

Diagnostic bactériologique de l'infection ostéo-articulaire



Anne JOLIVET-GOUGEON (CHU Rennes)



Chloé PLOUZEAU-JAYLE (CHU de POITIERS)

Groupe Microbiologie du CRIOGO



Plan

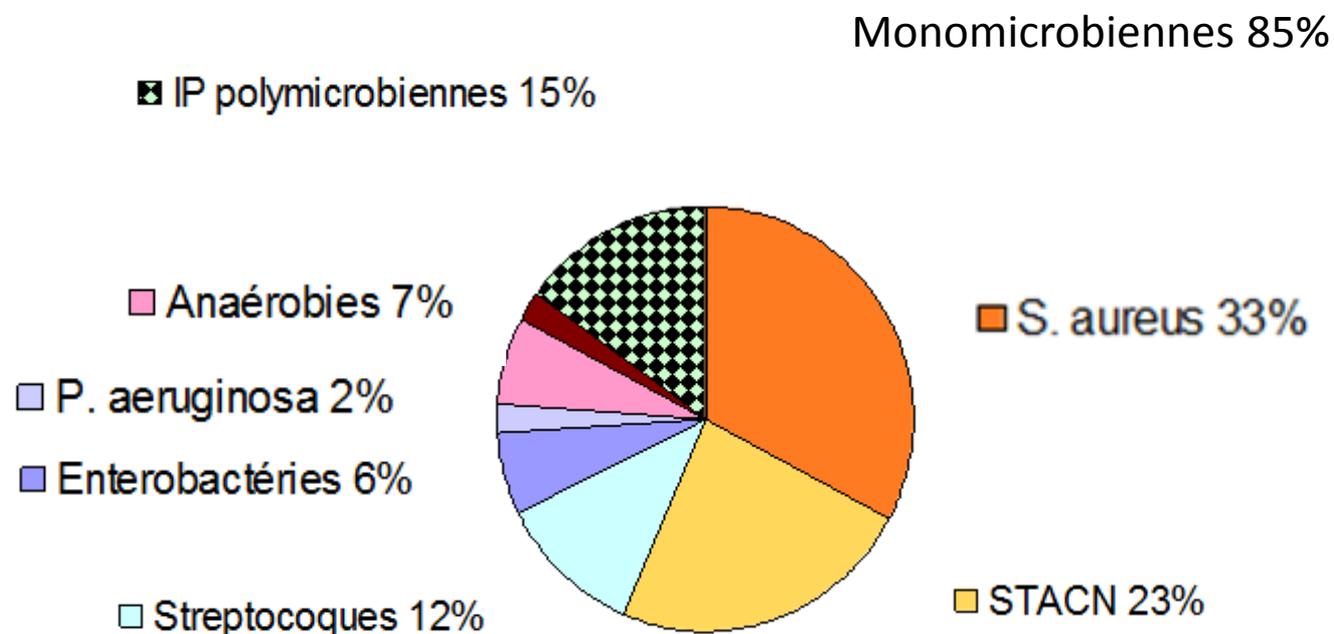
- ❑ Epidémiologie des IOA sur prothèse
- ❑ Critères Définitions Référentiels
- ❑ Quels prélèvements réaliser et combien?
- ❑ Quelles techniques pour une prise en charge optimale des prélèvements au laboratoire?

Epidémiologie

IOA sur prothèses ostéoarticulaires

PHRC MICROBIOS, Bémer et al, CRIOGO, JCM 2014

- Etude française, 89% de documentation bactériologique (broyage et culture optimisées), 192 IPOA documentées

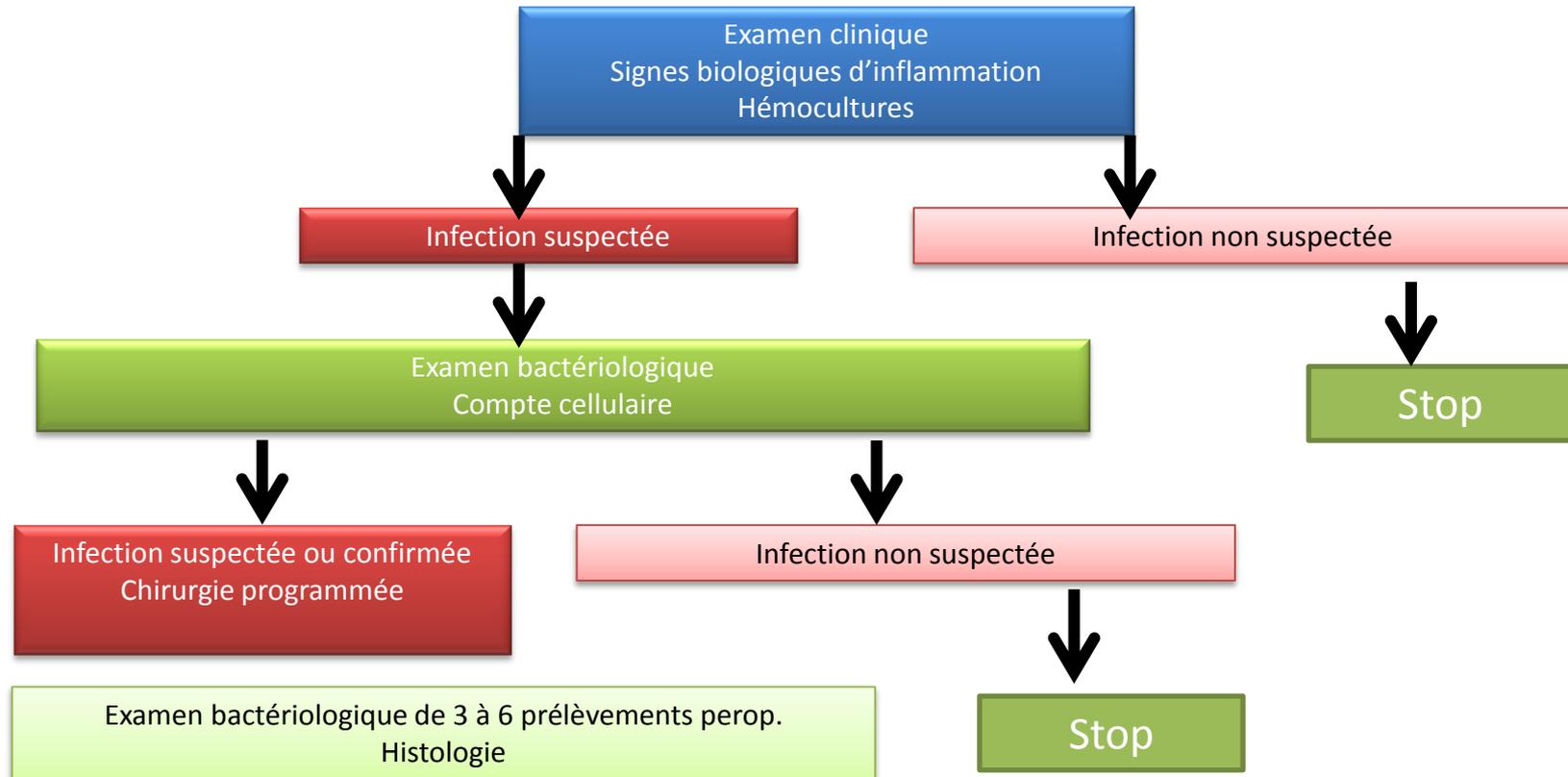


Critères Définitions Référentiels

Prise en charge des infections ostéoarticulaires = quelques référentiels :

- ❑ HAS **2014** (Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation)
- ❑ IDSA Guidelines déc **2012** jan **2013**
- ❑ Recommandations de pratique clinique *Infections ostéo-articulaires sur matériel* (prothèse, implant, ostéosynthèse) SPILF **2009**
- ❑ Conférence d'expert sur les spondylodiscites infectieuses SPILF **2007**
- ❑ RCP Prise en charge du pied diabétique infecté SPILF **2006**
- ❑ Conférence de consensus sur les infections bactériennes ostéo articulaires SPILF **1991**

Diagnosis and Management of Prosthetic Joint Infection: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA)

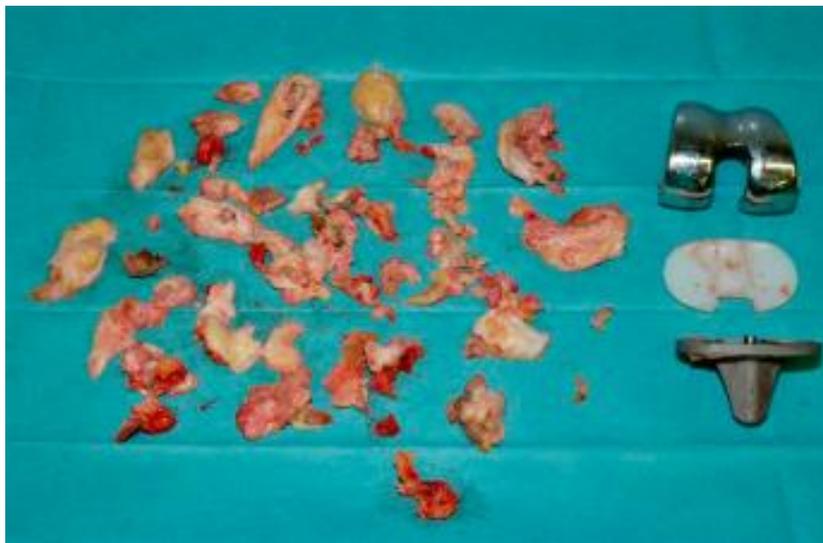


Critères de définition proposés pour l'IPOA

| | MSIS | | ICM | | IDSA | |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | Majeurs | Mineurs | Majeurs | Mineurs | Majeurs | Mineurs |
| Fistule communiquant avec la prothèse | X | | X | | X | |
| Microorganisme isolé de ≥ 2 prélèvements | X | | X | | X | |
| Pus autour de la prothèse | | X | | | X | |
| Histologie positive | | X | | X | | X |
| 1 culture positive tout germe | | X | | X | | |
| 1 culture positive germe virulent | | | | | | X |
| Augmentation des leucocytes synoviaux | | X | | X | | |
| Augmentation des PNN | | X | | X | | |
| VS et CRP élevées | | X | | X | | |

Parvizi Clin Orthop Relat Res 2011, Osmon CID 2013, Parvizi Bone and Joint J 2013; Nombre de critères mineurs : MSIS ≥ 4 , ICM ≥ 3

Quels prélèvements?



Prélèvements à proscrire

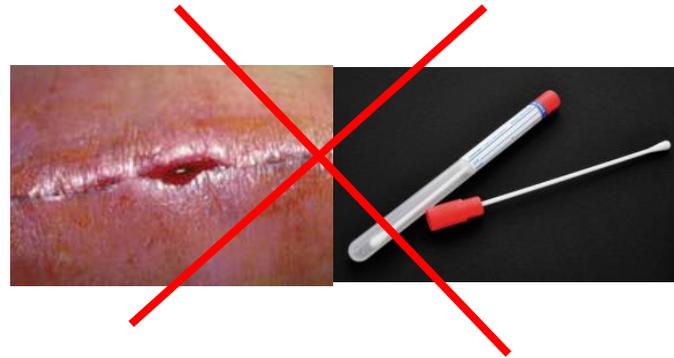
- ❑ Ecouvillonnage
 - Cicatrice désunie
 - Fistule

Mackowiak, JAMA 1978; Cune, Clin Orthop relat Res 2009; Tetreault, J Arthroplasty 2013

- ❑ Extrémité distale du redon d'aspiration

Prélèvements controversés : liquide de drainage

- ❑ Liquides de redon
- ❑ HAS 2014 : « culture du liquide de drainage utile »



Prélèvements pré-opératoires

- ❑ **Ponction articulaire** pré-opératoire : sur tube sec
 - Arrêt des ATB au moins 15 j avant la ponction
 - Ponction radioguidée possible (hanche)
 - Possibilité de ponction-biopsie
 - Diagnostic de l'IP précoce <1mois : ponction recommandée en l'absence de signes cliniques locaux évidents (*HAS 2014*)
 - Utile au choix de la technique chirurgicale :
(Ex : 2 temps si bactéries multiR OU absence de documentation)

Prélèvements opératoires

- ❑ Hémocultures : mode de survenue aigu
- ❑ Tube citraté ou hépariné pour cytologie

- ❑ En période de garde:

Ensemencement d'un flacon d'hémoculture possible à partir de la ponction articulaire (ex : arthrite aiguë)

Prélèvements opératoires

- La préparation du champ opératoire doit respecter les quatre temps de l'antisepsie cutanée
- Les règles de tenue vestimentaire sont maintenant bien codifiées et doivent être respectées de façon scrupuleuse

Prélèvements opératoires

Les règles de comportement du personnel font appel au bon sens et visent à **limiter la circulation de l'air** :

- limiter le nombre de personnes en salle d'opération
- limiter les déplacements
- limiter les gestes
- pratiquer une désinfection fréquente des mains, détecter les fautes d'asepsie
- changer régulièrement de gants
- changer d'instrument entre chaque prélèvement...**



Prélèvements opératoires

- ❑ Arrêt des antibiotiques au moins 15j avant

- ❑ Prélèvements **multiples** :

Très peu de bactéries dans les infections chroniques

Implication fréquente des bactéries cutanées: SCN, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*...

Plusieurs prélèvements positifs avec la même espèce bactérienne
→ implication dans l'infection

- ❑ **Liquides** articulaires, **tissus** au contact de la prothèse, **os** ...

- ❑ Envoyés le plus rapidement possible au laboratoire (< 2h)

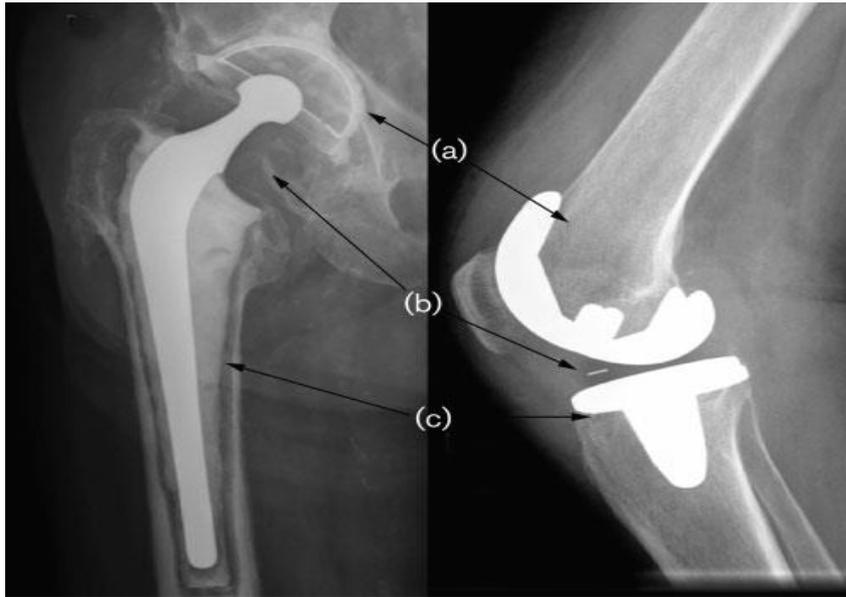
- ❑ Envoi d'un prélèvement pour l'**anatomo-pathologie**

Quantification précise du nombre de Polynucléaires Neutrophiles
Orientation vers Mycobactéries, champignons...

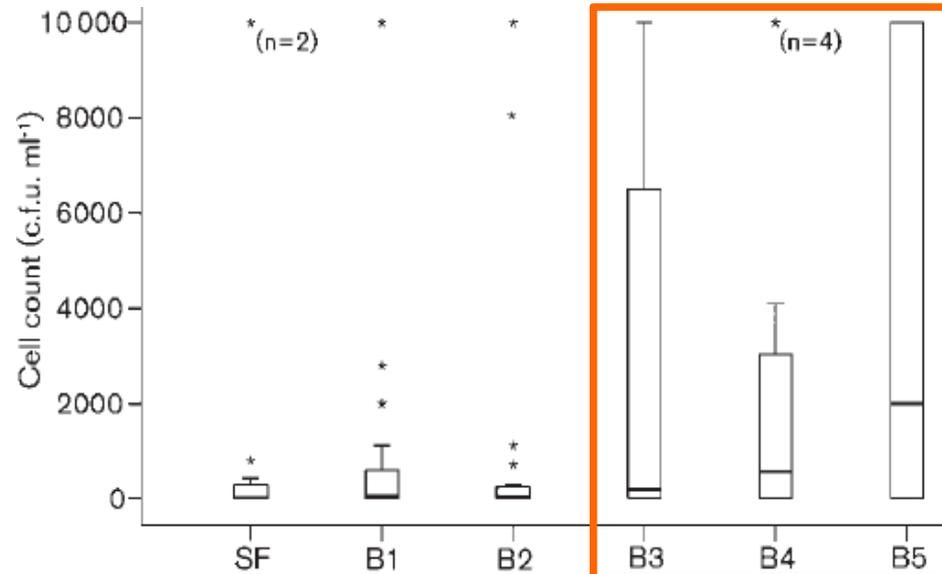


Quel type de prélèvement privilégié ?

G Bjerkan et al, *Journal of Medical Microbiology* 2012



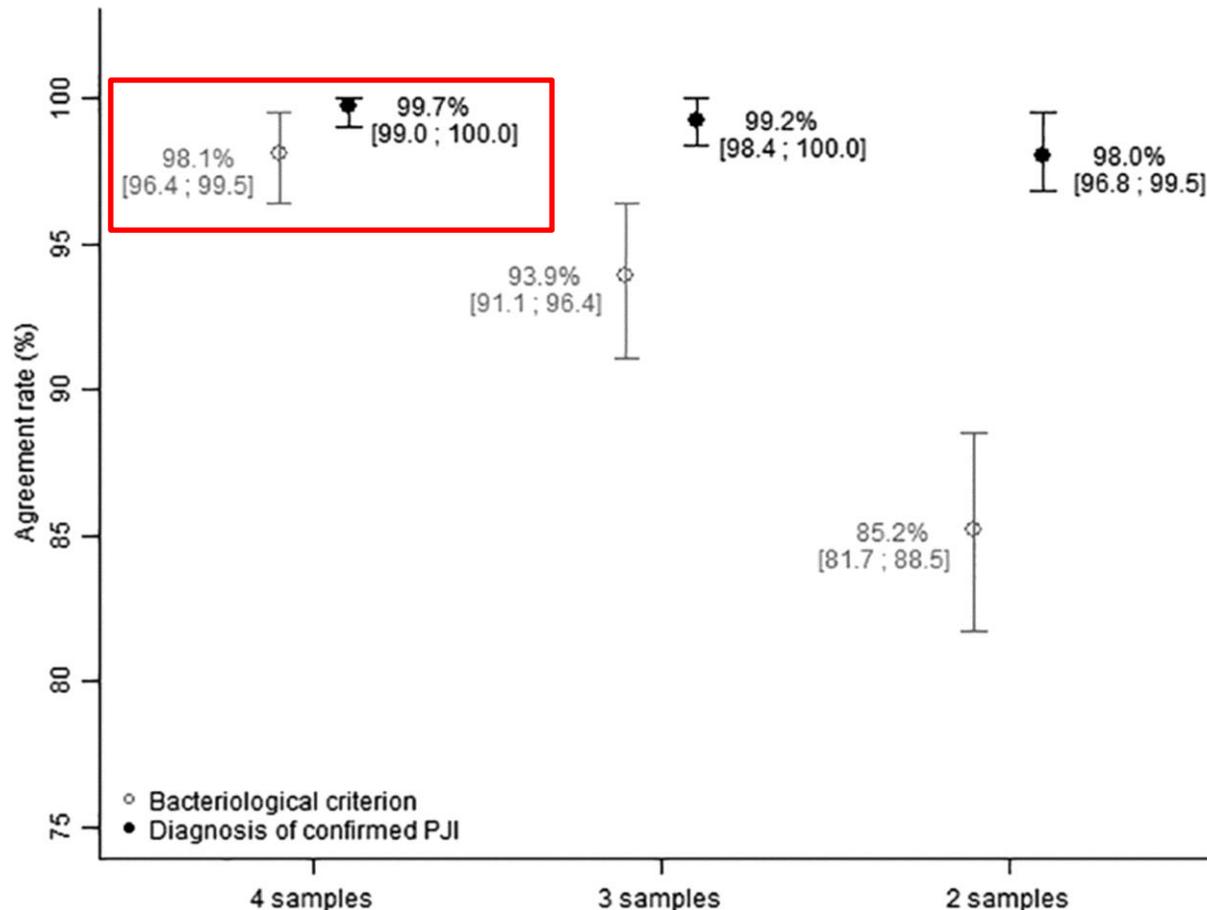
- Etude prospective monocentrique
- 54 patients repris pour IP
 - 5 Prélèvements standardisés
 - 1 Liquide articulaire, 1 capsule
 - 3 Tissus d'interface



- Analyse de 18 IP confirmées
 - En faveur des **tissus d'interface** :
 - Nombre de prélèvements positifs en culture
 - Charge bactérienne plus élevée

| | SPILF | MSI | IDSA | ICM |
|---|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| | 2009 | 2011 | 2012 | 2013 |
| Nombre de prélèvements | 5 | 3-5 | 3-6 | 3-6 |
| Nature des prélèvements | Péri-prothétiques | | | |
| Arrêt des antibiotiques | ≥ 15 jours | | | |
| Changement d'instruments | Après chaque prélèvement | | | |
| Prélèvement à visée histologique | ≥ 5 PNN/champ/5 champs | | | |

Mean percentage of agreement and 95% confidence interval (97.5th and 2.5th percentiles) obtained from 1,000 data sets generated according to the number of samples obtained from the simulation analysis.



Pascale Bémer et al. J. Clin. Microbiol. 2016;54:385-391

Journal of Clinical Microbiology

Prise en charge optimale des prélèvements au laboratoire

Identifier les prélèvements

Sur le prélèvement :

- Nom/ Prénom /DDN du patient
- Nom du service prescripteur
- La localisation du site et nature de chaque prélèvement

Sur le bon de prescription :

1 bon de prescription par prélèvement

- Nom/ Prénom /DDN du patient,
- Nom du service prescripteur
- Nom et fonction du préleveur/prescripteur
- la date et l'heure du prélèvement
- La localisation du site et nature de chaque prélèvement doivent être renseignées.
- Les informations cliniques :
 - antibiothérapie?
 - antécédents?

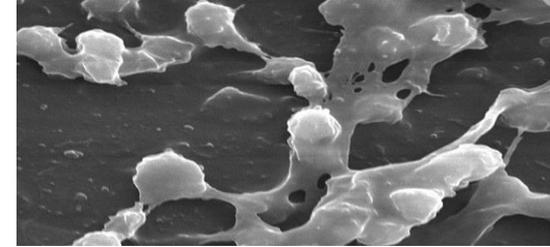
Sinon :

Prélèvement *non conforme*

Prélèvements : recherches particulières

- Certaines recherches (**Mycobactéries, Chlamydia...etc**) ne seront réalisées que sur **prescription médicale ciblée**.
Pour la recherche de Mycobactéries, les prélèvements pourront être conservés à 4°C.
- Pour enfants < 5 ans,
Recherche systématique de **Kingella kingae** sur liquide articulaire par PCR (hors période de garde).

Pré-traitement des échantillons



Organisation des bactéries en **biofilm** sur le matériel
et

Bactéries quiescentes dans des séquestres osseux

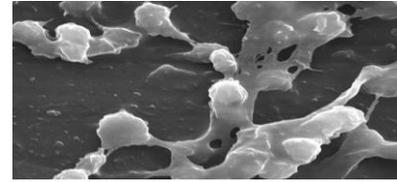
- ❑ **Les prélèvements doivent être broyés** avant d'êtreensemencés
- ❑ **Les implants peuvent être soniqués**

Pré-traitement des échantillons

Broyage

Techniques manuelles:
longues, fastidieuses, risque de contamination +++

Disperseur ou Broyeur à billes



*Roux CMI 2010
Bemer JCM 2014*



Intérêt du Broyage des prélèvements

- Libérer les bactéries de la matrice osseuse ou du biofilm :
Augmente la sensibilité de la culture
- Environ 10 ml de liquide
Milieux de culture liquides et solides
Garder du prélèvement congelé pour des analyses complémentaires (Biologie moléculaire)

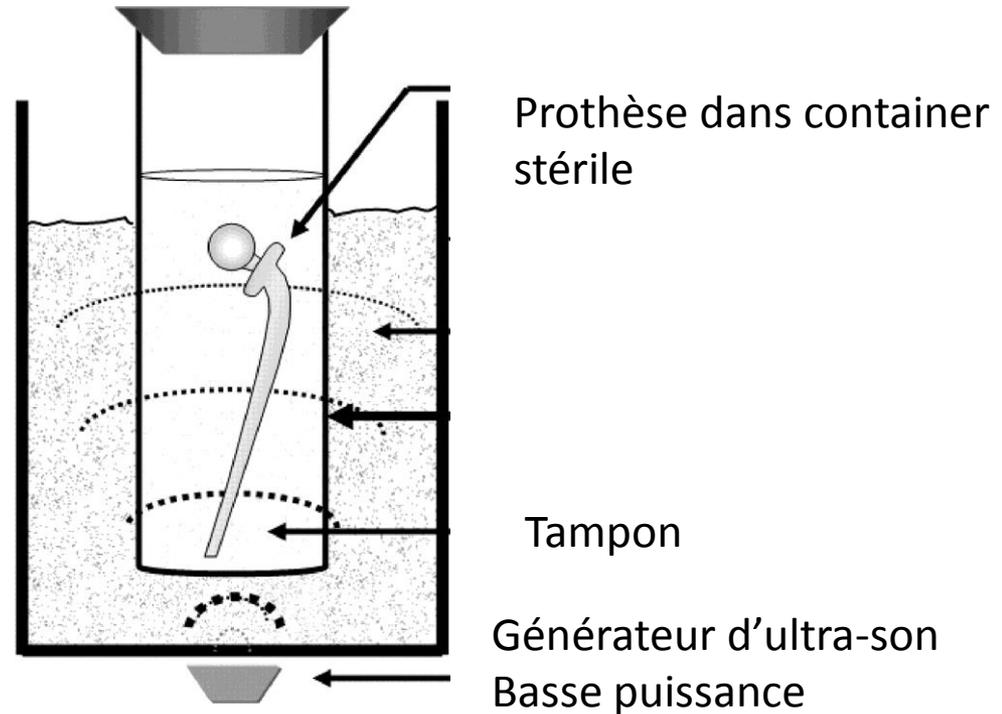
Ensemencement de flacons d'hémocultures à partir du broyat (enrichissement liquide)

- 2 à 3 ml *versus* 50 µl sur les géloses: sensibilité ↑
- rapidité de la détection
- possibilité : ID/ABG à partir des flacons positifs



Sonication de l'implant

Trampuz NEJM 2007



Tor Monsen et al. J. Clin. Microbiol. 2009;47:2496-2501

Décroche ⁺⁺⁺ le biofilm sans altérer la viabilité bactérienne

Mise en culture du liquide de sonication

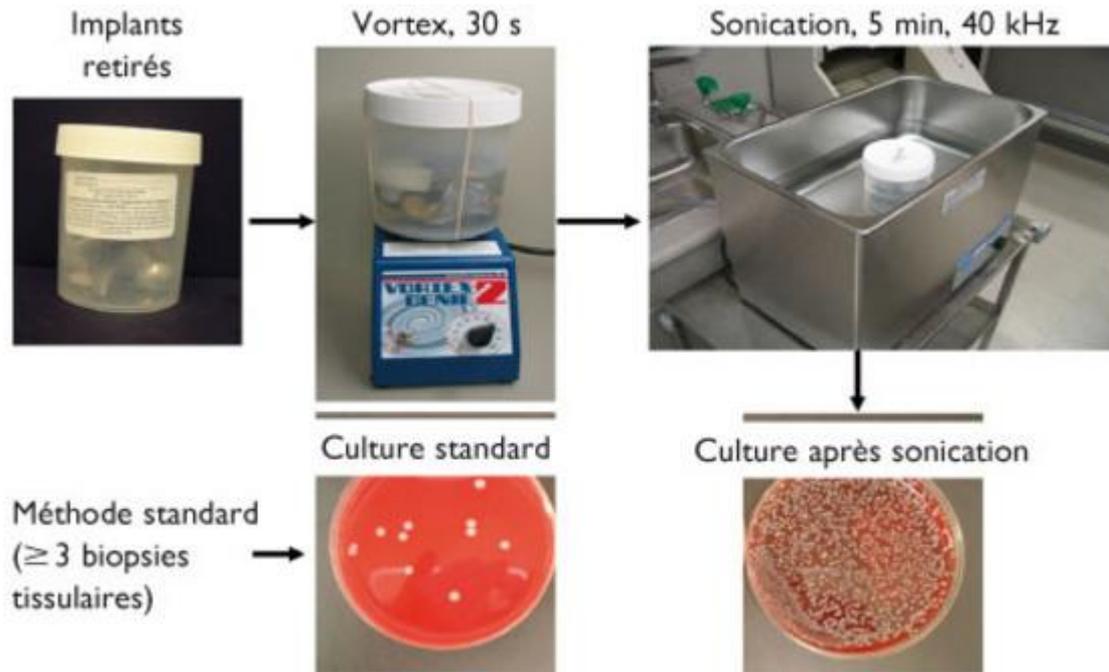
Bons résultats (Sensibilité = 80%)

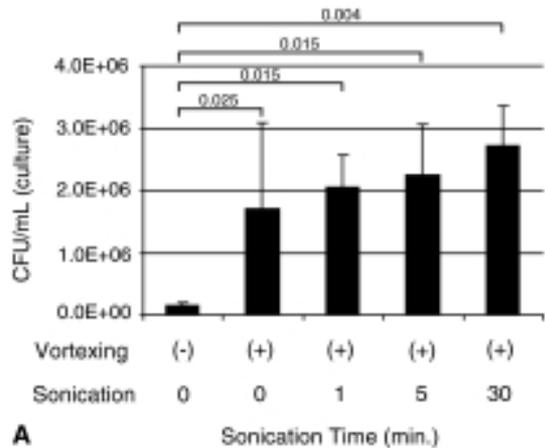
mais

Pas d'étude comparative par rapport au broyage

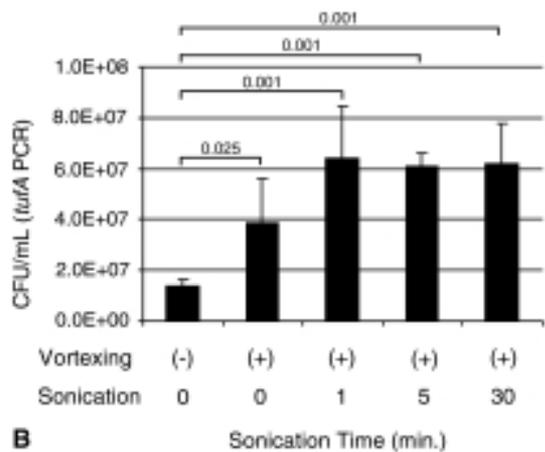
Difficile à mettre œuvre (contenants adaptés, contamination?...)

Sonication

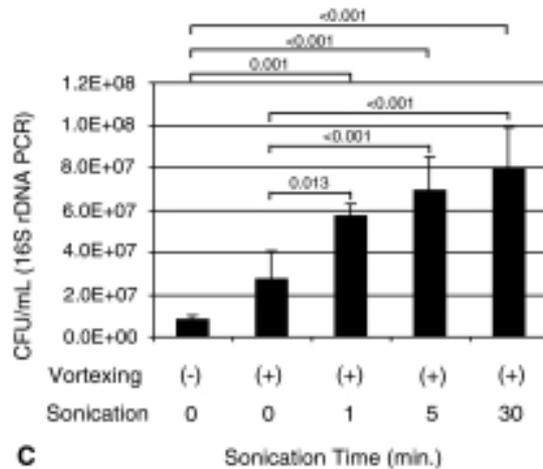




A



B



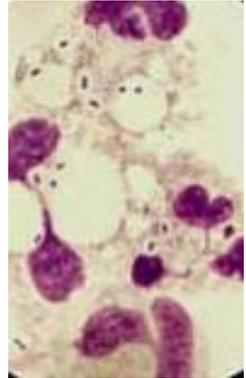
C

Staphylocoques en **biofilm** polymethylmethacrylate coupons

- cultures
- tufA* qPCR results
- 16S rDNA qPCR results

Hideo Kobayashi et al. (2009). Improved Detection of Biofilm-formative Bacteria by **Vortexing and Sonication** A Pilot Study Clin Orthop Relat Res (2009) 467:1360–1364

Liquides articulaires et prélèvements osseux:



Coloration de Gram

➤ à partir d'une pastille de cytocentrifugation
(dès que cela est possible)

OU

➤ directement sur frottis (si prélèvement visqueux).

La **sensibilité** de l'examen bactériologique direct est faible (< 30%), alors que la **spécificité** est proche de **100 %**.

- Aspect bactérien monomorphe ou polymorphe
- Appréciation semi-quantitative de la présence de polynucléaires (altérés?)

Examen cytologique

❑ Cytologie : pour les liquides articulaires

- Quantification des leucocytes , recherche de microcristaux
- Formule leucocytaire
 - Arthrite septique >10 000 leucocytes/mm³, 90% PNN
 - Infection prothèse >**1 700 leucocytes ; >65% PNN**

(Trampuz, *Am J Med* 2004)

❑ Cytologie des prélèvements tissulaires

- Pas de quantification des PNN en Bactériologie : absence, qqs, nbreux
- Anapath uniquement (**>5 leuco/champ**)

En résumé...

- Arrêt des antibiotiques au moins 14j avant (si possible)
- Prélèvements profonds multiples (3 à 5) avec du matériel différent pour chaque
- Prise en charge au laboratoire et par du personnel formé (habilitation)
- Examen direct sensibilité faible
- Intérêt +++ du broyage et de l'incubation prolongée des milieux
- Intérêt des broyat en flacon d'hémoculture