

GUIDE DES BONNES PRATIQUES DU CRIOGO

Chapitre 2 Microbiologie

Argumentaire complet



CENTRES DE RÉFÉRENCE
POUR LES INFECTIONS OSTÉO-ARTICULAIRES COMPLEXES
DU GRAND OUEST

CRIOGO

MICROBIOLOGIE

INTRODUCTION MÉTHODE DE TRAVAIL

En 2019, les membres du groupe de Microbiologie du CRIOGO ont souhaité harmoniser et standardiser leurs pratiques pour la prise en charge des prélèvements préopératoires et péri-opératoires en cas d'infections sur prothèse ostéo-articulaire (IPOA). Outre les aspects diagnostic microbiologique, quatre autres thématiques ont été abordés : prévention du risque infectieux, stratégies chirurgicales, antibiothérapie probabiliste et antibiothérapie adaptée ainsi que le suivi d'une IPOA.

Le groupe « Diagnostic Microbiologique » a été constitué par l'ensemble des bactériologistes des centres hospitaliers du CRIOGO (Rennes, Brest, Angers, Poitiers, Tours et Nantes) impliqués depuis 2008 dans le diagnostic au quotidien. Une dizaine de microbiologistes des six centres s'est chargée de rédiger des questions fermées à partir des données de la littérature sur les thèmes suivants : ponction préopératoire (intérêt, impact sur la prise en charge, condition de réalisation), cytologie du liquide articulaire, biopsie et analyse anapathologique, optimisation des prélèvements (comment, combien, avec quoi, nombre, broyage, sonication, etc...), milieux à privilégier, durée d'incubation, nombre d'antibiogrammes à réaliser, techniques complémentaires moléculaires.

Au final, vingt-huit questions fermées ont été formulées et soumises à une cotation par la méthode Delphi en Juin 2021 auprès de 10 autres bactériologistes. Ces derniers ont voté avec une note allant de 0 (pas du tout d'accord) à 10 (complètement d'accord). Un seul tour de cotation a été réalisé auprès des experts.

Les recommandations relatives au diagnostic des IPOA au sein du CRIOGO sont présentées dans le chapitre suivant. L'argumentaire scientifique a été rédigé à partir des données de la littérature disponible au moment de la rédaction des recommandations (jusqu'en Août 2022).

GROUPE DE TRAVAIL

Pascale BEMER (CHU Nantes), Stéphane CORVEC (CHU Nantes), Carole LEMARIE (CHU Angers), Chloé PLOUZEAU-JAYLE (CHU Poitiers), Didier TANDE (CHU Brest), Marie-Frédérique LARTIGUE (CHU Tours), Vincent CATTOIR (CHU Rennes).

RELECTEURS

Rachel CHENOUEARD (CHU Angers), Cécile LEBRUN (CHU Tours), Philippe LANOTTE (CHU Tours), Claudie LAMOUREUX (CHU Brest), Christophe COUDURIE (Laboratoire Biolance Nantes), Anne-Gaëlle LEROY (CHU Saint Pierre La Réunion), Olivier LEMENAND (CH Saint-Nazaire), Caroline PIAU (CHU Rennes), Eve HAGUENOER (Laboratoire Biogroup Chambray Les Tours), Jérémy VIOLETTE (CH Saintes).

OBJECTIFS

Établir une prise en charge harmonisée des infections sur matériel prothétique au sein du CRIOGO au travers d'une trentaine de questions relatives au diagnostic microbiologique de la culture à la biologie moléculaire.

TABLE DES MATIÈRES

RECOMMANDATIONS.....	5
• B1. EN CAS DE SUSPICION D'INFECTION DE PROTHESE, UNE PONCTION ARTICULAIRE EST RECOMMANDEE.....	5
• B2. EN CAS DE SEPSIS AVERE SUR PROTHESE, LA PONCTION ARTICULAIRE NE DOIT PAS RETARDER LA PRISE EN CHARGE MEDICO-CHIRURGICALE.	5
• B3 (ANCIENNEMENT B4). LA PONCTION PREOPERATOIRE DOIT ETRE REALISEE DANS DES CONDITIONS STRICTES D'ASEPSIE CHIRURGICALE (ENVIRONNEMENT MAITRISE EN BLOC OPERATOIRE OU SALLE DE RADIOLOGIE INTERVENTIONNELLE).	5
• B4 (ANCIENNEMENT B5). UNE PONCTION UNIQUE DOIT ETRE REPARTIE ENTRE UN SEUL FLACON D'HEMOCULTURE ANAEROBIE ET UN POT STERILE.	6
• B5 (ANCIENNEMENT B6). LA CYTOLOGIE DU LIQUIDE ARTICULAIRE EST UTILE AU DIAGNOSTIC D'INFECTION DE PROTHESE.	6
• B6 (ANCIENNEMENT B7). EN COMPLEMENT DE LA PONCTION DE LIQUIDE ARTICULAIRE, UNE (DES) BIOPSIE(S) PERCUTANEE(S) (OU TRU-CUT) EST (SONT) RECOMMANDEE(S).	7
• B7 (ANCIENNEMENT B8). UN PRELEVEMENT A VISEE ANATOMOPATHOLOGIQUE PEUT ETRE ASSOCIE A LA PONCTION PRE-OPERATOIRE.	7
• B8 (ANCIENNEMENT B9). LES ECOUVILLONS ET PRELEVEMENTS SOUS-CUTANES SONT A PROSCRIRE DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC D'INFECTION DE PROTHESE.	7
• B9 (ANCIENNEMENT B3). LES CULTURES DE PRELEVEMENTS PER-OPERATOIRES NE SONT PAS IMPACTEES PAR L'ADMINISTRATION D'UNE ANTIBIOPROPHYLAXIE.	7
• B10 EN PER-OPERATOIRE, IL EST RECOMMANDE D'EFFECTUER 4 PRELEVEMENTS A VISEE MICROBIOLOGIQUE.....	8
• B11 LES PRELEVEMENTS A PRIVILEGIER SONT CEUX AU CONTACT DU MATERIEL AINSI QUE LE LIQUIDE ARTICULAIRE.	8
• B12 EN CAS DE SUSPICION D'INFECTION DE PROTHESE CHRONIQUE, IL EST RECOMMANDE D'EFFECTUER UN PRELEVEMENT A VISEE ANATOMOPATHOLOGIQUE.	9
• B13 LE PRELEVEMENT A VISEE ANATOMOPATHOLOGIQUE DOIT ETRE EFFECTUE SUR LA MEMBRANE D'INTERFACE PERIPROTHETIQUE.	9
• B14 LE BROYAGE AUTOMATISE DES PRELEVEMENTS EST FORTEMENT RECOMMANDE.	9
• B15 LA SONICATION DU MATERIEL N'EST PAS RECOMMANDEE.	9
• B16 LA RECHERCHE DE BACTERIES A L'EXAMEN DIRECT PAR LA COLORATION DE GRAM N'EST PAS UTILE.	10
• B17 POUR LA MISE EN CULTURE DES PRELEVEMENTS, LES MILIEUX A PRIVILEGIER AU MINIMUM SONT: UNE GELOSE CHOCOLAT, UN MILIEU ANAEROBIE (LIQUIDE OU SOLIDE), AINSI QU'UN FLACON D'HEMOCULTURE ANAEROBIE.	10
• B18 L'ENSEMENCEMENT DES PRELEVEMENTS PEROPERATOIRES DANS UN FLACON D'HEMOCULTURE PERMET D'AMELIORER LE DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE.	10
• B19 LE DELAI D'INCUBATION DES CULTURES SUR MILIEU SOLIDE EST DE 7 JOURS.	11
• B20 LE DELAI D'INCUBATION DES CULTURES SUR MILIEU LIQUIDE EST DE 10 JOURS.	11
• B21 L'IDENTIFICATION PAR MALDI-TOF ET L'ANTIBIOGRAMME DOIVENT ETRE REALISES SUR LES DIFFERENTS MORPHOTYPES DE COLONIES.	11
• B22 UN SEUL ANTIBIOGRAMME EST REALISE POUR LES MICRO-ORGANISMES PATHOGENES STRICTS.	11
• B23 AU MOINS DEUX ANTIBIOGRAMMES SONT REALISES POUR LES MICRO-ORGANISMES DE LA FLORE CUTANEE.	12
• B24 LA CULTURE DES LIQUIDES DE REDON N'EST PAS RECOMMANDEE.	12
• B25 LA BIOLOGIE MOLECULAIRE DOIT ETRE UTILISEE EN CAS DE FORTE SUSPICION D'IPOA LORSQUE LES RESULTATS DES CULTURES SONT NEGATIFS.	12
• B26 LES TECHNIQUES MOLECULAIRES COMPRENNENT LES PCR SPECIFIQUES A LA RECHERCHE DE GERMES PRECIS (S. AUREUS...) ET LA PCR-SEQUENÇAGE DE L'ARN16S.	12
• B27 LES PRELEVEMENTS DOIVENT ETRE CONSERVES JUSQU'A 3 MOIS APRES LE RENDU DES RESULTATS.	13
• B28 LES SOUCHES BACTERIENNES DOIVENT ETRE CONSERVEES JUSQU'A 3 ANS APRES LE RENDU DES RESULTATS.	13
REFERENCES	14

RECOMMANDATIONS

Dans le cadre de la prise en charge d'une suspicion d'infection de prothèse

- **B1. En cas de suspicion d'infection de prothèse, une ponction articulaire est recommandée.**

Cotation médiane 10

« En cas d'épanchement intra-articulaire ou d'abcès au contact du matériel ostéo-articulaire, il est recommandé d'effectuer une ponction, éventuellement radioguidée (en respectant les conditions d'asepsie chirurgicale) » (SPILF 2009 [1]). La ponction préopératoire est recommandée pour le diagnostic d'une infection sur prothèse ostéo-articulaire en complément de la clinique, la biologie et l'imagerie (Osmon et al 2013 [2], Zmistowski et al 2014 [3], Tande et al 2014 [4]).

L'enjeu est de faire un diagnostic de l'IOAP avant la chirurgie. La ponction est donc « la pierre angulaire » du diagnostic d'IPOA. Elle permet également l'établissement d'un score diagnostique, associant des critères majeurs et mineurs (annexe 2, figure 1) (Parvizi et al 2018, [5], Shohat et al 2019 [6]).

- **B2. En cas de sepsis avéré sur prothèse, la ponction articulaire ne doit pas retarder la prise en charge médico-chirurgicale.**

Cotation médiane 10

Selon l'HAS, « lorsque le diagnostic est évident (signes cliniques locaux affirmant l'infection, cf. recommandation 2), la ponction n'est pas indispensable sauf si un traitement antibiotique probabiliste doit être instauré en urgence (sepsis grave) avant l'intervention. » (HAS 2014 [7]).

Karczewski et al. se sont interrogés sur l'importance de la documentation bactériologique avant reprise d'une prothèse suspecte d'être infectée. En effet la détection pré-opératoire d'un germe n'est pas toujours possible quand notamment le contexte clinique (choc septique, douleur intense...) ne permet pas de différer la chirurgie. Les auteurs ont inclus des infections de PTH (49) et PTG (47) ayant bénéficié d'une reprise en 2 temps. Ils comparent la survenue de rechutes à 2 ans entre les patients ayant eu une documentation bactériologique pré-opératoire et ceux n'en ayant pas eu (48.9% PTH et 34% PTG). Les auteurs concluent à l'absence de différence significative entre les 2 groupes. Néanmoins le taux de ré-infection à 2 ans est plus bas dans le groupe ayant bénéficié de la mise en évidence d'un germe avant la reprise chirurgicale (Karczewski et al 2018 [8]).

- **B3 (anciennement B4). La ponction préopératoire doit être réalisée dans des conditions strictes d'asepsie chirurgicale (environnement maîtrisé en bloc opératoire ou salle de radiologie interventionnelle).**

Cotation médiane 10

Les prélèvements pré-opératoires (ponction de liquide articulaire ou d'une collection au contact du matériel) doivent être réalisés en respectant des conditions strictes d'asepsie chirurgicale (SPILF 2009 [1] - Kuritzkes et al 2019 [9] – AHRQ 2014 [10]).

Selon la SFHH 2015, une augmentation de la concentration aérienne bactérienne dans un contexte de chirurgie ouverte peut influencer la survenue d'infections du site opératoire. En revanche, il n'est pas certain qu'en l'absence d'incision cette augmentation de bactéries dans l'air puisse augmenter le risque infectieux (SFHH 2015 [11]).

Humphreys et al. ont émis des recommandations concernant les MAI (Minimal access interventions / minor surgical procedures) et considèrent que les procédures chirurgicales mineures n'exigent pas un traitement de l'air équivalent à celui d'un bloc opératoire (Humphreys et al [12]).

- **B4 (anciennement B5). Une ponction unique doit être répartie entre un seul flacon d'hémoculture anaérobie et un pot stérile.**

Cotation médiane 7.5

Hughes et al [13] ont inclus 805 liquides articulaires dans une étude comparant l'ensemencement du liquide articulaire sur gélose et dans un flacon d'hémoculture pédiatrique. La culture utilisant le flacon d'hémoculture a permis la détection de plus de pathogènes que la culture sur gélose (62 versus 51) et moins de contaminants (1 versus 11).

Selon l'expérience des experts des CRIOAC, un flacon anaérobie semble privilégier la croissance des streptocoques et des anaérobies. Concernant la croissance de *Cutibacterium acnes*, seuls certains flacons d'hémocultures détectent la croissance de *C. acnes* dans un délai de 14 jours avec des taux de détection de l'ordre de 91 à 94% (Jeverica et al [14]). Les milieux liquides à base de thioglycolate (taux de détection de 96%) et gélosés type schaedler (taux de détection de 99%) sont plus performants que les flacons d'hémocultures et que la gélose au sang cuit (taux de détection de 74%) [14]. Ainsi on recommande de répartir le liquide articulaire entre un pot stérile destiné à l'ensemencement des milieux conventionnels et 1 flacon d'hémoculture anaérobie de préférence.

- **B5 (anciennement B6). La cytologie du liquide articulaire est utile au diagnostic d'infection de prothèse.**

Cotation médiane 8

Devant une suspicion d'IPOA associée à une élévation de la CRP et/ou de la VS, il est recommandé de réaliser un prélèvement de liquide articulaire. Le résultat septique ou aseptique a une répercussion directe sur la prise en charge du patient, chirurgicale ou médicale.

En ne considérant que les recommandations françaises, un taux de leucocytes $>1\,700/\text{mm}^3$ dont $>65\%$ de polynucléaires neutrophiles (PNN) est généralement très évocateur d'une infection (HAS 2014 [7], SPILF 2009 [1], REMIC 2018 [15]). De récentes recommandations européennes supportées par l'ESCMID (Signore 2019 [16]) affirment l'importance du compte des leucocytes du liquide articulaire et du pourcentage de PNN pour le diagnostic des IPOA (niveau d'évidence 2). Les *cut-off* des leucocytes est fixé à $>3\,000/\text{mm}^3$ et des PNN à $>70\%$. L'*International Consensus Meeting* (ICM) 2018 (Shohat 2019 [6]) place la ponction articulaire au centre du diagnostic des infections chroniques, avec un certain nombre de critères dits "mineurs" dont le nombre de leucocytes et le pourcentage de PNN. L'ensemble de ces critères participe à l'élaboration d'un score (Se : 97,7% et Sp : 99,5%). Les *cut-off* retenus sont : leucocytes $>3\,000/\text{mm}^3$ et PNN $>70\%$. D'autres seuils sont proposés pour les infections aiguës : leucocytes $>10\,000/\text{mm}^3$ et PNN $>90\%$ (Shohat 2019 [6]). A noter que dans les ponctions traumatiques, il conviendrait d'appliquer une correction en fonction de la numération formule sanguine (Zmistowski 2014 [3]). Enfin, en cas de ponction sèche, l'injection de sérum physiologique dans l'articulation perturbe les comptes de leuco, et n'est donc pas recommandée (Signore 2019 [16], AbdelKarim 2019 [17], Gomez-Urena 2017 [18]).

- **B6 (anciennement B7). En complément de la ponction de liquide articulaire, une (des) biopsie(s) percutanée(s) (ou tru-cut) est (sont) recommandée(s).**

Cotation médiane 10

Selon l'HAS, la biopsie tissulaire (capsule, synoviale) au tru-cut, réalisée en complément de la ponction articulaire, permet d'augmenter le rendement des prélèvements (HAS 2014 [7]).

Si la biopsie semble s'imposer par sa capacité à identifier plus souvent un pathogène, c'est au prix de conditions difficilement réalisables en routine. En effet, il est admis que la biopsie n'est pas envisageable dans tous les cas du fait de sa complexité et de ses modalités invasives. Il ne faut négliger ni son coût ni la possibilité d'effets secondaires graves : infections bactériennes, lésions nerveuses et vasculaires et lésions de la surface prothétique. Elle serait réservée aux cas où la VS et/ou la CRP seraient positives avec une aspiration de liquide articulaire non contributive ou sèche (Zmistowski 2014 [3], Signore 2019 [16], Ottink 2018 [19]).

- **B7 (anciennement B8). Un prélèvement à visée anatomopathologique peut être associé à la ponction pré-opératoire.**

Cotation médiane 8

Il est difficile de conseiller ce type d'analyse car très peu d'études et/ou de recommandations concernent l'analyse anatomopathologique associée à la ponction pré-opératoire.

- **B8 (anciennement B9). Les écouvillons et prélèvements sous-cutanés sont à proscrire dans le cadre du diagnostic d'infection de prothèse.**

Cotation médiane 10

Les prélèvements superficiels de plaies ou de fistule par écouvillonnage doivent être proscrits, car le plus souvent contaminés par la flore cutanée (REMIC 2018 [15]).

La culture de l'orifice de fistule par écouvillonnage a récemment été évaluée dans une étude prospective portant sur 45 patients diagnostiqués avec une IPOA sur la base des critères MSIS. La concordance entre les cultures de fistule et de tissus peropératoires était de 53%, sans différence selon la localisation de la prothèse, ni le type d'IPOA, aiguë vs chronique. Le taux de concordance était plus élevé pour *S. aureus* que pour d'autres bactéries de manière non significative (Tétréault, 2013 [20]). De même, les cultures peropératoires obtenues par écouvillonnage sont moins exactes que les cultures de tissus. Une étude prospective récente de 117 patients subissant une arthroplastie de révision a comparé le rendement des cultures d'écouvillons peropératoires et des cultures de tissus prélevés aux mêmes endroits, et a montré une sensibilité et une spécificité plus faibles des cultures d'écouvillonnages (Aggarwal et al, 2013 [21]).

- **B9 (anciennement B3). Les cultures de prélèvements per-opératoires ne sont pas impactées par l'administration d'une antibioprophylaxie.**

Cotation médiane 10

La prophylaxie avant l'incision est considérée comme le progrès majeur qui a conduit à réduire grandement les infections dans les arthroplasties.

En 2017, Wouthuyzen a évalué dans une étude rétrospective avant-après, que lors de révisions de PTG le taux d'infections post-opératoires était de 6,4% en l'absence de prophylaxie pré-opératoire vs 1,6% avec une antibioprophylaxie bien conduite [22]. Une méta-analyse de 2017 a montré que le rendement de la

culture des prélèvements per-opératoires n'était diminué que de 7% en cas d'antibioprophylaxie si l'on considérait l'ensemble des infections, et seulement de 3% (diminution non significative) quand l'analyse n'était restreinte qu'aux seules infections chroniques. La conclusion de l'étude était que la protection du nouvel implant est primordiale et que la perte de rentabilité est ici secondaire [23]. En 2016, Bedencic a mené une étude prospective sur 40 patients avec descellement [24]. Une dose unique d'antibiotique n'altérerait pas les résultats des cultures per-opératoires [24].

L'administration d'une antibioprophylaxie est recommandée en routine, même en l'absence de documentation microbiologique préalable (Arvieux 2019 [25], Pérez-Prieto 2016 [26], Tétréault 2014 [27], Wouthuyzen 2017 [23]).

- **B10 En per-opératoire, il est recommandé d'effectuer 4 prélèvements à visée microbiologique.**

Cotation médiane 10

Les recommandations françaises préconisaient d'effectuer "au moins" 5 prélèvements en des sites anatomiques différents. L'évolution des techniques de broyage et des milieux de culture permet d'obtenir des cultures positives avec moins d'échantillons, notamment dans le diagnostic des IPOA (SPILF 2009 [1], REMIC 2018 [15]). L'étude rétrospective monocentrique de Kheir en 2018 montre que le nombre minimal de prélèvements pour obtenir 2 cultures positives est de 4, et que c'est avec 5 prélèvements que l'on obtient le plus de cultures positives (Kheir et al, 2018 [28]).

L'étude prospective multicentrique réalisée par le CRIOGO permet de réduire le nombre de prélèvements de 5 à 4 grâce à l'utilisation d'un broyage automatisé et de flacons d'hémocultures (Bémer et al, 2016 [29]).

Enfin, l'étude récente de la Mayo Clinic propose pour le diagnostic d'IPOA de réaliser soit 3 prélèvements périprothétiques s'ils sont ensemencés dans un flacon d'hémoculture, soit 4 prélèvements s'ils sont mis en culture sur des géloses standard et des milieux de culture liquides. Cette 2^{ème} étude montre que la réalisation de 5 prélèvements ou plus ne permet pas d'augmenter la précision diagnostique (Peel et al, 2017 [30]).

- **B11 Les prélèvements à privilégier sont ceux au contact du matériel ainsi que le liquide articulaire.**

Cotation médiane 10

De nombreuses études cliniques, revues de la littérature ou conférences de consensus recommandent la réalisation de prélèvements péri prothétiques pré- ou peropératoires (SPILF 2009 [1], Osmon et al [2], Tande et al [4], REMIC 2018 [15]).

L'étude de Bjerkan réalisée en 2012 montre que les biopsies de la membrane d'interface présentent un taux de cultures positives plus important avec un inoculum plus élevé que les prélèvements de capsule articulaire ou de liquide synovial (Bjerkan et al, 2012 [31]).

Dans l'étude réalisée par le CRIOGO, les cultures des prélèvements au contact du matériel et des liquides articulaires étaient plus souvent positives que les prélèvements osseux (Bémer et al, 2016 [29]). Les prélèvements peuvent également inclure des biopsies synoviales, sous aponévrotiques et capsulaires en fonction de l'aspect peropératoire évocateur de sepsis constaté par le chirurgien.

- **B12 En cas de suspicion d'infection de prothèse chronique, il est recommandé d'effectuer un prélèvement à visée anatomopathologique.**

Cotation médiane 10

L'analyse histologique fait partie des recommandations des sociétés savantes (SPILF 2009 [1], IDSA 2013 [2]) jusqu'à s'intégrer comme critère mineur dans un nouveau score d'infection élaboré par le MSIS (Musculoskeletal Infection Society) (Parvizi et al, 2018 [5]) et le Consensus International sur les Infections Orthopédiques en 2019 (Shohat et al, 2019 [6] (cf annexe 2, figure 1). Outre l'apport diagnostique pour l'IPOA à germes banals, l'histologie permet d'orienter le diagnostic vers une infection à mycobactérie ou fongique.

Le score de PNN le plus souvent retenu est de 5 à 10 polynucléaires par champ dans 5 champs ou plus (Shohat et al, 2019 [6]) (Zmistowski et al, 2014 [3]). Considérant ce score trop fastidieux à atteindre, un nouveau seuil de 23 PNN dans un maximum de 10 champs est proposé, parvenant à la même précision diagnostique dans un temps plus court (Morawietz et al, 2009 [32]). Le travail prospectif et multicentrique mené au sein du CRIOGO a permis de valider ce seuil de 23 PNN avec une sensibilité de 82% et une spécificité de 90% [Bémer et al, 2018 [33]].

Plus récemment, des techniques d'immunohistochimie et d'histochemie ont semblé séduisantes, permettant d'abaisser le seuil de détection des PNN (Bori et al, 2018 [34]).

- **B13 Le prélèvement à visée anatomopathologique doit être effectué sur la membrane d'interface périprothétique.**

Cotation médiane 10

La précision concernant le type de tissu prélevé a progressé au cours du temps. La SPILF en 2009 recommandait l'analyse du tissu osseux ou de la synoviale (SPILF 2009 [1]). Les différentes études ont ensuite privilégié la membrane d'interface péri prothétique entre la prothèse et l'os adjacent ou la pseudocapsule articulaire (Morawietz et al, 2009 [32], Bori et al, 2011 [34]).

- **B14 Le broyage automatisé des prélèvements est fortement recommandé.**

Cotation médiane 10

Les prélèvements solides (fragments d'os, de tissus) doivent être broyés afin de libérer les bactéries du biofilm, en proscrivant l'usage du mortier et du pilon (REMIC 2018 [15], Bémer et al 2016 [29]).

- **B15 La sonication du matériel n'est pas recommandée.**

Cotation médiane 7.5

La sonication sur matériel a été rapportée initialement par Trampuz et al 2007 [36]. L'intérêt était souligné sur matériel prothétique mais cette technique n'a jamais été comparée à une culture optimisée avec broyage et utilisation de flacon d'hémoculture (Roux et al 2011 [37], Bémer et al 2014 [38]), Bémer et al 2016 [29]). Récemment, la culture des prélèvements peropératoires tissulaires a été montrée plus sensible et peut être plus spécifique que la sonication pour le diagnostic des infections sur matériel orthopédique (Vasoo et al 2018 [39]). Dans certains cas, l'équipe de Patel de la Mayo clinique a rapporté que la culture tissulaire en flacon d'hémoculture atteint une sensibilité similaire à celle de la culture de fluide après sonication de la prothèse (Yan et al 2018 [40]).

En revanche dans quelques cas (antibiotiques, micro-organismes de croissance délicate) les deux tests combinés présenteraient la sensibilité la plus élevée sans compromettre la spécificité (Yan et al 2018 [40]). Elle peut revêtir éventuellement un intérêt parfois si elle est combinée avec une PCR multiplexe dans les cas complexes (Liu et al, PloS One 2018 [41]).

En définitive, la sonication n'apparaît pas impérative si la culture est bien conduite et optimisée.

- **B16 La recherche de bactéries à l'examen direct par la coloration de Gram n'est pas utile.**

Cotation médiane 7

Sur le liquide articulaire préopératoire, l'examen bactériologique direct après coloration de Gram d'une pastille de cytocentrifugation peut permettre de visualiser les bactéries (SPILF 2009 [1]).

Sur les prélèvements per-opératoires : L'examen direct d'un frottis des broyats doit à la fois rechercher la présence de polynucléaires neutrophiles et la présence de bactéries (coloration de Gram).

La sensibilité de l'examen bactériologique direct est faible (6 %) alors que la spécificité est proche de 100 % (Atkins et al 1998 [42], REMIC 2018 [15]).

La faible sensibilité de la coloration de Gram, malgré sa très bonne spécificité, ne permet pas de recommander la coloration de Gram en routine sur les prélèvements tissulaires.

- **B17 Pour la mise en culture des prélèvements, les milieux à privilégier au minimum sont: une gélose chocolat, un milieu anaérobie (liquide ou solide), ainsi qu'un flacon d'hémoculture anaérobie.**

Cotation médiane 10

Compte tenu de l'épidémiologie bactérienne des IOA, il convient d'ensemencer au minimum : une gélose chocolat incubée sous CO₂, un milieu pour bactéries anaérobies, qu'il soit liquide ou solide, et un flacon d'hémoculture de préférence anaérobie, doivent être ensemencés (Bémer et al 2016 [29]).

- **B18 L'ensemencement des prélèvements peropératoires dans un flacon d'hémoculture permet d'améliorer le diagnostic microbiologique.**

Cotation médiane 10

L'ensemencement d'un flacon d'hémoculture permet d'améliorer le diagnostic microbiologique (REMIC 2018 [15], Font-Vizcarra et al 2010 [43]). Dans une étude prospective, le pourcentage d'échantillons positifs avec des flacons d'hémoculture pour les germes aérobies était de 83% versus 70% environ pour les milieux gélosés (Bémer et al 2016 [29]). La combinaison de 3 milieux de culture permettait d'obtenir une bonne sensibilité. La meilleure sensibilité était obtenue avec la combinaison flacon d'hémoculture, gélose chocolat et milieu liquide ou solide les anaérobies (Bémer et al 2016 [29]). Dans d'autres études, si la sensibilité de la culture n'était pas significativement différente entre le flacon d'hémoculture et les cultures standard, en revanche, le nombre de germes isolés était significativement plus élevé (van der Bijlgaard et al 2019 [44]).

Les flacons anaérobies ne doivent pas contenir de résine pour la croissance optimale de *Cutibacterium acnes* : flacons Lytic sur BACTEC (Becton Dickinson) et SN sur BacT/ALERT (BioMérieux).

- **B19 Le délai d'incubation des cultures sur milieu solide est de 7 jours.**

Cotation médiane 10

Les broyats doivent être ensemencés sur des milieux riches incubés à 37°C dans des atmosphères variées et l'incubation prolongée au minimum 14 jours (REMIC 2018 [15]). Une culture positive précoce en milieu solide ne dispense pas des lectures suivantes et d'une incubation complète jusqu'à 7 jours.

Au cours de l'étude prospective réalisée au le CRIOGO les données obtenues ont montré que 96,7% et 98,9% des diagnostics étaient réalisés respectivement après un délai de 5 et 7 jours (Deroche et al, 2019 [45]). Le CRIOGO recommande donc de conserver les milieux solides 7 jours.

- **B20 Le délai d'incubation des cultures sur milieu liquide est de 10 jours.**

Cotation médiane 10

L'incubation des milieux, y compris liquides était recommandée jusqu'à 14 jours (REMIC 2018 [15]). Des flacons d'hémoculture peuvent être utilisés. Leur incubation doit être prolongée jusqu'à 14 jours dans un automate (REMIC 2018 [15]).

D'après l'étude prospective du CRIOGO, la diminution du délai d'incubation de 14 à 10 jours est possible (Bémer et al, 2016 [29]). En effet, 1,1% seulement des infections ont été diagnostiquées par un flacon d'hémoculture au-delà des 7 jours d'incubation, et 1 cas après 10 jours.

Il est donc probable que le délai d'incubation recommandé soit prochainement diminué, accompagnant l'efficacité améliorée des flacons d'hémoculture (Signore A, 2019 [16]).

Pour *C. acnes*, (isolé notamment d'infections périprothétiques d'épaule) un délai de 10 jours a été jugé suffisant pour faire le diagnostic d'infection (Ellsworth et al. 2019 [46]), sans observer de diminution notable de la sensibilité de la technique (Bossard et al. 2016 [47]). Certains auteurs affirment même qu'entre 10 et 14 j, le risque de détecter des contaminants augmente (Bossard et al. 2016 [47] ; Butler-Wu et al. 2011 [48]).

- **B21 L'identification par MALDI-TOF et l'antibiogramme doivent être réalisés sur les différents morphotypes de colonies.**

Cotation médiane 10

Une identification et un antibiogramme doivent être réalisés sur tous les aspects de colonies isolées.

- **B22 Un seul antibiogramme est réalisé pour les micro-organismes pathogènes stricts.**

Cotation médiane 10

Un seul antibiogramme sera réalisé en présence d'une bactérie n'appartenant pas à la flore cutanée (*S. aureus*, entérobactériales, *Pseudomonas aeruginosa*,...), ou d'une bactérie rarement isolée dans les infections de prothèse ostéo-articulaires (*Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp, *Pasteurella* spp...), bactéries pour lesquelles la question d'une contamination ne se pose pas, ou encore quand les colonies présentent un morphotype identique (REMIC 2018 [15], SPILF 2009 [1], Osmon et al, 2013 [2]).

- **B23 Au moins deux antibiogrammes sont réalisés pour les micro-organismes de la flore cutanée.**

Cotation médiane 10

Une identification et un antibiogramme doivent être réalisés sur tous les aspects de colonies isolées (morphotypes), même pour une même espèce bactérienne. Un minimum d'au moins deux antibiogrammes sera réalisé à partir de 2 prélèvements différents.

- **B24 La culture des liquides de redon n'est pas recommandée.**

Cotation médiane 10

La culture des liquides de redon n'est pas recommandée.

- **B25 La biologie moléculaire doit être utilisée en cas de forte suspicion d'IPOA lorsque les résultats des cultures sont négatifs.**

Cotation médiane 10

Les performances des techniques de biologie moléculaire sont très variables selon les techniques utilisées, le type de patients inclus et les prélèvements traités. La littérature montre en général une bonne spécificité. Un gain de sensibilité par rapport à la culture est retrouvé principalement pour les patients traités (Bémer et al 2014 [38], Zmistowski B et al, 2014 [3], Hartley et al 2014 [49], Morgenstern et al 2018 [50]). Seules les PCR rapides automatisées permettant la recherche des gènes de résistance à la méticilline des Staphylocoques peuvent être réalisées au moment du prélèvement car elles sont utilisées pour l'adaptation du traitement probabiliste (HAS 2014 [7]).

Les méthodes de biologie moléculaire peuvent donc compléter les techniques conventionnelles de culture sans jamais se substituer à elles. Le recours à ces techniques est à envisager surtout si on a une forte suspicion clinique avec antibiothérapie préalable, ou pour rechercher des germes rares qui ne poussent pas en culture classique (*Mycoplasma*, *Tropheryma whippelii*, *Coxiella burnetii*...). Elles présentent une sensibilité imparfaite et seul un résultat positif est donc réellement contributif. Elles restent pour l'instant disponibles dans les laboratoires spécialisés et il revient au biologiste, après discussion avec le clinicien, de décider si une telle analyse peut apporter un bénéfice par rapport aux approches classiques en culture (REMIC 2018 [15], HAS 2014 [7]).

- **B26 Les techniques moléculaires comprennent les PCR spécifiques à la recherche de germes précis (*S. aureus*...) et la PCR-séquençage de l'ARN16S.**

Cotation médiane 10

Les techniques moléculaires à privilégier pour le diagnostic des infections à cultures négatives sont des PCR spécifiques à la recherche de germes précis surtout pour un patient ayant reçu des antibiotiques (*S. aureus*, staphylocoques à coagulase négative, *C. acnes*), ou de germes rares et/ou intracellulaires selon le contexte (*C. burnetii*, *T. whippelii*, *Mycoplasma*...) (Hartley et al 2014 [49]). Lévy et al 2012 [51].

La PCR 16S a été évaluée sur une série de près de 300 prothèses au sein du CRIOGO (Bémer et al 2014 [38]). C'est une PCR à spectre large mais avec une sensibilité limitée. Elle peut être utile chez les patients ayant reçu des antibiotiques. En raison de sa faible sensibilité et du risque de contamination inhérent à

la technique, les résultats des PCR 16S doivent être interprétés à la lumière des autres aspects cliniques et microbiologiques (Plouzeau et al 2015 [52]).

Les PCR multiplexées proposant l'identification et la détection de gènes de résistance présentent des sensibilités variables, parfois insuffisantes (Malandain et al 2018 [53]). Les panels proposés sont parfois incomplets (pas de *C. acnes* ou de corynébactéries) et leur coût est très important (>100 euros par prélèvement).

Certaines équipes commencent à étudier les approches de métagénomique en séquençage haut débit (NGS) pour les infections ostéoarticulaires (Thoendel et al 2018 [54]). Il n'y a pas d'application en routine de ces techniques à ce jour.

- **B27 Les prélèvements doivent être conservés jusqu'à 3 mois après le rendu des résultats.**

Cotation médiane 10

Une partie du prélèvement doit être conservée par congélation (à -80°C ou à défaut à -20°C) au moins jusqu'au rendu définitif du résultat, idéalement 2 à 4 mois après ce rendu. Ce délai laisse la possibilité de recherches complémentaires (recherche de mycobactéries, champignons, techniques de biologie moléculaires) après discussion multidisciplinaire, les prélèvements n'étant pas renouvelables.

- **B28 Les souches bactériennes doivent être conservées jusqu'à 3 ans après le rendu des résultats.**

Cotation médiane 10

La conservation des souches d'IOAP pendant 3 ans permet de réaliser à distance des antibiogrammes complémentaires avec de nouvelles molécules ainsi que des techniques de typages des différentes souches en cas de reprise ou récurrence. Les souches doivent plutôt être congelées que conservées dans des tubes gélosés.

Références

1. Recommendations for bone and joint prosthetic device infections in clinical practice (prosthesis, implants, osteosynthesis). Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. *Med Mal Infect* 2010;40:185–211. doi: 10.1016/j.medmal.2009.12.009.
2. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, *et al.* Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2013; 56:1–25. doi.org/10.1093/cid/cis966.
3. Zmistowski B, Della Valle C, Bauer TW, Malizos KN, Alavi A, Bedair H *et al.* Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty* 2014;29(2 Suppl):77–83. doi: 10.1016/j.arth.2013.09.040.
4. Tande AJ and R. Patel. Prosthetic Joint Infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27:302. doi: 10.1128/CMR.00111-13.
5. Parvizi J, Tan TL, Goswami K, Higuera C, Della Valle C, Chen AF, *et al.* The 2018 Definition of Periprosthetic Hip and Knee Infection: An Evidence-Based and Validated Criteria. *J Arthroplasty* 2018; 33 1309e1314. Doi:10.1016/j.arth.2018.02.07.
6. Shohat N, Bauer T, Buttaro M, Budhiparama N, Cashman J, Della Valle CJ, *et al.* Hip and Knee Section, What is the Definition of a Periprosthetic Joint Infection (PJI) of the Knee and the Hip? Can the Same Criteria be Used for Both Joints? Proceedings of International Consensus on Orthopedic Infections 2019;34(2S):S325–S327. doi: 10.1016/j.arth.2018.09.045.
7. HAS. Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation. RBP - Date de validation par le collège Mars 2014. www.has-sante.fr.
8. Karczewski D, Winkler T, Perka C, and Müller M. The Preoperative Microbial Detection is No Prerequisite for the Indication of Septic Revision in Cases of Suspected Periprosthetic Joint Infection. *Biomed Res Int.* 2018 ;21:1729605. doi: 10.1155/2018/1729605.
9. Kuritzkes BA, Cao Y, Baser O, Thomas N, Forde KA, and Kiran RP. New barrier attire regulations in the operating room: A mandate without basis? *Am J Surg* 2019;218:447–451. doi: 10.1016/j.amjsurg.2019.02.002.
10. Agency for Healthcare Research and Quality. Guideline for Surgical Attire. Washington, DC; US Department of Health and Human Services; 2014.
11. Société Française d'Hygiène Hospitalière. Qualité de l'air au bloc opératoire et autres secteurs interventionnels. 2015. Volume XXIII n°2.
12. Humphreys H, Coia JE, Stacey A, Thomas M, Belli AM, Hoffman P *et al.* Guidelines on the facilities required for minor surgical procedures and minimal access interventions. *J Hosp Infect* 2012; 80:103–9. doi: 10.1016/j.jhin.2011.11.010.
13. Hughes JG, Vetter EA, Patel R, Schleck CD, Harmsen S, Turgeant LT, *et al.* Culture with BACTEC Peds Plus/F bottle compared with conventional methods for detection of bacteria in synovial fluid. *J Clin Microbiol* 2001;39:4468–4471. doi: 10.1128/JCM.39.12.4468–4471.2001.
14. Jeverica S, El Sayed F, Camernik P, Kocjancic B, Sluga B, Rottman M, *et al.* Growth detection of *Cutibacterium acnes* from orthopaedic implant associated infections in anaerobic bottles from BACTEC and BacT/ALERT blood culture systems and comparison with conventional culture media. *Anaerobe* 2020; 61 :1–6. doi: 10.1016/j.anaerobe.2019.102133.
15. REMIC. Référentiel en microbiologie médicale. SFM. Société Française de Microbiologie 6^{ème} ED 2018.
16. Signore A, Sconfienza LM, Borens O, Glaudemans AWJM, Cassar-Pullicino V, Trampuz A, *et al.* Consensus document for the diagnosis of prosthetic joint infections: a joint paper by the EANM, EBJIS, and ESR (with ESCMID endorsement). *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2019;46: 971–988. doi: 10.1007/s00259-019-4263-9.
17. Abdel Karim M, Andrawis J, Bengoa F, Bracho C, Compagnoni, Cross M *et al.* Hip and Knee Section, Diagnosis, Algorithm: Proceedings of International Consensus on Orthopedic Infections. *J Arthroplasty* 2019;34: S339–S350. doi: 10.1016/j.arth.2018.09.018.
18. Gomez-Urena EO, Tande AJ, Osmon DR, and Berbari EF. Diagnosis of Prosthetic Joint Infection

- Cultures, Biomarker and Criteria. *Infect Dis Clin North Am* 2017;31:219–235. doi: 10.1016/j.idc.2017.01.008.
19. Ottink KD, Wouthuyzen-Bakker M, Kampinga GA, JuttePC, MD, and Ploegmakers JJ. Puncture Protocol in the Diagnostic Work-Up of a Suspected Chronic Prosthetic Joint Infection of the Hip. *J Arthroplasty* 2018;33:1904–1907. doi.org/10.1016/j.arth.2018.01.072.
 20. Tetreault MW, Wetters NG, Aggarwal VK, Moric M, Segreti J, Huddleston JI, *et al.* Should draining wounds and sinuses associated with hip and knee arthroplasties be cultured? *J. Arthroplasty* 2013;28:133–136. doi.org/10.1016/j.arth.2013.04.057.
 21. Aggarwal VK, Higuera C, Deirmengian G, Parvizi J, and Austin MS. Swab cultures are not as effective as tissue cultures for diagnosis of periprosthetic joint infection. *Clin Orthop Relat Res* 2013;471:3196–203. doi: 10.1007/s11999-013-2974-y.
 22. Wouthuyzen-Bakker M, Tornero E, Claret G, Bosch J, Martinez-Pastor JC, Combalia A, *et al.* Withholding preoperative antibiotic prophylaxis in knee prosthesis revision; a retrospective analysis on culture results and risk of infection. *J Arthroplasty* 2017;32:2829–2833. doi.org/10.1016/j.arth.2017.03.064.
 23. Wouthuyzen-Bakker M, Benito N, and Soriano A. The effect of preoperative antimicrobial prophylaxis on intraoperative culture results in patients with a suspected or confirmed prosthetic joint infection: a systematic review. *J Clin Microbiol* 2017;55:2765–2774. doi.org/10.1128/JCM.00640-17.
 24. Bedencic K, Kavcic M, Faganeli N, Mihalic R, Mavcic B, Dolenc J, *et al.* Does preoperative antimicrobial prophylaxis influence the diagnostic potential of peri-prosthetic tissues in hip or knee infections? *Clin Orthop Relat Res* 2016;474:258–264. doi.org/10.1007/s11999-015-4486-4.
 25. Arvieux C, Common H. New diagnostic tools for prosthetic joint infection *Orthopaedics Traumatology Surg Res* 2019;105:S23–S30. doi.org/10.1016/j.otsr.2018.04.029.
 26. Pérez-Prieto D, Portillo ME, Puig-Verdié L, Alier A, Gamba C, Guirro P *et al.* Preoperative antibiotic prophylaxis in prosthetic joint infections: not a concern for intraoperative cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016;86:442–445. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.09.014.
 27. Tetreault MW, Wetters NG, Aggarwal V, Mont M, Parvizi J, and Della Valle CJ. The Chitranjan Ranawat award: should prophylactic antibiotics be withheld before revision surgery to obtain appropriate cultures? *Clin Orthop Relat Res* 2014;472:52–6. doi: 10.1007/s11999-013-3016-5.
 28. Kheir MM, Timothy L. Tan TL, Ackerman CT, Modi R, Foltz C, *et al.* Culturing Periprosthetic Joint Infection: Number of Samples, Growth Duration, and Organisms. *J Arthroplasty* 2018;33:3531–36. doi.org/10.1016/j.arth.2018.06.018.
 29. Bémer P, Léger J, Tandé D, Plouzeau C, Valentin AS, Jolivet-Gougeon A, *et al.*, the Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest (CRIGO) Study Team. How many samples and how many culture media to diagnose a prosthetic joint infection : a clinical and microbiological prospective multicenter study. *J Clin Microbiol* 2016;54:385–391. doi:10.1128/JCM.02497-15.
 30. Peel TN, Spelman T, Dylla BL, Hughes JG, Greenwood-Quaintance KE, Cheng AC, *et al.* Optimal periprosthetic tissue specimen number for diagnosis of prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol* 2017;55:234–243. doi.org/10.1128/JCM.01914-16.
 31. Bjerkan G, Witso E, Nor A, Viset T, Loseth K, Lydersen S, *et al.* A comprehensive microbiological evaluation of fiftyfour patients undergoing revision surgery due to prosthetic joint loosening. *J Med Microbiol* 2012;61:572–581. doi.org/10.1099/jmm.0.036087-0.
 32. Morawietz L, Tiddens O, Mueller M, Tohtz S, Gansukh T, Schroeder JH, *et al.* Twenty-three neutrophils granulocytes in 10 high-power fields is the best histopathological threshold to differentiate between aseptic and septic endoprosthesis loosening. *Histopathology* 2009;54:847–853. doi: 10.1111/j.1365-2559.2009.03313.x.
 33. Bémer P, Léger J, Milin S, Plouzeau C, Valentin AS, Stock N, *et al.*, for the CRIGO (Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest) Study Team. Histopathological diagnosis of prosthetic joint infection : does a threshold of 23 neutrophils do better than classification of the periprosthetic membrane in a prospective multicenter study ? *J Clin Microbiol* 2018;56:e00536-18. doi.org/10.1128/JCM.00536-18.

34. Bori G, McNally MA, and Athanasou N. Histopathology in Periprosthetic Joint Infection: When Will the Morphomolecular Diagnosis Be a Reality? *Biomed Res Intern* 2018;13:1412701. doi: 10.1155/2018/1412701.
35. Bori G, Munoz-Mahamud E, Garcia S, Mallofre C, Gallart X, Bosch J, *et al.* Interface membrane is the best sample for histological study to diagnose prosthetic joint infection. *Mod Pathol* 2011;24:579–584. doi.org/10.1038/modpathol.2010.219.
36. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, *et al.* Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection. *N Engl J Med* 2007 ;357:654-63. doi: 10.1056/NEJMoao61588.
37. Roux AL, Sivadon-Tardy Bauer T, Lortat-Jacq A, Herrmann JL, Gaillard JL, and Rottman M. Diagnosis of prosthetic joint infection by beadmill processing of a periprosthetic specimen. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:447–450. Doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03359.x.
38. Bémer P, Plouzeau C, Tande D, Léger J, Giraudeau B, Valentin AS, *et al.* Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest (CRIOGO). Evaluation of 16S rRNA gene PCR sensitivity and specificity for diagnosis of prosthetic joint infection: a prospective multicenter cross-sectional study. *J Clin Microbiol* 2014;52:3583–3589. doi.org/10.1128/JCM.01459-14.
39. Vasoo S. Improving the Diagnosis of Orthopedic Implant-Associated Infections: Optimizing the Use of Tools Already in the Box. *J Clin Microbiol.* 2018;56 pii: e01379-18. doi: 10.1128/JCM.01379-18.
40. Yan Q, Karau MJ, Greenwood-Quaintance KE, Mandrekar JN, Osmon DR, Abdel MP, *et al.* Comparison of Diagnostic Accuracy of Periprosthetic Tissue Culture in Blood Culture Bottles to That of Prosthesis Sonication Fluid Culture for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection (PJI) by Use of Bayesian Latent Class Modeling and IDSA PJI Criteria for Classification. *J Clin Microbiol.* 2018;56 pii: e00319-18. doi: 10.1128/JCM.00319-18.
41. Liu K, Fu J, Yu B, Sun W, Chen J, and Hao L. Meta-analysis of sonication prosthetic fluid PCR for diagnosing periprosthetic joint infection. *PLoS One.* 2018;13:e0196418. doi: 10.1371/journal.pone.0196418.
42. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DW, Simpson H, Peto TE, *et al.* the Osiris Collaborative Study Group. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. *J Clin Microbiol* 1998;36:2932–2939. doi: 10.1128/JCM.36.10.2932-2939.1998.
43. Font-Vizcarra L, García S, Martínez-Pastor JC, Sierra JM, and Soriano A. Blood culture flasks for culturing synovial fluid in prosthetic joint infections. *Clin Orthop Relat Res* 2010;468:2238-43. doi: 10.1007/s11999-010-1254-3.
44. van den Bijlaardt W, van der Jagt OP, Peijs M, Janssens M, Buiting AG, Reuwer AQ. Culturing periprosthetic tissue in blood culture bottles results in isolation of additional microorganisms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38:245-252. doi: 10.1007/s10096-018-3420-6.
45. Deroche L, Bémer P, Valentin AS, Jolivet-Gougeon A, Tandé D, Héry-Arnaud G, *et al.* The Right Time to Safely Re-Evaluate Empirical Antimicrobial Treatment of Hip or Knee Prosthetic Joint Infections. *J Clin Med* 2019;8:2113. doi: 10.3390/jcm8122113.
46. Ellsworth HS, Zhang L, Keener JD, Burnham CD, and Aleem AW. Ten-day culture incubation time can accurately detect bacterial infection in periprosthetic infection in shoulder arthroplasty. *JSES Int* 2020;4 :372-376. doi: 10.1016/j.jseint.2019.12.006.
47. Bossard DA, Ledergerber B, Zingg PO, Gerber C, Zinkernagel AS, Zbinden R, *et al.* Optimal Length of Cultivation Time for Isolation of *Propionibacterium acnes* in Suspected Bone and Joint Infections Is More than 7 Days. *J Clin Microbiol* 2016;54:3043-3049. doi: 10.1128/JCM.01435-16.
48. Butler-Wu SM, Burns EM, Pottinger PS, Magaret AS, Rakeman JL, Matsen FA 3rd, *et al.* Optimization of periprosthetic culture for diagnosis of *Propionibacterium acnes* prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol* 2011;49:2490e5. doi.org/10.1128/JCM.00450-11.
49. Hartley JC and Harris KA. Molecular techniques for diagnosing prosthetic joint infections *J Antimicrob Chemother* 2014;69 Suppl 1: i21–i24. doi:10.1093/jac/dku249.

50. Morgenstern C, Cabric S, Perka C, Trampuz A, and Renz N. Synovial fluid multiplex PCR is superior to culture for detection of low-virulent pathogens causing periprosthetic joint infection *Diagn Microbiol Infect Dis* 2018;90: 115–119. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2017.10.016.
51. Lévy PY and Fenollar F. The role of molecular diagnostics in implant-associated bone and joint infection. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:1168-75. doi: 10.1111/1469-0691.12020.
52. Plouzeau C, Bémer P, Valentin AS, Héry-Arnaud G, Tandé D, Jolivet-Gougeon A, *et al.* Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest (CRIOGO) Study Team. First experience of a multicenter external quality assessment of molecular 16S rRNA gene detection in bone and joint infections. *J Clin Microbiol* 2015;53:419–424. doi.org/10.1128/JCM.02413-14.
53. Malandain D, Bémer P, Leroy AG, Léger J, Plouzeau C, Valentin AS, *et al.* Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest (CRIOGO) Study Team. Assessment of the automated multiplex-PCR Unyvero i60 ITI® cartridge system to diagnose prosthetic joint infection: a multicentre study. *Clin Microbiol Infect* 2018;24:83.e1-83.e6.doi: 10.1016/j.cmi.2017.05.017.
54. Thoendel MJ, Jeraldo PR, Greenwood-Quaintance KE, Yao JZ, Chia N, Hanssen AD, *et al.* Identification of prosthetic joint infection pathogens using a shotgun metagenomics approach. *Clin Infect Dis* 2018; 67:1333-1338. doi: 10.1093/cid/ciy303