



Hospices Civils de Lyon



Centre
Hospitalier
Universitaire
Saint-Etienne

PHRC PIRLA : Peut-on améliorer le diagnostic des IOA ?

Anne Carricajo – Céline Dupieux-Chabert

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

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

10 avril 2017, 6^{ème} journée du CRIOAc de Lyon

Etude PIRLA

Protocole Inter-Régional sur Liquides Articulaires

CHUs Lyon, Saint-Etienne

**Apport des techniques moléculaires en temps réel
et des techniques automatisées de culture en milieu liquide
dans le diagnostic et la prise en charge
des arthrites septiques**

Objectif principal

- **Evaluer les performances diagnostiques**
 - **Culture classique** : choix des milieux, durées d'incubation et atmosphère ?
 - Place des **flacons d'hémocultures**, durée d'incubation et atmosphère ?
 - Place de la **biologie moléculaire** : PCR spécifiques, PCR universelle



→ **Choix des techniques d'analyse au laboratoire**

- **sensibilité et spécificité optimisées**
- **rapidité de rendu du résultat**
- **adaptation au travail dans des grosses structures et à l'automatisation**

Kit de prélèvements PIRLA

Cliniciens



- Kit de prélèvement liquide articulaire
- Tube sec pour LAR
- Flacons d'hémoculture pédiatrique et anaérobie
- Tube EDTA pour cytologie

Flacons d'hémoculture
bioMérieux à Lyon
BD à Saint-Etienne



- Kit de prélèvement sang
- Tube sec pour sérologies
- Flacons d'hémoculture aérobie et anaérobie

Prise en charge bactériologique

AU BLOC



Flacons
d'hémoculture

Liquide articulaire

Tube sec ou poudrier



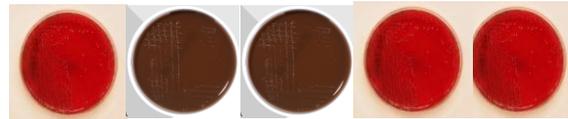
AU LABORATOIRE

Automate
Hémocultures
15 jours



Ensemencement

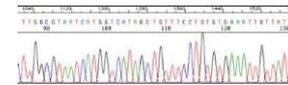
Gélose sang air 48 h	Gélose chocolat CO ₂ 48 h et 10 j	Gélose anaérobie 3 et 10 j	Schaedler 10 j
-------------------------------	---	----------------------------------	-------------------



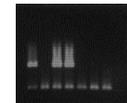
Repiquage
systématique
air/ana
5 jours supp

PCR

ADNr 16S
Staphylococcus spp
Streptococcus spp



Autres PCR
S. aureus
S. pneumoniae
P. acnes
K. kingae
Borrelia burgdorferi



Description de l'étude

Etude prospective :

Critères d'inclusion : douleurs articulaires
et/ou impotence fonctionnelle
et/ou chaleur/œdème de l'articulation

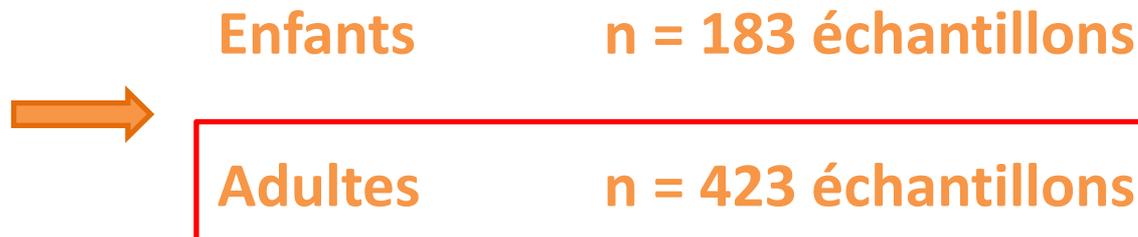
Services : pédiatrie, orthopédie, rhumatologie, maladies infectieuses

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



Cohorte de patients PIRLA adultes

Variable	Total of patients (n=333)
----------	---------------------------

Age [median (interquartile range)] (yr)	69 (56-78)
---	------------

Male number and sex ratio	175 / 1.11
---------------------------	------------

Location of joint puncture [no. (number of prosthetic joints)]	Total of samples (n=423)
---	--------------------------

Knee	227 (151)
------	-----------

Hip	136 (121)
-----	-----------

Vertebral	22 (0)
-----------	--------

Shoulder	15 (3)
----------	--------

Ankle	12 (0)
-------	--------

Elbow	1 (0)
-------	-------

Others (hands or feet joints, osteitis)	10 (0)
---	--------

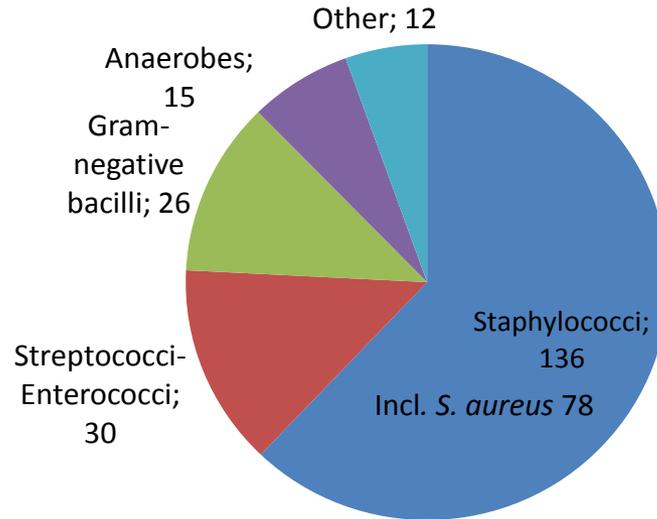
65% sur prothèse
31.7% ATB en pré-op

Résultats généraux PIRLA adultes

	Negative (n; %)	Positive (n; %)
Saint-Etienne (n=256)	68 (26.6)	188 (73.4)
Lyon (n=167)	89 (53.3)	78 (46.7)
Total (n=423)	157 (37.1)	266 (62.9)

Résultats généraux PIRLA adultes

Monomicrobial (n=219)

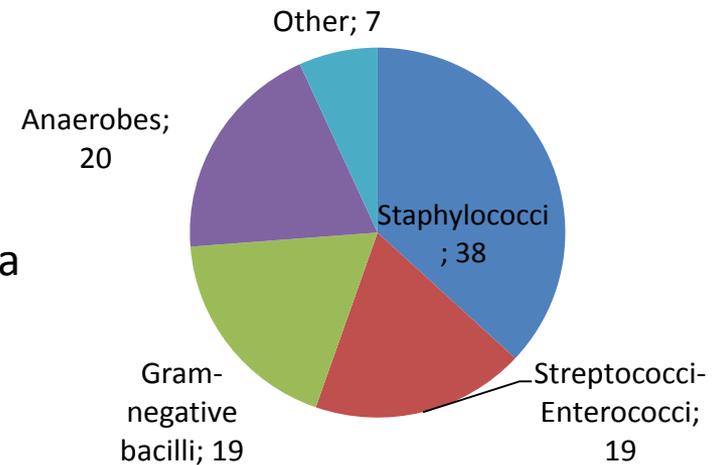


Polymicrobial (n=46)

2 species	39
3 species	4
4 species	2
5 species	1

103 bacteria

Polymicrobial (n=103)



Détection bactérienne en fonction des techniques de culture

Microorganisms recovered in joint infection/articular fluid	Sensitivity (%) of the detection of microorganisms in clinical samples							
	BA aero.	LA	BA	LA CO2	BA	SCH	BC	BC
Other bacteria N= 19	5.3	21.1	0	21.1	0	5.23	15.8	26.3
All bacterial species N=322	41	40.2	36.4	39.9	42.1	46.7	58.4	61.4
incl. monomicrobial N=219	47	43.6	42.7	44	45.9	52.3	62.1	67.6
incl. polymicrobial N=103	28	33	23.3	31.1	34	35	50.5	48.5

- Aucun intérêt des géloses chocolat CO₂ avec incubation prolongée
- Intérêt des flacons d'hémoculture (pas de différence entre les flacons BD ou bioMérieux)
 - Sensibilité
 - Ensemencement 24/24h
 - Rapidité détection 86,7% en – de 48h ; 96,3% en – de 5j
- Mais seulement 50,5% de détection d'où nécessité de combiner les milieux avec au moins un milieu pour la recherche des anaérobies
 - Choix gélose chocolat sous anaérobie ou bouillon Schaedler : si automatisation, gélose chocolat

Détection bactérienne en fonction des différentes techniques de culture et de PCR

Microorganisms recovered in joint infection/articular fluid	Sensitivity (%) of the detection of microorganisms in clinical samples								
	3-days culture only	3-day and 10-days culture only	3-day and BA anaero (10d) only	BC bottles only	All 3-days and 10 days culture and BC	3-day and BA anaero (10d) culture and BC	All 3-days and 10 days culture, and BC and PCR univ	3-day and BA anaero (10d) culture and BC PCR univ	3-day and BA anaero (10d) culture and BC PCR spe
Anaerobic species, N=35	20	49	37.1	42.9	60	51.4	62.9	54.3	91.4
incl. <i>P. acnes</i> N=24	8.3	38	29.2	20.8	45.8	37.5	45.8	41.7	91.7
<i>Streptococcus-Enterococcus</i> spp., N=49	38.8	45	53.3	56.3	62.5	60.4	81.25	79.2	95.8
incl. <i>Enterococcus</i> spp N=10	50	70	70	80	80	80	90	90	90
Incl. <i>Streptococcus</i> spp N=39	35.9	38	28.2	50	55.3	57.9	78.3	76.3	97.4
<i>Staphylococcus</i> spp., N=174	50	58	51.7	80.3	85.5	85	89	88.4	98.4
incl. <i>S aureus</i> N=87	78.2	79	78.2	89.6	88.5	88.4	95.4	94.3	98.9
incl. CoNS N=87	21.8	37	25.3	72.1	82.6	81.4	82.6	82.6	100
Gram-negative bacilli, N=45	61.4	68	63.7	82.2	84.4	84.4	100	100	-
Other bacteria N= 19	21.1	32	21.1	31.6	42.1	36.8	79	84.2	94.7
All bacterial species N=322	44.9	55	48.3	70.2	76.8	74,9	86.2	84.6	97.8

Détection bactérienne en fonction des différentes techniques de culture et de PCR

Microorganisms recovered in joint infection/articular fluid	Sensitivity (%) of the detection of microorganisms in clinical samples							
	PCR univ	PCR staphylococcus	PCR <i>S. aureus</i>	PCR Streptococcus	PCR <i>P. acnes</i>	PCR Lyme	PCR <i>K. kingae</i>	PCR pneumococque
Anaerobic species, N=35	25.7	-	-	-	51.4	-	-	-
incl. <i>Propionibacterium acnes</i> N=24	16.7	-	-	-	75	-	-	-
<i>Streptococcus-Enterococcus</i> spp., N=49	60.4	-	-	77.5	-	-	-	-
incl. <i>Enterococcus</i> spp N=10	65.8	-	-	-	-	-	-	-
Incl. <i>Streptococcus</i> spp N=39	40	-	-	97.4	-	-	-	7.8
<i>Staphylococcus</i> spp., N=174	43.4	65.3	-	-	-	-	-	-
incl. <i>Staphylococcus aureus</i> N=87	65.5	82.8	85	-	-	-	-	-
incl. CoNS N=87	20.9	47.7	-	-	-	-	-	-
Gram-negative bacilli, N=45	75	-	-	-	-	-	-	-
Other bacteria N= 19	57.9	-	-	-	-	15.8	-	-
All bacterial species N=322	49.2	-	-	-	-	-	-	-
incl. monomicrobial N=219	59.3	-	-	-	-	-	-	-
incl. polymicrobial N=103	28.2	-	-	-	-	-	-	-

Etude des contaminations

- 41% (133/322) : croissance uniquement en culture classique ou flacon d'hémoculture ou PCR
 - 37% staphylocoques à coagulase négative
 - 14% *P. acnes*
 - 10,5% streptocoques oraux
 - 4,7% « souvent contaminants » : *Bacillus*, *Kocuria*, corynébactéries
 - 33,8% germes « non » contaminants : *Coxiella*, lyme , anaérobies, Streptocoques pyogènes, *Nocardia*, bacilles Gram négatif, *S. aureus*
- 81,2% patients traités
- Détermination critère pour affirmer le diagnostic : même germe retrouvé dans d'autres prélèvements

Détection bactérienne uniquement en culture classique, flacons d'hémoculture ou PCR chez des patients dont l'infection est « certaine »

Microorganisms recovered in joint infection/articular fluid	Number of bacterial detection							
	Culture		All media	BC Bottle		PCR		
	2-3d only	10d only		1 Bottle	2 Bottle	PCR univ only	PCR specific only	PCR univ and specific
Anaerobic species, N=1	0	1	0	0	0	0	-	-
incl. <i>F. magna</i> N=1	0	1	0	0	0	0	-	-
<i>Streptococcus-Enterococcus</i> spp., N=4	0	0	0	0	1	0	0	3
incl. <i>Enterococcus</i> spp N=1	0	0	0	0	1	0	-	-
incl <i>S. pneumoniae</i> N=1	0	0	0	0	0	0	0	1
incl Streptocoques pyogenes N=2	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Staphylococcus</i> spp., N=20	0	2	0	3	7	0	3	5
incl. <i>S. aureus</i> N= 8	0	0	0	0	2	0	2	4
incl. CoNS N other N=4	0	1	0	0	3	0	0	0
incl. <i>S. epidermidis</i> N=8	0	1	0	3	2	0	1	1
Gram-negative bacilli, N=4	0	0	0	1	0	3	-	-
incl <i>E. coli</i> N=2	0	0	0	1	0	1	-	-
incl <i>Pasteurella</i> N=1	0	0	0	0	0	1	-	-
incl <i>Aeromonas hydrophila</i> N=1	0	0	0	0	0	1	0	0
Other bacteria N= 6	0	0	0	0	0	3	3	-
inch <i>Coxiella burnetii</i> N=2	0	0	0	0	0	2	-	-
inch <i>Borrelia burgdorferi</i> N=3	0	0	0	0	0	0	3	-
inch <i>Corynebacterium</i> N=1	0	0	0	0	0	1	-	-
All bacterial species N=35	0	3	0	4	8	6	6	8

Prise en charge bactériologique optimisée

AU BLOC



Flacons
d'hémoculture

Liquide articulaire

Tube sec ou poudrier



AU LABORATOIRE

Automate
Hémocultures
10 jours

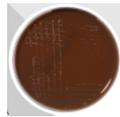


Ensemencement

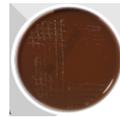
Gélose
sang
CO₂
48 h



Gélose
chocolat
CO₂
48 h

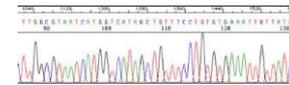


Gélose
chocolat
anaérobie
10 j



PCR

ADNr 16S
Staphylococcus spp



Autres PCR
S. aureus



Analyse séquentielle des résultats

Articular fluids (N=423)



Culture with BA aero, PVX CO₂ 2 days, and BA anaero 10 days and BC anaero and paediat 10 days => 208 positives samples (78.2%)



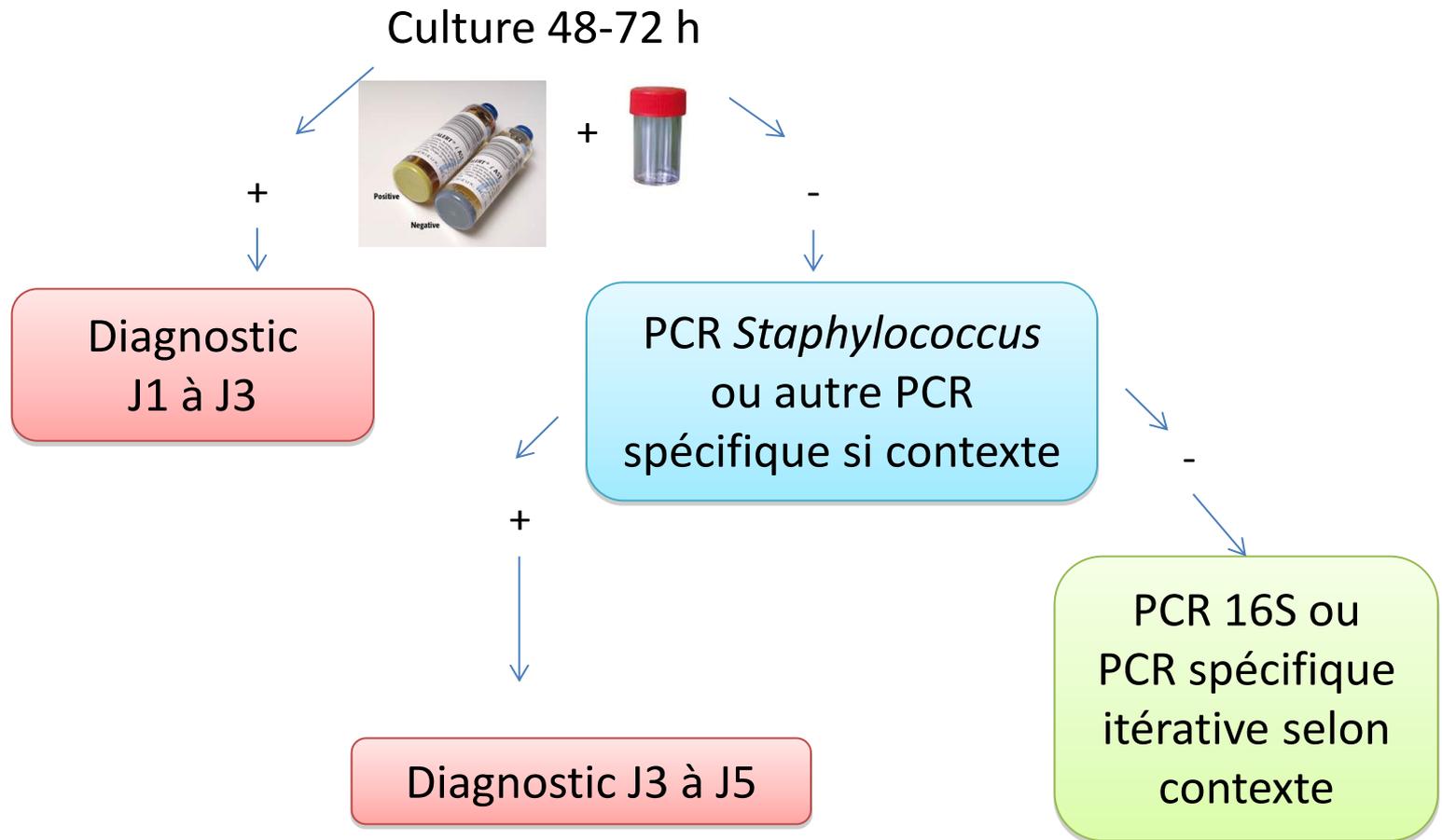
PCR *Staphylococcus* on 215 samples => 225 positives samples

PCR univ on 215 samples => 238 positives samples



249 positive samples (93.6%) (17 samples not detected: 3 *B. burgdorferi*, 1 *S. aureus*, 1 *Bacillus* and 8 *Streptococcus*, 4 *P. acnes*)

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



Remerciements

- Tous les techniciens des laboratoires de bactériologie
 - Les biologistes
 - Les chirurgiens orthopédiques
 - Les infectiologues
- des CHU de Lyon et Saint-Etienne

