

BEST OF BACTERIOLOGIE

Pascale Bémer, CHU de Nantes



Diagnostic Value of 16S Ribosomal RNA Gene Polymerase Chain Reaction/Sanger Sequencing in Clinical Practice

Madiha Fida,^{1,2,a} Sarwat Khalil,^{1,3,a} Omar Abu Saleh,^{1,c} Douglas W. Challener,¹ Muhammad Rizwan Sohail,^{1,4} Joshua N. Yang,² Bobbi S. Pritt,² Audrey N. Schuetz,² and Robin Patel^{1,2}

- Revue rétrospective d'avril 2017 à mars 2019, Mayo Clinique
- Prélèvements avec PCR séquençage ARN 16S (PCR 16S)
- 566 prélèvements (460 patients):
 - Système musculo-squelettique (MSQ) 69%
 - Système nerveux central 8%, système cardio-vasculaire (CV) 7%, peau/tissus mous 4%
- Patients classés
 - Comme infectés (résolution des symptômes sous tt antibiotique)
 - Ou non-infectés (diagnostic final de non-infection sans traitement antibiotique)
- Impact de la PCR 16S sur la prise en charge mesuré par
 - L'escalade ou la désescalade, l'initiation ou l'arrêt de l'antibiothérapie

Diagnostic final
d'infection
54% (303/566)

CULT POS
33% (99/303)

PCR 16S ET CULT POS
18% (53/303)

PCR 16S POS-CULT
NEG
10% (30/303)

PCR 16S NEG-CULT
POS
15% (46/303)

PCR 16S ET CULT NEG
53% (159/303)

Concordance 74%

- STACN-Corynébactéries-Micrococcus
- Inf polymicrobiennes

Résultats en fonction de l'origine des prélèvements

Nature des prélèvements

Diagnostic d'infection

Sensibilité de la culture > système MSQ

Sensibilité de la PCR 16S > système CV

Antibiothérapie préalable

Characteristic	Musculoskeletal (n = 391)	Cardiovascular (n = 41)
Specimen source	Synovial fluid, 50%; periprosthetic joint tissue, 18%; native joint tissue, 8%; bone 4%; spine, 10%; hardware sonicate fluid, 2%; other, 9%	Heart valve, 66%; aortic graft, 15%; other, 20%
Specimen type, (%)		
Fluid	50	5 ^a
Tissue	50	95
Clinically diagnosed infectious syndrome, (%)	52	66
Culture positivity rate, no. positive/total (%)		
Infected	84/204 (41)	2/27 (7)
Uninfected	5/182 (3)	0/14 (0)
Total	89/386 (23) ^a	2/41 (5)
PCR positivity rate, no. positive/total (%)		
Infected	60/202 (30)	10/27 (37)
Uninfected	5/182 (3)	0/14 (0)
Total	65/384 (17)	10/41 (24)
Prior antibiotics, no./total (%)		
Infected	88/206 (43)	19/27 (70)
Uninfected	21/185 (11)	5/14 (36)
Total	109/391(28)	24/41 (59)

Impact de la PCR 16S sur la prise en charge des patients

- 31 patients (5%)
- Plutôt quand la PCR est positive <.001
- Plutôt pour des prélèvements cardio-vasculaires
- Désescalade ou arrêt des ATB pour 8 (1,7%) patients PCR-négative

- MSQ : modifications dans 16/390 (4%)
 - 12/205 (6%) des patients infectés
 - 4/185 (2%) des patients non-infectés

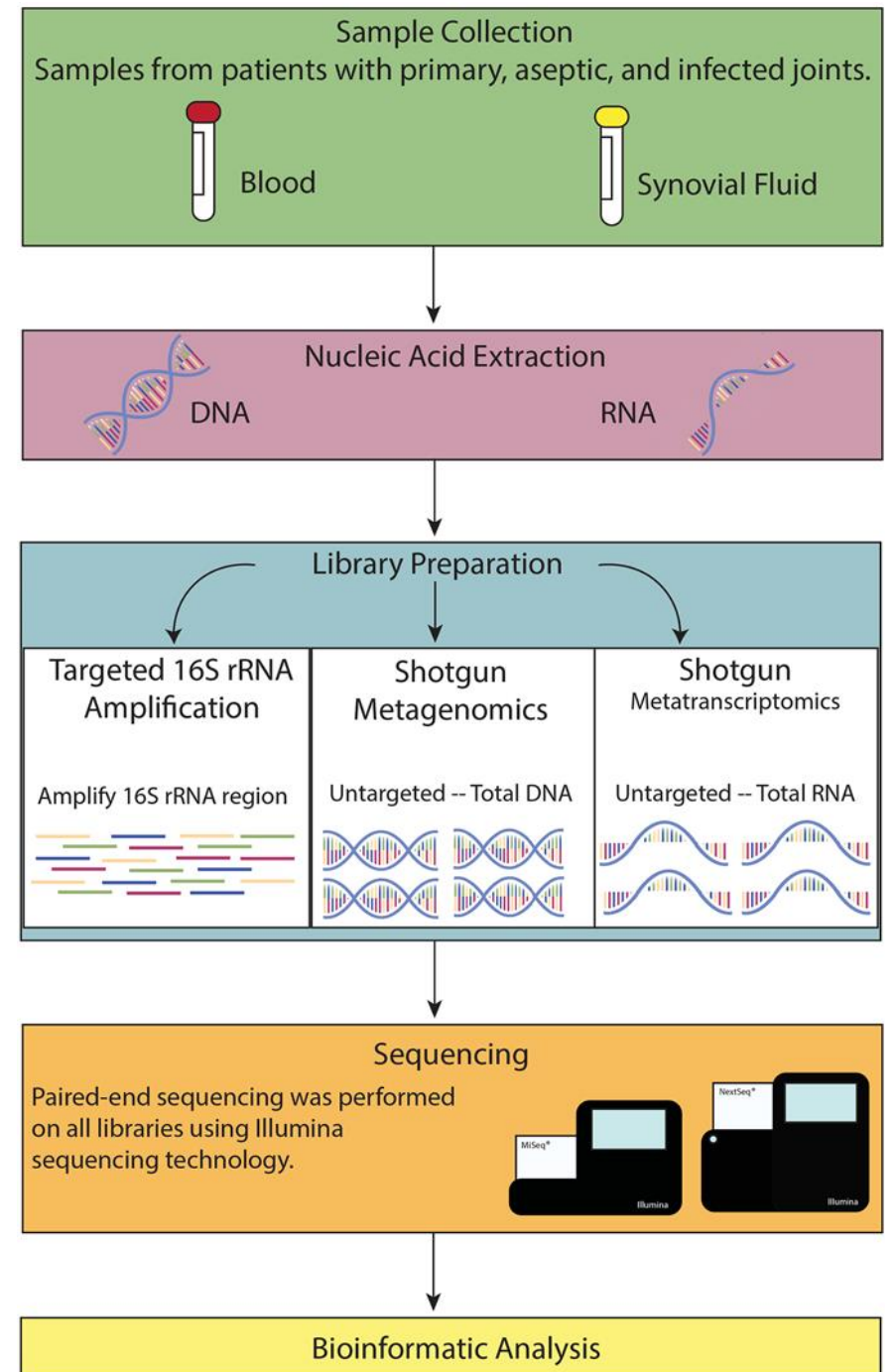
Characteristic	Specimens, No. (%) ^a		P Value
	PCR Positive (n = 97)	PCR Negative (n = 459)	
Impact on clinical care	23 (24)	8 (1.7)	<.001
Changes in therapy			
Escalation	6 (6)	0	...
De-escalation	11 (11)	3 (0.6)	
Initiation	6 (6)	0	
Discontinuation	0	5 (1)	



OPEN Comparative meta-omics for identifying pathogens associated with prosthetic joint infection

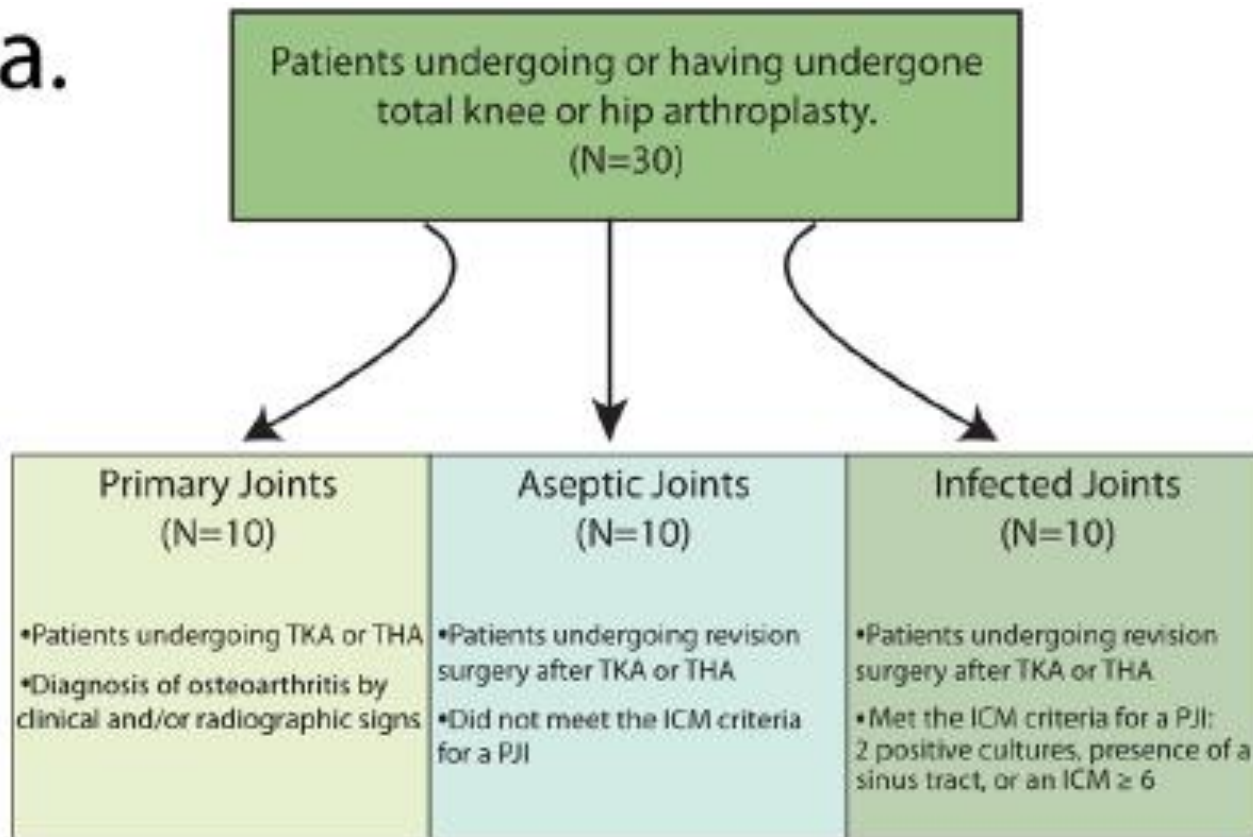
Karan Goswami^{1,3}, Alexander J. Shope^{1,2,3}, Vasily Tokarev^{2,3}, Justin R. Wright^{2,3}, Lavinia V. Unverdorben², Truc Ly², Jeremy Chen See², Christopher J. McLimans², Hoi Tong Wong², Lauren Lock², Samuel Clarkson¹, Javad Parvizi¹ & Regina Lamendella²

- PCR 16S : PCR ciblée
 - Séquençage d'une région déterminée
- Méthodes non-ciblées, séquençage aléatoire
 - Métagénomique : ADN
 - Présence de gènes sans notion d'expression génique
 - Métatranscriptomique : ARN
 - Expression des gènes
 - Expression de la virulence, de l'antibiorésistance



Sélection des patients

a.



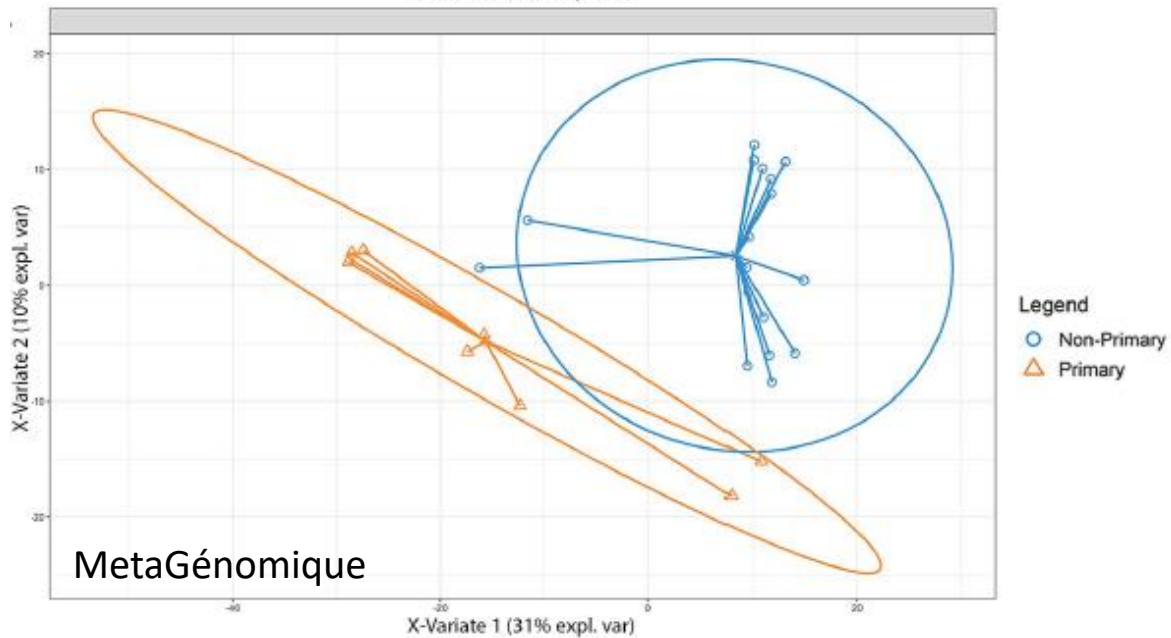
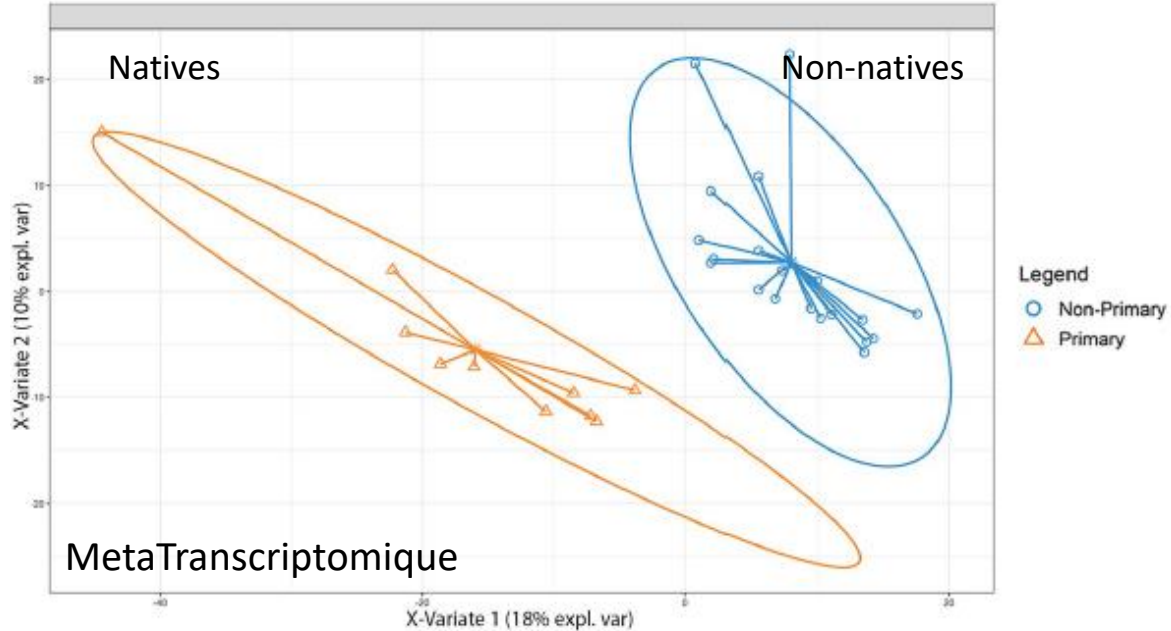
Major criteria (at least one of the following)	Decision
Two positive growth of the same organism using standard culture methods	Infected
Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis	

Minor Criteria	Threshold		Score	Decision
	Acute [¶]	Chronic		
Serum CRP (mg/L)	100	10	2	Combined preoperative and postoperative score: ≥ 6 Infected 3-5 Inconclusive* <3 Not Infected
<i>or</i> D-Dimer (ug/L)	Unknown	860		
Elevated Serum ESR (mm/hr)	No role	30	1	
Elevated Synovial WBC (cells/ μ L)	10,000	3,000	3	
<i>or</i> Leukocyte Esterase	++	++		
<i>or</i> Positive Alpha-defensin (signal/cutoff)	1.0	1.0		
Elevated Synovial PMN (%)	90	70	2	
Single Positive Culture			2	
Positive Histology			3	
Positive Intraoperative Purulence [‡]			3	

[¶] These criteria were never validated on acute infections. [‡] No role in suspected adverse local tissue reaction. *Consider further molecular diagnostics such as Next-Generation Sequencing

Fig. 1. Proposed 2018 ICM criteria for PJI

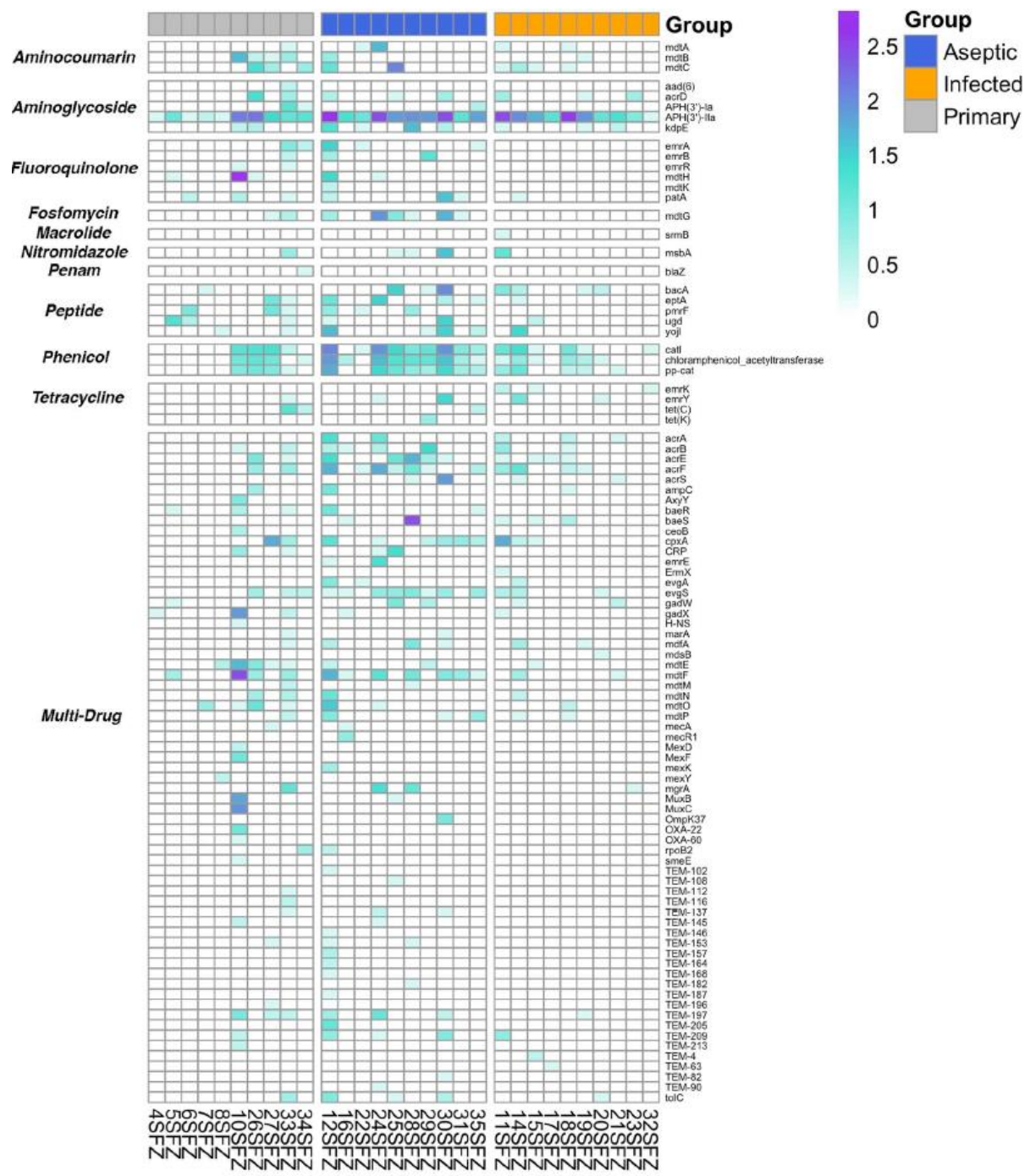
Beta-diversité du microbiote synovial



- Communautés microbiennes distinctes du liquide synovial
 - Articulations natives *versus* aseptiques/infectées
- Metatranscriptomique plus discriminative
 - vs la MetaGénomique
 - et encore vs l'ARN16S (résultats non montrés)

« Carte thermique » des gènes de résistance

- Détection des gènes de résistance
 - MT 85 gènes de résistance parmi les 3 groupes
 - Concordance MT vs culture
 - Discordance MG vs culture



Enfin, quelles avancées concernant le diagnostic moléculaire des IP ?

- Fida et al, CID 2021
 - Impact très limité de la PCR 16S sur la prise en charge des patients
 - Aide au diagnostic très limitée : à réserver aux valves cardiaques en cas de cultures négatives chez un patient traité ?
- Goswami et al, Scientific Reports 2021
 - Grande complexité technologique des méthodes de meta-omics
 - S'habituer à penser en termes de « microbiote », aussi pour les IOA
 - Avantage de la transcriptomique sur la génomique ?
 - Incohérences des résultats : surexpression d'*E. coli*...

Evaluation of intraosteoblastic activity of dalbavancin against *Staphylococcus aureus* in an *ex vivo* model of bone cell infection

Pierre Chauvelot^{1,2,3}, Céline Dupieux-Chabert^{1,2,4,5}, Lélia Abad¹, Aubin Souche^{1,2,4,5}, Tristan Ferry^{1,2,3,4}, Jérôme Josse^{1,2,4}, Frédéric Laurent^{1,2,4,5}† and Florent Valour^{1,2,3,4,*}† on behalf of the Lyon BJI Study Group‡

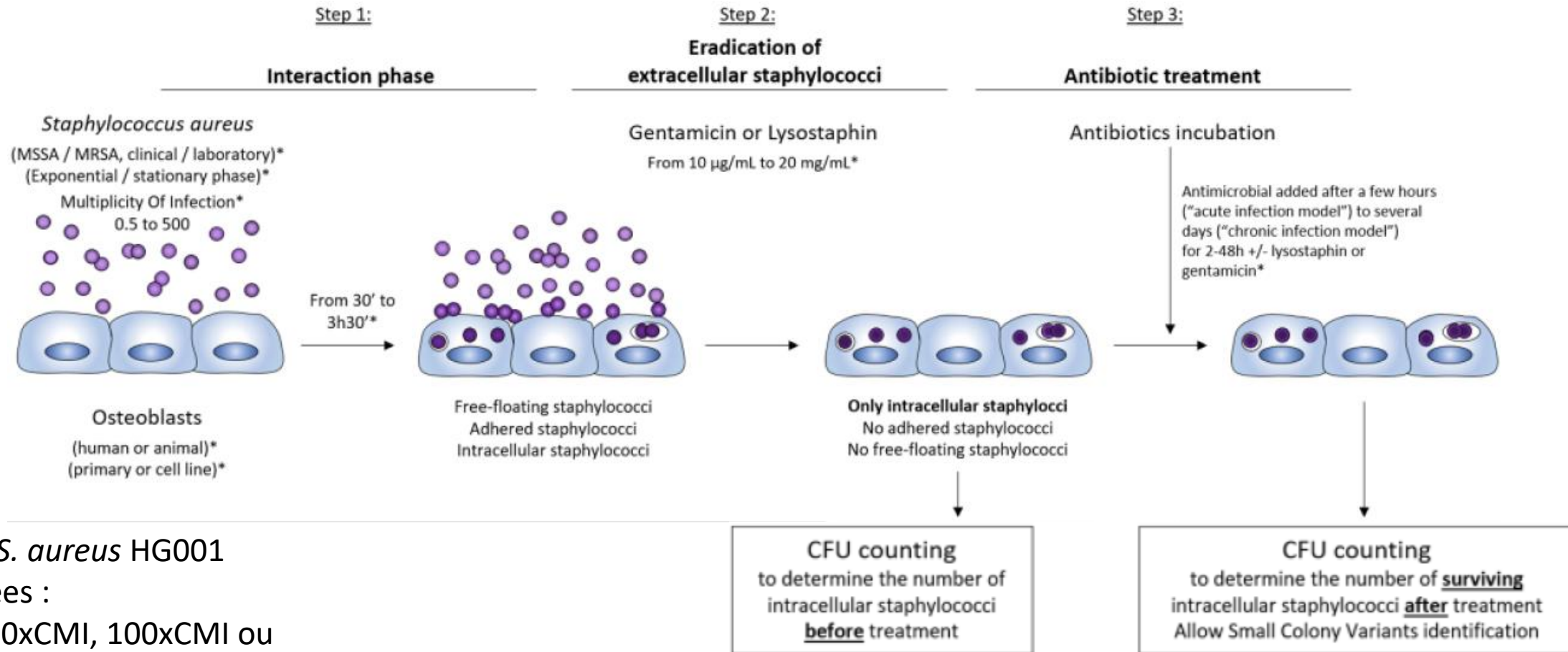
Avantages de la dalbavancine

- Demi-vie prolongée
- Activité anti-Gram positif
- Pénétration osseuse
- Activité anti-biofilm
- Alternative dans le traitement des IOA

Problématique de *S. aureus*

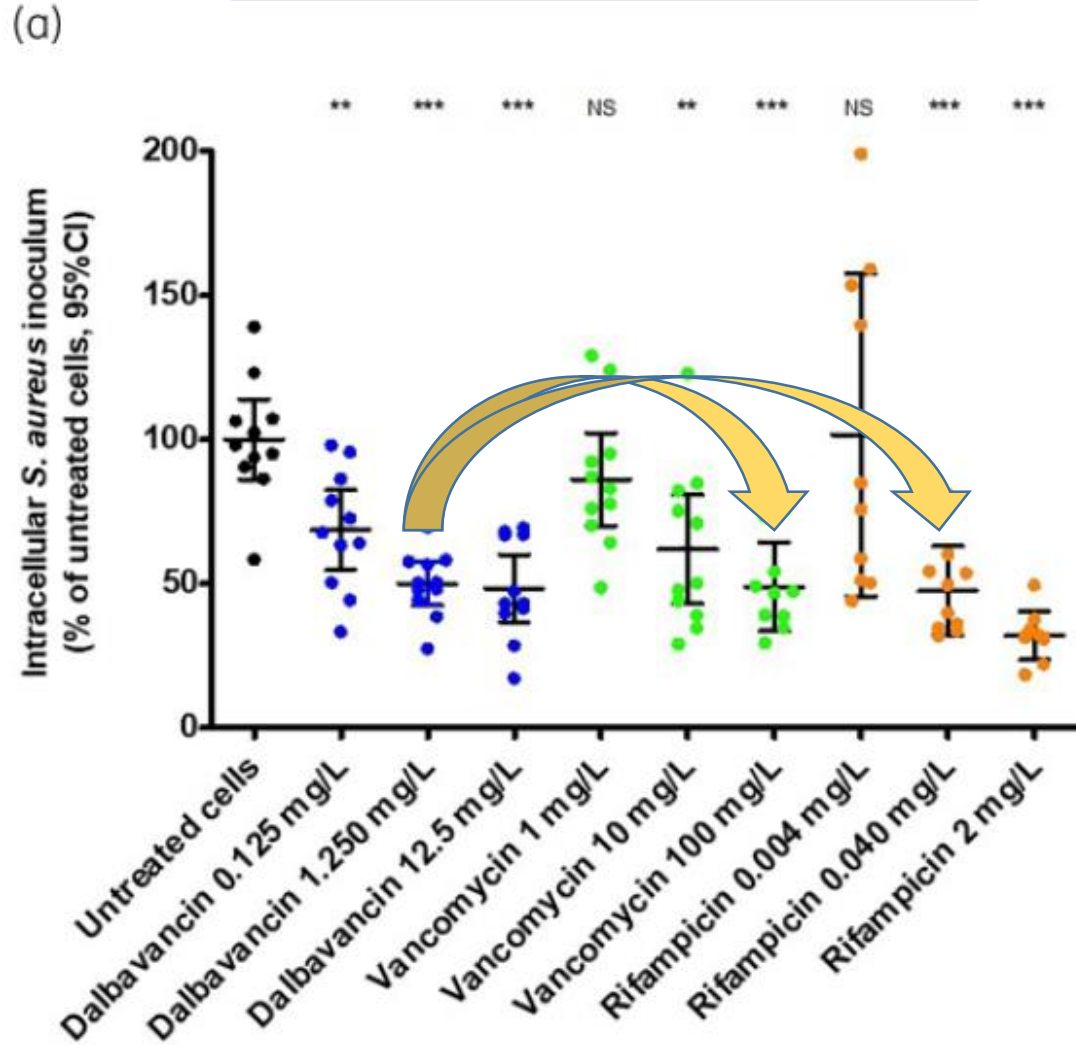
- Réservoir intracellulaire
- Cellules cibles : ostéoblastes
- Phénotype de persistance
 - IOA chroniques
 - Rechutes
- Activité intraostéoblastique d'1 ATB
 - Paramètre important dans le choix

Evaluation de la capacité des antibiotiques à éradiquer les staphylocoques intraostéoblastiques : modèle in vitro



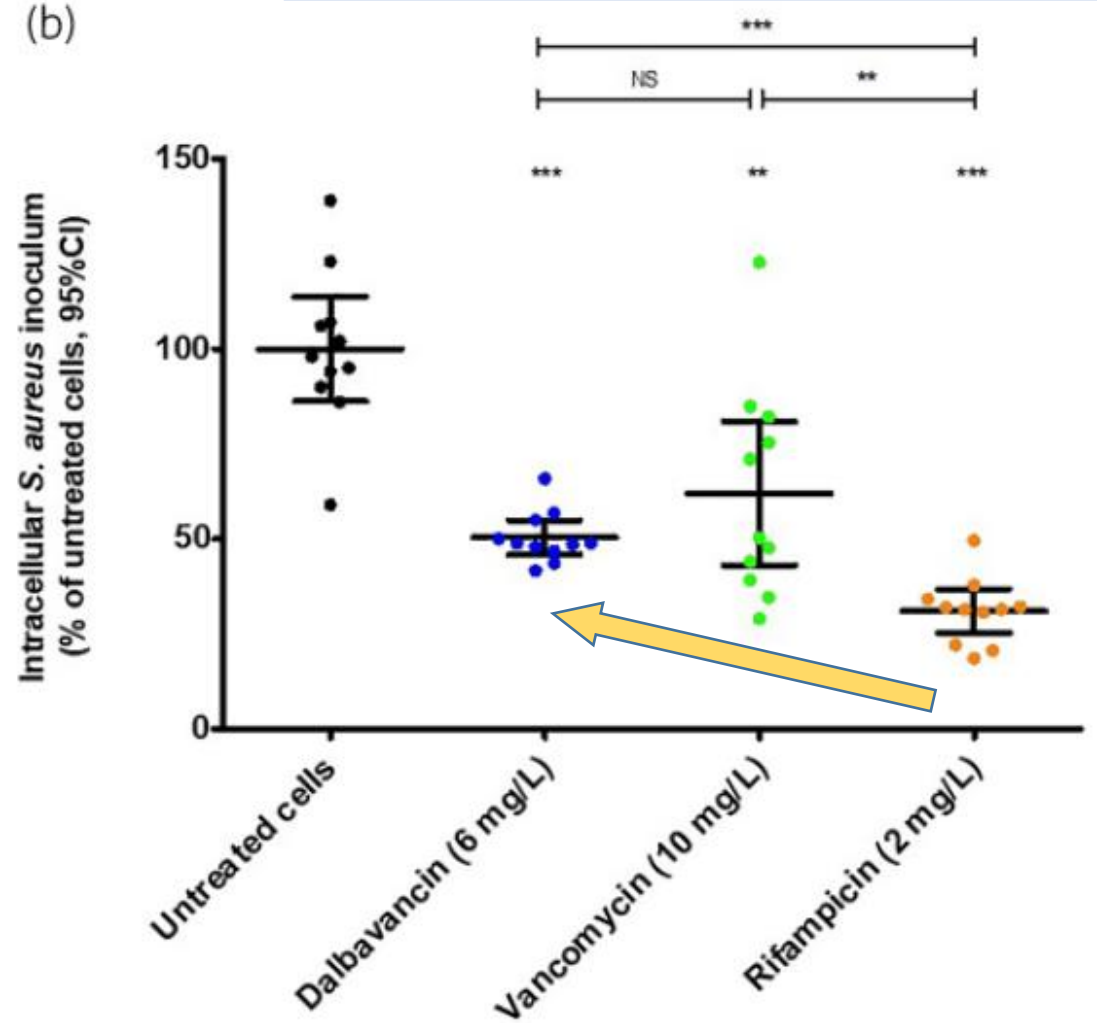
- Souche de *S. aureus* HG001
- Doses testées :
 - CMI, 10xCMI, 100xCMI ou
 - [C] osseuses obtenues avec doses cliniques standard
- Durée d'exposition à la dalbavancine de 24h

[C] multiples de la CMI



- A des [C] multiples de la CMI, la dalbavancine
 - Effet-dose de la dalbavancine, même à faible concentration
 - 10xCMI = VA 100xCMI = RIF 10xCMI

[C] osseuses à doses thérapeutiques



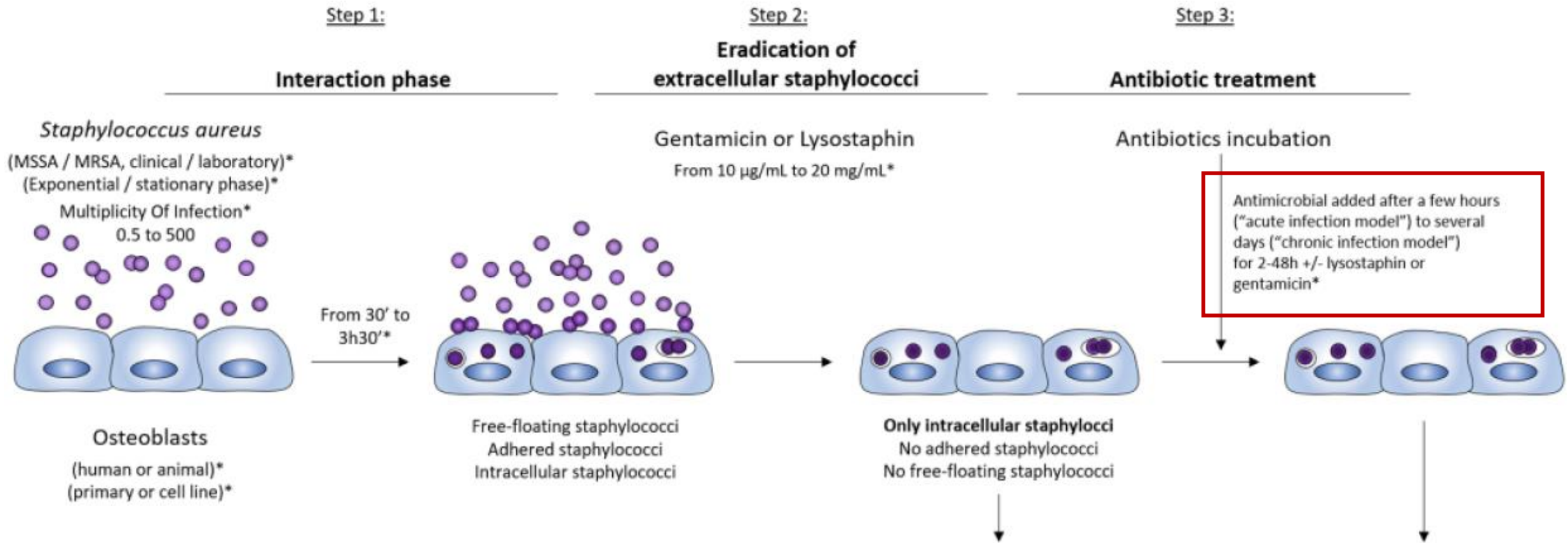
- A concentrations osseuses:
 - Dalbavancine/vancomycine : pas de différence significative
 - RIF > dalbavancine

***In vitro* antibiotic activity against intraosteoblastic
Staphylococcus aureus: a narrative review of the literature**

Florian C. Marro^{1,2,3*}†, Lélia Abad^{1,3,4}†, Ariel J. Blocker², Frédéric Laurent^{1,3,4,5}, Jérôme Josse^{1,3,5}‡ and Florent Valour^{1,3,5,6}‡

- IOA chroniques et/ou sur matériel : taux de rechutes ~20%
- *S. aureus* impliqué dans près de 30% des cas: persistance dans les ostéoblastes, réservoir intracellulaire
- Evaluation de la capacité des antibiotiques à éradiquer ce réservoir essentielle
- Analyse de 13 études

Propriétés pharmacocinétiques cellulaires des antibiotiques: modèles in vitro



- Simulation d'une infection aiguë ou chronique, doses multiples de la CMI ou [C] osseuses
- Expression des résultats : rapport [C] cellulaires/[C] extracellulaires : C/E >1 : bonne pénétration cellulaire
- Analyse des bactéries quiescentes (VCN) par cytométrie de flux

Pharmacocinétique et activité intraostéoblastique des antibiotiques

	Pénétration cellulaire C/E	Réduction de l'inoculum intracellulaire	Type d'effet aux [C] cliniques
Rifampicine	2 à 10	> 99.9% (20-48h)	Bactéricide
Rifapentine	60 à 80		Bactéricide
Ofloxacine/lévofloxacine	4 à 10	> 99.5%	Bactéricide
Tigécycline/minocycline	→ 64	+	Bactéricide
Clindamycine	>5	+	Bactéricide
Oxacilline	<1	↓ 24% à 43%	Bactéricide
Oxazolidinones *	~ 1	+	Bactéricide
Ceftaroline (antiSARM)	<1	↓ 30%	Bactériostatique
Daptomycine **	0,7	faible	Bactériostatique

* Radézolide : C/E=11, > LZD : alternative prometteuse

** Dalbavancine probablement à préférer à la daptomycine (Chauvelot et al. JAC 2021)



■ ARTHROPLASTY

Blood and synovial fluid calprotectin as biomarkers to diagnose chronic hip and knee periprosthetic joint infections

Grzelecki et al., Bone Joint J 2021;103-B(1):46-55

195 patients
PTH = 80, PTG = 115

Exclusion

- IP < 4 semaines
- ATCD sepsis
- 18,5 > BMI < 40

1^{ère} chirurgie
Ostéoarthrite
OA n=60

1^{ère} chirurgie
Arthrite
rhumatoïde
RA n=25

Révision
aseptique
AR-TJR n=40

2^{ème} temps
d'une reprise
SR-TJR n=25

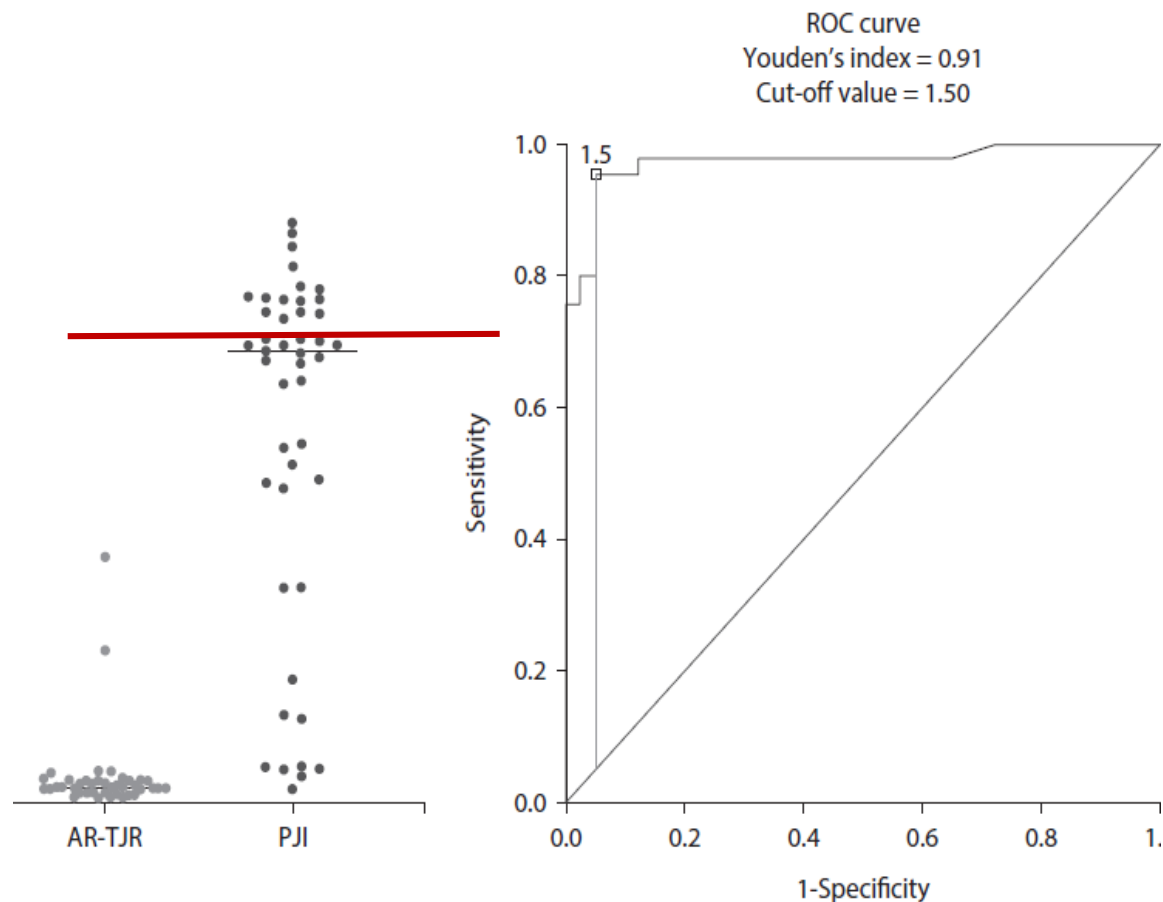
IP chronique
PJI n=45

Diagnosis	Total (n = 40)	%
Aseptic loosening	28	70
Instability	7	17.5
Implant malposition	3	7.5
Undiagnosed joint pain	2	5

- Fistule n=20
- 2 cultures pos n=7
- Score ICM 2018 >6 n=18

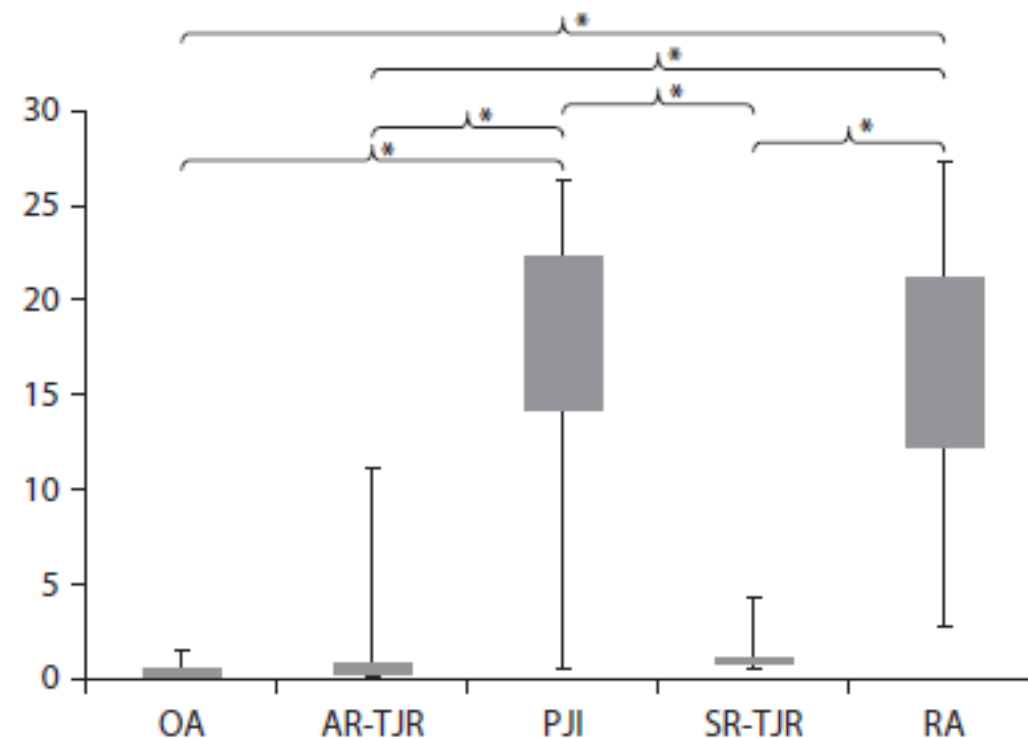
Valeurs de Calprotectine synoviale selon les groupes de patients

C
a
l
p
r
o
t
e
i
c
a
l
i
n
e



SE 95,6% SP 95% VPP 95,5% VPN 95%

C
a
l
p
r
o
t
e
i
c
a
l
i
n
e



Différence significative entre PJI et OA/SR-TJR
Mais pas entre PJI et RA

Valeurs des autres biomarqueurs synoviaux selon les groupes de patients

Biomarker	Cut-off values	Sensitivity, %	Specificity, %	PPV, %	NPV, %
Blood calprotectin	1.0 mg/l	93.3	87.5	89.4	92.1
Synovial calprotectin	1.5 mg/l	95.6	95.0	95.5	95.0
Blood CRP	10 mg/l*	80	87.5	87.8	79.5
Synovial CRP	6.9 mg/l*	64.4	95.0	93.5	70.3
IL-6	7 pg/ml†	80.0	92.5	92.3	80.4
ESR	30 mm/h*	60	87.5	84.4	66.0
Leucocyte esterase	≥ ++*	82.2	97.5	97.3	82.9

*Adopted from International Consensus Meeting 2018 criteria.

†Adopted from reagent manufacturer's recommendation.

- Intérêt de la calprotectine synoviale pour exclure mais aussi pour confirmer une IP chronique
- Résultats comparables à ceux de l'alpha-défensine, avec un coût 10 fois moindre (15 euros)
- Performances supérieures à la CRP (sanguine/articulaire), et à l'IL6
- Limite d'utilisation dans les arthrites rhumatoïdes

Merci à tous pour votre attention !