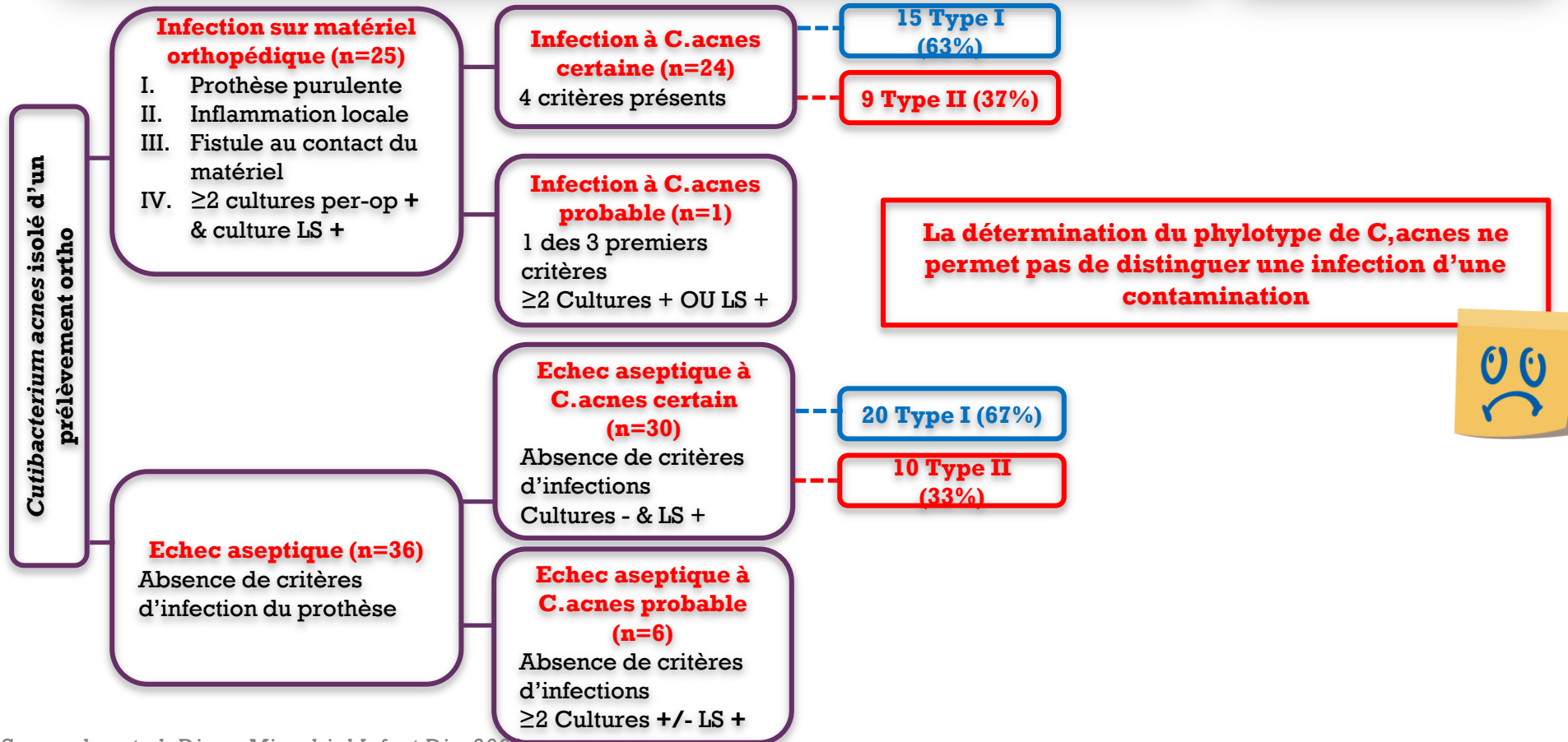
Pas d'association entre type de prothèse & phylotype de C. acnes

+ Phylotypes & pathologies humaines: Qu'en est-il des IOA?

Species of *Propionibacterium* and *Propionibacterium acnes* phylotypes associated with orthopedic implants[☆]

Marta Fernandez Sampedro^a, Kerryl E. Piper^a, Andrew McDowell^d, Sheila Patrick^d, Jayawant N. Mandrekar^b, Mark S. Rouse^a, James M. Steckelberg^a, Robin Patel^{a,c,*}

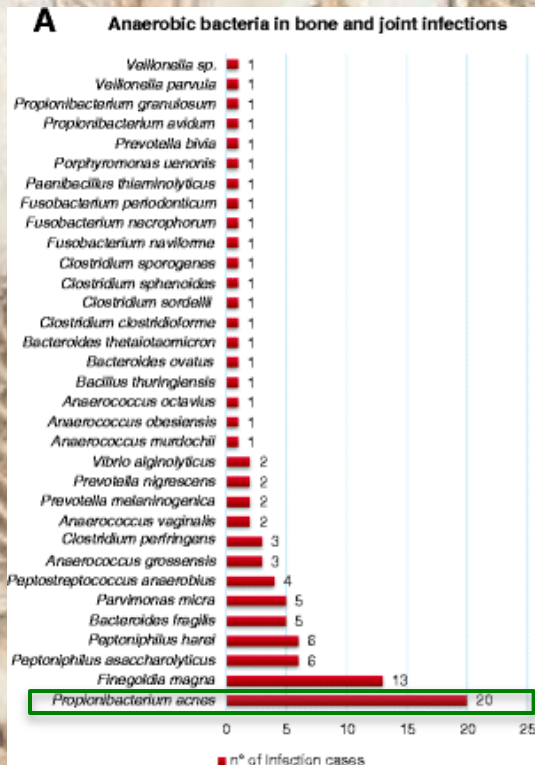
Diagnostic
Microbiology &
Infectious Disease



+ Phylotypes & pathologies humaines: Qu'en est-il des IOA?

■ Etiologies 1*:

- Staphylocoques (50%)
- Streptocoques (10%)
- Entérocoques (10%)
- BGN (10%)
- Cutibacterium acnes (10%)



Prévalence des IP épaule =
0,9 à 1,9% (Après une 1ère chirurgie)

Propionibacterium acnes colonization of the human shoulder

Amar Patel, MD^a, Ryan P. Calfee, MD^b, Matthew Plante, MD^a, Staci A. Fischer, MD^c, Andrew Green, MD^{a,*}

Table III *Propionibacterium acnes* prevalence by site

Site	Prevalence		
	Total	Among men	Among women
Anterior acromion	0.5	0.8	0.2
Posterior acromion	0.45	0.7	0.2
Axilla	0.4	0.5	0.3
Hip	0.15	0.1	0.2
Knee	0.05	0.0	0.1



+ *C.acnes*, différents phylotypes:

IA1 = Acné

IB & II = Infections sur prothèses

Phylotype ^{18,19}	recA Type	Ribotype ^{18,19}	MLST ₄ ¹⁷	MLST ₂₀₁₀ ⁷
IA-1	IA	1 None	IA ₁ (CC1) Acne	I-1a (CC18) Acne
IA-2	IA	1 None	IA ₁ (CC3) Acne	I-1a (CC3) Acne
IA-2	IA	4,5 Acne	IA ₁ (CC3) Acne	I-1a (CC3) Acne
IB-1	IB	8 Acne	IA ₁ (CC4) Acne	I-1b None
IB-2	IB	3 None	IA ₂ Eye	I-1a (CC28) Acne
IB-3	IB	1 None	IB Med. Device, Tissue	I-2 None
IC	IA	5 Acne	IC Acne	N/A
II	II	2 None	II Med. Device, Blood	II None
II	II	6 Healthy Skin	II (ST7) Med. Device, Blood	II None
III	III	N/A	III Healthy Skin, Spinal Disc	N/A

Clonal Complex (CC) and Sequence Type (ST) designations are provided for reference, and were not assessed for disease association.

+ Pouvoir pathogène: Facteurs de virulence

Invasion du tissu hôte



Adhérence cellulaire



Inflammation



Biofilm



+ Pouvoir pathogène: Facteurs de virulence



Invasion du tissu hôte

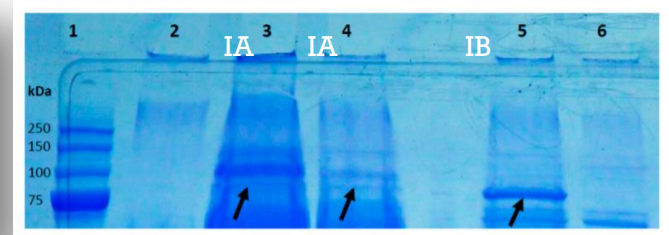
Dégradation du tissu de l'hôte :

- **Hyaluronate lyase** : facteur de dispersion dans les tissus + acquisition de nutriments

The Skin Bacterium *Propionibacterium acnes* Employs Two Variants of Hyaluronate Lyase with Distinct Properties

Seven Nazipi¹, Kristian Stødkilde¹, Carsten Scavenius² and Holger Brüggemann^{1,*}

Microorganisms. 2017



2 variants

HYL/IB et II : activité enzymatique active => dégradation complète

HYL/IA : activité enzymatique faible

+ Pouvoir pathogène: Facteurs de virulence:

Invasion du tissu hôte

- Enzymes:
 - Sialidases
 - Lipases
 - Endoglycocéraminidases
 - Peptidases extracellulaires

- **Facteur CAMP :**
 - Effet cytotoxique sur les macrophages et kératinocytes
 - => responsable de souches hémolytiques

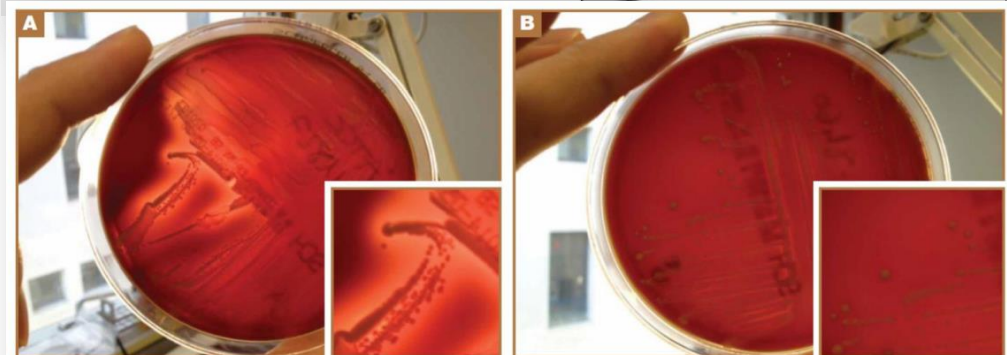
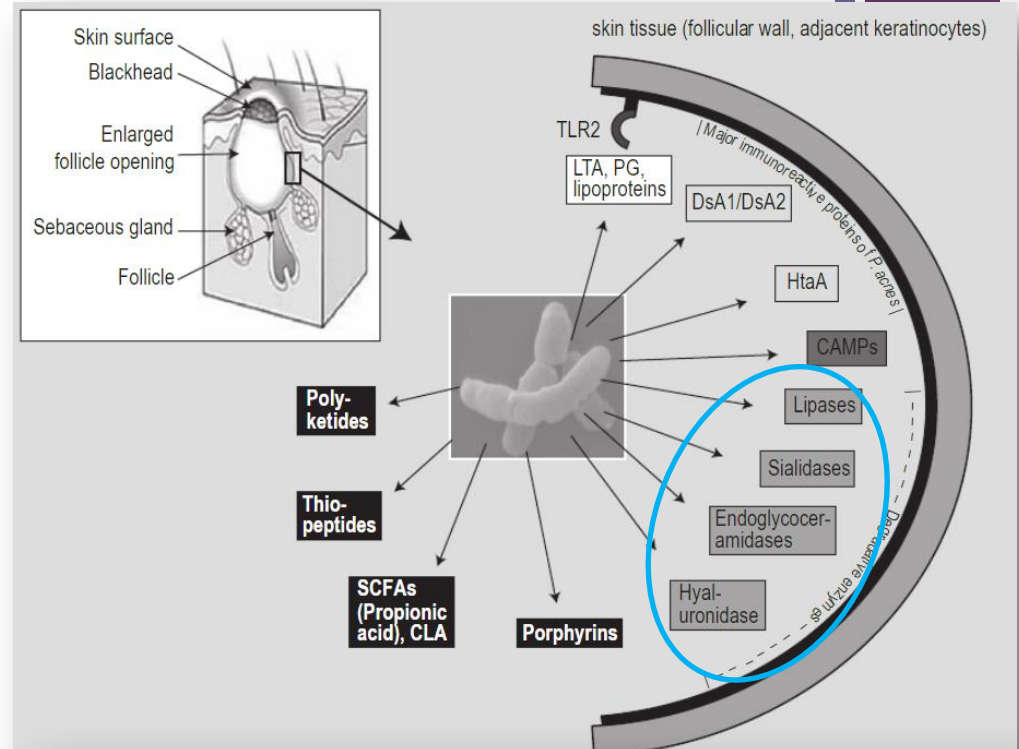


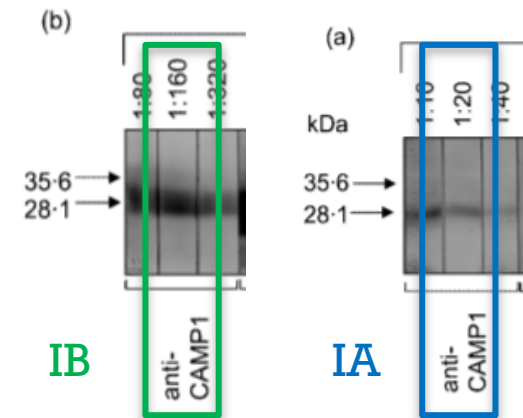
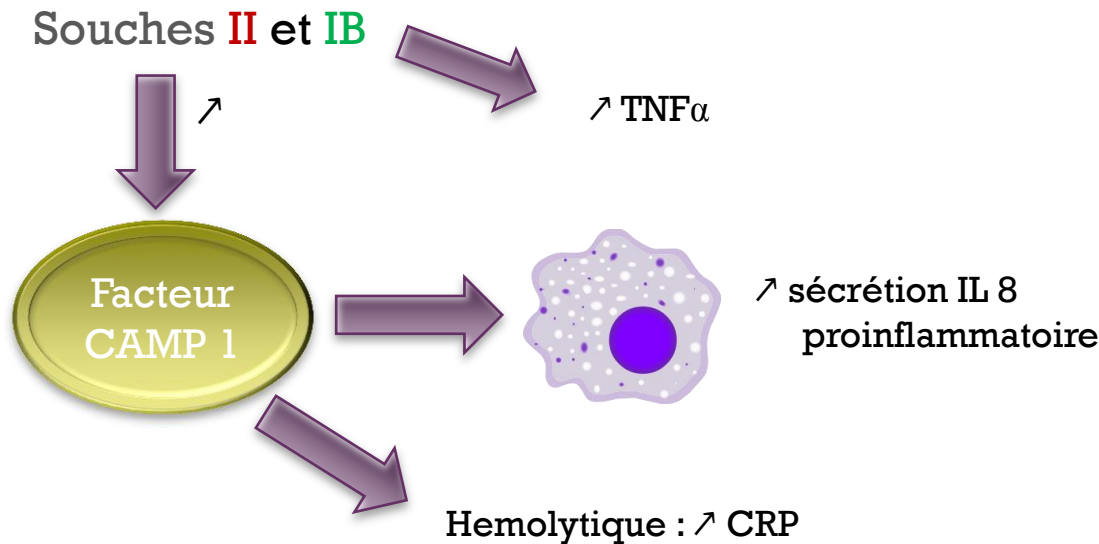
Figure. (A) Hemolytic and (B) nonhemolytic strains of *Propionibacterium acnes* belonging to genetic phylogroup (A) IA or IB and (B) II or III.

+ Pouvoir pathogène: Facteurs de virulence

Inflammation

Réponse innée immunitaire:

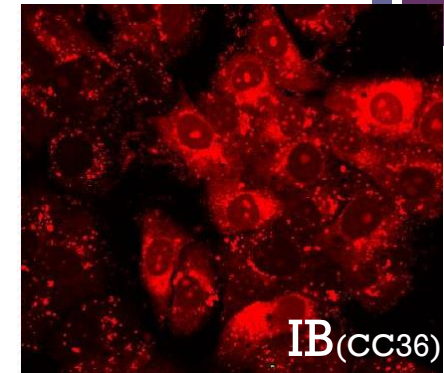
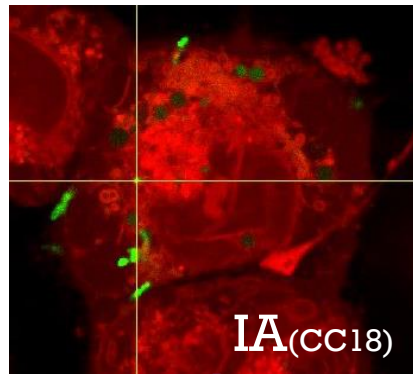
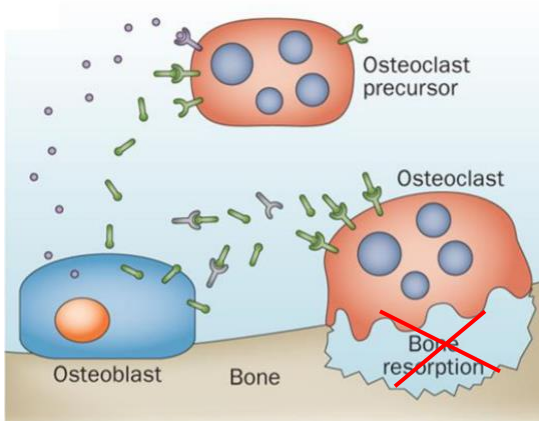
- voie des TLR
- activation des inflammasomes
- production de métalloprotéinases de matrice
- interactions avec des peptides antimicrobiens



+ Facteurs de virulence

■ Interactions bactérie-cellules osseuses

Adhérence cellulaire



Protection contre le système immunitaire/ATB

Facteur de propagation

Interaction of *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) *acnes* with bone cells: a step toward understanding bone and joint infection development

SCIENTIFIC REPORTS

2017

Guillaume Ghislain Aubin, Marc Baud'huin, Jean-Philippe Lavigne, Régis Brion, François Gouin,

Perturbation remodelage osseux

- Diminution de la capacité de résorption des ostéoclastes



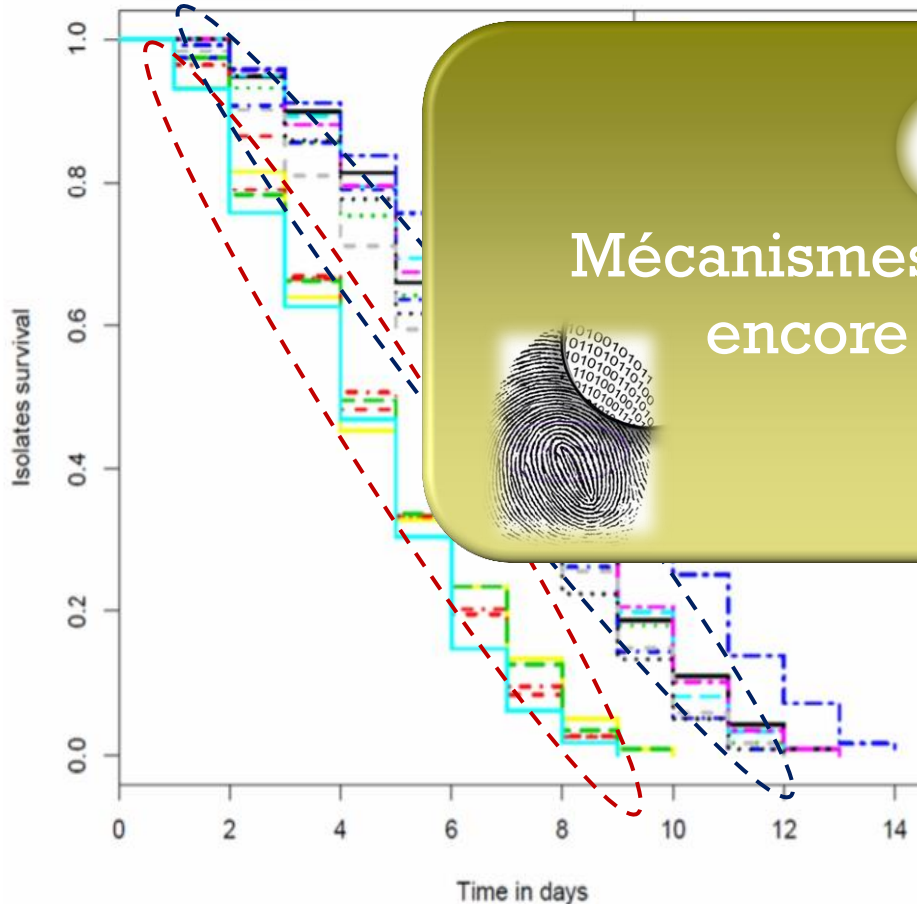
Tropism and virulence of *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) *acnes* involved in implant-associated infection

2017





Guillaume Ghislain Aubin ^{a, b}, Jean-Philippe Lavigne ^{c, d}, Yohan Foucher ^e, Sarah Dellière ^b, Didier Lepelletier ^{b, f},

Etude de la pathogénicité de *C.*



?

Mécanismes de virulence encore inconnus

perhabditis



louches cliniques

n : 4 j



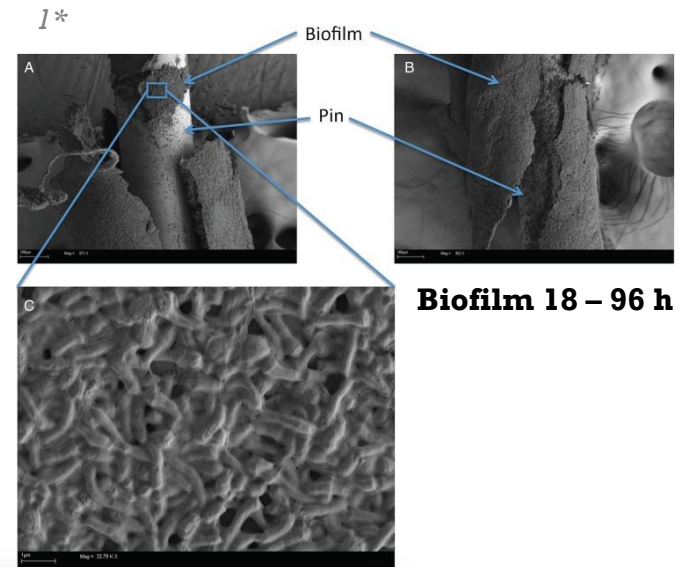
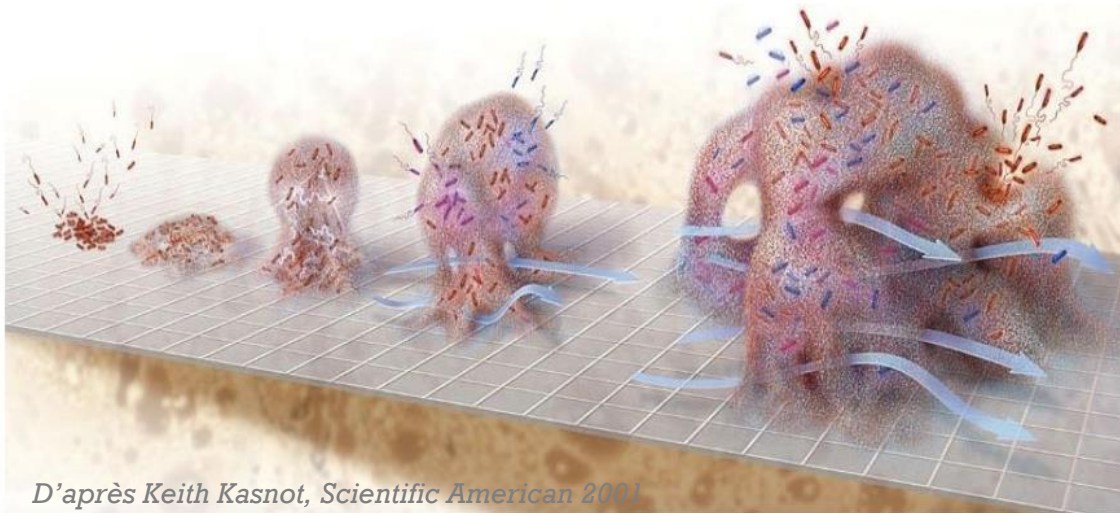
■  décès médian : 6.9 j

2 variants de virulence indépendants du phylotype

+ Pouvoir pathogène: Le biofilm

■ Biofilm:

- Microbes, glycocalyx & surface (Dunne; 2002)



Transcriptomic analysis of *Propionibacterium acnes* biofilms *in vitro*

Anika C. Jahns, Hinnerk Eilers, Oleg A. Alexeyev*

Department of Medical Biosciences/Pathology, Umeå University, Umeå S-90185, Sweden

- MEC: ADN, protéines et résidus glycosylés
- Modification du métabolisme : sous expression gènes (paroi, division, réplication)

+ Pouvoir pathogène: Le biofilm

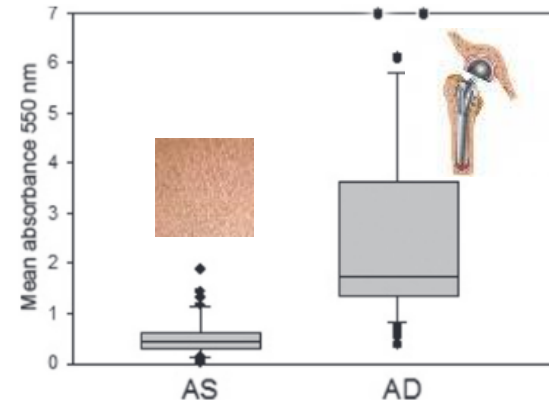
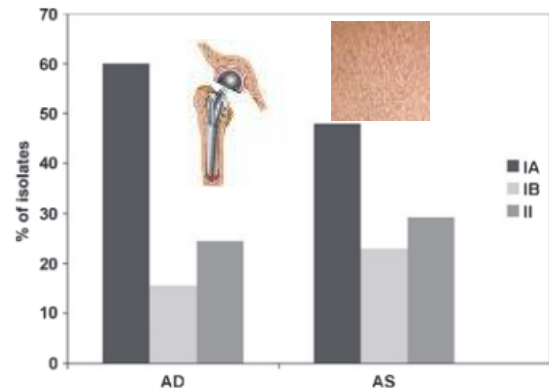
Biofilm formation by *Propionibacterium acnes* is a characteristic of invasive isolates

A. Holmberg¹, R. Lood¹, M. Mörgelin¹, B. Söderquist², E. Holst³, M. Collin¹, B. Christensson¹ and M. Rasmussen¹

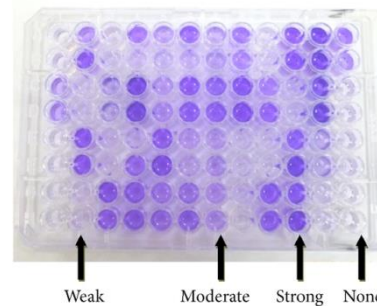
Comparative analyses of biofilm formation among different *Cutibacterium acnes* isolates

Torben Kuehnast^a, Fatih Cakar^a, Theresa Weinhäupl^b, Andreas Pilz^b, Sanja Selak^b, M. Alexander Schmidt^c, Christian Rüter^c, Stefan Schild^{a,d,*}

Souches invasives (implant) vs. Souches cutanées (peau saine)

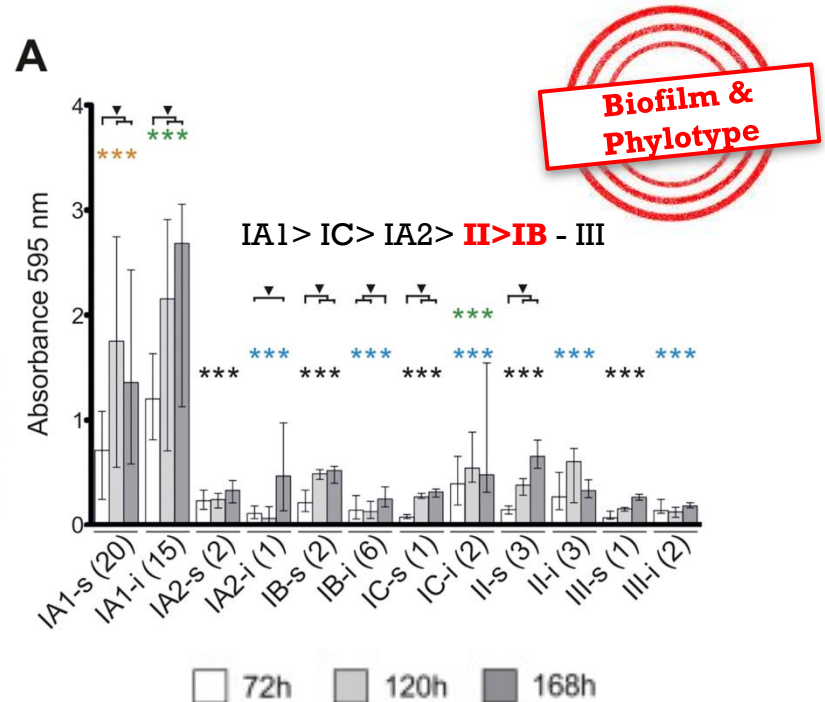


Biofilm & localisation

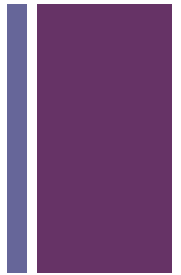


Souches invasives (implant) vs. Souches cutanées (peau saine/acné)

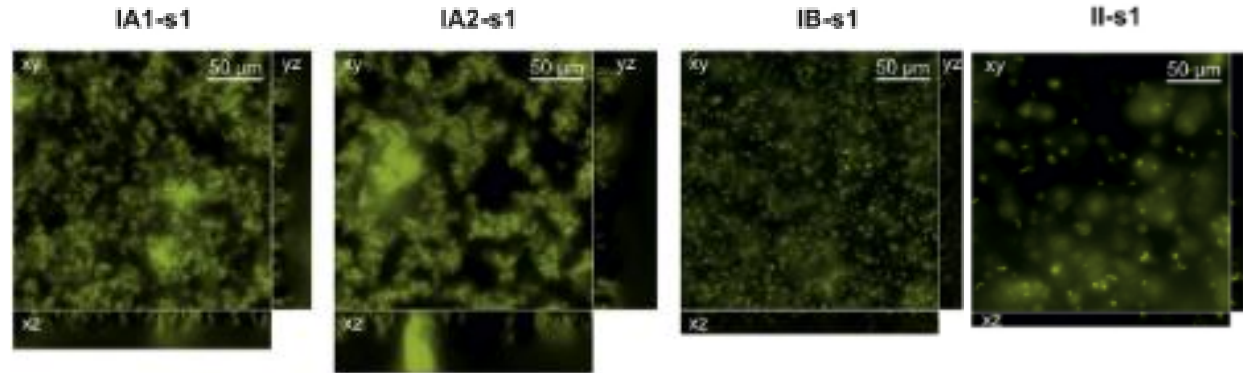
A



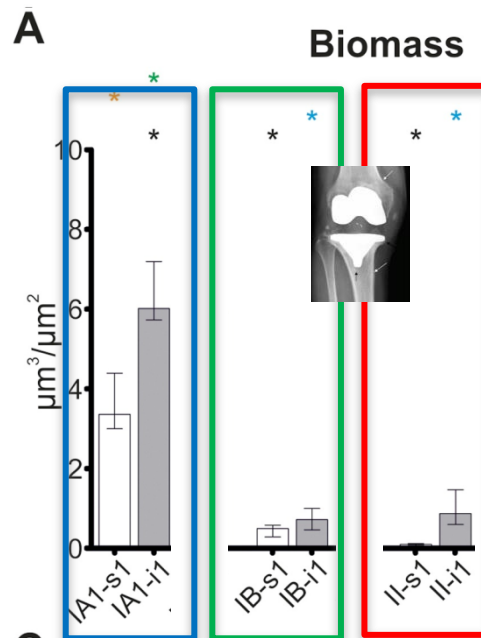
+ Pouvoir pathogène: Le biofilm



**La Structure du biofilm variable
en fonction du phylotype**

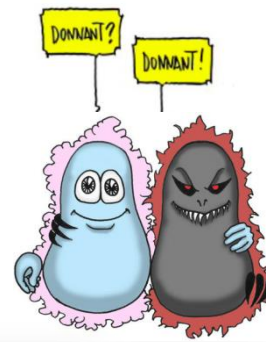


**Capacité de formation de biofilm
: plus importante chez les
souches provenant d'implants**



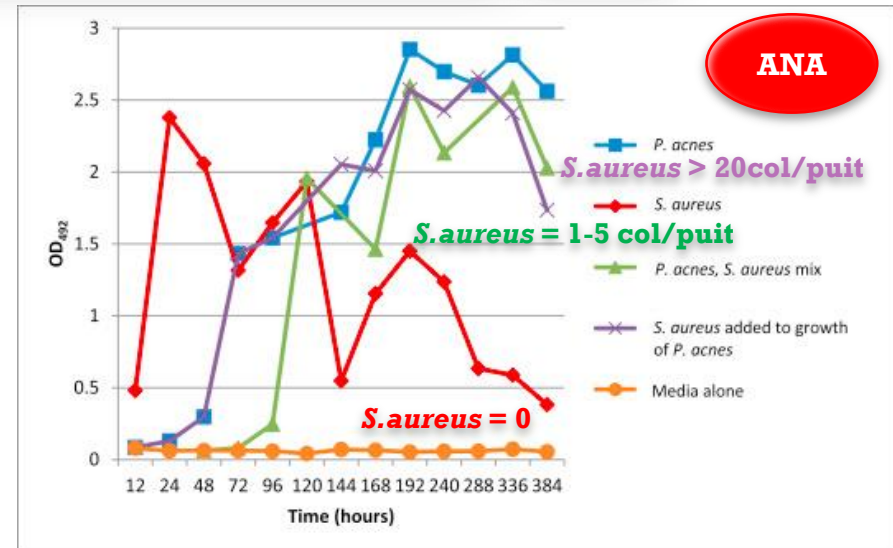
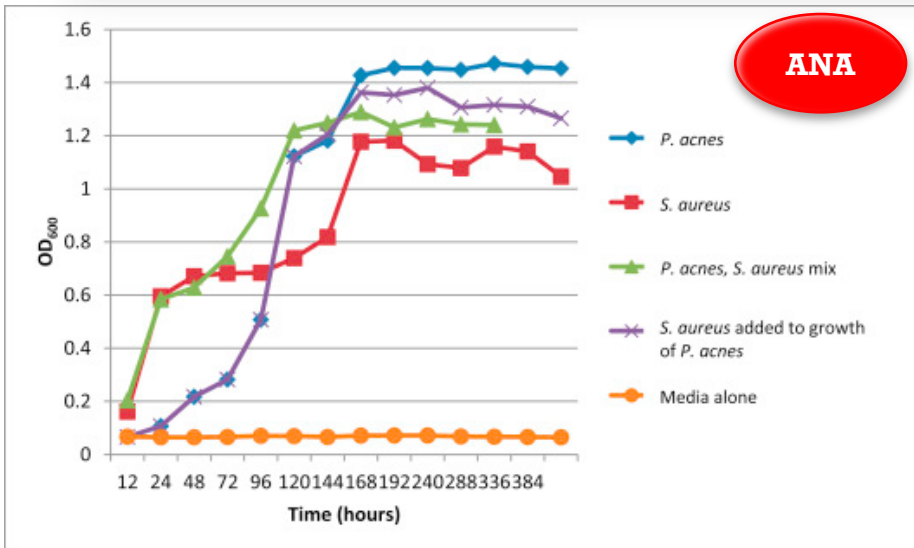
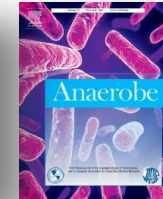


Les co-infections :



Propionibacterium acnes biofilm – A sanctuary for *Staphylococcus aureus*?

Harmony Tyner ^a, Robin Patel ^{a, b, *}



■ Croissance des bactéries planctoniques

■ Formation du biofilm

Le *C. acnes* favorise la croissance et la survie du *S. aureus* au sein du biofilm



C.acnes, infection ou contamination?

Propionibacterium acnes: Disease-Causing Agent or Common Contaminant? Detection in Diverse Patient Samples by Next-Generation Sequencing

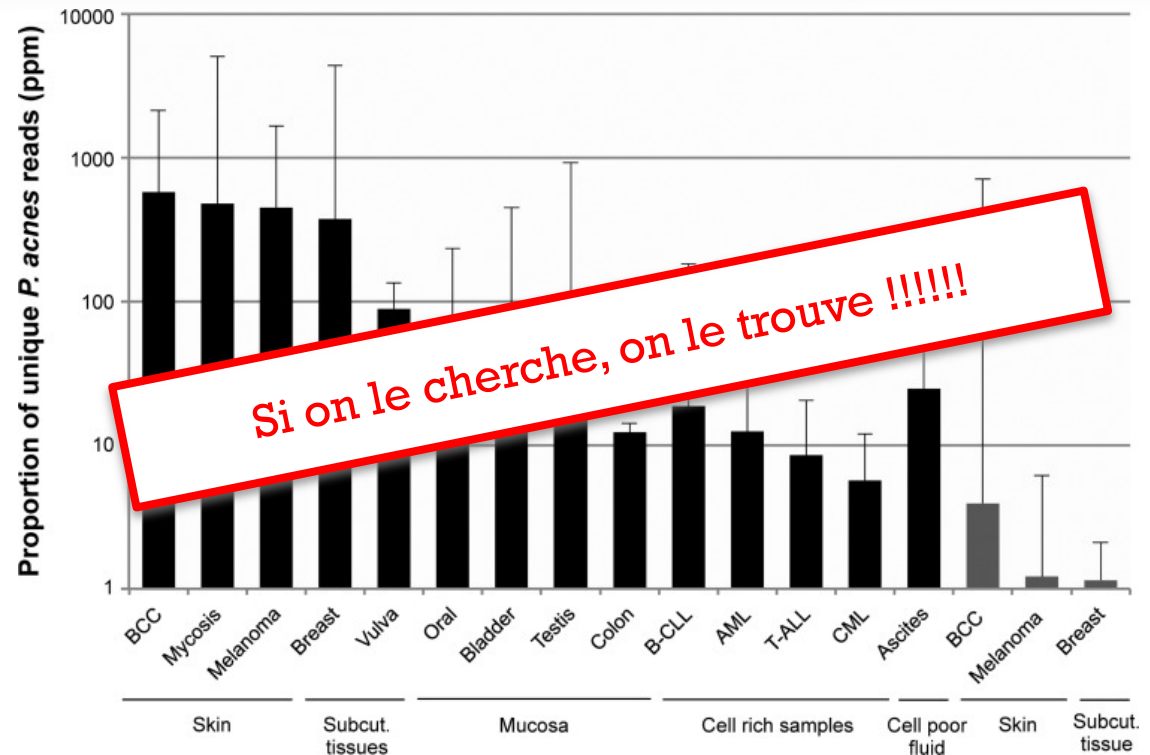
Sarah Mollerup,^a Jens Friis-Nielsen,^b Lasse Vinner,^a Thomas Arn Hansen,^a Stine Raith Richter,^a Helena Fridholm,^a Jose Alejandro Romero Herrera,^b Ole Lund,^b Søren Brunak,^{b,c} Jose M. G. Izarzugaza,^b Tobias Mourier,^a Lars Peter Nielsen,^d Anders Johannes Hansen^a



AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY

Journal of Clinical Microbiology

- 180 prélèvements (20 types)
 - Origines cancéreuse
- Recherche DNA *C.acnes* par NGS

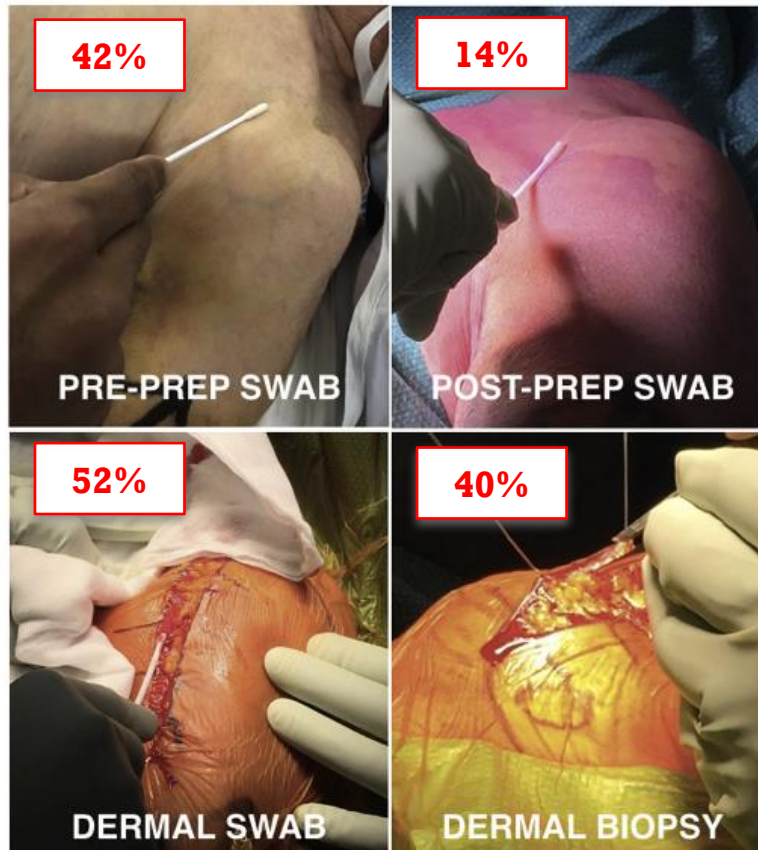


Si on le cherche, on le trouve !!!!!



Frequent isolation of *Propionibacterium acnes* from the shoulder dermis despite skin preparation and prophylactic antibiotics

Joideep Phadnis, FRCS (Tr&Orth)^{a,*}, David Gordon, FRACP, FRCPA^c,
Jeganath Krishnan, FRACS, PhD^{b,d}, Gregory Ian Bain, FRACS, PhD^b



Persistence du *C. acnes* dans les glandes sébacées après décontamination

Ensemencement lors de l'incision



C. acnes, et IOA :

Orthopedic implant-associated infections caused by *Cutibacterium* spp. – A remaining diagnostic challenge



2018

Nora Renz, Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Project administration,

■ Caractérisation d'une IOA à *C. acnes*

Temps moyen d'infections : 15.7 mois

Douleurs persistantes + Inflammation

CRP et leucocytes quasi normaux

Characteristic	All patients (n = 121)
Median time from implantation to onset of infection in months	15.7 (IQR, 5–46.5)
Type of infection according to onset of infection after implantation	
Early (<3 months)	20/115 (17%)
Delayed (3–24 months)	49/115 (43%)
Late (>24 months)	46/115 (40%)
Clinical findings	
Persistent or increasing pain at joint site	86/103 (80%)
Local signs of inflammation ^a	30/108 (28%)
Sinus tract	9/108 (8%)
Fever (>38°C) at admission	1 (1%)
Radiological findings	
Migration or loosening of the implant	64/101 (63%)
Insufficient bone consolidation ^b	-
Heterotopic ossifications	-
Laboratory findings at admission	
Median serum C-reactive protein in mg/l	7.5 (IQR 2.4–32.2)
Median blood white cell count in G/l	7.9 (IQR 6.4–9.4)

+ Diagnostic biologique : tout commence par ...

■ Un bon prélèvement :

- A distance de toute antibiothérapie (>15j)
- Faire des prélèvement osseux **étagés** au nombre de 4; réalisés au bloc opératoire
- Liquide articulaire ponctionné en radiologie ou dans un service médico-chirurgical



Changer d'instrument à chaque prélèvement

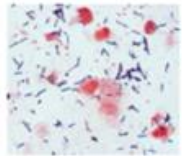


+ Diagnostic biologique :



Localisation du site et nature de chaque prélèvement

Culture (24-48h)



Examen Direct
(qq hrs)

Automate
Hémoculture

Cultures
divers milieux

Identification et Antibiogramme (48-72h)

Id. Phénotypique



Id. Protéomique



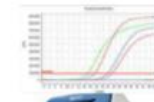
MALDI-TOF



Lecture automatisée

Diagnostic moléculaire

Amplification ADN

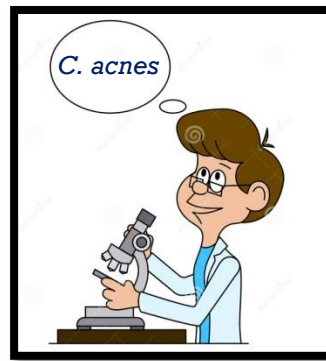


PCR temps réelle

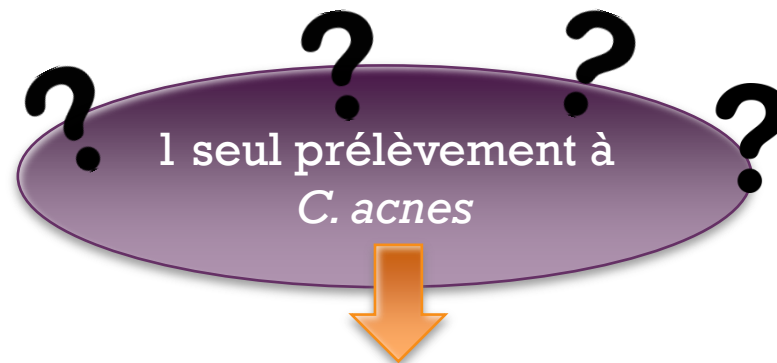


Sequençage
(Sanger)

+ Interprétation

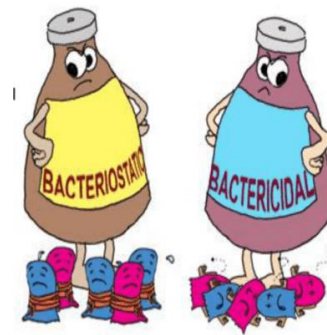


- ≥ 2 prélèvements positifs en culture (préop et/ou perop) avec la même souche bactérienne => **infection certaine**
- 1 prélèvement positif avec une espèce virulente (*S. aureus*) => **infection probable**
- 1 prélèvement positif avec une espèce commensale = **infection suspecte non prouvée** ex : *C. acnes*

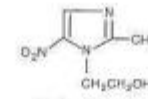


Toujours multiplier les prélèvements pour l'aide à l'interprétation

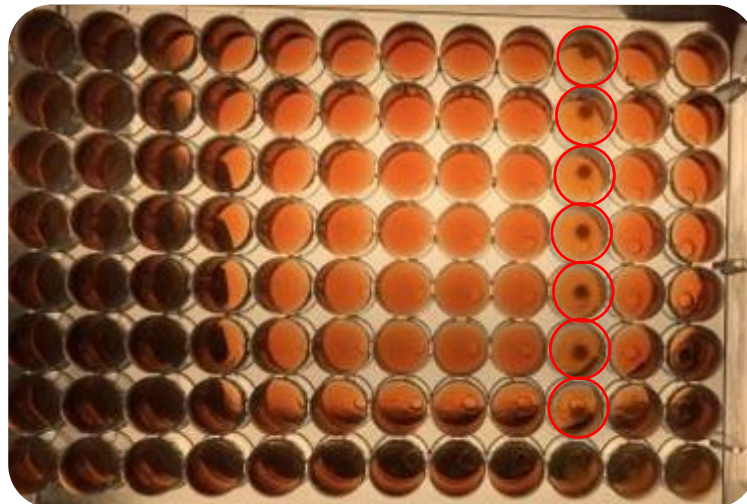
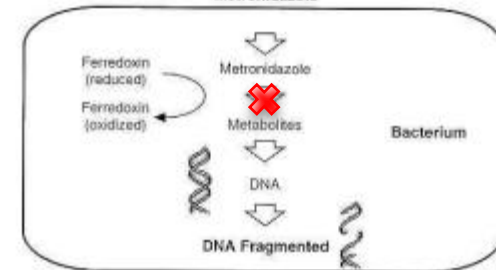
+ Antibiogramme de *C. acnes*:



■ Résistance naturelle au MTZ



Metronidazole



Plaque sensititre de *C. acnes*

■ Sensibilités:

- β -lactamines (Amoxicilline)
- Macrolides (Clindamycine)
- Fluoroquinolones (Cipro/Moxifloxacine)
- Rifampicine

+ Résistances acquises

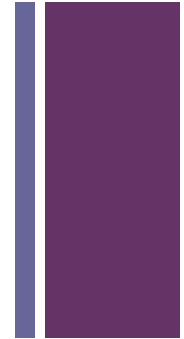
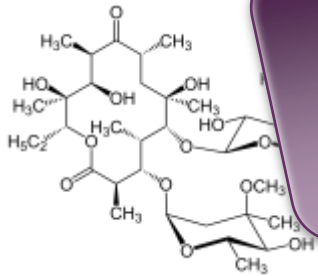


Table 1. Worldwide prevalence of antibiotic resistance in acne.

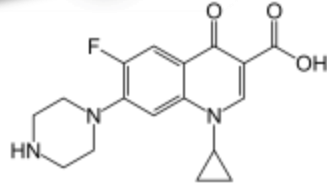
Study (year)	Location	Prevalence of antibiotic resistance to <i>Propionibacterium acnes</i> (% of isolates)								
		ERY	CL	AZI	TET	DOX	MINO	LEVO	NAD	TMP/SX
Oprica et al. (2005)	Europe	17.1	15.1	2.61						-
Dumont-Wallon et al. (2010)	France	75.1	-	-	9.5	9.5				-

Qu'en est-il des souches responsables IOA ?



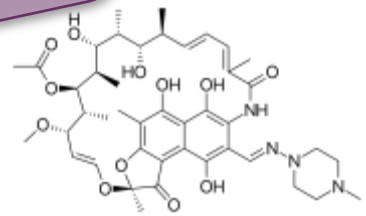
Macrolide

Mutation domaine V de l'ARN23S
Erm (X) => méthylation ARN23S



Fluoroquinolone

Mutation gène GyrA



Rifampicine

Mutation gène rpoB

... 2015 Jul



Sensibilité et IOA

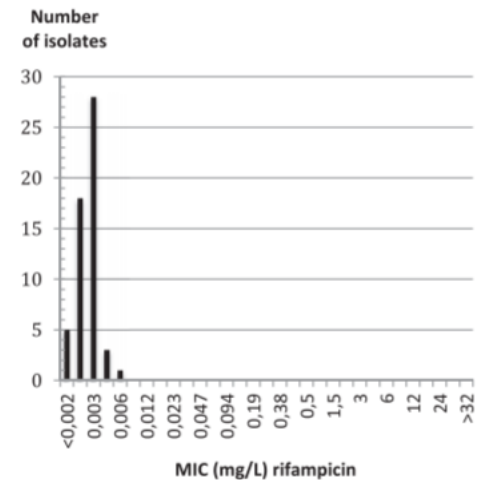
Antibiotic susceptibility of *Propionibacterium acnes* isolated from orthopaedic implant-associated infections

2015



Jasmine Khasseba^{a, b}, Bengt Hellmark^b, Sabina Davidsson^{a, c}, Magnus Unemo^b,

- Etude de la sensibilité aux ATB des souches de *C.acnes* isolées d'IOA
 - CMI très basses pour l'ensemble des souches aux β -lactamines, rifampicine
 - Baisse de sensibilité pour la clindamycine (9%)
moxifloxacine (2%) et doxycycline (2%)



+ Take home message :

Germe pas si anodin

- Grand colonisateur
- Germe à croissance lente
- Faible virulence
- Clinique insidieuse
- Antibiogramme non contributif



*Don't
forget*

Travaux actifs de recherche



Merci de votre attention