

*Diagnostic bactériologique de l'infection de
prothèse ostéo-articulaire.*



Chloé PLOUZEAU-JAYLE (CHU de POITIERS)

Groupe Microbiologie du CRIOGO



- Epidemiologie des IOA sur prothèse
- Quels prélèvements réaliser et combien?
- Quelles techniques pour une prise en charge optimum des prélèvements au laboratoire?
- Interprétation des résultats de culture
- Intérêt des techniques complémentaires
 - Sonication de l'implant
 - Techniques de Biologie moléculaire
 - Nouveaux tests rapides : sérologie, α -défensine articulaire

Critères de définition proposés pour l'IPOA

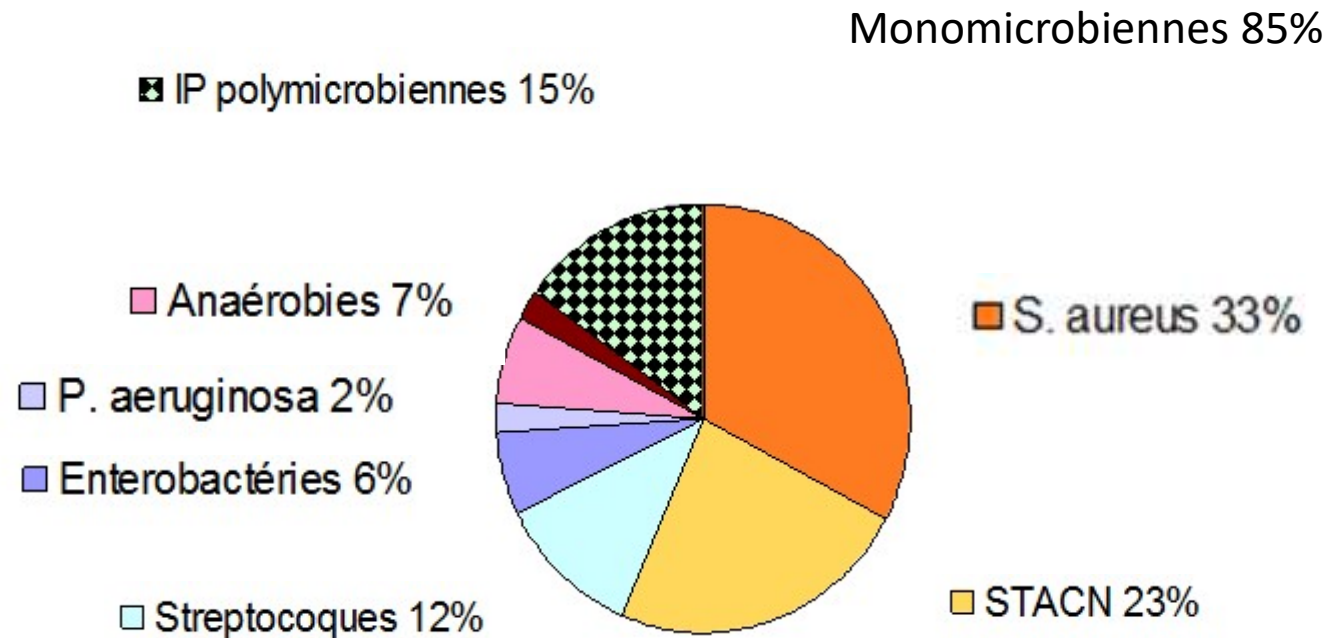
	MSIS		ICM		IDSA	
	Majeurs	Mineurs	Majeurs	Mineurs	Majeurs	Mineurs
Fistule communiquant avec la prothèse	X		X		X	
Microorganisme isolé de ≥ 2 prélèvements	X		X		X	
Pus autour de la prothèse		X			X	
Histologie positive		X		X		X
1 culture positive tout germe		X		X		
1 culture positive germe virulent						X
Augmentation des leucocytes synoviaux		X		X		
Augmentation des PNN		X		X		
VS et CRP élevées		X		X		

Parvizi Clin Orthop Relat Res 2011, Osmon CID 2013, Parvizi Bone and Joint J 2013; Nombre de critères mineurs : MSIS ≥ 4 , ICM ≥ 3

IOA sur prothèses ostéoarticulaires

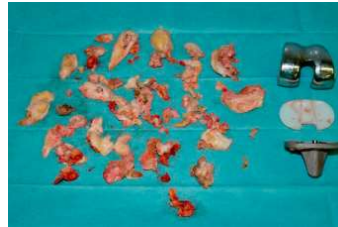
PHRC MICROBIOS, Bémer et al, CRIOGO, JCM 2014

- Etude française, 89% de documentation bactériologique (broyage et culture optimisées), 192 IPOA documentées





IOA sur matériel : prélèvements



Prélèvements à proscrire

- ❑ Ecouvillonnage
 - Cicatrice désunie
 - Fistule



Mackowiak, JAMA 1978; Cune, Clin Orthop relat Res 2009; Tetreault, J Arthroplasty 2013

- ❑ Extrémité distale du redon d'aspiration

Prélèvements controversés : liquide de drainage

- ❑ Liquides de redon
- ❑ HAS 2014 : « culture du liquide de drainage utile »

1) Prélèvements pré-opératoires

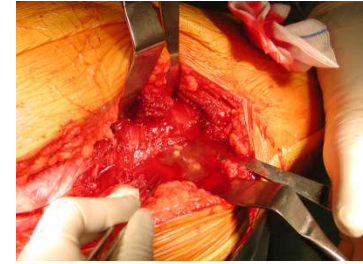
- ❑ Hémocultures : mode de survenue aigu
- ❑ Ponction articulaire pré-opératoire
 - Arrêt des ATB au moins 15 j
 - Ponction radioguidée possible (hanche)
 - Possibilité de ponction-biopsie
 - Diagnostic de l'IP précoce <1mois : ponction recommandée en l'absence de signes cliniques locaux évidents (*HAS 2014*)
 - Utile au choix de la technique chirurgicale :
 - 2 temps (germes multiR OU absence de documentation)

Tube sec pour la culture

+ Tube citraté ou hépariné pour cytologie

Ensemencement d'un flacons d'hémoculture +++

2) Prélèvements per-opératoires



- ❑ Arrêt des antibiotiques au moins 15J

- ❑ Prélèvements **multiples** :

Très peu de bactéries dans les infections chroniques

Implication fréquente des bactéries cutanées: SCN, coryné, propioni

plusieurs prélèvements positifs avec la même bactérie prouve leur implication dans l'infection

- ❑ **Liquides** articulaires, **tissus** au contact de la prothèse, **os** ...

- ❑ Envoyés le plus rapidement possible au laboratoire (>2h)

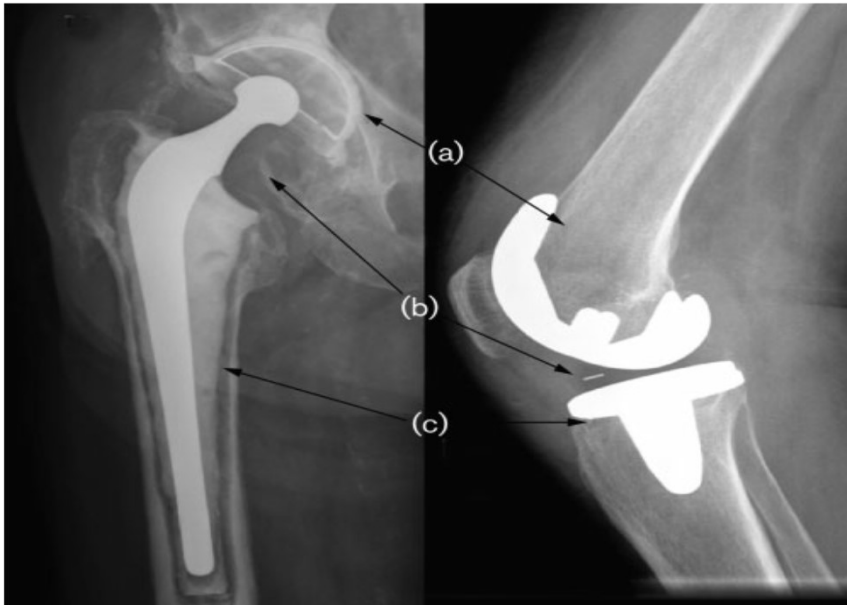
- ❑ Envoi d'un prélèvement pour l'**anatomopathologie**

Quantification précise du nombre de Polynucléaires neutrophiles

Orientation vers Mycobactéries, champignons

Quel type de prélèvement privilégié ?

G Bjerkan et al, Journal of Medical Microbiology 2012



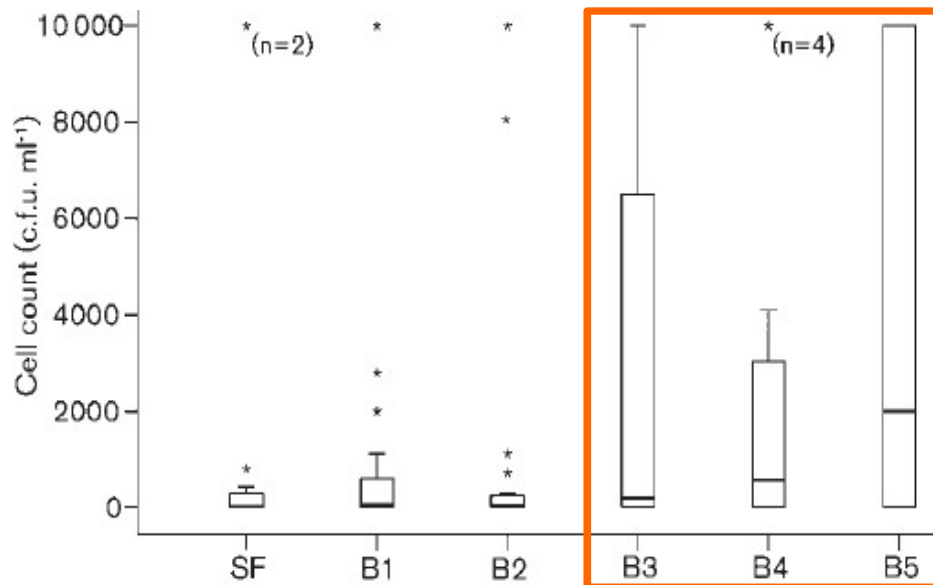
- ❑ Etude prospective monocentrique
- ❑ 54 patients repris pour IP
 - 5 Prélèvements standardisés
 - 1 Liquide articulaire, 1 capsule

3 Tissus d'interface

- ❑ Analyse de 18 IP confirmées

En faveur des **tissus d'interface**

- Nombre de P positifs en culture
- Charge bactérienne plus élevée



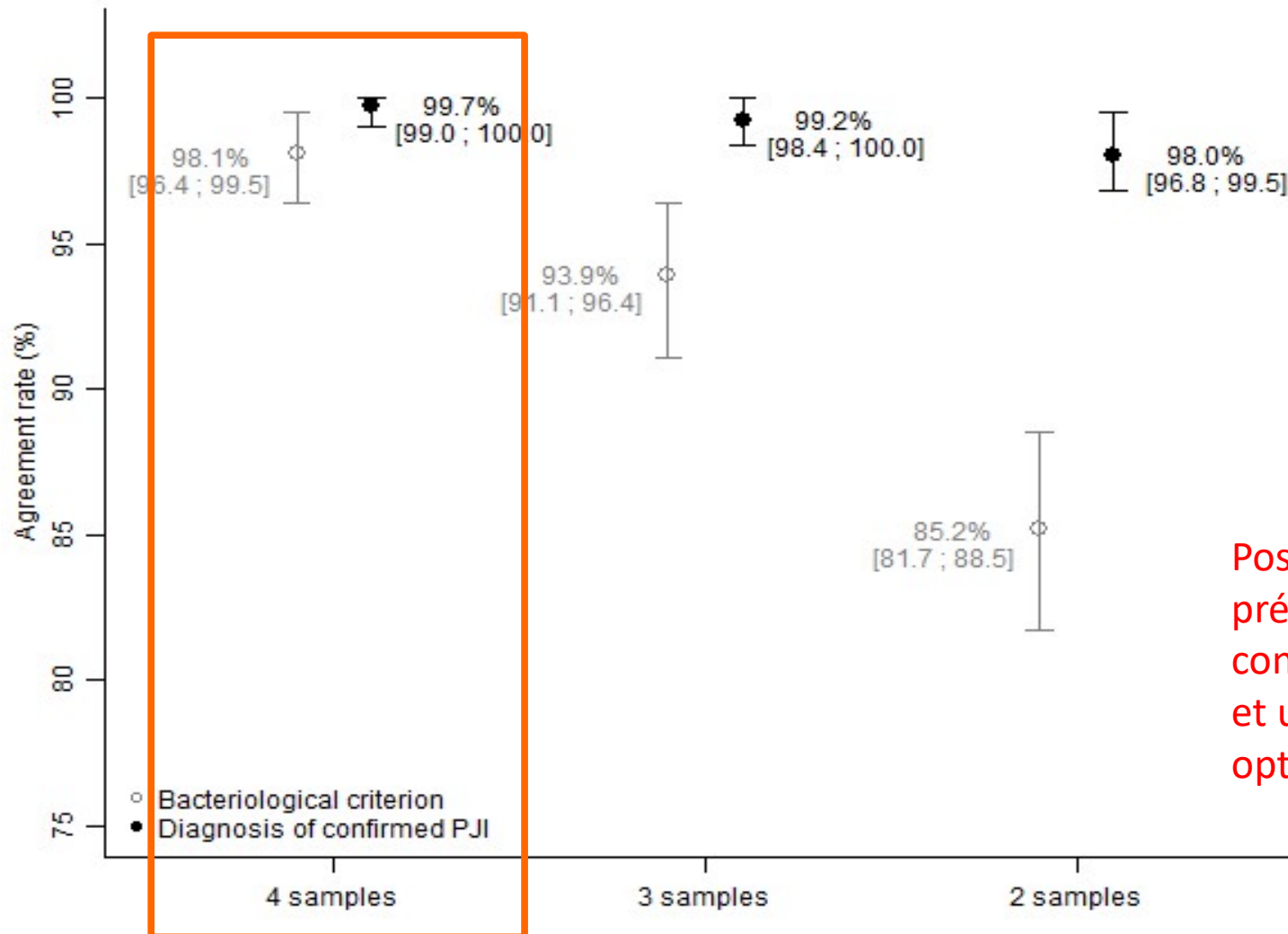
	SPILF	MSI	IDSA	ICM
	2009	2011	2012	2013
Nombre de prélèvements	5	3-5	3-6	3-6
Nature des prélèvements	Péri-prothétiques			
Arrêt des antibiotiques	≥ 15 jours			
Changement d'instruments	Après chaque prélèvement			
Prélèvement à visée histologique	≥ 5 PNN/champ/5 champs			

SPILF 2009, Parvizi Clin Orthop Relat Res 2011, Osmon CID 2012, Parvizi Bone and Joint J 2013

Moins de prélèvements ?

PHRC MICROBIOS, Bémer JCM 2016

215 IP, 89% cultures positives

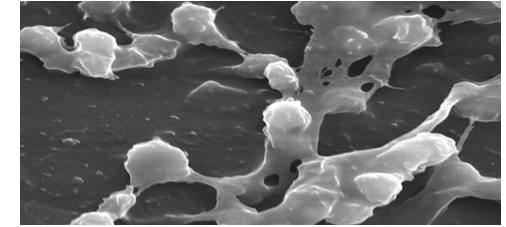


Possible avec des prélèvements au contact du matériel et une culture optimisée (broyage)



*Prise en charge des prélèvements
au laboratoire*

1) Prétraitement des échantillons



Organisation des bactéries en biofilm sur le matériel
et bactéries quiescentes dans des séquestres osseux

➔ **les prélèvements doivent être broyés**
avant d'être ensemencés

Techniques manuelles: longues, fastidieuses, risque de conta +++

Disperseur ou Broyeur à billes



*Roux CMI 2010
Bemer JCM 2014*



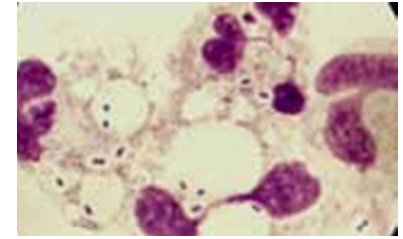
Intérêt du Broyage des prélèvements

- Libérer les bactéries de la matrice osseuse ou du biofilm :
Augmente la sensibilité de la culture
- Environ 10 ml de liquide
Milieux de culture liquides et solides
Garder du prélèvement congelé pour des analyses complémentaires (Biologie moléculaire)
 - **Ensemencement d'hémocultures à partir du broyat**
 - 2 à 3 ml *versus* 50 μ l sur les géloses: sensibilité
 - rapidité de la détection
 - possibilité : ID/ABG à partir des flacons positifs



Bemer JCM 2016

2) Examen direct et cytologique



- ❑ ED: coloration de Gram

Sensibilité 6%, spécificité 99%

Utilité??

- ❑ Cytologie : pour les liquides articulaires

Quantification des leucocytes , recherche de microcristaux

Formule leucocytaire

- Arthrite septique $>10\ 000$ leucocytes/mm³, 90% PNN
- Infection prothèse **$>1\ 700$ leucocytes ; $>65\%$ PNN**

(Trampuz, *Am J Med* 2004)

- ❑ Cytologie des Prélèvements tissulaires

Pas de quantification en bactério: absence, qq, nombreux PNN

- Anapath uniquement (**>5 leuco/champs**)

3) Les cultures



□ Recommandations

Ensemencement de plusieurs milieux de cultures riches

Gélosés et liquides

Gélose au sang en aérobiose

Gélose au sang cuit, supplémentée, sous 5% de CO₂

Gélose au sang en anaérobiose

Bouillon d'enrichissement Schaedler

□ Hémocultures à partir du broyat : (*Bemer JCM 2016*)

Permet de diminuer le nombre de milieu

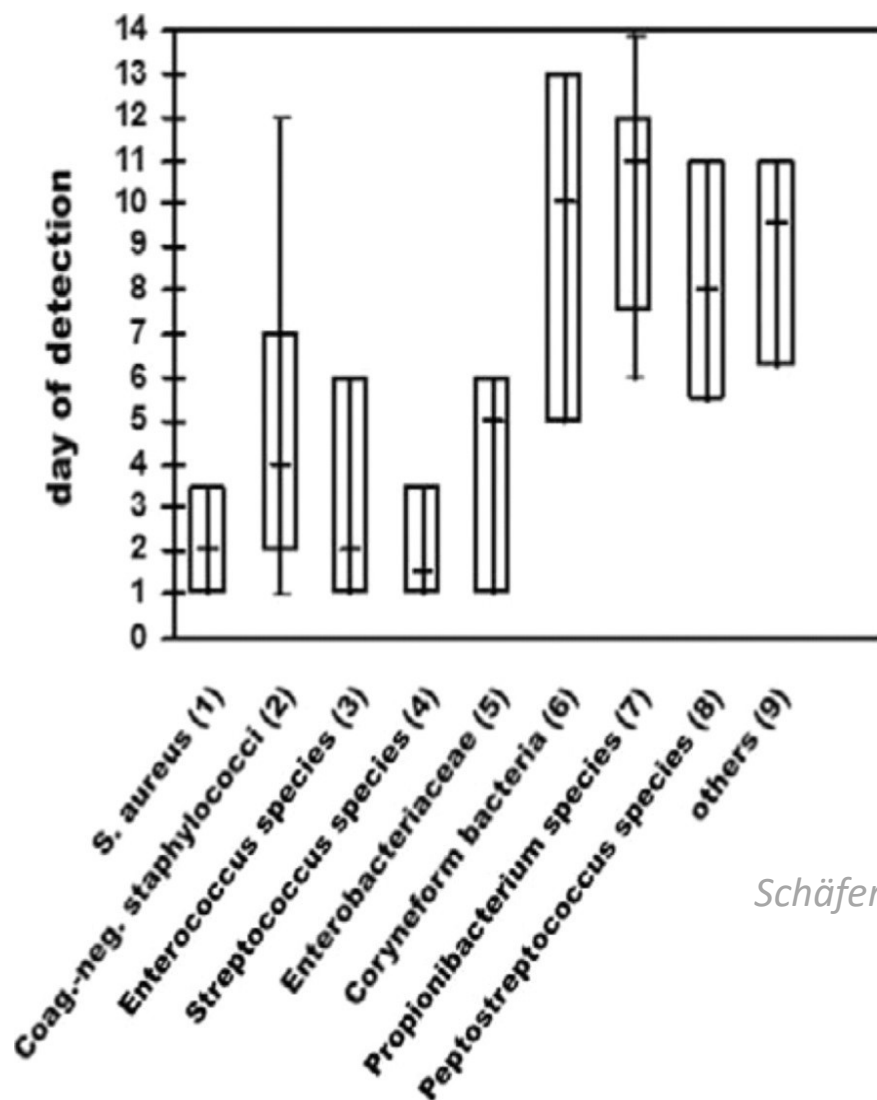
Broyat sur hémoculture

Gélose au sang cuit, supplémentée, sous 5% de CO₂

Bouillon Schaedler gélosé (Ana, P acnes++)



Incubation prolongée des milieux de cultures



Schäfer P et al. Clin Infect Dis. 2008

Incubation prolongée des milieux de cultures



7 jours pour les milieux solides

Au moins 14 jours pour les milieux liquides

Les bouillons d'enrichissement sont à la fin de l'incubation si les cultures solides sont négatives

**Le laboratoire ne doit pas rendre de résultat négatif avant 14 jours
Attention aux résultats partiels (souvent polymicrobien)**

Infections chroniques sur prothèse

Culture lente, faible nombre de colonies

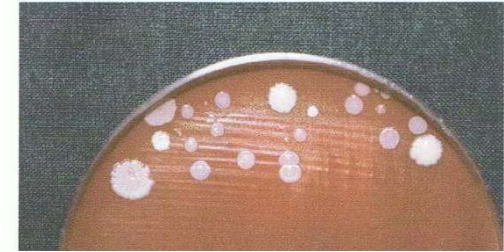
Aspects polymorphes des cultures

Infections plurimicrobiennes (10–20 % des IOA sur matériel)

Même germe, plusieurs aspects de colonies
parfois avec des antibiogrammes différents

Small colony variant (colonies naines)

- métabolisme ralenti : apparaissent tardivement
- parfois plus résistante , perte de l'activité bactéricide des ATB



Observation des cultures par du personnel formé

Incubation longue, revoir >J5 même les positifs

Identifications et ATB sur chaque aspect de colonie

Conservation de toutes les souches



Interprétation des résultats de culture

Recommandations d'experts : SPILF 2009

Infection certaine :

Au moins 1 prélèvement positif / germe « virulent »

pour lesquelles la contamination est improbable : Entérobactéries, Pseudomonas, Staphylococcus aureus, Pneumocoque, Listeria, Salmonelle, Campylobacter, Pasteurella....

Au moins 3 prélèvements / germe « avirulent » = flore cutanée

Staphylocoques à coagulase négative, Corynebactérie, Propionibacterium sp
(même bactérie, même antibiogramme)

Infection probablement exclue

sans signe histologique ou clinique
en dehors d'une antibiothérapie récente

Tous les prélèvements stériles

Ou 1 seul prélèvement positif à un germe « avirulent »

Critères bactériologiques proposés pour l'IPOA

MSIS 2011, IDSA 2012, ICM 2013

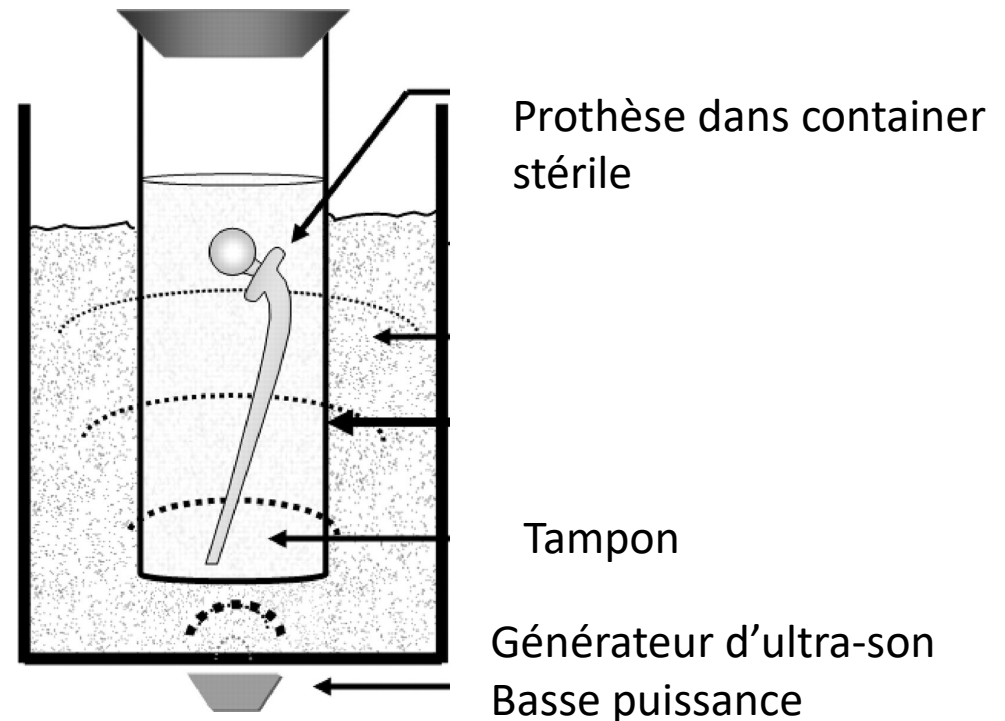
	Majeur	Mineur
1 prélèvement positif : germe virulent	X	
≥ 2 prélèvements positifs : germe cutané	X	
1 prélèvement positif : germe cutané		X

Critères mineurs : nécessité d'autres critères d'infection (CRP, anapath...)

Parvizi Clin Orthop Relat Res 2011, Osmon CID 2012, Parvizi Bone and Joint J 2013

Techniques complémentaires?

Sonication de l'implant



Trampuz NEJM 2007

Tor Mosen et al. J. Clin. Microbiol. 2009;47:2496-2501

Décroche +++ le biofilm sans altérer la viabilité bactérienne

Mise en culture du liquide de sonication

Bons résultats (Sens 80%)

mais pas d'étude comparative par rapport au broyage

Difficile à mettre œuvre

Biologie moléculaire



Sensibilité souvent plus faible que la culture

- très peu d'ADN bactérien
- difficulté d'extraction prélèvement complexe

Deux objectifs



Rapidité du résultat
Adaptation tmt probabiliste

En seconde ligne quand les
techniques de bactério
classiques sont en echec

Tests moléculaires rapides :
orientation du traitement probabiliste



GeneXpert : en 1h10

Présence de *Staph aureus*

Présence du gène de résistance à la méticilline

Bons résultats mais sur de petites séries

Dubouix JCM 2011

Titecat DMID 2012

Valour DMID 2014

Permet l'adaptation précoce :
arrêt de la Vanco ou de la Dapto
Coût++ : impossible de passer les 5 prélèvements, Choix?

Tests moléculaires pour documenter une infection

□ PCR universelle ARNr 16S

Réservée aux laboratoires spécialisés

Non adaptée aux infections plurimicrobiennes

Sensibilité inférieure à la culture

Echec avec certains germe (*P. acnes*)

Fihman JI 2007, Bjerkan JMM 2012, Bemmer JCM 2014, Plouzeau JCM 2015

□ PCR spécifiques :

■ *S. aureus, S. epidermidis, mecA, P. acnes*

■ Plus sensibles que la PCR 16S

■ *K. kingae+++ (arthrite de l'enfant)*

Indications limitées à discuter en RCP

Plutôt les infections chroniques

Echec des cultures standards, Patient sous ATB +++

Nouveaux tests : serologie et biomarqueur dans liq synovial

Sérologies:

S. epidermidis, S aureus, S lugdunensis, strepto B, P. acnes

Spécificité et surtout Sensibilité insuffisante

	<i>Staphylococcus*</i>	Streptocoque groupe B	<i>P. acnes</i>
Spécificité (n)	82,2% (180/219)	92,4% (208/225)	81,9% (190/232)
Sensibilité (n)	75,9% (63/83)	66,7% (4/6)	38,5% (5/13)

**Staph.epidermidis, Staph.aureus, Staph. lugdunensis*

INOPLEX BJI

Nouvelles études en cours

Marqueurs de l'inflammation dans le liquide synovial

Leucocyte estérase

Tischler, JBJS 2014

Alpha-defensine ⁺⁺⁺



>95% Sensibilité et spécificité, qq soit le type de germe

A évaluer sur de grandes séries, dans les infections chroniques

Pb : Prix+++

Deirmengian, Clin. Orthop. Relat Res. 2014

Bingham, Clin. Orthop. Relat Res. 2014

En résumé...

- Arrêt des antibiotiques d'au moins 14j (si possible)
- Prélèvements profonds multiples (3 à 5) avec du matériel différent pour chaque
- Prise en charge au laboratoire par du personnel formé
- Examen direct sensibilité nulle
- Intérêt +++ du broyage et de l'incubation prolongée des milieux
- Intérêt des broyat en flacon d'hémoculture
- Culture longue et complexe : Patience/ Attention aux résultats partiels
- Biologie moléculaire : sensibilité pas meilleure que la culture
Test rapide d'orientation antibioprophylaxie
Autres PCR : A discuter au cas par cas en RCP, patients sous ATB⁺⁺⁺
- Nouveaux tests Alpha defensine⁺⁺, Sérologie : en cours d'évaluation
- Diagnostic complexe : discussion pluridisciplinaire (RCP)