L'endocardite dans tous ses états

CHU Hôpitaux de Bordeaux

Les nouveaux outils diagnostiques microbiologiques

Olivia Peuchant

Laboratoire de bactériologie

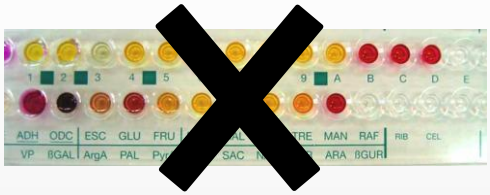
CHU Bordeaux

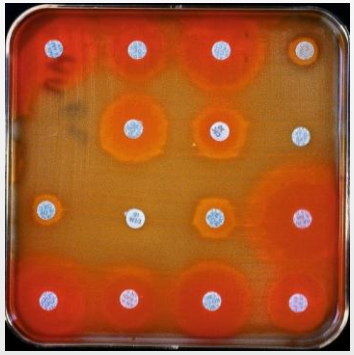
Nouveaux outils

J_n

Maldi-Tof

J_{n+1}





Sonication

Biologie
Moléculaire

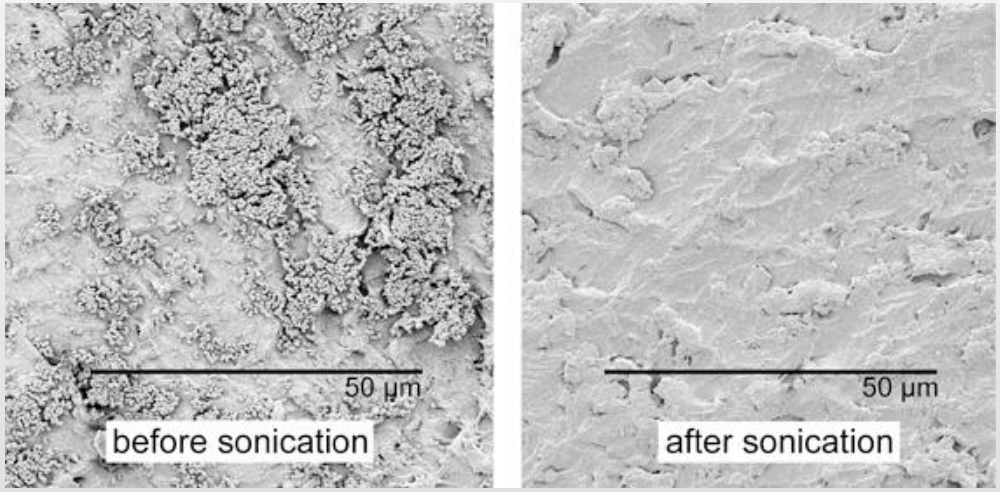
Sonication (1)

- **Principe**

Ultrasons à faible fréquence et faible densité

→ détachement du biofilm

→ libération des bactéries du biofilm



⇒ Augmente la sensibilité de la culture

Sonication (2)

- **Réalisation**

Matériel placé dans un contenant stérile

→

Vortex 30 sec

→

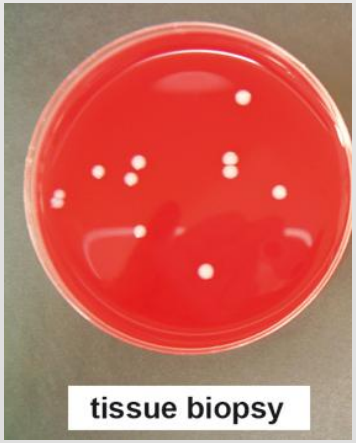
Sonication 5 min

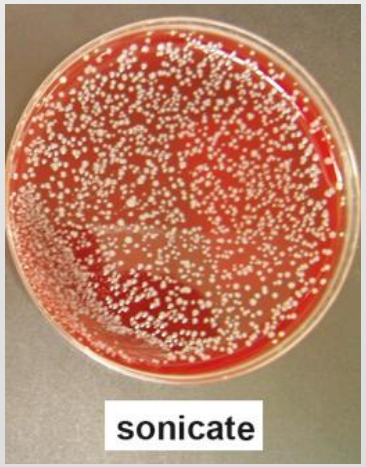
→

Vortex 30 sec

→

Mise en culture





Trampuz *et al.*, NEJM, 2007

Sonication of Explanted Cardiac Implants Improves Microbial Detection in Cardiac Device Infections

Alessandra Oliva,[a] Bich Lien Nguyen,[b] Maria T. Mascellino,[a] Alessandra D'Abramo,[a] Marco Iannetta,[a] Antonio Ciccaglioni,[b] Vincenzo Vullo,[a] Claudio M. Mastroianni[a,c]

- **20 patients (2 EI confirmées, 18 infections de loge)**
- **Matériel explanté : comparaison sonication *vs* culture standard**

TABLE 2 Pathogen detection in sonication and traditional culture

Subject group and culture result[a]	No. of components	Microorganisms (no. of isolates)[b]
Subjects with CDIs ($n = 20$)	60	
Positive SC/negative TC	10	*S. epidermidis* (6), *C. striatum* (2), *Brevundimonas* sp. (1), *S. hominis* (1)
Positive SC/positive TC	36	*S. epidermidis* ($n = 26$), *S. hominis* ($n = 3$), *P. aeruginosa* ($n = 3$), *S. aureus* ($n = 1$), *S. haemolyticus* ($n = 1$), *Bacillus* sp. ($n = 1$), *Klebsiella* sp. ($n = 1$)
Negative SC/positive TC	0	No bacterial detection
Negative SC/negative TC	14	No bacterial detection

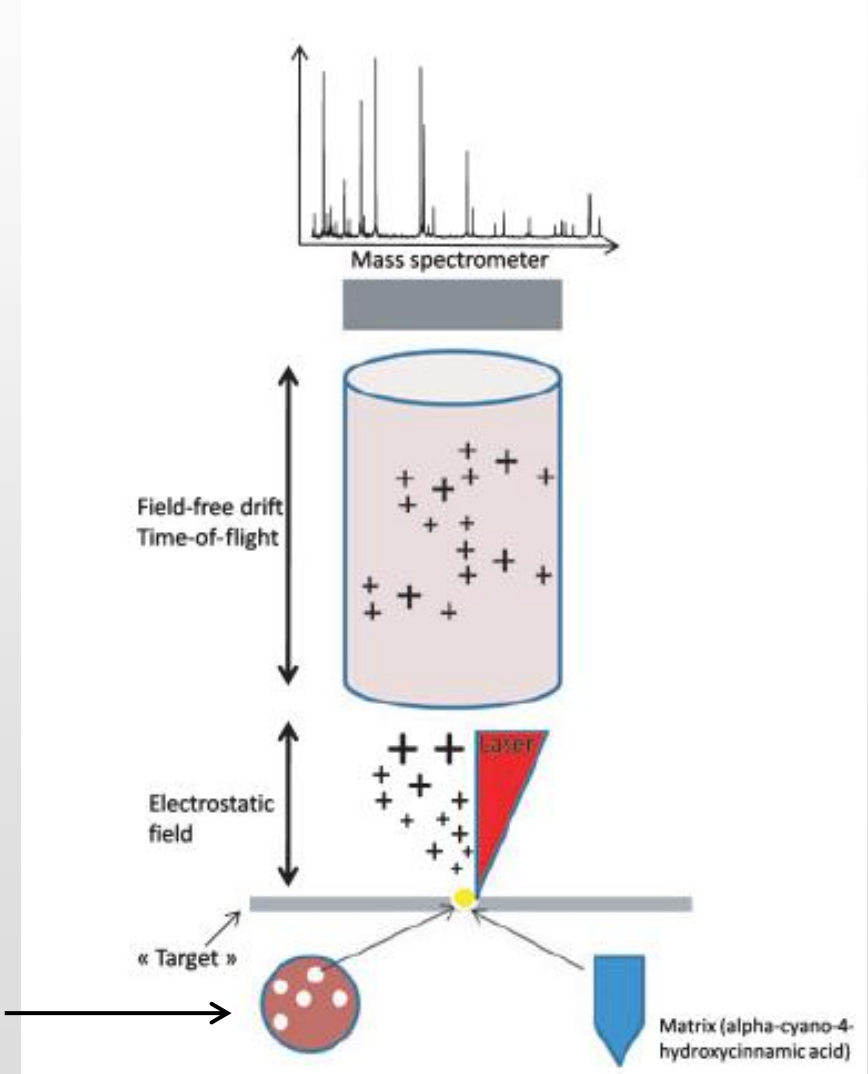
☞ **Composants culture + : 77% sonication vs 60% culture standard**

☞ **Documentation microbiologique : 90% patients avec sonication vs 80% culture standard**

JCM, 2013.

Maldi-Tof MS

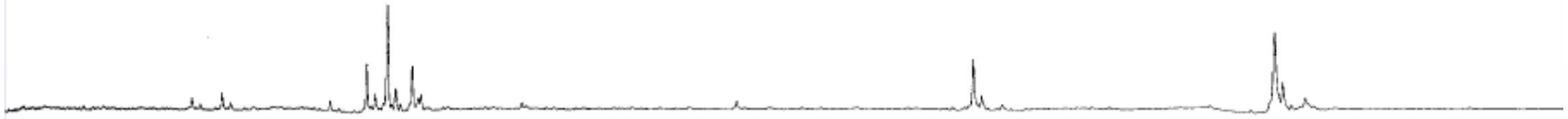
Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectometry



Culture bactérienne

- **Spectre de masse**
- **Mesure du temps mis par les ions pour atteindre le détecteur**
- **Séparation dans le tube de vol**
- **Accélération des ions**
- **Ionisation des molécules par le laser**
- **Spot : colonie + matrice**

Emonet *et al.*, CMI, 2010



Classement(Qualité)	Profil de référence	Score
1(++)	Staphylococcus epidermidis 10547 CHB	2.161
2(++)	Staphylococcus epidermidis 4b_r ESL	2.07
3(++)	Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 THL	2.027
4(++)	Staphylococcus epidermidis 6b_s ESL	2.022
5(++)	Staphylococcus epidermidis DSM 3269 DSM	2.001
6(+)	Staphylococcus epidermidis ATCC 14990T THL	1.929
7(+)	Staphylococcus epidermidis DSM 1798 DSM	1.921
8(-)	Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 CHB	1.608
9(-)	Bacillus subtilis ssp spizizenii DSM 15029T DSM	1.408
10(-)	Lactobacillus mali DSM 20444T DSM	1.387

Score ≥ 2
espèce bactérienne

Score 1,7 - 1,999
genre bactérien

Score < 1,7
Identification non valide

- ✓ **Gain de 24h sur l'identification bactérienne**
- ✓ **Banque de données +++**
- ✓ **Réalisable sur hémocultures positives**

- ✓ ***S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. oralis* : pb de différenciation**
- ✓ **Pas de renseignements sur la résistance acquise aux antibiotiques**

Maldi tof et endocardites…

Rapid Identification of *Cardiobacterium hominis* by MALDI-TOF Mass Spectrometry during Infective Endocarditis

Frédéric Wallet[1,2]*, Caroline Loïez[1,2], Christophe Decoene[1,2], and René Courcol[1,2]

Jpn. J. Infect. Dis., 64, 327-329, 2011

Using MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid and accurate diagnostic tool in infective endocarditis: a case report of a patient with mitral valve infective endocarditis caused by Abiotrophia defectiva.

Holler JG, Pedersen LK, Calum H, Nielsen JB, Tvede M, Schønning K, Knudsen JD.

Scand J Infect Dis. 2011 Mar;43(3):234-7.

Native valve endocarditis due to *Pichia ohmeri*

Isabel João · José Duarte · Carlos Cotrim
Ana Rodrigues · Cristina Martins · Paula Fazendas
L. Moura Oliveira · José Diogo · Manuel Carrageta

Heart Vessels (2002) 16:260–263

Techniques de Biologie Moléculaire

- **Quand les utiliser ?**
  - **EI à hémocultures négatives**
    - ✓ **antibiothérapie préalable**
    - ✓ **bactéries à croissance lente ou intracellulaire (HACCEK, Bartonella, Brucella , *C. burnetti*, *T. whipplei*…)**

Table 10 Investigation of rare causes of culture-negative infective endocarditis

Pathogen	Diagnostic procedure
Brucella spp.	Blood cultures; serology; culture, immunohistology and PCR of surgical material
Coxiella burnetii	Serology (IgG phase 1 > 1:800); tissue culture, immunohistology and PCR of surgical material
Bartonella spp.	Blood cultures; serology; culture, immunohistology and PCR of surgical material
Tropheryma whipplei	Histology and PCR of surgical material
Mycoplasma spp.	Serology; culture, immunohistology and PCR of surgical material
Legionella spp.	Blood cultures; serology; culture, immunohistology and PCR of surgical material

PCR = polymerase chain reaction.

  - **EI possibles**

Techniques de Biologie Moléculaire

- **Quand les utiliser ?**
  - **EI à hémocultures négatives**
    - ✓ **antibiothérapie préalable**
    - ✓ **bactéries à croissance lente ou intracellulaire (HACCEK, Bartonella, Brucella , *C. burnetti*, *T. whipplei*)**
  - **EI possible**

- **Quels échantillons ?**
  - **Tissu valvulaire**
  - **Végétations**

PCR

- **PCR universelle**
  - Gène codant ARNr 16S
  - Large spectre
  - Résultat : séquence nucléotidique → identification

→

✓ La plus utilisée +++
✓ Sensibilité variable selon les études
✓ Sensibilité > culture (surtout si antibiothérapie)

- **PCR spécifique**
  - Gène spécifique d'espèce
  - Spectre étroit
  - Résultat : présence ou absence

→

✓ Espèce selon contexte
✓ Confirmation PCR 16S +

PCR

- **Limites**

*** Risque de contamination (SCN)**

*** Détection des bactéries non viables**

*** Ne permet pas de faire un diagnostic de l'évolution ou d'échec thérapeutique**

*** Pas de renseignements sur la sensibilité aux antibiotiques**

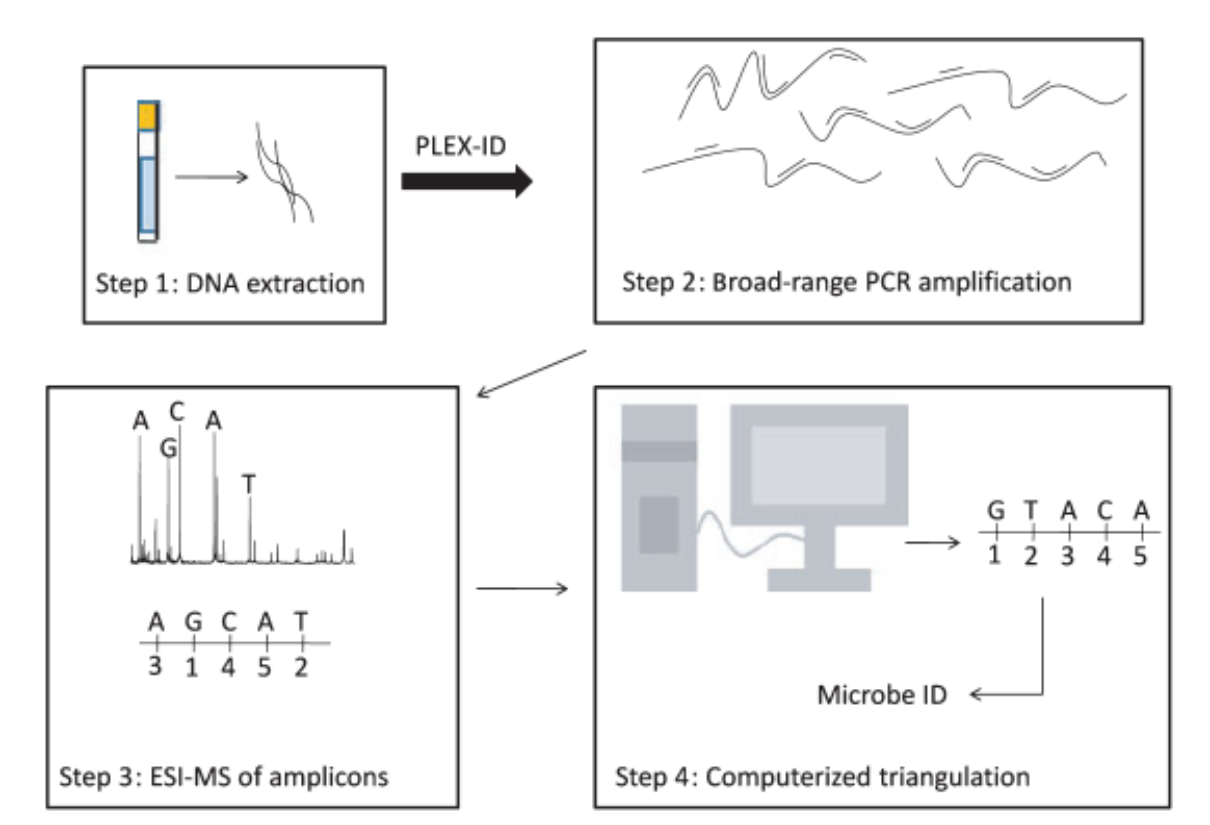
☞ Confrontation des résultats cliniques, microbiologiques et moléculaires

PCR/ESI-TOF-MS

PLEX-ID

PCR / ElectroSpray Ionization - Time of flight - Mass Spectrometry

Tout type d'échantillon



Résultat en 4 à 6 heures

<u>Grand nombre de cibles</u> : régions conservées, gènes spécifiques d'espèces, levures, gènes de résistance …

Emonet *et al.*, CMI, 2010

PCR–electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry: a new tool for the diagnosis of infective endocarditis from heart valves

Frédéric Wallet [a,b,*], Stéphanie Herwegh [a,b], Christophe Decoene [a,c], René J. Courcol [a,b,d]

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 76 (2013) 125–128

			Heart valve			
BC before surgery	**ATB**	**BC/surgery**	**Valve**	**ME Bacteria/leucocytes**	**Culture**	**PCR/ESI-MS**
Not performed	Yes	***C.hominis***	Aortic	Abs/++	Sterile	***C.hominis***
Not performed	Yes	***S.aureus***	Aortic	Abs/+++	***S.aureus***	***S.aureus***
C.albicans 1 month before	Yes	Sterile	Tricupsid	Abs/+	***C.parapsilopsis***	***C.parapsilopsis***
S.pneumoniae 6 weeks before	Yes	Sterile	Aortic	Abs/++	Sterile	***S.pneumoniae***
A.actinomycetemcomitans 7 weeks before	Yes	Sterile	Mitral	Abs/++	Sterile	***A.actinomycetemcomitans***
S.gallolyticus 3 weeks before	Yes	Sterile	Mitral	Abs/+++	Sterile	***S.gallolyticus***
S.mitis 2 months before	Yes	Sterile	Aortic	GPC++/++	Sterile	***S.equinus / S.pasteurianus***
S.anginosus 11 days before	Yes	Sterile	Aortic + Mitral	Abs/+	Sterile	***Streptoccus spp.***
S. bovis 8 months before	Yes	Sterile	Aortic	Abs/++	Sterile	***S.lutetiensis***
S.aureus 15 days before	Yes	Sterile	Mitral	Abs/++	Sterile	**Negative**

Polymerase Chain Reaction-Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Direct Detection of Pathogens and Antimicrobial Resistance from Heart Valves in Patients with Infective Endocarditis

Brinkman CL, Vergidis P, Uhl JR, Pritt BS, Cockerill FR, Steckelberg JM, Baddour LM, Maleszewski JJ, Edwards WD, Sampath R, Patel R.

- **Etude rétrospective (1999 - 2012)**
- **Valves natives (n = 59) et prothétiques (n = 24) fixées au formol et incluses en paraffine**
- **PCR/ESI-MS *vs* hémoculture et culture valve**

JCM, 2013

Blood culture	Valve culture	PCR/ESI-MS	N	
+	+	+	10	Résultats concordants 55% (45/62)
+	-	+	32	
-	+	+	3	
2 VGS, 2 S.mitis	-	4 *S .pneumoniae*		Résultats discordants 11% (9/62)
G. adjacens	-	*S. epidermidis*		
E. faecalis	-	*S. epidermidis*		
S. lugdunensis	-	*T. whipplei*		
SAMS	-	*P. acnes*		
CoNS	-	*P. acnes*		
+	+	-	2	Pas de détection avec la PCR/ESI-MS 34% (28/62)
+	-	-	26	

- Détection des gènes de résistance (mecA, vanA/B) : 100% des cas

En résumé …

- **Sonication**

  détachement du biofilm → sensibilité de la culture ↗

- **Maldi-Tof**

  à partir d'une culture positive : identification bactérienne très rapide, banque de données importante

- **PCR**

  à partir des échantillons, PCR16S ou spécifique d'espèce

- **PCR/ESI-TOF-MS**

  à partir des échantillons, identification + quelques gènes de résistance, très rapide (4 à 6 heures)

☞ **Meilleure documentation microbiologique**

L'endocardite dans tous ses états

Nouveaux outils diagnostiques microbiologiques

- **Sonication matériel intra-cardiaque**

  détachement du biofilm → sensibilité de la culture ↗

- **Maldi-Tof**

  à partir d'une culture positive : identification bactérienne très rapide, banque de données importante

- **PCR**

  à partir des échantillons, PCR16S ou spécifique d'espèce

- **PCR/ESI-TOF-MS**

  à partir des échantillons, identification + quelques gènes de résistance, très rapide (4 à 6 heures)

☞ **Meilleure documentation microbiologique**