

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER**

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2018

THESE 2018 TOU3 2072

# **THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement  
par

Grégoire ICART

**CUTIBACTERIUM ACNES :  
PHYLOTYPAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE AU LABORATOIRE DANS  
LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES**

Le 08 octobre 2018

Directeur de thèse : Madame le Docteur Marion GRARE

## **JURY**

Président : Madame le Professeur Christine ROQUES-CESCHIN  
1er assesseur : Monsieur le Professeur Pierre DELOBEL  
2ème assesseur : Monsieur le Professeur Nicolas BONNEVIALLE  
3ème assesseur : Monsieur le Docteur Fabrice FERRE  
4ème assesseur : Madame le Docteur Marion GRARE

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER**

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2018

THESE 2018 TOU3 2072

# **THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement  
par

Grégoire ICART

**CUTIBACTERIUM ACNES :  
PHYLOTYPAGE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE AU LABORATOIRE DANS  
LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES**

Le 08 octobre 2018

Directeur de thèse : Madame le Docteur Marion GRARE

## **JURY**

Président : Madame le Professeur Christine ROQUES-CESCHIN  
1er assesseur : Monsieur le Professeur Pierre DELOBEL  
2ème assesseur : Monsieur le Professeur Nicolas BONNEVIALLE  
3ème assesseur : Monsieur le Docteur Fabrice FERRE  
4ème assesseur : Madame le Docteur Marion GRARE

## PERSONNEL ENSEIGNANT

de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier au 08  
janvier 2018

### Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SIE P.	Hématologie

### Professeurs des Universités

#### Hospitolo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

#### Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat.
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme GIROD-FULLA NA S.	Pharmacie Galénique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

## Maîtres de Conférences des Universités

### Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
Mme DE MAS MANSAT V. (*)	Hématologie
Mme JUILLARD-CONDA T B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S.	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

### Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme BOUTET E. (*)	Toxicologie - Sémiologie
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS-VIATGE C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDA L A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. Olichon A.	Biochimie
Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALO A.	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(\*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme COOL C.	Physiologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. METSU D.	Pharmacologie
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
M. PERES M.	Immunologie
Mme SALABERT A.S	Biophysique

## Remerciements

---

### **A Madame le Professeur Christine ROQUES-CESCHIN**

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury ainsi que pour l'attention que vous avez bien voulu porter à mon travail et les précieux conseils que vous m'avez prodigués, tout au long de sa réalisation. Je vous remercie également pour la gentillesse avec laquelle vous avez toujours répondu à mes interrogations. Recevez ici l'expression de ma profonde considération.

### **A Madame le Docteur Marion GRARE**

Je te remercie pour m'avoir accompagné tout au long de la réalisation de ce travail. Merci pour la confiance que tu m'as témoignée, autant que pour ta gentillesse, ta disponibilité et tes conseils, toujours rassurants à chacun de mes doutes. Enfin, merci de m'avoir fait bénéficier de ton enseignement et de ton expérience tout au long de mon internat. Sois assurée de mon estime et de ma gratitude.

### **A Monsieur le Professeur Pierre DELOBEL**

C'est un honneur pour moi de vous compter parmi les membres de ce jury. Votre expérience des infections ostéo-articulaires enrichit grandement le jugement de ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

### **A Monsieur le Professeur Nicolas BONNEVIALLE**

Je vous remercie vivement d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Votre expertise de la chirurgie orthopédique et traumatologique rendait votre présence indispensable. Soyez assuré de ma profonde gratitude.

### **A Monsieur le Docteur Fabrice FERRE**

Je vous remercie chaleureusement d'avoir accepté de siéger dans mon jury de thèse et de contribuer à sa pluridisciplinarité en y apportant votre point de vue de praticien. Soyez assuré de ma reconnaissance.

**A David Metsu**

Pas une minute de libre dans ton emploi du temps, mais tu en as pris de nombreuses pour moi, depuis longtemps. Tu ne sièges pas dans le jury mais tu as une place d'honneur dans ces remerciements ! A notre amitié.

**A Sophie Pécastaings**, sans qui cette thèse n'aurait pu voir le jour. Un grand merci pour ta gentillesse, ton aide et ta disponibilité.

**A Laure, Morgane, Virginie, Françoise, Brigitte, Erika, Stéphanie, Claire, Pascale, Julie, Caro, Magalie, Aurélie, Manon, Fabienne, Séverine, Sandrine et ceux et celles que j'oublie sûrement**

Sans vous, je serais encore en train de courir dans tous les sens partout dans le labo à la recherche de tubes de glycérol, de congélos, de jarres, de sachets, de plaques, de matrice, de spectres, de cônes, de pipettes, d'oeses, de géloses, de prélèvements, de cahiers, d'étiquettes, de ma blouse ou de ma tête !! Sans vous je ne suis pas sûr que j'aurais fini les manips, alors un grand merci pour votre aide.

**A Muriel Collignon**, tu as une solution à chaque problème... Toujours au top.

**A Isabelle Algans**, qui me tire des pétrins administratifs depuis 10 ans! Merci pour votre patience, et pour votre aide, ô combien précieuse une fois encore.

***A toutes les équipes qui m'ont si bien accueilli pendant 4 ans,***

Merci à toute l'équipe de bactério des 2ème et 3ème étage, à l'équipe de viro, et celle de parasitologie - mycologie. Merci aux hémato IUC, et aux hémato et biochimistes purpanais pour ces gardes au top. Mention spéciale aux ranguillois, biochimistes et hémato, pour tous ces moments au labo, et en dehors.

Merci à toute l'équipe des murétains de CBM.

Un très grand merci à tous les agenais de chez Olivot-Mariotti pour votre accueil on ne peut plus parfait, votre sympathie, votre gentillesse et vos voeux renouvelés.

Et merci à tous les ariégeois du CHIVA pour ces 6 mois, sans conteste, uniques. Merci à toutes les secrétaires, tous les techniciens, Romain, Angèle, Frédéric et bien sûr... Isabelle. Vive les béliers de mars!

**Merci à tous de m'avoir accueilli, de m'avoir appris, et de m'avoir supporté. Vous allez beaucoup me manquer. Les agenais, à très vite!**

## **A mes amis,**

### **Aux vieux de la vieille,**

Olivier, Clélia, Pierre-Gilles ... Vieille amitié ne craint pas la rouille... A la nôtre, si précieuse. Merci d'être toujours là.

### **Aux Albigeois Lapérousiens,**

Marielle, Pauline, Cédric, Pierre C, Adrien, Marina, Karine, Pierre M... Le temps passe, tout change, mais rien ne change. Nous nous retrouvons chaque fois comme si nous ne nous étions jamais quittés. C'est si important, merci. A nous.

### **Aux pharmaciens toulousains,**

Anne-Caroline, Ben, Vincent, John, Clémentine, Ludovic, Florence, Marie - Céline, Fanny, Coline, Corentin, Lucie, Guillaume B, Thibaut L... et Ida, je ne t'oublie pas. Merci pour tous ces moments, toutes ces soirées, ces fous rires, ces vacances. Tant de si bons souvenirs de ces années Fac !

### **A tous mes compagnons de route de l'internat**

A Marion, Noémie, Etienne, Damien, Anthony, A Tiphaine, Karen, Elodie, Cédric, Laurie, Julien L, Romain, Alice-Anne, Louis-Thomas, Morgane L, Manu, Thomas... A Sam, Jean et Léa, merci pour avoir été mes meilleurs boucs émissaires humoristiques... A Jules et Camille C, merci pour avoir été le vôtre, un juste équilibre.

A Agnès, Isabelle, Claudia, Sarah B, Raphaëlle, Shérazade, JK, Audrey, Lucie D, Thierry, Camille M, Carole, Pierre-Yves, Inès, Claire F, Laure, Barni, Lucie C, Hélène, Hadrien, Claire F, Youssef.

A Elsa et Sandrine, mes 2 mamans d'internat... A Jérôme, Sanaa, Sarah Q, Brice, Catherine, Patricia. A Céline D, Maximin, Tristan, Bastien, Alizée, Emeline, Vuthy, Hugo, Ali, Céline P, Sébastien.

A Benoît, Pierre-Luc, Diane, Morgane M, Stella, Michal, Clémence, Pauline.

A Thibaut B, Claire, Polo, Hervé, Elise, Mathieu, Arnaud, Camille J.

**Rien n'aurait été pareil sans vous. Tout ce qui est gravé ne s'efface jamais. Votre amitié n'a pas de prix.**

*« Les amis sont des compagnons de voyage, qui nous aident à avancer sur le chemin d'une vie plus heureuse »*

-  
*Pythagore*

## ***Une mention particulière,***

### **A ma belle famille,**

Ceux qui de près ou de loin m'ont accueilli avec chaleur et m'ont soutenu comme l'un des leurs jusqu'à ce jour. Je trouve une seconde famille en vous. Merci pour tout.

### **A Alicia et Alex**

On n'imagine plus avancer sans vous. Pour votre amitié, si chère à nos yeux et pour tout ce qu'elle représente maintenant, merci tout simplement.

### **A Jean-Michel Lavigne**

Merci pour avoir cru en moi, si tôt, si jeune. Vous n'avez cessé de me renouveler votre confiance la plus totale depuis 10 ans. Elle m'honore au plus au point. Recevez ici, ma gratitude la plus profonde et mon amitié la plus sincère. Sans vous, ma vie n'aurait pas été la même, vous occupez une place particulière à mes yeux.

### **Au Bureau du SJBM (2016-2019)**

A notre force collective, notre engagement. A nos combats passés et à nos luttes futures. Merci les gars, auprès de vous j'apprends.

### **A Lionel Barrant, Président du SJBM**

Tu me témoignes une confiance sans faille. Ton soutien et ton amitié me sont précieux. Ta rencontre a irrémédiablement changé ma vie. Merci pour tout !

## ***A mes proches,***

### **A mes parents**

Nous taisons tant de choses si souvent. Pas après pas, vous m'avez fait grandir, m'avez porté, m'avez élevé, comme première priorité. Ici, publiquement, avec force mais pudeur, je vous témoigne tout mon amour, immense, éternel.

Rien, sans votre appui. Rien, sans votre amour. Rien, sans vous.

### **A mon frère**

Mon Bro... Mon Bro, on nous dit si différents, mais le sommes nous vraiment ? Je nous trouve pourtant si semblables, si proches. Depuis ta naissance, notre enfance complice, et pour toujours, tu es irremplaçable. Avec toi je me suis construit et c'est encore le cas aujourd'hui.

Rien, sans ces moments partagés. Rien, sans ton rire. Rien, sans toi.

### **A Mami Huguette**

Ma petite mami, depuis toujours, là, à chaque pas, chaque chute, chaque chagrin. Supportrice des premiers jours, au soutien indéfectible. 28 ans Mami, ce que je suis aujourd'hui, je te le dois aussi.

Rien, sans ton réconfort. Rien, sans tes câlins. Rien, sans toi.

### **A Papi Jean**

Mon Papi, exemple parmi les exemples, maître parmi les maîtres, guide parmi les guides. J'apprends tellement de toi indéfiniment, La rareté des choses les rend précieuses. Chaque heure avec toi est un moment, gravé à jamais.

Rien, sans nos discussions interminables. Rien, sans tes conseils. Rien, sans toi.

### **A Mami Kiki**

Si douce, ta présence si rassurante. Je redeviens un enfant à chaque fois que je te vois, blotti dans l'air chaud d'une maison chaleureuse et familiale. A mes frites et ma purée de Proust.

Rien, sans ta chaleur. Rien, sans tes bisous. Rien, sans toi.

### **A Nini et Philo**

Je trouve tant de bonheur auprès de vous. De parties de jeux endiablées aux longues discussions, de l'oreille attentive aux grands fous-rires.

Rien, sans votre présence. Rien, sans vos rires. Rien, sans vous.

### **A mon fils, Clément**

Je pensais écrire ces lignes avant que tu ne pointes le bout de ton nez. Mais c'est tellement merveilleux de les écrire en le voyant près de moi, tout à côté. Ta naissance me transforme déjà. Tu es si beau, si mignon et si chevelu ! Tu as déjà tout mon amour, inconditionnel. Nous t'attendions avec impatience. A nous maintenant, la vie.

Tout, pour ton bonheur. Tout, pour ton sourire. Tout, pour toi.

### **A toi, Elodie**

Que serais-je sans toi ? Toi, ma meilleure supportrice, ma meilleure amie, ma confidente et mon réconfort. Toi qui depuis 7 ans me soutient, m'épaule et me guide. Cet accomplissement est autant le tien que le mien.

Solides depuis les premiers instants, nous avons franchi ensemble tant d'étapes, tant d'obstacles. Tu me connais par coeur, tu me comprends comme personne.

A tes côtés, la vie est plus simple. A tes côtés, l'avenir est clair. A tes côtés, je grandis encore, je me construis, et j'avance. A tes côtés, aucune épreuve ne me semble infranchissable.

La vie est à nous.

Rien, sans tes bras rassurants. Rien, sans ton amour. Rien, sans toi. Je t'aime.

### **A Mami Monique**

*Le vide que tu laisses est immense. Je me souviens de mes débuts, de ton enthousiasme. Je te dédie cette thèse, Mami. Je sais que tu aurais été tellement fière, que de là où tu es, tu l'es...*

*« On ne voit bien qu'avec le coeur. L'essentiel est invisible pour les yeux. »*

*Antoine de Saint-Exupéry*

## Table des matières

---

Remerciements .....	4
Abréviations .....	15
Liste des tableaux .....	17
Liste des figures .....	18
Introduction.....	21
Partie 1. Revue bibliographique et état des connaissances actuelles .....	23
I.    HISTORIQUE ET TAXONOMIE .....	23
II. <i>CUTIBACTERIUM ACNES</i> : CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES DE L'ESPECE.....	27
A.  Niche écologique .....	27
B.  Caractéristiques bactériologiques .....	30
III. <i>CUTIBACTERIUM ACNES</i> : TYPAGE ET PHYLOTYPES .....	33
A.  Etapes clés .....	33
B.  Techniques et méthodes de typage .....	37
1.  Les premières méthodes de typage .....	37
2.  Typage par analyse des séquences.....	37
3.  Typage par analyse du génome entier .....	39
4.  Ribotypage.....	40
5.  Typage par analyse d'une séquence ciblée .....	40
6.  Typage par PCR.....	41
7.  Typage par spectrométrie de masse MALDI-TOF/MS.....	42
7.1. Principe et utilisation de la spectrométrie de masse .....	42
7.1.1. Principe général.....	42
7.1.2. La Désorption et Ionisation par Laser Assistées par Matrice (MALDI) .....	43
7.1.3. Les analyseurs de type temps de vol (TOF ) .....	45
7.1.4. Identification et règles d'interprétation pour le MALDI-TOF/MS Bruker.....	46
7.2. Utilisation de la spectrométrie de masse pour le typage de <i>C. acnes</i> .....	47
7.2.1. Présentation des travaux de Dekio <i>et al.</i> , 2013 .....	47
7.2.2. Présentation des travaux de Nagy <i>et al.</i> , 2013.....	48
7.2.3. Présentation des travaux de Dekio <i>et al.</i> , 2015 .....	51
8.  Standardisation des méthodes de typage.....	53

IV.	CUTIBACTERIUM ACNES : POUVOIR PATHOGENE .....	55
A.	Facteurs de virulence .....	55
B.	Reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte et réponse immune .....	56
1.	Immunité innée .....	56
2.	Immunité adaptative .....	56
C.	Formation de biofilm .....	57
V.	CUTIBACTERIUM ACNES : PRESENTATION CLINIQUE.....	61
A.	Infection superficielle : acné vulgaire.....	62
B.	Infections sans matériel .....	63
1.	Syndrome SAPHO .....	63
2.	Sarcoïdose .....	64
3.	Cancer de la prostate .....	65
C.	Infections sur prothèses et matériel .....	66
1.	Infections sur dispositif cardio-vasculaire .....	66
2.	Infections sur prothèses mammaires.....	67
3.	Infections intraoculaires.....	68
4.	Infections de dérivations neurochirurgicales .....	68
5.	Ostéomyélite vertébrale (spondylodiscite) .....	69
6.	Infections sur prothèse articulaires.....	69
6.1.	Origine de la contamination .....	70
6.2.	C. acnes et localisation .....	70
6.3.	Symptomatologie .....	71
6.4.	Facteurs de risques ou associés .....	72
VI.	CUTIBACTERIUM ACNES : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE ET ELEMENTS THERAPEUTIQUES DANS LES INFECTIONS ASSOCIEES A DU MATERIEL ETRANGER.....	73
A.	Diagnostic microbiologique.....	73
1.	Prélèvements et mise en culture.....	73
2.	Critères diagnostiques.....	74
B.	Stratégie thérapeutique .....	76
1.	Prévention .....	76
2.	Sensibilité aux antibiotiques.....	77
2.1.	Emergence des résistances .....	77
2.2.	Antibiogramme.....	78
2.3.	Mécanismes de résistance .....	79

2.4. Biofilm.....	80
3. Stratégies thérapeutiques dans les infections sur matériel .....	81
3.1. Traitements chirurgicaux (cas des infections de prothèses) .....	81
3.2. Antibiothérapie .....	82
VII. CUTIBACTERIUM ACNES ET ASSOCIATION DES PHYLOTYPES : OÙ EN EST-ON ? .....	83
A. Phylotypes et tropismes clinique .....	83
1. Phylotypes et acné .....	84
2. Phylotypes et infections ostéo-articulaires sur matériel.....	86
2.1. Présentation des travaux de Sampedro et al., 2009 .....	86
2.1.1. Matériel et Méthodes .....	86
2.1.2. Résultats .....	88
2.1.3. Confirmation par les travaux d'Aubin <i>et al.</i> , 2017.....	90
2.2. Présentation des travaux de McDowell <i>et al.</i> , 2013 .....	90
2.3. Présentation des travaux de Rollason <i>et al.</i> , 2013 .....	92
2.3.1. Matériel et Méthodes .....	92
2.3.2. Résultats .....	92
3. Phylotypes et autres infections .....	94
B. Phylotypes et génome .....	94
C. Phylotypes et virulence .....	95
D. Phylotypes et système immunitaire .....	96
E. Phylotypes et tropisme cellulaire .....	97
F. Phylotypes et biofilm.....	97
G. Phylotypes et résistances aux antibiotiques .....	98
Partie 2. Phylotypage des souches de <i>C. acnes</i> provenant des prélèvements ostéo-articulaires du CHU de Toulouse .....	99
I. OBJECTIFS .....	99
II. MATERIELS ET METHODES .....	101
A. Extraction des données .....	101
B. Rappel de la prise en charge des prélèvements au laboratoire .....	102
C. Extraction des souches pour l'étude .....	103
D. Réensemencements et nouvelles cultures.....	104
E. Identification des <i>C. acnes</i> par spectrométrie de masse .....	104
F. Phylotypage des souches de <i>C. acnes</i> .....	106
G. Recherche prospective d'une mono ou polyphylotypie.....	106

H.	Analyse statistique .....	110
III.	RESULTATS.....	111
A.	Données démographiques et distribution des phylotypes de <i>C. acnes</i> .....	111
1.	Données démographiques .....	111
1.1.	Données générales .....	111
1.2.	Nombre de prélèvements .....	111
1.3.	Délai de positivité .....	112
1.4.	Germes associés .....	112
1.5.	Résistances aux antibiotiques .....	113
1.6.	Localisation anatomique .....	113
1.7.	Type de prélèvements .....	114
2.	Obtention des phylotypes .....	115
2.1.	Phylotypes mis en évidence .....	115
2.2.	Distribution des phylotypes .....	119
B.	Recherche d'associations pertinentes entre les phylotypes de <i>C. acnes</i> et les paramètres démographiques et cliniques des patients .....	121
1.	Phylotype et Age .....	121
2.	Phylotype et sexe .....	122
3.	Phylotype et délai de positivité des cultures.....	123
4.	Phylotype et germes associés.....	124
5.	Phylotype et résistances aux antibiotiques.....	124
6.	Phylotype et nombre de prélèvements positifs .....	125
7.	Phylotype et localisation anatomique.....	128
7.1.	Hanche.....	128
7.2.	Genou .....	130
7.3.	Epaule .....	132
7.4.	Membre inférieur .....	134
7.5.	Membre supérieur.....	136
8.	Phylotype et type de prélèvement.....	139
8.1.	Matériel .....	139
8.2.	Liquide articulaire/synoviale .....	141
8.3.	Os.....	143
8.4.	Tissus mous .....	145

C. Recherche prospective d'une mono ou polyphylotypie.....	148
1. Résultats de l'étude .....	148
2. Données supplémentaires provenant de l'étude rétrospective .....	150
Partie 3. Discussion et perspectives .....	152
I. Données démographiques et phylotypage au laboratoire .....	152
II. Phylotypes et associations .....	154
III. Monophylotypie .....	156
IV. Limites de l'étude .....	157
V. Synthèse et perspectives.....	158
Conclusion .....	161
Bibliographie.....	162
Annexes .....	171

## Abréviations

---

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

BRU : Gélose Brucella + 5% de sang de cheval

CAMP : Christie-Atkins-Munch-Peterson

CC : Complexe clonal

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration minimale inhibitrice

COS : Gélose Columbia + 5% de sang de mouton

CRISPR : Clustered regularly interspaced short palindromic repeats - Courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées

CRP : Protéine C réactive

DSM : Deutsche sammlung von mikroorganismen

ESCMID : European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases - Société Européenne de Microbiologie Clinique et des Maladies Infectieuses

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

IgG : Immunoglobuline G

IL : Interleukine

IOA : Infection ostéo-articulaire

IOAM : Infection ostéo-articulaire sur matériel

LCR : Liquide céphalo-rachidien

MALDI : Matrix assisted laser desorption ionisation - Désorption-ionisation laser assistée par matrice

MLS : Macrolide-lincosamide-streptogramine B

MLST : Multi-locus sequence typing

MLVA : Multiple-loci VNTR analysis - Analyse de plusieurs locus VNTR

MS : Mass spectrometry - Spectrométrie de masse

PCR : Polymerase chain reaction - Réaction en chaîne par polymérase

PSM : Poste de sécurité microbiologique

PVX : Gélose Chocolat PolyViteX

RAPD : Random amplified polymorphic DNA - Amplification aléatoire d'ADN polymorphe

SAPHO : Synovite, Acné, Pustulose, Hyperostose, Ostéite

SELDI : Surface enhanced laser desorption ionization - Désorption-ionisation au laser à surface améliorée

SIL : Système informatique de gestion du laboratoire

SLST : Single-locus sequence typing

SNP : Single-nucleotide polymorphism

SOFCOT : Société Française de Chirurgie orthopédique et Traumatologique

SPILF : Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française

THI : Thioglycolate

TLR : Toll-like receptors

TOF : Time of flight - Temps de vol

VNTR : Variable number of tandem repeats - Répétition en tandem polymorphe

VPN : Valeur prédictive négative

VPP : Valeur prédictive positive

## Liste des tableaux

---

<u>Tableau I</u> : Résumé des nomenclatures de phytotypes de <i>C. acnes</i> obtenues avec les principales méthodes de typage décrites, et les complexes clonaux, types ou ribotypes correspondants. <sup>37</sup> .....	36
<u>Tableau II</u> : Résumé des données des 61 souches de <i>C. acnes</i> analysés par Nagy <i>et al.</i> <sup>9</sup> .....	50
<u>Tableau III</u> : Résumé des caractéristiques spectrales des types identifiés de <i>C. acnes</i> <sup>9</sup> .....	51
<u>Tableau IV</u> : Liste des pathologies associées à <i>C. acnes</i> colligées par Achermann <i>et al.</i> : Revue de la littérature <sup>3</sup> .....	61
<u>Tableau V</u> : Classification de Lutz <i>et al.</i> <sup>173</sup> .....	75
<u>Tableau VI</u> : Critères en faveur d'une infection à <i>C. acnes</i> (probabilité > 90 %) d'après Asseray <i>et al.</i> <sup>173,185</sup> .....	75
<u>Tableau VII</u> : Proposition de classification remaniée pour l'évaluation de la probabilité d'infections à <i>C. acnes</i> .....	76
<u>Tableau VIII</u> : CMI seuils rapportées par EUCAST pour les bactéries Gram positifs anaérobies et par le CLSI pour <i>Cutibacterium acnes</i> <sup>3</sup> .....	79
<u>Tableau IX</u> : Associations entre phylotype de <i>C. acnes</i> et pathologies, mentionnées dans la littérature <sup>7</sup> .....	83
<u>Tableau X</u> : Distribution des phylotypes de <i>C. acnes</i> en fonction du type de prothèse dans l'étude de Sampedro <i>et al.</i> .....	89
<u>Tableau XI</u> : Résumé des effectifs de l'étude rétrospective de phylotypage de <i>C. acnes</i> .....	104
<u>Tableau XII</u> : Distribution des phylotypes par année .....	119
<u>Tableau XIII</u> : Moyennes, médianes, valeurs minimales et maximales des délais de positivité des cultures obtenus pour chaque phylotype. ....	123
<u>Tableau XIV</u> : Nombre et pourcentage de souches mises en évidence avec des germes associés, en fonction du phylotype observé. ....	124
<u>Tableau XV</u> : Répartition des phylotypes en deux groupes Y (IB-IC, II, IA, III) et Z (X, U, mixte). ....	127
<u>Tableau XVI</u> : Résumé des principaux phylotypes obtenus en fonction de la localisation anatomique. ....	138
<u>Tableau XVII</u> : Résumé des principaux phylotypes obtenus en fonction du type de prélèvement.....	147
<u>Tableau XVIII</u> : Résumé de l'étude prospective sur la recherche de mono ou polyphylotypie.....	149

## Liste des figures

---

<u>Figure 1</u> : Arbre phylogénétique de la famille des Propionibacteriaceae construit sur la comparaison des séquences de l'ARNr 16S de chaque souche <sup>5</sup> .....	25
<u>Figure 2</u> : Schéma de l'histologie de la peau vu en coupe et des microorganismes détectés au niveau des phanères et à la surface de la peau <sup>1</sup> .....	27
<u>Figure 3</u> : Distribution topographique des bactéries selon les sites cutanés <sup>1</sup> .....	28
<u>Figure 4</u> : Abondance cutanée relative des espèces de <i>Cutibacterium</i> obtenue par séquençage du gène de l'ARNr 16S de 10 patients <sup>3,34</sup> .....	29
<u>Figure 5</u> : Culture pure de <i>C. acnes</i> sur gélose brucella, ensemencée à partir d'un prélèvement orthopédique en 2018 au laboratoire de Bactériologie médicale du CHU de Toulouse. ....	31
<u>Figure 6</u> : Culture pure de <i>C. acnes</i> sur gélose au sang anaérobie, ensemencée à partir d'un prélèvement neuro-chirurgical en 2018 au laboratoire de Bactériologie médicale du CHU de Toulouse. ....	31
<u>Figure 7</u> : <i>Cutibacterium acnes</i> (coloration de Gram). ....	32
<u>Figure 8</u> : Carte génétique du chromosome de <i>C. acnes</i> <sup>79</sup> .....	36
<u>Figure 9</u> : Cartes du génome de <i>C. acnes</i> montrant la répartition des neuf gènes utilisés dans le schéma MLST d'Aarhus et des sept gènes utilisés dans le schéma MLST de Belfast <sup>65</sup> . ....	38
<u>Figure 10</u> : Arbre phylogénétique de <i>C. acnes</i> obtenu par analyse de séquences multilocus (MLST8) selon le schéma de Belfast <sup>6</sup> .....	39
<u>Figure 11</u> : Arbre Phylogénétique de <i>C. acnes</i> obtenu par typage SLST <sup>75</sup> . ....	41
<u>Figure 12</u> : Représentation schématisée des étapes de la spectrométrie de masse. ....	43
<u>Figure 13</u> : Schématisation du fonctionnement d'un spectromètre de masse MALDI-TOF <sup>86</sup> . ....	43
<u>Figure 14</u> : Schématisation des dépôts préalables à l'identification des micro-organismes par MALDI-TOF/MS <sup>89</sup> . ....	44
<u>Figure 15</u> : Schéma de la phase désorption - ionisation par la technique MALDI.....	45
<u>Figure 16</u> : Schéma d'un analyseur de type TOF-linéaire. ....	46
<u>Figure 17</u> : Vue d'ensemble des spectres de masse de <i>C. acnes</i> obtenus pour les différents types de souches de référence dans l'intervalle 6900-7300 Da <sup>9</sup> .....	49
<u>Figure 18</u> : Répartition des spectres de masse obtenus par technique MALDI-TOF/MS sur des souches de <i>C. acnes</i> .....	52
<u>Figure 19</u> : Algorithme consensus des techniques moléculaires de typage à utiliser pour <i>C. acnes</i> en fonction de la résolution souhaitée <sup>8</sup> . ....	54
<u>Figure 20</u> : Représentation schématisée des différentes étapes conduisant à la formation d'un biofilm <sup>120,121</sup> .....	58
<u>Figure 21</u> : Microscopie électronique à balayage d'un biofilm d'isolat de <i>C. acnes</i> .....	59

<u>Figure 22</u> : Microscopie électronique du biofilm formé par une souche de <i>C. acnes</i> (phylotype IB) sur billes de verre. <sup>131</sup> .....	59
<u>Figure 23</u> : Microscopie électronique du biofilm formé par une souche de <i>C. acnes</i> (phylotype IA) sur tige d'acier inoxydable <sup>3</sup> . .....	60
<u>Figure 24</u> : Schéma des différentes cibles de <i>C. acnes</i> et conséquences dans la pathogénèse de l'acné <sup>28</sup> .....	63
<u>Figure 25</u> : Diversité des infections sur matériel causées par <i>C. acnes</i> <sup>4</sup> . .....	66
<u>Figure 26</u> : Infection sur prothèse d'épaule gauche.....	72
<u>Figure 27</u> : Répartition des phylotypes de <i>C. acnes</i> entre visage et dos, chez des volontaires sains et des patients souffrant d'acné sévères <sup>196</sup> .....	85
<u>Figure 28</u> : Critères et distribution des sujets de l'étude de Sampedro <i>et al.</i> .....	87
<u>Figure 29</u> : Distribution des phylotypes de <i>C. acnes</i> dans les 4 groupes cliniques de l'étude de Sampedro <i>et al.</i> .....	88
<u>Figure 30</u> : Association des phylotypes de <i>C. acnes</i> avec différents états cliniques et une peau normale. Les données ont été obtenues à partir de l'analyse MLST de 372 isolats <sup>71</sup> .....	91
<u>Figure 31</u> : Distribution des phylotypes de <i>C. acnes</i> isolés de tissus discaux excisés de l'étude de Rollason <i>et al.</i> .....	93
<u>Figure 32</u> : Spectromètre de masse du CHU du laboratoire de bactériologie du CHU. ....	105
<u>Figure 33</u> : Logiciel Bruker de sous-typage de <i>C. acnes</i> .....	106
<u>Figure 34</u> : Répartition des dossiers en fonction du nombre de prélèvements positifs à <i>C. acnes</i> . ...	112
<u>Figure 35</u> : Répartition des dossiers en fonction de la localisation anatomique. ....	114
<u>Figure 36</u> : Répartition des souches en fonction du type de prélèvement. ....	114
<u>Figure 37</u> : Spectres de phylotypes IA, IB-IC, II et III obtenus.....	115
<u>Figure 38</u> : Spectre du phylotype inconnu récurrent nommé X.....	117
<u>Figure 39</u> : Exemple de spectre de phylotype non identifié regroupé sous la dénomination U.....	117
<u>Figure 41</u> : Distribution des phylotypes sur la période 2014-2017. ....	120
<u>Figure 42</u> : Distribution des phylotypes par année. ....	120
<u>Figure 43</u> : Nombre de chaque phylotype obtenu en fonction de l'âge des patients.....	122
<u>Figure 44</u> : Nombre de chaque phylotype obtenu en fonction du sexe.....	122
<u>Figure 45</u> : Répartition des souches de sensibilité diminuée en fonction des phylotypes et des types de résistance. ....	125
<u>Figure 46</u> : Répartitions des phylotypes en fonction du nombre de prélèvements positifs à <i>C. acnes</i> . .....	126
<u>Figure 47</u> : Répartition des phylotypes des prélèvements de hanche. ....	129
<u>Figure 48</u> : Répartition des phylotypes des prélèvements de genou.....	131

<u>Figure 49</u> : Répartition des phylotypes des prélèvements d'épaule. ....	133
<u>Figure 50</u> : Répartition des phylotypes des prélèvements du membre inférieur. ....	135
<u>Figure 51</u> : Répartition des phylotypes des prélèvements du membre supérieur.....	137
<u>Figure 52</u> : Répartition des phylotypes des prélèvements de matériel. ....	140
<u>Figure 53</u> : Répartition des phylotypes des liquides articulaires et prélèvements synoviaux. ....	142
<u>Figure 54</u> : Répartition des phylotypes des prélèvements osseux.....	144
<u>Figure 55</u> : Répartition des phylotypes des prélèvements de tissus mous. ....	146

## Introduction

---

*Cutibacterium acnes* est une bactérie Gram positif, anaérobie aérotolestante, résidente majeure de la flore commensale cutanée humaine normale. Lipophile, elle colonise principalement les follicules pileux et les glandes sébacées<sup>1,2</sup>.

Longtemps décrite comme une bactérie à faible pouvoir pathogène, son implication dans de nombreuses présentations cliniques a depuis été rapportée. Son rôle dans la pathogénèse de l'acné est bien connu depuis des décennies, mais dernièrement *C. acnes* a été fréquemment mis en cause dans le syndrome SAPHO (Synovite, Acné, Pustulose, Hyperostose, Ostéite), la sarcoïdose, le cancer de la prostate. Cependant, ce sont les infections sur prothèses et matériel qui représentent les principales infections invasives à *C. acnes*. Dispositifs cardio-vasculaires, intraoculaires, prothèses mammaires, dérivations neurochirurgicales, matériel rachidien, prothèses articulaires (notamment prothèses d'épaule) sont principalement concernés<sup>3,4</sup>.

L'espèce est aujourd'hui classée en 6 grands phylotypes : IA<sub>1</sub>, IA<sub>2</sub>, IB, IC, II et III. L'obtention des connaissances taxonomiques et phylogénétiques actuelles a nécessité un demi-siècle de travaux et publications, et la remise en question de classifications jusqu'alors tenues pour acquises<sup>5,6</sup>.

Au fil des années, l'apport synergique des techniques morphologiques, bactériologiques, biochimiques, immunologiques, ou de séquençage génomique a permis d'affiner considérablement les données sur *C. acnes*. Son typage, aujourd'hui réalisable par de nombreuses méthodes dont la sensibilité et le pouvoir discriminant s'améliorent continuellement, est un outil indispensable afin de mieux comprendre les liens existant entre bactérie et infection<sup>7,8</sup>.

Les premières études importantes de phylotypage, réalisées simultanément à la mise au point des techniques de typage génomique MLST, ont offert les premières connaissances sur la répartition des phylotypes en fonction des localisations anatomiques de prélèvement des souches et des pathologies associées. Ainsi, l'idée générale que les souches de phylotype IA sont majoritairement associées à l'acné et celles de phylotypes IB et II préférentiellement isolées d'infections sur prothèses articulaires, de matériel rachidien et d'infections profondes, a reçu un certain écho au fil des publications sur le sujet. Cependant, très peu

d'études phylotypiques se sont jusqu'alors intéressées spécifiquement aux infections ostéo-articulaires, représentant pourtant une part majeure des infections causées par *C. acnes*, et un enjeu médical de taille dans la prise en charge des patients des services d'orthopédie - traumatologie bénéficiant de chirurgies ostéo-articulaires.

La spectrométrie de masse MALDI-TOF, utilisée au laboratoire de bactériologie du CHU de Toulouse comme méthode d'identification des germes mis en évidence en culture, est en mesure de discriminer les phylotypes de *C. acnes*, avec une excellente corrélation vis-à-vis des techniques de génomiques MLST utilisées en recherche fondamentale<sup>9</sup>.

Devant l'importance d'un diagnostic bactériologique fiable pour la prise en charge des patients, et conscients de la nécessité d'arguments microbiologiques supplémentaires dans certaines situations cliniques afin de statuer sur une infection vraie ou une colonisation à *C. acnes* dans les infections ostéo-articulaires, nous avons souhaité procéder au phylotypage par spectrométrie de masse des souches ostéo-articulaires de *C. acnes* isolées au laboratoire de bactériologie entre 2014 et 2017.

Nous poursuivons l'objectif général d'évaluer l'intérêt d'un tel phylotypage, ainsi que la faisabilité d'une mise en place en routine au laboratoire, le cas échéant. Pour cela, la distribution phylotypique a été analysée, et une recherche d'associations pertinentes entre les phylotypes et des données démographiques et cliniques des patients, a été entreprise. Enfin, la recherche prospective d'une mono ou polyphylotypie des cultures et prélèvements positifs à *C. acnes* est venue compléter nos premiers résultats.

La première partie de ce mémoire est consacrée à une revue bibliographique. Après un rappel sur l'historique des découvertes et la classification taxonomique de l'espèce *Cutibacterium acnes*, nous présenterons les différentes méthodes de typage et la spectrométrie de masse puis l'importance de *C. acnes* en pathologie humaine et sa prise en charge. Enfin, nous détaillerons l'état de l'art sur les phylotypes de *C. acnes* par une revue de la littérature sur le sujet.

La deuxième partie est dédiée à la présentation de l'étude que nous avons menée ainsi qu'aux résultats que nous avons pu en extraire.

Enfin, une discussion générale de nos résultats ainsi que la présentation des perspectives ouvertes par ce travail, tiendront lieu de troisième partie et précéderont la conclusion de ce mémoire.

## Partie 1.

### Revue bibliographique et état des connaissances actuelles

---

#### I. HISTORIQUE ET TAXONOMIE

Aujourd'hui dénommée *Cutibacterium acnes*, cette espèce bactérienne est observée pour la première fois en 1896 par Paul Unna sur des coupes histologiques issues de comédons acnéiques<sup>10</sup>. En 1897, Raymond Sabouraud obtient la première culture pure à partir de prélèvements acnéiques<sup>11,12</sup>.

Décrit pour la première fois en 1901 par Gilchrist<sup>13</sup>, *Cutibacterium acnes* est classé initialement dans le genre *Bacillus*, puis dans le genre *Corynebacterium* en 1923 par Bergey *et al.* en raison de sa morphologie<sup>14</sup>, et dénommé "corynebactérie anaérobie". Cette classification est rapidement remise en question. En 1946, Douglas et Gunter proposent de classer *C. acnes* dans le genre *Propionibacterium* avec lequel il partage d'autres caractéristiques<sup>15</sup>, malgré les similitudes observées entre *C. acnes* et les bactéries de genre *Corynebacterium*.

La dénomination *Propionibacterium acnes* est validée en 1963 par Moore et Cato<sup>16</sup> puis en 1967 quand Moss *et al.* comparent la composition en acides gras et le mécanisme de fermentation. En effet, à l'image d'autres espèces du genre, elle fermente le lactose en acide propionique en atmosphère anaérobie. Le reclassement de *Corynebacterium acnes* en *Propionibacterium acnes* sera accompagné du reclassement des bactéries *Corynebacterium parvum* et *Corynebacterium granulosum* en *Propionibacterium parvum* et *Propionibacterium granulosum*<sup>17</sup>.

Le genre *Propionibacterium* hébergeait alors de nombreuses espèces, séparées en deux groupes selon l'usage. On distinguait classiquement les "Propionibactéries classiques", encore appelées "laitières" regroupant les espèces saprophytes isolées dans les produits laitiers et non pathogènes pour l'Homme, des espèces commensales retrouvées sur la peau dites "Propionibactéries cutanées".

- Parmi les "Propionibactéries classiques" on retrouvait l'espèce *Propionibacterium freudenreichii*, connue pour sa contribution à l'affinage des fromages suisses (ou fromages à pâte pressée cuite) et dans lesquels sa concentration est la plus élevée<sup>18-20</sup>; *Propionibacterium acidipropionici* pour ses effets bénéfiques dans le rumen bovin<sup>21</sup>; ainsi

que *Propionibacterium acidifaciens*<sup>22</sup>, *Propionibacterium cyclohexanicum*<sup>23</sup>, *Propionibacterium australiense*<sup>24</sup>, *Propionibacterium jensenii*, *Propionibacterium thoenii*, *Propionibacterium microaerophilum*<sup>25</sup>, *Propionibacterium olivae*<sup>26</sup>, *Propionibacterium damnosum*<sup>26</sup> et *Propionibacterium propionicum*<sup>27</sup>. Deux sous-espèces de *Propionibacterium freudenreichii* (*freudenreichii* et *shermanii*) ont été séparées sur la base de réactions biochimiques importantes<sup>5</sup>.

- Les "Propionibactéries cutanées" répertoriaient les espèces *Propionibacterium avidum*, *Propionibacterium granulosum* et *Propionibacterium acnes*, cette dernière initialement connue pour ses rôles dans l'acné vulgaire et dans la contamination des prélèvements humains<sup>28,29</sup>. En plus de celles-ci, une nouvelle espèce cutanée, provisoirement appelée *Propionibacterium humerusii*, a été rapportée par Butler-Wu *et al.* en 2011, mais jamais validée taxonomiquement<sup>30</sup>.

En 2016, une nouvelle taxonomie est proposée par Scholz *et al.*<sup>5</sup>. A partir de la comparaison des séquences génomiques (génomome entier) de 162 souches représentant les espèces de la famille des Propionibacteriaceae, ils ont mis en évidence des divergences importantes entre les signaux phylogénétiques de l'analyse de la séquence du gène de l'ARNr 16S et de l'analyse core-genome de haute résolution [Figure 1]. Afin de tenir compte de ces divergences et de répondre au problème taxonomique de *Propionibacterium propionicum*, une description modifiée du genre *Propionibacterium* ainsi que trois nouveaux genres bactériens sont alors proposés :

- *Acidipropionibacterium* gen. nov. : *A. jensenii*, *A. thoenii*, *A. acidipropionici*, *A. microaerophilum*, *A. damnosum* et *A. olivae*.

- ***Cutibacterium*** gen. nov. : *C. acnes*, *C. avidum*, *C. granulosum*, *C. namnetense* et « *C. humerusii* ».

- *Pseudopropionibacterium* gen. nov. : *P. propionicum*

- *Propionibacterium* : *P. freudenreichii*, *P. cyclohexanicum*, *P. acidifaciens* et *P. australiense*.

Anciennement dénommée *Propionibacterium acnes*, et bien que cette appellation soit toujours d'usage, notamment dans les laboratoires de bactériologie médicale, l'espèce bactérienne appartient donc maintenant au genre *Cutibacterium* et est ainsi nommée *Cutibacterium acnes*.

Sa classification taxonomique est la suivante :

REGNE : Bacteria

CLASSE : Actinobacteria<sup>31</sup>

ORDRE : Propionibacteriales

SOUS-ORDRE : Propionibacterineae

FAMILLE : Propionibacteriaceae<sup>31,32</sup>

GENRE : *Cutibacterium*

ESPECE : *C. acnes*

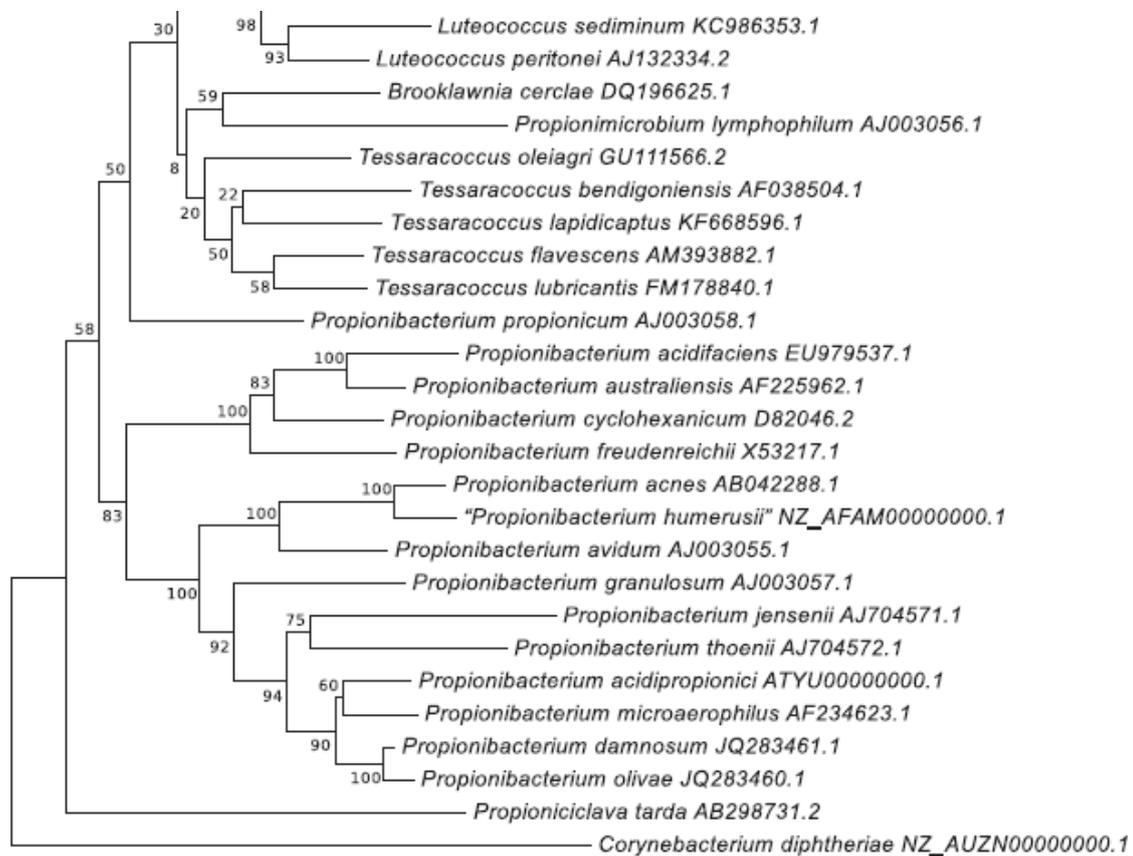


Figure 1 : Arbre phylogénétique de la famille des Propionibacteriaceae construit sur la comparaison des séquences de l'ARNr 16S de chaque souche<sup>5</sup>.

L'espèce *C. acnes* a elle-même été subdivisée en groupes phylogénétiques dont le nombre et la dénomination ont évolué au fil de l'avancée des recherches et connaissances, ainsi que des progrès technologiques en matière de typage, notamment génétique.

Le typage sera ci-après abordé plus longuement (III. *Cutibacterium acnes* : Typage et phylotypes). Pour clore ce paragraphe taxonomie, il faut retenir que depuis la publication de McDowell *et al.* en 2012<sup>6</sup>, un consensus divise l'espèce en 6 groupes phylogénétiques : IA<sub>1</sub>, IA<sub>2</sub>, IB, IC, II et III.

En 2015, Dekio *et al.* proposent de dissocier l'espèce en sous espèces :

- *C. acnes* subsp. *acnes* subsp. nov. pour les phylotypes I et II ;
- *C. acnes* subsp. *elongatum* pour le phylotype III sur des arguments morphologiques (cellules filamenteuses pour le phylotype III, bacilles courts pour les phylotypes I et II), biochimiques (tests pyruvate, L-pyrrolidonyl arylamidase et D-ribose 2 positifs pour les phylotypes I et II, et tous négatifs pour le phylotype III), génétiques (différence de similitude notoire entre les phylotypes I/II et III lors de la comparaison des séquences de génomes entiers des souches), et structurels (profils d'acides gras cellulaires différents) entre autres.

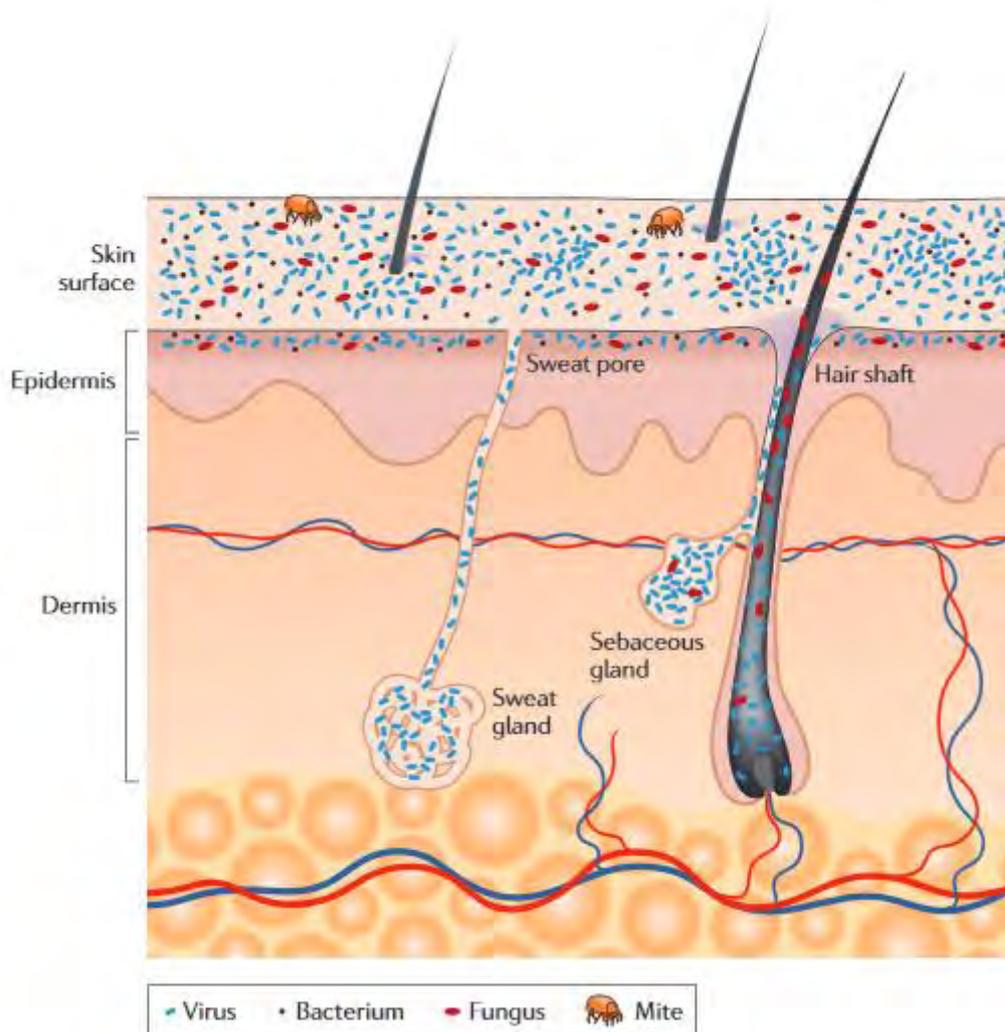
En 2016, McDowell *et al.* proposent de renommer les phylotypes I et II, respectivement en *Cutibacterium acnes* subsp. *acnes* subsp. nov. et *Cutibacterium acnes* subsp. *defendens* subsp. nov. sur la base d'arguments génétiques et moléculaires (similarité ADN-ADN seulement égale à 70-80% entre les deux types) ainsi que bactériologiques et biochimiques (phylotype I décrit comme étant  $\beta$ -hémolytique, fermentant le sorbitol et possédant une activité neuraminidasique, caractéristiques dont le phylotype II serait dépourvu mais possédant lui seul un système CRISPR/Cas actif)<sup>33</sup>.

Ainsi les 3 phylogroupes I, II et III sont proposées comme trois sous-espèces différentes dans la littérature.

## II. CUTIBACTERIUM ACNES : CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES DE L'ESPECE

### A. Niche écologique

*C. acnes* est une bactérie commensale de la peau faisant partie intégrante du microbiote cutané, composé de nombreux micro-organismes [Figure 2].



*Figure 2* : Schéma de l'histologie de la peau vu en coupe et des microorganismes détectés au niveau des phanères et à la surface de la peau<sup>1</sup>.

En 2009, Grice *et al.* retrouvaient 19 phyla bactériens en étudiant la composition du microbiome cutané de 10 patients par séquençage du gène codant l'ARNr 16S, dont les 4 principaux étaient *Actinobacteria* (51,8%), *Firmicutes* (24,4%), *Proteobacteria* (16,5%), et *Bacteroidetes* (6,3%).

Trois genres représentaient plus de 62% des séquences : *Propionibacterium* (23%, *Actinobacteria*), *Corynebacterium* (22,8%, *Actinobacteria*) et *Staphylococcus* (16,8%, *Firmicutes*)<sup>34</sup>.

La peau présente des caractéristiques physiques et chimiques différentes suivant les endroits du corps, avec généralement un pH acide et un environnement sec, ce qui entraîne une sélection au niveau de ces sites de microorganismes, parfaitement adaptés aux différentes niches écologiques [Figure 3].

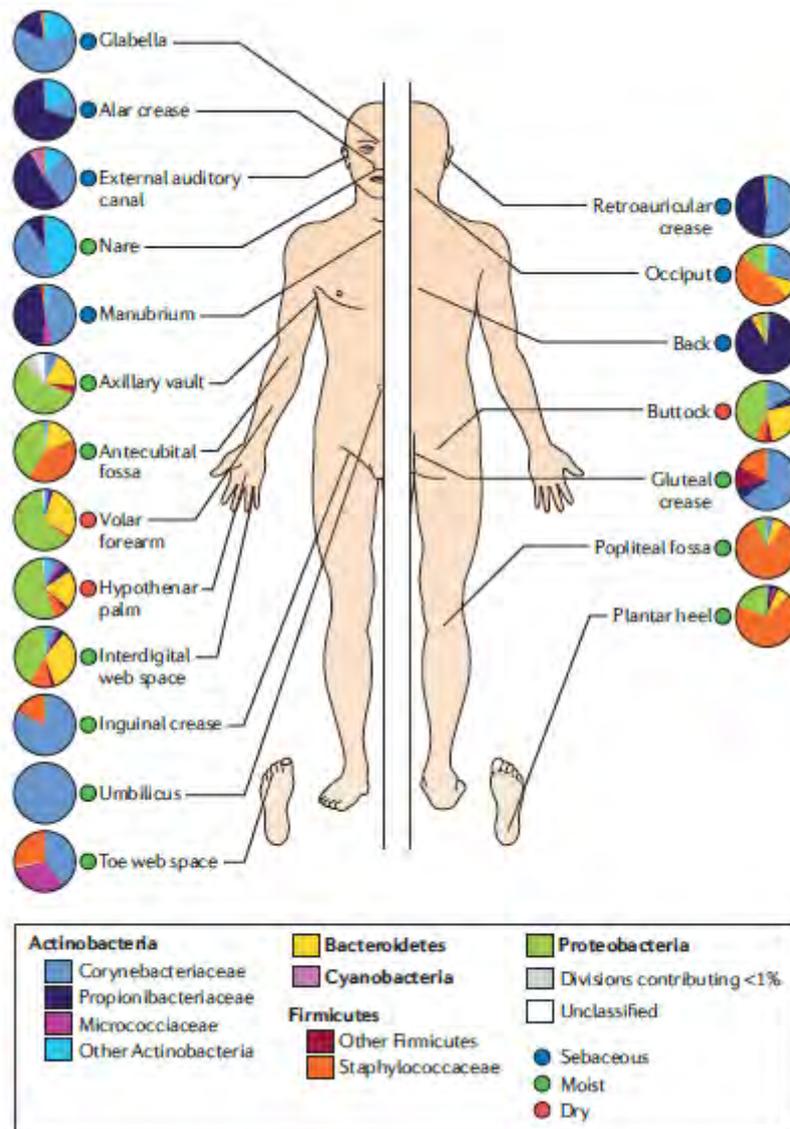
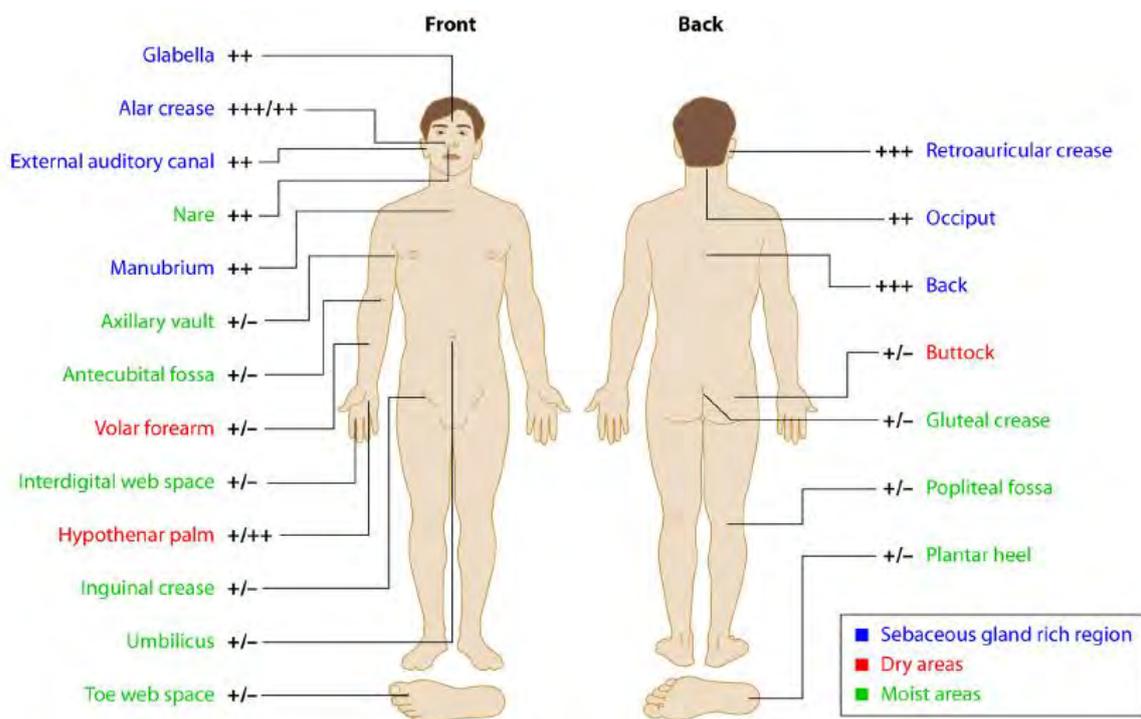


Figure 3 : Distribution topographique des bactéries selon les sites cutanés<sup>1</sup>.

Les structures telles que les follicules pileux et les glandes sébacées, par exemple, abritent un microbiote unique<sup>1,34</sup>.

Les techniques de séquençage du microbiote cutané ont conduit à retrouver les mêmes résultats que les techniques de culture traditionnelles. *C. acnes* fait partie des résidents "commensaux" (par opposition aux résidents "transitoires" et "temporaires") de la flore cutanée avec principalement *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium jeikeium* et *Pseudomonas aeruginosa*<sup>35,36</sup>.

Les propionibactéries sont principalement hébergées par les sites riches en glandes sébacées et follicules pileux de la peau au contact des kératinocytes<sup>2</sup>. C'est pourquoi on retrouve majoritairement *C. acnes* au niveau du visage, du cuir chevelu, de la poitrine et du dos<sup>3</sup> [Figure 4]. Mais il peut également être trouvé dans la bouche, les narines, les poumons, le tractus génito-urinaire, le gros intestin, les ganglions lymphatiques<sup>3</sup>, au niveau conjonctival<sup>37,38</sup> ou encore au niveau de zones cutanées sèches et humides telles que les fesses, l'avant-bras, l'intérieur du coude ou le nombril<sup>1</sup>.



**Figure 4** : Abondance cutanée relative des espèces de *Cutibacterium* obtenue par séquençage du gène de l'ARNr 16S de 10 patients<sup>3,34</sup>.

En 2009, Patel *et al.* ont effectué des cultures semi-quantitatives d'espèces de *C. acnes* et de *Staphylococcus. spp* obtenus à partir de différentes zones de la peau (hanche, genou ou épaule), afin de définir la prévalence et la charge bactérienne en fonction de la localisation. Ils ont constaté que *C. acnes* colonise l'épaule plus fréquemment que la hanche

et le genou et que les hommes ont une charge bactérienne supérieure à celle des femmes<sup>39</sup>. Ces résultats sont en accord avec l'observation clinique de Levy *et al.* qui affirmaient en 2008 que *C. acnes* était plus communément isolé d'infections sur prothèse de d'épaule que d'infections sur prothèse de hanche ou de genou<sup>40</sup>.

## **B. Caractéristiques bactériologiques**

*Cutibacterium acnes* est un bacille à Gram positif anaérobie préférentiel aérotoleérant. Son métabolisme requiert de l'oxygène mais son optimum de croissance est atteint pour des concentrations en oxygène inférieures à 21%<sup>41</sup>. Il peut tolérer l'exposition à l'oxygène pendant plusieurs heures et est capable de survivre *in vitro* dans des conditions anaérobies jusqu'à huit mois<sup>42</sup>. Ceci suggère que la survie de la bactérie sur une période prolongée dans les tissus humains à faible oxydation est possible<sup>42,43</sup>.

Sa paroi lui confère une grande stabilité structurale et une résistance aux dessèchements, aux chocs osmotiques, aux stress mécaniques et aux variations de température.

*C. acnes* est cultivable sur différents milieux : géloses au sang, schaedler, brucella, sang cuit (chocolat), ou bouillons coeur-cerveau, ou encore thioglycolate, entre autres.

En 2011 Butler-Wu *et al.* ont montré qu'aucun milieu n'apparaît plus efficace qu'un autre pour isoler *C. acnes* au sein de prélèvements réalisés pour documenter une infection ostéo-articulaire<sup>44</sup>. Une atmosphère anaérobie ou microaérophile peut être choisie. Le pH optimal de croissance de *C. acnes* se situe entre 6,0 et 7,0<sup>45</sup>.

Sur gélose au sang, les colonies sont initialement petites et blanches, d'1 à 2 mm de diamètre, rondes et opaques légèrement bombées, prenant une teinte beige et un aspect brillant avec le temps<sup>3,41</sup> [Figure 5] et [Figure 6].

Certains auteurs ont montré que certaines souches de phylotype I présentaient un pouvoir  $\beta$ -hémolytique sur gélose schaedler, contrairement aux souches de phylotype II ou III<sup>33</sup>.

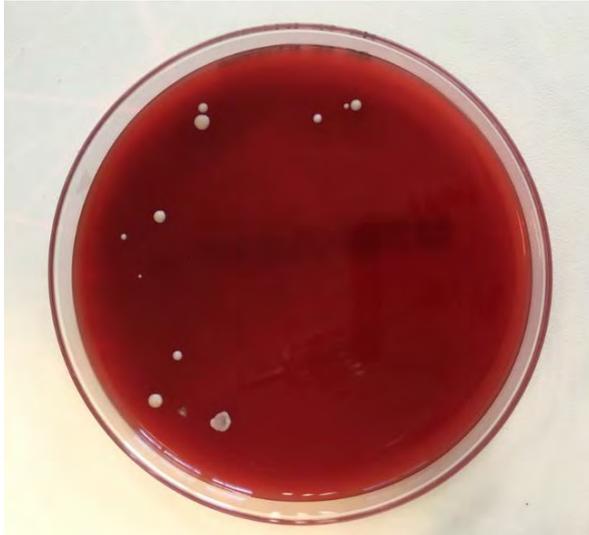


Figure 5 : Culture pure de *C. acnes* sur gélose brucella, ensemencée à partir d'un prélèvement orthopédique en 2018 au laboratoire de Bactériologie médicale du CHU de Toulouse.



Figure 6 : Culture pure de *C. acnes* sur gélose au sang anaérobie, ensemencée à partir d'un prélèvement neuro-chirurgical en 2018 au laboratoire de Bactériologie médicale du CHU de Toulouse.

L'examen direct confirme la présence de *C. acnes* sous la forme de bacilles immobiles à Gram positif, souvent bifides ou comportant de courtes ramifications, non sporulés. Les bactéries sont groupées par paire ou courtes chaînes, rappelant l'aspect corynéforme en idéogrammes chinois<sup>41</sup> [Figure 7].



Figure 7 : *Cutibacterium acnes* (coloration de Gram).

Les souches sont catalase et indole positives en l'absence de glucose<sup>41</sup>. La présence d'acides propioniques et butyriques parmi les produits terminaux de fermentation, mise en évidence par chromatographie, est caractéristique de cette bactérie, cet élément ayant historiquement servi de base à la classification taxonomique. L'identification phénotypique des caractéristiques biochimiques, telles que la fermentation du glucose, du ribose, du sorbitol, de l'érythrol ou bien l'hydrolyse de l'esculine, la production d'indole, ou la réduction des nitrates par exemple, permet de distinguer les principales espèces d'intérêt dont *C. acnes* au sein des propionibactéries<sup>23,46,47</sup>. Manquant néanmoins de spécificité, elle est peu à peu remplacée au sein des laboratoires de bactériologie, principalement par la spectrométrie de masse, qui permet une identification précise des espèces au sein du genre *Cutibacterium* et sur laquelle nous reviendrons plus longuement ultérieurement (III.7. Typage par spectrométrie de masse MALDI-TOF/MS).

Il est important de souligner ici que la valeur diagnostique de la technique d'amplification et de séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S, est discutée : considérée comme bonne par certains auteurs<sup>48,49</sup>, pour d'autres elle manque cruellement de pouvoir discriminant au sein du genre *Cutibacterium*<sup>50</sup>. D'autres techniques d'amplification et de séquençage par PCR existent cependant, ciblant par exemple le gène *rpoB* ou *gyrB*.

Concernant les hémocultures, *C. acnes* se développe préférentiellement dans les flacons anaérobies mais est également capable de se développer dans ceux aérobie en raison du microenvironnement anaérobie qui se développe au fond des flacons<sup>51</sup>. La température optimale pour sa croissance se situe entre 30 °C et 37 °C<sup>52</sup>. Le délai moyen de détection de la croissance des espèces de *Cutibacterium* dans les hémocultures est de 6,4 jours pour les flacons anaérobies contre 6,1 jours pour les flacons aérobie (de 2 jours à 15

jours)<sup>51</sup>. Les cultures de tissus nécessitent une incubation plus longue, de 5 à 10 jours voire 14 jours, afin d'isoler *C. acnes*<sup>53-55</sup>.

En 2004, Bruggemann *et al.* ont entièrement séquencé le génome de la souche KPA171202 (noDSM 16379) de *C. acnes*, révélant ainsi que le génome est constitué d'un seul chromosome circulaire de 2 560 265 paires de bases codant 2333 gènes potentiels<sup>56</sup>.

### III. CUTIBACTERIUM ACNES : TYPAGE ET PHYLOTYPES

#### A. Etapes clés

Il a fallu un certain temps avant d'aboutir au consensus auquel nous semblons être parvenus concernant *C. acnes* et ses phylotypes. Les nombreuses publications de ces dernières décennies ont permis d'accroître considérablement les connaissances sur le sujet, tout en semant parfois la confusion, chaque équipe de recherche usant de nomenclatures différentes pour évoquer les mêmes phylotypes en fonction des techniques utilisées : IA, I<sub>A</sub>, IA1, IA-1, IA<sub>1</sub> ...

Avant de poursuivre notre exposé, un bref retour sur la chronologie des événements et sur les découvertes clés est essentiel, afin de pouvoir replacer les résultats des travaux des équipes de recherche dans leur contexte au moment de leur publication.

**1972 :** - Johnson et Cummins : Distinction des phylotypes I et II sur la base de tests sérologiques d'agglutination, d'analyse des sucres de la paroi et de typage antigénique par anticorps monoclonaux<sup>57,58</sup>.

**1978 :** - Webster *et al.* : Distinction des phylotypes I et II basée sur l'utilisation de bactériophages et d'anticorps polyclonaux marqués (immunofluorescence)<sup>59</sup>.

**2003 :** - Perry *et al.* : Développement de la technique d'amplification aléatoire des polymorphismes de l'ADN (RAPD)<sup>60</sup>.

**2004 :** - Oprica *et al.* : Développement de la technique d'électrophorèse sur gel en champ pulsé<sup>61</sup>.

- Bruggemann *et al.* : Séquençage entier du génome de la souche KPA171202 (noDSM 16379) de *C. acnes* révélant la présence d'un seul chromosome circulaire de 2 560 265 paires de bases codant 2333 gènes potentiels<sup>56</sup> [Figure 8].

**2005** : - McDowell *et al.* : Typage par analyse de séquences à partir d'un schéma uni-locus des gènes *recA* et *tly*. Distinction par biologie moléculaire des phylogroupes I et II<sup>58</sup>.

**2006** : - Shannon *et al.* : Différenciation des phylotypes I et II par PCR<sup>62</sup>.

**2008** : - McDowell *et al.* : Subdivision du sous-type I en IA et IB et découverte du sous-type III à partir de l'étude du polymorphisme du gène de ménage *recA* et du typage antigénique par anticorps monoclonaux<sup>63</sup>.

**2010** : - Lomholt et Kilian : Développement du schéma Aarhus, technique de typage à partir de séquences multi-locus (MLST) basées sur un total de 9 gènes mélangeant gènes de ménages dont *recA* et gènes de virulence (MLST9). Division du phylogroupe I en I-1a, I-1b et I-2 (correspondant actuellement à IA1, IA2 et IB respectivement). Chaque sous-type était lui-même divisé en complexes clonaux (CC) ou singleton<sup>64,65</sup>, comme renseigné dans le [Tableau I].

**2011** : - McDowell *et al.* : Proposition d'un autre schéma de MLST basée sur 7 gènes (MLST7). Division du sous-type IA en 2 groupes distincts : IA<sub>1</sub> et IA<sub>2</sub><sup>66</sup>.

**2012** : - McDowell *et al.* : Amélioration du schéma MLST7 en MLST8 (8 gènes), connu sous le nom de schéma Belfast. Division du phylogroupe I en IA<sub>1</sub>, IA<sub>2</sub>, IB et IC (correspondant actuellement à IA1, IA2, IB et IC respectivement). Chaque sous-type était lui-même divisé en complexes clonaux (CC) ou singleton<sup>6</sup>, comme renseigné dans le [Tableau I].

- Dekio *et al.* : Association entre phytotype III et peau dans différentes populations humaines<sup>67</sup>.

- Davidson *et al.* : Supériorité des techniques MLST sur les techniques de typage basées sur des séquences répétées (DiversiLab)<sup>68</sup>.

- Bruggemann *et al.* et Marinelli *et al.* : Etude du polymorphisme des CRISPR (courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées) et des gènes associés pour certaines souches de phylotype II et III. Absence chez les souches de phylotype I<sup>69,70</sup>.

**2013 :** - McDowell *et al.* : Simplification du schéma Belfast (MLST8) à 4 gènes (MLST4)<sup>71</sup>.

- Nagy *et al.* : Discrimination des phylotypes IA, IB, II et III par la technique de spectrométrie de masse. Découverte d'un nouveau phylotype III/1<sup>9</sup>.

- Rollason *et al.* : Les différents phylotypes présenteraient un pouvoir pathogène différent et seraient associés séparément à diverses situations cliniques. De plus les patients étudiés hébergeaient plusieurs phylotypes<sup>72</sup>.

- Fitz-Gibbon *et al.* et Tomida *et al.* : Typage par technique de ribotypage basée sur la séquence codant pour l'ARNr 16S<sup>73,74</sup>.

- Fitz-Gibbon *et al.* et Tomida *et al.* : Typage génome entier basé sur le polymorphisme des nucléotides simples (SNP). C'est la technique de référence (gold-standard) à laquelle les résultats des autres méthodes sont comparés<sup>73,74</sup>.

**2014 :** - Scholz *et al.* : Développement d'une technique de typage basée sur les séquences d'un locus unique (SLST) pour remplacer les techniques MLST<sup>75</sup>.

**2015 :** - Yu *et al.* : Comparaison des méthodes de typages de *C. acnes*<sup>7</sup>.

- Barnard *et al.* : Développement d'une technique de PCR rapide multiplex par contact permettant de distinguer les six principaux phylotypes : IA1, IA2, IB, IC, II et III<sup>76</sup>.

- Hauck *et al.* : Application de la technique MLVA (analyse VNTR à loci multiples) au typage de *C. acnes* et comparaison aux techniques MLST et SLST<sup>77</sup>.

- Dekio *et al.* : Proposition de deux sous-espèces dénommées *C. acnes* subsp. *acnes* subsp. nov. pour les phylotypes I et II et *C. acnes* subsp. *elongatum* pour le phylotype III.<sup>78</sup>

- 2016 :**
- Scholz et Kilian : Création du genre *Cutibacterium*<sup>5</sup>.
  - McDowell *et al.* : Proposition de trois sous espèces dénommées *Cutibacterium acnes* subsp. *acnes* subsp. nov. pour le phylotype I; *Cutibacterium acnes* subsp. *defendens* subsp. nov. pour le phylotype II et *C. acnes* subsp. *elongatum* pour le phylotype III.<sup>33</sup>

**Tableau I :** Résumé des nomenclatures de phytotypes de *C. acnes* obtenues avec les principales méthodes de typage décrites, et les complexes clonaux, types ou ribotypes correspondants.<sup>37</sup>

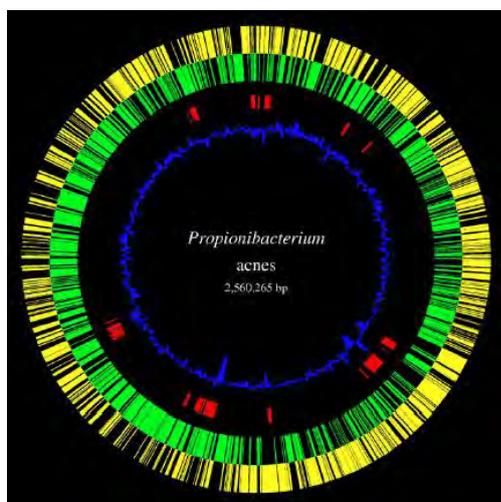
Typing based on <i>ty</i> and <i>recA</i> genes	MLST9† (145 ST)‡‡ Aarhus scheme		eMLST8‡ (138 ST)‡‡ Belfast scheme		SLST§ (113 types)‡‡	Mass spectrometry typing¶	Ribotyping††	
IA1	I-1a	CC18	IA <sub>1</sub>	CC-1	A1-34	IA	IA-1	RT5
		Singletons			B1		RT1	
							RT532	
		CC3		CC-3	C1-5		IA-2	RT4
				Singleton				RT1
		CC28			D1-5			RT5
IA2	I-1b	CC31	IA <sub>2</sub>	CC-4	E1-9	IA	IB-1	RT8
		CC28		CC-2	F1-14		IB-2	RT3
		Singleton		Singletons				RT16
IB	I-2	CC36	IB	CC-5	H1-8	IB	IB-3	RT1
		Singleton		Singleton				
NA	NA	Singletons	IC	CC-107	G1	IB/(IC)	IC	RT5
II	II	CC53	II	CC-6	K1-25	II	II	RT2
		CC60		CC-72			RT6	
		Singleton		Singletons				RT1
III	NA	CC43	III	CC-77	L1-10	III		RT9
		Singletons		Singleton			III/1	NA

**Sources:** Yu *et al.*,<sup>16</sup> McDowell *et al.*,<sup>27</sup> McDowell *et al.*<sup>17</sup> and †Lomholt and Kilian,<sup>21</sup> ††McDowell *et al.*,<sup>22</sup> §Scholz *et al.*,<sup>26</sup> ¶Nagy *et al.*,<sup>25</sup> ††Fitz-Gibbon *et al.*,<sup>24</sup> Tomida *et al.*<sup>31</sup>

‡‡Last update January 15th 2018.

Note that the Aarhus scheme detects CC28 in IA<sub>1</sub> and IA<sub>2</sub> clades.

CC, clonal complex; MLST, multilocus sequence typing; NA, not assessed; RT, ribotype; SLST, single locus sequence typing; ST, sequence type.



**Figure 8 :** Carte génétique du chromosome de *C. acnes* (séquences codantes en vert et jaune, îlots génomiques en rouge)<sup>79</sup>.

## **B. Techniques et méthodes de typage**

### **1. *Les premières méthodes de typage***

Avant la mise au point des techniques de biologie moléculaire, plusieurs méthodes avaient déjà permis de séparer en phylogroupes l'espèce *C. acnes*. Les réactions d'agglutinations sérologiques et l'analyse des sucres de la paroi sont à l'origine de la première division de l'espèce en 2 phylogroupes I et II par Johnson et Cummis en 1972<sup>57</sup>. Cette distinction est également observable à l'aide d'autres méthodes, comme la capacité à fermenter et utiliser le ribose, l'érythrol et le sorbitol, la susceptibilité de lyse par des phages ou encore par des techniques d'immunofluorescence à l'aide de d'anticorps polyclonaux<sup>46,59,80</sup>.

D'après Kwon et Suh, les techniques sérologiques présentaient une meilleure spécificité et/ou praticité que les autres<sup>81</sup>.

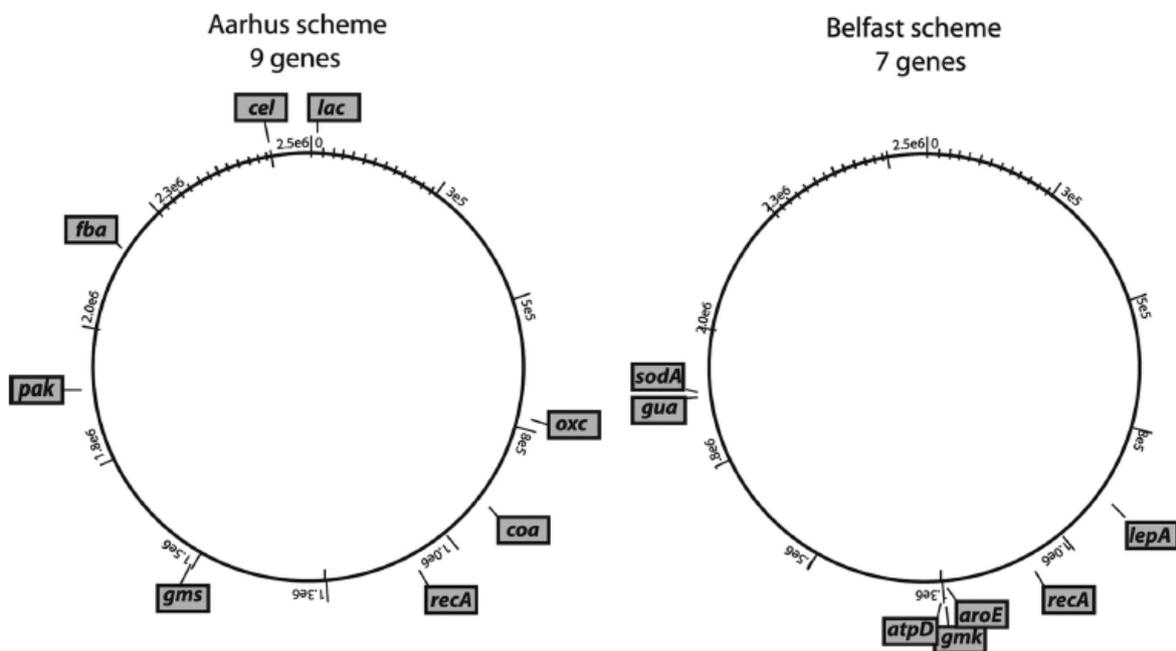
Même si l'utilisation de ces techniques est toujours possible, elles ont été supplantées par des méthodes basées sur la biologie moléculaire, beaucoup plus rapides et performantes.

### **2. *Typage par analyse des séquences***

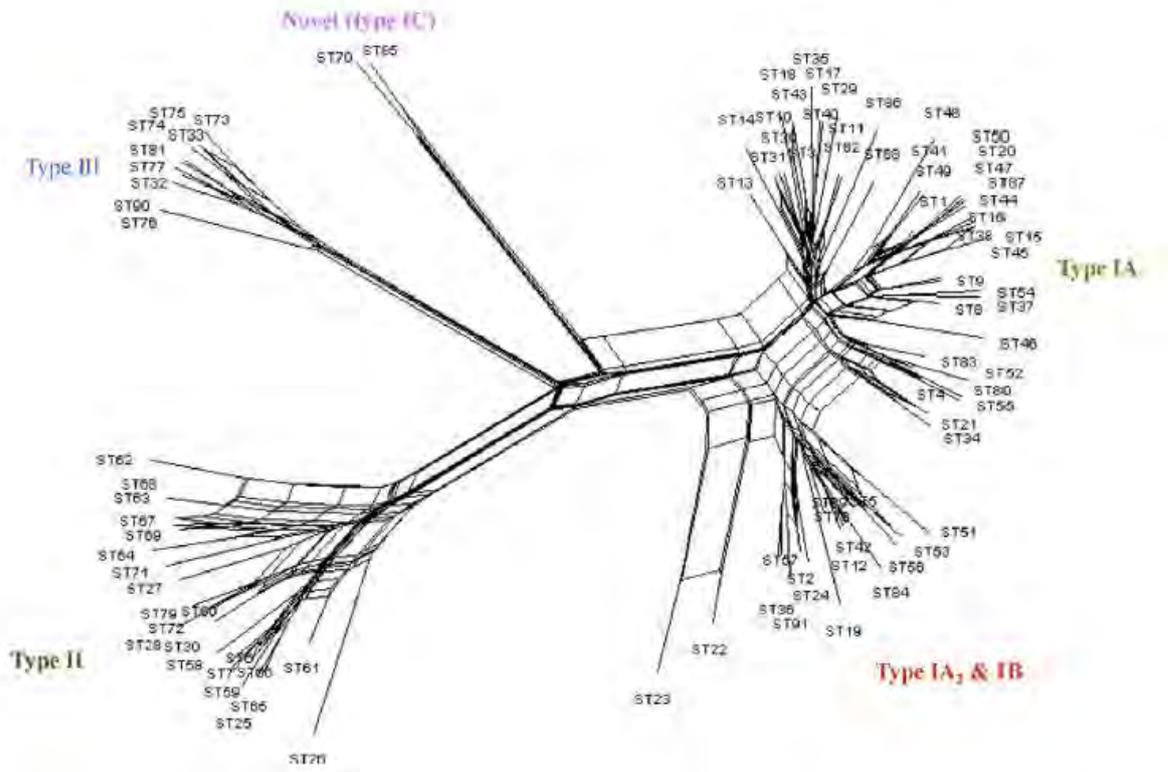
Le typage de séquence consiste à comparer des séquences d'un ou plusieurs gènes d'intérêt avec ceux correspondant à un répertoire de séquences déjà typées (base de données), permettant un typage rapide avec précision. L'utilisation par McDowell *et al.* des gènes *recA* et *tly* dans un schéma uni-locus en 2005 permettait la distinction des phylgroupes I et II mais le typage d'un seul gène limitait ce schéma à un faible pouvoir discriminant.

L'établissement de schémas à plusieurs séquences (MLST) par différentes équipes est venu corriger cette limite. Le schéma Aarhus [Figure 9] développé en 2010 par Lomholt et Kilian sur le typage de neuf séquences génétiques (MLST9), dont le gène *recA*, a permis la détection des types I-1a, I-1b et I-2 et II et de différents complexes clonaux (CC) en leur sein : CC18, CC3, CC28, CC31, CC36, CC53, CC60, CC43 [Tableau I]<sup>64</sup>. En parallèle, McDowell *et al.* ont également proposé un schéma différent à plusieurs loci, le schéma Belfast [Figure 9], plusieurs fois modifié. Initialement basé sur le séquençage des gènes *recA* et *tly* couplés à cinq autres gènes (MLST7), il permettait d'identifier les souches du phylogroupe III<sup>66</sup>. D'un

pouvoir discriminant inférieur à celui du schéma Aarhus, il fut modifié pour comporter huit gènes (MLST8), permettant la distinction des types IA<sub>1</sub>, IA<sub>2</sub>, IB, IC, II et III [Figure 10] et de différents complexes clonaux (CC) en leur sein : CC-1 à CC-6, CC-72, CC-77, CC-107 [Tableau I]<sup>6</sup>. Simplifié en 2013 en un nouveau schéma comportant 4 gènes (MLST4), il conservait le même pouvoir discriminant que MLST8 mais plus rapidement et à moindre coût, et permettait la même classification de *C. acnes* en 6 phylotypes : IA<sub>1</sub>, IA<sub>2</sub>, IB, IC, II et III<sup>71</sup>. Néanmoins, malgré un bon pouvoir discriminant, les schémas MLST sont encore limités à seulement une poignée de milliers de gènes dans un organisme, ce qui constitue une limite.



**Figure 9** : Cartes du génome de *C. acnes* montrant la répartition des neuf gènes utilisés dans le schéma MLST d'Aarhus et des sept gènes utilisés dans le schéma MLST de Belfast<sup>65</sup>.



**Figure 10** : Arbre phylogénétique de *C. acnes* obtenu par analyse de séquences multilocus (MLST8) selon le schéma de Belfast<sup>6</sup>.

### 3. Typage par analyse du génome entier

La manière la plus optimale de construire l'arbre phylogénétique d'une espèce est de comparer le génome entier de nombreuses souches au sein de cette espèce. Le pouvoir discriminant entre phylotypes est alors maximal<sup>7</sup>.

En 2013, Fitz-Gibbon *et al.* séquençaient 66 souches différentes de *C. acnes* et construisaient un arbre phylogénétique en utilisant des polymorphismes mononucléotidiques observés dans les régions conservées des génomes. Ils distinguaient les types IA-1, IA-2, IB-1, IB-2, IB-3 et II. Une extension de l'étude à 82 souches permettait également d'observer les phylotypes IC et III<sup>73</sup>. Le type IC s'avérera être un sous-type du phylotype IB<sup>74</sup>.

Cette méthode permet la création d'un excellent arbre phylogénétique et représente la meilleure technique dans le but de distinguer les phylotypes avec une résolution maximale<sup>74</sup>.

Annoncé comme la méthode de choix dans un avenir proche, le séquençage complet du génome reste pour le moment trop onéreux pour être utilisé en routine<sup>8</sup>.

#### **4. Ribotypage**

Le ribotypage est une technique basée sur l'analyse des séquences codant pour l'ARNr 16S bactérien. Rapide et peu coûteuse, elle fait partie des techniques de routine dans certains laboratoires de bactériologie médicale, ce qui la rend intéressante. Malheureusement, son pouvoir discriminant reste faible car les différentes souches n'ont habituellement qu'une ou deux paires de bases de décalage au sein de ce gène extrêmement conservé.

Fitz-Gibbon *et al.* ont beaucoup utilisé le ribotypage, en association avec le séquençage du génome entier. Si dans certains cas, le ribotype correspondait à un seul phylotype, parfois le même ribotype était associé à plusieurs phylotypes [Tableau I]. En outre, les souches de phylotypes III n'étaient pas identifiables<sup>73</sup>.

Le ribotypage présente des avantages en termes de facilité d'exécution, mais des limites majeures en ce qui concerne la précision. Il apparaît ainsi inférieur aux techniques de typage par analyse des séquences<sup>8</sup>.

#### **5. Typage par analyse d'une séquence ciblée**

En 2014, Scholz *et al.* ont mis au point une méthode de typage à simple locus haute résolution (SLST) grâce à plus de 120 génomes de *C. acnes* séquencés et disponibles dans les bases de données (Genbank). Cette méthode ne s'applique efficacement que sur des populations à structures clonales, ce qui est le cas pour *C. acnes*.

Scholz *et al.* ont mis en évidence un locus unique capable d'être utilisé seul pour la distinction de tous les phylotypes connus et référencés depuis l'avènement du typage par analyse du génome entier, incluant les types IA-1, IA-2, IB-1, IB-2, IB-3, IC, II et III [Figure 11].

Cette méthode est particulièrement utile pour l'étude d'une population entière de *C. acnes* isolée d'un microbiome. En effet, les auteurs ont montré que leur schéma SLST permettait de typer 88,4% des isolats provenant d'individus sains<sup>75</sup>.

Cette méthode est rapide, peu coûteuse et permet une excellente distinction des isolats au sein d'un même clade<sup>82</sup>. A ce jour, une centaine de SLST-type ont été décrits.

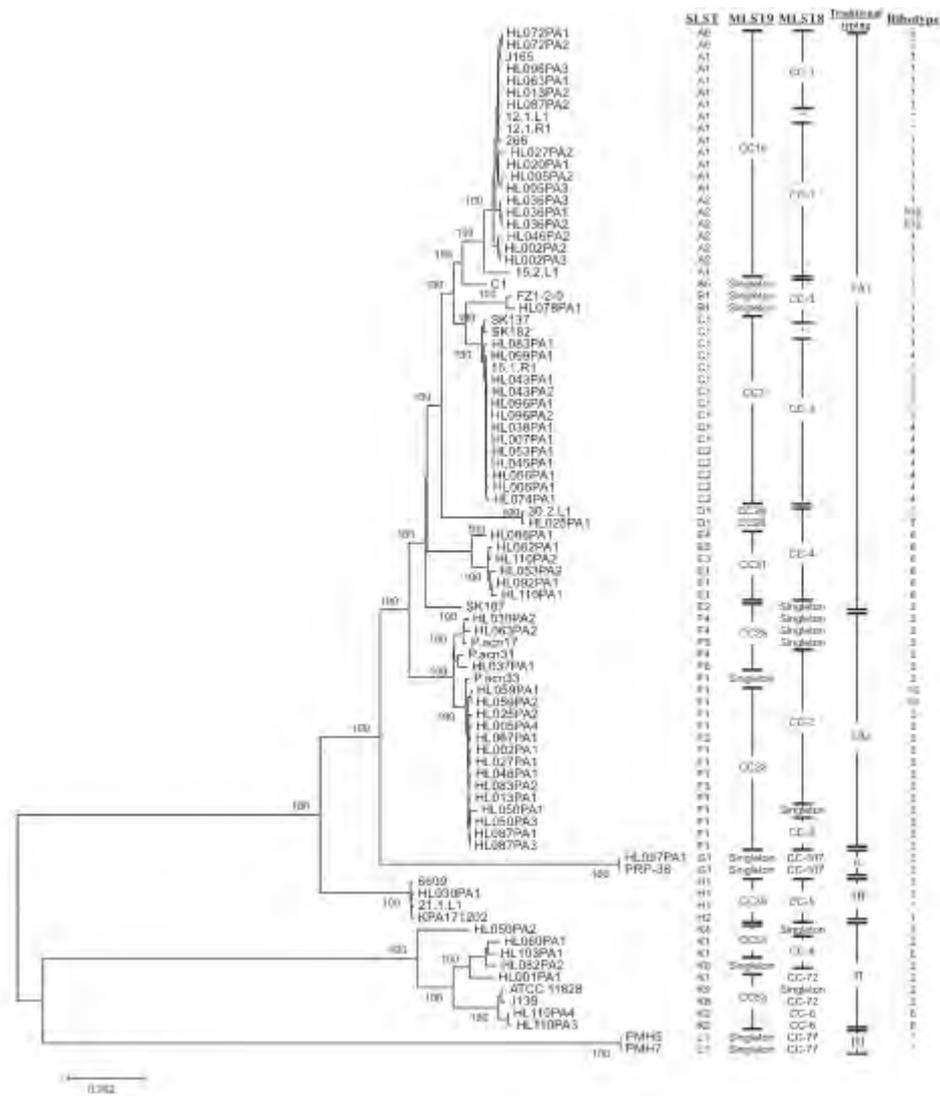


Figure 11 : Arbre Phylogénétique de *C. acnes* obtenu par typage SLST<sup>75</sup>.

### 6. Typage par PCR

La PCR est une autre méthode de typage, rapide et accessible, basée sur l'amplification de régions variables du génome.

Le schéma établi par Shannon *et al.* en 2006, utilisant des amorces spécifiques pour chaque type et, amplifiant des régions courtes du gène *recA*, permettait de différencier les types I et II<sup>62</sup>. En 2013, Kwon *et al.* ont également utilisé cette méthode pour typer des isolats de *C. acnes* issus de lésions acnéiques<sup>83</sup>. Concomitamment, Davidsson *et al.* montraient que la PCR DiversiLab était plus rapide que les techniques MLST mais au prix d'un taux d'erreurs d'identification plus élevé<sup>68</sup>.

En 2015, Barnard *et al.* ont proposé une PCR multiplex basée sur l'amplification de six cibles d'intérêt parmi lesquelles l'ARNr 16S et *recA*<sup>76</sup>. Cette méthode s'est révélée très robuste (100% de sensibilité et 100% de spécificité) mais a rapidement été supplantée par la technique SLST<sup>75</sup>.

## **7. Typage par spectrométrie de masse MALDI-TOF/MS**

### 7.1. Principe et utilisation de la spectrométrie de masse

#### 7.1.1. Principe général

La spectrométrie de masse (MS) est une méthode destructive donnant accès à des informations importantes sur les molécules d'un échantillon. Elle permet de mesurer la masse moléculaire d'une substance et d'obtenir des données structurales. Cette méthode mesure les rapports masse-sur-charge ( $m/z$ ) de molécules ionisées ainsi que de leurs produits de fragmentation.

La MS fournit des informations qualitatives et quantitatives sur la composition atomique et moléculaire. Elle présente de nombreux atouts qui ont été résumés par McLafferty la qualifiant de « Méthode aux 3 S » : « Sensitivity, Specificity, Speed »<sup>84</sup>, rebaptisée « Méthode aux 4 S » avec l'ajout du terme « Stoichiometry » par Daniel *et al.* en 2002<sup>85</sup>.

Pour mesurer la masse de molécules isolées, le spectromètre de masse doit assurer les opérations suivantes : 1- Volatiliser ; 2- Ioniser ; 3- Mesurer les rapports  $m/z$ .

Il est classiquement constitué de 3 parties principales :

- la source d'ionisation, dont le rôle est de faire passer les molécules en phase gazeuse et de les ioniser ;
- l'analyseur, qui sépare les ions en fonction de leur rapport masse-sur-charge ( $m/z$ ) ;
- le détecteur.

Un système informatique couplé au détecteur est chargé d'assurer le traitement des données et l'élaboration du spectre [Figure 12] [Figure 13].

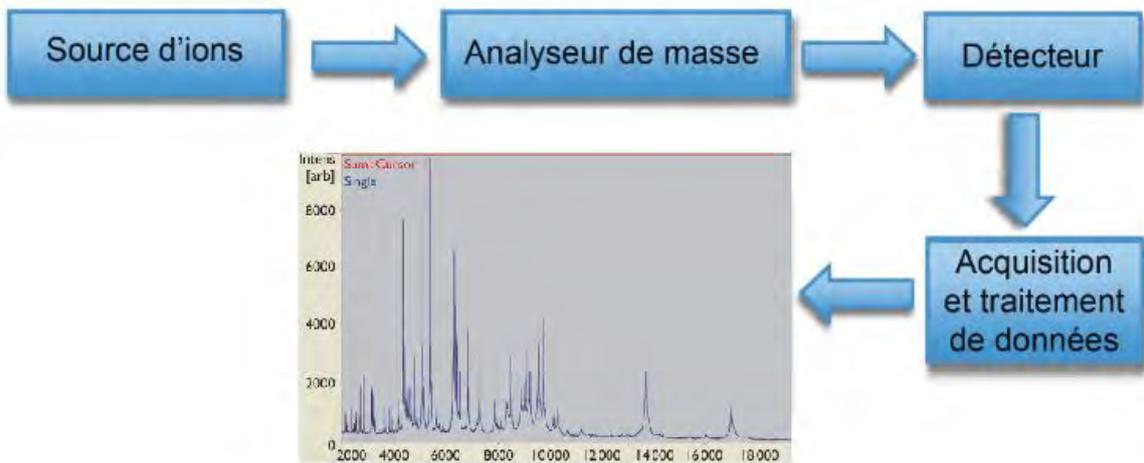


Figure 12 : Représentation schématique des étapes de la spectrométrie de masse.

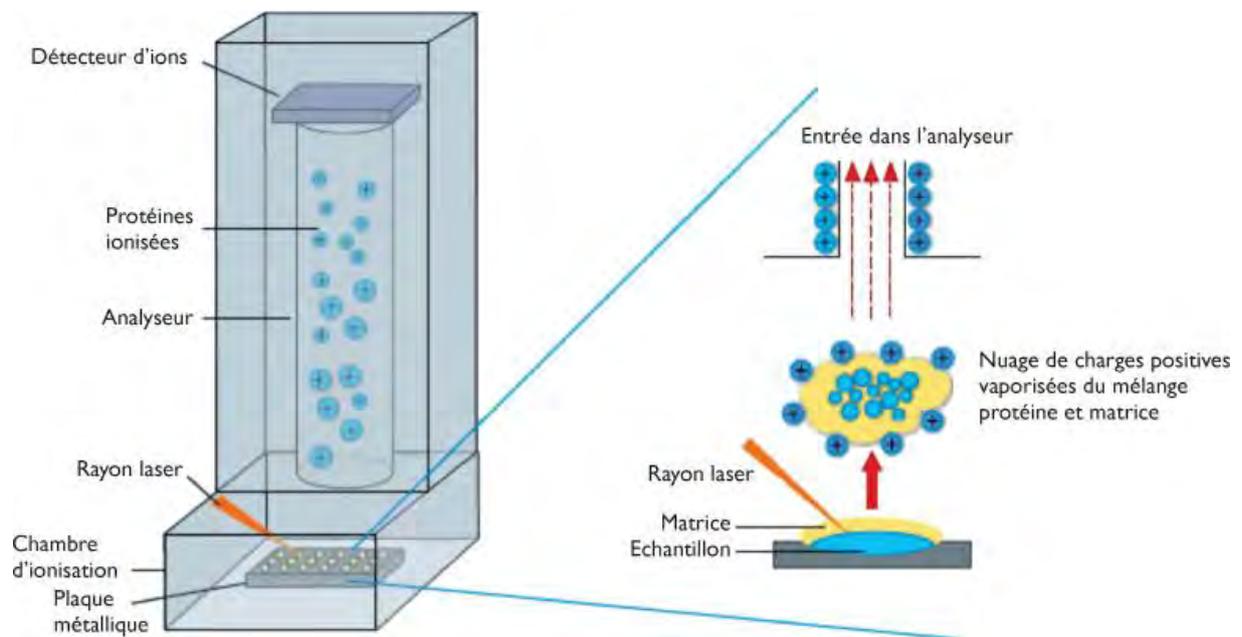


Figure 13 : Schématisation du fonctionnement d'un spectromètre de masse MALDI-TOF<sup>86</sup>.

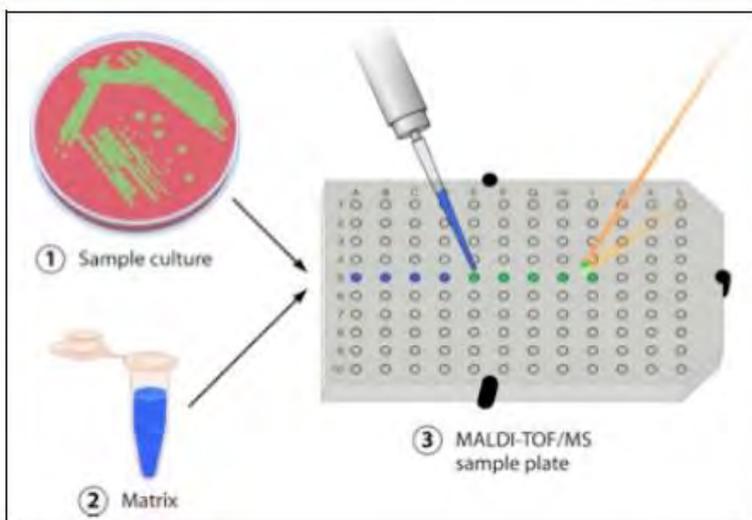
### 7.1.2. La Désorption et Ionisation par Laser Assistées par Matrice (MALDI)

La MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation) est une technique d'ionisation douce dont Tanaka *et al.* (Prix Nobel de Chimie en 2002) ainsi que Karas *et al.* sont les pionniers<sup>87,88</sup>.

L'ionisation de type MALDI se déroule en deux étapes :

- *Formation d'une matrice cristallisée contenant l'échantillon à analyser*

Au cours de cette étape, une solution organique en excès saturée d'acide  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamique, appelée matrice, est mélangée avec un échantillon à analyser. Le mélange étant ensuite déposé sur une plaque de métal. En microbiologie, l'échantillon est le plus souvent une colonie bactérienne ou fongique, mais il est possible de déposer du matériel d'hémoculture, un échantillon d'urine ou de liquide céphalorachidien (LCR), ou encore un extrait protéique. Les cultures bactériennes ou fongiques sont prélevées et déposées directement sur la plaque en métal. La matrice est ajoutée au dessus de l'échantillon et après évaporation des solvants permettant la co-cristallisation des molécules de matrice avec celles de l'échantillon, la plaque est insérée dans le spectromètre de masse pour réaliser l'analyse [Figure 14].

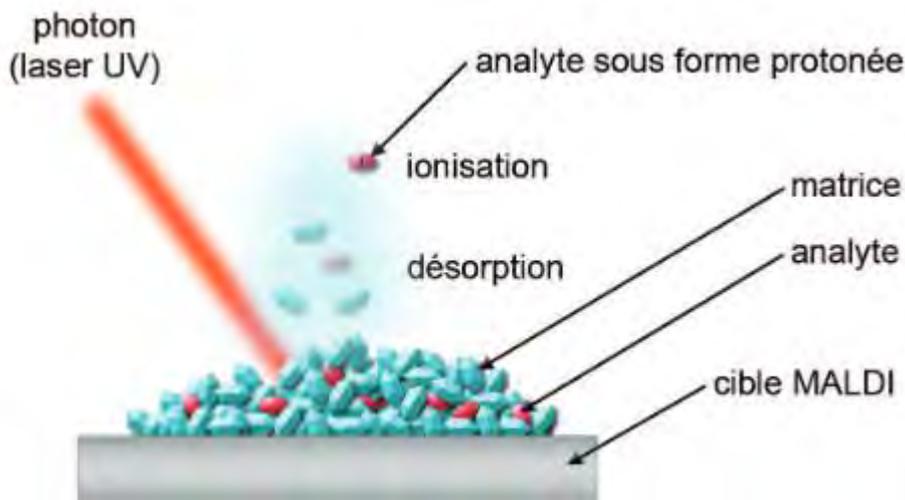


*Figure 14 : Schématisation des dépôts préalables à l'identification des micro-organismes par MALDI-TOF/MS<sup>89</sup>.*

- *Désorption et ionisation des molécules de l'échantillon sous vide à l'aide d'un laser*

La deuxième étape s'effectue sous vide, à l'intérieur de la source du spectromètre de masse. L'énergie apportée par les impulsions laser (à l'azote (N<sub>2</sub>) en général) entraîne l'évaporation et l'ionisation des molécules de l'échantillon. L'irradiation est focalisée sur une faible surface de 10 à 200  $\mu\text{m}$  de diamètre<sup>90</sup>, et répétée pour maximiser l'ionisation. C'est l'absorption de l'énergie du laser par la matrice qui permet la désorption (passage en phase gazeuse) des ions du mélange matrice-échantillon. Les ions produits par la technique MALDI sont

majoritairement monochargés. Ainsi, les différentes protéines vont se charger positivement ou négativement en fonction de leurs structures peptidiques. Les ions formés sont ensuite extraits de la source par l'application d'un champ électrostatique, et envoyés vers l'analyseur [Figure 15].



*Figure 15 : Schéma de la phase désorption - ionisation par la technique MALDI.*

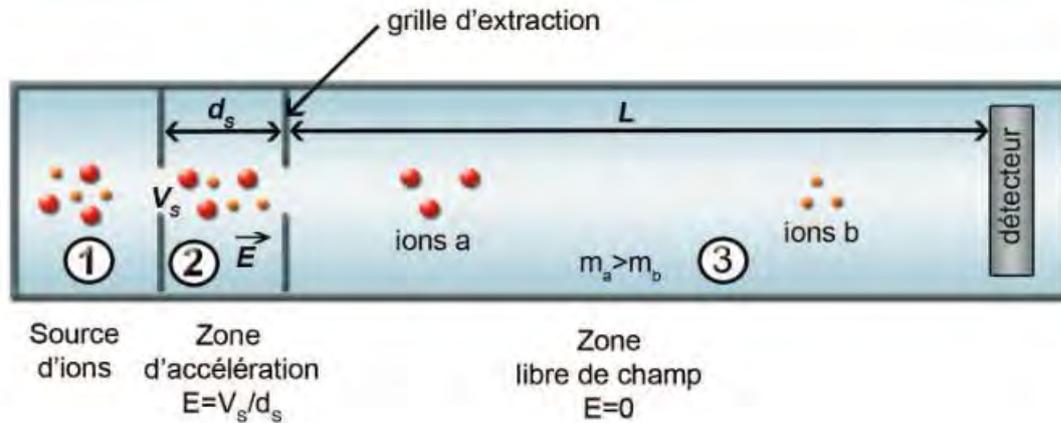
### 7.1.3. Les analyseurs de type temps de vol « TOF » (Time of Flight)

Les analyseurs à temps de vol séparent les ions en fonction de leur vitesse de déplacement dans une région libre de champ, appelée le tube de vol. Ils mesurent le temps que mettent les ions à franchir une distance fixe, après avoir été accélérés par le champ électrique.

Dans la technologie MALDI-TOF, les ions produits par le mélange matrice-échantillon sont introduits simultanément dans un tube de vol et retenus dans une région libre, avant d'être accélérés par une impulsion électrique. Les protéines ionisées traversent le tube de vol maintenu sous vide, et « volent » jusqu'au détecteur situé à l'extrémité.

Les ions sont séparés en fonction de leur vitesse et donc de leur masse, avant d'atteindre le détecteur, le temps de vol des ions étant inversement proportionnel à la masse. La détection est enregistrée par un multiplicateur d'électrons, puis le signal obtenu est traité informatiquement. Les protéines de l'échantillon sont analysées par un analyseur de masse,

donnant un ratio masse/charge ( $m/z$ ). Cette mesure électrodynamique des ratios  $m/z$  permet de générer un spectre [Figure 16].



*Figure 16 : Schéma d'un analyseur de type TOF-linéaire.*

#### 7.1.4. Identification et règles d'interprétation pour le MALDI-TOF/MS Bruker

La caractérisation des micro-organismes par la technique MALDI-TOF s'obtient par comparaison du spectre entier obtenu, avec des bases de données d'empreintes spectrales de référence, ou bien par comparaison des masses ( $m/z$ ) du spectre, avec une base de données issue du protéome.

L'enrichissement des bases de données d'empreintes spectrales avec les spectres de plusieurs centaines d'espèces de micro-organismes a permis l'adaptation en routine de ce système rapide et simple dans les laboratoires de microbiologie clinique.

Le système proposé par Bruker Daltonics est composé d'un appareil et du logiciel Biotyper®, pour l'identification des bactéries, mycobactéries, champignons, et échantillons d'hémocultures positives<sup>91-94</sup>.

Les données des spectres sont analysées en prenant en compte la position, la fréquence des pics et leur intensité. Les spectres sont ensuite comparés à une base de données issue de répétitions spectrales de souches de référence. Un score de correspondance basé sur les masses identifiées et leur corrélation d'intensité est généré et utilisé pour le classement des résultats. Un score entre 2,33 et 3 est considéré comme une très probable identification d'espèce, entre 2 et 2,32 comme une bonne identification de genre et une probable identification d'espèce, entre 1,7 et 1,999 comme une probable identification de genre,

requérant d'autres tests. Les scores inférieurs à 1,699 ne permettent pas d'identification et l'échantillon doit donc être repassé ou soumis à d'autres tests<sup>95</sup>.

## 7.2. Utilisation de la spectrométrie de masse pour le typage de *C. acnes*

Depuis 2013, le typage *C. acnes* par spectrométrie de masse représente une alternative intéressante aux méthodes de biologie moléculaire. Trois publications principales présentent les éléments caractéristiques et les performances de cette méthode de typage pour *C. acnes*, et servent de base solide aux travaux actuels.

### 7.2.1. Présentation des travaux de Dekio et al., 2013<sup>96</sup>

En 2013, Dekio et al. effectuent une analyse protéomique détaillée de souches de *C. acnes*, précédemment typées par MLST<sup>67</sup> et cultivées dans différentes conditions de culture.

L'objectif était d'évaluer s'il est possible de suivre les changements transitoires du protéome selon les conditions de croissance, de façon à explorer la bascule métabolique qui doit s'opérer lors du passage de la bactérie de la flore cutanée à des sites infectieux profonds. Ils ont sélectionné 21 souches de leur collection précédente, pour lesquelles la diversité génétique est documentée en technique MLST. Les profils protéiques sont entre autres étudiés par spectrométrie de masse SELDI-TOF, différant de la MALDI-TOF par le procédé d'ionisation : utilisation d'une puce avec une surface chromatographique facilitant la purification de l'échantillon<sup>97</sup>.

La spectrométrie de masse SELDI-TOF a révélé quatre groupes spectraux de masse distincts dans la gamme de masse de 10 kDa à 35 kDa, chaque groupe (désigné par groupes A-D) présentant des spectres distinctifs. De manière intéressante, le groupe A englobait les souches des phylotypes IA1, IA2 et IB. Le groupe B comprenait uniquement des souches de type II alors que les souches du groupe C appartenaient au type III. Le groupe D restant comprenait des types IA2 et II.

Les auteurs affirment que la spectrométrie de masse peut manquer de résolution pour le typage des bactéries en raison de pics de masse insuffisants ou au contraire d'ions massifs. Néanmoins ils reconnaissent que dans le cas de *C. acnes*, cette technique est envisageable, car les phylotypes à discriminer semblent représenter des noyaux taxonomiques suffisamment éloignés. Ces résultats concordent avec les travaux de Holland

*et al.* en 2010<sup>98</sup>, qui ont montré des profils de protéines sécrétées différents entre les phylogroupes.

Cette étude a démontré une bonne corrélation entre les analyses génomiques et protéomiques et révélé que chaque sous-type exprime un profil protéomique particulier.

### 7.2.2. Présentation des travaux de Nagy et al., 2013<sup>9</sup>

En 2013, Nagy *et al.* se sont fixé pour objectif d'évaluer la possibilité d'utiliser la spectrométrie de masse MALDI-TOF/MS pour une identification rapide et une discrimination des phylotypes I, II et III de *C. acnes*. Au total, 61 souches de *C. acnes* d'origines diverses ont été analysées. Le [Tableau II] présente les origines géographiques et anatomiques des différentes souches étudiées.

Les souches ont été analysées par spectrométrie de masse MALDI-TOF Bruker Daltonics et en parallèle, typées par technique MLST pour comparaison des types mis en évidence. Les spectres des différentes souches présentaient un degré élevé de similitudes en accord avec une appartenance à une espèce commune. Cependant une paire de pics montraient une variation dans les masses, liées aux différents phylotypes. La [Figure 17] superpose les différents spectres obtenus dans la zone spectrale discriminante, dont les variations permettent d'identifier chaque phylotype. La paire de pics, propre à chaque phylotype, est bien visible.

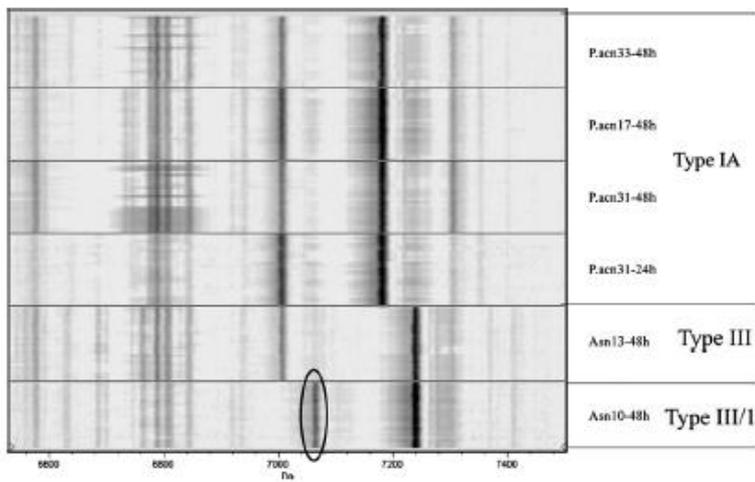
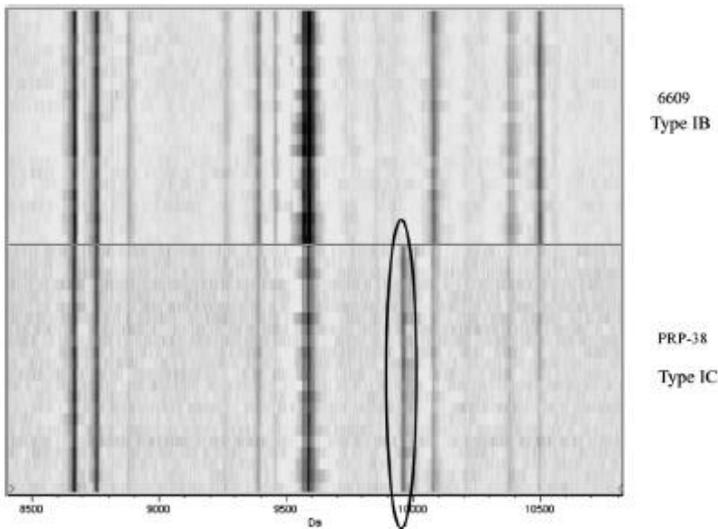
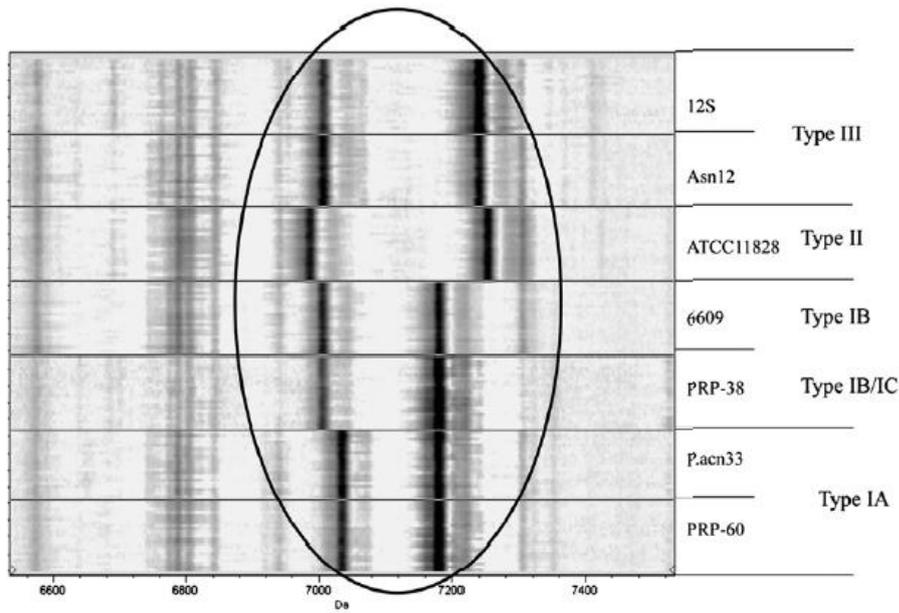


Figure 17 : Vue d'ensemble des spectres de masse de *C. acnes* obtenus pour les différents types de souches de référence dans l'intervalle 6900-7300 Da<sup>9</sup>.

Tableau II : Résumé des données des 61 souches de *C. acnes* analysés par Nagy et al.<sup>9</sup>

Isolate	Country	Source	MIST			MALDI-TOF		Reference
			Allelic profile	ST	Phylotype	Phylotype		
			aroE-atpD-gmk-guaA-lepA-sodA-thy-camp2					
55835	HU	Cystitis	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
3632	HU	Blood culture	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
4579	HU	Skin sample	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
12604	HU	Pleural aspirate	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
16634	HU	Acne	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
50460	HU	Acne	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
63006	HU	Wound from the face	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
19107	HU	Abscess after surgery	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
20550	HU	Intraabdominal sample	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
44064	HU	Superficial wound	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
64745	HU	Abscess	1-1-1-3-1-1-1-1	ST-1	IA <sub>1</sub>	IA		
15614	HU	Blood culture	1-1-1-3-1-1-2-2	ST-3	IA <sub>1</sub>	IA		
26048	HU	Blood culture	1-1-1-3-1-1-2-2	ST-3	IA <sub>1</sub>	IA		
28585	HU	Blood culture	1-1-1-3-1-1-8-6	ST-4	IA <sub>1</sub>	IA		
PRP-60 <sup>a</sup>	UK	Acne	5-1-1-3-1-1-1-1	ST-20	IA <sub>1</sub>	IA	[15]	
76793	HU	Intraoral sample	1-1-1-3-1-1-4-1-1	ST-101	IA <sub>1</sub>	IA		
19695	HU	Wound	1-15-1-3-1-1-1-1	ST-103	IA <sub>1</sub>	IA		
44264	HU	Blood culture	21-1-1-3-1-1-1-1-6	ST-104	IA <sub>1</sub>	IA		
44261	HU	Blood culture	21-1-1-3-1-1-1-1-6	ST-104	IA <sub>1</sub>	IA		
56853	HU	Heart implant	1-1-1-3-1-1-1-1-6	ST-105	IA <sub>1</sub>	IA		
P.acn03 <sup>a</sup>	France	Aqueous humor	1-1-1-5-1-4-8-2	ST-2	IA <sub>2</sub>	IA	[15,16]	
P.acn17 <sup>a</sup>	France	Cornical scrape	1-1-1-5-3-5-8-7	ST-22	IA <sub>2</sub>	IA	[15,16]	
P.acn31 <sup>a</sup>	France	Aqueous humor	1-1-1-13-1-4-8-2	ST-36	IA <sub>2</sub>	IA	[15,16]	
0609 <sup>a</sup>	HU	Normal skin	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB	[15,32,33]	
89071	HU	Superficial wound	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
96088	HU	Skin sample	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
102778	HU	Joint aspirate	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
1945	HU	Pleural aspirate	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
4837	HU	Surgical sample	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
10738	HU	Skin abscess from the face	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
16703	HU	Otitis media	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
20527	HU	Blood culture	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
14179	HU	Blood culture	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
23766	HU	Wound from the face	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
24728	HU	Wound sample after trauma	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
45808	HU	Intrauterine device	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
51056	HU	Intraoral sample	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
58828	HU	Secretion of conjunctiva	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
57826	HU	Secretion of conjunctiva	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
61489	HU	Appendicitis	1-1-1-4-1-4-8-6	ST-5	IB	IB		
80329	HU	Abscess	1-1-1-4-1-1-8-31	ST-12	IB	IB		
74873	HU	Blood culture	1-1-1-4-1-4-8-21	ST-42	IB	IB		
67060	HU	Superficial wound	1-1-1-4-1-4-8-21	ST-42	IB	IB		
101320	HU	Surgical sample	1-1-1-4-1-4-8-34	ST-98	IB	IB		
24763	HU	Intraabdominal sample	1-1-1-4-1-4-26-6	ST-99	IB	IB		
PRP-38 <sup>a</sup>	UK	Acne	9-1-4-8-6-8-14-14	ST-70	IC	IB(IC)	[15,17]	
72995	HU	Surgical sample	15-4-2-4-2-3-10-10	ST-7	II	II		
44073	HU	Blood culture	15-4-2-4-2-3-10-10	ST-7	II	II		
65763	HU	Blood culture	15-4-2-4-2-3-10-10	ST-7	II	II		
65311	HU	Blood culture	17-9-2-4-2-3-10-10	ST-25	II	II		
ATCC11828 <sup>a</sup>	USA	Subcutaneous abscess	17-4-2-4-9-12-10-13	ST-27	II	II	[15,31,33]	
76618	HU	Blood culture	17-4-2-4-2-6-10-12	ST-30	II	II		
6187	HU	Blood culture	17-4-2-4-2-6-10-12	ST-30	II	II		
12553	HU	Blood culture	15-4-2-4-2-3-24-10	ST-96	II	II		
63848	HU	Secretion of conjunctiva	20-4-2-4-2-6-10-12	ST-100	II	II		
46361	HU	Acne	15-4-2-19-2-3-10-10	ST-106	II	II		
125 <sup>a</sup>	Brazil	Progressive macular hypomelanosis	7-6-3-7-5-9-12-15	ST-32	III	III	[15]	
Asnt 2 <sup>a</sup>	UK	Spinal disc material	7-6-3-7-5-9-13-16	ST-33	III	III	[15]	
VA215 <sup>a</sup>	HU	Normal skin	7-6-3-7-5-9-13-16	ST-33	III	III	[15]	
Asnt 3 <sup>a</sup>	UK	Spinal disc material	7-6-3-11-5-9-13-16	ST-73	III	III	[15]	
Asnt 0 <sup>a</sup>	UK	Prosthetic hip	7-6-7-7-5-9-12-16	ST-81	III	III/1	[15]	

Les 61 spectres ont pu être différenciés en six groupes distincts et leurs caractéristiques m/z référencées [Tableau III]. Les six groupes distincts correspondaient aux phylotypes IA, IB, IC, II, III et III-1 (variation d'un pic par rapport au type III).

Pour les auteurs, la méthode par spectrométrie de masse présente une résolution plus faible que la technique MLST, ne parvenant pas à distinguer au sein du phylotype IA, les sous-types IA1 et IA2. Cependant, la concordance globale entre les deux techniques est estimée à 91% (IC à 95%: 81,9-100).

Cette étude a confirmé que la spectrométrie de masse MALDI-TOF est en mesure de distinguer les différents phylotypes principaux de *C. acnes* : IA, IB-IC, II et III tels qu'ils peuvent l'être en technique MLST. Le type IC devrait lui aussi pouvoir être correctement discriminé à l'avenir. Le type III pourrait présenter une sous-différenciation, identifiable par un décalage du pic spécifique, dénommée III-1 dans cette étude.

Enfin, les auteurs ont également conclu que la durée d'incubation n'influence pas de manière significative l'identification et le typage de *C. acnes*.

Tableau III : Résumé des caractéristiques spectrales des types identifiés de *C. acnes*<sup>9</sup>.

Characteristic MS peaks for different types of *P. acnes* with previously known MLST typing results.

<i>P. acnes</i> isolates	Characteristic MS peaks	MS phylotype	MLST phylotype [15]
PRP-60	7034, 7180	IA	IA <sub>1</sub>
P.acn33	7034, 7180	IA	IA <sub>2</sub>
P.acn17	7034, 7180	IA	IA <sub>2</sub>
P.acn31	7034, 7180	IA	IA <sub>2</sub>
6609	7004, 7180	IB	IB
PRP-38	7004, 7180, <b>9950</b>	IB/(IC)	IC
ATCC11828	6985, 7525	II	II
76618 <sup>a</sup>	6985, 7525	II	II
12S	7004, 7238	III	III
Asn12	7004, 7238	III	III
Asn10	<b>7063</b> , 7238	III/1	III
VA2/5	7004, 7238	III	III
Asn10	7004, 7238	III	III

### 7.2.3. Présentation des travaux de Dekio et al., 2015<sup>78</sup>

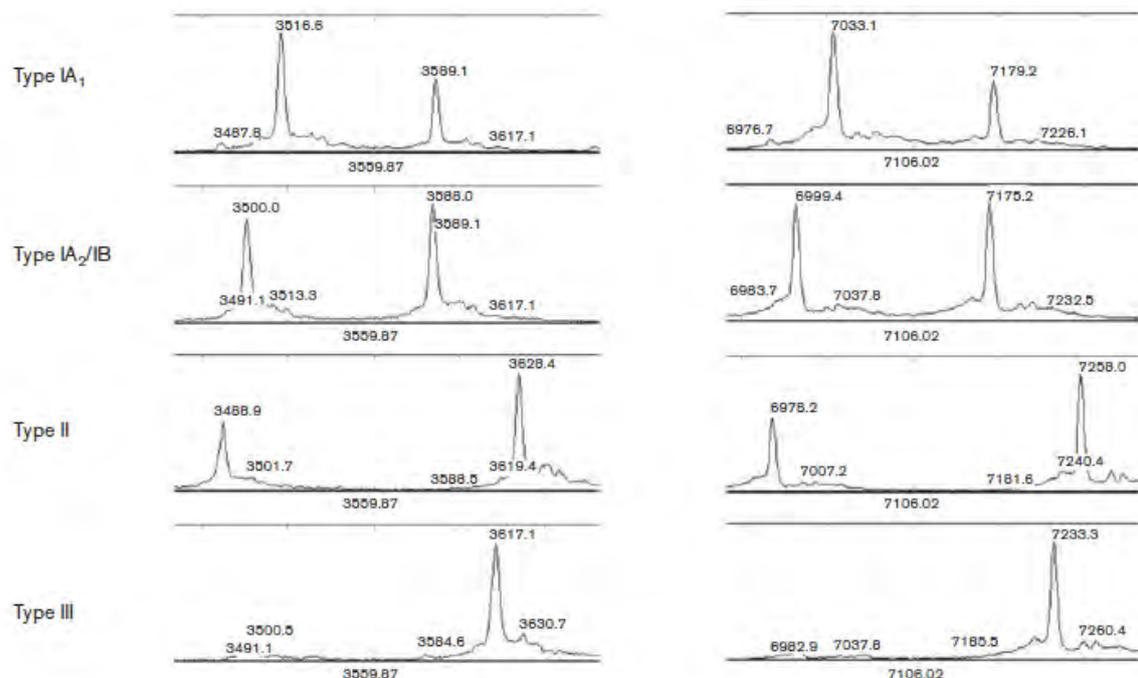
Ces travaux ont abouti à la proposition de reclassement en deux sous-espèces dénommées *C. acnes* subsp. *acnes* subsp. nov. pour les phylotypes I et II ; et *C. acnes* subsp. *elongatum* pour le phylotype III<sup>78</sup>. 17 isolats cliniques et 3 collections de souches à partir de cultures de *C. acnes* ont été analysées par diverses techniques (microscopie électronique,

tests biochimiques, MALDI-TOF/MS, SELDI-TOF/MS, séquençage gène codant pour l'ARNr 16S, MLST, hybridation ADN-ADN...).

En ce qui concerne la spectrométrie de masse MALDI-TOF opérée sur spectromètre de masse de Bruker Daltonics, les résultats ont confirmé ceux de Nagy *et al.* et Dekio *et al.*, en 2013<sup>9,96</sup>. Les ions de masse prédominants se situaient autour de 3500 et 7100 Da. En utilisant une combinaison de pics, quatre profils spectraux de masse distincts étaient évidents [Figure 18]. En outre, ces résultats sont bien corrélés aux autres méthodes employées.

Les auteurs ont confirmé le potentiel de la spectrométrie de masse, notamment MALDI-TOF/MS, à sous-typer rapidement la bactérie *C. acnes* et à fournir des biomarqueurs clés pour identifier les souches inconnues.

	m/z										
	3488	3500	3516	3589	3617	3628	6991	7033	7179	7240	7258
Type IA <sub>1</sub>			+	+				+	+		
Type IA <sub>2</sub> /IB		+		+			+		+		
Type II	+					+	+				+
Type III					+					+	



**Figure 18** : Répartition des spectres de masse obtenus par technique MALDI-TOF/MS sur des souches de *C. acnes*. Les pics prédominants sont situés autour de 3500 et 7100 Da dans tous les types. Dans ces deux gammes de masse, les types I et II présentent deux pics majeurs,

tandis que le type III n'en présente qu'un dans chacune des gammes de masse. Les masses moléculaires des pics sont légèrement différentes entre les types IA1, IA2 / IB et II, ce qui peut être utilisé comme marqueur pour une identification rapide<sup>78</sup>.

## **8. Standardisation des méthodes de typage<sup>8</sup>**

La dernière décennie a assisté au développement de nombreuses méthodes de typage de *C. acnes*, pour la plupart basées sur la biologie moléculaire. Néanmoins, nous avons vu que l'étude protéomique en spectrométrie de masse présente des avantages non négligeables.

Devant la complexité des résultats fournis par les différentes études et l'absence de standardisation manifeste, Dagnelie *et al.* proposent en 2018 une revue des différentes méthodes moléculaires développées, précisant leur degré de résolution (phylotype, complexe clonal MLST ou type SLST), leurs avantages et leurs limites. Ils ont ainsi élaboré un algorithme consensus des techniques à utiliser en fonction de l'objectif de typage poursuivi.

Les anciennes techniques de sérotypage ainsi que certaines techniques moléculaires comme le ribotypage n'ont plus leur place dans l'arsenal actuel, par manque de pouvoir discriminant ou de rapidité d'exécution.

Dans la littérature, les méthodes MLST sont utilisées dans 75% des cas, notamment en raison d'un excellent pouvoir discriminant et la mise en évidence de complexes clonaux (CC).

Parmi les schémas existants, c'est le schéma d'Aarhus<sup>64</sup> qui présente le meilleur pouvoir discriminant et il est donc logiquement le plus employé. Cependant cette méthode est difficilement applicable en routine en raison de son temps d'exécution important et de son coût encore très élevé.

Les méthodes SLST sont prometteuses en recherche, car moins coûteuses que leurs homologues MLST et conçues pour une haute résolution sur de grands échantillons. Le séquençage génome entier, méthode de séquençage ultime, est appelée à devenir le "gold-standard" dans un avenir plus ou moins lointain, offrant des possibilités analytiques supérieures.

A l'heure actuelle, Dagnelie *et al.* proposent, en fonction de la résolution souhaitée, 3 techniques moléculaires :

- PCR multiplex de Barnard *et al.*<sup>76</sup> pour la détection des phylotypes
- MLST9 de Lomholt et Kilian<sup>64</sup> pour la mise en évidence de complexes clonaux (CC)
- SLST de Scholz *et al.*<sup>75</sup> pour une résolution sub-clonale [Figure 19].

Comme l'ont décrit Dekio *et al.* (2015) ainsi que Nagy *et al.* (2013), la corrélation entre les techniques MLST et spectrométrie de masse MALDI-TOF pour le typage de *C. acnes* est excellente. La MALDI-TOF/MS peut être utilisée dans des situations d'analyses similaires aux techniques MLST. Bien que son pouvoir discriminant soit plus faible, elle est particulièrement adaptée à la routine des laboratoires de microbiologie clinique dont la majorité est équipée de spectromètres de masse pour l'identification des micro-organismes. La MALDI-TOF/MS présente donc le double avantage d'avoir un pouvoir discriminant suffisant pour un coût minimal ne dépassant pas celui d'une identification classique, et ce, avec un délai d'exécution faible.

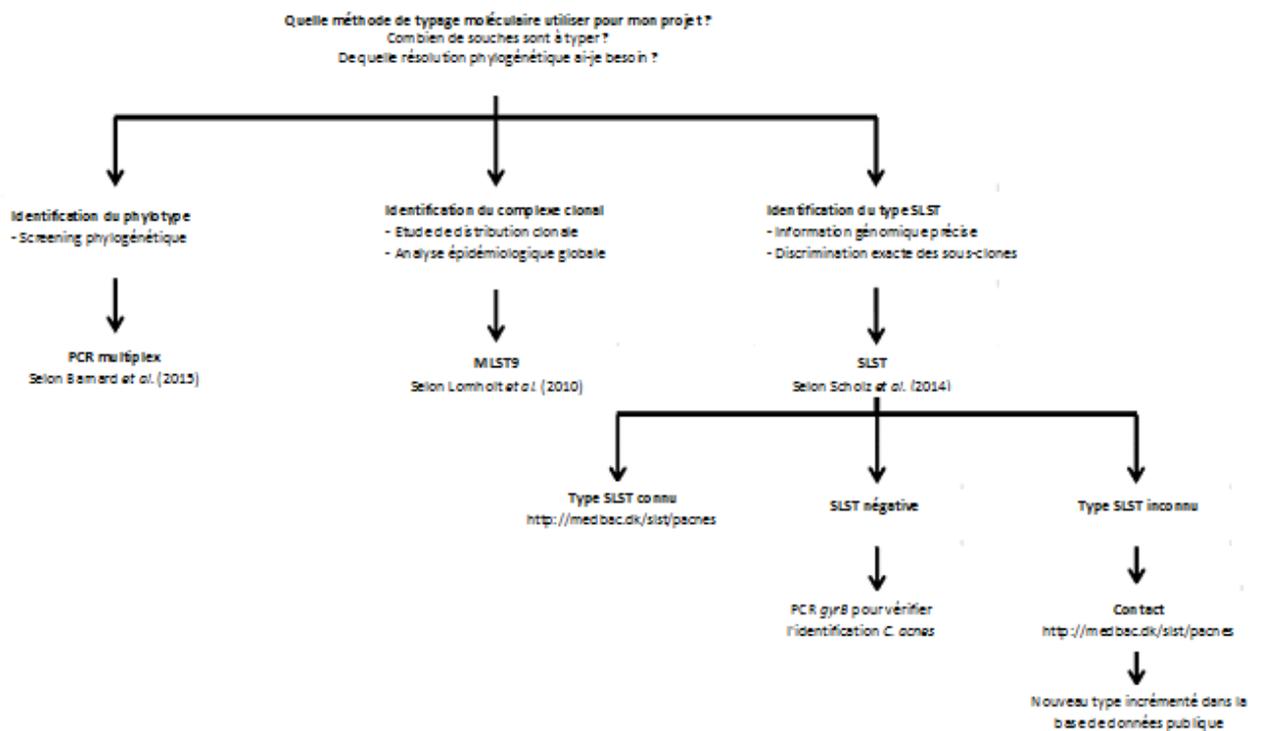


Figure 19 : Algorithme consensus des techniques moléculaires de typage à utiliser pour *C. acnes* en fonction de la résolution souhaitée<sup>8</sup>.

Dans un souci de standardisation des méthodes, Dréno *et al.*<sup>37</sup> ont publié en 2018 un résumé des nomenclatures de phytotypes de *C. acnes* obtenues avec les principales méthodes de typage décrites, et leurs concordances entre elles [Tableau I].

#### **IV. CUTIBACTERIUM ACNES : POUVOIR PATHOGENE**

Le pouvoir pathogène de *C. acnes*, souvent sous-estimé, est de plus en plus décrit, et les mécanismes qui en sont responsables, de mieux en mieux compris.

Longtemps considéré comme agent pathogène opportuniste mineur, à la significativité incertaine dans les prélèvements bactériologiques du fait de son statut de germe commensal, il est aujourd'hui étudié en tant que pathogène propre, possédant ses propres mécanismes infectieux.

Son pouvoir pathogène s'exerce grâce à différents facteurs de virulence, mais également par sa capacité d'adhérence à un matériel étranger, à former un biofilm ou encore à interagir avec le système immunitaire de l'hôte<sup>3</sup>.

##### **A. Facteurs de virulence**

En 2004, le premier séquençage total du génome de *C. acnes* par Brüggemann *et al.* (une souche cutanée de phylotype IB) a permis de révéler de nombreux facteurs de virulence potentiellement impliqués dans l'adhérence cellulaire, l'inflammation, la synthèse d'une capsule polysaccharidique ou l'invasion tissulaire de l'hôte<sup>56</sup>. De nombreuses enzymes (lipases, estérases, hyaluronate lyase, peptidases...) sont décrites comme susceptibles de contribuer directement à l'échappement du système immunitaire et à la dissémination bactérienne. En outre, cinq gènes sont identifiés comme présentant une homologie partielle de séquence avec ceux codant le facteur CAMP<sup>79</sup>, connu chez *Streptococcus agalactiae* chez qui il agit comme une toxine enzymatique préformée qui dégrade les tissus hôtes<sup>99</sup>, et capable d'amplifier la réaction inflammatoire par interaction avec le système immunitaire via les TLR<sup>100</sup>.

Le facteur CAMP est aussi associé à une activité hémolytique pouvant expliquer la  $\beta$ -hémolyse observée parfois sur les souches de *C. acnes* en culture<sup>101</sup>.

En parallèle des études génomiques, Holland *et al.* ont identifié 20 protéines sécrétées pendant la phase exponentielle de croissance, parmi lesquelles diverses enzymes,

le facteur CAMP ainsi que des protéines pro-inflammatoires<sup>98</sup>. Dernièrement, l'enzyme RoxP, massivement sécrétée chez *C. acnes*, a montré des propriétés antioxydantes qui faciliteraient la survie sur la peau<sup>102</sup>.

## **B. Reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte et réponse immune**

### **1. Immunité innée**

L'interaction de *C. acnes* avec l'immunité innée favorise l'inflammation. Au sein des kératinocytes issus de lésions d'acné, on sait que le niveau d'expression des TLR (Toll-Like Receptor), notamment les TLR2, 1, 6, et 9, est augmenté<sup>103-106</sup>. L'activation des TLR déclenche une réponse cytokinique pro-inflammatoire (IL-8, IL-12) par les kératinocytes, monocytes et macrophages<sup>107</sup>. La constitution particulière (nature de l'acide lipoteichoïque) du peptidoglycane de *C. acnes* pourrait être le raison d'une plus grande activation des TLR par rapport à d'autres bactéries à Gram positif<sup>3</sup>. La capacité de *C. acnes* à activer l'inflammasome, un complexe cytoplasmique de protéines qui régule l'activation et la sécrétion de cytokines, soutient la thèse du rôle de cette bactérie dans la réponse inflammatoire observée dans l'acné<sup>108</sup>.

D'autres travaux ont montré que *C. acnes* est en mesure d'induire l'expression de métalloprotéinases de matrice (protéines de régulation de la matrice cutanée)<sup>109</sup>. Il en résulte que la rupture du follicule et la dissémination de l'inflammation dans le derme sont favorisées<sup>110,111</sup>.

### **2. Immunité adaptative**

Yu *et al.* ont remarqué que les taux et la nature des cytokines sécrétées par les cellules mononuclées du sang périphérique sont variables en fonction des phylotypes des souches de *C. acnes*<sup>112</sup>. Un constat similaire était fait concernant les IgG totales entre des patients acnéiques sévères et les autres<sup>113</sup>.

Enfin, Fischer *et al.* constatent que *C. acnes* est capable d'échapper au système immunitaire en résistant à la phagocytose ou en survivant à l'intérieur des macrophages pendant 8 mois maximum en conditions anaérobies, *in vitro*<sup>114</sup>.

Ces résultats laissent entendre que la bactérie peut jouer un rôle lors du développement de maladies inflammatoires chroniques.

### **C. Formation de biofilm**

La capacité de *C. acnes* à fabriquer un biofilm est aujourd'hui bien documentée. Cette caractéristique, partagée avec d'autres espèces bactériennes, en fait un agent pathogène opportuniste causant des infections invasives et chroniques sur implants, la formation d'un biofilm représentant un obstacle majeur dans les processus de cicatrisation. Le biofilm se définit comme une communauté sessile de cellules microbiennes qui :

- (i) sont attachées à un substrat, à une interface ou autre ;
- (ii) sont incorporées dans une matrice extracellulaire (au moins partiellement auto-produite) de substances polymères ;
- (iii) et présentent un phénotype modifié en ce qui concerne la croissance, l'expression génique et la production de protéines par rapport aux cellules bactériennes planctoniques<sup>115</sup>.

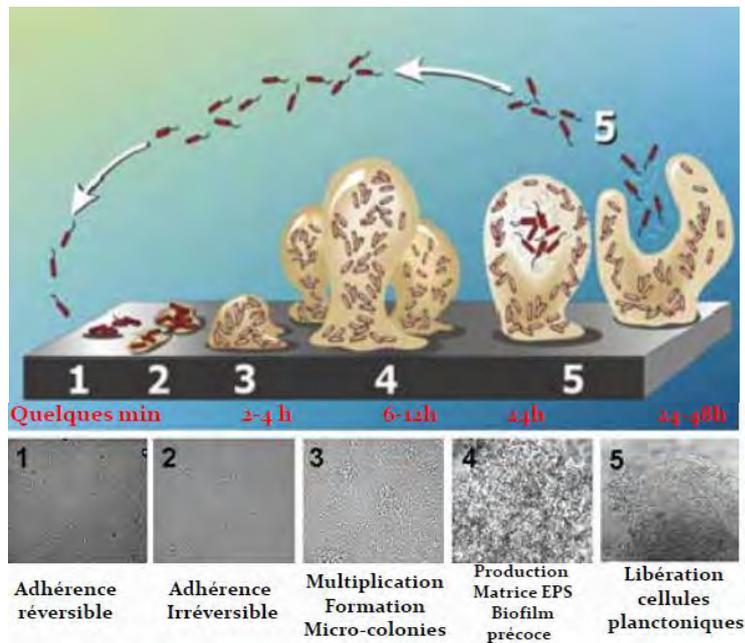
Dunne a résumé les éléments de base d'un biofilm comme étant "microbes, glycocalyx et surface"<sup>116</sup>. La matrice de biofilm peut être composée de polysaccharides, de protéines et / ou d'ADN extracellulaire produits de façon endogène et exogène, dans des proportions diverses<sup>115</sup>. Les organisations en biofilms, pouvant aller d'une seule cellule à une couche multicellulaire épaisse, présentent une hétérogénéité structurelle et fonctionnelle<sup>117</sup>. Les différentes structures dépendent de conditions environnementales locales telles que l'irrigation, l'atmosphère ou l'espace anatomique disponible<sup>116</sup>. Très souvent, un réseau de canaux complexes traverse la structure pour fournir des nutriments aux régions plus profondes.

La recherche sur les biofilms s'est axée sur un certain nombre d'espèces bactériennes autres que *C. acnes*, de sorte que les connaissances générales sur la pathogenèse dans les infections associées aux biofilms sont la plupart du temps extrapolées à partir de ces microorganismes.

Lors de sa mise en place, un implant est rapidement recouvert par des protéines de matrice extracellulaire. Par la suite, les bactéries adhèrent rapidement à ces matériaux tapissés de protéines, d'abord de façon réversible puis irréversible. Les polynucléaires échouent le plus souvent à éliminer le micro-organisme pathogène<sup>118</sup>. Ensuite s'engage le

développement et la maturation du biofilm, durant lesquels les bactéries s'entourent de la matrice extracellulaire visqueuse ("slime"), et se multiplient tout en se liant entre elles.

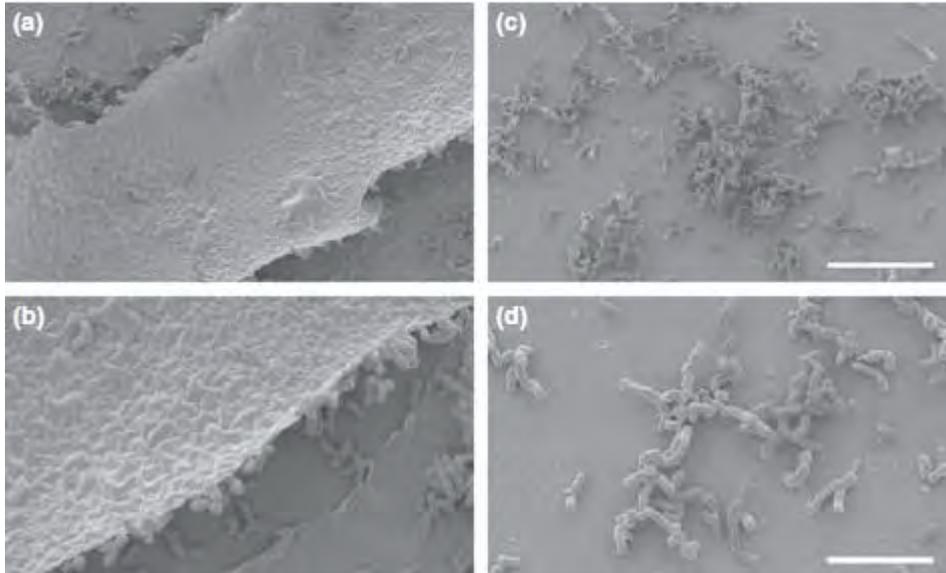
La dernière étape consiste en le détachement de certains contingents bactériens qui, sous forme planctonique, pourront alors coloniser d'autres surfaces<sup>119</sup> [Figure 20].



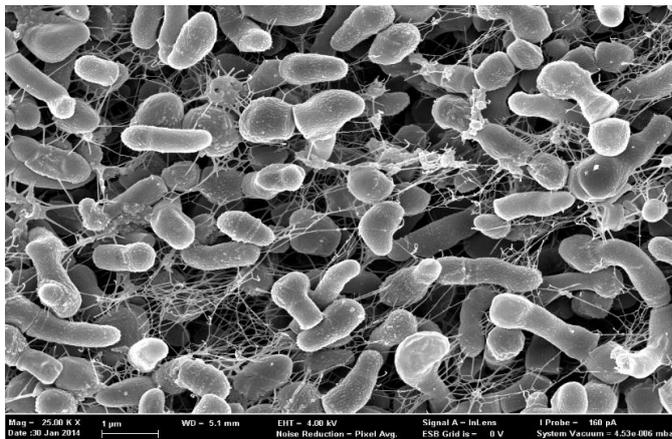
**Figure 20** : Représentation schématique des différentes étapes conduisant à la formation d'un biofilm (d'après Stoodley et al.<sup>120</sup> et Corvec S., CHU-Nantes<sup>121</sup>)

Ces phénomènes s'expliquent par une diminution du taux d'ingestion, une faible activité bactéricide et une altération de la production de superoxydes par les cellules granulocytaires entourant l'implant<sup>122,123</sup>. La résistance supérieure des bactéries du biofilm par rapport aux bactéries planctoniques<sup>124</sup>, fait que les infections associées sont plus difficiles à éradiquer et nécessitent généralement un traitement antibiotique et chirurgical<sup>123,125</sup>.

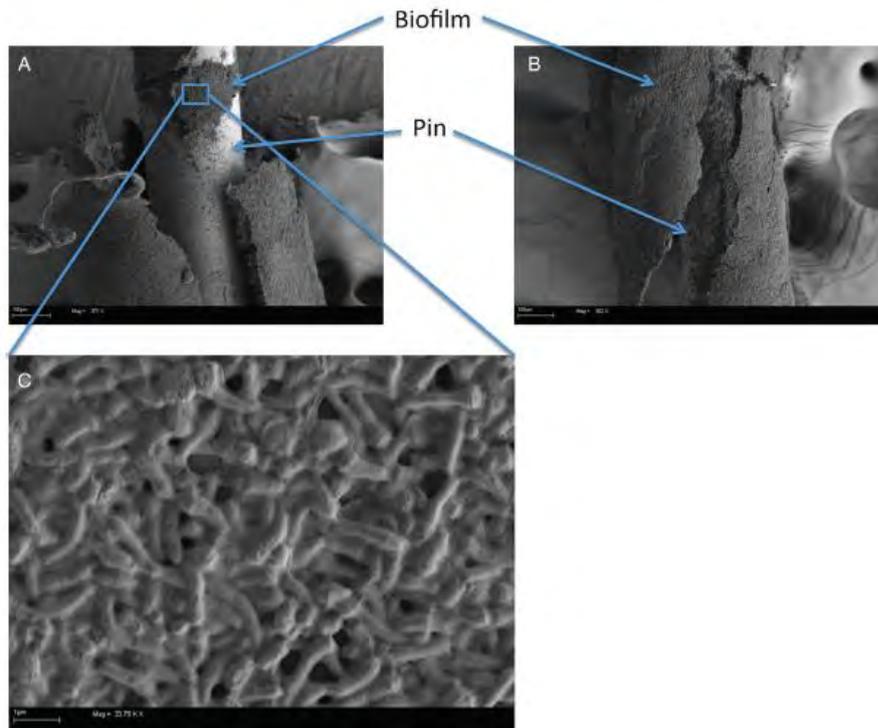
*In vitro*, les expérimentations réalisées ont montré que *C. acnes* était capable de former facilement un biofilm précoce ou mature sur toutes les surfaces testées : plaque de 96 puits<sup>126,127</sup> [Figure 21], billes de verre<sup>128</sup> [Figure 22], titane, acier [Figure 23] ou silicone<sup>129,130</sup>.



**Figure 21** : Microscopie électronique à balayage d'un biofilm d'isolat de *C. acnes* formé sur du plastique (a) et B). Microscopie électronique à balayage du même isolat en phase de croissance planctonique (c) et (d). Les barres d'échelle représentent 10  $\mu\text{m}$  (a et c) et 5  $\mu\text{m}$  (b et d).<sup>127</sup>



**Figure 22** : Microscopie électronique du biofilm formé par une souche de *C. acnes* (phylotype IB) sur billes de verre.<sup>131</sup>



**Figure 23 :** Microscopie électronique du biofilm formé par une souche de *C. acnes* (phylotype IA) sur tige d'acier inoxydable<sup>3</sup>.

*In vitro*, une souche de *C. acnes* forme un biofilm mature entre 18 et 96 heures après l'inoculation bactérienne selon le milieu de culture, l'inoculum de départ et la rugosité de la surface utilisée<sup>127,132</sup>.

*In vivo*, cette capacité est connue depuis longtemps, ainsi que la tolérance vis-à-vis des antibiotiques qu'elle octroie<sup>128,133</sup>.

Jahns *et al.* ont montré que la composition du biofilm produit par *C. acnes* est proche de celles des autres bactéries : ADN extracellulaire, protéines et résidus glycosylés. Ils constatent également que les gènes codant pour la réplication de l'ADN, la division cellulaire et la synthèse de la paroi sont sous-exprimés au sein des bactéries constituées en biofilm, *a contrario* de ceux codant pour le facteur de virulence CAMP 1<sup>131</sup>.

De nouveaux axes d'études considérant le microbiote dans sa totalité au sein de son microenvironnement semblent offrir de nouvelles avancées dans la compréhension du biofilm. Tyner *et al.* ont pu démontrer par exemple qu'en atmosphère anaérobie, *C. acnes* favorise non seulement la croissance en biofilm de *Staphylococcus aureus* mais aussi la survie de ce dernier en son sein<sup>134</sup>.

## V. CUTIBACTERIUM ACNES : PRESENTATION CLINIQUE

Les infections sur matériel étranger représentent les principales infections invasives à *C. acnes*.

Elles posent un énorme problème médical et économique en raison de l'augmentation de l'utilisation de prothèses et du vieillissement de la population<sup>135</sup>. Au cours des 15 dernières années, le rôle émergent de *C. acnes* dans les infections associées au matériel a concentré beaucoup d'attention mais on connaît également son implication dans un certain nombre d'autres infections chroniques telles que périodontites, endodontites, endophtalmies, kératites, rhinosinusites, prostatites et folliculites<sup>3</sup> [Tableau IV].

*Tableau IV : Liste des pathologies associées à C. acnes colligées par Achermann et al. : Revue de la littérature<sup>3</sup>.*

---

Disease
Indwelling medical device infection
Prosthetic joint infection (particularly shoulder prosthesis)
Orthopedic devices
Cerebrovascular devices (cerebrospinal fluid shunts or external ventricular drainages)
Postoperative craniotomy infections
Breast implants
Cardiovascular devices (e.g., pacemakers, ICDs, mechanical or biological heart valves, vascular grafts)
Endophthalmitis after implantation of a lens
Peritoneal catheters
Spine osteomyelitis with or without an implant
Endodontic infections
Periodontitis
Folliculitis associated or not with acne vulgaris
Prostatitis, prostate cancer
Endophthalmitis/keratitis
Chronic rhinosinusitis

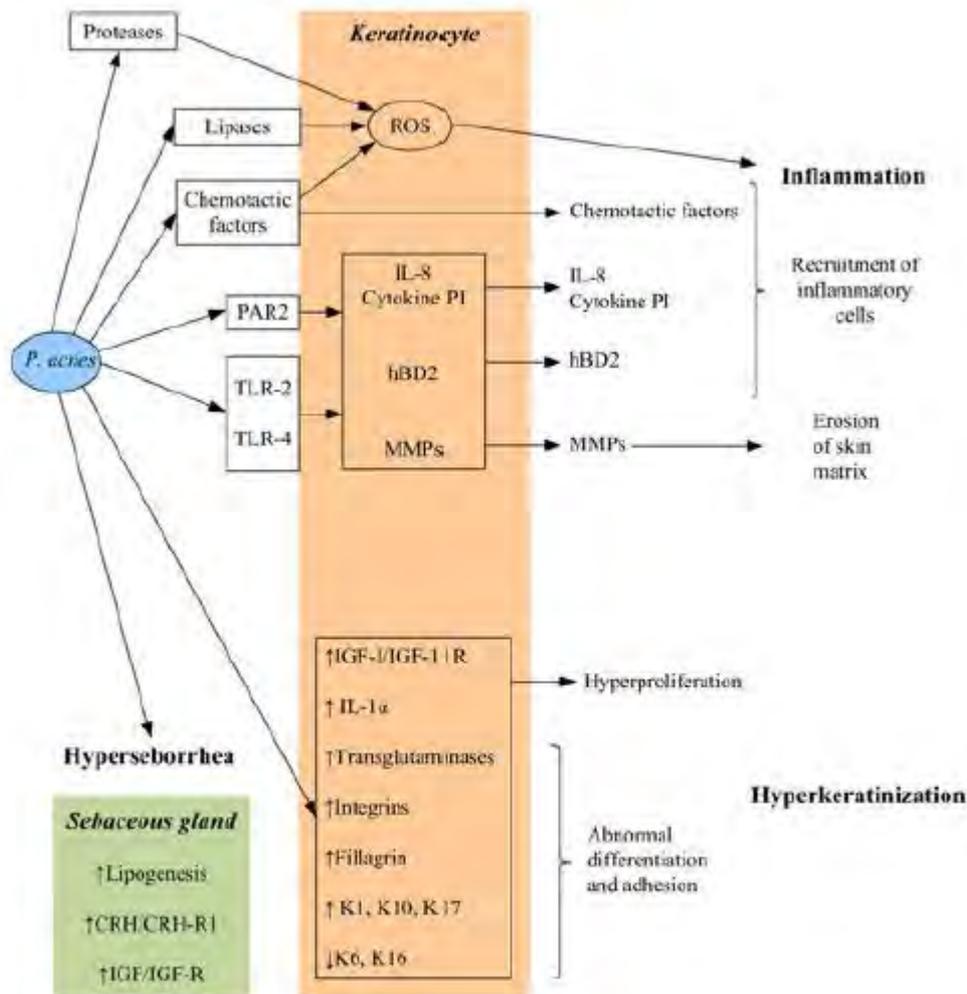
---

### **A. Infection superficielle : acné vulgaire**

Les progrès des techniques génomiques et des techniques d'échantillonnage ont prouvé que, contrairement à ce que l'on pensait, *C. acnes* est de loin la bactérie la plus abondante et prédominante dans le microbiote des follicules pilosébacés chez les patients souffrant d'acné, comme chez les individus à peau saine<sup>37</sup>.

Les analyses ont montré que l'abondance relative de *C. acnes* était similaire chez les 2 populations de patients (87% - 89%)<sup>73</sup> voire même légèrement plus élevée chez les sujets sains (89% - 94%)<sup>136</sup>.

Les mécanismes physiopathologiques sont pour certains connus. En sécrétant lipases, protéases et hyaluronidases, *C. acnes* altère le tissu de soutien de l'unité pilo-sébacée<sup>28</sup>. Les dommages causés activent les voies classiques et alternes du complément, et induisent la production de cytokines pro-inflammatoires et de facteurs chimioattractants recrutant les polynucléaires neutrophiles<sup>137</sup> [Figure 24]. *C. acnes* est d'autant plus présent au sein des follicules pilo-sébacées à partir de l'adolescence, leur maturation étant déclenchée par la puberté<sup>28</sup>.



- P. acnes*:
- leads to inflammation, hyperkeratinization and hyperseborrhea;
  - induces inflammation via reactive oxygen species (ROS) production and activation of PAR-2 and TLR keratinocyte receptors inducing proinflammatory molecules such as IL8, hBD2 and MMPs;
  - increases IL-1 secretion and transglutaminases/integrins/filaggrin expression leading to abnormal epidermal differentiation and proliferation;
  - stimulates sebum production increasing CRH/CRH-R1 expression and IGF/IGF-R stimulation.

Figure 24 : Schéma des différentes cibles de *C. acnes* et conséquences dans la pathogénèse de l'acné<sup>28</sup>. Le matériel enzymatique et antigénique de *C. acnes* provoque une augmentation de la synthèse et libération de cytokines pro-inflammatoires par les kératinocytes. Celles-ci sont responsables d'un recrutement de cellules inflammatoires, de l'érosion de la matrice cutanée et d'une hyperkératinisation par prolifération des kératinocytes.

## B. Infections sans matériel

### 1. Syndrome SAPHO

L'acronyme « SAPHO » a été défini pour désigner un ensemble de pathologies du système ostéo-articulaire associé à des manifestations cutanées : Synovite, Acné, Pustulose

palmo-plantaire souvent psoriasique, **Hyperostose** et **Ostéite**. C'est une affection qui touche surtout l'enfant et le jeune adulte, sans épargner le sujet âgé<sup>138</sup>.

Cliniquement, l'atteinte ostéo-articulaire peut être aiguë ou chronique, et elle a l'aspect d'une ostéite inflammatoire particulièrement évocatrice du diagnostic lorsqu'elle intéresse la paroi thoracique antérieure ou le pubis.

L'atteinte articulaire concerne les articulations contigües à l'atteinte osseuse telles que les articulations sterno-claviculaires et les sacro-iliaques. Les articulations périphériques sont également atteintes, prenant parfois l'allure pseudo-septique<sup>139</sup>. Le rachis est également fréquemment atteint. L'atteinte cutanée n'est pas obligatoire pour évoquer le diagnostic.

Les causes du syndrome SAPHO sont encore pratiquement inconnues. La culture bactériologique des prélèvements biopsiques est généralement stérile (mais la durée des cultures n'est pas précisée). Cependant plusieurs publications ont mentionné l'association avec *C. acnes*<sup>140,141</sup>.

## **2. Sarcôïdose**

Cette pathologie inflammatoire systémique chronique d'origine inconnue se présente par l'apparition de granulomes, souvent accompagnés de fibrose, suite à l'accumulation de macrophages activés dans différents tissus.

Beaucoup d'organes peuvent être atteints mais les poumons et les ganglions lymphatiques sont particulièrement touchés, notamment les ganglions médiastinaux, dont l'hypertrophie est un signe radiologique fréquent. Les formes pulmonaires évoluent rapidement vers l'insuffisance respiratoire.

Le diagnostic est évoqué devant les signes clinico-radiologiques et confirmé par biopsie tissulaire<sup>142</sup>.

L'étiologie reste encore inconnue mais l'hétérogénéité clinique de la sarcôïdose laisse suggérer que des motifs moléculaires associés aux pathogènes déclenchent ou amplifient l'inflammation<sup>142</sup>. Ces motifs moléculaires pourraient provenir de la dégradation de mycobactéries ou de propionibactéries et activer des récepteurs spécifiques comme les TLR<sup>143</sup>.

Des produits issus de propionibactéries, comme l'ADN, ont été retrouvés en plus grande quantité chez les patients atteints de sarcoïdose<sup>144,145</sup>. Ces patients présentent une réponse cellulaire T spécifique contre des antigènes de propionibactéries. De plus, des isolats de *C. acnes* peuvent induire des granulomes pulmonaires chez la souris<sup>146</sup>.

### **3. Cancer de la prostate**

Le cancer de la prostate est un des cancers les plus fréquents dans les pays développés. Les premières lésions cancéreuses apparaissent bien avant les premiers symptômes et il est difficile de déterminer quel événement en était à l'origine. L'origine afro-américaine ou les antécédents familiaux font partie des facteurs prédisposants<sup>147</sup>.

Plusieurs publications suggèrent que le cancer de la prostate serait lié à une inflammation possiblement due à une infection, les patients avec un antécédent de prostatite étant plus fréquemment victimes d'un cancer de la prostate<sup>148</sup>.

Alexeyev *et al.* ont détecté par PCR des séquences codant pour l'ARNr 16S dans 27% des échantillons de tissus prostatiques. La plupart de ces séquences appartenait à *C. acnes* mais la prévalence n'était pas significativement différente entre les populations de patients sains et ceux atteints d'un cancer de la prostate<sup>149</sup>. La localisation intracellulaire suggérait toutefois une prostatite plutôt qu'une colonisation<sup>150</sup>.

En revanche, des études ont montré un taux plus élevé de *C. acnes* au sein des tissus cancéreux comparé à des tissus sains<sup>151</sup>.

D'après la littérature, *C. acnes* semble être en mesure d'induire la surexpression de gènes régulant la croissance et la prolifération ou de réguler négativement un contrôleur majeur de la progression du cycle cellulaire<sup>152,153</sup>.

En outre, une étude retrouve un taux plus élevé d'anticorps anti *C. acnes* chez des patients indemnes de cancer de la prostate, laissant supposer un effet protecteur et anti-tumoral de ces anticorps<sup>154</sup>.

Enfin, nous avons déjà évoqué les propriétés pro-inflammatoires de *C. acnes* qui pourraient jouer un rôle.

### C. Infections sur prothèses et matériel

*C. acnes* est maintenant reconnu comme la cause de diverses infections associées à du matériel étranger, comprenant implants mammaires, dérivations neurochirurgicales, dispositifs cardiovasculaires, implants oculaires, dispositifs internes de fixation des fractures, matériel rachidien, et prothèses articulaires<sup>4</sup> [Figure 25].

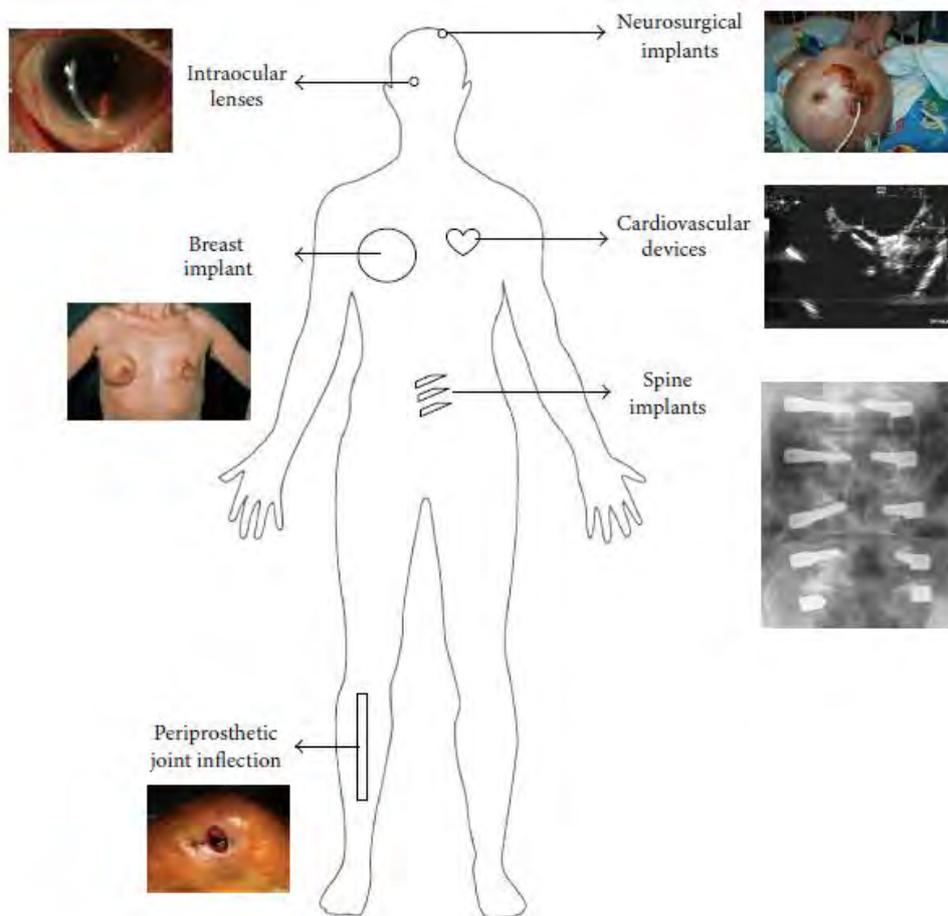


Figure 25 : Diversité des infections sur matériel causées par *C. acnes*<sup>4</sup>.

#### 1. Infections sur dispositif cardio-vasculaire

*C. acnes* est responsable d'infections sur dispositif cardiovasculaire : endocardite sur valve prothétique, infection sur pacemaker ou infection sur défibrillateur cardiaque implantable, par exemple<sup>3</sup>.

Les endocardites causées par *C. acnes* peuvent concerner des valves natives mais comme d'autres bactéries, c'est préférentiellement sur valve prothétique qu'il se développe,

touchant principalement la valve aortique<sup>51,155</sup>. La porte d'entrée est principalement cutanée suite à une brèche ou bactériémie. Des embolies depuis la valve sont fréquents<sup>4</sup>.

Une revue de la littérature révèle que cliniquement, l'endocardite est souvent pauci symptomatique en raison de la faible virulence du germe et de sa croissance lente<sup>156,157</sup>. Cela rend le diagnostic difficile, d'autant que la mise en évidence de *C. acnes* dans des hémocultures peut être interprétée comme une contamination.

Dans une étude de Park *et al.*, sur 522 patients examinés avec une bactériémie à *C. acnes*, seulement 18 (3,5%) avaient une bactériémie cliniquement significative<sup>158</sup>.

Le taux de mortalité est relativement élevé (15 à 27%) en raison de la destruction majeure du tissu valvulaire et du retard au diagnostic. Une antibiothérapie et une intervention chirurgicale avec changement de valve sont généralement nécessaires<sup>4,155</sup>.

L'amplification et le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S bactérien directement à partir de la valve retirée chirurgicalement semblent être la meilleure méthode de documentation de ces infections<sup>159</sup>.

## **2. Infections sur prothèses mammaires**

Les implants mammaires sont utilisés en chirurgie esthétique ou en chirurgie reconstructrice après une mastectomie<sup>4</sup>. La contracture capsulaire est une des complications de ce type de chirurgie. Elle survient chez 5,2 à 30 % des patientes<sup>160</sup>.

Il est désormais bien établi que *C. acnes* est impliqué dans l'apparition de la contracture capsulaire<sup>161</sup>. Pozo *et al.* ont retrouvé plus de 20 UFC de bactéries pour 10 ml de sonicat, dans un tiers des implants mammaires retirés en raison d'une contracture capsulaire<sup>162</sup>. Dans leur étude, Rieger *et al.* ont montré que la sonication permettait la détection de bactéries pour 41% des 22 implants mammaires retirés pour contracture capsulaire de grade avancé<sup>161</sup>. En outre, une culture bactérienne positive après sonication de l'implant était significativement corrélée au degré de contracture capsulaire. Les bactéries les plus fréquemment isolées étaient *C. acnes* et les staphylocoques à coagulase négative<sup>163</sup>.

### **3. Infections intraoculaires**

L'endophtalmie infectieuse est la complication la plus dévastatrice de la chirurgie intraoculaire. L'incidence de l'infection après chirurgie de cataracte et mise en place de l'implant est globalement faible, rapportée de 0,07 à 0,33%<sup>4</sup>.

Alors que l'endophtalmie aiguë survient généralement peu de temps après la chirurgie et est causée par *S. aureus*, staphylocoques à coagulase négative ou streptocoques, les infections tardives apparaissent au bout de quelques mois et jusqu'à plusieurs années après la chirurgie et sont principalement causées par des microorganismes faiblement virulents tels que *C. acnes*, *Actinomyces spp.* ou corynébactéries.

En raison de l'inoculum et de la faible virulence des germes responsables de l'endophtalmie post-opératoire retardée, les cultures de biopsie vitreuse échouent souvent à détecter les microorganismes responsables. Les techniques de diagnostic moléculaire par PCR ont ici leur place même si elles ne sont pas toujours mises en œuvre de manière systématique. L'approche chirurgicale, en particulier dans les cas de *C. acnes* est nécessaire<sup>4,164</sup>.

### **4. Infections de dérivations neurochirurgicales<sup>45</sup>**

*C. acnes* est de plus en plus isolé dans les infections neurochirurgicales des dérivations ventriculaires externes.

Ces infections représentent une complication grave entraînant une augmentation significative de la mortalité et de la morbidité. Le taux d'infection varie de 1,5 à 38%. Ces infections précoces et tardives (plus ou moins un an après la chirurgie) sont causées par des bactéries de la flore cutanée humaine. Les facteurs associés à un risque d'infection accru sont les hémorragies intra-ventriculaires ou sous-arachnoïdiennes, et une fracture du crâne avec fuite de liquide céphalo-rachidien (LCR).

Une étude récente rapporte que la plupart des micro-organismes isolés sont des staphylocoques à coagulase négative (63%) et *C. acnes* (15%). Les infections à *C. acnes* sont principalement liées à une inoculation cutanée au cours d'une intervention chirurgicale, mais des symptômes peuvent survenir plusieurs semaines, mois ou même années après l'implantation ou la manipulation des matériaux. L'analyse bactériologique du LCR est un élément important concourant au diagnostic. La distinction entre infection et

contamination/colonisation reste difficile sans signes cliniques. Les infections à *C. acnes* sont généralement asymptomatiques avec hémogramme et CRP normaux, sans modification importante de la biochimie du LCR.

### **5. Ostéomyélite vertébrale (spondylodiscite)**

L'ostéomyélite vertébrale est une infection du corps vertébral et/ou de l'espace situé entre les disques intervertébraux. Elle peut être associée à du matériel implanté. Le taux d'infection à *C. acnes* après chirurgie rachidienne est généralement faible mais est évalué à 12% lorsqu'un matériel est implanté<sup>165</sup>. Généralement responsable d'infections post-opératoires tardives, *C. acnes* a aussi été décrit dans des infections précoces<sup>3</sup>.

La présentation clinique se résume en des douleurs lombaires, généralement sans fièvre, mais le délai entre la chirurgie rachidienne et l'apparition des symptômes peut être de plusieurs années<sup>3</sup>.

Chirurgie récente et présence de matériel d'ostéosynthèse sont les principaux facteurs de risque. Le pronostic à long terme est bon si la prise en charge est satisfaisante : antibiothérapie prolongée, ablation du matériel d'ostéosynthèse, débridement des tissus nécrosés<sup>3</sup>.

En outre *C. acnes* serait impliqué dans la dégénérescence des disques intervertébraux, d'après une étude de 2001 dans laquelle les auteurs rapportaient 84% de cultures positives à *C. acnes* à partir de tissus prélevés lors de microdiscectomies chez des patients lombalgiques chroniques<sup>166</sup>.

### **6. Infections sur prothèse articulaires**

Une infection articulaire péri-prothétique est cliniquement et microbiologiquement définie par :

- (i) la présence d'un sinus qui communique avec la prothèse,
- (ii) la présence d'inflammation aiguë lors de l'examen histopathologique du tissu péri-prothétique au moment du débridement chirurgical ou du retrait de la prothèse,
- (iii) la présence de pus autour de la prothèse,

- (iv) deux cultures per opératoires ou plus, ou une combinaison de ponction préopératoire et de culture per opératoire conduisant à la détection du même microorganisme.<sup>167</sup>

La difficulté de prise en charge des infections ostéo-articulaires sur prothèse est liée à la capacité des bactéries à former un biofilm rapidement après contamination, rendant le diagnostic et le traitement difficiles<sup>125</sup>.

### 6.1. Origine de la contamination

La contamination provient principalement de la peau adjacente à la zone opérée, mais elle peut aussi être d'origine externe (soignants, gants) ou d'origine hématogène<sup>156</sup>.

Les infections exogènes débutent généralement pendant la chirurgie ou immédiatement après, facilitées par une anomalie de guérison de la plaie ou par un large hématome. Plus rarement, les infections exogènes peuvent apparaître tardivement, au décours d'une arthrocentèse ou d'une perforation cutanée, spontanée ou traumatique, causée par le matériel<sup>168</sup>.

Les infections d'origine hématogène peuvent survenir à tout moment après la chirurgie, bien que le risque soit maximal en post-opératoire immédiat<sup>169</sup>.

Il faut savoir que les mesures habituelles de préparation cutanée pré-opératoire (chlorhexidine alcoolique, polyvidone alcoolique, antibioprophylaxie) peuvent ne pas suffire à prévenir ces infections, *C. acnes* subsistant au sein du derme, probablement protégé de l'antiseptie au sein de l'unité pilo-sébacée<sup>170,171</sup>. Dans ces conditions, l'incision chirurgicale libérerait la bactérie au niveau du site opératoire d'autant plus qu'il y aurait présence d'acné à proximité.

### 6.2. *C. acnes* et localisation

*C. acnes* est responsable d'environ 10% des infections sur prothèse articulaire, derrière les staphylocoques (50%), les streptocoques (10%), les entérocoques (10%), et les bacilles à Gram négatif (10%)<sup>4</sup>. Cependant cette proportion est probablement sous-estimée en raison d'un temps de culture trop court, et d'une trop grande interprétation comme contaminant, dans de nombreux laboratoires encore<sup>172</sup>.

L'épaule est le siège le plus fréquent des infections prothétiques à *C. acnes*. C'est la principale bactérie responsable d'infection sur prothèse d'épaule avec une incidence située entre 0,9 et 1,9 % après la première chirurgie<sup>3</sup>. Ce tropisme est lié à une forte concentration des follicules pilo-sébacés à ce niveau<sup>39</sup>. Les prothèses de hanche et de genou, également, peuvent être infectées par *C. acnes*. 64 cas d'infection de prothèse de hanche et 10 de prothèse de genou pour 6 infections de prothèse d'épaule sont décrits dans la série de Zeller *et al.*, ce que confirment d'autres séries, comme celle de Lavergne<sup>173</sup>.

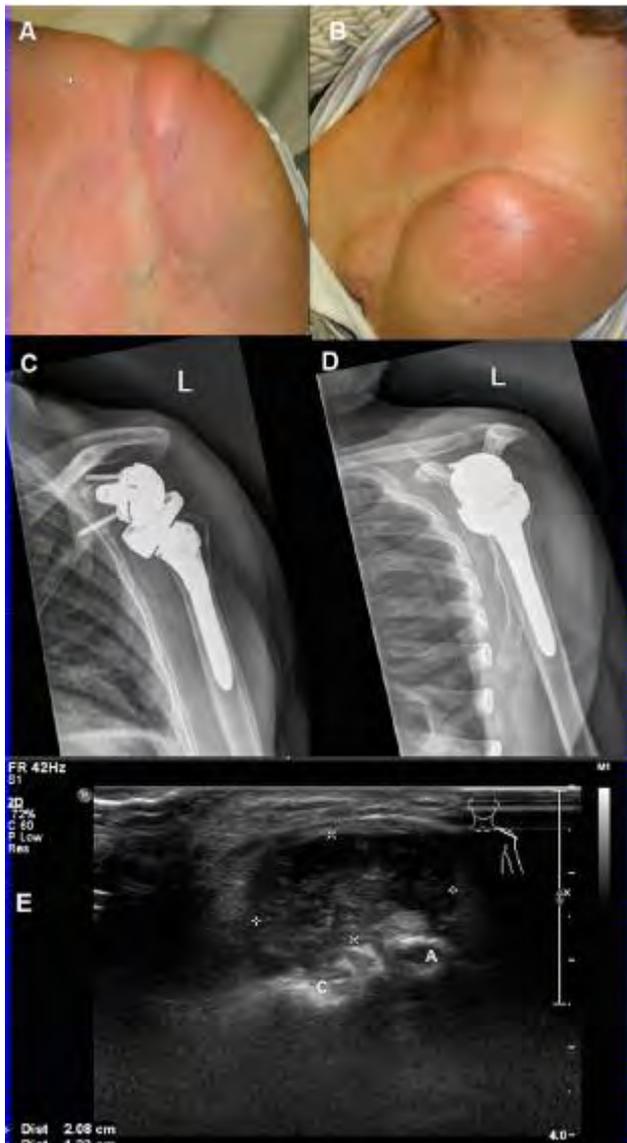
### 6.3. Symptomatologie

Zeller *et al.* et Dodson *et al.* ont distingué deux tableaux cliniques dans la présentation des infections prothétiques à *C. acnes*, l'un évoquant d'emblée une infection, et l'autre trompeur, avec une prothèse douloureuse ou raide. Les signes cliniques évocateurs sont plus souvent retrouvés dans les infections s'exprimant dans les 2 premières années postopératoires.

Dans les infections cliniquement évidentes, des signes locaux sont présents sans spécificité : inflammation locale, rougeur cicatricielle, gonflement voire fistule. Les signes généraux tels que la fièvre sont peu présents ou peu marqués. L'absence de signes généraux se retrouve sur le bilan biologique par un syndrome inflammatoire biologique peu marqué sans hyperleucocytose sauf co-infection (CRP peu élevée, en moyenne de 18 mg/l pour Zeller *et al.*, de 21 à 35 mg/l dans les infections cliniquement évidentes pour Lutz *et al.*, contre 0,8 à 8,8 mg/l seulement pour Dodson *et al.*)<sup>173</sup>.

Malheureusement, les infections sur prothèse à *C. acnes* restent souvent indolentes<sup>174</sup>. Elles se manifestent tardivement, parfois plusieurs années après la chirurgie, et l'examen anatomopathologique des tissus environnant la prothèse ne révèle au mieux qu'une inflammation chronique, signe de la faible virulence et/ou du faible inoculum de la bactérie<sup>175</sup>.

Toutefois, en présence d'une prothèse douloureuse, tout descellement radiologique précoce doit faire évoquer un processus infectieux sous-jacent. A l'épaule, une atteinte humérale prédominante (descellement, ostéolyse) serait en faveur d'une infection à *C. acnes* même si dans de nombreux cas, il n'y a pas de signes francs de descellement à l'imagerie [Figure 26].<sup>3</sup>



**Figure 26** : Infection sur prothèse d'épaule gauche avec formation d'abcès chez une femme de 82 ans, 3 mois après une arthroplastie primaire de l'épaule. Présentation clinique (A et B) avec gonflement soudain et douleur au-dessus de l'articulation acromio-claviculaire gauche, sans signes radiologiques d'ostéolyse ou de descellement de l'implant (C et D) mais avec une collection péri articulaire (E) de 2,8 x 1 cm de large (A, acromion; C, clavicule). *C. acnes* a été cultivé dans 2 des 2 ponctions articulaires, dans 1 des 3 échantillons de biopsie tissulaire et dans le liquide de sonication de la partie mobile de l'implant (environ 500 UFC/ml).<sup>3</sup>

#### 6.4. Facteurs de risques ou associés

Plusieurs études ont été réalisées dans le but de mettre en évidence des facteurs de risques de développer une infection sur prothèse à *C. acnes*.

Pour Pottinger *et al.*, un liquide synovial louche en peropératoire, le sexe masculin, et une ostéolyse humérale, sont associés à un risque 6 fois supérieur d'isoler *C. acnes* dans les prélèvements au niveau de l'épaule<sup>176</sup>. Le descellement huméral, l'usure de la cavité glénoïde et la formation d'une membrane étaient associés à une augmentation de 300% du risque de faire une infection.

De leur côté, Lavergne *et al.*, ont mis en évidence que les infections monomicrobiennes à *C. acnes* récidivent plus fréquemment que les polymicrobiennes contenant du *C. acnes*, et sont plus fréquemment pauci symptomatiques<sup>177</sup>.

Concernant le type de prothèse, Hou *et al.* notent une proportion plus importante de prothèses inversées dans les infections à *C. acnes* que dans les infections à d'autres germes (9,1 versus 1,5 %). Il semble que les antécédents chirurgicaux soient associés à une plus grande fréquence d'infections à *C. acnes*, en revanche l'association ou non à des comorbidités spécifiques est discutée dans la littérature, comme par exemple le diabète<sup>173</sup>.

## **VI. CUTIBACTERIUM ACNES : DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE ET ELEMENTS THERAPEUTIQUES DANS LES INFECTIONS ASSOCIEES A DU MATERIEL ETRANGER**

### **A. Diagnostic microbiologique**

#### ***1. Prélèvements et mise en culture***

Le laboratoire de bactériologie médicale joue un rôle important dans le diagnostic des infections associées à du matériel. Les biologistes médicaux peuvent s'appuyer sur des éléments solides de la littérature qui ont nourri des recommandations professionnelles.

Il est admis que l'analyse bactériologique doit être effectuée à partir de prélèvements profonds de bonne qualité (en évitant la contamination cutanée), en nombre suffisant et de volume suffisant (0,5 à 1 cm<sup>3</sup>), ce qui exclut l'utilisation d'écouvillons<sup>167,178</sup>. Plusieurs échantillons de tissus peropératoires (tissus mous et os) provenant de différentes parties de la région péri-implantaire doivent être prélevés pour un échantillonnage microbiologique significatif au niveau des zones macroscopiquement infectées ou douteuses et non de façon systématique au niveau de chaque interface. Au moins trois et idéalement cinq à six prélèvements sont à réaliser et à mettre en culture sous atmosphère aérobie et anaérobie en raison de la distribution hétérogène du biofilm et pour faciliter l'interprétation entre infection et contamination de la peau<sup>167,179</sup>.

Idéalement, le traitement antimicrobien devrait être interrompu pendant au moins 2 semaines avant la collecte des échantillons microbiologiques<sup>179-181</sup>, afin d'augmenter la sensibilité. Si l'infection concerne une articulation, une ponction préopératoire de liquide articulaire peut être réalisée en s'assurant de conditions d'asepsie chirurgicale strictes. Le transport vers le laboratoire doit être rigoureux pour éviter toute suspicion de contamination secondaire.

Différents milieux de culture peuvent être utilisés, sans qu'un ne soit supérieur aux autres en cas de suspicion d'infection sur prothèse<sup>44</sup>.

Le délai de culture est en revanche long, avec actuellement un délai moyen de positivité de six jours (2 à 15 jours), justifiant des cultures prolongées de 10 à 14 jours<sup>51,54</sup>.

Pour certains auteurs, il est possible d'améliorer la sensibilité des examens bactériologiques en utilisant des techniques de broyage<sup>182</sup> ou de sonication du matériel explanté, de façon à décrocher les bactéries présentes dans le biofilm<sup>180</sup>. La sonication consiste à traiter le prélèvement par ultrasons dans un bain puis le liquide de sonication estensemencé sur géloses et bouillon thioglycolate. La sensibilité de la culture du liquide de sonication est supérieure à celle de la culture tissulaire conventionnelle (78,5% contre 60,8%;  $p < 0,001$ ), et supérieure à celle de la culture après une phase de vortex seule. La technique de sonication peut être utilisée dans tous les cas de suspicion d'infections sur matériel<sup>3</sup>.

Concernant l'identification bactérienne, la spectrométrie de masse MALDI-TOF, qui équipe de nombreux laboratoires, présente une bonne sensibilité<sup>183</sup>. Les techniques de PCR avec amorces spécifiques montrent également une bonne sensibilité et une bonne spécificité<sup>3</sup>. En revanche les techniques d'amplification des séquences codant pour l'ARNr 16S ont une valeur diagnostique discutée dans cette indication<sup>40,48,49</sup>.

## **2. Critères diagnostiques**

Lutz *et al.* ont proposé une classification en trois groupes pour évaluer la probabilité d'infection à *C. acnes*, selon les combinaisons entre les signes cliniques d'infection et la positivité des prélèvements<sup>184</sup> [Tableau V].

Asseray *et al.* ont proposé des critères pour différencier les infections des contaminations en cas de culture positives<sup>185</sup> [Table VI].

La vitesse de positivité des cultures peut également être un élément discriminant, avec une médiane à 5 jours pour les infections contre 9 pour les contaminations<sup>173</sup>.

Tableau V : Classification de Lutz et al.<sup>173</sup>

Groupe	Type infection	Signes cliniques d'infection	Nombre de prélèvements positifs à <i>P. acnes</i>
I	Certaine	Présents	≥ 2
II	Probable	Présents	1
III	Possible	Absents	≥ 1

Tableau VI : Critères en faveur d'une infection à *C. acnes* (probabilité > 90 %) d'après Asseray et al.<sup>173,185</sup>

Nombre de prélèvements positifs à <i>P. acnes</i>	Nombre de signes associés	Parmi
≥ 2	+ 1	Au moins deux antécédents chirurgicaux locaux, présence d'implant orthopédique, signes locaux d'infection, anomalies peropératoires (c'est-à-dire descellement)
1	+ 3	Au moins deux antécédents chirurgicaux locaux, présence d'implant orthopédique, signes locaux d'infection, syndrome inflammatoire, anomalies peropératoires (c'est-à-dire descellement)

En 2008, la SPILF (Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française) en partenariat avec la SOFCOT (Société Française de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique) proposait une classification remaniée pour l'évaluation de la probabilité d'infections à *C. acnes* [Tableau VII].

Tableau VII : Proposition de classification remaniée pour l'évaluation de la probabilité d'infections à *C. acnes*<sup>186</sup>. Concernant *C. acnes*, bactérie de la flore cutanée, on constate que lorsque 3 prélèvements sont positifs chez un même patient, l'infection est considérée comme certaine. Elle est possible si 2 prélèvements sont positifs et est exclue pour un seul prélèvement positif.

Infection	Fistule	Pus articulation ou au contact matériel	Prélèvs per-op >0 Culture Bactéries flore cutanée	Prélèvs per-op >0 Culture Bactéries flore non cutanée	Ana-path >5 PN/ champ dans 5 champs x40	Coloration de Gram direct	Liquide articulaire >65% PN	
<b>certaine</b>	+ ou	+ ou	3 per-op ou 2 per-op et 1 p. artic	2 per-op ou 1 per-op et 1 p. arti ou 1 hémoc				
<b>possible</b>	-	-	2 per-op ou 1 per-op et 1 p. artic	et	+			
				1 per-op	et	+	ou	+
			-	-	et	+	et/ou	+
<b>exclue</b>	-	-	-	-	-			
			1 per-op		-			-

## B. Stratégie thérapeutique

### 1. *Prévention*

Il n'existe aucune mesure préventive spécifique pour éviter les infections associées au matériel causées par *C. acnes*. Cependant, les méthodes qui tendent à limiter l'infection à demeure des dispositifs médicaux peuvent être utilisées.

Les recommandations générales en matière de prévention comprennent une préparation adéquate de la peau (désinfection), une prophylaxie antibiotique, une réduction du temps

opératoire entre la première incision et la fermeture, l'utilisation d'un ciment osseux chargé d'antibiotiques et un suivi postopératoire minutieux. Si des études concernent le potentiel d'un vaccin à prévenir l'acné médicamenteuse par *C. acnes*, aucune ne concerne les infections associées à du matériel<sup>3</sup>.

## **2. Sensibilité aux antibiotiques**

Les antibiotiques systémiques et topiques sont depuis longtemps au cœur de l'arsenal thérapeutique contre *C. acnes*, principalement contre l'acné. Comme toutes les espèces du genre, *C. acnes* est naturellement résistant aux agents 5-nitroimidazole (métronidazole, tinidazole et ornidazole), à la fosfomycine, aux aminoglycosides, aux sulfonamides et à la mupirocine. En revanche la bactérie est généralement sensible à une grande variété d'antimicrobiens largement utilisés comme les  $\beta$ -lactamines, les quinolones, la clindamycine ou la rifampicine<sup>37,187</sup>.

### **2.1. Emergence des résistances**

L'acquisition de résistances par *C. acnes* est décrite depuis une quarantaine d'années. Ce phénomène semble s'amplifier<sup>45</sup>. Le premier article faisant état de résistances acquises date de 1979<sup>188</sup> et décrivait la résistance aux macrolides, puis la résistance aux tétracyclines<sup>189</sup>. Depuis, la résistance aux macrolides est mondialement décrite.

Une étude incluant 13 pays et 314 isolats de *C. acnes* faisait état d'un taux de résistance de 2,6 % à la tétracycline, de 15,1 % à la clindamycine, et 17,1 % à l'érythromycine, la résistance à l'érythromycine étant souvent associée à une résistance à la clindamycine. Aucune souche résistante au linézolide, à la pénicilline G, à la vancomycine ou à la daptomycine n'a été observée. Le taux de résistance observé était très variable selon les pays d'origine des souches : 83 % en Croatie, 60 % en Italie, 0% aux Pays-Bas<sup>190</sup>. L'utilisation massive des antibiotiques sous forme topique mais aussi *per os*, pour traiter l'acné, est incriminée dans l'apparition de ces résistances<sup>191</sup>.

Plus récemment, des souches résistantes au cotrimoxazole ont été décrites, notamment chez des patients présentant une acné sévère<sup>191</sup>, ainsi que des résistances aux fluoroquinolones.

Enfin, une première description de résistance *in vitro* à la rifampicine a été publiée en 2013, confirmée par la suite sur des souches cliniques<sup>192,193</sup>.

Le groupe de travail sur la résistance antimicrobienne des bactéries anaérobies du groupe ESCMID a publié en 2005 un rapport sur la résistance de *C. acnes* par type d'échantillon clinique :

- Résistance à l'érythromycine: sang (31,4 %), méningite (21,4 %), infections abdominales (18,2 %), poumon et liquide pleural (16,7 %)
- Résistance à la clindamycine: méningite (21,4 %), prothèse (20 %) et sang (20 %).

La résistance à la tétracycline était associée à des souches isolées des tissus, de la bile, des os, de la peau et du sang<sup>45</sup>.

## 2.2. Antibiogramme

La sensibilité des antibiotiques couramment utilisés est testée *in vitro* au laboratoire en raison de la prévalence de la résistance aux antibiotiques chez *C. acnes*. En outre, d'autres antibiotiques peuvent être testés au décours d'infections graves, ou polymicrobiennes. Des valeurs seuils de CMI50 et de CMI90 pour *C. acnes* ont été publiées par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) aux États-Unis, et par le European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), afin d'estimer la sensibilité du germe aux antibiotiques susceptibles d'être utilisés [Tableau VIII]. Ces données ont été évaluées par dilution en gélose, microdilution en bouillon ou E-test. Les  $\beta$ -lactamines, la tigécycline et la rifampicine présentent l'activité la plus forte contre les souches de *C. acnes*<sup>3</sup>.

**Tableau VIII : CMI seuils rapportées par EUCAST pour les bactéries Gram positifs anaérobies et par le CLSI pour *Cutibacterium acnes*<sup>3</sup>.**

Drug(s)	MIC breakpoint (mg/liter) <sup>d</sup>				% resistant <i>P. acnes</i> strains (34 isolates) <sup>c</sup>
	EUCAST		CLSI		
	S	R	S	R	
Penicillin	0.25	0.5	≤0.5	≥2	0
Amoxicillin	4	8			
Ampicillin	4	8	≤0.5	≥2	0
Ampicillin, sulbactam			<8/4	≥32/18	0
Azithromycin	— <sup>b</sup>				
Ceftriaxone, cefepime, cefoxitin					
Cefoxitin			≤16	≥64	0
Cephalothin					
Ciprofloxacin, levofloxacin	— <sup>a</sup>				
Clindamycin	4	4	≤2	≥8	3
Daptomycin	— <sup>b</sup>				
Doripenem	1	1			
Doxycycline, minocycline					
Ertapenem	1	1	≤4	≥16	0
Fusidic acid	— <sup>b</sup>				
Gentamicin	— <sup>a</sup>				
Imipenem	2	8	≤4	≥16	0
Linezolid	— <sup>a</sup>				
Meropenem	2	8		≥16	0
Metronidazole	4	4	≤8	≥32	97
Moxifloxacin	— <sup>a</sup>		≤2	≥8	0
Piperacillin-tazobactam	8	16	<32/4	≥128/4	0
Rifampin	— <sup>b</sup>				
Tigecycline	— <sup>a</sup>				
Trimethoprim-sulfamethoxazole					
Vancomycin	2	2			

<sup>a</sup> For the following antibiotics, EUCAST reports non-species-related breakpoints: for gentamicin, resistant at >4 mg/liter and susceptible at ≤4 mg/liter; for ciprofloxacin, resistant at >1 mg/liter and susceptible at ≤0.5 mg/liter; for moxifloxacin, resistant at >1 mg/liter and susceptible at ≤0.5 mg/liter; for tigecycline, resistant at >0.5 mg/liter and susceptible at ≤0.25 mg/liter; and linezolid, resistant at >4 mg/liter and susceptible at ≤2 mg/liter.

<sup>b</sup> For antibiotics not included in these categories, the following EUCAST MIC resistance breakpoints established for other Gram-positive organisms were used: >2 mg/liter for azithromycin, >1 mg/liter for fusidic acid, >0.5 mg/liter for rifampin, and >1 mg/liter for daptomycin.

<sup>c</sup> CLSI isolates collected from selected U.S. hospitals from 1 January 2007 to 31 December 2009 (233).

<sup>d</sup> S, susceptible; R, resistant.

### 2.3. Mécanismes de résistance

Plusieurs facteurs sont décrits comme impliqués dans le développement de la résistance à *C. acnes* : l'inoculum, le niveau d'antibiotique (pression de sélection), l'acquisition de la résistance par la flore normale, l'excrétion importante de sébum, la durée du traitement, l'utilisation consécutive de divers antibiotiques et la mauvaise observance du patient, en particulier dans le cas d'un traitement prolongé des infections profondes sur matériel<sup>45</sup>.

La résistance aux antibiotiques est soit acquise par échange génétique entre souches, soit liée à des mutations chromosomiques. Cependant, *C. acnes* présente un avantage pour les équipes médicales car sa capacité d'adaptabilité génétique est réduite. A l'inverse d'autres bactéries, comme les staphylocoques par exemple, *C. acnes* développe rarement une résistance aux antibiotiques en acquérant des éléments génétiques mobiles tels que des plasmides<sup>45</sup>.

Les mécanismes moléculaires à l'origine de la résistance des souches de *C. acnes* à la tétracycline et aux macrolides sont associés à des mutations ponctuelles dans le gène codant pour l'ARNr. La résistance aux macrolides est due à des mutations de l'ARN23S (avec des niveaux variables de résistance et de résistances associées en fonction de la mutation), à une modification de la cible par une diméthylase codée par le gène *erm(X)* pour erythromycin ribosomal methylase, ou parfois à des mutations des protéines ribosomales. Les bactéries résistantes à l'érythromycine sont classées en fonction de leur profil de résistances croisées au panel macrolide-lincosamide-streptogramine B (MLS)<sup>3,45</sup>. Le mécanisme exact de résistance des souches de *C. acnes* au cotrimoxazole est inconnu. Des mutations dans le gène *gyrA* codant pour l'ADN gyrase confèrent les résistances aux fluoroquinolones. Enfin le mécanisme impliqué dans les résistances décrites pour la rifampicine correspond à des mutations dans le gène *rpoB* codant pour la sous-unité  $\beta$  de l'ARN-polymérase<sup>3,193</sup>.

#### 2.4. Biofilm

La sensibilité aux antibiotiques des bactéries est considérablement réduite en présence d'un biofilm, par rapport aux homologues planctoniques. La tolérance aux antibiotiques et la résistance aux traitements des populations de biofilms sessiles de *C. acnes* ont été démontrées dans plusieurs études *in vitro* et *in vivo*, et sont principalement dues à la double résistance aux antibiotiques et à la phagocytose. Lorsque les bactéries se détachent du biofilm, elles deviennent sensibles, ce qui suggère que la résistance aux antimicrobiens est due à la tolérance au biofilm, et non à des mécanismes tels que des mutations ou des enzymes d'inactivation. La rifampicine peut désorganiser la structure de l'exopolysaccharide, et présente donc une excellente activité contre le biofilm, y compris en présence de staphylocoques.

Alors que la rifampicine et la daptomycine apparaissent efficaces contre les biofilms de *C. acnes*, la vancomycine, la clindamycine et la lévofloxacine le sont moins. Un modèle animal *in vivo* obtenait le taux de guérison le plus élevé avec l'association daptomycine-rifampicine (63%), suivie de 46% pour vancomycine-rifampicine<sup>128</sup>.

### **3. Stratégies thérapeutiques dans les infections sur matériel**

Les infections vraies sur matériel à *C. acnes* doivent être traitées selon les principes généraux du traitement des infections sur matériel. La prise en charge est médico-chirurgicale et associée :

- un geste chirurgical conservateur ou non vis à vis de l'implant avec excision des tissus infectés, permettant la réalisation de prélèvements bactériologiques nécessaires ;
- un traitement antibiotique comportant initialement une antibiothérapie probabiliste à large spectre, secondairement adaptée aux germes mis en évidence par le laboratoire.

L'éradication des germes formant le biofilm est indispensable pour une guérison totale. Le délai séparant l'apparition des symptômes de l'implantation du matériel est important. Il permet de discuter un traitement conservateur s'il est inférieur à un mois, dans le cadre des infections de prothèses articulaires. On rappelle toutefois le caractère indolent des infections à *C. acnes*, se traduisant souvent par une présentation tardive.

#### **3.1. Traitements chirurgicaux (cas des infections de prothèses)**

Le traitement peut être conservateur, associant un lavage à une synovectomie à ciel ouvert la plus complète possible. Concernant le lavage, aucune preuve n'est établie que l'utilisation d'un liquide autre que du sérum physiologique soit plus efficace. Le chirurgien peut, pour certaines articulations, procéder au changement des pièces dites "mobiles" (tête prothétique humérale, plateau tibial, bille fémorale, insert cotyloïdien ...) <sup>173</sup>.

Le changement de prothèse est impératif au-delà du premier mois après l'implantation prothétique, en raison de la présence de biofilm. Ce changement comporte l'ablation de toutes les pièces prothétiques, d'une ostéosynthèse éventuelle, et de la totalité du ciment pour les pièces cimentées. Le choix d'une technique en un ou en deux temps repose

essentiellement sur l'avis de l'équipe, en fonction du contexte, et sur l'expérience du chirurgien.

### 3.2. Antibiothérapie

La thérapie chirurgicale doit être accompagnée d'un traitement antibiotique prolongé pour éliminer les bactéries restantes. Dès les prélèvements peropératoires effectués (ou dès l'incision), une antibiothérapie probabiliste, intraveineuse, à large spectre, à diffusion et à doses osseuses, secondairement adaptée, est débutée, associée à l'antibioprophylaxie classique qui permet d'éviter la contamination peropératoire<sup>173</sup>.

La sensibilité de *C. acnes* aux antibiotiques habituellement utilisés dans les infections ostéo-articulaires tels que  $\beta$ -lactamines, rifampicine ou quinolones, reste assez bonne, néanmoins la résistance croissante principalement à la clindamycine de *C. acnes* plaide pour des antibiogrammes systématiques en routine dans ce type d'infections. L'adaptation du traitement est généralement proposée après une RCP ostéo-articulaire, au cours de laquelle le caractère monomicrobien ou polymicrobien de l'infection ainsi que les comorbidités du patient sont pris en compte<sup>3,173</sup>.

Pour les infections sur prothèse articulaire, il est suggéré un traitement antibiotique de 6 à 12 semaines voire de 3 à 6 mois sous forme de bi-antibiothérapie efficace. Pour les ostéomyélites rachidiennes, la durée du traitement antimicrobien recommandée varie de 4 à 6 semaines jusqu'à 3 mois si du matériel est implanté. Pour les infections cardiovasculaires à *C. acnes*, un traitement par voie intraveineuse par  $\beta$ -lactamine seule, ou associée initialement à un aminoside, pendant 6 semaines est préconisé<sup>3</sup>.

L'utilisation de la rifampicine (toujours associée à d'autres antibiotiques pour prévenir l'émergence de résistances) dans les infections associées à un dispositif orthopédique a été démontrée. Son rôle dans les infections à *C. acnes* a été étudié sur un modèle animal *in vivo*. Elle présente une bonne efficacité associée à la vancomycine, à la daptomycine ou à la lévofloxacine<sup>3</sup>.

Concernant les infections ostéo-articulaires sur prothèse, on trouve dans la littérature des taux de succès infectieux à l'issue d'un traitement bien conduit aux alentours de 90% pour des séries de cas comportant des prothèses de hanche, de genou et d'épaule.

Ces chiffres sont comparables à ceux obtenus pour d'autres germes, ainsi *C. acnes* n'est pas un germe considéré comme à risque de pronostic infectieux défavorable<sup>173</sup>.

## VII. CUTIBACTERIUM ACNES ET ASSOCIATION DES PHYLOTYPES : OÙ EN EST-ON ?

Avec l'avènement des méthodes de phylotypage, on a vu beaucoup de publications portant sur le tropisme clinique des phylotypes rencontrés ou sur leur association avec des résistances, des facteurs de virulence par exemple. Les informations ainsi publiées, même si parfois contradictoires, permettent tout de même de servir de base solide aux recherches importantes qui sont à mener en la matière.

### A. Phylotypes et tropismes clinique

Dans leur revue de la littérature concernant le typage de *C. acnes*, Yu *et al.* présentaient les associations entre phylotypes et pathologies relevées dans les travaux de différents auteurs sur le sujet [Tableau IX].

**Tableau IX** : Associations entre phylotype de *C. acnes* et pathologies, mentionnées dans la littérature<sup>7</sup>. L'acné semble principalement associée au phylotype IA et les dispositifs médicaux aux phylotypes IB et II.

Phylotype <sup>18,19</sup>	recA type	Ribotype <sup>18,19</sup>	MLST <sub>4</sub> <sup>17</sup>	MLST <sub>2010</sub> <sup>7</sup>
IA-1	IA	1 None	IA <sub>1</sub> (CC1) Acne	I-1a (CC18) Acne
IA-2	IA	1 None	IA <sub>1</sub> (CC3) Acne	I-1a (CC3) Acne
IA-2	IA	4, 5 Acne	IA <sub>1</sub> (CC3) Acne	I-1a (CC3) Acne
IB-1	IB	8 Acne	IA <sub>1</sub> (CC4) Acne	I-1b None
IB-2	IB	3 None	IA <sub>2</sub> Eye	I-1a (CC28) Acne
IB-3	IB	1 None	IB Medical devices, tissue	I-2 None
IC	IA	5 Acne	IC Acne	NA
II	II	2 None	II Medical devices, blood	II None
II	II	6 Healthy skin	II (ST7) Medical devices, blood	II None
III	III	NA	III Healthy skin, spinal disc	NA

MLST, multilocus sequence typing; NA, not assessed. Clonal complex (CC) and sequence type (ST) designations are provided for reference, and were not assessed for disease association.

## 1. *Phylotypes et acné*

Les données entre phylotype et acné sont les plus nombreuses dans la littérature. La facilité d'obtention des souches a fait qu'une majorité de souches cutanées est à l'origine des travaux sur les techniques de typage (MLST, SLST etc.) et des premiers résultats concernant l'éco-épidémiologie des différents phylotypes.

En 2010, Lomholt et Kilian observaient 210 souches de *C. acnes* de la peau d'individus sains et de patients présentant divers degrés d'acné ou d'autres maladies infectieuses, et procédaient au typage par la méthode qu'ils venaient de mettre au point : MLST9 selon le schéma d'Aarhus. Il s'agissait des premières données issues de MLST. Ils observaient que le phylotype IA était fortement associé à l'acné modérée à sévère, tandis que d'autres, IB, II et III, étaient associés à une peau saine et à des infections tissulaires opportunistes profondes<sup>64</sup>. Ces résultats venaient confirmer d'anciennes observations faites en 1983 où Gehse *et al.* avaient utilisé le lysotypage pour conclure que le type I était plus fréquemment associé à l'acné<sup>194</sup>.

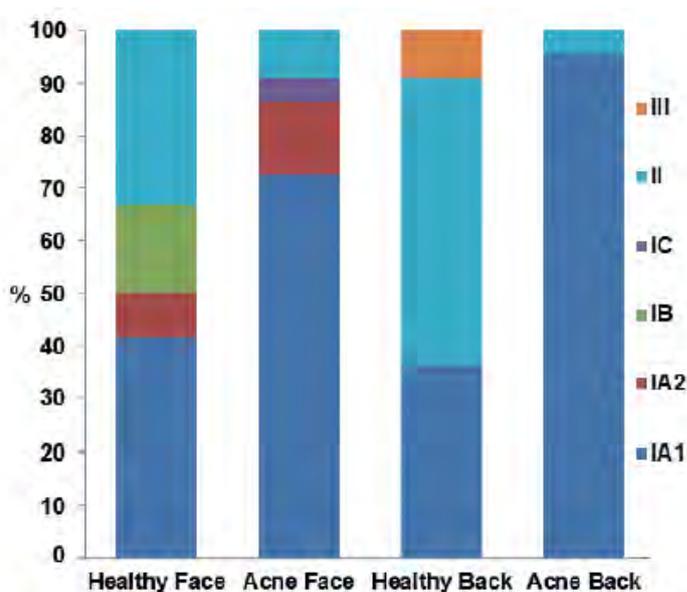
De son côté, l'équipe de McDowell utilisait son propre schéma de Belfast MLST8 pour révéler une association entre les isolats de type IA1 et IC et l'acné, alors que les isolats de phylotype IA2, IB et II étaient moins présents dans cette affection. Le type III était quand à lui associé à la peau saine<sup>6,71</sup>. Simultanément, une équipe coréenne montrait, en technique PCR, que la distribution des phylotypes était similaire entre les lésions cutanées et les comédons, mais que les papules et les pustules étaient caractérisées par une augmentation du phylotype IA et une diminution des phylotypes IB et II<sup>83</sup>. Cette observation amenait l'idée que le phylotype IA prolifère préférentiellement dans un microenvironnement inflammatoire, révélant un changement des populations de *C. acnes* chez les patients souffrant d'acné<sup>37</sup>.

Quant à eux, Fitz-Gibbon *et al.* utilisaient une technique d'échantillonnage plus complète et une analyse métagénomique par séquençage génome entier combiné au ribotypage pour affiner les associations entre phylotype et acné. Ils montraient que les phylotypes de *C. acnes* étaient significativement différents entre les microcomédons cutanés des patients acnéiques et ceux des individus sains : le phylotype IA1 était plus fortement associé à l'acné, tandis que le phylotype II et d'autres ribotypes appartenant à divers phylotypes (IA, IB et II), présentaient une dispersion uniforme dans les deux cohortes<sup>37,73</sup>.

En 2017, Lomholt *et al.* publiaient sur les clones dominants dans les follicules des patients atteints d'acné modérée à sévère, en utilisant le schéma d'Aarhus MLST9. Le phylotype IA1 de *C. acnes* était le type folliculaire dominant chez les patients caucasiens atteints d'acné, alors que les clones de sujets sains étaient plus hétérogènes avec des souches de divers phylotypes : IA1, IA2, IB et II. Cependant, les isolats de phylotype IA1 ne présentaient pas de différences de contenu génétique ou d'éléments génétiques entre les 2 populations de patients<sup>37,195</sup>.

En 2018, Dagnelie *et al.* ont examiné les sous-types de *C. acnes* provenant du visage et du dos de 24 patients souffrant d'acné sévère et les ont comparés avec ceux de 12 sujets sains en identifiant les phylotypes, les complexes clonaux (CC) et les SLST-types. Dans 71,4 % des cas d'acné sévère, les phylotypes de *C. acnes* étaient identiques sur le visage et le dos, alors que ce n'était le cas que chez 45,5% des sujets sains. Le groupe sain portait les phylotypes IA1 (39,1 %) et II (43,4 %), tandis que le groupe acné présentait une forte prédominance de souches IA1 (84,4 %), en particulier sur le dos (95,6 %). Ils rapportent ainsi que la gravité de l'acné sur le dos est associée à la perte de diversité en phylotype de *C. acnes*, avec une bascule majeure vers le phylotype IA1 [Figure 27].

Les auteurs confirment les résultats de Lomholt *et al.* et de nombreux autres auteurs concernant la prédominance du phylotype IA1 (CC18) chez les patients acnéiques et l'association du phylotype II (CC53) avec la peau saine<sup>196</sup>.



**Figure 27** : Répartition des phylotypes de *C. acnes* entre visage et dos, chez des volontaires sains et des patients souffrant d'acné sévères<sup>196</sup>.

En ce qui concerne le phylotype III, décrit avec le phylotype IB comme impliqué dans les infections tissulaires profondes et d'autres pathologie, il est détecté chez des patients souffrant d'acné sévère, néanmoins, il n'a jamais été prédominant et reste peu associé à cette pathologie cutanée. Il représente environ 20% des isolats provenant de la peau saine<sup>7,37</sup>.

## **2. *Phylotypes et infections ostéo-articulaires sur matériel***

C'est principalement dans le cadre de l'acné que les travaux sont les plus nombreux et les plus aboutis, mais certaines équipes se sont intéressées plus spécifiquement au tropisme clinique des phylotypes de *C. acnes* dans le cadre des infections ostéo-articulaires. Nous relevons dans la littérature trois études principales traitant du sujet et dont les résultats servent aujourd'hui de base solide pour l'approfondissement des recherches.

### **2.1. *Présentation des travaux de Sampedro et al., 2009***<sup>197</sup>

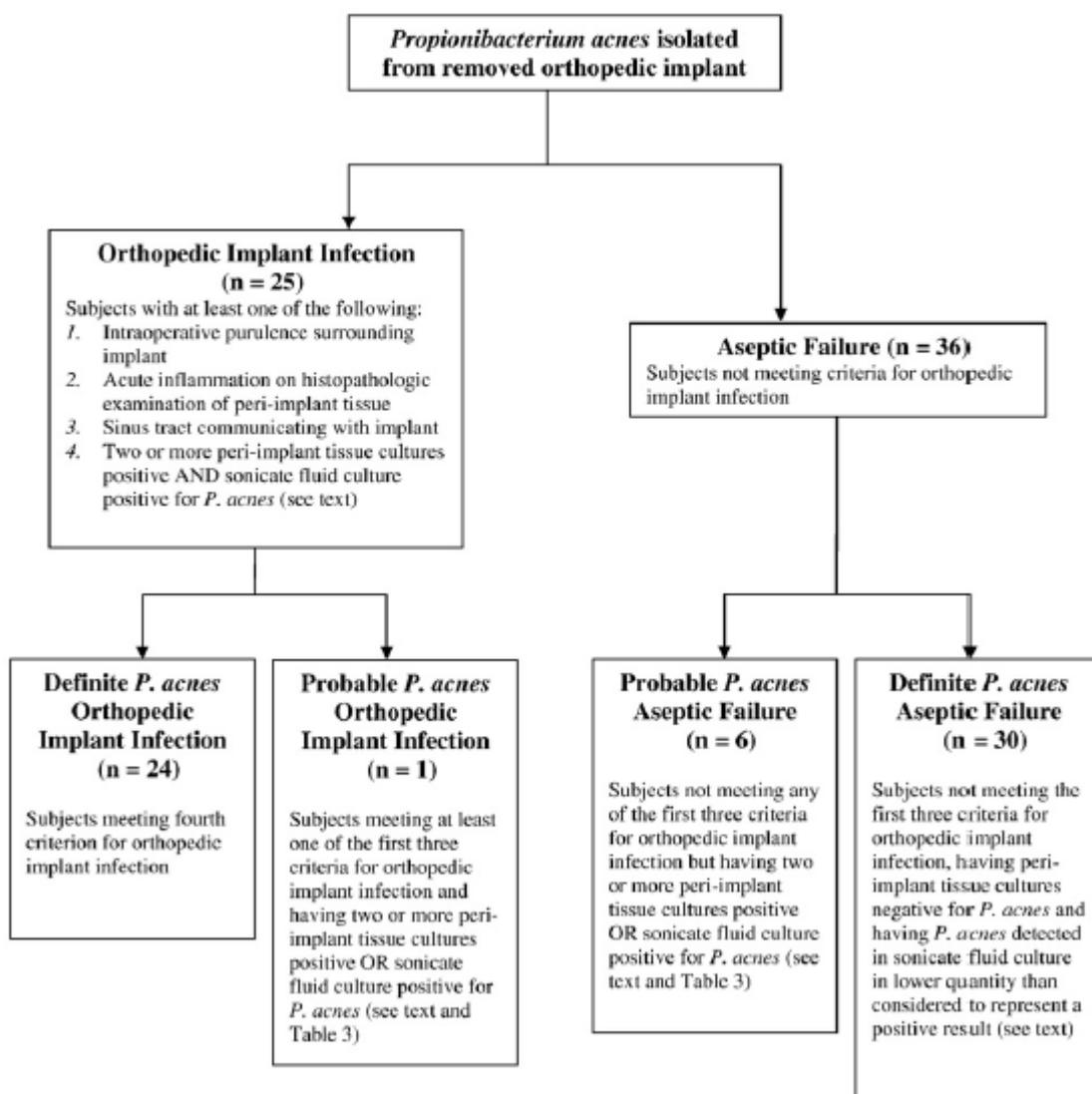
Sampedro *et al.* publient pour la première fois en 2009, une étude spécifique centrée sur la recherche d'une association entre les phylotypes de *C. acnes* et les infections ostéo-articulaires sur matériel. Leur objectif était la recherche de caractéristiques propres à *C. acnes*, informatives sur le caractère contaminant ou infectant de la souche mise en évidence.

#### **2.1.1. *Matériel et Méthodes***

Les 61 souches de *C. acnes* analysées provenaient de patients subissant une ablation de prothèse totale de hanche, de genou, d'épaule ou de matériel vertébral. Le retrait était opéré pour échec aseptique ou infection présumée. Les échantillons ont été collectés entre février 2005 et octobre 2007 dans une clinique américaine. Les patients ont été classés comme ayant une infection orthopédique s'ils présentaient une prothèse purulente, une inflammation aiguë lors de l'examen histopathologique du tissu péri-prothétique ou une communication sinusale avec l'implant, ou bien encore si au moins deux cultures étaient positives parmi les prélèvements peropératoires (en moyenne 3 prélèvements faits) et parmi les liquides de sonication. L'échec aseptique a été défini comme un échec prothétique ne

répondant pas aux critères pour une infection ostéo-articulaire sur matériel orthopédique. La répartition des échantillons selon les critères de distribution de l'étude est présentée en [Figure 28]. Les données démographiques et clinico-biologiques proviennent d'un rapport publié précédemment<sup>180</sup>.

L'identification des germes ayant poussé en culture à partir des échantillons prélevés a été faite, après orientation par des tests rapides de laboratoire, par séquençage des gènes codant pour l'ARNr 16S. Le typage a été effectué par amplification par PCR et analyse des séquences *recA* et *tly*, selon le schéma décrit par McDowell *et al.*, en 2005<sup>58</sup>.

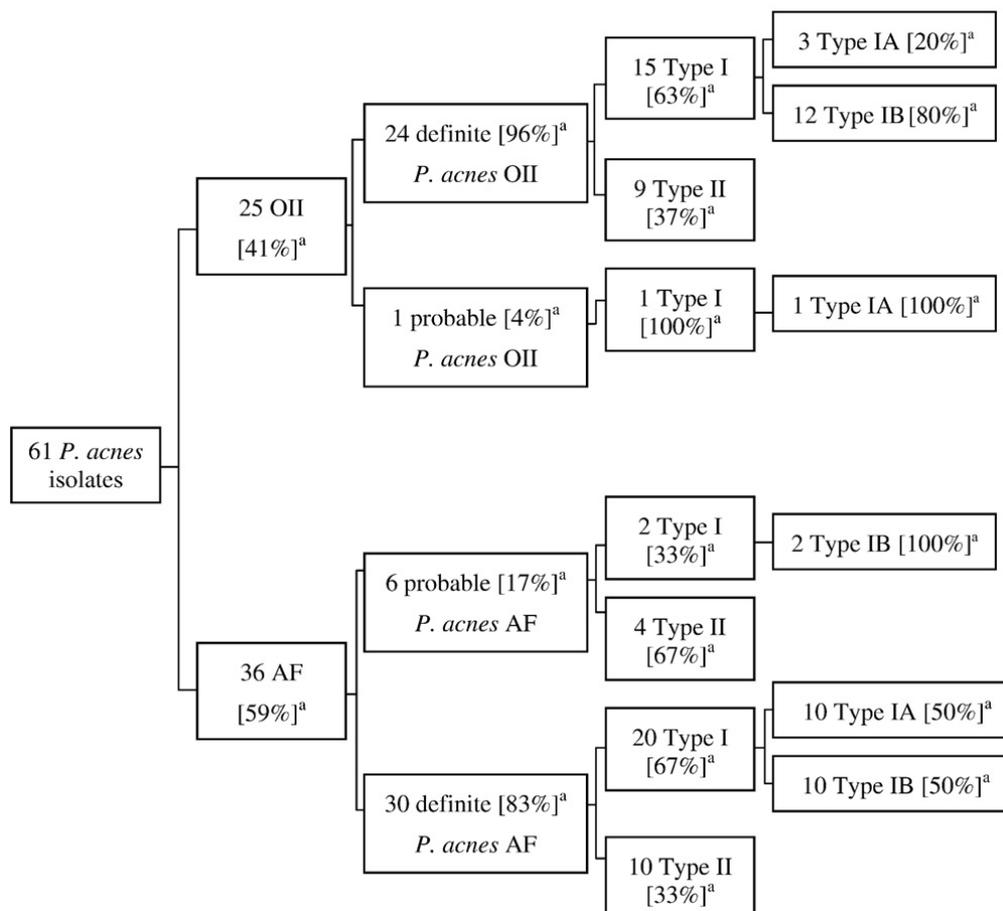


**Figure 28** : Critères et distribution des sujets de l'étude de Sampedro *et al.* Les critères de positivité pour la culture du liquide de sonication dépendent de la procédure de sonication

utilisée. La culture tissulaire peropératoire était considérée comme positive lorsqu'un *Cutibacterium spp.* a été isolé sur au moins 2 échantillons<sup>180</sup>.

### 2.1.2. Résultats

La distribution des phylotypes obtenus dans l'étude selon les groupes cliniques est présentée en [Figure 29] Aucun phylotype III n'a été identifié parmi les 61 souches étudiées. Il n'y avait pas de différence significative entre les distributions des phylotypes I et II de *C. acnes* concernant les infections avérées et les échecs aseptiques avérés. Les phylotypes IA et IB de *C. acnes* représentaient respectivement 20% (3/15) et 80% (12/15) des cas d'infection à *C. acnes* avérée. Il y avait proportionnellement moins d'isolats de phylotype IA que de phylotype IB associés à une infection définie (3/15 contre 12/15, respectivement) contrairement au groupe échec aseptique défini (10/20 contre 10/20, respectivement).



**Figure 29 :** Distribution des phylotypes de *C. acnes* dans les 4 groupes cliniques de l'étude de Sampedro et al.

OII = Infection de prothèses orthopédique

AF = Echec aseptique

La distribution des phylotypes obtenus dans l'étude selon les types de prothèses est présentée en [Tableau X].

Tableau X : Distribution des phylotypes de *C. acnes* en fonction du type de prothèse dans l'étude de Sampedro et al.

	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

Au final, parmi les isolats de *C. acnes* sur prothèses orthopédiques, le phylotype I était plus fréquemment présent que le type II, qu'il soit associé à une infection ou à une insuffisance aseptique. Cependant, la distribution des phylotypes I et II entre les infections à *C. acnes* définies et les échecs aseptiques définis était similaire, donc la détermination des phylotypes de *C. acnes* n'apparaissait pas susceptible d'être cliniquement utile pour différencier l'infection de la colonisation. Toutefois, le phylotype IB était plus fréquemment isolé que le type IA, suggérant la possibilité d'une différence phylotypique entre les souches de *C. acnes* pathogènes et non pathogènes.

Les auteurs n'ont pas trouvé d'association entre phylotypes de *C. acnes* et prothèses de genou, de hanche, d'épaule ou matériel vertébral. Le phylotype I était prédominant dans tous les types de prothèses, à l'exception des prothèses de hanche, dans lesquelles les phylotypes I et II présentaient une distribution égale.

*C. acnes* a causé plus fréquemment des infections d'épaule (80%) que des infections spinales (42%), du genou (12%) ou de la hanche (8%). Il a également été observé que les isolats de *C. acnes* provenant de prothèses d'épaule avaient tous pour origine des sujets masculins.

Pour les auteurs, la limite majeure est la petite taille de l'échantillon et, par conséquent, la faible puissance de détection des différences de résultats entre les isolats pathogènes et non pathogènes associés aux prothèses orthopédiques. Rappelons également qu'aucun phylotype III n'a été détecté.

### 2.1.3. Confirmation par les travaux d'Aubin et al., 2017<sup>198</sup>

En 2017, grâce à la méthode de typage MLST9, plus discriminante que celle utilisée par Sampedro *et al.* et à partir d'un échantillon homogène de 88 souches cliniques, Aubin *et al.* confirment les conclusions de ces derniers avec des résultats plus précis, lors de leur étude sur le tropisme cellulaire osseux de *C. acnes*. En effet ils mettent en évidence une association statistiquement significative entre les CC36 (phylotype IB) et CC53 (phylotype II) et les isolats de *C. acnes* responsables d'infection sur prothèse articulaire, précisant toutefois qu'en raison du faible nombre d'échantillons, l'association statistique manquait de puissance.

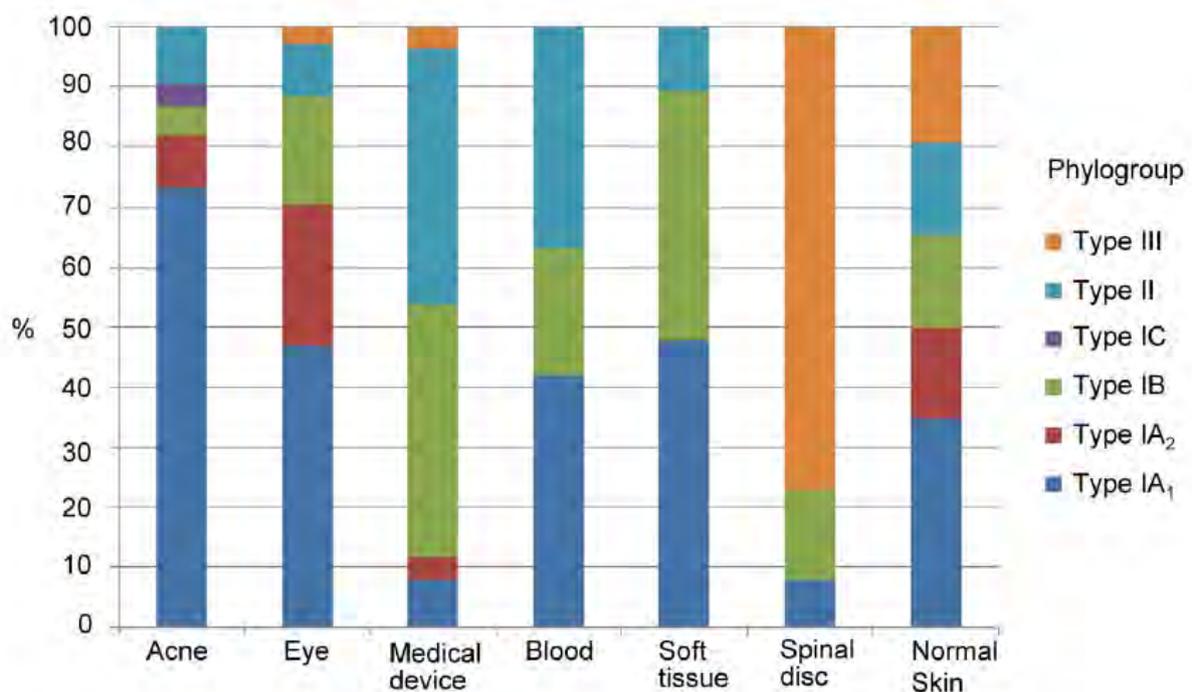
### 2.2. Présentation des travaux de McDowell et al., 2013<sup>71</sup>

En 2013, McDowell *et al.* simplifiaient leur schéma de typage MLST8 (dit de Belfast) de *C. acnes*. Ils utilisaient 4 gènes (2 de ménage et 2 de virulence) au lieu de 8 pour créer le schéma MLST4, tout aussi discriminant, mais plus rapide et moins coûteux. Pour caractériser et comparer les performances de leur nouveau schéma avec celles des techniques de typage déjà existantes, ils ont phylotypé 87 souches cliniques de *C. acnes*. Forts de ce typage et combiné à celui de 285 souches précédemment analysées, ils ont étudié les associations entre phylotypes et tropismes cliniques, facteurs de virulences et variabilités génétiques à partir de 372 souches de *C. acnes*. La distribution des phylotypes obtenus par technique MLST en fonction de l'origine clinique de la souche est présentée en [Figure 30].

La répartition des phylotypes est venue confirmer ce que les auteurs avaient décrit un an plus tôt<sup>6</sup>, à savoir que les isolats de phylotype II paraissent associés au sang et aux dispositifs médicaux, et les isolats de type IB aux dispositifs médicaux et infections des tissus mous, bien qu'il ne soit pas clair si de telles associations sont cliniquement significatives dans

de nombreux cas. A l'inverse, le nombre d'isolats de phylotype IA associés à des dispositifs médicaux est faible ici.

Il est intéressant d'observer la proportion relativement élevée d'isolats de phylotype III associés à un disque intervertébral de la colonne vertébrale (excroissance discale excisée), car le phylotype III avait déjà été décrit comme associé avec le matériel étranger au niveau spinal, lors de sa découverte en 2008. Toutefois, son association souvent décrite avec la peau saine questionne sur ces souches d'isolement «cliniques», principalement obtenues à partir de tissu discal intervertébral et de dispositifs médicaux. Cette potentielle association est-elle réelle, ou est-elle simplement le reflet de la contamination des sites chirurgicaux par la peau ? Et ce, d'autant plus que des études antérieures ont montré que la contamination des sites d'incision rachidienne pendant la chirurgie peut se produire, même après une antiseptie cutanée préopératoire et une prophylaxie antimicrobienne<sup>71</sup>.



*Figure 30* : Association des phylotypes de *C. acnes* avec différents états cliniques et une peau normale. Les données ont été obtenues à partir de l'analyse MLST de 372 isolats<sup>71</sup>.

### 2.3. Présentation des travaux de Rollason et al., 2013<sup>72</sup>

Se basant sur plusieurs descriptions d'hernies discales infectieuses dans lesquelles *C. acnes* a été isolé du tissu discal excisé et mis en cause, Rollason et al. se sont intéressés aux caractéristiques génétiques et moléculaires de *C. acnes* isolés de prélèvements bactériologiques réalisés lors de chirurgies pour hernies discales.

L'objectif de l'étude était d'étudier les phylotypes de *C. acnes* cultivés à partir de tissu discal vertébral associé à du matériel, excisé de 64 patients présentant des hernies discales lombaires. En outre, les sensibilités aux antimicrobiens ont été déterminées pour éclairer les futurs schémas thérapeutiques et études possibles.

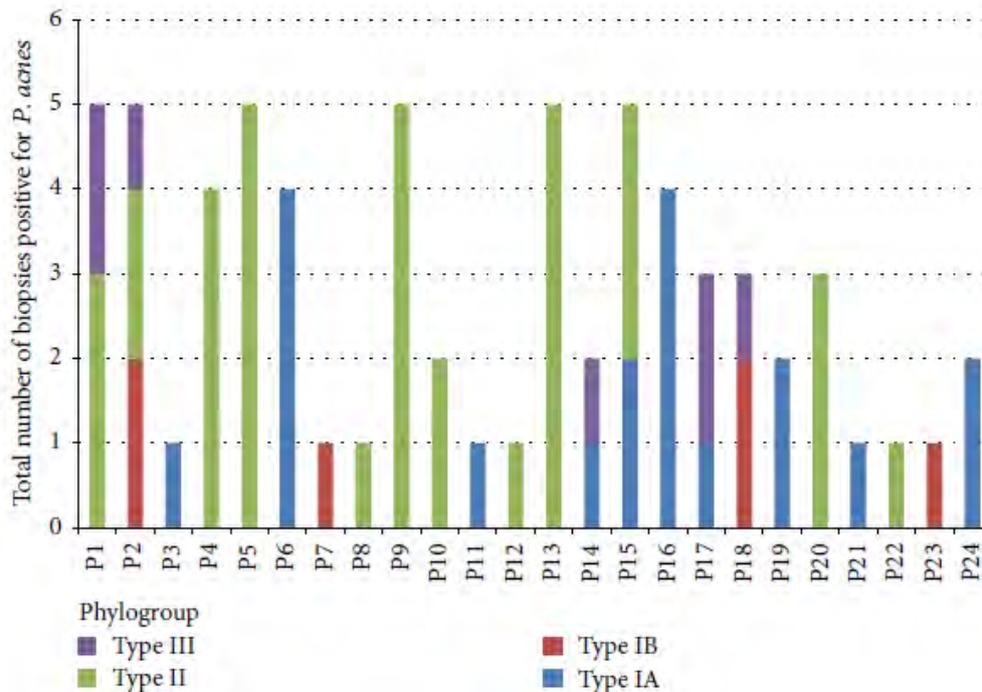
#### 2.3.1. Matériel et Méthodes

Au total, 64 patients (hospitalisés dans un établissement Danois) subissant une chirurgie de discectomie et âgés de 18 à 65 ans ont été inclus dans cette étude. Tous les patients avaient un diagnostic d'hernie discale lombaire confirmée par IRM. Les traitements antibiotiques, l'immunodépression, les injections périurales, les chirurgies étaient des facteurs d'exclusion. Cinq échantillons distincts de tissu discal ont été prélevés chirurgicalement sur chaque patient, conformément aux recommandations avec préparation cutanée. Chaque échantillon a été mis en culture aérobie et anaérobie au laboratoire. L'identification des cultures a été faite par galerie biochimique puis confirmée par séquençage du gène codant l'ARNr 16S. Le typage a été effectué par amplification par PCR et analyse des séquences *recA* et *tly*, selon le schéma décrit par McDowell et al. en 2005<sup>58</sup>. Un sérotypage par anticorps monoclonaux en immunofluorescence a également été effectué en parallèle.

#### 2.3.2. Résultats

24 patients sur 64 (38%) se sont révélés positifs pour *C. acnes* par culture bactériologique de leur disque vertébral après discectomie; 16 avaient au moins 2 prélèvements positifs sur 5. Au total, 67 isolats de *C. acnes* ont été retrouvés chez 24 patients et 7 souches supplémentaires provenant d'une étude antérieure ont également été étudiées. En utilisant l'approche combinée de l'analyse des séquences *recA* et du typage des anticorps monoclonaux, tous les isolats ont été phylotypés : sur les 74 isolats examinés, 48% étaient de type II, 27% de type IA, 14% de type III et 11% de type IB. Aucun isolat

n'appartenait à la lignée de type IC. Chez 6 patients sur 24, plusieurs phylogroupes de *C. acnes* ont été identifiés parmi les cinq échantillons de tissus obtenus. La distribution des phylotypes est présentée en [Figure 31].



**Figure 31** : Distribution des phylotypes de *C. acnes* isolés de tissus discaux excisés de l'étude de Rollason et al.

Les auteurs ont observé que le phylotype dominant parmi les souches isolées était le phylotype II, suivi du phylotype IA et, dans une moindre mesure, du phylotype III et du phylotype IB. Ces résultats semblent en adéquation avec des observations antérieures selon lesquelles les souches de phylotypes IB, II et III, bien que rarement isolées des peaux acnéiques, apparaissent plus généralement associées au sang, aux tissus mous, aux dispositifs médicaux, aux infections endodontiques et aux peaux normales, bien que la pertinence clinique de ces associations reste incertaine dans de nombreux cas. Les auteurs décrivent ici la prépondérance des phylotypes II et III par rapport aux phylotypes IA, contrairement à ce que l'on peut retrouver sur la peau, notamment concernant le phylotype III. Ces observations fournissent des arguments supplémentaires pour affirmer que la présence de *C. acnes* dans les prélèvements discaux ne devrait pas systématiquement être jugée contaminante. Il faut également souligner qu'aucun phylotype IC n'a été isolé et que dans plusieurs cas, plusieurs phylotypes ont été retrouvés chez le même patient. Toutefois

les hernies discales lombaires semblent associées ici à une prédominance du phylotype II qui a été le seul phylotype isolé chez six patients à partir de plusieurs prélèvements.

### **3. Phylotypes et autres infections**

Des associations entre *C. acnes* et d'autres pathologies sont décrites dans la littérature. La plupart est tout de même à interpréter avec discernement, au regard du faible nombre de souches étudiées dans certaines publications. McDowell *et al.* ont décrit dans leurs travaux une sur-représentation des phylotypes II et IB dans des tissus cancéreux prostatiques, et après addition de données provenant d'autres études, ils ont associé le phylotype II avec le cancer de la prostate (61% des isolats;  $p < 0.001$ )<sup>71</sup>. Mak *et al.* se sont également intéressés au typage des souches de *C. acnes* isolées de prostatites cancéreuses. Ils ont montré sur 7 isolats qu'ils appartenaient soit au phylotype IB (CC36), soit au phylotype II (CC53/60). Ce résultat vient soutenir le fait que ces isolats ne sont pas d'origine cutanée<sup>199</sup>. Les phylotypes II et IB ont également été associés au tractus urinaire<sup>62</sup>. Enfin, le type II était le plus abondant dans une étude sur les lésions endodontiques<sup>200</sup> et le phylotype IA1 dans les infections ophtalmiques<sup>6</sup>. En outre le phylotype III apparaît lié de façon importante à l'hypomélanose maculaire progressive (PMH). En effet, ce phylotype était prédominant dans toutes les lésions de PMH mais seulement détecté en proportion mineure chez les patients sains. De manière frappante, le traitement efficace de la PMH est capable de modifier la composition de la population de *C. acnes* en diminuant sensiblement la proportion de phylotype III.<sup>201</sup>

### **B. Phylotypes et génome**

Depuis le premier séquençage du génome entier de *C. acnes*<sup>56</sup> en 2004, des centaines de génomes ont été séquencés au moins partiellement. L'analyse comparative des séquences a révélé des différences pouvant expliquer, au moins en partie, le profil d'association de certaines pathologies avec certains phylotypes. Le transfert de gènes horizontal a entraîné des différences significatives entre les phylotypes<sup>202</sup> et parfois au sein même des phylotypes<sup>74</sup>. Des régions génomiques uniques, avec des propriétés proches d'îlots, codant pour des facteurs potentiellement liés au métabolisme et au pouvoir pathogène des souches, sont identifiés seulement chez certains complexes clonaux (CC) de

*C. acnes*. Par exemple, trois loci génomiques, uniques au phylotype IA1, codent pour plusieurs gènes de virulence et peuvent ainsi contribuer à la virulence de ces souches, principalement associées à l'acné. Inversement, le phylotype I ne présente pas un système CRISPR/cas, contrairement aux phylotypes II et III. Il s'agit de courtes séquences palindromiques répétées (CRISPR) et de gènes associés (cas), conférant une immunité à la bactérie vis à vis de l'invasion de divers éléments mobiles étrangers, pouvant expliquer l'acquisition facilitée par ce phytopte d'éléments de virulence et donc de pathogénicité<sup>69</sup>.

Plus récemment Scholz *et al.* ont mis en évidence que le gène codant pour la hyaluronate lyase est présent chez toutes les souches sauf celles du phylotype III, moins associé dans la littérature à des pathologies. Il existe deux allèles de ce gène au sein des autres phylotypes de *C. acnes*, l'un chez les isolats de phylotypes IB et II, l'autre chez les isolats de phylotype IA et IC.<sup>203</sup>

### **C. Phylotypes et virulence**

L'expression différentielle des gènes peut également créer des différences significatives entre les types de *C. acnes*. Des gènes codant des lipases et une protéine immunogène d'acquisition du fer, sont régulés positivement dans la souche IA1, pouvant participer à la virulence accrue des souches de type IA dans l'acné vulgaire<sup>202</sup>.

Une autre étude a révélé des différences dans l'expression des facteurs CAMP entre les types I et II<sup>99</sup>. Les cinq facteurs CAMP, codés par le génome de toutes les souches de *C. acnes*, sont des toxines pro-inflammatoires via le TLR2, formant des pores membranaires agissant comme des enzymes de dégradation du tissu hôte. L'intensité de liaison de CAMP-TLR2 était plus forte dans les souches de phylotype IB et II que dans les souches de phylotypes IA1 et IA2<sup>37</sup>.

Concernant la hyaluronate lyase, nous avons vu qu'il existait deux allèles de ce gène. Le variant associé aux phylotypes IB et II entraîne une dégradation complète de l'acide hyaluronique contrairement à celui des phylotypes IA et IC qui en entraîne une dégradation incomplète<sup>204</sup>.

Holland *et al.* quant à eux ont examiné le sécrétome de cinq souches différentes, incluant les phylotypes IA1, IB, II et III. Des profils de sécrétion protéique distincts ont été observés pour les différents types, en particulier dans les protéines d'adhésion. Ils ont également constaté

que *C. acnes* de phylotype III sécrétait la plus faible quantité totale de protéines<sup>81</sup>. Cela pourrait expliquer la capacité accrue des bactéries de type III à infecter les disques vertébraux, mais leur incapacité apparente à se développer dans les lésions d'acné. Une étude quantitative comparative des protéomes totaux de différents types de *C. acnes* est en cours<sup>7</sup>.

#### **D. Phylotypes et système immunitaire**

Si un certain nombre d'études concerne les associations entre phylotype de *C. acnes* et facteurs de virulence ou expression génique et protéique, peu d'études s'intéressent aux voies cellulaires et moléculaires empruntées pour affecter l'hôte humain. Nagy *et al.* ont utilisé des souches de phylotypes IA, IB et II de *C. acnes* pour stimuler des kératinocytes humains et, plus tard, une lignée de cellules sébocytaires humaines pour examiner les différents schémas réactionnels inflammatoires.

Bien que ces études aient eu une portée limitée, il est apparu que *C. acnes* de phylotype II induisait des taux plus élevés d'interleukine (IL-8) dans les kératinocytes, alors que les bactéries de type IA induisaient une réponse médiée par l'involucrine. Dans les sébocytes, les bactéries de type IA et IB ont induit une réponse médiée par la  $\beta$ -défensine supérieure à celle du type II<sup>104,205</sup>.

Furukawa *et al.* ont évalué les différences entre les phylotypes de *C. acnes* en utilisant un test d'invasion cellulaire, dans lequel l'invasion cellulaire par *C. acnes*, ou la capacité d'endocytose, a été mesurée pour des cellules rénales embryonnaires humaines. Ils ont constaté que 71% des *C. acnes* de type I étaient invasifs, contre 0% de type II<sup>143</sup>.

Sur la base de descriptions de tissu granulomateux péri-prothétique dans des infections ostéo-articulaires sur matériel de bas grade, et de l'association possible entre la bactérie et la sarcoïdose, Aubin *et al.* ont étudié l'interaction de *C. acnes* avec le système immunitaire. Cette étude consiste en la formation d'un modèle *in vitro* de granulome en réponse à un contact avec trois souches bien caractérisées sur le plan phylogénétique de *C. acnes*. Ils ont observé que la souche CC28 (phylotype IA2) isolée d'un ganglion lymphatique d'un patient souffrant de sarcoïdose ainsi que la souche CC18 (phylotype IA1) isolée de lésions acnéiques produisaient significativement plus de granulomes que la souche CC36 (phylotype IB) isolée d'infection ostéo-articulaire sur matériel. De plus, ils observent

que l'infection par la souche CC36 oriente vers une réponse immunologique CD8+ dépendante alors que les isolats CC18 et CC28 engendrent un recrutement préférentiel de lymphocytes CD4+ au sein du granulome<sup>206</sup>.

#### **E. Phylotypes et tropisme cellulaire**

Aubin *et al.* se sont intéressés pour la première fois au comportement de souches de *C. acnes* vis-à-vis de cultures ostéoblastiques et ostéoclastiques humaines *in vitro*, et notamment aux phénomènes d'internalisation qui constituent un mécanisme de virulence important dans les infections osseuses à staphylocoques dorés (invasion des ostéoblastes, perturbation du remodelage osseux en faveur d'une résorption accrue). Ils montrent que comme les souches de *S. aureus*, celles de *C. acnes* peuvent être internalisées par les ostéoblastes et les ostéoclastes et persister dans les ostéoblastes plusieurs jours. Ils affirment que cette possibilité de persistance pourrait être à l'origine du caractère indolent et chronique des infections ostéo-articulaires sur matériel, et qu'elle permettrait également d'échapper à l'action des antibiotiques et du système immunitaire.

Concernant les ostéoclastes, ils montrent que *C. acnes* est en mesure d'inhiber la résorption ostéoclastique. Dans leur étude, ils relèvent que les souches de *C. acnes* appartenant aux CC36 (phylotype IB) sont significativement moins internalisées par les cellules osseuses que les souches appartenant aux CC18 et CC28 (phylotypes IA) ; et que les souches appartenant aux CC36 (phylotype IB) sont celles qui ont le pouvoir de diminution de la capacité de résorption osseuse le plus important<sup>198</sup>. Cette capacité pourrait être liée aux descellements prothétiques, dits aseptiques mais potentiellement associés à des infections torpides à *C. acnes* non documentées<sup>174,198</sup>.

#### **F. Phylotypes et biofilm**

La capacité de *C. acnes* à former un biofilm est apparemment indépendante du phylotype. En 2009, Holmberg *et al.* ont étudié 93 souches de *C. acnes*. 45 provenaient d'infections invasives et 48 étaient des souches cutanées de patients sains. Les auteurs ont montré que la majorité des souches invasives de *C. acnes* (c'est à dire isolées lors d'une infection profonde) pouvaient produire du biofilm, et ce, quel que soit leur phylotype, alors que les souches isolées d'une peau saine produisaient peu de biofilm<sup>127</sup>.

## **G. Phylotypes et résistances aux antibiotiques**

Outre leurs associations avec diverses pathologies, les phylotypes de *C. acnes* semblent présenter des taux de résistance aux antibiotiques très variables. Les ribotypes 4 et 5 du phylotype IA associés à l'acné présentent une mutation du gène 16S qui augmente la résistance à la tétracycline<sup>73</sup>. La plupart des patients souffrant d'acné avec ces souches n'avaient jamais été traités par antibiotiques<sup>73</sup>, mais une étude antérieure a révélé que la majeure partie des souches résistantes à la tétracycline portait cette mutation<sup>207</sup>.

McDowell *et al.* ont constaté que les souches de phylotype IA (identifiées par le complexe clonal MLST (CC3)), et un plus petit nombre de souches IA (CC1), représentaient presque toutes les souches résistantes à la tétracycline, à l'érythromycine et à la clindamycine. En outre, ils ont également constaté que toutes les souches de phylotype IC testées étaient résistantes à au moins un de ces antibiotiques<sup>6</sup>. Lomholt et Kilian ont également constaté des taux élevés de résistance dans le phylotype IA-2, ainsi que dans les souches IA-1 et possiblement dans les souches IB-1<sup>208</sup>. Dans ces deux études, des mutations dans les gènes 16S et 23S étaient corrélés à la résistance aux antibiotiques<sup>7</sup>.

La description récente de souches de *C. acnes* résistantes aux fluoroquinolones dans l'acné a révélé que le phylotype IA1 en constituait le groupe prédominant<sup>209,210</sup>.

## Partie 2.

### Phylotypage des souches de *C. acnes* provenant des prélèvements ostéo-articulaires du CHU de Toulouse

---

#### I. OBJECTIFS

Le pouvoir pathogène de *Cutibacterium acnes* est aujourd'hui reconnu et décrit, bien que la pathogénèse des infections qu'il engendre demeure encore mal comprise. Le développement des techniques de typage propres aux souches de *C. acnes* a ouvert d'importants nouveaux axes d'études afin de mieux comprendre les liens qui peuvent exister entre bactérie et infection. Nous avons présenté ces différentes techniques, pour la plupart moléculaires, ainsi que les connaissances qu'elles ont permises d'acquérir. Les mises aux points successives ainsi que l'harmonisation des nomenclatures et de la taxonomie offrent aujourd'hui une vision plus claire de la phylogénétique de cette bactérie dont le changement de dénomination en est la conséquence directe. C'est naturellement que ces progrès ont impliqué secondairement des études phylotypiques concernant la virulence, le pouvoir pathogène, l'épidémiologie des diverses souches, et c'est principalement dans le cadre de l'acné que les travaux sont les plus aboutis.

Le travail de phylotypage que nous avons réalisé s'inscrit dans cette dynamique ciblant le domaine spécifique des infections ostéo-articulaires, pour lequel les publications et *a fortiori* les connaissances sur le sujet, sont encore peu nombreuses comme nous l'avons vu.

Les travaux de Dekio *et al.* et Nagy *et al.* ont mis en évidence la capacité du spectromètre de masse MALDI-TOF à discriminer les phylotypes IA, IB-IC, II et III parmi des souches de *C. acnes*. Ils ont également montré que la corrélation avec le phylotypage moléculaire utilisé par les équipes de recherches, était excellent<sup>9,78,96</sup>. Leurs publications ont permis de rapprocher la notion de phylotype avec celle de routine hospitalière en terme de moyens car si les techniques moléculaires sont pour la plupart coûteuses et longues à exécuter, nécessitant un personnel qualifié spécifique, la spectrométrie de masse est aujourd'hui une technique courante dans de nombreux laboratoires de bactériologie médicale dont c'est la principale méthode d'identification des microorganismes.

Forts de ces constats, nous avons entrepris de phylotyper rétrospectivement par spectrométrie de masse MALDI-TOF les souches de *C. acnes* identifiées en culture au laboratoire de bactériologie médicale au CHU de Toulouse, entre 2014 et 2017, provenant de prélèvements ostéo-articulaires des services d'orthopédie-traumatologie de l'hôpital.

L'idée initiale du projet était de voir si, à terme, la mise en place du phylotypage des souches de *C. acnes* en routine au laboratoire de bactériologie était quelque chose d'envisageable, de possiblement réalisable et de potentiellement utile à la prise en charge clinico-biologique générale du malade dans le contexte d'infection ostéo-articulaires (IOA) associées (IOAM) ou non à du matériel.

Pour poursuivre cet objectif général nous avons décliné dans ce travail initial, trois sous-objectifs successifs :

- A. Initialement nous souhaitions voir si le phylotypage par le spectromètre de masse du laboratoire était réellement possible en pratique, c'est à dire si nous parvenions à obtenir sans difficulté et avec précision les phylotypes pour les souches sélectionnées. Ainsi, nous souhaitions établir l'épidémiologie et observer la distribution des phylotypes sur ces quatre années.

- B. Secondairement, nous voulions voir si des associations significatives pertinentes pouvaient être mises en évidence entre les phylotypes obtenus et des paramètres démographiques, clinico-bactériologiques ou anatomiques disponibles au laboratoire et pouvant présenter un intérêt pour la prise en charge médicale du patient.

- C. Enfin, dans la mesure où les deux premières étapes seraient franchies, il nous paraissait important de consolider nos résultats par la recherche prospective d'une mono ou polyphylotypie des différentes colonies de *C. acnes* obtenues sur gélose à partir des prélèvements ostéo-articulaires et profonds.

## II. MATERIELS ET METHODES

### A. Extraction des données

La période d'étude rétrospective s'étend du 1er janvier 2014 au 31 décembre 2017. L'extraction initiale des données a été faite à partir du logiciel MOLIS appartenant au SIL (système informatique de gestion du laboratoire) du laboratoire de biologie médicale du CHU de Toulouse. L'étude inclut tous les dossiers MOLIS pour lesquels au moins un prélèvement ostéo-articulaire a retrouvé en culture du *C. acnes* et dont la date de prélèvement appartient à la période sus-citée. Les prélèvements proviennent des services d'orthopédie-traumatologie du CHU de Toulouse.

Il faut savoir qu'un dossier MOLIS au laboratoire concerne un patient donné et contient tous les prélèvements effectués par le chirurgien simultanément qui sont donc dénommés N°1, N°2 etc. suivis de la localisation anatomique (hanche, genou, épaule, cheville etc.) et du type de prélèvement (cotyle, vis, matériel, liquide articulaire, hématome, synoviale etc.) tels qu'ils sont renseignés par le préleveur sur le bon de demande [Annexe 1]. Lorsque les prélèvements sont nombreux, il arrive que plusieurs dossiers MOLIS soient créés contenant chacun une partie des prélèvements. A chaque fois que cela était le cas, les données ont toutes été regroupées, analysées et comptabilisées ensemble, puisqu'elles concernent le même patient à la même date de prélèvement. C'était notamment le cas lorsque une ponction de liquide articulaire préopératoire précédait les prélèvements peropératoires.

Pour chaque dossier inclus, les éléments suivants ont été répertoriés :

- Numéro MOLIS
- Nom, prénom et date de naissance du patient
- Age et sexe du patient
- Date de prélèvement
- UA du service demandeur
- Dénominations des prélèvements telles que renseignées par le prescripteur
- Nombre total de prélèvements
- Nombre de prélèvements positifs à *C. acnes*
- Délai de pousse après mise en culture au laboratoire
- Pousse sur gélose primaire ou après repiquage du bouillon thioglycolate

- Milieu de pousse
- Autres germes associés mis en évidence en culture
- Antibiogramme

Certains de ces éléments, variables en fonction des prélèvements du même dossier MOLIS, ont bien sûr été relevés pour chaque prélèvement. A partir des dénominations des prélèvements renseignées par le prescripteur, deux catégories sont créées :

- Localisation anatomique du prélèvement (hanche, genou, épaule, jambe, main, cheville, coude, bras ...)
- Types de prélèvement. Nous avons choisi de les regrouper en quatre catégories pertinentes à nos yeux :
  - Liquide articulaire et synoviale
  - Tissu osseux (incluant les produits d'alésage et foyers de pseudarthroses)
  - Tissu mou (incluant les membranes d'interposition, hématomes, caillots, collections, dermes et bourses)
  - Matériel (incluant les sérosités contact matériel)

## **B. Rappel de la prise en charge des prélèvements au laboratoire**

Au laboratoire, deux procédures spécifiques précisent les modalités d'ensemencement et de lecture des cultures des prélèvements réalisés aux blocs opératoires des services d'Orthopédie et Traumatologie.

Les prélèvements doivent être effectués dans des flacons ou tubes stériles prévus à cet effet. En raison de la contamination possible des échantillons par les bactéries de la flore cutanée, les ensemencements sont effectués sous un PSM spécifique uniquement dédié à ce type d'échantillons. Un broyage pour les biopsies et une sonication pour le matériel explanté sont nécessaires avant l'ensemencement.

Les prélèvements sont ensemencés à la fois sur géloses (1 gélose au sang COS, 1 gélose PVX, 2 géloses BRU) et en bouillon thioglycolate (THI). Les liquides articulaires bénéficient également systématiquement d'un examen direct microscopique après coloration de Gram. Les prélèvements seront congelés à -80°C pour conservation.

Les géloses COS et PVX sont incubées en étuve sous CO<sub>2</sub> à 35+/-2°C. Le bouillon THI est incubé en étuve à 35+/-2°C. Les géloses BRU sont incubées en anaérobiose en sachets.

Les différentes étapes techniques de lecture, réincubation, rendu des résultats sont détaillées en [Annexe 2]. La culture totale dure 15 jours, avec des contrôles intermédiaires pour vérifier la positivité des cultures ou non entre temps. La lecture définitive peut être faite à 21 jours à la demande du biologiste pour recherche de *C. acnes*.

L'identification des bactéries est réalisée en spectrométrie de masse MALDI-TOF et les antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé. Concernant les bactéries anaérobies en général et *C. acnes* en particulier, l'identification est faite sur tous les prélèvements et l'antibiogramme sur un seul. Des CMI complémentaires peuvent être ajoutées après concertation clinico-biologique.

Les souches sont conservées au minimum 3 ans au laboratoire par congélation en glycérol à -80°C. Concernant *C. acnes*, si la bactérie a été mise en évidence sur plusieurs prélèvements, une seule souche est généralement congelée et conservée correspondant au dossier MOLIS qui comprend tous les prélèvements. Parfois plusieurs souches peuvent avoir été conservées, notamment lorsque, comme expliqué ci-avant, les prélèvements se distribuent sur 2 dossiers MOLIS.

### **C. Extraction des souches pour l'étude**

Initialement, les critères de sélection évoqués ci-avant permettaient d'inclure au total 369 dossiers Molis réunis, qui représentaient 630 prélèvements pour lesquels *C. acnes* a été mis en évidence en culture. Malheureusement, 32 souches ont dû être exclues car le souchage a été omis ou bien parce que la souche est restée introuvable malgré nos efforts. Finalement nous avons pu récupérer et traiter 353 souches. Parmi celles-ci, 9 souches supplémentaires ont été exclues car nous ne sommes pas parvenus à mettre à nouveau en évidence *C. acnes* en culture. Une erreur de sélection de colonie au moment du souchage initial et/ou un dépérissement de la souche de *C. acnes* peuvent expliquer l'absence de mise en évidence de *C. acnes* ainsi que l'identification d'espèces bactériennes présentes sur les prélèvements initiaux à la place. Les répartitions par année sont présentées en [Tableau XI].

Tableau XI : Résumé des effectifs de l'étude rétrospective de phylotypage de *C. acnes*.

	2014	2015	2016	2017	Total
Nombre de dossiers MOLIS réunis	80	101	109	79	369
Nombre de <i>C. acnes</i> positifs en culture	117	166	210	137	630
Absence de souchage ou souches introuvables au -80°C	5	12	11	4	32
Nombre de souches récupérées et traitées	80	92	105	76	353
Nombre de souches donnant <i>C.acnes</i> bien identifiées	<b>75</b>	<b>88</b>	<b>105</b>	<b>76</b>	<b>344</b>
Nombre de dossiers ayant eu plusieurs souchages	2	2	6	1	11

#### **D. Réensemencements et nouvelles cultures**

Les **353 souches** récupérées congelées dans la souchothèque à -80°C ont été réensemencées sur gélose au sang COS après une étape de décongélation à température ambiante sur la paillasse. La technique d'ensemencement par épuisement en 3 cadrans a été utilisée afin d'obtenir des colonies isolées et individualisées au maximum. Les géloses sont incubées en jarres en anaérobiose à 35+/-2°C pendant 48 à 72 heures. Les cultures avec absence ou faible pousse ont été ré-incubées pendant 24h dans les mêmes conditions. Les cultures positives sont, elles, identifiées. Lorsque plusieurs types de colonies étaient présents suggérant plusieurs espèces bactériennes, chacune a fait l'objet d'un ré-isolément afin d'obtenir des cultures pures.

Les colonies de *C. acnes* obtenues à partir des souches sont resouchées à part de la souchothèque du laboratoire et sont donc disponibles pour des études ultérieures.

#### **E. Identification des *C. acnes* par spectrométrie de masse**

L'identification des souches de *C. acnes* a été effectuée comme pour les colonies mères, par le spectromètre de masse MALDI-TOF de marque Bruker Daltonics du laboratoire de bactériologie du CHU associé au logiciel MTB Compass IVD (Bruker) et sa base de donnée, selon les procédures et réactifs employés en routine au laboratoire. La matrice classique a été utilisée. Aucune identification n'a nécessité l'usage d'acide formique [Figure 32].

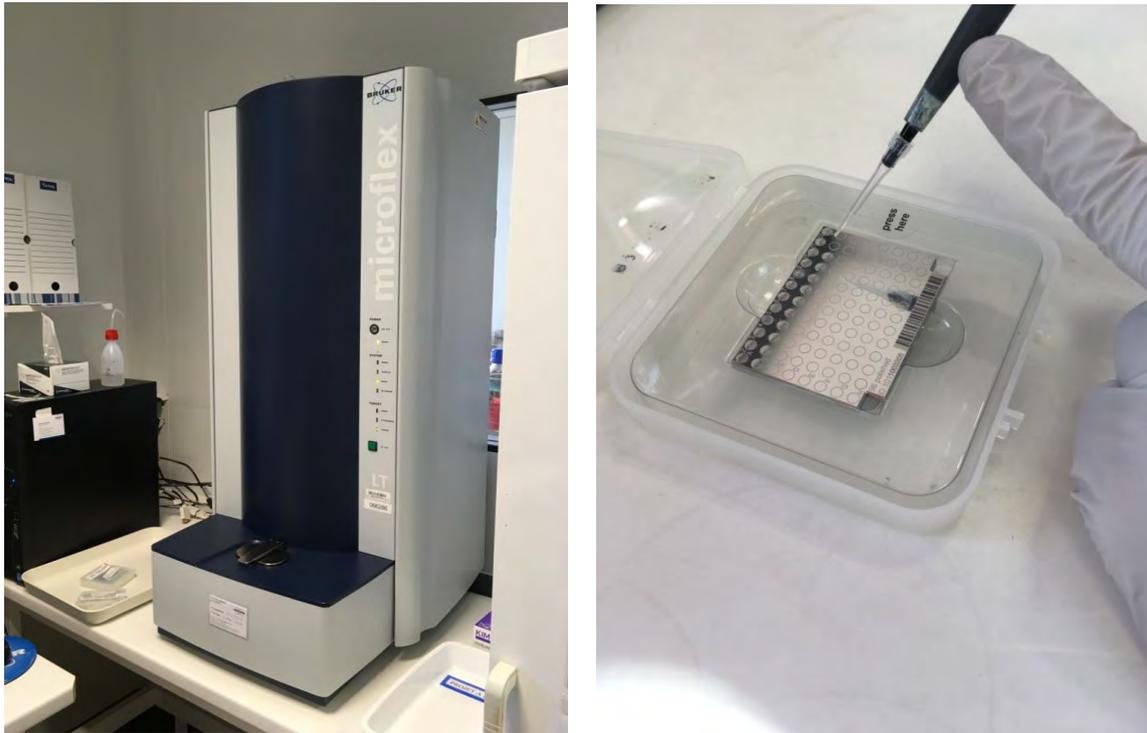


Figure 32 : Spectromètre de masse du CHU du laboratoire de bactériologie du CHU.

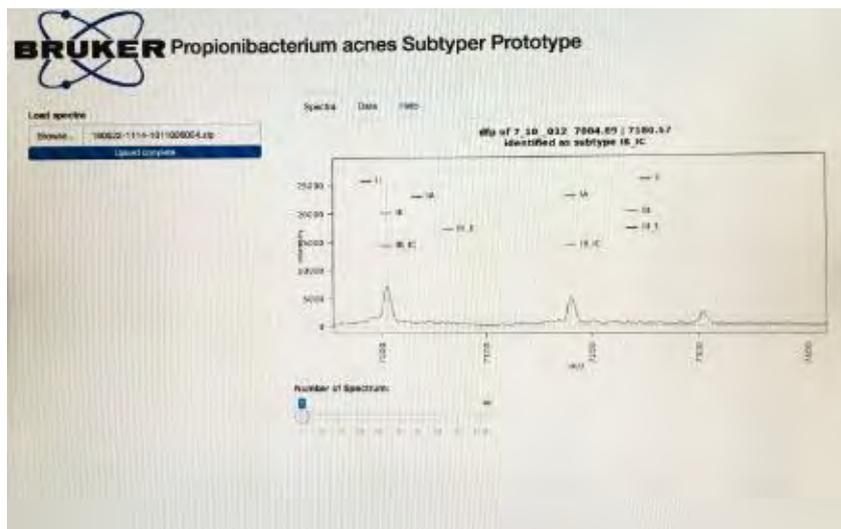
En ce qui concerne les règles d'interprétation, nous nous sommes astreints à n'accepter comme valables que les identifications dont le score était strictement supérieur à 1,699 soit une signalétique verte ou jaune indiquant clairement l'identification *Propionibacterium acnes*. Toutes les identifications à score inférieur, matérialisées par une signalétique rouge et la mention "*aucune identification possible*" étaient rejetées. Tous ces spots "échecs" ont été redéposés et après une deuxième voire une troisième tentative nous avons obtenu un score suffisant nous permettant d'accepter l'identification de toutes nos souches. Nous avons vu que 9 souches avaient été exclues pour absence d'identification de *C. acnes*. Il s'agissaient de 5 souches en 2014 et 4 en 2015 pour lesquelles malgré nos efforts, nous ne mettons en évidence que les bactéries suivantes : *Corynebacterium spp.*, *Propionibacterium avidum*, *Propionibacterium avidum*, *Peptinophilus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lugdunensis* et *Streptococcus oralis*.

Tous les rapports d'identification et plans de plaques sont sauvegardés. Les spectres d'identification de nos souches ont été copiés depuis la base spectromètre de masse en vue

du phylotypage. Au total nous avons donc réussi à ré-identifier parfaitement 344 souches et à obtenir les spectres correspondants.

## **F. Phylotypage des souches de *C. acnes***

Le phylotypage par spectrométrie de masse est basé sur les travaux de 2013 de Nagy *et al.*, déjà décrits en *partie 1*. Nous avons réalisé le phénotypage de nos 344 souches ostéo-articulaires grâce au logiciel développé par Bruker (MALDI Biotyper typing software) qui ré-analyse les spectres de masse d'identification d'espèce obtenus pour chaque spot en focalisant sur les zones discriminantes entre les phylotypes, décrites dans la publication de Nagy *et al.*, à savoir l'intervalle 6900-7300 Da<sup>9</sup>. L'identification d'un phylotype nécessite 2 pics spécifiques. Le logiciel permet d'identifier les phylotypes IA, IB-IC, II, III et le variant III-1 [Figure 33]. Il avait déjà été utilisé à Toulouse dans les travaux de Pécastaings *et al.* publiés en 2018 sur le phylotypage de souches cutanées<sup>38</sup>.



*Figure 33* : Logiciel Bruker de sous-typage de *C. acnes*.

## **G. Recherche prospective d'une mono ou polyphylotypie**

Les souches ostéo-articulaires phylotypées dans notre étude proviennent de cultures initiales qui n'ont pas été conservées puisque seules les colonies souchées sont congelées. Ainsi les souches conservées et donc phylotypées correspondent à une seule colonie d'une culture provenant d'un seul prélèvement positif (généralement) à *C. acnes* par dossier. Nous n'avons donc aucune possibilité de savoir si le phylotype identifié était le seul présent sur

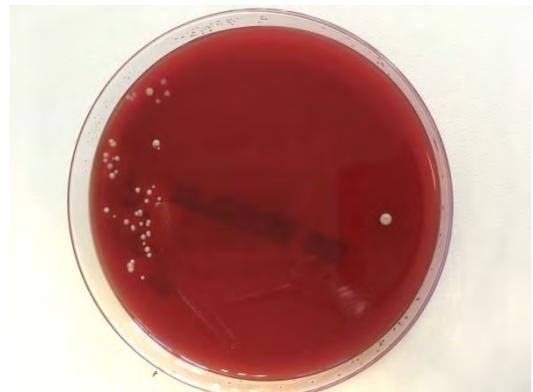
l'ensemble des prélèvements voire même sur l'ensemble des colonies d'une même culture. Afin d'éclaircir ce point, nous avons sélectionné 10 prélèvements ostéo-articulaires, osseux, ou de tissus profonds, ainsi que leurs cultures respectives provenant de 5 dossiers différents pour lesquels nous avons mis en évidence *C. acnes* et avons procédé au phylotypage d'un nombre maximum de colonies de *C. acnes* par culture et par dossier.

Les dossiers sélectionnés sont présentés ci-dessous :

**- Patient ME (Numéro MOLIS : 8204-0056) : 1/1 prélèvement positif à *C. acnes***

=> Prélèvement ZMPT1 :

- Plaie traumatique maxillo-faciale / parotide
- 12 colonies prélevées dont 9 *C. acnes* bien identifiés



**- Patient BE (Numéros MOLIS : 8206-1798 / 8206-1797 / 8206-1800) : 7/10 prélèvements positifs à *C. acnes*** dans un contexte de retrait de plaque et vis car infection avérée, fracture instable, et patient présentant des décharges fébriles.

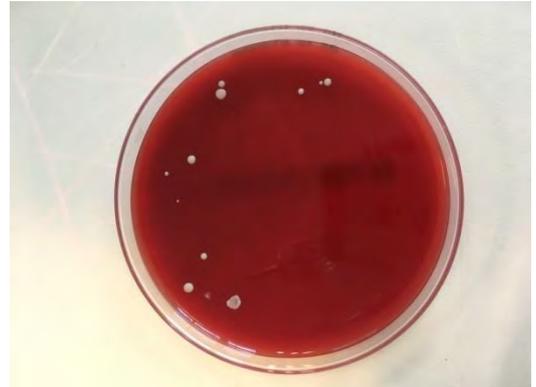
=> Prélèvement MLAR1 :

- Liquide articulaire genou droit
- Culture positive et 2 flacons positifs
- 7 colonies prélevées dont 7 *C. acnes* bien identifiés



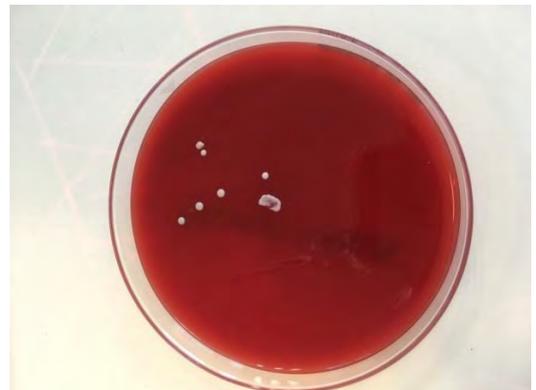
=> Prélèvement ZTUM3 :

- Cuisse droite, collection contact matériel
- 11 colonies prélevées dont 11 *C. acnes* bien identifiés



=> Prélèvement ZTUM1 :

- Cuisse droite collection contact matériel
- 7 colonies prélevées dont 7 *C. acnes* bien identifiés



=> Prélèvement ZTAU1 :

- Cuisse gauche collection
- 2 flacons positifs
- 23 colonies prélevées dont 23 *C. acnes* bien identifiés



- Patient HN (Numéro MOLIS : 8207-2169) : 5/8 prélèvements positifs à *C. acnes* dans un contexte neurochirurgical (3 prélèvements de pus + les 2 volets crâniens et pièces opératoires positives).

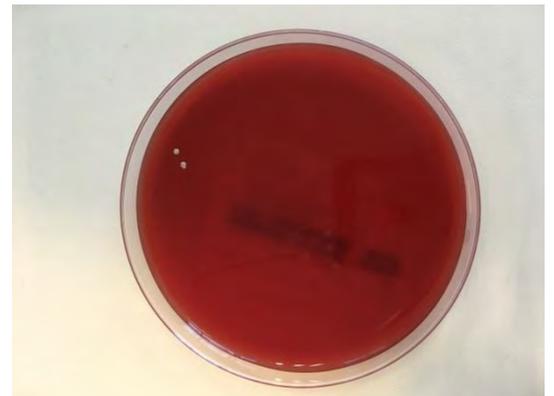
=> Prélèvement MPAU3 :

- Pus sous-dural gauche entre membrane interne et externe
- 2 colonies prélevées dont 2 *C. acnes* bien identifiés



=> Prélèvement MPAU2 :

- Pus sous dural gauche entre membrane interne et cortex
- 2 colonies prélevées dont 2 *C. acnes* bien identifiés



=> Prélèvement MPAU1 :

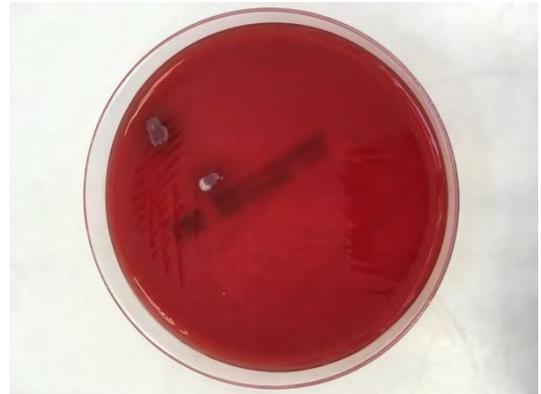
- Pus épidual gauche
- 6 colonies prélevées dont 6 *C. acnes* bien identifiés



- Patient JJ (Numéro MOLIS : 8222-2350) : 1/5 prélèvement positif à *C. acnes* dans un contexte d'arthrite septique aiguë de hanche avec anatomopathologie en faveur.

=> Prélèvement ZTHH2 :

- Cotyle hanche droite
- 4 colonies prélevées dont 3 *C. acnes* bien identifiés



- Patient MH (Numéro MOLIS : 8228-2128) : 2/2 prélèvements positifs à *C. acnes* dans un contexte chirurgical ORL (prélèvement prévertébral C1 gauche et pus crâne)

=> Prélèvement MPAU2 :

- Pus crâne
- 13 colonies prélevées dont 13 *C. acnes* bien identifiés



## H. Analyse statistique

Nous avons réalisé à plusieurs reprises différents tests de  $\text{Khi}^2$  d'indépendance (comparaisons de distributions) et des tests de Student (comparaisons de moyennes) afin de savoir si les différences suggérées "visuellement" par les graphiques ou les données étaient statistiquement significatives. Les tests sont réalisés à l'aide de l'outil en ligne « BiostaTGV » (<https://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/>). Le degré de significativité retenu est 95% ( $p < 0.05$ ). Le phylotype III retrouvé une seule fois dans toute l'étude est exclu des tests qui nécessitent des effectifs supérieurs à 5 pour leur validité. Lorsque les autres phylotypes, tels que les phylotypes mixtes ou U, sont en effectifs attendus trop faibles pour la validité des tests, ils ont également été exclus ou regroupés.

### III. RESULTATS

Nous détaillons les résultats en 3 parties correspondant aux 3 objectifs fixés. D'abord nous présentons l'épidémiologie et la distribution des phylotypes obtenus. Ensuite, nous verrons si des associations pertinentes peuvent être mises en évidence entre les phylotypes et les paramètres que nous avons choisis de relever. Enfin, nous évoquerons la question de la mono ou poly-phylotypie des prélèvements et cultures de *C. acnes*.

#### A. Données démographiques et distribution des phylotypes de *C. acnes*

##### 1. *Données démographiques*

###### 1.1. *Données générales*

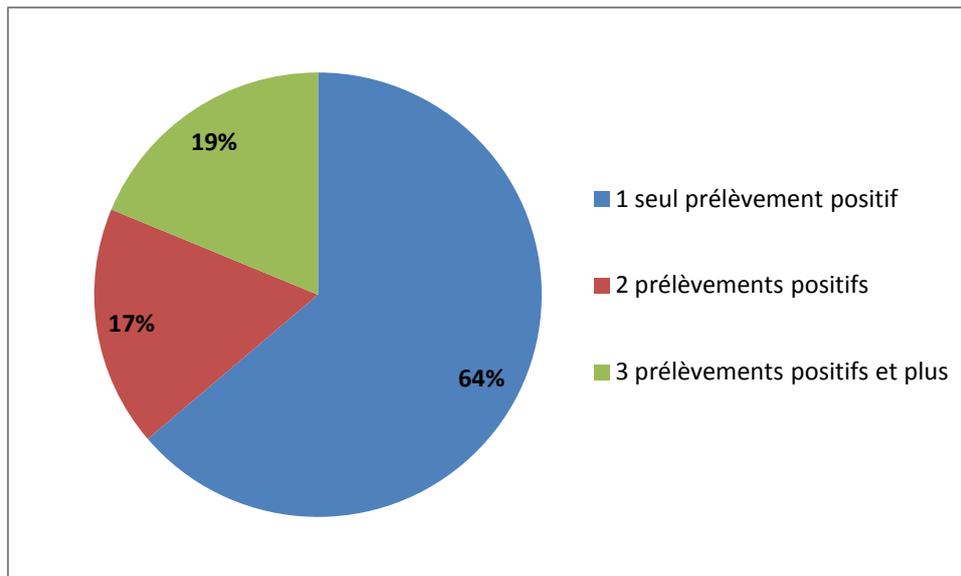
Les **344 souches** analysées appartenaient à 331 dossiers Molis (320 avec 1 seule souche, 9 avec 2 souches et 2 avec 3 souches), correspondant à **303 patients** différents. 23 patients ont présenté plusieurs prélèvements à des dates différentes sur la période d'étude : 20 patients ont eu 2 chirurgies, 2 en ont eu 3 et 1 patient a bénéficié de 4 chirurgies sur la période.

Concernant les âges des patients, tous sont représentés, de 15 à 92 ans avec une médiane à 58 ans. 102 dossiers concernaient des femmes (30,8%) et 229 concernaient des hommes (69,2%). Le sexe ratio (H/F) est de 2,25.

###### 1.2. *Nombre de prélèvements*

Le nombre de prélèvements total pour chaque patient s'étend de 1 à 18 avec une moyenne à 4,63 prélèvements et une médiane à 4.

Sur 331 dossiers, 211 (63,8%) présentaient une seule culture positive à *C. acnes*, 58 (17,5%) en comportaient 2 et pour 62 dossiers (18,7%), le laboratoire avait mis en évidence *C. acnes* sur un moins 3 prélèvements, ce qui est en faveur, d'après les recommandations, d'une infection vraie à *C. acnes* [Figure 34].



**Figure 34** : Répartition des dossiers en fonction du nombre de prélèvements positifs à *C. acnes*.

### 1.3. Délai de positivité

Le délai de positivité le plus court pour les cultures était de 3 jours, contre 29 jours pour le plus long (prolongation de la culture). Le délai moyen de positivité des cultures des dossiers avec au moins 3 prélèvements positifs était de 8 jours avec une médiane à 7 jours. Celui pour les dossiers avec 1 ou 2 prélèvements positifs était de 12 jours avec une médiane à 11 jours. Ceci est en accord avec le fait que les infections vraies ostéo-articulaires à *C. acnes* présentent souvent un délai de positivité des cultures plus court au laboratoire par rapport à celles assimilées à de la colonisation/contamination<sup>211</sup>.

### 1.4. Germes associés

151 dossiers sur 331 (45,6%) présentaient une culture polymicrobienne avec un ou plusieurs germes associés à *C. acnes*. Parmi les dossiers à au moins 3 prélèvements positifs ( $N = 62$ ) à *C. acnes*, seuls 37,1% ( $N = 23$ ) sont polymicrobiens contre 47,6% ( $N = 128$ ) pour ceux qui ont moins de 3 prélèvements positifs ( $N = 269$ ). La différence entre les 2 groupes n'est pas significative ( $P = 0,17$ ).

Les germes associés sont nombreux et divers :

- Staphylocoques : *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. caprae*, *S. lugdunensis*, *S. pasteurii*, *S. saccharolyticus*, *S. pseudointermedius* ;
- Streptocoques : *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. sanguinis*, *S. oralis* ;

- *Entérocoques* : *E. faecalis*, *E. faecium* ;
- *Bacilles non fermentants* : *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ;
- *Entérobactéries* : *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *E. cloacae*, *P. mirabilis* ;
- *Anaérobies* : *B. fragilis*, *C. pseudodiphthericum*, *C. tuberculostearicum*, *C. jeikeium*, *C. avidum*, *C. granulosum*, *P. timonensis*, *Actinomyces spp.*, *Brevibacterium spp.*, *Corynebacterium spp.* ;
- *Autres* : *M. osloensis*, *Bacillus spp.*, *B. cereus*, *C. parapsilosis*.

### 1.5. Résistances aux antibiotiques

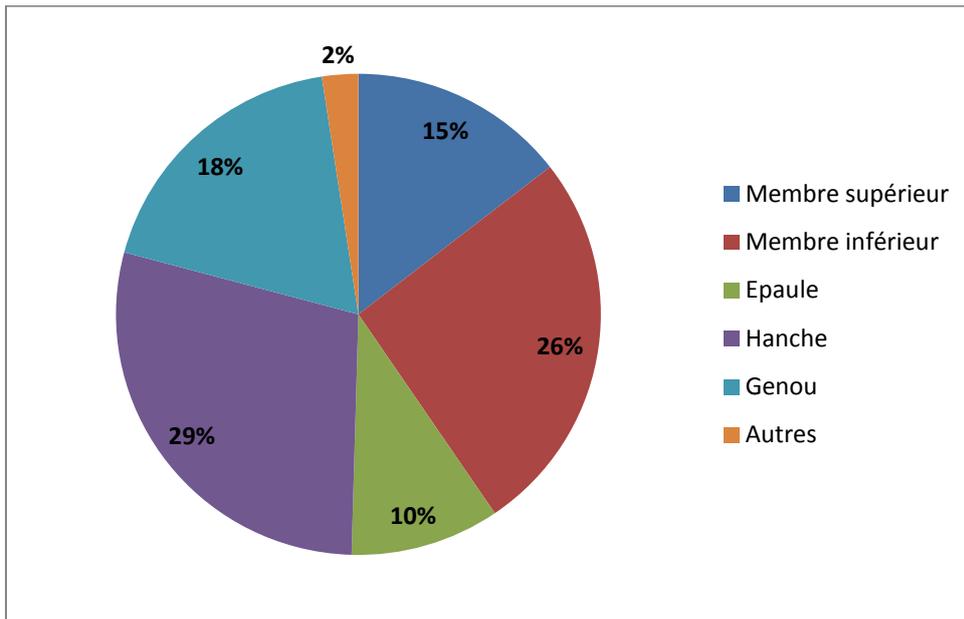
L'antibiogramme classique au laboratoire teste *in vitro* la sensibilité aux antibiotiques suivants : amoxicilline, rifampicine, céfotaxime, ofloxacine, clindamycine à partir de 2016 (anciennement érythromycine et lincomycine) et métronidazole afin de confirmer l'identification de *C. acnes* par sa résistance naturelle. D'autres antibiotiques peuvent bien sûr être testés en fonction des nécessités cliniques.

Parmi les dossiers inclus dans notre étude, aucune résistance aux antibiotiques suivants n'a été retrouvée : amoxicilline, augmentin, tazocilline, céfotaxime, ceftriaxone, imipenem, rifampicine, vancomycine, teicoplanine, linézolide, minocycline.

En revanche, 6 souches se sont avérées résistantes à l'ofloxacine et 18 de sensibilité intermédiaire. Pour l'une de ces dernières, la ciprofloxacine a été testée et s'est révélée résistante. Sur la période 2014-2016, 10 souches étaient résistantes à l'érythromycine et parmi celles-ci, 3 l'étaient également à la lincomycine et 3 autres étaient de sensibilité intermédiaire à la lincomycine. Sur la période 2014-2016, 9 souches se sont révélées résistantes à la clindamycine.

### 1.6. Localisation anatomique

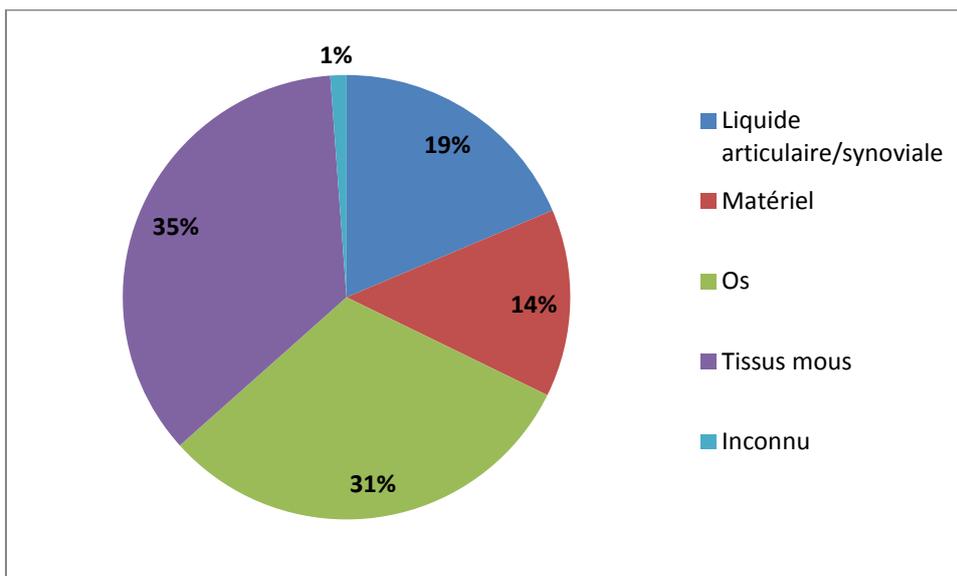
La [Figure 35] ci-dessous présente la répartition des dossiers en fonction de la localisation anatomique. 48 (15%) concernaient le membre supérieur hors épaule (bras, avant-bras, main, doigt, coude, poignet). 86 (26%) concernaient le membre inférieur hors genou (jambe, cuisse, cheville, pied, orteil). Nous avons 33 (10%) dossiers d'épaule, 95 (29%) dossiers de hanche et 61 (18%) dossiers de genou. 8 (2%) concernaient de rares localisations ou étaient de localisation non renseignée.



*Figure 35 : Répartition des dossiers en fonction de la localisation anatomique.*

### 1.7. Type de prélèvements

La répartition des dossiers en fonction des 4 types de prélèvements est présentée en [Figure 36]. Les 344 souches de l'étude provenaient de 64 prélèvements de liquide articulaire et/ou synoviale (19%), 47 prélèvements de matériels (14%), 107 prélèvements osseux (31%), 122 prélèvements de tissus mous (35%). 4 prélèvements étaient sans renseignements (1%).



*Figure 36 : Répartition des souches en fonction du type de prélèvement.*

## 2. Obtention des phylotypes

### 2.1. Phylotypes mis en évidence

Le phylotypage par spectrométrie de masse MALDI-TOF des 344 souches a permis d'obtenir différents profils simples et plusieurs profils associés.

Nous avons mis en évidence les phylotypes IA, IB-IC, II, III dont des illustrations sont présentées ci-dessous en [Figure 37]:

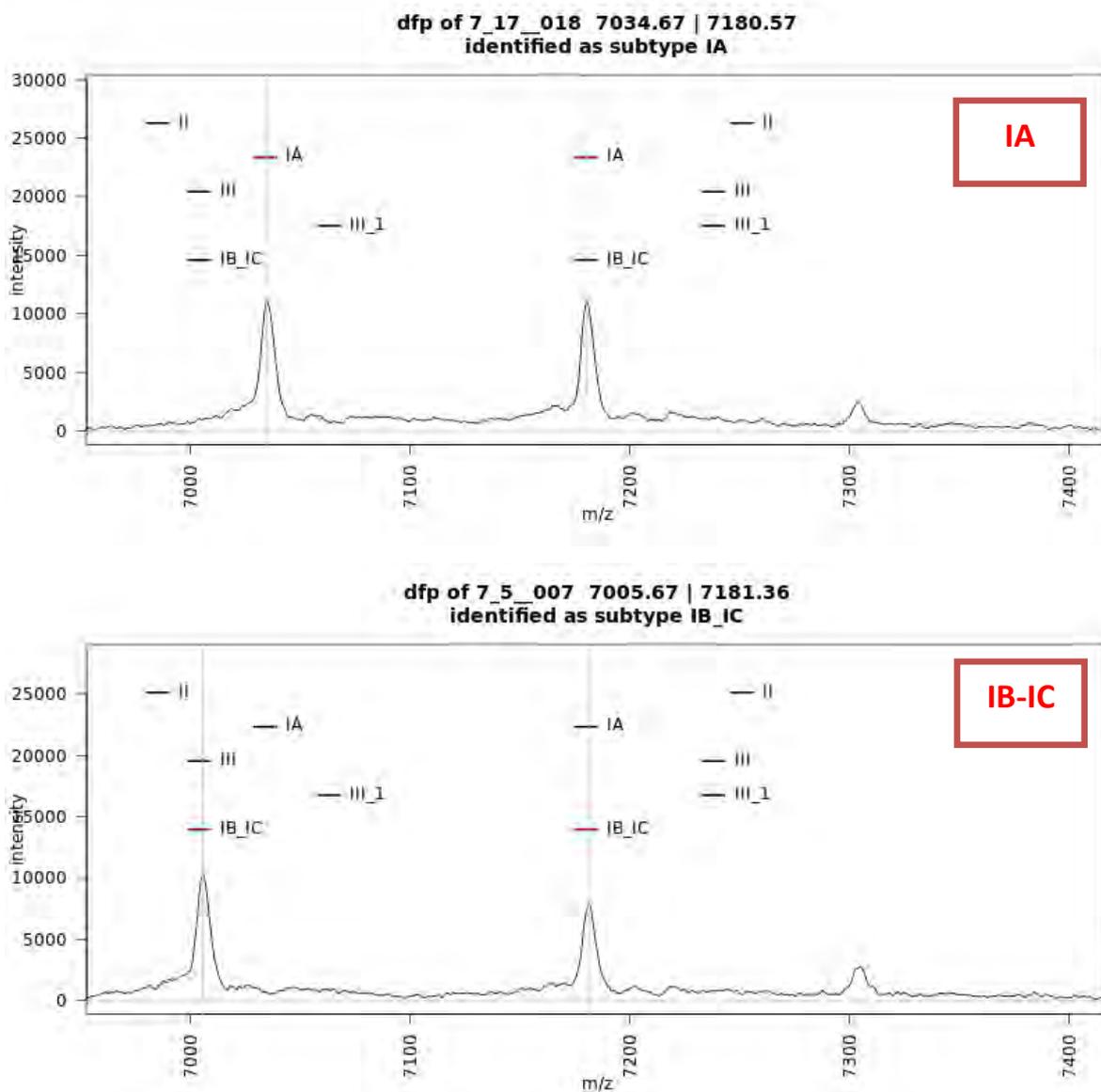
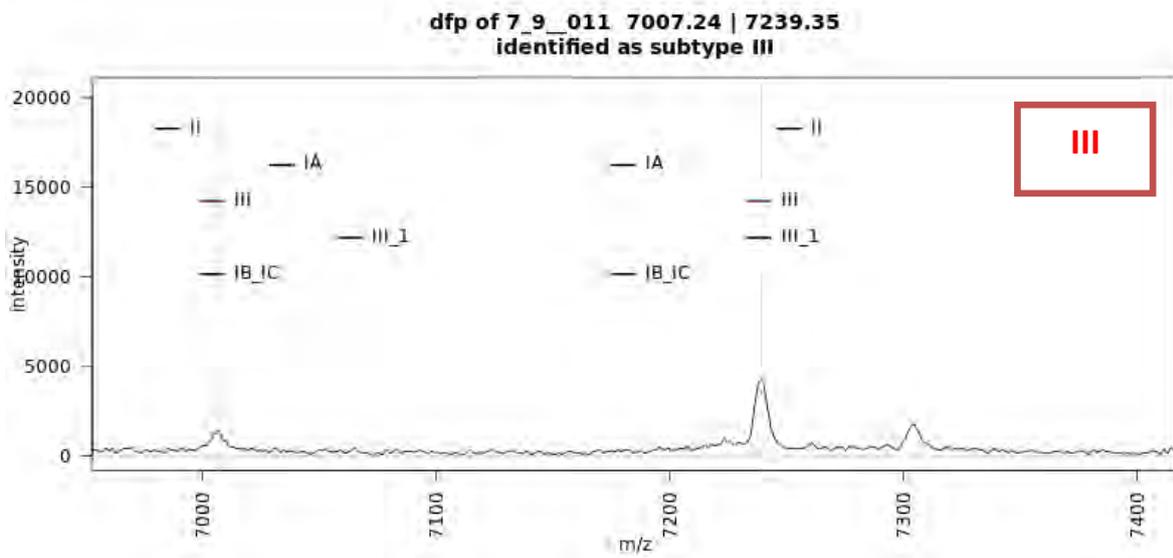
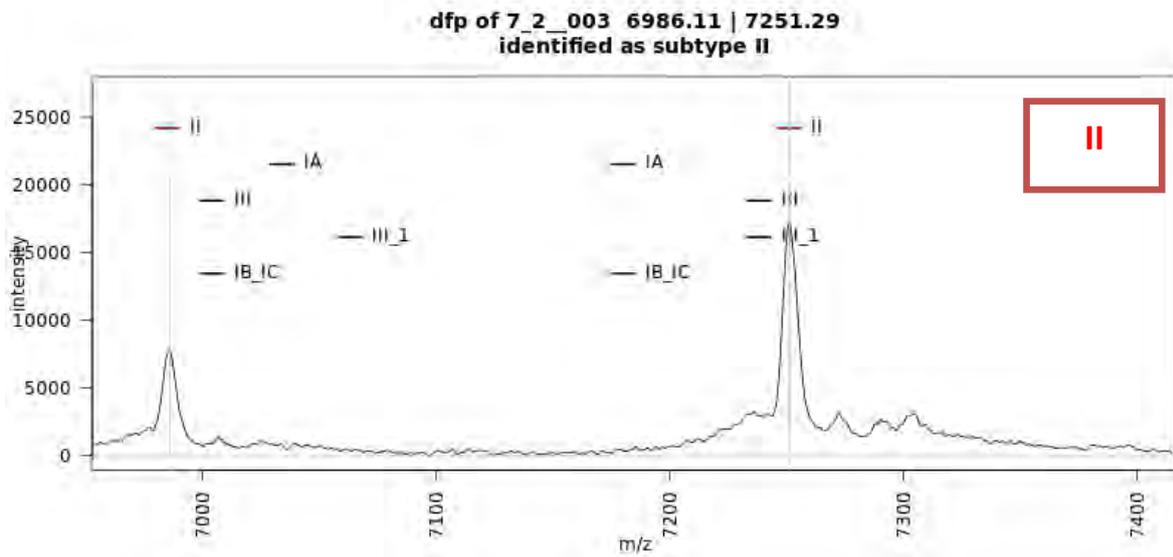
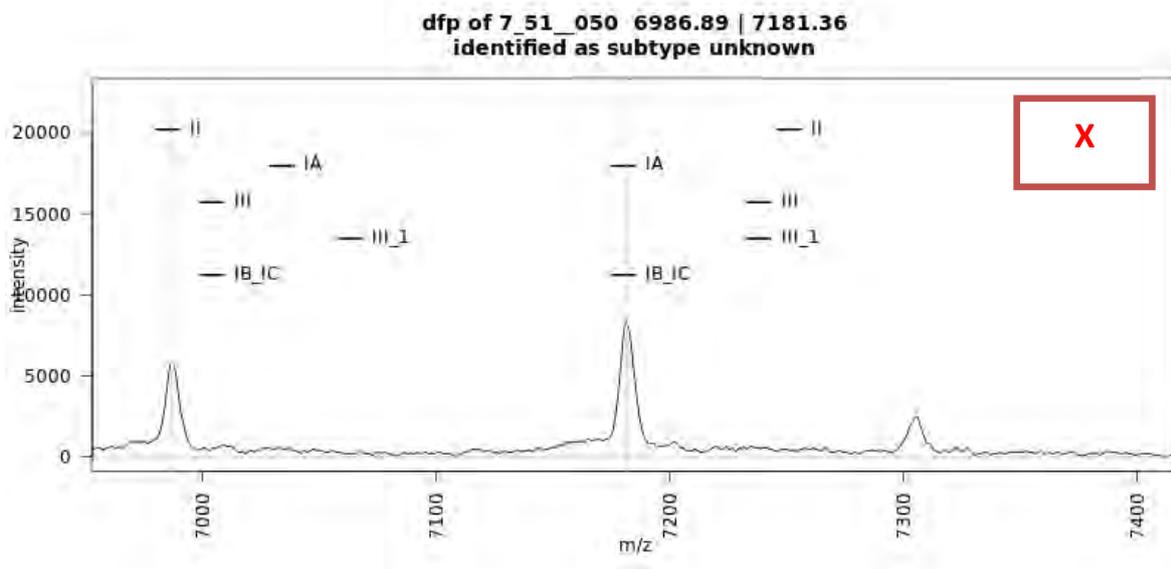


Figure 37 : Spectres de phylotypes IA, IB-IC, II et III obtenus.



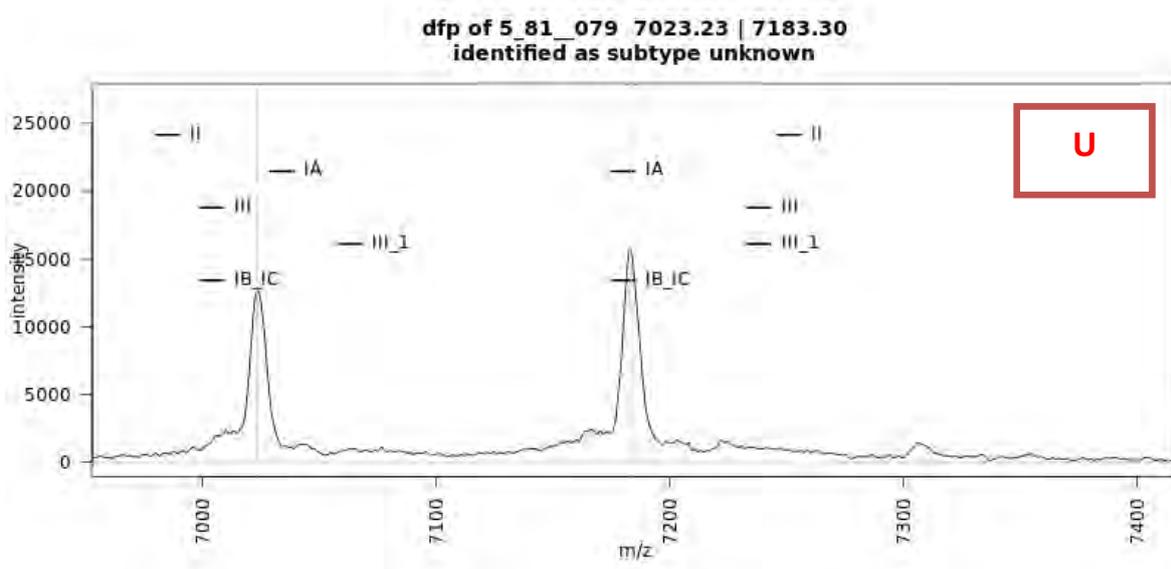
*Figure 37 (Suite) : Spectres de phylotypes IA, IB-IC, II et III obtenus.*

Un spectre a été obtenu de façon récurrente mais ne correspondait pas aux phylotypes connus. Le premier pic semble correspondre à celui des phylotypes II mais le second correspond à celui des phylotypes IB-IC et IA. Nous l'avons appelé **phylotype X**. Son spectre est présenté en [Figure 38] :



**Figure 38** : Spectre du phylotype inconnu récurrent nommé X.

Plusieurs profils simples différents et non récurrents ont été retrouvés dans un petit nombre de cas. Bien qu'ils possèdent des pics dans les zones de discrimination, ceux-ci ne correspondent pas à ceux décrits. Nous les avons regroupés sous la dénomination de phylotype U (unknow). Les pics spécifiques semblent décalés par rapport aux références spécifique. Un exemple est présenté en [Figure 39] :



**Figure 39** : Exemple de spectre de phylotype non identifié regroupé sous la dénomination U.

Enfin dans un certains nombre de cas, nous avons clairement identifié sur le spectre une association de 2 profils connus. Au total nous avons mis en évidence les 7 profils associés suivants : IA/IB-IC, IA/II [Figure 40], IA/X, IA/U, IB-IC/II, IB-IC/X, II/X.

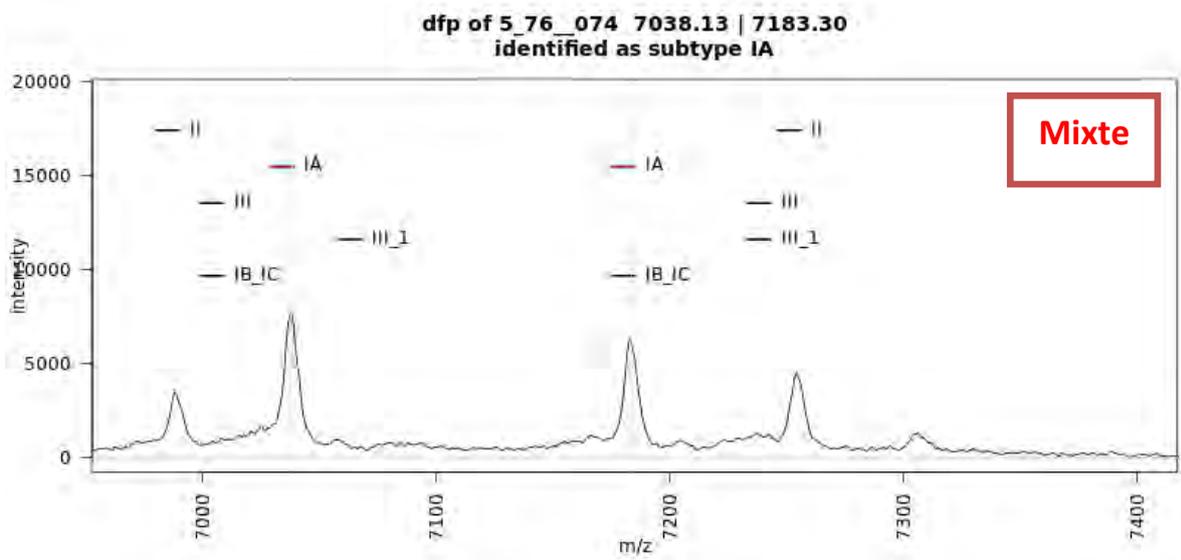


Figure 40 : Exemple de profil associé IA/II obtenu lors du phylotypage.

2.2. Distribution des phylotypes [Tableau XII] [Figure 41][Figure 42]

Tableau XII : Distribution des phylotypes par année.

	2014	2015	2016	2017	TOTAL
<i>Phylotype IB-IC</i>	28	38	35	21	<b>122</b>
<i>Phylotype II</i>	8	9	12	9	<b>38</b>
<i>Phylotype IA</i>	21	29	42	34	<b>126</b>
<i>Phylotype III</i>	0	0	0	1	<b>1</b>
<i>Phylotype X</i>	12	5	10	5	<b>32</b>
<i>Phylotype U</i>	2	3	2	5	<b>12</b>
<i>Double phylotype IA/IB-IC</i>	1	2	2	0	5
<i>Double phylotype IA/II</i>	1	1	0	0	2
<i>Double phylotype IA/X</i>	1	0	0	0	1
<i>Double phylotype IA/U</i>	0	0	1	0	1
<i>Double phylotype IB-IC/II</i>	1	0	1	0	2
<i>Double phylotype IB-IC/X</i>	0	0	0	1	1
<i>Double phylotype II/X</i>	0	1	0	0	1
<b>TOTAL</b>	75	88	105	76	<b>344</b>

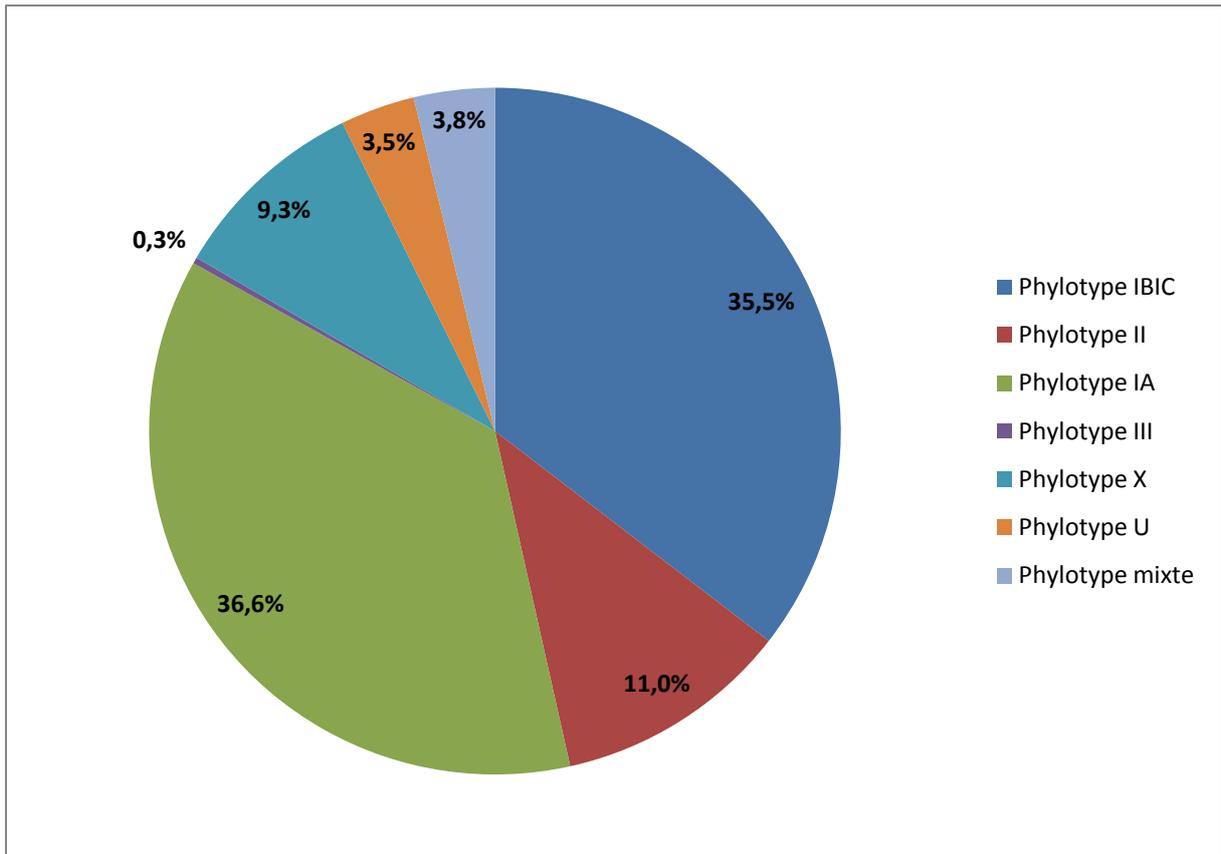


Figure 41 : Distribution des phylotypes sur la période 2014-2017.

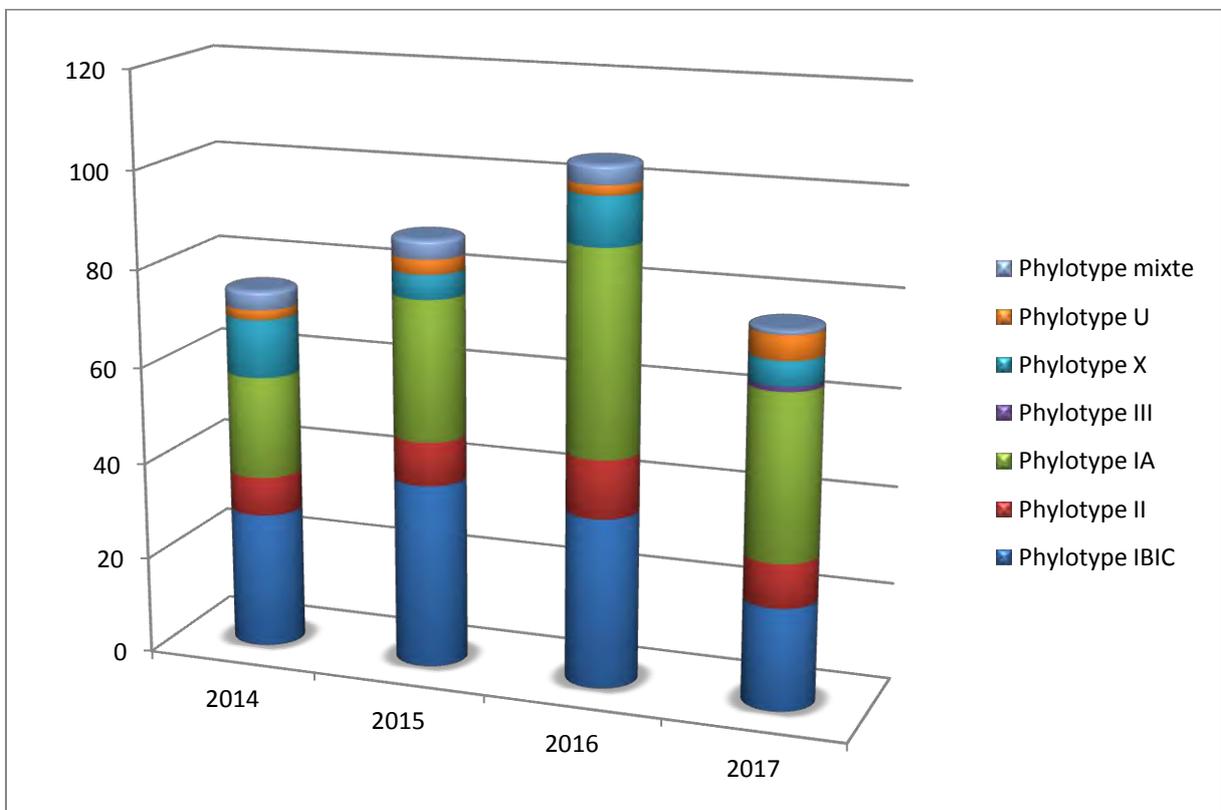


Figure 42 : Distribution des phylotypes par année.

Sur la période totale de l'étude, nous avons mis en évidence 2 phylotypes majoritaires que sont le phylotype IB-IC (35,5%) et IA (36,6%). Le phylotype II représentait 11% de l'effectif et le phylotype inconnu X, 9,3%. Le phylotype III n'a été rencontré qu'une seule fois durant cette étude, en 2017. Les phylotypes U que nous n'avons pas réussi à identifier représentent 3,5% de l'effectif. Enfin, 13 spectres ont montré une association de 2 phylotypes soit 3,8% de l'effectif total.

La répartition en nombre des phylotypes n'est pas significativement différente ( $P = 0,40$ ) sur les 4 années qui composent l'étude, en accord avec le fait que le nombre de cultures positives à *C. acnes* n'a pas augmenté au cours du temps mais est resté relativement stable chaque année. Aucun phylotype n'a été retrouvé dans des proportions différentes d'une année sur l'autre même si nous pouvons tout de même relever que le phylotype IB-IC, majoritaire en nombre 2014 et 2015, ne l'est plus en 2016 et 2017, devancé par le phylotype IA.

## **B. Recherche d'associations pertinentes entre les phylotypes de *C. acnes* et les paramètres démographiques et cliniques des patients**

### **1. Phylotype et Age**

La [Figure 43] présente le nombre de souches de chaque phylotype par période d'âge. Les phylotypes sont chacun représentés dans des proportions similaires dans les 4 groupes d'âges. On constate néanmoins que si le nombre de phylotypes IB-IC retrouvé est stable pour les 4 groupes d'âges, il semble y avoir un plus grand nombre de phylotypes IA et de phylotypes X pour la tranche d'âge 56-75 ans par rapport aux autres tranches d'âges. La différence de répartition n'est cependant pas significative au risque de 5% pour les 2 phylotypes ( $P = 0,20$  et  $P = 0,27$  respectivement). En outre, tous les phylotypes ont été retrouvés dans chaque groupe d'âge (hormis le phylotype III identifié une seule fois dans l'étude).

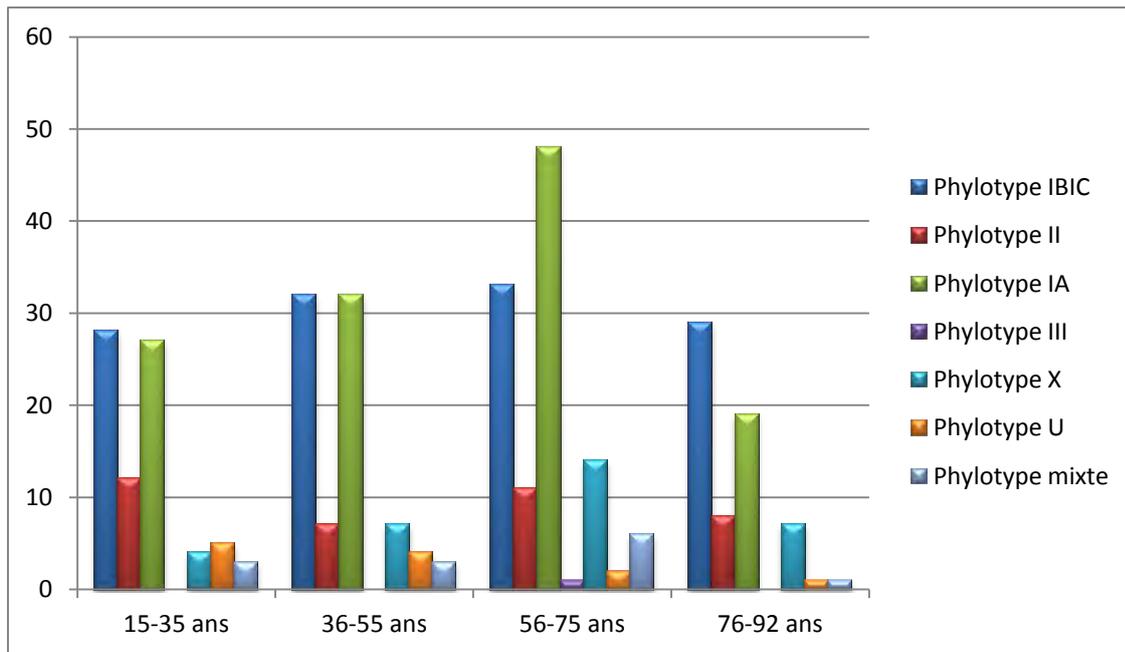


Figure 43 : Nombre de chaque phylotype obtenu en fonction de l'âge des patients.

## 2. Phylotype et sexe

La [Figure 44] présente le nombre de souches de chaque phylotype en fonction du sexe. Nous ne mettons pas en évidence de différences significatives dans la distribution des phylotypes en fonction du sexe ( $P = 0,20$ ). Comme pour la distribution en fonction de l'âge, on constate que tous les phylotypes sont représentés chez les 2 sexes (hormis le phylotype III identifié une seule fois dans l'étude).

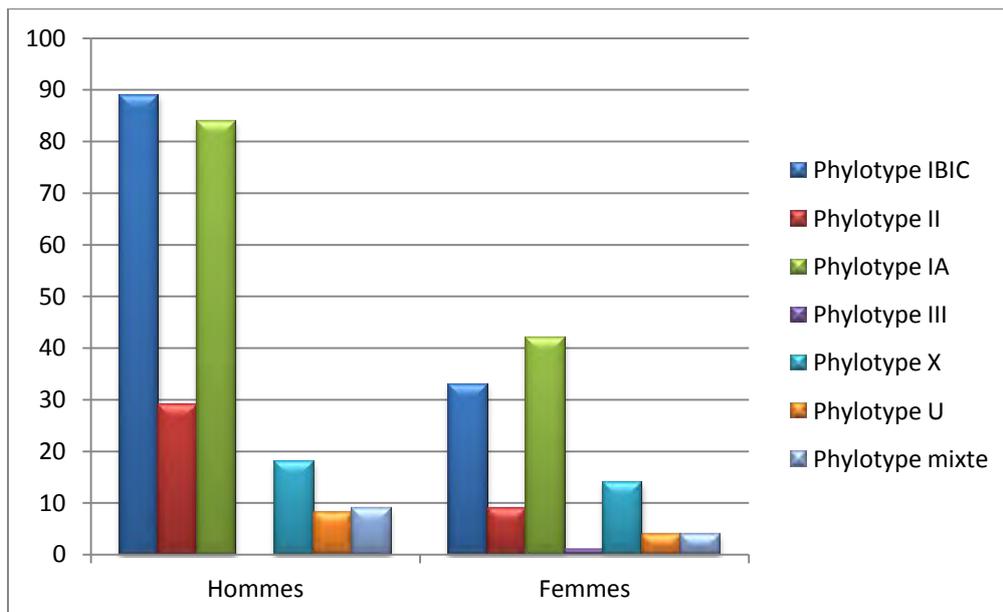


Figure 44 : Nombre de chaque phylotype obtenu en fonction du sexe.

### 3. Phylotype et délai de positivité des cultures

Les données concernant le délai de positivité des cultures des souches en fonction du phylotype obtenu sont présentées en [Tableau XIII]. Les phylotypes IB-IC, II et IA présentent des délais de positivité similaires. En revanche, on observe que les phylotypes X et mixtes semblent avoir des délais de positivité des cultures plus importants avec des moyennes et médianes supérieures à celles des autres phylotypes. En outre, aucun phylotype mixte n'a poussé en culture en moins de 7 jours, contrairement aux autres. Ces données laissent supposer que le phylotype X ainsi que les phylotypes mixtes pourraient être préférentiellement des colonisants des prélèvements ostéo-articulaires. La comparaison par des tests de Student des moyennes donnent les résultats suivants :

- phylotype IA versus phylotype mixte :  $P = 0,079$  (hypothèse unilatérale)
- phylotype IB-IC versus phylotype mixte :  $P = 0,033$  (hypothèse unilatérale)
- phylotype IB-IC versus phylotype X :  $P = 0,43$  (hypothèse unilatérale)
- phylotype IA versus phylotype X :  $P = 0,71$  (hypothèse unilatérale)

**- groupe de phylotypes IB-IC, II et IA versus groupe phylotypes X et mixte :  $P = 0,013$  (hypothèse unilatérale)**

La différence observée est statistiquement significative lorsqu'on compare les phylotypes regroupés. Le groupe des phylotype X et mixte présente des délais de positivité des cultures plus longs que celui des phylotypes IB-IC, II et IA. Ce résultat vient étayer l'hypothèse envisagée selon laquelle les phylotypes X et mixtes seraient des contaminants des prélèvements et non responsables d'infections vraies.

*Tableau XIII : Moyennes, médianes, valeurs minimales et maximales des délais de positivité des cultures obtenus pour chaque phylotype.*

(Unité : en jours)	Moyenne	Médiane	Minimum	Maximum
Phylotype IB-IC	10,5	10	3	23
Phylotype II	10,6	10	5	25
Phylotype IA	11,1	10,5	3	22
Phylotype X	12,2	12	4	20
Phylotype U	9,8	9,5	5	15
Phylotype mixte	12,8	11	7	29
Groupe IB-IC, II, IA	10,8	10	3	25
Groupe X, mixte	12,4	12	4	29

#### 4. *Phylotype et germes associés*

Le nombre et le pourcentage de souches de *C. acnes* mis en évidence avec d'autres germes associés sur le même prélèvement sont présentés en [Tableau XIV] pour chaque phylotype. Nous avons observé un polymicrobisme sur les prélèvements des souches incluses dans 8,3% des phylotypes U, jusqu'à un maximum de 24,6%, observé pour le phylotype IB-IC. On remarque que la proportion de polymicrobisme entre les phylotypes majoritaires IB-IC et IA, est tout à fait semblable. En outre, les proportions observées pour l'ensemble des phylotypes ne sont pas significativement différentes au risque de 5% ( $P = 0,60$ ).

*Tableau XIV : Nombre et pourcentage de souches mises en évidence avec des germes associés, en fonction du phylotype observé.*

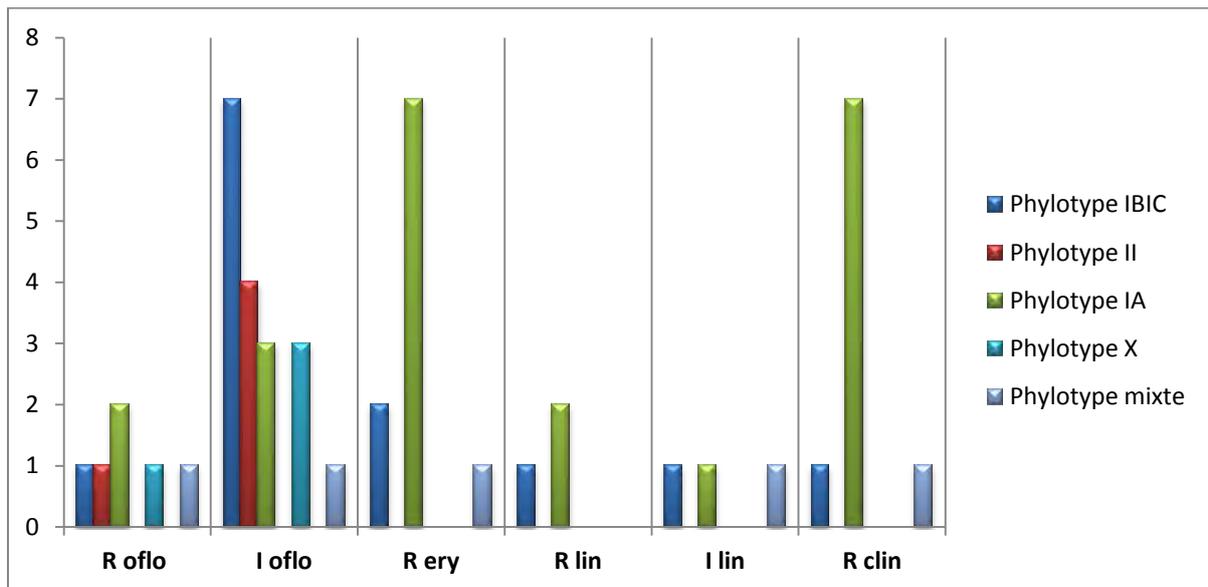
	<i>Nombre de souches avec germes associés</i>	<i>Proportion (%)</i>
<i>Phylotype IB-IC</i>	30	24,6
<i>Phylotype II</i>	6	15,8
<i>Phylotype IA</i>	28	22,2
<i>Phylotype X</i>	5	15,6
<i>Phylotype U</i>	1	8,3
<i>Phylotype mixte</i>	2	15,4

#### 5. *Phylotype et résistances aux antibiotiques*

La répartition des souches résistantes et de sensibilité intermédiaire aux antibiotiques en fonction des phylotypes et des types de résistance est présentée en [Figure 45]. Aucune de ces souches n'appartenait aux phylotypes U et III.

Les souches résistantes ou de sensibilité intermédiaire à l'ofloxacine concernaient les 5 autres groupes phylotypiques de façon homogène. Le phylotype IB-IC est celui le plus représenté parmi les souches de sensibilité intermédiaire à l'ofloxacine. La seule souche résistante à la ciprofloxacine était de phylotype IB-IC.

Concernant les résistances aux macrolides et apparentés, on remarque qu'aucune ne concerne les phylotypes II et X. L'élément majeur observable est la large prédominance du phylotype IA parmi les souches résistantes à l'érythromycine et la clindamycine. La différence observée est statistiquement significative ( $P = 0,003$ ).



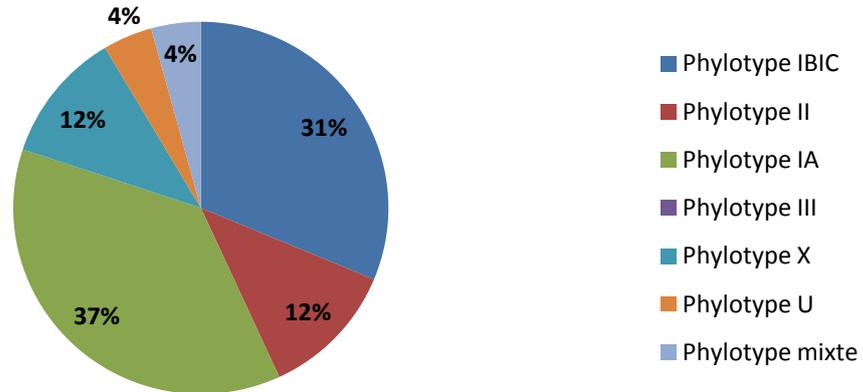
**Figure 45** : Répartition des souches de sensibilité diminuée en fonction des phylotypes et des types de résistance.

### 6. Phylotype et nombre de prélèvements positifs

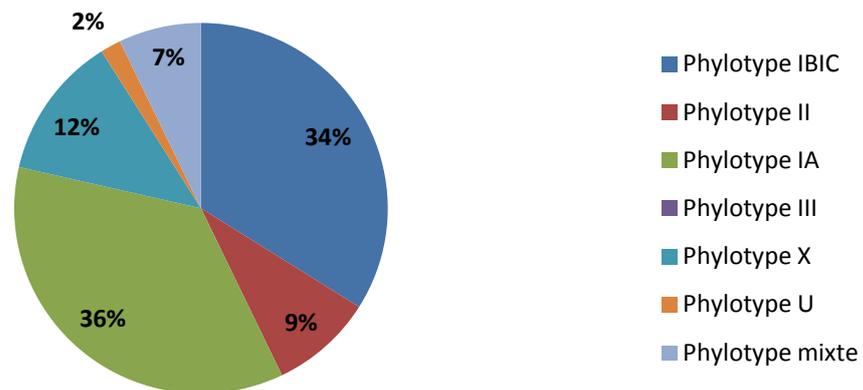
La distinction des dossiers en fonction du nombre de prélèvements positifs à *C. acnes* présente un intérêt particulier puisque un nombre de prélèvements positifs supérieur ou égal à 3 est très en faveur d'une infection à *C. acnes*, *a contrario* d'un seul prélèvement positif, lorsque le nombre de prélèvements réalisés est suffisant. Les répartitions des phylotypes en fonction du nombre de prélèvements positifs à *C. acnes* sont présentées en [Figure 46].

La répartition entre 1 seul et 2 prélèvements positifs est très sensiblement la même, rappelant la distribution générale. En revanche on observe qu'à partir de 3 prélèvements positifs, **la proportion des phylotypes X, U et mixte est sensiblement plus faible**. En effet, 95% des souches sont de phylotypes IB-IC, II ou IA contre environ 80% dans les cas où moins de 3 prélèvements sont positifs. Cette différence est statistiquement significative ( $P = 0,0032$ ). Ces résultats n'impliquent pas une pathogénicité des phylotypes IB-IC, IA, II mais semblent évoquer une non pathogénicité et un rôle colonisant des phylotypes X,U et mixte. Nous avons déjà soulevé cette hypothèse concernant les phylotypes X et mixte dans le paragraphe 3. *Phylotype et délai de positivité des cultures*.

### 1 seul prélèvement positif (N = 211)



### 2 prélèvements positifs (N = 56)



### Au moins 3 prélèvements positifs (N = 61)

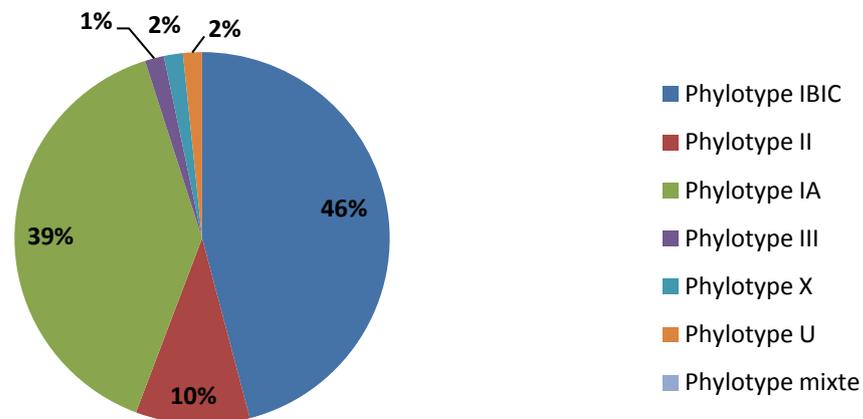


Figure 46 : Répartitions des phylotypes en fonction du nombre de prélèvements positifs à *C. acnes*.

La mise en évidence de ces phylotypes en culture en routine sur des prélèvements ostéo-articulaires pour lesquels la pathogénicité de *C. acnes* n'est pas certaine pourrait être un argument supplémentaire dans la discussion clinico-biologique permettant d'orienter la prise en charge. La constitution de 2 groupes phylotypiques, le groupe Y contenant les phylotypes IB-IC, II, IA et III et le groupe Z contenant les phylotypes X, U, et mixtes, nous permet d'effectuer une régression linéaire et d'établir une valeur prédictive négative intéressante [Tableau XV].

Tableau XV : Répartition des phylotypes en deux groupes Y (IB-IC, II, IA, III) et Z (X, U, mixte).

	Groupe Y	Groupe Z
Au moins 3 prélèvements positifs	59	2
Moins de 3 prélèvements positifs	217	54

Soient le nombre de prélèvements positifs au moins égal à 3 représentant la variable à expliquer et le groupe Z représentant la variable explicative. Nous avons procédé à une régression linéaire simple dont le but est d'évaluer si la variable explicative phylotype groupe Z influence le nombre de prélèvements positifs de manière significative. Le résultat mis en évidence est une infériorité statistiquement significative de la variable "au moins 3 prélèvements positifs" lorsque la variable Z est présente ( $P = 0,0125$ ).

L'établissement des valeurs prédictives à partir du [Tableau XV] donne les résultats suivants :

$$\mathbf{VPN = 54/(54+2) = 0,964}$$

$$\mathbf{VPP = 59/(59+217) = 0,214}$$

La valeur prédictive négative correspond ici à la probabilité de ne pas avoir des prélèvements significatifs (au moins 3 prélèvements positifs) à *C. acnes*, lorsque le phylotype mis en évidence appartient au groupe Z et donc correspond au phylotype X,U ou mixte. Cette probabilité est ici de 96,4%. Elle est supérieure à 95% et donc présente un intérêt d'application.

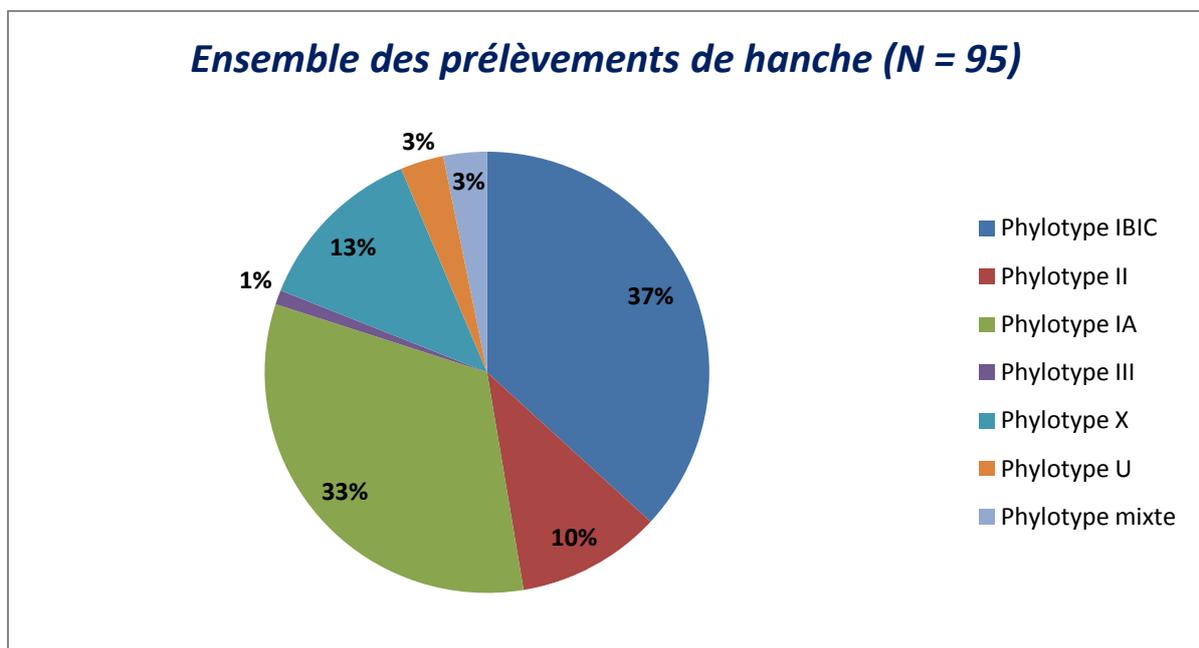
On pourrait alors interpréter la mise en évidence des phylotypes X, U ou mixte lors de l'identification au laboratoire comme en faveur d'une contamination et non d'une infection vraie à *C. acnes*.

La valeur prédictive positive du groupe Y est médiocre et ne présente en revanche aucun intérêt pratique. Elle correspond à la probabilité d'avoir des prélèvements significatifs lorsque le phylotype mis en évidence est IB-IC, II, IA ou III.

## 7. Phylotype et localisation anatomique

### 7.1. Hanche

La répartition des phylotypes obtenus sur prélèvements de hanche est présentée en [Figure 47] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé aux prélèvements de hanche. Parmi les prélèvements significatifs, **le phylotype IB-IC est cependant majoritaire.**



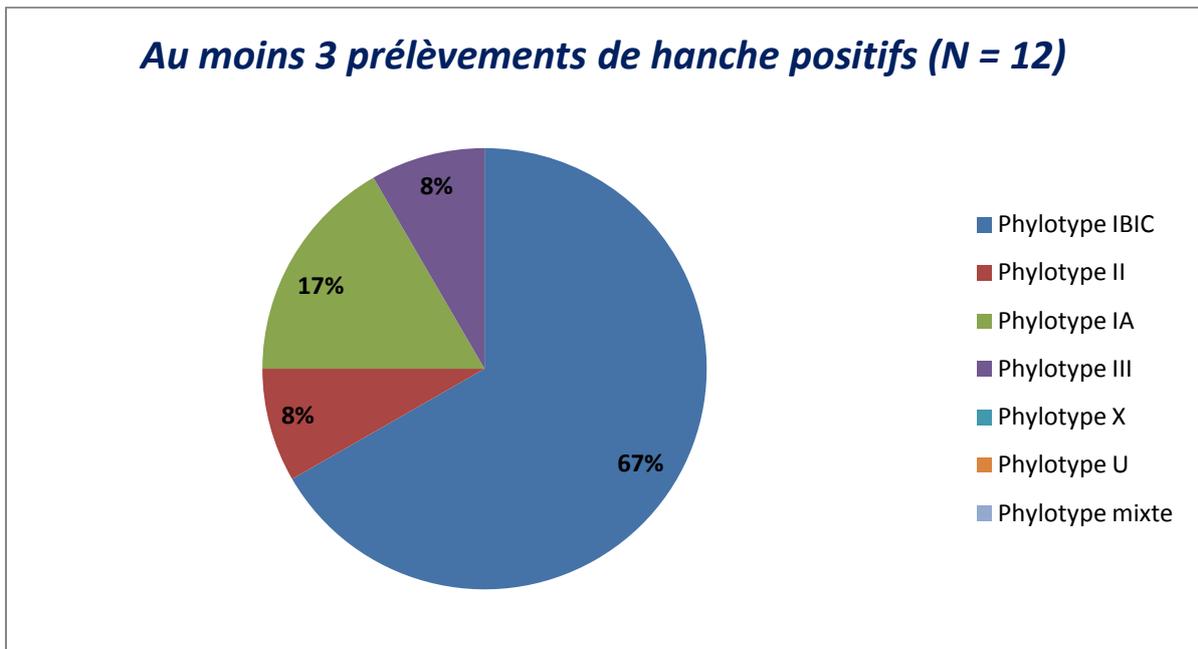
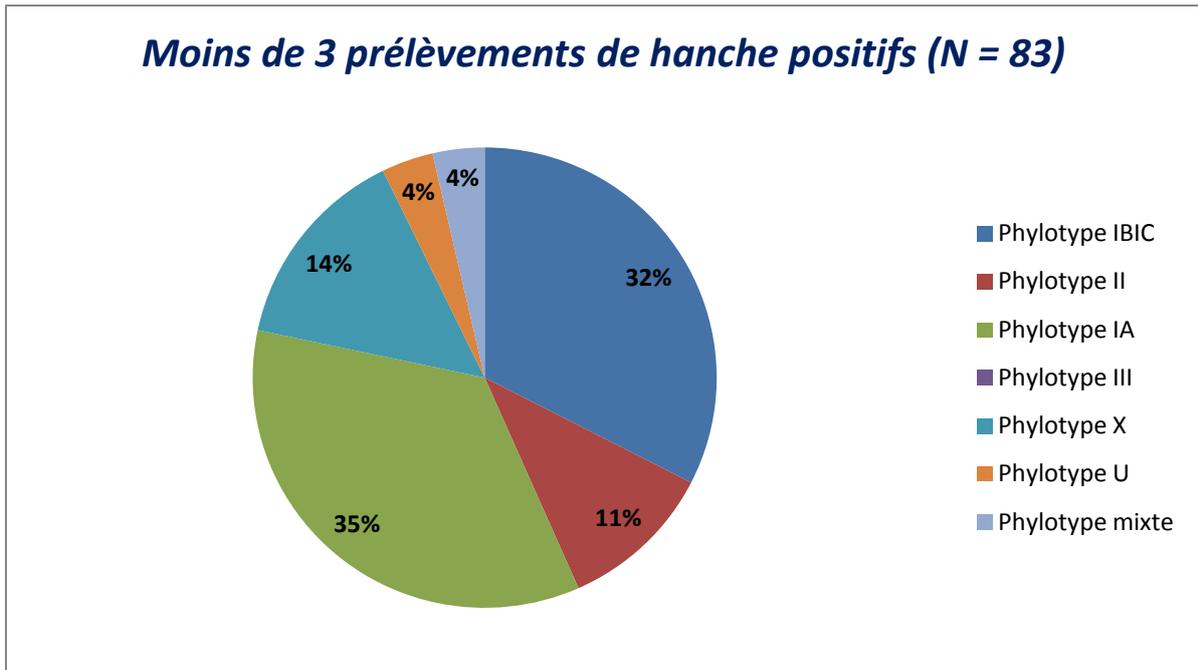
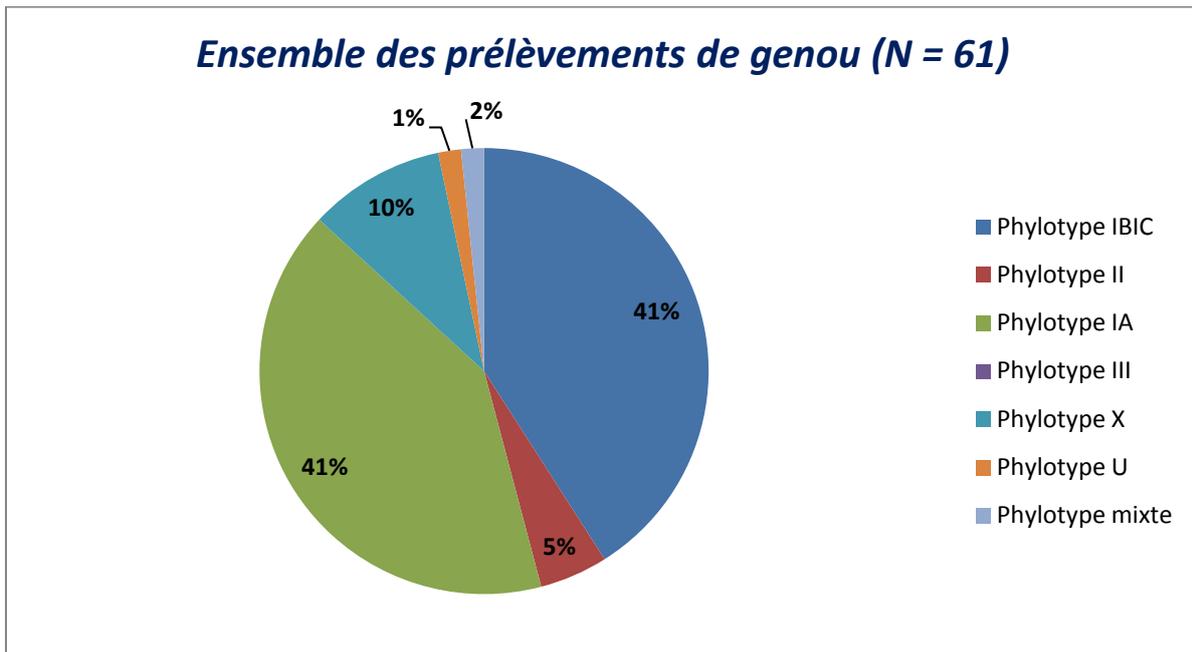


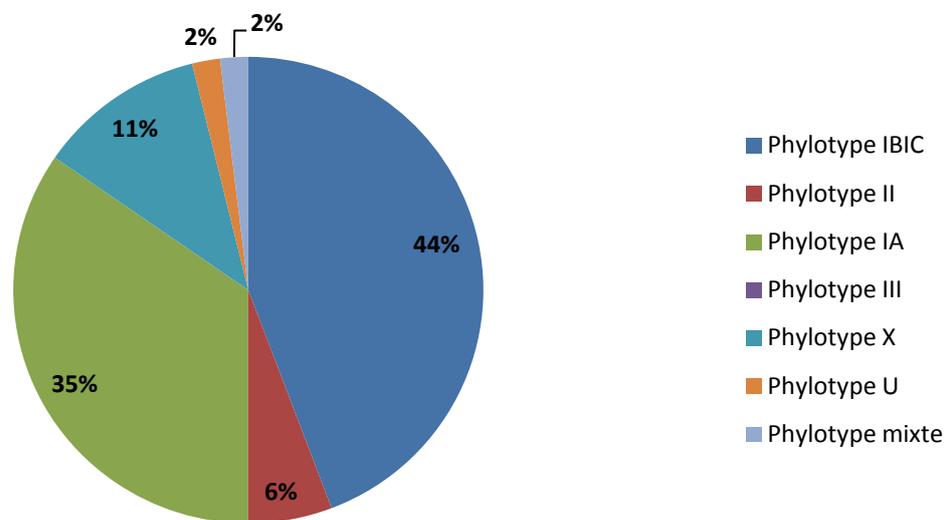
Figure 47 : Répartition des phylotypes des prélèvements de hanche.

## 7.2. Genou

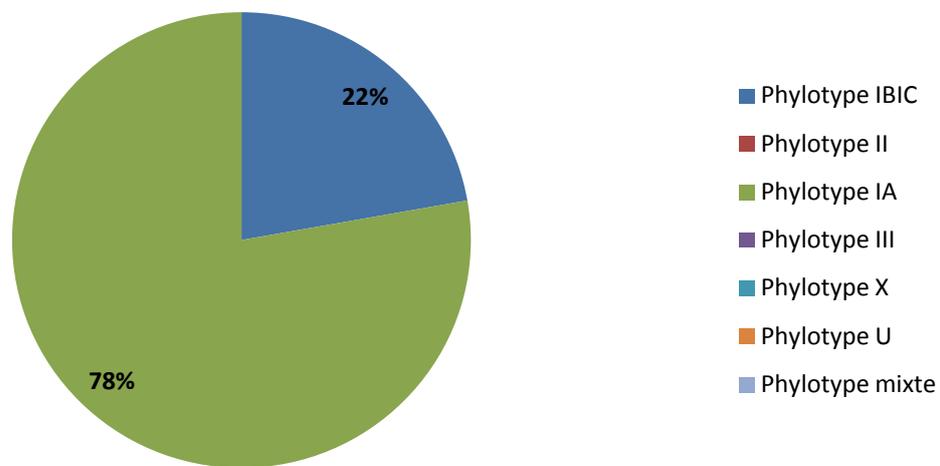
La répartition des phylotypes obtenus sur prélèvements de genou est présentée en [Figure 48] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé aux prélèvements de genou. Parmi les prélèvements significatifs, le **phylotype IA est prépondérant.**



**Moins de 3 prélèvements de genou positifs (N = 52)**



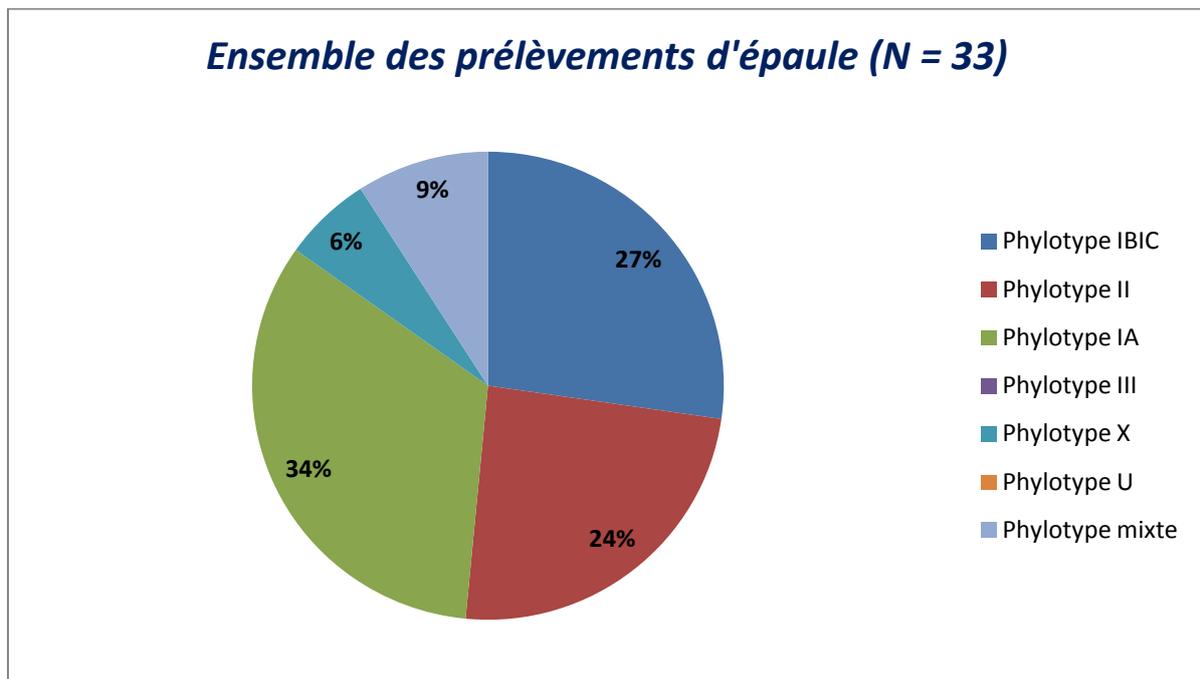
**Au moins 3 prélèvements de genou positifs (N = 9)**



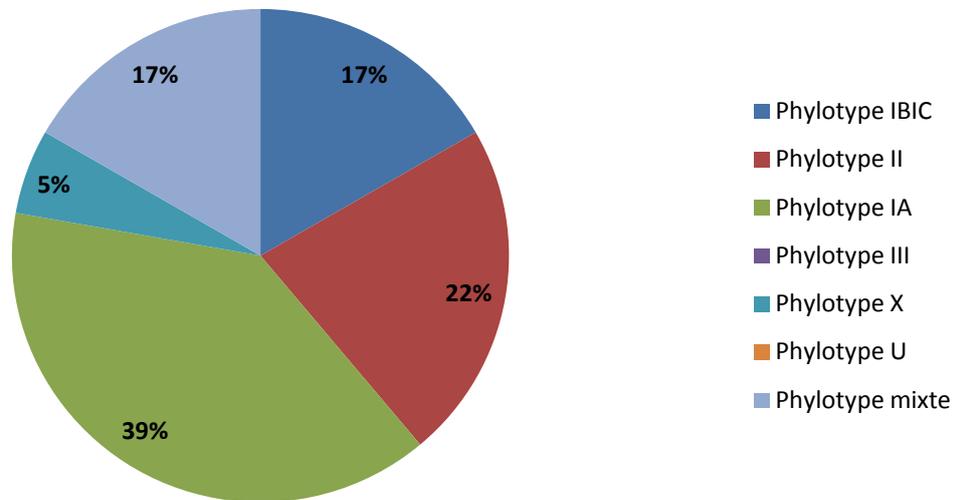
*Figure 48 : Répartition des phylotypes des prélèvements de genou.*

### 7.3. EpauLe

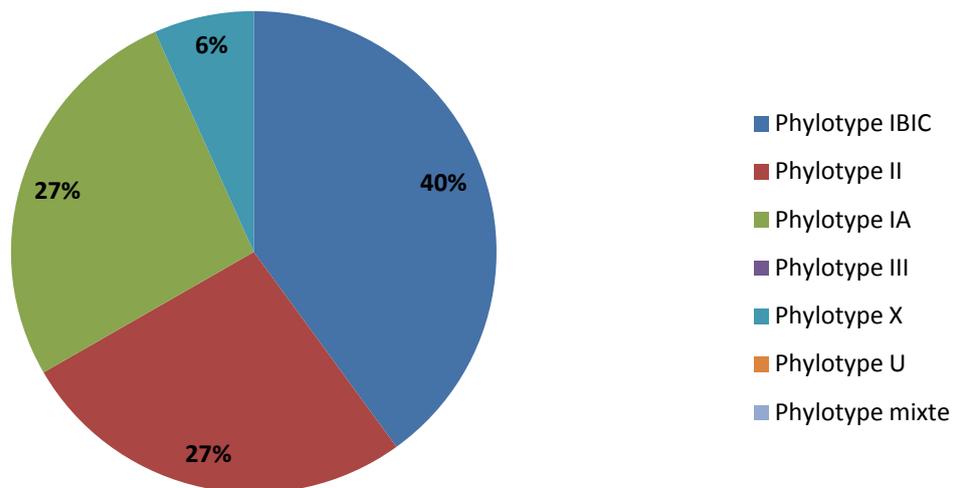
La répartition des phylotypes obtenus sur prélèvements d'épaule est présentée en [Figure 49] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé aux prélèvements d'épaule, cependant les phylotypes sont plus variés que pour le genou ou la hanche. Parmi les prélèvements significatifs, **on constate une plus grande présence du phylotype II par rapport à la hanche et au genou.**



**Moins de 3 prélèvements d'épaule positifs (N = 18)**



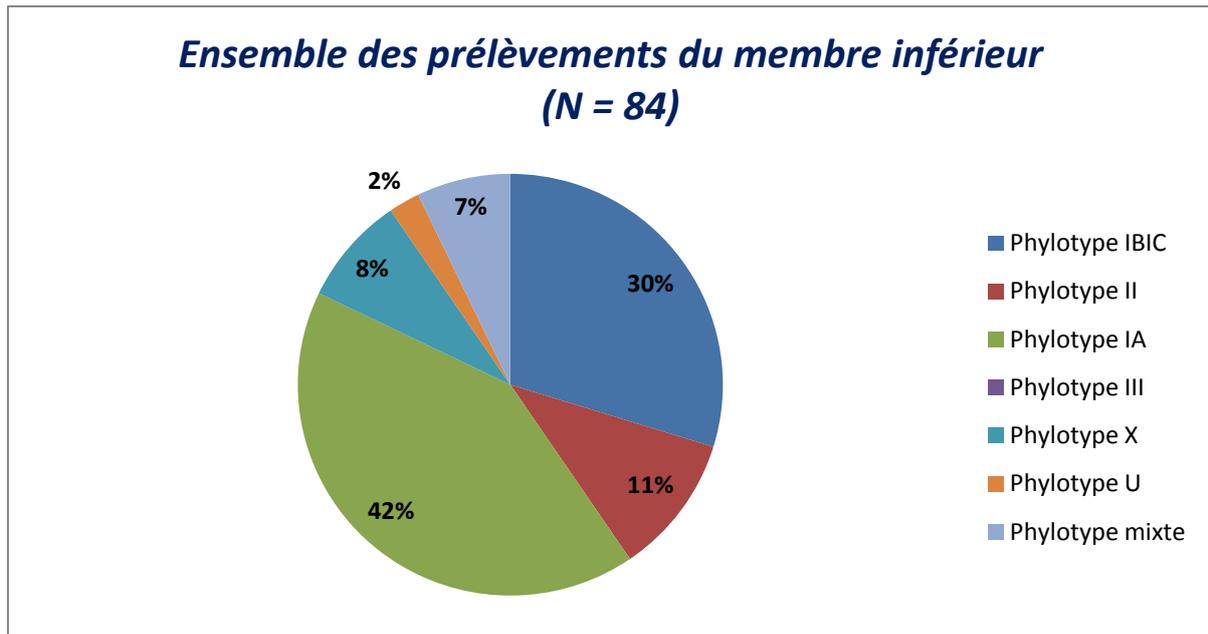
**Au moins 3 prélèvements d'épaule positifs (N = 15)**



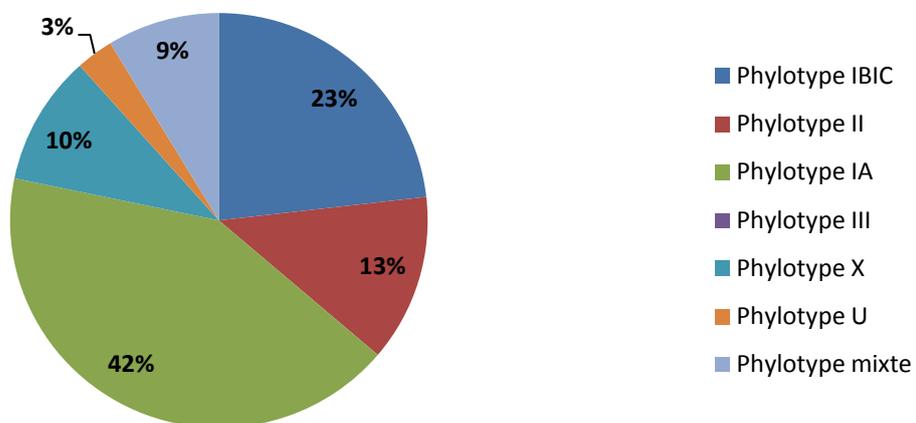
*Figure 49 : Répartition des phylotypes des prélèvements d'épaule.*

#### 7.4. Membre inférieur

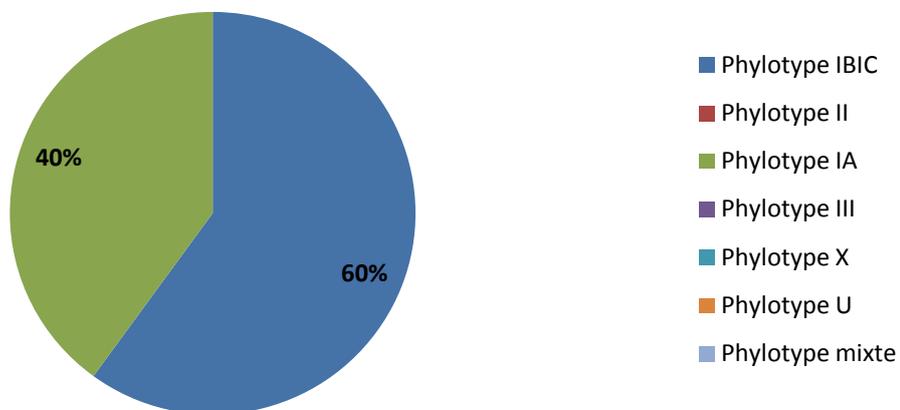
La répartition des phylotypes obtenus sur prélèvements du membre inférieur est présentée en [Figure 50] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé aux prélèvements du membre inférieur. Les prélèvements significatifs sont tous de phylotype IA et IB-IC.



**Moins de 3 prélèvements du membre inférieur positifs (N = 69)**



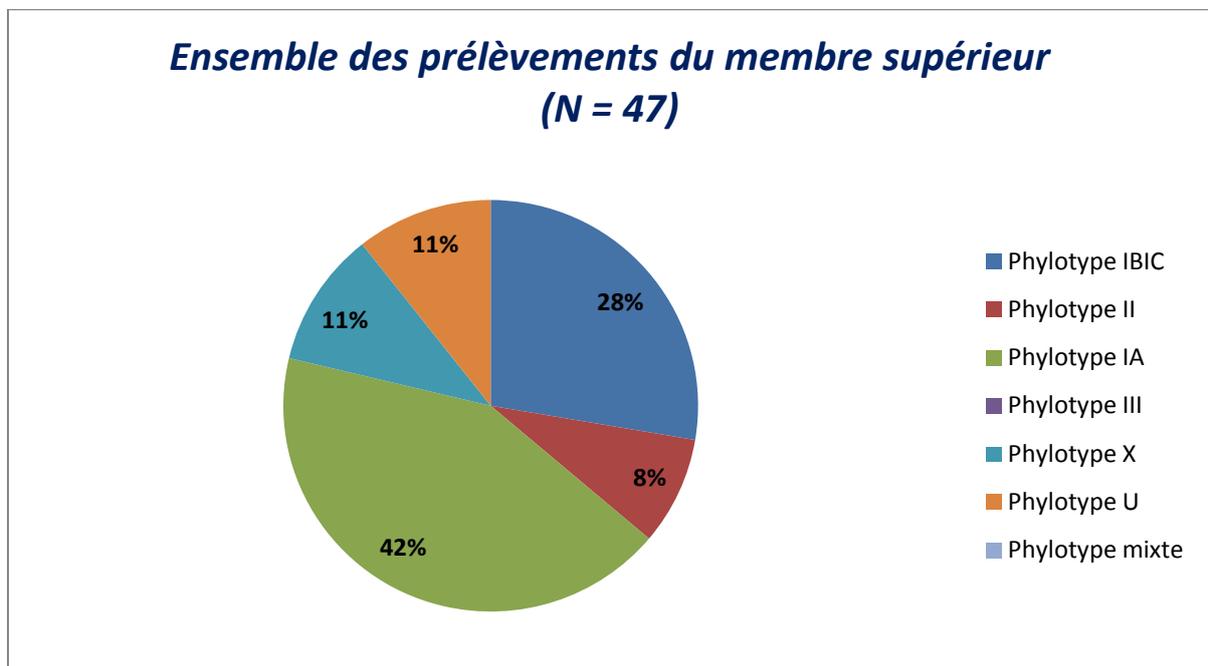
**Au moins 3 prélèvements du membre inférieur positifs (N = 15)**



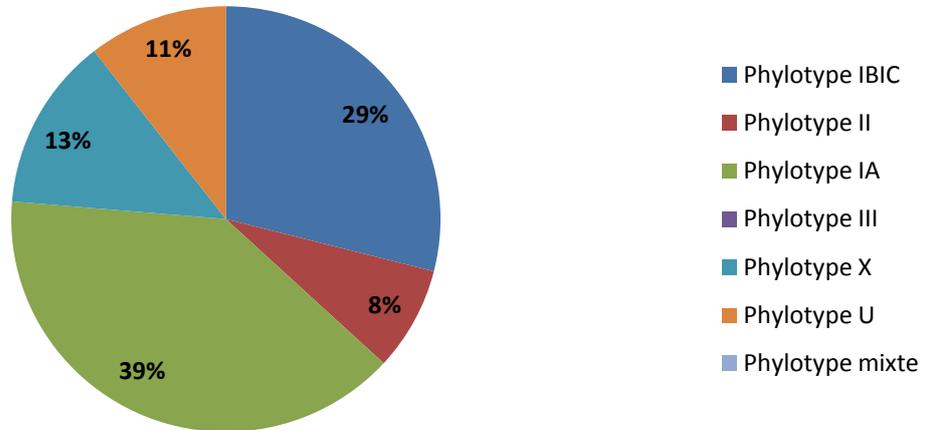
**Figure 50** : Répartition des phylotypes des prélèvements du membre inférieur.

### 7.5. Membre supérieur

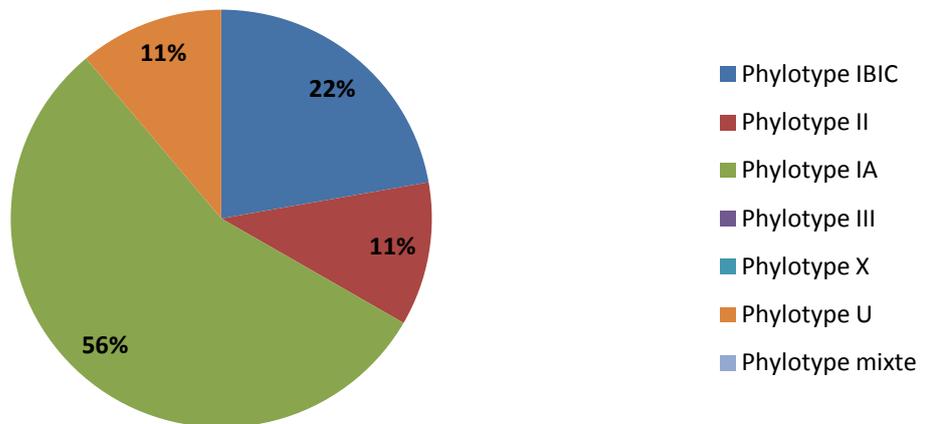
La répartition des phylotypes obtenus sur prélèvements du membre supérieur est présentée en [Figure 51] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé aux prélèvements du membre supérieur. Aucun phylotype mixte ne concernait le membre supérieur. Parmi les prélèvement significatifs, on trouve **des phylotypes II et U** contrairement au membre inférieur, rappelant les observations faites pour les prélèvements d'épaule.



**Moins de 3 prélèvements du membre supérieur positifs (N = 38)**



**Au moins 3 prélèvements du membre supérieur positifs (N = 9)**



**Figure 51** : Répartition des phylotypes des prélèvements du membre supérieur.

Le [Tableau XVI] résume les principaux phylotypes obtenus en fonction de la localisation anatomique. On relève que l'épaule présente une proportion plus grande de phylotypes II, que les prélèvements soient significatifs ou non. Le phylotype IB-IC est seul prépondérant pour les prélèvements de hanche significatifs. Le phylotype IA est seul prépondérant pour les prélèvements de genou et du membre supérieur significatifs.

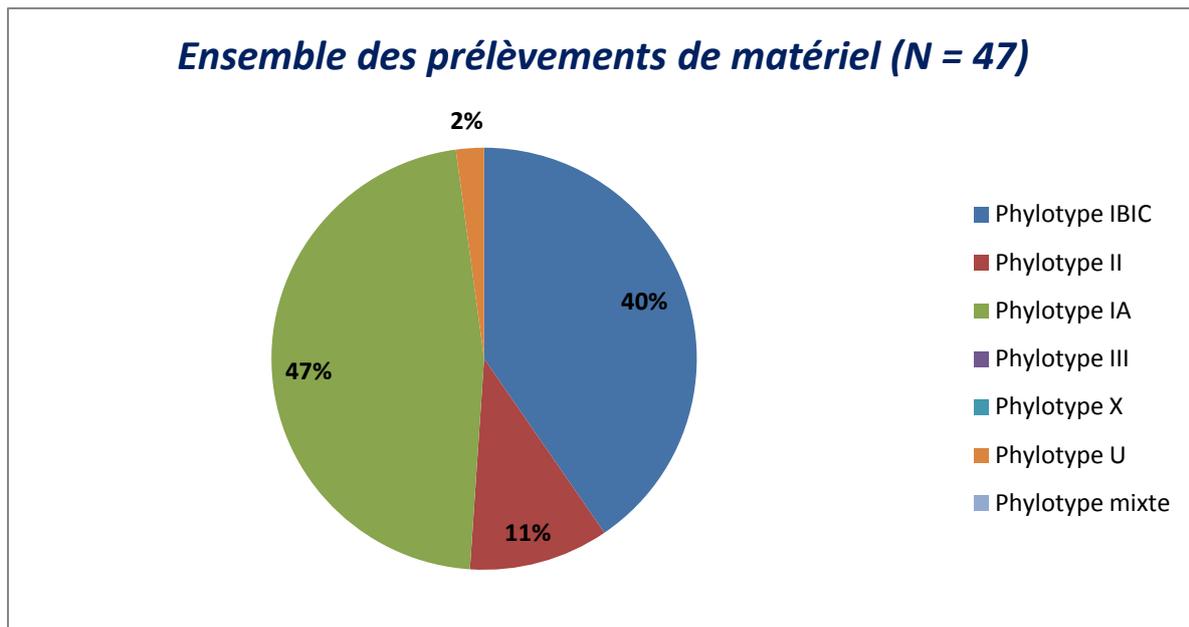
*Tableau XVI : Résumé des principaux phylotypes obtenus en fonction de la localisation anatomique.*

	<i>Prélèvements totaux</i>		<i>Prélèvements significatifs</i>	
	<i>Nombre</i>	<i>Phylotypes prédominants</i>	<i>Nombre</i>	<i>Phylotypes prédominants</i>
<i>Hanche</i>	95	<b>IB-IC, IA</b>	12	<b>IB-IC</b>
<i>Genou</i>	61	<b>IB-IC, IA</b>	9	<b>IA</b>
<i>Epaule</i>	33	<b>IB-IC, IA, II</b>	15	<b>IB-IC, IA, II</b>
<i>Membre inférieur</i>	84	<b>IB-IC, IA</b>	15	<b>IB-IC, IA</b>
<i>Membre supérieur</i>	47	<b>IB-IC, IA</b>	9	<b>IA</b>

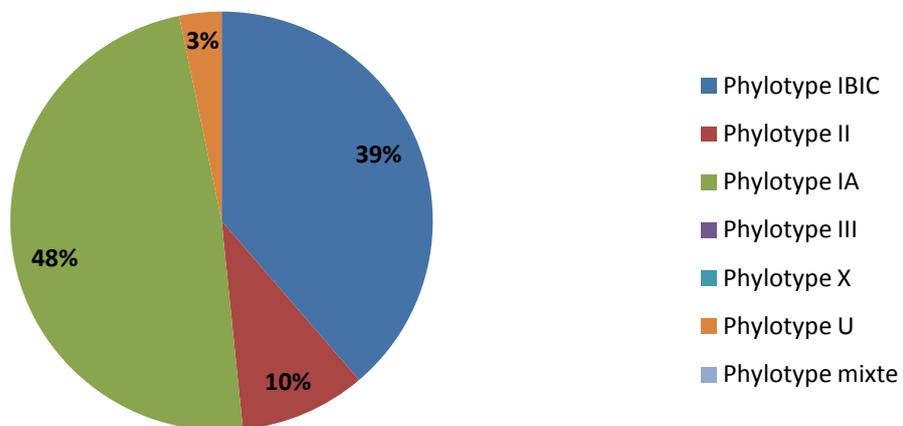
## 8. Phylotype et type de prélèvement

### 8.1. Matériel

La répartition des phylotypes obtenus sur prélèvements de matériel est présentée en [Figure 52] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé aux prélèvements de matériel.



**Moins de 3 prélèvements de matériel positifs  
(N = 31)**



**Au moins 3 prélèvements de matériel positifs  
(N = 16)**

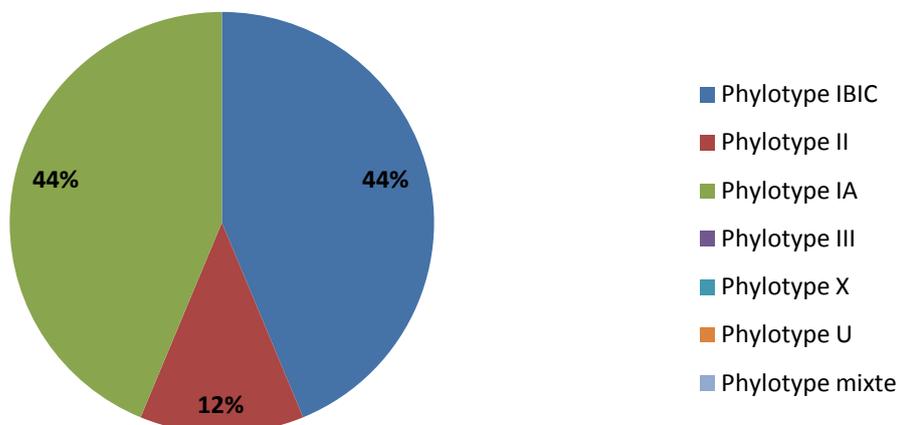
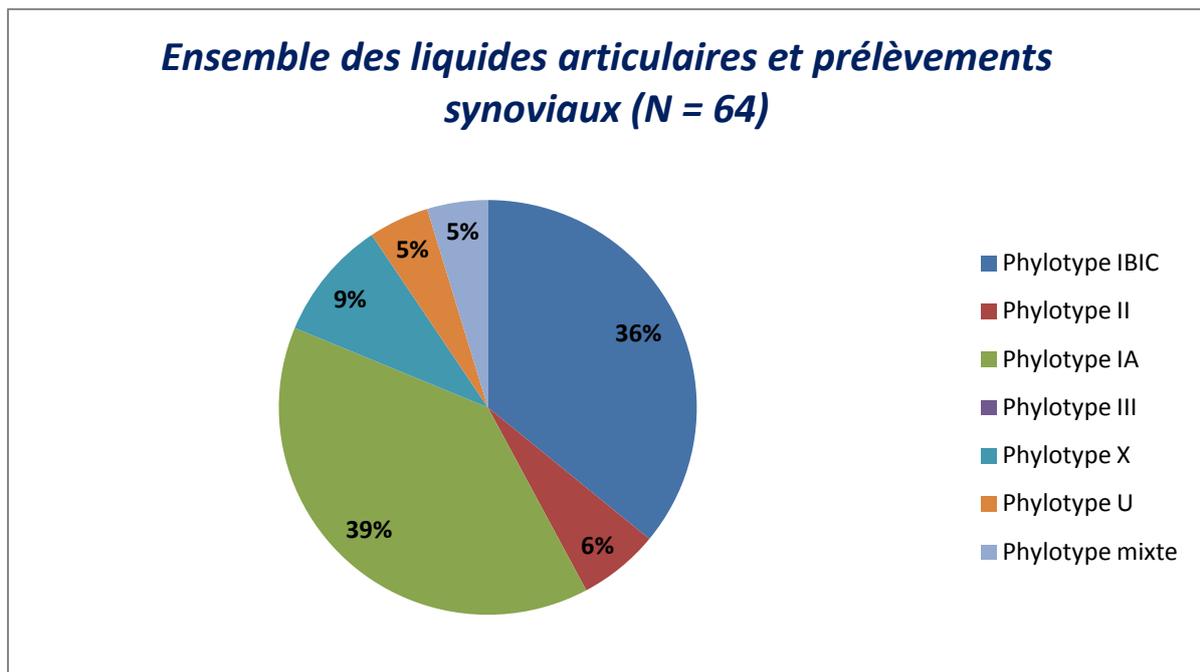


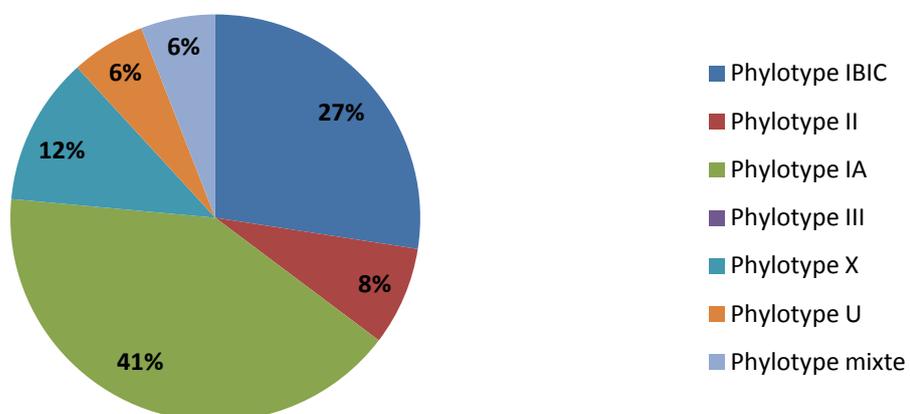
Figure 52 : Répartition des phylotypes des prélèvements de matériel.

## 8.2. Liquide articulaire/synoviale

La répartition des phylotypes obtenus sur liquide articulaire ou prélèvement synovial est présentée en [Figure 53] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé à ce type de prélèvement. Les prélèvements significatifs étaient tous de phylotype IB-IC et IA avec **une prépondérance du phylotype IB-IC**.



**Moins de 3 liquides articulaires ou prélèvements synoviaux positifs (N = 31)**



**Au moins 3 liquides articulaires ou prélèvements synoviaux positifs (N = 13)**

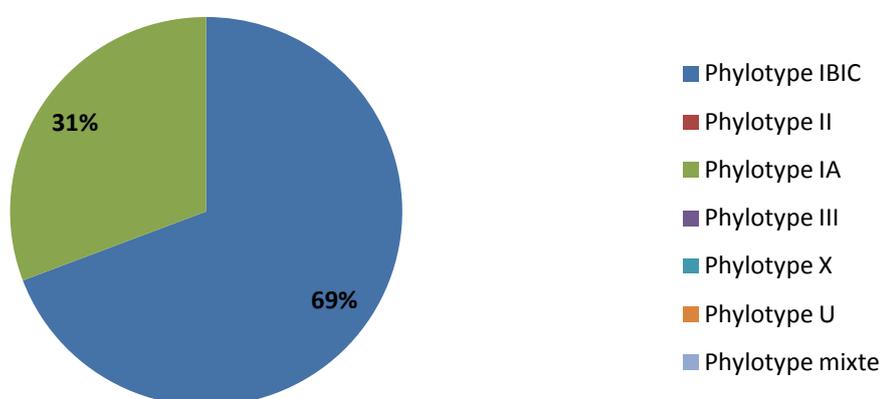
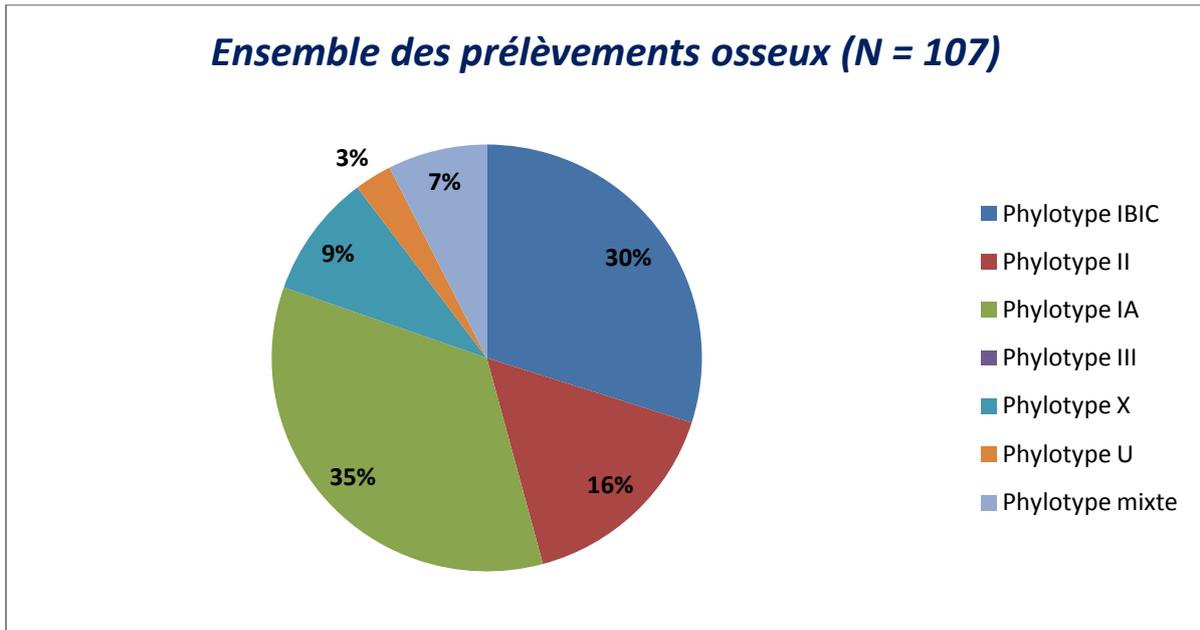


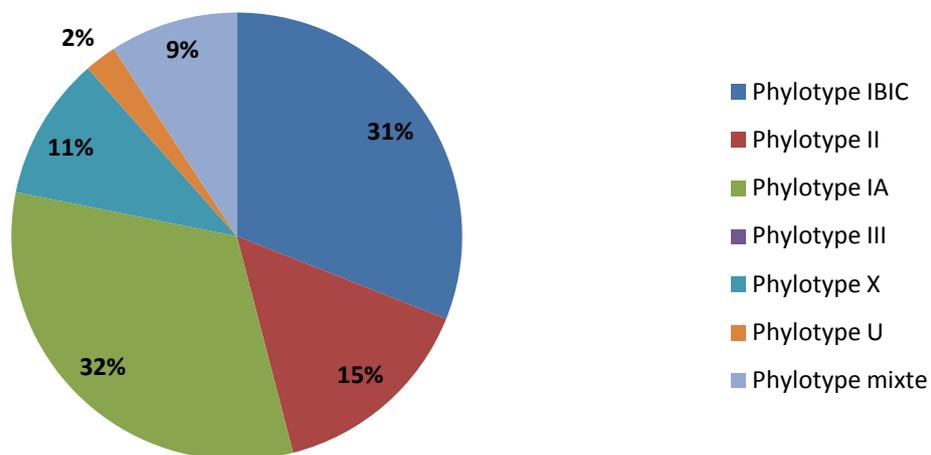
Figure 53 : Répartition des phylotypes des liquides articulaires et prélèvements synoviaux.

### 8.3. Os

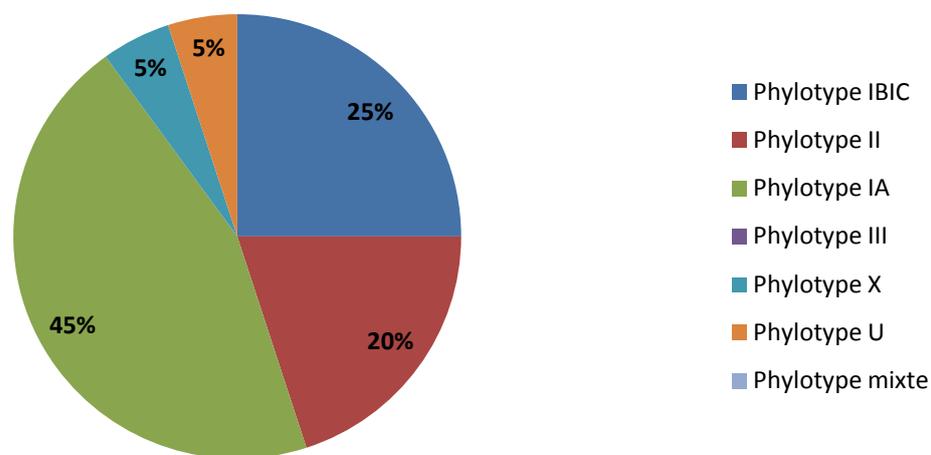
La répartition des phylotypes obtenus à partir de prélèvements osseux est présentée en [Figure 54] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé aux prélèvements osseux, la répartition est similaire entre les prélèvements significatifs et les autres.



**Moins de 3 prélèvements osseux positifs (N = 87)**



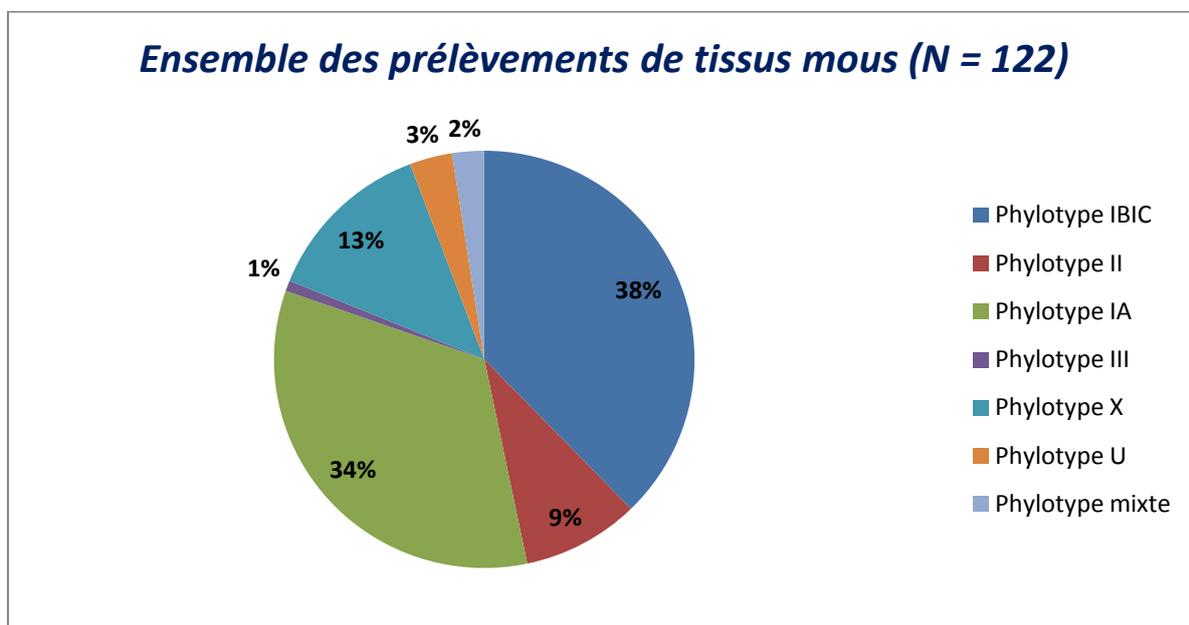
**Au moins 3 prélèvements osseux positifs (N = 20)**



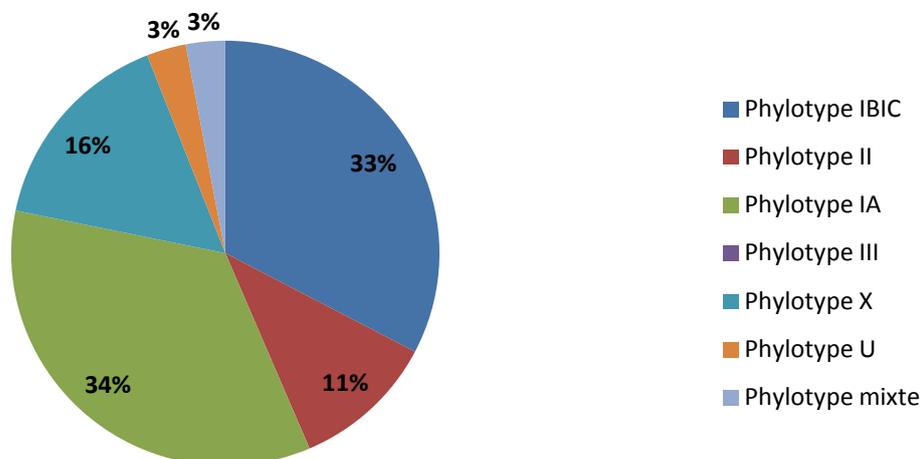
*Figure 54 : Répartition des phylotypes des prélèvements osseux.*

#### 8.4. Tissus mous

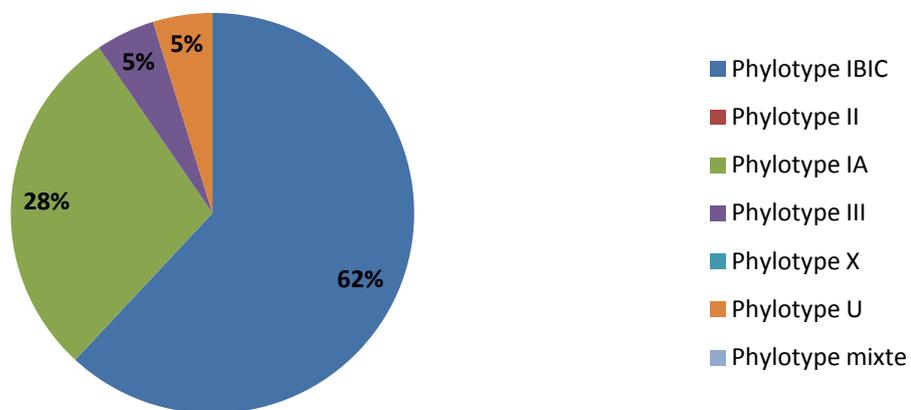
La répartition des phylotypes obtenus à partir de prélèvements de tissus mous est présentée en [Figure 55] pour l'ensemble des dossiers et en fonction du nombre de prélèvements présentant une culture positive à *C. acnes*. Aucun phylotype ne semble associé aux prélèvements de tissus mous. On remarque toutefois qu'aucun phylotype II n'a été identifié dans les prélèvements significatifs de tissus mous. De plus **le phylotype IB-IC est présent en proportion plus importante dans les prélèvements de tissus mous significatifs par rapport aux non significatifs.**



**Moins de 3 prélèvements de tissus mous positifs  
(N = 101)**



**Au moins 3 prélèvements de tissus mous positifs  
(N = 21)**



**Figure 55** : Répartition des phylotypes des prélèvements de tissus mous.

Le [Tableau XVII] résume les principaux phylotypes obtenus en fonction du type de prélèvement. On relève que sur l'ensemble des prélèvements, les phylotypes IB-IC et IA sont prépondérants quel que soit le type de prélèvement. Le phylotype IB-IC est seul prépondérant pour les prélèvements significatifs de type liquide articulaire/synoviale et tissus mous.

*Tableau XVII : Résumé des principaux phylotypes obtenus en fonction du type de prélèvement.*

	<i>Prélèvements totaux</i>		<i>Prélèvements significatifs</i>	
	<i>Nombre</i>	<i>Phylotypes prédominants</i>	<i>Nombre</i>	<i>Phylotypes prédominants</i>
<i>Matériel</i>	47	<b>IB-IC, IA</b>	16	<b>IB-IC, IA</b>
<i>Liquide articulaire/Synoviale</i>	64	<b>IB-IC, IA</b>	13	<b>IB-IC</b>
<i>Os</i>	107	<b>IB-IC, IA</b>	20	<b>IB-IC, IA</b>
<i>Tissus mous</i>	122	<b>IB-IC, IA</b>	21	<b>IB-IC</b>

## C. Recherche prospective d'une mono ou polyphylotypie

### 1. *Résultats de l'étude*

Pour rappel, cet échantillonnage prospectif au laboratoire avait pour objectif de savoir si une mono ou polyphylotypie existait entre prélèvements d'un même patient et/ou entre colonies d'une même culture d'un même prélèvement. Les résultats sont présentés ci-dessous dans le [Tableau XVIII].

Toutes les souches correctement identifiées *C. acnes* ont pu être phylotypées sans difficulté. Nous avons obtenu 3 phylotypes : IB-IC, IA et II. Nos résultats mettent en évidence une monophylotypie dans 100% des cas entre prélèvements chez un même patient et entre colonies d'un même prélèvement. En effet, sur tous les dossiers, toutes les colonies d'une même culture présentaient le même phénotype sans exception. En outre pour les patients qui présentaient plusieurs prélèvements positifs, nous avons identifié systématiquement le même phylotype sur chacun des prélèvements et sur chaque colonie d'un même prélèvement.

Tableau XVIII : Résumé de l'étude prospective sur la recherche de mono ou polyphylotypie.

<i>Patient</i>	<i>Dossier MOLIS</i>	<i>Nombre de prélèvements</i>	<i>Nombre de prélèvements positifs à C. acnes</i>	<i>Prélèvement</i>	<i>Nombre de colonies prélevées</i>	<i>Nombre de colonies bien identifiées C. acnes</i>	<i>Nombre de colonies phylotypées</i>	<i>Phylotypes obtenus</i>
<i>Patient ME</i>	8204-0056	1	1	ZMPT1	12	9	9	<b>IB-IC</b>
<i>Patient BE</i>	8206-1798	10	7	MLAR1	7	7	7	<b>IB-IC</b>
	8206-1797			ZTUM3	11	11	11	<b>IB-IC</b>
				ZTUM1	7	7	7	<b>IB-IC</b>
	8206-1800			ZTAU1	23	23	23	<b>IB-IC</b>
<i>Patient HN</i>	8207-2169	8	5	MPAU3	2	2	2	<b>IA</b>
				MPAU2	2	2	2	<b>IA</b>
				MPAU1	6	6	6	<b>IA</b>
<i>Patient JJ</i>	8222-2350	5	1	ZTHH2	4	3	3	<b>II</b>
<i>Patient MH</i>	8228-2128	2	2	MPAU2	13	13	13	<b>IB-IC</b>

## **2. Données supplémentaires provenant de l'étude rétrospective**

Dans le cadre de l'étude sur la monophylogénie, quelques éléments tirés des données de l'étude rétrospective sur le phylotypage des souches de *C. acnes* complètent nos résultats. En effet, 11 patients avaient bénéficié de la conservation de plusieurs souches (9 avec 2 souches et 2 avec 3 souches), ce qui nous a permis d'obtenir plusieurs phylotypes.

8 patients sur les 11 présentaient le même phylotype sur toutes leurs souches. Il est important de préciser que les phylotypes obtenus étaient exclusivement IB-IC et IA. Aucun phylotype appartenant au groupe X, U, mixte n'a été rencontré. Autre élément important, chacun de ces patients présentait au moins 3 prélèvements positifs à *C. acnes*.

3 patients possédaient des phylotypes différents entre leurs souches. 2 d'entre eux possédaient seulement 2 prélèvements positifs à *C. acnes* (les phylotypes étaient IA et II pour l'un, IB-IC et II pour l'autre). Le troisième patient possédait une souche IA et une souche U et au total présentait 10 prélèvements positifs à *C. acnes*.

A l'exception de ce dernier patient, nous observons que les prélèvements monophylogéniques étaient rencontrés pour des prélèvements significatifs contrairement à la polyphylotypie, rencontrée pour des dossiers à moins de 3 prélèvements positifs. Ces résultats permettent de penser qu'une polyphylotypie sur les prélèvements d'un même patient pourrait être en faveur d'une contamination et en défaveur d'une infection vraie à *C. acnes*. Cette hypothèse serait concordante avec le fait que les phylotypes mixtes seraient, avec les phylotypes X et U, associés à de la contamination, hypothèse ici évoquée plus en amont.

En outre, 23 patients ont bénéficié de plusieurs chirurgies pendant la période de notre étude, nous offrant la possibilité d'étudier les phylotypes obtenus lors de chirurgies différentes chez un même patient.

10 patients ont présenté le même phylotype IB-IC, II ou IA lors de 2 chirurgies différentes. Le nombre de prélèvements significatifs était variable.

13 patients ont présenté des phylotypes différents lors de plusieurs chirurgies avec des phylotypes et un nombre de prélèvements positifs très variables. Deux patients présentaient des prélèvements significatifs lors des deux chirurgies mais présentaient pourtant des phylotypes différents (IA et U pour l'un, IB-IC et X pour l'autre).

Ces données sont trop incomplètes pour conclure ou chercher des associations significatives. Seul un travail spécifique de suivi prospectif des patients pourra permettre d'aller plus loin sur le sujet de la polyphylotypie entre chirurgies différentes chez un même patient.

## Partie 3.

### Discussion et perspectives

---

Ce travail de thèse a abordé le domaine des infections ostéo-articulaires à *C. acnes* selon l'axe nouveau des phylotypes. Les recherches récentes sur *C. acnes*, le développement des techniques de typage ainsi que les travaux les corrélant entre elles avaient ouvert cette voie, cependant l'étude phylotypique de souches spécifiquement d'origine ostéo-articulaire avait été peu entreprise, notamment sur un échantillon de grande taille.

#### I. Données démographiques et phylotypage au laboratoire

Le premier point à évoquer concerne la faisabilité du phylotypage par spectrométrie de masse. Le logiciel de Bruker - MALDI Biotyper typing software - déjà utilisée par Pécastaings *et al.* dans une étude dermatologique sur l'acné et *C. acnes*, s'avère être d'une très grande simplicité d'utilisation. Nous avons, sans difficulté, obtenu les phylotypes de toutes nos souches qui étaient correctement identifiées *C. acnes* au spectromètre de masse du laboratoire, sans exception. Nous soulignons également qu'il est possible d'identifier le phylotype, si le spectromètre propose *C. acnes* comme identification probable, même lorsque le score d'identification du spectromètre est inférieur à 1,7. Ceci revêt une importance particulière compte tenu de l'objectif poursuivi d'une mise en place en routine au laboratoire du phylotypage des souches de *C. acnes*. Le phylotypage est réalisé par une analyse spécifique du spectre déjà obtenu lors de l'identification du germe et ne requiert donc pas la mise en place d'une "méthode" supplémentaire au laboratoire. Ainsi, la mise en place en routine du phylotypage au laboratoire pourrait être effectuée sans générer de coûts supplémentaires au laboratoire hormis l'installation du module sur le spectromètre de masse, ni l'octroiement d'un "temps-technicien" dédié.

Concernant les données démographiques, nous avons pu comparer nos effectifs sur la période 2014-2017 avec ceux de la période 2010-2013 dont les données avaient été répertoriées en 2014. Nous constatons une augmentation du nombre de cultures positives à *C. acnes* entre ces 2 périodes puisque la période 2013-2013 comptait environ 350 souches positives à *C. acnes* (soit environ 185 patients) contre 630 (pour 369 patients) dans notre

étude. La mise en place de la spectrométrie de masse comme technique d'identification au laboratoire au début de l'année 2014, offrant un potentiel d'identification plus important et plus fiable, peut expliquer cette augmentation.

La répartition en fonction de la zone anatomique était en revanche similaire entre les périodes avec une prédominance des chirurgies de hanche, devant celles du genou et de l'épaule, ce qui était le cas dans les séries de Zeller *et al.* et Lavergne *et al.*<sup>173</sup>.

Le nombre de prélèvements total par patient, avec une moyenne à 4,63 et une médiane à 4 dans notre étude est proche des recommandations qui stipulent que 5 prélèvements corrects doivent être effectués<sup>173</sup>.

La différence de délais de positivité entre prélèvements significatifs (nombre de cultures positives au moins égal à 3) et non significatifs est de 4 jours (avec des médianes à 7 et 11 jours respectivement), en accord avec ce qui a été relevé dans la littérature (5 et 9 jours respectivement)<sup>173</sup>. On note toutefois des médianes plus élevées de 48 heures pour nos deux groupes par rapport à ceux de la littérature.

Concernant la présence de germes associés ou non aux cultures de *C. acnes*, il n'y avait pas de différence entre les cultures significatives et celles non significatives à *C. acnes*.

Si parmi nos souches, nous avons mis en évidence des résistances aux fluoroquinolones, nous n'avions en revanche aucune résistance à la rifampicine. En ce qui concerne les macrolides, qui représentent les principales résistances décrites de *C. acnes*, nous avons 5,5% des souches résistantes à au moins un macrolide testé (érythromycine ou clindamycine). Cette proportion est bien inférieure à celles rapportées dans la littérature, de l'ordre de 15 à 20%<sup>45,191</sup>.

En 2018, Pécastaings *et al.* utilisaient la même technique de phylotypage de *C. acnes*, à partir des spectres de masse, dans une étude dont l'objectif était en premier lieu de comparer la colonisation cutanée de patients acnéiques avec celle de patients sains. Pour ce faire, ils ont procédé au phylotypage de 1531 souches (1274 souches de patients acnéiques et 257 souches de patients sains). Ils montraient une distribution asymétrique associée à l'acné, avec une proportion de phylotype IA, 1,54 supérieure à celle des échantillons sains (40% vs 26%). Au contraire, les phylotypes IB-IC étaient 1,46 fois moins fréquents dans les échantillons d'acné (24% vs 35%). La proportion de phylotype II était similaire entre l'acné et les sujets sains (25% contre 26%). En outre, 11% (patients acnéiques) à 13% (sujets sains) des

isolats de *C. acnes* n'ont pu être associés à aucun phylotype. Tous ces isolats présentaient des caractéristiques spectrales similaires et ont donc été classés dans le même groupe «inconnu». Un seul isolat de phylotype III a été trouvé dans chaque groupe de sujets<sup>38</sup>.

Comme eux, nous obtenons majoritairement dans notre étude les phylotypes IA et IB-IC en proportions égales, représentant ensemble environ 70% de l'effectif total. Le phylotype III était, de la même manière, identifié de façon anecdotique, retrouvé chez un seul patient dans notre étude, confirmant sa rare mise en évidence comme rapportée dans la littérature<sup>37</sup>. En outre, nous obtenons également des phylotypes inconnus avec un phénotype redondant nommé X dans notre étude dans des proportions similaires d'environ 10% de l'effectif. La comparaison des spectres entre ces études doit être effectuée afin de savoir si le c'est le même phylotype X qui est retrouvé dans l'étude de Pécastaings *et al.* Aucun phylotype mixte ne semble avoir été mis en évidence dans leur étude. La mise en évidence des phylotypes mixtes a nécessité une appréciation visuelle de chaque spectre qui n'a peut-être pas été effectuée dans leur cas.

Par comparaison avec l'étude de Sampedro *et al.* qui traitait 61 souches ostéo-articulaires<sup>197</sup>, on constate une répartition des phylotypes également semblable, avec une majorité de phylotypes IB-IC et IA, et la très faible fréquence d'isolement de phylotype III. Par ailleurs, aucun phylotype III/1, initialement rapporté dans la publication de Nagy *et al.*<sup>9</sup>, n'a pu être identifié dans notre étude. De plus, aucune de nos souches identifiées comme phylotype I n'a présenté une  $\beta$ -hémolyse sur gélose au sang, contrairement à ce que nous étions sensés observer d'après McDowell *et al.*<sup>33</sup>.

## II. Phylotypes et associations

Au cours de ce travail, nous n'avons pas mis en évidence d'associations significatives entre les phylotypes de *C. acnes* et l'âge ou le sexe des patients, ni même entre les phylotypes et la présence de germes associés en culture. En revanche, l'étude des délais de positivité des cultures nous a permis de mettre en exergue des délais significativement plus importants pour les phylotypes X et mixtes par rapport aux phylotypes IB-IC, II et IA, amenant l'hypothèse intéressante que ces phylotypes pourraient être des contaminants. Cette hypothèse semble étayée par l'analyse du nombre de prélèvements positifs à *C. acnes*, servant de marqueur bactériologique de significativité des cultures pour la considération ou

non d'une infection vraie. En effet, si nous n'avons pas montré d'association particulière entre un phylotype spécifique et des prélèvements significatifs, nous avons pu observer la quasi absence de phylotypes X, U et mixte parmi ces derniers. Avec une très bonne significativité statistique et une VPN de 96,4%, nous pouvons interpréter la mise en évidence de ces phylotypes comme un argument supplémentaire en faveur d'une contamination et non d'une infection vraie à *C. acnes*.

Dans cette étude, nous n'avons pas observé de prédominance des phylotypes IB et II dans les prélèvements ostéo-articulaires de façon générale ou en se focalisant sur les prélèvements significatifs comme le rapporte les études de Sampedro *et al.*<sup>197</sup>, McDowell *et al.*<sup>71</sup> et Aubin *et al.*<sup>198</sup> et comme un grand nombre de revues de la littérature le présente. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette discordance. Sampedro *et al.* ont utilisé des critères cliniques supplémentaires à ceux bactériologiques pour définir les groupes d'infections vraies. Nos groupes ne sont donc strictement pas comparables. En outre, les techniques de phylotypage sont différentes entre nos études et bien que la corrélation soit bonne entre le phylotypage par spectrométrie de masse et par analyse des séquences, le pouvoir discriminant n'est pas le même et les résultats pas toujours exactement superposables.

La répartition des phylotypes en fonction de la localisation anatomique des prélèvements n'a révélé aucune association significative entre un ou plusieurs phylotypes et une localisation particulière. Sampedro *et al.* avaient fait le même constat dans leur étude<sup>197</sup>. On peut toutefois souligner la prédominance du phylotype IB-IC parmi les prélèvements significatifs de hanche, celle du phylotype IA parmi ceux de genou, et une distribution phylotypique plus variée pour les prélèvements significatifs d'épaule avec une plus grande présence du phylotype II comme pour ceux du membre supérieur. En outre, seuls les phylotypes IA et IB-IC sont représentés parmi les prélèvements significatifs du membre inférieur.

La répartition des phylotypes en fonction du type de prélèvement n'a pas révélé d'association significative entre un ou plusieurs phylotypes et un type de prélèvement particulier. Nous notons toutefois une prédominance du phylotype IB-IC parmi les prélèvements significatifs de liquide articulaire/synoviale et de tissus mous.

Concernant les résistances aux macrolides, nous sommes en mesure de confirmer ce qui est rapporté dans la littérature, à savoir une représentation très majoritaire du phylotype IA, phylotype également associé à l'acné<sup>6,38,208</sup>.

### III. Monophylotypie

Afin de conforter les résultats de notre étude rétrospective, puisque nous n'avions la plupart du temps qu'une souche par patient, nous devons nous assurer que les prélèvements ostéo-articulaires ou de tissus profonds ne présentaient pas une polyphylotypie entre prélèvements et entre colonies d'une même culture et que les phylotypes identifiés correspondaient à ceux de tous les prélèvements et de toutes les colonies. Sur nos 10 prélèvements correspondant à 5 patients, nous avons observé une monophylotypie de 100%.

Dans l'étude rétrospective, nous rappelons que parmi les patients ayant bénéficié de plusieurs souchages et donc de plusieurs phylotypes sur un même dossier, hormis une exception, tous les dossiers significatifs étaient monophylotypiques, contrairement aux 2 dossiers polyphylotypiques qui avaient moins de 3 cultures positives à *C. acnes*.

Dans la littérature, les rares études qui se sont intéressées à la polyclonalité cutanée ont montré, par le phylotypage de plusieurs colonies, que la peau abrite plusieurs phylotypes sur une même zone. La polyphylotypie peut concerner 2, 3 voire 4 ou 6 phylotypes différents<sup>38,136,195</sup>. Ces éléments présentent un intérêt majeur pour l'interprétation des cultures de *C. acnes* dans les prélèvements ostéo-articulaires puisque des prélèvements polyphylotypiques seraient en faveur d'une contamination d'origine cutanée alors que des prélèvements monophylotypiques ne devraient pas être considérés comme tels de prime abord. L'obtention de cette information au laboratoire nécessitera une modification des pratiques puisqu'actuellement sur une culture à plusieurs colonies de *C. acnes*, l'antibiogramme et le souchage ne sont réalisés que sur l'une d'entre elles.

#### IV. Limites de l'étude

L'étude rétrospective que nous avons réalisée pâtit de 2 limites majeures qui doivent être mentionnées.

Tout d'abord, nous avons fait le choix volontaire de comparer dans un premier temps les phylotypes à des paramètres que nous pouvions relever de façon simple au laboratoire. L'importance de l'échantillon rendait trop lourd l'intégration de paramètres d'accès plus difficiles tels que les paramètres médicaux, chirurgicaux ou d'anatomopathologie (antécédents médicaux, nombre de chirurgies, type de chirurgie, type de préparation cutanée, aspect purulent ou non des sites opératoires etc.). Ainsi, nous avons basé la caractérisation de prélèvements matérialisant une infection vraie sur le nombre de prélèvements positifs à *C. acnes*, au moins égal à 3, sans intégrer la cytologie anatomopathologique, la présence de fistule ou de pus par exemple, ainsi que le diagnostic du chirurgien, ce qui limite fortement la valeur significative du groupe créé. L'intégration de ces paramètres devra être effectué dans un second temps.

D'autre part, les pratiques du laboratoire font que nous n'avions la plupart du temps qu'une seule souche pour plusieurs prélèvements positifs sur un dossier. Si nous sommes confiants grâce aux résultats de l'étude de monophylotypie, les phylotypes et antibiogrammes associés aux dossiers patients complets n'ont donc pas pu être réalisés sur tous les prélèvements. Nous avons presque moitié moins de souches conservées que de cultures positives à *C. acnes* sur la période d'étude. Ainsi, certains résultats pourraient présenter un biais si les prélèvements d'un même patient étaient polyphylotypiques.

Concernant l'étude prospective de monophylotypie, bien que le nombre de colonies phylotypées sur chaque culture soit maximum, l'étude est basée sur un petit échantillon de 10 prélèvements, dont certains correspondent à des tissus osseux ou profonds mais pas à des prélèvements ostéo-articulaires *strictu sensu*. Cet échantillonnage avait pour but d'avoir une idée globale de la distribution des phylotypes entre colonies et prélèvements, mais doit être élargie, toujours de façon prospective, sur un plus grand nombre de prélèvements, si possible strictement ostéo-articulaires.

## V. Synthèse et perspectives

Les publications sont nombreuses aujourd'hui sur d'éventuelles associations entre phylotypes de *C. acnes* et localisations anatomiques, pathologies associées, pathogénicité, résistances aux antibiotiques etc. Il est cependant extrêmement difficile de superposer les résultats de chacune d'entre elles afin de dégager des éléments faisant consensus. En effet, les techniques de typages multiples, aux pouvoirs discriminants différents se mêlant aux spécificités méthodologiques des études ainsi qu'à l'extrême variabilité des souches étudiées (localisation anatomique, techniques de prélèvement, patients sources ...) créent une difficulté majeure à extraire de ces données fondamentales, des éléments utiles en pratique médicale quotidienne.

Nous avons souhaité au cours de ce travail, procéder initialement à une large revue bibliographique du sujet afin d'en cerner au maximum les éléments clés. Ensuite, nous avons poursuivi un but pratique. Nous voulions axer nos objectifs et notre travail sur les problématiques médicales rencontrées par les chirurgiens orthopédistes, infectiologues et microbiologistes dans la prise en charge des infections ostéo-articulaires à *C. acnes* et voir si le phylotypage des colonies mises en évidence en culture, éventuellement disponible en routine de laboratoire, était à même de répondre à certaines interrogations ou d'apporter des arguments supplémentaires dans la discussion clinico-biologique.

Ainsi plusieurs de nos objectifs ont été remplis. La mise en place du phylotypage par spectrométrie de masse en routine est facilement réalisable, et qui plus est, intéressante. Car bien que n'étant pas la plus performante en la matière, cette technique présente 2 avantages de taille à savoir aucun surcoût ni en matériel, ni en temps-technicien par rapport au fonctionnement actuel du laboratoire. Son pouvoir discriminant est en outre suffisant pour identifier les grands groupes phylotypiques décrits dans la littérature. Si nous n'avons pas pu identifier de phylotype "pathogène" dans les infections ostéo-articulaires, nous avons identifié 3 phylotypes qui semblent marquer des contaminations lorsqu'ils sont identifiés. La connaissance du phylotype peut donc avoir une place dans la discussion clinico-biologique sur l'attitude à adopter en présence de cultures positives à *C. acnes*. Enfin, nous pensons que la recherche d'une mono ou polyphylotypie chez les patients peut être judicieuse. Nous avons retrouvé une monophylotypie totale entre colonies d'une même culture et entre prélèvements chez un patient, sur des prélèvements ostéo-articulaires ou de tissus non

superficiels, or des études ont montré une polyphylotypie cutanée de *C. acnes*. Ainsi, les résultats d'un phylotypage de plusieurs colonies par culture permettrait d'orienter vers une contamination en cas de polyphylotypie ou vers l'absence de contamination en cas de monophylotypie. Nous pouvons donc imaginer une modification des protocoles de traitement des cultures au laboratoire vis à vis de *C. acnes* dans les prélèvements ostéo-articulaires notamment vers le traitement de plusieurs colonies par culture alors qu'une seule ne l'est actuellement.

Ce travail préliminaire est appelé à être poursuivi. Plusieurs autres axes d'approche sont à envisager.

Premièrement, il est nécessaire d'étudier les phylotypes obtenus en perspective des données cliniques, chirurgicales et anatomopathologiques des patients, ce qui n'a pas été fait ici. En effet, les éléments propres à la chirurgie tels que la technique opératoire utilisée, le type de matériel employé, la préparation cutanée, ainsi que les antécédents médicaux des patients (acné par exemple), les comorbidités, les traitements antibiotiques administrés sont par exemple autant de paramètres qui méritent d'être analysés.

Il en est de même pour le suivi prospectif des phylotypes identifiés chez un même patient lors de plusieurs chirurgies éloignées dans le temps. Il est intéressant de savoir si un patient présente ou non, au cours d'une nouvelle chirurgie, le même phylotype que lors de la chirurgie précédente, dans ses prélèvements ostéo-articulaires.

Ensuite, une étude approfondie sur la capacité à former un biofilm et sur les résistances aux antibiotiques des biofilms en fonction du phylotype de *C. acnes* devra être faite. Toutes les souches utilisées dans notre étude ont été resouchées en parallèle afin d'être directement identifiées et disponibles pour la poursuite des travaux.

De plus, il nous apparaît particulièrement intéressant de procéder, en partenariat avec les services d'orthopédie-traumatologie et d'infectiologie, à une étude prospective de comparaison des phylotypes de *C. acnes* présents chez les patients, au niveau cutané et dans les prélèvements per-opératoires ostéo-articulaires. Nous chercherions des différences de mono ou polyphylotypie entre les deux localisations et comparerions les phylotypes mis en évidence. Pour ce faire nous pourrions mettre en place un prélèvement par *strip*, mis en place pendant 15 minutes après humidification de la peau dans la zone prévue d'incision en pré-opératoire, qui serait acheminé au laboratoire une fois retiré, puis analysé

microbiologiquement. Ce système de prélèvement a déjà été utilisé dans l'étude de Pécastaings *et al.*<sup>38</sup>

En outre, l'établissement d'une étude prospective stricte de recherche de mono ou polyphylotypie sur un grand nombre de prélèvements ostéo-articulaires doit être menée au laboratoire pour confirmer nos premiers résultats en la matière.

Enfin, il est indispensable d'identifier par d'autres méthodes, telles que MLST, les phylotypes U identifiés et le phénotype nommé X représentant, à lui seul, environ 10% de notre effectif total. Le logiciel de phylotypage utilisé pourra ainsi être enrichi et de nouveaux éléments seront peut-être découverts.

## Conclusion

---

Dans ce travail de thèse d'exercice, nous avons montré que le phylotypage de *Cutibacterium acnes* par spectrométrie de masse peut présenter un intérêt dans la prise en charge médico-chirurgicale des patients bénéficiant de chirurgies ostéo-articulaires à prélèvements positifs à *C. acnes*. La mise évidence des phylotypes dénommés U, X ou mixte dans notre étude oriente avec une forte probabilité vers une contamination plutôt qu'une infection vraie à *C. acnes*. Il en est de même en cas de mise en évidence d'une polyphylotypie dans les prélèvements ou cultures chez un même patient, reflet probable de la contamination cutanée. Ces éléments peuvent être un argument supplémentaire de la discussion clinico-biologique, notamment lorsque la pathogénicité de *C. acnes* est incertaine comme cela peut l'être parfois, permettant d'orienter vers un diagnostic d'infection vraie ou vers une interprétation de contamination du prélèvement et donc d'éventuellement impacter la prise en charge.

Le phylotypage par spectrométrie de masse est réalisable de façon simple à partir des spectres d'identification de la bactérie, et pourrait être mis en place en routine au laboratoire de bactériologie du CHU de Toulouse. Il offre un pouvoir discriminant suffisant pour un coût financier, temps-opérateur et organisationnel quasiment nul.

Pour conclure, ce travail préliminaire, spécifique aux souches de *C. acnes* d'origine ostéo-articulaire, et inédit de par leur nombre important étudié, a ouvert de nouveaux axes d'étude. Les premiers résultats obtenus nécessitent maintenant d'être complétés et approfondis afin qu'ils puissent être utilisés de façon efficace en pratique quotidienne.

## Bibliographie

---

1. Grice, E. A. & Segre, J. A. The skin microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 244–253 (2011).
2. Zaenglein, A. L. *et al.* Guidelines of care for the management of acne vulgaris. *J. Am. Acad. Dermatol.* 74, 945–973.e33 (2016).
3. Achermann, Y., Goldstein, E. J. C., Coenye, T. & Shirtliff, M. E. Propionibacterium acnes: from Commensal to Opportunistic Biofilm-Associated Implant Pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 27, 419–440 (2014).
4. Portillo, M. E., Corvec, S., Borens, O. & Trampuz, A. *Propionibacterium acnes*: An Underestimated Pathogen in Implant-Associated Infections. *BioMed Res. Int.* 2013, 1–10 (2013).
5. Scholz, C. F. P. & Kilian, M. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus Propionibacterium to the proposed novel genera Acidipropionibacterium gen. nov., Cutibacterium gen. nov. and Pseudopropionibacterium gen. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 4422–4432 (2016).
6. McDowell, A. *et al.* An Expanded Multilocus Sequence Typing Scheme for Propionibacterium acnes: Investigation of ‘Pathogenic’, ‘Commensal’ and Antibiotic Resistant Strains. *PLoS ONE* 7, e41480 (2012).
7. Yu, Y., Champer, J., Garbán, H. & Kim, J. Typing of *Propionibacterium acnes*: a review of methods and comparative analysis. *Br. J. Dermatol.* 172, 1204–1209 (2015).
8. Dagnelie, M.-A., Khammari, A., Dréno, B. & Corvec, S. Cutibacterium acnes molecular typing: time to standardize the method. *Clin. Microbiol. Infect.* (2018). doi:10.1016/j.cmi.2018.03.010
9. Nagy, E. *et al.* MALDI-TOF MS fingerprinting facilitates rapid discrimination of phylotypes I, II and III of Propionibacterium acnes. *Anaerobe* 20, 20–26 (2013).
10. Dermatopathology in historical perspective. The histopathology of the diseases of the skin by Dr P. G. Unna. *Am. J. Dermatopathol.* 1, 153–156 (1979).
11. Sabouraud, R. *La séborrhée grasse et la pelade.* (1897).
12. Yocum, R. C., McArthur, J., Petty, B. G., Diehl, A. M. & Moench, T. R. Septic arthritis caused by Propionibacterium acnes. *JAMA* 248, 1740–1741 (1982).
13. Gilchrist. A bacteriological and microscopical study of over three hundred vesicular and pustular lesions of the skin, with a research upon the etiology of acne vulgaris. *John Hopkins Hosp Rep* 9 409–430 (1900).
14. American Society for Microbiology. *Bergey’s manual of determinative bacteriology.* (Williams & Wilkins Co., 1923).
15. Douglas, H. C. & Gunter, S. E. The Taxonomic Position of Corynebacterium acnes. *J. Bacteriol.* 52, 15–23 (1946).
16. Moore, W. E. C. & Cato, E. P. Validity of Propionibacterium Acnes (gilchrist) Douglas and Gunter Comb. Nov. *J. Bacteriol.* 85, 870–874 (1963).
17. Cummins, C. S. & Johnson, J. L. Corynebacterium parvum: a synonym for Propionibacterium acnes? *J. Gen. Microbiol.* 80, 433–442 (1974).
18. Abeijón Mukdsi, M. C. *et al.* The secreted esterase of Propionibacterium freudenreichii has a major role in cheese lipolysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 751–756 (2014).
19. *Approved Lists of Bacterial Names (Amended).* (ASM Press, 1989).
20. Thierry, A. *et al.* New insights into physiology and metabolism of Propionibacterium freudenreichii. *Int. J. Food Microbiol.* 149, 19–27 (2011).
21. Francisco, C. C., Chamberlain, C. S., Waldner, D. N., Wettemann, R. P. & Spicer, L. J. Propionibacteria fed to dairy cows: effects on energy balance, plasma metabolites and hormones, and reproduction. *J. Dairy Sci.* 85, 1738–1751 (2002).
22. Downes, J. & Wade, W. G. Propionibacterium acidifaciens sp. nov., isolated from the human mouth. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59, 2778–2781 (2009).
23. Kusano, K., Yamada, H., Niwa, M. & Yamasato, K. Propionibacterium cyclohexanicum sp. nov., a new acid-tolerant omega-cyclohexyl fatty acid-containing propionibacterium isolated from spoiled orange juice. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 825–831 (1997).
24. Bernard, K. A. *et al.* Propionibacterium australiense sp. nov. Derived from Granulomatous Bovine Lesions\*. *Anaerobe* 8, 41–47 (2002).
25. Koussémon, M. *et al.* Propionibacterium microaerophilum sp. nov., a microaerophilic bacterium isolated from olive mill wastewater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 1373–1382 (2001).
26. Lucena-Adrós, H., González, J. M., Caballero-Guerrero, B., Ruiz-Barba, J. L. & Maldonado-Barragán, A. Propionibacterium olivae sp. nov. and Propionibacterium damnosum sp. nov., isolated from spoiled packaged Spanish-style green olives. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64, 2980–2985 (2014).

27. Charfreitag, O., Collins, M. D. & Stackebrandt, E. Reclassification of *Arachnia propionica* as *Propionibacterium propionicus* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 38, 354–357 (1988).
28. Beylot, C. *et al.* *Propionibacterium acnes* : an update on its role in the pathogenesis of acne. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 28, 271–278 (2014).
29. Mollerup, S. *et al.* *Propionibacterium acnes*: Disease-Causing Agent or Common Contaminant? Detection in Diverse Patient Samples by Next-Generation Sequencing. *J. Clin. Microbiol.* 54, 980–987 (2016).
30. Butler-Wu, S. M., Sengupta, D. J., Kittichotirat, W., Matsen, F. A. & Bumgarner, R. E. Genome sequence of a novel species, *Propionibacterium humerusii*. *J. Bacteriol.* 193, 3678 (2011).
31. Stackebrandt, E., Rainey, F. A. & Ward-Rainey, N. L. Proposal for a New Hierarchic Classification System, Actinobacteria classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 479–491 (1997).
32. WoRMS - World Register of Marine Species - Propionibacteriaceae Delwiche, 1957.
33. Proposal to reclassify *Propionibacterium acnes* type I as *Propionibacterium acnes* subsp. *acnes* subsp. nov. and *Propionibacterium acnes* type II as *Propionibacterium acnes* subsp. *defendens* subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 5358–5365 (2016).
34. Grice, E. A. *et al.* Topographical and Temporal Diversity of the Human Skin Microbiome. *Science* 324, 1190–1192 (2009).
35. Somerville-Millar, D. A. & Noble, W. C. Microbiology of human skin: W. C. Somerville, Dorothy A., Noble. (1974).
36. Chiller, K., Selkin, B. A. & Murakawa, G. J. Skin microflora and bacterial infections of the skin. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 6, 170–174 (2001).
37. Dréno, B. *et al.* *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 32, 5–14
38. Pécastaings, S. *et al.* Characterisation of *Cutibacterium acnes* phlotypes in acne and in vivo exploratory evaluation of Myrtacine®. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 32, 15–23
39. Patel, A., Calfee, R. P., Plante, M., Fischer, S. A. & Green, A. *Propionibacterium acnes* colonization of the human shoulder. *J. Shoulder Elbow Surg.* 18, 897–902 (2009).
40. Levy, P. Y. *et al.* *Propionibacterium acnes* postoperative shoulder arthritis: an emerging clinical entity. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 46, 1884–1886 (2008).
41. Sebald, M. & Petit, J.-C. *Bactéries anaérobies et leur identification : méthodes de laboratoire.* (Institut Pasteur, 1997).
42. Csukás, Z., Banizs, B. & Rozgonyi, F. Studies on the cytotoxic effects of *Propionibacterium acnes* strains isolated from cornea. *Microb. Pathog.* 36, 171–174 (2004).
43. Cove, J. H., Holland, K. T. & Cunliffe, W. J. Effects of oxygen concentration on biomass production, maximum specific growth rate and extracellular enzyme production by three species of cutaneous propionibacteria grown in continuous culture. *J. Gen. Microbiol.* 129, 3327–3334 (1983).
44. Butler-Wu, S. M. *et al.* Optimization of periprosthetic culture for diagnosis of *Propionibacterium acnes* prosthetic joint infection. *J. Clin. Microbiol.* 49, 2490–2495 (2011).
45. Aubin, G. G., Portillo, M. E., Trampuz, A. & Corvec, S. *Propionibacterium acnes*, an emerging pathogen: From acne to implant-infections, from phylotype to resistance. *Médecine Mal. Infect.* 44, 241–250 (2014).
46. Kishishita, M., Ushijima, T., Ozaki, Y. & Ito, Y. Biotyping of *Propionibacterium acnes* isolated from normal human facial skin. *Appl. Environ. Microbiol.* 38, 585–589 (1979).
47. Aubin, G. G. *et al.* *Propionibacterium namnetense* sp. nov., isolated from a human bone infection. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 3393–3399 (2016).
48. Sfanos, K. S. & Isaacs, W. B. An evaluation of PCR primer sets used for detection of *Propionibacterium acnes* in prostate tissue samples. *The Prostate* 68, 1492–1495 (2008).
49. Marín, M. *et al.* Role of universal 16S rRNA gene PCR and sequencing in diagnosis of prosthetic joint infection. *J. Clin. Microbiol.* 50, 583–589 (2012).
50. Nakamura, M., Kametani, I., Higaki, S. & Yamagishi, T. Identification of *Propionibacterium acnes* by polymerase chain reaction for amplification of 16S ribosomal RNA and lipase genes. *Anaerobe* 9, 5–10 (2003).
51. Günthard, H., Hany, A., Turina, M. & Wüst, J. *Propionibacterium acnes* as a cause of aggressive aortic valve endocarditis and importance of tissue grinding: case report and review. *J. Clin. Microbiol.* 32, 3043–3045 (1994).
52. Schlecht, S., Freudenberg, M. A. & Galanos, C. Culture and biological activity of *Propionibacterium acnes*. *Infection* 25, 247–249 (1997).

53. Schäfer, P. *et al.* Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 47, 1403–1409 (2008).
54. Larsen, L. H., Lange, J., Xu, Y. & Schönheyder, H. C. Optimizing culture methods for diagnosis of prosthetic joint infections: a summary of modifications and improvements reported since 1995. *J. Med. Microbiol.* 61, 309–316 (2012).
55. Zappe, B., Graf, S., Ochsner, P. E., Zimmerli, W. & Sendi, P. Propionibacterium spp. in prosthetic joint infections: a diagnostic challenge. *Arch. Orthop. Trauma Surg.* 128, 1039–1046 (2008).
56. Brüggemann, H. The Complete Genome Sequence of Propionibacterium Acnes, a Commensal of Human Skin. *Science* 305, 671–673 (2004).
57. Johnson, J. L. & Cummins, C. S. Cell Wall Composition and Deoxyribonucleic Acid Similarities Among the Anaerobic Coryneforms, Classical Propionibacteria, and Strains of Arachnia propionica. *J. Bacteriol.* 109, 1047–1066 (1972).
58. McDowell, A. *et al.* Propionibacterium acnes Types I and II Represent Phylogenetically Distinct Groups. *J. Clin. Microbiol.* 43, 326–334 (2005).
59. Webster, G. F. & Cummins, C. S. Use of bacteriophage typing to distinguish Propionibacterium acnes types I and II. *J. Clin. Microbiol.* 7, 84–90 (1978).
60. Perry, A. L. *et al.* Analysis of clinical isolates of Propionibacterium acnes by optimised RAPD. *FEMS Microbiol. Lett.* 228, 51–55 (2003).
61. Oprica, C. *et al.* Antibiotic-resistant Propionibacterium acnes on the skin of patients with moderate to severe acne in Stockholm. *Anaerobe* 10, 155–164 (2004).
62. Shannon, B. A., Cohen, R. J. & Garrett, K. L. Polymerase chain reaction-based identification of Propionibacterium acnes types isolated from the male urinary tract: evaluation of adolescents, normal adults and men with prostatic pathology. *BJU Int.* 98, 388–392 (2006).
63. McDowell, A., Perry, A. L., Lambert, P. A. & Patrick, S. A new phylogenetic group of Propionibacterium acnes. *J. Med. Microbiol.* 57, 218–224 (2008).
64. Lomholt, H. B. & Kilian, M. Population genetic analysis of Propionibacterium acnes identifies a subpopulation and epidemic clones associated with acne. *PLoS One* 5, e12277 (2010).
65. Kilian, M., Scholz, C. F. P. & Lomholt, H. B. Multilocus Sequence Typing and Phylogenetic Analysis of Propionibacterium acnes. *J. Clin. Microbiol.* 50, 1158–1165 (2012).
66. McDowell, A. *et al.* A novel multilocus sequence typing scheme for the opportunistic pathogen Propionibacterium acnes and characterization of type I cell surface-associated antigens. *Microbiol. Read. Engl.* 157, 1990–2003 (2011).
67. Dekio, I., Rajendram, D., Morita, E., Gharbia, S. & Shah, H. N. Genetic diversity of Propionibacterium acnes strains isolated from human skin in Japan and comparison with their distribution in Europe. *J. Med. Microbiol.* 61, 622–630 (2012).
68. Davidsson, S. *et al.* Multilocus sequence typing and repetitive-sequence-based PCR (DiversiLab) for molecular epidemiological characterization of Propionibacterium acnes isolates of heterogeneous origin. *Anaerobe* 18, 392–399 (2012).
69. Brüggemann, H., Lomholt, H. B., Tettelin, H. & Kilian, M. CRISPR/cas loci of type II Propionibacterium acnes confer immunity against acquisition of mobile elements present in type I P. acnes. *PLoS One* 7, e34171 (2012).
70. Marinelli, L. J. *et al.* Propionibacterium acnes bacteriophages display limited genetic diversity and broad killing activity against bacterial skin isolates. *mBio* 3, (2012).
71. McDowell, A., Nagy, I., Magyari, M., Barnard, E. & Patrick, S. The Opportunistic Pathogen Propionibacterium acnes: Insights into Typing, Human Disease, Clonal Diversification and CAMP Factor Evolution. *PLoS ONE* 8, e70897 (2013).
72. Rollason, J. *et al.* Genotypic and Antimicrobial Characterisation of Propionibacterium acnes Isolates from Surgically Excised Lumbar Disc Herniations. *BioMed Res. Int.* 2013, 1–7 (2013).
73. Fitz-Gibbon, S. *et al.* Propionibacterium acnes strain populations in the human skin microbiome associated with acne. *J. Invest. Dermatol.* 133, 2152–2160 (2013).
74. Tomida, S. *et al.* Pan-genome and comparative genome analyses of propionibacterium acnes reveal its genomic diversity in the healthy and diseased human skin microbiome. *mBio* 4, e00003-00013 (2013).
75. Scholz, C. F. P., Jensen, A., Lomholt, H. B., Brüggemann, H. & Kilian, M. A novel high-resolution single locus sequence typing scheme for mixed populations of Propionibacterium acnes in vivo. *PLoS One* 9, e104199 (2014).
76. Barnard, E., Nagy, I., Hunyadkúrti, J., Patrick, S. & McDowell, A. Multiplex Touchdown PCR for Rapid Typing of the Opportunistic Pathogen Propionibacterium acnes. *J. Clin. Microbiol.* 53, 1149–1155 (2015).

77. Hauck, Y. *et al.* A novel multiple locus variable number of tandem repeat (VNTR) analysis (MLVA) method for *Propionibacterium acnes*. *Infect. Genet. Evol.* 33, 233–241 (2015).
78. Dekio, I. *et al.* Dissecting the taxonomic heterogeneity within *Propionibacterium acnes*: proposal for *Propionibacterium acnes* subsp. *acnes* subsp. nov. and *Propionibacterium acnes* subsp. *elongatum* subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65, 4776–4787 (2015).
79. Brüggemann, H. Insights in the Pathogenic Potential of *Propionibacterium acnes* From Its Complete Genome. *Semin. Cutan. Med. Surg.* 24, 67–72 (2005).
80. Holmberg, K. & Forsum, U. Identification of *Actinomyces*, *Arachnia*, *Bacterionema*, *Rothia*, and *Propionibacterium* Species by Defined Immunofluorescence. *Appl. Microbiol.* 25, 834–843 (1973).
81. Kwon, H. H. & Suh, D. H. Recent progress in the research about *Propionibacterium acnes* strain diversity and acne: pathogen or bystander? *Int. J. Dermatol.* 55, 1196–1204 (2016).
82. Paugam, C. *et al.* *Propionibacterium acnes* phylotypes and acne severity: an observational prospective study. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV* 31, e398–e399 (2017).
83. Kwon, H. H., Yoon, J. Y., Park, S. Y. & Suh, D. H. Analysis of distribution patterns of *Propionibacterium acnes* phylotypes and *Peptostreptococcus* species from acne lesions. *Br. J. Dermatol.* 169, 1152–1155 (2013).
84. McLafferty, F. W. Tandem mass spectrometry. *Science* 214, 280–287 (1981).
85. Daniel, J. M., Friess, S. D., Rajagopalan, S., Wendt, S. & Zenobi, R. Quantitative determination of noncovalent binding interactions using soft ionization mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* 216, 1–27 (2002).
86. Riat, A., Cherkaoui, A., Emonet, S., Greub, G. & Schrenzel, J. Quels bénéfices pour les cliniciens de la mise en place du MALDI-TOF/MS dans le laboratoire de bactériologie ? *Rev. Médicale Suisse* 6 (2014).
87. Karas, M. & Hillenkamp, F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal. Chem.* 60, 2299–2301 (1988).
88. Tanaka, K. *et al.* Protein and polymer analyses up to  $m/z$  100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2, 151–153 (1988).
89. Clark, A. E., Kaleta, E. J., Arora, A. & Wolk, D. M. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 547–603 (2013).
90. Dreisewerd, K., Schürenberg, M., Karas, M. & Hillenkamp, F. Influence of the laser intensity and spot size on the desorption of molecules and ions in matrix-assisted laser desorption/ionization with a uniform beam profile. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* 141, 127–148 (1995).
91. Jamal, W., Albert, M. J. & Rotimi, V. O. Real-time comparative evaluation of bioMérieux VITEK MS versus Bruker Microflex MS, two matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry systems, for identification of clinically significant bacteria. *BMC Microbiol.* 14, (2014).
92. Panda, A., Kurapati, S., Samantaray, J. C., Srinivasan, A. & Khalil, S. MALDI-TOF mass spectrometry proteomic based identification of clinical bacterial isolates. *Indian J. Med. Res.* 140, 770 (2014).
93. Pinto, A. *et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry identification of yeasts is contingent on robust reference spectra. *PLoS One* 6, e25712 (2011).
94. Seng, P. *et al.* Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 49, 543–551 (2009).
95. Bizzini, A., Durussel, C., Bille, J., Greub, G. & Prod'homme, G. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 48, 1549–1554 (2010).
96. Dekio, I. *et al.* Correlation between phylogroups and intracellular proteomes of *Propionibacterium acnes* and differences in the protein expression profiles between anaerobically and aerobically grown cells. *BioMed Res. Int.* 2013, 151797 (2013).
97. Meuleman, W. *et al.* Comparison of normalisation methods for surface-enhanced laser desorption and ionisation (SELDI) time-of-flight (TOF) mass spectrometry data. *BMC Bioinformatics* 9, 88 (2008).
98. Holland, C. *et al.* Proteomic identification of secreted proteins of *Propionibacterium acnes*. *BMC Microbiol.* 10, 230 (2010).
99. Valanne, S. *et al.* CAMP factor homologues in *Propionibacterium acnes*: a new protein family differentially expressed by types I and II. *Microbiol. Read. Engl.* 151, 1369–1379 (2005).
100. Lheure, C. *et al.* TLR-2 Recognizes *Propionibacterium acnes* CAMP Factor 1 from Highly Inflammatory Strains. *PLoS One* 11, e0167237 (2016).

101. Corvec, S., Luchetta, J. & Aubin, G. G. Is hemolysis a clinical marker of *Propionibacterium acnes* orthopedic infection or a phylogenetic marker? *Am. J. Orthop. Belle Mead NJ* 44, E61-62 (2015).
102. Allhorn, M., Arve, S., Brüggemann, H. & Lood, R. A novel enzyme with antioxidant capacity produced by the ubiquitous skin colonizer *Propionibacterium acnes*. *Sci. Rep.* 6, 36412 (2016).
103. Jugeau, S. *et al.* Induction of toll-like receptors by *Propionibacterium acnes*. *Br. J. Dermatol.* 153, 1105–1113 (2005).
104. Nagy, I. *et al.* Distinct strains of *Propionibacterium acnes* induce selective human beta-defensin-2 and interleukin-8 expression in human keratinocytes through toll-like receptors. *J. Invest. Dermatol.* 124, 931–938 (2005).
105. Kalis, C. *et al.* Requirement for TLR9 in the immunomodulatory activity of *Propionibacterium acnes*. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 174, 4295–4300 (2005).
106. Tchaptchet, S. *et al.* TLR9-dependent and independent pathways drive activation of the immune system by *Propionibacterium acnes*. *PLoS One* 7, e39155 (2012).
107. Kim, J. *et al.* Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 169, 1535–1541 (2002).
108. Contassot, E., Beer, H.-D. & French, L. E. Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med. Wkly.* 142, w13590 (2012).
109. Sato, T. *et al.* Augmentation of gene expression and production of promatrix metalloproteinase 2 by *Propionibacterium acnes*-derived factors in hamster sebocytes and dermal fibroblasts: a possible mechanism for acne scarring. *Biol. Pharm. Bull.* 34, 295–299 (2011).
110. Choi, J.-Y. *et al.* *Propionibacterium acnes* stimulates pro-matrix metalloproteinase-2 expression through tumor necrosis factor- $\alpha$  in human dermal fibroblasts. *J. Invest. Dermatol.* 128, 846–854 (2008).
111. Jalian, H. R. *et al.* All-trans retinoic acid shifts *Propionibacterium acnes*-induced matrix degradation expression profile toward matrix preservation in human monocytes. *J. Invest. Dermatol.* 128, 2777–2782 (2008).
112. Yu, Y. *et al.* Different *Propionibacterium acnes* Phylotypes Induce Distinct Immune Responses and Express Unique Surface and Secreted Proteomes. *J. Invest. Dermatol.* 136, 2221–2228 (2016).
113. Ingham, E., Gowland, G., Ward, R. M., Holland, K. T. & Cunliffe, W. J. Antibodies to *P. acnes* and *P. acnes* exocellular enzymes in the normal population at various ages and in patients with acne vulgaris. *Br. J. Dermatol.* 116, 805–812 (1987).
114. Fischer, N. *et al.* Deciphering the intracellular fate of *Propionibacterium acnes* in macrophages. *BioMed Res. Int.* 2013, 603046 (2013).
115. Archer, N. K. *et al.* *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence* 2, 445–459 (2011).
116. Dunne, W. M. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin. Microbiol. Rev.* 15, 155–166 (2002).
117. Costerton, J. W., Stewart, P. S. & Greenberg, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284, 1318–1322 (1999).
118. Gristina, A. G., Naylor, P. & Myrvik, Q. Infections from biomaterials and implants: a race for the surface. *Med. Prog. Technol.* 14, 205–224 (1988).
119. Montanaro, L. *et al.* Scenery of *Staphylococcus* implant infections in orthopedics. *Future Microbiol.* 6, 1329–1349 (2011).
120. Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G. & Costerton, J. W. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu. Rev. Microbiol.* 56, 187–209 (2002).
121. CORVEC, S. *Cutibacterium acnes* et infection de prothèse d'épaule. 27
122. Zimmerli, W., Waldvogel, F. A., Vaudaux, P. & Nydegger, U. E. Pathogenesis of foreign body infection: description and characteristics of an animal model. *J. Infect. Dis.* 146, 487–497 (1982).
123. Zimmerli, W., Lew, P. D. & Waldvogel, F. A. Pathogenesis of foreign body infection. Evidence for a local granulocyte defect. *J. Clin. Invest.* 73, 1191–1200 (1984).
124. Ceri, H. *et al.* The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1771–1776 (1999).
125. Zimmerli, W., Trampuz, A. & Ochsner, P. E. Prosthetic-joint infections. *N. Engl. J. Med.* 351, 1645–1654 (2004).
126. Coenye, T., Peeters, E. & Nelis, H. J. Biofilm formation by *Propionibacterium acnes* is associated with increased resistance to antimicrobial agents and increased production of putative virulence factors. *Res. Microbiol.* 158, 386–392 (2007).
127. Holmberg, A. *et al.* Biofilm formation by *Propionibacterium acnes* is a characteristic of invasive isolates. *Clin. Microbiol. Infect.* 15, 787–795 (2009).

128. Furustrand Tabin, U., Corvec, S., Betrisey, B., Zimmerli, W. & Trampuz, A. Role of rifampin against *Propionibacterium acnes* biofilm in vitro and in an experimental foreign-body infection model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 1885–1891 (2012).
129. Bayston, R. *et al.* Biofilm formation by *Propionibacterium acnes* on biomaterials in vitro and in vivo: impact on diagnosis and treatment. *J. Biomed. Mater. Res. A* 81, 705–709 (2007).
130. Parsek, M. R. & Singh, P. K. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annu. Rev. Microbiol.* 57, 677–701 (2003).
131. Jahns, A. C., Eilers, H. & Alexeyev, O. A. Transcriptomic analysis of *Propionibacterium acnes* biofilms in vitro. *Anaerobe* 42, 111–118 (2016).
132. Qi, X. *et al.* Biofilm formation of the pathogens of fatal bacterial granuloma after trauma: potential mechanism underlying the failure of traditional antibiotic treatments. *Scand. J. Infect. Dis.* 40, 221–228 (2008).
133. Tunney, M. M. *et al.* Detection of prosthetic hip infection at revision arthroplasty by immunofluorescence microscopy and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene. *J. Clin. Microbiol.* 37, 3281–3290 (1999).
134. Tyner, H. & Patel, R. *Propionibacterium acnes* biofilm – A sanctuary for *Staphylococcus aureus*? *Anaerobe* 40, 63–67 (2016).
135. Kurtz, S. M., Lau, E., Watson, H., Schmier, J. K. & Parvizi, J. Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States. *J. Arthroplasty* 27, 61-65.e1 (2012).
136. Barnard, E., Shi, B., Kang, D., Craft, N. & Li, H. The balance of metagenomic elements shapes the skin microbiome in acne and health. *Sci. Rep.* 6, 39491 (2016).
137. Shaheen, B. & Gonzalez, M. A microbial aetiology of acne: what is the evidence? *Br. J. Dermatol.* 165, 474–485 (2011).
138. Chamot, A. M. *et al.* [Acne-pustulosis-hyperostosis-osteitis syndrome. Results of a national survey. 85 cases]. *Rev. Rhum. Mal. Osteoartic.* 54, 187–196 (1987).
139. Le Goff, P., Baron, D., Le Henaff, C., Ehrhart, A. & Leroy, J. P. [Peripheral erosive arthritis in pustulosis palmoplantaris. Apropos of 3 cases]. *Rev. Rhum. Mal. Osteoartic.* 59, 443–448 (1992).
140. Kotilainen, P. *et al.* *Propionibacterium acnes* isolated from sternal osteitis in a patient with SAPHO syndrome. *J. Rheumatol.* 23, 1302–1304 (1996).
141. Colina, M., Lo Monaco, A., Khodeir, M. & Trotta, F. *Propionibacterium acnes* and SAPHO syndrome: a case report and literature review. *Clin. Exp. Rheumatol.* 25, 457–460 (2007).
142. Valeyre, D. *et al.* Sarcoidosis. *Lancet Lond. Engl.* 383, 1155–1167 (2014).
143. Furukawa, A. *et al.* Characterization of *Propionibacterium acnes* isolates from sarcoid and non-sarcoid tissues with special reference to cell invasiveness, serotype, and trigger factor gene polymorphism. *Microb. Pathog.* 46, 80–87 (2009).
144. Ishige, I., Usui, Y., Takemura, T. & Eishi, Y. Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. *Lancet Lond. Engl.* 354, 120–123 (1999).
145. Zhao, M.-M. *et al.* High throughput 16SrRNA gene sequencing reveals the correlation between *Propionibacterium acnes* and sarcoidosis. *Respir. Res.* 18, 28 (2017).
146. McCaskill, J. G. *et al.* Pulmonary immune responses to *Propionibacterium acnes* in C57BL/6 and BALB/c mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 35, 347–356 (2006).
147. Giovannucci, E., Liu, Y., Platz, E. A., Stampfer, M. J. & Willett, W. C. Risk factors for prostate cancer incidence and progression in the health professionals follow-up study. *Int. J. Cancer* 121, 1571–1578 (2007).
148. Dennis, L. K., Lynch, C. F. & Torner, J. C. Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. *Urology* 60, 78–83 (2002).
149. Alexeyev, O. *et al.* Association between the presence of bacterial 16S RNA in prostate specimens taken during transurethral resection of prostate and subsequent risk of prostate cancer (Sweden). *Cancer Causes Control CCC* 17, 1127–1133 (2006).
150. Alexeyev, O. A. *et al.* Direct visualization of *Propionibacterium acnes* in prostate tissue by multicolor fluorescent in situ hybridization assay. *J. Clin. Microbiol.* 45, 3721–3728 (2007).
151. Davidsson, S. *et al.* Frequency and typing of *Propionibacterium acnes* in prostate tissue obtained from men with and without prostate cancer. *Infect. Agent. Cancer* 11, (2016).
152. Fassi Fehri, L. *et al.* Prevalence of *Propionibacterium acnes* in diseased prostates and its inflammatory and transforming activity on prostate epithelial cells. *Int. J. Med. Microbiol. IJMM* 301, 69–78 (2011).
153. Sayanjali, B. *et al.* *Propionibacterium acnes* inhibits FOXM1 and induces cell cycle alterations in human primary prostate cells. *Int. J. Med. Microbiol. IJMM* 306, 517–528 (2016).

154. Severi, G. *et al.* Plasma concentration of Propionibacterium acnes antibodies and prostate cancer risk: results from an Australian population-based case-control study. *Br. J. Cancer* 103, 411–415 (2010).
155. Delahaye, F. *et al.* [Propionibacterium acnes infective endocarditis. Study of 11 cases and review of literature]. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* 98, 1212–1218 (2005).
156. Clayton, J. J., Baig, W., Reynolds, G. W. & Sandoe, J. A. T. Endocarditis caused by Propionibacterium species: a report of three cases and a review of clinical features and diagnostic difficulties. *J. Med. Microbiol.* 55, 981–987 (2006).
157. Sohail, M. R., Gray, A. L., Baddour, L. M., Tleyjeh, I. M. & Virk, A. Infective endocarditis due to Propionibacterium species. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15, 387–394 (2009).
158. Park, H. J. *et al.* Clinical significance of Propionibacterium acnes recovered from blood cultures: analysis of 524 episodes. *J. Clin. Microbiol.* 49, 1598–1601 (2011).
159. Banzon, J. M. *et al.* Propionibacterium acnes endocarditis: a case series. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 23, 396–399 (2017).
160. Stevens, W. G. *et al.* Risk factor analysis for capsular contracture: a 5-year Sientra study analysis using round, smooth, and textured implants for breast augmentation. *Plast. Reconstr. Surg.* 132, 1115–1123 (2013).
161. Rieger, U. M., Pierer, G., Lüscher, N. J. & Trampuz, A. Sonication of removed breast implants for improved detection of subclinical infection. *Aesthetic Plast. Surg.* 33, 404–408 (2009).
162. Del Pozo, J. L. *et al.* Pilot study of association of bacteria on breast implants with capsular contracture. *J. Clin. Microbiol.* 47, 1333–1337 (2009).
163. Rieger, U. M. *et al.* Bacterial biofilms and capsular contracture in patients with breast implants. *Br. J. Surg.* 100, 768–774 (2013).
164. Rahman, M. K. & Holz, E. R. Alcaligenes xylosoxidans and Propionibacterium acnes postoperative endophthalmitis in a pseudophakic eye. *Am. J. Ophthalmol.* 129, 813–815 (2000).
165. Zimmerli, W. Clinical practice. Vertebral osteomyelitis. *N. Engl. J. Med.* 362, 1022–1029 (2010).
166. Stirling, A., Worthington, T., Rafiq, M., Lambert, P. A. & Elliott, T. S. Association between sciatica and Propionibacterium acnes. *Lancet Lond. Engl.* 357, 2024–2025 (2001).
167. Osmon, D. R. *et al.* Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 56, e1–e25 (2013).
168. Zimmerli, W. & Moser, C. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 65, 158–168 (2012).
169. Zimmerli, W. & Sendi, P. Pathogenesis of implant-associated infection: the role of the host. *Semin. Immunopathol.* 33, 295–306 (2011).
170. Lee, M. J. *et al.* Propionibacterium persists in the skin despite standard surgical preparation. *J. Bone Joint Surg. Am.* 96, 1447–1450 (2014).
171. Phadnis, J., Gordon, D., Krishnan, J. & Bain, G. I. Frequent isolation of Propionibacterium acnes from the shoulder dermis despite skin preparation and prophylactic antibiotics. *J. Shoulder Elbow Surg.* 25, 304–310 (2016).
172. Corvec, S., Portillo, M. E., Pasticci, B. M., Borens, O. & Trampuz, A. Epidemiology and new developments in the diagnosis of prosthetic joint infection. *Int. J. Artif. Organs* 35, 923–934 (2012).
173. Boisrenoult, P. Cutibacterium acnes prosthetic joint infection: Diagnosis and treatment. *Orthop. Traumatol. Surg. Res.* 104, S19–S24 (2018).
174. Portillo, M. E. *et al.* Prosthesis failure within 2 years of implantation is highly predictive of infection. *Clin. Orthop.* 471, 3672–3678 (2013).
175. Bori, G. *et al.* Low sensitivity of histology to predict the presence of microorganisms in suspected aseptic loosening of a joint prosthesis. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 19, 874–877 (2006).
176. Pottinger, P. *et al.* Prognostic factors for bacterial cultures positive for Propionibacterium acnes and other organisms in a large series of revision shoulder arthroplasties performed for stiffness, pain, or loosening. *J. Bone Joint Surg. Am.* 94, 2075–2083 (2012).
177. Lavergne, V. *et al.* Clinical impact of positive Propionibacterium acnes cultures in orthopedic surgery. *Orthop. Traumatol. Surg. Res. OTSR* 103, 307–314 (2017).
178. Font-Vizcarra, L., García, S., Martínez-Pastor, J. C., Sierra, J. M. & Soriano, A. Blood culture flasks for culturing synovial fluid in prosthetic joint infections. *Clin. Orthop.* 468, 2238–2243 (2010).
179. Parvizi, J. & Della Valle, C. J. AAOS Clinical Practice Guideline: diagnosis and treatment of periprosthetic joint infections of the hip and knee. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* 18, 771–772 (2010).

180. Trampuz, A. *et al.* Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N. Engl. J. Med.* 357, 654–663 (2007).
181. Atkins, B. L. *et al.* Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group. *J. Clin. Microbiol.* 36, 2932–2939 (1998).
182. Bémer, P. *et al.* How Many Samples and How Many Culture Media To Diagnose a Prosthetic Joint Infection: a Clinical and Microbiological Prospective Multicenter Study. *J. Clin. Microbiol.* 54, 385–391 (2016).
183. Barreau, M., Pagnier, I. & La Scola, B. Improving the identification of anaerobes in the clinical microbiology laboratory through MALDI-TOF mass spectrometry. *Anaerobe* 22, 123–125 (2013).
184. Lutz, M.-F. *et al.* Arthroplastic and osteosynthetic infections due to *Propionibacterium acnes*: a retrospective study of 52 cases, 1995–2002. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 24, 739–744 (2005).
185. Asseray, N. *et al.* Improving diagnostic criteria for *Propionibacterium acnes* osteomyelitis: a retrospective analysis. *Scand. J. Infect. Dis.* 42, 421–425 (2010).
186. Stengel, D., Bauwens, K., Sehouli, J., Ekkernkamp, A. & Porzolt, F. Systematic review and meta-analysis of antibiotic therapy for bone and joint infections. *Lancet Infect. Dis.* 1, 175–188 (2001).
187. Sardana, K., Gupta, T., Garg, V. K. & Ghunawat, S. Antibiotic resistance to *Propionobacterium acnes*: worldwide scenario, diagnosis and management. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 13, 883–896 (2015).
188. Crawford, W. W., Crawford, I. P., Stoughton, R. B. & Cornell, R. C. Laboratory induction and clinical occurrence of combined clindamycin and erythromycin resistance in *Corynebacterium acnes*. *J. Invest. Dermatol.* 72, 187–190 (1979).
189. Leyden, J. J. *et al.* *Propionibacterium acnes* resistance to antibiotics in acne patients. *J. Am. Acad. Dermatol.* 8, 41–45 (1983).
190. Oprica, C. *et al.* Genetic basis of resistance in *Propionibacterium acnes* strains isolated from diverse types of infection in different European countries. *Anaerobe* 11, 137–143 (2005).
191. Schafer, F. *et al.* Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of *Propionibacterium acnes* isolated from patients with acne. *Int. J. Dermatol.* 52, 418–425 (2013).
192. Furustrand Tabin, U., Trampuz, A. & Corvec, S. In vitro emergence of rifampicin resistance in *Propionibacterium acnes* and molecular characterization of mutations in the *rpoB* gene. *J. Antimicrob. Chemother.* 68, 523–528 (2013).
193. Furustrand Tabin, U., Aubin, G. G., Eich, G., Trampuz, A. & Corvec, S. Occurrence and new mutations involved in rifampicin-resistant *Propionibacterium acnes* strains isolated from biofilm or device-related infections. *Anaerobe* 34, 116–119 (2015).
194. Gehse, M., Höffler, U., Gloor, M. & Pulverer, G. *Propionibacteria* in patients with acne vulgaris and in healthy persons. *Arch. Dermatol. Res.* 275, 100–104 (1983).
195. Lomholt, H. B., Scholz, C. F. P., Brüggemann, H., Tettelin, H. & Kilian, M. A comparative study of *Cutibacterium* (*Propionibacterium*) *acnes* clones from acne patients and healthy controls. *Anaerobe* 47, 57–63 (2017).
196. Dagnelie, M. *et al.* Decrease in Diversity of *Propionibacterium acnes* Phylotypes in Patients with Severe Acne on the Back. *Acta Derm. Venereol.* 98, 262–267 (2018).
197. Fernandez Sampedro, M. *et al.* Species of *Propionibacterium* and *Propionibacterium acnes* phylotypes associated with orthopedic implants. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 64, 138–145 (2009).
198. Aubin, G. G. *et al.* Interaction of *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) *acnes* with bone cells: a step toward understanding bone and joint infection development. *Sci. Rep.* 7, 42918 (2017).
199. Mak, T. N., Yu, S.-H., De Marzo, A. M., Brüggemann, H. & Sfanos, K. S. Multilocus sequence typing (MLST) analysis of *Propionibacterium acnes* isolates from radical prostatectomy specimens. *The Prostate* 73, 770–777 (2013).
200. Niazi, S. A. *et al.* *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from refractory endodontic lesions are opportunistic pathogens. *J. Clin. Microbiol.* 48, 3859–3869 (2010).
201. Petersen, R. L. W., Scholz, C. F. P., Jensen, A., Brüggemann, H. & Lomholt, H. B. *Propionibacterium Acnes* Phylogenetic Type III is Associated with Progressive Macular Hypomelanosis. *Eur. J. Microbiol. Immunol.* 7, 37–45 (2017).
202. Brzuszkiewicz, E. *et al.* Comparative genomics and transcriptomics of *Propionibacterium acnes*. *PLoS One* 6, e21581 (2011).
203. Scholz, C. F. P., Brüggemann, H., Lomholt, H. B., Tettelin, H. & Kilian, M. Genome stability of *Propionibacterium acnes*: a comprehensive study of indels and homopolymeric tracts. *Sci. Rep.* 6, 20662 (2016).

204. Nazipi, S., Stødkilde, K., Scavenius, C. & Brüggemann, H. The Skin Bacterium *Propionibacterium acnes* Employs Two Variants of Hyaluronate Lyase with Distinct Properties. *Microorganisms* 5, 57 (2017).
205. Nagy, I. *et al.* *Propionibacterium acnes* and lipopolysaccharide induce the expression of antimicrobial peptides and proinflammatory cytokines/chemokines in human sebocytes. *Microbes Infect.* 8, 2195–2205 (2006).
206. Aubin, G. G. *et al.* Immune discrepancies during in vitro granuloma formation in response to *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) *acnes* infection. *Anaerobe* 48, 172–176 (2017).
207. Ross, J. I. *et al.* Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic-resistant *Propionibacterium acnes* isolated from acne patients attending dermatology clinics in Europe, the U.S.A., Japan and Australia. *Br. J. Dermatol.* 144, 339–346 (2001).
208. Lomholt, H. B. & Kilian, M. Clonality and anatomic distribution on the skin of antibiotic resistant and sensitive *Propionibacterium acnes*. *Acta Derm. Venereol.* 94, 534–538 (2014).
209. Nakase, K., Sakuma, Y., Nakaminami, H. & Noguchi, N. Emergence of fluoroquinolone-resistant *Propionibacterium acnes* caused by amino acid substitutions of DNA gyrase but not DNA topoisomerase IV. *Anaerobe* 42, 166–171 (2016).
210. Nakase, K., Hayashi, N., Akiyama, Y., Aoki, S. & Noguchi, N. Antimicrobial susceptibility and phylogenetic analysis of *Propionibacterium acnes* isolated from acne patients in Japan between 2013 and 2015. *J. Dermatol.* 44, 1248–1254 (2017).
211. Frangiamore, S. J. *et al.* Early Versus Late Culture Growth of *Propionibacterium acnes* in Revision Shoulder Arthroplasty. *J. Bone Joint Surg. Am.* 97, 1149–1158 (2015).

## Annexes

---

**Annexe 1 : Bon de prescription d'examens bactériologiques des services d'orthopédie - traumatologie du CHU de Toulouse**

**Annexe 2 : Schéma des étapes de lecture, réincubation, rendu des résultats des prélèvements ostéo-articulaires, d'après les procédures du laboratoire de bactériologie du CHU de Toulouse**

(réservé labo)

Etiquette Patient

Etiquette Service demandeur UA

Annexe 1

Date de prélèvement			Heure de prélèvement			Prélèv. Bloc Opératoire TRAUMATOLOGIE ORTHOPEDIE
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
Jour		Mois		Année		
Prescripteur (Nom, Prénom, Fonction)			Préleveur (Nom, Prénom, Fonction)			Renseignements cliniques
Ecrire en majuscules			Ecrire en majuscules			Ecrire en majuscules

Renseignements cliniques:  
 Pour les échantillons mis en flacon d'hémoculture,  
 coller les étiquettes code-barres ci contre

Circonstances	Site anatomique	Zone																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
<table border="0"> <tr><td>Délabrement</td><td>d</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Plaie</td><td>p</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Morsure</td><td>m</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Fracture ouverte</td><td>fo</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Systématique prothèse</td><td>sp</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Systématique matériel</td><td>sm</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Systématique contrôle pansement VAC</td><td>vac</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> </table>	Délabrement	d	<input type="checkbox"/>	Plaie	p	<input type="checkbox"/>	Morsure	m	<input type="checkbox"/>	Fracture ouverte	fo	<input type="checkbox"/>	Systématique prothèse	sp	<input type="checkbox"/>	Systématique matériel	sm	<input type="checkbox"/>	Systématique contrôle pansement VAC	vac	<input type="checkbox"/>	<table border="0"> <tr><td>Epaule</td><td>ZTE.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Bras</td><td>ZTB.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Coude</td><td>ZTC.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Avant Bras</td><td>ZTT.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Poignet</td><td>ZTN.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Main</td><td>ZTM.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Doigt</td><td>ZTD.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td colspan="3"> </td></tr> <tr><td>Hanche</td><td>ZTH.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Cuisse</td><td>ZTU.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Genou</td><td>ZTG.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Jambe</td><td>ZTJ.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Cheville</td><td>ZTV.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Pied</td><td>ZTP.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Orteil</td><td>ZTO.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td colspan="3"> </td></tr> <tr><td>Rachis</td><td>ZTR.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td colspan="3"> </td></tr> <tr><td>Bassin</td><td>ZTS.</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> </table>	Epaule	ZTE.	<input type="checkbox"/>	Bras	ZTB.	<input type="checkbox"/>	Coude	ZTC.	<input type="checkbox"/>	Avant Bras	ZTT.	<input type="checkbox"/>	Poignet	ZTN.	<input type="checkbox"/>	Main	ZTM.	<input type="checkbox"/>	Doigt	ZTD.	<input type="checkbox"/>				Hanche	ZTH.	<input type="checkbox"/>	Cuisse	ZTU.	<input type="checkbox"/>	Genou	ZTG.	<input type="checkbox"/>	Jambe	ZTJ.	<input type="checkbox"/>	Cheville	ZTV.	<input type="checkbox"/>	Pied	ZTP.	<input type="checkbox"/>	Orteil	ZTO.	<input type="checkbox"/>				Rachis	ZTR.	<input type="checkbox"/>				Bassin	ZTS.	<input type="checkbox"/>	<table border="0"> <tr><td>Derme</td><td>D</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Tissus mous</td><td>U</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Hématome/collection</td><td>E</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Liquide fistule</td><td>L</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Liquide articulaire</td><td>A</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Synoviale</td><td>S</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Orifice broche</td><td>N</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Sérosité contact Matériel</td><td>M</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Membrane interposition</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>    Distale</td><td>I</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>    Proximale</td><td>X</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Ciment</td><td>K</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td colspan="7">Os</td></tr> <tr><td>Omoplate (scapula)</td><td>O</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Humérus</td><td>H</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Radius</td><td>R</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Cubitus (ulna)</td><td>C</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Carpe- Métacarpe</td><td>Z</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Sacrum</td><td>B</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Ischion</td><td>Y</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Cotyle</td><td>H</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Trochanter</td><td>W</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Fémur</td><td>F</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Tibia</td><td>T</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Rotule</td><td>O</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Péroné (fibula)</td><td>P</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Astragale (talus)</td><td>J</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Calcaneum</td><td>C</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Tarse- Métatarse</td><td>T</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Phalanges</td><td>P</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Vertèbre</td><td>V</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td colspan="7">Matériel</td></tr> <tr><td>Ostéosynthèse : vis, clou...</td><td>Q</td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Prothèse : tête, vis...</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>	Derme	D	<input type="checkbox"/>	Tissus mous	U	<input type="checkbox"/>	Hématome/collection	E	<input type="checkbox"/>	Liquide fistule	L	<input type="checkbox"/>	Liquide articulaire	A	<input type="checkbox"/>	Synoviale	S	<input type="checkbox"/>	Orifice broche	N	<input type="checkbox"/>	Sérosité contact Matériel	M	<input type="checkbox"/>	Membrane interposition							Distale	I	<input type="checkbox"/>	Proximale	X	<input type="checkbox"/>	Ciment	K	<input type="checkbox"/>	Os							Omoplate (scapula)	O	<input type="checkbox"/>	Humérus	H	<input type="checkbox"/>	Radius	R	<input type="checkbox"/>	Cubitus (ulna)	C	<input type="checkbox"/>	Carpe- Métacarpe	Z	<input type="checkbox"/>	Sacrum	B	<input type="checkbox"/>	Ischion	Y	<input type="checkbox"/>	Cotyle	H	<input type="checkbox"/>	Trochanter	W	<input type="checkbox"/>	Fémur	F	<input type="checkbox"/>	Tibia	T	<input type="checkbox"/>	Rotule	O	<input type="checkbox"/>	Péroné (fibula)	P	<input type="checkbox"/>	Astragale (talus)	J	<input type="checkbox"/>	Calcaneum	C	<input type="checkbox"/>	Tarse- Métatarse	T	<input type="checkbox"/>	Phalanges	P	<input type="checkbox"/>	Vertèbre	V	<input type="checkbox"/>	Matériel							Ostéosynthèse : vis, clou...	Q	<input type="checkbox"/>	Prothèse : tête, vis...																																																																																																																														
Délabrement	d	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Plaie	p	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Morsure	m	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Fracture ouverte	fo	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Systématique prothèse	sp	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Systématique matériel	sm	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Systématique contrôle pansement VAC	vac	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Epaule	ZTE.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Bras	ZTB.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Coude	ZTC.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Avant Bras	ZTT.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Poignet	ZTN.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Main	ZTM.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Doigt	ZTD.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Hanche	ZTH.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Cuisse	ZTU.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Genou	ZTG.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Jambe	ZTJ.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Cheville	ZTV.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Pied	ZTP.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Orteil	ZTO.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Rachis	ZTR.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Bassin	ZTS.	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Derme	D	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Tissus mous	U	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Hématome/collection	E	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Liquide fistule	L	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Liquide articulaire	A	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Synoviale	S	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Orifice broche	N	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Sérosité contact Matériel	M	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Membrane interposition																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
Distale	I	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Proximale	X	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Ciment	K	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Os																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
Omoplate (scapula)	O	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Humérus	H	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Radius	R	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Cubitus (ulna)	C	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Carpe- Métacarpe	Z	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Sacrum	B	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Ischion	Y	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Cotyle	H	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Trochanter	W	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Fémur	F	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Tibia	T	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Rotule	O	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Péroné (fibula)	P	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Astragale (talus)	J	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Calcaneum	C	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Tarse- Métatarse	T	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Phalanges	P	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Vertèbre	V	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Matériel																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
Ostéosynthèse : vis, clou...	Q	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Prothèse : tête, vis...																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
<table border="0"> <tr><td colspan="3">Infections des parties molles</td></tr> <tr><td>Abcès</td><td>ab</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Panaris</td><td>pa</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Phlegmon</td><td>ph</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Fasciite</td><td>f</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Cellulite</td><td>c</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Dermo-hypodermite</td><td>dh</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>DHB - nécrosante</td><td>dhn</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Myosite</td><td>my</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Escarre</td><td>e</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Bursite</td><td>b</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td colspan="3">Infections sur matériel</td></tr> <tr><td>Infection sur prothèse</td><td>ip</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Infection sur matériel</td><td>im</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td colspan="3">Infections autres</td></tr> <tr><td>Ostéite aiguë</td><td>oa</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Ostéite chronique</td><td>oc</td><td><input type="checkbox"/></td></tr> <tr><td>Arthrite</td><td></td><td></td></tr> </table>	Infections des parties molles			Abcès	ab	<input type="checkbox"/>	Panaris	pa	<input type="checkbox"/>	Phlegmon	ph	<input type="checkbox"/>	Fasciite	f	<input type="checkbox"/>	Cellulite	c	<input type="checkbox"/>	Dermo-hypodermite	dh	<input type="checkbox"/>	DHB - nécrosante	dhn	<input type="checkbox"/>	Myosite	my	<input type="checkbox"/>	Escarre	e	<input type="checkbox"/>	Bursite	b	<input type="checkbox"/>	Infections sur matériel			Infection sur prothèse	ip	<input type="checkbox"/>	Infection sur matériel	im	<input type="checkbox"/>	Infections autres			Ostéite aiguë	oa	<input type="checkbox"/>	Ostéite chronique	oc	<input type="checkbox"/>	Arthrite			<table border="0"> <tr><td><input type="checkbox"/> côté droit</td></tr> <tr><td><input type="checkbox"/> côté gauche</td></tr> <tr><td>Traitement antibiotique en cours : .....</td></tr> <tr><td>.....</td></tr> <tr><td>.....</td></tr> <tr><td>.....</td></tr> </table>	<input type="checkbox"/> côté droit	<input type="checkbox"/> côté gauche	Traitement antibiotique en cours : .....	.....	.....	.....																																																																																																																																																																																																																																																																	
Infections des parties molles																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
Abcès	ab	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Panaris	pa	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Phlegmon	ph	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Fasciite	f	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Cellulite	c	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Dermo-hypodermite	dh	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
DHB - nécrosante	dhn	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Myosite	my	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Escarre	e	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Bursite	b	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Infections sur matériel																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
Infection sur prothèse	ip	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Infection sur matériel	im	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Infections autres																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
Ostéite aiguë	oa	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Ostéite chronique	oc	<input type="checkbox"/>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																												
Arthrite																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
<input type="checkbox"/> côté droit																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
<input type="checkbox"/> côté gauche																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
Traitement antibiotique en cours : .....																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
.....																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
.....																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
.....																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														

Annexe 2

LECTURES DES GELOSES (systématiquement sous PSM type II)

Gélose COS  
Sous CO<sub>2</sub>



Gélose PVX  
Sous CO<sub>2</sub>



Gélose BRU  
Anaérobiose



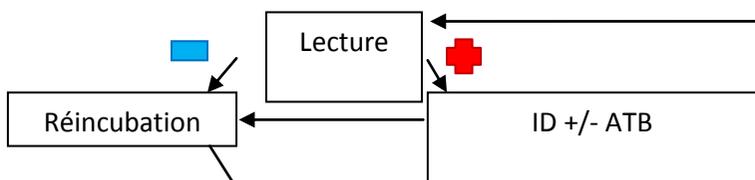
**LECTURES**

Postes Mixtes (A à I) jusqu'à J15

Sur un carton dans le pot blanc, écrire les dates correspondant à J5, J10 et J15.

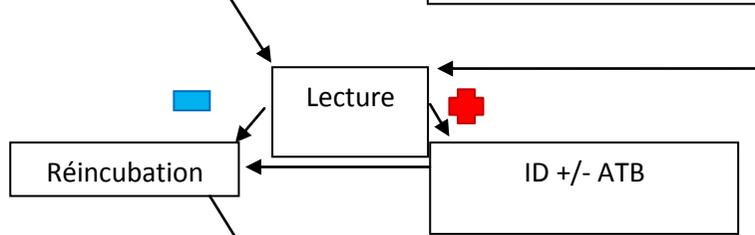
Lecture jusqu'à J10 pour les prélèvements cochés sur le bon « Systématique contrôle vac Pansement VAC »

J1



J2

J2



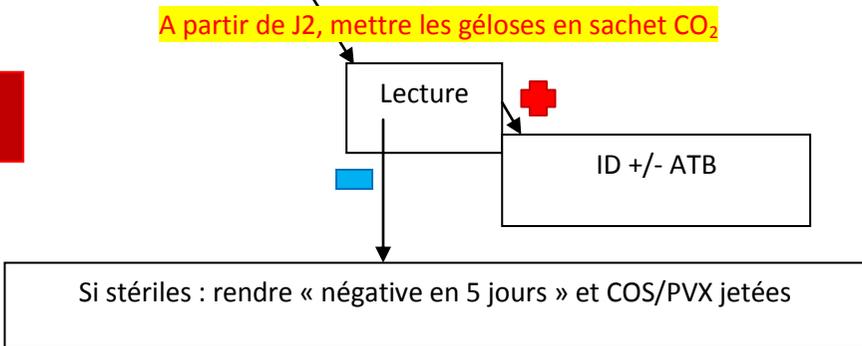
J5

Si BRU n°1 stérile à J5, la jeter

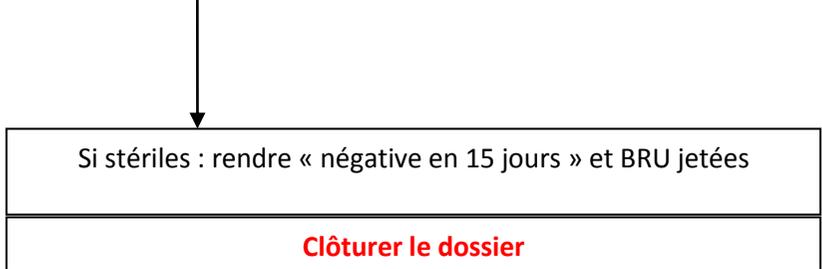
J10

J10 : Ouverture BRU n°2

J5



J15



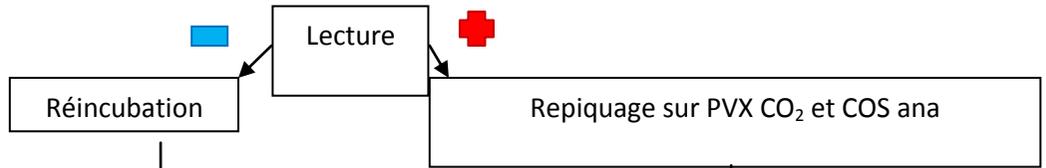
LECTURE DU BOUILLON THIOGLYCOLATE (systématiquement sous PSM type II)

Bouillon Thioglycolate



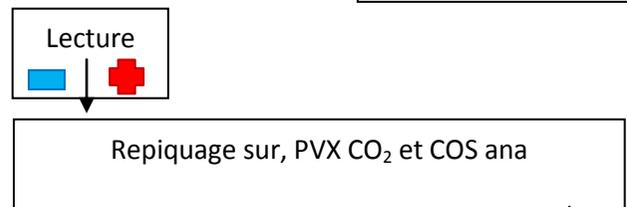
**LECTURES**  
Postes Mixtes (A à I) jusqu'à J15 et jusqu'à J10 pour les « Systématique contrôle

J3



ID +/- ATB Tous types colonies

J5



**Si THI négatif : le repiquer systématiquement si absence de pousse sur les géloses de départ.**

Si J5 le samedi :  
- repiquer le thio le vendredi  
- mettre à lire pour le samedi

Si stérile : garder les géloses en pochon jusqu'à J10

Si pousse : ID +/- ATB Tous types colonies

J10

Lecture : si négatif – réincuber

J15

Lecture : si négatif, rendre stérile.

**Clôturer le dossier**

## Serment de Galien

---

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

## ***Cutibacterium acnes* : phylotyping by mass spectrometry in the laboratory in osteoarticular infections**

---

### **Objectives**

*Cutibacterium acnes* is a bacterium responsible for osteoarticular infections (OAI). The objectives of our study were 1) to study the distribution of phylotypes of *C. acnes* strains isolated from OAI; 2) to find relevant associations between phylotypes and demographic and clinical parameters of patients who may be of interest for their management; 3) to study clonality of samples and cultures of the same patient.

### **Materials and methods**

We performed retrospective phylotyping by mass spectrometry (Brucker) of 344 *C. acnes* strains isolated from OAI at Toulouse University Hospital between 2014 and 2017. Demographic, clinical and microbiological data were collected for each patient. In order to study clonality, on 10 samples of OAI, bone tissues and deep tissues ( $N = 5$  patients), a maximum of different colonies per culture were analyzed.

### **Results**

We found 2 majority phylotypes, IB-IC (35.5%) and IA (36.6%). Phylotype II represented 11% of the population, and phylotype III was found only once. A recurring unknown profile (rated X) was identified in 9.3% of the workforce; unknown profiles (U) in 3.5% and mixed profiles in 3.8%. The X, U or mixed phylotypes were significantly associated ( $P = 0.003$ ) with patients with a number of *C. acnes* positive samples strictly less than 3 (considered as contaminants) and were predictive of these non-significant samples in 96.4%. Macrolide-resistant strains of *C. acnes* are essentially phylotype IA. Regarding clonality, we have shown that there is only one phylotype on the samples and cultures contrary to what is found for the skin.

### **Conclusion**

Two phylotypes (IB-IC and IA) are mainly found in the OAI. One clone per patient seems to be responsible. Unknown and mixed profiles are found for the strains considered as contaminating strains and are predictive of them.

---

KEY WORDS: *Cutibacterium* - *acnes* - phylotype - mass spectrometry - osteoarticular infection - clonality

---

# **Cutibacterium acnes : phylotypage par spectrométrie de masse au laboratoire dans les infections ostéo-articulaires**

---

## **Objectifs**

*Cutibacterium acnes* est une bactérie responsable d'infections ostéo-articulaires (IOA). Les objectifs de notre étude étaient 1) d'étudier la répartition des phylotypes des souches de *C. acnes* isolées d'IOA ; 2) de rechercher des associations pertinentes entre phylotypes et paramètres démographiques et cliniques des patients pouvant présenter un intérêt pour leur prise en charge ; 3) d'étudier la clonalité des prélèvements et cultures d'un même patient.

## **Matériels et Méthodes**

Nous avons réalisé le phylotypage rétrospectif par spectrométrie de masse (Brucker) de 344 souches de *C. acnes* isolées d'IOA au CHU de Toulouse entre 2014 et 2017. Les données démographiques, cliniques et microbiologiques ont été recueillies pour chaque patient. Afin d'étudier la clonalité, sur 10 prélèvements d'IOA, tissus osseux et tissus profonds ( $N = 5$  patients), un maximum de colonies différentes par boîte ont été analysées.

## **Résultats**

Nous avons mis en évidence 2 phylotypes majoritaires, IB-IC (35,5%) et IA (36,6%). Le phylotype II représentait 11% de l'effectif, et le phylotype III n'a été rencontré qu'une seule fois. Un profil inconnu récurrent (noté X) a été identifié dans 9,3% de l'effectif ; des profils inconnus (U) dans 3,5% et des profils mixtes dans 3,8%. Les phylotypes X, U ou mixtes étaient significativement associés ( $P = 0,003$ ) aux patients présentant un nombre de prélèvements positifs à *C. acnes* strictement inférieur à 3 (considérés comme contaminants) et étaient prédictifs de ces prélèvements non significatifs à 96,4%. Les souches de *C. acnes* résistantes aux macrolides sont essentiellement de phylotype IA. Concernant la clonalité, nous avons montré une monophylotypie des prélèvements et cultures contrairement à ce qui est retrouvé au niveau cutané.

## **Conclusion**

Deux phylotypes (IB-IC et IA) sont majoritairement retrouvés dans les IOA. Un seul et même clone par patient semble en être responsable. Des profils inconnus et mixtes sont retrouvés pour les souches considérées comme des contaminants, et en sont prédictifs.

---

DISCIPLINE : Pharmacie

---

MOTS-CLES : *Cutibacterium - acnes* - phylotype - spectrométrie de masse - infection ostéo-articulaire - clonalité

---

Université Toulouse III Paul Sabatier – Faculté des Sciences Pharmaceutiques, 35 chemin des Maraîchers - 31062 Toulouse Cedex 9 - France

Laboratoire de Bactériologie-Hygiène - Institut Fédératif de Biologie - CHU Toulouse, 330 avenue de Grande Bretagne - TSA40031 - 31059 Toulouse Cedex 9 - France

Directeur de thèse : Docteur Marion GRARE