



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

AU LABORATOIRE

Liquide articulaire



Flacons
d'hémoculture

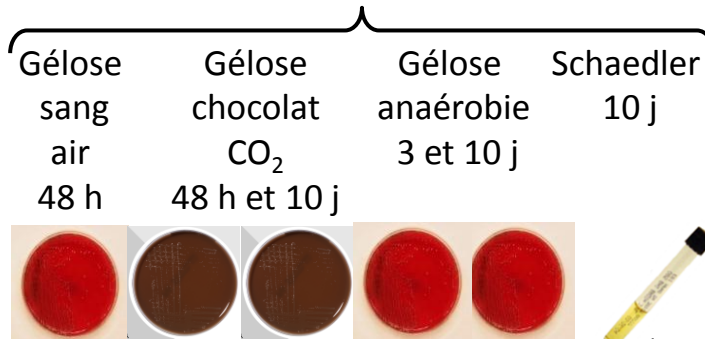
Tube sec ou poudrier



Automate
Hémocultures
15 jours



Ensemencement

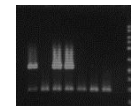


PCR

ADNr 16S
Staphylococcus spp
Streptococcus spp

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

Repiquage
systématique
air/ana
5 jours supp



Description de l'étude

Etude prospective :

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

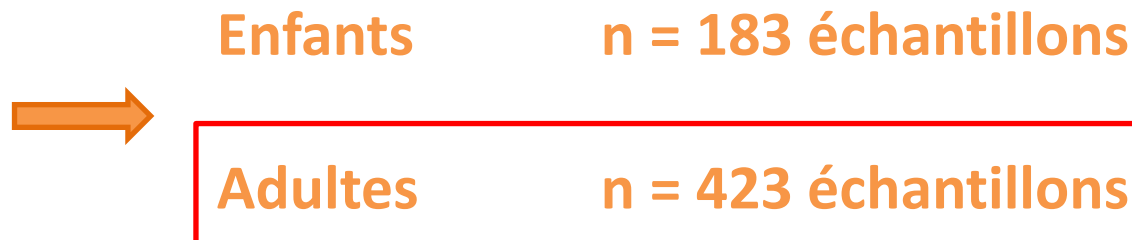
Services : pédiatrie, orthopédie, rhumatologie, maladies infectieuses

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)
---	--------

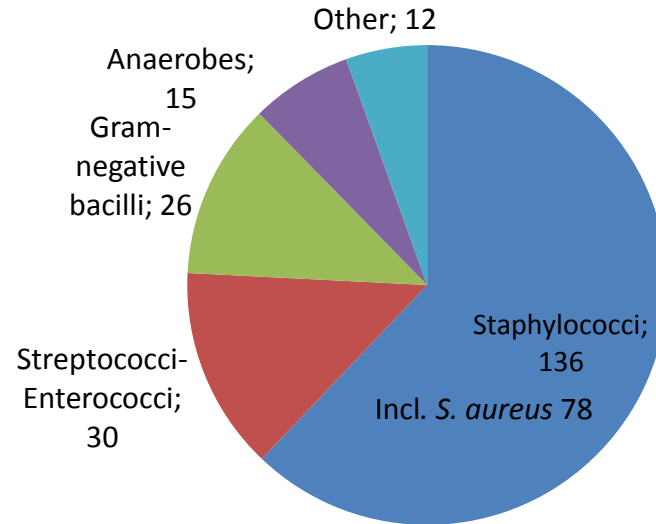
65% sur prothèse
31.7% ATB en pré-op

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)

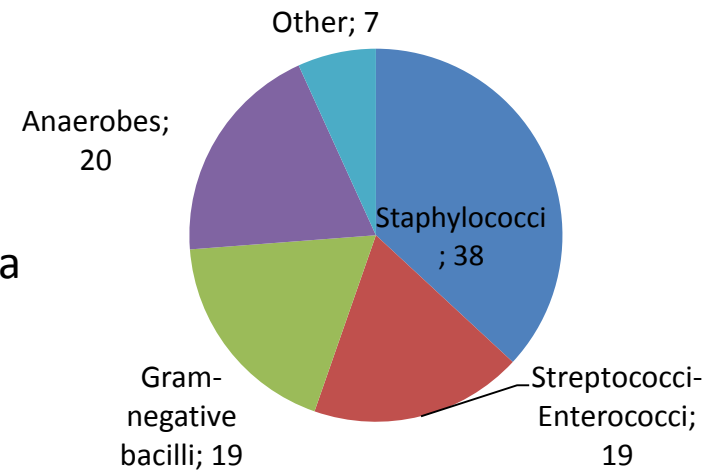


Polymicrobial (n=46)

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

AU LABORATOIRE

Liquide articulaire



Flacons
d'hémoculture

Tube sec ou poudrier



Automate
Hémocultures
10 jours

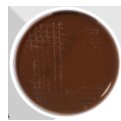


Ensemencement

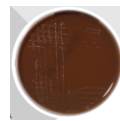
Gélose
sang
CO₂
48 h



Gélose
chocolat
CO₂
48 h

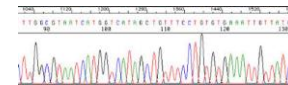


Gélose
chocolat
anaérobie
10 j

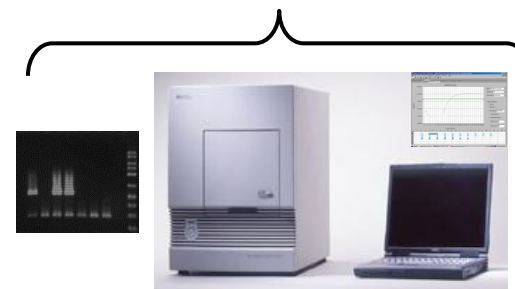


PCR

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%)



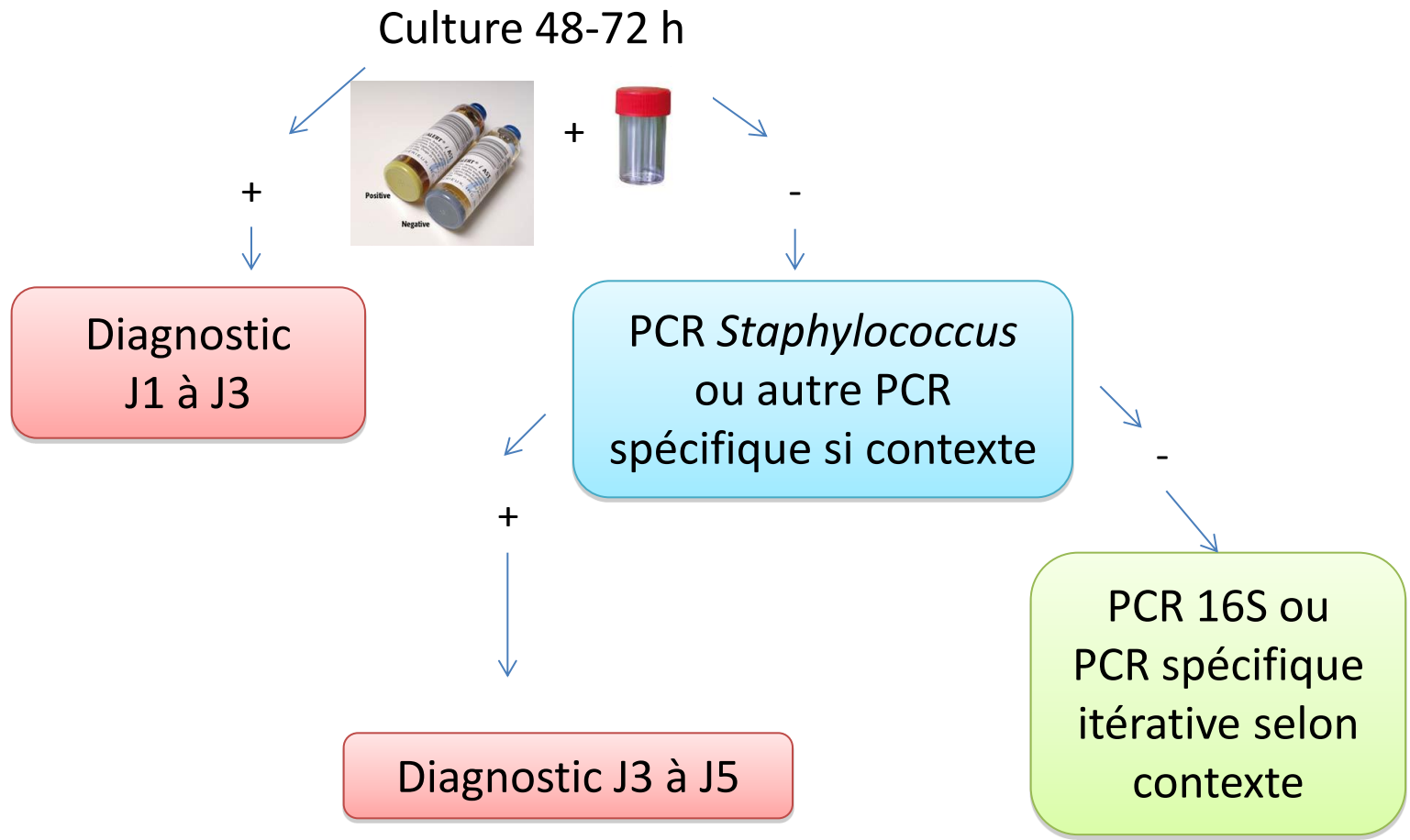
PCR *Staphylococcus* on 215 samples => 225 positives samples

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

