



Hospices Civils de Lyon



# PHRC PIRLA : Quels résultats ? Quelles recommandations ?

Anne Carricajo  
Céline Dupieux-Chabert

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

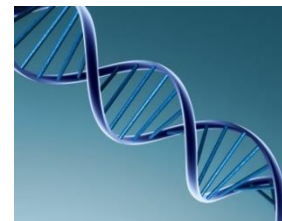
*Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes Rhône  
Alpes-Auvergne*

*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

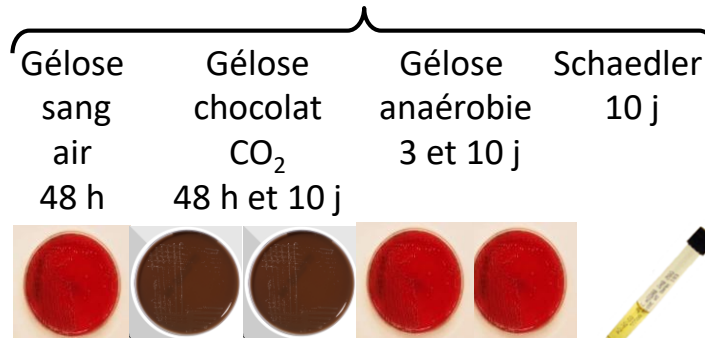


AU LABORATOIRE

Automate  
Hémocultures  
15 jours



Ensemencement

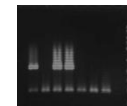


Repiquage  
systématique  
air/ana  
5 jours supp

PCR

ADNr 16S  
*Staphylococcus* spp  
*Streptococcus* spp

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

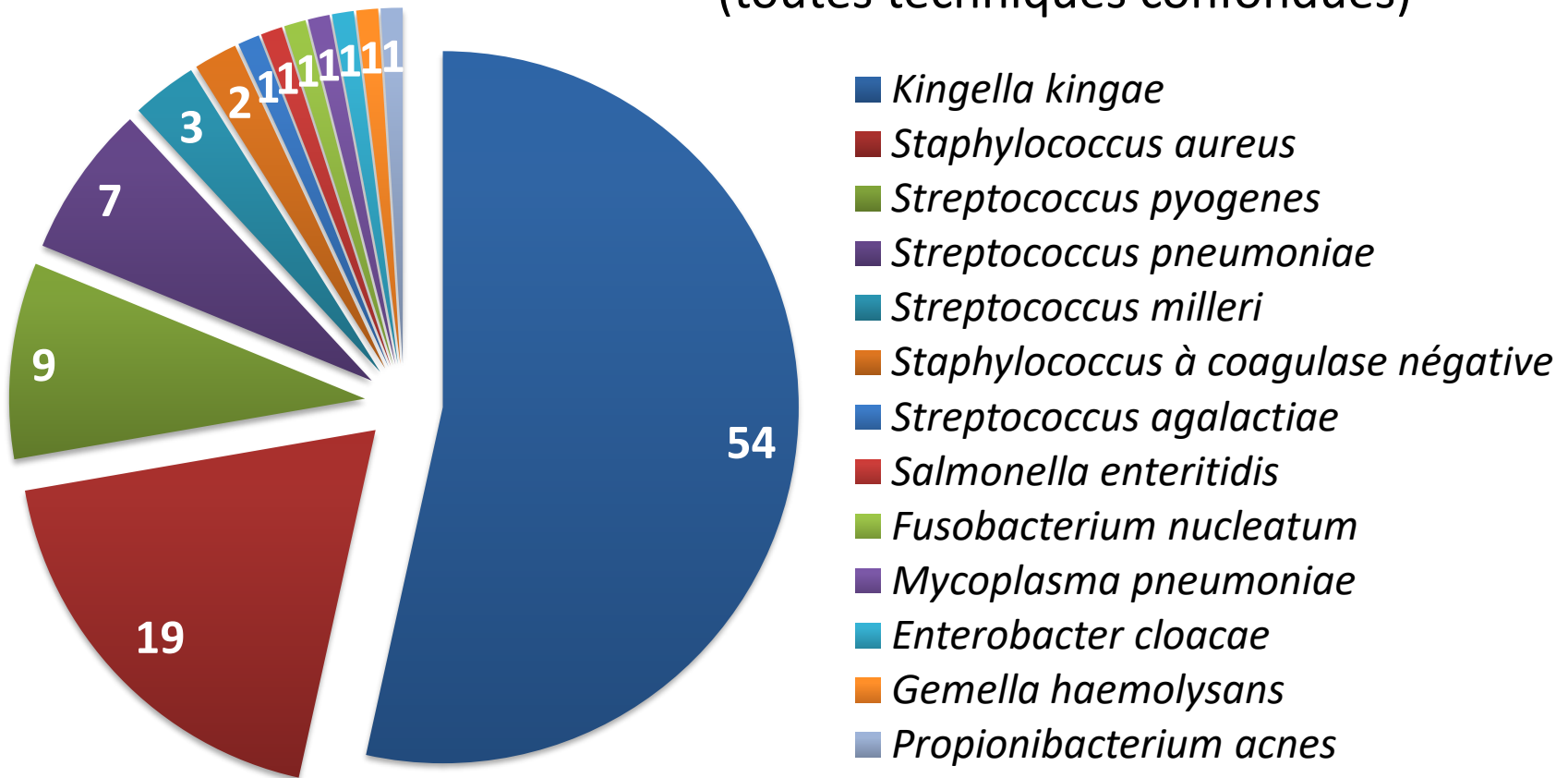


# Résultats volet pédiatrique

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 :**

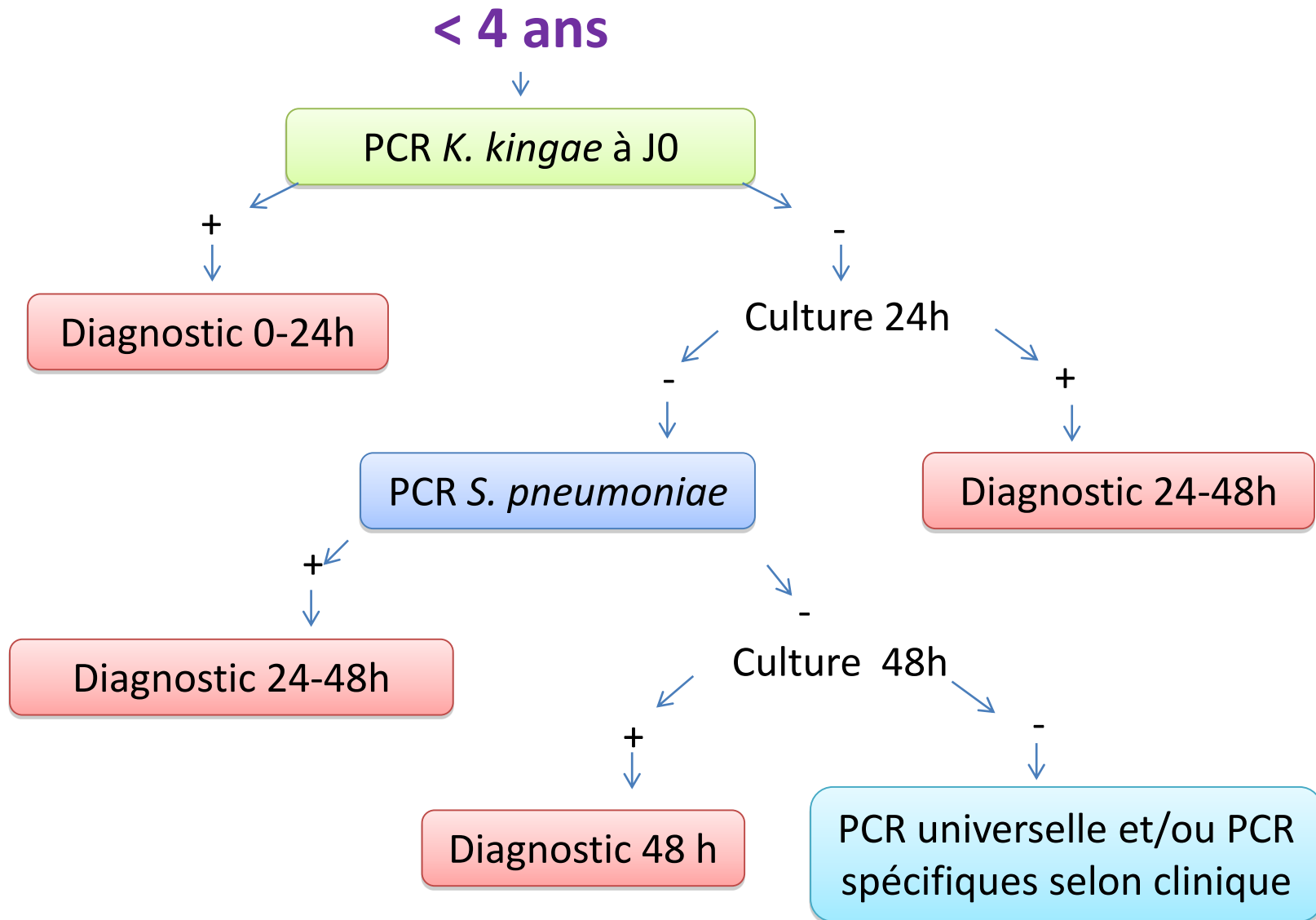
**PCR universelle < PCR spécifiques**  
(PCR *S. aureus*, *S. pneumoniae* et *K. kingae*)

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

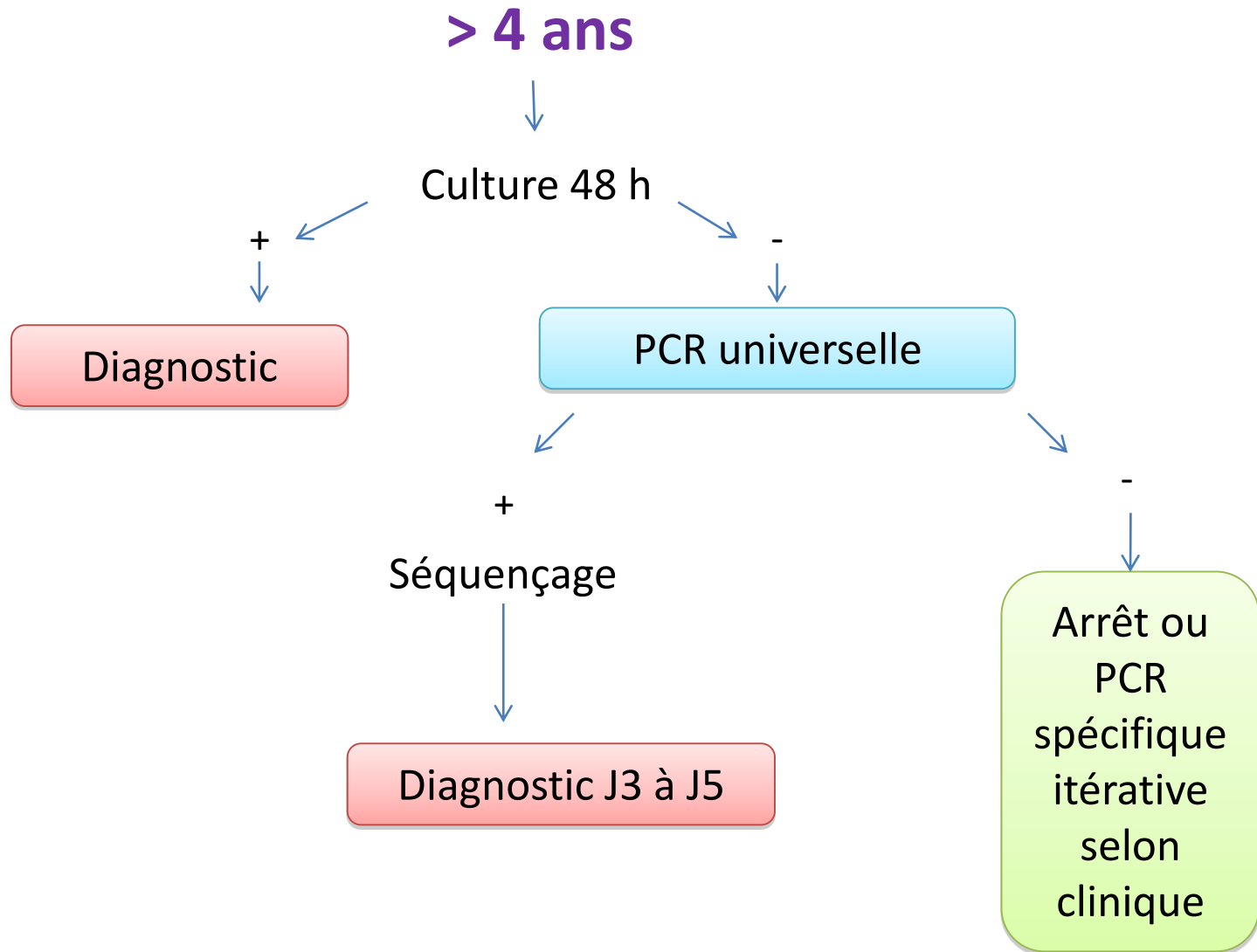
PCR *K. kingae* = 100% des diagnostics en 24h

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

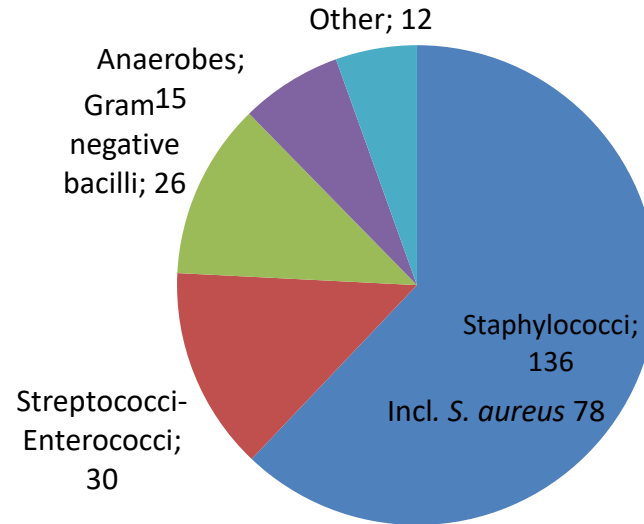
**423 LAR chez 333 patients**

65 % sur prothèse

31.7 % ATB préalables

**265 échantillons positifs (62,6%)**

## Monomicrobial (N=219)

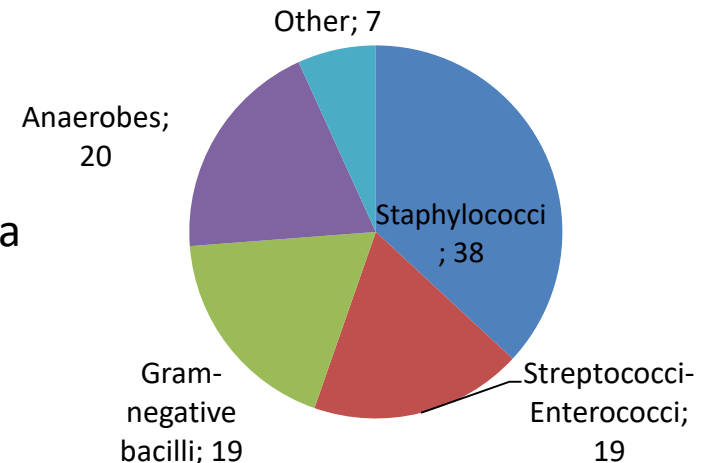


## Polymicrobial (n=46)

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

BA: blood agar; BC: blood cultures; LA: chocolate agar; SCH: Schaedler.

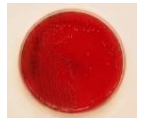
# Performances de différentes combinaisons culture/PCR

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

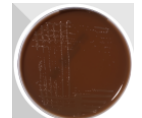
BA: blood agar; BC: blood cultures.

# Analyse séquentielle des résultats

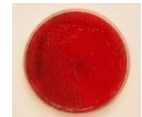
Articular fluids (N=423)



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

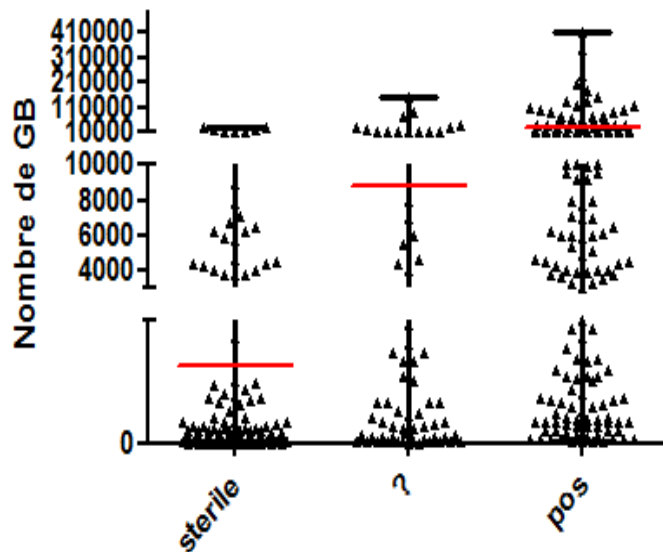
Auteurs	Date	Localisation	Valeur seuil GB Valeur seuil PNN	Sensibilité	Spécificité
Schinsky <i>et al.</i>	2008	Hanche	4200 80 %	0,84 (0,74-0,93) 0,82 (0,72-0,92)	0,93 (0,89-0,97) 0,83 (0,77-0,89)
Spanghel <i>et al.</i>	1999	Hanche	5000 80 %	0,36 (0,18-0,53) 0,89 (0,78-1,0)	0,99 (0,98-1,0) 0,52 (0,79-0,91)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

# Résultats cytologie PIRLA adulte

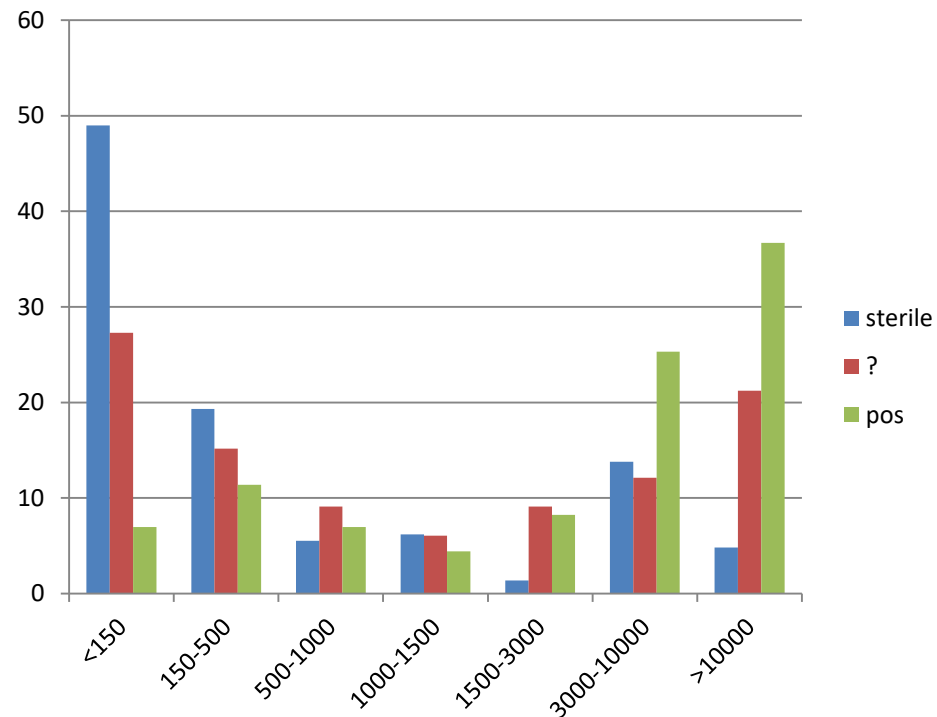
423 échantillons

- 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)



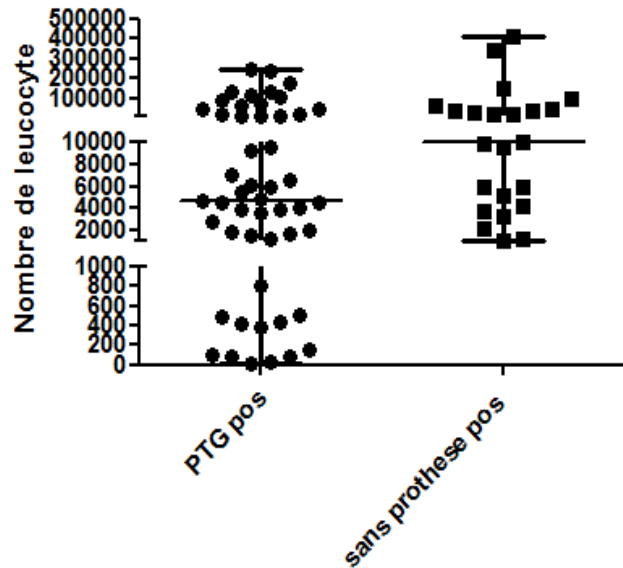
$p < 0,05$





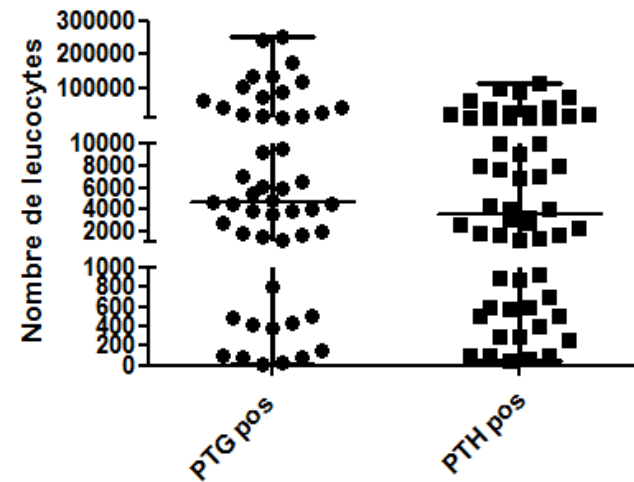
# Résultats cytologie PIRLA adulte

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



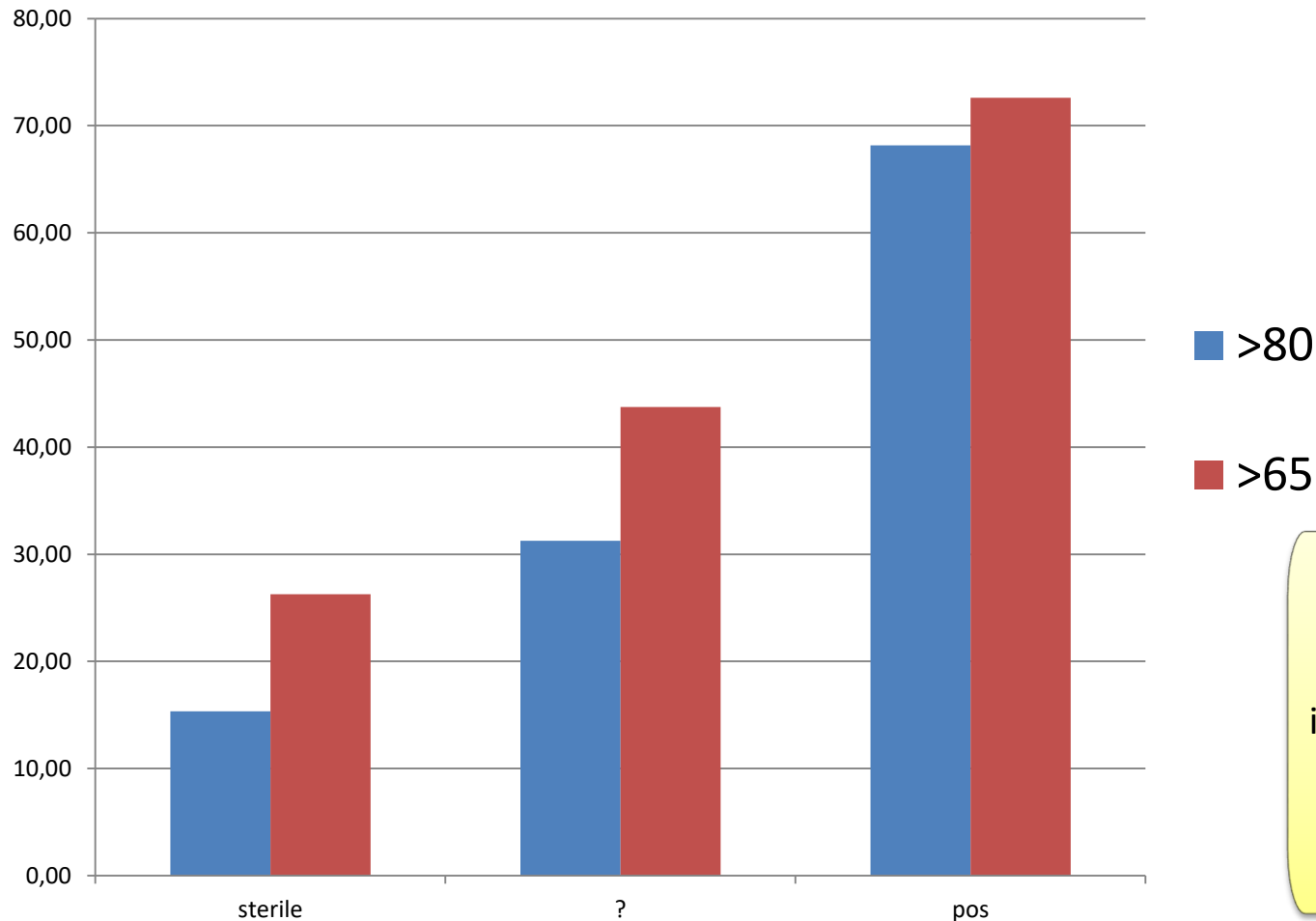
P = 0,38

➔ 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	?

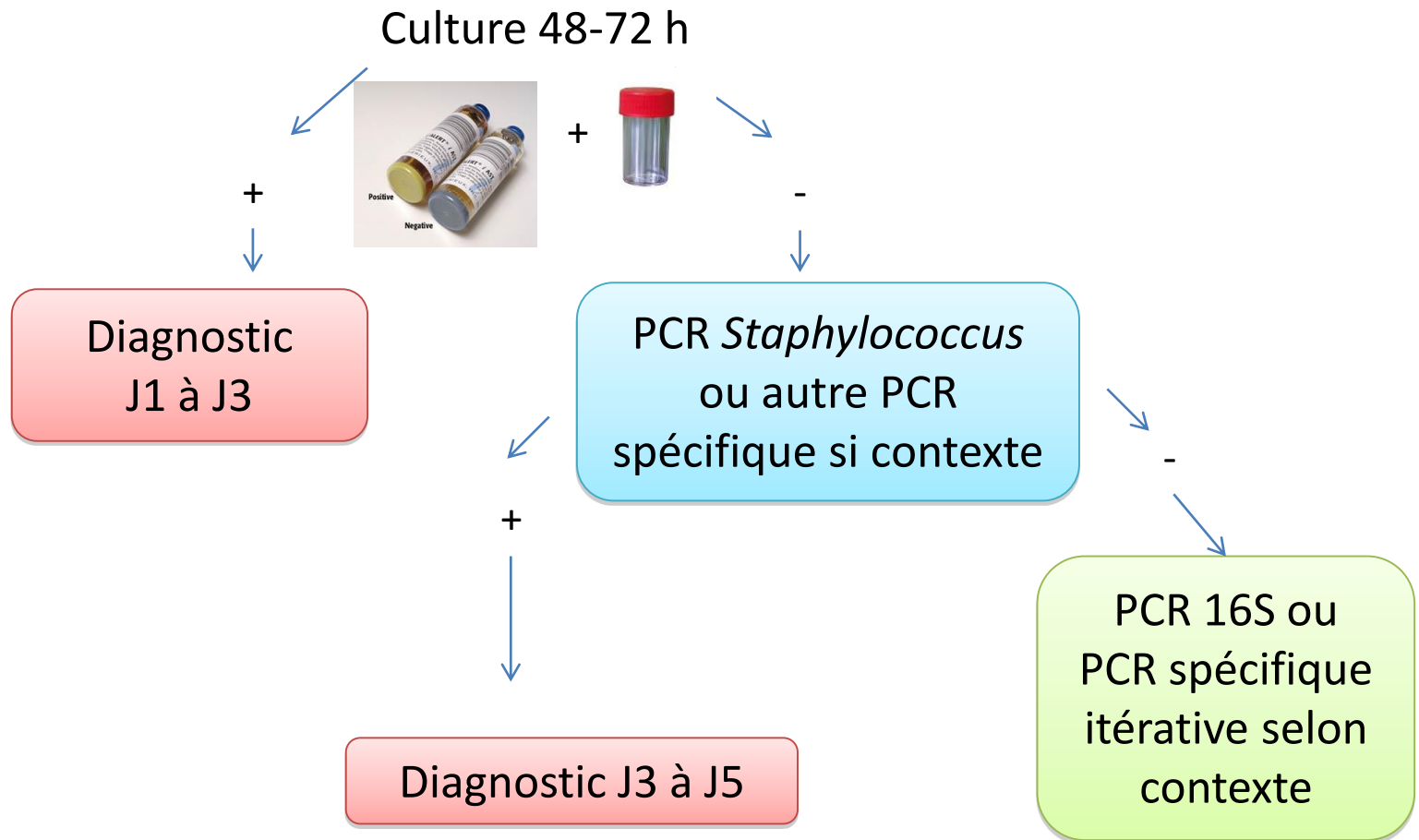
L'hémoculture (sang) se trouve toujours en défaut par rapport à la culture du LAR  
**AUCUN INTERET**

# 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**

