



Hospices Civils de Lyon



Centre  
Hospitalier  
Universitaire  
Saint-Etienne

# PHRC PIRLA : Quels résultats ? Quelles recommandations ?

Anne Carricajo  
Céline Dupieux-Chabert

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

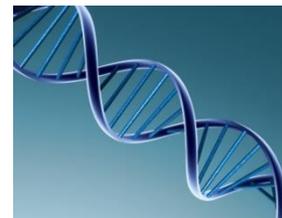
*Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes Rhône  
Alpes-Auvergne*

*27 mars 2018, 7<sup>ème</sup> journée du CRIOAc de Lyon*

# Protocole interrégional sur liquides articulaires

## Objectifs =

- **Epidémiologie IOA adulte/enfant**
- **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

## Liquide articulaire (LAR)

AU BLOC



Flacons  
d'hémoculture

Tube sec ou poudrier



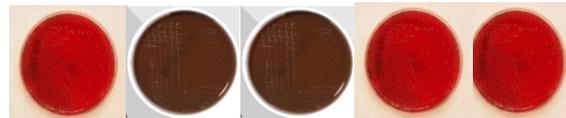
AU LABORATOIRE

Automate  
Hémocultures  
15 jours



Ensemencement

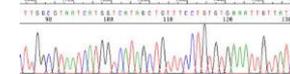
| Gélose sang | Gélose chocolat | Gélose anaérobie | Schaedler |
|-------------|-----------------|------------------|-----------|
| air         | CO <sub>2</sub> | 3 et 10 j        | 10 j      |
| 48 h        | 48 h et 10 j    |                  |           |



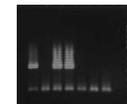
Repiquage  
systématique  
air/ana  
5 jours supp

PCR

ADNr 16S  
*Staphylococcus* spp  
*Streptococcus* spp



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

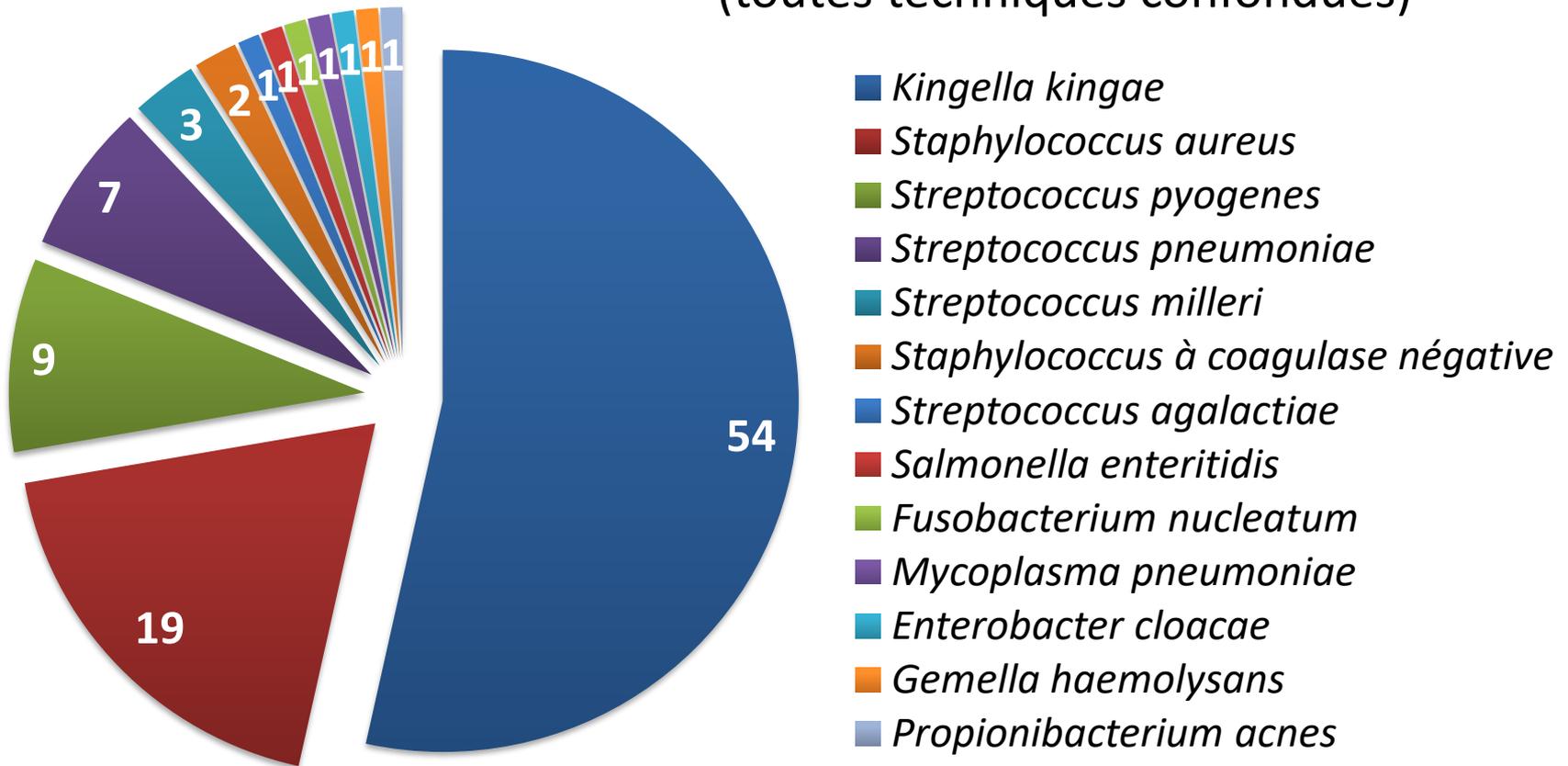


# Résultats volet pédiatrique

183 enfants, âge médian 2,1 ans

101 IOA bactériologiquement documentées

(toutes techniques confondues)



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

# Que nous a montré PIRLA chez l'enfant?

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

**Sensibilité :**

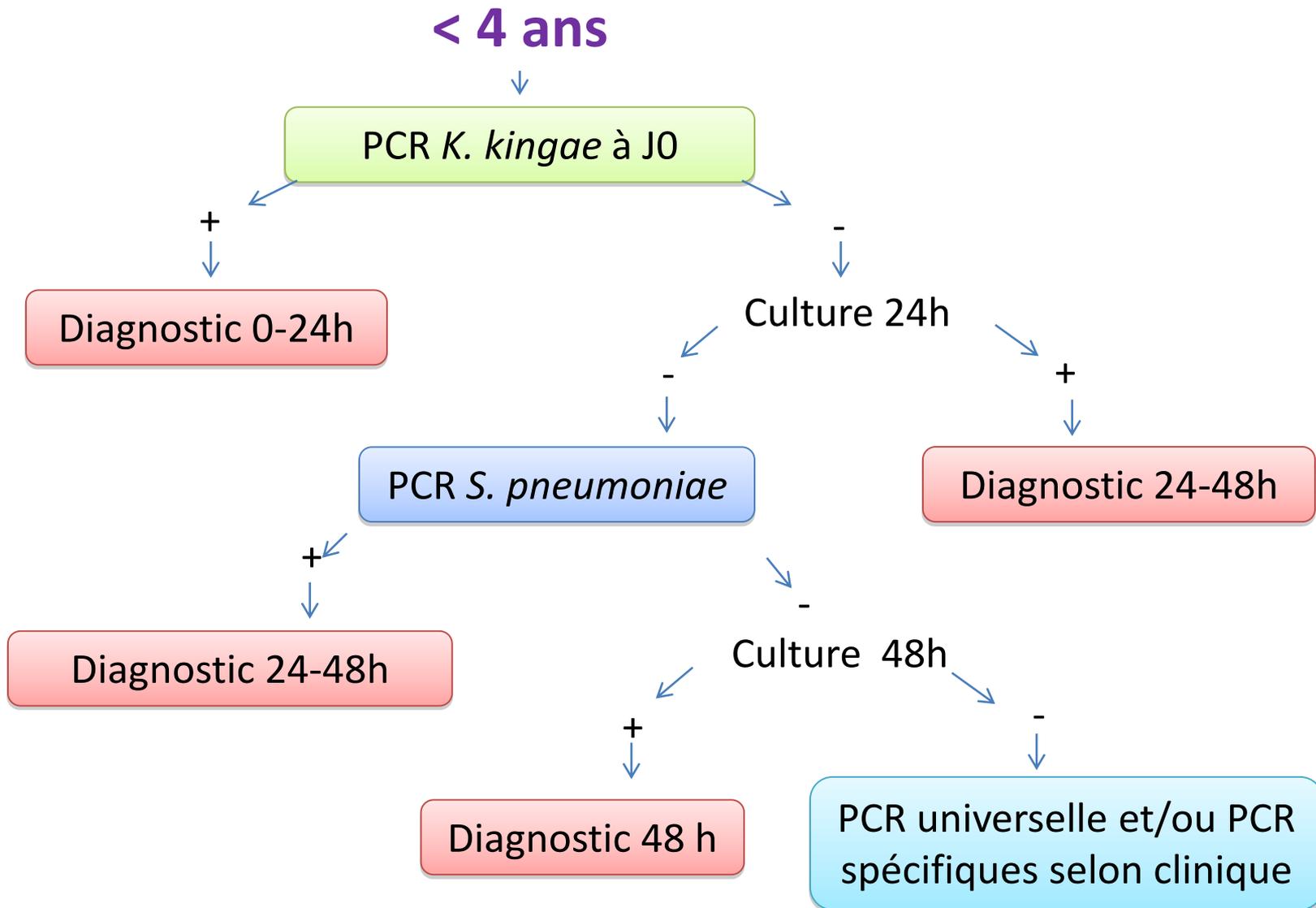
**PCR universelle < PCR spécifiques**  
(PCR *S. aureus*, *S. pneumoniae* et *K. kingae*)

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

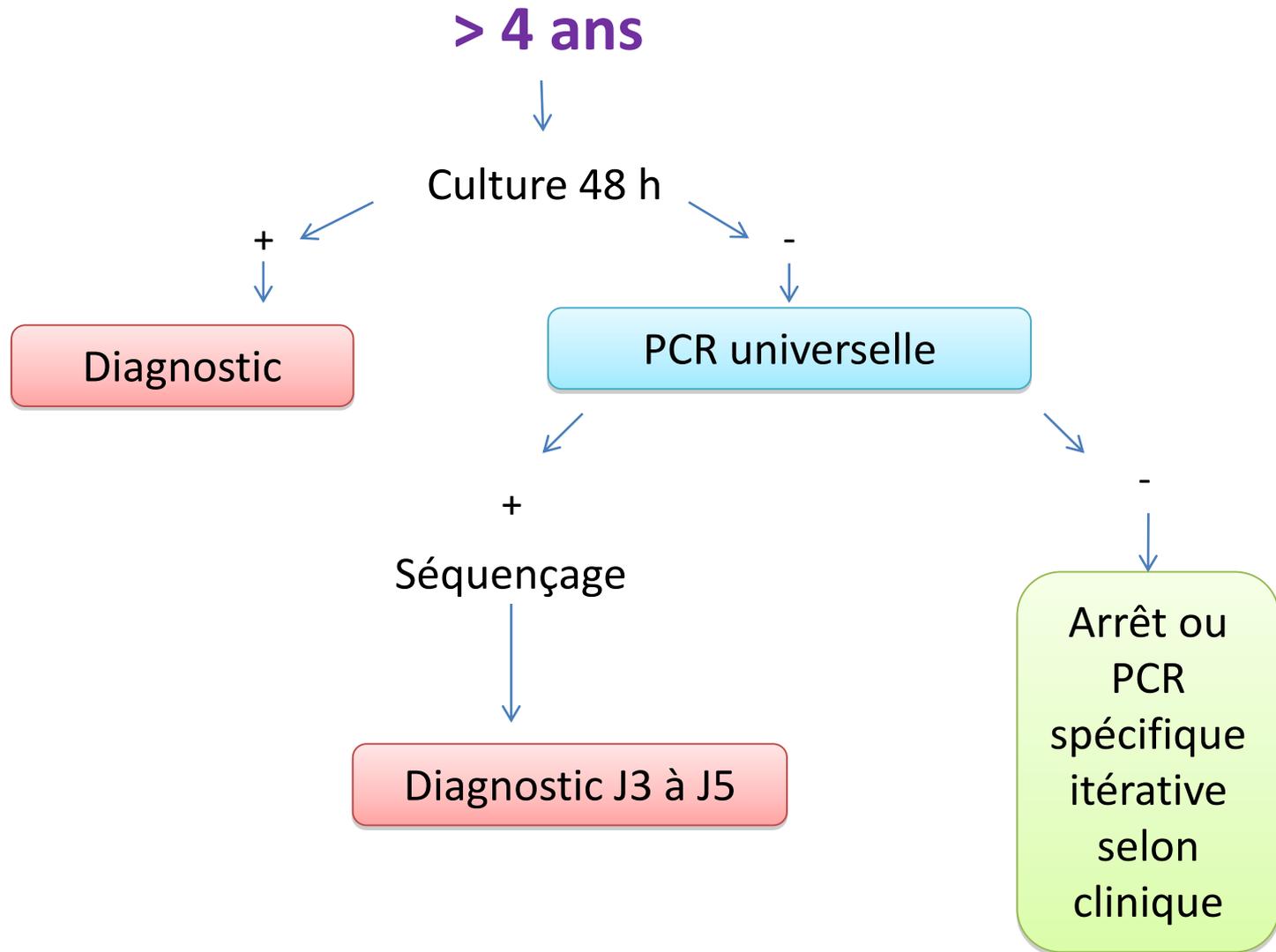
PCR *K. kingae* = 100% des diagnostics en 24h

PCR spécifiques améliorent le diagnostic des  
IOA à *K. kingae* et *S. pneumoniae* chez  
l'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 volet adulte

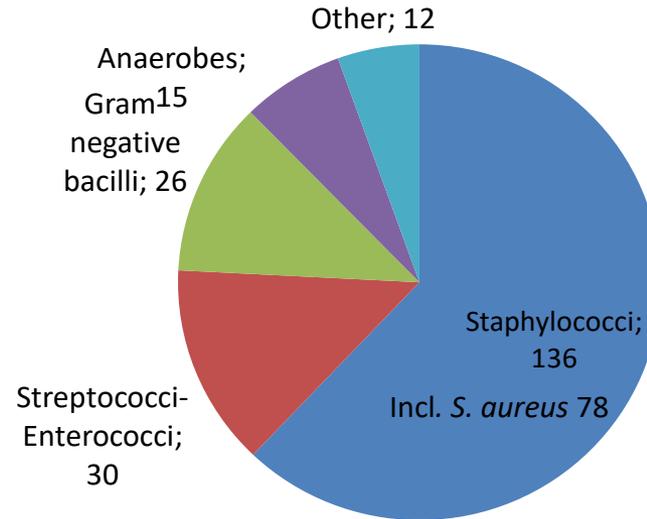
**423 LAR chez 333 patients**

65 % sur prothèse

31.7 % ATB préalables

**265 échantillons positifs (62,6%)**

## Monomicrobial (N=219)

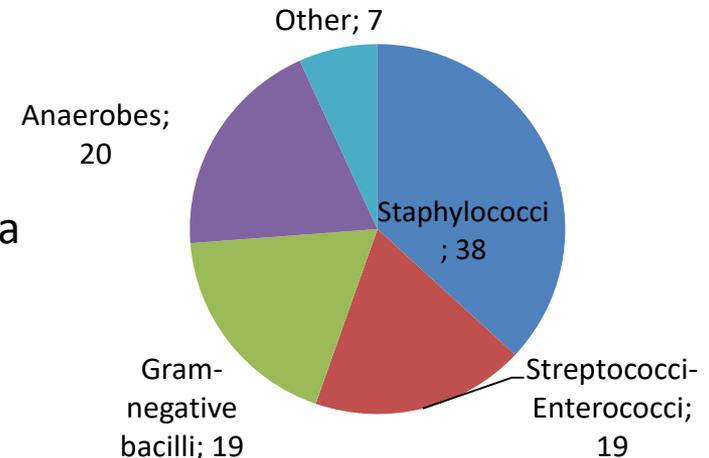


## Polymicrobial (n=46)

|           |    |
|-----------|----|
| 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 (2-d)  | LA CO2 (2-d) | BA anaero (3-d) | LA CO2 (10-d) | BA anaero (10-d) | SCH broth (10-d) | BC Anaero (15-d) | BC Paediat (15-d) |
| Anae incl   |  |              |                 |               |                  |                  |                  |                   |
| Strep incl  |  |              |                 |               |                  |                  |                  |                   |
| Incl  |  |              |                 |               |                  |                  |                  |                   |
| Stapl incl  |  |              |                 |               |                  |                  |                  |                   |
| incl  |  |              |                 |               |                  |                  |                  |                   |
| Gram  |  |              |                 |               |                  |                  |                  |                   |
| Othe  |  |              |                 |               |                  |                  |                  |                   |
| 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 CO<sub>2</sub> 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

# Performances de différentes combinaisons culture/PCR

| Microorganisms recovered in joint infection/articular fluid | Sensitivity (%) of the detection of microorganisms in clinical samples |                           |                               |                 |                               |                                       |  |  |   |
|---|--|---------------------------|-------------------------------|-----------------|-------------------------------|---------------------------------------|--|--|---|
|   | 3-d culture only   | 3-d and 10-d culture only | 3-d and BA anaero (10-d) only | BC bottles only | All 3-d and 10-d culture + BC | 3-d and BA anaero (10-d) culture + BC | All 3-d and 10-d culture + BC + PCR univ | 3-d and BA anaero (10-d) culture + BC + PCR univ | 3-d and BA anaero (10-d) culture + 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                                  | 84.2                                     | 79   | 94.7  |
| All bacterial species N=322                                 | 44.9   | 55                        | 48.3                          | 70.2            | 76.8                          | 74,9                                  | 86.2                                     | 84.6   | 97.8  |

BA: blood agar; BC: blood cultures.

# Analyse séquentielle des résultats

Articular fluids (N=423)



aero 2d



CO<sub>2</sub> 2d



ana 10d



10d



**Culture BA aero 2 days + PVX CO<sub>2</sub> 2 days + BA anaero 10 days  
+ BC anaero and paediat 10 days => 208 positives samples (78.2%)**



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

**PCR 16S 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*)**

Bemer *et al*, 2016. Best association for tissue, bone and joint fluid samples: 3 culture media chocolate agar plate CO<sub>2</sub> 7d + Schaedler broth 14d + paediatric blood culture bottle 5d

# Que nous a également appris PIRLA chez l'adulte ?

- Cytologie ?
- Intérêt des flacons d'hémoculture sang concomitants au LAR ?
- Culture : place des flacons d'hémoculture sur LAR mais sont-ils faits à l'heure actuelle ?
- Proposition d'un algorithme pour le diagnostic de l'IOA chez l'adulte

# Cytologie : Choix du seuil

- Calcul du nombre de leucocytes/mm<sup>3</sup>
  - Classique
  - Modifié
    - Nombre de GB = Nbre GB LA - (Nbre GB sang x Nbre GR LA/Nbre GR sang)
- En fonction
  - Du type de prélèvement
  - Présence de prothèse ou non

# Cytologie : Choix du seuil

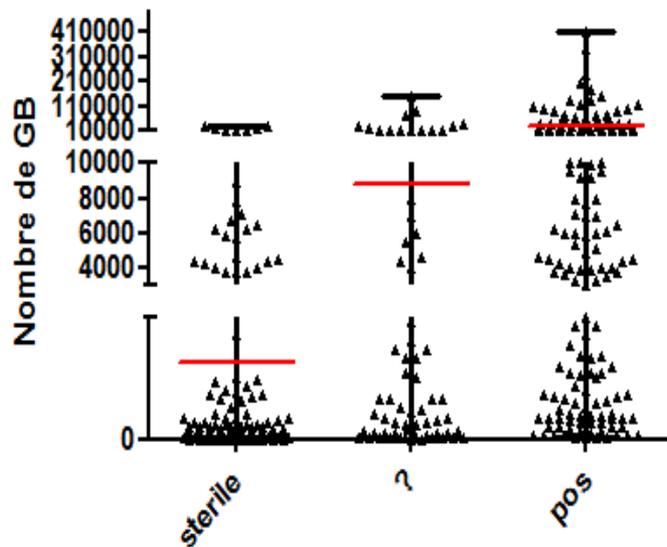
| Auteurs                   | Date | Localisation | Valeur seuil GB<br>Valeur seuil PNN | Sensibilité                                | Spécificité                                |
|---------------------------|------|--------------|-------------------------------------|--|--|
| Schinsky <i>et al.</i>    | 2008 | Hanche       | 4200<br>80 %                        | 0,84 (0,74-0,93)<br>0,82 (0,72-0,92)       | 0,93 (0,89-0,97)<br>0,83 (0,77-0,89)       |
| Spanghel <i>et al.</i>    | 1999 | Hanche       | 5000<br>80 %                        | 0,36 (0,18-0,53)<br>0,89 (0,78-1,0)        | 0,99 (0,98-1,0)<br>0,52 (0,79-0,91)        |
| Dinneen <i>et al.</i>     | 2013 | Hanche       | 1580<br>65                          | 0,895 (0,783-0,997)<br>0,897 (0,795-0,999) | 0,913 (0,827-0,999)<br>0,866 (0,761-1,971) |
| Della Valle <i>et al.</i> | 2007 | Genou        | 3000<br>NR                          | 0,98 (0,93-1,9)<br>0,98 (0,93-1,0)         | 1<br>0,85 (0,75-0,95)                      |
| Ghanem <i>et al.</i>      | 2008 | Genou        | 3000<br>64 %                        | 0,91 (0,86-0,95)<br>0,95 (0,92-0,98)       | 0,88 (0,84-0,92)<br>0,95 (0,92-0,97)       |
| Trampuz <i>et al.</i>     | 2007 | Genou        | 1700<br>65 %                        | 0,94 (0,86-1,0)<br>0,97 (0,91-1)           | 0,88 (0,81-0,94)<br>0,98 (0,95-1,0)        |
| Zmitowski <i>et al.</i>   | 2012 | Genou        | 3000<br>75 %                        | 0,93 (0,87-0,99)<br>0,93 (0,87-0,99)       | 0,94 (0,88-0,99)<br>0,83 (0,75-0,91)       |

# Résultats cytologie PIRLA adulte

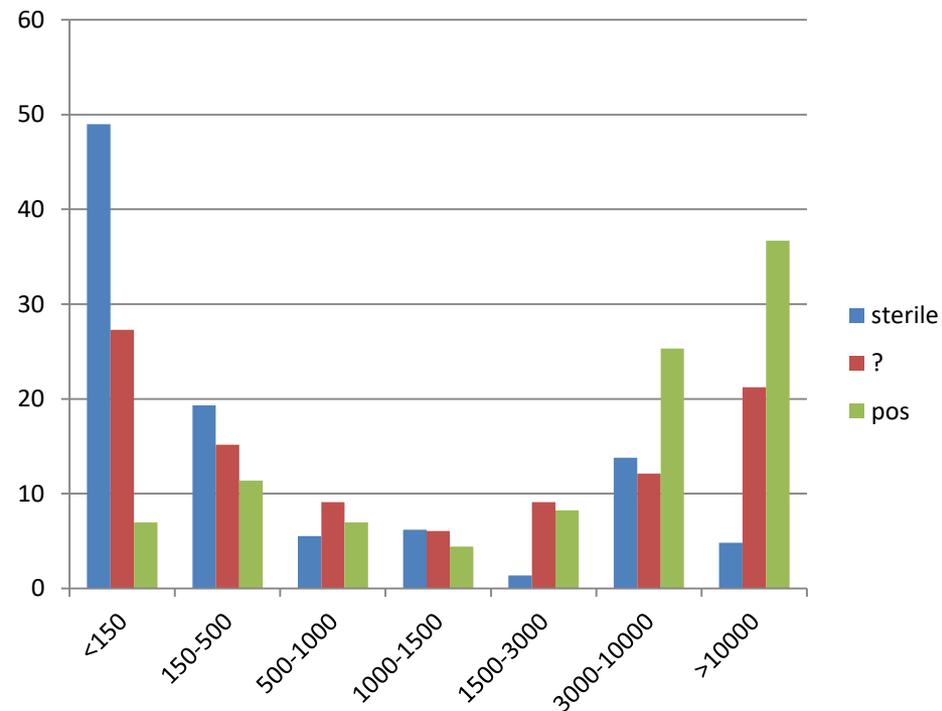
423 échantillons

- 55 non faits (trop visqueux, coagulé, oublié)
- 144 prélèvements stériles / 66 douteux (?) / 158 prélèvements positifs certains

Répartition des prélèvements en fonction du nombre de GB  
(mediane et range)

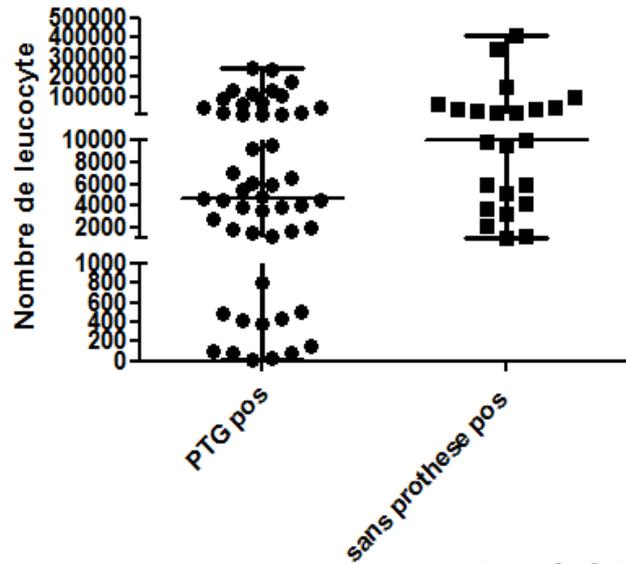


$p < 0,05$



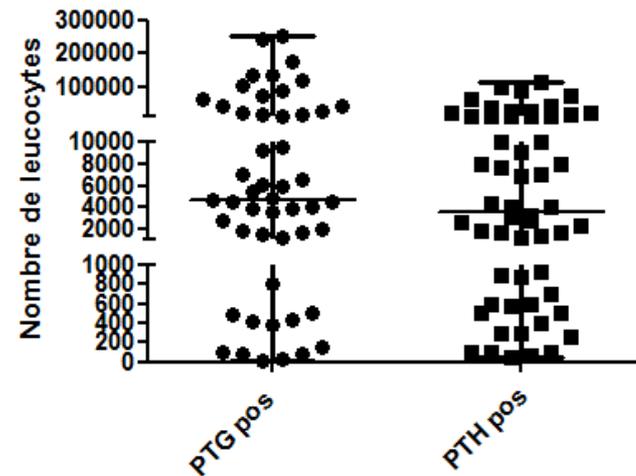
# Résultats cytologie PIRLA adulte

Comparaison du nombre de leucocytes dans les liquides synoviaux positifs avec ou non présence d'une prothèse



P = 0,054

Etude du nombre de leucocytes dans les prélèvements positifs hanche et genou avec présence d'une prothèse



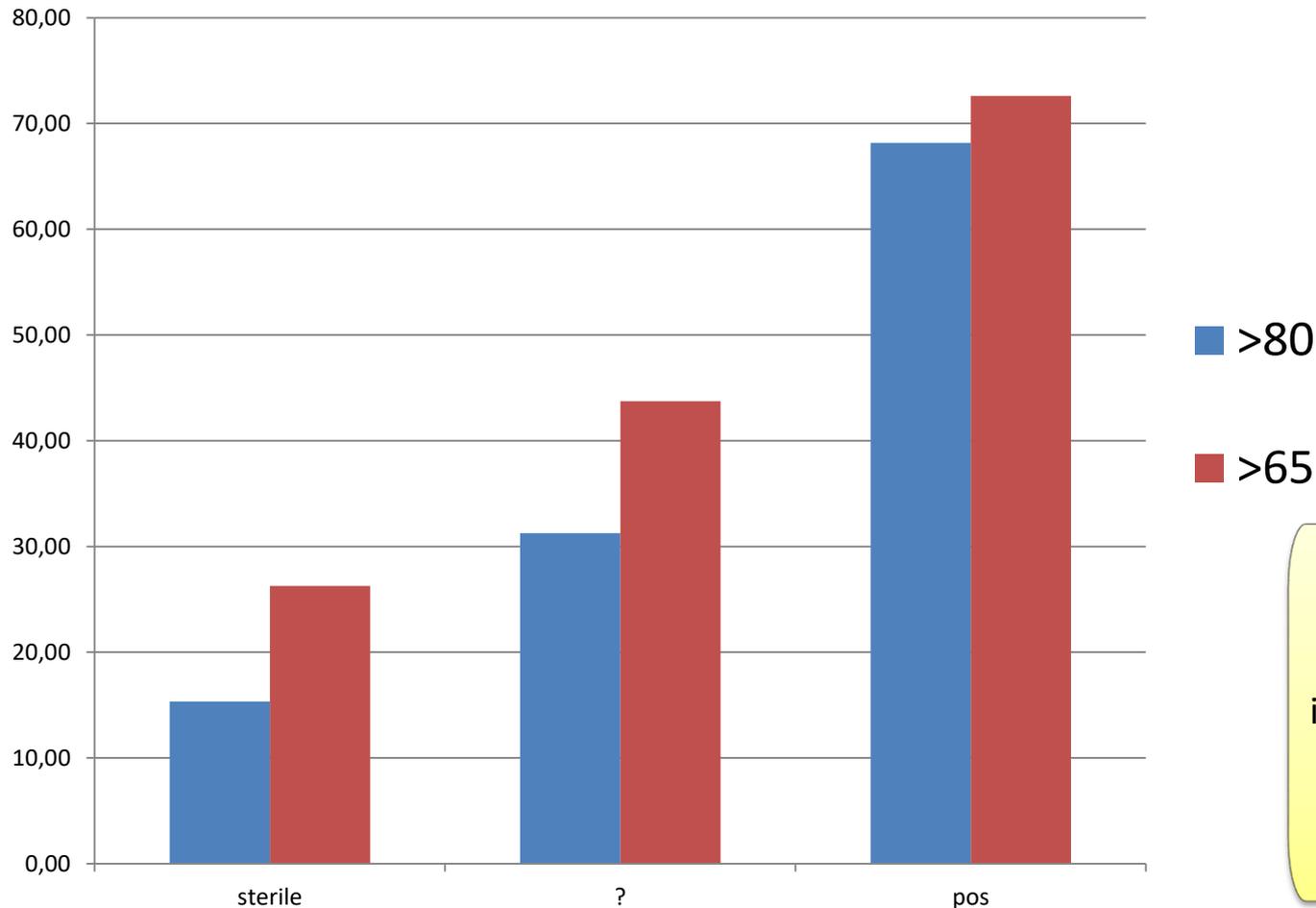
P = 0,38

➔ Seuil plus bas en présence ou si ATCD d'une prothèse

➔ Pas de différence significative selon la localisation de la prothèse

# Résultats cytologie PIRLA adulte

## Etude du pourcentage de PNN dans les 3 groupes



Présence PNN en faveur d'une infection, Résultat à corrélér avec le nombre de GB

# Intérêt des flacons d'hémocultures sanguins ?

- 95% hémocultures prélevées
- 9,7% positifs versus 70,2% pour les flacons avec du LAR
- 29 (70,7%) même germe que le LAR
- 12 (3%) avec des germes différents

| Résultat hémoculture sang   | Résultat culture LA       | Conclusion             |
|-----------------------------|---------------------------|------------------------|
| <i>S. pneumoniae</i>        | <i>S. aureus</i>          | Pneumopathie           |
| <i>S. constellatus</i>      | <i>E. cloacae complex</i> | Endocardite            |
| <i>S. aureus</i>            | Aucun germe               | Endocardite            |
| <i>P. acnes</i>             | <i>Salmonella</i>         | Contamination probable |
| <i>P. acnes</i>             | <i>E. coli</i>            | Contamination probable |
| <i>P. acnes</i>             | <i>S. aureus</i>          | Contamination probable |
| <i>S. epidermidis</i>       | <i>S. aureus</i>          | Contamination probable |
| <i>S. epidermidis</i>       | <i>S. capitis</i>         | Contamination probable |
| <i>S. epidermidis</i>       | <i>P. aeruginosa</i>      | Contamination probable |
| <i>S. epidermidis</i>       | <i>P. aeruginosa</i>      | Contamination probable |
| <i>Peptostreptococcus</i>   | <i>S. aureus</i>          | Contamination probable |
| <i>Candida parapsilosis</i> | Aucun germe               | ?                      |

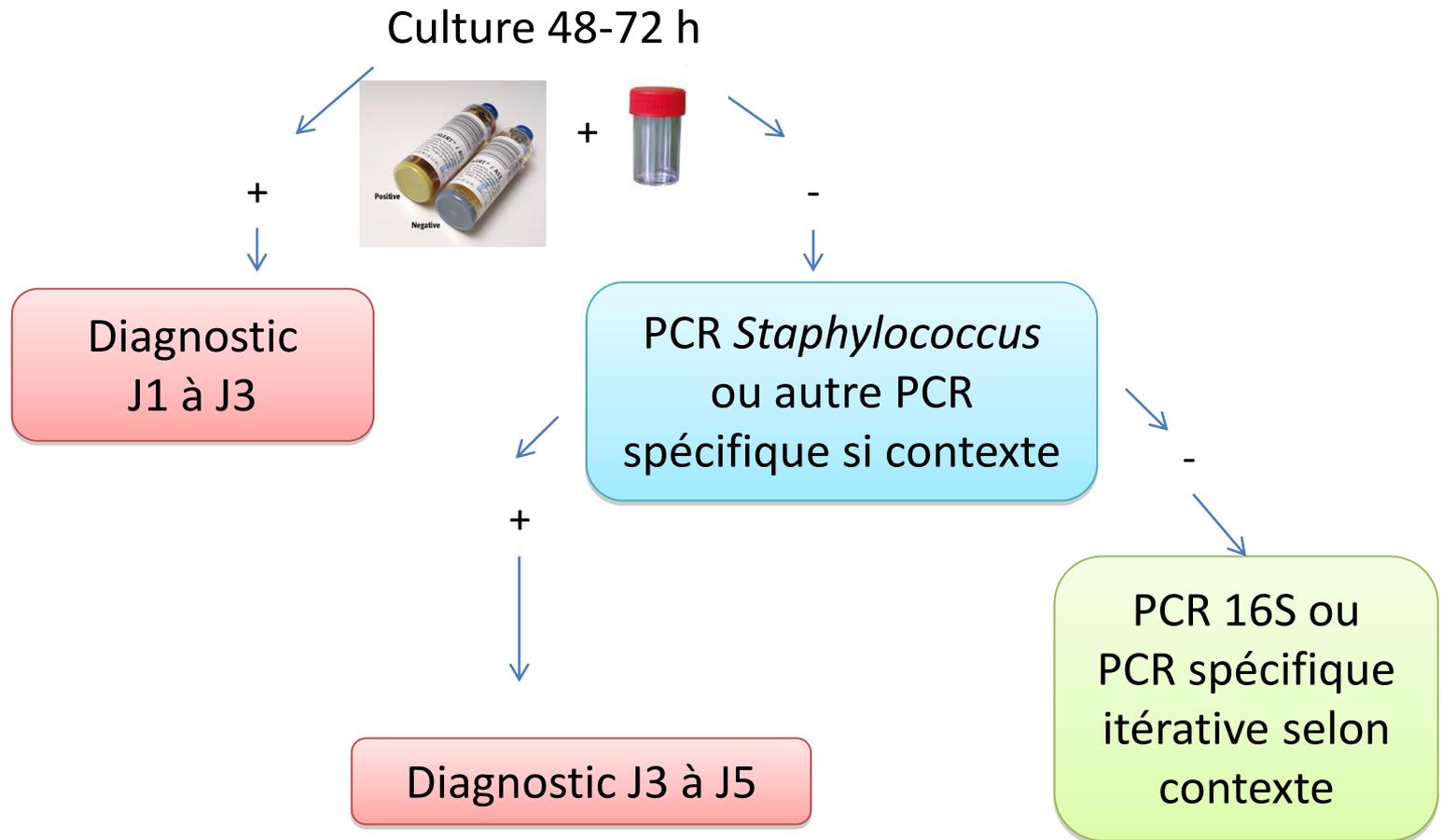
L'hémoculture (sang) se trouve toujours en défaut par rapport à la culture du LAR  
**AUCUN INTERET**

# Ensemencement du LAR en flacons d'hémoculture 2 ans après

- Pendant le protocole : 80% des LAR ensemencés sur flacons d'hémoculture parallèlement à la culture classique
- Etude 2017 :
  - Lyon : 10 à 50% selon les services
  - Saint-Etienne : 40 à 80% selon les services
- 2018 à Saint-Etienne : mise en place de kits tout prêts avec bon spécifique



# 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

