

Diagnostic microbiologique des IOA

Dr C. LOIEZ¹, Pr H. MIGAUD², Dr E. SENNEVILLE³

¹Laboratoire de Microbiologie - Lille

²Hôpital Roger Salengro Lille

³Clinique d'Orthopédie-Traumatologie - Lille

Diagnostic microbiologique des IOA

- Difficile
- Si prélèvements négatifs :
 - n'exclut pas le diagnostic
- Si prélèvements positifs :
 - peut être une contamination (bactéries responsables souvent commensales de la peau)
- Difficultés d'interprétation
- Pas de règles diagnostiques consensuelles

Cas clinique

- Henri, 65 ans, DNID depuis 15 ans
- Prothèse Totale de Hanche (PTH) gauche en Janvier 2007 pour arthrose
- Consultation en Novembre 2007 pour problème de cicatrice et douleurs persistantes de la hanche opérée
- Température : 37,6°C
- GB : 8000/mm³ (50% PNN)
- VS 52mm, CRP 10 mg/L





Q1. Quels sont les arguments cliniques en faveur d'une infection d'une prothèse articulaire ?

1. Fistule à proximité de la prothèse
2. Douleur persistante
3. Désunion ou nécrose cicatricielle
4. Signes généraux (fièvre)
5. Au moins 3 de ces signes sont nécessaires

R1.

1. L'existence d'une fistule à proximité de la prothèse affirme l'infection

Dans le mois qui suit la mise en place d'une prothèse articulaire, les signes cliniques suivants sont évocateurs d'une infection de la prothèse :

2. Douleur persistante d'intensité croissante ou récente
3. Désunion ou nécrose cicatricielle
4. Existence de signes généraux (fièvre, frissons) sans autre cause
5. L'absence de signes inflammatoires cliniques locaux et généraux ne permet pas d'éliminer une infection sur prothèse

Q2. Quels sont les arguments biologiques en faveur d'une infection sur matériel et leur valeur diagnostique (hors microbiologie) ?

1. Aucun paramètre biologique spécifique
2. C-réactive protéine (CRP)
3. Vitesse de sédimentation (VS)
4. Leucocytose sanguine
5. Procalcitonine (PCT)

R2.

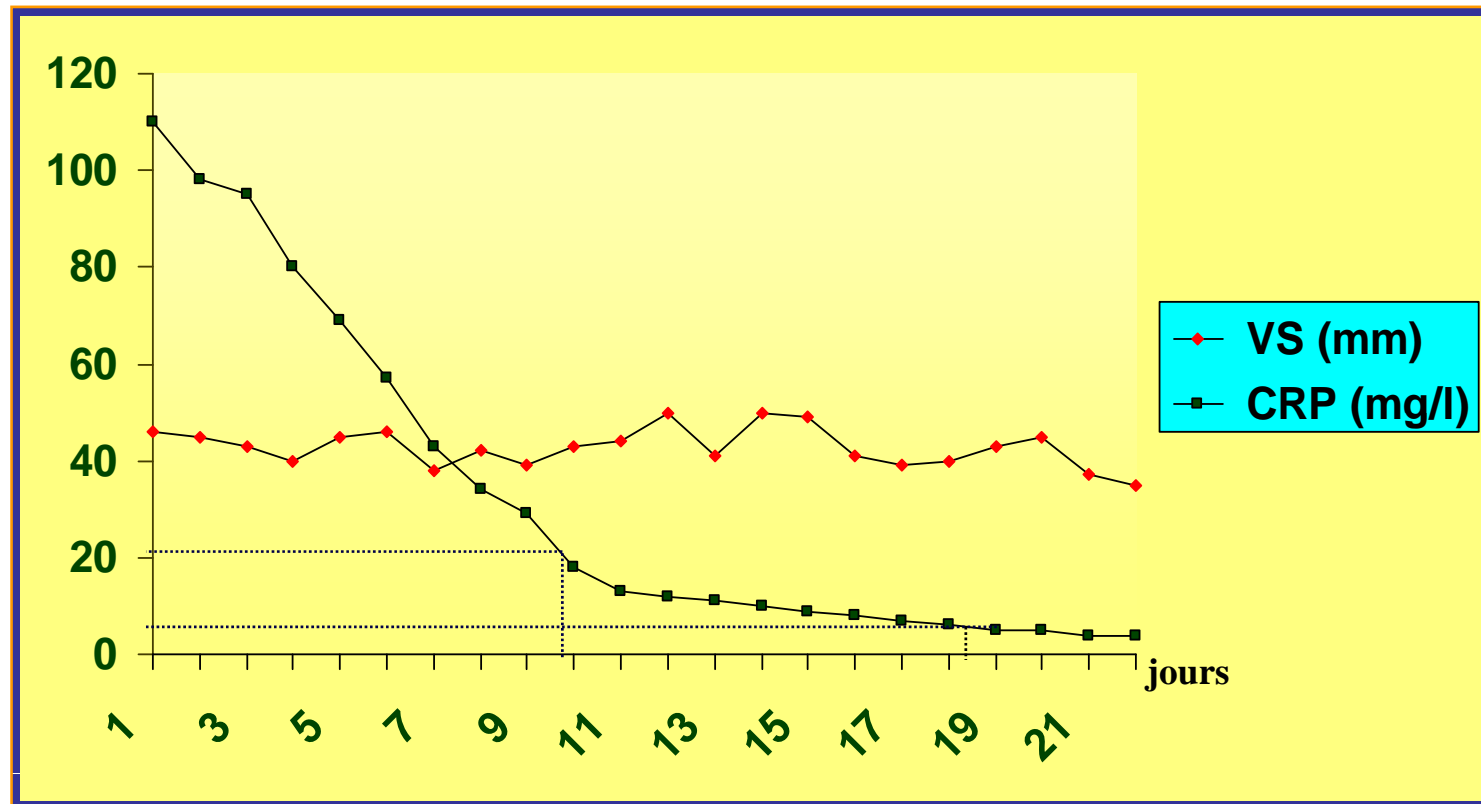
1. Aucun paramètre biologique n'est spécifique de l'infection sur prothèse.
2. Dans les suites d'une implantation d'une prothèse ostéo-articulaire, l'évolution de la C-réactive protéine (CRP) est un élément d'indication d'une infection, plus fiable que sa valeur absolue.
3. La vitesse de sédimentation (VS) n'a aucune valeur diagnostique.
4. La leucocytose sanguine n'a pas une bonne valeur prédictive positive et négative en cas d'infection sur prothèse.
5. Une valeur normale de la VS et/ou de la CRP n'exclut pas une infection ostéo-articulaire sur matériel.

Valeurs « seuils » pour la VS : 22-30 mm

pour la CRP: 10-13,5 mg/l

Sensibilité / Spécificité = 80% / 90%

Évolution comparée de la VS et de la CRP en période post-opératoire



Q3. Quel est l'examen d'imagerie le plus performant (sensibilité/spécificité) pour le diagnostic d'une infection de PTH ?

1. Radiographie standard
2. Tomodensitométrie (TDM)
3. Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)
4. Arthrographie
5. Tomographie d'émission aux positons (PET scan)
6. Scintigraphie aux leucocytes marqués

R3. 1. Radiographie standard

Il n'existe aucun signe radiographique formel d'infection sur matériel.

Signes radiologiques évocateurs :

- séquestre
- liseré clair autour du matériel
- zones d'ostéolyse
- réaction périostée
- présence de gaz intra-articulaire
- « balayage », fracture du matériel

Sensibilité / Spécificité = 14% / 70%

Radiographie standard



R3. 2. Tomodensitométrie

Scanner avec injection :

- pour apprécier la structure osseuse sur os périphérique
- pour analyser des parties molles ++++

Signes tomodensitométriques évocateurs :

- présence d'appositions périostées (Sensibilité / Spécificité = 16% / 100%)
- ostéolyses floues autour du matériel
- anomalie des tissus mous (Sensibilité / Spécificité = 100% / 87%)
- collection dans les parties molles (VPP = 100 %)
- absence d'épanchement intra-articulaire (VPN = 96 %)

R3. 3. Imagerie par Résonance Magnétique

L'IRM avec injection intra-veineuse de gadolinium permet de visualiser avec précision les anomalies des parties molles en cas d'infection sur matériel d'ostéosynthèse.

La structure osseuse au contact d'un matériel d'ostéosynthèse n'est pas analysable et il existe des anomalies de signal de la médullaire osseuse en période post-opératoire précoce.

R3. 4. Arthrographie

Dans le bilan préopératoire

Utile pour visualiser un trajet fistuleux et/ou une collection para-articulaire.

Elle permet la réalisation d'une ponction pour étude microbiologique.

N'a aucun intérêt dans le suivi de l'infection.

R3. 5. PET scan

Sa place n'est pas encore validée ni recommandée dans la prise en charge des patients.

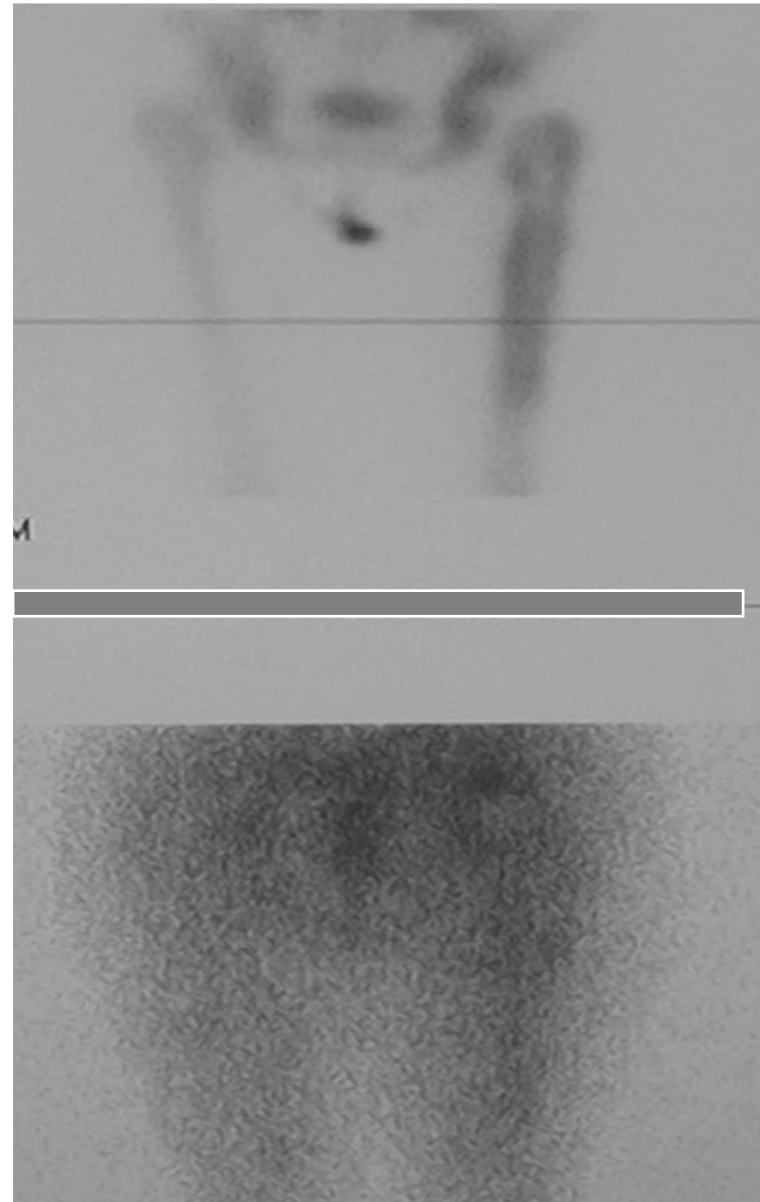
R3. 6. Scintigraphies

La scintigraphie osseuse au HDP-Tc99m ou au HMDP-Tc99m est précocement positive.

Un examen négatif exclut quasiment le diagnostic.

Nombreux faux positifs en période post-opératoire.

Scintigraphie leucocytes marqués



R3. 6. Imagerie nucléaire

Examen	HDP-Tc99m ou HMDP-Tc99m	Leukoscan®	Leucocytes marqués au HMPAO-Tc-99m
Sensibilité	90-100 %	86%	81-97 %
Spécificité	30-40%	77%	89-100 %

Q4. Quelle(s) proposition(s) vous permet(tent) de retenir le diagnostic d'infection à *S. epidermidis* de cette PTH ?

1. 3 prélèvements per-opératoires positifs
2. 2 prélèvements per-opératoires positifs + anatomopathologie évocatrice
3. 2 prélèvements per-opératoires positifs
4. 1 prélèvement per-opératoire et 1 liquide articulaire positifs
5. 1 seul prélèvement réalisé et positif

R4.

Diagnostic basé sur la comparaison de plusieurs prélèvements profonds

1. **Infection certaine** = plusieurs prélèvements positifs avec la (ou les) même(s) bactérie(s) ayant le même antibiogramme
2. **Infection probable** = 1 ou 2 prélèvements positifs parmi plusieurs
Importance de la confrontation des données cliniques, chirurgicales, radiologiques, anatomopathologiques et bactériologiques
4. **Probable contamination** = 1 seul prélèvement positif dans un seul milieu de culture avec plusieurs prélèvements négatifs
5. **Résultat ininterprétable** = 1 seul milieu de culture positif dans l'unique prélèvement effectué

Faux positifs

- Prélèvements mal faits = cutanés (écouvillon, liquide de drain, extrémités de drains..)
- Prélèvements mal techniqués = contaminés lors de manipulations
- Multiplication démesurée des prélèvements

Q5. Quels sont les sites anatomiques à prélever ?

1. Os fémur
2. Os acétabulaire
3. Liquide articulaire
4. Tissus péri-cicatriciels
5. Parties molles

R5.

Plus de la moitié des infections sur prothèse articulaire est liée à des **bactéries commensales** de la peau.

Il est nécessaire de disposer de **plusieurs prélèvements** pour en faciliter l'interprétation des cultures.

Il est généralement recommandé de prélever **3 à 5 échantillons** en privilégiant les sites qui paraissent suspects lors de l'intervention ou en fonction des données de l'imagerie ; si possible, en changeant de matériel de prélèvement.

En cas de reprise septique, il semble préférable de **ne pas utiliser d'antibioprophylaxie.**

Q6. Quelles sont les bactéries le plus fréquemment impliquées dans les infections osseuses sur matériel ?

1. SARM
2. Bactéries commensales de la peau
3. Mycobactéries
4. Bactéries au métabolisme ralenti
5. Bactéries ne cultivant pas sur des milieux dits « classiques »

R6.

Bactéries impliquées

- **Bactéries commensales** (SCN, corynébactéries, *P.acnes*, entérobactéries..)

- **Bactéries pyogènes**
 - *S.aureus*
 - Streptocoques β -hémolytiques du groupe B, A, C, G
 - *S.anginosus*, *S.constellatus* ou *S.intermedius*

- **Micro-organismes inhabituels**
 - Mycobactéries (nécessité de faire une **demande spécifique**)
 - Champignons (qui peuvent avoir des exigences de t°)

- ⌘ bactéries au métabolisme ralenti : donc culture lente
- ⌘ faible inoculum bactérien
- ⌘ répartition non homogène des bactéries dans le site infecté

Microbiologie des infections sur prothèse articulaire

	Berbari (n=462)	Steckelberg (n=1023)	Tsukayama (n=106)
<i>S. aureus</i>	101 (22)	240 (23)	33 (31)
SCN	86 (19)	254 (25)	56 (53)
Streptocoques	42 (9)	79 (8)	14 (13)
Bacilles Gram -	38 (8)	114 (11)	21 (20)
Anaérobies	29 (6)	62 (6)	12 (11)
Culture -	38 (8)	83 (8)	3 (3)
Autres	21 (5)	54 (5)	11 (10)
Polymicrobien	88 (19)	147 (14)	27 (25)

Diapositive de J.M. Besnier

Q7. Quels sont les types de prélèvements à réaliser ?

1. Écouvillonnage de la fistule
2. Ponction articulaire pré-opératoire
3. Prélèvements per-opératoires multiples
4. Aspiration à l'aiguille de la lésion collectée
5. Hémocultures

R7.

Prélèvements superficiels = mauvais prélèvements

- Écouvillonnage de fistule ou de cicatrice : pas de valeur décisionnelle
 - Interférence de la flore commensale cutanée
 - Faible corrélation avec les bactéries responsables de l'infection
- Liquides de drains, redons...: à discuter
- Aspiration à l'aiguille en cas de lésion collectée, ou de fistule (en peau saine) : pas de corrélation entre les bactéries de la fistule et ceux responsables de l'infection en profondeur, sauf en cas de *S. aureus*.

Prélèvements profonds +++ = valeur indiscutable

- Liquides : ponction articulaire, liquide de lavage, abcès
- Fragments tissulaires : os, synoviale, capsule, tissu de nécrose...
- Matériels : vis...
- +/- Hémocultures

Fiabilité des prélèvements superficiels

Pollution par la flore cutanée (résidente + transitoire)

Faible corrélation avec les bactéries responsables de l'infection profonde

Exception : fistule à *Staphylococcus aureus*

- Fistule (F) versus prélèvement per-op (PPO)
- F = PPO dans 43% des cas
- Entérobactéries = 29%
- Streptocoques = 15%
- *Pseudomonas* sp. = 8%
- Staphylocoque doré = 78% (ignoré par F dans 44% des cas)



(Mackowiak, *JAMA* 1978)

Ponction articulaire

Rendement

- Phillips, *Clin Orthop Related Res* 1983 : VPP = 24%, VPN > 90%
- Barrack, *JBJS* 1993 : VPP = 6% (58% SCN)
- Duff, *Clin Orthop Related Res* 1996 : VPP = 100% ; VPN > 90%
- Spangehl, *JBJS* 1999 : VPP = 67% (77% si répétée)
- Somme, *JBS* 2003 : VPP = 100% ; VPN = 85%

Ponction articulaire

Pas systématique

Sélection des patients

- clinique, historique
- prothèse de moins de 5 ans
- VS et/ou CRP anormale
- arrêt des antibiotiques

Asepsie chirurgicale

À refaire si

- bactérie de la flore cutanée
- négative (?)

Prélèvements per-opératoires (PPO)

297 patients évaluables révision PTH/PTG
41 infections (65% cultures PPO positives)

Nb culture PPO +	Histologie (> 5 PNN/champ X 400)		VPP
	+	-	
≥ 3	27	1	96%
	19*	1*	95%*
2	2	6	25%
1	5	42	10%

* : staphylocoque à coagulase négative

Atkins, *JCM* 1998

Prélèvements per-opératoires (PPO)

Améliorer le rendement des PPO :

- coloration de Gram (Atkins, *JCM* 1998)
 - Spe = 98%
 - Se = 12%

- histologie (Pandey, *JCP* 1999)
 - 1-10 PNN/champ X 400
 - sensibilité > 80% ; spécificité > 90%
 - choix des spécimens
 - résultats différents d'une étude à l'autre

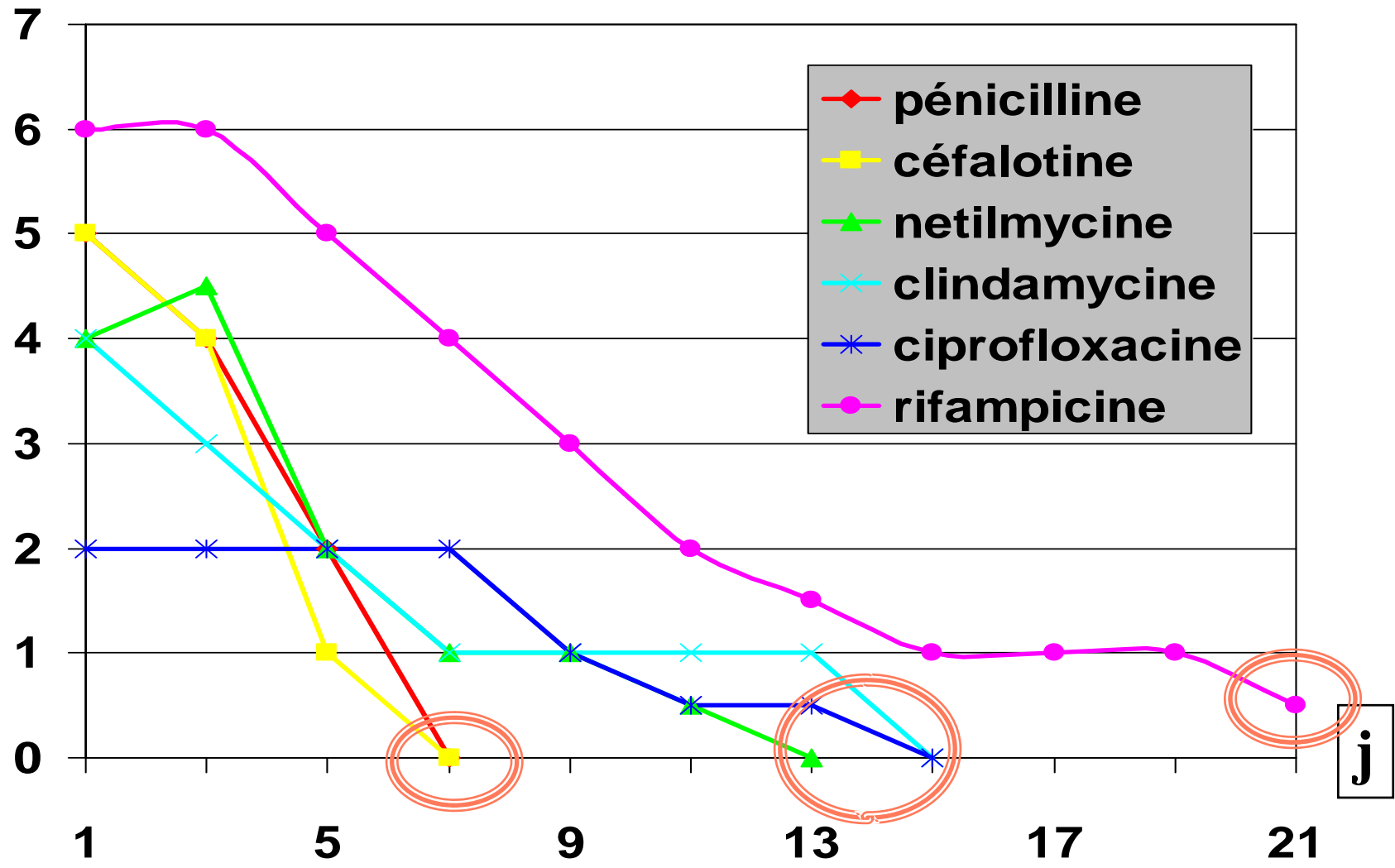
Prélèvements per-opératoires (PPO)

Prélèvements systématiques :

- Dupont, *Clin Orthop Related Res* 1986
 - 450 patients implantation PTH
 - 81 patients culture + (121 bactéries)
 - infection PTH = 9 (11%)
 - 369 patients culture –
 - infection PTH = 11 (3%)

- Barrack, *JBJS* 1993
 - 270 reprises PTH/PTG
 - 54 cas (20%) avec culture positive (58% *S. epidermidis*)
 - dans la moitié des cas : faux positif

x CMI



Faux négatif : délai sans antibiotique

	ATB dans les 2 semaines	Pas d'ATB depuis 2 semaines	Jamais ATB
N ponctions	16	67	53
Sensibilité (%)	41.6	61.1	75
Spécificité (%)	100	95.9	95.5
VPP (%)	100	84.6	75
VPN (%)	36.4	87	95.5

Barrack, *Clin Orthop* 1997

Q8. Quelles sont les techniques microbiologique à mettre en place au laboratoire ?

1. Analyse cytologique du liquide articulaire
2. Examen direct des différents prélèvements (Gram)
3. Mise en culture sur des milieux enrichis en aérobiose et en anaérobiose
4. Inoculation de flacons d'hémocultures aérobie et anaérobie
5. Incubation des milieux de culture au moins 3 j
6. Réalisation d'un antibiogramme pour chaque espèce retrouvée

R8. 1. Analyse cytologique

L'examen cytologique (numération et formule) du liquide articulaire doit être réalisé dans les 2 heures qui suivent le prélèvement.

Éléments évocateurs d'une infection sur prothèse :

plus de 1700 leucocytes/mm³ (sensibilité / spécificité = 94% / 88%)

plus de 65% de polynucléaires neutrophiles

Nombre des leucocytes contenus dans le liquide synovial pour affirmer l'infection ?

Liquide articulaire	Infection	Pas d'infection	p
leucocytes totaux	18.900/mm ³ (300-178.000)	300/mm ³ (100-1.600)	<0.0001
% PNN	92 (55-100)	7 (0-79)	< 0.0001

Liquide articulaire	Spécificité	Sensibilité
Leucocytes > 1.700/mm ³	94%	88%
% PNN > 65	97	98

Trampuz, *Am J Med* 2004 (PTG)

R8. 2. Examen direct des frottis

L'examen direct doit à la fois rechercher la présence de polynucléaires neutrophiles (mieux identifiés après la coloration de May Grunwald) et la présence de bactéries (coloration de Gram).

Examen peu contributif

- faible corrélation avec la culture : souvent négatif
- parfois permet une orientation thérapeutique en urgence

Sensibilité / Spécificité = 6% / 100%

R8. 3. et 4. Milieux à ensemencher

Il est recommandé d'ensemencer les différents prélèvements sur des géloses enrichies en aérobie et en anaérobie

Il est possible d'inoculer des flacons d'hémoculture aérobie et anaérobie. Cette technique d'enrichissement est intéressante pour les bactéries de croissance lente, du fait d'une quantité de liquide mise en culture plus importante, de la présence de résines adsorbant les antibiotiques et de l'action d'un agent lytique permettant de lyser les cellules dans lesquelles se trouvent les bactéries.

R8. 5. Durée d'incubation

Au moins 10 jours et au plus 15 jours

Culture souvent lente (> 48 h)

- parfois uniquement dans les milieux enrichis
- présence de colonies d'aspect différent et de microcolonies
- possibilité d'association bactérienne

Techniques microbiologiques

	N prélèvements	N positifs	%
Culture standard	120	5	4
Sonication et culture	120	25	22
PCR 16S rRNA	118	85	72
Anatomopathologie	81	59	73

Tunney et al., *JBJS* 1999

Identification of bacteria on the surface of clinically infected and non-infected prosthetic hip joints removed during revision arthroplasties by 16S rRNA gene sequencing and by microbiological culture

Kate E Dempsey¹, Marcello P Riggio¹, Alan Lennon¹, Victoria E Hannah¹, Gordon Ramage¹, David Allan² and Jeremy Bagg¹

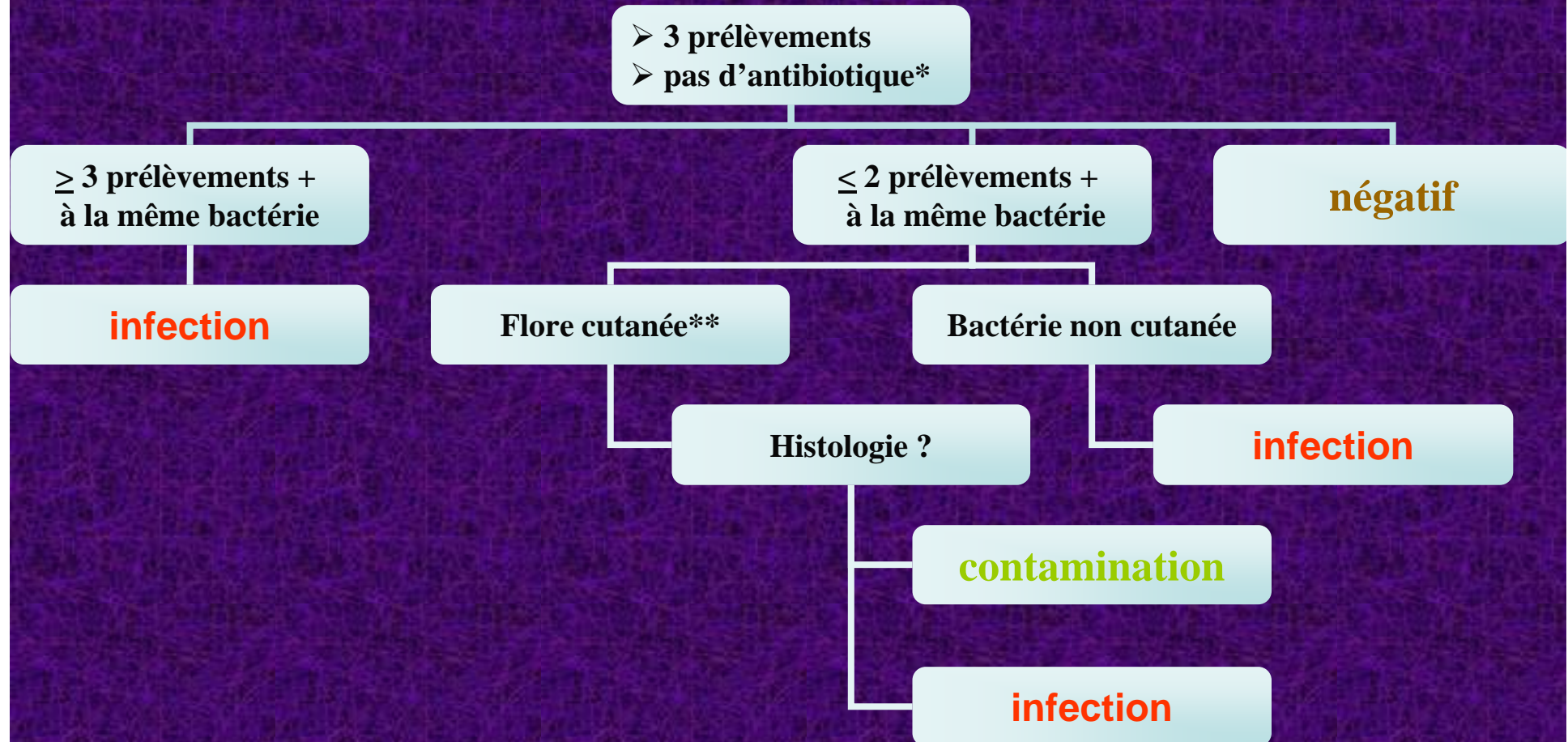
Arthritis Research & Therapy 2007,

Bacterial genera/groups identified by 16S rRNA gene sequencing of clones from 10 prosthetic hip joints

Genus	Number of clones analysed (percentage)	Number of clones sequenced (percentage)
<i>Lysobacter</i>	312 (60.9)	52 (44.1)
Gamma proteobacterium	41 (8.0)	8 (6.8)
<i>Stenotrophomonas</i>	34 (6.6)	9 (7.6)
<i>Methylobacterium</i>	24 (4.7)	5 (4.2)
<i>Staphylococcus</i>	24 (4.7)	5 (4.2)
Various bacterial clones	23 (4.5)	10 (8.5)
<i>Proteus</i>	18 (3.5)	5 (4.2)
<i>Bradyrhizobium</i>	11 (2.1)	4 (3.4)
<i>Bacteroides</i>	6 (1.2)	3 (2.5)
Hydrothermal vent eubacterium	6 (1.2)	6 (5.1)
Iron-oxidising lithotroph ES-1	5 (1.0)	5 (4.2)
Methylobacteriaceae ^a	4 (0.8)	2 (1.7)
<i>Acidobacteria</i>	1 (0.2)	1 (0.8)
<i>Eubacterium</i>	1 (0.2)	1 (0.8)
Endophytic bacterium	1 (0.2)	1 (0.8)
<i>Xylella</i>	1 (0.2)	1 (0.8)

In all, 512 clones were analysed, and 118 clones were sequenced.^aFamily.

Démarche diagnostique à partir des résultats des prélèvements per-opératoires



* : « fenêtre » de 2 - 4 semaines

** : SCN, *P. acnes*, corynébactéries

Q9. Comment interpréter des résultats microbiologiques stériles ?

1. Prélèvements réalisés sous antibiotique
2. Absence d'infection sur matériel
3. Prélèvement de mauvaise qualité (écouvillon)
4. Échantillon unique
5. Délai trop long entre le recueil et la mise en culture
6. Culture sur des milieux inappropriés trop pauvres et non prolongée
7. Implication d'un micro-organisme inhabituel

R9.

Conditions de prélèvements

□ Avant toute antibiothérapie

>< faux négatifs

- Pas d'antibiotique lors des prélèvements
- Fenêtre antibiotique d'au moins 3 semaines dans l'idéal, en cas d'infection chronique sous antibiotique :
 - . 1 mois pour la vibramycine et la rifampicine
 - . 3 semaines pour les fluoroquinolones, macrolides et aminosides
 - . au moins 10 jours pour les autres ATB

□ Multiplication des prélèvements

>< faux positifs

en cas d'infection chronique

faux négatifs

valeur des bactéries authentifiées par leur présence dans plusieurs prélèvements profonds

Diagnostic microbiologique des infections sur matériel : l'exemple des infections de prothèse articulaire

Sélection des malades, pas systématique

Se limiter aux techniques fiables

- ponction articulaire (à répéter si flore cutanée)
- prélèvements per-opératoires (au moins 3 voire 5)

Ménager une période sans antibiotique

Interpréter les résultats +++

Aide de l'histologie (?)

Discussion avec les microbiologistes +++