

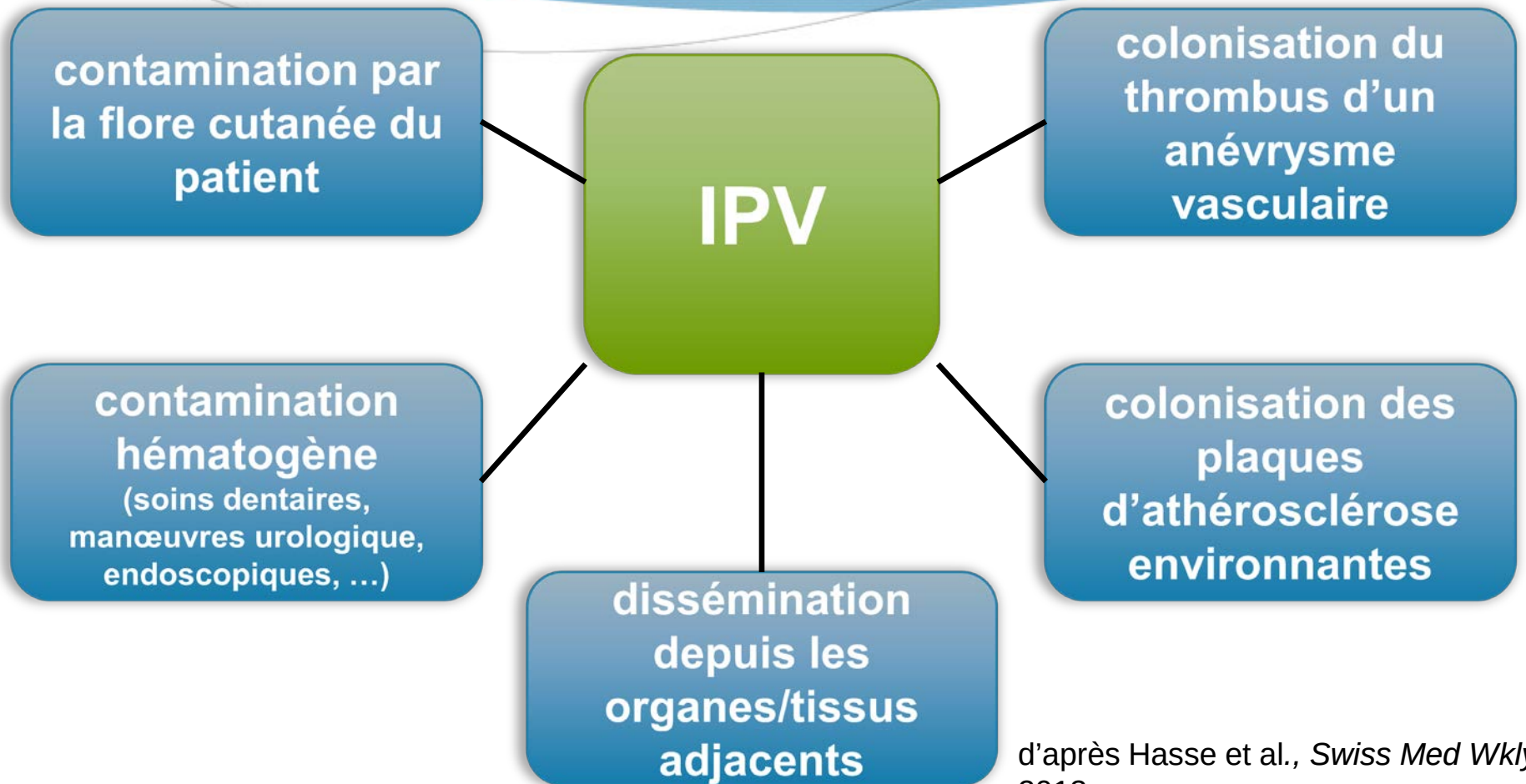
Infections sur prothèses vasculaires : contribution du bactériologiste

Nicolas BLONDIAUX
Laboratoire – Microbiologie
CH G. Dron, Tourcoing

Lesquin – 23 avril 2015



Pathogénèse



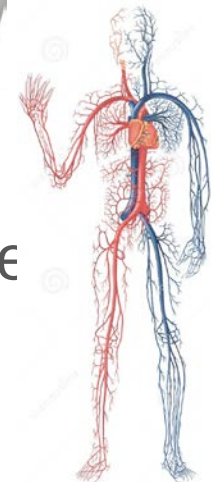
Épidémiologie bactérienne

- Nature des agents infectieux responsables varie en fonction du :

- moment de survenue de l'infection



- site anatomique de la prothèse vasculaire



Moment de survenue de l'infection

Legout et al., *Clin Microbiol Infect* 2012

Characteristics	Early PVGI (n = 49)	Late PVGI (n = 36)	p-value
Positive blood samples	20	9	0.13
Polymicrobial infection	12	8	0.81
Number of microorganisms isolated	63	41	
Gram-positive bacteria	35 (55.5)	22 (53.6)	0.85
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 (40.8) 	9 (21.9) 	0.28
Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i>	8 (12.7) 	5 (12.2) 	0.82
<i>Enterococcus</i> sp.	4 (6.3)	3 (7.3)	1
<i>Streptococcus</i> sp.	3 (4.7)	4 (9.7)	0.43
Other Gram-positive bacteria	0 (0)	1 (2.4)	0.39
Gram-negative bacilli	20 (31.7)	15 (36.6)	0.61
<i>Enterobacteriaceae</i>	19 (30.1) 	13 (31.7) 	0.87
<i>Pseudomonas</i> sp.	1 (2)	2 (4.8)	0.56
Anaerobes	6 (12.2)	2 (4.8)	0.47
<i>Candida</i> sp.	2 (2)	2 (4.8)	0.65
No growth	2 (4.1)	5 (13.8)	0.13

Moment de survenue de l'infection

Stone et al., *Vasc Endovasc Surg* 2009

	Early VSSI (n = 50)	Late VSSI (n = 37)
Pure Gram positive	27 (54%)	25 (68%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	6
MRSA	15	7
<i>Staphylococcus epidermis</i>	7	10
VRE	1	1
<i>Streptococcus</i>	0	1
Pure Gram negative	6 (12%)	2 (5%)
<i>Pseudomonas</i>	2	2
<i>Escherichia coli</i>	2	0
<i>Serratia</i>	1	0
<i>Alcaligenes X</i>	1	0
<i>Candida</i>	1 (2%)	0 (0%)
Mixed	13 (26%)	7 (19%)
Unknown/No growth	3 (6%)	3 (8%)

Site anatomique de la prothèse

Legout et al., *Clin Microbiol Infect* 2012

Characteristics	Aortic PVGI (n = 54)	Limb PVGI (n = 31)	p-value
Positive blood samples	22	7	0.09
Polymicrobial infection	12	8	0.71
Number of microorganisms isolated	64	40	
Gram-positive bacteria	34 (53.1)	23 (57.5)	0.66
<i>Staphylococcus aureus</i>	12 (18.7) 2	17 (42.5) 1	0.009
Coagulase-negative <i>Staphylococcus</i>	10 (15.6) 3	3 (7.5) 3	0.36
<i>Enterococcus</i> sp.	5 (7.8)	2 (5)	0.70
<i>Streptococcus</i> sp.	6 (9.3)	1 (2.5)	0.24
Other Gram-positive bacteria	1 (1.5)	0 (0)	1
Gram-negative bacilli	21 (32.8)	14 (35)	0.82
<i>Enterobacteriaceae</i>	20 (31.2) 1	12 (30) 2	0.89
<i>Pseudomonas</i> sp.	1 (1.5)	2 (5)	0.56
Anaerobes	6 (9.3)	2 (5)	0.71
<i>Candida</i> sp.	3 (4.6)	1 (2.5)	1
No growth	6 (9.3)	1 (2.5)	0.41

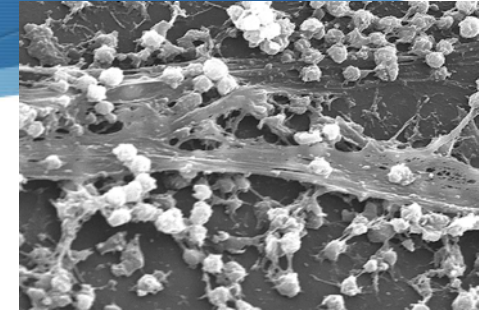
Site anatomique de la prothèse

Erb et al., *Plos One* 2014

Variable	Thoracic-Aortic PVGI (n=24)	Abdominal-Aortic PVGI (n=27)	Peripheral-Arterial PVGI (n=10)	p-Value [†]
Microbiological Characteristics: Patients with a identified microorganism^{††}				
<i>Staphylococcus aureus</i> ^{§§} , n	4 (16.7%) 3	6 (22.2%)	4 (40.0%) 2	0.362
Coagulase-negative staphylococci, n	8 (33.3%) 1	3 (11.1%)	5 (50.0%) 1	0.030
<i>Propionibacterium acnes</i> , n	5 (20.8%) 2	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0.015
<i>Enterococcus</i> spp., n	5 (20.8%) 2	11 (40.7%) 1	2 (20.0%) 3	0.257
<i>Escherichia coli</i> , n	0 (0.0%)	4 (14.8%)	0 (0.0%)	0.068
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , n	1 (4.2%)	1 (3.7%)	1 (10.0%)	0.717
<i>Enterobacter</i> spp., n	1 (4.2%)	8 (29.6%) 3	1 (10.0%)	0.041
<i>Proteus mirabilis</i> , n	1 (4.2%)	1 (3.7%)	0 (0.0%)	0.813
<i>Klebsiella</i> spp., n	0 (0.0%)	2 (7.4%)	0 (0.0%)	0.272
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , n	0 (0.0%)	2 (7.4%)	0 (0.0%)	0.272
<i>Serratia marcescens</i> , n	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (10.0%)	0.075
<i>Morganella morganii</i> , n	0 (0.0%)	1 (3.7%)	0 (0.0%)	0.527
Anaerobic bacteria, n	2 (8.3%)	10 (37.0%) 2	1 (10.0%)	0.243
<i>Candida</i> spp., n	1 (4.2%)	10 (37.0%)	0 (0.0%)	0.003
Patients with polymicrobial infections, n	5 (20.8%)	18 (66.7%)	4 (40.0%)	0.004

La difficulté : le biofilm

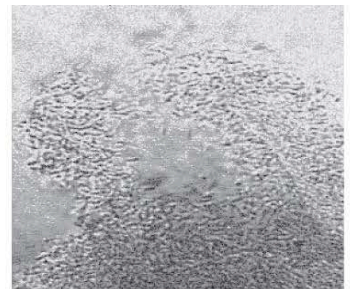
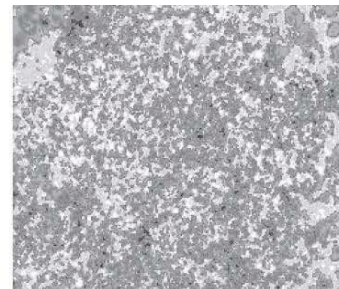
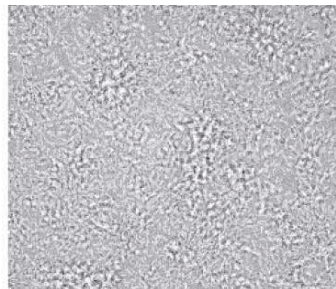
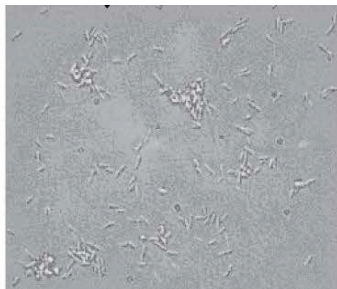
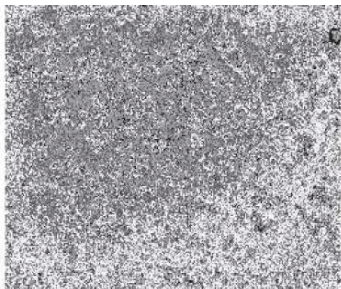
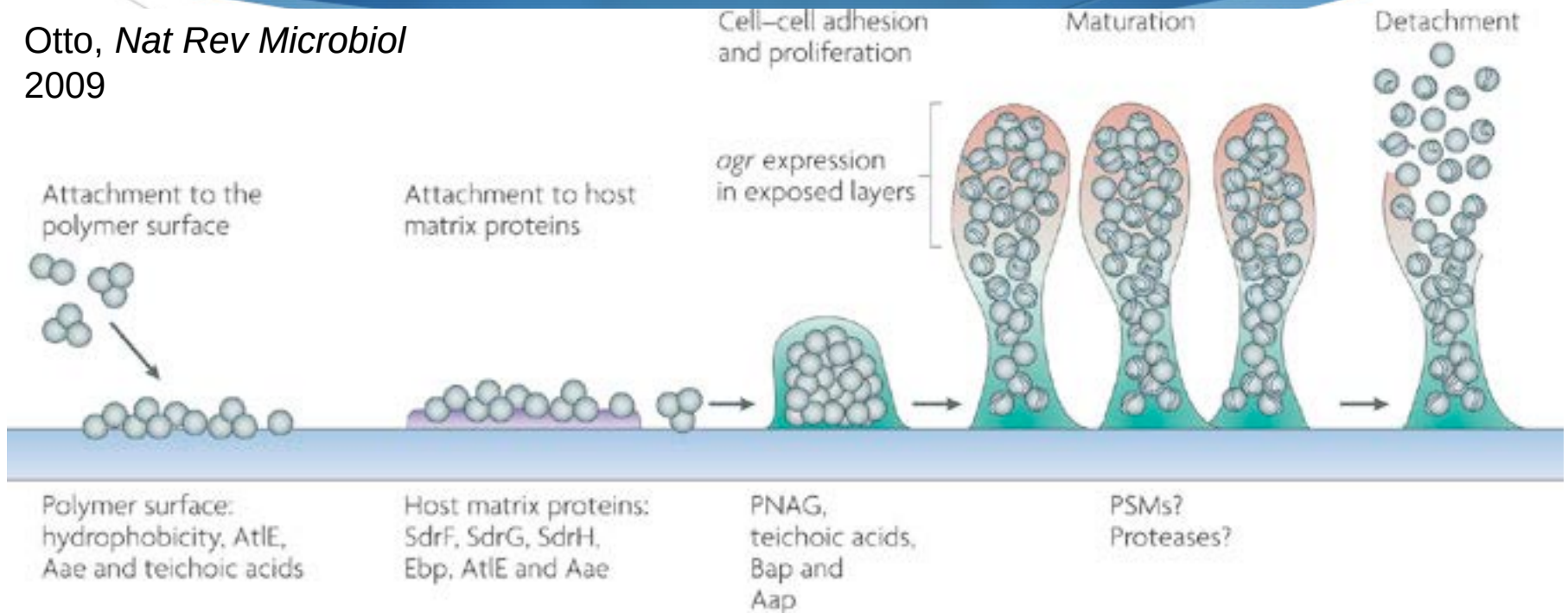
(c'est pas du cinéma !)



- What is this?
 - barrière constituée d'une matrice extracellulaire contenant les agents pathogènes
 - se fixe sur la surface de matériels prothétiques
 - micro-organismes présents en faible quantité et dans une phase d'activité métabolique très ralentie
 - assure une protection contre les défenses immunitaires de l'hôte et les agent anti-infectieux
 - certaines bactéries sont des « professionnelles » du biofilm
 - parmi elles : *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*

Biofilm : histoire naturelle

Otto, *Nat Rev Microbiol*
2009



Biofilm et résistance

Microbial Pathogenesis of Bacterial Biofilms: A Causative Factor of Vascular Surgical Site Infection

Vascular and Endovascular Surgery
45(8) 688-696
© The Author(s) 2011
Reprints and permission:
sagepub.com/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/1538574411419528
<http://ves.sagepub.com>


Elisabeth Frei, BS¹, Kelley Hodgkiss-Harlow, MD¹,
Peter J. Rossi, MD², Charles E. Edmiston Jr., PhD², and
Dennis F. Bandyk, MD¹

Table 1. Impact of Polyester Dacron Graft Fiber Surface on Minimal Bactericidal Concentration (MBC) of 5 Antibiotics Against a Glycocalyx-Producing *Staphylococcus Epidermidis* Strain (RP62A)^a

Antibiotics	MBC in TSB	MBC on Dacron
Nafcillin	32	>64
Vancomycin	16	>512
Cefazolin	32	>512
Ampicillin/sulbactam	16	>512
Rifampin	2	>32

Biofilm et résistance

- ◆ Importance de la nature du matériau
 - ◆ dacron facilite la formation de biofilm x 10 à 10 000 / poly-tétrafluoroéthylène expansé (ePTFE)
Sugarman, *Infection* 1982
 - ◆ sur ePTFE, daptomycine, linézolide et rifampicine :
éradication de *S. epidermidis* producteur de glycocalyx (RP62A)
Wolcott et al., *J Wound Care* 2008
- ◆ Intérêts de matériaux imprégnés d'ATB ?
 - ◆ peptides polycationiques, amikacine liposomale, vancomycine
 - ◆ seulement sur modèle animal

Biofilm : modèle animal

The Natural History of Bacterial Biofilm Graft Infection¹

THOMAS M. BERGAMINI, M.D.,² ROBERTO A. CORPUS, JR., B.E., KENNETH R. BRITTIAN, B.S.,
JAMES C. PEYTON, M.S., AND WILLIAM G. CHEADLE, M.D.

Department of Surgery, University of Louisville School of Medicine, and the Veterans Administration Medical Center, Louisville, Kentucky 40292

JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH 56, 393-396 (1994)

- ◆ modèle murin d'implantation de prothèse colonisée *in vitro* par *S. epidermidis*
- ◆ reproduit le processus pathologique humain : formation d'un abcès péri-prothétique jusqu'au sinus de fistulisation à la peau

Diagnostic bactériologique

💧 Que prélever ?

- 💧 du bon sens : éviter l'écouvillonnage de la fistule ou de la cicatrice
- 💧 l'idéal : prélèvements per-opératoires ou ponction d'abcès radioguidée
- 💧 aucun consensus sur le nombre de prélèvements à réaliser...

mais un parallèle à faire avec les IOA :

3 à 5 prélèvements dont :

- abcès
- tissus péri-prothétiques
- zone en contact direct avec la prothèse
- voire l'explant lui-même lorsque c'est possible

Diagnostic bactériologique

💧 Quand prélever ?

- 💧 avant toute antibiothérapie (qui sera débutée immédiatement après la réalisation des prélèvements)
- 💧 ou après le respect d'un intervalle d'au moins 15 jours sans antibiothérapie

À l'exception de la survenue d'un choc septique

Faut-il faire des hémocultures ?

- ◆ OUI, TOUJOURS !

- ◆ au moins en péri-opératoire
- ◆ devant des signes généraux d'infection



- ◆ Rendement faible, mais :

- ◆ permet de conforter les résultats des cultures des échantillons per-opératoires
- ◆ permet de « rattraper » des cultures d'échantillons per-opératoires négatives

Faut-il faire des hémocultures ?

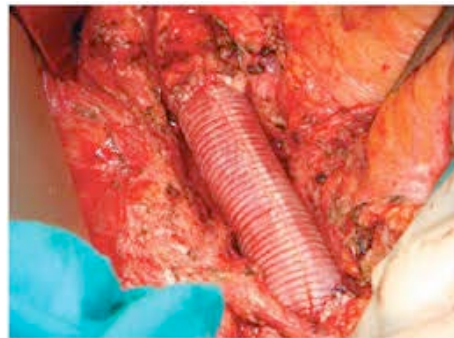
- ◆ Pas de discordance Hc/échantillons per-op
- ◆ Sauf pour : Prosthetic Vascular Graft Infections Between Blood and Concordance of Graft Culture Pathogen

Naiel Bisharat, MD, PhD and Itamar Minuhin, MD

The American Journal of the Medical Sciences • Volume 344, Number 6, December 2012

- ◆ sur 17 patients avec une IPV tardive : seuls 3 (17,6%) ont le même μ -organisme dans les Hc et les échantillons per-op (!)
- ◆ délais entre Hc et culture de la PV 9-48 j
- ◆ 3 patients dont seule documentation de l'IPV = sérologie IgG à *Coxiella burnetii* + délai > 40 j

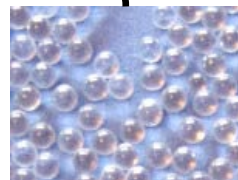
Mise en culture



au moins
3 échantillons



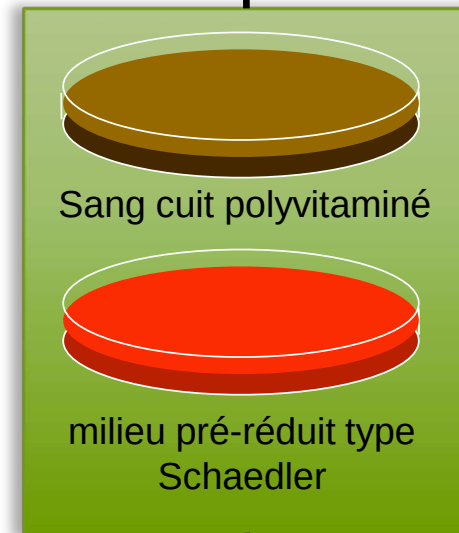
vortex



billes de verre

+ BH
ou H₂O p.p.i.

37°C – atmosphère normale
± 5-10% CO₂



Infusion
cœur-cervelle



Rosenow-
cystéine

37°C -
anaérobiose

Mise en culture

- ◆ Nombre et type de milieux gélosés à adapter en fonction de :
 - ◆ site anatomique si écologie différente
 - ◆ données de l'examen microscopique (sensibilité très pauvre)
- ◆ Incubation prolongée 14 jours
 - ◆ lecture quotidienne
 - ◆ repiquage systématique des milieux liquides même limpides en fin de période d'incubation
- ◆ Rendu de résultats partiels si stérilité à 48h et 5j
- ◆ Contact téléphonique dès culture positive

Mise en culture : rendement

- Très variable selon les séries car aucun consensus sur :
 - nombre d'échantillons à prélever
 - nature des échantillons à prélever
 - manière de traiter les échantillons
 - critères de diagnostic d'une IPV
- Quelques chiffres (% de cas avec culture positive)
 - Kaebnick et al., *Surgery* 1987 : **90%** (21 cas)
 - Antonios et al., *J Infect* 2006 : **75%** (52 cas)
 - Bisharat et al., *Am J Med Sci* 2012 : **81%** (21 cas)
 - Erb et al., *Plos One* 2014 : **98%** (61 cas)
 - Legout et al., *Clin Microbiol Infect* 2012 : **92%** (85 cas)

Oui, mais...

- ◆ ... et la sonication ?
 - ◆ peu d'études sur les rendements de culture
 - ◆ parmi elles : pas de détails sur les techniques de laboratoire
- ◆ Padberg et al., *J Surg Res* 1992 : 1 log d'écart US vs. vortex
 - ◆ prothèsesensemencées *in vitro*
- ◆ Tollefson et al., *Arch Surg* 1987 : US > milieu liquide
 - ◆ modèle canin (n=26) d'IPV à *Staphylococcus epidermidis*
- ◆ Bergamini et al., *J Vasc Surg* 1989 : pas de différence US vs. vortex
 - ◆ modèle canin (n=36) d'IPV à *Staphylococcus epidermidis*

Place de la biologie moléculaire ?

- ◆ Littérature très pauvre, contrairement aux infections sur prothèses valvulaires
- ◆ Seulement quelques observations de cas :
 - ◆ Le Page et al., *Clin Microbiol Infect* 2003 : *Propionibacterium acnes*
 - ◆ Senn et al., *BMC Infect Dis* 2005 : *Coxiella burnetii*
 - ◆ Bisharat et al., *Am J Med Sci* 2012 : *Escherichia coli*
 - ◆ Hagiya et al., *J Infect Chemother* 2014 : *Cardiobacterium valvarum*

En pratique

- Patient considéré comme ayant une IPV si 2 critères parmi :

- signes cliniques généraux ou locaux d'infection
- signes biologiques d'infection (CRP > 10 mg/L, WBC > 10 000/mm³)

ou signes radiologiques d'infection

- culture d'échantillons per-opératoires ou hémoculture positives

- si culture + avec SCN, *P. acnes*, ou *Corynebacterium sp.* :

2 échantillons per-opératoires

ou 2 hémocultures

ou 1 échantillon per-opératoire + 1 hémoculture

positifs avec la même bactérie (même antibiotype)

Legout et al., Clin Microbiol Infect 2012
FitzGerald et al., J Antimicrob Chemother