

6. Balgrist Symposium zum diabetischen Fuss

Zürich, 26. November 2015

**Biofilm und
Infektmonitorisierung beim
diabetischen Fuss**

Yvonne Achermann

Oberärztin, Infektiologie USZ und Konsiliarärztin Universitätsklinik Balgrist

Outlook

1. Pathogenese von chronischen Infekten: Biofilm
2. Rolle von Biofilm beim diabetischen Fuss
3. Infektmonitorisierung mit inflammatorischen Parametern beim diabetischen Fuss

Definition eines Biofilms

- = Mikroorganismen, die
 - aneinander oder an einer Oberfläche haften und
 - in einer selbstproduzierten extrazellulären Matrix (“Schleim”) eingebettet sind



Matrix

- Proteine
- Polysaccharide
- extrazelluläre DNA

Umweltproblem und Ursache von chronischen Infektionen

- Haften an Implantatoberflächen
- Haften untereinander ohne Implantat



© Healthline, Incorporated

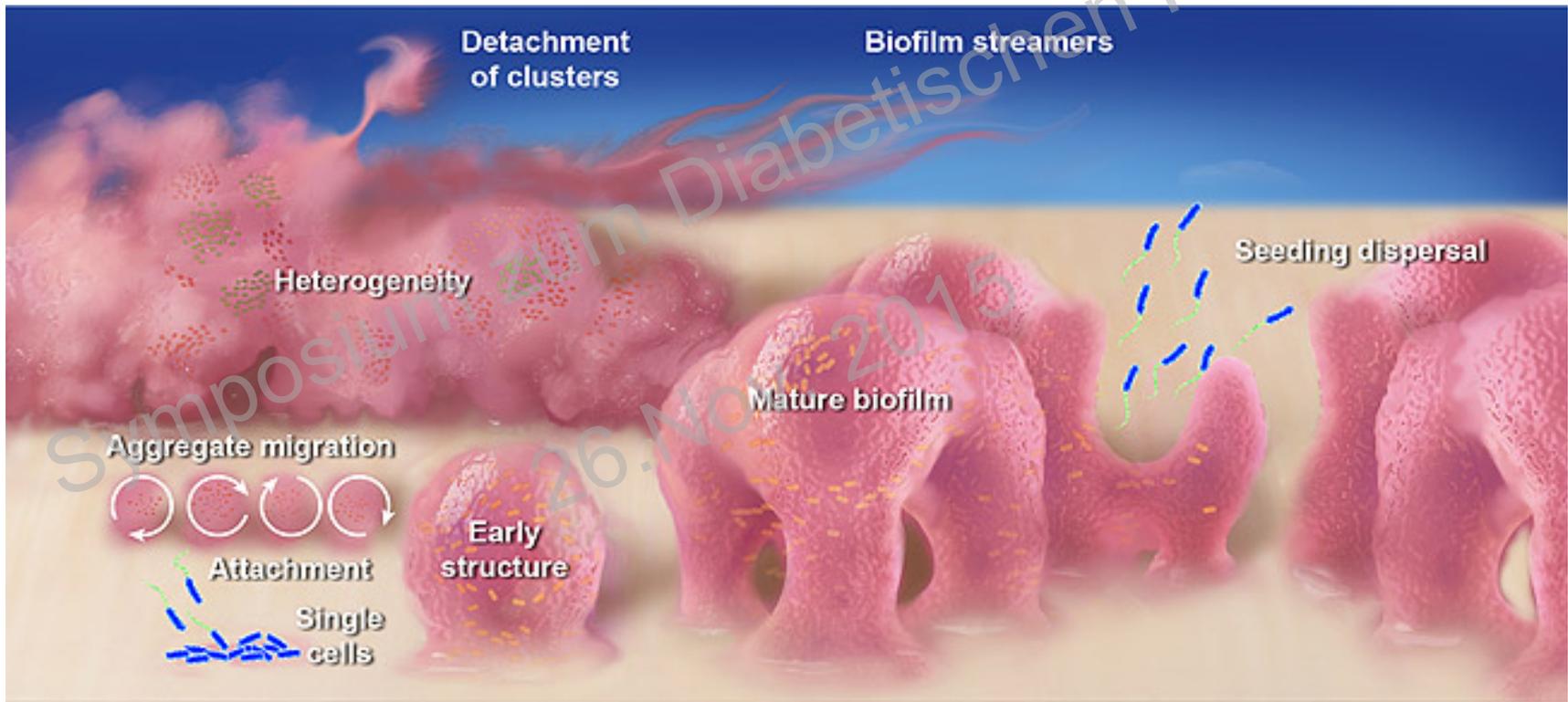
Biofilm ist heterogen

- Heterogene Verteilung



Biofilm ist heterogen

- Heterogene Populationen



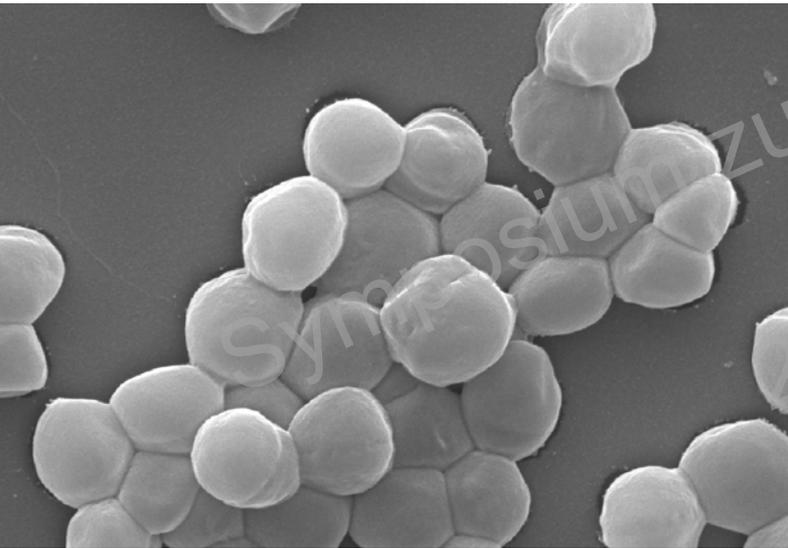
Symposium zum Diabetischen Fuss
26. Nov. 2015

Warum gibt es Biofilme?



Standardmodus vom Bakterien ist der Biofilm

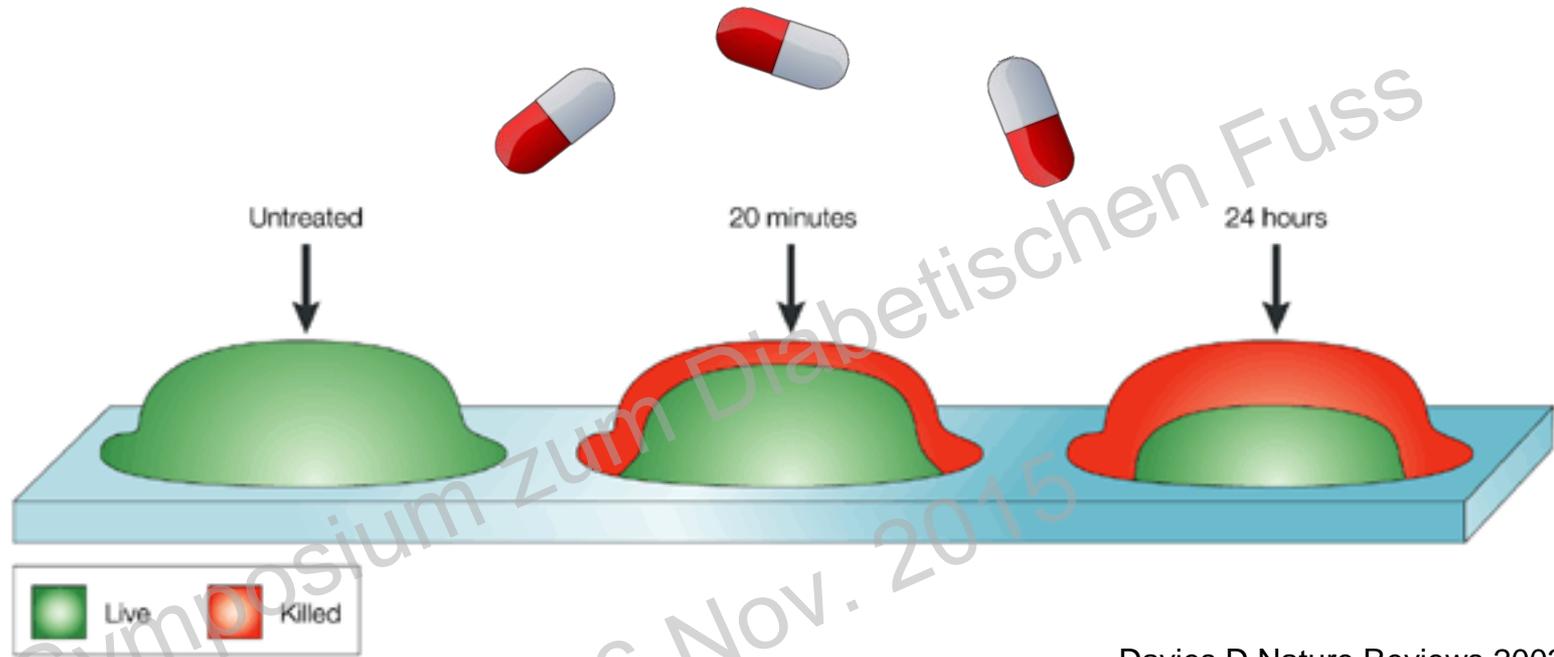
Planktonische Bakterien



Sessile (biofilm) Bakterien



“Driver for biofilm formation”: Schutz vor dem Immunsystem und Antibiotika



Davies D Nature Reviews 2003

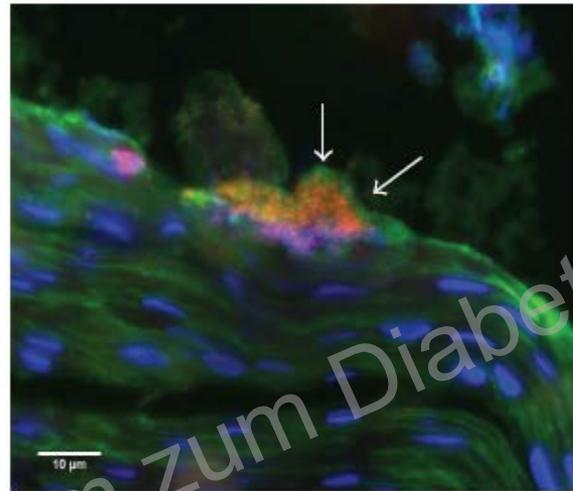
- **Extrazelluläre Matrix:** Schlechte Penetration/Diffusion
- “**Persister cells**”

Mikrobiologische Diagnostik ist bei Biofilmen schwierig

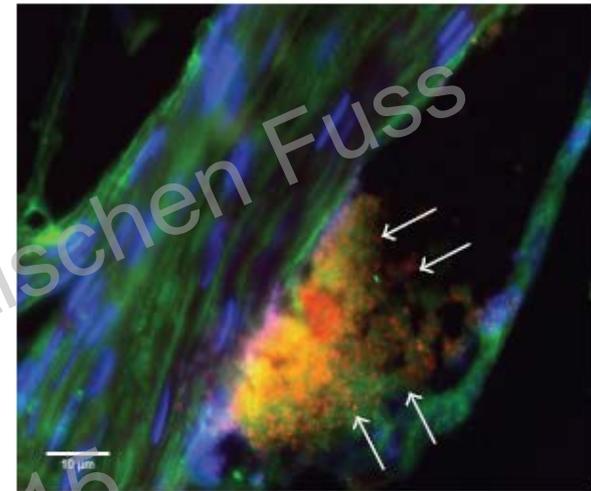
- Bakterien sind in einem reduzierten metabolischen Zustand (*Kulturen können negativ bleiben*)
- Schwieriges Herauslösen aus dem Gewebe da in der extrazellulären Matrix eingebettet (*Kulturen und molekulare Techniken können negativ bleiben*)
- Biofilme sind unregelmässig auf Oberflächen verteilt (*Kulturen und molekulare Techniken können wegen «sampling error» negativ bleiben*)

Biofilme beim diabetischen Fuss?

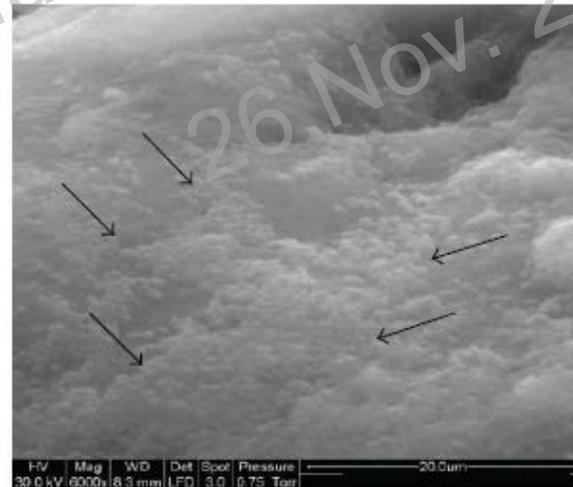
- Rot = Eubacteria
- Grün = ConA (biofilm matrix)
- Blau = menschliche Zellen (nucleic acid staining)



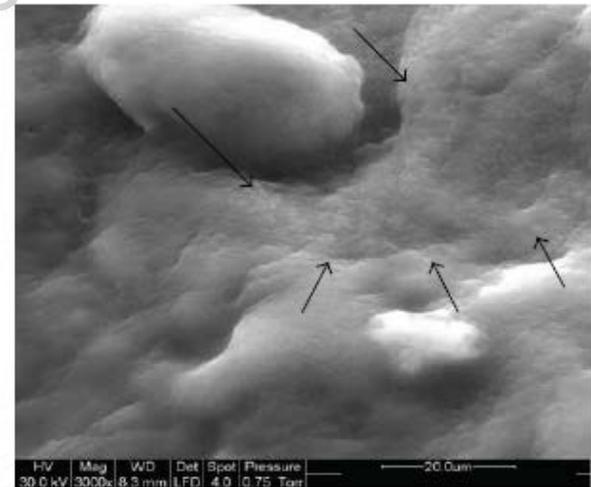
(c)



(d)



(e)



(f)

Hinweise für Osteomyelitis beim diabetischen Fuss

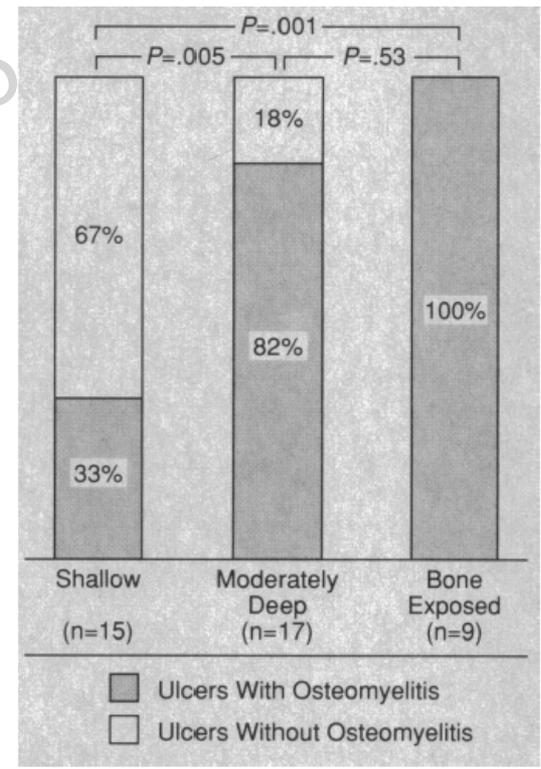
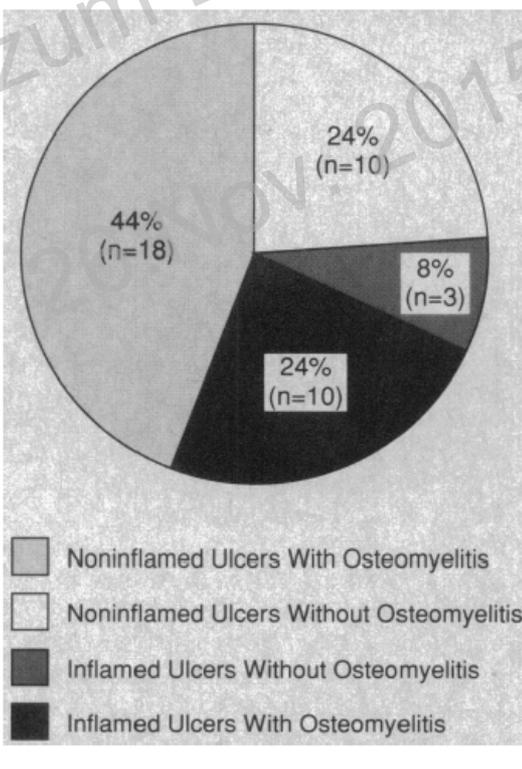
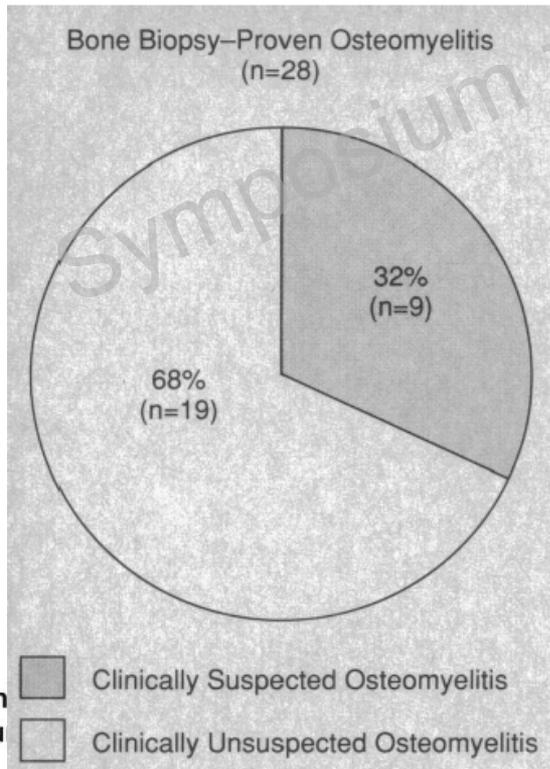
- **Klink**
 - Tiefes Ulkus, «Sausage toe» = roter, überwärmter und geschwollener Zehe
 - Positive «Probe to bone» Testung
- **Positive Röntgen oder MRI**
- **Invasive** Gewebe/Knochenbiopsien mit Wachstum und Nachweis einer chronischen Entzündung mit Knochennekrosen und Knochensequester
- **Labor?**

1. Studie

(Newman et al. JAMA 1991)

- Total 41 diabetische Ulzera

- N = 28 bestätigte Osteomyelitis durch Knochenbiopsie (Histologie und Mikrobiologie)
- N = 13 keine Osteomyelitis



1. Studie: Hohe BSR hinweisend für Osteomyelitis

Newman et al. JAMA 1991

Table 1.—Results of Clinical and Laboratory Characteristics Used to Diagnose Osteomyelitis

	Sensitivity, No. (%)	Specificity, No. (%)	Accuracy,* No. (%)
Clinical judgment	9/28 (32)	13/13 (100)	22/41 (54)
Ulcer area, >2 cm ²	15/27 (56)	12/13 (92)	27/40 (68)
Ulcer inflammation	10/28 (36)	10/13 (77)	20/41 (49)
Bone exposure	9/28 (32)	13/13 (100)	22/41 (54)
Erythrocyte sedimentation rate			
>70 mm/h, noninflamed ulcers	5/18 (28)	10/10 (100)	15/28 (54)
>100 mm/h, all ulcers	6/26 (23)	13/13 (100)	19/39 (49)

*Accuracy is defined as the number of correct predictions divided by total predictions.

- N = 28 Osteomyelitis
- N = 13 keine Osteomyelitis (Erysipel)

Leukozyten: keine signifikanten Unterschiede in den 2 Gruppen

2. Studie: Cut off von 70mm/h BSR in Metaanalyse bestätigt

Butalia S et al. JAMA 2008

JAMA. 2008 Feb 20;299(7):806-13. doi: 10.1001/jama.299.7.806.

Does this patient with diabetes have osteomyelitis of the lower extremity?

Butalia S¹, Palda VA, Sargeant RJ, Detsky AS, Mourad O.

21 Kohortenstudien: 8 prospektive, 13 retrospektive

- BSR grösser wie 70mm/h
 - positive Likelihood Ratio von 11
 - negative Likelihood Ratio von 0.39



3. Studie: höhere inflammatorische Parameter bei Osteomyelitis

Michail M et al. *Int J Low Extrem Wounds* 2013

- Prospektive Kohortenstudie mit 61 Patienten mit diab. Fuss
 - 27 Osteomyelitiden, 34 Weichteilinfekte
 - Goldstandard= Bildgebung (Rx, MRI oder Szintigraphie) und positive «probe to bone»

	Baseline
White blood cells ($\times 10^9/L$)	
Soft tissue infection	14.4 \pm 1.7
Osteomyelitis	16.2 \pm 1.3
Erythrocyte sedimentation rate (mm/h)	
Soft tissue infection	65.8 \pm 5.1
Osteomyelitis	76.1 \pm 10.3
C-reactive protein (mg/L)	
Soft tissue infection	8.7 \pm 2.6
Osteomyelitis	25.1 \pm 7.6
Procalcitonin (ng/mL)	
Soft tissue infection	0.71 \pm 0.48
Osteomyelitis	2.41 \pm 0.10

- WBC, CRP, BSR und PCT können bei Patienten mit diabetischem Fuss erhöht sein.
- Höhere Werte sind mit einer OM assoziiert.

3. Studie: Inflammatorische Parameters bei Präsentation

Michail M et al. Int J Low Extrem Wounds 2013

Table 3. The Performance (95% Confidence Intervals) of the Inflammatory Markers at Baseline for the Diagnosis of Osteomyelitis.

	Sensitivity	Specificity	Positive Predictive Value	Negative Predictive Value	Area Under the Curve
WBC ($\times 10^9/L$)					0.78 ± 0.06 ($P < .001$)
10	0.74 (0.57-0.91)	0.50 (0.33-0.67)	0.6 (0.44-0.76)	0.66 (0.47-0.85)	
12	0.74 (0.57-0.91)	0.54 (0.37-0.71)	0.62 (0.46-0.78)	0.68 (0.50-0.86)	
14	0.74 (0.57-0.91)	0.82 (0.69-0.95)	0.65 (0.47-0.83)	0.81 (0.68-0.94)	
15	0.55 (0.36-0.74)	0.85 (0.73-0.97)	0.79 (0.61-0.97)	0.65 (0.50-0.80)	
ESR (mm/h)					0.73 ± 0.07 ($P = .002$)
30	0.92 (0.82-1.00)	0.16 (0.04-0.28)	0.52 (0.39-0.65)	0.67 (0.32-1.00)	
50	0.88 (0.76-1.00)	0.47 (0.30-0.64)	0.62 (0.47-0.77)	0.8 (0.63-0.97)	
67	0.84 (0.70-0.98)	0.75 (0.60-0.90)	0.73 (0.57-0.89)	0.86 (0.74-0.94)	
70	0.61 (0.43-0.79)	0.79 (0.65-0.93)	0.74 (0.56-0.92)	0.67 (0.52-0.82)	
CRP (mg/L)					0.75 ± 0.07 ($P = .001$)
10	0.85 (0.72-0.98)	0.59 (0.42-0.76)	0.67 (0.52-0.82)	0.8 (0.64-0.96)	
11	0.85 (0.72-0.98)	0.71 (0.56-0.86)	0.75 (0.6-0.9)	0.83 (0.69-0.97)	
14	0.85 (0.72-0.98)	0.83 (0.70-0.96)	0.71 (0.54-0.88)	0.77 (0.62-0.91)	
17	0.77 (0.61-0.93)	0.89 (0.78-1.00)	0.88 (0.76-1.00)	0.79 (0.65-0.93)	
PCT (ng/mL)					0.78 ± 0.06 ($P < .001$)
0.3	0.81 (0.66-0.96)	0.71 (0.56-0.86)	0.65 (0.48-0.82)	0.81 (0.67-0.91)	
0.4	0.66 (0.48-0.84)	0.80 (0.67-0.93)	0.77 (0.62-0.92)	0.7 (0.53-0.87)	
0.5	0.55 (0.36-0.74)	0.89 (0.78-1.00)	0.83 (0.67-0.99)	0.66 (0.51-0.81)	
0.6	0.44 (0.25-0.63)	0.95 (0.88-1.00)	0.90 (0.75-1.00)	0.63 (0.49-0.77)	

Abbreviations: WBC, white blood cells; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein; PCT, procalcitonin.

3. Studie: Inflammatorische Parameters im Verlauf

Michail M et al. *Int J Low Extrem Wounds* 2013

Table 2. The Values of the Inflammatory Markers at Baseline and During Follow-up of the Patients With Diabetic Foot Infections.^a

	Baseline	7 Days	21 Days	3 Months	p ^b	p ^c
White blood cells ($\times 10^9/L$)						
Soft tissue infection	14.4 \pm 1.7	13.6 \pm 1.3	12.6 \pm 1.1	11.9 \pm 0.7	<.001	
Osteomyelitis	16.2 \pm 1.3	14.1 \pm 1.2	13.2 \pm 0.8	12.1 \pm 0.5	<.001	<.001
Erythrocyte sedimentation rate (mm/h)						
Soft tissue infection	65.8 \pm 5.1	57.1 \pm 4.7	45.0 \pm 7.1	35.1 \pm 4.3	<.001	
Osteomyelitis	76.1 \pm 10.3	70.5 \pm 8.6	60.2 \pm 8.2	42.9 \pm 4.8	<.001	<.001
C-reactive protein (mg/L)						
Soft tissue infection	8.7 \pm 2.6	6.8 \pm 2.5	5.1 \pm 2.5	2.7 \pm 1.9	<.001	
Osteomyelitis	25.1 \pm 7.6	12.4 \pm 3.6	7.1 \pm 3.7	3.8 \pm 1.6	<.001	<.001
Procalcitonin (ng/mL)						
Soft tissue infection	0.71 \pm 0.48	0.48 \pm 0.26	0.35 \pm 0.20	0.18 \pm 0.08	<.001	
Osteomyelitis	2.41 \pm 0.10	0.73 \pm 0.12	0.60 \pm 0.12	0.54 \pm 0.10	<.001	.01

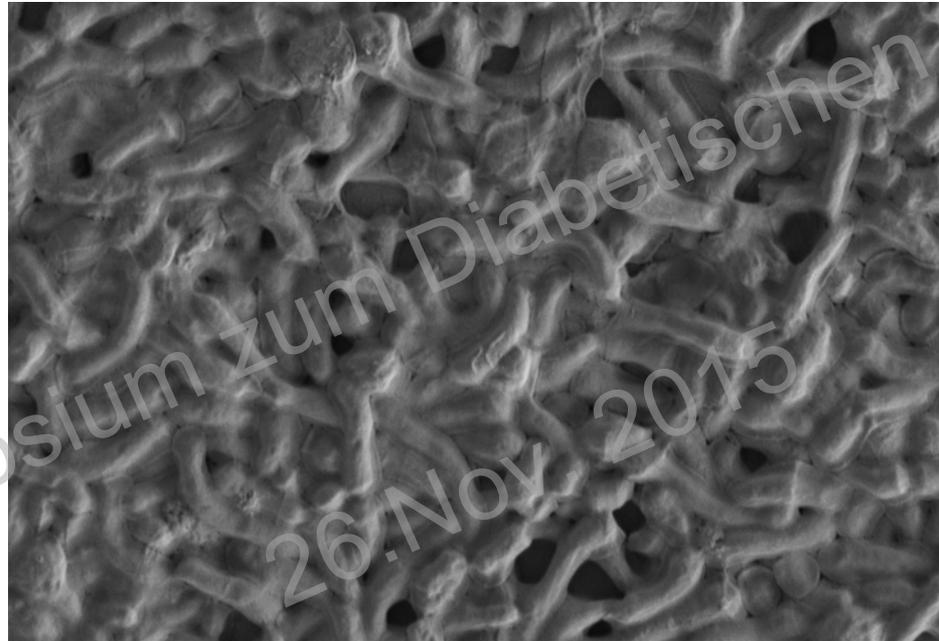
- Alle Biomarker im Verlauf regredient und normalisiert mit Ausnahme der BSG
- CAVE: Keine Angabe über Therapieart und Länge

Take Home message

- Biofilm ist der Standardmodus vom Bakterium und Grund für die Chronizität von Infektionen.
- Biofilm ist beim diabetischen Fuss insbesondere bei der Osteomyelitis als pathogenetischer Faktor wichtig
- BSR über 70mm/h suggestiv für eine Osteomyelitis bei diabetischem Fuss und fehlendem anderen Infektfokus. Nicht geeignet zur Verlaufskontrolle
- Höhere Leukozytenzahl, CRP und PCT sind suggestiv für eine Osteomyelitis. Cut off's müssen in grossen Studien bestätigt werden.

Danke für ihre Aufmerksamkeit!!!

yvonne.achermann@usz.ch



Symposium zum Diabetischen Fuss
26. Nov 2015



IDSA classification

Table 2. Infectious Diseases Society of America and International Working Group on the Diabetic Foot Classifications of Diabetic Foot Infection

Clinical Manifestation of Infection	PEDIS Grade	IDSA Infection Severity
No symptoms or signs of infection	1	Uninfected
Infection present, as defined by the presence of at least 2 of the following items: <ul style="list-style-type: none"> • Local swelling or induration • Erythema • Local tenderness or pain • Local warmth • Purulent discharge (thick, opaque to white or sanguineous secretion) 		
Local infection involving only the skin and the subcutaneous tissue (without involvement of deeper tissues and without systemic signs as described below). If erythema, must be >0.5 cm to ≤2 cm around the ulcer. Exclude other causes of an inflammatory response of the skin (eg, trauma, gout, acute Charcot neuro-osteoarthropathy, fracture, thrombosis, venous stasis).	2	Mild
Local infection (as described above) with erythema > 2 cm, or involving structures deeper than skin and subcutaneous tissues (eg, abscess, osteomyelitis, septic arthritis, fasciitis), and No systemic inflammatory response signs (as described below)	3	Moderate
Local infection (as described above) with the signs of SIRS, as manifested by ≥2 of the following: <ul style="list-style-type: none"> • Temperature >38°C or <36°C • Heart rate >90 beats/min • Respiratory rate >20 breaths/min or PaCO₂ <32 mm Hg • White blood cell count >12 000 or <4000 cells/μL or ≥10% immature (band) forms 	4	Severe ^a

Abbreviations: IDSA, Infectious Diseases Society of America; PaCO₂, partial pressure of arterial carbon dioxide; PEDIS, perfusion, extent/size, depth/tissue loss, infection, and sensation; SIRS, systemic inflammatory response syndrome.

Niedriger pH induziert Persistier Zellen und SCVs

