

# Résultats préliminaires du PHRC PIRLA : Protocole Inter-Régional sur Liquides Articulaires

C. Dupieux, AM. Freydiere, N. Vernet, A. Epercieux, G. Maccio, S. Marion,  
G. Descours, Y. Benito, K. Abelin-Genevois, A. Fassier, B. Dohin, E. Piaton,  
F. Vandenesch, S. Boisset, A. Carricajo, F. Laurent.

*Bactériologistes, Cytologistes et Chirurgiens orthopédiques  
CHU de Lyon et Saint-Etienne*

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



**CHU de Lyon et Saint-Etienne**



*4 mars 2015, Journée du CRIOAc de Lyon*

# Protocole Inter-Régional sur Liquides Articulaires PHRC PIRLA

## Objectifs :

- Etablir l'épidémiologie bactérienne des infections ostéo-articulaires (IOA) de manière globale et après stratification par groupes patients,
- Evaluer les performances diagnostiques des techniques culturales et moléculaires,
- Proposer un algorithme diagnostique décisionnel.

## Etude prospective :

Critères d'inclusion : fièvre, douleurs articulaires et/ou impotence

Période : avril 2011 à avril 2014

Recueil de données clinico-biologiques :

- Age, sexe, hyperthermie, localisation de l'IOA, CRP (mg/L), impotence fonctionnelle, douleur locale, œdème

Inclusion

**Enfants**

**n = 183**

**Adultes**

**n = 402**

# PIRLA : Procédure



**Chirurgiens**

Liquide articulaire et/ou liquide de lavage  
(LAR)

Flacons d'hémocultures

Tube sec

Tube EDTA

**Laboratoire**

**Culture conventionnelle**

Gélose au sang, PVX, gélose Schaedler  
et bouillon. Lecture jusqu'à J+14

+

**PCR universelle et 7 PCR spécifiques sur le  
liquide articulaire**

**Cytologie**

**+ 1 paire d'hémocultures concomitante**

# Biologie moléculaire

- PCR universelle : ADNr 16S
- PCR spécifiques
  - Genre *Staphylococcus* (*tuf*)
  - *Staphylococcus aureus* (*femA2*)
  - Genre *Streptococcus* (*tuf*)
  - *Streptococcus pneumoniae* (*lytA*)
  - *Kingella kingae* (*cpn60*, puis *rtxA*)
  - *Borrelia burgdorferi* (*recA*)
  - *Propionibacterium acnes* (16S)



# Résultats préliminaires du PHRC PIRLA : Protocole Inter-Régional sur Liquides Articulaires

## Volet pédiatrique : Résultats



Hospices Civils de Lyon

CHUs Lyon et Saint-Etienne

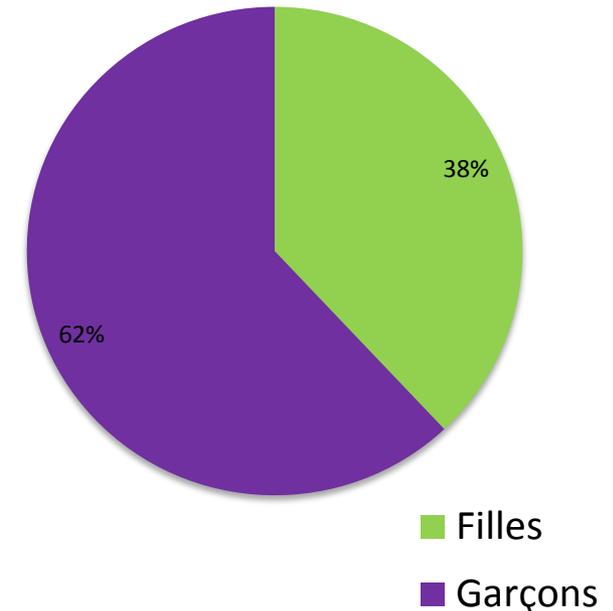
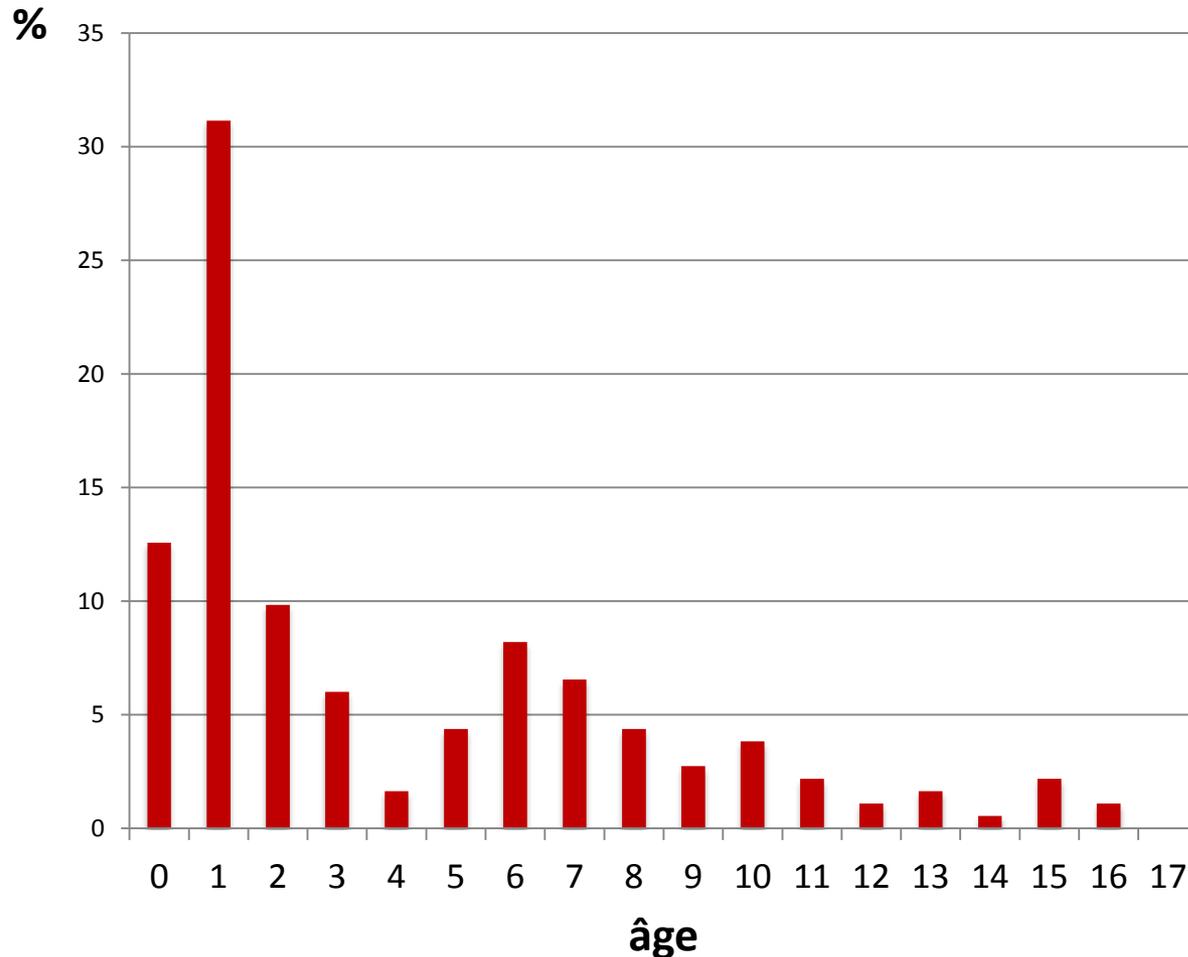


# Inclusions - n=183

Répartition selon l'âge et le sexe

Age moyen : 4,6 ans et médiane : 2,1 ans

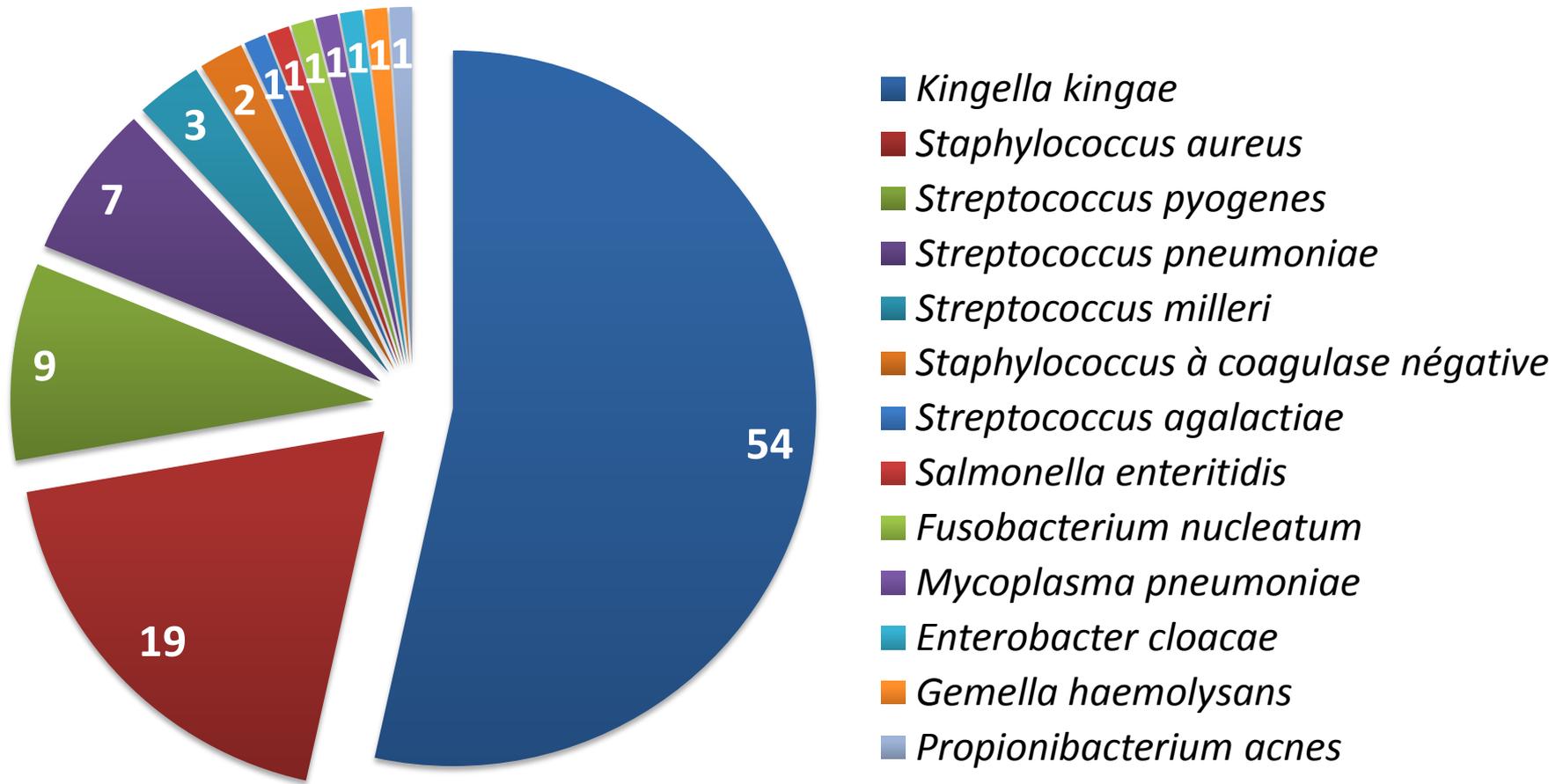
Sexe ratio : 1,6  
(114 M / 69 F)



Sur 183 suspicions d'IOA, ...

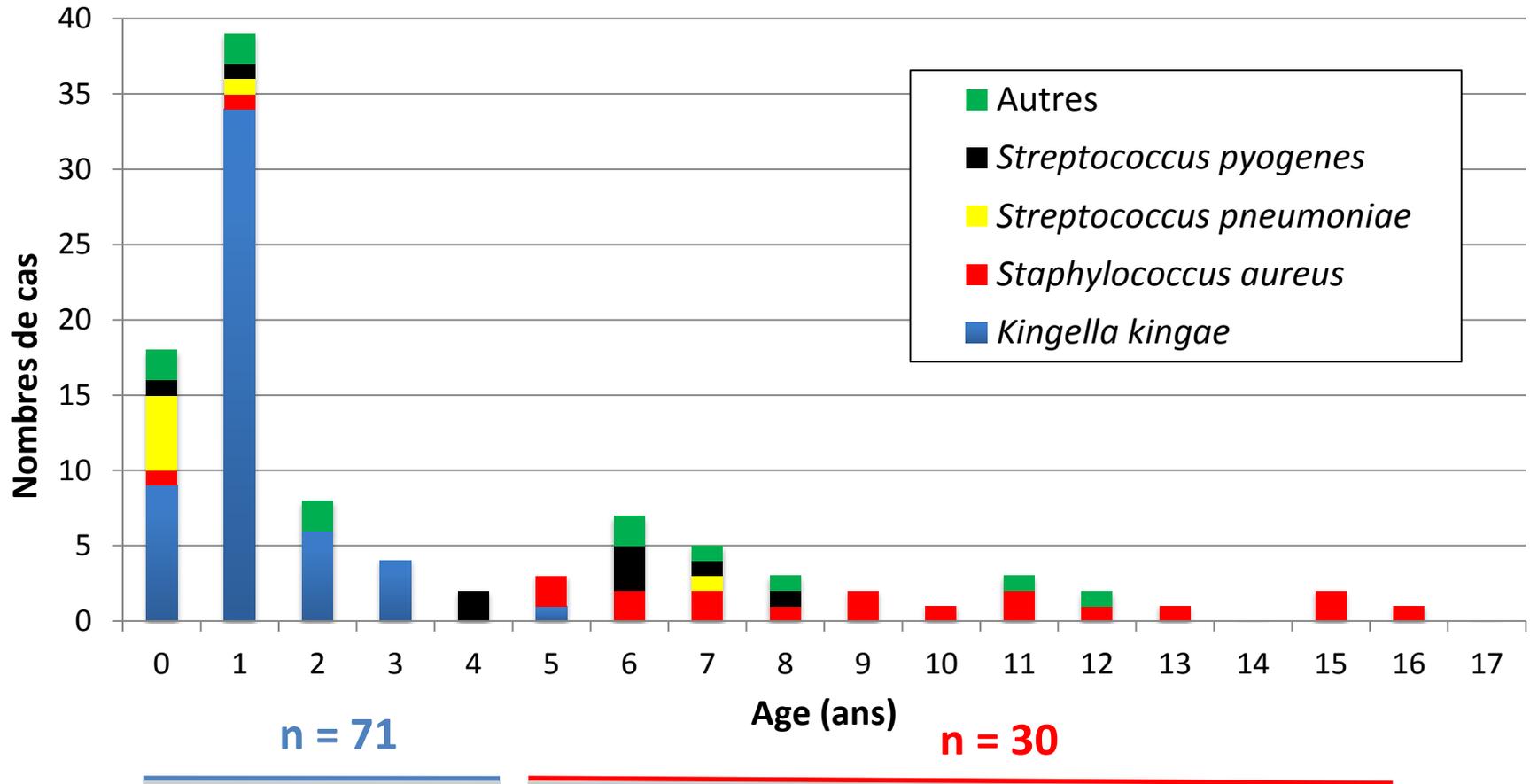
## 101 bactériologiquement documentées

(toutes techniques confondues)



**72 % des cas : *K. kingae* ou *S. aureus***

# Etiologie en fonction de l'âge des patients



**K. kingae = 74 % des cas**

*S. pneumoniae* : 8 %

*S. pyogenes* : 2,8 %

*S. aureus* : 1,4%

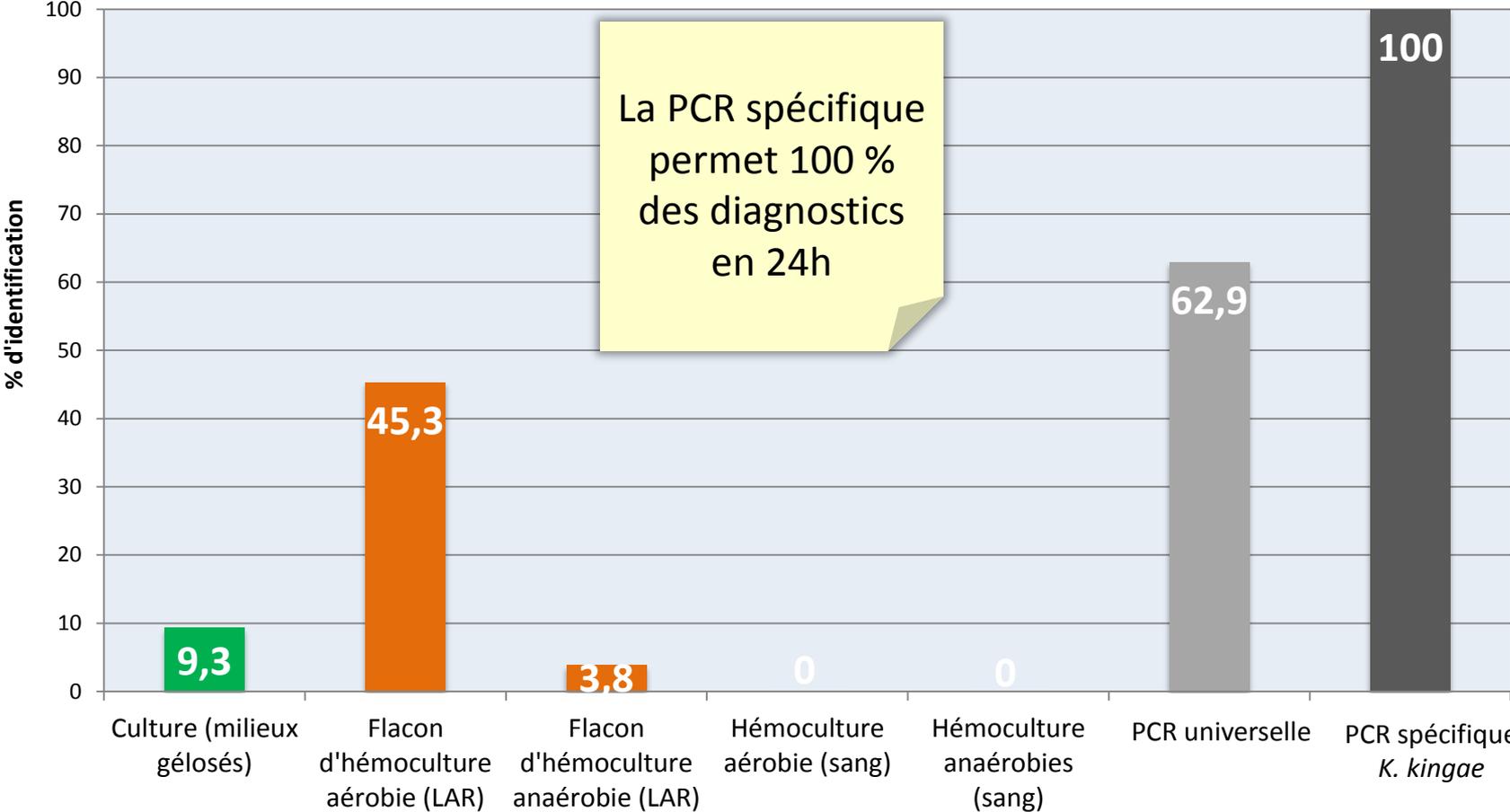
**S. aureus = 57 % des cas**

*S. pyogenes* : 20 %

*K. kingae* : 3 %

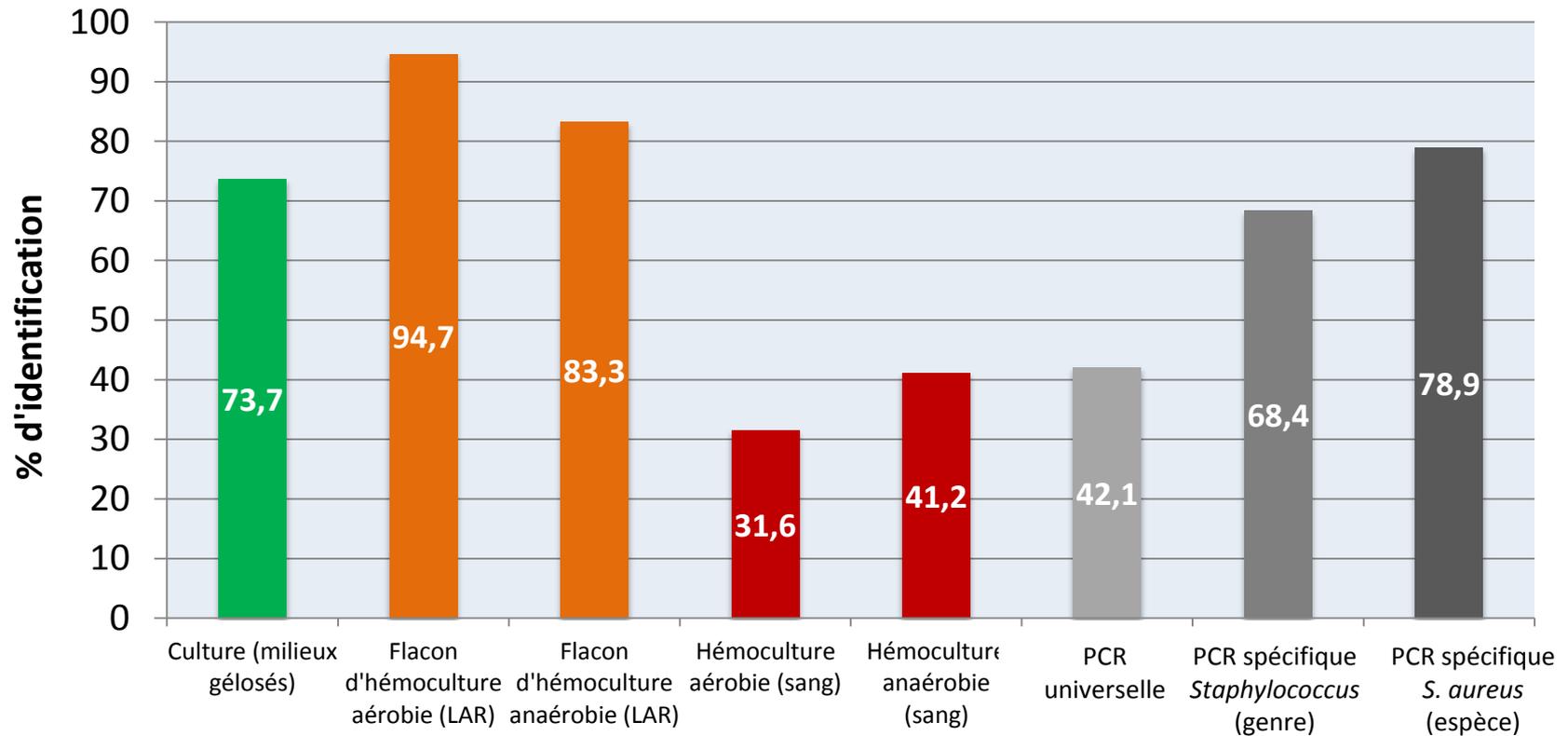
*S. pneumoniae* : 3 %

# Performance des différentes techniques pour le diagnostic des IOA à *Kingella kingae* (n = 54)



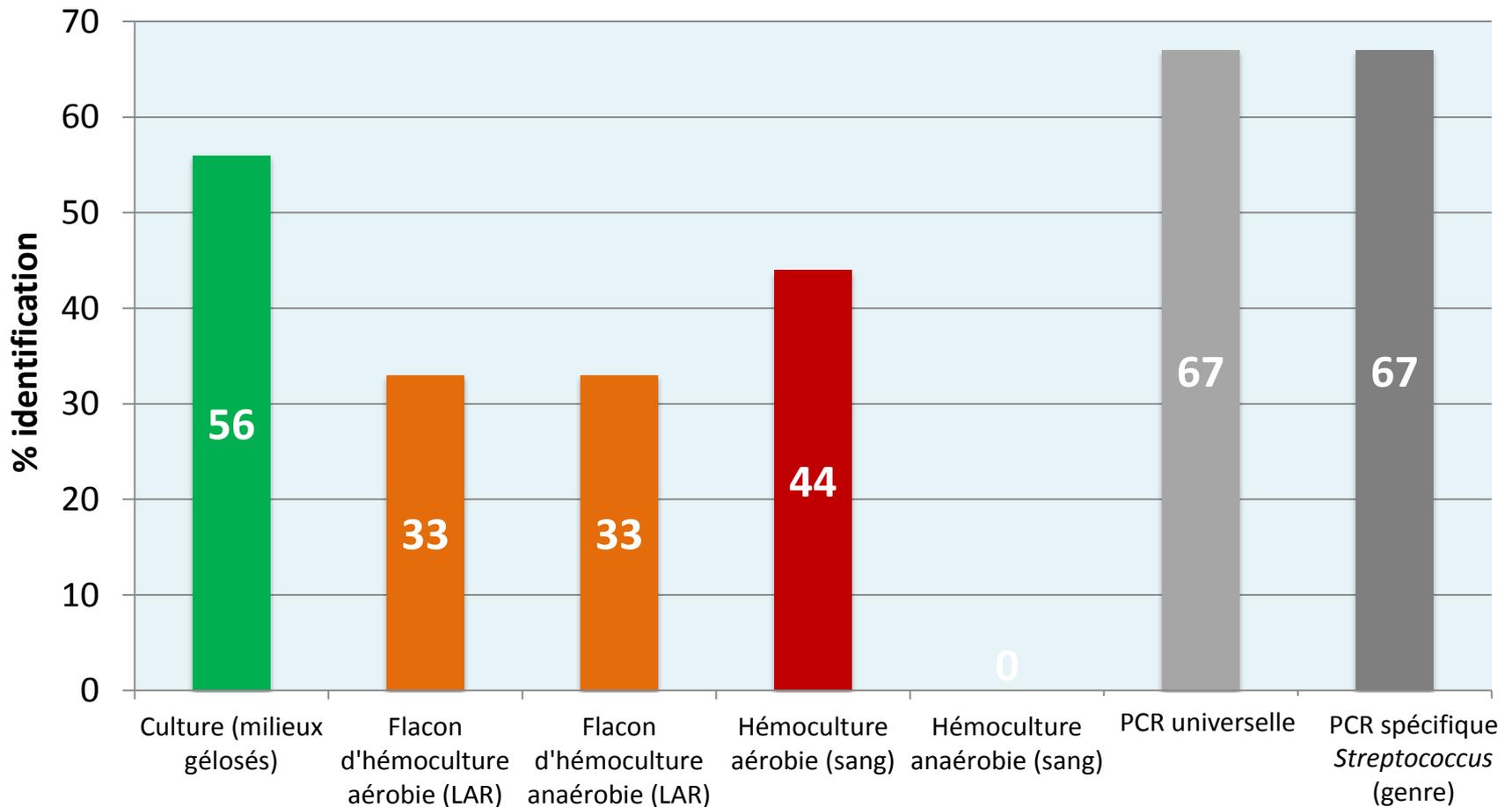
Méthodes culturales cumulées très < PCR *K. kingae*

# Performance des différentes techniques pour le diagnostic des IOA à *Staphylococcus aureus* (n = 19)



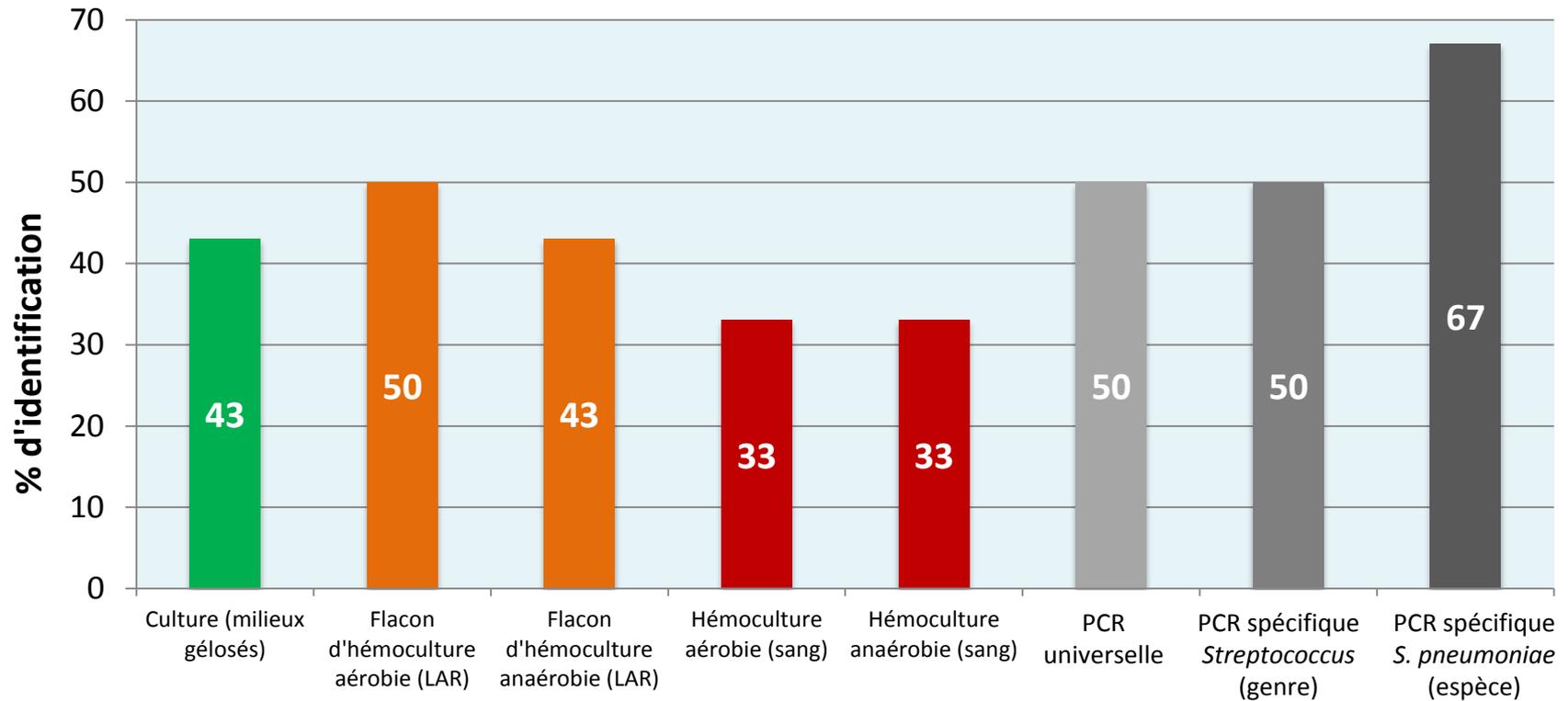
Méthodes culturales cumulées > PCR

# Performance des différentes techniques pour le diagnostic des IOA à *Streptococcus pyogenes* (n = 9)



Méthodes culturales cumulées > PCR *tuf Streptococcus spp.*

# Performance des différentes techniques pour le diagnostic des IOA à *Streptococcus pneumoniae* (n = 7)



Méthodes culturales cumulées = PCR *S. pneumoniae*

# Discussion/conclusion

## Culture

## Liquide articulaire (LAR)

## PCR

### Culture sur gélose vs. flacons d'hémocultures : flacons d'hémocultures

- Indispensables pour *K. kingae*
- Plus performants pour *S. aureus* et *S. pneumoniae* (pas pour *S. pyogenes*)

L'hémoculture (sang) se trouve toujours en défaut par rapport à la culture du LAR

AUCUN INTERET

### Méthodes culturelles cumulées vs PCR :

- *K. kingae* : méthodes culturelles cumulées < PCR
- *S. pneumoniae* : cultures cumulées = PCR
- *S. aureus* et *S. pyogenes* : cultures cumulées > PCR

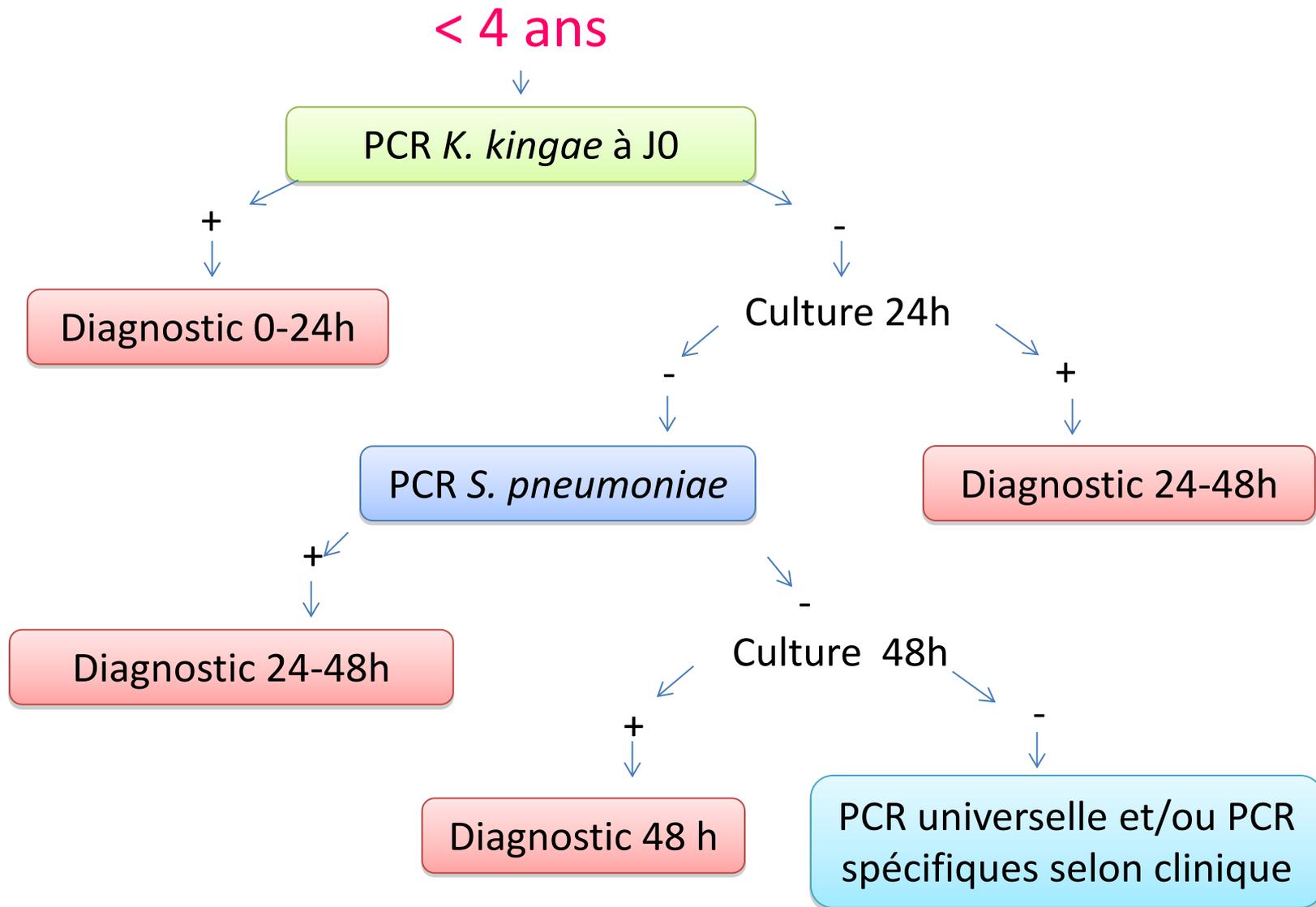
### Sensibilité :

PCR universelle < PCR spécifiques  
(PCR *S. aureus*, *S. pneumoniae* et *K. kingae*)

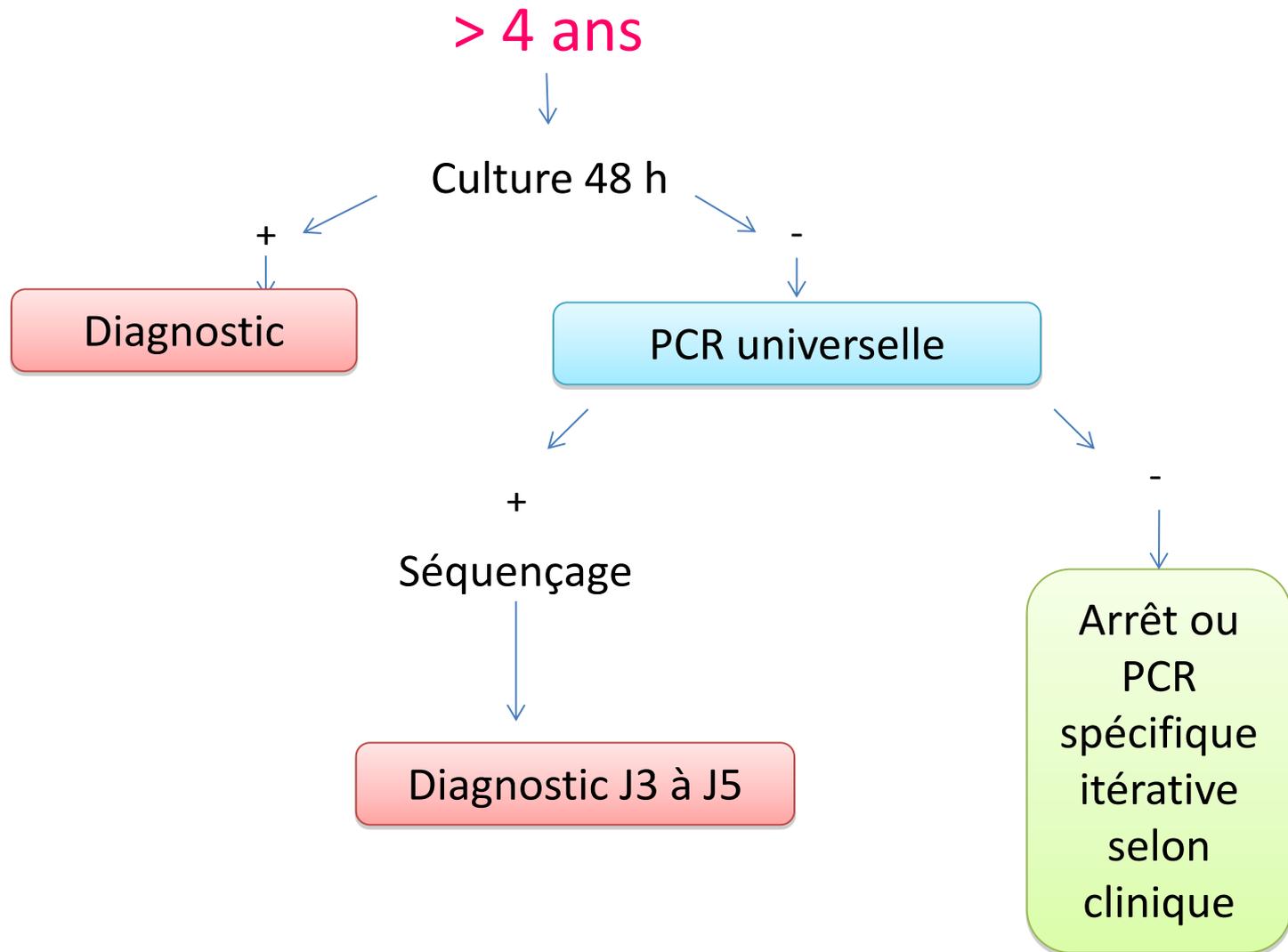
PCR16S = possibilité de diagnostic de  
**bactéries inattendues/rares**  
*M. pneumoniae*, *G. haemolysans*

PCR *K. kingae* = 100% des diagnostics en 24h  
PCR spécifiques améliorent le diagnostic des  
IOA à *K. kingae* = enfant < 4 ans  
IOA *S. pneumoniae* = enfant < 4 ans

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



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



# Résultats préliminaires du PHRC PIRLA : Protocole Inter-Régional sur Liquides Articulaires

## Volet adulte : Résultats préliminaires

Données de l'Hôpital de la Croix-Rousse uniquement (n= 145)

Données du CHU de Saint-Etienne (n=257) en cours d'analyse



Hospices Civils de Lyon

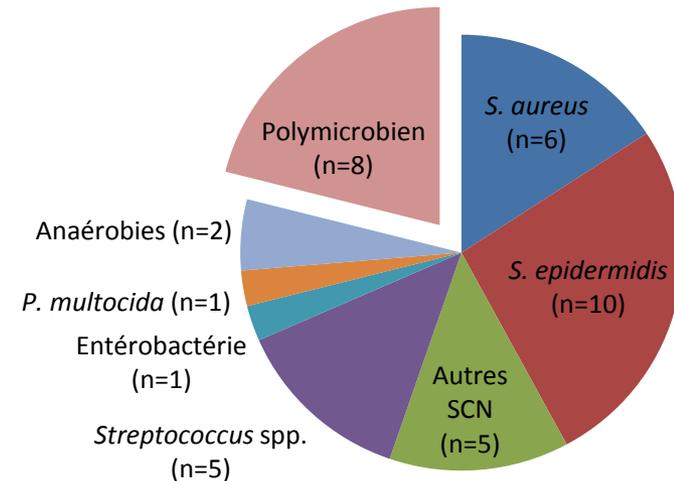
CHUs Lyon et Saint-Etienne



# Apport de la culture du liquide articulaire en flacons d'hémocultures vs. la culture classique ?

- Flacons d'hémocultures + / Culture standard + : n=38 / 145 patients

## Epidémiologie bactérienne (n=38)



IOA monomicrobiennes : 100 % de concordance

- 4/38 positifs dans un seul des flacons
  - 1 anaérobie strict
  - 3 staphylocoques : pb remplissage flacons?
- Délai de pousse?
  - Equivalent sauf
    - 1 IOA à *P. acnes* et 1 IOA à SCN : + rapides en hémocultures
    - 1 IOA à *Peptostreptococcus* : + rapide en culture standard

IOA polymicrobiennes :

- 1 détectée uniquement en flacons d'hémocultures
- 1 détectée uniquement en culture standard

# Apport de la culture du liquide articulaire en flacons d'hémocultures vs. la culture classique ?

- **Flacons d'hémocultures - / Culture standard + : 4 / 145 patients**
  - Culture positive à J10 ou J15 sur 1 seul milieu/6
  - Biopsies osseuses concomitantes négatives

## ➔ Contaminations probables

- **Flacons d'hémocultures + / Culture standard - : 5 / 145 patients**
  - 3 SCN, 1 *Streptococcus agalactiae*, 1 corynébactérie
  - Pousse rapide (24h) sauf corynébactérie (>5j)
  - PCR négatives sauf le *Streptococcus agalactiae*

## ➔ 3 contaminations probables (2 SCN, corynébactérie) avec biopsies osseuses concomitantes négatives

## ➔ 2 IOA : *S. agalactiae* (biopsies osseuses négatives), *S. epidermidis* (1 biopsie osseuse positive + anapath en faveur)

➔ **Total techniques culturales : 40 (38 + 2) IOA vraies / 145 patients**

# Concordance **biologie moléculaire / culture ?**

- 40 IOA en culture → 1 QI + 39 analysées en biologie moléculaire
- **Performances PCR 16S**
  - Infections monomicrobiennes (n = 31)
    - **PCR 16S même micro-organisme : seulement 14**
    - **PCR 16S négative : 14** (9/11 *S. epidermidis*, 2/6 *S. aureus*, 2/3 *S. lugdunensis*, 1/1 *P. acnes*)
    - 1 résultat discordant : *Lactococcus* vs *S. epidermidis*
    - 2 « doubles séquences » non interprétables
  - Infections polymicrobiennes (n = 8)

	n	1 espèce détectée	≥ 2 espèces détectées	« Double séquence »
Infection à 2 micro-organismes	6	5	0	1
Infection à 3 micro-organismes	1	1	0	0
Infection à 4 micro-organismes	1	1	0	0



Ne pas demander de PCR16S avant d'avoir des résultats de culture négatifs !

# Concordance **biologie moléculaire / culture ?**

- 40 IOA en culture → 1 QI + 39 analysés en biologie moléculaire
- **Performances PCR spécifiques**
  - 5 infections non diagnosticables par les PCR spécifiques
    - 1 positif en PCR *Staphylococcus* vs. culture à *Peptostreptococcus*
  - 34 infections diagnosticables par les PCR spécifiques

	<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>P. acnes</i>	TOTAL
Culture positive	7	27	6	1	34
PCR spécifique positive	7 (7/7 + en PCR <i>Staphylococcus</i> )	15	6	1	23
PCR spécifique négative	0	<b>12</b> (12/12 - en PCR 16S : 10 <i>S. epidermidis</i> , 2 <i>S. lugdunensis</i> )	0	0	12

- A noter 1 prélèvement cultivant uniquement à *S. aureus* positif en PCR *Staphylococcus* et *Streptococcus* (*S. sanguinis*)

# Apport de la **biologie moléculaire** vs techniques culturelles ?

- **PCR 16S ou PCR spécifiques + / Culture standard - : 23 /105**
  - 4/23 à germe de culture lente ou impossible : *Coxiella burnetii*, *Borrelia burgdorferi*, *Nocardioïdes*
  - **19 bactéries non fastidieuses identifiées seulement par PCR**

	Micro-organisme	n	ATB avant prélèvement	Biopsies osseuses positives en culture	
				Oui	Non
+ en PCR spécifique sauf 1 streptocoque	<i>S. aureus</i>	2	1	0	2
	SCN	3	2	0	2
	Streptocoques	5	2	0	5
	<i>P. acnes</i>	3	1	1 (mais <i>S. epi</i> )	2
+ en PCR 16S	BGN ( <i>Aeromonas</i> )	1	0	0	1
	Corynébactérie	1	0	0	1
	DS non interprétable	4	4	0	4
	<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>17</b>

**Pb interprétation selon micro-organisme !**

**Au total : 40 + 23 /145 positifs toutes techniques**

DS : double séquence



# Concordance PCR 16S / PCR spécifiques ?

- PCR spécifiques + : 37/144 patients

	<i>S. aureus</i>	SCN	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>P. acnes</i>	<i>Borrelia</i>	Total
PCR spécifique positive	9 8/9 aussi + en PCR <i>Staphylococcus</i>	13	11	5	1	39
PCR 16S positive	4 + 1 DS	3 + 2 DS	6 + 1 DS	1 DS	0	13 + 5DS
Culture positive	7	9	6	1	0	23

DS : double séquence non interprétable

- PCR 16S + / PCR spécifiques - : 20/144 patients
  - 14 espèces non détectables par PCR spécifiques (culture + : 7/11 cultivables)
  - 5 DS (culture + : 1/5)
  - 1 DS dont probable *Streptococcus mitis/oralis/pneumoniae* (culture -)

➔ Quand PCR 16S positive à un germe présent dans les PCR spécifiques (n=14), PCR spécifique toujours positive sauf 1 probable *Streptococcus mitis/oralis/pneumoniae*

# Apport de l'hémoculture sang concomitante au prélèvement de LAR ?

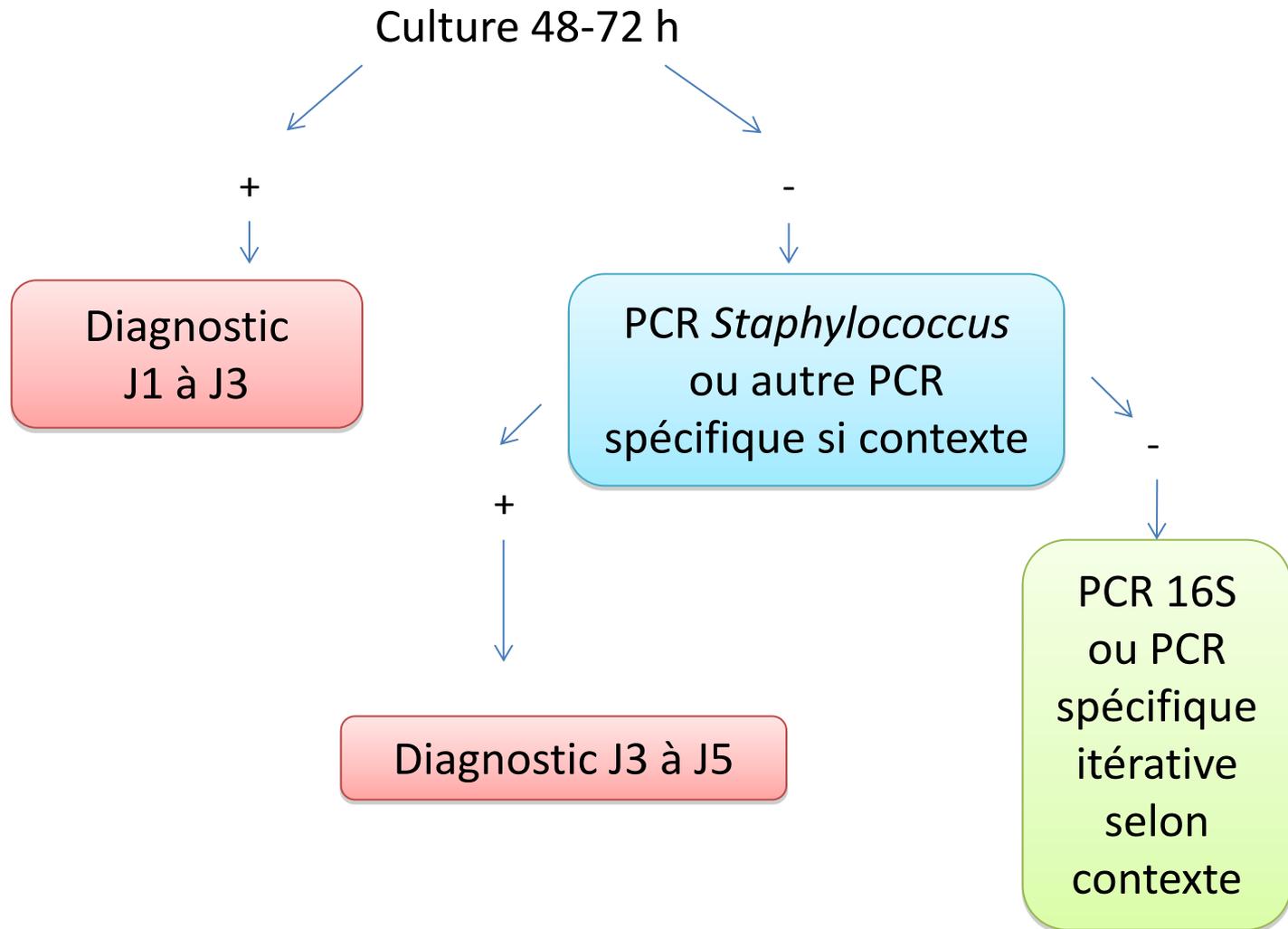
- 142/145 patients avec prélèvement d'hémocultures concomitantes
- Seulement **3 IOA** où le prélèvement d'hémocultures concomitantes à la chirurgie a permis de mettre en évidence le germe de l'IOA



**Hémoculture per op sans intérêt pour le diagnostic**

# Diagnostic de l'IOA de l'adulte

(à revoir après analyse complète des résultats)



# PHRC PIRLA – Conclusions

- **Résultats pédiatriques :**
  - Importance . de la PCR *K. kingae*
    - . de la culture en flacons d'hémoculture avant 4 ans
- **Résultats adultes :** plus difficiles à interpréter
  - Pas de micro-organisme équivalent à *K. kingae* chez l'adulte
  - Manque de sensibilité de la PCR 16S
  - Apport limité de la culture en flacons d'hémocultures (5%) par rapport à l'enfant
  - Nécessité de
    - consolider ces résultats préliminaires avec les données de Saint-Etienne
    - confronter les résultats à la clinique, aux résultats des biopsies et à l'anapath

# Le futur : Etude **BioMIOS**

- **Objectifs :**

Recherche de biomarqueurs de la résorption osseuse au cours des IOA (sang, LAR, urine)

en collaboration avec SYNARC

- **Inclusions :**

- Patients avec changement de prothèse sur IOA confirmée

vs.

- Patients avec changement de prothèse aseptique

vs.

- Patients avec pose initiale de prothèse

# Remerciements

- **Tous les techniciens du laboratoire de bactériologie**
  - **Les biologistes**
  - **Les chirurgiens orthopédiques**
  - **Les infectiologues**
- ..... des CHU de Lyon et Saint-Etienne**



Hospices Civils de Lyon



Centre  
Hospitalier  
Universitaire  
Saint-Etienne



architecte : BDC  
photo : A. R. G. H. J. G. U. I. D. E.  
Guide architecture