

DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE DES IOA : PRÉLÈVEMENTS -TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE

26-11-2018

Anne Carricajo,

Laboratoire des Agents Infectieux et d'Hygiène



Groupe Immunité Muqueuses et Agents Pathogènes



Prise en charge IOA

- **Pluridisciplinaire** : infectiologue, chirurgien orthopédiste, radiologue, microbiologiste
- **Microbiologie : Du prélèvement à l'interprétation des résultats**
 - Détecter
 - **Points critiques** :
 - prélèvements, qualité, nombre, acheminement,
 - mise en culture, choix des milieux et durée d'incubation
 - Place PCR?
 - Identifier les germes responsables
 - Points critiques : attention aux prélèvements polymicrobiens et aux différents variants
 - 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

Prise en charge des infections ostéoarticulaires : 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

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*)

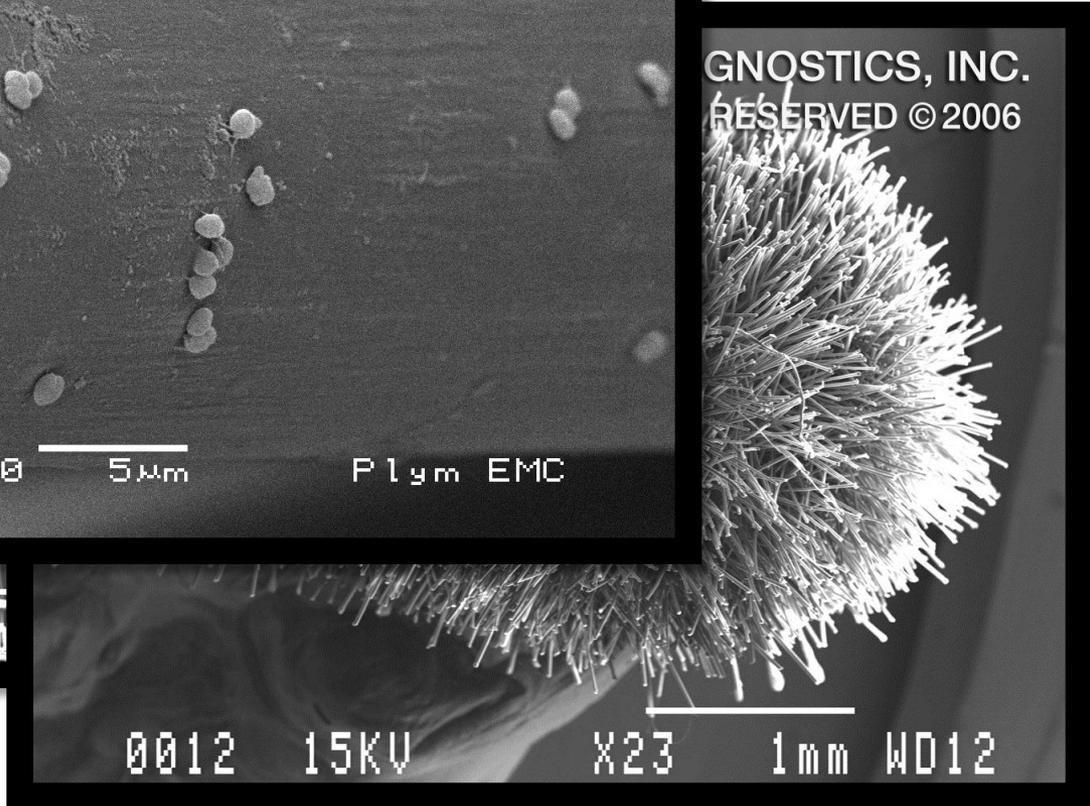
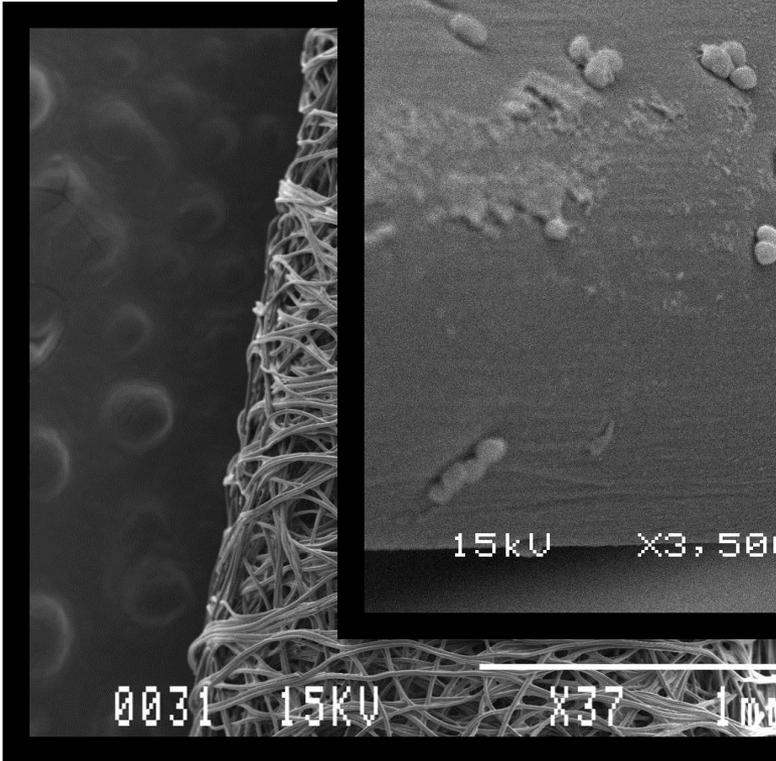
Comment prélever?

- **Conditions d'asepsie chirurgicale** → limite la contamination
- il est recommandé de les effectuer **au début de l'intervention**,
 - en dehors de toute antibiothérapie*
 - et avant toute antibioprophylaxie.
- Il est fortement recommandé de **ne pas prélever sur écouvillons**

Prélèvements sur écouvillon : données actuelles

- Plusieurs
- Plusieurs

, Nylon...
rcoal...



Les données actuelles

- Abu-Diab, A., M. Azzeh, R. Ghneim, M. Zoughbi, Siriani, R. Dauodi, R. Kattan, and M. Y. Hindiyeh. *flocked swabs and nasopharyngeal aspirates for*



Fiber Wrapped Swab
Sample diffuses and becomes trapped in the fiber mattress



Flocked Swab
Large volume of liquid sample stays close to the surface and elutes out rapidly and spontaneously

Restitution de l'échantillon



~30%
Fiber Rayon

>97%
Nylon flocked

Notre expérience : Etude « OptiSTAPH »

- Optimisation des méthodes de détection du portage de *S. aureus*
- 93 volontaires inclus de Mars à Avril 2010
- Objectifs : **Optimisation du dépistage des porteurs de *S. aureus***
 - Améliorer le dépistage des porteurs persistants de *S. aureus*
 - Caractériser les différents types de porteurs
(charges bactériennes, diversité des souches)
 - **Evaluation de écouvillons en nylon floqué**
 - 1256 écouvillonnages de nez
 - 628 Nylon swabs (regular flocced swab, ref 552C, Copan, Brescia, Italy)
 - 628 Rayon swabs (rayon swab with Amies agar gel, ref. 108C, Copan)

Notre expérience : Etude « OptiSTAPH »

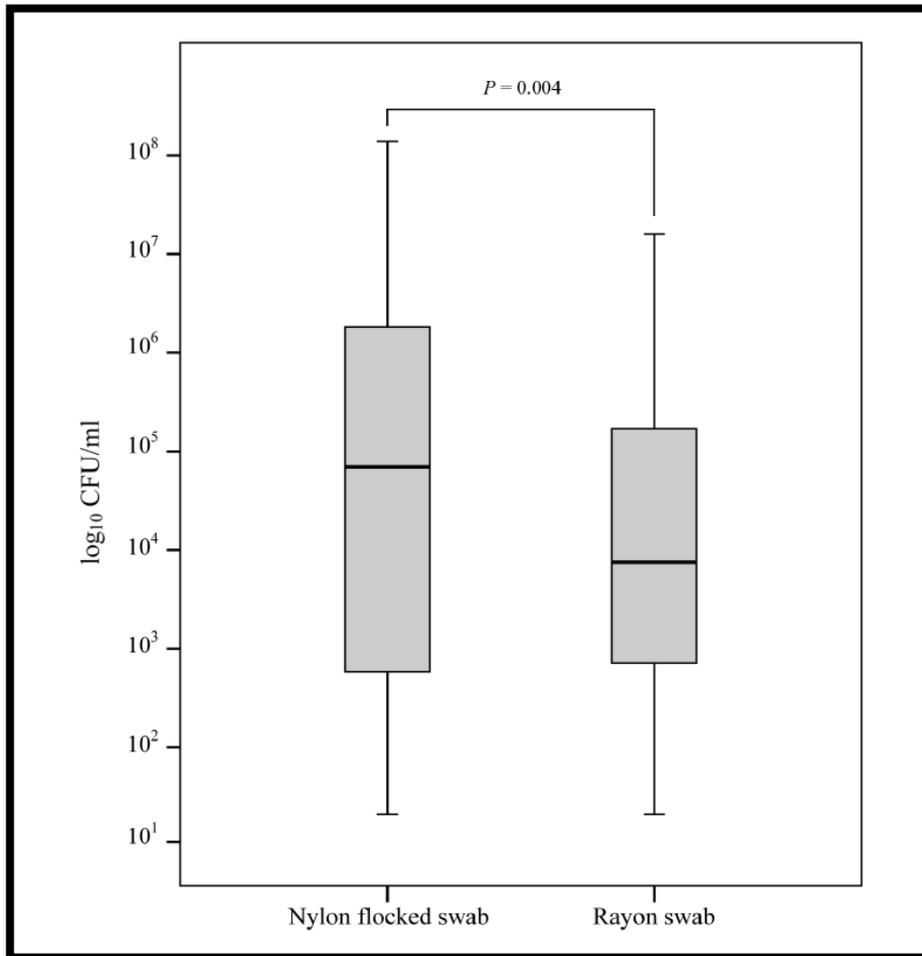
Table 1. Screening of *Staphylococcus aureus* nasal carriage according to the type of swab.

	Volunteers	Sampling episodes
Total number	90	628
Detection of <i>S. aureus</i> by at least one swab*	35 (38.8)	177 (28.2)
Detection of <i>S. aureus</i> by both swabs*	25 (27.7)	123 (19.6)
Detection of <i>S. aureus</i> by nylon flocked swab only*	9 (10)	37 (5.9)
Detection of <i>S. aureus</i> by rayon swab only*	1 (1.1)	17 (2.7)

* Number (%)

Verhoeven, P., F. Grattard, A. Carricajo, B. Pozzetto, and P. Berthelot. 2010. Better detection of *Staphylococcus aureus* nasal carriage using nylon flocked swab. JCM Accepts, published online ahead of print on 15 September 2010

Notre expérience : Etude « OptiSTAPH »



- Les écouvillons en nylon floqué détectent 10 fois plus d'UFC que les écouvillons en fibres de Rayon :
 - 3.41.10⁶ CFU/ml avec les écouvillons floqués
 - 4.53.10⁵ CFU/ml avec les écouvillons en fibre

Verhoeven, P., F. Grattard, A. Carricajo, B. Pozzetto, and P. Berthelot. 2010. Better detection of *Staphylococcus aureus* nasal carriage using nylon flocked swab. JCM Accepts, published online ahead of print on 15 September 2010

Quels prélèvements ?

Préambule : Aucun intérêt des prélèvements superficiels car résultat difficilement interprétable avec faux positifs, faux négatifs, faibles valeurs prédictives et risque d'entraîner une prise en charge inadaptée. Si un prélèvement superficiel a déjà été réalisé, il est recommandé de ne pas tenir compte de son résultat pour le diagnostic et le traitement HAS 2014

- Hémocultures
- Fistule
- Prélèvements profonds : +++
- Prélèvements tissulaires per-opératoires
- Hémocultures dans les infections aiguës
- Liquides de drainage : surveillance du site infecté opéré

Quels prélèvements (1) ?

- **Hémocultures dans les infections aiguës**
 - Si fièvre et signes généraux associés aux IOA
 - Si arthrite, ostéomyélite, spondylodiscite
 - En post-op immédiate (bactériémie induite par geste chirurgical)
 - flacon aérobie et anaérobie

Recommandations de pratique clinique Infections ostéo-articulaires sur matériel (prothèse, implant, ostéo-synthèse)

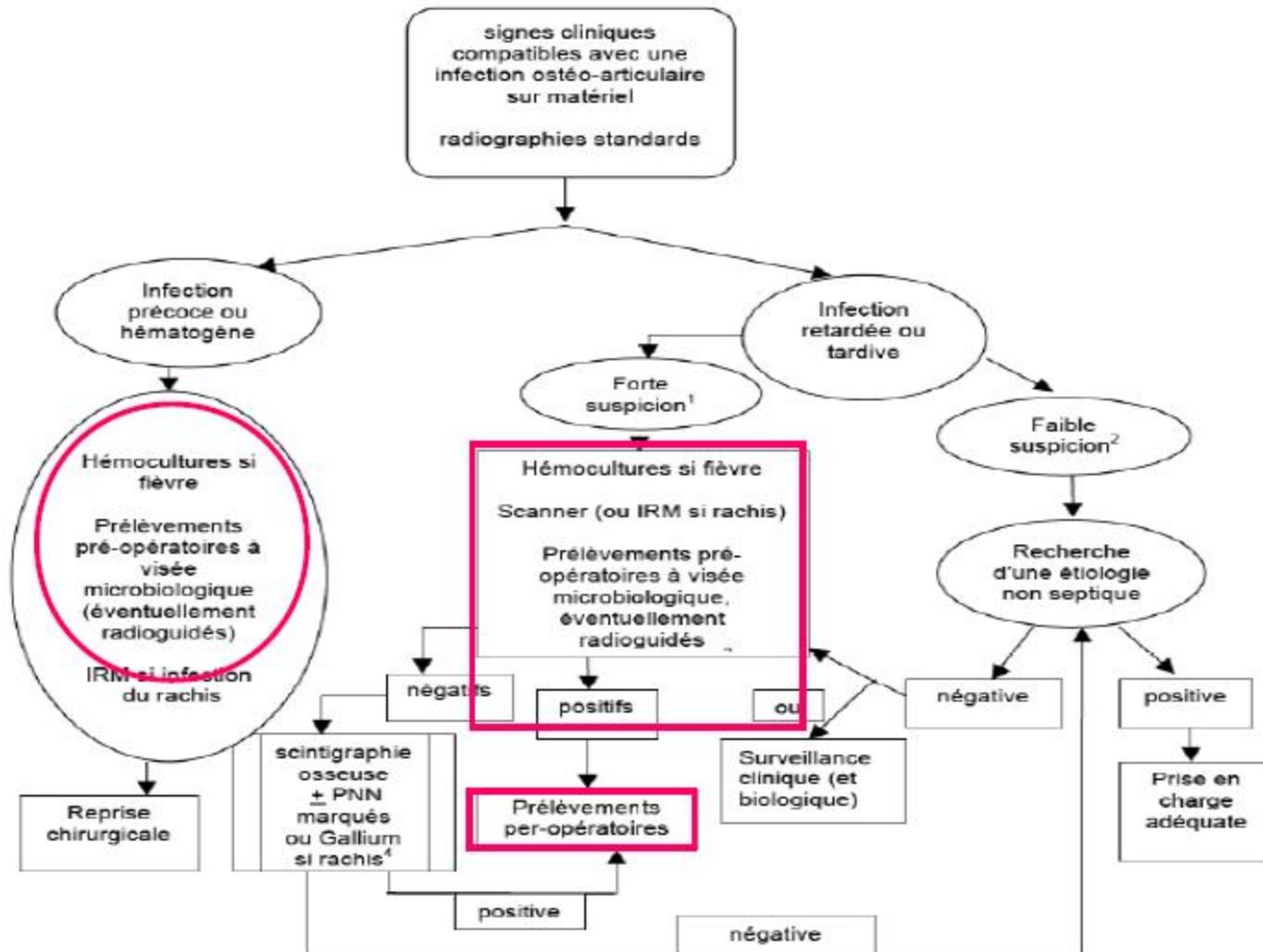


Figure 2 : Algorithme pour le diagnostic d'infection ostéo-articulaire sur matériel

1. signes inflammatoires locaux, écoulement (fistule), fièvre

Quels prélèvements (2) ?

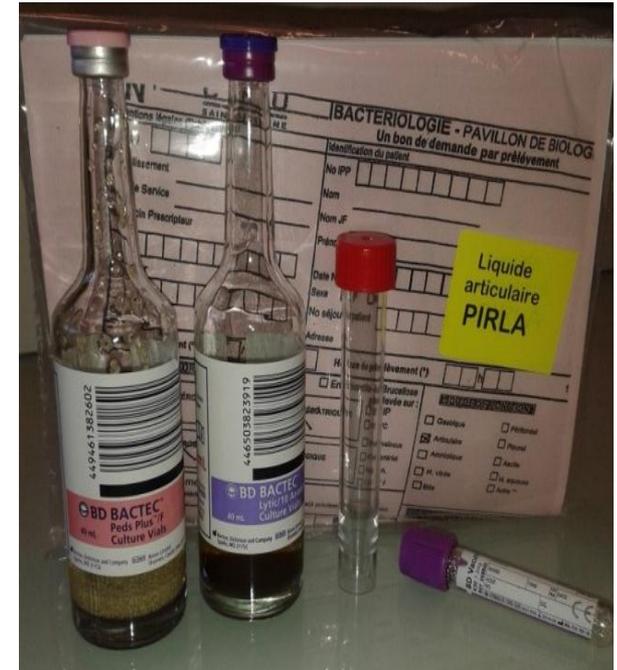
- **Fistule = intérêt plus que discutable**
 - Ecouvillon : non
 - Aspiration profonde :
 - à la seringue ou au catlon souple
 - après préparation cutanée et rinçage de la fistule

Quels prélèvements (3) ?

- **Prélèvements profonds : +++**
 - ponction au trocart à biopsie (True-cutR)
 - ponction articulaire
 - Flacon stérile
 - Tube hépariné : cytologie
 - **Flacons hémoculture**
 - **Sensibilité supérieure à la culture classique (patient sous antibiotique, germes de culture difficile (Kingella,,))**
 - **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**

Intérêt des flacons d'hémocultures largement démontré

Microorganisms recovered in joint infection/articular fluid	3-days culture only	3-day and 10-days culture only	3-day and BA anaero (10d) only	BC bottles only
Anaerobic species, N=35	20	49	37.1	42.9
incl. <i>P. acnes</i> N=24	8.3	38	29.2	20.8
<i>Streptococcus-Enterococcus</i> spp., N=49	38.8	45	53.3	56.3
incl. <i>Enterococcus</i> spp. N=10	50	70	70	80
Incl. <i>Streptococcus</i> spp N=39	35.9	38	28.2	50
<i>Staphylococcus</i> spp., N=174	50	58	51.7	80.3
incl. <i>S aureus</i> N=87	78.2	79	78.2	89.6
incl. CoNS N=87	21.8	37	25.3	72.1
Gram-negative bacilli, N=45	61.4	68	63.7	82.2
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 : augmentation de la sensibilité de détection de 27% avec l'utilisation des flacons d'hémocultures

Quels prélèvements (4) ?

- **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	— ^b	—	—
≤2	—	—	—
≤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)

- Etude uniquement du nombre de prélèvements périprosthétiques
 Meilleure accuracy obtenue
 avec 4 prélèvements (91%) si pas d'inoculation en flacons d'hémoculture
 avec 3 prélèvements (92%) si inoculation en flacons d'hémocultures

Quels prélèvements (5) ?

Prélèvements profonds pré et per opératoire

- Nécessité d'un prétraitement : **sonication/broyage**
 - Pas de comparaison l'un avec l'autre mais augmentation de la sensibilité par rapport à la culture classique

Ex broyage Roux et al: sensibilité culture classique :
60,8%-sensibilité après broyage 78,5%

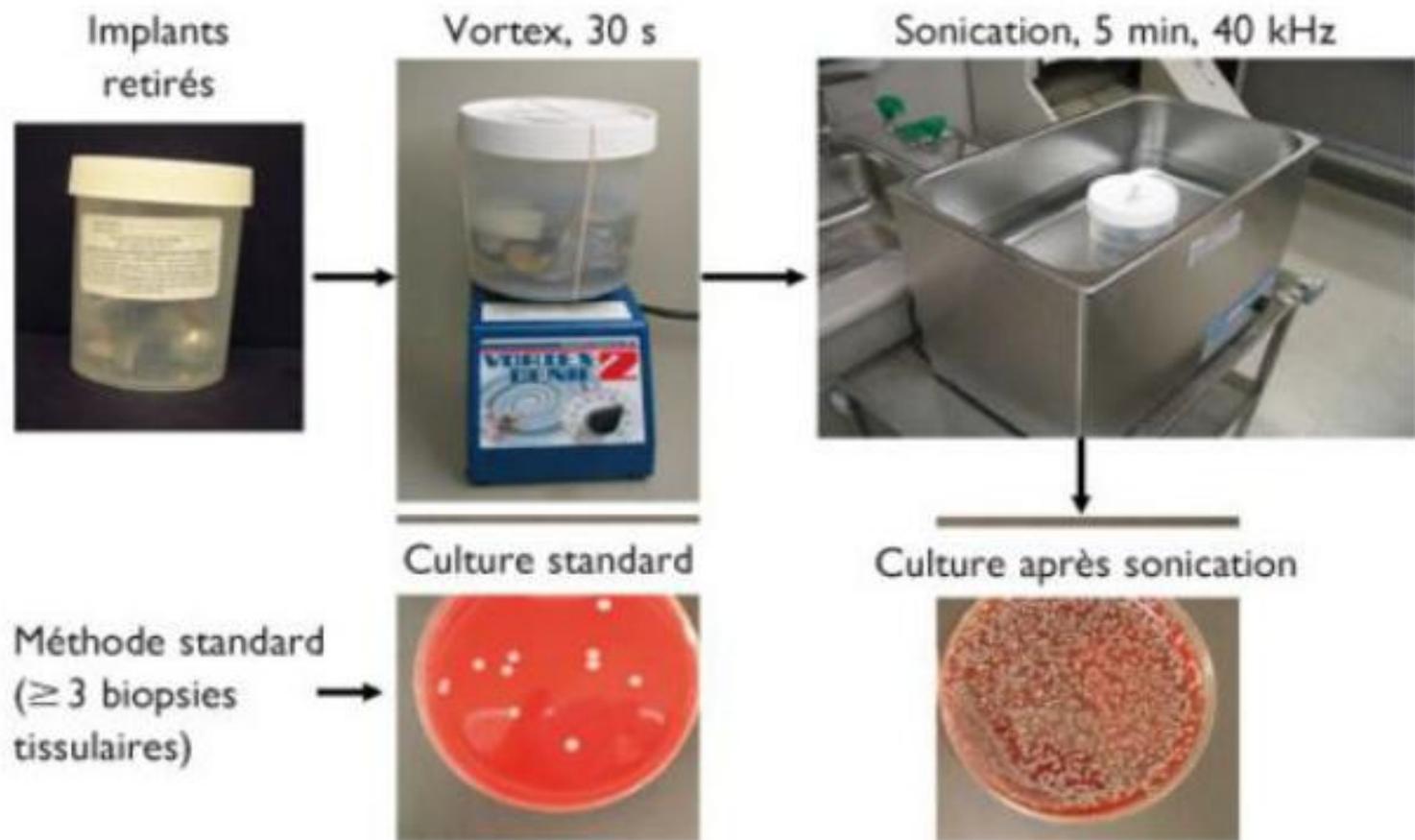
Rapid Molecular Microbiologic Diagnosis of Prosthetic Joint Infection

Charles Cazanave,^a Kerryl E. Greenwood-Quaintance,^a Arlen D. Hanssen,^b Melissa J. Karau,^a Suzannah M. Schmidt,^a Eric O. Gomez Urena,^a Jayawant N. Mandrekar,^d Douglas R. Osmon,^c Lindsay E. Lough,^a Bobbi S. Pritt,^a James M. Steckelberg,^c Robin Patel^{a,c}

TABLE 4 Comparison of microbiologic tests for diagnosis of PJI

Test	No. of patients with positive specimens and:		Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	Positive predictive value (95% CI)	Negative predictive value (95% CI)
	Aseptic failure (n = 290)	PJI (n = 144)				
Synovial fluid culture ^a	5/161	59/89	66.3 (55.5–76.0)	96.9 (92.9–99.0)	92.2 (82.7–97.4)	83.9 (77.8–88.8)
Tissue culture						
Any growth	45	119	82.6 (75.4–88.4)	84.5 (79.8–88.5)	72.6 (65.1–79.2)	90.7 (86.6–93.9)
≥2 positive tissues (same organism)	6	101	70.1 (62.0–77.5)	97.9 (95.6–99.2)	94.4 (88.2–97.9)	86.9 (82.7–90.3)
Sonicate fluid culture	5	105	72.9 (64.9–80.0)	98.3 (96.0–99.4)	95.5 (89.7–98.5)	88.0 (83.9–91.3)
Sonicate fluid PCR (10-assay panel)						
Any positive result	6	111	77.1 (69.3–83.7)	97.9 (95.6–99.2)	94.9 (89.2–98.1)	89.6 (85.7–92.7)
Staphylococcus species	2	75				
<i>S. aureus</i>	0	28				
Coagulase-negative staphylococci	2	47				
Streptococcus species	3	11				
Enterococcus/Granulicatella/Abiotrophia species	0	11				
Enterobacteriaceae	1	8				
Gram-positive anaerobic cocci	0	8				
Propionibacterium species	0	8				
<i>P. aeruginosa</i>	0	5				
Corynebacterium species	0	4				
<i>C. jeikeium</i> / <i>C. urealyticum</i>	0	0				
Non- <i>C. jeikeium</i> species	0	4				
Proteus species	0	1				
<i>B. fragilis</i> group	0	0				

^a Denominators are smaller for synovial fluid cultures because samples from fewer patients were submitted for this test.



Olivier Borens, François Nussbaumer, Rayan Baalbaki, Andrej Trampuz

Diagnostic et traitement des infections d'implants orthopédiques

Rev Med Suisse 2009;5:2563-2568



Broyeur pour petit
morceau

Broyeur à bille à usage unique (Ultra Turax) : mise dans le poudrier stérile directement par le préleveur
-limite les manipulations et donc les contaminations
libération des bactéries de la matrice osseuse/biofilm
-pas possible pour les gros morceaux
-diluant : eau qualité biologie moléculaire pour PCR par la suite



Conclusion

Pour une bactériologie rendant service au clinicien

- Nécessité de prélèvement de qualité, bien étiqueté
- Transport rapide au laboratoire (idéalement dans les 2 h)- Intérêt des flacons d'hémoculture
- Nécessité collaboration médecin/biologiste