



HAL
open science

Physiopathologie et prévention des infections sur matériels transcutanés en neurochirurgie : travaux cliniques et expérimentaux

Roman Mounier

► To cite this version:

Roman Mounier. Physiopathologie et prévention des infections sur matériels transcutanés en neurochirurgie : travaux cliniques et expérimentaux. Médecine humaine et pathologie. Université Paris-Est, 2019. Français. NNT : 2019PESC0087 . tel-03469030

HAL Id: tel-03469030

<https://theses.hal.science/tel-03469030>

Submitted on 7 Dec 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ — — PARIS-EST

ÉCOLE DOCTORALE : SCIENCE DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

Spécialité : recherche clinique

ANNÉE 2019

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 12 novembre 2019

LIEU

FACULTÉ DE MÉDECINE PARIS-EST-CRÉTEIL

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS EST

Par

Roman MOUNIER

**PHYSIOPATHOLOGIE ET PRÉVENTION DES INFECTIONS SUR MATÉRIELS
TRANSCUTANÉS EN NEUROCHIRURGIE
TRAVAUX CLINIQUES ET EXPÉRIMENTAUX**

JURY :

Président du Jury

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

Pr Stéphane PALFI

Pr Jean-Marc GHIGO

Pr Claire JANOIR-JOUVESHOMME

Pr Françoise BOTTEREL-CHARTIER

Pr Luc MOUNIER

Pr Gilles DHONNEUR

Thèse réalisée au sein de
L'institut Mondor de recherche biomédicale

Université Paris-Est Créteil (UPEC, Paris XII), Faculté de médecine de Créteil
8, rue du Général Sarrail
94010 Créteil cedex



UNIVERSITÉ —
— PARIS-EST



« Rien n'a de sens en biologie, si ce n'est à la lumière de l'évolution »

Theodosius Dobzhansky

« Sit down before fact as a little child, be prepared to give up every preconceived notion, follow humbly wherever and whatever abysses nature leads, or you shall learn nothing »

Thomas Huxley, 1860

« Une tradition de pensée bien enracinée dans notre culture, et qui forme les esprits dès l'école élémentaire, nous enseigne à connaître le monde par « idées claires et distinctes » ; elle nous enjoint de réduire le complexe au simple, c'est-à-dire de séparer ce qui est lié, d'unifier ce qui est multiple, d'éliminer tout ce qui apporte désordres ou contradictions dans notre entendement.

Or le problème crucial de notre temps et celui de la nécessité d'une pensée apte à relever le défi de la complexité du réel, c'est-à-dire capable de saisir les liaisons, interactions et implications mutuelles, les phénomènes multidimensionnels »

Edgar Morin

« si tous les êtres microscopiques disparaissaient de notre globe, la surface de la terre serait encombrée de matière organique morte et de cadavres de tout genre, animaux et végétaux. Ce sont eux principalement qui donnent à l'oxygène ses propriétés comburantes. Sans eux, la vie deviendrait impossible, parce que l'œuvre de la mort serait incomplète. »

Louis Pasteur

« Quand je me suis transformé en microbe, la métamorphose a été si totale que je me suis immédiatement senti chez moi. Il n'y a pas de quoi s'étonner, car l'homme et le germe ne sont pas radicalement différents l'un de l'autre. Parmi les germes, il y a mainte nationalité, mainte langue, comme il en va parmi les hommes. Les germes pensent que l'homme qu'ils habitent est le seul monde existant. C'est à leurs yeux un monde vaste et merveilleux, dont ils sont aussi fiers que s'ils l'avaient eux-mêmes conçus. Dommage que ce pauvre vieux trimard solitaire ne le sache jamais, car il est rare qu'il reçoive compliment. »

Mark Twain « Trois mille ans chez les microbes » 1905

REMERCIEMENTS

A mon jury, Les Professeurs Claire Janoir, Françoise Botterel, Stéphane Palfi, Jean Marc Ghigo, Gilles Dhonneur et Luc Mounier, qui me font l'honneur d'avoir accepté de former ce jury dont je suis très fier, et de juger mon travail ; J'espère être à la hauteur de leur confiance ;

On pourrait penser qu'une thèse est le travail individuel de recherche d'une personne. Pourtant non. Certes c'est le fruit d'une éducation, du travail et de la rigueur de son auteur, mais c'est aussi la somme de multiples rencontres, de multiples idées qui se connectent ; c'est le travail d'une équipe tout entière, faite de discussions quotidiennes entre ses membres, de stagiaires qui soulèvent des questions ignorées ; c'est une équipe qui veille au bon déroulement des protocoles. Finalement, toutes ces personnes que je remercie, sont les acteurs de ce travail ; donc,

A tous ceux sans qui tout cela n'aurait jamais été possible ;

A Fabrice Cook, mon chef, dont l'intelligence n'a d'égal que sa modestie et son respect de l'autre, et qui est devenu un ami au fil du temps. J'ai pu me nourrir quotidiennement de son aide et sa perspicacité. Il m'a fait grandir chaque jour, m'a poussé en avant tout le temps, m'a soutenu dans toutes les tempêtes (un vrai capitaine !). Grâce à lui, je suis resté sur Paris, et c'est tous les jours un bonheur d'aller travailler ;

A Gilles Dhonneur, pour sa simplicité, son soutien, son imagination, sa passion et son amitié ;

A Bouziane Aït-Mamar, cet homme érudit aux racines improbables, pour son enseignement quotidien et sa sagesse, dépassant largement le domaine de la médecine, pour couvrir l'histoire, la poésie, la philosophie ;

A David Lobo, mon statisticien préféré, génie de son état, avec qui nous ne nous comprenons pas quand on se demande tous les deux, ce que font 2+2 (je ne donne pas la réponse) ;

A Mathieu Martin, donneur d'énergie et de bonne humeur, mélange détonnant de grossièreté et de subtilité ;

A toute l'équipe médicale, travailleur de l'ombre dans ce monde de l'anesthésie-réanimation où le soleil ne se couche jamais : Valérie Bitot, Françoise Tomberli, Jennifer Jaubert, Séverine Couffin, Melissa Arnaud, Elisabeth Gauci, Jean Bardon, Ron Birnbaum, Moustapha Abdi, Cécile Rebière, Paul-Henri Jost. Ce travail est aussi le leur, à tous les niveaux : conception, recueil, bonne marche de la recherche, analyse, rédaction.... Mes amis et compagnons de Travail, qui donnent du soleil à Mondor.

A tous les internes que j'ai pu accompagner et qui m'ont fait confiance, Ambre Tiepolo, Ariane Roujanski, Marine Creux, Marlène cherruault, Julia Egbeola, Leonard Drouard, Sylvain Diop, Lyse Flores, Stéphanie Pons, Vincent mellano, Rudy Bitton, Elodie Lang, Alexandre Fratani, Julia Voulgaropoulos, Caroline Schimpf, Natacha Kapandji, Benjamin Frossard, Sophie Paktoris. Et à tous les autres, qui nous permettent de voir la beauté et le dynamisme de notre travail sans cesse renouvelé

Au paramédicaux de mon service, ces personnes qui ne sont jamais cités dans les articles, mais qui travaillent activement avec moi pour que les protocoles fonctionnent. Qui me demandent régulièrement de leur montrer les résultats....et je n'ai jamais le temps.... Stéphanie, Lea, camille, magali, nicolas, seb, alex, émilie, clémence, claire, mika, pierre, fred, edwige, poupou, nadia, umuline, anaïs, melissa,....

Aux amis du canada, Yves Berthiaume, André Dagenais et Greg Voisin,

A Phillippe Sansonetti, qui ne le sait pas,
A Jean-Marc Ghigo, un maître, humble et sage, disponible et joyeux, généreux et subtil,
A Stéphane Palfi, chercheur hors norme et passionné, à l'élégance inégalée,
A David Lebeaux, pour sa confiance et son aide inestimable,
A José Cohen, directeur de l'école doctorale, toujours disponible, toujours positif, attentif, profondément humain, un directeur exemplaire,

A Kamal Mesbah, mon attentif mécène qui croit en moi de toute son humanité,

A mes parents, ce qui se passe de commentaire, mais à qui je dois, pour beaucoup, d'être ce que je suis,

A mon grand-père, Jean Mounier, qui serait très fier de moi je crois,

A mon frère jumeau, pour notre affection et notre curiosité scientifique commune, terreau de discussions riches et infinies, moteur de dynamisme,

A Karine, pour sa bienveillance et son enthousiasme dans nos discussions,

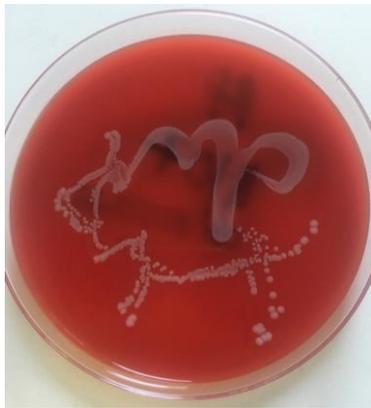
A mon vieil ami Hugues Mouret, exemple des dysfonctionnements du système éducatif, génie intellectuel et toujours prêt à partir à l'aventure avec moi,

A mes frères, Brice et David,

A mes enfants, Ariane, Carmen et Manolo, ces graines d'énergies folles pleines d'amour et de vie,

A Eva Poré, celle qui me fait rêver

A l'esprit libre des gitans.



RESUMÉ

Les dispositifs médicaux sont de plus en plus utilisés, notamment en milieu neurochirurgical. Leur principal risque est l'infection. Les infections sur matériel sont peu connues. Elles peuvent mettre la vie du patient en jeu, ou aggraver leur pronostic. Leurs coûts sont importants. La prévention de ces infections est donc une priorité. Celle-ci semble avoir une efficacité limitée malgré de nombreux efforts. Probablement parce que la physiopathologie de la colonisation de ces dispositifs et des infections associées est mal connue. Des connaissances et techniques récentes offrent un éclairage nouveau. Nous avons étudié 2 types de dispositifs intracérébraux et transdermiques : les dérivations ventriculaires externes et les capteurs de pression intracérébraux, les premiers connus pour être associés aux infections à l'inverse des seconds. Nous avons tout d'abord décrit l'histoire naturelle des infections des dérivations sous traitement antibiotique adapté. Nous avons décrit leur épidémiologie, leur pronostic et facteurs de risque de mauvaise évolution. Nous avons comparé les infections liées à des bactéries pathogènes et celles dues aux germes commensaux comme les *Staphylococcus* à coagulase négative. Les infections à germes commensaux se caractérisaient par une faible inflammation sans retentissement sur le pronostic. Puis nous nous sommes penchés sur la colonisation et l'infections de ces dérivations et des capteurs de pression. La colonisation des dispositifs évaluée par la culture était faible, alors qu'elle était omniprésente en microscopie électronique ou en PCR 16s, et ce dès les premiers jours. La colonisation, universelle, n'est donc plus suffisante pour expliquer l'infection. L'analyse de la diversité bactérienne a montré une certaine diversité pour les capteurs de pression (notamment par rapport aux matériaux implantés non transdermiques), et que les antibiotiques diminuaient l'homogénéité (evenness) de la communauté microbienne. Nous n'avons pas pu dégager de modification d'espèce ou de diversité associée à l'infection. Mais l'analyse des PCR 16s est encore en cours pour nos dérivations. Nous avons aussi étudié l'efficacité des dérivations imprégnées d'antibiotiques devant l'observation d'infection à des germes sensibles à ces antibiotiques. Nous avons déjà montré la forte présence de biofilm, qui pouvait expliquer ce phénomène grâce à sa tolérance. Mais nous avons aussi testé l'efficacité résiduelle des dispositifs imprégnés et avons constaté une activité antimicrobienne bien plus courte que rapportée par les études ex vivo. Ainsi ce type de dispositifs semble inefficace et potentiellement dangereux en induisant une dysbiose. Les études cliniques ne leur trouvant pas de bénéfices mais des

infections avec des germes plus résistants. La colonisation, notamment par du biofilm, semble inévitable pour les dispositifs transdermiques exposés en permanence à une forte densité bactérienne. Les études futures permettront une meilleure analyse du microbiote cutané, sa stabilité et sa résilience, et peut-être que demain sera fait de « bio » dérivations, recouverte du biofilm provenant du microbiote sain du patient.

Mots clés: antibiotique, biofilm, colonisation, diversité bactérienne, dispositifs transdermiques, infection, infections liées aux matériaux, microbiote cutané, neurochirurgie, physiopathologie, prévention.

ABSTRACT

Pathophysiology and prevention of neurosurgical Transcutaneous Device-associated infections

Medical devices are increasingly used, especially in the neurosurgical environment. Their main risk is infection. Device-associated infections are little known. They can put the patient's life at risk, or worsen their outcome. Their cost is important. Prevention of these infections is therefore a priority. However, it seems to have limited effectiveness despite many efforts. Probably because the pathophysiology of colonization and associated infections of these devices is poorly understood. New knowledge and techniques shed a new light. We studied two types of intracerebral and transdermal devices: external ventricular drain and intracerebral pressure sensors, the first known to be associated with infections in contrast to the second. We first described the natural history of drain infections under appropriate antimicrobial treatment. We described their epidemiology, their outcome, and risk factors for poor outcome. We compared infections related to pathogenic bacteria and those due to commensal germs such as coagulase-negative *Staphylococci*. Commensal germs infections were characterized by low inflammation, with no effect on outcome. Then we focused on the colonization and infections of these drains and pressure sensors. Colonization of the devices evaluated by standard culture was low, whereas it was ubiquitous in electron microscopy or 16s PCR, and this within the first days. Thus colonization, universal, is no longer sufficient to explain the infection. Analysis of bacterial diversity showed some diversity for pressure sensors (especially compared to non-transdermal implanted materials), and that antibiotics decreased the evenness of the microbial community. We were unable to identify a change in species or diversity associated with infection. But our 16s PCR analysis is still in progress for the drains. We also studied the effectiveness of antibiotic-impregnated external ventricular drains, after observing infections with germs susceptible to these antibiotics. We had already shown the strong presence of biofilm, which could explain this phenomenon due to induced

tolerance. But we also tested the residual efficacy of antimicrobial-impregnated devices and found a much shorter antimicrobial activity than reported by *ex vivo* studies. Thus, this type of device seems ineffective and possibly dangerous due to induced dysbiosis. Clinical studies do not find them beneficial, but rather show infections with more resistant germs. Colonization, especially by biofilm, seems inevitable for transdermal devices permanently exposed to high bacterial density. Future studies will allow a better analysis of the cutaneous microbiota, its stability and its resilience, and maybe tomorrow will be made of "bio" derivation, covered with the biofilm coming from the patient 's healthy microbiota.

Key words: antibiotic, biofilm, bacterial diversity, colonization, device-associated infection, infection, neurosurgery, pathophysiology, prevention, skin microbiota, transcutaneous medical device.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	4
RESUMÉ	6
ABSTRACT	9
TABLE DES MATIÈRES	11
TABLE DES FIGURES	13
TABLES DES TABLEAUX	14
ABBREVIATIONS	15
INTRODUCTION	16
Les implants médicaux	21
Épistémologie : vers une humanité de cyborgs et nouveaux paradigmes.....	21
Les implants médicaux aujourd'hui	23
La complication infectieuse liée à ces corps étrangers	27
Colonisation bactérienne et fonctionnalité de l'implant	29
Les implants en neurochirurgie	29
Les dérivations ventriculaires externes	30
Historique et indication de la DVE.....	30
Les capteurs de pression intracrânienne intraparenchymateux	32
Pression intracrânienne et ses composants	33
Pathogénèses des infections liées aux matériels	38
Les facteurs bactériens	39
Biofilm.....	40
Les facteurs liés au matériel	46
Les matériaux imprégnés en antimicrobiens.....	49
Les facteurs liés à l'hôte	50
Microbiotes et Superorganismes : on découvre les bonnes bactéries.....	51
Microbiote cutané	54
Nouvelles théories immunologiques	63
Les moyens de défenses du cerveau	69
Infection de DVE	74
Définitions	74
Symptomatologie et épidémiologie	77
Ce que l'on sait des infections de DVE	79
Physiopathologie des infections de DVE	80
Traitement des ILD	82
Prévention des ILD	84
Techniques chirurgicales et hygiène.....	84

Antibioprofylaxie ponctuelle lors de la pose de la DVE	84
Antibioprofylaxie systémique pendant la durée de l'exposition	85
DVE imprégnées d'antibiotiques	85
Infection de capteur de PIC	88
Conclusions de cette introduction et hypothèses	90
Questions.....	91
RESULTATS.....	93
Question 1 :	93
Question 2 :	108
Question 3 :	120
Question 4	132
Question 5	164
DISCUSSION	176
LA DUREE D'EXPOSITION COMME FACTEURS DE RISQUE D'INFECTION ET DE COLONISATION .	177
ROLE DE LA DYSBIOSE COMME FACTEUR DE RISQUES D'INFECTION ET DE COLONISATION	179
RÔLE DU BIOFILM SUR LE MATERIEL DANS LA STABILITE ET LA RESILIENCE DE L'ÉCOSYSTÈME.	185
EFFICACITE DE LA PREVENTION PAR LES ANTIBIOTIQUES	187
PERSPECTIVES	189
CONCLUSION.....	192
Références bibliographiques.....	194
Annexe 1	213
Annexe 2 :	221

TABLE DES FIGURES

Figure 1. Publicité américaine pour les prothèses de jambes, au décours de la guerre de sécessions.	23
Figure 2. Schématisation de l'évolution d'Homo sapiens jusqu'à l'homme bionique, au cours de l'anthropocène.	24
Figure 3. Représentation schématique de l'histoire de la dérivation ventriculaire externe... ..	32
Figure 4. Représentation de la courbe pression-volume intracrânienne (hypothèse de Monroe-Kelly).....	34
Figure 5. Représentation schématique des 2 techniques majeures de mesure de la pression intracrânienne.	35
Figure 6. Les cinq étapes de la formation d'un biofilm bactérien.	43
Figure 7. Le déclin de maladies infectieuses (A) s'est accompagné d'une augmentation des maladies auto-immune (B), Etats-unis, 1950-2000. D'après (78).....	53
Figure 8. Coupe de la peau (derme-épiderme) montrant ses glandes et son microbiote.	55
Figure 9. Représentation des variations interpersonnelles du microbiote cutané.	58
Figure 10. Représentation schématique des différentes cellules constituant le cerveau.....	71
Figure 11. Exemple de proposition de définition des ILD selon deux auteurs.	75
Figure 12. Evolution des paramètres clinico-biologiques depuis les jours précédant le diagnostic (4j) jusqu'au jour du diagnostic.	77
Figure 13. Résultat de l'analyse portant sur 38 DVE consécutives, analysées en culture, MEB et NGS.....	181

TABLES DES TABLEAUX

Tableau 1. Estimation du nombre d'implants inséré aux États-Unis en 2001, et leur taux d'infections associées ainsi que leurs mortalités.	27
Tableau 2. Conséquences cliniques et économiques des infections associées aux implants chirurgicaux. D'après (14).	28
Tableau 3. Le panel A montre brièvement l'historique des matériaux utilisés pour drainer le LCR ; le panel B rapporte l'évolution des durées de drainage du LCR.	31
Tableau 4. Facteurs liés au matériel pouvant influencer l'adhérence bactérienne.	47

ABBREVIATIONS

ATB:	antibiotique
BHE:	barrière hémato-encéphalique
BGN :	bactéries à Gram négatifs
Cfu :	colony forming unit
CGP :	<i>cocci</i> à Gram positifs
CMI :	concentration minimale inhibitrice
CoNS:	<i>Staphylococcus</i> à coagulase négative
CPIC :	capteur de pression intracrânienne
DAMPs :	Danger Associated Molecular Patterns
DIA :	DVE imprégnées d'antibiotiques
DVE:	dérivation ventriculaire externe
HSA :	hémorragie sous arachnoïdienne
ILM :	infection liée au matériel
ILD :	infection liée à la DVE
KT :	cathéter
LCR :	liquide céphalo-rachidien
MAMPs :	Microbial Associated Molecular Patterns
PIC :	pression intracrânienne
TLR :	Toll-like récepteurs

INTRODUCTION

Ce travail est au confluent de la biologie, de la neurochirurgie et des implants. Le thème de la recherche s'intéresse particulièrement aux infections du système nerveux central (SNC) sur matériel. Il pourrait cependant s'appliquer sur les différents systèmes de l'organisme, ou des organismes, avec leurs variantes spécifiques ; tant il est vrai que nous vivons dans un monde bactérien, pour ne pas dire dans le monde des bactéries (et virus). Il est maintenant établi que les bactéries sont apparues pratiquement en même temps que la vie et ont évolué depuis des milliards d'années et démontrées ainsi des capacités d'adaptation extraordinaire (1). L'homme aussi a suivi cette adaptation, avec l'Hygiène, les antiseptiques et antibiotiques, ce qui lui a permis d'améliorer l'espérance de vie, les procédures médicales, la chirurgie lourde, la greffe d'organe jusqu'aux implants. Le monde médical a pris désormais sa place dans l'anthropocène avec la naissance de l'homme bionique. Grâce aux implants, chaque organe est devenu le siège d'une prothèse. La maîtrise de ces implants, leur miniaturisation ainsi que la « simplicité » de pose associés à des effets secondaires rares, donne un essor extraordinaire à leur utilisation. Nous sommes en revanche, en pleine évolution de paradigme, et ce sur plusieurs axes de la biologie. Nous découvrons que ce monde est loin d'être stérile, et les lieux que nous croyions naïvement épargnés, s'avèrent en fait, être colonisés (poumon, vessie, espace,...). Ces découvertes sont à l'origine d'une révolution biomédicale.

Les implants sont du matériel inerte exogène, surface abiotique propice pour accueillir la vie ! Les bactéries peuvent y adhérer et se développer en un mode de vie appelé biofilm. Le biofilm est le mode de vie bactérien principal sur la planète, découvert dans les années 1975-1980 par un biologiste des rivières (2,3). Heukalagian et Heller avaient décrit dans les années 40, « l'effet de bouteille » : la fourniture d'un substrat solide auquel des microorganismes marins peuvent s'attacher augmentait leur croissance et activité métabolique ; et Zobell (1943) observait que dans le milieu marin la quantité de bactéries fixée à un substrat est largement supérieure à la quantité de bactéries libres dans la phase liquide. Le biofilm s'accommode très bien de toute surface, particulièrement inanimée. Les caractéristiques du biofilm rendent la culture peu sensible pour sa détection, ce

Introduction

qui a été responsable de son « invisibilité ». Ainsi, la microbiologie et la maladie infectieuse accusent un grand retard en matière de biofilm. Aucun outil d'observation, pouvant décrire la physiopathologie, aucun outil diagnostique, aucun outil thérapeutique, ou si peu. Alors sa prévention, éternelle oubliée de la médecine occidentale, n'en parlons pas....

Nous découvrons un pan immense de la maladie infectieuse avec le biofilm. Le Center for Disease (and Prevention) américain estimait au début des années 2010, que plus de 65% des infections dans les pays développés étaient liées au biofilm.

Biofilm, association bactérienne de malfaiteurs ? Biofilm partout ?

Par ailleurs, en 2000, les déceptions qui suivirent le séquençage du génome humain et l'avènement du microbiote digestif humain ont déplacé la vision de l'homme sur l'homme, d'une vision d'être multicellulaires eucaryotes « témoin du progrès de l'Evolution », en superorganisme construit de cellules eucaryotes, procaryotes, virales.... témoin de la co-Evolution. Le célèbre aphorisme de Theodosius Dobzhansky (1900 – 1975) : « **rien n'a de sens en biologie, si ce n'est à la lumière de l'évolution** », s'applique encore une fois ici dans toute sa profondeur, et révèle bien ce qu'est la théorie de l'évolution pour un biologiste, et le cadre conceptuel au sein duquel toute donnée scientifique trouve son sens (4). Une vision statique correspondant aux anciens paradigmes serait forcément trop réductrice et nous exclurait *de facto*, de concepts essentiels. Cette déception associée au squençage et ce microbiote ont permis de replacer les bactéries (les données sont encore insuffisantes pour les archées et les virus, si tant est qu'ils soient vivants)(5,6), à une place plus noble que celle, pestilentielle, portée dans notre mémoire collective. En effet, les bactéries ont essentiellement été découvertes et étudiées dans le cadre de la maladie (héritage de Louis Pasteur et Robert Koch). Leur histoire depuis leur découverte, insignifiante au regard de leur âge, et le rôle diabolique qui leur a été attribué, occupent toute la place qui leur est dévolue dans la culture humaine. Aussi devons-nous revoir notre façon de voir notre vieux compagnon, avec qui nous partageons la même généalogie dans un même monde vieux de milliards d'années, où la vie a fait irruption et s'est hasardée sur différents sentiers jusqu'à LUCA, the last universal common ancestor (7). Mais depuis LUCA, quelle que soit la branche du vivant que nous observons, elle est cousine avec les autres et partage de nombreuses fonctions et codes, dont le fameux code génétique. Et qu'est-ce que la cellule eucaryote, sinon une chimère avec son

ADN comportant une quantité non négligeable d'ADN d'origine rétrovirale, et son usine énergétique bactérienne endosymbiotique, la mitochondrie ?

La vie s'est ensuite diversifiée en fonction de son environnement et a co-évolué. La **co-évolution** est un concept majeur, menant à l'état d'équilibre dans lequel se trouve notre planète comme notre être. Il comprend bien entendu l'adaptabilité du vivant en fonction de son environnement soumis à la sélection naturelle, ainsi que le façonnement d'une espèce par rapport à l'autre. Il permet d'introduire le concept de la reine rouge (8). Celui-ci tire son nom d'un épisode fameux du livre de Lewis Carroll : *De l'autre côté du miroir* (deuxième volet d'Alice au pays des merveilles) au cours duquel le personnage principal et la Reine Rouge se lancent dans une course effrénée. Alice demande alors : « *Mais, Reine Rouge, c'est étrange, nous courons vite et le paysage autour de nous ne change pas ?* » Et la reine répondit : « *Ici il faut courir pour rester à la même place. Pour aller quelque part, il faudrait courir deux fois plus vite* ». Comme Alice et la Reine Rouge, les espèces sont entraînées dans une course à l'adaptation pour pouvoir « rester à la même place » dans la biosphère. En effet, en matière d'environnement « l'enfer c'est les autres ».

Cette théorie de la coévolution est issue de l'observation que la probabilité d'extinction d'une espèce ou d'un clade reste constante tout au long de son évolution dans le temps : l'effort d'adaptation d'une espèce n'atteint jamais complètement son but et est toujours à recommencer, indépendamment des changements de l'environnement physique. Ce sont les facteurs biotiques qui constituent le principal moteur de l'évolution et l'essentiel de la pression de sélection qui s'exerce sur les êtres vivants. Chaque avancée évolutive d'une espèce face à son environnement contraint les autres à s'adapter en retour, car cette évolution des uns est perçue comme une détérioration de l'écosystème par les autres : les espèces sont obligées d'évoluer pour ne pas être dépassées par les organismes avec lesquels elles sont en compétition. Une niche écologique ne reste jamais vierge, l'organisme le mieux adapté la colonisera.

De la même manière, la théorie du soi et du non soi (formulée par M. F. Burnet et F. Fenner dès 1949), dont l'importance a rigidifié les points de vue, a probablement retardé la compréhension d'un système plus global. Les autres théories n'avaient pas leur place (Théorie du Danger de P.Matzinger, théorie de la continuité de T.Pradeu,...) jusqu'à l'avènement de

Introduction

l'ère microbienne et le changement de concept de l'organisme au superorganisme. Pasteur avait encore une fois raison, un macro-organisme ne peut vivre sans micro-organisme. Notre microbiote fait partie intégrante de nous et nous devons nous penser non plus comme des organismes multicellulaires eucaryotes mais comme un holobionte ou superorganisme. Ce partenariat a été sélectionné pour être le plus optimal puis ce superorganisme a été sélectionné par l'évolution à l'échelle de la vie.

Nous ne pouvons plus opposer monde eucaryote et procaryote (ou archébactérien, ou viral), nous ne pouvons plus penser simplement que les microbes sont des ennemis que nous devons détruire. Les microbes sont partout dans le temps et dans l'espace. Ils concourent aussi bien à l'état de santé qu'à la maladie. Nous ne pouvons plus classer chaque microbe dans une case « pathogène » ou « non pathogène » (9,10). Ce que nous observons est un état d'équilibre ou de rupture d'équilibre (dysbiose) que la co-évolution a permis. La maladie infectieuse est plus souvent le résultat d'une modification de la relation hôte-microbe que liée au caractère « déterminé » pathogène ou non du microbe.

Alors la médecine, particulièrement la maladie infectieuse et la microbiologie, à l'heure des implants et de la multi-résistance ne sait plus vraiment où regarder...

PARTIE I
DE L'HOMME AU
CYBORG

Les implants médicaux

Certains parlent de nouvelle ère, l'anthropocène. Cette ère correspond à l'accélération des technologies depuis la révolution industrielle. Accélération qui a produit de nombreuses avancées pour l'humanité, augmentant ainsi son confort. Parmi celles-ci les implants en médecine. L'association de l'hygiène, des antibiotiques et enfin des biomatériaux a permis l'essor de cette technologie... conduisant demain à l'homme bionique.

Prothèse (n. fém.) → Du latin prothesis qui signifie "addition" (le suffixe pro- signifie "pour" et -thèse signifie "appui"). D'après la définition de William et Roaf (11), une prothèse est un dispositif placé dans un organisme biologique pour accomplir une fonction physiologique défaillante, pendant une période la plus longue possible.

Épistémologie : vers une humanité de cyborgs et nouveaux paradigmes

Les premières prothèses semblent remonter à l'antiquité avec des dispositifs d'abord à visée orthopédique. En effet, à une époque où l'espérance de vie à la naissance était d'une trentaine d'année excluant de nombreuses maladies organiques de sénescence, la station debout et la mobilité étaient alors les conditions sine qua none de la survie. Les premières références à une prothèse se trouvent dans la mythologie grecque : Demeter mangea sans le vouloir l'épaule de Pelops (petit-fils de Zeus) et cuisiné par l'infâme Tantale. Les dieux s'en rendant compte, rendirent la vie à Pelops et ses morceaux (vu qu'il avait été découpé en petits bouts par son père). Comme l'épaule était incomplète, Demeter lui en fit une en ivoire. Un livre sacré hindou mentionne Vishpala, une femme amputée de la jambe après avoir été blessée pendant une bataille. Elle est dotée d'une jambe de fer qui lui permet de marcher. Une des premières prothèses a été trouvée en Égypte grâce à la découverte d'une momie de femme d'environ 3000 ans, amputée de son orteil alors remplacé par un appareillage en cuir et bois sculpté. Les traces d'usure retrouvées sur cette prothèse prouvent une fonctionnalité utile au mouvement au-delà d'un seul but esthétique. li

De l'antiquité jusqu'au XVI^{ème} siècle de nombreuses autres traces sous formes de récits et gravures permettent de démontrer l'usage croissant de prothèses. Pendant le Moyen Âge, les prothèses se limitaient à des pilons pour remplacer les jambes, et à des crochets pour remplacer les mains. Ces prothèses en bois, en fer ou en cuir, n'avaient à cette époque qu'un

Introduction

but fonctionnel. Seuls les riches pouvaient s'offrir des prothèses plus sophistiquées, mais elles étaient lourdes et encombrantes. Les malades et amputés étaient davantage perçus sous l'angle de la pitié que sur un plan thérapeutique, en partie à cause du contexte religieux. Les avancées dans le domaine prothétique furent donc très peu nombreuses. La Renaissance et le XVIème siècle voient apparaître l'amélioration des prothèses par les chirurgiens, notamment le français Ambroise Paré. L'apparition de la poudre à canon sur les champs de bataille influence la forte augmentation du nombre de blessures et d'amputations. Les prothèses deviennent alors articulées et possèdent des armatures métalliques plus résistantes et maniables. Pour cela, Paré fit appel à des horlogers et serruriers afin de perfectionner ses prothèses. Il avait cependant conscience de la demande et créait différents produits pour différents clients (le peuple se contentait de jambes de bois tandis que les couches supérieures de la société accédaient à des prothèses sophistiquées).

Aux États-Unis, la guerre entre les États du Nord et les États confédérés du Sud entraîne de nombreuses amputations (figure 1). Grâce à la découverte de l'anesthésie, des opérations plus longues peuvent être pratiquées. Le gouvernement offre également un soutien financier et le domaine prothétique fait des progrès. Alors que les premiers dispositifs étaient fabriqués par des orfèvres et réservés à des personnes fortunées, les guerres -de sécession d'abord puis les deux guerres mondiales- aboutirent à l'essor des techniques prothétiques et des entreprises spécialisées afin de subvenir aux besoins d'un grand nombre de patients. Parallèlement à l'expansion du nombre de prothèses et de leurs bénéficiaires, s'accroissent aussi les fonctions et les types de prothèses. Ensuite, avec les deux Grandes Guerres mondiales, l'importante mobilisation des vétérans de guerre et l'aide financière du gouvernement américain vont permettre un nouvel essor dans l'industrie des prothèses. Les universités américaines et de grandes entreprises sous contrat avec le gouvernement mènent des recherches fructueuses. Elles perdent leur cantonnement à un rôle purement mécanique pour prendre de plus en plus un rôle fonctionnel élaboré tels que les implants cochléaires et rétiniens, esthétique tels que les prothèses mammaires ou un rôle de substitut d'organe vital tels que le cœur artificiel, les prothèses valvulaires et vasculaires. Les premières prothèses de hanche datent de 1922 et sont posées en France par les frères Jean et Robert Judet. Ces prothèses en méthacrylate de méthyle ont eu un très grand succès, surtout en Angleterre où elles ont pris le nom de Prothèses de Moore. En 1960, La première prothèse de genou articulé est inventée. Le genou hydraulique est inventé en 1970, avec la caractéristique de

Introduction

projeter la jambe vers l'avant à l'aide d'un cylindre hydraulique, c'est-à-dire un cylindre qui contient un liquide propulsé par des valves. L'unité hydraulique contribue à rendre le mouvement de projection de la jambe plus naturel. En 1997, Une prothèse de jambe commandée par micro-processeur est mise en place. Elle est dotée de capteurs et ses mouvements s'ajustent en temps réel. Dans sa version actuelle, elle permet des activités telles que faire du vélo. Enfin en 2005, Jess Sullivan teste le premier bras bionique du monde, mis en place par le Rehab Institute de Chicago.

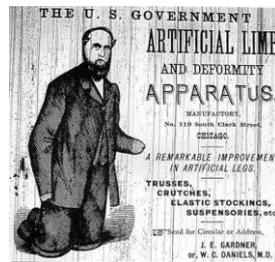


Figure 1. Publicité américaine pour les prothèses de jambes, au décours de la guerre de sécessions.

Les implants médicaux aujourd'hui

Aujourd'hui, la science prothétique a considérablement évolué, on assiste à une réelle révolution des prothèses et des méthodes d'appareillage. Les prothèses se modernisent, sont de plus en plus légères, de plus en plus résistantes, de plus en plus humanisantes; c'est-à-dire qu'on ne distinguera plus à l'avenir un membre organique d'une prothèse. La science prothétique prend de plus en plus place dans l'esthétisme (chirurgie esthétique, instituts de beauté, etc), dans le sport (handisports) et même dans le vétérinaire (prothèse animalière). Les entreprises prothétiques se comptent par milliers dans le monde; même si les prothèses sont encore majoritairement faites à la main, bientôt le marché de la prothèse sera dominé par l'Industrie prothétique.

Compte tenu de la grande diversité et de l'évolution rapide des technologies il est difficile de chiffrer exactement le nombre de personnes bénéficiant d'une prothèse au niveau mondial. Néanmoins il est à prévoir qu'avec le temps la plupart des êtres humains seront porteur d'un

dispositif prothétique, faisant évoluer l'humanité vers un stade de Cybernetic Organisms « Cyborg » (figure 2) : Les prothèses constituent-elles un nouvel échelon de l'espèce humaine?

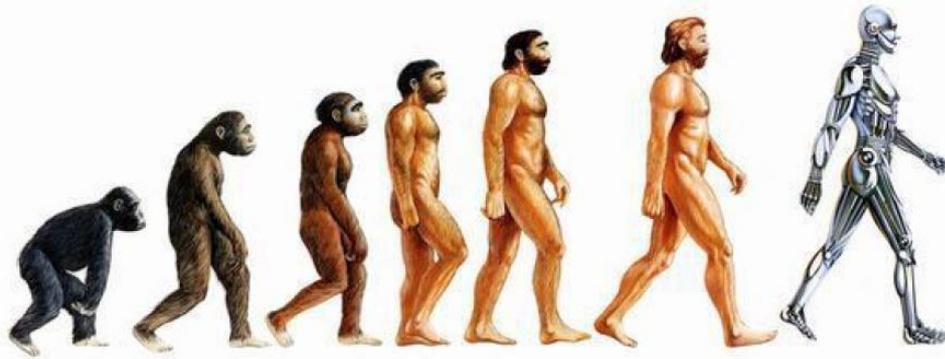


Figure 2. Schématisation de l'évolution d'*Homo sapiens* jusqu'à l'homme bionique, au cours de l'anthropocène.

Peu de données sont disponibles en réalité, sur le nombre d'implants posés, leur efficacité ainsi que leurs complications. Un grand scandale international a eu lieu l'an dernier : « Implant files ». « Implant Files » est le résultat d'un travail journalistique coordonné par le Consortium international des journalistes d'investigation (ICIJ) et l'œuvre collective de quelque 250 journalistes de 59 médias internationaux qui ont enquêté, pendant plus d'un an, sur le monde trouble des dispositifs médicaux implantables – prothèses mammaires, pacemakers, stents, implants contraceptifs, etc. Exceptionnelle, cette enquête ne l'est pas seulement par les moyens journalistiques mis en œuvre. Elle l'est aussi, et surtout, dans son intention et sa démarche. C'est la première fois que des médias internationaux forment une alliance aussi vaste, non pour exploiter et analyser une fuite de documents confidentiels, mais pour tenter de construire, ensemble, une ressource documentaire qui fait défaut : la cartographie des dégâts provoqués par ces outils peu, et parfois presque pas, réglementés. Car, malgré des dénonciations récurrentes depuis de nombreuses années, ce matériel médical n'est soumis qu'à très peu de contrôle faute d'une réglementation appropriée. Rien à voir avec ce qui se passe pour les médicaments qui ne peuvent obtenir une autorisation de mise sur le marché qu'après des essais cliniques en principe très encadrés et une réglementation plutôt tatillonne. Les dispositifs médicaux, eux, sont considérés comme une

Introduction

marchandise, le fabricant est seul responsable de ce qu'il met en vente. Le produit a besoin d'un marquage CE, ce qui n'est en rien un gage d'efficacité. Historiquement, les dispositifs médicaux ne sont pas produits par l'industrie pharmaceutique, mais par des entreprises venant de l'industrie lourde qui savaient traiter l'acier, le titane ou différents polymères. En outre, ces produits de santé n'étaient à l'origine pas destinés à être implantés : ainsi des seringues, perfuseurs, etc.... Aujourd'hui, le terme recouvre une gamme de produits bien plus large, avec des dispositifs médicaux implantés dont certains diffusent des molécules actives. Le risque est bien supérieur, mais l'évaluation légère perdure. Et lorsque les entreprises veulent commercialiser un produit à la frontière entre le monde des dispositifs médicaux et celui des médicaments, car ayant un effet mécanique et diffusant un principe actif, « les laboratoires mettent en avant l'effet mécanique et demandent un statut de dispositif médical », pour lequel l'autorisation est plus facile à obtenir.

Il serait certes complexe de calquer sur les dispositifs médicaux le processus parcouru par les médicaments afin d'obtenir une autorisation de mise sur le marché. Difficile par exemple d'imaginer poser un stimulateur cardiaque ou une prothèse de hanche sur un groupe de volontaires sains, afin d'en évaluer l'innocuité avant d'en élargir l'usage aux malades... Mais le suivi des patients implantés et a fortiori la surveillance des accidents survenus semble très insuffisante, selon l'enquête du consortium de journalistes.

Car, si les bénéfices de ces instruments thérapeutiques sont bien mis en avant par leurs fabricants, leurs risques demeurent, eux, maintenus dans une confortable pénombre. Le résultat de l'enquête suggère que ces risques sont pourtant considérables et gravement sous-estimés. L'exploitation des données publiques, aux Etats-Unis, indique que, en dix ans, le nombre d'incidents liés à ces outils approche les cinq millions et demi, avec comme conséquence près d'un million et demi de blessés et plus de 80 000 morts. Et tout indique que seule une petite fraction des dommages réels, sans doute moins de 10 %, est dûment enregistrée.

En Europe, et notamment en France, la situation est plus inquiétante encore : l'absence de suivi rigoureux des incidents, l'opacité du recueil d'informations ou la non-publicité des données recueillies rendent impossible toute évaluation sérieuse des risques liés à ces

Introduction

implants. Cette cécité n'est pas le fruit du hasard. Le moindre smartphone mis sur le marché dispose d'un identifiant unique et peut être retrouvé à peu près partout sur Terre, mais il est impossible de savoir combien de ces dispositifs médicaux – et lesquels – sont aujourd'hui implantés dans la population française. D'après l'enquête, en France où les données sont très incomplètes, la base de données MRVeille (base de données ANSM) fait état de 158.000 incidents en dix ans.

« Implant Files » le montre : au niveau européen, c'est l'ensemble de la réglementation régissant ces instruments qui se révèle dysfonctionnel. Les quelques scandales qui surviennent de temps à autre dans l'actualité (prothèses mammaires PIP, implants contraceptifs Essure, etc.) ne sont pas le résultat de fraudes isolées et imprévisibles, mais au contraire les conséquences logiques d'un système réglementaire défectueux. Quant aux timides avancées un temps envisagées au niveau communautaire pour mieux protéger les patients, elles ont été sapées par un lobbying agressif, auquel la Commission européenne s'est montrée singulièrement perméable.

Ce n'est pas tout. L'absence de suivi rigoureux des incidents, l'opacité de leur recueil ou la privatisation des données de surveillance s'ajoutent à un système de mise sur le marché, lui aussi profondément problématique. Le conflit d'intérêts y est une norme de fonctionnement. Dossiers incomplets déclarés recevables, défaut d'études sérieuses préalables à la délivrance des autorisations : en la matière, l'incurie des pouvoirs publics est accablante. Songeons que le point de départ de l'enquête « Implant Files » est un implant vaginal factice, bricolé par une journaliste néerlandaise à partir d'un morceau de filet à mandarines, qui a néanmoins rempli tous les critères pour être mis sur le marché.

En matière de santé plus que sur tout autre sujet, les médias sont tenus à un devoir de traitement nuancé de l'information. « Implant files » le rappelle avec force : dans de nombreuses situations, certains de ces dispositifs implantables se révèlent bénéfiques, parfois vitaux. C'est indéniable. Mais comment évaluer la balance bénéfice-risques, lorsque les risques sont occultés ? Comment réguler sans connaître ? Il ne s'agit donc pas pour le journalisme de se substituer à l'expertise, mais au contraire de mettre au jour un défaut d'expertise impartiale.

Bref, trouver des chiffres sur le nombre d'implants en France ou dans le monde n'est pas aisé. Leurs complications encore moins. Une revue consacrée aux infections liées aux implants chirurgicaux parue en 2001 dans la revue *Clinical Infectious Disease*, rapportait les chiffres américains nous donne quelques chiffres sur le nombre d'implants par an (**tableau 1**)(12) :

Tableau 1. Estimation du nombre d'implants inséré aux États-Unis en 2001, et leur taux d'infections associées ainsi que leurs mortalités. Les taux d'infections correspondent à une infection initiale. D'après (12).

Device	Estimated no. inserted in the United States per year	Rate of infection, %	Attributable mortality ^a
Bladder catheters ^b	>30,000,000	10–30	Low
Central venous catheters ^{b,c}	5,000,000	3–8	Moderate
Fracture fixation devices ^b	2,000,000	5–10	Low
Dental implants ^d	1,000,000	5–10	Low
Joint prostheses ^b	600,000	1–3	Low
Vascular grafts ^b	450,000	1–5	Moderate
Cardiac pacemakers ^{b,d}	300,000	1–7	Moderate
Mammary implants, in pairs ^b	130,000	1–2	Low
Mechanical heart valves ^d	85,000	1–3	High
Penile implants ^{b,d}	15,000	1–3	Low
Heart assist devices ^d	700	25–50	High

Le nombre d'implants posé aux États-Unis, et a *fortiori* dans le monde est donc non négligeable. Et on imagine bien que depuis 2004, ce nombre a largement augmenté (13). Leurs complications sont nombreuses et variées. La plus redoutée et probablement la plus compliquée sur le plan thérapeutique est probablement la complication infectieuse. Nous nous limiterons à celle-ci dans ce travail.

La complication infectieuse liée à ces corps étrangers

Les implants peuvent être comme on l'a vu, **permanents** ou **temporaires**. De même ils peuvent être **transdermiques** ou **profonds**. Par implant, il faut surtout entendre corps étrangers. Ces deux qualités entraînent des différences importantes en termes de physiopathologie, prévention et traitement. Pour les implants permanents, on peut citer comme exemple les pacemakers, les stents coronaires, les prothèses vasculaires, les dérivations ventriculaires internes. Ces exemples-là sont aussi des implants profonds, dans un

Introduction

site stérile, où l'exposition bactérienne est normalement limitée au temps chirurgical d'implantation. Les implants transdermiques sont le plus souvent temporaires et sont par définition en permanence exposés aux bactéries. Leurs complications infectieuses sont donc plus fréquentes. Ce sont les cathéters veineux centraux, les cathéters de Canaud, les PICC line, les dérivations ventriculaires externes, les capteurs de pression intracrânienne, les sondes urinaires. Du fait de l'exposition permanente ou non aux bactéries et autres microbes, la physiopathologie comme la prise en charge de ces infections sont différentes.

En 2004, environ la moitié des 2 millions d'infections nosocomiales annuelles aux États-Unis étaient liées à du matériel (hors cathéters veineux centraux). Les conséquences cliniques et économiques sont importantes (**tableau 1 & 2**). Les complications infectieuses peuvent être associées à une surmortalité, particulièrement pour les infections liées aux implants cardiovasculaires, comme les valves cardiaques ou les prothèses aortiques (>25%). Les infections de prothèses orthopédiques ou des dérivations ventriculaires internes sont plus souvent à l'origine d'une aggravation de la morbidité. Enfin les infections des implants mammaires ou péniens ont plutôt un retentissement esthétique (14). Excepté pour les pacemakers associés aux défibrillateurs, le coût de l'implant lui-même ne constitue qu'une faible part du coût total du traitement de ces infections.

Tableau 2. Conséquences cliniques et économiques des infections associées aux implants chirurgicaux. D'après (14).

Table 1. Clinical and Economic Consequences of Infections Associated with Surgical Implants.*					
Implant	Implants Inserted in the U.S. Annually	Projected Infections of Implants Annually	Average Rate of Infection†	Preferred Practice of Surgical Replacement	Estimated Average Cost of Combined Medical and Surgical Treatment
	no.		%	no. of stages	U.S. \$
Cardiovascular					
Mechanical heart valve	85,000	3,400	4	1	50,000
Vascular graft‡	450,000	16,000	4	1 or 2	40,000
Pacemaker-defibrillator	300,000	12,000	4	2	35,000§
Ventricular assist device	700	280	40	1	50,000
Orthopedic					
Joint prosthesis	600,000	12,000	2	2	30,000
Fracture-fixation device¶	2,000,000	100,000	5	1 or 2	15,000
Neurosurgical — ventricular shunt					
	40,000	2,400	6	2	50,000
Plastic — mammary implant (pair)					
	130,000	2,600	2	2	20,000
Urologic — inflatable penile implant					
	15,000	450	3	2	35,000

Les taux d'infections sont très variables. Les taux rapportés dans le **tableau 1** se réfèrent à une infection première et sont documentées microbiologiquement. En effet, les taux de réinfection sont bien plus élevées (12).

La plupart des cas d'infections en réanimation sont liés à des dispositifs médicaux. Dans cette population, 95% des infections urinaires sont liées à la sonde urinaire, 87% des bactériémies proviennent des cathéters vasculaires, et 86% des pneumonies sont associées à la ventilation mécanique (15). On voit ici que ce sont essentiellement des dispositifs transdermiques et temporaires. Cependant la morbi-mortalité associée à ces infections est importante car survenant sur un terrain fragile.

Colonisation bactérienne et fonctionnalité de l'implant

La colonisation bactérienne peut mener à l'infection mais elle peut aussi entraîner une dysfonction des dispositifs médicaux. Ceci peut être le fait d'une réaction inflammatoire indolente. Par exemple, la contracture capsulaire est la cause la plus commune de retrait des implants mammaires. Elle est due à une colonisation, le plus souvent à *Staphylococcus* à coagulase négative (CoNS) sans signe clinique d'infection (12). L'autre mécanisme important est lié au biofilm. Sa formation est asymptomatique jusqu'à ce qu'il gêne le bon fonctionnement de l'implants : modifiant les résistances des valves de pression ou occluant complètement la lumière du dispositif, comme rapporté pour les dérivations ventriculaires externes (16) ou pour les stents biliaires (12). Le biofilm peut aussi conduire à des descellements de prothèses ostéo-articulaires ou des implants dentaires.

Les implants en neurochirurgie

En neurochirurgie, de nombreux matériaux peuvent être maintenant implantés. Soit de manière définitive, soit de manière temporaire. Soit dans un milieu stérile, enfoui dans le corps humain, sans plus aucun contact avec l'extérieur, soit transdermique : faisant communiquer l'intérieur du corps humain (stérile) avec l'extérieur. On peut citer les électrodes de stimulation dans différentes situations : encéphalique (thalamique, sous thalamique), médullaire. Elles sont en général profondes et permanentes, comme les valves

de dérivation ventriculaire interne ou les réservoirs d'Ommaya. On peut leur opposer les capteurs de pression intracrânienne (PIC) ou les dérivations ventriculaires externes (DVE), temporaires et transdermiques. De tous ces implants, les plus connus pour s'infecter sont les DVE. L'importance de la colonisation des autres implants est inconnue.

Les dérivations ventriculaires externes

Historique et indication de la DVE

La première mention du LCR provient du papyrus d'Edwin Smith, un ancien texte datant de 1500 avant notre ère (16). En 1664, Thomas Willis postulait que les plexus choroïdes sécrétaient le LCR qui était ensuite contenu dans les ventricules. Antonio Pacchioni décrit les granulations qui portent son nom en 1705. Key & Retzius rassemblèrent ce savoir, prouvant que le LCR est sécrété par les plexus choroïdes, coule à travers le système ventriculaire, puis est réabsorbé par les villosités sous-arachnoïdiennes et par les granules de Pacchioni. Alexander Monro secundus décrit la connexion entre les ventricules latéraux et le troisième ventricule en 1765. Mais il faudra attendre Georges Burrows & Harvey Cushing pour que le rôle du LCR dans la pression intracrânienne soit compris. Le premier drainage du LCR pour hydrocéphalie fut rapporté par Claude-Nicolas Le Cat en 1744 : il ponctionna un ventricule et laissa en place une mèche. Depuis lors, il y a eu de nombreux changements dans la technique, les matériaux utilisés, les indications pour la procédure et la sécurité. L'histoire de la DVE est mieux appréciée en distinguant 4 époques de progrès : développement de la technique (1850-1908), progrès technologiques (1927-1950), expansion des indications (1960-1995), précision, entraînement et contrôle des infections (1995 -présent). En 1850, Benjamin Hill décrit la technique de ponction du 3^e ventricule malgré les résultats lugubres de la technique. Il écrit : « c'est une des opérations questionnables de la chirurgie, qui bien que reconnue depuis longtemps, a été suivie de si peu de succès, qu'elle n'est en général pas recommandée-sauf en dernier ressort ». Ainsi, dès le départ, cet acte était grevé d'une forte mortalité, que l'on peut supposer infectieuse. Carl Wernicke réalisa la première ponction stérile et drainage ventriculaire en 1881, et écrit que « quand elle est réalisée dans ces conditions, cette intervention est parfaitement sans danger ». En ces débuts difficiles, de

nombreux simili-cathéter furent utilisés pour prolonger le drainage, incluant des boyaux de chats, de la soie ou du crin de cheval (**tableau 3 A**).

A **B**
 tableau 3. Le panel A montre brièvement l'historique des matériaux utilisés pour drainer le LCR ; le panel B rapporte l'évolution des durées de drainage du LCR.

Material Used	First Published Description	Authors & Year	Mean Drainage Time (days)	Maximum Drain Time
horsehairs	Keen, 1890	Smith & Alksne, 1976	4	9 days
catgut wick	1899	Saunders & Lyons, 1979	6	3 wks
metal cannula	1911	Bering, 1951	6	18 days
silver cannula secured by beef bone washer	Adson & Lillie, 1927	White et al., 1969	21.5	176 days
flanged silver cannula	Ingraham & Campbell, 1941	Chan & Mann, 1988	16	44 days
rubber tubing	Crawford & Munslow, 1943			
silk urethral catheter	Robinson, 1948			
Silastic catheter	White et al., 1969			

Alors que la DVE a été tentée pour la première fois au 18ème siècle, ce n'est qu'en 1890 que William Williams Keen a publié le premier rapport complet sur la technique et les résultats de la DVE. Il y décrit le surdrainage, la comitialité, le décès. Mais il rapporte aussi le cas d'une fillette atteinte de ce qui ressemble à une méningite et que la DVE a « sans aucun doute sauvée ». La mortalité de sa série de 7 patients était de 71%. Il a été suivi par H. Tillmanns, qui a décrit la technique qui serait utilisée pendant de nombreuses années. Suite à cela, de nombreuses améliorations ont été apportées au drain lui-même, y compris l'ajout de la manométrie par Adson et Lillie en 1927, et l'expérimentation continue dans les matériaux de cannulation / drainage. Dans le cadre de l'amélioration de la prévention de l'infection, le premier système clos est standardisé au début des années 1940, suivi de la chambre d'égouttement du LCR, interdisant le retour au cerveau du LCR drainé, puis la tunnelisation en 1980. La standardisation des drains en silicone silastic, la manométrie intégrée, une fabrication industrielle associées à l'expérience, une meilleure connaissance ont progressivement permis d'augmenter les durées de drainage (**tableau 3B**). Les progrès technologiques ont permis une grande expansion des indications pour la DVE, déclenchée par Nils Lundberg, qui a publié une analyse approfondie de l'utilisation de la surveillance de la pression intracrânienne chez les patients atteints de tumeurs cérébrales en 1960. Cela a conduit à l'application de la DVE et de la surveillance de la PIC dans l'hémorragie sous-arachnoïdienne (HSA), le syndrome de Reye et les lésions cérébrales traumatiques. L'hydrocéphalie aiguë est une complication fréquente de l'HSA, présente dans 30% des cas.

Introduction

Sa physiopathologie a été pleinement comprise dans les années 1980 : un trouble de la rhéologie du LCR, conduisant à une accumulation de celui-ci dans le SNC, faisant augmenter dangereusement la pression. Les rapports modernes montrent que l'HSA est l'indication la plus commune d'une DVE (16). Son application dans le traumatisme crânien s'est développée en même temps que celui de l'HSA. La mesure et la surveillance de la PIC ont permis de faire le lien entre la PIC et la mortalité et la mauvaise évolution. En 1995, the Brain Trauma Foundation recommandait la surveillance de la PIC pour tous TC grave (**Figure 3**).

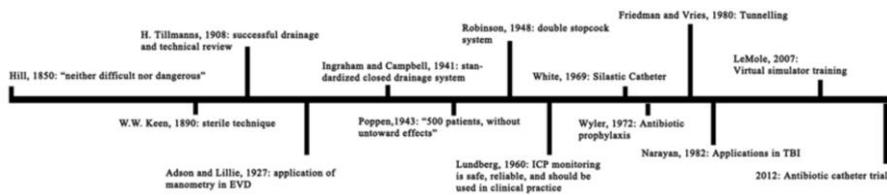


Figure 3. Représentation schématique de l'histoire de la dérivation ventriculaire externe.

Aujourd'hui, la pose d'une DVE fait partie des gestes neurochirurgicaux les plus communs. Des recherches récentes sur les DVE ont mis l'accent sur l'amélioration de la sécurité globale de la procédure, qui comprend la mise au point de systèmes de neuronavigation pour la pose, de simulateurs de réalité virtuelle pour les stagiaires. La principale complication est l'infection.

Les capteurs de pression intracrânienne intraparenchymateux

Les facteurs influençant la PIC sont à la fois physiologiques (position relative de la tête par rapport au corps, facteurs métaboliques, pression sanguine) et pathologiques (œdème cérébral, volume des lésions, troubles de la circulation du LCS, modifications du volume sanguin et des pressions artérielle et veineuse). Chez l'adulte, les variations fréquentes et brutales de ces paramètres au sein de l'enclume crânienne rigide font de la PIC l'élément essentiel du monitoring multimodal de neuroréanimation. Cette mesure permet d'évaluer des éléments de la biomécanique intracrânienne et une partie de l'hémodynamique cérébrale. L'élévation de la PIC ou hypertension intracrânienne (HTIC) est associée à une

importante mortalité et à un mauvais pronostic lors de lésions expansives ou de traumatisme crânien grave.

Pression intracrânienne et ses composants

Chez l'adulte, l'enceinte crânienne est considérée comme rigide et close bien qu'elle communique avec un important secteur intrarachidien offrant physiologiquement un vase d'expansion. La PIC physiologique d'un adulte en décubitus strict est inférieure ou égale à 15 mmHg mais sa valeur peut osciller jusqu'à 20 mmHg. Dans ces conditions, elle s'équilibre tout le long de l'axe cérébro-spinal. Liée à la pression atmosphérique, elle fluctue avec les rythmes cardiaques et respiratoires ainsi qu'avec des rythmes de l'arbre vasculaire ou ondes lentes, sous contrôle neurovégétatif. La cavité crânienne est divisée par la tente du cervelet en un compartiment supratentorial, lui-même séparé en deux dans un plan sagittal par la faux du cerveau, et un compartiment sous-tentorial. Ce dernier communique avec le canal rachidien par le foramen magnum. L'enceinte qui contient le LCS est appelée enceinte ventriculo sous-arachnoïdienne (EVSA). Son volume physiologique est de l'ordre de 140 mL. L'enceinte durale craniorachidienne est composée de trois secteurs volumiques : le parenchyme cérébral (70 % à 80 %), l'EVSA (5 % à 20 %) et le volume sanguin cérébral (VSC) (5 % à 15 %).

Le principe de Monroe-Kellie donne comme constante la somme des trois volumes du contenu intracrânien :

$$\text{Volume cérébral} + \text{Volume EVSA} + \text{Volume sanguin} = \text{constante.}$$

Toute addition volumique extrinsèque, ou simplement le changement de volume d'au moins l'un des trois, entraîne une augmentation de la PIC en l'absence d'une réduction réciproque ou équivalente d'au moins l'un des autres compartiments. Ainsi le cerveau, structure viscoélastique, est lentement compressible par modification des secteurs intra- et extracellulaires et le VSC peut se modifier très rapidement par le jeu de la vasomotricité cérébrale. Le volume du LCS est fonction de l'équilibre entre la production et la résorption, physiologiquement d'environ 0,35 mL/min, et du volume de l'EVSA. Ce dernier peut être modifié par expansion du secteur rachidien au dépens de l'espace extradural. Lorsque ces mécanismes compensateurs sont dépassés par des modifications pathologiques de volume

Introduction

(tumeur, hématome, œdème, hydrocéphalie, vasoplégie), une hypertension intracrânienne se développe (**figure 4**). La pression de perfusion cérébrale peut-être altérée et des déplacements des structures cérébrales peuvent alors engendrer des lésions d'ischémies et/ou être à l'origine d'engagements (ischémie localisée).

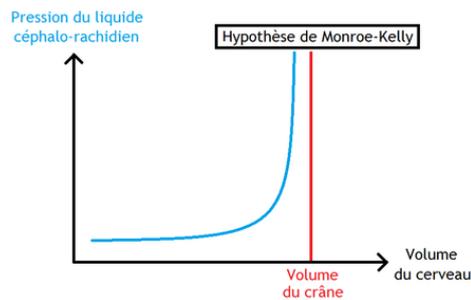


Figure 4. Représentation de la courbe pression-volume intracrânienne (hypothèse de Monroe-Kelly).

Ainsi, la mesure de PIC n'est pas seulement utilisée dans le but de diagnostiquer et de traiter une HTIC mais, couplée à la pression artérielle moyenne (PAM), elle permet d'optimiser la pression de perfusion cérébrale (PPC), et ainsi de limiter l'apparition de lésions ischémiques secondaires.

Bien que son utilisation ne soit toujours pas validée par des études randomisées, la mesure de la PIC a été associée à une amélioration du pronostic chez le traumatisé crânien grave. Le monitoring de la PIC est donc une pratique recommandée chez le traumatisé crânien grave, reposant sur des évidences cliniques (classe IIB) (17). Bien que le monitoring de la PIC soit devenu une routine, il n'existe pas de recommandations concernant le choix de la méthode de monitoring.

Les DVE sont considérées comme la mesure de référence de la pression intracrânienne (PIC), et sont la référence avec laquelle tous les autres systèmes ont été comparés (18). Leurs rôles sont importants car en plus de la mesure de la PIC, elles permettent la soustraction de liquide céphalo-rachidien (LCR), permettant dans une certaine mesure un contrôle de cette PIC. Cependant leurs complications (hémorragiques, infectieuses) peuvent être très graves. Par

Introduction

ailleurs, soit elles drainent, soit elles mesurent cette PIC. Ainsi, la mesure est souvent discontinuée.

Les capteurs intraparenchymateux sont maintenant largement utilisés. Le premier capteur de PIC parenchymateux en fibres optiques a été développé en 1985, pour permettre une mesure continue (Camino Laboratories, San Diego, CA, USA)(19). Initialement, plusieurs capteurs adaptés aux différents lieux de mesures ont été développés : Sous-dural, épidual, parenchymateux. La mesure parenchymateuse est de loin la plus largement utilisée.

Des études ont évalué les performances techniques comparées à celles de la DVE, notamment dans le temps, ainsi que leurs complications. Certaines étaient prospectives et évaluaient cliniquement jusqu'à 1000 capteurs (20). Grossièrement, toutes les marques de capteurs intraparenchymateux ont été évaluées (19–27). La technique a fait la preuve de sa fiabilité, et ses complications, essentiellement hémorragiques et infectieuses, sont faibles.

Ces capteurs sont donc des corps étrangers, pleins, insérés dans les zones non éloquentes du cerveau (territoire jonctionnel antérieur). Comme les DVE, ils traversent les 3 barrières protectrices du système nerveux central : l'os, les méninges et la barrière hémato-encéphalique. Par contre, leurs extrémités se situent dans le parenchyme cérébral et ne drainent pas de liquide (**figure 5**).

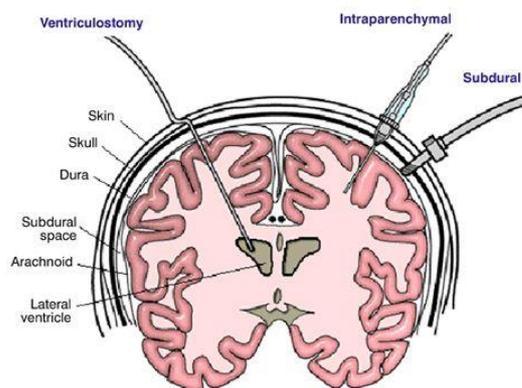


Figure 5. Représentation schématique des 2 techniques majeures de mesure de la pression intracrânienne. La dérivation ventriculaire externe voit son extrémité placée dans un des ventricules latéraux, où elle peut drainer du liquide céphalo-rachidien, et le capteur de pic parenchymateux, dont l'extrémité se situe dans le parenchyme, et dont le rôle se limite à la mesure de la pression.

Introduction

PARTIE II

Spécificités des infections liées au matériel

Introduction

Tous les patients bénéficiant d'un dispositif médical implanté présentent un risque augmenté d'infection du site opératoire. C'est en 1973 qu'Andriole, parmi les premiers, réalisait que les corps étrangers pouvaient favoriser le développement infectieux (28). Cette susceptibilité augmentée est observée quel que soit le dispositif. Elle est liée à un déficit immunologique localisé à l'interface entre l'hôte et l'implant. Ce déficit immunitaire est associé à une diminution de la clairance bactérienne, permettant aux bactéries contaminantes de provoquer une infection liée aux matériels (ILM).

Les ILM sont assez particulières et se différencient de la maladie infectieuse telle qu'on la connaissait depuis Pasteur et Koch. Ces deux génies avaient proposé la théorie du germe, c'est-à-dire que certaines maladies (infectieuses) sont liées à des micro-organismes, et que ces microbes pouvaient être mis en évidence grâce à la culture, conduisant au postulat de Koch. En fait, ils avaient décrit la maladie infectieuse associée à la forme planctonique des bactéries. Les infections liées aux formes planctoniques sont essentiellement communautaires (indépendantes de l'hôpital et des soins), avec une symptomatologie bruyante pouvant conduire au décès. Les 100-150 ans qui suivirent améliorèrent les tests diagnostiques, les outils thérapeutiques et la prévention avec succès. En 1969, un certain William Stewart, (US surgeon general – un équivalent de notre directeur général de la Santé), déclarait « qu'il était temps de fermer le livre des maladies infectieuses ». Dans le courant des années 1970, on décidait à Paris la fermeture de l'hôpital Claude Bernard, sorte de symbole des maladies infectieuses, puisqu'elles n'existaient plus.

Cependant, la forme planctonique ne représente qu'une partie infime de la vie bactérienne (1%). Et la forme majoritaire est resté invisible pendant longtemps. Pour la petite histoire, Pasteur avait été opposé une fois de plus à R.Koch sur le fait qu'un macro-organisme puisse vivre sans micro-organisme. Koch avait gagné ce débat...pour un temps. Cette hypothèse a renforcé l'idée de l'homme pur (et axénique) chère aux nazis.

Pathogénèses des infections liées aux matériels

Ces infections résultent de l'interaction entre 3 participants majeurs : les micro-organismes, l'hôte et le matériel lui-même. De ces 3 facteurs, les bactéries sont probablement les plus importantes dans la pathogénicité de ces ILM, tandis que les facteurs dépendant du matériel sont les plus « faciles » à modifier pour améliorer la prévention de ces ILM.

Les facteurs bactériens

La première étape de la colonisation bactérienne est bien entendu l'adhésion bactérienne. Elle survient surtout en per ou post-opératoire. Les bactéries utilisent des molécules d'adhésion différentes pour se fixer au matériel. Par exemple, *Staphylococcus aureus* et *epidermidis*, qui sont deux germes très fréquemment en cause dans les ILM, n'agissent pas de la même manière. L'adhésion de *S. epidermidis* sur une surface n'est pas un phénomène en une étape, mais plutôt un processus dynamique. Initialement, des facteurs environnementaux non spécifiques (pH, tension de surface, hydrophobicité, forces électrostatiques) ou spécifiques par des adhésines (proteinaceous autolysin et la capsular polysaccharide intercellular adhesin (PSA) probablement codé par l'opéron *ica*) « informent » la bactérie de la présence d'une surface, et entraînent l'adhésion rapide de *S. epidermidis* (29,30). S'ensuit une phase accumulative durant laquelle les bactéries adhèrent les unes aux autres pour former le biofilm (ou entrent en mode de vie biofilm, ce sont les bactéries sessiles). Ce processus est médié par le polysaccharide intercellular adhesin (PIA). A la différence de *S. epidermidis* qui utilisent des adhésines bien définies, les mécanismes d'adhésion de *S. aureus* semblent plus dépendants de la présence de ligands de l'hôte sur la surface du matériel, tel que la fibronectine, la vitronectine, le fibrinogène, ou le collagène. *S. aureus* adhère à ses ligands grâce à des molécules de surface, diverses et variées, regroupées sous le nom de « microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules » : MSCRAMM (31). Cependant le rôle de ces MSCRAMM dans la pathogénicité des ILM n'est pas clair.

En général, les systèmes d'adhésion sont moins bien connus pour les Gram négatifs. En général, l'adhésion passe par différents fimbriae.

Il est généralement admis que les ILM sont le fait du développement bactérien en biofilm. Une part pourrait être liée à la persistance intracellulaire de bactérie. Mais très peu de

Introduction

données sont disponibles, et ce phénomène semble minoritaire. Nous allons donc introduire le biofilm et ses conséquences. Le biofilm vient du fond des âges (les premières traces de vie sur la planète, > 3 milliards d'années, sont attestées par les stromatolithes qui ne sont rien d'autres que.... la structure minérale du biofilm qui a persisté au cours des millénaires) et se trouve partout, même sur la station spatiale internationale. Le biofilm est le mécanisme le plus abouti (avec les persisteurs) de protection de la vie !

Biofilm

La définition du biofilm est pour l'instant, morphologique : c'est un agrégat bactérien au sein d'une matrice extracellulaire

Biofilms bactériens et leur place en pathologie humaine

1. Découverte du biofilm bactérien

Les débuts de la microbiologie reposent sur les observations de Van Leeuwenhoek, qui, durant le 17^{ème} siècle, mit en évidence par un microscope de son invention des organismes fixés sur la surface de ses dents. Cependant, bien que les bactéries aient d'abord été identifiées à la surface de supports solides, les postulats de Koch (1881) établissant un lien de causalité entre agent pathogène et maladie, ont orienté la microbiologie et les pathologies infectieuses vers l'étude des formes planctoniques des microorganismes, négligeant leur forme de vie sessile (biofilms). Ainsi la majorité des données actuelles repose sur des travaux effectués sur ces formes avec croissance dans des milieux liquides et enrichis. Cependant, dès les débuts de la recherche en microbiologie, certains travaux mettent en évidence une interaction entre les microorganismes et les surfaces. En 1933, Arthur Henrici observe, sur des lames de microscope qu'il a plongées dans un aquarium, un dépôt de microorganismes qui s'épaissit au fil du temps. Ce n'est que dans les années 1940, qu'Heukelekian et Heller puis Zobell ont observé que dans les écosystèmes marins, la concentration de microorganismes autour ou sur une surface immergée dans le milieu était beaucoup plus importante que dans le reste de celui-ci (32,33). Ce phénomène n'a cependant pu être étudié en détail qu'à partir des années 1970 grâce aux premiers microscopes électroniques qui ont

permis une meilleure résolution d'image. C'est ainsi que Jones *et al.* puis Characklis ont pu analyser ce phénomène sur les filtres à eau industriels. C'est en 1978 que les travaux de Costerton mettent en évidence que l'essentiel de la biomasse microbienne est fixée sur des supports et constitue des populations hétérogènes englobées dans une matrice extracellulaire riche en eau, sucres et protéines (34). Présentes dans tous les environnements et associées à des surfaces minérales, végétales (surface des feuilles) ou animales (muqueuses, dents...), elles sont appelées biofilms. On estime ainsi que 80% de la biomasse bactérienne de notre planète réside sous forme d'un biofilm (35). De plus, de telles organisations ont été décrites sur des roches fossiles de 3,3 à 3,4 milliards d'années retrouvées en Afrique du Sud. Cette forme de vie sessile serait partagée par les Aquificales, ancêtres phylogénétiques des bactéries retrouvées dans les sources chaudes (36). Ces informations indiquent donc que la capacité à former des biofilms est une caractéristique extrêmement ancienne des procaryotes. Cette faculté pourrait ainsi être à l'origine du développement de micro-organismes complexes, car au cours de l'évolution, elle a fourni des conditions d'homéostasie face aux conditions environnementales difficiles et fluctuantes de la Terre primitive (températures extrêmes, pH et exposition à la lumière ultraviolette) (37).

2. Histoire naturelle de la formation des biofilms bactériens

Malgré la multitude d'environnements dans lesquels ils sont retrouvés, les caractéristiques visuelles des biofilms sont fortement similaires, indiquant que leur structure architecturale est un élément fondamental de la survie bactérienne. La formation d'un biofilm bactérien est constituée de plusieurs étapes successives conservées au sein du règne procaryote. L'observation directe de leur formation en microscopie et les études génétiques réalisées au sein de populations constitutives de biofilms ont permis de décrire un développement en cinq étapes. En milieu liquide, les bactéries se déplacent grâce à la force du flux, à la gravitation et/ou aux mouvements de leurs flagelles. Lorsqu'elles se retrouvent au voisinage d'une surface biotique ou abiotique, certaines forces d'interaction physico-chimiques interviennent (force de Van der Waals, équilibre acido-basique, charge électrostatique) et conduisent à une interaction réversible avec la surface. Ainsi, la présence de turbulences au sein d'un liquide peut majorer la formation de biofilm sur les surfaces. A mesure que les bactéries se divisent, le nombre de bactéries associées à la surface augmente et l'interaction devient alors

Introduction

irréversible (38,39). Cette transition vers l'adhésion irréversible correspond également à la synthèse de structures à la surface des bactéries, qui s'accompagne d'une profonde modification du profil d'expression des gènes (40). La troisième étape est caractérisée par la constitution de micro-colonies composées de bactéries initiales qui se divisent mais également de bactéries qui se greffent au biofilm en formation. Ce phénomène est également favorisé par l'augmentation de la densité bactérienne et le quorum sensing bactérien qui en résulte. La phase de maturation se traduit ensuite par une majoration de l'épaisseur et l'incorporation possible au sein du biofilm d'espèces bactériennes différentes ou d'autres microorganismes par accréation (biofilms mixtes). Durant cette phase, la sécrétion de matrice extracellulaire par les bactéries est médiée par l'induction d'expression de certains gènes bactériens, en réponse aux modifications phénotypiques bactériennes. Cette matrice peut représenter jusqu'à 90% de la masse du biofilm. Elle constitue l'architecture du biofilm et permet également le soutien nutritif des bactéries (41). Enfin, la phase de dispersion passive (abrasion, érosion) ou active engendre la libération de bactéries isolées ou de fragments de biofilms qui pourront permettre la colonisation de nouvelles surfaces (42,43) (**Figure 6**). Le détachement des cellules peut être initié par différents facteurs, parfois spécifiques d'espèces bactériennes : des perturbations mécaniques (force de cisaillement, abrasion), la dégradation enzymatique de la matrice polymérique, la dégradation enzymatique du substrat sur lequel le biofilm est attaché, l'induction de la motilité (43–45)...

Ainsi, la formation d'un biofilm dépend aussi bien des bactéries qui le composent que des conditions environnementales dans lequel il se développe (46).

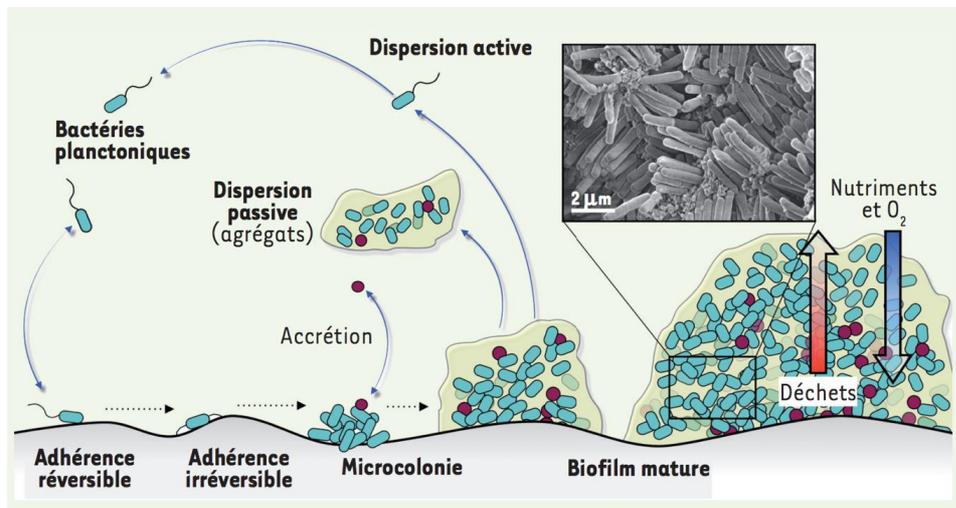


Figure 6. Les cinq étapes de la formation d'un biofilm bactérien. D'après Lebeaux et al. *Médecine/Sciences* 2012 (47)

3. Biofilms bactériens et pathologie humaine

a) Infections à biofilm

Le concept de biofilm dans le domaine médical n'a fait son apparition qu'en 1982 avec l'observation par Marrie *et al.* (équipe de Costerton) d'un biofilm bactérien sur un pacemaker infecté (2). Il est maintenant acquis que les infections sur matériel implantable (prothèses orthopédiques, pacemakers, valves mécaniques, mais aussi sondes d'intubation, cathéters...) sont dues à la formation d'un biofilm bactérien ou fongique. A ce jour, le nombre de matériels implantés dans le corps humain est en pleine expansion. Les infections de matériel en sont un effet collatéral inéluctable et fréquent. D'après le Center for Disease Control and Prevention américain, plus de 65% des infections dans les pays développés seraient dues à des infections à biofilm. Cependant, ces maladies à biofilm sur matériel se doivent d'être divisées en deux entités différentes : i) celles liées à un matériel implanté dans un site stérile, et où sa présence, même en l'absence de microorganismes virulents, conduit à la phagocytose frustrée et donc à une inflammation chronique, pouvant au minimum aboutir à une dysfonction de matériel (48) ; ii) celles liées à un matériel transdermique, où dans ce monde bactérien dans lequel nous vivons, la présence bactérienne est obligatoire. En réanimation, l'infection à biofilm est ainsi une problématique extrêmement fréquente avec notamment les infections de cathéters

Introduction

centraux, les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, les infections de cathéters de dérivations ventriculaires externes... Cependant, les infections à biofilm ne sont pas uniquement représentées par les infections sur matériel, mais elles peuvent également être à l'origine d'infections chroniques, en dehors de toute implantation de matériel exogène. Ces infections sont également caractérisées par leur difficulté thérapeutique, l'impossibilité de stériliser certains foyers d'infection et le risque élevé de récurrence. L'endocardite infectieuse sur valve native, les infections pulmonaires chez le patient atteint de mucoviscidose, les infections urinaires récurrentes sont des exemples cliniques d'infections à biofilm (49,50).

b) Tolérance des biofilms

De par ses caractéristiques biologiques et architecturales, le biofilm est un facteur important de la survie des procaryotes. Cependant, les propriétés du biofilm expliquent également ses implications en pathologie humaine. En effet, la formation de biofilm assure une protection contre un grand nombre d'agressions environnementales, tels que l'exposition aux UV, la toxicité des métaux, l'exposition à l'acide, la déshydratation et la salinité, la phagocytose et l'exposition aux antibiotiques ou autres agents anti-microbiens (51–53).

Ainsi, le problème du biofilm, c'est de s'en débarrasser. On dit que les bactéries sont sous abris. Quel que soit leur sensibilité de base au antimicrobien, elles développent en mode sessile (biofilm) une « résistance » contextuelle, appelé tolérance, réversible quand elles retournent à un état planctonique (54).

Trois mécanismes principaux sont à l'origine de la tolérance des biofilms. La première est l'effet barrière propre de la matrice extracellulaire. Cependant, ce mécanisme semble le plus efficace contre la pénétration des réactifs (eau de javel, peroxydes), des métaux ou de grands agents antimicrobiens tels que les immunoglobulines, car ceux-ci sont neutralisés ou fixés par la matrice extracellulaire et atteignent donc la masse bactérienne à des concentrations infra-létales (55). Le second mécanisme protecteur pourrait être dû à l'état physiologique des microorganismes présents au sein du biofilm. Bien que certains antibiotiques pénètrent facilement à travers la matrice extracellulaire (rifampicine, fluoroquinolones), les bactéries qui y sont présentes n'en restent pas moins protégées. La présence au sein du biofilm de zones de bactéries en phase stationnaire (accès limité aux nutriments, concentration faible en oxygène...) semble être un facteur significatif de

résistance des populations aux antimicrobiens, et particulièrement contre des antibiotiques type Béta-lactamines, qui sont très efficaces contre les bactéries se divisant rapidement (56,57). Enfin, le dernier mécanisme de protection pourrait être dû à l'existence au sein du biofilms de populations phénotypiques particulières dites bactéries persistantes, qui représentent une très petite partie de la population générale (58). Elles ne se multiplient pas, mais peuvent, sous certaines conditions, reprendre un cycle de division normal (56). Le biofilm est également un lieu favorable à l'acquisition et à l'expression de résistances réelles par les microorganismes (transferts horizontaux, exposition à des concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques, mutants).

On voit bien en médecine, l'intérêt d'empêcher l'adhésion bactérienne sur le dispositif.

4. Méthodes d'étude des biofilms bactériens

Les techniques d'étude des biofilms sont très nombreuses en recherche, mais il n'en existe pas d'utilisable en routine clinique. Les méthodes utilisées dépendent notamment des nombreux environnements dans lesquels ils peuvent se développer (dents, cathéters, canalisations, racines des plantes...).

En pratique clinique, des recommandations récentes de l'European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases concernant le diagnostic et le traitement des infections à biofilm ont été publiées en 2014 (59). En cas de suspicion d'infection à biofilm, la culture standard reste la référence même si sa sensibilité est médiocre (60). Les échantillons à prélever varient selon les types d'infections suspectées (hémocultures, liquide articulaire, examen d'urines, prélèvement distal protégé). Cependant, ces échantillons ne sont que des reflets de l'infection mais ne permettent pas à eux seuls, la mise en évidence de l'infection à biofilm. Ainsi, les recommandations préconisent dans certaines situations de rechercher le biofilm par mise en culture de la surface concernée par l'infection (cathéter, matériel ostéo-articulaire, valve cardiaque, biopsies...). La culture des cathéters ou du matériel peut être sensibilisée par sonication (61). En effet, celle-ci peut favoriser le relargage de formes planctoniques des microorganismes. Cependant, certains biofilms sont viables mais non cultivables sur les milieux de routine (62). Le laboratoire peut également utiliser d'autres méthodes associées à la culture pour détecter le biofilm dans les échantillons. Les techniques

Introduction

microscopiques, pour détecter du biofilm, doivent mettre en évidence un processus infectieux, tel que la présence de leucocytes, ainsi que la présence de microorganismes organisés au sein d'une matrice extracellulaire. La microscopie optique usuelle en utilisant des colorations de routine (coloration de Gram par exemple), permet l'observation de cellules de l'inflammation, de bactéries mais pas forcément de la matrice. Sa résolution est limitée. Cependant, d'autres méthodes microscopiques sont plus appropriées pour la mise en évidence du biofilm comme la microscopie à balayage (MEB) (63). Cette technique est basée sur les interactions électrons-matière et consiste à envoyer un faisceau d'électrons et à balayer la surface de l'échantillon. La réponse est la réémission de certaines particules (électrons secondaires, électrons rétrodiffusés), analysée par un détecteur permettant de reconstruire une image en haute résolution. Elle n'est cependant pas accessible en pratique clinique usuelle et est souvent réservée à la recherche fondamentale. Par ailleurs, l'identification spécifique microscopique des microorganismes présents au sein du biofilm des échantillons peut se faire par l'utilisation de sondes fluorescentes spécifiques d'hybridation *in situ* et par la microscopie fluorescente (64). Enfin, le développement des méthodes culture-indépendantes basées sur les techniques de polymérase chain reaction (PCR) ont pris une place intéressante dans la mise en évidence de biofilm bactérien. En effet, l'analyse métagénomique permet d'analyser les séquences génétiques de l'ensemble d'une population d'individus vivants dans le même milieu, intéressante dans l'analyse du biofilm bactérien. Elle nécessite l'extraction, la purification puis le séquençage génétique des individus et peut être ciblée sur un seul gène d'intérêt commun à l'ensemble de la population, comme le gène de l'ARN ribosomal 16S bactérien (65). Les séquences retrouvées peuvent ensuite être comparées aux bases de données existantes et l'identification des bactéries est ensuite réalisée. Ces méthodes, très utilisées en recherche fondamentale (microbiotes), trouvent de plus en plus d'applications en pratique clinique courante (endocardites, abcès cérébraux...), avec une performance diagnostique souvent supérieure à la culture standard (66,67).

Les facteurs liés au matériel

Introduction

On comprend aisément que limiter l'adhésion bactérienne est d'une importance cruciale. Une analyse attentive des données sur l'adhérence bactérienne, ainsi que sur le type de surface, conduit à 5 grands principes.

- 1- Différentes bactéries peuvent adhérer différemment au même type de matériel.
- 2- La même bactérie peut adhérer différemment à différents types de matériel.
- 3- La même bactérie peut adhérer différemment au même matériel placé dans des conditions différentes, comme le milieu (hydrophobe ou hydrophyle), le type de flux (statique ou dynamique), et la température.
- 4- L'inhibition de la colonisation bactérienne in vivo ne préjuge pas de l'efficacité anti-infectieuse in vivo.
- 5- Le bénéfice clinique d'une modification de surface particulière, peut varier d'une application à l'autre.

Quoiqu'il en soit, un certain nombre de facteurs associés au matériel peut influencer sur l'adhérence bactérienne (**tableau 4**).

Tableau 4. Facteurs liés au matériel pouvant influencer l'adhérence bactérienne. D'après (12).

Type of device material
Polyvinyl chloride favors bacterial adherence more than does teflon
Polyethylene favors bacterial adherence more than does polyurethane
Latex favors bacterial adherence more than does silicone
Silicone favors bacterial adherence more than does polytetrafluoroethylene
Stainless steel favors bacterial adherence more than does titanium
Source of device material: synthetic favors bacterial adherence more than does biomaterial
Surface of device
Irregular favors bacterial adherence more than does regular
Textured favors bacterial adherence more than does smooth
Hydrophobic favors bacterial adherence more than does hydrophilic
Shape of device: polymeric tubing favors bacterial adherence more than does wire mesh

Introduction

La rugosité, la nature, la polymérisation du matériel, son revêtement (silicone), son architecture physique (peau de requin,...) influent *in vitro* sur l'adhésion bactérienne (54). En l'absence d'un film conditionnant (dépôt de fibrinogène, vitronectine,...), la rugosité de la surface du dispositif a été constamment associée à une plus forte adhésion bactérienne (28). Si le relief de la surface se fait à une échelle inférieure à la taille des bactéries, cela semble diminuer l'adhésion. Par contre, une fois l'adhésion réussie, la formation du biofilm n'est pas affectée par le type de matériel (68,69). Le revêtement en silicone diminuerait significativement l'adhésion de *S. aureus* et de *E. coli*.

Cependant l'essentiel des données disponibles correspond à des données *ex vivo*. Les résultats cliniques sont beaucoup moins évidents. Par exemple, en chirurgie vasculaire, deux matériaux sont très utilisés pour les reconstructions aortiques : le ePFTE (expanded PolyTetraFluoroEthylène) et le Dacron®. Il semble exister une plus faible infectiosité initiale du ePFTE, mais ce risque infectieux pour le Dacron® diminue avec l'éloignement de l'implantation: ce risque majeur dans le premier mois, devient très faible par la suite du fait de l'apparition d'un pseudoendothélium qui diminue la sensibilité de la prothèse à l'infection (70). Du fait d'une inhomogénéité importante concernant les informations disponibles dans la littérature et de l'absence de grandes séries multicentriques s'intéressant à cette question, en clinique il n'y a pas de différence retenue entre ces 2 types de matériaux en termes de complications infectieuses.

C'est probablement le matériel ostéo-articulaire qui a été le plus étudié. Les matériaux les plus utilisés sont ici, le titane et ses alliages, l'acier inoxydable, le chrome-cobalt ainsi que différents polymères dont l'ultralourd poids moléculaire de polyéthylène, le polyetherethercétone, le silicone, diverses céramiques et hydroxyapatite. Les surfaces ont été très étudiées, modifiées pour éviter les pores qui offriraient des niches pour les bactéries. Bien que des progrès considérables aient été réalisés selon des évaluations *ex vivo*, les résultats cliniques sur les risques infectieux entre les différents matériaux ne semblent pas évidents. Dans une étude clinique investiguant le nombre de bactéries présentes sur des implants explantés de patients souffrant d'infections d'arthroplastie de hanche et de genou, aucune différence ne fut retrouvée entre les différents matériaux (71). Cependant la puissance limitée de l'étude (<100 infections) interdisait une conclusion quant à savoir si tel ou tel matériel était plus à risque infectieux qu'un autre. De manière intéressante, les auteurs

Introduction

rapportaient qu'une fois le matériel colonisé par du biofilm, la croissance bactérienne était similaire quel que soit le matériel.

D'un autre côté, les facteurs améliorant l'intégration des implants peuvent favoriser l'infection. Ainsi, la rugosité améliore l'intégration comme on peut le voir avec le matériel orthopédique en titane, dont la rugosité permet un meilleur attachement des ostéoblastes et ainsi une meilleure ossification (72).

Notons que les différences entre les résultats in vitro et in vivo sont probablement dues pour une grande part au recouvrement progressif des matériaux par des cellules et des protéines de l'hôte, permettant ainsi l'adhésion bactérienne quel que soit le matériel recouvert.

Les matériaux imprégnés en antimicrobiens

Le principe du revêtement antibiotique des matériaux est de délivrer localement une forte concentration d'antibiotique au site de colonisation potentiel (73). Différents modes d'actions sont proposés. Certains antibiotiques sont liés de manière covalente à la surface de l'implant et leur action se limite aux bactéries entrant en contact avec la surface de l'implant (ex : le titane lié de manière covalente à la vancomycine). D'autres relarguent de manière continue l'antibiotique dans le milieu, créant une zone de bactéricidie (stase ?) autour de l'implant (ex : DVE imprégnées en clindamycin-rifampicin). Enfin pour certains, c'est un film recouvrant l'implant qui relargue l'ATB (ex : sondes d'intubation recouvert d'argent, cathéter veineux centraux recouvert de minocycline-rifampicine).

Le plus souvent, ce sont des ATB traditionnelles qui sont utilisés, même si l'incorporation de nanoparticules d'argent, des composants d'ammonium quaternaires, des furanones (actif contre le quorum sensing), des peptides, etc.. a été rapportée. De nombreuses combinaisons ou nouvelles technologies sont à l'essai.

L'efficacité de cette d'approche semble dépendre du type de matériaux, de sa durée d'implantation et de son caractère profond ou transdermique. L'exemple des cathéters veineux centraux illustre bien les bénéfices et limites de cette stratégie. Le risque d'infection liée au cathéter est significativement réduit pour les durées d'implantation < 14 jours. Les cathéters imprégnés en minocycline-rifampicine sembleraient plus efficaces que ceux

Introduction

imprégnés en chlorhexidine-sulfadiazine d'argent (54). Cependant, l'effet protecteur n'est pas démontré pour les cathéters veineux centraux de longue durée. Ici encore est avancée une perte d'activité croissante due au dépôt protéiques et cellulaires de l'hôte (54). Puis secondairement, avec des durées d'implantation très longues, une disparition de la présence de l'antibiotique de l'implant. Les matériaux imprégnés ont été étudiés chez l'animal et en clinique pour de nombreux dispositifs tels que les sondes d'intubation, les sondes urinaires, les dispositifs orthopédiques, les prothèses vasculaires avec des résultats discordants (54).

En résumé, il semblerait que les implants jouent un rôle sur tous les facteurs importants intervenant dans la susceptibilité à l'infection, de l'adhésion bactérienne à la réponse immunitaire. Cependant, les études cliniques sont très parcellaires et manquent de puissance. Les résultats des matériaux imprégnés en antimicrobiens donnent des résultats discordants. Pour réussir le « bench to bedside » des nouvelles approches, les méthodes précliniques de validation doivent être améliorées, pour mieux refléter les conditions cliniques.

Les facteurs liés à l'hôte

La réponse de l'hôte au matériel implanté peut-être résumée sous le terme de « biocompatibilité ». Il n'existe pas de définition précise de celle-ci, et l'exigence de biocompatibilité est contextuelle. Cependant on peut retenir le côté non-toxique, la facilité d'intégration, la faible réponse immunitaire induite ainsi que l'absence d'effet secondaire induit (74). Le résultat final de la réponse de l'hôte à un matériel étrangers peut aller d'une complète intégration avec un tissu adjacent très peu inflammatoire à une inflammation chronique et une coque fibreuse.

Plusieurs facteurs peuvent être liés à l'hôte. Nous avons déjà vu le rôle des protéines de l'hôte, agissant comme ligand pour les facteurs d'adhérence bactérien. Des études ont montré que *S. aureus* et *E. coli* se fixaient beaucoup mieux sur du matériel explanté d'homme ou d'animaux, que sur du matériel jamais utilisé. Ainsi, n'oublions pas que, quel que soit le matériau utilisé, il est implanté chirurgicalement, donc invasivement. La réponse de l'hôte est donc d'apporter des facteurs de coagulation sur le site chirurgical, et des protéines nécessaires à la réparation tissulaire. L'implant va donc se retrouver dans un environnement

Introduction

riche en fibrinogène, fibrine, fibrinectine, fibronectine, collagène, c'est à dire largement favorable à l'adhésion bactérienne. La composition exacte de ce film protéique dépend des conditions physicochimiques régnant sur l'implant et la zone adjacente. Ces conditions affectent le cours des évènements post-opératoires, notamment la réponse cellulaire et immunitaire, l'intégration tissulaire et l'adhésion bactérienne.

La réponse inflammatoire au matériel va être déterminante dans la capacité de l'hôte à éliminer les bactéries, via la phagocytose. Une des premières étapes cruciales est la cascade du complément. Les matériaux activant fortement le complément, comme le silicone, ont montré qu'ils étaient associés à un plus grand risque d'infection (28). Le mécanisme sous-jacent pourrait faire intervenir une activation excessive du complément et une désensibilisation des leucocytes au signal du complément activé, conduisant à une diminution de l'activité bactéricide des leucocytes dans les tissus avoisinants l'implant (75). Cependant, l'analyse de la réponse de l'hôte dépend beaucoup du modèle utilisé en plus du type de matériel. Par exemple, la formation du biofilm ainsi que la croissance planctonique bactérienne sont inhibées par le chrome et les ions cobalts selon un processus dose-dépendant. Mais les concentrations les plus basses en $\text{Cr}^{3+}/\text{Co}^{2+}$ simulant les concentrations plasmatiques normales n'ont aucun effet. D'un autre côté, ces particules pourraient réduire les fonctions des macrophages et induire la sécrétion de cytokines proinflammatoires par les monocytes-macrophages à l'origine d'une inflammation locale et d'une ostéolyse. Une étude in vivo retrouvait d'ailleurs une augmentation du nombre d'infections (76).

Pour mieux comprendre la réponse à l'hôte, nous nous voyons dans l'obligation d'introduire de nouveaux paradigmes, permettant notamment une meilleure définition de ce qu'est l'hôte, et donc de sa réponse à l'agression. Effectivement, dans les défenses de l'hôte, nous allons introduire les bactéries, celles qui font partie de lui.

Microbiotes et Superorganismes : on découvre les bonnes bactéries

Suite à la théorie des germes de Pasteur et aux postulats de Koch, les microbes étaient simplement mauvais et pathogènes (comme on l'a vu avec un bémol pour Louis Pasteur). Cependant, dès le début du XX^e siècle, Ilya Metchnikoff (Pasteurien) proposa que les bactéries

Introduction

pussent nous être bénéfiques. La vision classique changeait pour diviser les microbes en 2 catégories : les bonnes et les mauvaises.

Depuis les années 2000, la redécouverte de la flore en microbiote et son importance dans l'homéostasie, a modifié notre regard sur celui-ci.

L'intestin humain abrite le nombre astronomique de 10^{14} bactéries, à peu près 100 fois plus que le nombre des cellules eucaryotes nous constituant, avec environ 1000 espèces distincts. Cela sans prendre en compte les autres microbes (77). Le corps humain est donc un être multicellulaire eucaryote **associé à** une colonie de cellules d'origine bactérienne qui ont créé un écosystème complexe, un phénomène que l'on nomme « phénotype étendu ». Le microbiote est usuellement décrit comme commensal, même s'il existe un degré considérable de mutualisme. Les communautés microbiennes résident sur toutes les surfaces du corps. Le corps abrite 2×10^4 gènes humains et environ 10^6 gènes bactérien. L'ensemble des voies métaboliques microbiennes s'additionne à celles de l'hôte pour donner le métabolome. A ce titre, le microbiote constitue un véritable organe qui joue un rôle important dans le fonctionnement de notre corps. Jusqu'à 50% du poids du tube digestif humain est constitué par les bactéries, alors peut-on faire une distinction physiologique entre les intestins et leurs bactéries ? Ne serait-il pas plus correct de les considérer comme 2 parties différentes d'un même organe, qui formerait en quelque sorte un « super-organe » ? Cela autorise certains scientifiques, tel Joshua Lederberg, à penser que nous serions des super-organismes faits de différentes cellules, issues de différentes espèces. Ainsi, aujourd'hui, de plus en plus de monde considère les bactéries comme une extension du corps humain.

Le microbiote bénéficie d'un environnement régulièrement approvisionné en nutriments avec des conditions physico-chimiques régulées. Nous offrons ainsi aux bactéries une croissance optimale. L'être humain, en retour, profite de l'activité des bactéries. Sans elles, par exemple, nous ne serions pas forcément omnivores. Cette interaction entre l'homme et les microbes est l'exemple type de la symbiose. Trois catégories de symbiose sont reconnues : 1) le parasitisme, quand un organisme profite de l'autre ; 2) le mutualisme, quand chaque organisme profite de l'autre ; 3) le commensalisme, quand ni l'un ni l'autre ne perd ni ne gagne de cette association intime. En fait, ces 3 catégories devraient plutôt s'envisager dans une certaine continuité. Chez nous, les microbes sont partout à la surface de nos muqueuses. Dans le tube digestif, l'hôte profite de l'activité microbienne qui complémente ses voies métaboliques, dégrade les produits xénobiotiques, synthétise des vitamines essentielles

Introduction

(plusieurs vitamines B, la vitamine K). En « binôme » avec le système digestif, le microbiote intestinal régule l'homéostasie épithéliale. Les animaux axéniques (sans germes) ont un retard de développement du tube digestif et une vascularisation de ce dernier très pauvre. Les enfants qui ont le plus consommé d'antibiotiques pendant leur première année de vie ont 41% de chances de développer de l'eczéma.

Par ailleurs, le microbiote joue un rôle tout aussi important dans le bon fonctionnement de notre système immunitaire, en constituant une première ligne de défense contre l'infection : l'effet barrière. Chaque espèce de bactérie occupant sa propre niche dans le corps humain, la colonisation par de potentiels pathogènes est rendue très difficile. Mais le rôle du microbiote est bien plus important, puisqu'il a un rôle important dans le développement et la maturation du système immunitaire. Le microbiote induit d'une part une tolérance immunitaire (phénomène actif) mais permet au système immunitaire de réagir de manière plus efficace contre les microbes envahissants. Une expérience sur des souris a montré que celles avec un microbiote intact ont survécu à une infection par salmonelle, alors que les souris axéniques sont mortes.

Le rôle protecteur de notre microbiote est attesté par les surinfections fréquentes au décours d'une antibiothérapie (l'exemple le plus classique étant sûrement la colite à *Clostridium*). Un autre exemple, indirect, est le déclin des maladies infectieuses dans les pays industrialisés qui s'accompagne d'une augmentation des maladies auto-immune (Figure 7) (78).

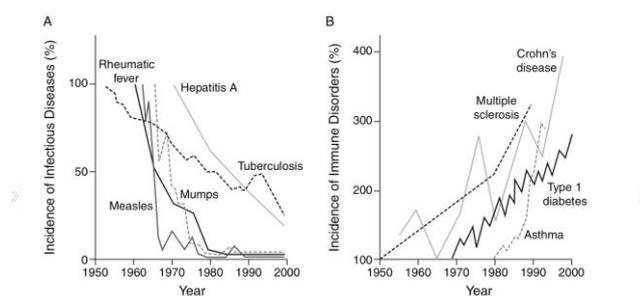


Figure 7. Le déclin de maladies infectieuses (A) s'est accompagné d'une augmentation des maladies auto-immune (B), Etats-unis, 1950-2000. D'après (78).

Introduction

Des données s'accumulent par ailleurs pour dire que le virome, l'ensemble des virus colonisant normalement l'hôte, a aussi un rôle majeur dans le façonnement du système immunitaire (79).

Chaque individu a un microbiote propre, à l'instar de son empreinte digitale. Sa composition est proche de celle des autres membres de la famille. Nous avons hérité de nos parents nos gènes humains... ainsi que de nos gènes microbiens. La composition de notre microbiote évolue avec l'âge. Outre l'âge, les principaux facteurs qui influencent le microbiote sont le type d'alimentation, le climat, le sexe, la profession, la communauté dans laquelle on vit, l'hygiène et les maladies.

En résumé, la sélection naturelle a sélectionné notre microbiote et nos cellules eucaryotes au cours du temps pour leur « aptitude vitale » (fitness) dans un environnement donné, pour le partenariat le plus efficace. Et ce partenariat a été sélectionné pour le partenariat optimal. Ainsi, nous avons co-évolué avec les microbes pour le superorganisme le plus efficace.

Ce qui veut dire en d'autres termes, que toute altération de notre microbiote peut conduire à une « dysbiose » qui, elle-même, par rupture d'équilibre, peut être associée à la maladie.

Dans cette thèse, nous étudions essentiellement les dispositifs médicaux transdermiques. Nous allons donc nous pencher sur le microbiote cutané.

Microbiote cutané

Le travail de mon équipe porte sur les infections en neurochirurgie, et notamment sur les infections liées aux dispositifs transcutanés. Dans une étude sur la physiopathologie des infections des DVE, cathéter prélevant le liquide céphalo-rachidien (LCR) des ventricules et le dérive en dehors du corps, via un cathéter tunnelisé sous la peau sur environ 5 cm, puis sortant au niveau de la peau, nous avons montré que la voie de colonisation et d'infection principale, était la peau ! D'où l'intérêt particulier porté à ce microbiote là.

La peau est un organe large de $1,8 \text{ m}^2$, et offre de nombreux habitats différents, en fonction de la température, de l'humidité, de la densité de glande, du relief de la peau (invagination...). Le rôle premier de la peau est d'offrir une barrière physique au monde extérieur. La diversité des niches offertes offre une diversité de colonisation importante et variable selon les sites.

Introduction

Les microbes le composant sont généralement inoffensifs et procurent certaines fonctions vitales non écrites dans le génome humain.

La peau doit être perçue comme un écosystème, composée de composants biologiques vivants et physique, aboutissant à un délicat équilibre entre l'hôte et les microbes (**Figure 8**). Toute atteinte à cet équilibre, quel que soit le côté atteint, peut conduire à une DYSBIOSE et à la maladie infectieuse (80). Les perturbations de cet équilibre peuvent provenir de l'hôte (facteurs génétiques) ou des facteurs environnementaux (lavage des mains).

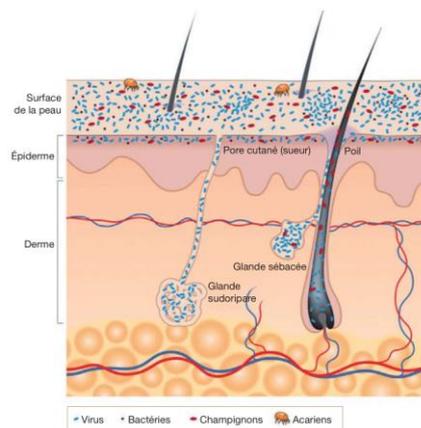


Figure 8. Coupe de la peau (derme-épiderme) montrant ses glandes et son microbiote. D'après (80).

Afin de mieux comprendre les états de santé, maladie et infection, nous devons mieux caractériser le microbiote cutané et son/ses interaction(s) avec l'hôte.

La peau est globalement froide (32-33°C), sèche et acide. Mais une grande variabilité d'habitats existe en fait, selon les régions. Structurellement, la peau est une formidable barrière physique, s'opposant à la pénétration des microbes et des toxines, tout en retenant l'eau et les nutriments à l'intérieur. La couche la plus superficielle du derme, stratum corneum, est composée de cellules différenciées sans noyaux, les kératinocytes. La peau se régénère en permanence et les kératinocytes sont constamment éliminés de la couche superficielle de la peau. En dépit d'être un environnement hostile et inhospitalier, chaque cm² de notre peau abrite environ 10⁶ microorganisme, constituant le microbiote.

Les invaginations et les différents appendices (follicules pileux, glandes sudoripares eccrines et apocrines, glandes sébacées) sont un déterminant important quant aux germes dominants dans ces régions et à leurs diversités. Les glandes eccrines sont les plus importantes, et jouent

Introduction

un rôle essentiel dans la thermorégulation en produisant la sueur, liquide hypotonique composé à 99% d'eau et d'électrolyte par filtration à partir du plasma. Le pH de la sueur varie de 3,8 à 6,5. Cela prévient la colonisation et la croissance de microbes. Les glandes sudoripares apocrines sont bien moins représentées et ne sont retrouvées que dans les creux axillaires, les mamelons et la régions ano-génitale. Les glandes sébacées sont associées aux follicules pileux et sécrètent une substance lipidique, le sebum. Ces glandes offrent une atmosphère relativement anoxique qui permet la croissance de microbes anaérobie tel *Propionibacterium acnes*, un important commensal de la peau. *P.acnes* dégrade les triglycérides produits par ces glandes en acide gras, qui concourent au pH acide (pH 5). *S.aureus* et *S.pyogenes* sont inhibés par un pH acide, alors que la croissance des corynebactéries et des Staphylocoques à coagulase négative est favorisée.

Selon la topographie de la peau, les milieux diffèrent. Les creux axillaires, l'aîne, les doigts de pieds offrent un milieu humide et chaud, favorisant la croissance des bacilles Gram-négatifs et de *S.aureus*. Les zones comportant une densité importante de glandes sébacées, comme le dos, la face et le thorax, abritent préférentiellement les *P.acnes* et les *Malassezia* spp. . Les membres étant relativement secs et soumis à des variations plus importantes de température, montrent une quantité plus faible de microbes. Des facteurs liés à l'hôte font aussi varier les conditions et le microbiote (âge, sexe, statut hormonal). Des facteurs environnementaux aussi, comme l'exposition aux rayons ultra-violet, les conditions de température et d'humidité (une faible température associée à une forte humidité favorise les bacilles Gram-négatifs). Les savons et les cosmétiques sont des facteurs potentiels de modulation. Il en est de même pour l'exposition aux antibiotiques. Alors que celle-ci a été bien étudiée au niveau du tube digestif, elle ne l'a pratiquement pas été au niveau cutané (80).

Les habitants de notre peau ont longtemps été étudié par les techniques de culture. Ainsi, historiquement, *Staphylococcus epidermidis* et autres coagulase-négatives étaient regardés comme les plus importants commensaux avec les Actinobactéries (*Propionibacterium*, *Corynebacterium* et *Brevibacterium*) et le genre *Micrococcus*. Les bactéries Gram-négatives rarement retrouvées sur la peau étaient vues comme des accidents. Il est maintenant connu que seule une petite partie des bactéries est capable de pousser en milieu de culture et isolée. Le développement des techniques moléculaires pour identifier et quantifier les

Introduction

bactéries a révolutionné notre vision du monde microbien. Plus de 500 espèces ont été identifiées, formant de véritables « empreintes digitales » microbiennes spécifiques d'un individu.

Le microbiote cutané reste toutefois difficile à étudier car la peau présente des caractéristiques spécifiques en termes d'interactions écologiques avec l'environnement par rapport aux autres cellules épithéliales. En effet, la concurrence au sein des espèces microbiennes est importante pour le développement et le maintien d'un microbiote sain. En parallèle, des études récentes ont montrés que les perturbations de l'équilibre hôte-microbes par exemple dans l'intestin, pouvaient conduire à des maladies chroniques graves, comme l'obésité et le diabète. Ceci suggère que la compréhension de la physiopathologie de nombreuses maladies passe par l'exploration de l'équilibre existant entre l'hôte et les micro-organismes.

Composition du microbiote cutané

L'analyse moléculaire du microbiote cutané a révélé une diversité bien plus grande que celle rapportée par les techniques de microbiologie traditionnelle. Les techniques de séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16s montre que les bactéries cutanées appartiennent essentiellement à 4 grands phyla, comme pour le microbiote des autres muqueuses : Actinobacteria (50%), Firmicutes (25%), Bacteroidetes (6%) et Proteobacteria (16%). Mais les proportions diffèrent grandement : les Actinobacteria sont plus fréquemment retrouvés au niveau de la peau, alors que les Firmicutes et les Bacteroidetes sont plus abondants au niveau gastro-intestinal. Un caractère commun à ces microbiotes est qu'il semble exister une faible diversité au niveau des phyla mais une importante diversité au niveau de l'espèce. La diversité bactérienne semble plus faible dans les glandes sébacées, et *Propionibacterium* spp en est l'organisme dominant. *Staphylococcus* et *Corynebacterium* spp sont les plus abondants dans les zones humides. Les corynebactéries sont des organismes très fastidieux à cultiver, ce qui a conduit à les sous-estimer. Les zones sèches sont les plus diversifiées. Elles sont mêmes plus diversifiées phylogénétiquement que le tube digestif ou la cavité buccale. Une surprise récente est l'abondance normale de ces sites en microbes Gram-négatifs. Les populations bactériennes de la peau peuvent être classées comme de résidents « transitoire » (infectant), des résidents temporaires (ne faisant pas partie du microbiote cutané normal) et les résidents

Introduction

du microbiote cutané (commensaux). Les méthodes de culture traditionnelles avaient permis de déterminer les commensaux qui sont principalement *Staphylococcus epidermidis* et *aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium jeikeium* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats coïncident parfaitement avec les résultats des techniques nucléotidiques, même si la présence de certaines bactéries avait été sous-estimée (comme pour les anaérobies).

En général, les sites présentant la plus grande diversité sont les moins stables au cours du temps en termes de structure de communauté. Ce microbiote est un des plus complexes et diversifiés du corps humain.

La diversité temporelle chez un individu est stable malgré l'exposition constante à l'environnement (81). La composition du microbiote dépend plus du site écologique cutané que du génôme de l'hôte. En d'autres termes, sa composition en fonction du site est plus similaire entre les individus, qu'entre différents sites chez le même individu. Concernant la variabilité interindividuelle, elle existe, mais porte principalement sur la variabilité des germes les moins abondants. Les bactéries dominantes sont stables d'un individu à l'autre (80,82) (Figure 9).

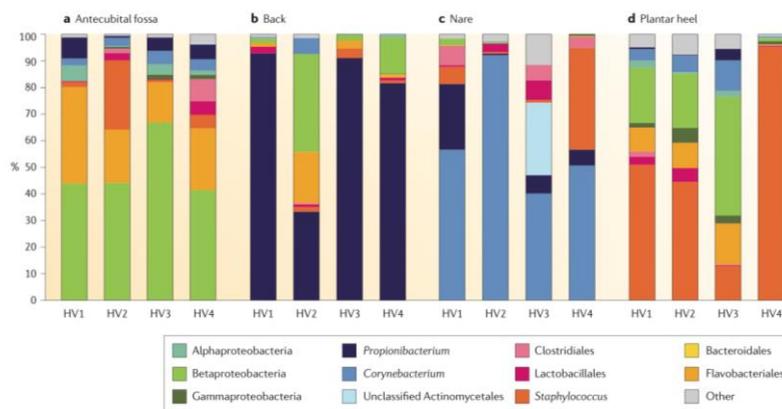


Figure 9.

Bien que les techniques moléculaires aient permis de mieux apprécier le microbiote et sa diversité que la culture, elles sont incapables de distinguer le vivant du mort. Elles amplifient ou analysent le génome bactérien, que la bactérie soit morte ou vivante. Ainsi, il est difficile

Introduction

de déterminer si les espèces identifiées sont seulement transitoires ou résidentes. Ces techniques nous offrent donc une vue « historique » du microbiote.

Les membres non-bactériens (eucaryotes, archés, virus) du microbiote cutané sont encore méconnus mais jouent probablement un rôle important. Les analyses du gène de l'ARNr 18s, 25s, 5,8s ont permis d'approcher un peu les champignons. *Malassezia* spp constituerait 50-80% de la population totale fongique, selon le site. Il n'est pas encore très clair de savoir quelles espèces fongiques représentent le reste de cette population. Les archés n'ont pas encore été retrouvés sur la peau, que ce soit par culture ou par analyse moléculaire. Le virome, l'ensemble des virus cutanés, représente la « matière noire », et reste un grand inconnu.

Interaction avec le système immunitaire cutané

La peau n'est pas seulement une barrière physique, mais aussi une barrière immunologique. La réponse immunitaire cutanée est essentielle pour la cicatrisation comme pour l'infection, mais aussi pour contrôler, moduler le microbiote cutané. Notre peau est armée de mécanismes de surveillance tels que les cellules de Langerhans et les récepteurs Toll-lyke (TLR) mais également d'un arsenal moléculaire et cellulaire de défense, tels que les peptides anti-microbiens et les lymphocytes T. Les kératinocytes échantillonnent en permanence le microbiote cutané grâce à des récepteurs de reconnaissance (pattern recognition receptors, PRRs) comme les TLR, les mannose-récepteurs ou les NOD-like receptors. Ces récepteurs reconnaissent les MAMPs, et une fois activés, initient une réponse immunitaire, qui induit la sécrétion de peptides anti-microbiens, de cytokines et de chemokines.

Même si elle est constamment exposée à un grand nombre de microbes, la peau est capable de discriminer les commensaux sans danger des potentiels pathogènes. Ce mécanisme est encore incomplètement compris, mais pourrait faire intervenir un processus de tolérance immunitaire. Les TLR pourraient être désensibilisés par une exposition prolongée aux commensaux.

Il a été montré récemment que *S.epidermidis* pouvait moduler le système immunitaire inné de l'hôte. Certaines substances (phenol-sensible modulins) produites par *S.epidermidis* peuvent sélectivement inhiber des pathogènes cutanés comme *S.aureus* et les Streptocoques

Introduction

du groupe A, et peuvent même coopérer avec l'hôte en améliorant les capacités lytiques des peptides anti-microbiens (83,84). Par ailleurs, *S.epidermidis* inhibe la formation de biofilm par *S.aureus*. *Corynebacterium* spp peut aussi inhiber la colonisation par *S.aureus*. D'autres études récentes ont démontré que l'induction des voies des TLR par les commensaux pourrait être nécessaire à la survie cellulaire ainsi que la réparation/cicatrisation pendant l'infection. L'acide lipotéchoïque produit par *S.epidermidis* peut diminuer l'inflammation cutanée par la voie des TLR2 et 3, et déclencher la sécrétion de peptides antimicrobiens par les kératinocytes par la voie des TLR2.

La peau doit maintenir un équilibre délicat entre les bactéries commensales avec lesquelles elle doit vivre en symbiose tout en repoussant les envahisseurs potentiellement dangereux. Le microbiote cutané permet de maintenir l'intégrité physique de la barrière épidermique et de prévenir la colonisation et l'invasion par des bactéries pathogènes. Pour cela, des mécanismes compétitifs interviennent, à la fois nutritifs (compétition pour les substrats) et écologique pour l'occupation des niches. On a vu que *S.epidermidis* régule la production de peptides antimicrobiens, et que *Propionibacterium* régule les acides gras à chaînes courtes. La perturbation de cet équilibre, ou « dysbiose », peut résulter d'une modification de la composition des bactéries de la peau, ou d'une altération de la réponse immunitaire de l'hôte, ou des deux. Dans tous les cas, le résultat final est bien souvent une inflammation excessive, entraînant souvent l'apparition de pathologie (85).

Le microbiote cutané et la maladie

Il est avancé que de nombreux désordres cutanés pourraient avoir une origine infectieuse, étant donné qu'ils s'améliorent sous traitement antibiotique. Cependant, un pathogène responsable qui satisfasse les postulats de Koch a rarement été identifié dans les maladies cutanées.

On connaît des maladies cutanées associées au microbiote. On peut évoquer la dermatite séborrhéique et son lien avec *Malassezia* spp.. L'amélioration des symptômes de cette maladie passe par l'utilisation de fongicide, et la réduction du taux de *Malassezia* au niveau de la peau. Mais *Malassezia* est un membre normal du microbiote cutané...Un autre exemple est l'acné et le rôle de *P.acnes*. Lui aussi est un résident normal. Alors ? Quels sont les autres facteurs concourant à la maladie ? Est-ce une dysbiose, un déséquilibre qualitatif ou

Introduction

quantitatif de la communauté microbienne ? La dermatite atopique qui touche 15% des enfants aux États-Unis et 2% des adultes, se manifeste à des localisations précises, comme la face antérieure des coudes et les creux poplités, qui sont des sites de grande homologie en comparaison des autres parties du corps. Plus de 90% des patients présentant une dermatite atopique, sont colonisés par du *S.aureus*, aussi bien au niveau des site lésionnel que de la peau saine, contre <5% chez les patients sains. Aucun lien n'a été retrouvé entre l'expression de facteurs de virulence par *S.aureus* et les manifestations aiguës chez les patients atteints de dermatite atopique.

Les plaies chroniques, retrouvées par exemple chez les personnes âgées, diabétiques, grabataires, sont un exemple où les commensaux cutanés peuvent devenir invasifs et pathogènes, profitant de la rupture de la barrière physique. Même si elles ne sont pas à l'origine de la lésion initiale, elles peuvent profiter de la situation pour entretenir l'inflammation et ralentir la cicatrisation. Le biofilm est présent sur 60% des plaies chroniques dans une étude, contre 6% des plaies aiguës (86). Une question fondamentale est de savoir si au niveau des plaies chroniques, il y a des biofilms « protecteurs » et des biofilm pathogènes. Concernant le rôle des bactéries au niveau des plaies chroniques, il existe à l'heure actuelle deux hypothèses principales. La première hypothèse est celle de la spécificité bactérienne suggérant que seules quelques espèces présentes à l'intérieur du biofilm polymicrobien hétérogène sont impliquées dans le processus infectieux. Mais, les techniques moléculaires sont incapables de mettre en évidence un pathogène univoque pour ces plaies, à la différence des plaies secondaires à une brûlure, où certains pathogènes sont bien identifiés : *S.pyogenes*, *Enterococcus* spp ou *P.aeruginosa*. Inversement, la deuxième hypothèse est celle de la non-spécificité ou des « communautés bactériennes ». Elle considère que toutes les bactéries présentes ne composent qu'une seule « unité fonctionnelle » pathogène, sans tenir compte des espèces qui la composent. Cette hypothèse a conduit au concept de « fonctionally equivalent pathogroups » (FEP) ou pathogroupes (87). L'administration d'antibiotiques dans ce contexte, au lieu de favoriser la guérison de la plaie, pourrait avoir un impact sur l'évolution globale du microbiote cutané de ces plaies. D'un autre côté, le traitement par corps gras tel que la vaseline dans la cicatrisation dirigée, aide à la prolifération des germes.

Chez le diabétique, une étude a montré que le microbiote cutané sur la peau non lésée était beaucoup plus varié que le microbiote de patients non diabétiques. Ces variations d'écologie

Introduction

montrent une diminution des Staphylocoques à coagulase négative (SCN) et une augmentation des *Corynebacterium* spp. et des *S.aureus*. Donc une dysbiose, et cette enrichissement du nombre de *S.aureus* pourrait être le point de départ des infections des plaies du pied. Les techniques de métagénomique ont montré que les cultures bactériennes standard des plaies sous-estiment la présence de *S.aureus*, quand cette bactérie est en faible quantité. Les espèces de *Staphylococcus* représentent plus de 70% du microbiome de la peau normale au niveau de la plante du pied (80). La plupart sont des SCN en compétition avec *S.aureus*. A l'opposé, les *Staphylococcus* spp. constituent seulement 7% du microbiote de la peau saine intacte ou sur le pied controlatéral des patients diabétiques. **Ce résultat suggère soit une perte de ces espèces bactériennes protectrices, soit leur remplacement par d'autres espèces** (88). Nous avons rapporté des résultats allant en ce sens dans une étude prospective clinique de physiopathologie de l'infection des dérivations ventriculaires externes (89). Le site d'insertion cutané de la DVE ainsi que le robinet distal de recueil du système étaient écouvillonnés tous les deux jours puis envoyés en culture. Ces résultats étaient confrontés au germe retrouvé dans la colonisation de la DVE au niveau ventriculaire ou à l'infection, afin d'établir une voie d'infection (endoluminale vs exoluminale). La voie cutané exoluminale était retenue comme voie principale de la colonisation/infection. De manière intéressante, la présence d'un pathogène (dans cette étude, les commensaux étaient les SCN, *Corynebacterium* spp. et *Propionibacterium* spp.) au niveau cutané augmentait significativement le risque d'infection d'un facteur 12 ! A l'inverse, les patients ne présentant ni colonisation, ni infection, n'avaient pas un site cutané stérile. La culture traditionnelle retrouvait 80% de ces sites colonisés, principalement par du *S.epidermidis*.

Enfin, des commensaux particuliers peuvent causer des infections dans des situations particulières. *S.epidermidis* en est l'exemple le plus fréquent. Ce pathogène accidentel peut à l'occasion d'une hospitalisation et d'une brèche cutanée, pénétrer dans l'organisme et grâce à la formation de biofilm, donner des infections torpides et dures à traiter, comme une endocardite infectieuse sur valve mécanique. Dans le cas des infections de DVE à SCN, la morbidité semblerait très faible. En effet, il n'y a pas d'intervention chirurgicale lourde à réaliser et le retrait de la DVE fait disparaître la présence aidante à l'infection, du matériel étranger.

Nouvelles théories immunologiques

Un petit point sur les nouvelles théories immunologiques s'impose à l'heure du superorganisme. La définition de l'immunologie la plus couramment utilisée, est l'étude des systèmes de défense des êtres vivants contre des agents pathogènes (bactéries, virus, champignons, parasites...). Soulignons que l'immunologie est une discipline relativement récente, issue de la microbiologie, et marquée par les figures de Pasteur et Koch; l'immunologie tend à devenir une discipline autonome à partir des années 1920, elle est très influencée par la recherche sur les greffes dans les années 1930-1950, puis elle devient l'un des domaines les plus dynamiques des sciences du vivant à partir de la deuxième moitié du vingtième siècle.

Au milieu du XX^e siècle, Burnet va être à l'origine de la théorie clonale de l'immunité, et va imposer la théorie du soi et du non-soi. Cette théorie consistant à affirmer que tout être vivant rejette ce qui lui est étranger. Autrement dit, le maintien de l'intégrité d'un être vivant passerait par le rejet de tout ce qui n'est pas lui. Même si Burnet fut celui qui proposa une conceptualisation et une problématisation du soi et du non-soi, l'affirmation selon laquelle tout être vivant rejette ce qui lui est étranger préexistait clairement aux thèses de Burnet. Quoiqu'il en soit, on retrouve ici l'opposition hôte-microbe dans une relation délétère pour l'hôte.

Le contexte de la microbiologie de la fin du XIX^e siècle est crucial pour comprendre cette idée d'une défense de l'organisme contre ce qui lui est étranger. Robert Koch et Louis Pasteur montrent que des micro-organismes sont à l'origine de la plupart des pathologies. Suit une période de succès importants dans le domaine de l'immunisation ou «vaccination» à grande échelle: un organisme dans lequel est introduite une petite quantité d'un pathogène est ensuite immunisé à ce pathogène, comme s'il avait «appris» à l'identifier spécifiquement et à l'éliminer. À l'hôte s'oppose ainsi cet « autre » menaçant qu'est le pathogène. L'organisme est capable d'identifier sa propre individualité et de ne pas déclencher de réponse immunitaire contre elle, alors qu'il déclenche une réponse contre tout ce qui diffère de cette individualité.

Peu à peu, l'immunologie va se construire en se focalisant sur la question de la défense de l'hôte contre les micro-organismes, la microbiologie étudiant, pour sa part, les caractéristiques biologiques des micro-organismes eux-mêmes.

Les premiers usages de la notion de «soi» chez Burnet datent de la fin des années 1930. Le «soi» signifie alors **l'organisme, compris comme un tout hétérogène en interaction avec son environnement, un écosystème habité par de nombreux micro-organismes**. Burnet défend alors une conception holistique et écologique du soi, une conception qu'il abandonnera très largement par la suite. Dans cette première conceptualisation, Burnet donne au «soi» la prééminence sur le «non-soi»: **ce qui importe est de comprendre l'unité et le maintien de l'organisme au cours du temps, plutôt que de comprendre comment il élimine ce qui lui est étranger**. Peu à peu, cependant, Burnet va modifier profondément sa thèse, en faisant du soi une réalité fermée à son environnement, et dont l'intégrité passe précisément par l'élimination de toute substance étrangère. Suite aux travaux expérimentaux menés dans le domaine de la transplantation à partir des années 1910, l'idée que l'organisme rejette tout ce qui lui est étranger est affirmée avec force. Le rejet de greffe montrerait que le maintien de l'identité d'un organisme passerait nécessairement par l'élimination de toute entité étrangère, cette entité fût-elle utile à l'organisme. Ce sont néanmoins les travaux sur la **tolérance immunitaire**, au premier rang desquels ceux de Peter Medawar, qui ont l'influence la plus décisive sur Burnet. Medawar et son équipe montrent que des tissus étrangers, s'ils sont implantés suffisamment tôt pendant la période de développement, peuvent ensuite être tolérés (i.e. ne pas être rejetés) pendant toute la vie de l'organisme. Burnet prend immédiatement conscience de leur importance pour la problématique du soi et du non-soi: loin d'être inné, le «soi» se constitue peu à peu, il est une réalité construite, acquise, au cours du développement de l'organisme.

Il s'agit donc maintenant pour Burnet de rendre compte de l'apprentissage de la tolérance au soi. L'un des aspects de sa théorie de la sélection clonale (Burnet 1959) est d'affirmer que des cellules autoréactives (i.e. reconnaissant le «soi») apparaissent dans tout organisme, mais qu'elles sont éliminées. Si donc l'organisme tolère ses propres constituants, c'est en raison de cette élimination de ses cellules autoréactives. Burnet montre que le critère pour déterminer si une entité va déclencher une réponse immunitaire chez un organisme donné est moins son caractère intrinsèquement «étranger» que celui de sa présence ou son absence pendant la période d'«apprentissage du soi». En effet, l'organisme est, pendant les étapes précoces de son développement, ouvert à son environnement, si bien que tout élément présent lors de cette période précoce sera toléré, devenant de fait un constituant perçu comme du «soi» par le système immunitaire, d'où l'absence de rejet de ce constituant (fût-il génétiquement

Introduction

«étranger») pendant toute la vie de l'organisme. Pour Burnet, le soi est donc acquis, et non inné, mais il est acquis extrêmement tôt au cours du développement. Le «soi» immunitaire est ainsi un soi phénotypique qui ne reflète pas nécessairement le soi génétique. Néanmoins, il faut ici faire deux précisions cruciales. D'une part, Burnet considère la période de tolérance immunitaire comme extrêmement limitée dans le temps, si bien que, à la suite de cette période précoce, l'organisme peut être considéré comme clos à son environnement (tout «non-soi» sera rejeté). D'autre part, selon Burnet, les cas où des constituants étrangers sont tolérés, autrement dit les cas d'extension du soi, sont extrêmement rares, puisqu'ils sont limités à des manipulations expérimentales (comme dans les expériences de Medawar) ou à des exceptions naturelles (comme les veaux chimères). Dans l'immense majorité des cas, donc, pour Burnet, on peut considérer le soi immunitaire comme le reflet direct du soi génétique, et on peut affirmer que l'organisme rejette tout ce qui lui est étranger, deux phénomènes dont témoignerait le rejet de greffes allogéniques.

Bien qu'il ait donc posé à nouveau la question de la tolérance immunitaire, Burnet finit par défendre sa théorie forte du soi et du non-soi, fondée sur les deux principes suivants: l'organisme déclenche une réponse immunitaire contre toute entité étrangère («non-soi»); l'organisme ne déclenche pas de réponse immunitaire contre ses propres constituants («soi»). La théorie et le vocabulaire du soi et du non-soi s'imposent à l'immunologie, où ils deviennent pratiquement omniprésents des années 1960 aux années 1990 (90–92).

La conception du soi proposée par Burnet, selon laquelle le soi immunitaire est, sauf manipulation expérimentale, le reflet phénotypique de l'individualité génétique, permet de proposer un critère d'immunogénicité, à travers la théorie du soi et du non-soi. Cependant, de nombreuses données accumulées au cours des deux dernières décennies invalident cette théorie du soi et du non-soi. D'une part, tout organisme déclenche des réponses immunitaires contre ses propres constituants, comme dans le cas de la phagocytose des cellules mortes ou dans l'activation des réponses immunorégulatrices (cellules T régulatrices notamment). D'autre part, tout organisme tolère en lui un nombre considérable d'entités «étrangères» utiles à son fonctionnement, en particulier des bactéries symbiotiques (92). Effectivement, la prise de conscience du microbiote en tant que constituant de l'organisme,

conduisant à un superorganisme était difficilement compatible avec la théorie du soi/non-soi. De plus, on sait que nous présentons de nombreuses bactériémies, notamment liées aux lavages de dents ou au fait de mâcher mais aussi à la digestion(93,94). Or celles-ci ne s'accompagnent d'aucune réaction immunitaire.

Il semble difficile, pour ne pas dire impossible, de défendre aujourd'hui la théorie du soi et du non-soi, car elle comporte trop d'exceptions majeures à ses principes. Plusieurs conceptions alternatives à la théorie du soi et du non-soi ont été proposées. Les théories «systémiques» affirment, à la suite de Jerne, que le système immunitaire a toujours affaire au «soi», et donc qu'il est principalement «autoréactif»(95,96). La «théorie du danger», proposée par l'immunologiste Polly Matzinger à partir des années 1990, affirme que le système immunitaire ne répond pas au «non-soi», mais au «danger», que celui-ci soit exogène (i.e.venant de l'extérieur, comme un microbe par exemple) ou endogène (i.e.venant de l'intérieur, comme par exemple dans le cas d'une inflammation tissulaire déclenchée par l'organisme)(97). La «théorie de la continuité» propose que (91,98,99), toute réponse immunitaire soit due à l'apparition de motifs moléculaires inhabituels dans l'organisme, que ces motifs soient endogènes («soi») ou exogènes («non-soi»).

La théorie la plus acceptée actuellement, est le « danger model ». L'organisme humain étant en permanence en présence de motif du non-soi, appelé maintenant MAMPs (Microbial Associated Molecular Patterns), et fort heureusement, il ne déclenche pas de réaction inflammatoire. On ne fait pas un choc septique en se lavant les dents (94,97), et on peut continuer de manger. Ainsi l'organisme est globalement **tolérant** à la détection de molécules bactériennes, fongiques,... Par contre, c'est la détection de molécules de danger, nommées Alarmines ou DAMPs (Danger Associated Molecular Patterns), qui induit une réponse immunitaire (100,101). Pour faire simple, une alarmine, c'est n'importe quel constituant intracellulaire de l'hôte. Ainsi, l'apoptose n'induit pas de réaction inflammatoire car dans cette mort programmée, la cellule meurt mais la membrane cellulaire reste efficace jusqu'à ce que la cellule se fasse phagocyter : il n'y a aucun relargage d'alarmines, donc pas de réaction immunitaire. A l'inverse, la nécrose cellulaire induite par n'importe quelle agression, conduit à la perte de la fonction membranaire et à la porosité. Ainsi, des constituants intracellulaires se retrouvent en extracellulaires, induisant une réponse immunitaire. Une infection bactérienne est définie comme une agression bactérienne conduisant à une lyse

cellulaire. **Ainsi, le corps ne réagirait non pas à la présence « étrangère » mais au danger, à l'agression.** On change de paradigme !

D'autres auteurs avancent, un peu dans la même veine, que le système immunitaire n'est pas un serial killer, mais plutôt une force qui contrôle l'équilibre, l'homéostasie du superorganisme que nous sommes. L'objectif permanent d'un organisme est la préservation de son homéostasie. Ceci inclut aussi bien l'acquisition d'eau et de nutriments, le contrôle de la température, le contrôle du stress physique et psychologique, de l'infection, du cancer, que des processus immunitaires. Depuis des milliards d'années, l'évolution a sélectionné des processus optimaux (102).

La capacité à discriminer entre les bons et les mauvais microbes est cruciale pour la survie. Les mauvais possédant des îlots de pathogénicité induiraient une réponse inflammatoire alors que les bons seraient bénéfiques pour nous et induiraient plutôt une réponse anti-inflammatoire. Des efforts importants ont été réalisés pour comprendre la distinction pathogène et non-pathogène, au travers de l'étude des facteurs de virulence, des propriétés invasives, de l'expression des PAMPs. Cependant, plutôt qu'une vision dichotomique et statique, un continuum serait probablement plus approprié. Les microbes doivent naviguer entre les 2 états, et leur position dépend du tissu colonisé, du temps et de l'hôte (9,103). Ainsi, face aux microbes, l'organisme ne répond pas par une guerre aveugle (comme les antibiotiques), mais plus probablement contrôle l'environnement microbien pour permettre à l'organisme de vivre avec les microbes. Plutôt qu'une guerre, c'est un équilibre entre l'hôte et les microbes, générant un superorganisme.

Les microbes ont effectivement la capacité de nous rendre malade, essentiellement à la faveur d'une dysbiose. Les vrais pathogènes sont rares face à l'immensité des microbes qui vivent avec nous. Les microbes ont tout intérêt à la survie de leur hôte. La mort de l'hôte est une impasse pour le microbe, sa domestication est une meilleure stratégie à long terme. Nous devons voir l'hôte et ses microbes comme un super-organisme, et leurs génomes respectifs comme une chimère. L'exemple le plus puissant de cette approche écologique en est la mitochondrie ou le chloroplaste. Nous devons donc changer notre manière réductionniste et manichéenne de voir le monde : « nous sommes bons, ils sont mauvais » (18). Cette vision dualistique appliquée aussi bien à la microbiologie qu'à l'immunologie nous a aveuglés par son réductionnisme pédagogique. En fait tout est dynamique, tout est continuum.

Introduction

Il a été montré que des commensaux empêchaient la colonisation par des « pathogènes ». Par exemple *S.epidermidis* et les *Corynebacterium* spp. empêchent la colonisation cutanée par *S.aureus* (83,104). Un traitement par des *lactobacilli* pourrait diminuer les infections vaginales (105). Cependant, l'exemple est facile avec des bactéries commensales sans virulences connues contre un pathogène renommé. Allant plus loin, le GB virus C (flavivirus), qui se réplique dans les lymphocytes mais non pathogène chez l'homme, inhibe la réplication du VIH. Sa présence inhibe la réplication du VIH in vitro, et est associée avec une mortalité plus faible chez les patients VIH (106). Ces patients présentent par rapport aux patients VIH sans co-infection par le GB virus C, une mortalité plus faible, un taux de lymphocytes CD4+ plus élevé, une plus faible diminution de leurs cellules CD+ et un taux d'ARN viral (VIH)circulant, plus faible.

Mais des « pathogènes » peuvent être compétitifs entre eux, ou protecteurs. Par exemple, un traitement par *Saccharmyces bouardii*, *lactobacilli* ou *enterococci* prévient ou réduit la durée des gastroentérites dues aux rotavirus (107) . Plus troublant encore, au moins deux études ont montré que le portage de *S. pneumoniae* diminuait le portage de *S. aureus* (108,109). Une de ces études portant sur 790 enfants âgés de 5j à 40 mois a montré que le taux de portage de *S. aureus* était plus faible chez les enfants colonisés par *S. pneumoniae* (6,5%) que chez les non-colonisés (12,9%), et le portage des *S.pneumoniae* était plus bas chez ceux colonisés par *S.aureus* (27,5%) que chez ceux qui ne l'étaient pas (44,8%) (109). Bogaert et al. retrouvaient aussi une corrélation négative entre la co-colonisation par les serotypes de *S.pneumoniae* compris dans le vaccin (7 valences) et la colonisation à *S.aureus* chez 3085 enfants sains. La colonisation par *S.aureus* était plus faible en présence de *S.pneumoniae* compris dans le vaccin (23%), qu'avec les sérotype de pneumocoque non compris dans le vaccin (37%) ou que chez les enfants sans *S.pneumoniae* (108). Les enfants présentaient un plus fort taux d'otite moyenne aiguës à *S.aureus* après vaccination. Ces résultats suggèrent donc que le portage par *S.pneumoniae* protège contre le portage de *S.aureus*, et ce mécanisme peut être altéré par la vaccination antistreptococcique conjugué. Cette vaccination peut donc diminuer le portage des sérotypes de pneumocoques compris dans le vaccin, mais augmenter le portage des autres sérotypes et celui de *S.aureus*.

Beaucoup de thérapeutiques commencent juste à prendre en compte leurs répercussions sur l'écosystème (110).

Les moyens de défenses du cerveau

Le cerveau est remarquablement résistant aux infections bactériennes comme fongiques. Les abcès cérébraux sont rares chez l'homme malgré de nombreux épisodes de bactériémies occultes ou non (111). Cette merveille de l'évolution est très bien protégée par des barrières ainsi qu'une importante vascularisation. Aussi, les modèles d'abcès cérébraux nécessitent l'inoculation directe de micro-organismes dans le cerveau de l'animal, puisque les bactériémies ne donnent que trop rarement des abcès cérébraux.

Le cerveau est protégé par 3 barrières : la barrière cutané-osseuse, les méninges et la barrière hémato-encéphalique (BHE). Les méninges sont constituées de 3 feuillets, la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère au contact de l'encéphale. La dure-mère est rigide et fibreuse. L'arachnoïde prend l'apparence d'une toile d'araignée, fine, fibreuse et translucide. La pie-mère est une fine membrane adhérent fortement à la surface du cerveau, séparée de l'arachnoïde par un espace rempli de LCR. Riche en vaisseaux sanguins, elle est membrane nourricière.

La BHE sépare les vaisseaux sanguins de l'espace extracellulaire du tissu nerveux. Les cellules endothéliales des capillaires cérébraux diffèrent de celles du reste de l'organisme par l'existence de jonctions serrées ayant une résistance électrique très élevée, empêchant la diffusion d'un grand nombre de molécules. Elle protège ainsi le cerveau contre les variations de concentration des ions et des neuro-transmetteurs ou des neuro-hormones circulant dans le sang. Certaines caractéristiques physicochimiques comme la polarité, la lipophilie, la liaison aux protéines vont intervenir dans le passage. Cette barrière rend donc le passage des antibiotiques très difficile (112). L'intégrité de la BHE est souvent altérée au cours de maladie du SNC (maladie dégénératives, AVC, SEP, tumeurs). Elle est absente dans certaines zones pour permettre la neurosécrétion par l'hypophyse postérieure et la chémo-réception par l'organe subfornical. Les régions sans barrière hémato-encéphalique sont donc : l'hypophyse postérieure, l'éminence médiane, l'hypothalamus et les organes circumventriculaire. Ces régions sont séparées du reste du cerveau par des cellules épendymères spécialisées unies par des jonctions serrées. Le passage de la BHE par les microorganismes n'est donc pas chose aisée non plus.

Introduction

Cependant, on a longtemps cru que le parenchyme et le LCR n'avaient que très peu de défenses. Il était bien démontré qu'il existait une réponse immunitaire aux antigènes du SNC (113). On le pensait donc dénué d'immunité, à l'exception de la microglie, macrophages locaux (102). Le SNC était traditionnellement vu comme un organe immunoprivilégié. Toute présence immunitaire était perçue comme pathologique. Une fois une infection cérébrale établie, les défenses immunitaires seraient insuffisantes pour la contrôler. L'opsonisation locale étant déficiente, les bactéries encapsulées tel *E. coli* et *B. fragilis* peuvent échapper à une phagocytose efficace. Par ailleurs il manque certains facteurs plasmatiques tels que le complément et le lysozyme, ou bien ils sont en concentrations trop faibles.

Petit à petit, et récemment, nous avons pris conscience du rôle neuroprotecteur des cellules immunitaires aussi bien périphériques (macrophages, Cellules T) que résidentes (microglie) dans un certain nombre de maladies neurologiques (113). On sait aujourd'hui que le SNC bénéficie d'une veille immunitaire grâce à l'immunité innée (114). La microglie et les macrophages périvasculaires sont les seules cellules immunitaires du SNC. L'agression ou l'infection du SNC induit une réponse immunitaire à partir de ces défenses résidentes intraparenchymateuses ainsi qu'un afflux des cellules immunitaires périphériques (monocytes, granulocytes, cellules T) au travers de la BHE inflammée.

L'activation du système immunitaire innée peut se faire par plusieurs voies, une fois la reconnaissance des dommages tissulaires et/ou d'un pathogène par le système des récepteurs de reconnaissance (pattern recognition receptor, PRRs). De cette famille, les plus importants actuellement sont les Toll-like receptor (TLRs) et les Nod-like receptors (NLRs), ces derniers étant responsables de la formation des inflammasomes. Les TLRs reconnaissent les motifs microbiologiques moléculaires (microbial-associated molecular pattern, MAMPs), ainsi que les molécules de danger (danger-associated molecular pattern, DAMPs) normalement cachées au système immunitaire (115). A quelques exceptions près, les TLRs recrutent MyD88 conduisant à l'activation de médiateurs inflammatoire via NF- κ B et les MAP kinases. Les TLRs sont membranaires alors que les NLRs sont solubles, c'est-à-dire intracytoplasmiques.

La microglie parenchymateuse contient les principales cellules qui contribuent à la réponse immunitaire innées du SNC et expriment le répertoire complet des TLRs connus ainsi que quelques molécules liées aux inflammasomes, qui ensemble confèrent à la microglie un pouvoir inflammatoire puissant (**Figure 10**) (116). En plus de maintenir l'homéostasie

cérébrale et d'apporter assistance aux neurones, les astrocytes sont aussi capables de contribuer à la réponse immunitaire innée, grâce à un répertoire limité de TLRs.

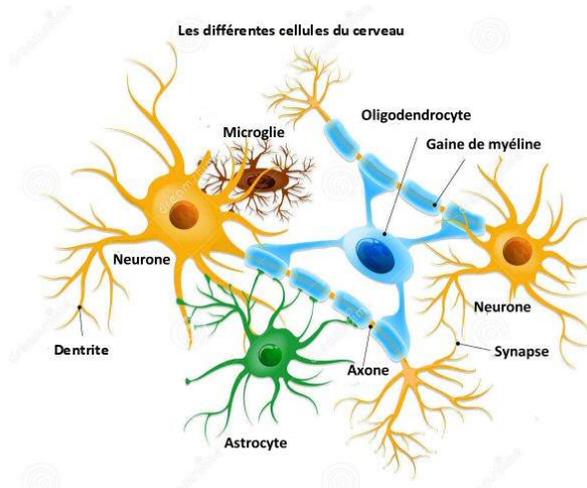


Figure 10. Représentation schématique des différentes cellules constituant le cerveau.

Ce processus explosif en cas d'infection, d'agression ou de maladie auto-immune comme la sclérose en plaque, ne serait en fait qu'une exacerbation aiguë d'un processus constant et physiologique. L'immunité adaptative, principalement logée dans les méninges et particulièrement les espaces sous-arachnoïdiens, participerait en permanence au bon fonctionnement du cerveau. Il a été montré de manière expérimentale une altération des fonctions cognitives chez les souris sans lymphocytes T. L'apport de lymphocytes T matures amélioreraient les fonctions cognitives (117).

Malgré ces avancées récentes dans la connaissance de la physiologie de l'immunité cérébrale, sa sensibilité à l'infection reste peu claire. Comme rappelé plus haut, du fait de la BHE, les modèles d'abcès cérébraux nécessitent l'inoculation directe de micro-organismes dans le cerveau de l'animal. Il a été montré que le cerveau était significativement plus sensible à l'infection suivant une inoculation bactérienne que la peau (118). Dans un modèle expérimental chez le rat, l'inoculation de 10^4 CFU de *S. aureus* ou 10^6 CFU d'*E. coli* n'entraînait pas d'infection cutanée, alors que l'on observait la formation d'abcès cérébral avec seulement 10^2 CFU de ces organismes.

Introduction

Cependant chez l'homme, alors que l'inoculation bactérienne intracérébrale est fréquente en cas de traumatismes pénétrants, la probabilité de survenue d'abcès au décours est extrêmement faible, même en cas de réparation chirurgicale minimale (111).

PARTIE III

Infections

Liées au matériel transdermique

En neurochirurgie

Nous allons donc nous concentrer sur 2 types de matériaux transdermiques, c'est-à-dire avec une extrémité connectée à l'extérieur du corps, et une extrémité dans les ventricules ou le parenchyme. La DVE et la fibre optique mesurant la pression intracrânienne (PIC).

Bien que les 2 soient exposées en permanence à quantité de bactéries, et qu'elles ont toute les deux une partie dans une zone stérile, leur comportement vis-à-vis de l'infection semble complètement différents. Nous développerons essentiellement les infections liées aux DVE (ILD), les infections liées aux capteurs de PIC étant mystérieusement quasi-inexistante.

Infection de DVE

Définitions

L'incidence rapportée des ILD est de 1-39% (119). L'infection de DVE est de diagnostic difficile pour plusieurs raisons. **Premièrement**, les DVE sont indiquées chez des personnes présentant un tableau de méningisme clinico-biologique. La symptomatologie mime en tout point la méningite infectieuse, et le LCR est anormal (méningite aseptique). Ainsi, si l'on reprend le tableau de la méningite communautaire, on voit que les tableaux se superposent : clinique, biologique plasmatique et du LCR. Schade et al., en étudiant une cohorte de 230 patients consécutifs porteurs de DVE, n'ont montré aucune différence dans l'analyse du LCR entre les patients ayant développé une infection et ceux en étant indemnes (120). Le diagnostic ILD était une association de signes cliniques et de résultats microbiologiques. Le plus notable de leur résultat était que pour le groupe indemne d'ILD (n=200), l'analyse du LCR montrait une « normalité » (95° percentile) inférieure à 2705 élément/mm³, une glycorachie supérieure à 2,7 mmol/L, un ratio glucose LCR/plasma supérieur à 0,38 et une protéinorachie inférieure à 2,34g/L. Une conclusion largement répandue était donc que la surveillance du LCR pour la recherche d'ILD n'apportait aucun intérêt puisque le LCR était anormal de base. On voit tout de suite apparaître ici, la **deuxième** grande difficulté du diagnostic : celui de sa définition. De nombreuses propositions ont été faites, en général statiques. Des signes cliniques (avec toutes les réserves que nous venons de rappeler) avec une culture positive, des signes biologiques (idem) avec culture microbiologique (123–125), une combinaison de signes cliniques et biologique avec ou SANS culture positive (126–134)(**Figure 11**)... Cette dernière

émanant du CDC pour donner une sensibilité extrême au détriment de la spécificité à cette complication prétendue redoutable. Beaucoup d'auteurs se limitent à la culture positive, pour différencier méningite inflammatoire et méningite infectieuse (ILD). Ceci leur permet de se dédouaner du recouvrement des tableaux : maladie conduisant à la DVE, infection, voire maladie sous-jacente. A l'extrême, certains ne donnent pas de définition ou peuvent se contenter d'une culture d'un écouvillonnage cutané (132,143,144). D'autres utilisent le diagnostic fait (étude rétrospective) associé à la mise sous antibiothérapie (145,146). Mais « *ce qui est simple est toujours faux...* » comme disait Paul Valéry, aussi, le prélèvement de LCR peut être positif en culture, mais ne refléter qu'une contamination ou une colonisation (146,147).

A MEN-Meningitis or ventriculitis

Meningitis or ventriculitis must meet at least 1 of the following criteria:

1. Patient has organisms cultured from cerebrospinal fluid (CSF).
2. Patient has at least 1 of the following signs or symptoms with no other recognized cause: fever ($>38^{\circ}\text{C}$), headache, stiff neck, meningeal signs, cranial nerve signs, or irritability

and

at least 1 of the following:

- a. increased white cells, elevated protein, and/or decreased glucose in CSF
- b. organisms seen on Gram's stain of CSF
- c. organisms cultured from blood
- d. positive antigen test of CSF, blood, or urine
- e. diagnostic single antibody titer (IgM) or 4-fold increase in paired sera (IgG) for pathogen

and

if diagnosis is made antemortem, physician institutes appropriate antimicrobial therapy.

3. Patient ≤ 1 year of age has at least 1 of the following signs or symptoms with no other recognized cause: fever ($>38^{\circ}\text{C}$ rectal), hypothermia ($<37^{\circ}\text{C}$ rectal), apnea, bradycardia, stiff neck, meningeal signs, cranial nerve signs, or irritability

and

at least 1 of the following:

- a. positive CSF examination with increased white cells, elevated protein, and/or decreased glucose
- b. positive Gram's stain of CSF
- c. organisms cultured from blood
- d. positive antigen test of CSF, blood, or urine
- e. diagnostic single antibody titer (IgM) or 4-fold increase in paired sera (IgG) for pathogen

and

if diagnosis is made antemortem, physician institutes appropriate antimicrobial therapy.

Term	Definition
Contamination	Isolated positive CSF culture and/or Gram's stain Expected CSF glucose and protein profile Expected CSF cell count
Ventriculostomy colonization	Multiple positive CSF cultures and/or Gram's stains Expected CSF profile Expected cell count Lack of clinical symptoms other than fever
Suspected ventriculostomy-related infection	Progressively declining CSF glucose level Increasing CSF protein profiles Advancing CSF pleocytosis Absence of positive CSF cultures or Gram's stains
Ventriculostomy-related infection	Progressively declining CSF glucose level Increasing CSF protein profiles Advancing CSF pleocytosis One or more positive CSF culture or Gram's stain Paucity of clinical symptoms other than fever
Ventriculitis	Low CSF glucose level High CSF protein CSF pleocytosis Fever Clinical signs of meningitis, including nuchal rigidity, photophobia, decreased mental status, seizures, or moribund appearance

Figure 11. Exemple de proposition de définition des ILD selon deux auteurs. La plupart sont des propositions de définitions statiques. La gravité de la maladie oriente vers une définition très sensible de la maladie. Le panel A est la définition du Center for Disease Control américain de 2008. Le panel B est la proposition faite en 2002 par Lozier et al., qui prend en compte une évolution dynamique au cours du temps (ce qui nécessite d'avoir des points de comparaison).

« *Et ce qui ne l'est pas est inutilisable...* ». Une meilleure approche est une approche dynamique. De rares équipes ont pris cet aspect en compte. Il faut comprendre que les équipes qui ont étudié l'apport de la clinique ou de l'analyse du LCR dans le diagnostic ont pour la plupart donné des résultats négatifs, conduisant à penser à tort que le développement d'une ILD n'était pas associé à une modification du tableau clinico-biologique, et ce, à cause d'une méthode statistique non adaptée : toutes les valeurs relatives à chaque patient étaient mélangées, donnant une sorte de bruit de fond dans l'anormal qui restait anormal au moment du diagnostic (120,128,132,144,148). Tout d'abord l'équipe de Pfausler a décrit le cell-index (149,150). L'hypothèse sous-jacente du cell-index est que l'hémorragie intraventriculaire est une dilution du LCR par du sang. Le ratio des leucocytes par les hématies dans le LCR vs le plasma doit donc être proportionnel, et tout changement en faveur d'une augmentation des leucocytes retrouvés dans le LCR traduit un passage actif de ceux-ci dans le compartiment cérébral, traduisant une inflammation se majorant...que l'on pourrait associer à une infection. Bien qu'intéressant dans la démarche, le cell-index est limité à l'analyse des hématies et des leucocytes dans le LCR par rapport au plasma, et a été décrit sur une petite série de cas (30 patients, 7 ILD) avec des limites méthodologiques évidentes. Peu ou pas d'auteurs l'ont repris dans la littérature. Une autre équipe a tenté une analyse de l'approche dynamique (146). La méthode statistique employée était celle des rangs signés de Wilcoxon, qui prend en compte la dépendance de chaque variable à un temps T par rapport à une autre temps Tx, chez un même patient. Cette étude avait aussi pris le soin de comparer à un groupe contrôle l'évolution des paramètres, avec comme JO dans le groupe contrôle, la présence d'une culture positive du LCR, qui n'avait pas été suivie d'une antibiothérapie et qui avait bien évolué, définissant une contamination-colonisation. Cette analyse a mis en évidence l'importance des variations de l'examen clinique comme du LCR dans le diagnostic d'ILD (Figure 12).

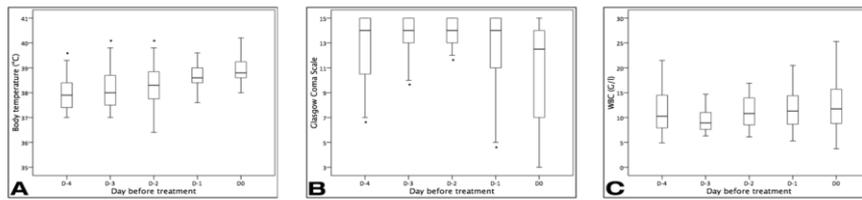


Fig. Changes in clinical parameters from D-4 to D0. Body temperature (a), CGS: Glasgow Coma Score (b), CSF: Cerebrospinal Fluid leukocyte count (c). Comparison versus D0 made (Wilcoxon signed-ranked test on the matched data available). To improve readability, we choose to present graphical data as boxplots without outliers. * $p < 0.01$ versus D0 value. D0 day of VRI diagnosis

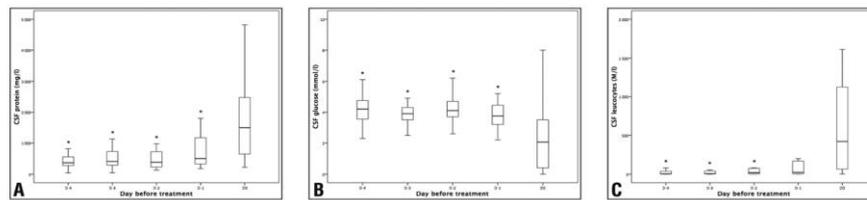


Fig. Changes in CSF (cerebrospinal fluid) parameters between D-4 and D0. CSF protein concentration (a), CSF glucose concentration (b), and CSF leukocyte count (c). Comparison versus D0 made with Wilcoxon signed-ranked test on the matched data available. To improve readability, we choose to present graphical data as boxplots without outliers. * $p < 0.01$ versus D0. D0 day of VRI diagnosis

Figure 12. Evolution des paramètres clinico-biologiques depuis les jours précédant le diagnostic (4j) jusqu'au jour du diagnostic. On observe une modification significative des paramètres, soulignant l'intérêt de leur surveillance. D'après Mounier et al. (146)

Ainsi, les ILD sont bien associées à une aggravation des symptômes cliniques et biologiques, et la surveillance du LCR a donc un intérêt (146,147). Pour l'instant, aucune étude n'a essayé de dégager un ratio de variation pour chaque variable.

Cependant cette notion dynamique rencontre un problème important, celui de la surveillance des DVE, et questionnait la physiopathologie de ces ILD. Effectivement une fois que la maladie est définie, il est bon de s'attacher à sa physiopathologie pour améliorer sa prévention.

Symptomatologie et épidémiologie

Une des autres difficultés rencontrées dans le diagnostic des ILD est, comme on l'a déjà dit, que son tableau clinique semblerait frustré. D'un certain côté, la symptomatologie est décrite comme frustré et d'un autre, le diagnostic et le traitement doivent en être prompts du fait d'une morbi-mortalité importante.

La symptomatologie recouvre les mêmes problèmes que le diagnostic, à savoir une symptomatologie commune avec la maladie sous-jacente responsable de l'hospitalisation du patient. La symptomatologie clinique de l'HSA, principale pourvoyeuse d'hydrocéphalie aiguë, traduit l'inflammation des méninges. L'ILD se traduit par une inflammation des méninges.

Introduction

Ainsi, pour certains, le tableau clinique est aussi perturbé que celui des patients indemnes d'ILD, rendant l'examen clinique inutile (128). La deuxième grande indication de la DVE est le traumatisme crânien grave qui par définition, est traité par une sédation forte afin de diminuer la consommation d'O₂ par le cerveau. La sédation forte interdit tout examen clinique, car le patient est plongé dans un coma pharmacologique où l'examen neurologique n'est plus possible. La température corporelle, quant à elle, est soit diminuée par la vasodilatation induite par les produits de l'anesthésie combiné à la baisse de la consommation d'O₂, soit recherchée dans la stratégie de contrôle de la pression intracrânienne (151–155). Ainsi, globalement l'examen clinique des patients porteurs de DVE est peu contributif. A l'opposé, la fièvre est une réponse normale adaptative à une agression. Quatre-vingt-dix pourcent des patients en milieu intensif neurochirurgical vont présenter de la fièvre, et 50% d'entre elles seront d'origine non-infectieuses (156). Pour ce qui est des leucocytes plasmatiques, le cerveau est tellement bien protégé, rien ne filtre dans un sens comme dans l'autre, qu'ils sont généralement peu ou pas augmentés en cas d'ILD (146), et de toute façon leur augmentation est absolument non spécifique en milieu de réanimation. Le LCR est anormal et nécessite une surveillance (120,146,147). Une petite proportion de ce tableau pourrait aussi être liée au délai de diagnostic. Si on dit que le tableau de la méningite nosocomiale est fruste, c'est parce qu'on le compare. A quoi, à la méningite bactérienne communautaire ! Or une méningite communautaire a le temps de se développer jusqu'à son diagnostic, contrairement aux méningites nosocomiales qui sont traquées. De plus, un groupe contrôle est difficile à définir. Ainsi certains auteurs ont réussi à montrer que le fait d'avoir une ILD améliorerait le tableau clinique...(132). Malheureusement, leur groupe contrôle était constitué par les patients le jour de leur admission, jour où en général le score de Glasgow est le plus bas. En fait ces études souffraient des mêmes biais et difficultés que celles étudiant le LCR en cas d'ILC.

L'analyse dynamique où chaque patient était son propre contrôle retrouvait cependant une aggravation de l'examen neurologique et de la fièvre, en accord avec les avis d'expert (146,157–159).

Cependant aucun auteur ne parle d'un tableau explosif comme les méningites communautaires. Serait-ce du à l'épidémiologie différente ou au caractère lié au matériel ?

Introduction

Effectivement, alors que les méningites communautaires ne sont que le fait d'un nombre restreints de bactéries (capsulées) capables de passer la BHE, les ILD peuvent être dues à n'importe quel microorganisme capable d'utiliser le chemin offert par la DVE pour aller jusqu'aux ventricules (89). On retrouve toutes les bactéries classiquement citées à l'origine d'infections nosocomiales tel que le *S. aureus*, les entérobactéries (*Klebsiella* spp., *E. coli*, *Enterobacter* spp.,...) et *Pseudomonas aeruginosa*. Mais aussi, évidemment, du fait de la présence de matériel, tous les germes cutanés commensaux tel *Propionibacterium* spp, *Corynebacterium* spp. et le grand champion des infections sur matériel, *S. epidermidis* et ses cousins à coagulase négative. Les *Staphylococcus*, *aureus* ou non, représentent généralement plus de 50% des ILD (89,147,160,161). Ainsi, la littérature abordant les infections de matériel transdermique retrouve sans surprise, une épidémiologie dominée par les CGP (14,162).

La peau, tout autant que le tube digestif, représente l'interface entre notre « soi » propre et l'environnement (cf chapitre microbiote cutané)(98,99). Ces épithéliums offrent une niche à des microbes sélectionnés, commensaux (80,163). Ainsi notre peau est recouverte d'un microbiote dominé par les *Staphylococcus* à coagulase négative (*S.epidermidis*, *S.capitis*,...), des corynebactéries, des propionibactéries, des *streptococcus*, et quelques BGN dans des régions particulières (périnée, aisselle, cheveux, barbes). Leurs densités varient de 10^3 à 10^6 cfu/mL selon la localisation (1). Au vue de la physiopathologie connue, il n'est pas étonnant de trouver ces germes responsables d'infections liées aux soins (89,162,164). Ils sont fréquemment les plus abondamment retrouvés dans la littérature étudiant les ILD, notamment les CoNS (89,119,146,147). Leur particularité est d'être peu ou pas pathogène : « low-pathogen » ou « pathogène accidentel » (29). Et ces infections, quel que soit leur site, se caractérisent par une symptomatologie frustrée, indolente (165).

Une question qui vient à l'esprit est donc de savoir si ce tableau peu inflammatoire est lié à l'épidémiologie particulière, notamment aux *Staphylococcus* à coagulase négatives ? Ou alors aux infections liées au matériel, avec la présence de biofilm.

Ce que l'on sait des infections de DVE

En fait, l'ILD est largement méconnue. On l'a vu, un problème de définition est à l'origine d'un problème d'incidence. Mais sa physiopathologie tout autant que son histoire naturelle sous traitement n'ont pratiquement pas été étudiées. Difficile dans ces conditions d'avoir des actions préventives efficaces, ou d'évaluer les meilleures stratégies thérapeutiques.

Les facteurs de risque d'ILD constamment retrouvés dans la littérature sont :

- **La durée d'exposition.** Même si celle-ci est débattue : certains auteurs pensent que l'exposition joue un rôle continu, causant un risque qui augmente avec l'exposition, alors que d'autre rapportent un risque maximal au dixième jour. Quoiqu'il en soit, l'ensemble des auteurs rapportent une médiane de drainage pour la survenue de l'ILD, de 10 jours (125,135,138,141,146,147,160,166–168). C'est-à-dire que l'ILD ne survient pas immédiatement, il lui faut un certain temps.
- **L'injection** de produit dans la DVE (fibrinolytiques, antibiotiques, sérum physiologique) en direction du patient. Les manipulations de DVE, type prélèvement de LCR en maintenant le circuit clos, pour surveiller l'évolution du patient, ont été à tort incriminées (123,127,135).
- La **fuite** de LCR autour du point d'entrée cutané de la DVE (89,138).
- **L'hémorragie** intraventriculaire (123,135,140,168).

Par ailleurs, on sait que les ILD sont majoritairement dues à des *cocci* Gram positifs, aux germes cutanés.

Ainsi, on pouvait supposer au vu de ces résultats, que les ILD étaient probablement dues à une progression extraluminale des germes cutanés jusqu'au cerveau, et qu'une fuite de LCR favorisait cette progression.

Physiopathologie des infections de DVE

Ainsi, pour clore le débat de la surveillance de la DVE et confirmer la voie d'infection préférentiellement extraluminale, une étude de physiopathologie était nécessaire. Il fallait comprendre comment on s'infectait à partir d'une DVE. Reprenant la physiopathologie des infections de cathéters veineux centraux et l'épidémiologie des infections de cathéters, nous avons fait l'hypothèse que l'infection venait de la peau et non par voie intraluminale, à partir

Introduction

des robinets de manipulations des lignes des cathéters (147,162). En effet, l'étude des infections liées au cathéters centraux montrent que les infections surviennent essentiellement avec des germes cutanés, et qu'elles passent essentiellement par voie extraluminale durant les 15 premiers jours, et seulement ensuite, les 2 voies sont équivalentes pour donner une infection. Nous avons prospectivement écouvillonné au niveau de la peau et au niveau du robinet manipulé (quotidiennement pour la surveillance du LCR), tous les 2 jours, tous nos patients porteurs de DVE(89). Le site cutané se colonisait plus fréquemment et plus rapidement que le robinet. La médiane de drainage était de 13 jours. La peau était responsable de la majorité des épisodes : 60% des ILD et 83% des colonisations de DVE (culture du bout de la DVE à l'ablation) le germe en cause avait été retrouvé au niveau de la peau avant l'évènement.

Ainsi, la manipulation du robinet distal de la DVE semblait peu associée au risque d'infection et de colonisation de la DVE.

Cependant, les résultats les plus intéressants de cette étude n'étaient probablement pas ceux-ci. Mais plutôt le fait que ce soit la présence d'un pathogène (défini comme non commensal permanent) au niveau de la peau qui était fortement associée à l'ILD (OR : 11,8 [2,5-56,8], $p=0,002$). Ce qui voulait dire que ce n'était pas la présence bactérienne (non spécifique) cutanée qui était associée à l'ILD. Effectivement, 80% des patients présentaient une culture positive des échantillons cutanés, et ceux qui ne développaient ni infection, ni colonisation de la DVE, avaient aussi une colonisation cutanée détectable, mais avec des commensaux.

Ainsi le rôle d'une éventuelle dysbiose pouvait-il être discuté.

Par ailleurs, il existe dans la littérature une seule étude utilisant la microscopie électronique pour évaluer la présence de biofilm sur les parois externes des DVE (169). Ramírez et al. ont étudié certaines DVE après leur ablation de patients. Quatorze DVE étaient nues, et 18 étaient des DVE imprégnées d'antibiotiques (DIA) (Bactiseal®). Ils ont observé la présence de biofilm dans plus de 86% des cas quand la DVE avait été utilisée au moins 7 jours, quel que soit le caractère imprégné ou non de la DVE. Le biofilm, comme dans notre étude, n'était pas associé à l'infection. Par contre, en cas d'ILD, on retrouvait du biofilm sur la DVE. Dans le même temps, seuls 33% des DVE étaient positives en culture. La présence de biofilm semblait

Introduction

augmenter en fonction de la durée d'utilisation. Malheureusement, aucune étude nucléotidique n'avait été réalisée.

En bref, la physiopathologie de l'ILD semblerait être liée à la progression du biofilm le long de la paroi externe de la DVE. Cette progression prend du temps (>5j). Le fait d'être en biofilm, et donc globalement tolérantes, permettrait aux bactéries de coloniser les DVE nues comme les DIA. Les bactéries proviendraient de la peau. Le microbiote cutané résultant d'une longue co-évolution, toute dysbiose pourrait altérer son effet protecteur et favoriser l'infection.

Traitement des ILD

Pour le traitement des ILD, les données sont encore plus pauvres. Il n'existe pas d'études randomisées contrôlées. Beaucoup de données viennent des études ex vivo du PK/PD des antibiotiques et de modèle animal pour la pénétration des ATB au travers de la BHE. Pour les données cliniques, il existe quelques études de petits effectifs sur des sujets sains, ou des séries de cas rétrospectives. La pénétration des ATB est globalement mauvaise, cependant la perméabilité, et donc leur passage, augmente avec l'inflammation (112,170,171). C'est ce que rapportent de petites séries.

En fait l'histoire de la maladie sous traitement n'est pas connue, ni les facteurs de mauvais pronostics. Ainsi, le meilleur traitement, sa durée, la place de l'injection intraventriculaire ou du changement de matériel, ne sont basés que sur des recommandations d'experts.

Les principes du traitement des ILD reposent globalement sur ceux de la méningite bactérienne communautaire. L'ATB doit être bactéricide, pénétrer dans le SNC et atteindre des taux adéquats dans le LCR permettant son action (172).

Cependant, l'inflammation semble plus faible dans les ILD, ce qui veut dire que la perméabilité de la BHE est faible, rendant difficile pour les ATB d'atteindre des taux thérapeutiques dans le LCR. Par ailleurs, les germes incriminés ont souvent des concentrations minimales inhibitrices (CMI) plus élevées que les germes en cause dans les infections communautaires. Par exemple, les pneumocoques français ont une $CMI_{90} < 0,5$

mg/l au cefotaxime, alors que les *S. aureus* ou *epidermidis* méthicilline-résistant ont des CMI 90 de l'ordre de 1 et 2 mg/l à la vancomycine, respectivement (171–173).

Aussi, devant la difficulté de traiter ces infections, avec une mortalité pouvant atteindre 50%, l'administration intraventriculaire de certains ATB (par injection dans la DVE) peut être réalisée.

Celle-ci est recommandée par les experts lorsque l'infection répond mal au traitement (?). Son avantage théorique est de pouvoir atteindre des taux *in situ* importants sans la toxicité systémique associée à des posologies importantes. Cependant, l'efficacité et la toxicité de cette voie d'administration n'ont pas été clairement démontrées (172). L'administration intraventriculaire n'est ainsi pas approuvée par la Food and Drug Administration américaine, et l'IDSA (société américaine de maladie infectieuse) ne recommande cette voie qu'en cas de « mauvaise évolution » sous traitement ATB adapté (172). Il existe tout de même quelques données prospectives qui démontrent une meilleure qualité pharmacodynamique, pour une même efficacité sans plus de toxicité pour cette voie, comparé à l'administration systémique (174,175). Notons qu'une étude randomisée contrôlée rapporte une augmentation du risque relatif de décès trois fois supérieure chez les enfants traités par gentamycine intraventriculaire et ATB systémiques comparé à ATB systémiques seuls (172).

Les doses d'ATB utilisées par voie intraventriculaire ont été déterminées empiriquement, avec des ajustements de posologie et d'intervalles d'administration pour atteindre des concentrations adéquates. Cependant, il est difficile de déterminer la posologie adéquate car les études de pharmacocinétique ont montré de grande variation de concentrations obtenues dans le LCR, probablement liées à des différences interindividuelles de volumes de distributions, de tailles ventriculaires ou d'une clairance du LCR (176–178).

La durée de traitement fait uniquement l'objet de recommandations d'experts. Il n'existe pas d'étude randomisée contrôlée. Le taux de réinfection est de l'ordre de 20% (172). Il est actuellement recommandé de traiter les patients 10-14 jours après la dernière culture positive (172).

Il est donc recommandé de surveiller la réponse au traitement. La surveillance comprend l'examen clinique et l'analyse biochimique et microbiologique du LCR. Cependant, c'est le blanc total pour ce qui est de savoir ce qu'est une bonne ou une mauvaise évolution, sur la

durée attendue de positivité des cultures.... Il n'existe aucune donnée dans la littérature permettant de le savoir, rendant ces recommandations difficiles d'interprétation.

Prévention des ILD

Toutes les études portant sur la prévention de l'ILD sont de faible qualité. Elles sont toutes globalement de faible effectif et rétrospectives. Les problèmes de définitions non consensuelles persistent. Et surtout, elles mélangent les dérivations ventriculaires internes (donc internalisées, et non soumises à l'exposition permanente des germes cutanés) et les DVE (172). Les recommandations sont donc essentiellement basées sur les facteurs de risques sus-décrits.

Techniques chirurgicales et hygiène

De nombreuses études ont été publiées au sujet des DVI, cependant ces études présentent des biais méthodologiques importants. Ainsi, la plupart des recommandations sont basées sur les facteurs de risques. Un protocole d'hygiène et d'asepsie stricte, une mise en place au bloc opératoire, une double paire de gant et de bonnes techniques chirurgicales sont importants et diminueraient probablement les taux d'infections.

Antibioprophylaxie ponctuelle lors de la pose de la DVE

Anciennement non recommandée (147,179), et bien qu'aucune nouvelle étude ne vienne modifier ces recommandations, les guidelines de la société américaine d'infectiologie recommandent depuis 2017 sa pratique (172). Il n'existe pas d'études randomisées contrôlées.

Cela peut se comprendre intuitivement pour les DVI (internalisées, exposition « septique » limitée à la période périopératoire). Par contre pour les DVE, la question est tout autre. Leur exposition est permanente par nature. Si on prend en compte le fait que les infections surviennent autour du 10^e jour, principalement avec des germes cutanés, cette recommandation pose question. Et aucune antibiothérapie ou antiseptie la plus stricte ne permet de stériliser la peau ou de diminuer l'inoculum bactérien cutané de manière durable (180). Les quelques études positives comportent moins de 150 patients en tout, manquant

Introduction

largement de puissance (140). La plupart des autres études ne montrent pas de différence (123,130,135,136,142,147,181). Une étude portant sur 127 centres de neurochirurgie allemands rapportait que seulement un peu plus de la moitié de ces centres pratiquait l'antibioprophylaxie ponctuelle (182).

De plus, cette antibioprophylaxie est toujours susceptible d'entraîner une dysbiose ainsi que de sélectionner des germes résistants. Certaines études montrent même que cette antibioprophylaxie pourrait conduire à des infections par des germes résistants (172).

Antibioprophylaxie systémique pendant la durée de l'exposition

L'antibioprophylaxie pendant toute la durée de l'exposition à la DVE pourrait avoir plus d'intérêt dans le sens où elle serait administrée pendant toute la durée de l'exposition de la DVE aux bactéries. Les résultats des études sont contradictoires, certaines ne montrant pas de différence selon qu'il y ait ou non cette antibioprophylaxie prolongée, et inversement. Deux études randomisées contrôlées montrent les mêmes désaccords. La première utilisait le cotrimoxazole contre placebo et ne retrouvait pas de différence en faveur d'un groupe (183). La deuxième étudiait une prophylaxie par ampiciline-sulbactam ponctuelle à un traitement prolongé par ampiciline-sulbactam associé à de l'aztreonam (184). Cependant, les germes en cause dans les infections sont plus résistants et la mortalité pourrait être plus importante dans le bras traité (66% vs 41%) (184).

Ainsi l'IDSA ne recommande pas cette pratique.

DVE imprégnées d'antibiotiques

Les DVE imprégnées d'antibiotiques (DIA) ont été développées voilà plusieurs dizaines d'années et sont largement utilisées en clinique depuis les années 2000. Leur intérêt est évident : offrir une protection locale contre la colonisation et l'infection, pendant toute la durée de l'exposition, et ce pour une toxicité et des effets secondaires réduits. Elles sont généralement imprégnées de clindamycine ou minocycline associée à de la rifampicine. Leur spectre est essentiellement actif contre les bactéries Gram positifs, c'est-à-dire les germes cutanés. Les plus utilisées et étudiées sont les DVE Bactiseal™, imprégnées de clindamycine-

Introduction

rifampicine. Leur efficacité a été essentiellement testée *in vitro*, dans des modèles de shunt. C'est-à-dire que les KT étaient perfusés par des solutions à des vitesses correspondant globalement aux débits humains de LCR, entre 10 et 20 mL/h. Les inoculations bactériennes étaient réalisées avec des forts inoculi de *Staphylococcus (epidermidis* ou *aureus*, 10^8 cfu/ml) le modèle expérimental ne prévoyait qu'une durée extrêmement courte de mise en contact des bactéries avec les shunts (<5 min). Ces inoculations étaient répétées tous les 14j. Au cours des différentes études, le temps de contact s'est allongé jusqu'à une heure. Ainsi les auteurs ont pu montrer une durée de protection d'au moins 56 jours contre les *Staphylococcus* (119,185). Une analyse permettait d'exclure l'apparition de mutants résistants.

Une seule étude clinique a évalué en laboratoire la durée d'activité antimicrobienne des shunt Bactiseal™ explantés pour raison médicale (192). Vingt-cinq KT, provenant de 18 patients, ayant été en place entre 11 et 700 j, ont été testés. Une portion par KT de 1,5cm, étaient mises en culture avec un inoculum calibré à 0,5 McFarland de *S. aureus* (American Type Culture Collection 25923, sensible à la clindamycine et à la rifampicine). Le critère de jugement principal était le diamètre d'inhibition. Les résultats étaient exprimés en % d'activité résiduelle restante par rapport au contrôle imprégné. Il y avait des KT ventriculaires, péritonéaux, sous-duraux. La variabilité du diamètre d'inhibition autour du KT contrôle imprégné était minimale ($14,4 \pm 3$ mm) et aucun diamètre n'a été observé avec les KT contrôle nus. L'activité inhibitrice était retrouvée sur les KT jusqu'à 100 j d'utilisation, même si le pourcentage d'activité chutait très rapidement autour de 50% dès les premiers jours (192). La corrélation entre durée d'implantation et mesure de diamètre n'était ni absolue, ni linéaire.

Roger Bayston et al., confirmera ces résultats en testant *in vitro*, 3 types de DVE imprégnées en ATB avec une souche de *S. epidermidis* (196). Les KT étaient le Ventriculear II G44130 de Medtronic, imprégné en rifampicine-minocycline, et 2 Bactiseal (au barium (82-1749) et simple (82-1750)) imprégnés en clindamycine-rifampicine de Codman and Shurtleff Inc. La souche de *S. epidermidis* (F1228) provenait d'une infection clinique de LCR. Son identifiant par le API Staph System (Biomeyrieux) était le 6606013, et était sensible à la rifampicine (0,008 mg/l), à la clindamycine (0,125 mg/l) et à la minocycline (0,125 mg/l). Le modèle de l'étude était un KT dont une partie était insérée dans une pochette d'eau, mimant une portion sous cutanée. Le KT était perfusé par du sérum physiologique à 37°C (et non un milieu nutritionnel) à une vitesse de 20 ml/h. *S. epidermidis* était inoculé à 10^3 cfu à J1, 4, 10 et 21.

Introduction

Les prélèvements de liquide issu du KT étaient prélevés immédiatement après l'introduction de *S. epidermidis* dans le système, et ce aux 4 points temporels. Les auteurs mesuraient quotidiennement dans l'effluent la concentration en ATB résiduelle par HPLC. Les concentrations obtenues étaient très importantes et chutaient très vite en 24h, pour se maintenir à peu près stables au cours du temps, jusqu'à 21j. Phénomène curieux en biologie et non-expliqué. Quoiqu'il en soit, les concentrations résiduelles observées tout au long de l'expérience restent supérieures aux différentes CMI de *S. epidermidis*.

De nombreuses études rétrospectives manquant de puissance, souffrant de nombreux biais, ont essayé de démontrer l'intérêt clinique de ces DIA dans la pratique clinique. Les résultats sont contradictoires en dehors d'un fait univoque qui est l'augmentation des bactéries résistantes.

Trois études randomisées contrôlées méritent qu'on s'y arrête. La seule étude en faveur des DIA comparait des DIA (Rifampicine+Minocycline) avec des DVE nues (141). Malheureusement, 95% des patients dans les 2 groupes reçoivent des ATB systémiques durant toute la durée de l'exposition. Sur deux cents quatre-vingt-huit patients inclus, 15 infections étaient diagnostiquées (par culture de CSF), dont 1,3% dans le groupe DIA contre 9,6% dans le groupe nues ($p < 0.002$).

Les résultats étaient identiques en termes de colonisation : 17,9% dans le groupe DIA vs 36,7% dans le groupe nues ($p < 0.05$). Cependant, les infections étaient essentiellement dues à des *Staphylococcus* à coagulase négative (CoNS) dans le groupe nues, alors que l'on retrouvait de vrais pathogènes dans le groupe DIA (*E. fecalis*, *S. aureus*, *E. aerogenes*).

La deuxième étude randomisée contrôlée comparait chez 110 patients une DIA (clindamycine-rifampicine) à une DVE nue associée à une antibiothérapie systémique (Augmentin + C3G) (186). Aucune infection n'était observée, et les auteurs concluaient logiquement que les DIA étaient aussi efficaces que les DVE nues dans la prévention des infections avec l'avantage d'éviter les effets systémiques d'une antibiothérapie.

La dernière était sponsorisée par le laboratoire commercialisant Bactiseal, et comportait l'effectif le plus important ($n=357$) (166). Il comparait des DIA Bactiseal vs nues et ne retrouvait aucune différence de VRI entre les groupes (prouvées : 4 (2,3%) groupe Bactiseal vs 5 (2,8%) groupe Standard ; suspectées 17,6% groupe Bactiseal vs 20,4% groupe Standard). Là

encore, 86,5% des patients recevaient une antibiothérapie prolongée, avec plus de 3 ATB associés pour la majorité des patients.

Au vu de ces données, l'IDSA recommande l'utilisation des DIA (172).

Infection de capteur de PIC

Les infections de capteurs de PIC (CPIC) sont plus faciles à définir, mais leur imputabilité peut-être moins. Les infections qui sont liées aux CPIC peuvent être différenciées selon leurs sites. Profondes, avec les abcès cérébraux et les méningites ; osseuses ; et superficielles, avec les infections des tissus mous.

Utilisés depuis moins longtemps que les DVE, ils ont aussi été moins étudiés. Surtout, les anciennes études portant sur les infections et leurs facteurs de risques incluaient des patients avec des CPIC intraparenchymateux, ainsi que des DVE (19,22,27,136,187–189). Ainsi, des infections ont été imputées aux CPIC, et leur facteurs de risque d'infection se recourent.

Les DVE comme les CPIC traversent les barrières protectrices du cerveau et peuvent théoriquement l'exposer à une contamination bactérienne. Les DVE, on l'a vu, présentent une survenue d'infection importante, suite à la progression le long de la DVE, de la peau jusqu'au cerveau (89).

Une analyse plus détaillée de la littérature montre, de manière extrêmement surprenante, que les CPIC sont exceptionnellement responsables d'infections cérébrales. Effectivement, si on exclut les études mélangeant les deux dispositifs, DVE et CPIC, on ne retrouve pas d'infection profonde. Par exemple, Martínez-Mañas et al. rapportaient 2,9% de méningites chez des patients présentant les 2 types de monitoring (22). Dans les études portant exclusivement sur les CPIC, certains auteurs rapportent des complications infectieuses certes, mais intéressant la peau (0 à 2,4%) ou l'os, plutôt que le tissu cérébral (0%)(20,22,23,26). Dans la plus large série publiée, aucun des 1000 patients consécutifs n'a développé une infection cérébrale en lien avec le CPIC (20). Qu'il y ait antibioprophylaxie ou non, il ne semble pas y avoir d'infections significatives, ainsi, la pratique de l'antibioprophylaxie n'est-elle pas recommandée (20,27,188).

Introduction

Les études récentes reportent des taux de colonisation de CPIC (donc sans infection associée) en culture, de 8,5 à 17%, principalement à gram positifs (20,22,23,190). Les taux de colonisation des DVE, évalués par la même technique, sont un peu plus élevés, de 10 à 36% (89,123,145), mais leur durée d'utilisation aussi. En médiane les DVE sont placées 13 jours, alors que les CPIC le sont pour moins de 8 jours. L'épidémiologie bactérienne des colonisations ne diffère pas significativement entre les 2 types de dispositifs.

Considérant les nombreuses similarités anatomiques entre les CPIC et les DVE, une telle différence d'incidence de colonisation et d'infection liées reste inexplicée.

Conclusions de cette introduction et hypothèses

On peut donc résumer cette introduction. Le matériel implanté est une nouvelle facette de la médecine, prenant une place sans cesse grandissante. Sa place est bien évidemment caractérisée par ses bienfaits individuels améliorant ou redonnant une fonction à un patient. Mais son pendant est l'infection qui nous a révélé un pan inconnu, méconnu, de la vie bactérienne : le biofilm (3). Les infections à biofilm sont différentes des infections planctoniques et nous ne sommes qu'aux balbutiements de leur connaissance. Tant sur le plan diagnostique, physiopathologique, que thérapeutique.

Cette révolution du biofilm s'accompagne d'autres révolutions. Nous sommes un superorganisme. Notre microbiote fait partie de nous et toute modification de celui-ci peut nous rendre malade. Par ailleurs, les bactéries sont partout (à l'exception des rares sites)... c'est-à-dire que la colonisation est omniprésente. Ce qui remet en cause la théorie du germe de Pasteur et les postulats de Koch sur la maladie infectieuse, il n'existe pas trois états distincts : stérile, colonisé, infecté avec ce continuum laissant penser que la colonisation est associée à l'infection. Certes, sans bactéries, pas d'infection bactérienne. Cependant, il semblerait que la colonisation, comme rappelé plus haut, soit une constante. Ce qui rend le lien entre colonisation et infection beaucoup plus flou. On exclura les rares vrais pathogènes dont la présence est fortement associée à l'infection, la colonisation n'existant pratiquement pas (Ph Sansonetti, Collège de France, Première leçon).

Concomitamment, la théorie de Burnett (99) du soi et non soi est largement revisitée devant l'évidence que le système immunitaire ne répond pas au non-soi, mais plutôt au danger, quelle que soit sa cause (97). Qu'une part importante de son rôle était passé inaperçu : celui d'assurer l'homéostasie des organes, et de façonner notre microbiote (191).

A la lumière de tous ces nouveaux concepts, nous nous sommes intéressés aux matériaux implantés dans le système nerveux central et leurs infections associées.

Ce sont avant tout les infections liées aux dérivations ventriculaires externes. Nous avons vu que leur physiopathologie commençait à être comprise, mais on ne sait toujours pas si ce tableau frustré est lié au biofilm ou à d'autres facteurs, si le biofilm est permanent ou non. Quoiqu'il en soit, la prévention des ILD semble être un échec.

Introduction

Il n'existe pas d'études randomisées contrôlées concernant leurs traitements et en l'absence de connaissance de leur histoire naturelle, la comparaison de traitement sur des séries est difficile.

Enfin, quelles sont les différences qui existent entre les CPIC et les DVE pour que les premières ne s'infectent pas, alors que les deuxièmes oui ? Une étude systématique de la colonisation des CPIC semble nécessaire.

Questions

Question 1 : quelle est l'évolution normale d'une ILD sous traitement antibiotique adaptée, et les facteurs de risque d'une mauvaise évolution ?

Question 2 : le tableau clinico-biologique pauci-symptomatique des infections liées aux DVE est-il lié à son épidémiologie particulière, c'est-à-dire à des infections avec des bactéries commensales comme *S. epidermidis* ?

Question 3 : quelle est la durée de protection antimicrobienne des DVE imprégnées d'antibiotiques en utilisation clinique ?

Question 4 : étude systématique de la colonisation des capteurs de pression intracrânienne et des facteurs de risque d'infection.

Question 5 : étude systématique de la colonisation des dérivations ventriculaires externes et des facteurs de risque d'infection. Résultats préliminaires.

PARTIE IV

Axes de Recherche

RESULTATS

Question 1 : Quelle est l'évolution normale d'une ILD sous traitement antibiotique adapté, et les facteurs de risque d'une mauvaise évolution ?

L'efficacité d'une action préventive et curative est conditionnée à la définition et la connaissance que nous avons de cette maladie.

Comme on la dit, l'ILD est peu connue. Les études se sont plutôt portées sur son diagnostic, et le rôle de l'analyse de LCR pour celui-ci. Il n'existe pas d'étude portant sur l'histoire naturelle de la maladie sous traitements antibiotiques adaptés, ni sur les facteurs de risque de mauvais pronostic. Il existe bien des cas cliniques et des séries rapportées de traitement avec certains antibiotiques, avec des injections intrathécales, mais en l'absence de groupe contrôle ou de cohorte historique, il est difficile de comparer. De la même manière, le clinicien traitant son infection peut se demander quand est attendu la résolution de tel symptôme, la négativation de la culture, pour savoir si l'infection est sous contrôle ou si elle lui échappe.

Les données sur la méningite communautaire sont bien plus abondantes, mais leur extrapolation à l'ILD est plus qu'incertaine. En effet, les ILD comportent du matériel en place, cause de récurrence de l'infection reconnue (54). Les germes en cause sont principalement des *Staphylococcus* et ceux-ci ont des CMI supérieurs aux germes responsables des méningites communautaires, avec par exemple des CMI 90 des *S.aureus* et *S.epidermidis* pour la vancomycine à 1,5 et 2 mg/l, respectivement (171). De plus, l'inflammation méningée est moins importante dans ce type d'infection, or l'inflammation méningée conditionne, pour beaucoup d'antibiotiques majeurs, leurs taux de passage à travers la barrière hémato-encéphalique (160,171). Ces trois paramètres rendent ces infections bien plus dures à traiter.

Pour les méningites communautaires, l'évolution n'est pas non plus bien définie. L'examen clinique peut être suivi tous les jours mais est plutôt rapporté à des dates fixes (J3, J5) dans les rares études en faisant état. Les symptômes neurologiques s'améliorent rapidement, dans les 48 heures après l'initiation de l'antibiothérapie (192), alors que la température se normalise dans les 4 premiers jours (192). En l'absence d'amélioration clinique, la société

américaine des maladies infectieuses (IDSA) et les experts, recommandent le contrôle de la stérilisation de la culture et la normalisation des paramètres biochimiques du LCR à 48h (172,193). On sait que la culture du LCR se négative dans les 24h suivant la mise sous antibiothérapie adaptée (192,194,195). Effectivement, cette stérilisation est rapide en l'absence de matériel étranger, d'une inflammation méningée importante (170), et d'une grande sensibilité des germes aux antibiotiques utilisés. Cependant, bien que les études rapportent les paramètres biochimiques au moment du diagnostic, elles ne rapportent pas leur évolution (196,197). Il est alors difficile de savoir ce qui est attendu d'une ponction lombaire de contrôle.

Concernant les ILD, les recommandations sont les mêmes. L'IDSA recommande aux médecins de contrôler la réponse clinique au traitement (172), mais il n'existe aucune étude publiée sur le sujet. La culture du LCR doit être contrôlée. Et les paramètres biochimiques du LCR doivent être analysés en cas de retard d'amélioration (172).

En l'absence de telles données dans la littérature, nous avons conduit une étude rétrospective dont l'objectif était de décrire l'histoire naturelle clinico-biologique, des patients atteints d'ILD. L'objectif secondaire était de dégager des facteurs de risque de mauvais pronostic.

Sur une période de 8 ans (2007-15), 567 patients ont bénéficié d'une DVE dans notre service. Ont été exclu les patients porteurs d'une DVE dans une stratégie thérapeutique d'une infection du SNC et les infections de sites opératoires. Cent-quatre patients ont eu à un moment ou un autre une culture positive de leur LCR. L'étude étant rétrospective, les patients ayant eu une culture positive de leur LCR et reçu des antibiotiques dans ce cadre, ont été définis comme ayant développé une ILD (n=39). Les patients n'ayant pas reçu d'antibiotiques malgré une culture positive du LCR et ayant bien évolué ont été considérés comme colonisés (n=65).

Les paramètres clinico-biologiques ont été comparés jour après jour entre les deux groupes jusqu'au dixième jour. Le premier jour de comparaison (J0), était le jour de la mise sous antibiotique sans le groupe ILD, et le jour de la culture positive dans le groupe contrôle. Nous avons aussi rapporté les valeurs du quatrième jour avant J0 pour avoir une valeur de

référence. Nous avons montré dans un précédent article, que les modifications engendrés par l'infection, surviennent dans les 48h avant le diagnostic (146). Toutes les valeurs étaient comparées au J0 du patient étudié (rang signé de Wilcoxon).

La durée de drainage médiane dans le groupe ILD était de 18 [11–30], alors que l'ILD survenait au 12^e j [7–16]. La durée d'antibiothérapie était de 15j [13 –21]. La mortalité de la cohorte était de 23 % (n=9), dont 55% (n=5) était lié directement à l'ILD.

Les signes cliniques étaient les plus prompts à s'améliorer, dans les premiers jours du traitement (dès 24h pour la température, 4 jours pour le score de Glasgow). Les leucocytes plasmatiques n'étaient d'aucune utilité, ni pour le diagnostic, ni dans le suivi. Ils ne présentaient aucune différence avec le groupe contrôle. Les leucocytes du LCR étaient par contre les premiers à se « normaliser » au quatrième jour, suivi de la protéinorachie au cinquième jour. La glycorachie restait anormale toute la durée de la surveillance. La comparaison avec le groupe contrôle donnait une bonne congruence à l'étude, c'est-à-dire que l'on pouvait observer une différence significative entre les deux groupes à l'acmé des signes inflammatoires, mais dès que les valeurs se « normalisaient » dans le groupe ILD, elles perdaient leurs différences avec le groupe contrôle.

L'examen direct se négativait le deuxième jour contre le troisième jour pour la culture.

Aucune valeur clinico-biologique n'était discriminante entre un bon et un mauvais pronostic (défini comme la mort ou un score de GOSe<6). La microbiologie n'apportait rien au pronostic, avec aucune association statistique entre la culture et l'examen direct selon le pronostic, hormis pour un examen direct encore positif au 8^e jour ($p = 0.029$).

Cependant, beaucoup de ces infections, comme le rapporte la littérature d'ailleurs, étaient dues à des germes commensaux. Ces germes sont connus pour vivre en bonne intelligence avec nous et sont généralement dénués de facteur de virulences. Nous avons voulu étudier cette piste plus avant : est-ce que le tableau peu inflammatoire de ces infections associées aux soins (seulement 1,2 g/L de protéinorachie) était lié à cette forte proportion de « pathogènes accidentels », et si le pronostic pourrait être différent (Question 2).

Par ailleurs, cette étude rapporte des faits surprenants. Sur les 39 ILD, 47 bactéries, dont 45% (n=21) sont des *cocci* Gram positifs. *S. epidermidis* est la bactérie la plus fréquente (26%, 12/47). Or pendant toute la durée de l'étude, seule la DVE Bactiseal (Codman, Johnson & Johnson) était utilisée. Cette DVE est imprégnée de 2 antibiotiques, clindamycine et rifampicine, visant les *cocci* Gram positifs, germes normalement à l'origine de la plupart des ILD (119,198). Les deux antibiotiques diffusent sur les 2 faces, interne et externe, de la DVE. Les données fondamentales, *ex vivo*, retrouvent une protection contre la colonisation par des bactéries Gram positives de la DVE (en fait des dérivations ventriculaires internes), au moins jusqu'à 56 jours (119,198). Cependant, notre médiane de drainage est bien plus courte et sur l'ensemble des *cocci* Gram positifs retrouvés, 86% ont une sensibilité conservée à la rifampicine, 38% à la clindamycine, et 38% sont sensibles aux 2 antibiotiques.

Ces résultats soulèvent la question de l'efficacité de cette DVE imprégnée d'antibiotiques, probablement la plus utilisée au monde.

Deux hypothèses viennent immédiatement à l'esprit.

- 1) Soit la durée de protection offerte par ce type de DVE est beaucoup plus courte lorsqu'elles sont utilisées en pratique clinique, avec notamment une exposition permanente aux bactéries (Question 3).
- 2) Soit la physiopathologie de ces infections est mal connue, ce qui a conduit à des mesures préventives inadéquates. Il semblerait que les infections sur matériel soient essentiellement dues au biofilm (54,199), notamment en neurochirurgie (16,169,200). Le biofilm se caractérise par un phénomène de tolérance des bactéries envers les agressions extérieures, tel les antibiotiques (54,58). Ce phénomène permet aux bactéries sensibles d'adhérer à la DVE à partir de la peau, puis de migrer sous la forme de biofilm pour enfin se disperser (détacher) dans le LCR, créant l'infection, avec de nouveau un phénotype sensible. Une seule étude, non systématique, retrouve de manière fréquente du biofilm sur les DVE, que celles-ci soient imprégnées ou non en antibiotiques (Question 5).

Natural history of ventriculostomy-related infection under appropriate treatment and risk factors of poor outcome: a retrospective study

Roman Mounier, MD,¹ Ron Birnbaum, MD,¹ Fabrice Cook, MD,¹ Paul-Henri Jost, MD,¹ Mathieu Martin, MD,¹ Bouziane Ait-Mamar, MD,¹ Biba Nebbad, MD,² Séverine Couffin, MD,¹ Françoise Tomberli, MD,¹ Ryad Djedid, MD,³ Gilles Dhonneur, MD, PhD,¹ and David Lobo, MD¹

Departments of ¹Anesthesia and Surgical Intensive Care, ²Microbiology, and ³Neurosurgery, Henri Mondor University Hospital of Paris, Paris XII School of Medicine, Créteil, France

OBJECTIVE The authors aimed to describe the natural history of ventriculostomy-related infections (VRIs) under appropriate treatment and to assess risk factors for poor outcome.

METHODS All patients older than 18 years in whom an external ventricular drain (EVD) had been implanted and who had developed a VRI requiring treatment were included in this retrospective study. D0 was defined as the first day of antibiotic administration. Clinical and biological parameters were compared each day beginning with D1 and ending with D10 to those of D0. The authors defined D0 in a control group as the day a CSF culture came back positive, without any sign of infection. The authors then searched for poor prognostic factors in the VRI group.

RESULTS Among 567 patients requiring an EVD between January 2007 and October 2017, 39 developed a VRI. Most were monomicrobial infections, and 47 microbes were responsible (45% were gram-positive cocci). Clinical parameters differed significantly from the control group during the first 2 days and then returned to baseline. The CSF parameters differed significantly from the control group for a longer period, returning to baseline after 5 days. CSF sterilization occurred in a median time of 2 days. An intrathecal route or EVD exchange was not associated with a poor outcome. No clinical or biological parameter between D3 and D5 was linked to outcome.

CONCLUSIONS Clinical status improved faster than CSF parameters (before and after D5, respectively). Some CSF parameters remained abnormal until D10. Body temperature and microbiological cultures normalized faster than other parameters.

<https://thejns.org/doi/abs/10.3171/2018.6.JNS18853>

KEYWORDS cerebrospinal fluid; external ventricular drain; natural history; ventriculostomy-related infection; hydrocephalus

PLACING an external ventricular drain (EVD) exposes one to infectious hazards defined as ventriculostomy-related infections (VRIs).^{14,19,20} The reported incidence of drain-related meningitis ranges from 2% to 22%.^{14,20}

Little is known about VRI or healthcare-associated meningitis. Factors associated with an increased risk of infection are intraventricular or subarachnoid hemorrhage (SAH), craniotomy, systemic infection, cranial fracture

with CSF leakage, and EVD irrigation.^{14,15,17,20} Preventive measures such as intravenous prophylactic antibiotics or antimicrobial-impregnated EVD have been less studied, and results are contradictory.^{14,27,37,38} Optimal treatment has not been the subject of any randomized controlled trials.³² In contrast, community-acquired meningitis has been thoroughly documented. The principles of antimicrobial therapy for patients with VRI are generally the same as those for community-acquired meningitis.³² Neverthe-

ABBREVIATIONS ESBL = extended-spectrum beta-lactamase; EVD = external ventricular drain; GCS = Glasgow Coma Scale; GNR = gram-negative rods; GOS = Glasgow Outcome Scale; GOSE = GOS-Extended; GPC = gram-positive cocci; GS = Gram staining; IDSA = Infectious Diseases Society of America; SAH = subarachnoid hemorrhage; VRC = ventriculostomy-related colonization; VRI = ventriculostomy-related infection; WBC = white blood cell.

SUBMITTED March 30, 2018. **ACCEPTED** June 11, 2018.

INCLUDE WHEN CITING Published online November 16, 2018; DOI: 10.3171/2018.6.JNS18853.

©AANS 2018, except where prohibited by US copyright law

J Neurosurg November 16, 2018 1

Résultats

Mounier et al.

from community-acquired meningitis. Indeed, clinical or surgical meningitis often generates abnormal CSF parameters.^{19,28} Such infections are also harder to treat, both because the responsible bacteria usually have a low susceptibility to antibiotics and because of the presence of a blood-brain barrier.²¹

The Infectious Diseases Society of America (IDSA) recommends the monitoring of the response to VRI treatment by using both clinical parameters and CSF cultures. In the event of the absence of any clinical improvement, additional CSF analysis is recommended. Still, the natural history of the infection under treatment is either unknown or little known. In this study, we aimed to describe the natural course of VRI under appropriate antimicrobial therapy and to assess risk factors of poor outcome.

Methods

We conducted this study in the neurosurgical ICU of a teaching hospital. All patients older than 18 years in whom an EVD had been implanted and who developed VRI and required antibiotic treatment were included. All data were extracted from a neurosurgical ICU and a microbiological database. The institutional ethics committee approved this retrospective analysis.

Exclusion Criteria

Patients were excluded in the event of the following: 1) EVD colonization or contamination (a positive CSF culture with a good outcome despite no antimicrobial therapy); 2) aseptic meningitis (clinical and laboratory pattern of meningitis without any microbiological data at CSF culture); 3) complicated bacterial meningitis (e.g., cerebral abscess); and 4) EVD placement for CSF infection.

Patient Selection

All patients with EVDs in whom a positive CSF culture was collected between January 2007 and October 2015 were included. Medical charts were reviewed to retrieve demographic, clinical, and laboratory data. Between October 2013 and February 2017, all patients with EVDs who had a positive CSF culture were prospectively analyzed. The following data were recorded: age, sex, underlying neurological condition, indication for EVD placement, length of catheterization, risk factors for infectious disease, systemic and local antibiotic use, presence of secondary meningitis, plasma and CSF laboratory parameters, microbiological data, antimicrobial therapy before development of VRI, antimicrobial prophylaxis during EVD placement, treatment outcome (cured, persistent infection, or death), and Glasgow Outcome Scale (GOS) score at 3 months.

Definitions

Ventriculitis was defined as the presence of white blood cells in CSF.

from the EVD,^{8,15,17,19} resulting in a CNS-targeted antibiotic treatment. A strain had to be isolated in at least 2 CSF samples within an interval of less than 96 hours. All strains were held at the microbiological laboratory. The coagulase-negative *Staphylococcus* strains were assessed by determination of species and antibiotyping.^{10,19–21,30} Poor outcome was defined as death or GOS score 1 or 2 at 3 months.

Time Points of the Analysis

At least 1 positive CSF culture. Among those, we distinguished 2 groups: those with and those without VRI. The latter was considered a control cohort, suffering from ventriculostomy-related colonization (VRC): despite a positive CSF sample, those patients attained a good outcome without the administration of any antibiotic treatment. In this study, antibiotic treatment was initiated on the day an antibiotic treatment was initiated. In order to standardize the analysis, we defined the day of the first positive CSF culture as the day a culture came back positive.

We analyzed the time interval (in days) between the day of the first positive CSF culture and the day of the first antibiotic treatment (day vs D0) of major CSF meningitis markers (glucose, protein, and leukocyte) among patients with VRI and in the control cohort.

Surgical EVD Procedure

The standard procedure of EVD placement was applied under sterile conditions in the operating room. No antimicrobial prophylaxis was recommended in our institution, either for placement or during the drainage period. The standard sterile techniques (povidone-iodine solution). The catheter was subcutaneously tunneled (at least 4 cm) and then sutured. Once the nonocclusive dressing was applied, the system remained entirely closed. Wounds were cleaned (povidone-iodine procedure) and dressing was changed every 48 hours. Aseptic technique was applied for CSF sampling at the distal stopcock, and disinfection of the connecting sites with chlorhexidine-ethanol solution was performed when manipulating the system. The EVD was removed under aseptic conditions in the ICU and sent for microbiological analysis. Bactiseal EVDs (Codman, Johnson & Johnson) were used exclusively.

Procedure When Infection Was Suspected

When Gram staining (GS) revealed a microorganism, while waiting for culture results to be reported (48 hours later), the following procedure was applied: 1) a neurosurgeon performed a new CSF sampling via the proximal stopcock for microbiological analysis, and 2) the CSF external drainage line was changed.

Antibiotic treatment was initiated for the following reasons: 1) if culture from the proximal stopcock revealed the same strain as the one obtained on the distal sample; or 2) if the daily CSF sampling via the new line had a positive culture with the same strain. The antibiotic regimen and route of administration were left to the discretion of the physicians.

Microbiological Data

CSF sampling was performed daily via the drip chamber stopcock. Samples were sent to the laboratory for GS and culture. The drain's tip was vortexed, and the solution was subsequently streaked on blood agar plates. Culture media included 5% sheep blood agar, chocolate agar (in 5% CO₂), tryptic soy agar, MacConkey agar, and Schaedler broth. Inoculated media were incubated at 35°C–37°C for 5 days. Bacteria were identified by means of standard biochemical tests. Susceptibility testing was performed by the agar dilution replicate plating method. All cultures were incubated under aerobic and anaerobic conditions.

Statistical Analysis

We conducted a retrospective longitudinal study to assess the clinical, biological, and microbiological changes related to VRI treatment. We analyzed every patient recorded in our neurosurgical ICU database whose files contained the following keyword term: external ventricular drainage. Details of those having suffered from VRI were recorded day by day, from D0 to D10. Statistical analysis was performed using SPSS statistical software (version 20.0; IBM Corp.). Quantitative values were expressed as the median [25th–75th percentile] and represented as box plots. Each recorded parameter was compared to its D0 value. Wilcoxon signed-rank test analysis was used to depict the changes of the parameters over time. These patients were then compared, day by day, to a control group suffering from VRC. A p value < 0.05 was considered significant.

Results

Patient Population

Five hundred sixty-seven consecutive patients underwent EVD placement during the study period. One hundred twenty-four patients grew at least 1 positive CSF culture. Among those, 20 were excluded: 8 for complicated bacterial meningitis and 12 for preexisting CNS infection. Sixty-five patients were categorized in the VRC cohort (Fig. 1). Thirty-nine patients (6.9%) were diagnosed with VRI.

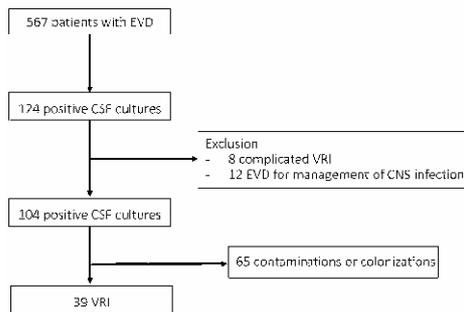


FIG. 1. Flowchart showing the number of EVDs used during the study period and the number of patients excluded and included.

TABLE 1. Baseline characteristics of 39 patients with VRI

Characteristic	Value
Age (yrs)	53 [44–61]
Sex (female)	22 (56)
SAPS 2	26 [15–36]
ASA score	
1	12 (31)
2	24 (62)
3	3 (8)
Immunodeficiency	1 (3)
Cause of admission	
aSAH	20 (51)
Intracerebral hemorrhage	4 (10)
TBI	3 (8)
Other	12 (31)
GCS score at admission	13 [7–15]
Intraventricular hemorrhage	20 (51)
Indication for drainage	
Acute hydrocephalus	33 (85)
ATB therapy during EVD placement	14 (36)
Time from EVD placement to D0 (days)	12 [7–16]
LOC (days)	18 [11–30]
ICU stay (days)	36 [25–49]
Delay to EVD exchange (days, n = 20)	0 [0–3]
ATB therapy duration (days)	15 [13–21]
Mortality	9 (23)
VRI-related mortality (% of dead)	5 (55)
GOSE score at 3 mos	
6–8	19 (49)
4–5	9 (23)
2–3	2 (5)
1	9 (23)

ASA = American Society of Anesthesiologists; aSAH = aneurysmal SAH; ATB = antibiotic; LOC = length of catheterization; SAPS = Simplified Acute Physiology Score; TBI = traumatic brain injury. Data are shown as the median [25th–75th percentile] or number (%), unless otherwise indicated.

Demographic data of these 39 patients are listed in Table 1. Patients were mostly women admitted for SAH, presenting with a median Glasgow Coma Scale (GCS) score of 13. The main indication for CSF drainage was acute hydrocephalus. Patients were catheterized for a median of 18 days, and the time from EVD placement to VRI was 12 days [7–16 days]. The median ICU stay was 36 days. Five of 9 deaths were directly imputed to VRI.

Microbiological Findings

Forty-seven microbes were responsible, 45% of which were gram-positive cocci (GPC; Table 2). *Staphylococcus epidermidis* alone was involved in 26% of the cases (12/47). Eighty-six percent of GPC were rifampin sensitive, whereas 38% were clindamycin sensitive and 38% were sensitive to both drugs. Seven VRIs (18%) were polymicrobial: 1 VRI with 3 microorganisms (*Enterococ-*

Mounier et al.

TABLE 2. Microbiological findings of the 39 VRIs, antibiotic susceptibility, and concordance with tips cultured

Causative Microorganisms	No. of Cases	Susceptibility of GPC			No. of EVD Tips Cultured
		Clindamycin	Rifampicin	Both	
GPC		8 (38%)	18 (86%)	8 (38%)	
<i>S. epidermidis</i>	12				2
<i>S. aureus</i>	2				1
<i>E. faecalis</i>	5				1
<i>E. faecium</i>	1				
<i>Streptococcus mitis</i>	1				1
GNR					
<i>E. coli</i>	3				
<i>K. pneumonia</i>	5				3
<i>K. oxytoca</i>	3				1
<i>P. aeruginosa</i>	5				
<i>E. cloacae</i>	5				2
<i>E. aerogenes</i>	2				
<i>S. marcescens</i>	1				
<i>Morganella morganii</i>	1				
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1				

Only 25 tip cultures were microbiologically analyzed. Tip culture means the number of tip cultures that were positive in culture with the same microorganism as the one causing VRIs. Breakpoint sensitivity from the 2016 guidelines of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

cus faecalis, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* and 6 VRIs with 2 microorganisms (*S. epidermidis*-*E. faecalis*, *S. epidermidis*-*Enterococcus faecium*, *S. epidermidis*-*Serratia marcescens*, *S. epidermidis*-*E. coli*, *S. epidermidis*-*Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae*-*Enterobacter cloacae*).

Only 25 EVD tips were sent to the laboratory and microbiologically analyzed. Eleven of those grew pathogens in culture, yielding concordant microorganisms with those of the VRI.

Initial antimicrobial treatments were all adapted to the causative microorganism. Cefepim, with or without linezolid, was the most common antibiotic administered until documentation of the bacteria. None of the *Staphylococcus aureus* was methicillin-resistant, in contrast to 83% of the *S. epidermidis*. We reported 2 extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *E. cloacae* and 1 VIM type metallo-carbapenemase-producing *P. aeruginosa*. No beta-lactamase inhibitors were administered.

Patients were intravenously treated for a median time of 15 days [13–21 days]. Twenty patients received 2 [1–3] intrathecal injections (1 every other day; vancomycin [20 mg], amikacin [50 mg], or gentamicin [8 mg]) via the EVD, in combination with the intravenous route, including 1 patient with ESBL-producing *E. cloacae* and 1 patient with VIM type carbapenemase-producing *P. aeruginosa*. Six of 9 deceased patients had received intrathecal antibiotics (66%), compared to 14 of 30 survivors (47%; $p = 0.45$, OR 2.24, 95% CI 0.4–16). The median values remained positive until D1 [D0–D3] for GS and D2 [D1–D4] for culture. When we compared GS and culture between the survivors and the patients who died, we found no difference except on D8 for GS (1 patient had positive GS per group, $p = 0.029$). The only patient keeping a posi-

tive GS and culture on D10 was the one suffering from a carbapenemase-producing *Pseudomonas* strain. He died with a culture still positive after D10. Two other patients died with a positive GS and culture on D3 and D10. GS and culture remained positive significantly longer for the 3 multidrug-resistant strains (2 ESBL and 1 VIM): 9 [6–9.5] versus 2 [1–4] days ($p = 0.04$) and 10 [9.5–10.5] versus 3 [1.7–5] days ($p = 0.005$).

Clinical Evolution Under Adequate Treatment

The body temperature of patients with VRI under appropriate treatment evolved quickly, decreasing significantly every day following D0 (Table 3). Only the temperature on D0 was significantly different between patients with VRI and those with VRC ($p < 0.001$).

On D4 the median GCS became significantly and permanently different from that of D0. In fact, on D4, patients recovered the GCS score from 4 days before D0. The median GCS score was significantly different between groups only on D0 and D1.

Biological Evolution Under Adequate Treatment

Regarding VRI, our findings are as follows. 1) The white blood cell (WBC) count significantly differed from D0 starting on D2 ($p = 0.01$). However, this difference did not persist day after day. 2) The median CSF glucose concentrations showed only a little change within the period. 3) The median CSF protein concentration constantly differed from D0 starting on D5. 4) The CSF WBC count constantly differed from D0 starting on D4.

Our comparison between VRC and VRI yielded the following findings. 1) No difference was outlined regarding WBC count between groups at any time. 2) Glucose CSF concentration and CSF WBC count differed signifi-

TABLE 3. Clinical and biological findings concerning and comparing patients with VRI and VRC

Day	Overall Value	VRC	VRI	p Value for VRC vs VRI	No. of Valid Data	p Value for VRI vs D0
Body temp (°C)						
D0 – 4	37.8 [37.3; 38.4]	37.1 [35.2; 38.0]	37.8 [37.4; 38.4]	0.266	39	NA
D0	38.6 [38.0; 39.1]	38.0 [37.5; 38.6]	38.8 [38.6; 39.3]	<0.001	62	NA
D1	38.2 [37.7; 38.6]	37.8 [37.7; 38.2]	38.3 [37.8; 38.8]	0.076	63	<0.0001
D2	38.0 [37.4; 38.6]	37.8 [37.4; 38.2]	38.1 [37.4; 38.6]	0.506	62	<0.0001
D3	38.0 [37.4; 38.5]	37.8 [37.5; 38.4]	38.0 [37.3; 38.6]	0.572	62	0.0005
D4	37.8 [37.5; 38.2]	37.8 [37.5; 38.1]	38.0 [37.5; 38.2]	0.530	57	<0.0001
D5	37.6 [37.2; 38.1]	37.8 [37.5; 38.5]	37.5 [37.2; 38.0]	0.275	56	<0.0001
D6	37.6 [37.3; 38.0]	37.8 [37.4; 38.0]	37.5 [37.2; 37.8]	0.115	50	<0.0001
D7	37.6 [37.2; 37.9]	37.8 [37.5; 38.2]	37.6 [37.1; 37.8]	0.249	44	<0.0001
D8	37.5 [37.3; 38.0]	37.9 [37.4; 38.5]	37.5 [37.3; 37.8]	0.206	41	<0.0001
D9	37.5 [37.0; 37.9]	36.9 [35.5; 38.3]	37.5 [37.1; 37.9]	1.000	28	<0.0001
D10	37.5 [37.2; 37.8]	37.2 [36.5; 37.9]	37.5 [37.2; 37.7]	0.923	26	0.0001
GCS score						
D0 – 4	14 [8; 15]	11 [7; 14]	14 [9; 15]	0.228	38	NA
D0	13 [10; 15]	14 [12; 15]	12 [7; 14]	0.008	60	NA
D1	13 [10; 15]	14 [13; 15]	13 [8; 15]	0.037	59	0.905
D2	14 [11; 15]	14 [13; 15]	13 [9; 15]	0.176	58	0.132
D3	14 [11; 15]	14 [12; 15]	14 [10; 15]	0.408	57	0.052
D4	14 [11; 15]	14 [13; 15]	14 [11; 15]	0.473	54	0.030
D5	14 [12; 15]	14 [12; 15]	14 [11; 15]	0.782	52	0.001
D6	14 [10; 15]	14 [13; 15]	14 [10; 15]	0.885	46	0.003
D7	14 [10; 15]	14 [10; 15]	14 [10; 15]	0.736	42	0.002
D8	14 [10; 15]	14 [9; 15]	15 [12; 15]	0.512	38	0.0001
D9	14 [11; 15]	14 [10; 14]	14 [11; 15]	0.336	25	0.001
D10	14 [11; 15]	8 [6; 11]	14 [11; 15]	0.275	25	0.006
WBC (G/L)						
D0 – 4	10.3 [7.5; 14.9]	7.2 [5.0; 9.5]	10.3 [7.9; 15.4]	0.421	31	NA
D0	12.1 [9.5; 14.9]	12.1 [9.2; 14.1]	12.5 [9.7; 15.7]	0.283	68	NA
D1	11.9 [9.4; 14.8]	12.2 [9.1; 14.9]	11.9 [9.9; 13.5]	0.921	68	0.24
D2	11.0 [8.7; 13.4]	11.8 [8.3; 14.3]	10.1 [9.0; 12.6]	0.468	64	0.01
D3	10.8 [8.6; 13.7]	10.8 [8.8; 14.2]	10.8 [8.1; 13.3]	0.585	59	0.02
D4	10.8 [8.6; 14.2]	10.8 [8.7; 13.9]	11.3 [8.3; 14.2]	0.863	58	0.39
D5	10.4 [8.6; 13.6]	10.8 [9.3; 14.1]	9.6 [8.3; 13.6]	0.347	50	0.07
D6	10.8 [8.1; 14.2]	10.8 [9.4; 14.8]	11.4 [7.8; 13.9]	0.891	37	0.13
D7	9.9 [8.2; 12.7]	11.1 [8.5; 14.4]	9.0 [7.1; 11.6]	0.099	45	0.003
D8	10.8 [6.6; 12.8]	10.8 [7.1; 13.0]	10.4 [6.5; 12.5]	0.906	38	0.06
D9	9.8 [7.8; 11.9]	11.9 [11.1; 19.1]	9.4 [6.8; 11.6]	0.110	18	0.24
D10	9.0 [7.0; 10.3]	22.1 [14.6; 29.7]	9.0 [7.0; 9.9]	0.551	17	0.002
CSF proteins (mg/L)						
D0 – 4	322 [204; 518]	0 [0; 0]	369 [248; 521]	0.001	33	NA
D0	548 [240; 1626]	383 [188; 1178]	1276 [508; 2344]	0.001	88	NA
D1	556 [233; 1402]	318 [150; 710]	1287 [666; 4330]	<0.001	74	0.09
D2	581 [259; 1186]	355 [127; 718]	1042 [575; 1618]	<0.001	72	0.053
D3	480 [245; 1028]	370 [230; 730]	772 [423; 1202]	0.022	68	0.055
D4	534 [239; 875]	410 [130; 649]	814 [419; 1551]	0.003	63	0.16
D5	562 [329; 936]	500 [163; 648]	740 [450; 1856]	0.010	62	0.009
D6	400 [194; 620]	375 [128; 535]	576 [238; 1208]	0.046	55	0.01
D7	444 [222; 790]	390 [178; 592]	551 [277; 1018]	0.209	44	0.09

CONTINUED ON PAGE 6 »

Mounier et al.

» CONTINUED FROM PAGE 5

TABLE 3. Clinical and biological findings concerning and comparing patients with VRI and VRC

Day	Overall Value	VRC	VRI	p Value for VRC vs VRI	No. of Valid Data	p Value for VRI vs D0
CSF proteins (mg/L) (continued)						
D8	416 [192; 608]	250 [172; 528]	482 [364; 829]	0.066	42	0.02
D9	411 [312; 973]	0 [0; 0]	442 [318; 1024]	0.023	21	0.01
D10	278 [134; 628]	0 [0; 0]	280 [230; 718]	0.034	19	0.02
CSF glucose (mmol/L)						
D0 – 4	4.1 [3.7; 4.6]	4.0 [3.8; 4.4]	4.1 [3.7; 4.6]	0.934	33	NA
D0	4.0 [2.6; 5.0]	4.6 [3.8; 5.2]	2.8 [0.3; 3.6]	<0.001	87	NA
D1	4.0 [3.0; 4.9]	4.4 [3.8; 5.0]	2.7 [0.6; 3.7]	<0.001	74	0.30
D2	4.0 [3.2; 4.6]	4.4 [3.8; 5.0]	2.9 [1.5; 3.8]	<0.001	72	0.39
D3	3.8 [3.0; 4.7]	4.3 [3.6; 5.1]	2.9 [2.2; 3.4]	<0.001	66	0.72
D4	4.0 [3.0; 4.6]	4.5 [3.9; 5.0]	2.7 [1.5; 3.4]	<0.001	62	0.57
D5	4.0 [2.8; 4.6]	4.5 [4.0; 5.2]	2.8 [1.6; 3.6]	<0.001	62	0.61
D6	4.0 [3.0; 4.6]	4.3 [4.0; 5.0]	3.0 [2.2; 3.8]	<0.001	55	0.53
D7	4.0 [3.1; 4.9]	4.6 [4.0; 5.2]	3.1 [2.2; 3.7]	<0.001	44	0.54
D8	3.9 [3.3; 4.4]	4.2 [3.6; 5.0]	3.6 [2.3; 3.9]	0.004	42	0.21
D9	3.2 [2.4; 3.9]	4.1 [4.0; 4.2]	3.0 [2.3; 3.8]	0.208	21	0.08
D10	4.0 [2.5; 4.6]	5.3 [5.0; 5.6]	3.8 [2.4; 4.2]	0.054	19	0.28
CSF WBC (/mm³)						
D0 – 4	5.5 [1.2; 38.2]	29.5 [14.5; 54.5]	5.0 [1.2; 35.8]	0.450	34	NA
D0	19.0 [4.0; 410.0]	8.0 [2.0; 30.0]	337.5 [55.0; 900.0]	<0.001	93	NA
D1	12.0 [2.0; 104.0]	8.0 [1.0; 22.0]	174.5 [8.5; 2800.0]	<0.001	77	0.12
D2	17.0 [5.0; 321.5]	6.0 [2.0; 40.0]	250.0 [41.8; 687.5]	<0.001	71	0.97
D3	16.0 [3.8; 78.2]	6.0 [2.5; 45.5]	44.0 [11.0; 126.0]	0.012	72	0.16
D4	8.0 [3.0; 71.0]	4.0 [2.0; 29.0]	40.0 [7.5; 175.0]	0.002	68	0.04
D5	16.5 [3.8; 71.8]	8.0 [2.0; 26.5]	58.0 [12.8; 213.0]	<0.001	64	0.02
D6	7.5 [1.0; 45.2]	3.0 [1.0; 25.5]	18.0 [4.2; 60.2]	0.063	56	0.001
D7	4.5 [1.0; 31.2]	2.5 [1.0; 20.5]	10.0 [3.2; 57.2]	0.046	48	0.001
D8	5.5 [1.0; 20.5]	4.0 [1.0; 12.5]	8.0 [5.0; 30.0]	0.008	44	0.0003
D9	9.5 [2.0; 27.8]	1.0 [1.0; 1.0]	11.5 [3.5; 42.2]	0.051	22	0.0004
D10	3.0 [1.5; 8.0]	0.5 [0.2; 0.8]	3.0 [2.0; 8.0]	0.071	19	Unknown

D0 – 4 = 4 days before D0 (represents the value of reference before the infection); NA = not applicable; temp = temperature.

Boldface type indicates statistical significance. Values are expressed as the median [25th percentile; 75th percentile]. D0 in patients with VRC refers to the day when a positive culture was found.

cantly between groups from D0 to D8. 3) The protein CSF concentration remained significantly different between groups during the entire analysis (Fig. 2, Table 3).

Association With Mortality or Poor Outcome

Intrathecal infusion of antibiotics was not associated with either poor outcome (GOSE: 7 [4–8] vs 5 [1–6], p = 0.16) or mortality (p = 0.45). The EVD was exchanged in 20 of 39 patients, but this procedure was not associated with either poor outcome (GOSE: 5 [2–7] vs 5 [4–6], p = 0.61) or mortality (p = 0.95). No difference was evidenced regarding time to CSF sterilization between the survivors and the patients who died.

Assessment of Biological Values as Markers of VRI Outcome

By using extreme values of biological parameters with-

in D3 and D5, we tried to correlate our parameters with poor outcome. None were different between the patients who died and the survivors (Fig. 3). No parameter showed a discrimination threshold with a sufficient sensitivity/specificity on a receiver operating characteristic curve (data not shown).

Discussion

The IDSA’s latest guidelines recommend monitoring of the response to VRI treatment.³² Still, until now and to our knowledge, no study has yet focused on the natural course of VRI under treatment.³² Understanding the normal evolution of clinical and biological parameters under treatment would certainly improve the management of VRI.³² We therefore aimed to describe these evolutionary patterns. In addition, we tried to assess factors associated with poor outcome. Our study outlines the fact that clini-

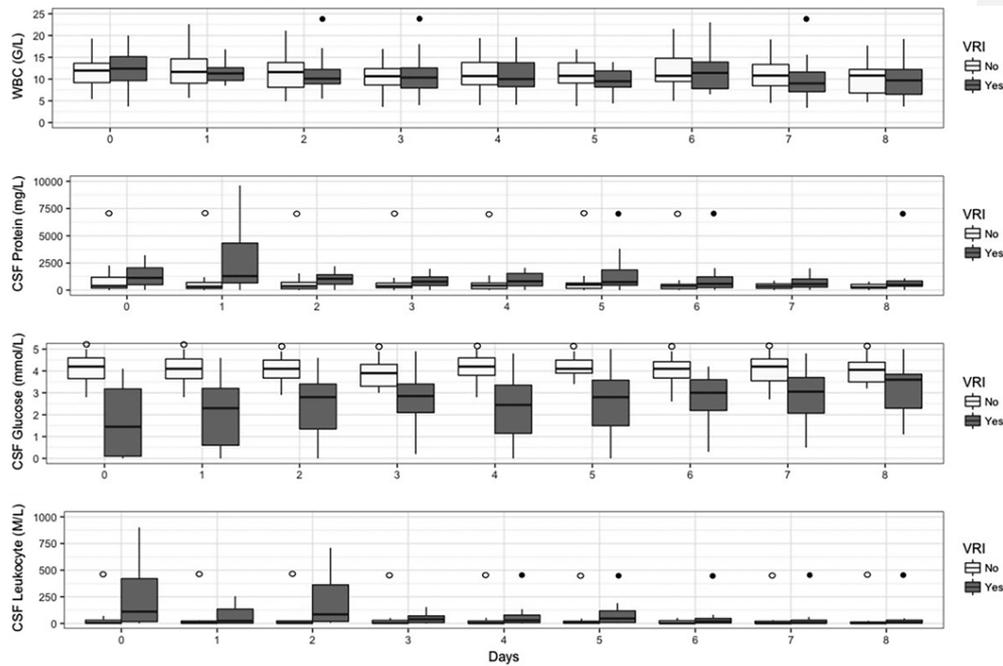


FIG. 2. Box plots showing changes in biological parameters from D0 to D8. Within patients with VRI, comparison was made versus D0 by using the Wilcoxon signed-rank test on the matched data available. *Solid circles* signify $p < 0.05$ versus D0 value. *Open circles* signify $p < 0.05$ when comparing patients with VRI and those with VRC day by day. To improve readability, we have chosen to present graphic data as box plots without outliers. D0 = day of VRI diagnosis.

cal parameters were the earliest to significantly change, within the first days after treatment initiation (D1 for body temperature, D4 for the GCS). Protein in CSF significantly changed on D5, and WBC count in CSF significantly changed on D4. GS and CSF culture remained positive until D1 and D2, respectively. However, none of these parameters allowed sufficient discrimination between a good and a poor outcome.

We still do not know much about the natural course of VRI. Community-acquired meningitis has been more studied, but knowledge remains poor. Without easy access to CSF, physicians have to base their monitoring on clinical parameters. Literature on community-acquired meningitis reports that neurological symptoms improve promptly within the first 48 hours after initiation of therapy,¹⁶ whereas body temperature normalizes within 4 days.¹⁶ Regarding patients suffering from VRI, the IDSA guidelines recommend that physicians should evaluate the extent of their response to treatment by using clinical parameters.³² Interestingly, temperature improves quickly (within the first 24 hours of treatment) in VRI, although hyperthermia is a common symptom during any neurological disorder. This is corroborated by the fact that temperature was different between patients with VRI and those with VRC only on

D0. In VRI, GCS scores improved more slowly, making this parameter less interesting to monitor for improvement. Four days were necessary to observe a significant improvement, probably because in healthcare-associated meningitis, the neurological disorder due to the infection overlaps that of the underlying neurological disease. This finding is important because it is recommended that the therapeutic strategy be changed (repeat spinal tap, switch antibiotics)^{31,34} in the absence of a GCS score improvement on D2.

In the absence of any clinical improvement, the IDSA recommends that additional CSF analysis be performed to verify the normalization of CSF parameters and the negativity of cultures. In our study, cultures remained positive until D2 in median, whatever the route of treatment or the outcome. The result of the culture, in conjunction with the lack of improvement of the CSF parameters, can surely be considered alarming. In this study, we outline that CSF abnormalities persist for a long time—therefore, monitoring CSF glucose concentration does not seem relevant because it remained significantly abnormal within the whole period of monitoring; CSF protein concentration and WBC count significantly and consistently improved at approximately D4–5, making those 2 parameters much more interesting in order to monitor the course of VRI

Mounier et al.

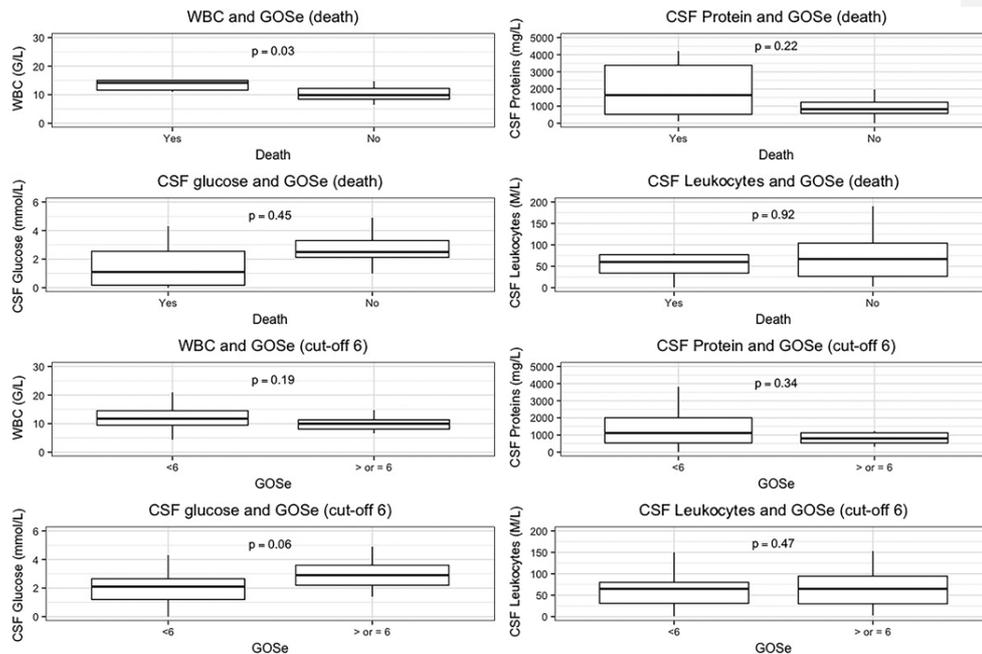


FIG. 3. Box plots showing extreme biological values within D3 and D5 comparing different groups: alive and dead patients; GOSe

under treatment.^{5,14,19,22,29} The WBC count still fluctuated over time and, in a more global view, its value tends to be nonspecific in the ICU. In light of these points, regarding patients not improving rapidly, we would tend to check for culture sterilization on D3 and for CSF parameters (except for glucose in CSF) on D5. Still, in our study this attitude did not allow for outcome discrimination. However, the latter could result either from a lack of power of the study or from an increasing number of missing values reported after D0.

Regarding community-acquired meningitis under treatment, CSF usually becomes sterile within the first 24 hours of treatment.^{12,16,26} In our patients with VRI this was clearly not the case: cultures remained positive until D2. Only a limited amount of data are reported in the literature. Both in VRI and community-acquired meningitis, time to CSF sterilization differs according to the causative pathogen,¹⁶ a higher minimal inhibitory concentration to antibiotics for nosocomial bacteria, and the presence of a foreign body (the EVD).^{3,18,21} Time to microbiological sterilization was significantly longer for multidrug-resistant bacteria ($p = 0.005$ and $p = 0.04$ for culture and GS, respectively), as reported in the literature,¹³ but without any impact on outcome.

Regarding risk factors for unfavorable outcome, no study has yet attempted to predict the evolutionary pat-

tern of the initial clinical, biological, and microbiological parameters. The literature generally reports their initial values, but does not study the parameters further.^{23,33} In our work, we describe the natural course of clinical and biological parameters. Unlike others, we report that the GCS score between D3 and D5 is not linked to outcome. Initial WBC count in CSF has previously been associated with outcome.³³ In our study, none of the parameters were linked to outcome, but the comparison was difficult because we assessed the evolution of the parameters rather than their initial value. The rare studies that evaluate a difference in antimicrobial treatment of meningitis did not analyze the change in CSF parameters. Peltola et al. reported some abnormal biochemistry on D1 for all the CSF parameters, persisting on D4.²⁶ Although microbiological analysis requires 2 days, it seems more appropriate to evaluate improvement with this parameter rather than with CSF biochemistry, which takes a longer time to normalize.

Surprisingly, both intrathecal administration of antimicrobials and EVD exchange were not associated with a different outcome. A potential link could have been outlined if more patients had been included. We conducted a retrospective study during which those 2 therapeutic strategies were left at the discretion of the physician in charge of the patient. Efficacy and safety of the intrathecal route of administration has not yet been demonstrated in con-

trolled trials and there is insufficient evidence to recommend its use. Intrathecal administration could be proposed in the event of infections caused by resistant organisms that are difficult to eradicate with intravenous antimicrobial therapy alone, or when the infection responds poorly to systemic therapy.³² This was the case for some of our resistant microorganisms but not all, and despite that, there was no significant difference regarding the prognosis. EVD exchange depends on the patient's condition, the neurosurgeon's preferences, and the kind of microorganism (e.g., infection with *S. epidermidis* could in some cases be treated without removing the material).^{4,9}

Gram-negative rods (GNR) were predominant (26/47, 55.3%) in our study, whereas most authors report a predominance of GPC.^{11,14,24,27,35} Some authors, however, do relate a predominance of GNR.^{6,7,15} Different explanations probably coexist: 1) a difference in epidemiology, depending on the country or ICU; and 2) a different antibiotic regimen including prophylaxis. In our center we did not recommend any intravenous prophylaxis because it was not recommended by guidelines until 2017.^{14,32} Nevertheless, 36% of our patients still received this prophylaxis. In any case, the median duration of drainage before VRI diagnosis was 12 days [7–16 days], and it is quite unlikely that periprocedural intravenous prophylaxis would maintain some activity for that long. We used Bactiseal EVDs (Codman, Johnson & Johnson) that diffuse a combination of clindamycin and rifampicin. These antibiotics are essentially active against GPC; ex vivo data state that protection lasts for 56 days^{1,2} and one clinical study reports activity for up to 127 days.²⁵ This EVD could therefore have modified our microbial epidemiology, but this seems unlikely because our GPC were 86% rifampicin susceptible, 38% clindamycin susceptible, and 38% were susceptible to both drugs. Surprisingly, few bacteria were resistant, leading to the question of the duration of antimicrobial protection or to a biofilm infection.^{3,18}

Study Limitations

Our study obviously contains some limitations. It is retrospective (the low incidence of VRI requires this design), but a small number of patients were prospectively included (n = 7) and added to the cohort already published.¹⁹ The longitudinal design requiring systematic sampling and data acquisition may have reduced the risk of major bias. Unfortunately, our work lacks power to discriminate a good from a poor outcome. We identified 39 patients with VRI among 567 patients in the course of 8 years, which represents the largest series published until now. We are not aware of another study reporting the natural course of meningitis under treatment.

Conclusions

We report a consecutive cohort of 39 patients with VRI (6.9% of the screened population) and describe the clinical, biological, and microbiological pattern of VRI under treatment. This description could help the physician in the management of VRI and allows a better appreciation of the recommendations. We reported a quick normalization of body temperature (D1), followed by the sterilization of culture (D2), and then by improvement of the GCS score

(D4). The CSF glucose concentration seems useless, in contrast to the CSF protein and WBC count, which both show a more consistent and significant switch on D4–5. No parameters were linked to the prognosis.

References

1. Bayston R, Grove N, Siegel J, Lawellin D, Barsham S: Prevention of hydrocephalus shunt catheter colonisation in vitro by impregnation with antimicrobials. **J Neurol Neurosurg Psychiatry** **52**:605–609, 1989
2. Bayston R, Lambert E: Duration of protective activity of cerebrospinal fluid shunt catheters impregnated with antimicrobial agents to prevent bacterial catheter-related infection. **J Neurosurg** **87**:247–251, 1997
3. Braxton EE Jr, Ehrlich GD, Hall-Stoodley L, Stoodley P, Veeh R, Fux C, et al: Role of biofilms in neurosurgical device-related infections. **Neurosurg Rev** **28**:249–255, 2005
4. Brown EM, Edwards RJ, Pople IK: Conservative management of patients with cerebrospinal fluid shunt infections. **Neurosurgery** **58**:657–665, 2006
5. Carbonnelle E: [Laboratory diagnosis of bacterial meningitis: usefulness of various tests for the determination of the etiological agent.] **Med Mal Infect** **39**:581–605, 2009 (Fr)
6. Chatzi M, Karvouniaris M, Makris D, Tsimitrea E, Gatos C, Tasiou A, et al: Bundle of measures for external cerebral ventricular drainage-associated ventriculitis. **Crit Care Med** **42**:66–73, 2014
7. Chi H, Chang KY, Chang HC, Chiu NC, Huang FY: Infections associated with indwelling ventriculostomy catheters in a teaching hospital. **Int J Infect Dis** **14**:e216–e219, 2010
8. Clark WC, Muhlbaier MS, Lowrey R, Hartman M, Ray MW, Watridge CB: Complications of intracranial pressure monitoring in trauma patients. **Neurosurgery** **25**:20–24, 1989
9. Conen A, Walti LN, Merlo A, Fluckiger U, Battegay M, Trampuz A: Characteristics and treatment outcome of cerebrospinal fluid shunt-associated infections in adults: a retrospective analysis over an 11-year period. **Clin Infect Dis** **47**:73–82, 2008
10. Couffin S, Lobo D, Cook F, Jost PH, Bitot V, Birnbaum R, et al: Coagulase-negative staphylococci are associated to the mild inflammatory pattern of healthcare-associated meningitis: a retrospective study. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis** **37**:755–763, 2018
11. Harrop JS, Sharan AD, Ratliff J, Prasad S, Jabbar P, Evans JJ, et al: Impact of a standardized protocol and antibiotic-impregnated catheters on ventriculostomy infection rates in cerebrovascular patients. **Neurosurgery** **67**:187–191, 2010
12. Kanegaye JT, Soliemanzadeh P, Bradley JS: Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. **Pediatrics** **108**:1169–1174, 2001
13. Karaïskos I, Galani L, Baziaka F, Giamarellou H: Intraventricular and intrathecal colistin as the last therapeutic resort for the treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventriculitis and meningitis: a literature review. **Int J Antimicrob Agents** **41**:499–508, 2013
14. Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr: Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. **Neurosurgery** **51**:170–182, 2002
15. Lyke KE, Obasanjo OO, Williams MA, O'Brien M, Chotani R, Perl TM: Ventriculitis complicating use of intraventricular catheters in adult neurosurgical patients. **Clin Infect Dis** **33**:2028–2033, 2001
16. Martin E, Hohl P, Gugli T, Kayser FH, Fernex M: Short course single daily ceftriaxone monotherapy for acute bacterial meningitis in children: results of a Swiss multicenter study. Part I: clinical results. **Infection** **18**:70–77, 1990

Mounier et al.

17. Mayhall CG, Archer NH, Lamb VA, Spadora AC, Baggett JW, Ward JD, et al: Ventriculostomy-related infections. A prospective epidemiologic study. *N Engl J Med* **310**:553–559, 1984
18. Mounier R, Kapandji N, Birnbaum R, Cook F, Rodriguez C, Nebbad B, et al: Biofilm-associated infection: the hidden face of cerebrospinal fluid shunt malfunction. *Acta Neurochir (Wien)* **158**:2321–2324, 2016
19. Mounier R, Lobo D, Cook F, Fratani A, Attias A, Martin M, et al: Clinical, biological, and microbiological pattern associated with ventriculostomy-related infection: a retrospective longitudinal study. *Acta Neurochir (Wien)* **157**:2209–2217, 2015
20. Mounier R, Lobo D, Cook F, Martin M, Attias A, Ait-Mamar B, et al: From the skin to the brain: pathophysiology of colonization and infection of external ventricular drain, a prospective observational study. *PLoS One* **10**:e0142320, 2015
21. Mounier R, Lobo D, Hulin A, Nebbad B, Cook F, Dhonneur G: Is first-line vancomycin still the best option to treat staphylococcus health care-associated meningitis? *World Neurosurg* **99**:812.e1–812.e5, 2017
22. Muttayyah S, Ritchie S, Upton A, Roberts S: Clinical parameters do not predict infection in patients with external ventricular drains: a retrospective observational study of daily cerebrospinal fluid analysis. *J Med Microbiol* **57**:207–209, 2008
23. Nathan N, Borel T, Djibo A, Evans D, Djibo S, Corty JF, et al: Ceftriaxone as effective as long-acting chloramphenicol in short-course treatment of meningococcal meningitis during epidemics: a randomised non-inferiority study. *Lancet* **366**:308–313, 2005
24. Park J, Choi YI, Ohk B, Chang HH: Cerebrospinal fluid leak at percutaneous exit of ventricular catheter as a crucial risk factor for external ventricular drainage-related infection in adult neurosurgical patients. *World Neurosurg* **109**:e398–e403, 2018
25. Pattavilakom A, Kotasnas D, Korman TM, Xenos C, Danks A: Duration of in vivo antimicrobial activity of antibiotic-impregnated cerebrospinal fluid catheters. *Neurosurgery* **58**:930–935, 2006
26. Peltola H, Anttila M, Renkonen OV: Randomised comparison of chloramphenicol, ampicillin, cefotaxime, and ceftriaxone for childhood bacterial meningitis. *Lancet* **1**:1281–1287, 1989
27. Pople I, Poon W, Assaker R, Mathieu D, Iantosca M, Wang E, et al: Comparison of infection rate with the use of antibiotic-impregnated vs standard extraventricular drainage devices: a prospective, randomized controlled trial. *Neurosurgery* **71**:6–13, 2012
28. Schade RP, Schinkel J, Roelandse FWC, Geskus RB, Visser LG, van Dijk JMC, et al: Lack of value of routine analysis of cerebrospinal fluid for prediction and diagnosis of external drainage-related bacterial meningitis. *J Neurosurg* **104**:101–108, 2006 (Erratum in *J Neurosurg* **106**:941, 2007)
29. Scheithauer S, Bürgel U, Ryang YM, Haase G, Schiefer J, Koch S, et al: Prospective surveillance of drain associated meningitis/ventriculitis in a neurosurgery and neurological intensive care unit. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **80**:1381–1385, 2009
30. Sharma M, Riederer K, Johnson LB, Khatib R: Molecular analysis of coagulase-negative Staphylococcus isolates from blood cultures: prevalence of genotypic variation and polyclonal bacteremia. *Clin Infect Dis* **33**:1317–1323, 2001
31. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, et al: Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* **39**:1267–1284, 2004
32. Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A, Byers K, Kaplan SL, Michael Scheld W, et al: 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. *Clin Infect Dis* [epub ahead of print], 2017
33. van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M: Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med* **351**:1849–1859, 2004
34. van de Beek D, de Gans J, Tunkel AR, Wijdicks EFM: Community-acquired bacterial meningitis in adults. *N Engl J Med* **354**:44–53, 2006
35. Walti LN, Conen A, Coward J, Jost GF, Trampuz A: Characteristics of infections associated with external ventricular drains of cerebrospinal fluid. *J Infect* **66**:424–431, 2013
36. Wilson JT, Pettigrew LE, Teasdale GM: Structured interviews for the Glasgow Outcome Scale and the extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use. *J Neurotrauma* **15**:573–585, 1998
37. Wong GKC, Poon WS, Ng SCP, Ip M: The impact of ventricular catheter impregnated with antimicrobial agents on infections in patients with ventricular catheter: interim report. *Acta Neurochir Suppl* **102**:53–55, 2008
38. Zabramski JM, Whiting D, Darouiche RO, Horner TG, Olson J, Robertson C, et al: Efficacy of antimicrobial-impregnated external ventricular drain catheters: a prospective, randomized, controlled trial. *J Neurosurg* **98**:725–730, 2003

Disclosures

The authors report no conflict of interest concerning the materials or methods used in this study or the findings specified in this paper.

Author Contributions

Conception and design: Mounier, Birnbaum, Cook, Martin, Dhonneur. Acquisition of data: Mounier, Jost, Martin, Ait-Mamar, Nebbad, Couffin, Tomberli, Djedid. Analysis and interpretation of data: Mounier, Cook, Nebbad, Couffin, Tomberli, Djedid. Drafting the article: Mounier, Cook, Dhonneur. Critically revising the article: Mounier, Birnbaum, Cook, Dhonneur, Lobo. Approved the final version of the manuscript on behalf of all authors: Mounier. Statistical analysis: Birnbaum, Lobo. Administrative/technical/material support: Mounier, Cook, Jost, Ait-Mamar, Lobo. Study supervision: Mounier, Cook.

Correspondence

Roman Mounier: Henri Mondor University Hospital, Créteil, France. roman.mounier@laposte.net.

Question 2 : Est-ce que le tableau clinique pauci-symptomatique des infections liées aux DVE est lié à son épidémiologie particulière, c'est-à-dire à des infections avec des bactéries commensales comme *S.epidermidis* ?

Les ILD sont mal caractérisées, notamment à cause d'une définition non consensuelle (146,147). Les patients nécessitant une DVE présentent généralement un trouble de l'éveil, des déficits neurologiques divers et variés, et de la fièvre. Les caractéristiques de leurs LCR sont anormales. Schade et al. étudiant l'intérêt de l'analyse biochimique du LCR pour le diagnostic d'ILD dans une population de 230 patients porteur de DVE, rapportent des valeurs « normales » basées sur le 5° et le 95° percentiles de 994 échantillons analysés chez 200 patients sans infection. Les valeurs anormales pour les leucocytes sont >2705/ml, inférieures à 2,7 mmol/l pour la glycorachie et supérieures à 2,34 g/l pour la protéinorachie (120). Ainsi les signes cliniques comme biochimiques liés à la pathologie sous-jacente, se recouvrent grandement avec ceux de l'infection. Ce tableau est appelé méningisme, ce qui traduit une inflammation des méninges. Pour beaucoup d'auteurs, c'est donc la culture positive du LCR qui fait le diagnostic de méningite bactérienne (89,135,146,147).

Nombreuses sont les études qui ont étudié l'apport de la clinique et de la biochimie du LCR dans le diagnostic d'ILD. Pour la plupart, elles ont conclu que ces paramètres ne sont d'aucune aide (120,128,144,201), voire même que l'examen clinique et biochimique du patient s'améliore pour en cas de méningite (132). Ces études comportaient un grand nombre de biais méthodologiques pour de petits échantillons. Les deux problèmes majeurs sont le moment de la comparaison pour le groupe contrôle et l'utilisation de bons test statistiques (rang signé de Wilcoxon nécessaires) afin de ne pas mélanger les données des patients, et de pouvoir approcher l'évolution des paramètres de manière individuelle.

Quoiqu'il en soit, de ces études a découlé le fait que le tableau infectieux passait pratiquement inaperçu au milieu de ce méningisme. Et il n'existe pas d'étude les comparant aux infections du SNC communautaire.

Ce tableau indolent, s'il est avéré, pourrait être expliqué par deux hypothèses principales.

- Les ILD sont des infections sur matériel. Comme il est maintenant admis, les infections sur matériels sont principalement le fait du biofilm. Ces infections sont caractérisées

par un tableau pauci-symptomatique (202). Et le biofilm semble particulièrement présent en neurochirurgie (169,200).

- Les ILD sont des infections dont l'épidémiologie est particulière : elles sont nosocomiales, font intervenir du matériel et ont rapport avec la peau. Aussi, les coques Gram positifs et plus particulièrement les commensaux de la peau comme *S. epidermidis* sont les bactéries le plus souvent en cause (89,139,140,146–148,184,189). Or ces germes commensaux ne sont pas ou peu pathogène (29,203,204). Leur pathogénèse fait souvent intervenir du matériel étranger, mais pas systématiquement et leurs infections sont caractérisées par leur indolence, la pauvreté de leurs signes cliniques.

Nous avons voulu déterminer si le caractère peu inflammatoire, peu symptomatique des ILD est lié à cette épidémiologie particulière. Nous avons donc comparé de manière rétrospective, un groupe de patients ayant eu des méningites associées aux soins dues à des *Staphylococcus* à coagulase négative (CoNS) (n=18) à un groupe où les infections étaient liées à des pathogènes classiques (n=53). Étaient exclues les infections à *Corynebacterium* spp et à *Propionibacterium* spp. Les infections polymicrobiennes comportant CoNS associé à un pathogène classique étaient classées dans le groupe pathogène. Pour retenir le diagnostic d'infection à CoNS, il fallait au moins deux prélèvements différents retrouvant la même souche en culture.

Les caractéristiques de base des patients entre les 2 groupes ne sont pas significativement différentes. Les patients étaient principalement hospitalisés pour une hémorragie méningée, et les matériels neurochirurgicaux les plus fréquents étaient les DVE.

Les méningites à CoNS présentent un tableau moins franc. Elles survenaient plus tardivement que les infections à pathogène (17 vs. 12 jours, $p = 0.029$). L'altération du score de Glasgow était moins marqué (14 vs. 13, $p = 0.04$). Les leucocytes plasmatiques étaient presque normaux, comme la CRP (24 mg/l), dans le groupe CoNS, et significativement différent de l'autre groupe (10,3 vs 12,7, $p=0,007$). L'analyse du LCR était significativement moins inflammatoire dans le groupe CoNS : leucocytes (25 vs. 1340/mm³, $p < 0.001$), glycorachie (3.75 vs. 0.8 mmol/L, $p < 0.001$), et protéinorachie (744 vs. 1751 mg/L, $p < 0.001$). Tous les implants ont été enlevés, sauf 2, un dans chaque groupe. Ceci était associé à une rechute dans le groupe CoNS et à un décès dans l'autre (raison pour laquelle le matériel n'avait pas

Résultats

été enlevé). Un échec de traitement (sous la forme de la rechute) était observé dans le groupe CoNS contre 12 (23%) dans l'autre groupe ($p = 0,1$). On ne rapportait aucun mort, quel qu'en soit la cause, dans le groupe CoNS à J28 contre 12 (23.1%) dans le groupe pathogène ($p = 0.03$).

Ainsi, les méningites liées aux soins dues aux CoNS présentent une symptomatologie clinico-biologique significativement moins marquée que les infections avec des pathogènes traditionnelles et surviennent plus tardivement. Pris isolément, leur tableau est frustré avec un score de Glasgow à 14 (en milieu neurochirurgical !), des leucocytes plasmatiques et une CRP sub-normaux, de même que la formule du LCR (éléments : $25/\text{mm}^3$, glycorachie : 3,8 mmol/l, protéinorachie 700 mg/l). Et ce peu d'inflammation se traduit par une plus faible mortalité dans le groupe CoNS.

En conclusion, une part du tableau frustré des méningites associées aux soins, et donc des ILD, est liée à leur épidémiologie particulière et aux rôles des commensaux (CoNS).



Coagulase-negative staphylococci are associated to the mild inflammatory pattern of healthcare-associated meningitis: a retrospective study

S. Couffin¹ & D. Lobo¹ & F. Cook¹ & P. H. Jost¹ & V. Bitot¹ & R. Birnbaum¹ & B. Nebbad² & B. Ait-Mamar¹ & W. Lahiani³ & M. Martin¹ & G. Dhonneur¹ & R. Mounier¹

Received: 4 December 2017 / Accepted: 19 December 2017
 © Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

Abstract

The epidemiology of healthcare-associated meningitis (HAM) is dominated by commensal bacteria from the skin, as coagulase-negative staphylococci (CoNS). We hypothesized that the pauci-symptomatic and mild inflammatory patterns of HAM are related to the low pathogenic state of CoNS. Our aim was to describe clinical and biological features of CoNSHAM, compared to other HAM. All consecutive patients with HAM admitted in our hospital were retrospectively included from 2007 to 2014. HAM due to CoNS were compared to HAM caused by other bacteria (controls) for clinical and laboratory patterns. Seventy-one cases of HAM were included, comprising 18 CoNS and 53 controls. Patients were not different in terms of baseline characteristics. CoNSHAM occurred later after the last surgery than controls (17 vs. 12 days, $p=0.029$) and had higher Glasgow Coma Scale (GCS) score (14 vs. 13, $p=0.038$). Cerebrospinal fluid (CSF) analysis revealed a lower pleocytosis (25 vs. 1340/mm³, $p<0.001$), a higher glucose level (3.75 vs. 0.8 mmol/L, $p<0.001$), and a lower protein level (744 vs. 1751 mg/L, $p<0.001$) in the CoNS group than in the control group, respectively. HAM due to CoNS was significantly less symptomatic and less inflammatory than HAM due to other bacteria.

Introduction

The central nervous system (CNS) is a sanctuary protected against microbial invasion by the cranial vault and the blood–brain barrier (BBB). Physiologically, only a few bacterial strains can cross the BBB, whose integrity can be disrupted by invasive procedures (craniotomy, placement of cerebrospinal fluid shunts, spinal anesthesia, etc.) or traumatic brain injury, allowing any bacterial strain to invade the CNS [1], leading to healthcare-associated meningitis (HAM). Morbidity and mortality of HAM in combination with the

increasing number of neurosurgical procedures raise concern, especially because their diagnostic is troublesome.

Despite significant efforts made by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) to propose an accurate definition [2], there is no consensus. The most commonly used definition in the literature is based solely on the isolation in cerebrospinal fluid (CSF) culture of a bacterium [3–5]. Indeed, clinical diagnosis can be impaired by nonspecific symptoms, overlapping with those of underlying diseases or hidden by intensive care treatments, such as sedative drugs [4, 6, 7]. Besides, Schade et al. [8], reporting the CSF abnormality^a in neurosurgical patients, showed the lack of value of CSF leukocyte count and protein or glucose concentration in HAM diagnosis. A dynamic approach of these CSF parameters was proposed by some authors to help diagnosis [5, 9]. However, everybody seems to agree that HAM have less obvious clinical and biological patterns than community-acquired meningitis [1, 4, 10].

Furthermore, the epidemiology of HAM is dominated by low-grade or accidental pathogens [coagulase-negative staphylococci (CoNS), *Propionibacterium* spp., *Corynebacterium* spp.], which are commensal strains of the human skin and lack

* S. Couffin
 severine.couffin@aphp.fr

¹ Department of Anaesthesia and Surgical Intensive Care, Henri Mondor University Hospital of Paris, Paris XII School of Medicine, 51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94000 Créteil, France

² Department of Microbiology, Henri Mondor University Hospital of Paris, Paris XII School of Medicine, Créteil, France

³ Department of Neurosurgery, Henri Mondor University Hospital of Paris, Paris XII School of Medicine, Créteil, France

classical virulence factors [11], unlike traditional pathogens (*Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, etc.). However, CoNS are considered as a major source of healthcare-associated infections, especially foreign body-related ones, characterized by a subacute course with a mild clinical picture [12]. In respect of HAM, they are found in 22–69% of cases [1, 3–5, 7, 9, 13–17].

To our knowledge, there are only two studies describing CoNS meningitis. The first one compared CoNS meningitis with bacterial meningitis admitted to the hospital and found that the former had all postneurosurgical conditions with device placement. Multivariate analysis showed that only a low CSF protein level was associated with CoNS [18]. The second work compared CoNS meningitis with *S. aureus* meningitis. CoNS infections occurred in younger patients and had a better chance of survival [19]. But those two studies used a definition for CoNS meningitis with several clinical and inflammation criteria, which could have missed pauci-symptomatic infections. Conversely, they included community-acquired meningitis in their comparison, which could have increased the differences with CoNS HAM.

We hypothesized that the indolent, pauci-symptomatic, and mild inflammatory patterns of HAM could be related to the predominance of low-grade pathogens, in this case CoNS.

The main goal of this study was to compare the clinical and biological features of CoNS HAM to other HAM. Secondary objectives were to analyze their bacteriological data and their outcome.

Methods

Design and patients

This retrospective study was performed at a French tertiary care university hospital, between January 2007 and December 2014.

All consecutive patients older than 18 years of age, who had a diagnosis of bacterial HAM with a microbiological documentation and an appropriate antibiotic treatment, were included. They were identified from a microbiological database reporting all positive CSF cultures within this period, and then from their medical records. Meningitis due to low-grade pathogens other than CoNS were excluded (*Corynebacterium* spp. and *Propionibacterium* spp.), as well as those complicated by an abscess or an empyema and the patients with missing files. Patients with positive CSF culture but without antimicrobial treatment were not included.

Patients were divided into two groups according to the causative bacteria: CoNS versus traditional pathogens (controls). Mixed bacterial meningitis were classified in the control group if at least one of the bacteria was a traditional pathogen.

Definitions

Meningitis was defined as every positive single or serial CSF culture considered and treated like one by the medical team. For CoNS, two consecutive positive samples of the same strain, characterized by the same antibiotype [20], were required for the diagnosis of meningitis.

HAM was defined if infection occurred after 48 h of hospitalization or less than a year after implementation of a neurosurgical device [2].

In this study, neurosurgical devices encompassed any material designed to drain the CSF, either temporary (external ventricular drain and external lumbar drain) or permanent (ventriculo-atrial shunt and ventriculo-peritoneal shunt). An infection was considered device-related if it developed at least 48 h after shunt placement and, at the latest, 10 days after shunt removal.

We arbitrarily defined day 0 (D0) as the day of antibiotic initiation. An appropriate antibiotic treatment was characterized by: (1) a molecule known to disseminate to the meninges, (2) active on the isolated bacteria, (3) with a dosage adapted to this type of infection, and (4) for a period of more than 72 h.

A related bacteremia was defined as one positive blood culture with the same strain as the one isolated in CSF between D–5 and the end of antibiotic treatment.

A concomitant infection was identified when the patient needed an antibiotic therapy for another infection (i.e., another location and bacterium) at the time meningitis was diagnosed or during its treatment.

We considered that the treatment failed when there was a relapse or a death related to the infection. A relapse was defined as a meningitis that occurred within three months after remission of the previous episode and for which the same bacterium was isolated. Every deceased patient was analyzed by two independent physicians in order to identify whether the source of death was linked to the meningitis or not. If their opinions differed, death was considered not related.

A new infection was characterized either by a 3-month delay in development or by the onset of an infection from a different microorganism than the one responsible for the first episode, the latter not being considered as a treatment failure [4].

The patient outcome was also assessed using mortality from all causes at D28 and at one year and the Glasgow Outcome Scale (GOS) score at 3 months.

Local procedures

Operating room procedure

All neurosurgical devices were placed in the operating room, following strict aseptic conditions. The antimicrobial

prophylaxis in our institution was the one recommended by the French scientific societies [21].

External ventricular drains handling

In our hospital, external ventricular drains (EVDs) were sampled every day via the drip chamber stopcock. CSF samples were sent to the laboratory for biochemical and bacteriological analyses (direct examination using Gram staining and culture). When direct examination of CSF was positive, the procedure was as follows: (1) a neurosurgeon performed a new sampling via the proximal stopcock and (2) the CSF external drainage line was changed. Antibiotic treatment was initiated: (1) if the patient's condition was getting worse, (2) if the culture of CSF sampled from the proximal stopcock was positive to the same bacterium as the one of the distal specimen, and (3) if the daily CSF sampling with the new line had a positive culture with the same microorganism.

In other cases, CSF sampling was performed using the aseptic procedure at the request of the medical team, when meningitis was suspected, with a lumbar puncture or a valve puncture in the operating room. Antibiotic treatment was introduced until the result of the CSF culture, and then adapted in case of positive CSF culture.

When the infection occurred on an indwelling device, it was withdrawn and replaced, if necessary, after at least two negative cultures, under antibiotic treatment. Every removed device was sent to the bacteriology laboratory for analysis.

Microbiology

Culture media included 5% sheep blood agar, chocolate agar (in 5% CO₂), trypticase soy agar, MacConkey agar, and Schaedler broth. All were incubated at 35–37 °C for 5 days under aerobic conditions and for 10 days under anaerobic conditions. Bacteria were identified by means of standard biochemical tests. Susceptibility testing was performed by the agar dilution replicate plating method and, if necessary, the minimal inhibitory concentration (MIC) was determined by the Etest.

If CoNS grew in culture, the strain was preserved for a further comparison with a second sample. Two CoNS were considered to belong to the same strain when their MICs of ten antibiotics were identical (\pm one standard dilution) [20].

Data collection

Patients' records were reviewed to recover demographic and clinical data. Biological and bacteriological results were retrieved from the hospital computerized database. We extracted the medical history: age, gender, significant comorbidities, diagnosis at admission, severity scores [Glasgow Coma Scale (GCS) score, Simplified Acute Physiology Score II

(SAPS II)], intensive care unit (ICU) admission, date of the last brain surgery, and type of indwelling device. Usual clinical and biological criteria of meningitis were documented from D–5 until the last day of antibiotic therapy. Bacteriological data included all CSF samples from D–5 until the end of treatment, cultures of medical devices, and all the blood cultures from D–5 to D5. We also recorded if there was a concomitant infection. Regarding treatment, the use and duration of antimicrobial therapy and the type of surgical procedure were recorded. Finally, we documented the success or failure of treatment, relapse, second meningitis, the GOS score at 3 months, and the mortality from all causes at 28 days and at one year. Every patient was followed for one year.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the SPSS software (version 20.0, IBM Corp., Armonk, NY). Quantitative values were expressed as medians and 25th and 75th percentiles, and compared with the non-parametric Mann–Whitney test. Qualitative values were expressed as numbers and percentages and compared with Fisher's exact test. The survival was analyzed by the Kaplan–Meier method. A *p*-value < 0.05 was considered significant.

Results

Demographic characteristics

During the study period, 411 patients with positive CSF samples were screened. Among them, 71 HAM were analyzed (64 patients): 18 (25.4%) caused by CoNS and 53 (74.6%) in the control group (Fig. 1).

At diagnosis, the two groups were similar in terms of age, gender, immune status, cause of hospitalization, ICU admission, and initial GCS and SAPS II scores. The risk factors for HAM did not differ either (Table 1).

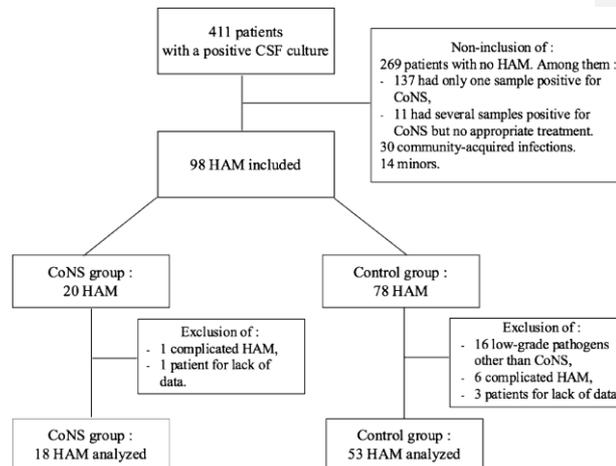
Most of the infections occurred in patients having indwelling devices: 16 (88.9%) in the CoNS group and 36 (67.9%) in the control group (*p* = 0.32). The various kinds of foreign bodies are indicated in Table 2. There were less EVDs in the CoNS group: 7 (43.8%) versus 28 (75.7%) in the controls (*p* = 0.025) and more ventriculo-atrial shunts: 7 (43.8%) versus 4 (10.8%), respectively (*p* = 0.023).

All the other cases arose in a postoperative situation, with the exception of one brain-injured patient in the control group.

Clinical and biological characteristics

Table 3 summarizes the clinical signs and serum findings at the time of meningitis diagnosis. The median time since the last surgery to the occurrence of infection was significantly

Fig. 1 Flow chart showing the details of all positive CSF cultures. CoNS: coagulase-negative staphylococci; CSF: cerebrospinal fluid; HAM: healthcare-associated meningitis



longer in the CoNS group than in the control group: 17 days [11–35] versus 12 days [6–18] ($p = 0.029$). There was also a significantly higher GCS score at D0 in the CoNS group: 14

[13–15] versus 13 [7–15] ($p = 0.038$), while there was no difference in terms of fever, meningeal stiffness, and local signs of infection from the controls.

Table 1 Patient characteristics

	CoNS group ($n = 18$)	Controls ($n = 53$)	p -Value
Age (years)	53 [41–59]	51 [44–64]	0.85
Female gender	8 (44.4%)	27 (50.9%)	0.79
SAPS II	28 [17–40]	34 [20–47]	0.38
Comorbidity			
- Cardiac insufficiency	0	2 (3.8%)	1
- Respiratory insufficiency	1 (5.6%)	4 (7.5%)	1
- Immunosuppression	1 (5.6%)	13 (24.5%)	0.1
- Cancer	1 (5.6%)	6 (11.3%)	0.67
GCS score at admission	14 [9–15]	14 [8–15]	0.86
Neurosurgical device	16 (88.9%)	36 (67.9%)	0.32
Diagnosis at admission			
- Subarachnoid hemorrhage	7 (38.9%)	18 (34%)	0.78
- Hemorrhagic stroke	2 (11.1%)	5 (9.4%)	1
- Traumatic brain injury	1 (5.6%)	5 (9.4%)	1
- Internal shunt dysfunction	5 (27.8%)	6 (11.3%)	0.13
- Postsurgical monitoring	2 (11.1%)	14 (26.4%)	0.18
Admission to the ICU	16 (88.9%)	49 (92.5%)	0.64
Risk factors of meningitis			
- Intraventricular hemorrhage	8 (44.4%)	20 (37.7%)	0.78
- Emergency surgery	11 (68.8%)	35 (70%)	1
- CSF leakage	6 (33.3%)	24 (45.3%)	0.38

Data are shown as median [25th–75th percentile] or n (%)

CoNS: coagulase-negative staphylococci; SAPS II: Simplified Acute Physiology Score II; GCS: Glasgow Coma Scale; ICU: intensive care unit; CSF: cerebrospinal fluid

Table 2 Repartition of the patients by neurosurgical devices

	CoNS group (n = 18)	Controls (n = 53)	p-Value
External ventricular drain	7 (43.8%)	28 (75.7%)	0.025
Ventriculo-atrial shunt	7 (43.8%)	4 (10.8%)	0.023
Ventriculo-peritoneal shunt	1 (6.25%)	1 (2.7%)	0.525
External lumbar drain	1 (6.25%)	3 (8.1%)	1
Total	16 (88.9%)	36 (67.9%)	0.32

Data are shown as n (%). When there are significant differences, the p-Value are indicated in bold
CoNS: coagulase-negative staphylococci

Regarding serum biology, the white blood cell (WBC) count at D0 was significantly lower in the CoNS group than in the controls, but serum C-reactive protein (CRP) did not differ between the groups. In respect of CSF, all cytological and biochemical features of these samples at D0 differed significantly between both groups (Fig. 2): there were less leukocytes (25/mm³ [19–382.5] vs. 1340/mm³ [298.8–4320], $p < 0.001$) and less granulocytes (65% [15.8–80.8] vs. 89% [76.5–95], $p = 0.001$) in the CoNS group than in the controls, respectively. There was also a lower protein level (744 mg/L [394.5–1555] vs. 1751 mg/L [1372–5990.3], $p < 0.001$) and a higher glucose level (3.75 mmol/L [2.1–4.4] vs. 0.8 mmol/L [0.1–2.8], $p < 0.001$) in the CoNS group than in the controls, respectively.

Microbiology

The bacteria responsible for these infections are shown in Table 4. Fourteen meningitis were polymicrobial, four in the CoNS group and ten in the control group. There were 54 (63.5%) Gram-positive cocci and 31 (36.5%) Gram-negative bacilli.

Among staphylococci, 18 (69.2%) CoNS and 5 (45.5%) *S. aureus* were methicillin-resistant. A related bacteremia was found in 8 (57.1%) CoNS episodes and 10 (20%) controls

($p = 0.015$). There was no difference in the median number of positive CSF samples: 3 [2–4] in the CoNS group and 2 [1–4] in the control group ($p = 0.54$). The percentage of positive indwelling device cultures was 81.8% for CoNS HAM and 47.6% for other HAM ($p = 0.13$).

A concomitant infection was diagnosed in 3 (17.6%) CoNS and 21 (40.4%) controls, but this result did not reach statistical significance either (Table 5).

Outcome

All patients received systemic antibiotic therapy, for a median duration of 19 days (14–21) in the CoNS group and 16 days (10–21) in controls ($p = 0.72$). Only a few patients had intraventricular infusion of antimicrobial agents.

All indwelling devices were removed except in two patients, whose outcome was not favorable: one relapsed in the CoNS group and the other died in the control group.

Treatment failure occurred in 1 (5.6%) CoNS HAM (relapse) and 12 (23.1%) controls (two relapses and ten deaths related to the meningitis) ($p = 0.16$).

A second meningitis was diagnosed in 4 patients (22.2%) in the CoNS group and 3 patients (5.9%) in the control group ($p = 0.064$).

Table 3 Clinical and biological characteristics

	CoNS group (n = 18)	Controls (n = 53)	p-Value
Time before D0 (days)	17 [11–35]	12 [6–18]	0.029
Fever D0	15 (93.8%)	51 (98.1%)	0.42
GCS score D–5	15 [11–15]	15 [14–15]	0.54
GCS score D–3	15 [14–15]	15 [14–15]	0.52
GCS score D0	14 [13–15]	13 [7–15]	0.038
Meningeal stiffness	4 (44.4%)	25 (67.6%)	0.26
Local signs of infection	1 (20%)	11 (28.2%)	1
Serum CRP (mg/L)	24 [11–78]	77 [15–96]	0.23
WBC count at D–5 (G/L)	11 [8–13.5]	10.6 [8.3–1.3]	0.76
WBC count at D0 (G/L)	10.3 [7.4–11.9]	12.7 [9.4–17.2]	0.007

Data are shown as median [25th–75th percentile] or n (%). When there are significant differences, the p-Value are indicated in bold.

CoNS: coagulase-negative staphylococci; D0: first day of antibiotic treatment; D–5: 5 days before D0; D–3: 3 days before D0; GCS: Glasgow Coma Scale; CRP: C-reactive protein; WBC: white blood cells

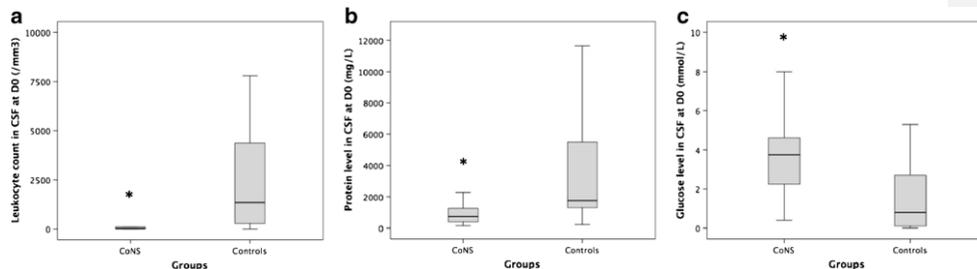


Fig. 2 Cellularity and chemistry of CSF at the time of diagnosis (D0): leukocyte count in CSF (a), protein level in CSF (b), and glucose level in CSF (c). CoNS: coagulase-negative staphylococci; CSF: cerebrospinal fluid; D0: first day of antibiotic treatment. * $p < 0.05$ versus controls

Three months after the meningitis, the number and percentage of patients with a GOS score ≤ 3 were not different between both groups: 12 (75%) in the CoNS group and 29 (56.9%) in the control group ($p = 0.19$).

There were no deaths, from all causes, at D28 in the CoNS group versus 12 (23.1%) in the control group ($p = 0.03$), and 1 (5.9%) at one year versus 18 (34.6%) ($p = 0.027$), respectively.

Figure 3 shows the Kaplan–Meier probability of survival at D28 and one year.

Discussion

HAM are often considered as infections with mild clinical and biological features [1, 4, 10]. CoNS are found in the literature as a major cause of HAM [6, 7, 15, 17] and the particular characteristic of CoNS (mostly *S. epidermidis*) is the lack of virulence factors, apart from their ability to form biofilm [11,

12]. We hypothesized that these two facts could explain the indolent features of HAM. For that, we compared CoNS HAM to HAM due to traditional or high-grade pathogens (controls). Thus, in this eight-year study, we found that CoNS were responsible for 25.4% of our HAM. CoNS infections occurred later after the last surgery and had less profound consciousness disorders than controls. They also had a lower inflammatory response in blood with a lower WBC count and in CSF with a lower leukocyte count, a lower protein level, and a higher glucose level, which is consistent with our hypothesis. Finally, the probability of survival of CoNS HAM was higher than that of the controls.

On the contrary, control HAM were not pauci-symptomatic, since 51 (98.1%) of patients had fever, more than half had altered consciousness, and 25 (67.6%) had meningeal stiffness. They also had a degree of inflammation in CSF close to community-acquired meningitis, with 1340 [298.8–4320] leukocytes/mm³, 89% [76.5–95] granulocytes, 1751 mg/L [1372–5990.3] protein level, and 0.8 mmol/L [0.1–2.8] glucose level [22, 23]. Hence, the clinical and biological patterns of HAM depend on the bacterial species implicated.

Indeed, CoNS have no or limited virulence factors, leading some authors to name it as the “accidental pathogen” [11]. These skin colonizers have not evolved to cause a disease but to maintain the benign relationship with their hosts. Their pathogenic potential relies on their ability to produce biofilm on the surface of indwelling medical devices [12, 24]. During the early phase of infection, the capacity of CoNS to secrete pro-inflammatory peptides, as phenol-soluble modulins, is down-regulated, protecting the bacteria from clearance and allowing the formation of biofilm [25]. Biofilm-forming bacteria have both phenotypic and genotypic adaptations, enabling them to coexist with the host response for a prolonged time, even though they induce a co-activation of the innate and the adaptive immune system, which is often unable to eradicate the infection but causes low-grade damages, through frustrated phagocytosis, explaining the symptomatology [26].

As a result, the vast majority of CoNS infections are characterized by a subacute or chronic course, with a subtle

Table 4 Bacterial species involved in healthcare-associated meningitis

	No. (%)	No. of resistant strains (%)
Gram-positive cocci	54 (63.5%)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	26 (30.6%)	18 (69.2%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	11 (12.9%)	5 (45.5%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	6 (7%)	
<i>Enterococcus faecium</i>	2 (2.4%)	
<i>Streptococcus</i> spp.	9 (10.6%)	
Gram-negative bacilli	31 (36.5%)	
<i>Escherichia coli</i>	4 (4.7%)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (4.7%)	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2 (2.4%)	
<i>Enterobacter cloacae</i>	6 (7%)	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3 (3.5%)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 (11.8%)	
Others	2 (2.4%)	
Total	85 (100%)	

Data are shown as n (%)

Table 5 Bacteriological characteristics of the healthcare-associated meningitis

	CoNS group (n = 18)	Controls (n = 53)	p-Value
Positive direct examination	12 (70.6%)	34 (72.3%)	1
Inoculum of CSF at D0	5.10 ⁴ [500–10 ⁵]	10 ⁵ [875–10 ⁶]	0.45
Number of positive CSF	3 [2–4]	2 [1–4]	0.54
Positive device culture	9 (81.8%)	10 (47.6%)	0.13
Related bacteremia	8 (57.1%)	10 (20%)	0.015
Total number of positive samples	5 [3–7]	3 [2–5]	0.068
Concomitant infection	3 (17.6%)	21 (40.4%)	0.142
Prior antibiotic therapy	3 (17.6%)	13 (25%)	0.53

Data are shown as median [25th–75th percentile] or n (%). When there are significant differences, the p-Value are indicated in bold.

CoNS: coagulase-negative staphylococci; CSF: cerebrospinal fluid; D0: first day of antibiotic treatment

clinical picture and no fulminant signs of infections [12, 27], and HAM are no exception. In particular, we found that the protein level in CSF, which is a major marker of meningeal inflammation, was lower in the CoNS group, as Huang et al. [18] had previously described.

Further, the median time after surgery was longer in the CoNS group than in the controls, unlike other studies [4, 18], but this result is compatible with data from other CoNS infections, as in infective endocarditis [12]. This could contribute to the lower degree of inflammation in CSF.

As expected, the majority of our CoNS HAM were foreign body-related. However, this result was not significantly different from the control group, probably because of a lack of statistical power. The only two cases of CoNS meningitis without neurosurgical material concerned intensive care patients having incurred a long surgery, that caused bony sequestra, on which bacteria can build their biofilm [28].

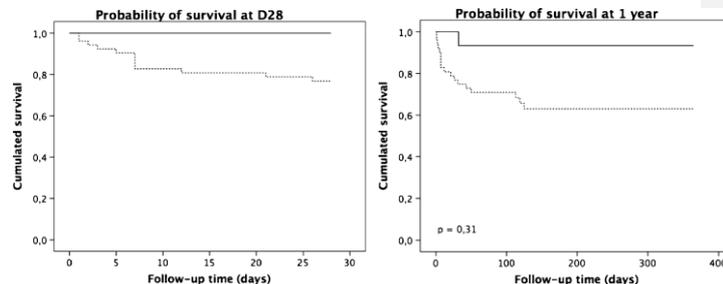
Hence, the growing number of invasive procedures and indwelling device placements provides optimal conditions for CoNS and explains their increasing role in healthcare-associated infections. However, in our study, CoNS were only responsible for 18 HAM (25.4%), which was in the lower range of other studies. But two CSF samples positive to the same strain of CoNS were required, which could have lowered

the proportion of CoNS HAM recorded in our study. Indeed, recent studies with the same criterion detected between 18.4% and 22% of CoNS HAM [5, 18, 19, 29].

CoNS, as usual contaminants of microbiological samples, are difficult to incriminate. Some authors proposed to isolate the same strain of CoNS in at least two different cultures, to help distinguish between contamination and infection [6, 18], this rule being already applied in the diagnosis of bacteremia [2]. Moreover, we did not include 11 cases with several CSF samples positive to the same CoNS, but with no treatment. Indeed, the positivity of several consecutive samples with the same strain of CoNS might not be enough to make a diagnosis of HAM. Other factors are part of the equation; for instance, changes in CSF chemistry and cellularity [5]. Another possible explanation is that these are biofilm-associated infections, with sessile bacteria, which do not cause an inflammatory reaction (yet) and it could be interesting to follow these patients, to find out if they are going to develop a pauci-symptomatic meningitis or a shunt dysfunction [30].

The microbiological data showed, somewhat surprisingly, a bacteremia with the same organism more often in the CoNS group than in the controls. This result can be explained by the fact that there were more ventriculo-atrial shunts among the CoNS HAM. Indeed, these devices are at greater risk for

Fig. 3 Kaplan–Meier survival curves at D28 and one year (all-cause mortality) of healthcare-associated meningitis (HAM) episodes caused by coagulase-negative staphylococci (CoNS; continuous line) or traditional pathogens (dotted line). D28: 28 days after the beginning of antibiotic treatment



bacteremia than others [1]. Another possible explanation might be related to the method used to identify related strains of CoNS through their antibiotype. In fact, the phenotypic identification methods could fail to discriminate close, but distinguishable strains of CoNS. On the contrary, the genotypic methods suffer from excessive sensitivity and highlight minor genetic differences, which may only reflect the genetic flexibility of one and the same strain [31, 32]. Moreover, genotypic techniques are still time-consuming and expensive. Given the fact that our study is retrospective, we did not get to choose among those methods. However, the Etest is the reference for MIC determination with great sensitivity and specificity, and is more suitable for clinical practice than genotypic techniques, for now.

Finally, we found that CoNS meningitis had better survival probabilities at 28 days and one year, which is in line with other studies [18, 19] and could also reflect the low virulence of CoNS. However, there were no difference in the GOS score at 3 months between both groups, but confounding factors, such as the original mental state of the patients, were not recorded.

Other limitations of our study that need to be discussed are related to the retrospective design, which was a necessity considering the low incidence of HAM. Despite that and given our sample size, we could not carry out a logistic regression analysis with enough variables. We could have performed a multicenter study, but the lack of standardized procedures for EVDs management could have led to important methodological bias. Hence, our findings need further confirmation.

To this end, future studies should use a microbiological definition, based on the isolation of a microorganism in CSF culture, with the need to detect the same strain in at least two samples for commensal bacteria, such as CoNS. It could be necessary to include recent changes in biological features in this definition, rather than static thresholds that could miss these indolent infections.

Conclusion

We have shown that the indolent, pauci-symptomatic, and mild inflammatory presentation of healthcare-associated meningitis (HAM) is linked to low-grade pathogens, coagulase-negative staphylococci (CoNS), which are mostly indwelling device-related. Their lack of virulence could also explain the better prognostic we have found, when comparing these infections to other HAM.

The rarely life-threatening nature of these HAM should not make us underestimate CoNS, which are responsible for more and more healthcare-associated infections and are becoming a major concern for the next decades.

Source of funding None.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical approval This study was approved by the local ethical committee. All procedures were in accordance with the ethical standards of the national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments. For this type of study (retrospective), formal consent is not required.

References

- van de Beek D, Drake JM, Tunkel AR (2010) Nosocomial bacterial meningitis. *N Engl J Med* 362(2):146–154
- Horan TC, Andrus M, Dudeck MA (2008) CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 36(5):309–332
- Mayhall CG, Archer NH, Lamb VA, Spadora AC, Baggett JW, Ward JD et al (1984) Ventriculostomy-related infections. A prospective epidemiologic study. *N Engl J Med* 310(9):553–559
- Conen A, Walti LN, Merlo A, Fluckiger U, Battagay M, Trampuz A (2008) Characteristics and treatment outcome of cerebrospinal fluid shunt-associated infections in adults: a retrospective analysis over an 11-year period. *Clin Infect Dis* 47(1):73–82
- Mounier R, Lobo D, Cook F, Fratani A, Attias A, Martin M et al (2015) Clinical, biological, and microbiological pattern associated with ventriculostomy-related infection: a retrospective longitudinal study. *Acta Neurochir* 157(12):2209–2217
- Muttaiyah S, Ritchie S, Upton A, Roberts S (2008) Clinical parameters do not predict infection in patients with external ventricular drains: a retrospective observational study of daily cerebrospinal fluid analysis. *J Med Microbiol* 57:207–209
- Walti LN, Conen A, Coward J, Jost GF, Trampuz A (2013) Characteristics of infections associated with external ventricular drains of cerebrospinal fluid. *J Infect* 66(5):424–431
- Schade RP, Schinkel J, Roelandse FW, Geskus RB, Visser LG, van Dijk MC et al (2006) Lack of value of routine analysis of cerebrospinal fluid for prediction and diagnosis of external drainage-related bacterial meningitis. *J Neurosurg* 104(1):101–108
- Pfisterer W, Mühlbauer M, Czech T, Reinprecht A (2003) Early diagnosis of external ventricular drainage infection: results of a prospective study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74(7):929–932
- Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A, Byers K, Kaplan SL, Michael Scheld W et al (2017) 2017 Infectious Diseases Society of America's clinical practice guidelines for healthcare-associated ventriculitis and meningitis. *Clin Infect Dis* 64:e34–e65. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw861>
- Otto M (2009) *Staphylococcus epidermidis*—the ‘accidental’ pathogen. *Nat Rev Microbiol* 7(8):555–567
- Becker K, Heilmann C, Peters G (2014) Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev* 27(4):870–926
- Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr (2002) Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery* 51(1):170–182
- Williamson RA, Phillips-Bute BG, McDonagh DL, Gray MC, Zomorodi AR, Olson DM et al (2014) Predictors of extraventricular drain-associated bacterial ventriculitis. *J Crit Care* 29(1):77–82
- Korinek A-M, Fulla-Oller L, Boch AL, Golmard JL, Hadji B, Puybasset L (2011) Morbidity of ventricular cerebrospinal fluid

- shunt surgery in adults: an 8-year study. *Neurosurgery* 68(4):985–995
16. Korinek A-M, Baugnon T, Golmard JL, van Effenterre R, Coriat P, Puybasset L (2006) Risk factors for adult nosocomial meningitis after craniotomy: role of antibiotic prophylaxis. *Neurosurgery* 59(1):126–133
 17. Scheithauer S, Bürgel U, Ryang YM, Haase G, Schiefer J, Koch S et al (2009) Prospective surveillance of drain associated meningitis/ventriculitis in a neurosurgery and neurological intensive care unit. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80(12):1381–1385
 18. Huang C-R, Lu C-H, Wu J-J, Chang H-W, Chien C-C, Lei C-B et al (2005) Coagulase-negative staphylococcal meningitis in adults: clinical characteristics and therapeutic outcomes. *Infection* 33(2):56–60
 19. Chang W-N, Lu C-H, Huang C-R, Chuang Y-C, Tsai N-W, Chen S-F et al (2007) Epidemiology of adult staphylococcal meningitis in southern Taiwan: a clinical comparison of *Staphylococcus aureus* infection and coagulase-negative staphylococcal infection. *Jpn J Infect Dis* 60(2):262–266
 20. Khatib R, Riederer KM, Clark JA, Khatib S, Briski LE, Wilson FM (1995) Coagulase-negative staphylococci in multiple blood cultures: strain relatedness and determinants of same-strain bacteremia. *J Clin Microbiol* 33(4):816–820
 21. Société Française d'Anesthésie et de Réanimation (2011) Antibioprophylaxis in surgery and interventional medicine (adult patients). Actualization 2010. *Ann Fr Anesth Reanim* 30(2):168–190
 22. van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M (2004) Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med* 351(18):1849–1859
 23. Bijlsma MW, Brouwer MC, Kasanmoentalib ES, Kloek AT, Lucas MJ, Tanck MW et al (2016) Community-acquired bacterial meningitis in adults in the Netherlands, 2006–14: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 16(3):339–347
 24. von Eiff C, Peters G, Heilmann C (2002) Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* 2(11):677–685
 25. Vuong C, Dürr M, Carmody AB, Peschel A, Klebanoff SJ, Otto M (2004) Regulated expression of pathogen-associated molecular pattern molecules in *Staphylococcus epidermidis*: quorum-sensing determines pro-inflammatory capacity and production of phenol-soluble modulins. *Cell Microbiol* 6(8):753–759
 26. Braxton EE, Ehrlich GD, Hall-Stoodley L, Stoodley P, Veeh R, Fux C et al (2005) Role of biofilms in neurosurgical device-related infections. *Neurosurg Rev* 28(4):249–255
 27. Rogers KL, Fey PD, Rupp ME (2009) Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect Dis Clin North Am* 23(1):73–98
 28. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284(5418):1318–1322
 29. Mounier R, Lobo D, Cook F, Martin M, Attias A, Ait-Mamar B et al (2015) From the skin to the brain: pathophysiology of colonization and infection of external ventricular drain, a prospective observational study. *PLoS One* 10(11):e0142320. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142320>
 30. Mounier R, Kapandji N, Birbaum R, Cook F, Rodriguez C, Nebbad B et al (2016) Biofilm-associated infection: the hidden face of cerebrospinal fluid shunt malfunction. *Acta Neurochir* 158(12):2321–2324
 31. Widerström M, Wiström J, Sjöstedt A, Monsen T (2012) Coagulase-negative staphylococci: update on the molecular epidemiology and clinical presentation, with a focus on *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31(1):7–20
 32. Ziebuhr W, Dietrich K, Trautmann M, Wilhelm M (2000) Chromosomal rearrangements affecting biofilm production and antibiotic resistance in a *Staphylococcus epidermidis* strain causing shunt-associated ventriculitis. *Int J Med Microbiol* 290(1):115–120

Question 3 : Quelle est la durée de protection antimicrobienne des DVE imprégnées d'antibiotiques ?

Comme on l'a vu, les ILD sont fréquentes (incidences moyennées de plusieurs études : 11,4 pour 1000 journées cathéter) et redoutées (172). Les mesures préventives comprennent essentiellement l'antibiothérapie péri-procédurale dont l'efficacité semble faible. Ce que l'on comprend aisément quand on se rappelle que les ILD surviennent à J10, que les DVE sont exposées en permanence au microbiote cutané et que la peau ne peut en aucun cas être stérilisée. L'antibiothérapie systémique durant le temps d'exposition ne stérilisera pas plus la peau, mais pourra au contraire avoir des effets dévastateurs. Entre autres entraîner une dysbiose, favoriser la présence de bactéries pathogènes non-résidentes ou augmenter la proportion des bactéries pathogènes résidentes, et même augmenter fortement les bactéries résistantes, qui seront responsables de l'infection. Des études ont déjà montrés que la présence de pathogènes au niveau de la peau est associée aux ILD avec un OR>10 (89), d'autres que l'antibioprophylaxie prolongée augmente les ILD à germes résistants et peut même augmenter la mortalité (172,184). La troisième méthode préventive, les DVE imprégnées d'antibiotiques, semble plus intéressante. Les antibiotiques sont délivrés localement et l'efficacité de la protection antibactérienne serait supérieure de plusieurs semaines à la médiane de drainage des DVE retrouvée dans la littérature (119,198). Ainsi, ses effets délétères seraient seulement locaux. Cependant, comme rapporté plus haut, les trois études cliniques randomisées contrôlées montrent des résultats discordants, et même plutôt défavorables (141,166,186).

Dans le travail précédent, les DVE utilisées sont des DVE imprégnées d'antibiotiques (clindamycine-rifampicine, Bactiseal™). Nous avons rapporté 39 ILD parmi les 567 patients porteurs de DVE hospitalisés dans notre service durant la période couvrant de 2007 à 2015.

Nous nous sommes étonnés dans le travail précédant d'observer parmi les 21 ILD dues à des bactéries coques Gram positives, que 88% sont sensibles à la rifampicine, 38% à la clindamycine et 38% aux deux antibiotiques (161). Quand les cultures d'une portion de DVE poussaient, c'était aux mêmes germes avec le même profil de sensibilité aux antibiotiques. D'autres auteurs ont déjà rapporté des faits similaires (135,138,160,167,168).

Une des hypothèses était que la durée de protection antibiotique présentée par ce type de DVE imprégnée est plus courte lors de leur utilisation en pratique clinique, que rapporté par son « inventeur » (119,198).

Nous avons donc entrepris de tester systématiquement les DVE Bactiseal™ lors de leurs ablations pour raison médicale, sur une période d'avril 2017 à janvier 2018. Chaque extrémité des DIA était immédiatement coupée en 5 portions de 0,5 cm. Une était envoyée au laboratoire de microbiologie pour être mise en culture. Une autre était coupée en 2 dans le sens de la longueur et mise en culture avec une souche de *Staphylococcus* sur milieu de Mueller-Hinton, et l'activité des faces (internes et externes) était évaluée le lendemain par mesure des diamètres d'inhibition. Deux autres portions étaient mises en culture en milieu liquide (BHI) avec des concentrations de 10^4 et 10^5 cfu/mL respectivement, de la même souche bactérienne. Cette expérience permettait de déterminer l'activité bactéricide, bactériostatique ou l'absence d'activité. Enfin, la dernière portion était analysée en spectrométrie de masse.

Nous avons inclus 65 DIA (56 patients), 21 étaient testées avec du *S. aureus* sensible à la méthicilline (SASM), 23 avec du *S. aureus* methi-R (SARM), et 21 avec du *S. epidermidis* methi-R (SERM). Nous avons observé 5 colonisations de DIA (9%), principalement avec du *Staphylococcus* (4/5), et 2 ILD (4). Ces dernières étant dues à des bactéries à Gram négatifs. L'inhibition des DIA en milieu MH pour le SARM et le SERM, diminue significativement avec la durée de cathétérisation (pour les deux faces, $p < 0.02$) et la quantité de LCR drainé ($p < 0.005$ pour les 2 faces vis-à-vis du SERM, $p < 0.005$ pour la face externe et le SARM). On ne note pas de perte d'inhibition pour le SASM. Globalement, l'effet de diminution d'activité inhibitrice est plus marqué pour la face externe, avec certaines DVE ne montrant plus aucune activité dès 10 jours et/ou 1500 mL de LCR drainé, quelle que soit la souche testée. Sur l'ensemble des DIA, 15 face externe (23%) ne montrent aucune inhibition, avec une médiane de cathétérisation de 18 [15-25] jours et/ou 2450 [1594-3246] mL de LCR drainé.

De même pour le type d'activité, que ce soit avec le temps ou la quantité de LCR drainé, on observe pour le SARM et le SERM, un changement d'activité : bactéricide, bactériostatique puis plus d'activité.

Résultats

En spectrométrie de masse, la concentration de clindamycine mesurée n'est corrélée ni au temps, ni à la quantité drainée, cependant moins de 20% de l'activité initiale de la DIA (contrôle) est mesurée après 5 jours d'utilisation. A l'inverse, la rifampicine montre une rapide et importante chute de concentration avec le temps et le volume drainé ($p=0.001$ et $p=0.03$, respectivement).

Ces résultats s'intègrent parfaitement aux résultats des études cliniques. Les ILD surviennent autour du 10^e jour (135,138,146,160,167,168) et surviennent principalement par la face externe (89). De plus la seule étude clinique étudiant les DVI Bactiseal à leur ablation ($n=25$), pour des périodes d'implantation de 11 à 700 jours, a retrouvé une baisse rapide de l'activité à environ 50% (J11) puis persistant à ce niveau jusqu'à 120 jours environ (205). Au-delà elles perdent toute activité. L'activité résiduelle de 50%, durable, peut peut-être s'expliquer par le fait que la souche testée était un *Staphylococcus aureus* sensible à la rifampicine et à la clindamycine.

Concernant le volume drainé, aucune étude ne s'y est intéressée.

Ces résultats soulèvent plusieurs questions. Est-ce que les résultats de cette étude sont liés au temps ou au volume drainé. Et la seconde question qui reste d'actualité : Est-ce que le rôle du biofilm reste pertinent en clinique ?

Les supplementary data de l'article se trouve en annexe 1

Durability of antimicrobial activity of antibiotic-impregnated external ventricular drains: a prospective study

Roman Mounier^{1,2*}, Elodie Lang¹, Anne Hulin³, Paul-Louis Woerther⁴, David Lobo¹, Mathieu Martin¹, Valérie Bitot¹, Lyse Flores¹, Marlene Cherruault¹, Paul-Henri Jost¹, Severine Couffin¹, Françoise Tomberli¹, Jean Bardou¹, Wissem Lahiani⁵, Gilles Dhonneur¹, Fabrice Cook¹ and David Lebeaux⁶

¹Department of Anesthesia and Surgical Intensive Care, Henri Mondor University Hospital Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), University Paris-Est-Créteil (UPEC), Créteil, France; ²Groupe de Recherche Clinique IMPACT, Institut Mondor de la Recherche Biomédicale, Université Paris-Est Créteil (UPEC), Créteil, France; ³Department of Pharmacology, Henri Mondor University Hospital Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), University Paris-Est-Créteil (UPEC), Créteil, France; ⁴Department of Microbiology, Henri Mondor University Hospital Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), University Paris-Est-Créteil (UPEC), Créteil, France; ⁵Department of Neurosurgery, Henri Mondor University Hospital Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), University Paris-Est-Créteil (UPEC), Créteil, France; ⁶Unité Mobile d'Infectiologie, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Université de Paris, Paris, France

*Corresponding author. E-mail: roman.mounier@laposte.net

Received 25 April 2019; returned 21 June 2019; revised 3 July 2019; accepted 5 July 2019

Background: Antibiotic-impregnated external ventricular drains (AI-EVDs) have a debated efficacy in clinical studies.

Objectives: Our aim was to assess the durability of antimicrobial activity of AI-EVDs used in clinical settings.

Methods: From April 2017 to January 2018, all consecutive AI-EVDs (Bactiseal™) inserted in adult patients were prospectively included. After removal, each AI-EVD was cultured and assessed for antimicrobial activity on both internal and external sides of AI-EVDs. Catheters were each challenged with a single *Staphylococcus* strain [MSSA, MRSA or methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE)]. MS was used to measure residual concentrations of rifampicin and clindamycin.

Results: Sixty-five AI-EVDs were included (56 patients). Among these, 21 were challenged with MSSA, 23 with MRSA and 21 with MRSE. Five ventriculostomy-related colonizations (9%) and two ventriculostomy-related infections (4%) occurred. *Staphylococcus* was the main bacterium responsible for colonization (4/5). AI-EVD inhibition decreased significantly against MRSA and MRSE according to duration of catheterization (for external and internal sides, $P < 0.02$) and overall volume of CSF drained ($P < 0.005$ for both sides against MRSE, $P < 0.005$ for external side against MRSA), but not against MSSA. Clindamycin concentration was not correlated with duration of catheterization or CSF volume drained, but $< 20\%$ of initial concentration was recovered even after 5 days of AI-EVD dwelling. Conversely, rifampicin concentration showed a rapid and significant decline correlated to duration and CSF volume ($P < 0.001$ and $P = 0.03$, respectively).

Conclusions: Antimicrobial activity of AI-EVDs dropped quickly *in vivo*. Antimicrobial impregnation did not prevent AI-EVD colonization by susceptible strains in 9% of the cases.

Introduction

Ventriculostomy-related infection (VRI) is a major complication of external ventricular drains (EVDs), with a pooled incidence of 11.4 per 1000 catheter-days.¹ VRI has serious consequences for the patient, leading to worse outcome and reduced mental and physical capacity.² Considering the important clinical burden associated with VRI, identification of preventive measures is of critical importance. Thus, the use of antibiotic-impregnated EVDs (AI-EVDs) has

been proposed to reduce the risk of microbial contamination, colonization and subsequent VRI. Even if the use of AI-EVDs is controversial,³⁻⁵ our experience with the Bactiseal™ EVD, which diffuses a combination of antibiotics (clindamycin and rifampicin), on both inner and outer lumens of the catheter, resulted in a low rate of VRI.^{6,7}

Using Bactiseal™, we reported 39 VRIs among 567 patients with an AI-EVD between January 2007 and October 2015 in our

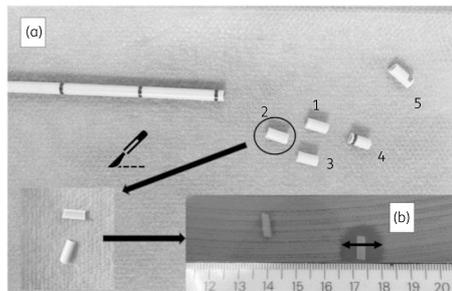


Figure 1. Procedure of AI-EVD processing. (a) After removal, the intracerebral portion of the AI-EVD was immediately cut into five sections of 0.5 cm (1 to 5). Section 2 was cut along the length and placed on a plate inoculated with a 0.5 McFarland *Staphylococcus* spp. inoculum. (b) The inhibition zone around the AI-EVD tip was measured in a transverse direction to the tip's axis (left, internal diameter; right, external diameter). 'Internal diameter' was defined as the inhibition zone surrounding the AI-EVD tip when its internal side is in contact with the agar plate (left part) and 'external diameter' was defined as the inhibition zone surrounding the AI-EVD tip when its external side is in contact with the agar plate (right part). In this example, 'internal diameter' equals 3 mm (no inhibition) and 'external diameter' equals 15 mm.

centre. Twenty-one VRIs were related to Gram-positive cocci, of which 88% were rifampicin susceptible, 38% were clindamycin susceptible and 38% were susceptible to both antibiotics.⁸ Other authors reported similar results.⁹⁻¹⁴ One hypothesis to explain this finding would be that the antimicrobial protection is related to duration of catheterization and may be shorter than expected, allowing susceptible strains to cause VRI. *In vitro* studies with Bactiseal™ shunts using a wide range of *Staphylococcus* strains have demonstrated that the protection to all tested strains lasted for 42 to 56 days.¹⁵⁻¹⁸ A single study assessed the duration of protective antimicrobial efficacy of 25 Bactiseal™ shunts,¹⁹ using a clindamycin- and rifampicin-susceptible *Staphylococcus* strain. The antimicrobial activity decline was not linear and dropped by half during the second week.¹⁹

The aim of this study was to assess the durability of antimicrobial activity of explanted AI-EVDs used in daily clinical practice.

Methods

Population and AI-EVD handling

From April 2017 to January 2018, all consecutive AI-EVDs inserted during clinical practice for adult patients (≥ 18 years) hospitalized in the ICU of a tertiary care centre were prospectively included. Exclusion criteria were an AI-EVD not removed with aseptic techniques and an AI-EVD not tested within 48 h after removal. During the study period, Bactiseal™ EVDs (Bactiseal, Codman, Johnson & Johnson, Wokingham, UK) were exclusively used. All persons gave their informed consent prior to their inclusion in the study. The Institutional Ethical Committee approved the study (CEADM Claude Galien, no. 2015-046).

VRI was defined by a worsening clinical status (decrease in Glasgow Coma Scale score or fever) and alteration of CSF tests (at least one of the

following: increasing protein profiles; declining glucose level; or advancing pleocytosis) and a positive CSF culture.^{20,21} Ventriculostomy-related colonization (VRC) was defined as a positive culture of the AI-EVD tip (section 1 in Figure 1), without any clinical sign.

AI-EVDs were inserted in an operating room. For detailed insertion and handling procedures, please see the [Supplementary Methods](#) (available as [Supplementary data](#) at JAC Online).

AI-EVDs were removed with aseptic techniques in the ICU, as recommended. For the purpose of the study, the intracerebral portion was immediately cut into five sections of 0.5 cm each (Figure 1). Section 1 was used for routine microbiology procedures (please see below and the [Supplementary Methods](#)). Sections 2-4 were used to assess the residual AI-EVD antimicrobial effect. Section 5 was sent to the Pharmacology Laboratory for quantification of rifampicin and clindamycin concentrations.

Microbiological methods

Routine microbiological procedures

See the [Supplementary Methods](#).

Assessment of the AI-EVD antimicrobial effect

Three different reference strains were used: (i) one MSSA (ATCC 29213) susceptible to clindamycin (MIC ≤ 0.25 mg/L) and rifampicin (MIC ≤ 0.008 mg/L); (ii) one MRSA (ANSM 14BAC2) susceptible to rifampicin only (rifampicin MIC ≤ 0.008 mg/L; clindamycin MIC > 256 mg/L); and (iii) one methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE; RP62A), also susceptible to rifampicin only (rifampicin MIC ≤ 0.008 mg/L; clindamycin MIC > 256 mg/L).

Clindamycin and rifampicin MICs were determined using Etest strips (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). MIC breakpoints proposed by the CA-SFM-EUCAST 2017 recommendations guidelines were used. The clindamycin MIC threshold defining susceptibility was ≤ 0.25 mg/L, and resistance was defined as an MIC ≥ 0.5 mg/L. The rifampicin MIC threshold defining susceptibility was ≤ 0.06 mg/L, and resistance was defined as an MIC ≥ 0.5 mg/L.

Between April 2017 and January 2018, the study was divided into three consecutive time frames during which only one reference strain was used (MSSA, then MRSA, then MRSE) to challenge each explanted AI-EVD. Our objective was to challenge at least 20 individual AI-EVDs with each reference strain.

In order to assess the antimicrobial activity of the AI-EVD, a sterile saline solution containing 0.5 McFarland *Staphylococcus* spp. (corresponding to 10^8 cfu/mL) was prepared and plated on a Mueller-Hinton agar plate (bioMérieux). Section 2 of the AI-EVD was cut along the length (Figure 1), placed on the plate and incubated at 35°C under aerobic conditions for 18 h. After incubation, the inhibition zone around the AI-EVD tip was measured in a transverse direction to the tip's axis, reflecting the antimicrobial effect associated with the tip (Figure 1). We measured two values: (i) 'internal diameter' defined as the inhibition zone surrounding the AI-EVD tip when its internal side is in contact with the agar plate (left part of Figure 1b); and (ii) 'external diameter' defined as the inhibition zone surrounding the AI-EVD tip when its external side is in contact with the agar plate (right part of Figure 1b).

Sections 3 and 4 of the AI-EVD were placed in 1 mm³ of brain heart infusion broth (bioMérieux) with 10^4 and 10^5 cfu of *Staphylococcus* spp. Both infusions were incubated at 35°C under aerobic conditions for 18 h. If cloudy (by visual estimate), the antibiotic concentration was considered insufficient to inhibit the strain's growth, i.e. below the MIC of the strain (Figure S1). If clear, the antibiotic concentration was considered above the MIC and 10 μ L of the infusion was plated on blood agar and incubated at 35°C under aerobic conditions for 18 h. If the culture was positive, the antibiotic concentration was considered insufficient to kill the strain, i.e. below the MBC of the strain. If negative, the antibiotic concentration was considered above the MBC.

Durability of antimicrobial activity of external ventricular drains

Table 1. Baseline characteristics among 56 patients included after removal of a Bactiseal™ AI-EVD in a neurosurgical ICU; N=56

Male, n (%)	34 (61)
Age (years), median (IQR)	55 (45–65)
Reason for admission, n (%)	
subarachnoid haemorrhage	31 (55)
traumatic brain injury	4 (7)
intracerebral haemorrhage	9 (16)
others	12 (21)
WFNS score, n (%)	
1–2	11 (35)
3–5	20 (65)
Initial GCS score, median (IQR)	9 (5–14)
SAPS II, median (IQR)	32 (20–47)
Extraneurological infections, n (%)	16 (29)
Antimicrobials prior to VRC, VRI or AI-EVD removal, n (%)	15 (27)
VRC, n (%)	5 (9)
VRI, n (%)	2 (4)
Duration of catheterization (days), median (IQR)	13 (7–18)
Overall volume of drained CSF (mL), median (IQR)	1476 (530–2368)
ICU length of stay (days), median (IQR)	16 (9–29)
GOSE (3 months), median (IQR)	4 (1–7)
Mortality (3 months), n (%)	18 (32)

GCS, Glasgow Coma Scale; GOSE, Glasgow Outcome Scale Extended; SAPS, Simplified Acute Physiology Score; WFNS, World Federation of Neurological Surgeons (only for patients with subarachnoid haemorrhage).

After performing broth media experiments, ~50% were randomly selected to investigate the presence of strains resistant to rifampicin using an Etest strip (bioMérieux).

Control experiments

For each experiment and for each *Staphylococcus* strain, a control was performed, using a 0.5 cm section of a new AI-EVD. For MIC and MBC measures, inocula ranging from 10^2 to 10^8 cfu/mL were used to define at which bacterial concentrations 'bactericidal', 'bacteriostatic' or 'no activity' was detected. Each control experiment was repeated three times. For each infusion culture, a positive control was performed using the reference strain without an AI-EVD.

Analytical methods for antibiotic quantification

Only AI-EVDs included during the first time frame (MSSA) were assayed using MS.

Sample preparation

Section 5 of the catheter was sent to the Pharmacology Laboratory for quantification of antibiotic concentrations. Each portion was collected in a dried tube and stored at -80°C until analysis. A 100 mL aliquot of a mixture of methanol/0.1% formic acid/0.2 mg/mL ascorbic acid (1:1:1, v/v/v) was deposited into the catheter three times and the solution including the catheter was then vortexed for 1 min. The supernatant was injected into the chromatographic system.

Stock and working solutions, calibration standards and quality controls

For each drug, two primary stock solutions were prepared at 150 mg/mL in methanol/0.1% formic acid (1:1, v/v) for clindamycin and in methanol/0.1%

formic acid/0.2 mg/mL ascorbic acid (1:1:1, v/v/v) for rifampicin. These two primary stock solutions were stored at -80°C . Stock solutions were mixed to obtain a working solution containing the two drugs at 15000 µg/L in methanol/0.1% formic acid/0.2 mg/mL ascorbic acid (1:1:1, v/v/v). The calibration standards ranged from 0.15 to 15000 µg/L for each analysis in methanol/0.1% formic acid/0.2 mg/mL ascorbic acid (1:1:1, v/v/v).

LC-MS/MS equipment and conditions

See the [Supplementary Methods](#).

Control experiments for drug quantification by MS were performed with a 0.5 cm section of a new AI-EVD. Residual concentrations were expressed as a percentage of the initial concentration.

Statistical analysis

Quantitative variables are expressed as median and IQR; qualitative variables are presented as total number of events and percentage. Patient and AI-EVD characteristics were compared between the three strain groups using Fisher's exact test for categorical variables and ANOVA for continuous variables. Type I error was fixed at 0.05.

Linear regression was performed after log transformation of inhibition diameters to assess the association between diameters and duration of catheterization and CSF volume.

A barplot was used to represent antimicrobial activity. We split duration and volume of drainage into four groups according to Gaussian or non-Gaussian distribution of those variables.

A boxplot was created to compare the duration and volume of drainage of each type of activity against MSSA, MRSA and MRSE. The overall difference was assessed with Friedmann's ANOVA. If a difference was highlighted, post-hoc analysis with multiple pairwise comparisons (Wilcoxon signed rank test with Bonferroni correction to avoid type I error inflation) was performed.

Effects of drainage (duration and volume) on antibiotic concentration were assessed by a linear regression model, which includes data from the MSSA group.

All statistical analyses were performed using R 3.4.0 software.

Results

Between April 2017 and January 2018, 78 AI-EVDs among 64 patients were eligible. Thirteen AI-EVDs were excluded (5 not tested within 48 h and 8 not removed with aseptic techniques), resulting in 65 AI-EVDs included (56 patients) (Table 1). Five VRCs (9%) and two VRIs (4%) occurred (Table 1). *Staphylococcus* spp. was the main bacterial genus isolated from VRCs: two *Staphylococcus aureus*, two *S. epidermidis* and one *Pseudomonas aeruginosa*. VRIs were caused by *Citrobacter koseri* and *Enterobacter aerogenes*.

Among 65 AI-EVDs, 21 were tested with MSSA, 23 with MRSA and 21 with MRSE (Table 2).

Inhibition diameters

Inhibition diameters significantly decreased with the duration of CSF drainage for MRSE (both diameters, $P<0.001$) and MRSA (both diameters, $P<0.02$), but not for MSSA ($P>0.1$) (Figure 2). The activity dropped faster for the external side, with no inhibition as early as day 10 for some AI-EVDs, whatever the tested strain. When testing MSSA, no inhibition zone was observed (3 mm: the width of the EVD) for four external diameters of the AI-EVDs (19%) with a median drainage duration of 15 (12–18) days. Inhibition diameters

Mounier *et al.*

Table 2. Baseline characteristics among 65 removed AI-EVDs used for *in vitro* challenge with three different *Staphylococcus* strains

	MRSA (EVDs=23)	MRSE (EVDs = 21)	MSSA (EVDs=21)	P
Male, n (%)	11 (48)	14 (67)	9 (43)	0.37
Age (years), median (IQR)	55 (43.5–67.5)	52 (47–60)	60 (49–66)	0.90
Reason for admission, n (%)				0.38
subarachnoid haemorrhage	11 (48)	13 (62)	11 (52)	
traumatic brain injury	2 (9)	1 (5)	1 (5)	
intracerebral haemorrhage	3 (13)	1 (5)	7 (33)	
others	7 (30)	6 (29)	2 (10)	
WFNS score, n (%)				0.07
1–2	6 (55)	4 (31)	1 (9)	
3–5	5 (45)	9 (69)	10 (91)	
Initial GCS score, median (IQR)	10 (6–15)	9 (3–11)	6 (4–10)	0.17
SAPS II, median (IQR)	27 (17–41)	41 (29–55)	39 (18–48)	0.06
Extraneurological infections, n (%)	4 (17)	8 (38)	5 (24)	0.49
Antimicrobials prior to VRC, VRI or AI-EVD removal, n (%)	6 (26)	8 (38)	8 (38)	0.7
VRC, n (%)	2 (9)	0 (0)	3 (14)	1
VRI, n (%)	1 (4)	0 (0)	1 (5)	1
Duration of catheterization (days), median (IQR)	12 (7–19)	13 (2–18)	13 (8–15)	0.91
Overall volume of drained CSF (mL), median (IQR)	1068 (634–2517)	1774 (246–2358)	1103 (596–1668)	0.59
ICU length of stay (days), median (IQR)	16 (13–35)	18 (5–41)	14 (8–18)	0.40
GOSE (3 months), median (IQR)	4 (2–7)	3 (1–6)	4 (1–8)	0.83
Mortality (3 months), n (%)	5 (22)	8 (38)	6 (29)	0.20

GCS, Glasgow Coma Scale; GOSE, Glasgow Outcome Scale Extended; SAPS, Simplified Acute Physiology Score; WFNS, World Federation of Neurological Surgeons (only for patients with subarachnoid haemorrhage). Statistical analysis was done comparing the three groups.

significantly decreased with the overall volume of CSF drained for MRSE (both diameters, $P < 0.005$) and MRSA (external diameter, $P = 0.0005$), but not MSSA ($P > 0.1$) (Figure 3).

The antimicrobial activity dropped faster for the external side, with no inhibition as soon as 1500 mL of drained CSF for some AI-EVDs ($n = 4$), whatever the tested strain.

Of all AI-EVDs, we observed 15 external sides (23%) without an inhibition zone with a median drainage of 18 (15–25) days and a median volume of CSF drained of 2450 (1594–3246) mL.

Results of control experiments are shown in Table S2. When challenged with MSSA or MRSE, control AI-EVDs had both internal and external inhibition diameters ≥ 24 mm. Against MRSA, internal and external inhibition diameters were 16 and 15 mm, respectively.

Type of antimicrobial activity

As we observed similar results with experiments performed at 10^4 and 10^5 cfu/mL, we only provide results observed with 10^5 cfu/mL. AI-EVDs were constantly bacteriostatic against MSSA, whatever the duration of catheterization (Figure 4). Bactericidal activity was observed only against MRSA and disappeared after 10 days. Drainage duration was shorter for AI-EVDs with bactericidal activity as compared with those with bacteriostatic activity or no activity against MRSA ($P < 0.001$ and $P = 0.02$, respectively) (Figure S2).

AI-EVDs were constantly bacteriostatic against MSSA, whatever the amount of CSF flow (Figure 4). Bactericidal activity was observed only against MRSA and disappeared after 1500 mL of CSF

drained. The amount of CSF flow was lower for AI-EVDs with bactericidal activity as compared with those with bacteriostatic activity ($P = 0.03$) (Figure S2).

After performing broth media experiments, of the 35 randomly selected strains, 33 (94%) remained susceptible to rifampicin with an MIC measured by Etest ≤ 0.008 mg/L for all but one (0.047 mg/L). Only two strains (MRSE) became resistant to rifampicin with an MIC of 1.5 mg/L for the first strain and > 32 mg/L for the second strain. For the first strain, an EVD was used for 25 days and drained 2722 mL of CSF. The second was used for 12 days and drained 1605 mL of CSF. The two AI-EVDs presented weak activity with low inhibition zones of 15 mm/3 mm (internal/external) and 6 mm/3 mm, respectively. Both AI-EVDs were cloudy after 18 h of incubation, demonstrating the absence of inhibition.

Drug quantification

Results of each AI-EVD assayed were expressed as a percentage of the concentration found in the control AI-EVD (Figure 5). Eighteen of these AI-EVDs of the MSSA group (18/21, 86%) were assayed; the others could not be assayed because of excess blood in the AI-EVD. Clindamycin residual concentration was not correlated to catheterization duration or CSF volume drained. However, $< 20\%$ of initial concentration was recovered even after 5 days of AI-EVD dwelling. On the other hand, rifampicin showed a rapid and significant drop in concentration regarding both the duration and CSF flow ($P < 0.001$ and $P = 0.03$, respectively) (Figure 5). For nine AI-EVDs (50%), rifampicin concentration was lower than 1% of the

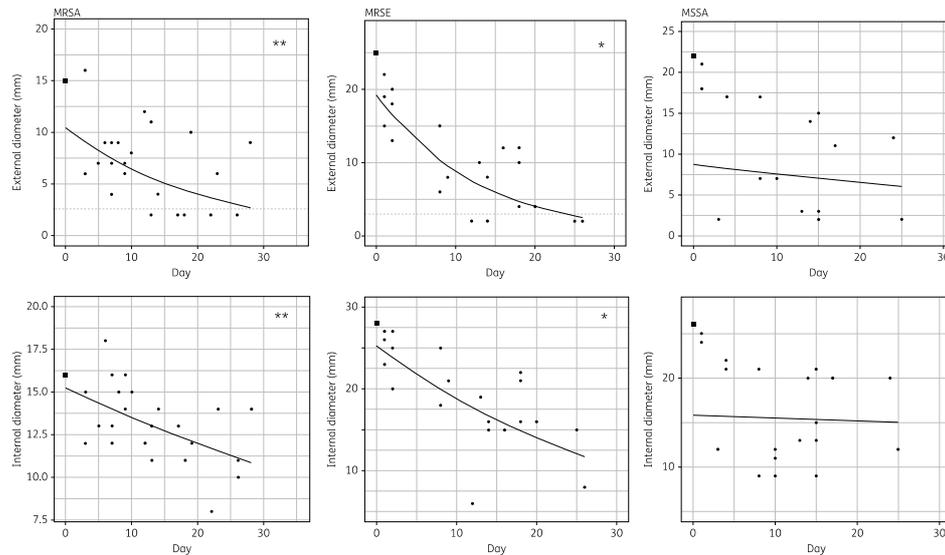


Figure 2. Evolution of inhibition diameters around the AI-EVD tip for each *Staphylococcus* strain, according to the duration of CSF drainage. A dotted line represents the absence of any inhibition zone. For MSSA, two points overlapped at day 15 and an external diameter of 3 mm. Controls are shown at day 0 (black squares). * $P < 0.001$ and ** $P < 0.02$.

initial concentration, their median length of catheterization was 17 (14–22) days and the median volume of CSF drained was 2160 (1381–3139) mL. Seven AI-EVDs had a clindamycin concentration below 5% of the initial concentration. Their median duration of catheterization was 17 days (16–19) and the median volume of CSF drained was 2160 (1890–3455) mL.

Discussion

We report, to the best of our knowledge, the first clinical study assessing the durability of antimicrobial activity of explanted Bactiseal™ EVDs and we observed that AI-EVD inhibition diameters significantly decreased according to duration and overall volume of CSF drained. The drop in activity was more important for the external side of the AI-EVD, thus explaining the possible colonization of bacteria belonging to the skin microbiota.⁷

Even if the decline of clindamycin concentration was not associated with catheterization duration or CSF volume drained, we observed that <20% of the initial concentration was recovered after a short duration (5 days) of AI-EVD dwelling. In addition, we observed a rapid and significant decline of rifampicin concentration. Against MSSA (the only clindamycin-susceptible strain), the remaining antimicrobial activity over time or CSF flow is probably explained by the persistent activity of at least one of these antibiotics. In contrast, against MRSE and MRSA, that are only rifampicin susceptible, the drop in rifampicin concentration was associated

with the quick loss of bactericidal effect and the absence of antimicrobial activity. Interpreting the constant bacteriostatic activity against MSSA is more difficult and might involve a possible antagonism when associating a bacteriostatic and a bactericidal antibiotic.²⁰

Similar findings were noticed in another study assessing the level of antimicrobial activity of 25 Bactiseal™ shunts explanted from 11 to 700 days post-implantation using a standardized clindamycin- and rifampicin-susceptible *S. aureus* culture plate. They observed that the antibiotic decline was not linear, with a quick drop (within 10 days) at ~50% of the initial activity and remaining at this level up to 120 days. No antimicrobial activity was detected after 127 days post-implantation.¹⁹ Unfortunately, colonization of the shunt was not reported.

Even if data are conflicting, clinical studies suggest that the risk of VRI increases with duration of catheterization.^{6,9–14} Among randomized controlled trials assessing the efficacy of AI-EVDs compared with uncoated EVDs, only one was in favour of AI-EVDs.^{3–5} This lack of clinical efficiency could be due to a rapid loss of antimicrobial activity of AI-EVDs, as observed in our study. In all the studies, VRI occurred at around day 10, suggesting that the initial antimicrobial activity of AI-EVDs is sufficient to prevent early colonization and subsequent EVD-related infections. Conversely, *in vitro* studies reported a longer duration of antimicrobial protection: all tested *Staphylococcus* strains failed to colonize the Bactiseal™ shunt, resulting in a protection lasting between 42 and

Downloaded from https://academic.oup.com/jac/advance-article-abstract/doi/10.1093/jac/dkz335/5549881 by guest on 16 August 2019

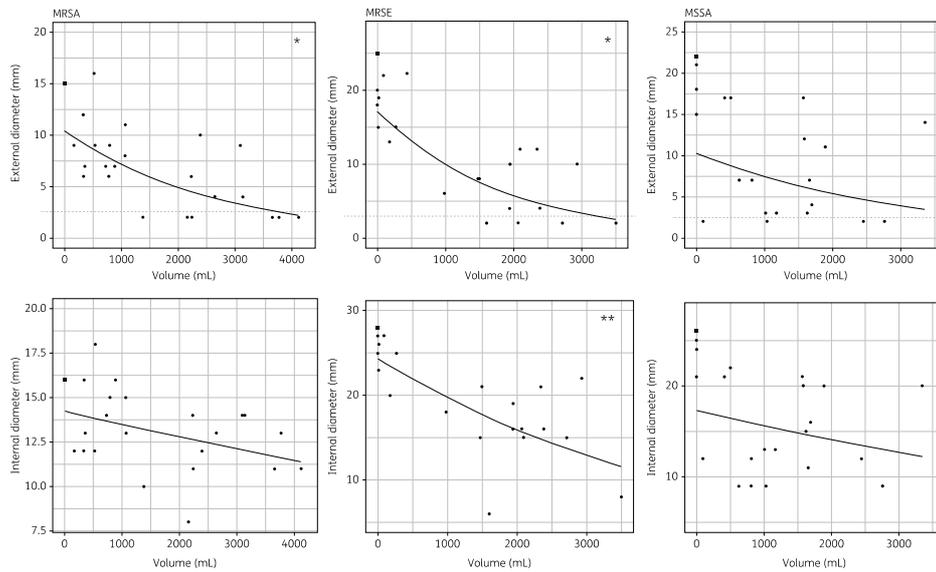


Figure 3. Evolution of inhibition diameters around the AI-EVD tip for each *Staphylococcus* strain, according to the volume of CSF drained. A dotted line represents the absence of any inhibition zone. Controls are shown at day 0 (black squares). * $P<0.001$ and ** $P=0.004$.

56 days.¹⁵ The experimental procedure probably explains this finding, as bacterial exposure of the AI-EVDs varied between 5 min and 1 h.^{15,16,21} The most important difference from our findings is that *in vitro* experiments mimic a brief bacterial exposure, as occurs during shunt insertion, but cannot assess the durability of antimicrobial activity.^{15,16,21} Indeed, one study assessing the *in vivo* formation of biofilm on impregnated (Bactiseal™) and non-impregnated EVDs demonstrated that culture-proven colonization occurred in 17% (3/18) and 64% (9/14) of EVDs, respectively ($P=0.07$). However, biofilms were found in 67% and 86% of EVDs, respectively, demonstrating that antimicrobial-impregnated EVDs could not avoid bacterial adherence and biofilm growth.²² The permanent exposure to skin bacteria of AI-EVDs,⁷ and as found in our study, the quick drop of bactericidal and bacteriostatic activity, could lead to an increase of biofilm formation with time. Taken together, these findings probably explain why MSSA was the main colonizer of AI-EVDs, despite a preserved activity of our AI-EVDs when tested *in vitro* at different inocula. Although VRCs were mostly caused by *Staphylococcus*, we observed that the two VRIs were only caused by Gram-negative bacteria. This striking result remains unexplained as none of these patients received antibiotics prior to VRI, and the duration of catheterization was within mean values. Transmission via the hands of healthcare workers remains a possibility.

Antimicrobials impregnating EVD shunts are chosen according to their molecular migration ability through cross-linked silicone elastomer.¹⁶ When CSF flows through the shunt, a slow diffusion

gradient is established that leads, after an initial peak release, to a low-level release.² Hence, duration of activity depends partly on CSF flow. Indeed, an *in vitro* study assessing fluid sampling from EVDs containing minocycline and rifampicin filled with saline reported that both antibiotics were found in sample fluid.²³ They suggested that a significant amount of antimicrobial agent elutes from catheters because an antibiotic effect was seen against *S. epidermidis* cultures, even after a brief (≤ 3 s) contact with the shunt.²³ Another *in vitro* study found an important antibiotic concentration (rifampicin, clindamycin and minocycline) released by the catheter in saline within the first 24 h.² These data suggest that antimicrobial concentration and activity fall according to the flow crossing the AI-EVD, even if no study experimentally assessed the antimicrobial elution or activity according to different rates of AI-EVD flow.¹⁹

A dual-drug regimen is used in these catheters to reduce the risk of selecting bacterial resistance, particularly with respect to rifampicin.^{24,25} We found no resistant organisms among colonized AI-EVDs. Resistant organisms were rarely found (6%) during our *in vitro* experiments and only in those which were solely susceptible to rifampicin.

The main limitation of our study is that we tested a single brand of AI-EVD (Bactiseal™ EVD); however, this brand is the most studied in the literature. Furthermore, AI-EVDs were consecutively challenged with three different *Staphylococcus* strains, due to technical constraints. This lack of randomization might have induced minor bias. Lastly, as we only

Durability of antimicrobial activity of external ventricular drains

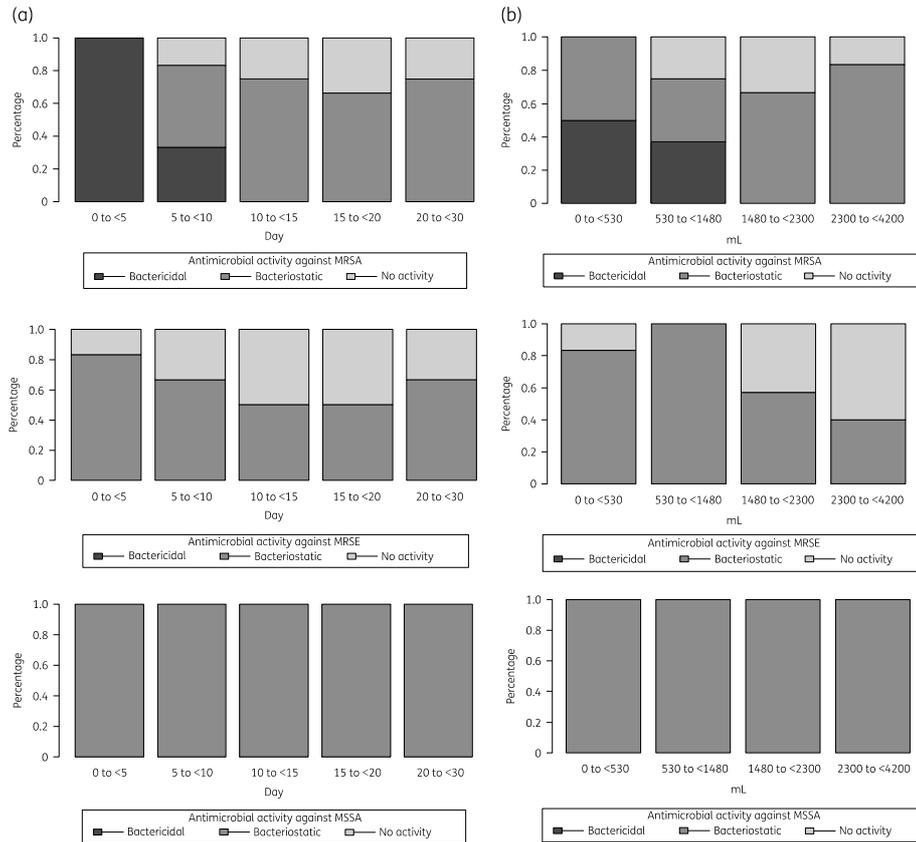


Figure 4. Type of antimicrobial activity of the AI-EVD tip against three *Staphylococcus* strains as a function of the duration of CSF drainage (days) (a) or the volume of CSF drained (b). MSSA was susceptible to clindamycin and rifampicin. MRSA and MRSE were susceptible to rifampicin only.

performed MS during one time frame (MSSA), this may have had an impact on the results of drug quantification experiments.

In conclusion, we reported a significant drop in AI-EVD antimicrobial activity associated with the duration (>10 days) of catheterization and the CSF flow (>1500 mL). Unlike clindamycin, rifampicin showed a rapid concentration drop in AI-EVDs. As a consequence, the antimicrobial impregnation did not prevent the colonization of the AI-EVDs by susceptible strains.

Acknowledgements

A part of the contents of the manuscript has been presented at the RICAI Congress, Paris, France, 2017 (Abstract CO-074).

Funding

Support was provided solely from institutional and/or departmental sources.

Transparency declarations

None to declare.

Supplementary data

Supplementary Methods, Figures S1 and S2 and Tables S1 and S2 are available as Supplementary data at JAC Online.

Downloaded from https://academic.oup.com/jac/advance-article-abstract/doi/10.1093/jac/dkz335/5549881 by guest on 16 August 2019

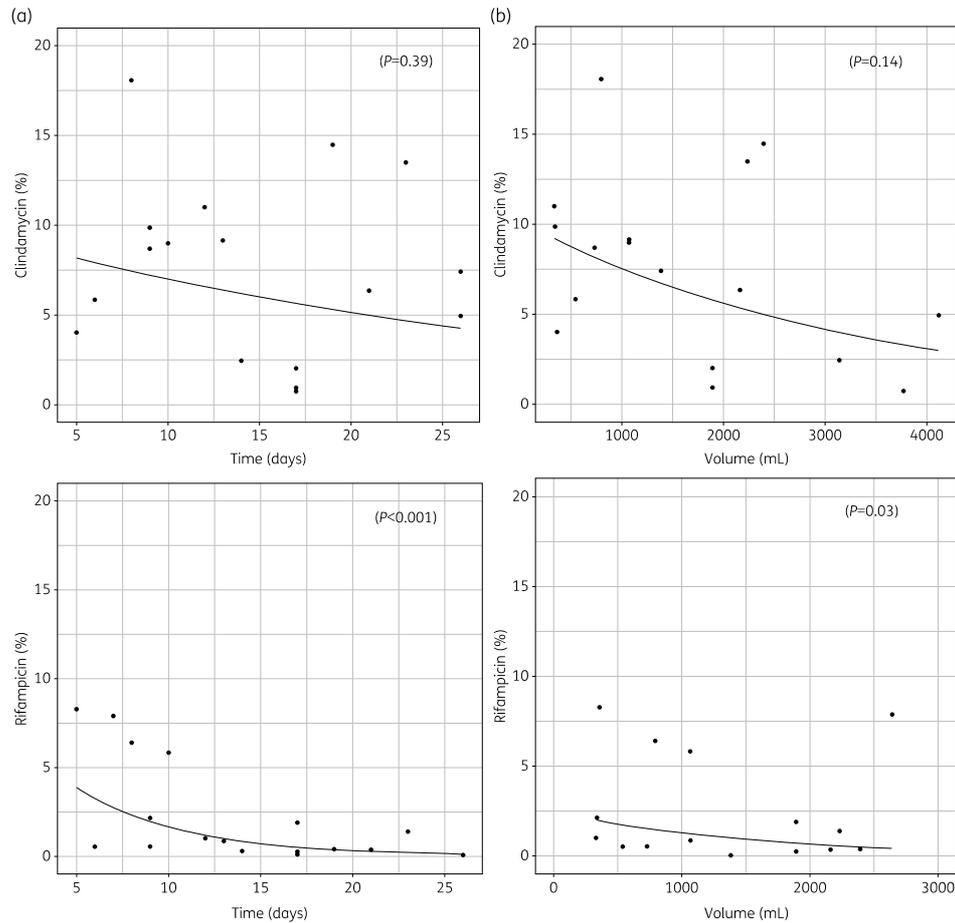


Figure 5. Evolution of antimicrobial concentration of the AI-EVD tip, assayed with MS, as a function of the duration of CSF drainage (a) or the volume of CSF drained (b). Results are expressed as the percentage of the concentration found in the AI-EVD control.

References

1 Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A et al. 2017 Infectious Diseases Society of America's clinical practice guidelines for healthcare-associated ventriculitis and meningitis. *Clin Infect Dis* 2017; doi:10.1093/cid/ciw861.
 2 Bayston R, Ashraf W, Ortori C. Does release of antimicrobial agents from impregnated external ventricular drainage catheters affect the diagnosis of ventriculitis? *J Neurosurg* 2016; **124**: 375-81.

3 Zabramski JM, Whiting D, Darouiche RO et al. Efficacy of antimicrobial-impregnated external ventricular drain catheters: a prospective, randomized, controlled trial. *J Neurosurg* 2003; **98**: 725-30.
 4 Pople I, Poon W, Assaker R et al. Comparison of infection rate with the use of antibiotic-impregnated vs standard extraventricular drainage devices: a prospective, randomized controlled trial. *Neurosurgery* 2012; **71**: 6-13.
 5 Wong GKC, Ip M, Poon WS et al. Antibiotics-impregnated ventricular catheter versus systemic antibiotics for prevention of nosocomial CSF and non-

Downloaded from <https://academic.oup.com/jac/advance-article-abstract/doi/10.1093/jac/dkz335/5549881> by guest on 16 August 2019

Durability of antimicrobial activity of external ventricular drains

- CSF infections: a prospective randomised clinical trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2010; **81**: 1064–7.
- 6** Mounier R, Lobo D, Cook F *et al.* Clinical, biological, and microbiological pattern associated with ventriculostomy-related infection: a retrospective longitudinal study. *Acta Neurochir (Wien)* 2015; **157**: 2209–17.
- 7** Mounier R, Lobo D, Cook F *et al.* From the skin to the brain: pathophysiology of colonization and infection of external ventricular drain, a prospective observational study. *PLoS One* 2015; **10**: e0142320.
- 8** Mounier R, Birnbaum R, Cook F *et al.* Natural history of ventriculostomy-related infection under appropriate treatment and risk factors of poor outcome: a retrospective study. *J Neurosurg* 2018; doi:10.3171/2018.6.JNS18853.
- 9** Lozier AP, Sciocca RR, Romagnoli MF *et al.* Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery* 2002; **51**: 170–8.
- 10** Mayhall CG, Archer NH, Lamb VA *et al.* A prospective epidemiologic study. Ventriculostomy-related infections. *N Engl J Med* 1984; **310**: 553–9.
- 11** Schultz M, Moore K, Foote AW. Bacterial ventriculitis and duration of ventriculostomy catheter insertion. *J Neurosci Nurs* 1993; **25**: 158–64.
- 12** Holloway KL, Barnes T, Choi S *et al.* Ventriculostomy infections: the effect of monitoring duration and catheter exchange in 584 patients. *J Neurosurg* 1996; **85**: 419–24.
- 13** Lyke KE, Obasanjo OO, Williams MA *et al.* Ventriculitis complicating use of intraventricular catheters in adult neurosurgical patients. *Clin Infect Dis* 2001; **33**: 2028–33.
- 14** Couffin S, Lobo D, Cook F *et al.* Coagulase-negative staphylococci are associated to the mild inflammatory pattern of healthcare-associated meningitis: a retrospective study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018; **37**: 755–63.
- 15** Bayston R, Lambert E. Duration of protective activity of cerebrospinal fluid shunt catheters impregnated with antimicrobial agents to prevent bacterial catheter-related infection. *J Neurosurg* 1997; **87**: 247–51.
- 16** Bayston R, Grove N, Siegel J *et al.* Prevention of hydrocephalus shunt catheter colonisation in vitro by impregnation with antimicrobials. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1989; **52**: 605–9.
- 17** Bayston R. Duration of in vivo antimicrobial activity of antibiotic-impregnated cerebrospinal fluid catheters. *Neurosurgery* 2007; **60**: E208; author reply E208.
- 18** Bayston R, Vera L, Ashraf W. Activity of an antimicrobial hydrocephalus shunt catheter against *Propionibacterium acnes*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**: 5082–5.
- 19** Pattavilakom A, Kotasnas D, Korman TM *et al.* Duration of in vivo antimicrobial activity of antibiotic-impregnated cerebrospinal fluid catheters. *Neurosurgery* 2006; **58**: 930–5.
- 20** Ocampo PS, Lázár V, Papp B *et al.* Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; **58**: 4573–82.
- 21** Bayston R, Ashraf W, Bhundia C. Mode of action of an antimicrobial biomaterial for use in hydrocephalus shunts. *J Antimicrob Chemother* 2004; **53**: 778–82.
- 22** Ramírez P, Gordón M, Soriano A *et al.* Assessment of the in vivo formation of biofilm on external ventricular drainages. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; **32**: 1437–43.
- 23** Stevens EA, Palavecino E, Sherertz RJ *et al.* Effects of antibiotic-impregnated external ventricular drains on bacterial culture results: an in vitro analysis. *J Neurosurg* 2010; **113**: 86–92.
- 24** Goldstein BP. Resistance to rifampicin: a review. *J Antibiob* 2014; **67**: 625–30.
- 25** Archer GL, Johnston JL, Vazquez GJ *et al.* Efficacy of antibiotic combinations including rifampin against methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*: in vitro and in vivo studies. *Rev Infect Dis* 1983; **5** Suppl 3: S538–42.

Downloaded from https://academic.oup.com/jac/advance-article-abstract/doi/10.1093/jac/dkz335/5549881 by guest on 16 August 2019

Question 4 : Analyse systématique et prospective de la colonisation et des infections liées aux capteurs de PIC.

Le monitoring continu de la PIC a été associé à une amélioration du pronostic chez le patient traumatisé crânien grave (45). Initialement réalisé grâce à la DVE, il est maintenant largement réalisé à l'aide de fibres optiques du fait de leur plus faible risque de complications (47–49). Les capteurs de PIC traversent les différentes barrières protégeant le cerveau (peau, os, méninges et la BHE), exposant ainsi théoriquement celui-ci à une colonisation bactérienne et potentiellement à l'infection. Par exemple, les DVE qui exposent le cerveau de la même manière, même si la localisation de l'extrémité de celle-ci se trouve dans les ventricules et drainent le LCR, sont associées à 10% d'infections (4). Il a été démontré que les bactéries progressent principalement sous la forme de biofilm le long de la DVE, de la peau jusqu'au cerveau (4,11,12).

De manière surprenante, les CPIC ne sont responsables d'infection que de manière exceptionnelle (49). Dans la plus large série publiée, aucun des 1000 patients consécutifs n'a développé une infection significative liée au CPIC (50). Certains auteurs rapportent des infections. Cependant, soit elles surviennent chez des patients porteurs de DVE, comme Martínez-Mañas et *al.* qui rapportent 2,9% méningites sur 101 patients (48), soit les infections sont limitées à la peau (0 à 2,4%) ou à l'os en cas de chirurgie associée (47,48,50,51). Ainsi, globalement, devant l'absence de risque infectieux, il n'est pas recommandé d'administrer une antibioprofylaxie lors de la pose ou de l'exposition aux CPIC (52).

Les études plus récentes se sont penchées sur la colonisation. Elles rapportent des cultures positives du CPIC dans 8,5 à 17% des cas, principalement avec des bactéries à Gram positif (48,50,51,53). Aucune ne rapporte d'infection. Les cultures positives de DVE sont positives quant à elles, dans 10 à 36% des cas (89,123,145).

Considérant les similarités entre les DVE et les CPIC, la différence d'incidence de colonisation et surtout de colonisation reste inexpliquée. Aussi, nous avons voulu évaluer prospectivement l'incidence de la colonisation des CPIC, et ce avec la culture microbiologique, la microscopie électronique à balayage (MEB) et le séquençage d'ADN par Next Generation Sequencing (NGS).

Sur la période de mars 2017 à février 2108, 53 CPIC (53 patients) ont été inclus. La médiane de monitoring est de 4 [3-7] jours. Le taux de mortalité est de 43% (23/53). La technique de MEB, le séquençage et la culture furent utilisées pour 91%, 79% et 72% des CPIC, et 28 CPIC furent analysés avec les 3 techniques.

Aucune infection significative n'a été retrouvée. Cinq pour cent des CPIC poussent en culture (*S. epidermidis* et *Bacillus* spp.). Les NGS et le MEB sont positifs dans tous les cas. Du biofilm mature a été détecté sur 73% des CPIC. Dix OTUs [8-12] en médiane colonisent les CPIC, et les espèces retrouvées sont majoritairement des espèces environnementales. Certaines bactéries, cliniquement pertinentes, ont été largement retrouvées, comme *Stenotrophomonas* spp. et *Serratia* spp..

Concernant la probabilité de trouver du biofilm mature, aucune association n'a été retrouvée, ni la durée de monitoring, ni l'administration d'un traitement systémique antibiotique.

Sur l'ensemble des CPIC, 91 OTUs ont été retrouvées. Seules 11 ont un nombre de séquence supérieur à 1%. Nous avons défini la « richness » du système (représentant la diversité en nombre d'espèce d'un système) comme le nombre d'espèce dont le nombre de séquence dépasse 1% du nombre de séquence totale. La « richness » du système est donc de 11. Aucun facteur n'a été associé à une modification de « la richness ». Une autre façon d'évaluer l'alpha-diversité, est l'« evenness », qui lui intègre le poids du nombre de séquence relative à une espèce et permet ainsi de mettre en évidence des déséquilibres, des modifications d'écosystème. Plusieurs indices ont été testés, avec des résultats semblables, nous avons donc gardé le Simpson, car le plus utilisé dans la littérature. De manière extrêmement intéressante, l'« evenness » a été significativement modifiée par l'antibioprophylaxie peropératoire et l'antibiothérapie ($p=0,05$ et $0,02$ respectivement). Ainsi, les antibiotiques diminuent l'alpha-diversité et induisent un déséquilibre (dysbiose) de la communauté bactérienne. L'antibioprophylaxie peropératoire diminue aussi la bêta-diversité ($p=0,03$).

Nos résultats montrent ainsi une colonisation bactérienne dans tous les prélèvements avec des techniques plus sensibles que la culture. Cependant aucune infection n'est retrouvée.

La différence avec les DVE est frappante. Il semblerait que celles-ci soient aussi toutes colonisées (données non montrées, en cours d'évaluation ; 120 DVE traitées avec les mêmes techniques) (169). Les trois différences principales sont : i) le drainage vs pas de drainage liquidien, ii) la taille du dispositif, iii) la durée de monitoring. Pour ce qui est du drainage, l'infection survenant principalement en suivant la paroi externe, son rôle doit être mineur (89). Cependant, ne la mésestimons pas non plus, car la DVE se trouvant dans le ventricule, il existe souvent des fuites de LCR autour de la DVE, fuites qui sont constamment retrouvées comme facteurs de risque d'ILD (89,138,147). On ne note jamais de fuites de LCR autour d'un CPIC.

La différence de taille du dispositif est réelle, 3 mm de largeur pour une DVE vs 1 mm pour un CPIC. Cependant, aucune explication plausible nous paraît associée à ce facteur.

La durée d'exposition est une piste intéressante. Les DVE sont laissées en place plus longtemps (≥ 10 jours) que les CPIC (≤ 10 jours) (23,25,26,89,146,161,190). Concernant les DVE, le risque infectieux associé augmente dès le 5^e jour, cependant la littérature rapporte des temps d'exposition au CPIC > 5 jours (19,23,26,27,135,190).

L'absence d'infection pourrait finalement être le fait de la diversité microbienne. Premièrement on retrouve majoritairement des bactéries environnementales. Une étude clinique montre que la présence d'un pathogène au site d'insertion cutané de la DVE est un fort facteur de risque infectieux (OR: 11.8, $p=0.002$) (89). Les patients sans infection ne présentaient pas un site stérile pour autant, mais globalement colonisé à *S. epidermidis*. Deuxièmement, la richesse en espèces bactériennes semble importante. Stressman *et al.* étudiant les chambres implantables, retrouvaient un nombre d'OTUs significativement ($p=0.0002$) plus importants dans les chambres non associées à une infection (5.4 OTUs/chambre) que dans les chambres symptomatiques (2.5 OTUs/chambre) (206). Nous retrouvons en médiane plus d'OTUs par échantillons (10 [8-12]), et aucun facteur n'est associé à une baisse de la richesse de la communauté bactérienne. Cependant, l'antibiothérapie est associée à une modification de l'éventail. On observe un déséquilibre de la communauté bactérienne ayant reçu des antibiotiques, qui pourrait rappeler la dysbiose observé dans d'autres études (89). Et ici le facteur temps pourrait se surajouter. La dysbiose

Résultats

pourrait se majorer au cours du temps, conduisant à une possibilité d'infection, mais seulement au bout d'un certain temps.

Nous avons effectué les mêmes recherches sur une plus grande cohorte de DVE (n= 120), avec l'avantage d'observer quelques infections. Ainsi, l'alpha et la bêta-diversité pourront être analysés avec plus d'intérêt. Les données sont en cours d'analyse.

Travail soumis à Anesthesiology

Les supplementary data de l'article se trouve en annexe 2

Assessment of intracranial pressure transducer bacterial colonization and subsequent infection: a prospective study

Roman Mounier^{1,2}, Natacha Kapandji¹, Guillaume Gricourt³, Christophe Rodriguez³, Paul-Louis Woerther⁴, Stéphanie Pons¹, Chakib Djedat⁵, Vincent Mellano¹, David Lobo¹, Bouziane Aït-Mamar¹, Paul-Henri Jost¹, Vanessa Demontant³, Biba Nebbad⁴, Ryad Djedid⁶, Mathieu Martin¹, Fabrice Cook¹, Gilles Dhonneur¹, David Lebeaux⁷.

¹ Department of Anesthesia and Surgical Intensive Care, Henri Mondor University Hospital of Paris, Paris XII school of medicine, 94000 Créteil, France.

² Groupe de Recherche Clinique IMPACT, Institut Mondor de la Recherche Biomédicale, Université Paris-Est Créteil, France.

³ Department of Microbiology, Platform NGS Henri Mondor University Hospital of Paris, Institut Mondor de la Recherche Biomédicale, Paris XII school of medicine, 94000 Créteil, France.

⁴ Department of Microbiology, Henri Mondor University Hospital Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (APHP), University Paris-Est-Créteil (UPEC), France.

⁵ Plateau technique de microscopie électronique, MET, UMR7245, Département AVIV, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France.

⁶ Department of neurosurgery, Henri Mondor University Hospital of Paris, Paris XII school of medicine, 94000 Créteil, France.

⁷ Unité Mobile d'Infectiologie, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Université de Paris, Paris, France.

Correspondance: Roman Mounier. Anesthesia and Surgical Intensive Care Department, Henri Mondor University Hospital, 51, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94000 Créteil, France.

Email: roman.mounier@laposte.net

Phone: +33 1 49 81 23 81

Fax: +33 1 49 81 29 88

Funding: support was provided solely from institutional and/or departmental sources.

Conflicts of interest: none

Abstract

Objective: Intraparenchymal intracranial pressure transducer (ICPT)-related cerebral infections are exceptional although the frequency of culture-positive tips is ~15%. Our aim was to assess the incidence of ICPT-related infections and tip colonization using culture, molecular biology and electron microscopy.

Methods: all consecutive ICPTs inserted between March 2017 and February 2018 in a neurosurgical intensive care unit were prospectively included in this study. ICPTs-related infections were defined as brain abscess or meningitis. Colonization was assessed by culture, electron microscopy and Next Generation Sequencing of the ICPTs after removal. Mature biofilm was defined by bacteria encapsulated in a thick extracellular matrix. Alpha-diversity was assessed by Chao1 and Simpson diversity index.

Results: Fifty-three ICPTs (53 patients) were included. Patients were monitored for 4 [3-7] days with a median Glasgow Coma Scale score of 7 [4-8] at admission. ICU mortality rate was 43% (23/53). Electron microscopy, microbial culture and sequencing were performed for 91%, 79% and 72% of ICPTs, respectively and 28 ICPTs (53%) were assayed with the 3 techniques. No patients developed ICPT-related infection. Five percent of ICPTs were culture-positive, while all ICPTs were colonized using other methods. Mature biofilm was observed in 73% of ICPTs. With NGS, a median of 10 [8-12] operational taxonomic units were identified for each ICPT. Many of these genus were of environmental origin. No significant association was found between biofilm maturity and intravenous antimicrobial treatment or monitoring duration. Antimicrobial treatment was associated with a decreased alpha and beta-diversity ($p=0.01$).

Conclusions: We observed no ICPT-related cerebral infection and tip culture was rarely positive while colonization was almost constant using NGS and SEM. Mature biofilm was the main lifestyle for bacteria on ICPTs.

Key words: biofilm; colonization; device-related infection; intracranial pressure monitoring; DNA sequencing.

INTRODUCTION

The advent of continuous intracranial pressure (ICP) monitoring has been associated with improved outcomes in traumatic brain injury¹. Intraventricular pressure is considered the gold standard for ICP monitoring², and despite the lack of specific guidelines, intraparenchymal fiberoptic devices are now widely used due to their low frequency of complications³⁻⁵. ICP transducers (ICPT) cross the different brain-protecting barriers (the scalp and the skull, the meninges and the blood brain barrier) and should theoretically expose the brain to bacterial contamination and subsequent infection. For instance, the use of external ventricular drains (EVD) is associated with infections in 10% of the cases⁶ and it has been previously demonstrated that bacteria move, mainly as biofilms, along the EVD, from the skin to the brain⁶⁻⁸.

Surprisingly, intraparenchymal fiberoptic ICPT are exceptionally responsible for cerebral infections⁵. In the largest published series, none of 1000 consecutive patients experienced clinically significant intraparenchymal ICPT-related infections⁹. Some authors reported infectious complications limited to superficial skin (0 to 2.4%) or bone, but no parenchymal infections or meningitis^{3,4,9,10}. Among 101 patients with ICPT, Martínez-Mañas et al. reported 2.9% meningitis, but infections were considered to be related to EVD⁴. Recent studies reported culture-positive tips from 8.5 to 17% for ICPTs, mainly with Gram positive bacteria^{4,9-11}, but none was complicated with parenchymal infection. Considering the numerous anatomic similarities between ICPT and EVD, such important differences in terms of frequency of microbial colonization and related infections remain unexplained. We aimed to prospectively assess the frequency of ICPT bacterial colonization and related infections, using not only bacterial culture but also scanning electron microscopy and next-generation sequencing.

METHODS

Study setting and population

We conducted a prospective study between March 2017 and February 2018, in a neurosurgical intensive care unit (ICU) of a tertiary teaching hospital. All consecutive ICPTs (Sophysa, Orsay, France) were included, except those indicated for the management of central nervous system infection or inserted before admission. Exclusion criteria were ICPTs not removed in aseptic condition. The Institutional Ethical Committee approved the study (CEADM Claude Galien).

Definitions

- Colonization was defined as positive bacterial culture (see below) of the ICPT tip without clinical infection. Culture positivity was sufficient to define colonization as no threshold has been proposed in the literature, so far ^{4,9-11}.
- Infectious meningitis was defined as a positive CSF culture with altered CSF findings (pleocytosis, elevated protein levels and decreased glucose levels).
- ICPT related-infection was defined as an infectious meningitis or brain abscess, with positive CSF or abscess sample culture with the same microbial strain (same species and same antibiotic susceptibility) than found in culture of the ICPT tip.

Patients' management

Patients admitted for traumatic brain injury (TBI) in our center all received initial resuscitation followed by whole-body CT scan. Patients with severe TBI (GCS \leq 8) benefited from ICP monitoring in accordance with international recommendations ¹ or in case of emergency extracranial surgery ¹².

ICPT was inserted under general anesthesia in operating room (OR) or at the bedside in ICU. Patient's hair was clipped, and skin was scrubbed gently for 8-10 min using a 10% povidone-iodine solution diluted 50:50 with water. The area was then dried with a sterile towel and washed a second time with 10% povidone-iodine solution. No antibiotic prophylaxis was administered for ICPT placement but could have been used if indicated for surgery.

Our procedures impose that ICPT insertion sites were cleaned (povidone-iodine procedure) at bedside and the dressing changed every 48 hours, unless soiled. During procedure, ICU nurse, wearing hair cap and face mask, had to remove the dressing with sterile gloves, put on right after alcohol-based hand rubbing. The site was inspected for CSF leakage or local signs of infection. If hair grew, nurse clipped the surrounding skin area. After a new round of alcohol-based hand rubbing and sterile glove exchange, a sterile gauze was wrapped at the base of the bolt (**Figure S1**), and another one was used to wind the ICPT cable. After a tightly occlusive sterile dressing application, the system remained entirely closed.

When ICP monitoring was no longer clinically indicated, ICPTs were aseptically removed, and 3 portions of 0.5 cm of the intraparenchymal tip were cut (**Figure 1**). The first was sent to the clinical microbiology laboratory for culture. The second was immediately fixed in a mixture of 4 % paraformaldehyde-2.5 % glutaraldehyde-0.1% picric acid in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) for 1 h at room temperature, and then maintained at 4 °C until scanning electron microscopy (SEM) examination was performed. The third was stored at -80°C for later analysis with Next Generation Sequencing.

If cerebrospinal fluid leaked after removing the device, a suture was performed.

CT scans were performed at admission, and at any time if clinically relevant. CT scans were performed after the removal of the monitor, and at least once at the discharge of the ICU, and once at the discharge of neurosurgery unit. Other CT scans were performed at 3 and 6 months, for the following by the neurosurgeon. These CT scans make it possible to rule out evidence of infection.

Standard bacteriological procedure

After reception, the first ICPT tip section was vortexed during 10 seconds in 1 mL of sterile saline (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France). Hundred microliters of the obtained dilution were plated on both blood and Polivitex agar plates with the help of the WASP automatic system (Wasp, Beckman Coulter, Villepinte, France) and incubated at 35°C in aerobic and in 5% CO₂ atmospheres respectively, for a total of 48 hours. Cultures were observed at 24 and 48 hours. When positive, identification was performed using the Andromas MALDI-TOF system (Andromas, Beckman Coulter, Villepinte, France). Antibiotic susceptibility testing was performed using the WalkAway microdilution automatic system (Beckman Coulter, Villepinte, France) for species belonging to *Staphylococcus* genus. Agar diffusion method was performed for all other species and the results were interpreted according to the CA-SFM–EUCAST 2017 recommendations (www.sfm-microbiologie.org).

Scanning electron microscopy (SEM) examination

Samples were washed during 30 min in 1 mL of Sørensen's phosphate buffer then rinsed with distilled water and dehydrated with crescent ethanol concentrations and dried with liquid CO₂ (without critical-point drying). After one night at room temperature, sample was coated with gold in Jeol FJC-1200 sputter coater, and examined under Hitachi SU 3500. A

control examination was performed using a new ICPT tip (**Figure 2A**). SEM pictures were divided in:

- Isolated bacteria (**Figure 2B**): defined as attached bacteria without matrix;
- Adhesion phase (**Figure 2C and D**): defined as attached bacteria in one or more layers, with few extracellular matrix;
- Mature biofilm (**Figure 2E**): defined as bacteria encapsulated in a thick extracellular matrix.
- On a SEM picture, several phenotypes could be observed such as the association of isolated bacteria and mature biofilm (**Figure 2F**). In that case, ICPTs were classified in the category of most advanced bacterial lifestyle.

SEM pictures were independently classified by two physicians experienced in SEM and confirmed by a third expert in case of conflicting results.

Next Generation Sequencing (NGS)

Microbial genomic material of one section of each catheter and of a control (new ICPT), as well as of a negative control of water milliQ, was extracted following a pre-extraction protocol based on a bead-beating disruption of the biofilm and bacteria in a lysis buffer. Then, pre-extract materials were extracted using the DSP DNA Midi Kit with QIA Symphony instrument (Qiagen, Hilden, Germany) following the provider's instructions.

Then, extracts were library prepared following the "16S Metagenomic Sequencing Library Preparation" protocol

(https://support.illumina.com/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf) (Illumina, San Diego, California, USA).

Universal primers used to amplify the bacterial 16S rRNA gene (loop V3-V4) were 341F and

785R (**Table S1**). Briefly, the V3-V4 loop of the 16S ribosomal RNA gene was amplified by PCR, tagged with Illumina Indexes, purified using AMPure XP beads (Beckman Coulter, Brea, California, USA), quality checked by Agilent D1000 ScreenTape on TapeStation2000 (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) and dosed using Quant-iT™ dsDNA Assay Kit, high sensitivity (ThermoFisher, Waltham, Massachusetts, USA) on Mithras LB940 (Berthold, Bad Wildbad, Germany). Sequencing was done using MiSeq Reagent Kit v3 (600-cycle) on MiSeq sequencer (Illumina, San Diego, California, USA) with an objective of 30000 sequences per sample. A new ICPT tip was used as a negative control.

Several steps were conducted to perform bioinformatic analysis: *i*) sequences with low quality were trimmed by Sickle (v1.33)¹³ with default parameters ; *ii*) host contamination was removed with BWA (v0.7.15)¹⁴ Samtools (v1.9)¹⁵ ; *iii*) merging and filtering chimeras without denoising were performed with Dada2¹⁶, included in Qiime software (v2018.4); *iv*) Blast+¹⁷ and SILVA database (release 128, version 99)¹⁸ were used to annotate sequences. Lastly, Mafft¹⁹ aligned sequences and phylogenetic trees were built with FastTree²⁰ to calculate diversity metrics.

Microbiome composition was analyzed with respect to **alpha** , beta diversity and diversity differential abundance of Operational Taxonomic Units (OTUs) between samples. Alpha-diversity was assessed using quantitative and qualitative approaches by Chao1 (richness) and Simpson (evenness) indexes, respectively, as previously described²¹. We also used the PielouE index to measure Evenness. Relative frequency was defined both at the phylum or genus/OTU levels as the frequency of each clone relative to the number of total clones. This relative frequency was studied for each individual ICPT but also among the total clone library of the entire cohort of removed ICPT.

Beta diversity was studied by Jaccard dissimilarity and weighted Unifrac distance²².

Commentaire [D1]: J'ai essayé de simplifier et de reformuler cette partie encadrée que: je n'arrivais pas à comprendre.

Vérifie que je n'ai pas altéré le sens puis je te conseille de te poser 5 minutes avec Paul-Louis pour vérifier qu'on a pas écrit de conneries

Commentaire [rm2]: Ben je crois que Paul-louis il n'y connait pas plus dans le domaine, c pas faute de lui avoir demander

Commentaire [rm3]: Relative frequency c bien ce qu'on a mis L'ajout « differential abundance » correspond à (guillaume :) Bonjour Roman, L'expression différentielle entre les OTUs démarre avec un comptage d'OTUs et normalise avec différents critères (Log, échantillons) qui ne correspond pas à un pourcentage. C'est complémentaire par rapport au travail et aux figures réalisés.

Samples of used reagent, materials, blanks (water used as the template in the procedure) and a control ICPT as procedure controls were taken and also submitted to 16S rRNA sequencing for species identification, to determine potential sources of bacterial contamination.

Statistical analysis

Qualitative data were expressed as incidence and percentage and quantitative data as median and interquartile distance. Categorical data were compared using a two-way Fisher exact test or a Chi2 test with a Pearson correction based on the number of groups. Quantitative data were compared by Mann-Whitney-Wilcoxon U-test or Kruskal-Wallis test as a function of the number of groups. PERMANOVA test was used to compare beta diversity between groups. A p value ≤ 0.05 was considered significant. Statistical analyzes were performed using JMP® 14.1.0 and Qiime® (v2018.4.0) software for diversity analyzes. The OTUs differential abundance was performed with phyloseq (v1.26.1) and DESeq2 (v1.22.2) packages in R software (v3.5.0) to fit generalized linear models of abundance based on the negative binomial distribution. Candidate OTUs with adjusted p-value < 0.01 were validated as being differentially abundant between groups if the OTU was not driven by a single sample or an alone sample with a number of raw read count above $> 300\ 000$.

Results

During study period, 69 ICPTs were used in 67 adult patients (2 patients had 2 consecutive ICPT). Of these, 14 were excluded due to a removal in non-aseptic condition, and 2 were not sent to the laboratory when removed at OR. Fifty-three ICPT in 53 patients were finally included. Baseline characteristics of patients and ICPT are listed in **Table 1**. Patients were mostly men admitted for polytrauma, presenting with a median Glasgow Coma Scale (GCS) of 7 [4-8]. ICPTs were mainly inserted in ICU, and patients were monitored for 4 [3-7] days. Median ICU length of stay was 14 [7-40] days and in-ICU mortality was 43%.

Infection

No patient developed ICPT-related infection nor cutaneous infection at the site of bolt insertion. Over the 16 patients with neurosurgical intervention in emergency, two developed a surgical site infection: one bone flap infection and one superficial surgical site infection. Twelve patients (23%) received antimicrobial treatment for extraneurological infection during their ICU stay (**Table 1**).

Colonization

Microbial culture, SEM, and NGS were performed for 79%, 91%, and 72% of ICPT, respectively and 28 ICPTs (53%) were assayed with the 3 techniques.

Microbiological methods. Over the 42 ICPTs cultured, only 2 (5%) were colonized, both with *S. epidermidis* and one with *Bacillus* spp. These 2 ICPTs were not studied by NGS but mature biofilm was observed for both of them with SEM (**Figure S2**).

Scanning electron microscopy. All SEM investigations of ICPTs showed bacteria (48/48, 100%). Isolated bacteria were observed on 33/48 (70%) ICPTs, adhesion phase on 37/48 (78%), and mature biofilm on 35/48 (73%) ICPTs. Thirteen (25%) ICPTs showed isolated bacteria and adhesion phase without mature biofilm (**Figure S3**). A single (2%) ICPT showed only isolated bacteria. No significant association was found between the presence of mature biofilm and intravenous antimicrobial treatment or monitoring duration (**Table 2**).

Next generation sequencing. The median number of raw reads per sample was 37933 [25134-85695]. After trimming and host contamination removal, the median number of reads per sample was 10604 [4378-36861]. The rate of identified OTUs was 99,87% [98,25 – 100%]. 16S rRNA-based molecular analysis detected bacterial DNA in all ICPT (100%).

Proteobacteria was the main phylum, identified on all ICPT, and overall represented 80% of all reads, followed by *Actinobacteria* found on 79% (30/38) of ICPTs (**Figure S4**). *Firmicutes* were present on 23/38 samples (61%), and *Bacteroidetes* on 6/38 samples (16%).

For each ICPT, we found a median of 10 [8-12] OTUs (**Figure 3**). Among all ICPTs, 91 OTUs were identified but only 11 of them had a relative frequency higher than 1% (**Figure 4**). Many of these species can be considered of environmental and skin origin, including *Delftia* spp. and *Herbaspirillum* spp.. *Stenotrophomonas* spp. and *Serratia* spp. were found in 38 (100%), and 22 (58%) ICPTs, respectively. Commensal bacteria such as *Corynebacterium* spp. and *Staphylococcus* spp. were found in 3 (8%) ICPT each.

Microbiome diversity

Alpha-diversity. The number of OTUs representing more than 90% of the sequences found by samples was 6 [5.25 - 8]. No clinical or therapeutic factor, nor the presence of mature

Commentaire [D4]: En lisant cela on ne comprend pas : cela veut dire que tu as des OTU dans 99.87% des ICPT ? Dans ce cas contradictoire avec la phrase d'après. Ce « rate of OTU » est-il vital ?

Commentaire [rm5]: Non, c'est le taux identifié

Commentaire [rm6]: J'ai enlevé genus/OtU car j'ai peur q ca porte à confusion, genre on trouve 10 genres par OtU

biofilm on SEM were associated with a decreased in the number of OTUs representing more than 90% of the sequences or to an alteration of the richness (Chao1) of α -diversity (**Table 3**). ICPT placement in OR, antimicrobial treatment during monitoring or antimicrobial surgery prophylaxis were associated with a reduced evenness ($p=0.01$, $p=0.01$ and $p=0.006$, respectively (PielouE)).

Beta-diversity. Placement in OR and antimicrobial prophylaxis decreased the beta-diversity (weighted unifrac: $p=0.02$ and $p=0.03$, respectively) (**Table 4**).

Differential abundance (Table S5). Antimicrobial treatment was associated with a decrease of *Serratia* and *Curvibacter* genus.

Some genera were found to be differentially abundant according to the location of placement, ICU or operating room. *Microbacterium* and *Curvibacter* were more abundant in ICU whereas *Staphylococcus* were *increased* in operating room.

In case of post-operative placement *Microbacterium*, *Novosphingobium* and *Staphylococcus* were more abundant while *Serratia* were less frequent.

Discussion

In this prospective study including 53 removed ICPTs, we observed that SEM and NGS always identified the presence of bacteria whereas only 5% of transducer tips had a positive bacterial culture, suggesting that ICPT colonization might be heavily underestimated using standard techniques.

In large clinical studies, intraparenchymal ICP monitors are exceptionally associated with clinically relevant infections^{9-11,23}. Analysis of published data might be hindered by the possible concomitant insertion of other intracranial devices, such as EVD, more frequently associated with infectious complications^{4,24-29}. When restricting to studies including only intraparenchymal transducers, reported infections were rare and mainly superficial^{3,10}. Indeed, the largest series including more than 1000 patients reported no infection^{4,9}.

Several reasons might explain this low risk of infection. Considering that known risk factors of ventriculostomy-related infection are CSF leak, elevated ICP, and duration of ICP monitoring^{4,6,25,30,31}, one can hypothesize that the shorter duration of ICPT placement (<10 days), as compared to EVD (≥ 10 days) plays a key-role in this observation^{3,6,10,11,32-34}. The bolt, present with ICPTs but not with EVD, could act as a physical barrier, avoiding CSF leaks or delaying bacterial progression from the skin to the ICPT tip. Another explanation could be the thinner diameter of the ICPTs (1 mm), as compared to EVD (3 mm). Surprisingly, elevated ICP and its treatment (hypothermia or phenobarbital) do not seem to increase the risk of ICPT-related infections.

When focusing on the frequency of tip colonization, one can also observe that ICPT are less frequently colonized (8.5 to 17%), as compared to EVD (10 to 36%)^{4,6,9-11,35,36}. Using SEM, one study reported biofilm on 75% of the analyzed EVD, while colonization and VRI diagnosed by culture occurred in only 38% and 19% of cases⁸. Using both SEM and NGS, we

identified bacteria on all studied ICPTs, whereas only 5% of ICPTs were culture-positive. Main bacterial lifestyle was mature biofilm, seen on 73% of ICPT and NGS confirmed this high frequency of bacterial colonization. However, we did not observe any cerebral infection, despite a follow-up of several months. The absence of ICPT-related infection, while ICPT colonization (as shown with SEM or NGS) was almost constant may suggest the importance of bacterial virulence traits³⁷. Indeed, most of culture-positive ICPTs reported in the literature are colonized by *S. epidermidis*^{4,10,11}. Regarding EVD colonization, this commensal bacteria is also predominant^{6,34,38}, and one study reported that the presence of pathogen on skin was strongly associated with subsequent infection⁶. However, more pathogenic bacteria have also been recovered on ICPT cultures, such as *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella*, *Serratia* and *Pseudomonas*, without clinically-relevant infection^{4,9,10}. In our study, NGS mostly identified environmental or skin bacteria³⁹, suggesting a possible ICPT colonization from an environmental source during insertion or handling. Even *Stenotrophomonas*, a medically-relevant bacteria that we identified on all ICPT, typically originates from the skin and/or environment^{39,40}.

Lastly, a seducing hypothesis explaining the low risk of infection despite an almost universal bacterial colonization would be to consider that the mature biofilm we observed may act as a protective microbiota on the surface of ICPT. Studying another type of indwelling device (totally implanted venous access port, TIVAP) with NGS, Stressmann et al. identified two distinct patterns of biofilm composition, depending on the status of TIVAP, at removal (infected or not)⁴¹. Among samples from asymptomatic patients, they identified more abundantly *Herbaspirillum*, *Paracoccus* and *Stenotrophomonas maltophilia*. Interestingly, we found *Stenotrophomonas* and *Herbaspirillum* on all ICPTs. Furthermore, they found that the mean richness (represented by the number of OTUs/sample) in the overall sample set was

Commentaire [rm7]: En opposition à *S. epi...*c pas clair ?

Commentaire [rm8]: A remplacer par pathogen ?

Commentaire [rm9]: Et pourquoi pas venant de la peau du patient ?

Code de champ modifié

Commentaire [rm10]: On pourrait dire qu'il apparait protective, d'autant plus du fait de son homologie avec le microbiote cutané (grice 2008)

significantly higher ($p=0.0002$) in asymptomatic (5.4 OTUs/sample) than in symptomatic samples (2.5 OTUs/sample). We found a greater median of OTUs/ICPTs (10 [8-12]), and the majority of these OTUs corresponded to environmental bacteria. Strikingly, we noted that the main factor associated with a decrease of bacterial diversity was antimicrobial treatment.

Commentaire [rm11]: On peut être l'enlever ca, c redondant

These data, obtained on two different types of indwelling devices may support the concept that a diverse environmental bacterial community would prevent the colonization by more pathogenic bacteria^{6,41,42}. Experimental studies are now warranted to explore this hypothesis.

Commentaire [rm12]: Or skin

Our study contains some limitations. First, positive results of ICPTs with NGS could be due to a contamination during removal, and not represent true colonization. However, the frequent observation of mature biofilm by SEM confirms the temporal process from bacterial adhesion to biofilm formation, ruling out contamination. Second, the small number of included ICPTs reduces our statistical power to identify factors associated with the formation of mature biofilm. Anyway, it was surprising to found such a high rate of mature biofilm with a short dwelling duration. Third, we limited our analysis to bacterial kingdom, without taking in account the role of fungi or virus. Finally, a quantitative analysis (as quantitative PCR) could have improved our understanding of colonization dynamics and its microbial composition.

In conclusion, we observed no ICPTs-related cerebral infection, while colonization was always highlighted, using NGS and SEM, mostly with bacteria of environmental origin. Mature biofilm was the main lifestyle for bacteria on ICPTs.

Commentaire [rm13]: Skin ?

Supporting Information

Data from NGS are available [on-under](#) the number BioProject: PRJNA560770.

References

1. Carney N, Totten AM, O'Reilly C, Ullman JS, Hawryluk GWJ, Bell MJ, Bratton SL, Chesnut R, Harris OA, Kisooson N, Rubiano AM, Shutter L, Tasker RC, Vavilala MS, Wilberger J, Wright DW, Ghajar J: Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, Fourth Edition. *Neurosurgery* 2017; 80:6–15
2. Lang J-M, Beck J, Zimmermann M, Seifert V, Raabe A: Clinical evaluation of intraparenchymal Spiegelberg pressure sensor. *Neurosurgery* 2003; 52:1455–9; discussion 1459
3. Shapiro S, Bowman R, Callahan J, Wolfla C: The fiberoptic intraparenchymal cerebral pressure monitor in 244 patients. *Surg Neurol* 1996; 45:278–82
4. Martínez-Mañas RM, Santamarta D, Campos JM de, Ferrer E: Camino intracranial pressure monitor: prospective study of accuracy and complications. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 69:82–6
5. Morton R, Lucas TH, Ko A, Browd SR, Ellenbogen RG, Chesnut RM: Intracerebral abscess associated with the Camino intracranial pressure monitor: case report and review of the literature. *Neurosurgery* 2012; 71:E193-198
6. Mounier R, Lobo D, Cook F, Martin M, Attias A, Ait-Mamar B, Gabriel I, Bekaert O, Bardon J, Nebbad B, Plaud B, Dhonneur G: From the Skin to the Brain: Pathophysiology of Colonization and Infection of External Ventricular Drain, a Prospective Observational Study. *PLoS ONE* 2015; 10:e0142320
7. Braxton EE, Ehrlich GD, Hall-Stoodley L, Stoodley P, Veeh R, Fux C, Hu FZ, Quigley M, Post JC: Role of biofilms in neurosurgical device-related infections. *Neurosurg Rev* 2005; 28:249–55
8. Ramírez P, Gordón M, Soriano A, Gil-Perotin S, Marti V, Gonzalez-Barbera EM, Sanchez-Aguilar MT, Simal JA, Bonastre J: Assessment of the in vivo formation of biofilm on external ventricular drainages. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32:1437–43
9. Gelabert-González M, Ginesta-Galan V, Sernamito-García R, Allut AG, Bandin-Diéguéz J, Rumbo RM: The Camino intracranial pressure device in clinical practice. Assessment in a 1000 cases. *Acta Neurochir (Wien)* 2006; 148:435–41
10. Poca M-A, Sahuquillo J, Arribas M, Báguena M, Amorós S, Rubio E: Fiberoptic intraparenchymal brain pressure monitoring with the Camino V420 monitor: reflections on our experience in 163 severely head-injured patients. *J Neurotrauma* 2002; 19:439–48
11. Jensen RL, Hahn YS, Ciro E: Risk factors of intracranial pressure monitoring in children with fiberoptic devices: a critical review. *Surg Neurol* 1997; 47:16–22

12. Townsend RN, Lheureau T, Protech J, Riemer B, Simon D: Timing fracture repair in patients with severe brain injury (Glasgow Coma Scale score <9). *J Trauma* 1998; 44:977–82; discussion 982-983
13. Davies AJ, Evans JG: An analysis of the one-dimensional steady-state glow discharge. *Journal of Physics D Applied Physics* 1980; 13:L161–6
14. Li H, Durbin R: Fast and accurate long-read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics* 2010; 26:589–95
15. Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R: The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 2009; 25:2078–9
16. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP: DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* 2016; 13:581–3
17. Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, Bealer K, Madden TL: BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics* 2009; 10:421
18. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO: The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 2013; 41:D590-596
19. Katoh K, Standley DM: MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol* 2013; 30:772–80
20. Price MN, Dehal PS, Arkin AP: FastTree 2--approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS ONE* 2010; 5:e9490
21. Magurran AE: Biological diversity. *Curr Biol* 2005; 15:R116-118
22. Lozupone CA, Hamady M, Kelley ST, Knight R: Quantitative and qualitative beta diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73:1576–85
23. Artru F, Terrier A, Gibert I, Messaoudi K, Charlot M, Naous H, Jourdan C: [Monitoring of intracranial pressure with intraparenchymal fiberoptic transducer. Technical aspects and clinical reliability]. *Ann Fr Anesth Reanim* 1992; 11:424–9
24. Bekar A, Doğan S, Abaş F, Caner B, Korfali G, Kocaeli H, Yilmazlar S, Korfali E: Risk factors and complications of intracranial pressure monitoring with a fiberoptic device. *J Clin Neurosci* 2009; 16:236–40
25. Rebeck JA, Murry KR, Rhoney DH, Michael DB, Coplin WM: Infection related to intracranial pressure monitors in adults: analysis of risk factors and antibiotic prophylaxis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 69:381–4
26. Winfield JA, Rosenthal P, Kanter RK, Casella G: Duration of intracranial pressure monitoring does not predict daily risk of infectious complications. *Neurosurgery* 1993; 33:424–30; discussion 430-431
27. Stoikes NF, Magnotti LJ, Hodges TM, Weinberg JA, Schroepfel TJ, Savage SA, Fischer PE, Fabian TC, Croce MA: Impact of intracranial pressure monitor prophylaxis on central nervous system infections and bacterial multi-drug resistance. *Surg Infect (Larchmt)* 2008; 9:503–8
28. Clark WC, Muhlbauer MS, Lowrey R, Hartman M, Ray MW, Watridge CB: Complications of intracranial pressure monitoring in trauma patients. *Neurosurgery* 1989; 25:20–4
29. May AK, Fleming SB, Carpenter RO, Diaz JJ, Guillaumondegui OD, Deppen SA, Miller RS, Talbot TR, Morris JA: Influence of broad-spectrum antibiotic prophylaxis on intracranial pressure monitor infections and subsequent infectious complications in head-injured patients. *Surg Infect (Larchmt)* 2006; 7:409–17

30. Mayhall CG, Archer NH, Lamb VA, Spadora AC, Baggett JW, Ward JD, Narayan RK: Ventriculostomy-related infections. A prospective epidemiologic study. *N Engl J Med* 1984; 310:553–9
31. Schultz M, Moore K, Foote AW: Bacterial ventriculitis and duration of ventriculostomy catheter insertion. *J Neurosci Nurs* 1993; 25:158–64
32. Gupta DK, Bisht A, Batra P, Mathur P, Mahapatra AK: A cost effectiveness based safety and efficacy study of resterilized intra-parenchymal catheter based intracranial pressure monitoring in developing world. *Asian J Neurosurg* 2016; 11:416–20
33. Mounier R, Lobo D, Cook F, Fratani A, Attias A, Martin M, Chedevergne K, Bardon J, Tazi S, Nebbad B, Bloc S, Plaud B, Dhonneur G: Clinical, biological, and microbiological pattern associated with ventriculostomy-related infection: a retrospective longitudinal study. *Acta Neurochir (Wien)* 2015; 157:2209–17; discussion 2217
34. Mounier R, Birnbaum R, Cook F, Jost P-H, Martin M, Ait-Mamar B, Nebbad B, Couffin S, Tomberli F, Djedid R, Dhonneur G, Lobo D: Natural history of ventriculostomy-related infection under appropriate treatment and risk factors of poor outcome: a retrospective study. *J Neurosurg* 2018:1–10 doi:10.3171/2018.6.JNS18853
35. Hetem DJ, Woerdeman PA, Bonten MJM, Ekkelenkamp MB: Relationship between bacterial colonization of external cerebrospinal fluid drains and secondary meningitis: a retrospective analysis of an 8-year period. *J Neurosurg* 2010; 113:1309–13
36. Aucoin PJ, Kotilainen HR, Gantz NM, Davidson R, Kellogg P, Stone B: Intracranial pressure monitors. Epidemiologic study of risk factors and infections. *Am J Med* 1986; 80:369–76
37. Darouiche RO: Treatment of infections associated with surgical implants. *N Engl J Med* 2004; 350:1422–9
38. Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr: Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery* 2002; 51:170–81; discussion 181-182
39. Grice EA, Kong HH, Renaud G, Young AC, NISC Comparative Sequencing Program, Bouffard GG, Blakesley RW, Wolfsberg TG, Turner ML, Segre JA: A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res* 2008; 18:1043–50
40. An S-Q, Berg G: *Stenotrophomonas maltophilia*. *Trends Microbiol* 2018; 26:637–8
41. Stressmann FA, Couve-Deacon E, Chainier D, Chauhan A, Wessel A, Durand-Fontanier S, Escande M-C, Kriegel I, Francois B, Ploy M-C, Beloin C, Ghigo J-M: Comparative Analysis of Bacterial Community Composition and Structure in Clinically Symptomatic and Asymptomatic Central Venous Catheters. *mSphere* 2017; 2
42. Grice EA, Segre JA: The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9:244–53

TABLES AND FIGURES

Table 1. Baseline characteristics of the 53 patients and intraparenchymal intracranial pressure transducers (ICPT) prospectively included.

Patients		n = 53
Sex (male)		40 (75)
Age (yrs)		43 [31-55]
Cause of admission	Polytrauma	36 (68)
	Isolated TBI	13 (25)
	Intraparenchymal hemorrhage	4 (8)
GCS score at admission		7 [4-8]
SAPS 2		45 [37-54]
Traumatic breaking of the BBB		28 (53)
Neurosurgical intervention within the 24h of admission		16 (30)
Treatment of increased ICP	EVD	6 (11)
	hypothermia, neuromuscular blocking agent	19 (36)
	phenobarbital	10 (19)
Motive for Antimicrobial treatment	Ventilator-associated pneumonia	11 (21)
Ventriculostomy-related infection	Bacteriemia	1 (2)
ICPT-related infection		0
Surgical Site Infection		2 (4)
ICU stay (days)		14 [7-40]
In-ICU Mortality		23 (43)
ICP transducers		n = 53
Location of placement	Operating room	16 (30)
	ICU	37 (70)
Antimicrobial prophylaxis at ICPT insertion		17 (32)
Duration of placement (days)		4 [3-7]
Cause of removal	End of monitoring	43 (81)
	death	10 (19)

Microbiological culture	42 (79)
SEM performed	48 (91)
NGS performed	38 (72)
ICPT assessed with the 3 technics	28 (53)

NOTE. ICPT related-infection was defined as a meningitis or a brain abscess. BBB: blood brain barrier; EVD: external ventricular drain; ICP: intracranial pressure; ICPT: intracranial pressure transducer; ICU: intensive care unit; GCS: Glasgow coma scale; NGS: next generation sequencing; SAPS: Simplified Acute Physiology Score; SEM: scanning electron microscopy. TBI: traumatic brain injury. Data are shown as the median [25th–75th percentile] or number (%), unless otherwise indicated.

Table 2. Clinical factors associated with the presence of mature biofilm on intraparenchymal intracranial pressure transducers (ICPT) using Scanning Electron Microscopy (SEM). Data presented are limited to the 48 ICPT assessed by SEM.

	Mature biofilm		OR [IC95%]	p values
	No (n=13)	Yes (n=35)		
Cause of admission				
Polytrauma	8 (61)	24 (68)		
Isolated TBI	4 (31)	8 (23)	-	0.87
Intraparenchymal hemorrhage	1 (8)	3 (9)		
Location of placement				
Operating room	3 (23)	13 (37)	0.51 [0.12-2.19]	0.5
ICU	10 (77)	22 (63)		
Traumatic rupture of BBB	8 (62)	18 (51)	0.66 [0.18-2.43]	0.53
Concomitant EVD	1 (8)	3 (9)	1.12 [0.11-11.89]	1
Hypothermia and neuromuscular blocking agent	3 (23)	15 (43)	2.5 [0.58-10.7]	0.32
Phenobarbital	1 (8)	7 (20)	3 [0.33-27.12]	0.42
Antimicrobial treatment	3 (23)	6 (17)	0.69 [0.14-3.29]	0.69
Monitoring duration				
≤ 5 days	9 (69)	22 (65)	1.23 [0.31-4.84]	1
>5 days	4 (31)	12 (35)		

NOTE. BBB: blood brain barrier; EVD: external ventricular drain; ICP: intracranial pressure; ICU: intensive care unit; TBI: traumatic brain injury. Data are shown as the median [25th–75th percentile] or number (%), unless otherwise indicated.

Table 3. Comparison of the α -diversity found on intraparenchymal intracranial pressure transducer (ICPT), according to different variables.

ICPTs		n=38	Richness		Evenness	
			Chao1 (p-values)	Simpson (p-values)	PielouE (p-values)	
Location of placement	Operating room	14	0.36	0.04	0.01	
	ICU	24				
Antimicrobial prophylaxis		17	0.8	0.05	0.006	
Traumatic breaking of the BBB		23	0.31	0.23	0.28	
EVD		4	0.96	0.23	0.32	
Treatment of increased ICP	Hypothermia	12	0.52	0.29	0.59	
	curarization	13	0.64	0.35	0.84	
	Phenobarbital	8	0.93	0.52	0.86	
Antimicrobial treatment		7	0.85	0.02	0.01	
Monitoring duration	≤ 5 days	25	0.64	0.26	0.11	
	> 5 days	13				
Mature biofilm seen on SEM		26	0.96	0.19	0.19	

NOTE. Antimicrobial prophylaxis means that ICPT was placed under surgical antimicrobial prophylaxis. BBB: blood brain barrier; EVD: external ventricular drain; ICPT: intraparenchymal intracranial pressure transducer; ICU: intensive care unit; OTU: operational taxonomic units; TBI: traumatic brain injury.

Table 4. Comparison of the beta-diversity found on intraparenchymal intracranial pressure transducer (ICPT), according to different variables.

Metric	Group	p-values
Jaccard	Antimicrobial prophylaxis	0.82
	ICU vs OR	0.71
	Traumatic breaking of the BBB	0.52
	Curarization	0.48
	Hypothermia	0.28
	Phenobarbital	0.03
	Antimicrobial treatment	0.09
	Monitoring duration	0.08
	Biofilm presence	0.98
Weighted unfrac	Antimicrobial prophylaxis	0.03
	ICU vs OR	0.02
	Traumatic breaking of the BBB	0.88
	Curarization	0.76
	Hypothermia	0.76
	Phenobarbital	0.63
	Antimicrobial treatment	0.14
	Monitoring duration	0.83
	Biofilm presence	0.34

NOTE. ICU vs OR means ICPT placement location in the Intensive Care Unit versus in the Operating Room. Antimicrobial prophylaxis means that ICPT was placed under surgical antimicrobial prophylaxis.

FIGURES

Figure 1. Intraparenchymal intracranial pressure transducer (ICPT) processing. After removal, the intracerebral portion of the ICPT was immediately cut in 3 sections of 0.5 cm (1 to 3). Section 1 was used for culture. Section 2 was assayed by Scanning Electron Microscopy. Section 3 was assayed with Next Generation Sequencing.

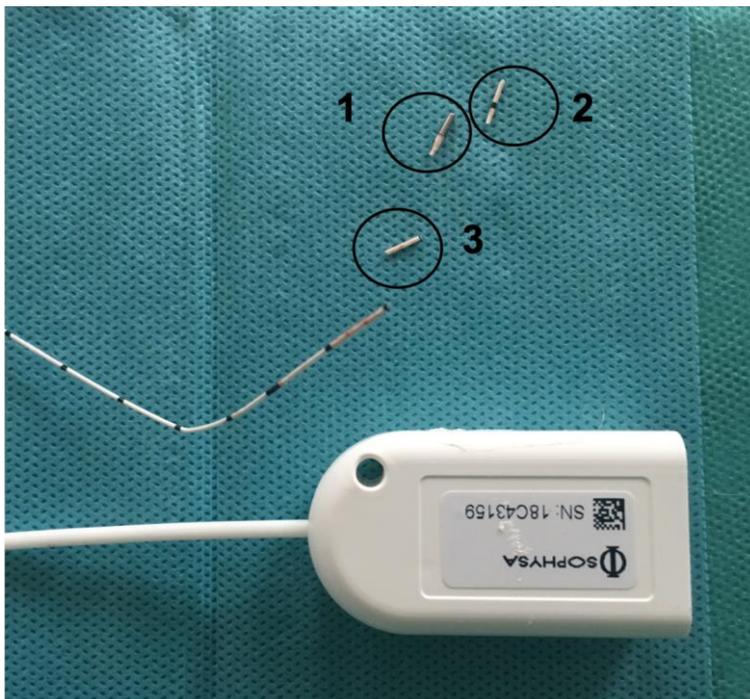


Figure 2. Definition of bacterial lifestyle observed on intraparenchymal intracranial pressure transducer (ICPT) by Scanning Electron Microscopy. **A.** Control ICPT. **B.** Isolated bacteria. **C and D.** Adhesion bacteria with few extracellular matrix. **E.** Mature biofilm: bacteria are encapsulated in a thick matrix. **F.** Association of both isolated bacteria (on the left) and mature biofilm (on the right) on the same SEM picture.

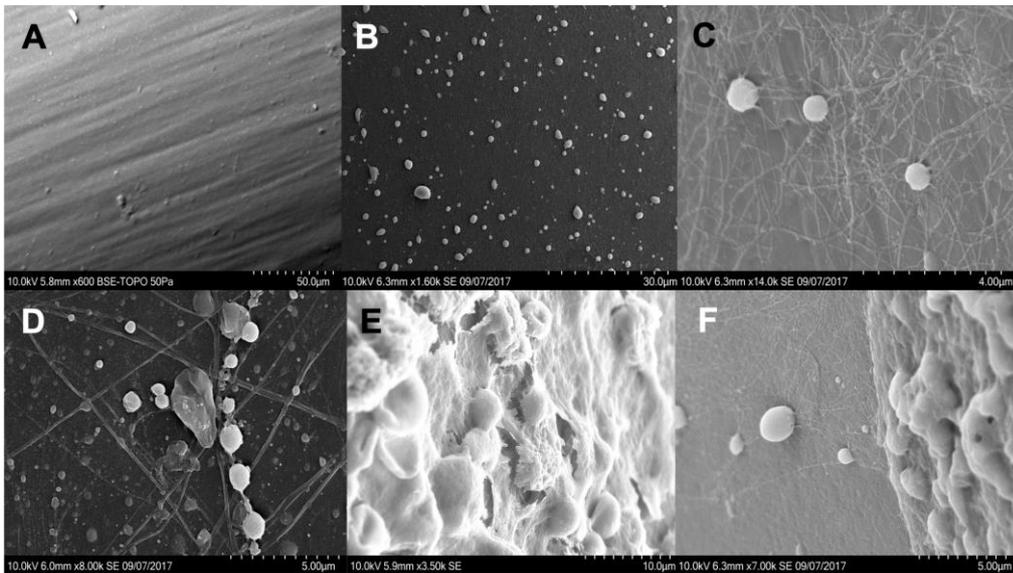


Figure 3. Heatmap of genus/OTU and their relative abundance detected in clone libraries from each of 38 intraparenchymal intracranial pressure transducer (ICPTs). The subset of genus was performed according to (10.12688/f1000research.8986.2) and normalization was conducted by sample (grey scale: OTU count was centred to the mean and scale to unit variance).

Numbers 1 to 38 represent each ICPT.



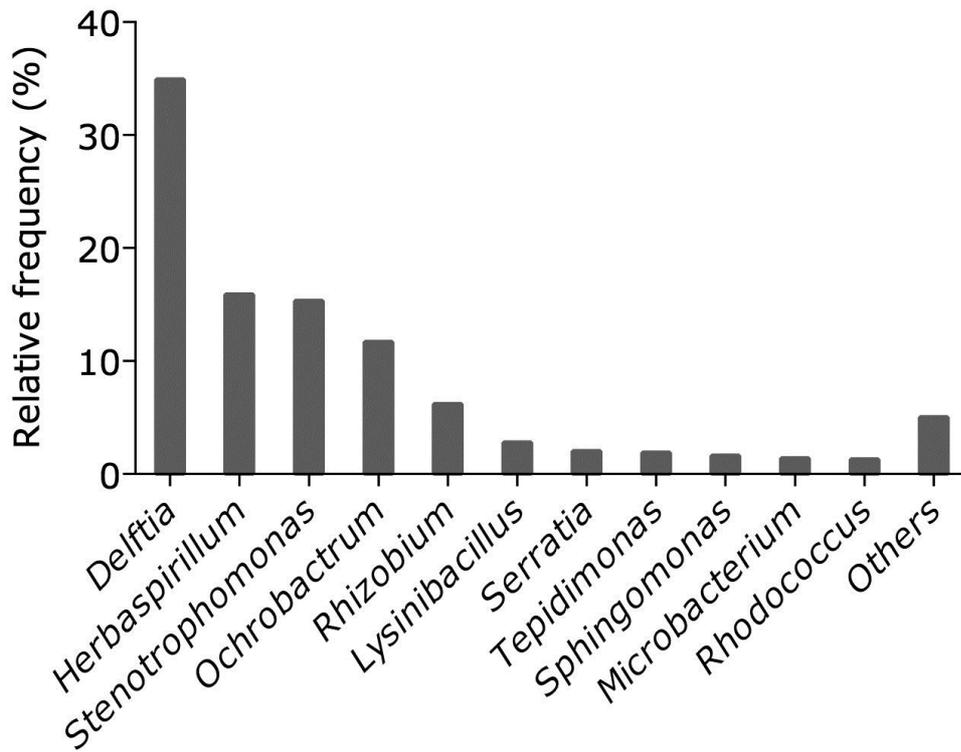
Commentaire [D14]: Qu'est-ce que c'est : une ref qui a sauté ?

Commentaire [rm15]: Oui c une référence
Guillaume pense que c'est « vital »

Commentaire [D16]: Je ne comprends pas cette partie en jaune : voir avec Paul-Louis ?

Commentaire [rm17]: Et pour guillaume il faut laisser cela comme ca : il raconte qu'il normalise les valeurs et ramène les variations à la variance, C une forme de contraste

Figure 4. Relative frequency of each genus/OTUs among the entire cohort of removed ICPT. Genus/OTUs are ranked according to the abundance of their clone library relative to the number of total clones. A subset was realized according to (10.12688/f1000research.8986.2) and the category "Others" clusters Genus with relative abundance $\leq 1\%$.



Question 5 : Analyse systématique et prospective des populations bactériennes responsables de la colonisation et des infections liées aux DVE bactiseal™.

Résultats préliminaires de l'étude.

Reprenant les mêmes techniques que pour les CPIC, nous avons étudié 120 DVE bactiseal™. Nous avons voulu déterminer la réalité de la colonisation des DVE en utilisant d'autres techniques que la culture. Pour ce faire nous avons utilisé la MEB, qui nous permet de voir les bactéries, planctoniques ou sessiles (biofilm), mais qui présentent l'inconvénient d'être uniquement morphologique, et l'avons couplé au séquençage génomique NGS suite aux PCR 16s. Ceci nous a permis d'évaluer non seulement la colonisation, l'infection (critères cliniques) et l'analyse des populations bactériennes présentes.

Analyse systématique et prospective des populations bactériennes responsables de la colonisation et des infections liées aux DVE bactiseal™.

Introduction

L'implantation de DVE est le geste neurochirurgical le plus fréquent (207). Les infections de DVE sont fréquentes jusqu'à 40% des DVE (172), et graves (mortalité directement imputable 12,5%) (161). Leur prévention en est donc importante. L'amélioration de la prévention passe par une meilleure connaissance de sa physiopathologie. Les facteurs de risque connus sont l'injection d'un produit vers le patient via la DVE (123,127,135), la fuite de LCR (89,135,138,147), l'hémorragie intraventriculaire et l'hémorragie sous-arachnoïdienne (147,161), un pathogène présent au site d'insertion cutané (89), une pression intracrânienne élevée ainsi que la durée de drainage (135,147). Les infections associées surviennent surtout vers le 10^e jours, après une progression des germes cutanés le long de la face externe de la DVE (89).

Les taux de colonisation des DVE rapportés dans la littérature vont de 10% à 36% (89,123,145). Les capteurs de PIC qui partagent de nombreuses similitudes (mais ne drainent pas de liquide et présente une durée d'exposition plus courte) sont moins souvent colonisés et n'occasionnent pas d'infection associée. Cependant, nous l'avons vu, la colonisation de ces capteurs est, en fait, bien plus importante, voir obligatoire, quand on utilise des techniques plus sensibles de détection. L'analyse en MEB retrouve du biofilm dans plus de ¾ des cas après seulement 4 jours de mise en place. Et le séquençage génomique nous informe sur la nature principalement environnementale de la communauté bactérienne composant cette colonisation. Il était donc intéressant d'étudier la présence de biofilm et la composition de l'écosystème colonisant les DVE.

De plus, nos résultats montrant un taux d'infection avec des germes sensibles aux ATB imprégnés sur les DVE évoquant un mode d'infection par du biofilm, comme l'avait suggéré l'étude de Ramirez, (169). Nous avons montré que la durée de protection antimicrobienne par les DVE imprégnée était plus courte que retrouvée ex vivo (119,198). Cependant la perte d'activité complète survenait après 10 jours. On peut penser que les deux facteurs soient en jeu dans la survenue des infections : le biofilm précoce et la perte d'activité progressive.

Nous avons donc étudié de manière prospective et systématique la colonisation ainsi que la communauté bactérienne colonisante, en fonction du statut « stérile » en culture, « positive » en culture ou « infection » clinique.

Méthodes

Patients et design

Etude prospective s'est déroulée entre le 29 Décembre 2015 et le 02 février 2018. Il s'agit d'une étude de soins courants. Le protocole d'étude a reçu un avis favorable du Comité Ethique et Aide à la Décision Médicale de l'Hôpital Privé Claude Galien sous le numéro 2015-048.

Tous les patients pris en charge dans le service de réanimation chirurgicale polyvalente du CHU Henri Mondor à Créteil (94) et bénéficiant de la mise en place d'une DVE ont été inclus. Les mineurs, les incapables majeurs, les femmes enceintes, et les patients bénéficiant d'une dérivation pour méningite communautaire n'étaient pas inclus. Chaque DVE était inclus séparément. Les DVE étaient exclus en cas de faute d'asepsie au retrait.

Gestion de la DVE

Seules des DVE bactiseal™ (imprégnées en clindamycine et rifampicine) ont été utilisées pendant la durée de l'étude. Les DVE sont posées au bloc opératoire avec une asepsie chirurgicale. L'indication est posée par le chirurgien. L'antibioprophylaxie lors de la pose de la DVE n'est pas recommandée dans notre centre.

Pour les techniques de pose et d'entretien, se reporter aux précédents articles de l'équipe.

L'ablation de la DVE se faisait au lit du malade, stérilement. Comme pour les CPIC, l'extrémité de la DVE était immédiatement coupée en 3 portions de 0,5cm : la première était envoyée au laboratoire de microbiologie, la seconde était plongée dans un fixateur pour une analyse ultérieure en MEB, et la dernière était entreposée dans un congélateur à -80°C pour une analyse ultérieure en NGS.

Microbiologie standard

Se référer aux différents articles de l'équipe sur le sujet.

Microscopie électronique à Balayage

Résultats

Plusieurs mélanges de fixateurs ont été testés afin d'améliorer la conservation des échantillons et d'éviter l'affaissement des structures lors de leur observation en vide poussé au microscope électronique. Ces mélanges s'apparentaient à un fixateur de Karnovsky. En effet, ils comportaient en concentrations variables : du paraformaldéhyde (2 ou 4%), fixateur de type monoaldéhyde pénétrant rapidement les tissus et stabilisant légèrement les protéines ; et du glutaraldéhyde (1 ou 2%), dialdéhyde de pénétration lente mais de fixation stable au sein d'un tampon phosphate Sørensen (pH 7,4). Tous les mélanges étaient supplémentés avec 0,1% d'acide picrique afin d'améliorer la stabilité des protéines membranaires et donc le maintien de la structure. Une fois fixés, les échantillons étaient conservés plusieurs semaines à 4°C.

Quand le nombre d'échantillons était suffisant, ceux-ci étaient préparés pour l'observation sous hotte chimique. Une étape de post-fixation à l'osmium 1% durant 1 heure était réalisée (diminution de l'effet de charge, augmentation du contraste). Puis on commençait le rinçage de 30 minutes dans 1mL de tampon phosphate Sørensen. Puis les cathéters étaient délicatement sectionnés en deux dans le sens de la longueur sous la loupe à l'aide d'un micro scalpel afin de pouvoir observer la face interne. Les morceaux étaient ensuite déshydratés dans des bains d'éthanol de concentration croissante (30%, 50%, 70%, 90%, 100%) de 30 minutes chacun. Celle-ci était suivie de trois rinçages au tampon phosphate Sørensen de 10 minutes chacun et d'un lavage à l'eau distillée de 10 minutes avant la découpe du cathéter. Après la déshydratation, les échantillons étaient laissés à température ambiante une nuit afin de permettre l'évaporation de l'éthanol puis métallisés 45s en vide primaire (application d'une très fine pellicule d'or (entre 5 et 10 nm) afin d'améliorer la conductivité de l'échantillon et ainsi de faciliter). Nous avons réalisé un témoin négatif, qui était DVE bactiseal™ stérile, préparé selon le même procédé.

Pour l'observation, nous avons utilisé le microscope électronique à balayage Hitachi Su3500 du Plateau technique de Microscopies électronique du Museum National d'Histoire Naturelle. Les observations étaient réalisées par détection des électrons secondaires, en vide poussé ($1,5 \times 10^{-3}$ Pa). La tension d'accélération des électrons était de 10,0kV avec un pourcentage d'intensité du flux d'électron sur l'échantillon inférieur à 40% afin d'améliorer la résolution. Les observations étaient réalisées de façon indépendante par deux. En cas de désaccord, l'avis d'un troisième expert était pris.

Pour des définitions du biofilm en observation, se référer à l'article sur les CPIC.

PCR 16s et NGS

Se référer à l'article sur les CPIC. Cependant, pour cette étude, nous avons utilisé des primers pour les boucles V1, V2, V3, V4 (Tableau 1) ainsi que des primers ITS1&2 (pour la détection, l'amplification et le séquençage fongique).

V3_V4	341F	5'- TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG CCT ACG GGA GGC AGC AG -3'
	785R	5'- GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC C -3'
V1_V2	27F	5'- TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG -3'
	338R	5'- GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGC TGC CTC CCG TAG GAG T -3'
ITS1	ITS1F	5'- TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A -3'
	ITS2R	5'- GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGC TGC GTT CTT CAT CGA TGC -3'
ITS2	ITS3F	5'- TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC -3'
	ITS4R	5'- GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GTC CTC CGC TTA TTG ATA TGC -3'

Tableau 1 : Primers utilisés pour l'amplification des régions hypervariables V1-V2 et V3-V4 du gène 16s rRNA bactérien et des régions intergéniques ITS1 et ITS2 du gène Fongique

Analyses statistiques

Nous n'avons pas calculé de nombre de sujet à inclure au préalable. Les données qualitatives sont exprimées en incidence et pourcentage et les données quantitatives en médiane et distance interquartiles. Les données catégorielles ont été comparées à l'aide d'un test de Khi2. Pour les données quantitatives nous avons utilisé des tests U de Mann-Whitney. La significativité statistique était atteinte pour une valeur de p bilatéral inférieure à 0,05. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels JMP® 13.1.3 et IBM1 SPSS® statistics 20.0.

Résultats

Patients et culture

Les résultats ne portent que sur l'analyse des 38 premières DVE (37 patients). Trente-huit (100%) DVE ont été analysées en NGS, 37 (97%) en MEB et 36 (95%) en culture. Les caractéristiques des patients et des DVE se trouvent dans la table 2.

Table 2. Caractéristiques des patients et des DVE analysés.

Patients	n=37 (%)
Motifs d'admission	
Hémorragie méningée	19 (51)
Hémorragie intraventriculaire	8 (22)
Tumeur	5 (14)
Traumatisme crânien	2 (5)
autres	3 (8)
DVE	n=38 (%)
Motifs de drainage	
Hydrocéphalie aiguë	33 (87)
Post-opératoire	3 (8)
Hypertension intracrânienne	2 (5)
Motifs de retrait	
Fin de traitement	30 (79)
DVE arrachée	2 (5)
Décès	3 (8)
Occlusion	2 (5)
Infection	1 (3)
Facteurs de risque d'infection	
Immunodépression	4 (11)
Antibioprophylaxie à la pose	10 (26)
Pose en urgence	33 (87)
Durée de chirurgie >4h	4 (11)
Manipulation du circuit	8 (21)
Déconnection du circuit	1 (3)
Injection via la DVE	1 (3)
Fuite LCR	6 (16)
Durée de drainage médian (j) [IQR] jours	15 [1-52]

Trois (8%) ILD et 9 (24%) colonisations de DVE étaient rapportées. Vingt-cinq (25/36, 70%) DVE étaient stérile en culture.

Les ILD étaient dues à des bacilles à Gram négatifs. *E. coli* était le germe majoritaire responsable des ILD : 2/3 (66%). La dernière infection était due à *E. cloacae*. L'analyse quantitative en culture retrouvait jusqu'à 10⁵ cfu/mL sur le cathéter.

Les colonisations étaient le fait de cocci à Gram positifs (100%). Douze germes étaient retrouvés car un cathéter poussait à 3 germes. Les *staphylococcus* à coagulase négatives étaient majoritaires (9/12, 75%), avec 5 *S. epidermidis*, 2 *S. warneri*, 1 *S. capitis* et 1 *S.*

hominis. On trouvait aussi un *S. aureus*, un *Streptococcus australis* et un *E. faecalis*. L'analyse quantitative en culture retrouvait jusqu'à 10^6 cfu/mL.

MEB

L'examen du contrôle a permis la description précise des cristaux d'antibiotiques. Ceux-ci étaient présents sur la face externe du cathéter ainsi que dans l'épaisseur de celui-ci. Leurs formes sont anguleuses et leur taille est comprise entre 2 et 10µm. L'observation de l'ensemble de la cohorte ne retrouvait des cristaux que sur 12 faces externes et aucune face interne. Ils sont plus petits (4,3µm en moyenne) et présentent des bords émoussés.

Un biofilm mature était retrouvé sur 30/37 (81%) DVE (81%). Huit DVE (22%) en présentaient sur leurs deux faces, 11 (30%) en étaient porteurs sur leur face externe et 11 (30%) sur leur face interne exclusivement (table 3, figure 1).

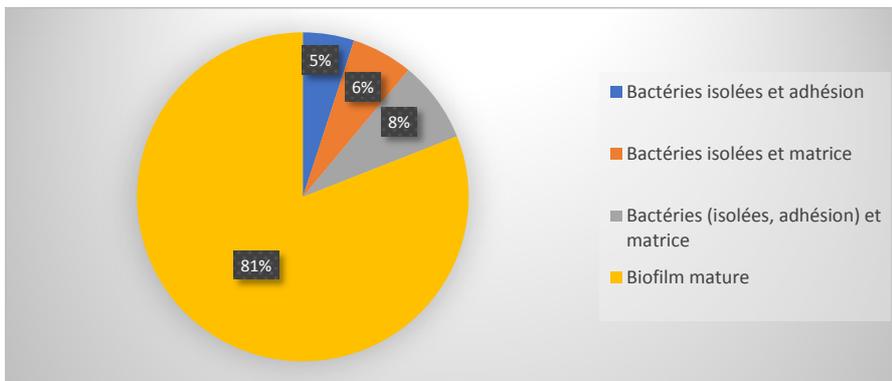
La présence de bactéries isolées associées était observée sur 27 (72%) des DVE, 19 faces internes (51%) et 4 faces externes (11%).

On retrouvait aussi des fragments de matrice extracellulaire sans bactérie visible sur 16 (43%) DVE, 14 faces externes (38%) et 4 faces internes (11%). L'observation en fluorescence (510-540nm) avec un marquage intercalent de l'ADN Hoechst confirmait que cette matrice était riche en ADN extracellulaire.

Table 3. Résultats des observations en MEB sur les 37 DVE

	DVE	Face externe	Face interne
Absence de bactéries	0	0	0
Bactéries isolées	27 (72)	19 (51)	17 (46)
Matrice extracellulaire isolée	16 (43)	14 (38)	4 (11)
Adhésion	10 (27)	6 (16)	4 (11)
Types de bactéries observées			
Cocci	37 (100)	34 (92)	32 (86)
Bacille	20 (54)	13 (35)	14 (38)
Présence-Taille des cristaux (µm)	12 (32) -4,1	12 (32) -4,1	0-

Figure 1. Distribution du stade le plus évolué de colonisation retrouvé sur les 37 DVE en MEB



Corrélation entre la présence de biofilm et les données cliniques.

Nous n'avons pas retrouvé d'association entre la présence de biofilm et l'ILD ou la colonisation de la DVE en culture ($p = 0,36$). De même, nous n'avons pas retrouvé d'association entre les facteurs de risque d'infection et la présence du biofilm (Table 4).

Table 4. Corrélation entre la présence de biofilm et les données cliniques

	n (%)	Pas de biofilm	Biofilm mature	p
Statut microbiologico-clinique				
Stérile	25 (70)	4 (11)	21 (57)	0,36
Colonisations	9 (25%)	3 (8)	6 (16)	
Infections	3 (8%)	0	3 (8)	
Motifs d'admission				0,53
Facteurs de risque d'infection				
oui	3 (8)	1 (3)	2 (5)	0,51
non	34 (92)	6 (16)	28 (76)	
Antibioprophylaxie				
oui	10 (27)	1 (3)	9 (24)	0,54
non	27 (73)	6 (16)	21 (57)	
Pose en urgence				
oui	32(86)	6 (16)	26 (70)	0,95
non	5 (14)	1 (3)	4 (11)	
Chirurgie>4h	4 (11)	0	4 (11)	0,31
Manipulation de circuit	8 (22)	0	8 (22)	0,12
Déconnection	1 (3)	0	1 (3)	0,62
Injection via la DVE	1 (3)	0	1 (3)	0,62
Fuite de LCR	5 (14)	1 (3)	4 (11)	0,95
Durée de drainage	37 (100)	13,5 [7 - 18,75]	17 [9 - 22,5]	0,18

Next Generation Sequencing

L'extraction et l'amplification des régions hypervariables V1-V2 et V3-V4 du gène codant la sous-unité 16s ribosomale et des ITS1 et ITS2 fongiques ont été réalisées pour l'ensemble des 38 cathéters. Devant la négativité de la migration sur gel et la faible probabilité de colonisation fongique, le séquençage n'a pas été poursuivi pour les ITS. Les dosages picoGreen® réalisés sur l'ensemble des amplicons retrouvaient une concentration d'ADN de 2,66 ng/μL [0,42 ; 29,56] pour les amplicons V1-V2 et de 10,39 ng/μL [0,32 ; 86,51] pour les amplicons V3-V4. L'ensemble des bibliothèques était ensuite normalisé à 4nM en vue du séquençage.

Le séquençage sur Miseq® (Illumina®) a permis de générer un total de 7,20 millions de séquences filtrées de qualité suffisante dont 71.5 % supérieures au Q30. Le nombre de séquences générées et analysables par échantillon était de 63 705 [14 705 ; 135 573] pour les amplicons V1-V2, et de 86 521 [5 747 ; 152 552] pour les amplicons V3-V4. L'analyse par le pipeline bio-informatique PyroMic® a permis l'identification d'espèces bactériennes sur l'ensemble des cathéters pour les deux séries d'amplicons. Les résultats du séquençage des régions V1-V2 étaient superposables aux résultats obtenus pour les régions V3-V4.

Le nombre médian d'OTU retrouvé par échantillon était de 14 [1 ; 34]. Les germes les plus fréquemment rencontrés étaient : *Propionibacterium acnes* sur 29 cathéters (76%), *Beijerinckia fluminensis* sur 27 (71%), *Delftia acidovorans* sur 23 (61%), *Stenotrophomonas maltophilia* sur 21 (55%), *Thermus scotoductus* sur 21 (55%), *Anoxybacillus contaminans* sur 19 (50%), *Staphylococcus epidermidis* sur 15 (39%), *Clostridium sulfidigenes* sur 11 (29%) et *Staphylococcus hominis* sur 11 (29%). Les résultats des identifications pour les cathéters dont la culture était positive respectivement à 10^5 *Escherichia coli*, et à 10^2 Staphylocoques à coagulase négative, étaient concordants avec 99% de séquences d'*Escherichia coli* 7% de séquences de *Staphylococcus* spp. respectivement.

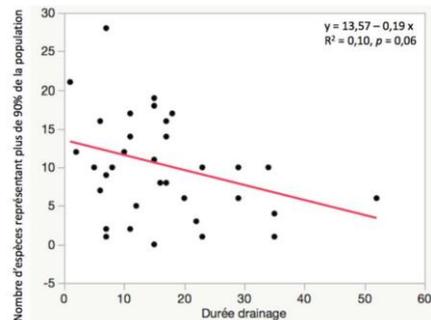
Analyse de l'alpha-diversité

Nous avons utilisé des indices simples de richesse: le nombre d'espèces, et de phylum dénombrés par échantillon, et le nombre d'espèces représentant plus de 90% de la population. Le nombre médian d'espèces identifiées est de 14 [1 ; 34] réparties en 4 [1 ; 6] phyla et dont une médiane de 10 [1 ; 28] représentaient plus de 90% de la population bactérienne identifiée par DVE. Le nombre d'espèce représentant plus de 90% de la

Résultats

population bactérienne par échantillon est corrélé à la durée de drainage en jours avec un $p = 0,06$ proche de la significativité (figure 2).

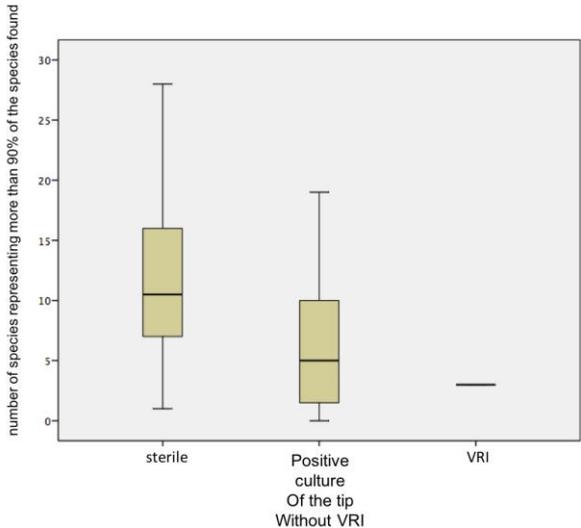
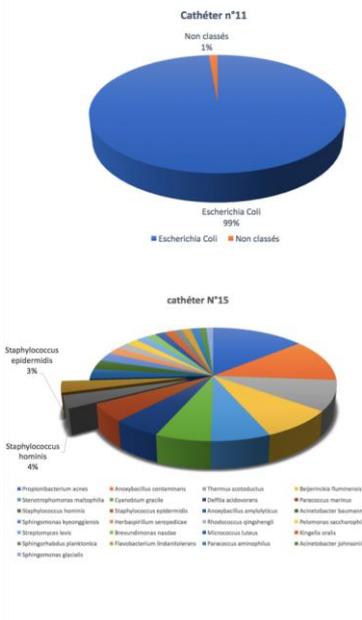
Figure 2. Représentation de la richesse de l'écosystème bactérien (évalué par le nombre d'espèces représentant plus de 90% de la population) par DVE en fonction du temps.



L'analyse de la richesse en fonction du statut clinique était intéressante. Il semblerait qu'il existe une diminution de la diversité bactérienne, évalué par la richesse, en fonction du statut microbiologico-clinique de la DVE (figure 3).

FIGURE 3. Résultat de l'analyse portant sur 38 DVE consécutives, analysées en culture, MEB et NGS. Le cathéter n°11 étant un cathéter infecté, le cathéter n°15 étant un stérile en culture. L'axe des ordonnées des box-plot est une forme de représentation de la diversité (richesse).

Résultats



L'analyse des résultats portant sur l'ensemble de la cohorte est en cours.

PARTIE V

Discussion

Et

Perspectives

DISCUSSION

Nous avons donc réalisé un travail centré sur 2 types de dispositifs neurochirurgicaux qui partagent le fait d'être transdermique (une partie externe, exposée en permanence au monde vivant), de créer une brèche au travers des barrières protectrices du cerveau et d'avoir leur extrémité dans le cerveau. Nous retrouvons des infections associées aux DVE, mais aucune infection pour les capteurs de PIC. Les ILD sont majoritairement à BGN alors que la colonisation des DVE comme des CPIC, faible en culture, est majoritairement due à des germes commensaux comme les staphylocoques à coagulase négatives. Quoiqu'il en soit, quand des ILD à Staphylocoque à coagulase négatives surviennent, celles-ci sont peu inflammatoires et ne semblent pas altérer le pronostic des patients. Cependant nous retrouvons une colonisation ubiquitaire des 2 systèmes avec des techniques plus sensibles. Cette colonisation est essentiellement le fait de bactéries sessiles (en biofilm), expliquant partiellement l'échec de la prévention par les DVE imprégnées d'antibiotiques. Par ailleurs, on a pu montrer que la durée de protection antimicrobienne offerte par ces DIA était de courte durée, durée qui correspond au pic d'infection identifié dans la littérature.

La première étude plante le décor des ILD. On retrouve leurs incidences, leurs épidémiologies, leurs évolutions sous traitement, notamment la durée médiane de positivité des cultures de LCR, et leurs pronostics. L'observation d'une efficacité questionnable par les DIA Bactiseal™ dans la prévention de l'ILD est cependant un résultat intéressant. Cela rappelle que si la prévention semble peu efficace, c'est que la physiopathologie de ces ILM reste mal connue.

Pour comprendre ces infections, nous devons surtout nous pencher sur les ILD, mais l'analyse de la littérature sur les CPIC est d'importance majeure, puisque les CPIC ne sont « jamais » associés à des infections.

Mettant de côté les problèmes de définitions, on sait que les ILD sont assez fréquentes (environ 10-15%) (89,138,147,161). Les infections sont majoritairement à Gram positif (même si dans les études dans lesquelles les antibiotiques sont les plus utilisés, on observe les mêmes taux d'infection mais à Gram négatif (169,172)) et surviennent après un certain délai d'exposition (10 jours). Les facteurs de risque d'ILD les plus consensuels sont la fuite de LCR

autour de la DVE (et peut-être le plus important) (89,138,147), l'hémorragie intraventriculaire, la durée d'exposition et l'injection via la DVE (123,135).

LA DUREE D'EXPOSITION COMME FACTEURS DE RISQUE D'INFECTION ET DE COLONISATION

La physiopathologie ferait intervenir les germes cutanés, avec une progression de la peau jusqu'aux ventricules, en suivant la face externe de la DVE (89). Cette progression se fait essentiellement sous la forme de biofilm, dont l'incidence semble dépendre du temps d'exposition (169). Une seule étude a analysé systématiquement la colonisation et l'infection de DVE (n=32) en utilisant la culture et la microscopie électronique à balayage (169). Dix-huit DVE (56%) sont des DIA (Bactiseal™), quatorze des DVE nues. La durée d'utilisation médiane est de 8 [6-12] jours. Six (19%) ILD et 12 (38%) colonisations sont rapportées, survenues après un délai de 13 jours de drainage. Du biofilm est retrouvé sur 24 (75%) DVE, et sa présence n'est associée ni à la colonisation, ni à l'infection. Il n'existe pas de différence d'incidence de biofilm entre les DIA et les DVE nues. Le temps semble être associé à la formation de biofilm, puisque 50% des DIA et 80% des DVE nues présentent du biofilm avant 7 jours, contre 88 et 89%, respectivement après 7 jours (p=0,1)(169). Nous avons retrouvé des résultats semblables en termes d'incidence de biofilm (question 5, données non publiées mais présenté par Mlle Natacha Kapandji pour son mémoire de Master 2, université Paris Sud, mention : science du médicament, Responsable Pr Janoir, en juin 2017). Nous avons analysé 38 DIA (Bactiseal™) ayant été utilisées pour une médiane de 15 [1 ; 52] jours, et 3 ILD et 9 colonisations sont rapportées dans cette cohorte. Trente (81%) DIA présentent du biofilm mature, mais celui-ci n'est pas associé au délai d'exposition. De manière intéressante, nous retrouvons la même proportion de biofilm sur la face externe que sur la face interne.

La peau est recouverte d'une densité variable mais importante de bactéries (et autres microbes). Au niveau du cuir chevelu, cette densité serait d'environ 10^6 cfu/cm²(80,82,208). La peau, comme toute autre surface exposée au monde vivant, ne peut être stérilisée. L'efficacité à un antiseptique est une réduction de 10^3 organismes au minimum, pour une période de temps donnée (180). Cette période pour les meilleurs antiseptiques est de 6 heures (209). Ce qui signifie que la recolonisation survient en quelques heures,

quantitativement mais pas forcément qualitativement. En d'autres termes, cela veut dire que les soins peuvent induire au cours du temps, une modification progressive du microbiote, composé de bactéries plus résistantes et/ou plus agressives (80,180,208). La vitesse du changement de ce microbiote dépend probablement de la résilience de l'écosystème originel, sans que ce phénomène soit clairement établi chez l'humain (210,211). Dans l'étude déjà citée, étudiant la voie d'infection des DVE, les résultats allaient dans ce sens (89). Les patients ne développant pas d'ILD ne présentaient pas une peau stérile. La culture a mis en évidence une colonisation bactérienne pour 80% d'entre eux, principalement à germes commensaux. A l'inverse, les patients développant une ILD présentaient aussi une colonisation cutanée bactérienne, mais à germes plus pathogènes, non-résidents permanents de ce lieu. On peut se poser la question du rôle des antiseptiques dans les soins locaux ou de l'antibiothérapie, locale ou systémique, dans cette dysbiose, et du temps nécessaire pour l'atteindre. Ceci explique probablement l'échec de la prévention des ILD par l'antibiothérapie systémique peropératoire ou prolongée comme locale par les DIA. Des 3 études randomisées contrôlées comparant DIA et DVE nues, les deux plus importantes ne montrent pas de bénéfices sur l'incidence des infections liées à l'utilisation des DIA (166,186). L'utilisation des antibiotiques est importante dans les 2 bras (> 80% des patients), et dans les 2 études. Ainsi les auteurs rapportent une majorité d'infection par des bacilles Gram négatifs.

Même si les résultats sont quelque fois contradictoires, les études cliniques portant sur les ILD et leur facteurs de risque suggèrent que le risque infectieux augmente avec la durée de cathétérisation (135,138,147,160,167,168,212). Le risque d'infection ne surviendrait qu'à partir du 5^e jour (135). Quel que soit l'étude, les ILD surviendraient surtout autour de J10 (89,147,161). Le débat sur l'association ILD-temps, porte surtout après J10. Cependant il est difficile de répondre à la question, car les durées de drainage excèdent rarement 15 jours.

Peut-être que la confusion qui semble naître avec les études étudiant infection et colonisation avec des techniques plus sensibles que la culture, tient au fait que nous associons la colonisation à l'infection. Peut-être devrions nous les dissocier. Les études utilisant le séquençage ou la microscopie électronique, et portant sur les DVE et les CPIC, retrouvent certes 80% de biofilm mature, mais dans 100% des cas une présence bactérienne. Notre travail en cours sur les DVE en MEB et NGS, retrouve une colonisation de toutes les

DVE (Question 5). Et le travail sur les CPIC retrouve les mêmes résultats, malgré une durée de surveillance inférieure à 5 jours. Ainsi la colonisation serait rapide et « universelle ».

Concernant l'infection, le temps interviendrait sur la modification qualitative de la communauté bactérienne au site. Même si les CPIC ne sont pas associés aux infections, on a retrouvé une diminution de l'alpha-diversité avec l'utilisation des antibiotiques. Dans notre travail en cours, la diminution de cette diversité des DVE semble associée au temps ($p=0,06$), et Stressmann *et al.* retrouvait une diminution de la diversité bactérienne entre les chambres implantables infectées et non infectées (206).

ROLE DE LA DYSBIOSE COMME FACTEUR DE RISQUES D'INFECTION ET DE COLONISATION

Il existe peu de données dans la littérature, qu'elle soit clinique ou fondamentale, sur le rôle de la modification du microbiote dans le développement de l'infection. Des données commencent à émerger au niveau du tube digestif (213–215), microbiote le plus étudié, et de la peau (80,82,208). Mais ce ne sont que les balbutiements, les liens de causalité ne sont pas encore clairs.

L'héritage de Pasteur et Koch ne nous a fait découvrir que la partie émergée de l'iceberg. Nous savons aujourd'hui que nous sommes un super-organisme, et que les microbes le constituent avec nous. La santé de ce super-organisme semble dépendre de l'équilibre entre ces deux parties. Le système immunitaire digestif surveille et écouillonne en permanence le microbiote digestif. Il partage l'information avec le cerveau (215). Certains auteurs ont même parlé du 7^e sens du cerveau, à savoir cette capacité à « sentir » le microbiote présent sur l'ensemble du corps (191). Le système immunitaire ne serait plus là seulement pour reconnaître l'« autre », le « non-soi » et organiser une défense. Il serait là en fait pour participer à l'homéostasie des organes, du super-organisme (113,191). Et son rôle dans la défense de l'intégrité du corps ne serait pas limité au non-soi, mais au « danger », à l'agression, quel qu'elle soit (97). Ainsi, le système immunitaire aurait un rôle important dans la surveillance, le contrôle, le façonnement du microbiote (191,216). Et vice et versa, le microbiote joue souvent un rôle critique dans l'infection en modulant la réponse du système immunitaire (217). Ainsi notre microbiote n'est ni là par hasard, ni composé aléatoirement. Le

rôle de la dysbiose apparaît donc une voie intéressante dans le développement de la maladie, étayé par des études (80,208,213–215).

La stabilité d'un écosystème dépend de sa complexité (211). La dysbiose peut être analysée sous différents angles. En microbiologie traditionnelle, par culture, ce sont les germes retrouvés sur un site : est-ce qu'ils correspondent à ceux censés résider en ce lieu ? Si ce n'est pas le cas, on peut penser qu'un processus de dysbiose leur a laissé la place. En métagénomique, le plus simple et le plus compréhensible est sûrement l'alpha-diversité, elle-même divisée en sous-catégorie : la richesse de l'écosystème et l'équitabilité (evenness). Des travaux expérimentaux ont suggéré que le degré d'équitabilité (proportion de chaque espèce équilibrée entre elles) dans une communauté bactérienne avant une perturbation, affecte la réponse à celle-ci (211).

Tout d'abord, est-ce qu'un matériel étranger transdermique dans une zone de soins (hygiène renforcée avec lavage, soins aux antiseptiques, plus ou moins compresses imprégnées d'antiseptiques laissées en place) reste stérile ? Est-ce que le site cutané est stérilisé par les soins apportés ? Les données des soins intensifs de plaies aiguës ou chroniques montrent que non, et même que la vaseline est excellente pour la cicatrisation, car elle permet la pullulation microbienne (209). Ensuite, les différentes études réalisées en microscopie électronique, que ce soit pour les cathéters centraux, les DVE, les CPIC, montrent toutes une omniprésence bactérienne (162,169,200,218). En microbiologie, l'étude portant sur la voie d'infection des DVE, avec écouvillonnage cutané, retrouve dans 80% des cas une colonisation bactérienne, majoritairement à *Staphylococcus epidermidis*. De manière intéressante, ce taux de colonisation est atteint après le dixième jour (89). Or notre travail (Question 5) portant sur la composition de l'écosystème de la colonisation des DVE, montre que le résultat de la culture microbienne semble dépendre de la diversité microbienne (**Figure 13**).

Discussion & Perspectives

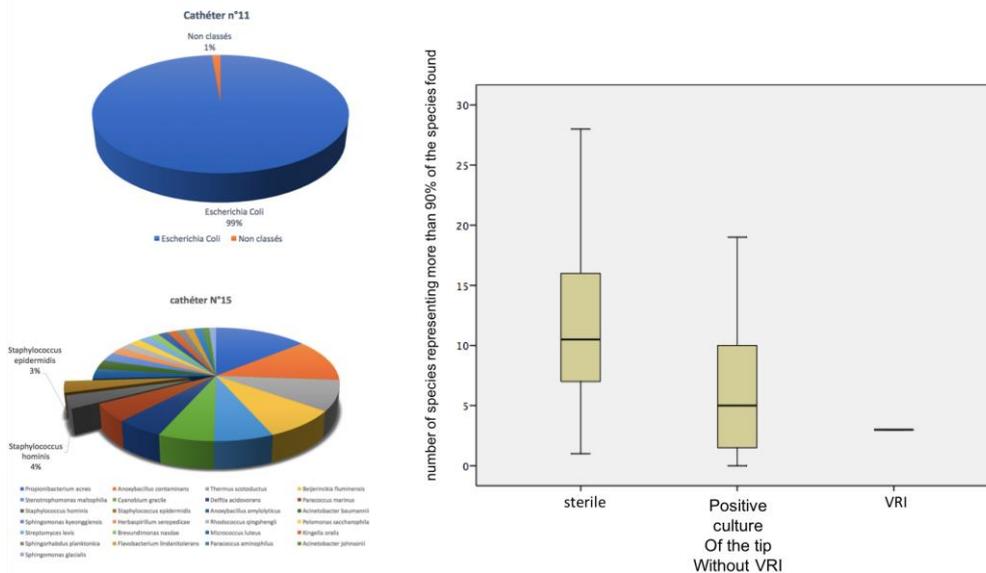


Figure 13. Résultat de l'analyse portant sur 38 DVE consécutives, analysées en culture, MEB et NGS. Le cathéter n°11 étant un cathéter infecté, le cathéter n°15 étant un stérile en culture. L'axe des ordonnées des box-plot est une forme de représentation de la diversité (richesse).

On peut voir sur cette figure, que les DVE stériles en culture montre une très grande diversité bactérienne, et que celle-ci diminue chez les DVE positives en culture mais sans infection, pour ne retrouver aucune diversité chez les ILD. On peut se poser la question de la notion du temps et de son influence sur la perte de la diversité. Et qu'une modification de l'uniformité, c'est-à-dire l'apparition d'une surreprésentation de certaines espèces, rend la culture positive. Ainsi, même l'absence de colonisation en culture, ne signifie pas l'absence de colonisation bactérienne vraie.

La recolonisation, rapide (cf étude des CPIC), est donc une réalité, malgré tous les soins apportés. La question est donc de savoir si la recolonisation se fait avec un microbiote normal ou « pathologique ». On peut effectivement penser qu'un microbiote normal, correspondant à celui de l'individu sain, serait capable de jouer son rôle : protection, mutualisme,... La peau présente de nombreuses niches ou les grandes populations microbiennes sont sujettes à variation en fonction des pressions écologiques (température, pH, humidité, présence de

glandes...). La peau possède une faible diversité de phylum mais une grande diversité d'espèces (80). Et les variations de composition du microbiote cutané sont plus importantes entre les niches distinctes qu'entre individus. En d'autres termes, le site écologique est un déterminant plus important pour la composition du microbiote cutané que les variations génétiques interindividuelle (80). Ainsi, au niveau du cuir chevelu, on peut supposer que la recolonisation se fait avec les bactéries adaptées à cette niche. L'équilibre provient d'une grande diversité bactérienne en bonne proportion. On ne sait pas actuellement si un microbiote altéré retrouve sa composition, ni en combien de temps (80,211). Dans un travail étudiant la colonisation cutané, 80% des sites deviennent colonisés après la 10^e jour, essentiellement à *S. epidermidis* (89). Mais comme on l'a vu la culture est peu sensible : 5% de CPIC positif en culture quand ils sont tous colonisés avec des techniques plus sensibles. Deuxièmement nos données (en cours) montrent un lien entre la diversité bactérienne en NGS et le statut en culture des DVE (**Figure 13**). Enfin, on a longtemps cru que la peau était essentiellement colonisée à *S. epidermidis*, corynebactéries, propionibactéries, *Brevibacterium* et le genre *Micrococcus*. Ceci est dû d'une part, au fait que la majorité des bactéries de cet écosystème ne poussent pas en culture, que ce soit à cause des conditions du laboratoire, que ce soit des anaérobies, des germes à croissance lentes (80). Et d'autres part, qu'elles sont en compétition avec des germes poussant très bien en laboratoire comme le *S. epidermidis* (80). Ainsi, un microbiote se régénérant, ou sain, peut-il apparaître stérile en culture, et devenir positif en culture en cas de déséquilibre en faveur des germes eux-mêmes favorisés par les techniques de laboratoire ?

Pour toute ces raisons, nous ne connaissons pas ou peu les conditions de la recolonisation, surtout qualitativement. De plus, les soins apportés au site d'insertion (antiseptiques...) sont autant de facteurs contribuant à la perturbation de l'écosystème. La façon dont ces soins modifient les conditions et perturbent l'écosystème est mal connue (80). Les cultures quantitatives démontrent que les conditions de températures et d'humidité élevées sont associées à une augmentation quantitative des bactéries (80)... conditions fréquemment retrouvées chez le patient de réanimation alité. Mais qualitativement ?

Et quel effet des antibiotiques, largement utilisés en réanimation ? Pour mémoire, dans les 3 essais randomisés contrôlés sur les DIA, plus de 80% des patients recevaient des antibiotiques systémiques associés (125,141,166). Les études sur les ATB ont avant tout étudié leur efficacité sur la maladie infectieuse (communautaire). Ensuite, sur leur impact dans

l'émergence de la résistance. Mais relativement peu ont étudié leur impact sur la composition et la structure du microbiote naturel chez un individu, par des techniques appropriées et un échantillonnage régulier (211). Les études sur le microbiote digestif ont montré que l'administration de clindamycine pendant 7 jours, entraîne un déclin de la diversité des *Bacteroides* qui peut persister jusqu'à 2 ans post-extubation, et que l'effet de l'association metronidazole-clarythromycine persiste jusqu'à 4 ans (211). De telles études n'ont pas été menées sur le microbiote cutané.

Tous ces résultats suggèrent que la recolonisation dépend de la pression des soins et de la pression antibiotique. En réanimation, ces différentes conditions sont réunies. On peut penser que le microbiote s'altère avec le temps, et que le microbiote naturel est remplacé par un microbiote différent, plus ou moins pathologique, en tout cas largement moins bien adapté à l'hôte, et ne jouant plus forcément son rôle protecteur.

Cette modification pourrait être une simple modification de la richesse. Dans notre travail en cours sur les DVE, nous observons une diminution de la richesse au cours du temps ($p = 0,06$). Stressmann *et al.* étudiant les communautés bactériennes par culture et PCR 16s rRNA, de chambres implantées asymptomatiques et symptomatiques (infectées), retrouvent un nombre d'OTUs significativement ($p=0.0002$) plus importants dans les chambres non associées à une infection (5.4 OTUs/chambre) que dans les chambres symptomatiques (2.5 OTUs/chambre) (206). Nos CPIC qui ne s'infectent pas présentent un nombre d'OTUs médian de 10 [8-12]. Donc une richesse plus importante. Cependant, n'oublions pas que les chambres implantables, même si elles sont ponctionnées régulièrement, ne sont pas exposées en permanence au microbiote cutané comme nos CPIC, ce qui explique probablement notre plus grand nombre d'OTUs par échantillon.

L'analyse de l'équitabilité semble plus intéressante. Stressman *et al.* n'ont pas trouvé de modification significative de l'équitabilité entre les deux types de chambre, cependant, leurs matériels d'observation n'est pas soumis comme le nôtre à une forte pression de colonisation. Nous avons pu observer sur nos CPIC, une modification significative de l'uniformité associée à l'antibioprophylaxie-thérapie. Dans notre travail sur les DVE, en cours, nous avons pu observer une modification de l'équitabilité des espèces en fonction du temps, et que celle-ci semble associée au statut clinique de la DVE. Une grande diversité, bien uniforme, semble donner des DVE stériles en culture, et l'altération de cette répartition

donnerait une culture positive sans infection, puis une infection. Les études cliniques retrouvent aussi un glissement. Dans notre travail (en cours) sur la colonisation des DVE (DIA Bactiseal™), nous avons retrouvé 3 ILD et 9 colonisations. Les ILD sont toutes à entérobactéries, alors que les colonisations sont toutes à *cocci* Gram positif (*Staphylococcus* à coagulase négative dans 75% des cas). Dans l'étude sur la physiopathologie de l'infection de DVE, le robinet du système de drainage de la DVE ainsi que la peau étaient écouvillonnés et envoyés en culture tous les deux jours, pendant une durée médiane de drainage de 13 jours. Les sites cutanés initialement stériles en culture, se sont positivés de plus en plus fréquemment au cours du temps pour obtenir 80% de site colonisé en culture après le 10^e jour (89). Les robinets ont été significativement moins colonisés ($p < 0,0001$). Les colonisations quel que soit le site ont été majoritairement dues aux *Staphylococcus* à coagulase négative : les 6 colonisations observées ont été à plus de 80% à *Staphylococcus* à coagulase négative. Les 10 infections ont été majoritairement dues à des *cocci* Gram positif mais considérés comme pathogènes (non résident permanent normaux cutanés) : *S. aureus*, *E. faecalis*, et deux entérobactéries. La présence d'un pathogène au niveau cutané est fortement associée au risque d'ILD (OR=12, $p=0,002$). Notons que la culture de l'extrémité de la DVE était parfois stérile, mais globalement la corrélation est bonne et l'infection du LCR retrouve le même germe que la culture de l'extrémité de la DVE (89). Dans l'article étudiant la durée de l'action protectrice des DIA, nos infections sont à entérobactérie ($n=2$, 100%), alors que les colonisations sont dues pour 80% à des CGP (4/5, donc 2 *Staphylococcus* à coagulase négative et 2 à *S. aureus*). Ramirez et al., dans leur étude de microcopie, rapportent 6 (19%) ILD, toutes dues à des bactéries à Gram négatif. Les colonisations ($n=12$, 38%) sont majoritairement le fait des bactéries à Gram positif, les *Staphylococcus* à coagulase négative loin en tête (169). Dans notre étude sur la colonisation des CPIC, nos rares cultures positives (5%) le sont à des germes cutanés. Ces résultats suggèrent comme évoqué plus haut, une perte de l'uniformité du microbiote au cours du temps et surtout des facteurs de stress pour le microbiote cutané (soins, antibiotiques). Comme si initialement (étude des CPIC, durée d'exposition médiane 4 j), l'uniformité de la communauté bactérienne était préservée : les CPIC sont stériles en culture. Les modifications de la communauté survenant, un déséquilibre de représentation sans nécessairement de diminution de la richesse de la communauté, conduit à des surreprésentations, notamment à *Staphylococcus* à coagulase négatives, qui poussent bien en condition de laboratoire (80). Les dispositifs présentant une colonisation ont des durées

d'utilisation plus courtes que ceux associées à une infection (89,169,212). Le stade plus ultime de la dysbiose est la présence de bactéries non résidentes permanentes cutanées avec une forte association à l'infection. On peut se poser la question du rôle des ATB dans la modification progressive de la communauté bactérienne, notamment des DIA. La pression bactérienne suite à la perturbation du microbiote cutané, conduirait à la surreprésentation des germes commensaux de l'habitat (*Staphylococcus* à coagulase négatives, *Micrococcus*,...), puis l'action des antibiotiques favoriserait l'apparition de germes plus pathogènes, non-résidents permanents (*S. aureus*), puis des bactéries à Gram négatifs. Ce dernier stade survient sur un terrain de déséquilibre important des populations.

L'étude du microbiote cutané chez ces patients, en fonction du temps et de l'utilisation des ATB (locaux ou systémique) ouvrirait des voies de recherches intéressantes pour étayer ce scénario.

D'autre part, il faudrait étudier la différence de colonisation en culture et MEB, ainsi que de diversité, en fonction du statut de la DVE (stérile, positive en culture), du patient (colonisé/infecté), et ce sur deux types de DVE : imprégnée d'antibiotique et nue.

RÔLE DU BIOFILM SUR LE MATÉRIEL DANS LA STABILITÉ ET LA RÉSILIENCE DE L'ÉCOSYSTÈME.

La littérature sur l'efficacité des matériaux à empêcher l'adhésion, comme les différents travaux discutés ci-dessus, montre que l'adhésion bactérienne est inévitable, d'autant plus que l'exposition au monde vivant est permanente comme c'est le cas pour les dispositifs transdermiques.

La question qui suit est alors : quel rôle peut avoir le matériel dans la stabilité ou la résilience du microbiote cutané ?

Un matériel stérile implanté à travers une zone ayant subi une préparation chirurgicale, va être recolonisé/colonisé rapidement, probablement à partir des berges ayant conservé le microbiote adapté à cet écosystème. Une part importante de la recolonisation, notamment les anaérobies, proviendront des « profondeurs » de la peau, c'est-à-dire des canaux et glandes situés dans le derme. Cette colonisation du matériel est rapide, dans les premiers jours (12, étude soumise sur les CPIC). L'élément nouveau pour ce microbiote est ce matériel

aux conditions physicochimiques complètement différentes de celles pour lesquels il a été sélectionné. Rappelons qu'il existe moins de différence de composition de microbiote (au niveau des phyla) interindividuel qu'entre niche écologique au niveau cutané.

Ce point n'a pas été, à ma connaissance, étudié dans la littérature. Ce qui a été étudié, ce sont les capacités d'empêcher l'adhésion, quel que soit le matériau et quel que soit le site (14,28).

Cependant, on peut penser que la colonisation rapide se fait avec le microbiote cutané, mais peut être avec un équilibre différent de base du fait des conditions physico-chimiques nouvelles.

La formation du biofilm, ou la modification du mode de vie bactérienne en biofilm, est rapide. Le biofilm, on le sait, est caractérisé par ses capacités de tolérance à l'agression, antibiotique compris (54). Cette tolérance devrait donc lui offrir une stabilité ainsi qu'une résilience. Globalement, la résilience est définie comme la capacité d'un système à retrouver son état ou ses fonctions initiales après une perturbation (219,220). L'intérêt de ce concept vient de la prise de conscience que certaines perturbations altèrent la dynamique ou l'équilibre des systèmes. Les systèmes ainsi perturbés retournent vers leur état initial, se régénèrent partiellement ou encore changent complètement d'équilibre. La résilience dépend de la réponse du système étudié à une perturbation. Cependant, de nombreuses divergences existent quant à sa définition et différents consensus et débats émergent selon les domaines d'application. Qu'est-ce qui est résilient ? Le système dans son ensemble ou certaines de ses propriétés ? Et par rapport à quelles perturbations ? Sur quels mécanismes repose la résilience ? Malgré l'importance du concept de résilience en écologie, le terme « résilience du microbiote aux antibiotiques » est quasiment absent de la littérature en bactériologie.

Que se passe-t-il dans un biofilm constamment exposé aux antibiotiques comme c'est le cas avec les DIA ?

Dans le cas où la perturbation est une molécule antibiotique, les bactéries regroupées sous la forme de communautés appelées biofilms sont particulièrement bien adaptées pour faire face. En effet, les biofilms sont des groupes de microorganismes adhérents entre eux et à une surface, capables d'adopter des comportements collectifs et de survivre à des traitements antibiotiques qui seraient létaux vis-à-vis de microorganismes sous forme individuelle (54). La

réponse des biofilms bactériens aux antibiotiques dépend de mécanismes biologiques variés tels que la survenue de bactéries dormantes, des mutations, des transferts horizontaux de gènes, ou encore l'hétérogénéité génétique et phénotypique de ces communautés. A cela s'ajoute le phénomène de persistance bactérienne qui repose sur la formation de sous-populations de cellules tolérantes aux antibiotiques. Ce phénomène assure la survie et la régénération des populations bactériennes face à des traitement antibiotiques et facilite l'émergence de cellules résistantes (58). Bref, ce biofilm en présence d'antibiotique, pourrait être à l'origine d'une profonde dysbiose. Les CPIC non imprégnés d'ATB, provoquerait moins de dysbiose, et le déséquilibre mettrait plus de temps à se faire. L'infection étant théoriquement possible. L'action locale des ATB n'est évidemment pas le seul facteur d'ILD, car les DVE nues s'accompagne d'ILD.

Cependant, la dysbiose pourrait survenir avant, c'est-à-dire à la phase d'adhésion. Effectivement, ce sont bien des bactéries planctoniques qui vont venir adhérer au DIA, or celles-ci sont pleinement sensibles aux antibiotiques et une modification de l'écosystème pourrait ainsi survenir avant même la formation du biofilm, conduisant déjà à un biofilm composé de bactéries différentes de celles de la niche initiale. D'autant plus que les conditions physico-chimiques ne sont plus les mêmes. Cependant, ce serait peut-être plus une modification de l'homogénéité qui serait induite, car il semble bien que les bactéries sensibles à la clindamycine-rifampicine se fixe à la DVE pour donner ensuite des infections _.

Ainsi, le voile de l'ignorance est-il encore posé sur le type d'écosystème se mettant initialement en place sur les dispositifs transdermiques, leur stabilité notamment grâce au biofilm et leur résilience en cas d'agression, notamment par les soins locaux et les antibiotiques.

EFFICACITE DE LA PREVENTION PAR LES ANTIBIOTIQUES

On ne reviendra pas sur l'intérêt de l'antibioprophylaxie durant la durée de l'exposition, consensuellement non recommandée, car trop délétère sur le microbiote, et pouvant même (!) augmenter la mortalité (172). Même si l'antibioprophylaxie ponctuelle lors de la pose est actuellement recommandé, son intérêt peut être questionné. Les données de la littérature ont un faible niveau de preuve et sont contradictoires (172). Le bon sens va à l'encontre de

cette pratique. Les effets délétères sont largement connus, et nous les avons assez décrits ; les avantages semblent inexistantes puisque les ILD surviennent surtout au 10^e jour (loin de toute action persistante directe de l'antibiotique) et que les dispositifs sont soumis à une forte pression bactérienne.

Alors effectivement les DIA semblaient une alternative fortement intéressante. Les effets secondaires sont largement diminués (sauf au site), et l'activité antibiotique est durable. Cependant, leur efficacité pour prévenir l'infection, semblent modestes ou inexistantes. Les études randomisées contrôlées, malgré leurs biais, ne trouvent pas de bénéfices en termes infections. Les ILD surviennent avec une même incidence, toujours autour ou un peu après le 10^e jour, mais sont plus souvent dues à des BGN (125,141,166). Notre études sur l'histoire naturelle des ILD sous traitement adapté retrouve des germes normalement censés être éliminés par ces DIA (161), puisque la durée de protection pour ces germes, retrouvée par les études *ex vivo*, dépasse les 50 jours (119,198). Une des hypothèses découlant de cette observation, est la progression sous forme de biofilm, rendant l'action des antibiotiques caduques, et donc une inefficacité globale de ce type de dispositif. Bayston et al., dans une étude *ex vivo* sur le mécanisme d'action des DIA Bactiseal™, ont retrouvé en MEB des bactéries sur les DIA, mais l'analyse de la vitalité a démontré des bactéries mortes (221). Les DIA n'empêchent pas l'adhésion mais tuent les bactéries avant qu'elles ne se développent ou forment du biofilm. Cependant, l'exposition bactérienne ne durait qu'une heure et ne comprenait que du *S. epidermidis*. Le renouvellement de population par des germes moins sensibles n'était pas possible. Ramirez *et al.* ont montré, sur les DIA utilisées en clinique, la forte présence de biofilm, dès les premiers jours (169). La culture retrouve majoritairement du CoNS et de l'*Acinetobacter*. Malheureusement, pour le CoNS, nous ne connaissons pas leur profil de résistance. Cependant, assez d'études montrent des ILD sur DIA avec des germes sensibles (161), c'est-à-dire que les bactéries ont survécu à l'adhésion, construit, fait leurs modifications phénotypiques au temps fort de l'activité antibiotique. Ainsi, en pratique clinique, les bactéries sont capables d'adhérer aux DIA, de survivre et de « construire » leur cité.

La deuxième hypothèse, serait l'action protectrice plus courte des DIA en pratique clinique. Hypothèse que nous avons testée, découvrant des DIA qui n'avait plus d'activité après 10j ou 1500 mL de LCR drainé, vis-à-vis de certains germes. On aurait dans ce cas un risque

d'infection biphasique. Peu de risque les 10-15 premiers jours, puis un risque normal. La littérature n'est pas en accord avec ce risque biphasique. Ce mécanisme de perte d'activité pourrait s'associer à d'autres mécanisme comme le biofilm, pour expliquer les ILD des DIA avec des germes sensibles. Les données de notre étude de durée de protection, les études des DIA en MEB et les études randomisées contrôlées vont finalement toutes dans le même sens, les DIA semblent dénuées de toute efficacité !

Les DIA, à défaut d'efficacité pourraient être délétères en modifiant ce microbiote colonisant les dispositifs transdermiques ? En sélectionnant uniquement une partie de celui-ci ? En favorisant l'adhésion de germes résistants initialement qui « feraient le travail », permettant ensuite d'accueillir les germes sensibles ? En favorisant une communauté bactérienne instable et non résiliente ? Incapable de jouer son rôle d'effet barrière ? Et quid de cette exposition probablement prolongée à des concentrations subinhibitrices d'ATB ?

Rappelons qu'en plus, les ATB peuvent augmenter la virulence bactérienne (222).

PERSPECTIVES

Finalement, si le biofilm est inévitable sur ces dispositifs, ce qui a bien l'air d'être le cas, autant l'accepter et faire en sorte de sélectionner un microbiote stable et résilient, sans risque ou peu, d'ILD. On pourrait imaginer des dispositifs transdermiques, dont le revêtement mimerait les conditions physicochimiques de la peau au niveau d'implantation. Le microbiote naturel pourrait alors coloniser le dispositif, dans son équilibre, et jouer pleinement son rôle.

Cette proposition inquiète encore, le vieux spectre de la bactérie tueuse est encore bien présente dans nos esprits. Mais de telles stratégies thérapeutiques commencent à être testées et utilisées avec succès. Le meilleur exemple est celui de la colite à *Clostridium difficile*. La colite à *Clostridium difficile* est une maladie induite par les antibiotiques et son traitement a pendant longtemps fait intervenir les antibiotiques...le serpent qui se mord la queue ! La révolution thérapeutique de cette pathologie est venue... de nos amis, ces bactéries qui nous veulent du bien (223)! Cette approche n'est pourtant pas tout à fait nouvelle. Elle a longtemps été utilisée chez les animaux d'élevage, par exemple, pour prévenir la salmonellose chez les poulets (224). Cette thérapeutique a aussi été testée avec de bons

résultats dans la rectocolite hémorragique (225). Dans ces cas, c'est la transplantation d'un écosystème entier qui est réalisé.

L'utilisation de bactéries non pathogènes afin de prévenir la colonisation a aussi été étudiée. Les bactéries utilisées sont adaptées au lieu d'implantation, et coloniseraient efficacement la surface afin d'empêcher des bactéries plus pathogène d'adhérer (210). La souche d'*E. coli* 83972 responsable de bactériurie asymptomatique est totalement dénuée de facteurs de virulence et n'entraînent pas d'inflammation vésicale. Il a été observé que l'antibiothérapie des patients présentant une bactériurie asymptomatique conduit à l'augmentation du risque d'infection urinaire. L'hypothèse a été faite que cette souche d'*E. coli* prévenait les infections urinaires. Depuis plusieurs études cliniques ont démontré que l'inoculation vésicale de cette souche bactérienne avait des effets bénéfiques (diminution de la récurrence des infections urinaire durant les 12 mois post-inoculation) (226).

Une piste de travail particulièrement intéressante serait ainsi l'étude des variations temporelles du microbiote en fonction du statut ILD ou non. L'analyse du microbiote le plus stable pourrait conduire à le tester dans sa capacité d'adhésion pour un matériau facilitateur, aux conditions physicochimiques proches de celles du cuir chevelu. Il serait aussi intéressant de tester les capacités protectrices de ces DVE imprégnées de microbiote dénué de pathogénicité : les bioDVE !!! Cette idée n'est pas si nouvelle car Darouiche l'évoquait déjà en 2001 (12). Et il a été montré *in vitro*, que le recouvrement d'un polymère par *Lactobacillus acidophilus*, diminuait l'adhésion d'*E. coli* (227). Cependant, ce n'était pas le microbiote naturel adapté au site écologique qui était testé.

Le microbiote colonisant la DVE pourrait être celui du patient, prélevé à l'admission, ou un microbiote standard, comme dans le cas de la thérapie fécale, provenant d'une somme de donneurs sains, la variation interindividuelle du microbiote cutané pour une niche donnée étant faible (80).

Certes le risque infectieux existera toujours, et ces bioDVE pourraient probablement être à l'origine d'ILD. Cependant, ces germes étant sans virulence, ils induiraient une réaction inflammatoire faible. Les pathogènes accidentels (29) ! C'est ce qu'on a montré dans le travail qui étudiait la gravité et le pronostic des infections neuroméningées à CoNS (160). Les infections à CoNS induisent très peu d'inflammation, et n'altèrent pas le pronostic du patient.

Conclusion

CONCLUSION

Nous avons confirmé les infections associées aux DIA/DVE, défini leur évolution sous traitement adapté et leur mortalité. Nous n'avons pas retrouvé de facteurs de risque de mauvaise évolution. Par contre, les infections avec des *Staphylococcus* à coagulase négative semblent ne pas modifier le pronostic de la maladie sous-jacente. Nous n'avons pas retrouvé d'infection liée aux capteurs de pression intracrânienne. Les ILD sont majoritairement à BGN alors que la colonisation des DVE comme des CPIC en culture, est majoritairement due à des germes commensaux comme les staphylocoques à coagulase négative. Cependant nous retrouvons une colonisation ubiquitaire des 2 systèmes avec des techniques plus sensibles. Cette colonisation est essentiellement le fait de bactéries sessiles (en biofilm), expliquant partiellement l'échec de la prévention par les DVE imprégnées d'antibiotiques. La diversité bactérienne colonisant les CPIC est importante, principalement due à des bactéries environnementales, et est compromise par les antibiotiques. La dysbiose générée avec le temps, pourrait avoir un rôle dans l'infection. Par ailleurs, on a pu montrer que la durée de protection antimicrobienne offerte par ces DIA était de courte durée, durée qui correspondait au pic d'infection dans la littérature.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Jun 9;95(12):6578–83.
2. Marrie TJ, Nelligan J, Costerton JW. A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead. *Circulation*. 1982 Dec;66(6):1339–41.
3. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M, et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol*. 1987;41:435–64.
4. Dobzhansky T. Nothing in Biology Makes Sense except in the Light of Evolution. *The American Biology Teacher*. The National Association of Biology Teachers. 1973 Mar;vol 35, 125-129.
5. Claverie J-M. Viruses take center stage in cellular evolution. *Genome Biol*. 2006;7(6):110.
6. Claverie J-M, Abergel C. Les virus sont-ils vraiment des virus? *Virologie*. 2013;17(4):217–28.
7. Forterre P, Gribaldo S, Brochier C. [Luca: the last universal common ancestor]. *Med Sci MS*. 2005 Oct;21(10):860–5.
8. Van Valen L. A new evolutionary law. *Evol Theory*. 1973;1bay:1–30.
9. Casadevall A, Pirofski L. The damage-response framework of microbial pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2003 Oct;1(1):17–24.
10. Casadevall A, Pirofski L. Microbiology: Ditch the term pathogen. *Nature*. 2014 Dec 11;516(7530):165–6.
11. Williams DF, Roaf R. Implants in surgery. *Br J Surg*. 1974 Dec;61(12):987.
12. Darouiche RO. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2001 Nov 1;33(9):1567–72.
13. Zimmerli W. Implanted devices: biocompatibility, infection and tissue engineering. *Semin Immunopathol*. 2011 May;33(3):219–20.
14. Darouiche RO. Treatment of infections associated with surgical implants. *N Engl J Med*. 2004 Apr 1;350(14):1422–9.
15. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Crit Care Med*. 1999 May;27(5):887–92.

Références bibliographiques

16. Mounier R, Kapandji N, Birnbaum R, Cook F, Rodriguez C, Nebbad B, et al. Biofilm-associated infection: the hidden face of cerebrospinal fluid shunt malfunction. *Acta Neurochir (Wien)*. 2016 Dec;158(12):2321–4.
17. Carney N, Totten AM, O'Reilly C, Ullman JS, Hawryluk GWJ, Bell MJ, et al. Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, Fourth Edition. *Neurosurgery*. 2017 Jan 1;80(1):6–15.
18. Lang J-M, Beck J, Zimmermann M, Seifert V, Raabe A. Clinical evaluation of intraparenchymal Spiegelberg pressure sensor. *Neurosurgery*. 2003 Jun;52(6):1455–9; discussion 1459.
19. Bekar A, Doğan S, Abaş F, Caner B, Korfali G, Kocaeli H, et al. Risk factors and complications of intracranial pressure monitoring with a fiberoptic device. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas*. 2009 Feb;16(2):236–40.
20. Gelabert-González M, Ginesta-Galan V, Sernamito-García R, Allut AG, Bandin-Diéguez J, Rumbo RM. The Camino intracranial pressure device in clinical practice. Assessment in a 1000 cases. *Acta Neurochir (Wien)*. 2006 Apr;148(4):435–41.
21. Signorini DF, Shad A, Piper IR, Statham PF. A clinical evaluation of the Codman MicroSensor for intracranial pressure monitoring. *Br J Neurosurg*. 1998 Jun;12(3):223–7.
22. Martínez-Mañas RM, Santamarta D, de Campos JM, Ferrer E. Camino intracranial pressure monitor: prospective study of accuracy and complications. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000 Jul;69(1):82–6.
23. Poca M-A, Sahuquillo J, Arribas M, Báguena M, Amorós S, Rubio E. Fiberoptic intraparenchymal brain pressure monitoring with the Camino V420 monitor: reflections on our experience in 163 severely head-injured patients. *J Neurotrauma*. 2002 Apr;19(4):439–48.
24. Ostrup RC, Luerssen TG, Marshall LF, Zornow MH. Continuous monitoring of intracranial pressure with a miniaturized fiberoptic device. *J Neurosurg*. 1987 Aug;67(2):206–9.
25. Gupta DK, Bisht A, Batra P, Mathur P, Mahapatra AK. A cost effectiveness based safety and efficacy study of resterilized intra-parenchymal catheter based intracranial pressure monitoring in developing world. *Asian J Neurosurg*. 2016 Dec;11(4):416–20.
26. Shapiro S, Bowman R, Callahan J, Wolfla C. The fiberoptic intraparenchymal cerebral pressure monitor in 244 patients. *Surg Neurol*. 1996 Mar;45(3):278–82.
27. Rebuck JA, Murry KR, Rhoney DH, Michael DB, Coplin WM. Infection related to intracranial pressure monitors in adults: analysis of risk factors and antibiotic prophylaxis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000 Sep;69(3):381–4.

Références bibliographiques

28. Rochford ETJ, Richards RG, Moriarty TF. Influence of material on the development of device-associated infections. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 Dec;18(12):1162–7.
29. Otto M. Staphylococcus epidermidis--the “accidental” pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2009 Aug;7(8):555–67.
30. Otto M. Molecular basis of Staphylococcus epidermidis infections. *Semin Immunopathol*. 2012 Mar;34(2):201–14.
31. Darouiche RO, Landon GC, Patti JM, Nguyen LL, Fernau RC, McDevitt D, et al. Role of Staphylococcus aureus surface adhesins in orthopaedic device infections: are results model-dependent? *J Med Microbiol*. 1997 Jan;46(1):75–9.
32. Heukelekian H, Heller A. Relation between Food Concentration and Surface for Bacterial Growth. *J Bacteriol*. 1940 Oct;40(4):547–58.
33. Zobell CE. The Effect of Solid Surfaces upon Bacterial Activity. *J Bacteriol*. 1943 Jul;46(1):39–56.
34. Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ. How bacteria stick. *Sci Am*. 1978 Jan;238(1):86–95.
35. Richards JJ, Melander C. Controlling bacterial biofilms. *Chembiochem Eur J Chem Biol*. 2009 Sep 21;10(14):2287–94.
36. Reysenbach AL, Ehringer M, Hershberger K. Microbial diversity at 83 degrees C in Calcite Springs, Yellowstone National Park: another environment where the Aquificales and “Korarchaeota” coexist. *Extrem Life Extreme Cond*. 2000 Feb;4(1):61–7.
37. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004 Feb;2(2):95–108.
38. Ramey BE, Koutsoudis M, von Bodman SB, Fuqua C. Biofilm formation in plant-microbe associations. *Curr Opin Microbiol*. 2004 Dec;7(6):602–9.
39. Southey-Pillig CJ, Davies DG, Sauer K. Characterization of temporal protein production in Pseudomonas aeruginosa biofilms. *J Bacteriol*. 2005 Dec;187(23):8114–26.
40. Ren D, Bedzyk LA, Thomas SM, Ye RW, Wood TK. Gene expression in Escherichia coli biofilms. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2004 May;64(4):515–24.
41. Mah T-F, Pitts B, Pellock B, Walker GC, Stewart PS, O’Toole GA. A genetic basis for Pseudomonas aeruginosa biofilm antibiotic resistance. *Nature*. 2003 Nov 20;426(6964):306–10.
42. Soberón-Chávez G, Lépine F, Déziel E. Production of rhamnolipids by Pseudomonas aeruginosa. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2005 Oct;68(6):718–25.

Références bibliographiques

43. Sheikh J, Czczulin JR, Harrington S, Hicks S, Henderson IR, Le Bouguéne C, et al. A novel dispersin protein in enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Clin Invest*. 2002 Nov;110(9):1329–37.
44. Pecharki D, Petersen FC, Scheie AA. Role of hyaluronidase in *Streptococcus intermedius* biofilm. *Microbiol Read Engl*. 2008 Mar;154(Pt 3):932–8.
45. Kaplan JB. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *J Dent Res*. 2010 Mar;89(3):205–18.
46. Kjelleberg S, Molin S. Is there a role for quorum sensing signals in bacterial biofilms? *Curr Opin Microbiol*. 2002 Jun;5(3):254–8.
47. Lebeaux david, Ghigo J-M. Infections associées aux biofilms: Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale ? *Medecine/science*. 2012;28:727–39.
48. Mounier R, Kapandji N, Birnbaum R, Cook F, Rodriguez C, Nebbad B, et al. Biofilm-associated infection: the hidden face of cerebrospinal fluid shunt malfunction. *Acta Neurochir (Wien)*. 2016 Dec;158(12):2321–4.
49. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorni MG, Casalta J-P, Del Zotti F, et al. [2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC)]. *G Ital Cardiol* 2006. 2016 Apr;17(4):277–319.
50. Justice SS, Hunstad DA, Seed PC, Hultgren SJ. Filamentation by *Escherichia coli* subverts innate defenses during urinary tract infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Dec 26;103(52):19884–9.
51. Teitzel GM, Parsek MR. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol*. 2003 Apr;69(4):2313–20.
52. Leid JG, Shirtliff ME, Costerton JW, Stoodley P. Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Infect Immun*. 2002 Nov;70(11):6339–45.
53. Dibdin GH, Assinder SJ, Nichols WW, Lambert PA. Mathematical model of beta-lactam penetration into a biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* while undergoing simultaneous inactivation by released beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 1996 Nov;38(5):757–69.
54. Lebeaux D, Ghigo J-M, Beloin C. Biofilm-Related Infections: Bridging the Gap between Clinical Management and Fundamental Aspects of Recalcitrance toward Antibiotics. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2014 Sep 1;78(3):510–43.
55. Flemming H-C, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*. 2010 Sep;8(9):623–33.

Références bibliographiques

56. Anderl JN, Zahller J, Roe F, Stewart PS. Role of nutrient limitation and stationary-phase existence in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Apr;47(4):1251–6.
57. Spoering AL, Lewis K. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *J Bacteriol*. 2001 Dec;183(23):6746–51.
58. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol*. 2007 Jan;5(1):48–56.
59. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, Coenye T, Donelli G, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clin Microbiol Infect*. 2015 May;21:S1–25.
60. Hall-Stoodley L, Stoodley P, Kathju S, Høiby N, Moser C, Costerton JW, et al. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2012 Jul;65(2):127–45.
61. Oliva A, Nguyen BL, Mascellino MT, D’Abramo A, Iannetta M, Ciccaglioni A, et al. Sonication of explanted cardiac implants improves microbial detection in cardiac device infections. *J Clin Microbiol*. 2013 Feb;51(2):496–502.
62. Penterman J, Nguyen D, Anderson E, Staudinger BJ, Greenberg EP, Lam JS, et al. Rapid evolution of culture-impaired bacteria during adaptation to biofilm growth. *Cell Rep*. 2014 Jan 30;6(2):293–300.
63. Melloul E, Luiggi S, Anaïs L, Arné P, Costa J-M, Fihman V, et al. Characteristics of *Aspergillus fumigatus* in Association with *Stenotrophomonas maltophilia* in an In Vitro Model of Mixed Biofilm. *PloS One*. 2016;11(11):e0166325.
64. Bjarnsholt T, Jensen PØ, Fiandaca MJ, Pedersen J, Hansen CR, Andersen CB, et al. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*. 2009 Jun;44(6):547–58.
65. Woese CR, Fox GE. The concept of cellular evolution. *J Mol Evol*. 1977 Sep 20;10(1):1–6.
66. Sontakke S, Cadenas MB, Maggi RG, Diniz PPVP, Breitschwerdt EB. Use of broad range 16S rDNA PCR in clinical microbiology. *J Microbiol Methods*. 2009 Mar;76(3):217–25.
67. Fournier P-E, Thuny F, Richet H, Lepidi H, Casalta J-P, Arzouni J-P, et al. Comprehensive diagnostic strategy for blood culture-negative endocarditis: a prospective study of 819 new cases. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2010 Jul 15;51(2):131–40.
68. Patel JD, Colton E, Ebert M, Anderson JM. Gene expression during *S. epidermidis* biofilm formation on biomaterials. *J Biomed Mater Res A*. 2012 Nov;100(11):2863–9.
69. Hudetz D, Ursic Hudetz S, Harris LG, Luginbühl R, Friederich NF, Landmann R. Weak effect of metal type and *ica* genes on staphylococcal infection of titanium and stainless

Références bibliographiques

- steel implants. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2008 Dec;14(12):1135–45.
70. Chakfé N, Dieval F, Thaveau F, Rinckenbach S, Hassani O, Camelot G, et al. [Vascular graft prosthesis]. *Ann Chir*. 2004 Jun;129(5):301–9.
71. Gómez-Barrena E, Esteban J, Medel F, Molina-Manso D, Ortiz-Pérez A, Cordero-Ampuero J, et al. Bacterial adherence to separated modular components in joint prosthesis: a clinical study. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc*. 2012 Oct;30(10):1634–9.
72. Hayes JS, Richards RG. Surfaces to control tissue adhesion for osteosynthesis with metal implants: in vitro and in vivo studies to bring solutions to the patient. *Expert Rev Med Devices*. 2010 Jan;7(1):131–42.
73. Hetrick EM, Schoenfisch MH. Reducing implant-related infections: active release strategies. *Chem Soc Rev*. 2006 Sep;35(9):780–9.
74. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008 Jul;29(20):2941–53.
75. Zimmerli W, Waldvogel FA, Vaudaux P, Nydegger UE. Pathogenesis of foreign body infection: description and characteristics of an animal model. *J Infect Dis*. 1982 Oct;146(4):487–97.
76. Hosman AH, Bulstra SK, Sjollem J, van der Mei HC, Busscher HJ, Neut D. The influence of Co-Cr and UHMWPE particles on infection persistence: an in vivo study in mice. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc*. 2012 Mar;30(3):341–7.
77. Eberl. A new vision of immunity: homeostasis of the superorganism. In: *Microbial ecology in states of health and disease*. Washington DC: National Academies Press; 2014. p. 548.
78. Bach J-F. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med*. 2002 Sep 19;347(12):911–20.
79. Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. Redefining chronic viral infection. *Cell*. 2009 Jul 10;138(1):30–50.
80. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 2011 Apr;9(4):244–53.
81. Oh J, Byrd AL, Park M, NISC Comparative Sequencing Program, Kong HH, Segre JA. Temporal Stability of the Human Skin Microbiome. *Cell*. 2016 May 5;165(4):854–66.
82. Grice EA, Kong HH, Conlan S, Deming CB, Davis J, Young AC, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science*. 2009 May 29;324(5931):1190–2.
83. Cogen AL, Yamasaki K, Muto J, Sanchez KM, Crotty Alexander L, Tanios J, et al. *Staphylococcus epidermidis* antimicrobial delta-toxin (phenol-soluble modulins-gamma)

Références bibliographiques

- cooperates with host antimicrobial peptides to kill group A Streptococcus. *PLoS One*. 2010 Jan 5;5(1):e8557.
84. Cogen AL, Yamasaki K, Sanchez KM, Dorschner RA, Lai Y, MacLeod DT, et al. Selective antimicrobial action is provided by phenol-soluble modulins derived from *Staphylococcus epidermidis*, a normal resident of the skin. *J Invest Dermatol*. 2010 Jan;130(1):192–200.
 85. Duckney P, Wong HK, Serrano J, Yaradou D, Oddos T, Stamatias GN. The role of the skin barrier in modulating the effects of common skin microbial species on the inflammation, differentiation and proliferation status of epidermal keratinocytes. *BMC Res Notes*. 2013 Nov 18;6:474.
 86. James GA, Swogger E, Wolcott R, Pulcini E deLancey, Secor P, Sestrich J, et al. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc*. 2008 Feb;16(1):37–44.
 87. Smith DM, Snow DE, Rees E, Zischkau AM, Hanson JD, Wolcott RD, et al. Evaluation of the bacterial diversity of pressure ulcers using bTEFAP pyrosequencing. *BMC Med Genomics*. 2010 Sep 21;3:41.
 88. Gontcharova V, Youn E, Sun Y, Wolcott RD, Dowd SE. A comparison of bacterial composition in diabetic ulcers and contralateral intact skin. *Open Microbiol J*. 2010 Mar 17;4:8–19.
 89. Mounier R, Lobo D, Cook F, Martin M, Attias A, Ait-Mamar B, et al. From the Skin to the Brain: Pathophysiology of Colonization and Infection of External Ventricular Drain, a Prospective Observational Study. *PLoS One*. 2015;10(11):e0142320.
 90. Pradeu T. [Uncertainties about the self and the issue of the proper theoretical model in immunology]. *Med Sci MS*. 2005 Oct;21(10):872–5.
 91. Pradeu T, Carosella ED. [Critical analysis of the immunological self/non-self model and of its implicit metaphysical foundations]. *C R Biol*. 2004 May;327(5):481–92.
 92. Pradeu T, Carosella ED. On the definition of a criterion of immunogenicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Nov 21;103(47):17858–61.
 93. Maharaj B, Coovadia Y, Vayej AC. An investigation of the frequency of bacteraemia following dental extraction, tooth brushing and chewing. *Cardiovasc J Afr*. 2012 Jul;23(6):340–4.
 94. Smith DA, Nehring SM. Bacteremia. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018 [cited 2018 Aug 3]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441979/>
 95. Jerne NK. Towards a network theory of the immune system. *Ann Immunol*. 1974 Jan;125C(1–2):373–89.

Références bibliographiques

96. Vaz NM, Varela FJ. Self and non-sense: an organism-centered approach to immunology. *Med Hypotheses*. 1978 Jun;4(3):231–67.
97. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002 Apr 12;296(5566):301–5.
98. Pradeu T, Vivier E. The discontinuity theory of immunity. *Sci Immunol*. 2016 Jul 14;1(1).
99. Eberl G, Pradeu T. Towards a General Theory of Immunity? *Trends Immunol*. 2017 Dec 8;
100. Asehnoune K, Hotchkiss RS, Monneret G. Understanding why clinicians should care about danger-associated molecular patterns. *Intensive Care Med*. 2016 Apr;42(4):611–4.
101. Gentile LF, Moldawer LL. DAMPs, PAMPs, and the origins of SIRS in bacterial sepsis. *Shock Augusta Ga*. 2013 Jan;39(1):113–4.
102. Norris GT, Kipnis J. Immune cells and CNS physiology: Microglia and beyond. *J Exp Med*. 2019 Jan 7;216(1):60–70.
103. Eberl G. Immunity by equilibrium. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(8):524–32.
104. Uehara Y, Nakama H, Agematsu K, Uchida M, Kawakami Y, Abdul Fattah AS, et al. Bacterial interference among nasal inhabitants: eradication of *Staphylococcus aureus* from nasal cavities by artificial implantation of *Corynebacterium* sp. *J Hosp Infect*. 2000 Feb;44(2):127–33.
105. Antonio MAD, Hillier SL. DNA fingerprinting of *Lactobacillus crispatus* strain CTV-05 by repetitive element sequence-based PCR analysis in a pilot study of vaginal colonization. *J Clin Microbiol*. 2003 May;41(5):1881–7.
106. Williams CF, Klinzman D, Yamashita TE, Xiang J, Polgreen PM, Rinaldo C, et al. Persistent GB virus C infection and survival in HIV-infected men. *N Engl J Med*. 2004 Mar 4;350(10):981–90.
107. D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ. Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ*. 2002 Jun 8;324(7350):1361.
108. Bogaert D, van Belkum A, Sluijter M, Luijendijk A, de Groot R, Rümke HC, et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Lancet Lond Engl*. 2004 Jun 5;363(9424):1871–2.
109. Regev-Yochay G, Dagan R, Raz M, Carmeli Y, Shainberg B, Derazne E, et al. Association between carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in Children. *JAMA*. 2004 Aug 11;292(6):716–20.
110. Brogden KA, Guthmiller JM, Taylor CE. Human polymicrobial infections. *Lancet Lond Engl*. 2005 Jan 15;365(9455):253–5.

Références bibliographiques

111. Mathisen GE, Johnson JP. Brain abscess. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1997 Oct;25(4):763–79; quiz 780–1.
112. Nau R, Sörgel F, Eiffert H. Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Oct;23(4):858–83.
113. Kipnis J. Multifaceted interactions between adaptive immunity and the central nervous system. *Science*. 2016 Aug 19;353(6301):766–71.
114. Greenwood J, Heasman SJ, Alvarez JI, Prat A, Lyck R, Engelhardt B. Review: leucocyte-endothelial cell crosstalk at the blood-brain barrier: a prerequisite for successful immune cell entry to the brain. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2011 Feb;37(1):24–39.
115. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*. 2010 May;11(5):373–84.
116. Hanamsagar R, Hanke ML, Kielian T. Toll-like receptor (TLR) and Inflammasome Actions in the Central Nervous System: New and Emerging Concepts. *Trends Immunol*. 2012 Jul;33(7):333–42.
117. Kipnis J, Cohen H, Cardon M, Ziv Y, Schwartz M. T cell deficiency leads to cognitive dysfunction: implications for therapeutic vaccination for schizophrenia and other psychiatric conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 May 25;101(21):8180–5.
118. Mendes M, Moore P, Wheeler CB, Winn HR, Rodeheaver G. Susceptibility of brain and skin to bacterial challenge. *J Neurosurg*. 1980 Jun;52(6):772–5.
119. Bayston R, Grove N, Siegel J, Lawellin D, Barsham S. Prevention of hydrocephalus shunt catheter colonisation in vitro by impregnation with antimicrobials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1989 May;52(5):605–9.
120. Schade RP, Schinkel J, Roelandse FWC, Geskus RB, Visser LG, van Dijk JMC, et al. Lack of value of routine analysis of cerebrospinal fluid for prediction and diagnosis of external drainage-related bacterial meningitis. *J Neurosurg*. 2006 Jan;104(1):101–8.
121. Chi H, Chang K-Y, Chang H-C, Chiu N-C, Huang F-Y. Infections associated with indwelling ventriculostomy catheters in a teaching hospital. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 2010 Mar;14(3):e216-219.
122. Tamburrini G, Massimi L, Caldarelli M, Di Rocco C. Antibiotic impregnated external ventricular drainage and third ventriculostomy in the management of hydrocephalus associated with posterior cranial fossa tumours. *Acta Neurochir (Wien)*. 2008 Oct;150(10):1049–55; discussion 1055-1056.
123. Aucoin PJ, Kotilainen HR, Gantz NM, Davidson R, Kellogg P, Stone B. Intracranial pressure monitors. Epidemiologic study of risk factors and infections. *Am J Med*. 1986 Mar;80(3):369–76.

Références bibliographiques

124. Harrop JS, Sharan AD, Ratliff J, Prasad S, Jabbour P, Evans JJ, et al. Impact of a standardized protocol and antibiotic-impregnated catheters on ventriculostomy infection rates in cerebrovascular patients. *Neurosurgery*. 2010 Jul;67(1):187–91; discussion 191.
125. Wong GKC, Ip M, Poon WS, Mak CWK, Ng RYT. Antibiotics-impregnated ventricular catheter versus systemic antibiotics for prevention of nosocomial CSF and non-CSF infections: a prospective randomised clinical trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010 Oct;81(10):1064–7.
126. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control*. 2008 Jun;36(5):309–32.
127. Bogdahn U, Lau W, Hassel W, Gunreben G, Mertens HG, Brawanski A. Continuous-pressure controlled, external ventricular drainage for treatment of acute hydrocephalus—evaluation of risk factors. *Neurosurgery*. 1992 Nov;31(5):898–903; discussion 903-904.
128. Muttaiyah S, Ritchie S, Upton A, Roberts S. Clinical parameters do not predict infection in patients with external ventricular drains: a retrospective observational study of daily cerebrospinal fluid analysis. *J Med Microbiol*. 2008 Feb;57(Pt 2):207–9.
129. Chatzi M, Karvouniaris M, Makris D, Tsimitrea E, Gatos C, Tasiou A, et al. Bundle of measures for external cerebral ventricular drainage-associated ventriculitis. *Crit Care Med*. 2014 Jan;42(1):66–73.
130. Camacho EF, Boszczowski I, Basso M, Jeng BCP, Freire MP, Guimarães T, et al. Infection rate and risk factors associated with infections related to external ventricular drain. *Infection*. 2011 Feb;39(1):47–51.
131. Leverstein-van Hall MA, Hopmans TEM, van der Sprenkel JWB, Blok HEM, van der Mark WAMA, Hanlo PW, et al. A bundle approach to reduce the incidence of external ventricular and lumbar drain-related infections. *J Neurosurg*. 2010 Feb;112(2):345–53.
132. Walti LN, Conen A, Coward J, Jost GF, Trampuz A. Characteristics of infections associated with external ventricular drains of cerebrospinal fluid. *J Infect*. 2013 May;66(5):424–31.
133. Scheithauer S, Bürgel U, Ryang Y-M, Haase G, Schiefer J, Koch S, et al. Prospective surveillance of drain associated meningitis/ventriculitis in a neurosurgery and neurological intensive care unit. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009 Dec;80(12):1381–5.
134. Schlenk F, Frieler K, Nagel A, Vajkoczy P, Sarrafzadeh AS. Cerebral microdialysis for detection of bacterial meningitis in aneurysmal subarachnoid hemorrhage patients: a cohort study. *Crit Care Lond Engl*. 2009;13(1):R2.

Références bibliographiques

135. Mayhall CG, Archer NH, Lamb VA, Spadora AC, Baggett JW, Ward JD, et al. Ventriculostomy-related infections. A prospective epidemiologic study. *N Engl J Med*. 1984 Mar 1;310(9):553–9.
136. Clark WC, Muhlbauer MS, Lowrey R, Hartman M, Ray MW, Watridge CB. Complications of intracranial pressure monitoring in trauma patients. *Neurosurgery*. 1989 Jul;25(1):20–4.
137. Kim DK, Uttley D, Bell BA, Marsh HT, Moore AJ. Comparison of rates of infection of two methods of emergency ventricular drainage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1995 Apr;58(4):444–6.
138. Lyke KE, Obasanjo OO, Williams MA, O'Brien M, Chotani R, Perl TM. Ventriculitis complicating use of intraventricular catheters in adult neurosurgical patients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2001 Dec 15;33(12):2028–33.
139. Paramore CG, Turner DA. Relative risks of ventriculostomy infection and morbidity. *Acta Neurochir (Wien)*. 1994;127(1–2):79–84.
140. Stenager E, Gerner-Smidt P, Kock-Jensen C. Ventriculostomy-related infections--an epidemiological study. *Acta Neurochir (Wien)*. 1986;83(1–2):20–3.
141. Zabramski JM, Whiting D, Darouiche RO, Horner TG, Olson J, Robertson C, et al. Efficacy of antimicrobial-impregnated external ventricular drain catheters: a prospective, randomized, controlled trial. *J Neurosurg*. 2003 Apr;98(4):725–30.
142. Hoefnagel D, Dammers R, Ter Laak-Poort MP, Avezaat CJJ. Risk factors for infections related to external ventricular drainage. *Acta Neurochir (Wien)*. 2008 Mar;150(3):209–14; discussion 214.
143. Gutiérrez-González R, Boto GR, González N, Viudez I, Pérez-Zamarrón A, Rivero-Garvía M. [Effect of antibiotic-impregnated catheters on the incidence of infection after cerebrospinal fluid shunting]. *Med Clin (Barc)*. 2008 Jun 28;131(4):121–4.
144. Pfisterer W, Mühlbauer M, Czech T, Reinprecht A. Early diagnosis of external ventricular drainage infection: results of a prospective study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003 Jul;74(7):929–32.
145. Hetem DJ, Woerdeman PA, Bonten MJM, Ekkelenkamp MB. Relationship between bacterial colonization of external cerebrospinal fluid drains and secondary meningitis: a retrospective analysis of an 8-year period. *J Neurosurg*. 2010 Dec;113(6):1309–13.
146. Mounier R, Lobo D, Cook F, Fratani A, Attias A, Martin M, et al. Clinical, biological, and microbiological pattern associated with ventriculostomy-related infection: a retrospective longitudinal study. *Acta Neurochir (Wien)*. 2015 Dec;157(12):2209–17; discussion 2217.

Références bibliographiques

147. Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr. Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery*. 2002 Jul;51(1):170–81; discussion 181-182.
148. Hader WJ, Steinbok P. The value of routine cultures of the cerebrospinal fluid in patients with external ventricular drains. *Neurosurgery*. 2000 May;46(5):1149–53; discussion 1153-1155.
149. Pfausler B, Beer R, Engelhardt K, Kemmler G, Mohsenipour I, Schmutzhard E. Cell index—a new parameter for the early diagnosis of ventriculostomy (external ventricular drainage)-related ventriculitis in patients with intraventricular hemorrhage? *Acta Neurochir (Wien)*. 2004 May;146(5):477–81.
150. Beer R, Lackner P, Pfausler B, Schmutzhard E. Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. *J Neurol*. 2008 Nov;255(11):1617–24.
151. Sessler DI. Mild perioperative hypothermia. *N Engl J Med*. 1997 Jun 12;336(24):1730–7.
152. Sessler DI. Temperature monitoring and perioperative thermoregulation. *Anesthesiology*. 2008 Aug;109(2):318–38.
153. Brain Trauma Foundation, American Association of Neurological Surgeons, Congress of Neurological Surgeons, Joint Section on Neurotrauma and Critical Care, AANS/CNS, Bratton SL, Chestnut RM, et al. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. XI. Anesthetics, analgesics, and sedatives. *J Neurotrauma*. 2007;24 Suppl 1:S71-76.
154. Brain Trauma Foundation, American Association of Neurological Surgeons, Congress of Neurological Surgeons, Joint Section on Neurotrauma and Critical Care, AANS/CNS, Bratton SL, Chestnut RM, et al. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. III. Prophylactic hypothermia. *J Neurotrauma*. 2007;24 Suppl 1:S21-25.
155. Brain Trauma Foundation, American Association of Neurological Surgeons, Congress of Neurological Surgeons. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2007;24 Suppl 1:S1-106.
156. Dimopoulos G, Falagas ME. Approach to the febrile patient in the ICU. *Infect Dis Clin North Am*. 2009 Sep;23(3):471–84.
157. Van de Beek D, Drake JM, Tunkel AR. Nosocomial bacterial meningitis. *N Engl J Med*. 2010 Jan 14;362(2):146–54.
158. Weisfelt M, van de Beek D, Spanjaard L, de Gans J. Nosocomial bacterial meningitis in adults: a prospective series of 50 cases. *J Hosp Infect*. 2007 May;66(1):71–8.
159. Vinchon M, Dhellemmes P. Cerebrospinal fluid shunt infection: risk factors and long-term follow-up. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. 2006 Jul;22(7):692–7.

Références bibliographiques

160. Couffin S, Lobo D, Cook F, Jost PH, Bitot V, Birnbaum R, et al. Coagulase-negative staphylococci are associated to the mild inflammatory pattern of healthcare-associated meningitis: a retrospective study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2018 Jan 20;
161. Mounier R, Birnbaum R, Cook F, Jost P-H, Martin M, Aït-Mamar B, et al. Natural history of ventriculostomy-related infection under appropriate treatment and risk factors of poor outcome: a retrospective study. *J Neurosurg*. 2018 Nov 1;1–10.
162. Raad I, Hanna H, Maki D. Intravascular catheter-related infections: advances in diagnosis, prevention, and management. *Lancet Infect Dis*. 2007 Oct;7(10):645–57.
163. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 2018 Mar;16(3):143–55.
164. Anaissie E, Samonis G, Kontoyiannis D, Costerton J, Sabharwal U, Bodey G, et al. Role of catheter colonization and infrequent hematogenous seeding in catheter-related infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 1995 Feb;14(2):134–7.
165. von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis*. 2002 Nov;2(11):677–85.
166. Pople I, Poon W, Assaker R, Mathieu D, Iantosca M, Wang E, et al. Comparison of infection rate with the use of antibiotic-impregnated vs standard extraventricular drainage devices: a prospective, randomized controlled trial. *Neurosurgery*. 2012 Jul;71(1):6–13.
167. Schultz M, Moore K, Foote AW. Bacterial ventriculitis and duration of ventriculostomy catheter insertion. *J Neurosci Nurs J Am Assoc Neurosci Nurses*. 1993 Jun;25(3):158–64.
168. Holloway KL, Barnes T, Choi S, Bullock R, Marshall LF, Eisenberg HM, et al. Ventriculostomy infections: the effect of monitoring duration and catheter exchange in 584 patients. *J Neurosurg*. 1996 Sep;85(3):419–24.
169. Ramírez P, Gordón M, Soriano A, Gil-Perotin S, Marti V, Gonzalez-Barbera EM, et al. Assessment of the in vivo formation of biofilm on external ventricular drainages. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2013 Nov;32(11):1437–43.
170. Ricard J-D, Wolff M, Lacherade J-C, Mourvillier B, Hidri N, Barnaud G, et al. Levels of vancomycin in cerebrospinal fluid of adult patients receiving adjunctive corticosteroids to treat pneumococcal meningitis: a prospective multicenter observational study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2007 Jan 15;44(2):250–5.
171. Mounier R, Lobo D, Hulin A, Nebbad B, Cook F, Dhonneur G. Is First-Line Vancomycin Still the Best Option to Treat Staphylococcus Health Care-Associated Meningitis? *World Neurosurg*. 2016 Dec 27;

Références bibliographiques

172. Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A, Byers K, Kaplan SL, Michael Scheld W, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2017 14;
173. Pfaller MA, Flamm RK, Duncan LR, Streit JM, Castanheira M, Sader HS. Antimicrobial activity of ceftobiprole and comparator agents when tested against contemporary Gram-positive and -negative organisms collected from Europe (2015). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018 May;91(1):77–84.
174. Pfausler B, Spiss H, Beer R, Kampl A, Engelhardt K, Schober M, et al. Treatment of staphylococcal ventriculitis associated with external cerebrospinal fluid drains: a prospective randomized trial of intravenous compared with intraventricular vancomycin therapy. *J Neurosurg*. 2003 May;98(5):1040–4.
175. Pfausler B, Haring HP, Kampl A, Wissel J, Schober M, Schmutzhard E. Cerebrospinal fluid (CSF) pharmacokinetics of intraventricular vancomycin in patients with staphylococcal ventriculitis associated with external CSF drainage. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1997 Sep;25(3):733–5.
176. Wilkie MD, Hanson MF, Statham PF, Brennan PM. Infections of cerebrospinal fluid diversion devices in adults: the role of intraventricular antimicrobial therapy. *J Infect*. 2013 Mar;66(3):239–46.
177. Wang J-H, Lin P-C, Chou C-H, Ho C-M, Lin K-H, Tsai C-T, et al. Intraventricular antimicrobial therapy in postneurosurgical Gram-negative bacillary meningitis or ventriculitis: a hospital-based retrospective study. *J Microbiol Immunol Infect Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi*. 2014 Jun;47(3):204–10.
178. Ziai WC, Lewin JJ. Improving the role of intraventricular antimicrobial agents in the management of meningitis. *Curr Opin Neurol*. 2009 Jun;22(3):277–82.
179. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2004 Nov 1;39(9):1267–84.
180. Kramer A, Dissemond J, Kim S, Willy C, Mayer D, Papke R, et al. Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. *Skin Pharmacol Physiol*. 2018;31(1):28–58.
181. Alleyne CH, Hassan M, Zabramski JM. The efficacy and cost of prophylactic and perioperative antibiotics in patients with external ventricular drains. *Neurosurgery*. 2000 Nov;47(5):1124–7; discussion 1127-1129.
182. Cinibulak Z, Aschoff A, Apedjinou A, Kaminsky J, Trost HA, Krauss JK. Current practice of external ventricular drainage: a survey among neurosurgical departments in Germany. *Acta Neurochir (Wien)*. 2016 May;158(5):847–53.

Références bibliographiques

183. Blomstedt GC. Results of trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in ventriculostomy and shunting procedures. A double-blind randomized trial. *J Neurosurg*. 1985 May;62(5):694–7.
184. Poon WS, Ng S, Wai S. CSF antibiotic prophylaxis for neurosurgical patients with ventriculostomy: a randomised study. *Acta Neurochir Suppl*. 1998;71:146–8.
185. Bayston R, Lambert E. Duration of protective activity of cerebrospinal fluid shunt catheters impregnated with antimicrobial agents to prevent bacterial catheter-related infection. *J Neurosurg*. 1997 Aug;87(2):247–51.
186. Wong GKC, Poon WS, Ng SCP, Ip M. The impact of ventricular catheter impregnated with antimicrobial agents on infections in patients with ventricular catheter: interim report. *Acta Neurochir Suppl*. 2008;102:53–5.
187. May AK, Fleming SB, Carpenter RO, Diaz JJ, Guillaumondegui OD, Deppen SA, et al. Influence of broad-spectrum antibiotic prophylaxis on intracranial pressure monitor infections and subsequent infectious complications in head-injured patients. *Surg Infect*. 2006 Oct;7(5):409–17.
188. Stoikes NF, Magnotti LJ, Hodges TM, Weinberg JA, Schroepfel TJ, Savage SA, et al. Impact of intracranial pressure monitor prophylaxis on central nervous system infections and bacterial multi-drug resistance. *Surg Infect*. 2008 Oct;9(5):503–8.
189. Winfield JA, Rosenthal P, Kanter RK, Casella G. Duration of intracranial pressure monitoring does not predict daily risk of infectious complications. *Neurosurgery*. 1993 Sep;33(3):424–30; discussion 430–431.
190. Jensen RL, Hahn YS, Ciro E. Risk factors of intracranial pressure monitoring in children with fiberoptic devices: a critical review. *Surg Neurol*. 1997 Jan;47(1):16–22.
191. Kipnis J. The Seventh Sense. *Sci Am*. 2018 Jul 17;319(2):28–35.
192. Martin E, Hohl P, Guggi T, Kayser FH, Fernex M. Short course single daily ceftriaxone monotherapy for acute bacterial meningitis in children: results of a Swiss multicenter study. Part I: Clinical results. *Infection*. 1990 Apr;18(2):70–7.
193. van de Beek D, de Gans J, Tunkel AR, Wijdicks EFM. Community-acquired bacterial meningitis in adults. *N Engl J Med*. 2006 Jan 5;354(1):44–53.
194. Kanegaye JT, Soliemanzadeh P, Bradley JS. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. *Pediatrics*. 2001 Nov;108(5):1169–74.
195. Peltola H, Anttila M, Renkonen OV. Randomised comparison of chloramphenicol, ampicillin, cefotaxime, and ceftriaxone for childhood bacterial meningitis. Finnish Study Group. *Lancet Lond Engl*. 1989 Jun 10;1(8650):1281–7.
196. Nathan N, Borel T, Djibo A, Evans D, Djibo S, Corty JF, et al. Ceftriaxone as effective as long-acting chloramphenicol in short-course treatment of meningococcal meningitis

Références bibliographiques

- during epidemics: a randomised non-inferiority study. *Lancet Lond Engl*. 2005 Jul 23;366(9482):308–13.
197. van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med*. 2004 Oct 28;351(18):1849–59.
198. Bayston R, Lambert E. Duration of protective activity of cerebrospinal fluid shunt catheters impregnated with antimicrobial agents to prevent bacterial catheter-related infection. *J Neurosurg*. 1997;87(2):247–251.
199. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, Coenye T, Donelli G, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2015 May;21 Suppl 1:S1-25.
200. Braxton EE, Ehrlich GD, Hall-Stoodley L, Stoodley P, Veeh R, Fux C, et al. Role of biofilms in neurosurgical device-related infections. *Neurosurg Rev*. 2005 Oct;28(4):249–55.
201. Meredith FT, Phillips HK, Reller LB. Clinical utility of broth cultures of cerebrospinal fluid from patients at risk for shunt infections. *J Clin Microbiol*. 1997 Dec;35(12):3109–11.
202. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999 May 21;284(5418):1318–22.
203. Rupp ME. Clinical characteristics of infections in humans due to *Staphylococcus epidermidis*. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2014;1106:1–16.
204. Rogers KL, Fey PD, Rupp ME. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2009 Mar;23(1):73–98.
205. Pattavilakom A, Kotasnas D, Korman TM, Xenos C, Danks A. Duration of in vivo antimicrobial activity of antibiotic-impregnated cerebrospinal fluid catheters. *Neurosurgery*. 2006 May;58(5):930–5; discussion 930-935.
206. Stressmann FA, Couve-Deacon E, Chainier D, Chauhan A, Wessel A, Durand-Fontanier S, et al. Comparative Analysis of Bacterial Community Composition and Structure in Clinically Symptomatic and Asymptomatic Central Venous Catheters. *mSphere*. 2017 Oct;2(5).
207. Srinivasan VM, O'Neill BR, Jho D, Whiting DM, Oh MY. The history of external ventricular drainage. *J Neurosurg*. 2014 Jan;120(1):228–36.
208. Kong HH, Segre JA. Skin microbiome: looking back to move forward. *J Invest Dermatol*. 2012 Mar;132(3 Pt 2):933–9.
209. Gorj M, Revol M. [What is the scientific basis of our surgical beliefs?]. *Ann Chir Plast Esthet*. 2015 Feb;60(1):3–11.
210. Reid G, Howard J, Gan BS. Can bacterial interference prevent infection? *Trends Microbiol*. 2001 Sep;9(9):424–8.

Références bibliographiques

211. Relman DA. The human microbiome: ecosystem resilience and health. *Nutr Rev.* 2012 Aug;70 Suppl 1:S2-9.
212. Mounier R, Lobo D, Cook F, Fratani A, Attias A, Martin M, et al. Clinical, biological, and microbiological pattern associated with ventriculostomy-related infection: a retrospective longitudinal study. *Acta Neurochir (Wien).* 2015 Sep 12;
213. Oligschlaeger Y, Yadati T, Houben T, Condello Oliván CM, Shiri-Sverdlov R. Inflammatory Bowel Disease: A Stressed “Gut/Feeling.” *Cells.* 2019 Jun 30;8(7).
214. Siljander H, Honkanen J, Knip M. Microbiome and type 1 diabetes. *EBioMedicine.* 2019 Jun 27;
215. Collins SM, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol.* 2012 Nov;10(11):735–42.
216. Falkow S. Bacterial pathogenicity: an historical and experimental perspective. In: *Microbial evolution and Co-evolution: a tribute to the life and scientific legacies of Joshua Lederberg.* Washington (DC): national academic press. 2009. p. 126–37.
217. Hand TW. The Role of the Microbiota in Shaping Infectious Immunity. *Trends Immunol.* 2016;37(10):647–58.
218. Yousif A, Jamal MA, Raad I. Biofilm-based central line-associated bloodstream infections. *Adv Exp Med Biol.* 2015;830:157–79.
219. Todman LC, Fraser FC, Corstanje R, Deeks LK, Harris JA, Pawlett M, et al. Defining and quantifying the resilience of responses to disturbance: a conceptual and modelling approach from soil science. *Sci Rep.* 2016 22;6:28426.
220. Konopka A, Lindemann S, Fredrickson J. Dynamics in microbial communities: unraveling mechanisms to identify principles. *ISME J.* 2015 Jul;9(7):1488–95.
221. Bayston R, Ashraf W, Bhundia C. Mode of action of an antimicrobial biomaterial for use in hydrocephalus shunts. *J Antimicrob Chemother.* 2004 May;53(5):778–82.
222. Hodille E, Rose W, Diep BA, Goutelle S, Lina G, Dumitrescu O. The Role of Antibiotics in Modulating Virulence in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev.* 2017;30(4):887–917.
223. Vindigni SM, Surawicz CM. Fecal Microbiota Transplantation. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017;46(1):171–85.
224. Nurmi E, Rantala M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature.* 1973 Jan 19;241(5386):210–1.
225. Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol.* 2003 Jul;37(1):42–7.

Références bibliographiques

226. Sundén F, Håkansson L, Ljunggren E, Wullt B. Escherichia coli 83972 bacteriuria protects against recurrent lower urinary tract infections in patients with incomplete bladder emptying. *J Urol.* 2010 Jul;184(1):179–85.
227. Hawthorn LA, Reid G. Exclusion of uropathogen adhesion to polymer surfaces by *Lactobacillus acidophilus*. *J Biomed Mater Res.* 1990 Jan;24(1):39–46.

Annexes

Annexe 1 : SUPPLEMENTARY DATA de la Question 3

Supplementary Methods

Catheter insertion and maintenance.

Catheter insertion. antibiotic-impregnated external ventricular drain (AI-EVD) were inserted under aseptic condition in the operating room. Prior to AI-EVD insertion, the patient's skull was clipped and skin prepared with standard sterile techniques (povidone-iodine solution). CSF was obtained through the catheter and sent for analysis. Then, the catheter was subcutaneously tunneled (>5 cm) and sutured. Finally, an occlusive dressing was placed. Our institutional policy does not recommend antimicrobial prophylaxis.

Catheter maintenance. Hand hygiene is a common standard protocol in the ICU and particularly while maintaining and manipulating AI-EVD system. It included at least 2 separate hand washing episodes with hydro-alcoholic solution, one just before and one just after AI-EVD handling. Our procedures of AI-EVD maintenance imposes that AI-EVD insertion sites are cleaned (povidone iodine procedure) at bedside and redressed every 48 hours, unless soiled, as defined in our institutional policy. For this purpose, an ICU nurse wearing a hair cap and a face mask removed the covering dressing with sterile gloves. The sites were inspected for CSF leaks or local skin signs of infection. The nurse then removed the first pair of gloves and standard hands hygiene was performed for a second time, before putting another pair of sterile gloves. A new sterile tightly occlusive gauze dressing was applied to the site. Our policies recommend that the dressing is tightly occlusive. After application of a covering sterile dressing, the system remained entirely closed.

Catheter manipulation. A written protocol is systematically followed for catheter manipulations. The sampling of the CSF was performed daily via the drip chamber stopcock following a standardized aseptic technique including: hair covering cap, face mask, hand hygiene, sterile gloves sterile field, and disinfection of the connecting sites using chlorhexidine-ethanol solution. Only ICU staffs were involved with the sampling procedure. The external collecting bags of the drainage system were changed on a daily basis using sterile technique.

Routine Microbiological procedures

Daily CSF samples were sent to the laboratory for direct examination, Gram staining, and culture. Culture media included 5% horse blood agar, Polivitex agar (in 5% CO₂), TSA, Drigalski agar plates and Schaedler broth (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France). Inoculated media were incubated at 35–37°C, for 5 days. Regarding AI-EVD, after reception, section 1 was vortexed during 10 seconds in 1 mL of sterile saline (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France). Ten milliliters of the obtained dilution were plated on both blood and Polivitex agar plates with the help of the WASP automatic system (Wasp, Beckman Coulter, Villepinte, France) and incubated at 35°C in aerobic and in 5% CO₂ atmospheres respectively; cultures were observed at 24 and 48 hours. Microbial identification was performed using the Andromas MALDI-TOF system (Andromas, Beckman Coulter, Villepinte, France). Antibiotic susceptibility testings were performed using the WalkAway microdilution automatic system (Beckman Coulter, Villepinte, France) for species belonging to *Staphylococcus* genus. Agar diffusion method was performed for all other species and the results were interpreted according to the CA-SFM – EUCAST 2017 recommendations (www.sfm-microbiologie.org).

Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) equipment and conditions

The chromatographic system was coupled to an Accela[®] autosampler and a triple quadrupole QuantumUltra[®] mass spectrometer equipped with an Ion Max electrospray ionization (ESI) interface and operated with XCalibur[®] 2.07 software (ThermoFisherScientific, Courtaboeuf France). Separation was performed on an Hypersil Gold[®] (2.1x100 mm; pore size 1.9 μm) analytical column placed in a thermostated column heater at 55°C. The mobile phase was 10 mM formate ammonium buffer containing 0.1% (v/v) formic acid (solution A), and methanol with 0.1 % (v/v) formic acid (solution B). It was delivered at 400 $\mu\text{L}/\text{min}$ using the following stepwise gradient program: initial conditions of 80:20 (A:B) for 0.5 minutes, run from 80:20 (A:B) at 0.5 minutes to obtain 5:95 (A:B) at 7 minutes, conditions maintained from 7 to 7.5 minutes, run from 5:95 (A:B) at 7.5 minutes to 80:20 (A:B) at 8.0 minutes maintained to 9 minutes for equilibration. MS conditions were ESI in positive mode, capillary temperature: 325 °C; 10V, spray voltage: 3500 V; sheath and auxiliary gas (nitrogen) flow-rate: 45 and 25 (arbitrary units), respectively. The Q2 collision gas (argon) pressure was 1.5 mTorr. Data are acquired in selected reaction monitoring (SRM) mode; SRM transitions, collision energy for each analyte were 425.2/125.98 at 34V and 425.2/141.76 at 25V for clindamycin and 823.3/791.4 at 14V and 823.3/398.9 at 31V for rifampicin. Two transitions were selected for each analyte in order to improve the specificity of the assay: one was used for the quantitation and the other one for confirmation. Confirmation of positive quantifications in samples requires the additional SRM transition and the evaluation of ion ratios between the two monitored transitions. The confirmation criteria using tandem mass spectrometry cover a range of maximum permitted tolerances for relative ion intensity expressed as a percentage of the intensity of the most intense transition.

Quadrupole resolution on Q1 and Q3 were set to 0.7 amu FWHM. Scan width was 0.05 amu and scan time 40 msec. Data acquisition was performed using the Xcalibur[®] (version 2.07) (ThermoScientific, San Jose, CA, USA), and processing was performed using LC-Quan[®] (version 2.5) (ThermoScientific, San Jose, CA, USA).

LLOQ were 0.2 mg/L for the two drugs. Intra-and inter-day precision was evaluated by RSD with a maximum of 7.8 and 8.5% respectively for rifampicin and clindamycin. Accuracy was performed with maximum bias of 5.3 and 6.1% respectively for rifampicin and clindamycin.

The percentages of recovery were not assessed with an aqueous solution containing drugs because the concentration of antibiotics in new EVD was unknown. Using similar extraction conditions (same methanol volume and vortexing time), we observed a maximum coefficient of variation (CV) of 5.1 and 5.3 % for clindamycin and rifampicin.

Supplementary Tables

Table S1. Characteristics of the 2 ventriculostomy-related infections (VRI) and 5 ventriculostomy-related colonizations (VRC) occurring among 56 patients in a neurosurgical intensive care unit.

	VRI		VRC				
	1	2	1	2	3	4	5
Sex (M/F)	M	F	M	M	F	M	F
Age (y)	70	45	70	20	71	66	44
Reason for admission							
SHA	-	1	-	-	-	1	-
Intraventricular hemorrhage	1	-	1	-	-	-	-
Others	1	-	1	1	1	-	1
WFNS score	-	4	-	-	-	3	-
Initial GCS score	14	8	14	14	7	6	10
SAPS II	12	28	12	16	30	39	32
Extraneurological infection	0	0	0	0	0	1	0
Antimicrobials	0	0	0	0	0	1	0
Time from AI-EVD placement to VRI	9	15	-	-	-	-	-
Volume of drained CSF at VRI	1346	2759	-	-	-	-	-
bacteria	<i>C. koseri</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
LOC (d)	18	15	26	14	9	15	8
Overall volume of drained CSF (mL)	2242	2759	4118	3353	728	1033	1570
GOSE (3 m)	3	8	3	8	4	1	8
Mortality (3 m)	No	No	No	No	No	Yes	No
NOTE. The 2 <i>S. aureus</i> were rifampicin and clindamycin-susceptible, without inducible resistance. The antibiotic susceptibilities of the <i>S. epidermidis</i> were not performed. AI-EVD, antimicrobial-impregnated external ventricular drain; CSF, cerebrospinal fluid; CNS, central nervous system; GCS, Glasgow coma scale; GOSE, Glasgow outcome scale extended; ICU, intensive care unit; SAPSII, simplified acute physiologic score; VRC, ventriculostomy-related colonization; VRI, ventriculostomy-related infection; WFNS, World Federation of Neurologic Surgeons.							

Table S2. Results of the 3 control experiments performed with a new antibiotic-impregnated external ventricular drain.

	MRSA	MSSA	MRSE
Internal AI-EVD diameter (mm)	16	26	28
External AI-EVD diameter (mm)	15	24	25
Bactericidal activity (cfu/mL)	-	10^2	10^2
Bacteriostatic activity (cfu/mL)	10^2 - 10^8	10^3 - 10^7	10^3 - 10^7
No activity (cfu/mL)	-	10^8	10^8

Note. Inner and Outer antibiotic-impregnated external ventricular drain (AI-EVD) diameters are defined as the inhibitory diameter surrounding each side of the AI-EVD after being cut and positioned on agar plate and read after 18 hours. The antimicrobial activity for each strain depends of the inoculum and are expressed in colony forming unit (cfu)/mL.

AI-EVD, antibiotic-impregnated external ventricular drain; MRSA, methicillin-susceptible *S. aureus*; MRSE, methicillin-resistant *S. epidermidis*; MSSA, methicillin-susceptible *S. aureus*.

Supplementary Figures

Figure S1. Figure showing an example of the result of infusion of two AI-EVD (X and Y) after 18-hour incubation with two different bacterial inoculum (10^4 and 10^5 cfu/mL) in Brain-Heart Infusion (BHI) broth.

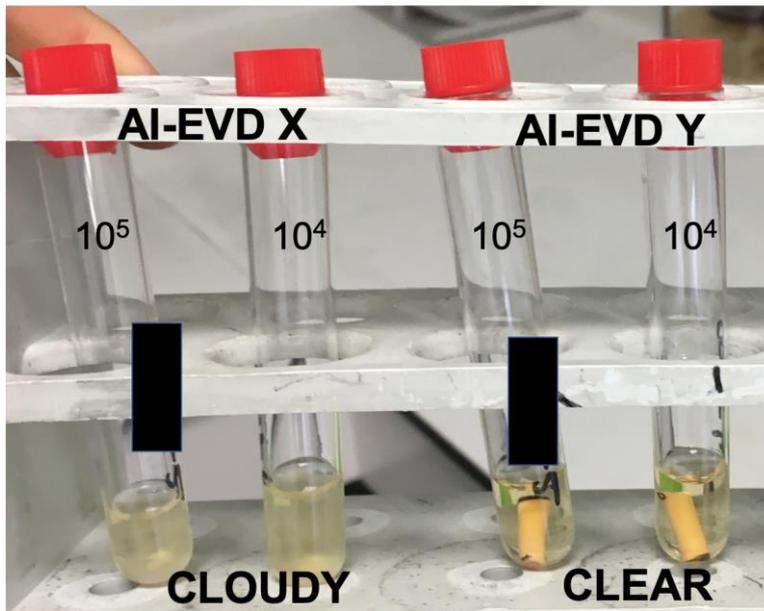
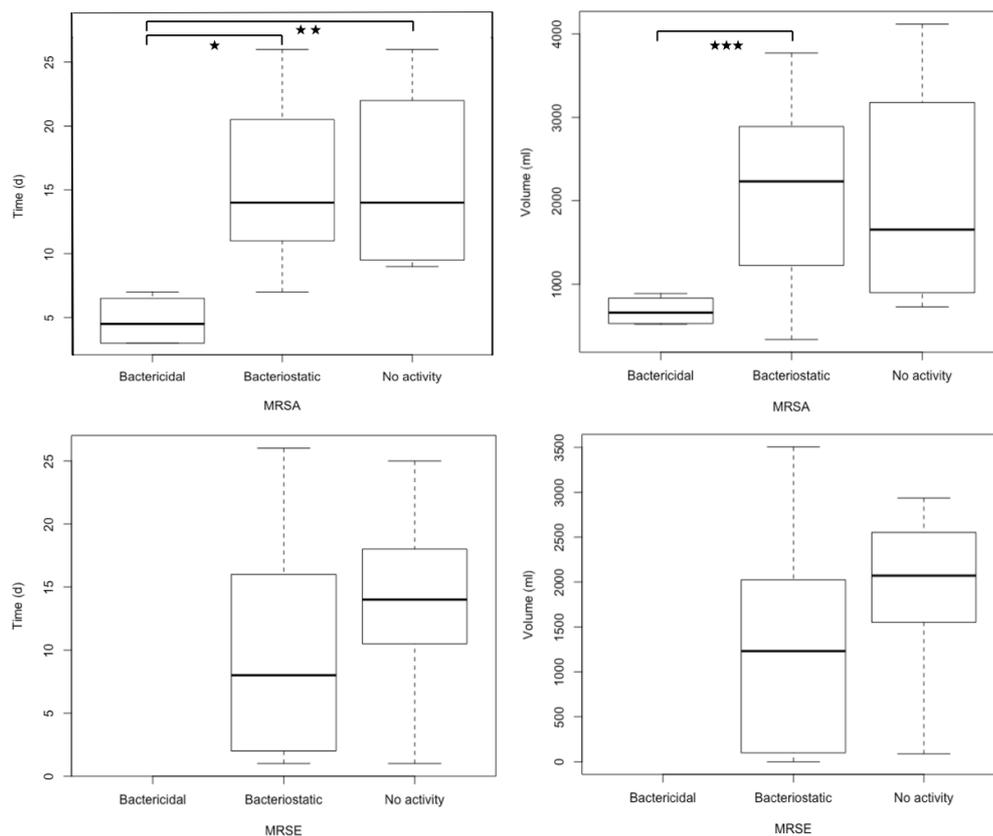


Figure S2. Boxplots showing the result of statistical analysis of the type of antimicrobial activity of antibiotic-impregnated external ventricular drain (AI-EVD) tip against two *Staphylococcus* strains as a function of the duration of CSF drainage (A) or the volume of CSF drained (B). Result of MSSA was not shown. Overall difference was assessed by Friedman Test. If difference was highlighted, post hoc analysis was performed by Wilcoxon rank sum test for comparison between 2 groups with Bonferroni correction to avoid type I error inflation. MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSE, methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*; MRSA and MRSE were susceptible to rifampicin only.

* $p < 0.001$, ** $p = 0.02$, *** $p = 0.03$.



Annexe 2 : SUPPLEMENTARY DATA de la Question 4.

Supplementary Table

Table S1. Universal primers for the domain *Bacteria*, 341F and 785R, used to amplify the bacterial 16S rRNA gene (loop V3-V4).

V3_V4	341F	5'- TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG CCT ACG GGA GGC AGC AG -3'
	785R	5'- GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC C -3'

Supplementary Figures

Figure S1. Pictures showing the bolt holding the optical fiber of the intracranial pressure transducer in place.

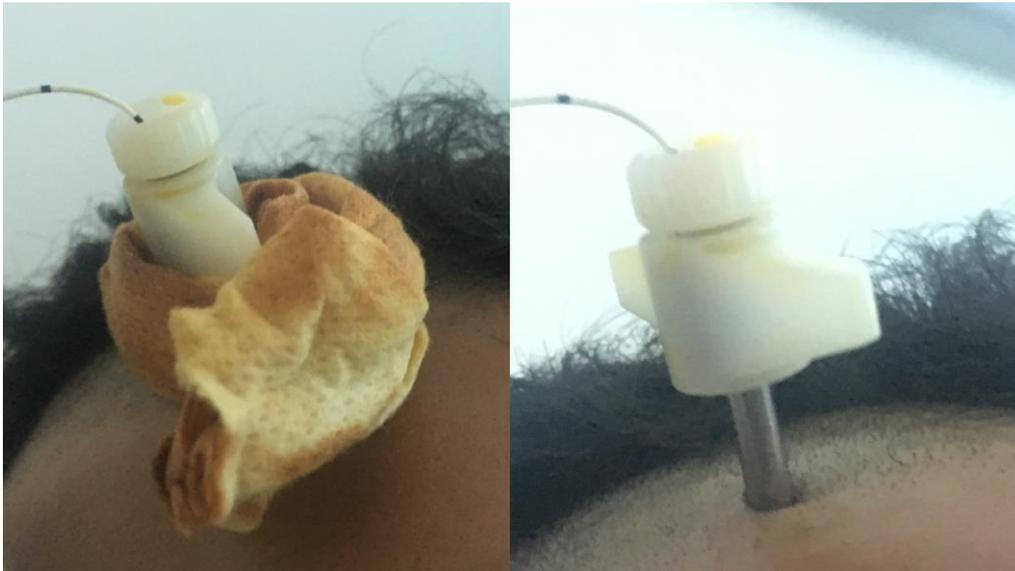


Fig S2. Pictures showing biofilm (isolated bacteria and mature biofilm) found with SEM on the 2 intracranial pressure transducers not studied by Next Generation Sequencing, but for which culture were positive.

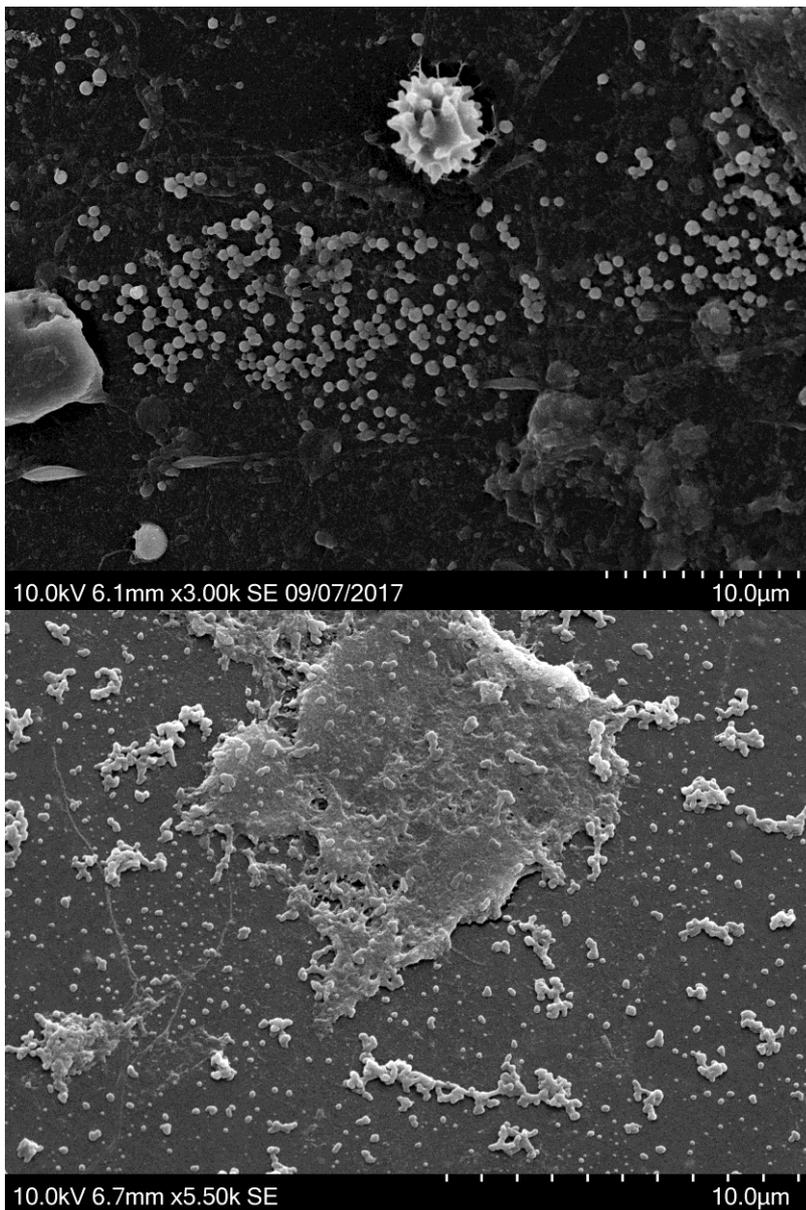


Figure S3. Proportion of bacterial formation types among 48 intraparenchymal intracranial pressure transducer (ICPT) observed by Scanning Electron Microscopy. ICPTs are classified in the category of most advanced bacterial lifestyle observed for each ICPT. For example, if adherent bacteria were observed as well as mature biofilm on an ICPT, this ICPT was classified as “mature biofilm”.

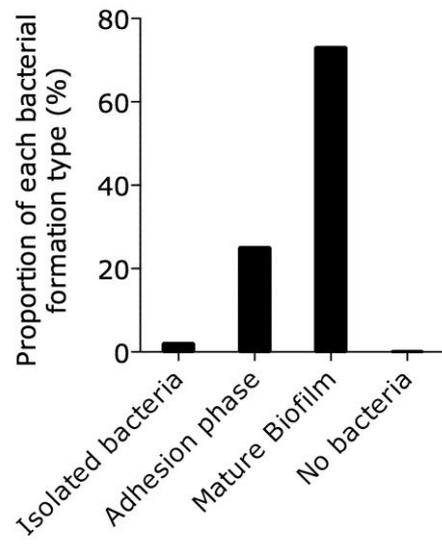


Figure S4. Representation of the distribution found at a phylum level for each intraparenchymal intracranial pressure transducer (ICPT). The number from 1 to 38 (x-axis) represents each ICPT.

Commentaire [DL18]: La « relative frequency » qui est en ordonnées n'est pas définie dans les méthodes

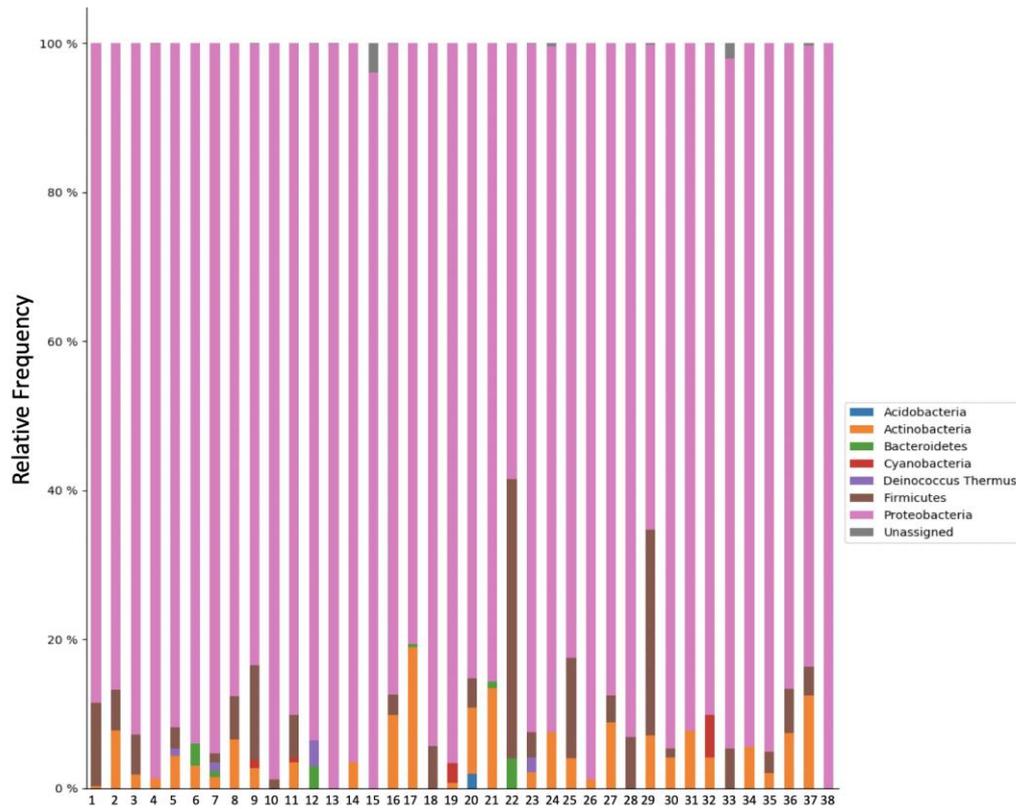


Table S5. Differential abundance

Condition	Genus	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
Antimicrobial treatment	Serratia	23.1149722412967	22.5254145376797	3.80092611110675	5.92629634968641	3.09843214104687e-09	1.00021291985705e-07
	Curvibacter	22.0648421907344	22.458486461028	3.80094389631458	5.90866034165986	3.44901006847258e-09	1.00021291985705e-07
Location of placement	Microbacterium	60.4631457320204	21.7239065027137	3.04021684322874	7.14551218644086	8.96609360843040e-13	1.73344476429654e-11
	Curvibacter	22.0648421907344	22.6785854405041	3.04047129464139	7.4589046377361	8.72447208172198e-14	2.53009690369937e-12
	Staphylococcus	91.9379064417129	-27.783287640273	3.01983893272858	-9.20025480139412	3.57101968182954e-20	2.07119141546113e-18
Per/Postoperative placement	Microbacterium	13.8484585975676	-24.7514330497374	2.93669610560008	-8.42832630946664	3.50644142133678e-17	9.99335805080982e-16
	Novosphingobium	6.90086204640356	-23.8202610729196	2.93795548470863	-8.10776786676944	5.15581157048752e-16	9.79604198392629e-15
	Serratia	5.7767013135972	21.5401656956802	2.94503681651404	7.31405650852835	2.59196058676344e-13	3.6935438361379e-12
	Staphylococcus	91.9379064417129	-27.3524014263407	2.93562741043322	-9.317395432789	1.19231157521366e-20	6.79617597871785e-19