

# **Le laboratoire de Bactériologie**

## **dans le diagnostic d'une infection sur prothèse.**

### **CHRU. Lille - C. Savage**

Le rôle du laboratoire est d'isoler à partir d'un échantillon : prélèvement opératoire ou ponction articulaire, un ou des germes mais d'isoler la ou les bactérie (s) responsables de l'infection. Quelle valeur accorder à *Staphylococcus epidermidis* ou *Propionibacterium* : germes cutanés et pourtant parfois à l'origine d'infections.

Or ce diagnostic n'est pas chose facile lorsqu'on se trouve en présence d'un matériel étranger et que les bactéries adhèrent aux surfaces de la prothèse, forment des microcolonies et un bio film. Les bactéries peuvent perdre certaines propriétés de multiplication et incluses dans les tissus prélevés peuvent donc cultiver lentement ou ne pas se développer.

Le rôle du laboratoire est de tenter de résoudre ces problèmes par les mesures suivantes :

- Utilisation de milieux de culture solides enrichis qui permettent d'évaluer la densité de culture et d'accorder une valeur à la bactérie détectée.
- Emploi de 2 types de milieux liquides riches dont 1 permettant la croissance des bactéries anaérobies et des germes fragiles : type Rosenow. Ils peuvent permettre la croissance des bactéries de métabolisme ralenti.
- La prolongation du temps d'incubation à 7 jours minimum et parfois davantage.
- Après isolement et identification du ou des germes, la détermination de la sensibilité aux antibiotiques s'impose et doit être réalisée sur les bactéries isolées au moins dans 2 échantillons, sur les bactéries présentant des colonies d'aspect différent, notamment pour les staphylocoques représentant 70% des espèces isolées " infectantes ".

La méthode par diffusion est conseillée car elle décèle des phénotypes différents que ne révèlent pas les autres méthodes d'antibiogramme et non détectés par des colonies d'aspect différent.

Les cultures en milieux liquides peuvent amener à l'isolement de germes en très petite quantité dans l'échantillon ou en mauvais état physiologique, pouvant être soit " contaminants ", soit " infectants ". C'est le rôle du bactériologiste d'aider à l'interprétation de ses résultats en définissant des critères de positivité : culture abondante, germe retrouvé dans plusieurs cultures liquides, isolement dans plusieurs échantillons du site opératoire, isolement dans ponction articulaire antérieure ou autre site profond. Une étude récente lors de 87 gestes opératoires a montré que la multiplicité des échantillons lors du geste, après arrêt du traitement ATB d'au moins de 15 jours, augmente la sensibilité de l'analyse et surtout la fiabilité du résultat.

D'autre part, l'utilisation d'un milieu liquide anaérobie (Rosenow) fourni au chirurgien pour y introduire directement au bloc opératoire un fragment ou liquide articulaire, permet un bon transport des germes et facilite leur culture. Une étude portant sur 92 échantillonsensemencés dans ce milieu en plus des milieux habituels a montré que 41 fois, seul ce milieu de Rosenow a cultivé : les bactéries décelées étaient 14 fois des germes anaérobies mais aussi des Streptocoques (5) des Staphylocoques à coagulase négative (13), *Staphylococcus aureus*, entérobactéries et entérocoque (9), considérés tous comme responsables de l'infection sur des arguments cliniques.

Parfois cependant, les cultures sont négatives malgré des signes cliniques évidents d'infection. Les raisons peuvent être :

- Echantillon unique,
- Echantillon recueilli dans de mauvaises conditions (écouvillon par ex),
- Prélèvements réalisés chez un patient dont le traitement ATB a été interrompu récemment.

# Données bactériologiques des infections osseuses et articulaires

## Au CHRU de Lille

### C. Savage

Lors d'infections articulaires sur prothèse et d'infections osseuses après fractures et/ou pose de matériel, diverses espèces bactériennes sont isolées. On ne tiendra compte que de celles détectées dans les échantillons profonds et pour les bactéries dont la signification peut être douteuse, elles ne seront prises en considération que si elles sont isolées de deux échantillons opératoires ou lors d'une ponction ou hémoculture et d'un prélèvement opératoire. (Les doublons sont éliminés).

Sur 924 isolats, de janvier 1998 à juin 2001, les staphylocoques occupent la majeure partie (62%) avec une répartition sensiblement égale entre *S. aureus* et les staphylocoques non aureus. Leur taux est fluctuant si l'on prend les relevés annuels (25 à 39% chacun). Les streptocoques et entérocoques représentent 12% et les bacilles à Gram négatif 20%. Les corynébactéries: germes saprophytes cutanés sont isolés dans 2,7 % des infections.

Dans une étude (2ans ½) portant uniquement sur les infections sur prothèses (genou et hanche), la répartition est la suivante : 70% de staphylocoques, 2% de corynebactéries et 6% de germes anaérobies (le taux des autres espèces étant voisin de celui cité précédemment).

Les staphylocoques occupent donc une place prédominante et peuvent poser des problèmes thérapeutiques. Leur résistance à la méticilline (oxacilline) est respectivement de 35% pour *S. aureus* et 44% pour les autres staphylocoques. Cette résistance conditionne l'utilisation d'autres antibiotiques à diffusion osseuse et articulaire (synergistines, lincosamines, acide fusidique, fluoroquinolones, rifampicine). Par exemple, *S. aureus* méticillino-sensible a une sensibilité de 91 à 100% pour toutes ces molécules. Elle passe de 16 à 70% pour le même germe résistant à la méticilline.

De ce fait, il est parfois difficile de trouver une association efficace au niveau du site infectieux. Seuls restent actifs actuellement les glycopeptides. Au cours de ces dernières années (1998 à mi 2001), 37 patients infectés par *S. aureus* et 30 par staphylocoque à coagulase négative (sur 580 sujets ayant une infection à staphylocoque) ont dû être traités par l'un des glycopeptides. Ce qui n'est pas anodin à divers points de vue : administration, surveillance, risque d'infection de la voie veineuse...

Ce qui renforce la notion du traitement adapté au germe isolé et responsable de l'infection.

# Infections Ostéo-articulaires

Données Microbiologiques  
du service d'Orthopédie-Traumatologie  
du CHR&U de Lille

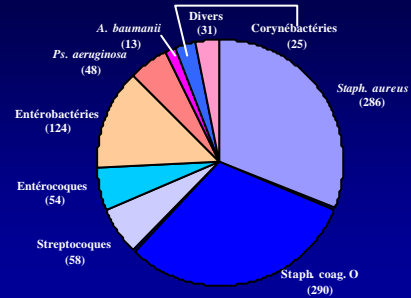
C. SAVAGE

Les chiffres des tableaux suivants correspondent chacun à 1 patient  
(pour l'année étudiée)

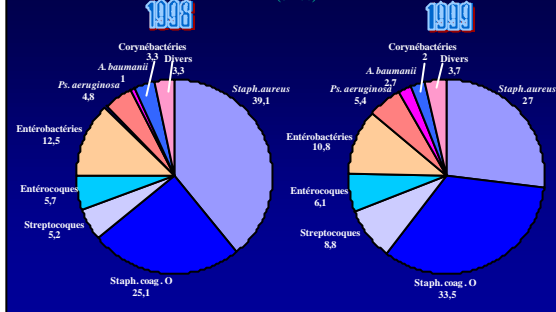
**D. Victor**  
3 échantillons à *S. aureus* de même antibiogramme → 1  
3 échantillons à *S. aureus* avec 2 antibiotypes → 2

**D. Nestor**  
1 échantillon à *S. aureus* → 1  
et *E. coli* → 1

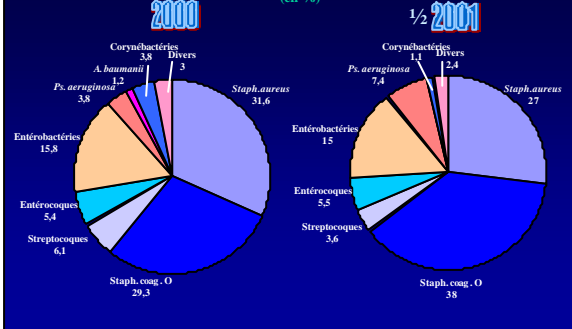
Répartition des espèces isolées dans les ponctions et prélèvements opératoires  
Moyenne des années 1998-1999-2000+6 premiers mois 2001 (924 isolats)



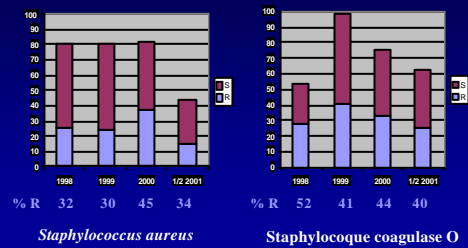
Répartition des espèces isolées dans les ponctions et prélèvements opératoires par année  
(en %)



Répartition des espèces isolées dans les ponctions et prélèvements opératoires par année  
(en %)



Evolution de la résistance des staphylocoques à la métilicine



Sensibilité des staphylocoques **Sensibles à la Méricilline**  
et aux autres antibiotiques

% de S aux ATB	<i>Staph. aureus</i>				Staph coag. O			
	98	99	00	½01	98	99	00	½01
Clindamycine	98	96	98	98	95	93	83	97
Pristinamycine	98	98	100	100	96	96	95	100
Acide fusidique	93	96	98	97	70	66	74	68
Fluoroquinolones	91	98	98	100	89	95	83	100
Rifampicine	100	98	100	100	96	91	83	100

Sensibilité des staphylocoques **Résistant la Méricilline**  
et aux autres antibiotiques

% de S aux ATB	<i>Staph. aureus</i>				Staph coag. O			
	98	99	00	½01	98	99	00	½01
Clindamycine	40	37	46	16	56	64	42	60
Pristinamycine	72	70	70	47	83	92	88	92
Acide fusidique	52	54	51	40	38	34	45	40
Fluoroquinolones	0	8	11	7	3	30	30	24
Rifampicine	48	54	41	40	53	56	40	64

Parmi les staphylocoques Résistants à la Méricilline

- . Multirésistance aux autres antibiotiques
- . Sensibilité conservée vis à vis des glycopeptides

Nbre de Cas/total	1998	1999	2000	½ 2001
<i>S. aureus</i>	9 / 81	7 / 79	13 / 82	8 / 44
<i>S. coagulase O</i>	4 / 54	9 / 98	15 / 76	2 / 62



# Le Laboratoire de Bactériologie

- ◆ son apport
- ◆ ses limites

dans le diagnostic d'une infection sur prothèse

C. SAVAGE  
CHRU Lille

## L'apport du Laboratoire

- Isoler un germe
- Isoler le responsable

## Isoler un ou des germes

### 1 - Examen microscopique

- réalisable à partir d'un liquide de ponction
- un examen direct positif signe l'infection

### 2 - Mise en culture

#### . Milieux

- enrichis solides
- enrichis liquides  
type bouillon - cerveau cœur  
et Rosenow (anaérobie)

#### . Temps de culture à 37°C

- 4 jours pour les ponctions articulaires
- 7 jours pour les échantillons opératoires
- 14 → 21 jours  
(pour les milieux liquides dans certains cas)

#### . Recherche des colonies « minute » ou « naines »

- petites colonies
- apparition en 3 - 4 jours

### . Le milieu de Rosenow

- milieu de transport
- milieu de culture pour germes anaérobies et germes fragiles

Pour 74 patients  
99 bactéries cultivées en m. liquide

	Standard +	Standard -
Rosenow +	44	41
Rosenow -	14	-

### 41 bactéries cultivées seulement en Rosenow

- 14 germes anaérobies
- 5 Streptocoques
- 22 Divers
  - 13 Staphylocoque à coagulase négative
  - 3 *Staphylococcus aureus*
  - 3 Entérobactérie
  - 2 Entérocoque
  - 1 Corynébactérie

Concordance clinique

### 3 - Antibiogramme

. Capital → traitement

. Mais des antibiogrammes

- au moins 2 réalisations par série d'échantillons
- si plusieurs aspects de colonies

### 3 - Antibiogramme

. Capital → traitement

. Mais des antibiogrammes

- au moins 2 réalisations par série d'échantillons
- si plusieurs aspects de colonies

→ à partir d'un milieu liquide  
après examen microscopique  
puis contrôle si échantillon plurimicrobien

### 4 - Interprétation

. Bactériologique

- germe habituellement « pathogène »
- si même(s) germe(s) isolés dans divers échantillons
- si germe identique isolé dans un prélèvement antérieur

→ Conclusion : même germe isolé dans ...

### 4 - Interprétation (suite)

. Clinique

- dans le cas d'un seul isolement d'une bactérie pouvant être un « contaminant »

→ Conclusion : à interpréter avec la clinique

## Comment accorder la responsabilité d'une infection sur prothèse ou matériel à une bactérie telle que :

*Staphylococcus non aureus*  
*Corynebacterium*  
*Propionibacterium*  
*Streptococcus*

### 1 - Quantification de la culture

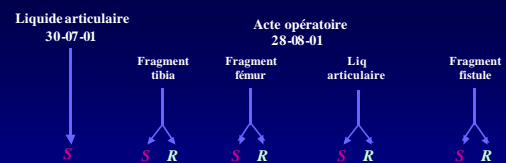
- . Sur milieu gélosé
- . Très supérieure à une culture en milieu liquide = « après enrichissement »

### 2 - Antibiotype du ou des germes surtout pour le staphylocoque

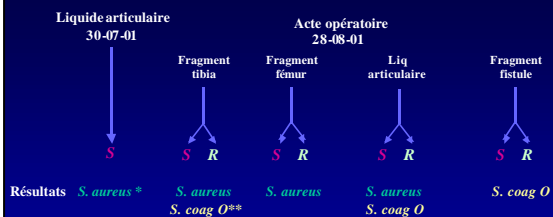
### 3 - Multiplicité des prélèvements et échantillons

- de la sensibilité de l'analyse
- de la fiabilité du résultat

Patient : D. Michel PTG



Patient : D. Michel PTG



\* même antibiogramme pour tous les isolats  
 \*\* même antibiogramme pour tous les isolats

### Etude sur la valeur des prélèvements multiples

Travail réalisé sur 67 patients ayant une prothèse infectée et ayant eu des prélèvements multiples

- \* 55 cas - infection monomicrobienne
  - . Le germe est isolé 47 fois dans 2 prélèvements
  - . Le germe est isolé 8 fois lors de 2 gestes
- \* 12 cas - infection plurimicrobienne
  - . Les germes sont isolés 7 fois dans 2 prélèvements
  - . Les germes sont isolés 3 fois lors de 2 gestes
  - . Les germes sont isolés 2 fois dans 2 échantillons du même geste

## Les limites du laboratoire

= critiques du chirurgien

*Pourquoi une bactérie n'est-elle pas isolée ?*

*Pourquoi le germe isolé est-il différent de celui découvert dans une ponction précédente ?*

*Pourquoi n'a-t-il pas le même antibiogramme ?*

*Pourquoi le résultat fourni est-il si long à obtenir ?*

- Germe d'infection chronique

*. de vie ralentie  
. englobé dans du tissu plus ou moins vivant*

*Donc croissance in vitro nulle ou lente*

- ➔ milieux enrichis
- ➔ incubation de 7 jours au minimum

- Traitement antibiotique antérieur

*(même si peu efficace)  
. L'antibiotique est entraîné dans le milieu de culture*

- ➔ milieux liquides
- ➔ incubation prolongée de 15 jours

- Problème d'échantillonnage

➔ Prélèvements multiples

- Croissance normale d'une espèce bactérienne, masquant ou inhibant la bactérie  
*. En petite quantité  
. Et de vitalité réduite*

- ➔ Antibiogramme à partir d'un milieu liquide
- ➔ Incubation prolongée
- ➔ Regard attentif des milieux

## Conclusion

Pour faire le diagnostic d'une infection sur matériel étranger, il faut :

- un chirurgien
- un bactériologiste

Dotés de

VOLONTE  
OBSTINATION  
PATIENCE  
CONFIANCE