

Diagnostic microbiologique des IOA :

Prélèvements, transport, techniques d'analyse classique, approches moléculaires et autres approches diagnostiques et biomarqueurs

Pr Frédéric LAURENT
Anne CARRICAJO

Laboratoire de Bactériologie – Institut des Agents Infectieux - Hôpital de la Croix Rousse

Laboratoire des agents infectieux et hygiène – CHU Saint - Etienne

Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes Rhône-Alpes

CNR des Staphylocoques

Centre International de Recherche en Infectiologie – Equipe "Pathogénie des Staphylocoques"

Diagnostic bactériologique des IOA



- **Indispensable :**
 - Détecter les bactéries responsables de l'infection et mettre en place un traitement adapté
 - Avant antibiothérapie ou après arrêt prolongé
- **Nombreuses étapes : Du prélèvement à l'interprétation des résultats**
 - Détecter des bactéries dont des bactéries fragiles, cachées (intracellulaire , biofilm)
 - Points critiques :
 - prélèvements, qualité, nombre, acheminement,
 - mise en culture, choix des milieux et durée d'incubation
 - Place des techniques de biologie moléculaire
 - Identifier les germes responsables
 - Points critiques :
 - attention aux prélèvements polymicrobiens et aux différents variants
 - Bactéries IOA = +/- bactéries de la flore cutanée
 - Etudier la sensibilité aux antibiotiques
 - Points critiques : choix des molécules à tester
 - Rendu des résultats
 - Points critiques : compte rendu clair pour une interprétation simple des résultats

Bonnes pratiques : Consulter le « Guide des prélèvements » propre à chaque ES

- **Sur le prélèvement :**
 - Nom/ Prénom /DDN du patient
 - Nom du service prescripteur
 - La localisation du site et nature de chaque
- **Sur le bon de prescription : 1 bon de prescription par prélèvement**
 - Nom/ Prénom /DDN du patient,
 - Nom du service prescripteur
 - Nom et fonction du préleveur/prescripteur
 - La date et l'heure du prélèvement
 - **La localisation du site et nature de chaque prélèvement doivent être renseignées.**
 - Les informations cliniques : antibiothérapie? antécédents?
 - Recherche spécifique éventuelle : recherche de mycobactérie.....
- Sinon : **Prélèvement non conforme** (COFRAC : accréditation des laboratoires)

Gestion des prélèvements

Quelques référentiels incluant le prélèvement

- **IDSA Guidelines 2018** : A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology
- **Remic SFM 2018** : Référentiel en microbiologie médicale **SFM 2018**
- **HAS 2014** : Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation
- **SPILF 2009** : Recommandations de pratique clinique *Infections ostéo-articulaires sur matériel* (prothèse, implant, ostéosynthèse) **SPILF 2009**
- **SPILF 2007** : Conférence d'expert sur les spondylodiscites infectieuses

Erreur majeure : ne pas se donner le maximum de chance de limiter les contaminations



Epidemiologie des IOA chez l'adulte

Staphylococcus aureus

Coagulase-negative staphylococci

Enterococcus species

Streptococcus species

Enterobacteriaceae

Coryneform bacteria^a

Propionibacterium species

Peptostreptococcus species



Colonisation cutanée

+ IOA sur prothèse = souvent inoculum faible

Gestion des prélèvements

■ Eviter toute contamination

Bactéries IOA = +/- bactéries de la flore cutanée

• Nature du prélèvement

- Biopsies tissulaires, pus, tissus per-op, liquide articulaire, synoviale, ... +++
- Matériel : prothèse, vis, plaques, fiches, ... ça dépend comment cela est manipulé
- Hémocultures : insister sur l'asepsie car problème récurrent des contaminations à SCN
- Ne pas utiliser d'écouvillons

• Post-prélèvement

- Contenants de transport
- Manipulations au laboratoire

■ Ensemencer dans les meilleurs délais

- Transport (température ambiante)/ Ensemencement au bloc (flacon d'hémoculture)
- Gestion le plus rapidement possible au sein du laboratoire

Gestion des prélèvements : nombre

- **Prélèvements tissulaires per-opératoires :**

- Ni trop, ni trop peu**

- Trop : augmente risque de contamination, coût, temps de manipulation au laboratoire trop élevé
 - Trop peu : problème d'interprétation

- Etude d'Altweg 2003

- 1+/6 spécificité 26%
 - 2+/6 spécificité 53%
 - 3+/6 spécificité 85%

Optimal Periprosthetic Tissue Specimen Number for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection

[Trisha N.](#) et al [J Clin Microbiol.](#) 2017 Jan; 55(1): 234–243.

- Etude de Mayo Clinic, incluant 499 patients consécutifs avec arthroplastie et prélèvements de 1,437 tissus periprosthetiques collectés

Culture type and no. of specimens	Assuming no reference standard (Bayesian latent class modeling)		
	Sensitivity (95% credible interval)	Specificity (95% credible interval)	Accuracy (95% credible interval)
Conventional periprosthetic tissue culture as well as synovial and sonicate fluid culture			
≤2	— ^b	—	—
≤3	—	—	—
≤4	65 (51–79)	95 (83–100)	74 (60–85)
≤5	97 (87–100)	91 (69–100)	95 (82–100)
≤6	98 (93–100)	45 (25–68)	83 (74–91)
≤7	98 (93–100)	14 (3–31)	74 (67–80)

Prise en charge du prélèvement

Diagnostic « classique »

Examen microscopique
avec **Gram**

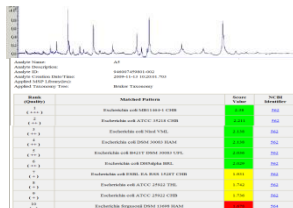


Orientation diagnostique rapide

Culture



Incubation à 37°C 24h-48h
Durée d'incubation longue 15J



Identification en 24h
24 h (MALDI-TOF)

Permet d'avoir un
antibiogramme

Diagnostic moléculaire

Extraction de l'ADN

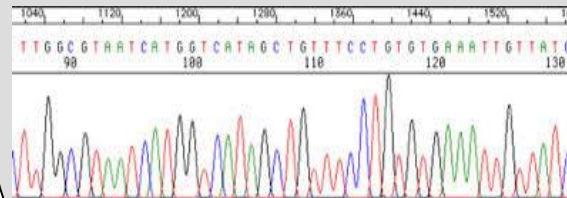
PCR universelle =
ARN16S

PCR spécifique en
temps réel

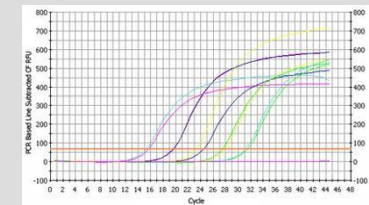
Détection du produit amplifié



Séquençage



Résultat en
72h



Résultat en
3 – 4 h

Détection chez patient sous traitement antibiotique
Détection de germes de croissance difficile (*Tropheryma whippelii*; *Kingella*)

Préparation des prélèvements au laboratoire

- Prélèvements ostéo-articulaires
 - prélèvements précieux avec conséquences cliniques thérapeutiques voire médico-légales
 - non renouvelables
 - impératif = éviter la contamination
- Manipulés sous hotte à flux laminaire type PSM 2



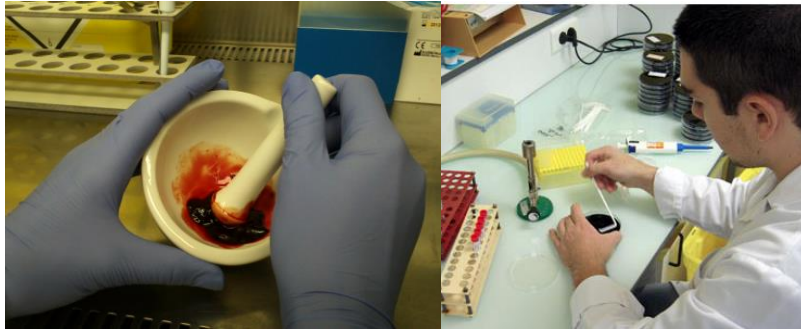
Erreur majeure : ne pas se donner le maximum de chance de limiter les contaminations

- Pendant le prélèvement



Informer/former

- Pendant l'ensemencement

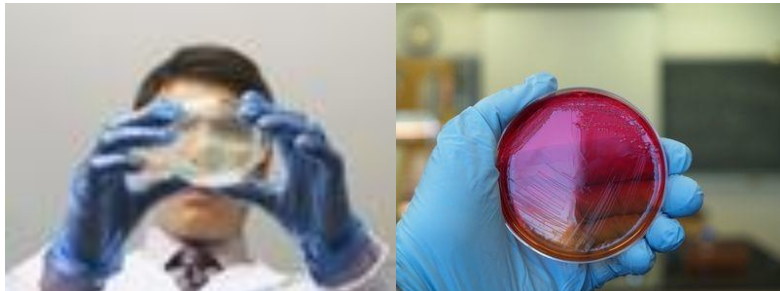


Broyeur mécanique



Tube Ultra-Turrax

- Pendant la lecture



Manipulation sous PSM



Préparation des prélèvements au laboratoire

- Prélèvements liquides : homogénéiser
- Prélèvements solides (fragments d'os ou de tissus)
 - impérativement **broyés** dans un mortier stérileou
 - par toute autre méthode de broyage

ex : poudrier à billes Ultra-Turrax™ (prêt à l'emploi, usage unique)

 - transport, broyage et conservation des prélèvements
 - limite les manipulations donc les risques de contaminations
 - libération des bactéries de matrice osseuse/biofilm

ex : Pour les très petites biopsies : éviter les poudriers à billes et utiliser un poudrier stérile classique



- + privilégier comme diluant de l'**eau de « qualité biologie moléculaire »** plutôt que des bouillons de culture pour ne pas hypothéquer une éventuelle analyse par biologie moléculaire (notamment par PCR universelle) du prélèvement

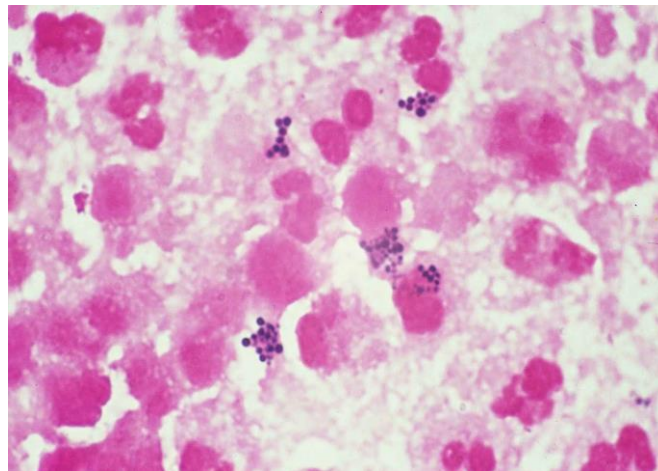
Examen direct

Permettre éventuellement une orientation diagnostique rapide

Présence d'une réaction cellulaire? Présence de bactéries ?

Doit comporter :

- Coloration de Gram : bactéries / morphologie
 - sensibilité faible (6 %)
 - spécificité élevée (99 %)
- Coloration adaptée pour l'appréciation semi-quantitative des leucocytes et de la formule leucocytaire



Analyse cytologique du liquide articulaire

- Prélèvement recueilli avec citrate ou héparine
- Quantification des leucocytes
- Formule leucocytaire
- Recherche de microcristaux (pour faire le diagnostic différentiel de chondrocalcinose et de goutte articulaire aiguë) : sur liquide frais

Analyse cytologique du liquide articulaire

En l'absence de prothèse

< 1 000 GB/mm ³	5 000 - 60 000 GB/mm ³				100 000 GB/mm ³
< 20% PNN	50% PNN	60-80% PNN		> 90%PNN	> 90% PNN
Arthrose	P R	Cristaux	Réactionnelle	Cristaux	Infection
Trauma	Lupus		Chlamydia, Yersinia, Salmonella, Shigella, Campylo, Neisseria, Lyme → PCR	Infection	
Algodystrophie	Psoriasis				
Mécanique		Inflammatoire +/- septique			Septique

Mathews *et al.* Ann Rheum Dis 2007

En présence d'une prothèse

	Sensibilité	Spécificité
GB > 1700 / mm³	94%	88%
PNN > 65%	97%	98%

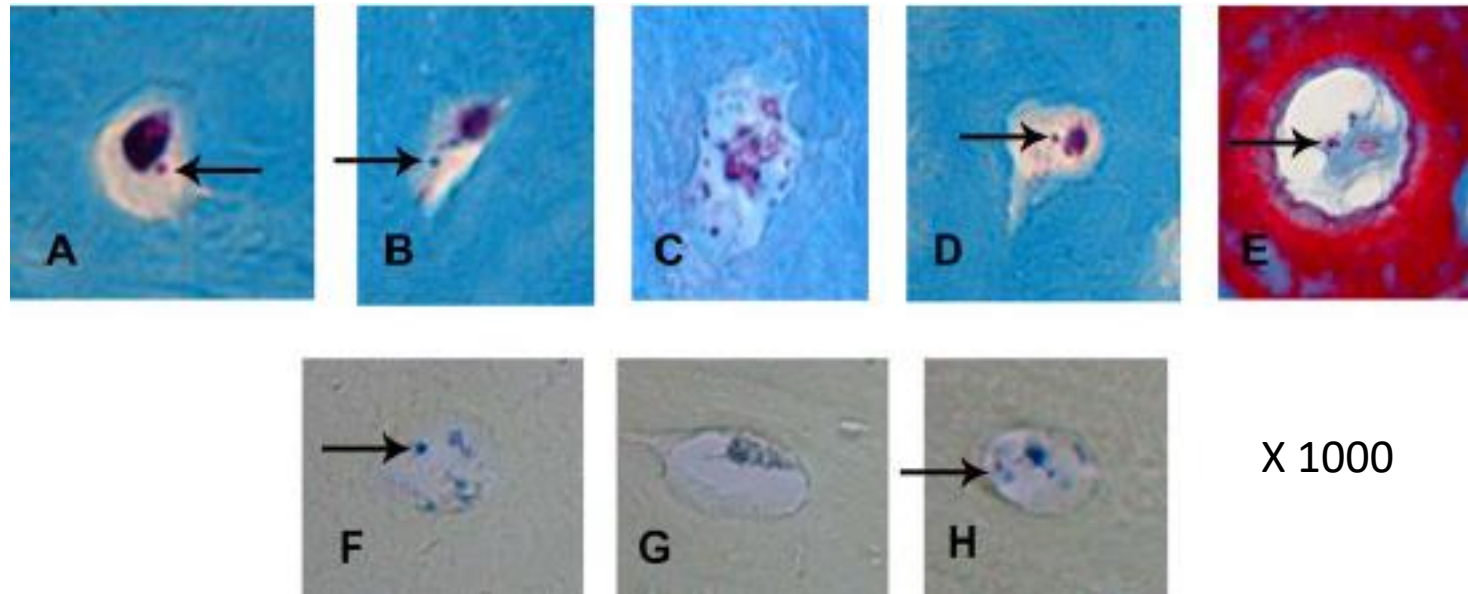
Trampuz *et al.* Am J Med 2004

Mise en culture

Présence de bactéries ? Lesquelles ? Quels sont les antibiotiques actifs ?

Bactéries IOA aiguë : généralement pousse = ++

Bactéries IOA si chronique ou matériel : +/- biofilm et **intracellulaire**



Bactéries (points noirs) internalisées dans les ostéocytes entourés par des lamelles osseuses.

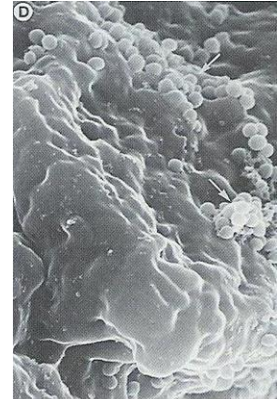
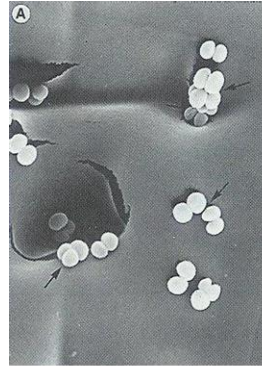
(Internalization of *S. aureus* by osteoblasts in a patient with long term recurrent osteomyelitis. JBJS 2005)

Mise en culture

- **Bactéries IOA = biofilm / intracellulaire**

donc

- des bactéries cachées, engluées et adhérentes
- des bactéries stressées
- des bactéries physiologiquement peu actives



- **Bactéries IOA = très diverses**

donc

- des bactéries aérobies
- des bactéries anaérobies
- des bactéries à croissance rapide / lente
- des bactéries classiques / des bactéries exigeantes / non cultivables

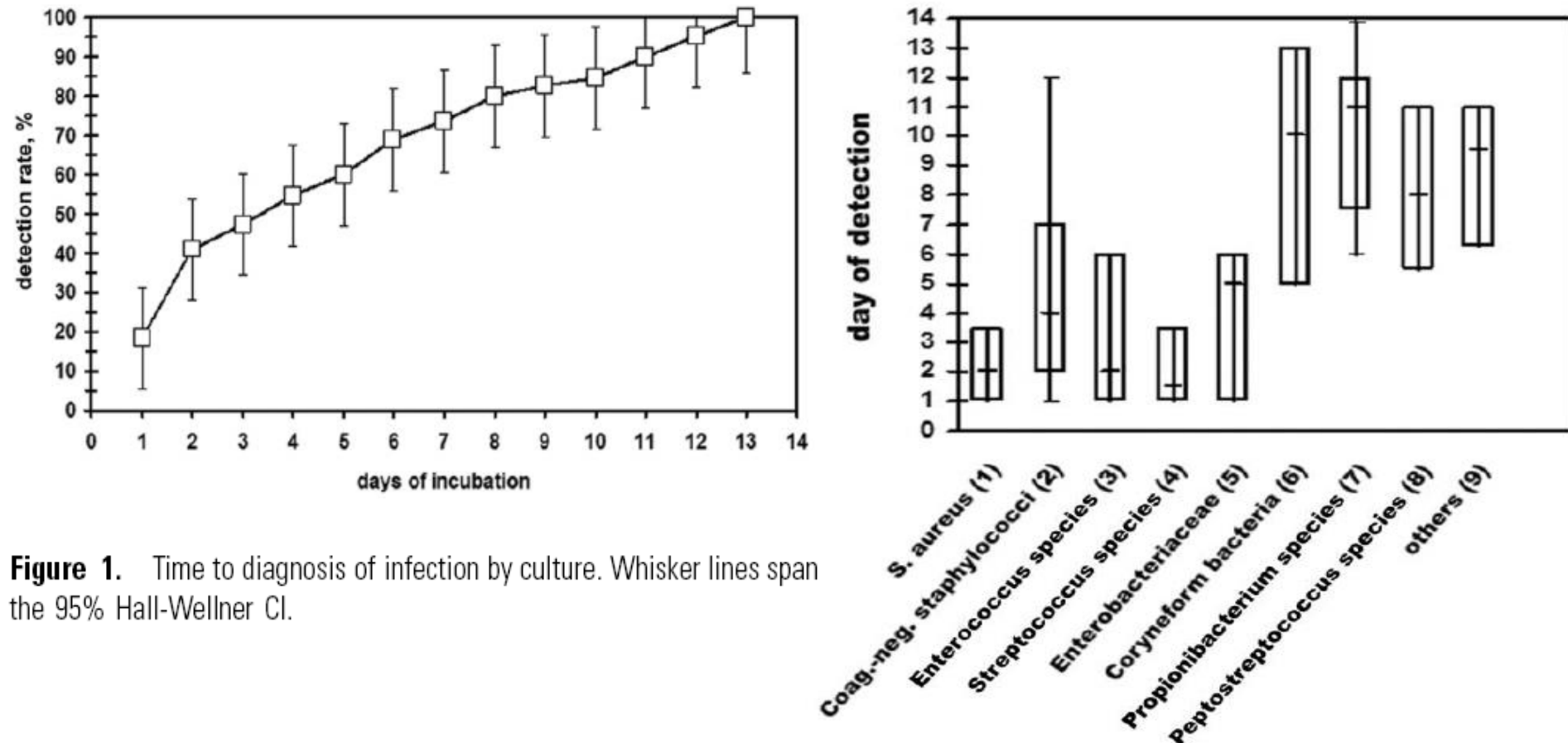
Donc :

- milieux riches variés, nombreux
- incubation longue

Prolonged Bacterial Culture to Identify Late Periprosthetic Joint Infection: A Promising Strategy

Peter Schäfer,¹ Bernd Fink,² Dieter Sandow,¹ Andreas Margull,¹ Irina Berger,³ and Lars Frommelt⁴

¹Ambulatory Healthcare Center, Labor Ludwigsburg, Ludwigsburg, ²Clinic of Joint Replacement, General and Rheumatic Orthopaedics, Orthopaedic Clinic Markgröningen, Markgröningen, ³Institute of Pathology, Klinikum Kassel, Kassel, and ⁴ENDO-Klinik, Hamburg, Germany



Mise en culture

Recommandation Référentiel de Microbiologie REMIC 2018

- GS aérobie : lecture J1, J2, J10 et/ou J14
- PVX CO₂ : lecture J1, J2, J10 et/ou J14
- GS ou Gélose Schaedler anaérobie : lecture J2, J3, J10 et/ou J14
- Milieu liquide Bouillon Schaedler et/ou BCC :
 - lecture régulière jusqu'à J14
- Utilisation des **flacons d'hémocultures** avec une incubation prolongée jusqu'à J14 dans un automate :
 - pour liquide articulaire :
 - directement au bloc ou au lit du malade
 - enfant +++
 - pour broyat en remplacement du milieu liquide
 - plus simple à suivre mais coût
 - milieu optimisé
 - repiquage systématique en fin d'incubation ?

Gestion des prélèvements : Intérêt des flacons d'hémocultures

- largement démontré



Microorganisms recovered in joint infection/articular fluid	3-days	3-day and 10-days	3-day and BA anaero	BC bottles
---	--------	-------------------	---------------------	------------

Flacons hémoculture

- Sensibilité supérieure à la culture classique (patient sous antibiotique, germes de culture difficile)
- Coût inférieur à la biologie moléculaire avec bonne sensibilité
- Mise en culture 24 sur 24h : améliore la rapidité de détection
- Mais attention ne remplace pas les cultures classiques : moins bonne détection des variants et des cultures mixtes

Other bacteria N= 19	21.1	32	21.1	31.6
All bacterial species N=322	44.9	55	48.3	70.2

Résultat du PHRC PIRLA :

Mise en culture

Recommandation Référentiel de Microbiologie REMIC 2018

- **Culture positive précoce en milieu solide** ne dispense pas
 - des lectures suivantes
 - d'une incubation complète jusqu'à au moins 14 J

Rendu progressif
des résultats
entre J0 et J14

.... à la recherche de bactéries à croissance plus lente, les infections polymicrobiennes représentant 10 à 15 % des IOA, notamment sur prothèse

- Lecture attentive :
 - recherche des **différents aspects** de colonies
 - recherche **micro-colonies/SCV** : présence de variants métaboliques
- Recherche de *Mycobacterium* spp. sur demande spécifique initiale ou secondairement en cas de culture négative avec cytologie et contexte clinique évocateur

Interprétation des cultures

Infection polymicrobienne (>15% des cas)



- Rare (1 colonie) *S. aureus* culture positive en 24h
- Quelques colonies de Staphylocoque à coagulase négative à J4
- Nombreuses petites colonies de *P. acnes* à J10

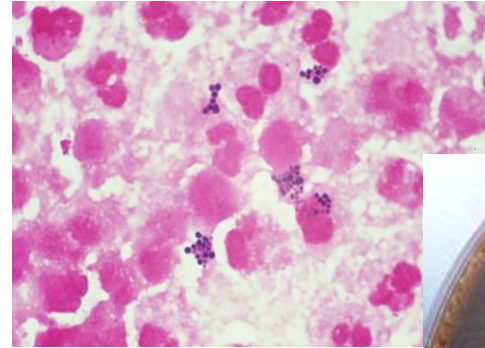
D'après Desplaces *et al.*

Diagnostic bactériologique

■ Infections aiguës à espèces classiques

Bactéries "normales"

- facile
- ED +
- réaction cellulaire ++
- culture rapide



S. aureus



■ Infections chroniques

Bactéries "stressées"

- ED –
- peu de PNN
- culture lente >> 48 heures
- aspects polymorphes des cultures
- perturbation de l'activité des ATB
- antibiogrammes différents

J10

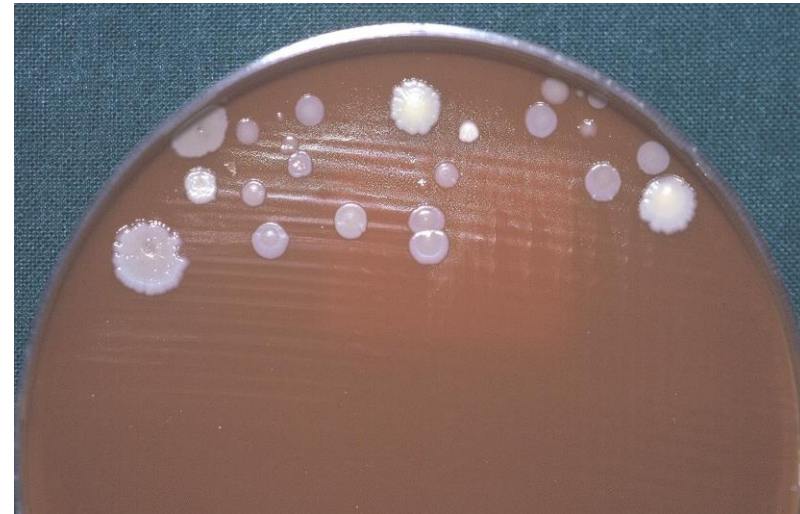
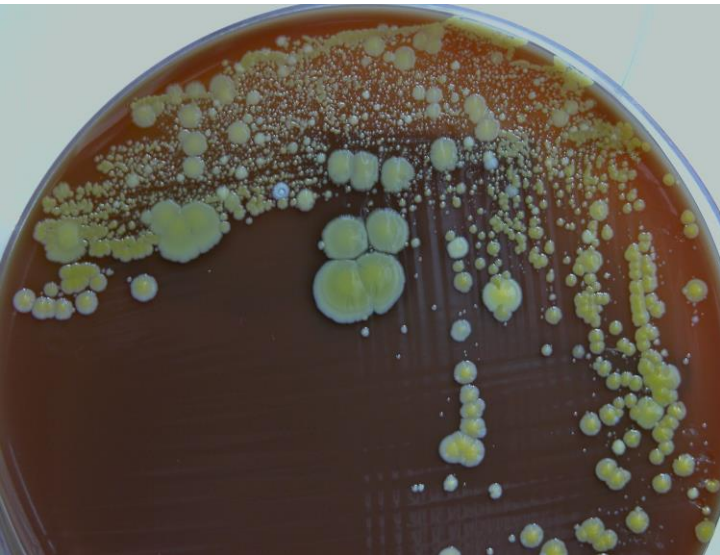


Staphylocoques à coagulase
négative

Difficultés : Interprétation des cultures

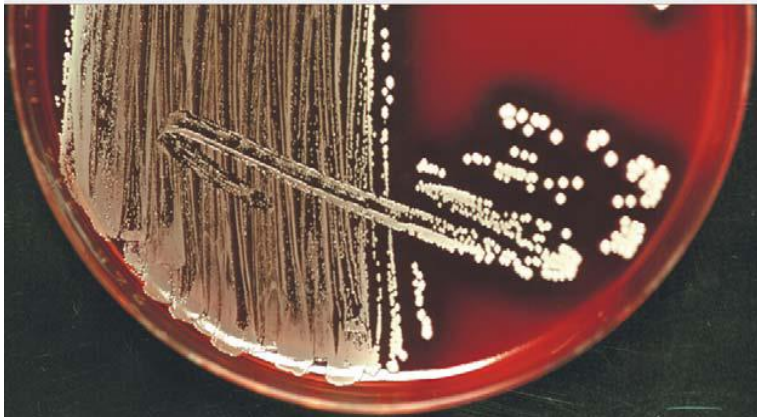
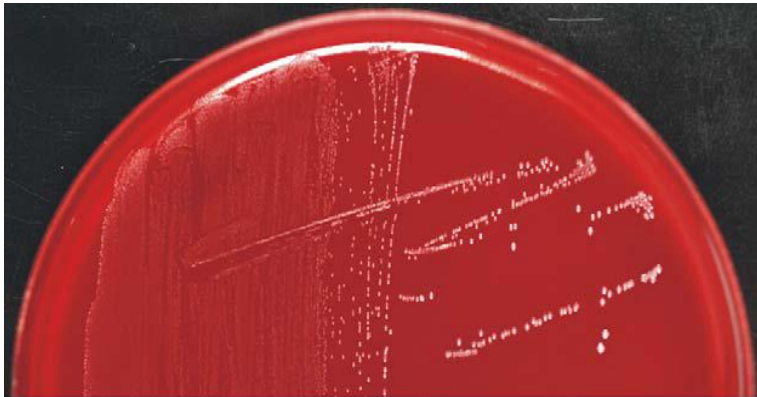
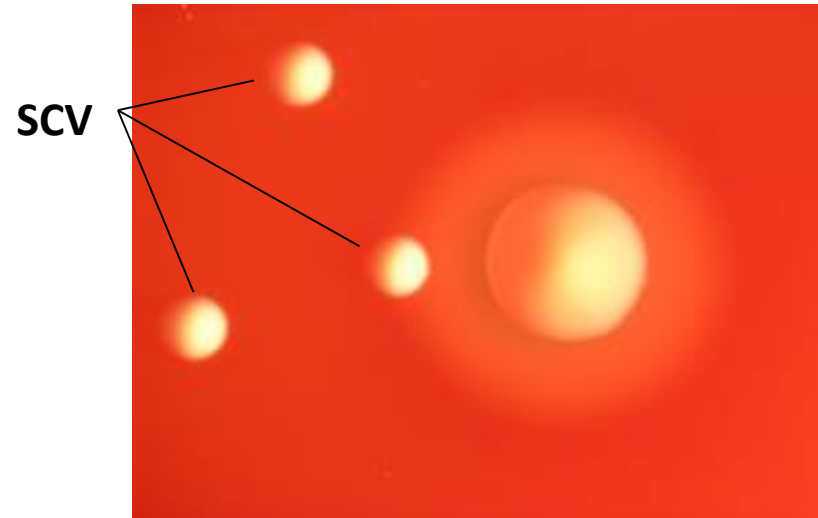


Polymorphisme
Polymicrobisme
Contamination
????



Aide : caractères biochimiques (galerie), Maldi-Tof, génétique éventuellement

Variants microcolonies ou SCV



- Particularités des micro-colonies *in vitro* :
 - temps de génération (doublement) x 10
 - perte de l'activité bactéricide de certains ATB
- Persistance des bactéries dans des niches cellulaires protectrices (cellules endothéliales, ostéoblastes, ...)
Peu de réaction inflammatoire locale
→ à l'origine d'échecs thérapeutiques
- Décrits - pour de nombreuses espèces bactériennes :
E. coli, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, ...
 - dans de nombreux contextes cliniques (IOA, mucoviscidose, IU, ...)

Variants microcolonies ou SCV

Exemple culture de biopsies osseuses

J10



Culture et identification

- **Isoler tous les aspects** avec au moins :
 - **Identification (Maldi Tof) et antibiogramme** sur les colonies différentes
 - Sur au moins deux prélèvements différents (si possible)

- **Interprétation des résultats**

Fonction de :

- contexte clinique (infection aiguë vs chronique, ostéomyélite vs arthrite primitive vs infection sur prothèse, antibiothérapie préalable)
- la ou les **espèces** identifiées
- la nature et le **nombre** des **prélèvements positifs** et éventuellement pour ces derniers le **nombre de milieux positifs et de colonies** observées

Mais : pas de consensus définitif

Culture et identification

■ Interprétation des résultats

Retenir le diagnostic d'IOA quand

1. ≥ 3 prélèvements per-opératoires

ou 2 prélèvements espacés dans le temps (1 per-op + 1 LAR ou 1 Hémoc)

positifs à la même bactérie (**même espèce et même antibiogramme**) appartenant à la **flore cutanée** (SCN, *P. acnes*, corynébactéries, ...)

2. ≥ 2 prélèvements positifs

à une bactérie n'appartenant pas à la flore cutanée et pour laquelle la question d'une contamination ne se pose pas (*Staphylococcus aureus*, Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Campylobacter* spp., *Pasteurella*, ...)

Certains auteurs proposent des critères moins stricts, **un seul prélèvement positif** pouvant suffire pour retenir le diagnostic d'IOA pour des **espèces classiquement pathogènes** (*S. aureus*, Entérobactéries, pyo, ...)

Culture et identification

■ Interprétation des résultats

Arthrites sans prothèse : pb car 1 seul prélèvement (liquide articulaire)

Diagnostic = combinaison

- cytologie
- nature de l'espèce bactérienne isolée
- nombre de milieux positifs
- nombre de colonies en milieu solide +/- positivité bouillon

Antibiogrammes

- Méthodes classiques + ajout de nouvelles molécules si bactéries résistantes
- Pour *Staphylococcus* spp :
 - Recherche *mecA* ou PLP2a en systématique ? (si phénotypiquement S)
 - CMI Vanco/Teico en systématique ?
- Pour streptocoques non groupables :
 - Vérification CMI bêta-lactamines comme pour les endocardites
- Pour *Pseudomonas* spp :
 - Vérification CMI des bêta-lactamines utilisées pour traitement
- Pour SCV : faire ATBgramme en boite

Diagnostic microbiologique des IOA

Compte rendu de synthèse et interprétation

➡ étape ultime mais importante

- positivité oui/non
- délai positivité
- nombre prélèvements +/- et localisation
- nombre de milieux + et nature
- nombre de colonies/milieu
- synthèse type anatomo-pathologie ?

Conservation

- Conservation des prélèvements :
 - congélation -80°C ou -20°C
 - au moins jusqu'à la fin des incubations
 - le mieux : 1-2 mois, le temps que les cliniciens réagissent s'ils veulent plus (PCR)
- Conservation des souches :
 - congélation -80°C ou -20°C
 - pas de tubes de conservation, sur billes
 - minimum 1 an
 - le mieux : le plus longtemps possible (étude rechutes, récurrences, ...)

Que faire des prélèvements restés stériles ?

➡ 10 à 25% des IOA selon les séries et les contextes épidémiocliniques

- patient sous antibiotique (arrêt minimum 15 j)
- prélèvement mal fait
- transport trop long
- culture inadéquate
- bactérie trop fragile
- espèce particulière et/ou méconnue ou non cultivable
- mycobactérie

Comment améliorer le diagnostic ?

Nouveaux outils

➡ Travail pour l'optimisation de **conditions de culture** (flacons d'hémocultures, outils anti-biofilm) et délais de mise en culture

➡ **Biologie moléculaire**

- rapidité, sensibilité potentielle à optimiser +
- pas de miracle mais prometteur
- nécessité de coordonner des **études prospectives d'évaluation**
 - de la PCR universelle
 - des PCR spécifiques
 - des schémas diagnostiques optimisés stratifiés par groupe patients

➡ Sérologies, **biomarqueurs** dans le liquide synovial

Un exemple : ostéo-arthrite de l'enfant

PHRC PIRLA, Lyon-Saint-Etienne

190 prélèvements

Culture

Positive : 86

Négative : 104

<i>S. aureus</i>	38
<i>K. kingae</i>	25
<i>S. pyogenes</i>	4
<i>S. agalactiae</i>	3
<i>S. pneumoniae</i>	6
<i>H. influenzae</i>	2
Autres	8

1+ Gélose sang
12+ Flacon Hémoc ana
24+ Flacon Hémoc aéro

89 des 104 prélèvements culture négative

<4 ans

>4 ans

PCR spécifique
K. kingae

PCR Universelle
16SrDNA

29 +

29 *K. kingae*

60 -

8 +

52 -

N. meningitidis W13 (1)
S. pyogenes (1)
S. constellatus (1)
S. aureus (1)
Streptococcus spp. (1)
Enterobacteriaceae (2)
Pseudomonas spp. (1)

Bilan *Kingella kingae*

Culture gélose

1/190

Culture gélose + flacon hémoculture

25/190

Culture gélose + flacon hémoculture + PCR

54/190

Nouveaux outils

➡ Travail pour l'optimisation de **conditions de culture** (flacons d'hémocultures, outils anti-biofilm) et délais de mise en culture

➡ **Biologie moléculaire**

- rapidité, sensibilité potentielle à optimiser +
- pas de miracle mais prometteur
- nécessité de coordonner des **études prospectives d'évaluation**
 - de la PCR universelle
 - des PCR spécifiques
 - des schémas diagnostiques optimisés stratifiés par groupe patients

➡ Sérologies, **biomarqueurs** dans le liquide synovial

Approches moléculaires

■ PCR universelle 16S

Avantage : pas d'a priori

Problèmes : manque de sensibilité (< à la culture)

extraction / inhibiteurs

pb pour les infections plurimicrobiennes

délais et coûts

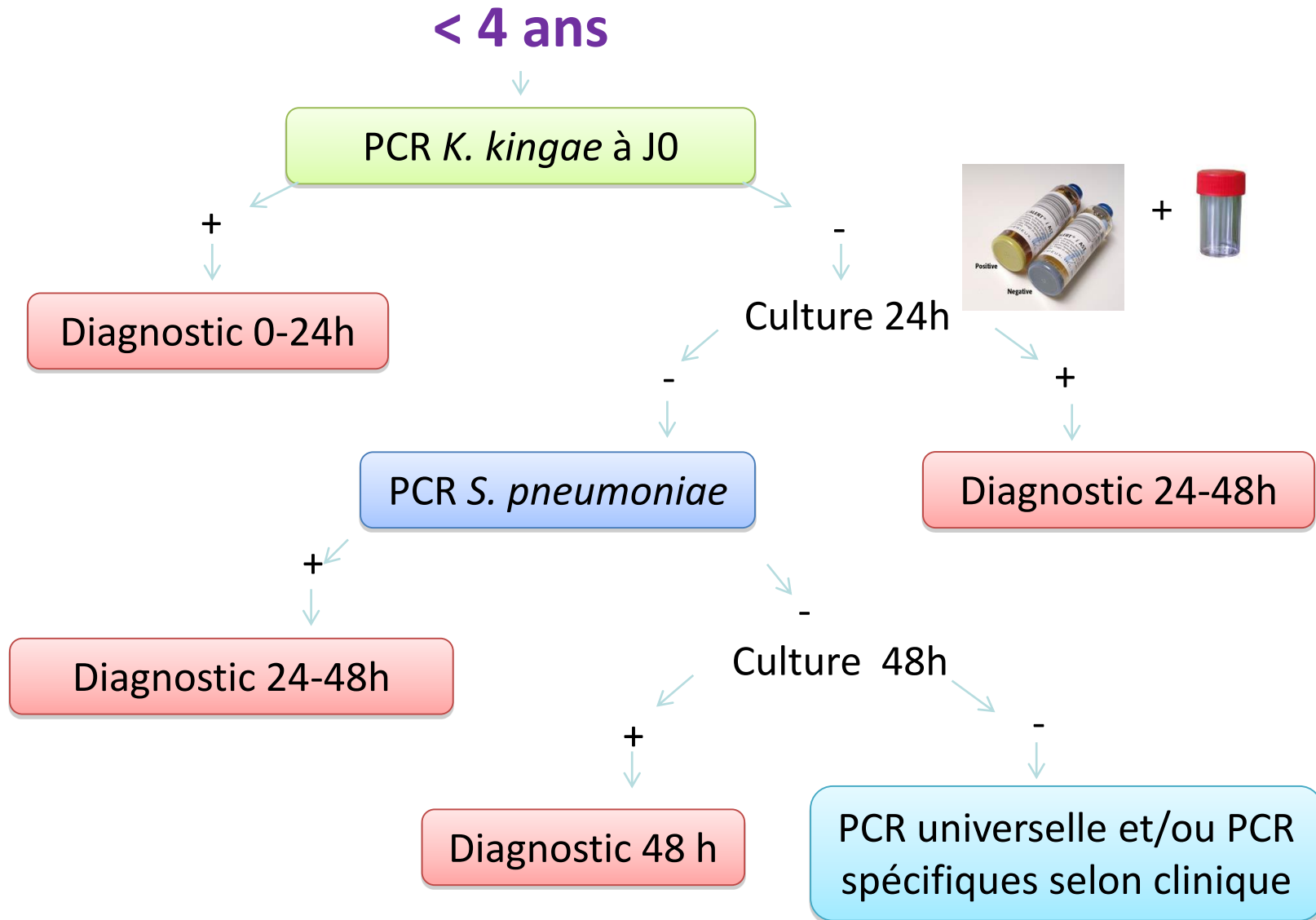
■ PCR ciblées : + sensibles que PCR 16S

- *Kingella*
- *Staphylococcus spp* et *S. aureus*
- *Streptococcus spp* et *S. pneumoniae*
- *Propionibacterium acnes*
- *Borrelia burgdorferi*

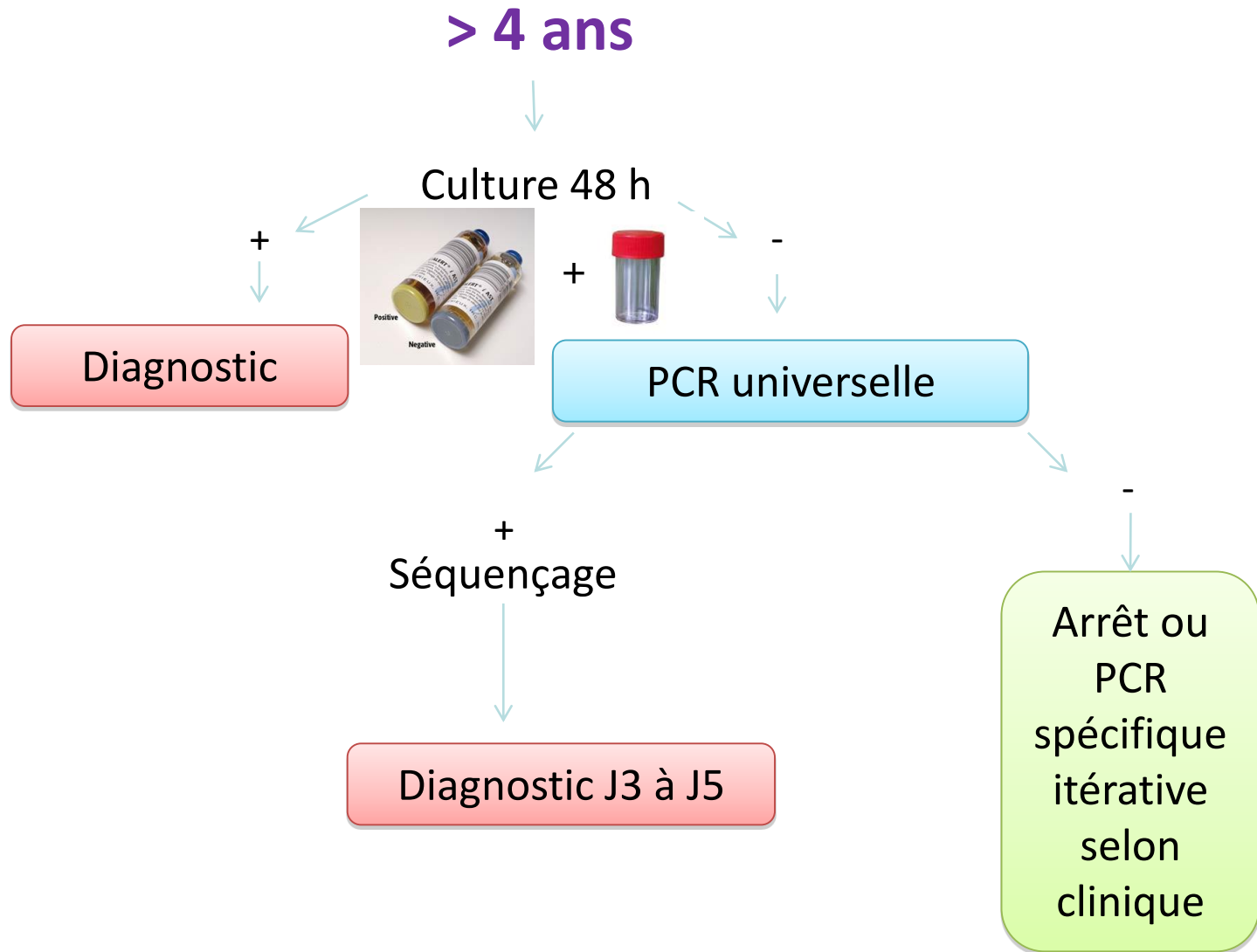
→ PHRC PIRLA sur les liquides articulaires (Lyon, Saint-Etienne) : place des techniques moléculaires

■ GeneXpert et MSSA/MRSA ; tests syndromiques

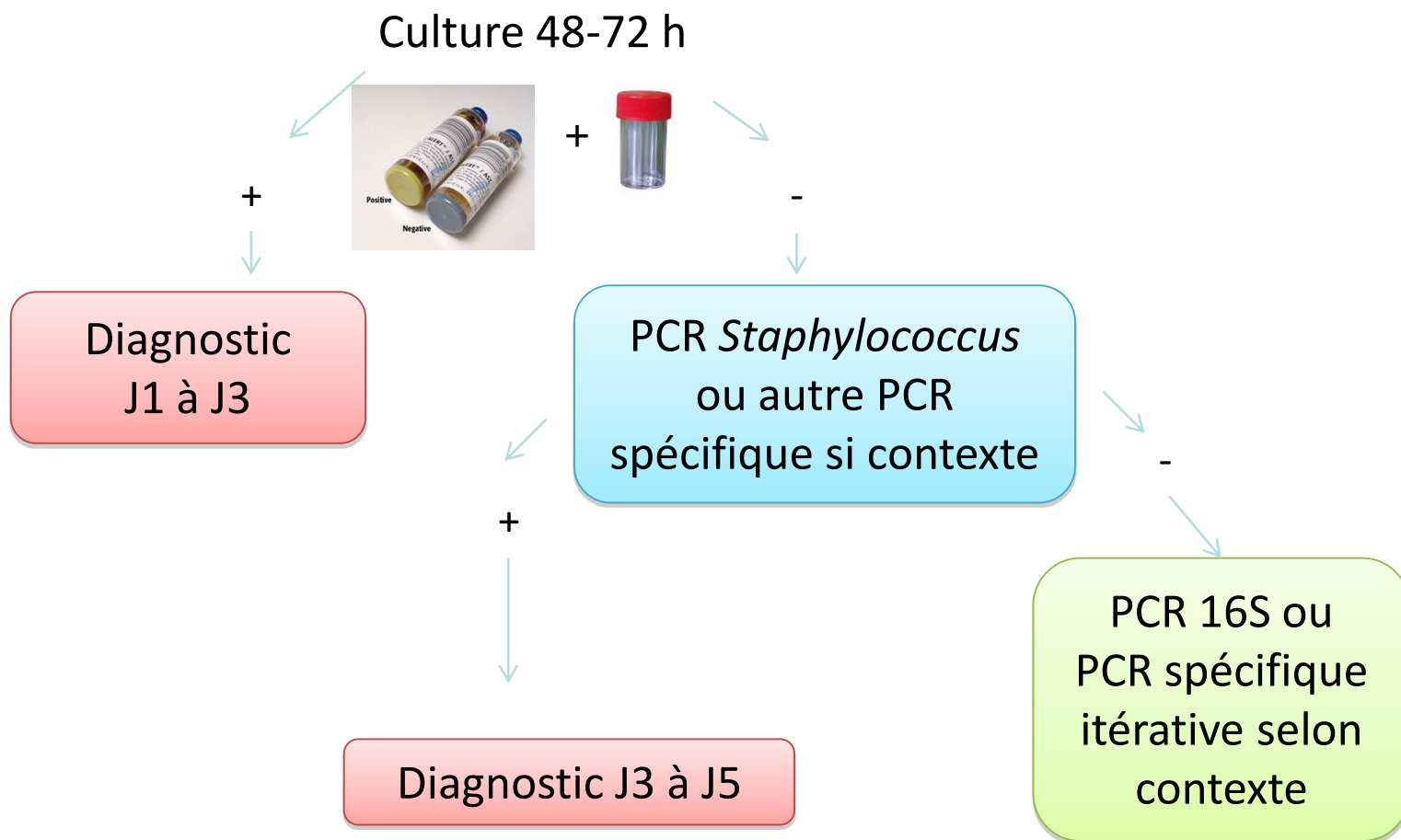
Algorithme décisionnel pour le diagnostic de l'IOA de l'enfant



Algorithme décisionnel pour le diagnostic de l'IOA de l'enfant

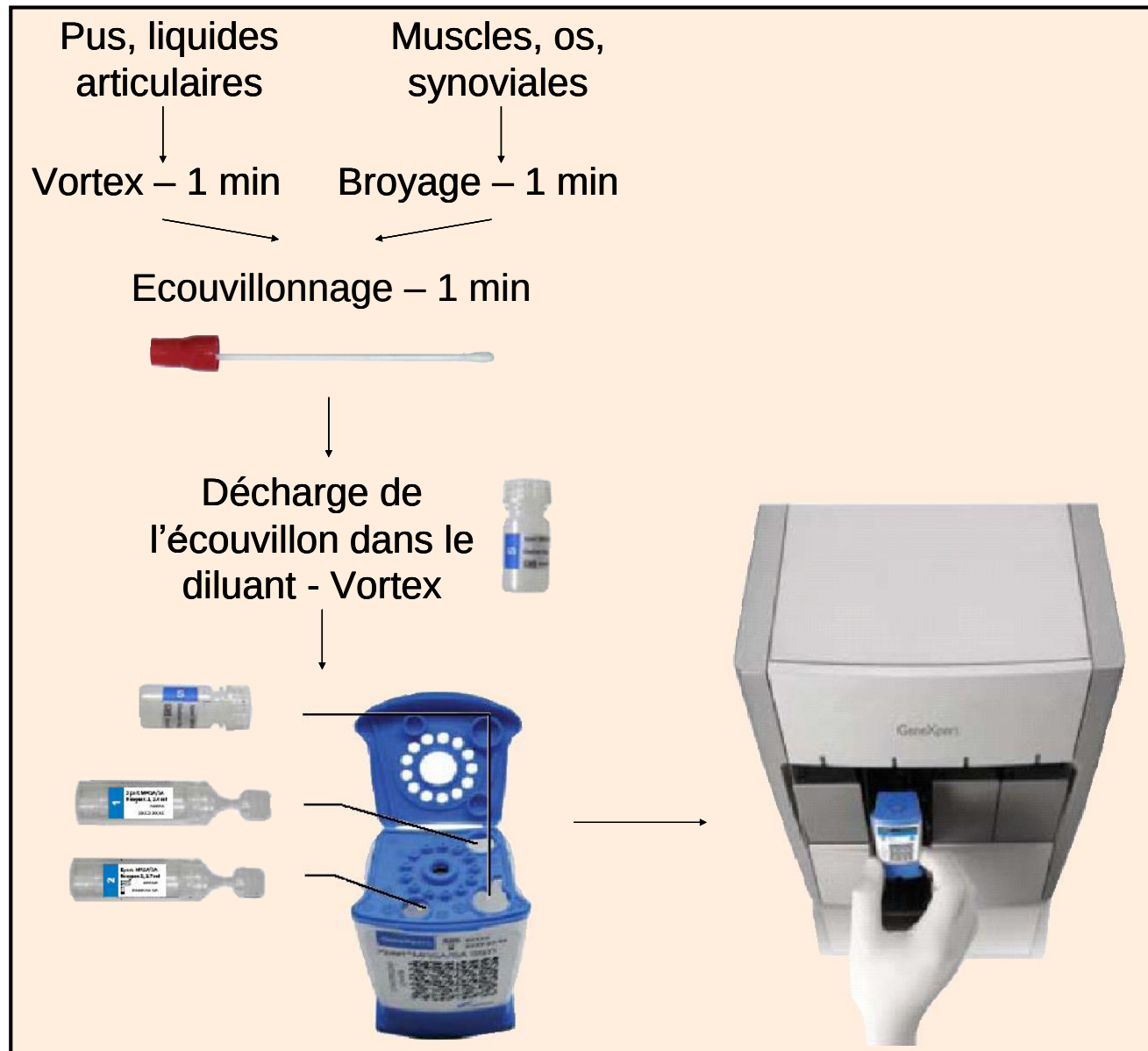


Proposition d'un algorithme pour le diagnostic microbiologique de l'IOA de l'adulte



Tests moléculaires rapides

GeneXpert
MRSA-SA
≈ 1h



Tests moléculaires rapides

	SA positif en culture	Culture stérile ou autres germes	Total
SA positif en GeneXpert	68 dont 59 SASM + 9 SARM	3	71
SA négatif en GeneXpert	4	16	20
Total	72	19	91



Résultats concordants GeneXpert / culture = 84 prélèvements



Prélèvements négatifs pour SA en culture, détectés positifs par le GeneXpert
 mais . autres prélèvements osseux + à SA pour ces trois patients
 . sensibilité > de GeneXpert
 . exclus du calcul de Se



Prélèvements positifs à SASM en culture, **non détectés par le GeneXpert**
 mais étude rétrospective sur prélèvements avec congélation/décongélation

Tests moléculaires rapides

- **Diagnostic en < 1H des IOA à SASM et SARM** par le test GeneXpert MRSA-SA SSTI, directement à partir des prélèvements ostéo-articulaires
- **Sensibilité et spécificité excellentes**
 - **Sensibilité** = $68/72 = 94,4\%$
 - **Spécificité** = $16/16 = 100\%$

→ Adaptation précoce du traitement probabiliste ?
- Nécessité d'études complémentaires prospectives
 - VPP, VPN
 - Impacts clinique et économique (coût ++) dans le cadre des IOA
- **Tests PCR multiplex (« syndromiques ») en cours de développement** mais problème des espèces ciblées : Unyvero ITI, Biofire FilmArray BJI...

Place et avenir des tests moléculaires

- **Pour l'instant : indications plutôt limitées**
à réserver quand culture – et suspicion d'IOA ++
PCR universelle +/- PCR spécifiques selon le contexte
- Avenir : diagnostic bactériologique « extemporané » ?
 - adaptation + rapide de l'antibiothérapie
 - modification de la prise en charge chirurgicale des IOA

Nouveaux outils

➡ Travail pour l'optimisation de **conditions de culture** (flacons d'hémocultures, outils anti-biofilm) et délais de mise en culture

➡ **Biologie moléculaire**

- rapidité, sensibilité potentielle à optimiser +
- pas de miracle mais prometteur
- nécessité de coordonner des études prospectives d'évaluation
 - de la PCR universelle
 - des PCR spécifiques
 - des schémas diagnostiques optimisés stratifiés par groupe patients

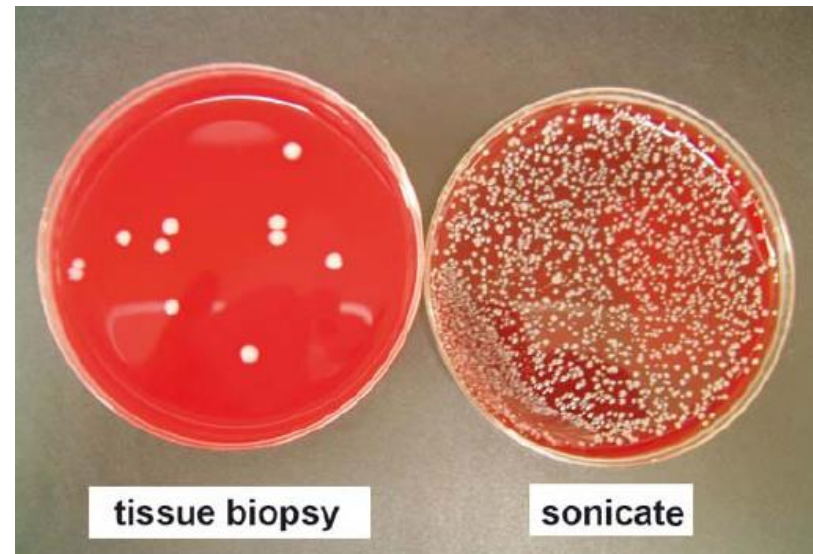
➡ Sérologies, **biomarqueurs** dans le liquide synovial

Nouveaux outils vs. le biofilm

- Impact sur la sensibilité de la culture
 - Problème : bactéries "collées" sur le matériel, engluées dans la matrice du biofilm, métaboliquement peu actives
- Solution possible : sonication des prothèses et matériels dans 400 mL de soluté de Ringer puis ensemencement de 0,5 mL
(Trampuz *et al.* N Engl J Med 2007)



Sonicat considéré positif si ≥ 5 UFC / 0,5 mL



↗ sensibilité de la culture ; VPN $\geq 90\%$

ORIGINAL ARTICLE

Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection

Andrej Trampuz, M.D., Kerryl E. Piper, M.S., Melissa J. Jacobson, A.S.,
Arlen D. Hanssen, M.D., Krishnan K. Unni, M.D., Douglas R. Osmon, M.D.,
Jayawant N. Mandrekar, Ph.D., Franklin R. Cockerill, M.D.,
James M. Steckelberg, M.D., James F. Greenleaf, Ph.D., and Robin Patel, M.D.

Add 400 ml
Ringer's
Solution
(laboratory)

Attention
Sonicateur spécifique



Prosthesis
Placed in
Container
(operating room)



Vortex
30 sec



Sonicate
5 min



Vortex
30 sec

0.5 ml
Aerobic &
Anaerobic
Culture
Plates

Difficile à mettre en œuvre !!

Table 1. Comparison of Microbiologic Tests for the Diagnosis of Prosthetic-Joint Infection.

Test	Patients with Prosthetic-joint Infection (N=79) <i>no. of patients with positive specimens*</i>	Patients with Aseptic Failure (N=252)	Sensitivity	Specificity	Positive Predictive Value	Negative Predictive Value
				% (95% confidence interval)		
Synovial-fluid culture	18/32	2/108	56.3 (37.7–73.6)	98.1 (93.5–99.8)	90.0 (68.3–98.8)	88.3 (81.2–93.5)
Periprosthetic-tissue culture†						
≥1 positive culture	58	23	73.4 (62.3–82.7)	90.9 (86.6–94.1)	71.6 (60.5–81.1)	91.6 (87.4–94.7)
≥2 positive cultures	48	2	60.8 (49.1–71.6)	99.2 (97.2–99.9)	96.0 (86.3–99.5)	89.0 (84.7–92.4)
Sonicate-fluid culture†‡						
≥1 CFU	64	28	79.0 (68.5–87.3)	88.5 (83.9–92.2)	68.8 (58.4–78.0)	93.9 (88.9–95.8)
≥2 CFU	63	8	79.7 (69.2–88.0)	96.8 (93.8–98.6)	88.7 (79.0–95.0)	93.8 (90.2–96.4)
≥3 CFU	63	5	79.7 (69.2–88.0)	98.0 (95.4–99.4)	92.6 (83.7–97.6)	93.9 (90.3–96.5)
≥4 CFU	62	5	78.5 (67.8–86.9)	98.0 (95.4–99.4)	92.5 (83.4–97.5)	93.6 (89.9–96.2)
≥5 CFU	62	3	78.5 (67.8–86.9)	98.8 (96.6–99.8)	95.4 (87.1–99.0)	93.6 (90.0–96.2)
≥6 CFU	62	3	78.5 (67.8–86.9)	98.8 (96.6–99.8)	95.4 (87.1–99.0)	93.6 (90.0–96.2)
≥7 CFU	60	3	75.9 (65.0–84.9)	98.8 (96.6–99.8)	95.2 (86.7–99.0)	92.6 (89.2–95.7)
≥8 CFU	59	3	74.7 (63.6–83.8)	98.8 (96.6–99.8)	95.2 (86.5–99.0)	92.6 (88.8–95.4)
≥9 CFU	58	3	73.4 (62.3–82.7)	98.8 (96.6–99.8)	95.1 (86.3–99.0)	92.2 (88.4–95.1)
≥10 CFU	57	3	72.2 (60.9–81.7)	98.8 (96.6–99.8)	95.0 (86.1–99.0)	91.9 (88.0–94.8)
≥25 CFU	55	2	69.6 (58.2–79.5)	99.2 (97.2–99.9)	96.5 (87.9–99.6)	91.2 (87.2–94.3)
≥50 CFU	54	1	68.4 (56.9–78.4)	99.6 (97.8–100.0)	98.2 (90.3–100.0)	90.9 (86.9–94.1)
Gram's staining of sonicate fluid	34/76	0/250	44.7 (33.3–56.6)	100.0 (98.5–100.0)	100.0 (89.7–100.0)	85.6 (81.1–89.4)

Nouveaux outils vs. le biofilm

- Solution possible : sonication des prothèses et matériels dans du soluté de Ringer puis ensemencement (Trampuz *et al.* N Engl J Med 2007)

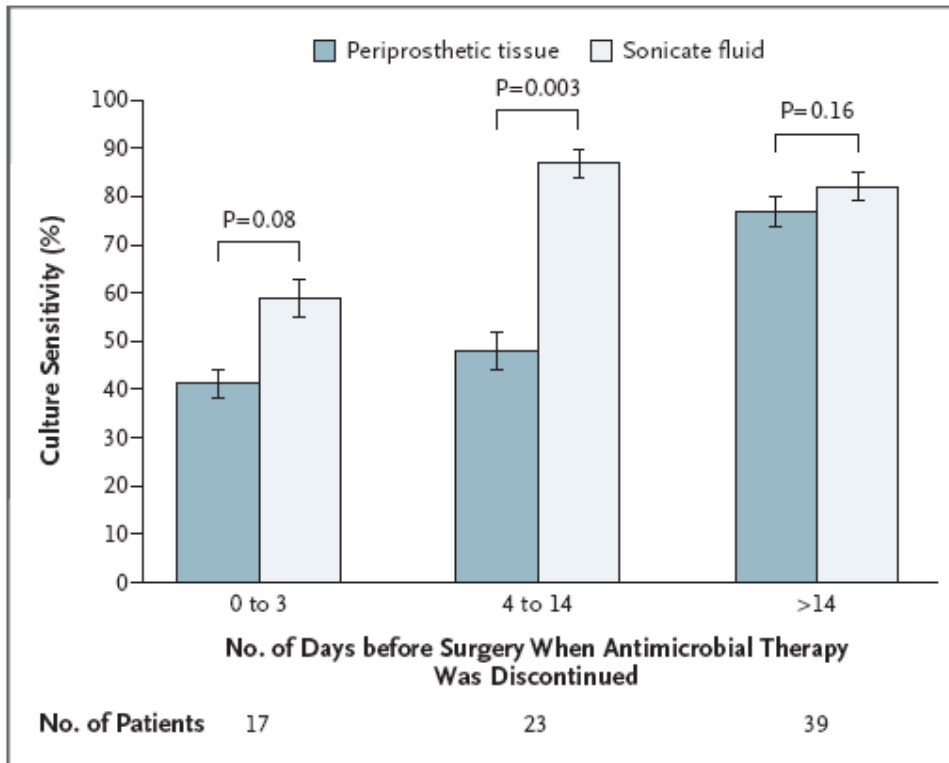


Figure 2. Effect of Preoperative Antimicrobial Therapy on Culture Sensitivity in Patients with Prosthetic-Joint Infection.

Periprosthetic-tissue culture was defined as positive if the same organism was grown from two or more specimens. Sonicate-fluid culture was defined as positive if more than 5 colony-forming units of the same organism grew on the aerobic or the anaerobic plate. I bars indicate 95% confidence intervals.

→ Intérêt quand fenêtre antibiotique trop courte ou inexistante avant la dépose de prothèse et les prélèvements

→ Pas d'étude comparative par rapport au broyage

Nouveaux biomarqueurs non invasifs des IOA ?



SANG : Marqueurs de l'inflammation
(GB, VS, CRP, PCT, IL-6)

Rapides, peu coûteux mais interprétation difficile...



SANG : Marqueurs sérologiques de l'agent
pathogène responsable

Nouveaux biomarqueurs des IOA ?



LIQUIDE ARTICULAIRE : marqueurs de l'inflammation

GB, CRP, cytokines (IL-6), enzymes et peptides antimicrobiens

Leucocyte estérase

Alpha-défensine (peptide anti-microbien)

Leucocyte estérase

COPYRIGHT © 2011 BY THE JOURNAL OF BONE AND JOINT SURGERY, INCORPORATED



Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: The Utility of a Simple Yet Unappreciated Enzyme

Javad Parvizi, MD, FRCS, Christina Jacovides, BS, Valentin Antoci, MD, PhD, and Elie Ghanem, MD

Investigation performed at the Rothman Institute of Orthopedics at Thomas Jefferson University Hospital, Philadelphia, Pennsylvania

Rapide, faible coût, bonne reproductibilité



Fig. 1

108 patients, dont 30 IPOA

	Knees Undergoing Arthroplasty (N = 108)	
	Positive = ++	Positive = + or ++
Sensitivity	80.6 (61.9-91.9)	93.5 (77.2-98.8)
Specificity	100 (94.5-100)	86.7 (77.1-92.9)
Positive predictive value	100 (83.4-100)	72.5 (55.9-84.9)
Negative predictive value	93.3 (85.4-97.2)	97.3 (89.7-99.5)

*Values are given as percentages, with the 95% confidence interval in parentheses.

Prix du test : 0,2 € !!!

- -/traces : infection très peu probable ; ++ : infection très probable
- Mais **non utilisable si liquide hémorragique**, subjectivité de l'interprétation

Leucocyte estérase

J. Parvizi,
T. Gehrke,
A. F. Chen

*From The Rothman
Institute,
Philadelphia,
Pennsylvania, United
States*

■ SPECIALTY UPDATE: ARTHROPLASTY

Proceedings of the International Consensus on Periprosthetic Joint Infection

Bone Joint J 2013



Vers une indication en
routine de ce marqueur ?

International Consensus Group (ICG) on PJI * (2)

One of the following **major criteria** must be met for diagnosis of PJI:

1. Two positive periprosthetic cultures with phenotypically identical organisms, or
 2. A sinus tract communicating with the joint, or
- Three** of the following **five minor criteria** must be met for the diagnosis of PJI:

1. Elevated serum C-reactive protein (CRP) AND erythrocyte sedimentation rate (ESR)
 2. Elevated synovial fluid white blood cell (WBC) count
- OR ++ change on leukocyte esterase test strip
3. Elevated synovial fluid polymorphonuclear neutrophil percentage (PMN%)
 4. Positive histological analysis of periprosthetic tissue
 5. A single positive culture

Alpha-défensine

α -Defensin Accuracy to Diagnose Periprosthetic Joint Infection—Best Available Test?

Salvatore J. Frangiamore, MD, MS^a, Nicholas D. Gajewski, BS^b, Anas Saleh, MD^a, Mario Farias-Kovac, MD^a, Wael K. Barsoum, MD^a, Carlos A. Higuera, MD^a
The Journal of Arthroplasty 31 (2016) 456–460

78 prélèvements dont 24 infections de prothèse
Sensibilité : 100%, Spécificité : 98%

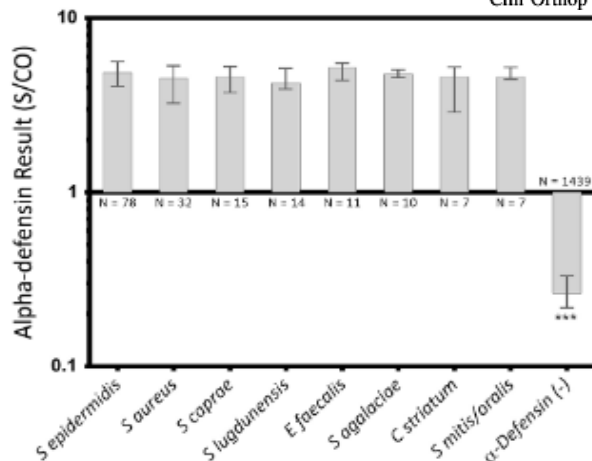
The Alpha Defensin-1 Biomarker Assay can be Used to Evaluate the Potentially Infected Total Joint Arthroplasty

Joshua Bingham MD, Henry Clarke MD, Mark Spangehl MD,
 Adam Schwartz MD, Christopher Beauchamp MD, Brynn Goldberg RN
Clin Orthop Relat Res (2014)

61 prélèvements dont 19 infections de prothèse
Sensibilité : 100%, Spécificité : 95%

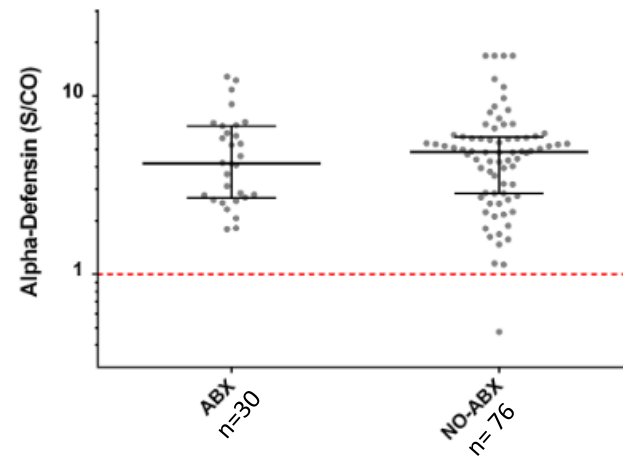
The Alpha-defensin Test for Periprosthetic Joint Infection Responds to a Wide Spectrum of Organisms

Carl Deirmengian MD, Keith Kardos PhD, Patrick Kilmartin MS,
 Simmi Gulati MS, Patrick Citrano BS, Robert E. Booth Jr MD
Clin Orthop Relat Res (2015)



The Alpha-defensin Test for Periprosthetic Joint Infections Is Not Affected by Prior Antibiotic Administration

Alisina Shahi MD, Javad Parvizi MD, FRCS, Gregory S. Kazarian AB,
 Carlos Higuera MD, Salvatore Frangiamore MD, Joshua Bingham MD,
 Christopher Beauchamp MD, Craig Della Valle MD, Carl Deirmengian MD
Clin Orthop Relat Res (2016)



Alpha-défensine – test qualitatif



Test rapide, utilisable au bloc ?



Pb coût du test : 300 €

→ Pour quels patients le proposer ?

■ ARTHROPLASTY

Qualitative α -defensin test (Synovasure) for the diagnosis of periprosthetic infection in revision total joint arthroplasty

Sigmund IK *et al.* Bone Joint J 2017

49 patients (dont 13 IPOA)

Sensibilité : 69%, Spécificité : 94%

Title: Diagnostic Accuracy of the Alpha Defensin Lateral Flow Device (Synovasure™) for Periprosthetic Infections in Microbiologically Complex Situations: A Study of 42 Cases in a French Referral Centre

De Saint Vincent *et al.* Orthop Traumatol Surg Res 2018

42 prélèvements (dont 9 IPOA, critères MSIS)
Cas avec diagnostic difficile

Sensibilité 89%, Spécificité 91%

VPN 97%, VPP 73%

Place des biomarqueurs synoviaux

- Pb **coût** (bandelette "urinaire" : 0.2€, CRP : 2.4€, IL-6 : 38€, alpha-défensine : 300€)
- Quand ? Quel délai pour le résultat ?
 - Préopératoire ?
 - Peropératoire : test directement au bloc ?
 - Postopératoire : conservation de l'échantillon, stabilité du biomarqueur
- Pas chez tous les patients !

Nouveaux outils diagnostiques

Frédéric Laurent

Institut des Agents Infectieux, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon

Centre Internationale de Recherche en Infectiologie – INSERM U1111, CNRS UMR5308, Université Lyon 1, ENS de Lyon -
Equipe *"Pathogénèse des infections à staphylocoques"*

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lyon, Département de Microbiologie



PHAGEⁱⁿLYON



Table ronde CRIOAC SOFCOT - 2022

Liens potentiels d'intérêt

- Les HCL ont participé au développement du test JI BIOFIRE et ont reçu des financements de la part de bioMérieux
- bioMérieux a fourni gracieusement tous les tests pour l'étude multicentrique international et nationale BIOFIRE JI présentée

Nouveaux outils diagnostiques

- Outils moléculaires +++
- Perspectives dans le domaine de la culture
- Perspectives dans le domaine des biomarqueurs

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

Diagnostic plus précoce

Amplification de l'ADN *in vitro*

= plus rapide que la multiplication de la bactéries

Diagnostic d'infection à culture négative

ADN (stable +++) toujours présent et amplifiable alors que la bactérie

- **n'est plus viable**
 - ✓ Bactérie fragiles
 - ✓ Utilisation d'antibiotique avant le prélèvement (infection décapitée!)
 - ✓ Prélèvement géré de façon inadéquate (température, délais, congélation)
- Bactérie non, plus ou difficilement cultivable sur milieu classique

Ex: Mycobacterium spp, Francisella tularensis, Coxiella burnetti, Bartonella henselae, Brucella sp., Mycoplasma sp., Borrelia burgdorferi, fungi, autres ...



Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?
Quels outils moléculaires ?

- ☐ Specific PCR
- ☐ 16S PCR
- ☐ Syndromic approach
- ☐ Métagénomique

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

Quels outils moléculaires ?



Specific PCR



16S PCR



Syndromic approach

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ? Quels outils moléculaires ?



Specific PCR



16S PCR



Syndromic approach

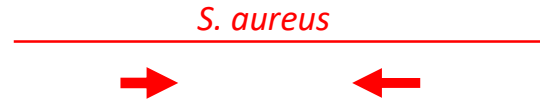


Métagénomique

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

PCR spécifique

- ✓ rapide et sensible
- ✓ 2 primers pour chaque espèce ciblée
- ✓ **kit commercial** or PCR maison
- ✓ résultats: Présence/Absence d'une ou plusieurs espèces (+/- resistance)
- ✓ "on ne détecte que ce que l'on cherche"



....

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

PCR spécifique

- ✓ rapide et sensible
- ✓ 2 primers pour chaque espèce ciblée
- ✓ **kit commercial** or PCR maison
- ✓ résultats: Présence/Absence d'une ou plusieurs espèces (+/- resistance)
- ✓ "on ne détecte que ce que l'on cherche"



Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 78 (2014) 313-315

Rapid detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistance in bone and joint infection samples: evaluation of the GeneXpert MRSA/SA SST1 assay

Florent Valour ^{a,b,c,d,*}, Viviane Blanc-Pattin ^b, Anne-Marie Freydière ^e, Anissa Bouaziz ^c, Emmanuel Chanard ^f, Sébastien Lustig ^{d,g}, Tristan Ferry ^{a,c,d}, Frédéric Laurent ^{a,b,d,h}, on behalf of the Lyon Bone Joint Infection Study Group



S aureus: +/-
mecA: +/-



	Positive for SA in culture	Negative for SA in culture	Total
Positive for SA using GeneXpert	68 Inl. 59 MSSA + 9 MRSA	3	71
Negative for SA using GeneXpert	4	16	20
Total	72	19	91



Patients for which other specimens POSITIVE for SA in culture

. Sensitivity : GeneXpert > culture

. Specimens excluded from the sensitivity calculation

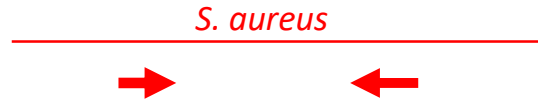


Specimens not detected as positive for SA using GeneXpert (FN)

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

PCR spécifique

- ✓ rapide et sensible
- ✓ 2 primers pour chaque espèce ciblée
- ✓ **kit commercial** or PCR maison
- ✓ résultats: Présence/Absence d'une ou plusieurs espèces (+/- resistance)
- ✓ "on ne détecte que ce que l'on cherche"



....

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 78 (2014) 313-315

Rapid detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistance in bone and joint infection samples: evaluation of the GeneXpert MRSA/SA SSTI assay

Florent Valour ^{a,b,c,d,*}, Viviane Blanc-Pattin ^b, Anne-Marie Freydière ^e, Anissa Bouaziz ^c, Emmanuel Chanard ^f, Sébastien Lustig ^{d,g}, Tristan Ferry ^{a,c,d}, Frédéric Laurent ^{a,b,d,h}, on behalf of the Lyon Bone Joint Infection Study Group



S aureus: +/-
mecA: +/-



	Positive for SA in culture	Negative for SA in culture	Total
Positive for SA using GeneXpert	68 Inl. 59 MSSA + 9 MRSA	3	71
Negative for SA using GeneXpert	4	16	20
Total	72	19	91



Patients for which other specimens were positive for SA in culture

. Sensitivity

. Spec



Specimens not detected for SA using GeneXpert (FN)

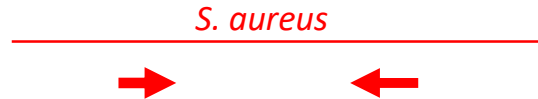
Sensibilité = 94.4 %
Spécificité = 100 %

ity calculation

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

PCR spécifique

- ✓ rapide et sensible
- ✓ 2 primers pour chaque espèce ciblée
- ✓ **kit commercial** or PCR maison
- ✓ résultats: Présence/Absence d'une ou plusieurs espèces (+/- résistance)
- ✓ "on ne détecte que ce que l'on cherche"



....



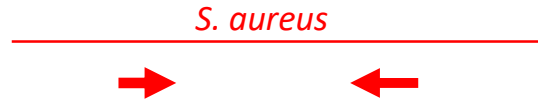
- Rapide: ≈ 1 h
- Une cartouche (extraction, réactifs mix , amplification) et petit automate
- Pas de formation biologie moléculaire poussée
- Présence/Absence *S. aureus* + gène *mecA*



Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

Specific PCR

- ✓ Fast and sensitive
- ✓ Two primers for each targeted species
- ✓ Commercial or **in-house** PCR
- ✓ Data available: Presence/Absence for one or few species (+/- resistance genes)
- ✓ Detect only what you target/search for



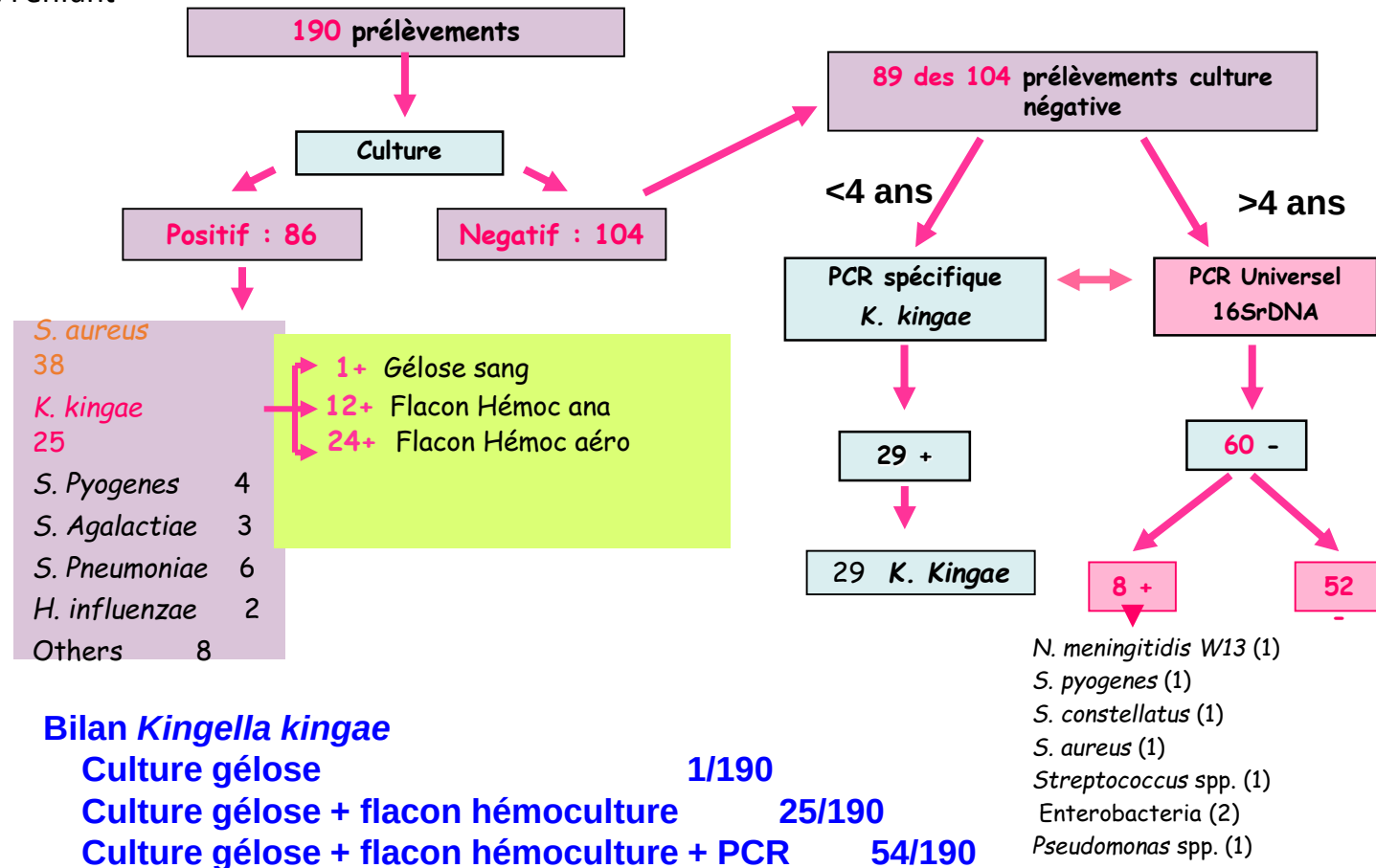
....

Primer sets used for individual BJI/PJI specific PCR in Lyon University hospital

Specific PCR	Targeted genes / Primer set	References
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>gyrA</i> <i>gyrA1 -gyrA2</i>	Chometon <i>et al</i> , <i>Pediatr Infect Dis J.</i> 2007
<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>tuf</i> Stat1 – Stat2	Benito, unpublished
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>lytA</i> Pno1 – Pno2	Ploton <i>et al</i> , <i>Pathol Biol.</i> 54 (2006) 498-50.
<i>Streptococcus spp.</i>	<i>tuf</i> <i>tuf146 – tuf544</i>	Benito, unpublished
<i>Kingella kingae</i>	<i>crp60</i> kk1 – kk2	Chometon <i>et al</i> , <i>Pediatr Infect Dis J.</i> 2007
<i>Propionibacterium acnes</i>	Tox ToxPA1 – ToxPA2	Benito, unpublished

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

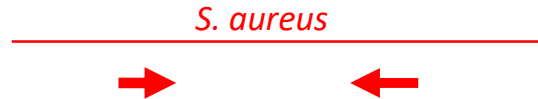
Arthrite de l'enfant



Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

Specific PCR

- ✓ Fast and sensitive
- ✓ Two primers for each targeted species
- ✓ Commercial or **in-house** PCR
- ✓ Data available: Presence/Absence for one or few species (+/- resistance genes)
- ✓ Detect only what you target/search for



Primer sets used for individual BJI/PJI specific PCR in Lyon University hospital

Specific PCR	Targeted genes / Primer set	References
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>gyrA</i> <i>gyrA1 -gyrA2</i>	Chometon <i>et al</i> , <i>Pediatr Infect Dis J.</i> 2007
<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>tuf</i> Stat1 – Stat2	Benito, unpublished
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>lytA</i> Pno1 – Pno2	Ploton <i>et al</i> , <i>Pathol Biol.</i> 54 (2006) 498-50.
<i>Streptococcus spp.</i>	<i>tuf</i> <i>tuf146 – tuf544</i>	Benito, unpublished
<i>Kingella kingae</i>	<i>crp60</i> kk1 – kk2	Chometon <i>et al</i> , <i>Pediatr Infect Dis J.</i> 2007
<i>Propionibacterium acnes</i>	Tox ToxPA1 – ToxPA2	Benito, unpublished



- Plusieurs espèces ciblées
- 1 pathogène = 1 PCR
- Seulement **4-5 des espèces les plus prévalentes**
- Préparation manuelle des réactifs
- Extraction and PCR réalisées séparément
- Réservé à des techniciens spécialisés
Bio Mol = pas 24/7
- Délai de résultat plus long +++
- Coût en temps technique +++ /coup par coup

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ? Quels outils moléculaires ?



Specific PCR



16S PCR



Syndromic approach



Métagénomique

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

PCR 16S / PCR universel/broad range PCR = PCR sans « *a priori* »

- un seul set de primers ciblant le gene de l'ADNr 16S présent chez toutes les bactéries

16S gene (present in all bacteria whatever the species)

■ Séquences constantes + ■ séquences variables



Amplification quelque soit la bactérie!

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

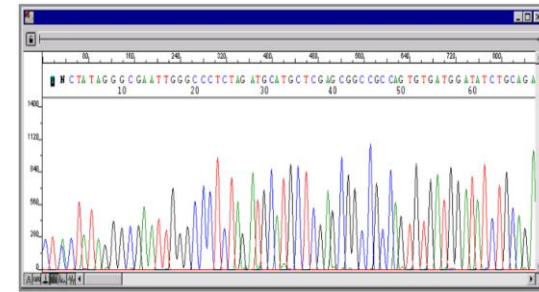
PCR 16S / PCR universel/broad range PCR = PCR sans « *a priori* »

- un seul set de primers ciblant le gene de l'ADNr 16S présent chez toutes les bactéries

Sanger sequencing

PCR

16S gene (whatever the species)



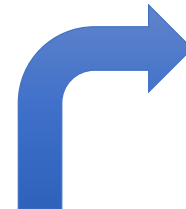
Specimens



Lyse et extraction



Purification des produits PCR



Analyse Sequence



Identification

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

16S universal/broad range PCR

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Mar. 2006, p. 1018–1028
0095-1137/06/\$08.00+0 doi:10.1128/JCM.44.3.1018–1028.2006
Copyright © 2006, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 44, No. 3

Analysis of 525 Samples To Determine the Usefulness of PCR
Amplification and Sequencing of the 16S rRNA Gene for
Diagnosis of Bone and Joint Infections

Florence Fenollar,^{1,2} Véronique Roux,^{1,2} Andréas Stein,¹ Michel Drancourt,^{1,2} and Didier Raoult^{1,2*}

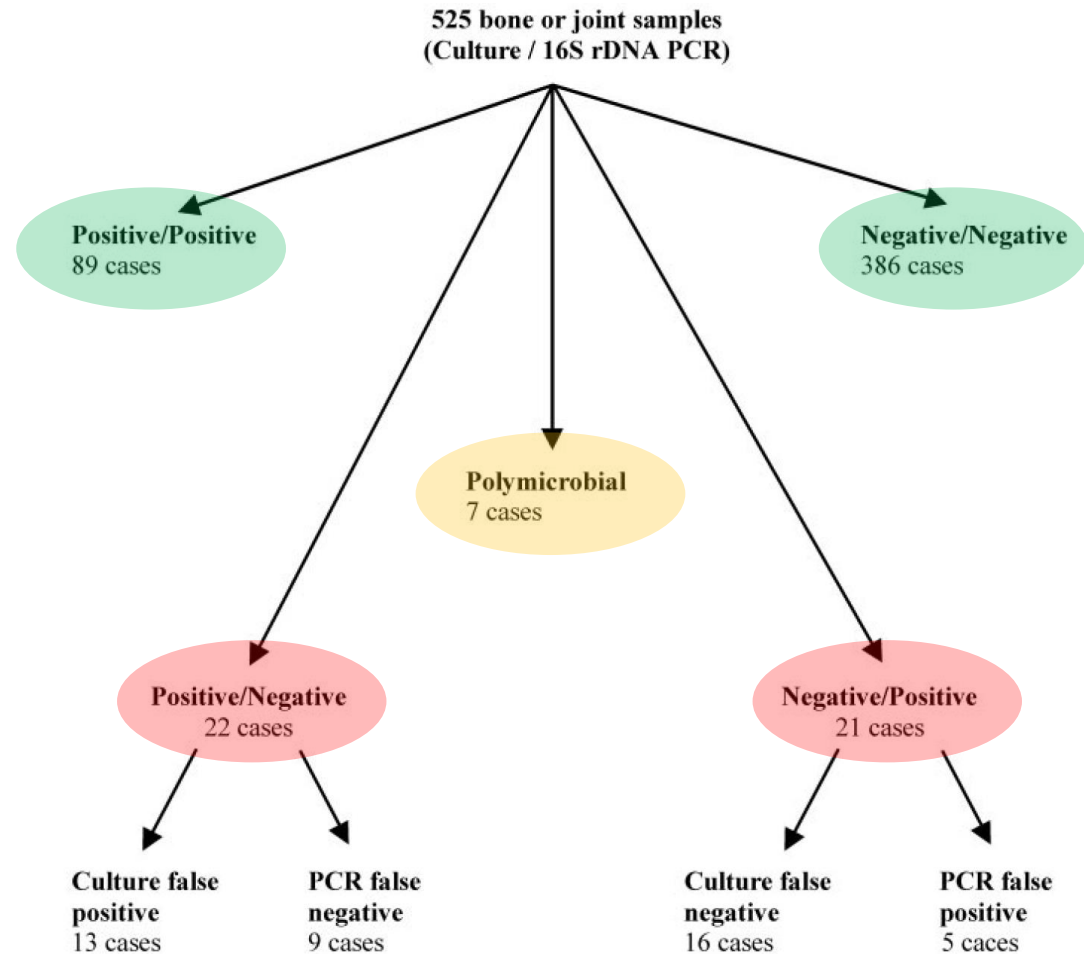
525 samples

255 aspirations / 270 tissue biopsies

372 patients

196 hips incl. 108 with prosthesis

176 knees incl. 47 with prosthesis



Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

16S universal/broad range PCR

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Mar. 2006, p. 1018–1028
0095-1137/06/\$08.00+0 doi:10.1128/JCM.44.3.1018–1028.2006
Copyright © 2006, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 44, No. 3

Analysis of 525 Samples To Determine the Usefulness of PCR Amplification and Sequencing of the 16S rRNA Gene for Diagnosis of Bone and Joint Infections

Florence Fenollar,^{1,2} Véronique Roux,^{1,2} Andréas Stein,¹ Michel Drancourt,^{1,2} and Didier Raoult^{1,2*}

TABLE 2. Comparison of sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative value between culture and 16S rRNA gene PCR followed by sequencing

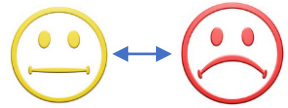
Test	Result	No. of samples with definite conclusion		% Sensitivity ^a	% Specificity ^b	% Positive predictive value	% Negative predictive value
		Positive	Negative				
Culture	Positive	105	13	86.7	89	89	96
	Negative	16	391				
PCR 16S	Positive	112	5	92.5	95.7	95.7	97.7
	Negative	9	389				
Total		121	424				

^a $P = 0.13$ (chi-square test).

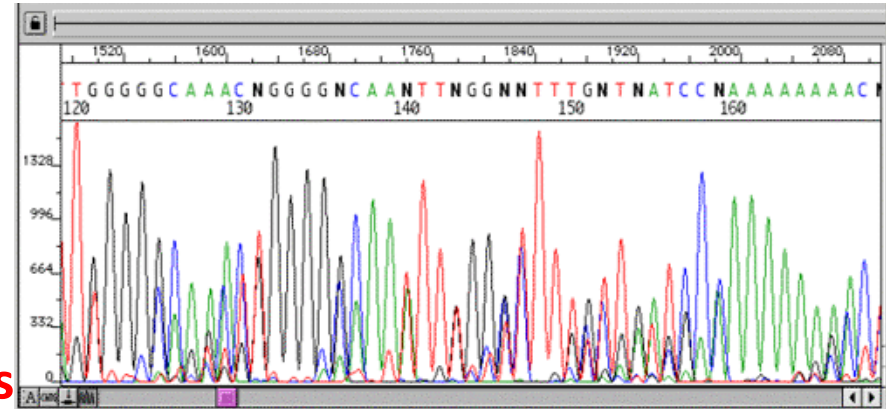
^b $P = 0.06$ (chi-square test).

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ?

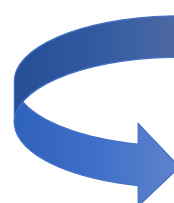
PCR 16S universelle /broad range PCR



- ✓ beaucoup moins **automatisé** que PCR spécifique
 - Technicien spécialisé et entraîné
- ✓ extraction/amplification /purification/sequenage/analyse
 - Délai de rendu +++ 2-3 jours
- ✓ Pb quand
 - contaminants
 - **polymicrobial infections (10-20%)**
 - Séquences duales
- ✓ **Moins sensible que les pCR spécifiques**



Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ? Quels outils moléculaires ?

- 
- ☒ Specific PCR
 - ☒ 16S PCR
 - ☒ Syndromic approach
 - ☐ Métagénomique

2022 : L'avènement de l'approche syndromique dans les IOA

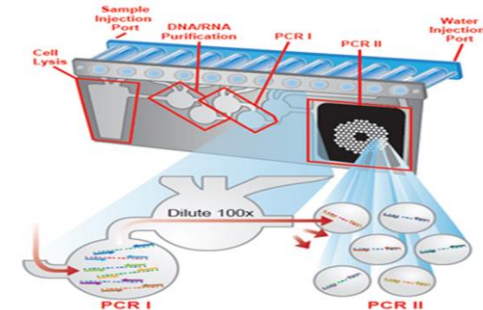
Symptôme = caractéristique apparente chez le patient (ex : douleur)

Signe = un indicateur quantifiable de la maladie (ex : fièvre)

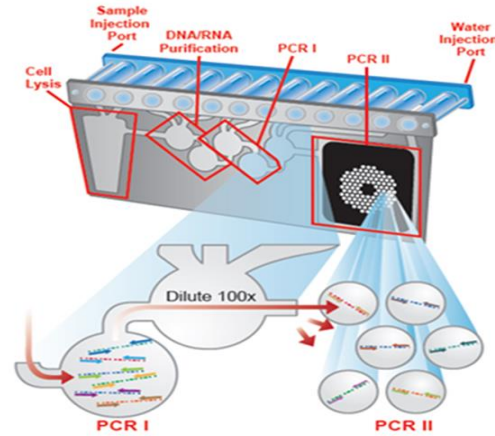
Syndrome = combinaison de signes et de symptômes qui apparaissent ensemble dans le cadre d'un cadre nosologique

FilmArray® Technology – BIOFIRE

- PCR multi-multiplex d'un panel ciblé de 31 pathogènes + des mécanismes de résistances à impact majeur
- Préparation/manipulation ultra-simplifiée (< 5 minutes)
- Dispositif sous format de poche
- Test automatisé simplifié (run time ≈ 1 heure)
- Résultats directement interprétés et interprétables

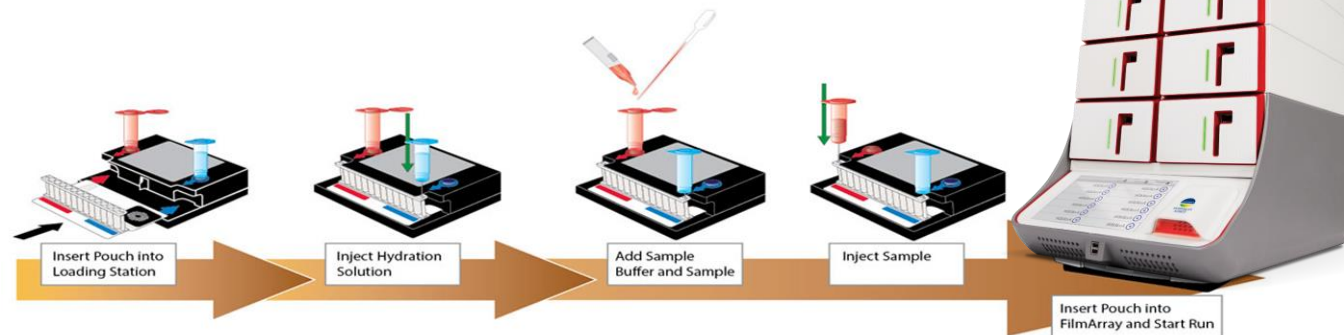


BioFire® Torch Instrument



Résultat disponible
à H+1

200 euros





BIOFIRE® JOINT INFECTION (JI) PANEL

1 Test. 39 Targets. ~1 Hour.

Validé officiellement uniquement
sur les liquides articulaires

GRAM-POSITIVE BACTERIA

Anaerococcus prevotii/vaginalis
Clostridium perfringens
Cutibacterium avidum/granulosum
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Fingoldia magna
Parvimonas micra
Peptoniphilus
Peptostreptococcus anaerobius
Staphylococcus aureus
Staphylococcus lugdunensis
Streptococcus spp.
 Streptococcus agalactiae
 Streptococcus pneumoniae
 Streptococcus pyogenes

GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Bacteroides fragilis
Citrobacter
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Haemophilus influenzae
Kingella kingae
Klebsiella aerogenes
Klebsiella pneumoniae group
Morganella morganii
Neisseria gonorrhoeae
Proteus spp.
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella spp.
Serratia marcescens

YEAST

Candida spp.
 Candida albicans

ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES

Carbapenemases

IMP
KPC
NDM
OXA-48-like
VIM

ESBL

CTX-M

Methicillin Resistance

mecA/C and MREJ (MRSA)

Vancomycin Resistance

vanA/B



BIOFIRE® JOINT INFECTION (JI) PANEL

1 Test. 39 Targets. ~1 Hour.

GRAM-POSITIVE BACTERIA

Anaerococcus prevotii/vaginalis
Clostridium perfringens
Cutibacterium avidum/granulosum
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Fingoldia magna
Parvimonas micra
Peptoniphilus
Peptostreptococcus anaerobius
Staphylococcus aureus
Staphylococcus lugdunensis
Streptococcus spp.
Streptococcus agalactiae
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes

GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Bacteroides fragilis
Citrobacter
Enterobacter cloacae complex
Escherichia coli
Haemophilus influenzae
Kingella kingae
Klebsiella aerogenes
Klebsiella pneumoniae group
Morganella morganii
Neisseria gonorrhoeae
Proteus spp.
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella spp.
Serratia marcescens

YEAST

Candida spp.
Candida albicans

ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES

Carbapenemases
IMP
KPC
NDM
OXA-48-like
VIM

ESBL
CTX-M

Methicillin Resistance
mecA/C and *MREJ* (MRSA)

Vancomycin Resistance
vanA/B



Cibles manquantes
Staphylococcus epidermidis
Cutibacterium acnes
Staphylocoques blancs
***Corynebacterium* spp**

⇒ Espèces impliquées dans les infections ostéo-articulaires chroniques

⇒ Contaminants ++ / flores cutanées / Faux positifs trop nombreux

Analyse des discordances entre résultats de culture vs approche syndromique JI BIOFIRE

Etude prospective
internationale
multicentrique sur
1544 liquides articulaires

242 positifs BIOFIRE

- **75 FP** vs culture
mais Gold Standard
imparfait !!!

- **20 FN** vs culture

Capacité à détecter les
infections
polymicrobiennes +++

Target	n	False positive results			False negative results	
		Positive independent molecular assay	Relevant prior antimicrobials	Culture of the same bacteria in another sample/past history of infection	n	Positive independent molecular assay
Total	75	72	29	17	20	16
<i>Enterococcus faecium</i>	2	2	1	1		
<i>Finegoldia magna</i>	1	1	0	0		
<i>Parvimonas micra</i>	-	-	-	-	1	1
<i>Peptoniphilus</i>	1	1	0	0		
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	3	3	1	0		
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	19	9	5/2	7	6
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	3	3	1	1/1		
<i>Streptococcus</i> spp.	12	12	7	4	6	4
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	1	1	0		
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	2	2	2	0	2	2
<i>Escherichia coli</i>	1	1	1	0		
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1	0	0		
<i>Kingella kingae</i>	6	6	3	0		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	1	1	0	1	1	1
<i>Morganella morganii</i>	2	2	0	1		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	3	3	1	0		
<i>Proteus</i> spp.	4	4	1	0		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3	1	1		
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	0	0		
<i>Candida</i>	1	1	0	0	3	2
Total	75	72	29	17	20	16

Analyse des discordances entre résultats de culture vs approche syndromique JI BIOFIRE

Etude prospective
internationale
multicentrique sur
1544 liquides articulaires

242 positifs BIOFIRE

- **75 FP** vs culture
mais Gold Standard
imparfait !!!

- **20 FN** vs culture

Capacité à détecter les
infections
polymicrobiennes +++

Target	n	False positive results			False negative results	
		Positive independent molecular assay	Relevant prior antimicrobials	Culture of the same bacteria in another sample/past history of infection	n	Positive independent molecular assay
Total	75	72	29	17	20	16
<i>Enterococcus faecium</i>	2	2	1	1		
<i>Finegoldia magna</i>	1	1	0	0		
<i>Parvimonas micra</i>	-	-	-	-	1	1
<i>Peptoniphilus</i>	1	1	0	0		
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	3	3	1	0		
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	19	9	5/2	7	6
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	3	3	1	1/1		
<i>Streptococcus</i> spp.	12	12	7	4	6	4
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	1	1	0		
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	2	2	2	0	2	2
<i>Escherichia coli</i>	1	1	1	0		
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1	0	0		
<i>Kingella kingae</i>	6	6	3	0		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	1	1	0	1	1	1
<i>Morganella morganii</i>	2	2	0	1		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	3	3	1	0		
<i>Proteus</i> spp.	4	4	1	0		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3	1	1		
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	0	0		
<i>Candida</i>	1	1	0	0	3	2
Total	75	72	29	17	20	16

Analyse des discordances entre résultats de culture vs approche syndromique JI BIOFIRE

Etude prospective
internationale
multicentrique sur
1544 liquides articulaires

242 positifs BIOFIRE

- **75 FP** vs culture
mais Gold Standard
imparfait !!!
- **20 FN** vs culture

Capacité à détecter les
infections
polymicrobiennes +++

Target	n	False positive results			False negative results	
		Positive independent molecular assay	Relevant prior antimicrobials	Culture of the same bacteria in another sample/past history of infection	n	Positive independent molecular assay
Total	75	72	29	17	20	16
<i>Enterococcus faecium</i>	2	2	1	1		
<i>Finegoldia magna</i>	1	1	0	0		
<i>Parvimonas micra</i>	-	-	-	-	1	1
<i>Peptoniphilus</i>	1	1	0	0		
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	3	3	1	0		
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	19	9	5/2	7	6
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	3	3	1	1/1		
<i>Streptococcus</i> spp.	12	12	7	4	6	4
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	1	1	0		
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	2	2	2	0	2	2
<i>Escherichia coli</i>	1	1	1	0		
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1	0	0		
<i>Kingella kingae</i>	6	6	3	0		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	1	1	0	1	1	1
<i>Morganella morganii</i>	2	2	0	1		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	3	3	1	0		
<i>Proteus</i> spp.	4	4	1	0		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3	1	1		
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	0	0		
<i>Candida</i>	1	1	0	0	3	2
Total	75	72	29	17	20	16

Analyse des discordances entre résultats de culture vs approche syndromique JI BIOFIRE

Etude prospective
internationale
multicentrique sur
1544 liquides articulaires

242 positifs BIOFIRE

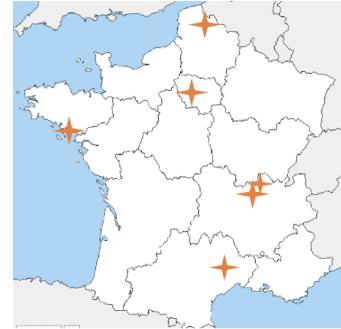
- **75 FP** vs culture
mais Gold Standard
imparfait !!!
- **20 FN** vs culture

Capacité à détecter les
infections
polymicrobiennes +++

Target	n	False positive results			False negative results	
		Positive independent molecular assay	Relevant prior antimicrobials	Culture of the same bacteria in another sample/past history of infection	n	Positive independent molecular assay
Total	75	72	29	17	20	16
<i>Enterococcus faecium</i>	2	2	1	1		
<i>Finegoldia magna</i>	1	1	0	0		
<i>Parvimonas micra</i>	-	-	-	-	1	1
<i>Peptoniphilus</i>	1	1	0	0		
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	3	3	1	0		
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	19	9	5/2	7	6
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	3	3	1	1/1		
<i>Streptococcus</i> spp.	12	12	7	4	6	4
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	1	1	0		
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	2	2	2	0	2	2
<i>Escherichia coli</i>	1	1	1	0		
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1	0	0		
<i>Kingella kingae</i>	6	6	3	0		
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	1	1	0	1	1	1
<i>Morganella morganii</i>	2	2	0	1		
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	3	3	1	0		
<i>Proteus</i> spp.	4	4	1	0		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3	1	1		
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	0	0		
<i>Candida</i>	1	1	0	0	3	2
Total	75	72	29	17	20	16

Etude BIOFIRE JI Panel – France vie réelle

- Juillet 2021- Mai 2022 avec soutien de bioMérieux
- 6 laboratoires : 5 laboratoires hospitaliers +1 laboratoire privé
- **Liquides synoviaux uniquement** collectés de patients avec arthrites aiguës



- **Critères d'inclusion ADULTES**

⇒ Critères ICM Philly 2018 et EBJIS 2021

- **Arthrite aiguë** sur articulation native ou prothèse
- Liquide synovial avec GB > 1700 BG/μl et ≥ 65 % polynucléaires pour prothèse ou fistules en continuité avec l'articulation ou visualisation de la prothèse

- **Critères d'inclusion ENFANTS**

⇒ Impotence fonctionnelle avec douleur avec des signes cliniques ou biologiques d'infection

Résultats préliminaires

N = 319 liquides articulaires collectés chez 319 patients

318 résultats disponibles = seulement un ininterprétable !

Vrai Positif (VP)	Vrai Négatif (VN)	Faux Positif (FP)	Faux Négatif (FN)	En cours d'investigation
BF+ / Culture+ ou autres tech	BF- / Culture -	BF+ / Culture -	BF- / Culture + ou autres tech	
149 (47%)	131 (41%)	0	33 (10%)	5 (2%)

- 18 (6%) : **non inscrit au panel** = « missing target » (10 *S. epidermidis*, 2 *S. capitis*, 2 *C. acnes*, 4 others)
- 15 (5%) : "vrai" FN =
 - **défaut de sensibilité** du test BioFire JI panel ?
 - très **faibles inoculum** = effet sampling ? (pour au moins 8 des cas (Boite-/flacon+))
 - 8 *S. aureus*, 4 *P. aeruginosa*, 1 *E. coli*, 1 *N. gonorrhoeae*, 1 *P. micra*

Approche syndromique JI BIOFIRE

- Excellente performance de l'approche syndromique BIOFIRE® JI panel
- Gènes de résistance : tous détectés



Mais positionnement du test à discuter du fait des trous dans le panel

- Urgences vs chirurgie orthopédique ; aiguë vs chronique
- Positionnement du test à discuter en RCP (en seconde intention si ATB)
- Etudes médico-économiques requises

200/€ par test

⇒ Added medical value ?

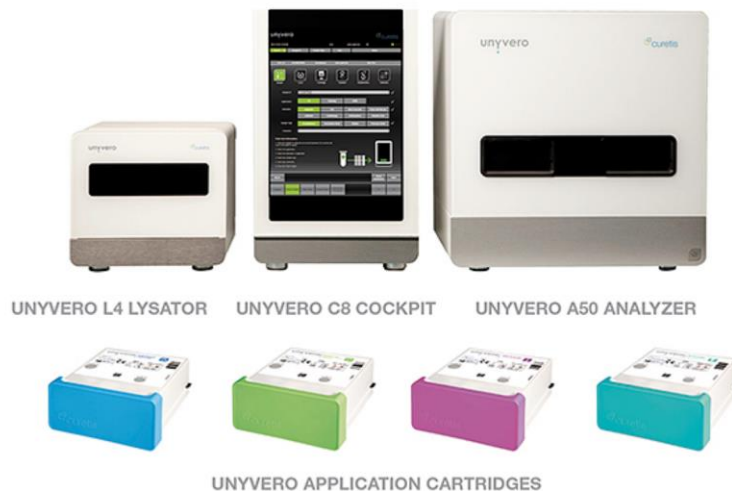
⇒ Nécessité d'avoir une vision globale de l'utilité du BIOFIRE JI Panel



Approche syndromique et IOA – Unyvero Curetis

Semi-automatisé

200-300/€ - Results in 5-6 hours !!



 curetis

Curetis to Launch Next Generation CE-IVD Unyvero Implant and Tissue Infection Application Cartridge

- Launch follows successful completion of CE Performance Evaluation Study
- ITI now covers 102 diagnostic targets, including 85 pathogens and 17 resistance markers

Approche syndromique et IOA – Unyvero Curetis

GROUP	PATHOGEN
Universal Bacteria	
Gram-positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Coagulase negative staphylococci
	<i>Streptococcus</i> spp.
	<i>Streptococcus agalactiae</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i> / <i>dysgalactiae</i>
	<i>Granulicatella adiacens</i>
	<i>Abiotrophia defectiva</i>
	<i>Enterococcus</i> spp.
	<i>Enterococcus faecalis</i>
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i> spp.
Enterobacteriaceae	<i>Citrobacter freundii</i> / <i>koseri</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Klebsiella variicola</i>
Non-fermenting bacteria	<i>Proteus</i> spp.
	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Anaerobic bacteria	<i>Propionibacterium acnes</i>
	<i>Fingoldia magna</i>
	<i>Bacteroides fragilis</i> group
	<i>Candida</i> spp.
Fungi	<i>Candida albicans</i>
	<i>Candida glabrata</i>
	<i>I. orientalis</i> (<i>C. krusei</i>)
	<i>Candida tropicalis</i>

GENE	RESISTANCE AGAINST
<i>aac(6)aph(2')</i>	Aminoglycoside
<i>ermA</i>	Macrolide/Lincosamide
<i>ermC</i>	Macrolide/Lincosamide
<i>mecA</i>	Oxacillin
<i>mecC</i> (LGA251)	Oxacillin
<i>vanA</i>	Vancomycin
<i>vanB</i>	Vancomycin
<i>aacA4</i>	Aminoglycoside
<i>ctx-M</i>	3rd generation Cephalosporins
<i>kpc</i>	Carbapenem
<i>imp</i>	Carbapenem
<i>ndm</i>	Carbapenem
<i>oxa-23</i>	Carbapenem
<i>oxa-24/40</i>	Carbapenem
<i>oxa-48</i>	Carbapenem
<i>oxa-58</i>	Carbapenem
<i>vim</i>	Carbapenem



ITI IMPLANT &
TISSUE
INFECTION
APPLICATION



Approche syndromique et IOA – Unyvero Curetis

Curetis Unyvero = "mPCR"

Large études: 440 prélèvements

- 164 LA négatifs
- 276 LA positifs

Concordance globale

Culture vs Unyvero = 58%

Unyvero vs 16S PCR = 70%

5h-7h !

Non automatisé !

Impact of bacterial inoculum on culture and multiplex PCR results

	Number of positive media			Number of colonies		
	1	2	≥3	<5	5–50	>50
	Available results, n = 101			Available results, n = 94		
Culture and mPCR positive concordant results (see Table 1) n = 102 (%)	7 (6.9)	10 (9.9)	84 (83.2)	13 (13.8)	32 (34.0)	49 (52.2)
	Available results, n = 110			Available results, n = 65		
Culture positive and mPCR negative results (see Table 1) n = 115 (%)	25 (22.7)	22 (20)	63 (57.3)	30 (39.4)	21 (37.9)	14 (22.7)

Conclusion: This new standardized molecular test showed a lack of detection when the bacterial inoculum was low (number of positive media per sample and number of colonies per media) but can be useful when patients have received antibiotic therapy previously. **D. Malandain, Clin Microbiol Infect 2018;24:83.e1–83.e6**

ATTENTION tout ce qui est moléculaire n'est pas bon !

Que peut-on attendre des outils de biologie moléculaires ? Quels outils moléculaires ?



Specific PCR



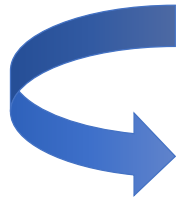
16S PCR



Syndromic approach

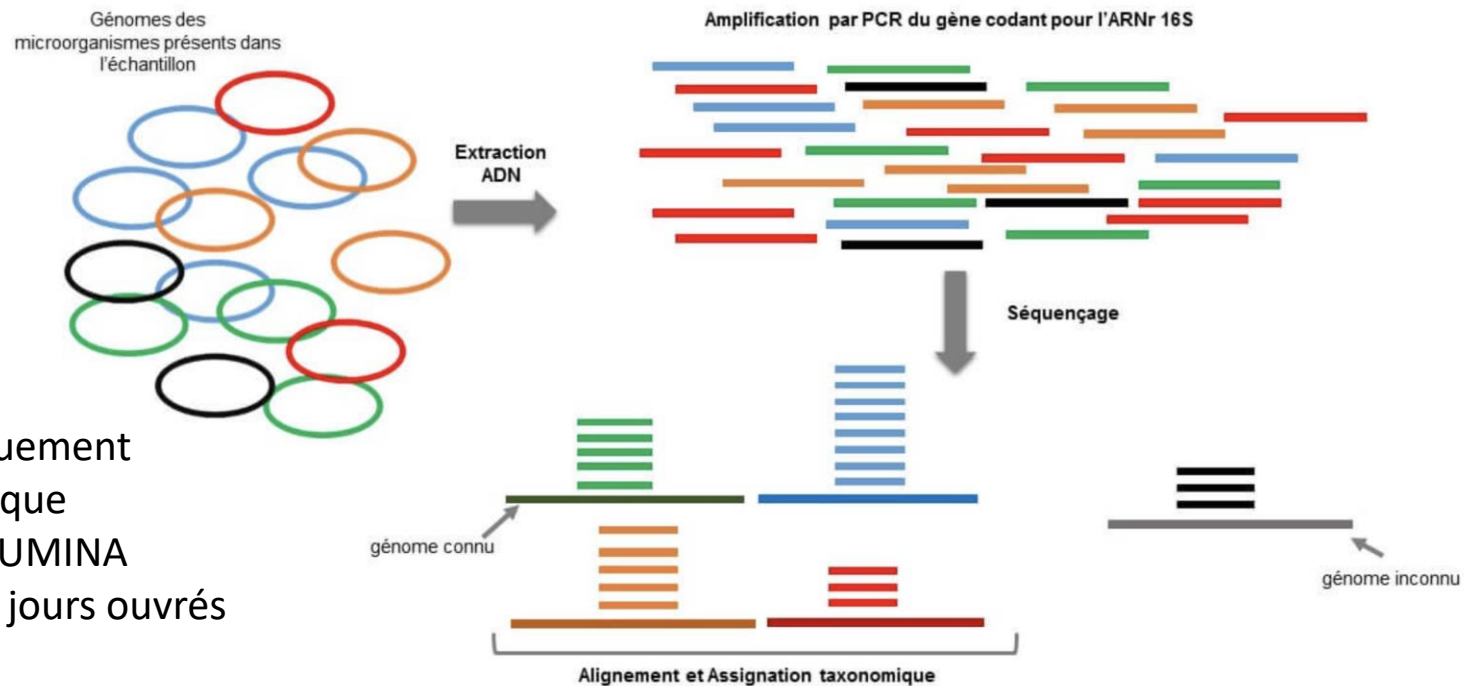


Métagénomique



Outils moléculaires : métagénomique et IOA

Métagénomique 16S



- **Identification** uniquement
- Équipement spécifique
séquenceur ILLUMINA
- Délai minimum 2-3 jours ouvrés
- Coût +++
- Pb: Contamination et seuil de positivité



AMERICAN
SOCIETY FOR
MICROBIOLOGY

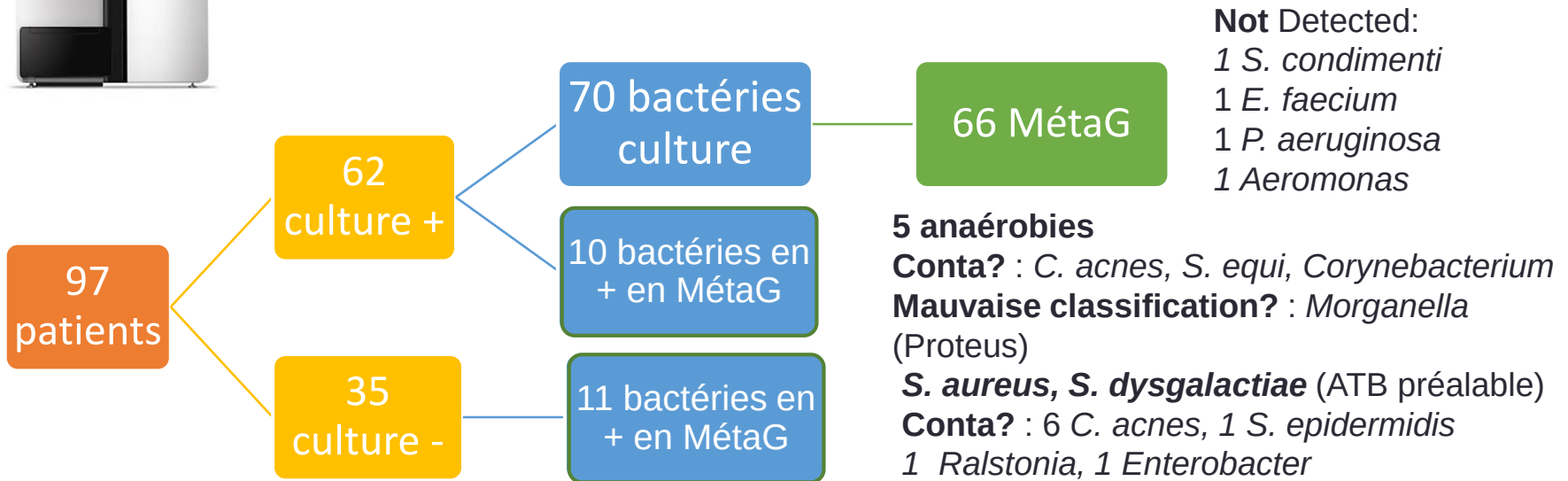
Journal of
Clinical Microbiology®

Molecular Diagnosis of Orthopedic-Device-Related Infection Directly from Sonication Fluid by Metagenomic Sequencing

Teresa L. Street,^a Nicholas D. Sanderson,^a Bridget L. Atkins,^{b,c} Andrew J. Brent,^{a,b} Kevin Cole,^{d,e} Dona Foster,^a Martin A. McNally,^b Sarah Oakley,^c Leon Peto,^a Adrian Taylor,^b Tim E. A. Peto,^{a,f} Derrick W. Crook,^{a,f} David W. Eyre^{a,f}



Métagénomique 16S





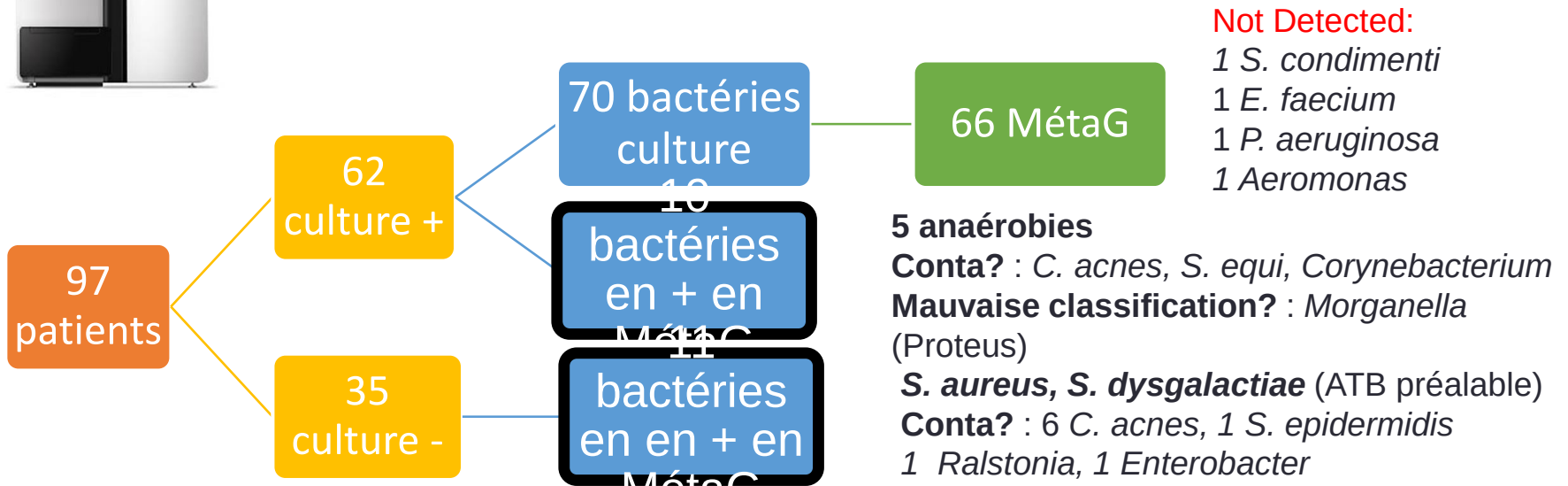
Journal of
Clinical Microbiology®

Molecular Diagnosis of Orthopedic-Device-Related Infection Directly from Sonication Fluid by Metagenomic Sequencing

Teresa L. Street,^a Nicholas D. Sanderson,^a Bridget L. Atkins,^{b,c} Andrew J. Brent,^{a,b} Kevin Cole,^{d,e} Dona Foster,^a Martin A. McNally,^b Sarah Oakley,^c Leon Peto,^a Adrian Taylor,^b Tim E. A. Peto,^{a,f} Derrick W. Crook,^{a,f} David W. Eyre^{a,f}



Métagénomique 16S



Métagénomique et IOA

Métagénomique SHUTGUN

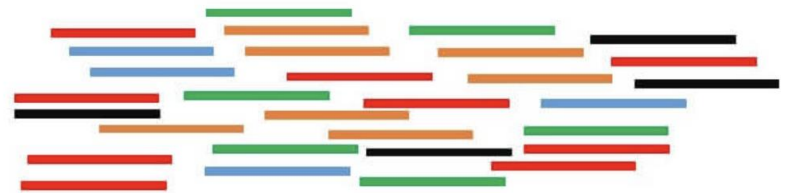
Génomes des
microorganismes présents dans
l'échantillon



Extraction
ADN



Fragmentation



Séquençage



Assemblage et alignement sur des génomes référencés
dans les bases de données



génomme inconnu

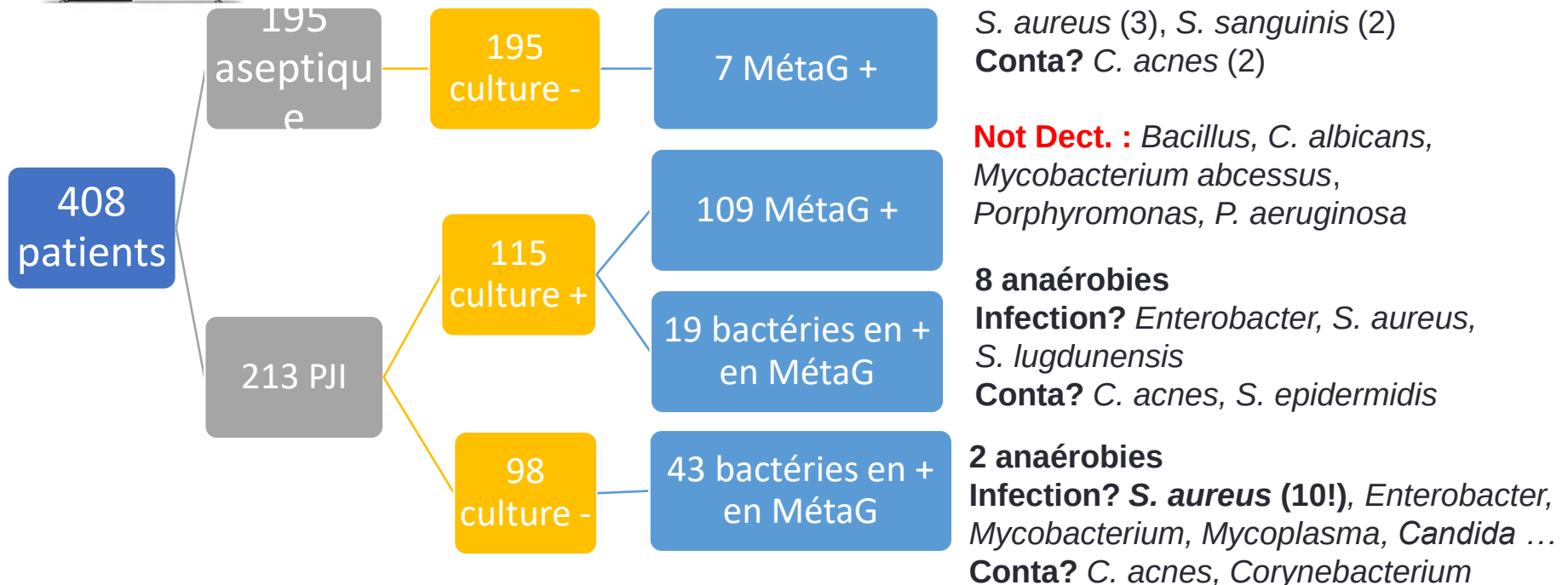
Assemblage et nouvelle
annotation

- **Identification**
+ gènes de résistance et virulence
- **Analyse génétique complexe (Pipeline+++)**
- Équipement spécifique
séquenceur ILLUMINA
- Délai 2-3 jours ouvrés
- Coût +++
- Contamination et seuil de positivité



Identification of Prosthetic Joint Infection Pathogens Using a Shotgun Metagenomics Approach

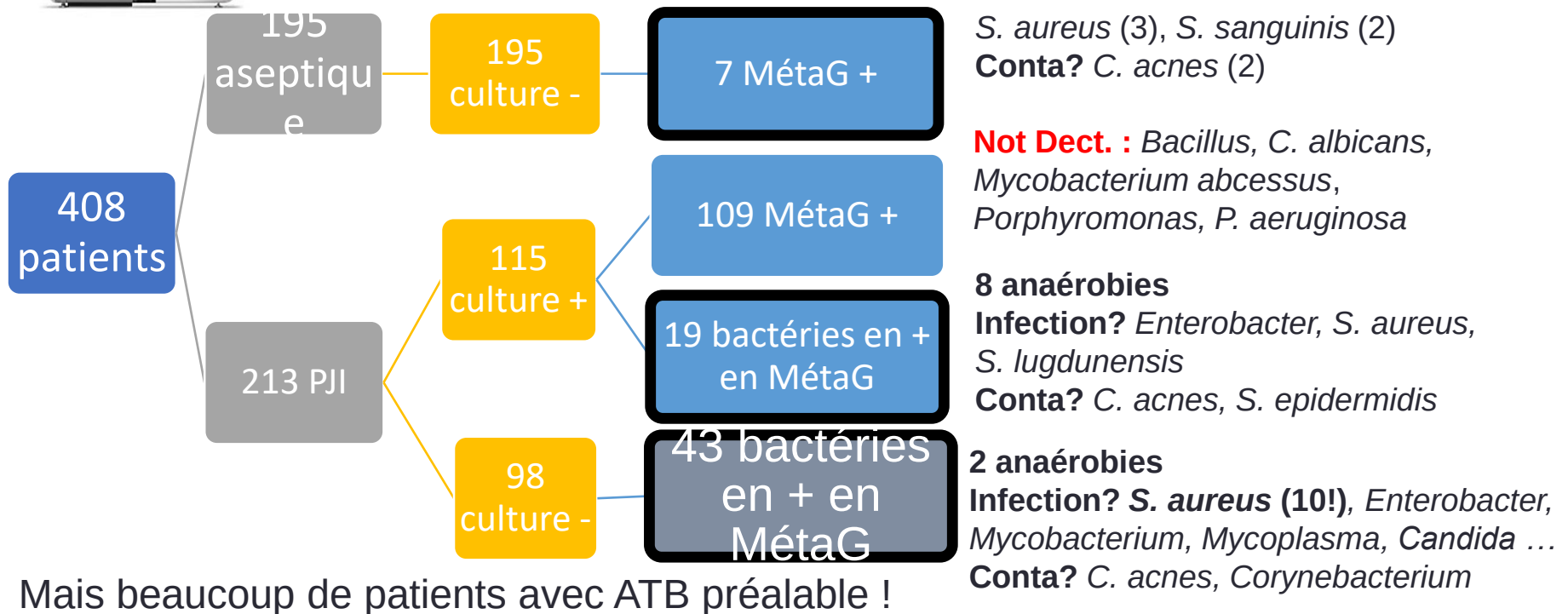
Matthew J. Thoendel,¹ Patricio R. Jeraldo,² Kerryl E. Greenwood-Quaintance,³ Janet Z. Yao,² Nicholas Chia,² Arlen D. Hanssen,⁴ Matthew P. Abdel,⁴ and Robin Patel^{1,3}





Identification of Prosthetic Joint Infection Pathogens Using a Shotgun Metagenomics Approach

Matthew J. Thoendel,¹ Patricio R. Jeraldo,² Kerryl E. Greenwood-Quaintance,³ Janet Z. Yao,² Nicholas Chia,² Arlen D. Hanssen,⁴ Matthew P. Abdel,⁴ and Robin Patel^{1,3}



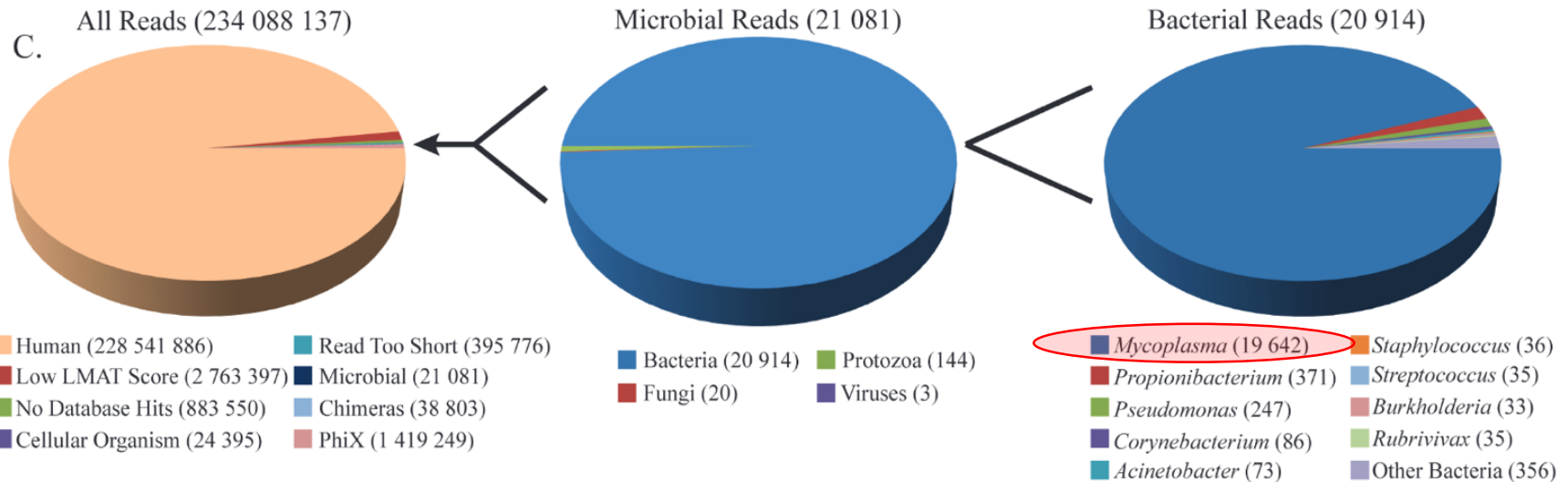
Métagénomique SHUTGUN - Illumina

Clinical Infectious Diseases

BRIEF REPORT

A Novel Prosthetic Joint Infection Pathogen, *Mycoplasma salivarium*, Identified by Metagenomic Shotgun Sequencing

Matthew Thoendel,¹ Patricio Jeraldo,² Kerryl E. Greenwood-Quaintance,³ Nicholas Chia,² Matthew P. Abdel,⁴ James M. Steckelberg,¹ Douglas R. Osmon,¹ and Robin Patel^{1,3}



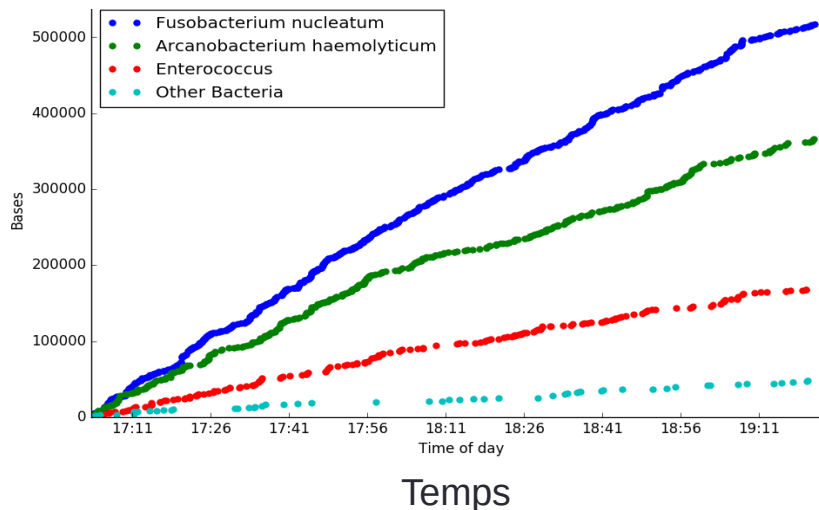
Real-time analysis of nanopore-based metagenomic sequencing from infected orthopaedic devices

BMC Genomics

Nicholas D Sanderson^{1*}, Teresa L Street¹, Dona Foster¹, Jeremy Swann¹, Bridget L Atkins^{3,4}, Andrew J Brent^{1,3}, Martin A McNally³, Sarah Oakley⁴, Adrian Taylor⁴, Tim E A Peto^{1,2}, Derrick W Crook^{1,2} and David W Eyre^{1,2}

Comparaison séquençage Illumina versus Nanopore pour 9 échantillons

- Résultats semblables
- Nanopore : Séquençage + analyse en temps réel résultats disponibles en 2 heures



Prélèvement
polymicrobien



Nouveaux outils diagnostiques

- Outils moléculaires +++
- Perspectives dans le domaine de la culture
- Perspectives dans le domaine des biomarqueurs

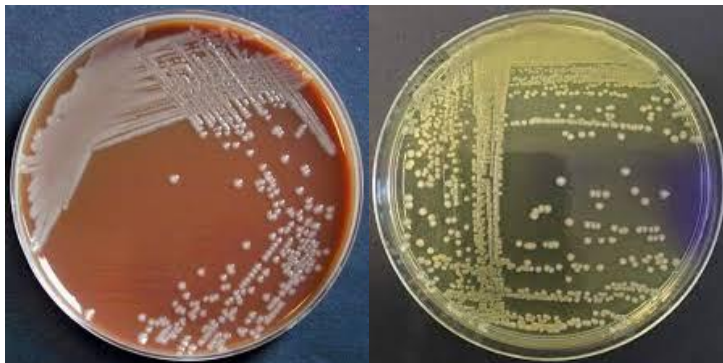
Nouveaux outils diagnostiques

Culture et IOAc

La **culture conventionnelle** reste/restera indispensable

- ✓ identification
- ✓ Antibiotogramme
- ✓ comparaison de souches

Mais peut-on faire différemment/mieux?



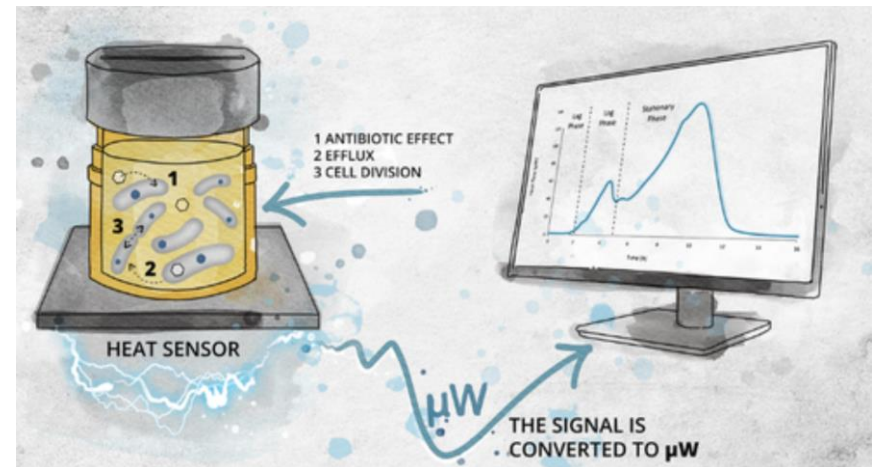
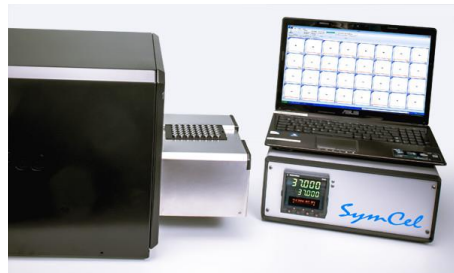
Nouveaux outils diagnostiques

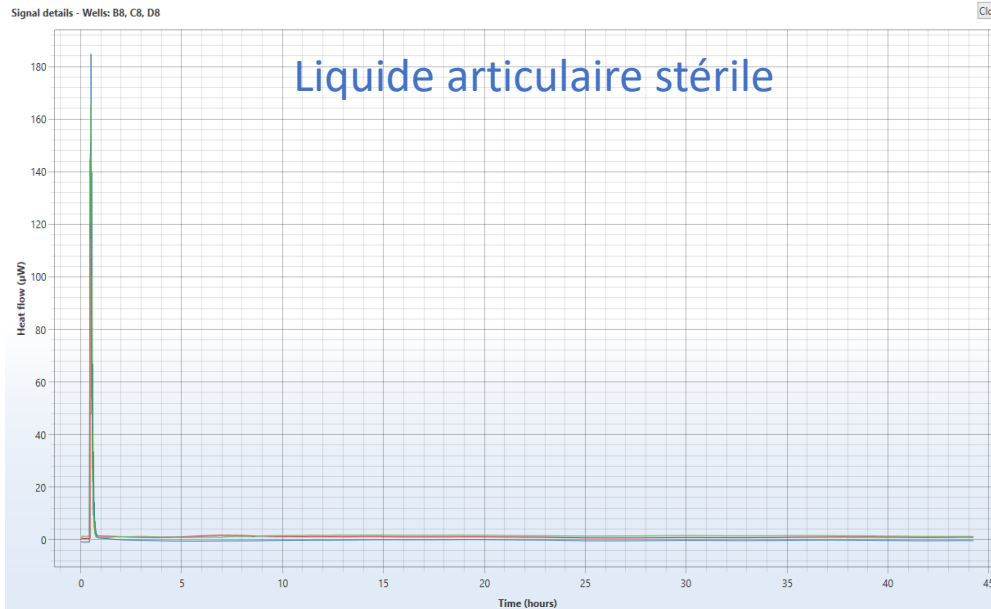
Culture et IOAc

Microcalorimétrie

= *Détection ultrasensible de microvariation de chaleur*

- ✓ *croissance des bactéries = microchaleur dégagée/detectable*
- ✓ *ultrasensible = précoce !*

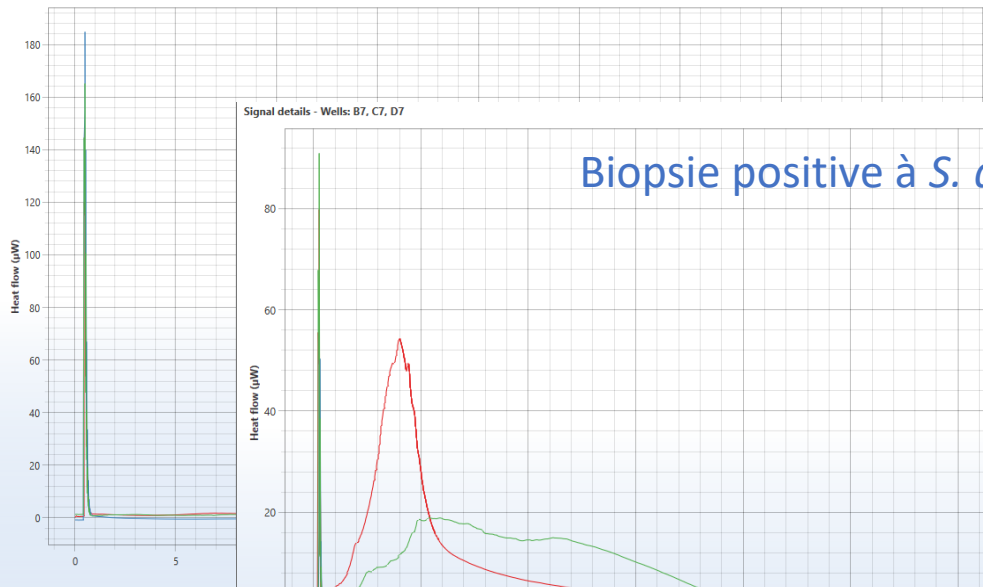




— :milieu MH
— :milieu SAB
— :milieu MANNITOL

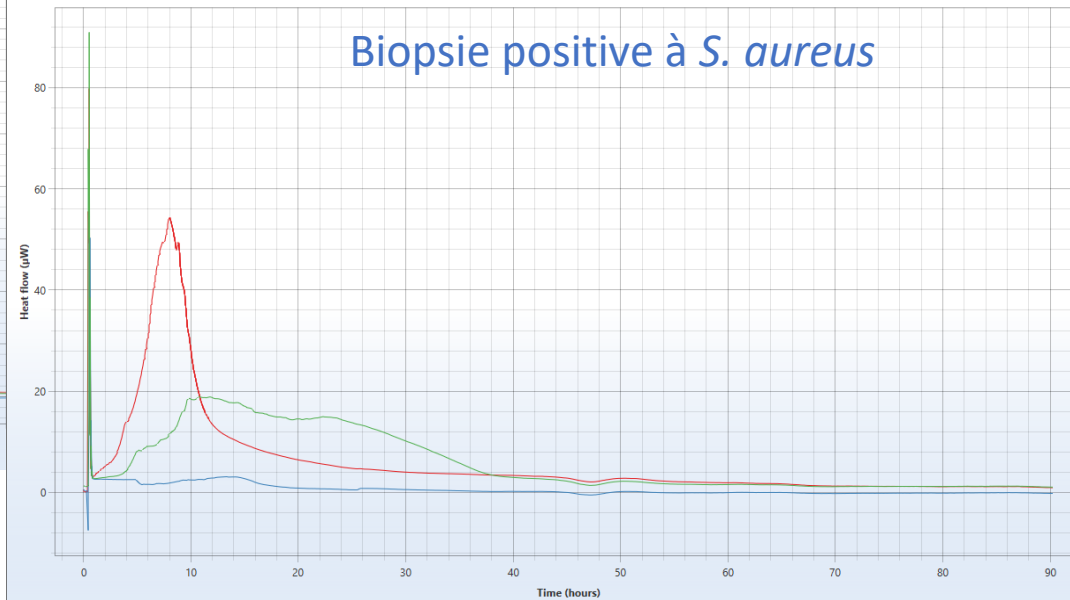


Signal details - Wells: B8, C8, D8



Close

Signal details - Wells: B7, C7, D7



Close

Biopsie positive à *S. aureus*

— :milieu MH
— :milieu SAB
— :milieu MANNITOL



calScreener™

The calorimetric instrument



calPlate™

48-well plate with titanium cups

Coller



calWell™

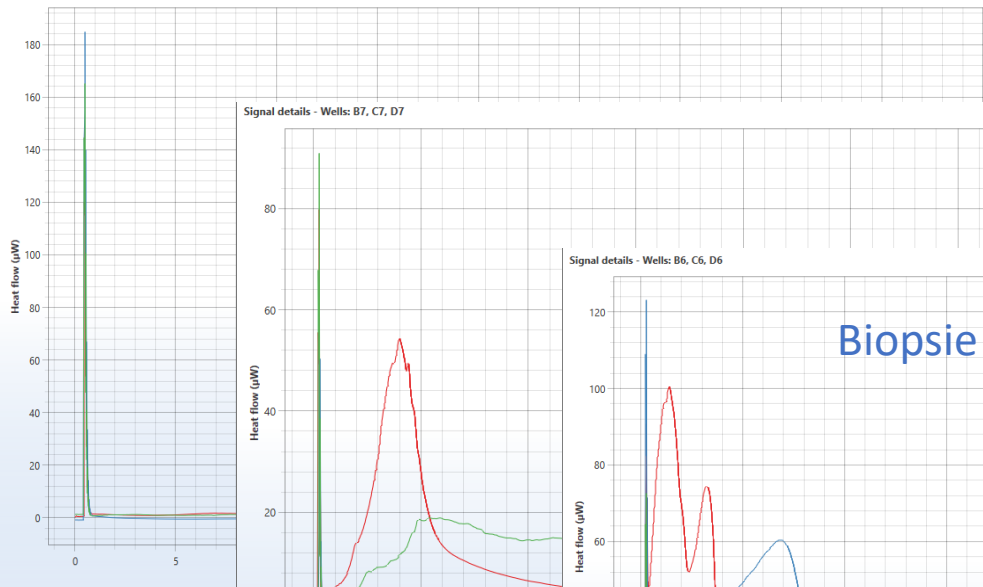
48-well plate with plastic inserts



calView™

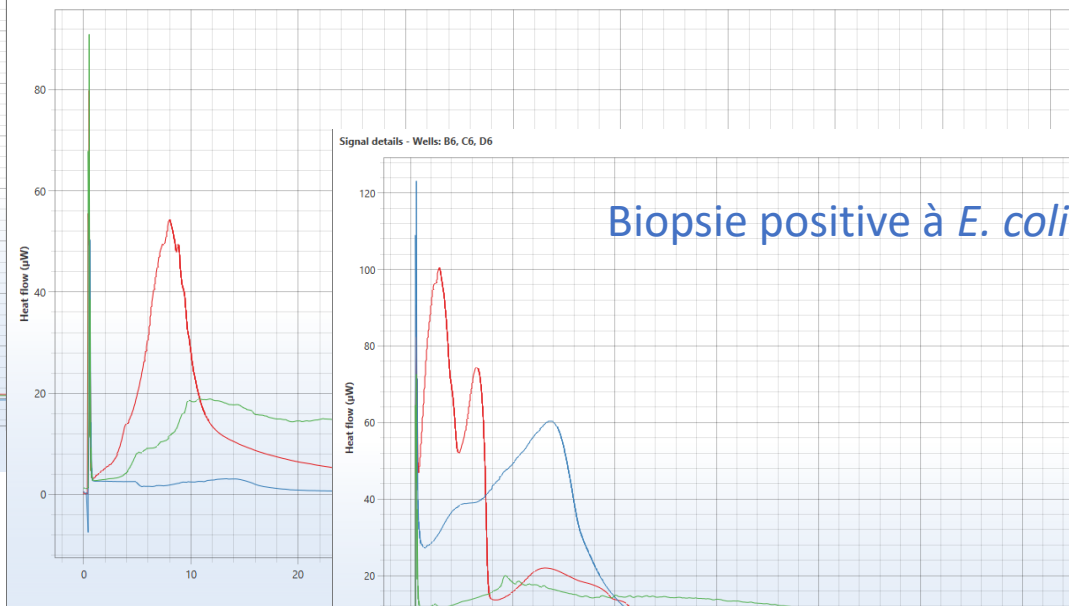
Collection and analysis software

Signal details - Wells: B8, C8, D8



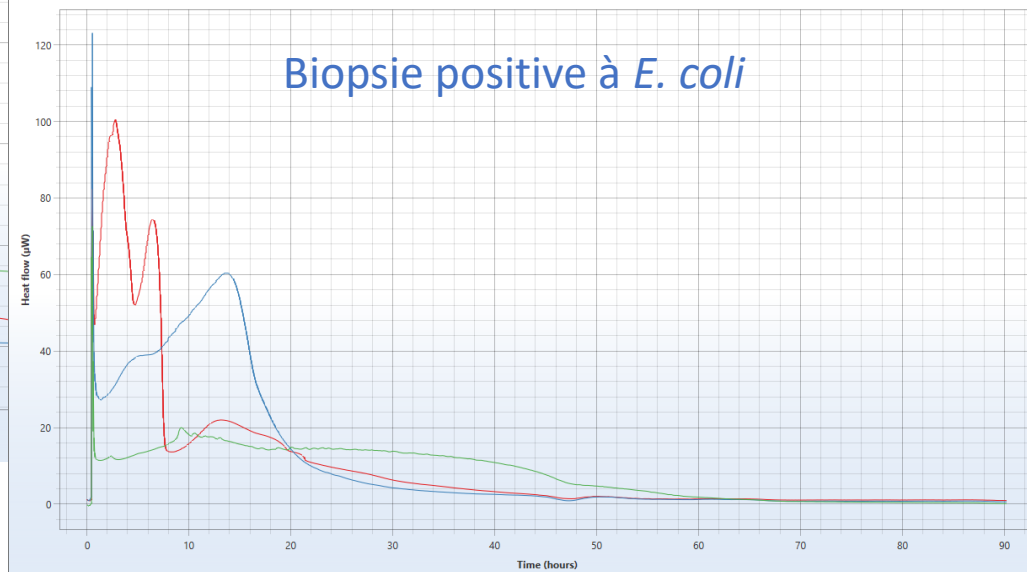
Close

Signal details - Wells: B7, C7, D7



Close

Signal details - Wells: B6, C6, D6



Close

— :milieu MH
— :milieu SAB
— :milieu MANNITOL



calScreener™

The calorimetric instrument



calPlate™

48-well plate with titanium cups

Coller



calWell™

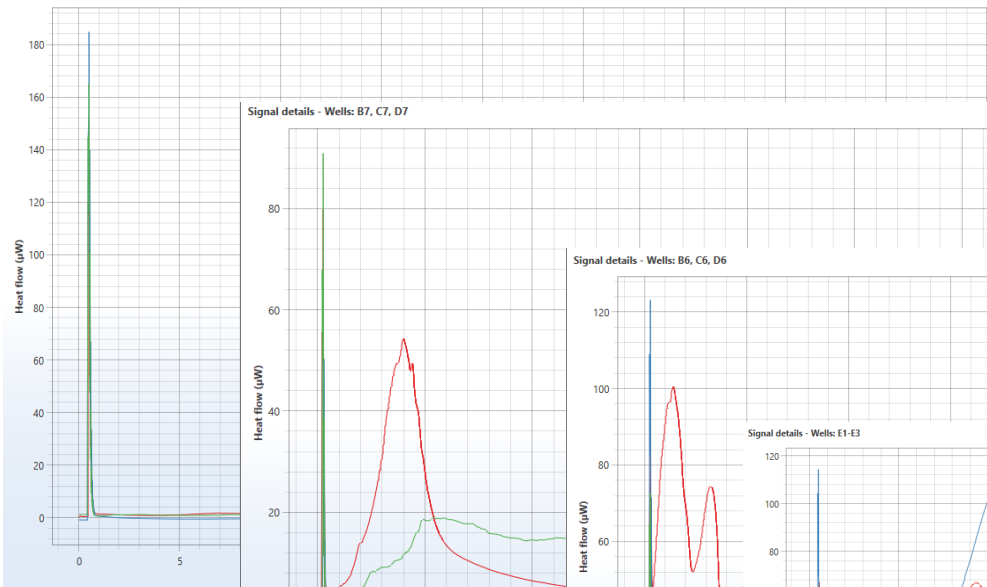
48-well plate with plastic inserts



calView™

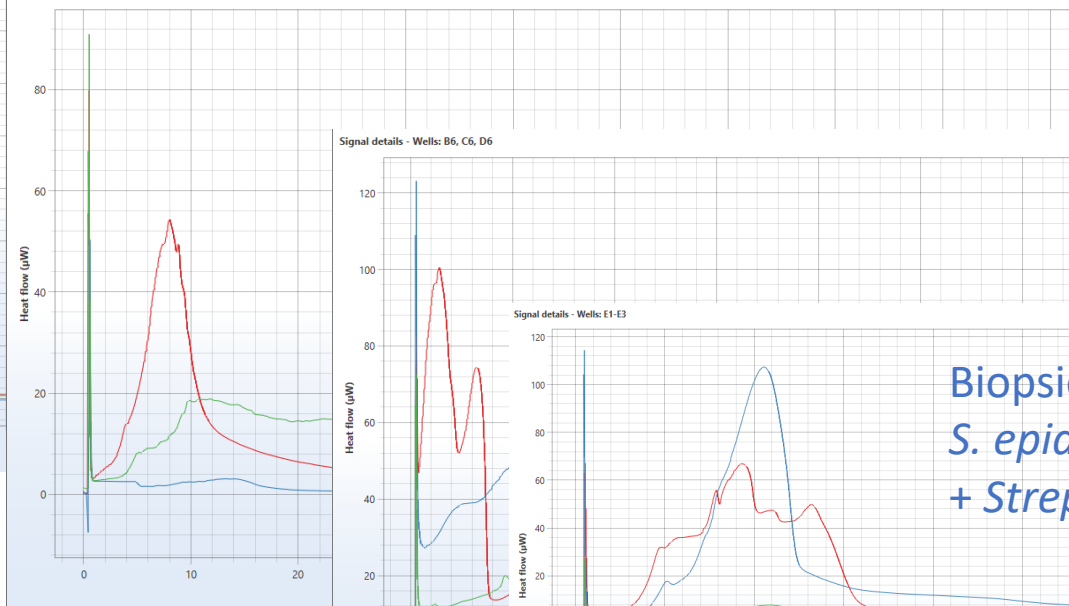
Collection and analysis software

Signal details - Wells: B8, C8, D8



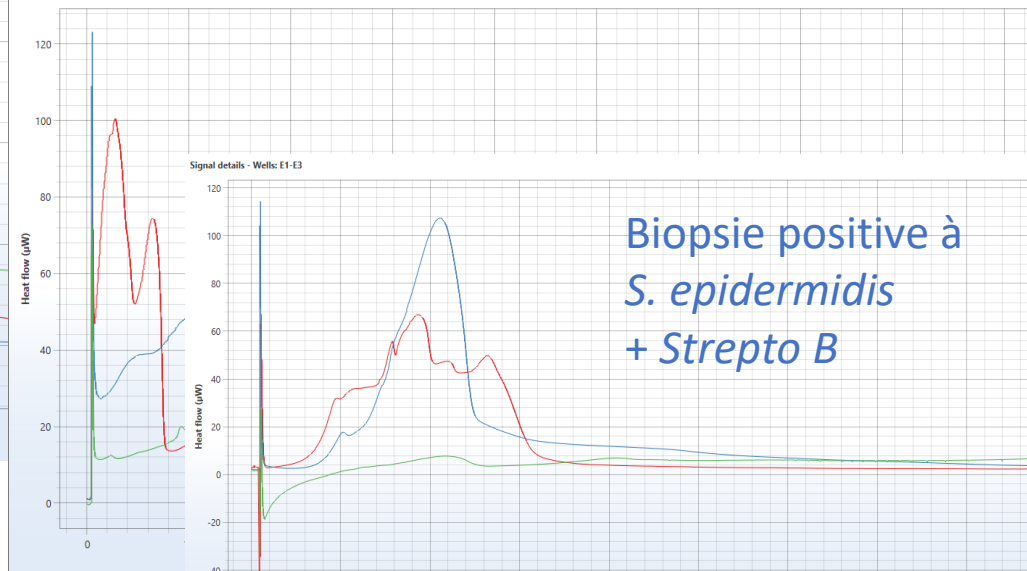
Close

Signal details - Wells: B7, C7, D7



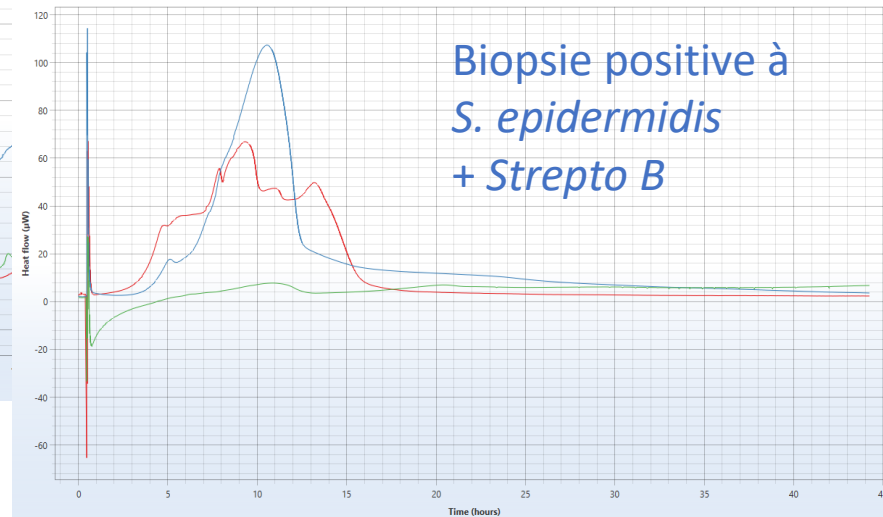
Close

Signal details - Wells: B6, C6, D6



Close

Signal details - Wells: E1-E3



Close

— :milieu MH
— :milieu SAB
— :milieu MANNITOL

Biopsie positive à
S. epidermidis
+ *Strepto B*



calScreener™

The calorimetric instrument



calPlate™

48-well plate with titanium cups

Coller



calWell™

48-well plate with plastic inserts



calView™

Collection and analysis software

- Outils moléculaires +++
- Perspectives dans le domaine de la culture
- Perspectives dans le domaine des biomarqueurs

Nouveaux outils diagnostiques Biomarqueurs

Pour qui?
Quand?
Comment?
Où?

Diagnostiques

Prédicatifs



COPYRIGHT © 2011 BY THE JOURNAL OF BONE AND JOINT SURGERY, INCORPORATED

Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: The Utility of a Simple Yet Unappreciated Enzyme

Javad Parvizi, MD, FRCS, Christina Jacovides, BS, Valentin Antogi, MD, PhD, and Elie Ghanem, MD

Investigation performed at the Rothman Institute of Orthopaedics at Thomas Jefferson University Hospital, Philadelphia, Pennsylvania

Clin Orthop Relat Res (2014) 472:3254–3262
DOI 10.1007/s11999-014-3543-8

SYMPOSIUM: 2013 MUSCULOSKELETAL INFECTION SOCIETY

Diagnosing Periprosthetic Joint Infection

Has the Era of the Biomarker Arrived?

Carl Deirmengian MD, Keith Kardos PhD,
Patrick Kilmartin, Alexander Cameron, Kevin Schiller,
Javad Parvizi MD

Proteins passing screen (n = 16)	Proteins failing screen (n = 27)
Human α -defensin 1-3	Procalcitonin
Interleukin 1 α	Transforming growth factor α
Interleukin 1 β	Cathelicidin (LL-37)
Interleukin 6	Lipopolysaccharide binding protein
Interleukin 8	Calcitonin gene-related peptide
Interleukin 10	Orsомуoid
Interleukin 17	Nibrin
Granulocyte colony-stimulating factor	Tumor necrosis factor-stimulated gene 6 protein
Vascular endothelial growth factor	Plekstrin
C-reactive protein	Superoxide dismutase 2
Neutrophil elastase 2	Urokinase
Lactoferrin	Migration inhibitory factor
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin	Plasminogen activator inhibitor type 1
Resistin	Soluble Fas
Thrombospondin 1	Soluble Fas ligand
Bactericidal/permeability-increasing protein	Soluble intercellular adhesion molecule 1
	Soluble vascular cell adhesion molecule 1
	Granzyme B
	Heat shock protein 70
	Macrophage inflammatory protein 1 α
	Macrophage inflammatory protein 1 β
	Matrix metalloproteinase 8
	Tumor necrosis factor α
	Interferon- γ inducible protein
	Fibroblast growth factor 2
	α -2 macroglobulin
	Skin-derived antileukoprotease

Clinical Orthopaedics
and Related Research®
A Publication of The Association of Bone and Joint Surgeons®

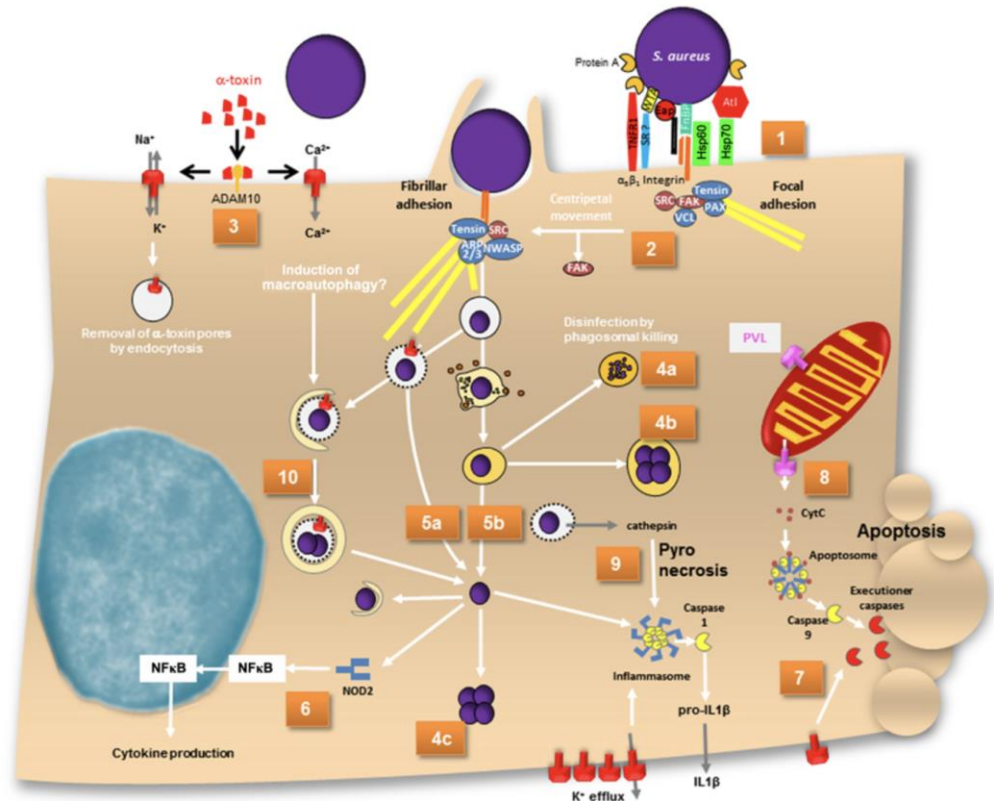
23 biomarqueurs testés !?

Nouveaux outils diagnostiques Biomarqueurs hors inflammation

Transcriptome Architecture of Osteoblastic Cells Infected With *Staphylococcus aureus* Reveals Strong Inflammatory Responses and Signatures of Metabolic and Epigenetic Dysregulation

Aurélié Nicolas¹, Martine Deplanche¹, Pierre-Henri Commere², Alan Diot^{3,4}, Clemence Genthon⁵, Wanderson Marques da Silva^{1,6}, Vasco Azevedo⁶, Pierre Germon⁷, Hélène Jamme^{8,9}, Eric Guédon¹, Yves Le Loir¹, Frédéric Laurent^{3,4}, Hélène Bierre¹⁰ and Nadia Berkova^{1*}

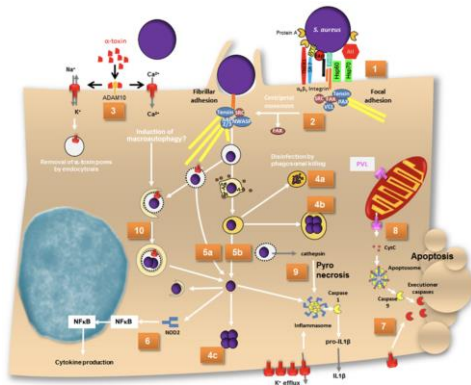
ARN messager exprimés par les ostéoblastes avec des *S. aureus* = infections chroniques





Transcriptome Architecture of Osteoblastic Cells Infected With *Staphylococcus aureus* Reveals Strong Inflammatory Responses and Signatures of Metabolic and Epigenetic Dysregulation

Aurélien Nicolas¹, Martine Deplanche¹, Pierre-Henri Commere², Alan Diot^{3,4}, Clemence Genthon⁵, Wanderson Marques da Silva^{1,6}, Vasco Azevedo⁶, Pierre Germon⁷, Hélène Jamme^{6,9}, Eric Guédon¹, Yves Le Loir¹, Frédéric Laurent^{3,4}, Hélène Bierre¹⁰ and Nadia Berkova¹



Nouveaux outils diagnostiques

Riomarqueurs cellulaires

TABLE 2 | Immune system and signal transduction genes.

UniProt ID	Gene name	Gene description	FC	Log2FC	Adj.p-value
Upregulated genes					
P0DJJ8	<i>saa1</i>	serum amyloid A1	1599.72	10.64	2.93E-21
P04141	<i>csf</i>	colony stimulating factor 2 (granulocyte-macrophage)	1316.85	10.36	5.05E-39
P78556	<i>ccl20</i>	chemokine (C-C motif) ligand 20	396.66	8.63	7.36E-10
P09919	<i>csf3</i>	colony stimulating factor 3	234.28	7.87	6.34E-07
P80162	<i>cxcl6</i>	chemokine (C-X-C motif) ligand 6	174.86	7.45	1.67E-68
P10145	<i>cxcl8</i>	chemokine (C-X-C motif) ligand 8	134.94	7.08	2.42E-08
O95760	<i>il33</i>	interleukin 33	119.35	6.70	3.51E-11
P80098	<i>ccl7</i>	chemokine (C-C motif) ligand 7	99.50	6.63	8.09E-07
P25942	<i>cd40</i>	CD40 molecule, TNF receptor superfamily member 5	98.56	6.62	2.20E-21
P78423	<i>cx3cl1</i>	chemokine (C-X3-C motif) ligand 1	54.23	5.76	4.36E-05
P0DJJ9	<i>saa2</i>	serum amyloid A2	48.93	5.61	1.58E-04

TABLE 3 | Metabolism genes.

UniProt ID	Gene name	Gene description	FC	Log2FC	Adj.p-value
Upregulated genes					
P14555	<i>pla2g2a</i>	phospholipase A2 group IIA	75.85	6.25	3.52E-03
P28845	<i>hsd11b1</i>	hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 1	53.22	5.73	3.69E-04
134339	<i>saa2</i>	serum amyloid A 2	48.93	5.61	1.58E-04
P00167	<i>cyb5a</i>	cytochrome b5 type A	24.61	4.62	7.45E-05
P04179	<i>sod2</i>	superoxide dismutase 2, mitochondrial	14.24	3.83	3.17E-23
Q8TDS4	<i>hcar2</i>	hydroxycarboxylic acid receptor 2	13.22	3.72	5.34E-07
C9JRZ8	<i>akr1b15</i>	aldo-keto reductase family 1	10.51	3.39	1.21E-02

Nouveaux outils diagnostiques

- Biologie moléculaire
 - ✓ Attention "*Tout ce qui est moléculaire n'est pas or*"
 - ✓ Avènement de l'approche syndromique
mais son positionnement reste encore à affiner
 - ✓ Fort besoin en études médico-économiques
- Culture ...
 - ✓ conventionnelle : elle reste au cœur de la démarche diagnostique !
 - ✓ innovante : certaines technologies offrent (peut être) des nouvelles perspectives
- Biomarqueurs diagnostiques et/ou prédictifs
 - ✓ Quand? Comment? Pour qui? Pour quel coût/bénéfice ?
 - ✓ Biomarqueurs hors inflammation : des études prometteuses proposent des clés pour l'avenir !?

IOAC = diagnostic personnalisé +++ d'où l'importance des RCP

Conclusion

■ Points clés du diagnostic microbiologique

- gestion des prélèvements
- conditions de cultures
- travail délicat et difficultés rencontrées
- résultats échelonnés parfois longs à obtenir
- collaboration avec chirurgiens et infectiologues

CULTURE!!!

■ Nouveaux outils : doivent trouver leur place

- amélioration des cultures
- outils moléculaires
- biomarqueurs



Saint-Étienne
Ville créative design



Merci pour votre attention ...

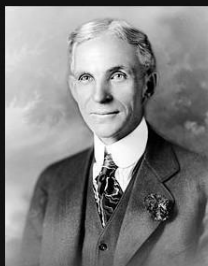




Saint-Étienne
Ville créative design



Merci pour votre attention ...



Se réunir est un début ; rester ensemble est un progrès ; travailler ensemble est la réussite.

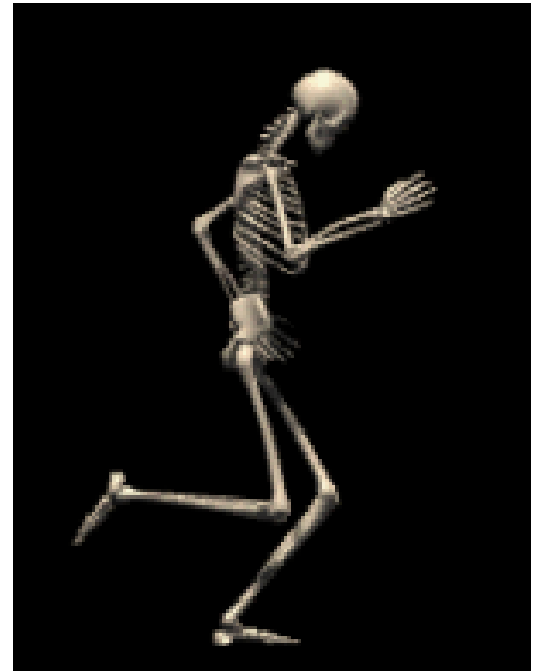
(Henry Ford)



“nobody is perfect” ...

mais on doit tout faire
pour l’être ... pour nos
patients ...

Merci de votre attention



anne.carricajo@chu-st-etienne.fr
frederic.laurent@univ-lyon1.fr