

Mise au point d'une méthode de biologie moléculaire pour le diagnostic des infections de prothèse articulaire



Charles CAZANAVE

**Service des Maladies Infectieuses et Tropicales A - CHU Bordeaux
Infectious Diseases Research Laboratory - Pr. Robin PATEL**

Introduction

- **Diagnostic des infections de prothèse artic. (IPA) → pas facile !**
 - . **Présentation clinique**
 - . **Marqueurs inflammatoires (VS, CRP)**
 - . **Liquide synovial : cytologie, culture**
 - . **Purulence, fistule**
 - . **Histopathologie: inflammation aiguë**
 - . **Cultures : tissus péri prothétiques, liquide sonication**

Del Pozo and Patel N Engl J Med 2009

- **Diagnostic microbiologique des IPA basé sur la culture, mais délai long parfois (~ 14 jours pour les espèces fastidieuses)**
- **Culture après sonication plus sensible**

Trampuz and Patel N Engl J Med 2007

Introduction

- Méthodes moléculaires ?

Study	Target, specimen	Sensitivity		Patients
		PCR	Culture	
Vandercam <i>et al.</i> 2008	16S rRNA, tissue	91%	65%	69
De Mann <i>et al.</i> 2009	16S rRNA, tissue	50%	58%	26
Acherman <i>et al.</i> 2010	Multiplex, sonicate fluid	78%	62%	37 PJI

- Avantages :

Plus sensibles que culture, mais avec quelle spécificité?
Moins affectées par l'utilisation préalable d'antibiotique
Diagnostic rapide (< 14 jours)

Objectifs

1/ Développement d'un panel de 10 PCR en temps réel pour détecter les bactéries fréquemment associées aux IPA

2/ Evaluation de ce panel sur des liquides de sonication de prothèses déposées pour le diagnostic microbiologique d'IPA

Objectif 1 - développement panel 10 PCR

Assay	Target	No. of probes	Comments
<i>Staphylococcus</i>	<i>tuf</i>	2 PanStaph probes 2 <i>S. aureus</i> -specific probes	<i>S. aureus</i> differentiated from SCN
<i>Streptococcus</i>	<i>rpoB</i>	2	<i>S. agalactiae</i> differentiated (higher Tm)
<i>Enterococcus</i>	<i>rpoB</i>	2	<i>Granulicatella</i> sp. positive with \neq Tm
Enterobacteriaceae	<i>rpoB</i>	2	
<i>Proteus</i>	<i>rpoB</i>	2	
Gram-positive anaerobic cocci	16S rRNA	2	
<i>Propionibacterium</i>	16S rRNA	2	<i>Actinomyces</i> sp. positive with \neq Tm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>gyrB</i>	2	
<i>Corynebacterium</i>	kinase	1 "common" probe (FITC) 1 <i>C. jeikeium</i> -specific (705) 1 other <i>Coryne.</i> sp. (640)	<i>C. jeikeium</i> differentiated from other <i>Corynebacterium</i> sp.
<i>Bacteroides fragilis</i> -group	<i>leuB</i>	2	

Objectif 2 - méthodes

. Population

434 liquides de sonication (= 434 patients) de remplacement de prothèses de genou et de hanche, collectés entre 2006 et 2011

. **Diagnostic d'IPA** si présence d'au moins 1 des critères suivants

- Pus articulaire
- Fistule communiquant avec la prothèse
- Histopathologie : inflammation aiguë

Berbari and Osmom CID 2007

Méthodes (suite)

. Méthodes microbiologiques conventionnelles

→ liquide synovial (si disponible) et tissus péri prothétiques

. Sonication des prothèses explantées

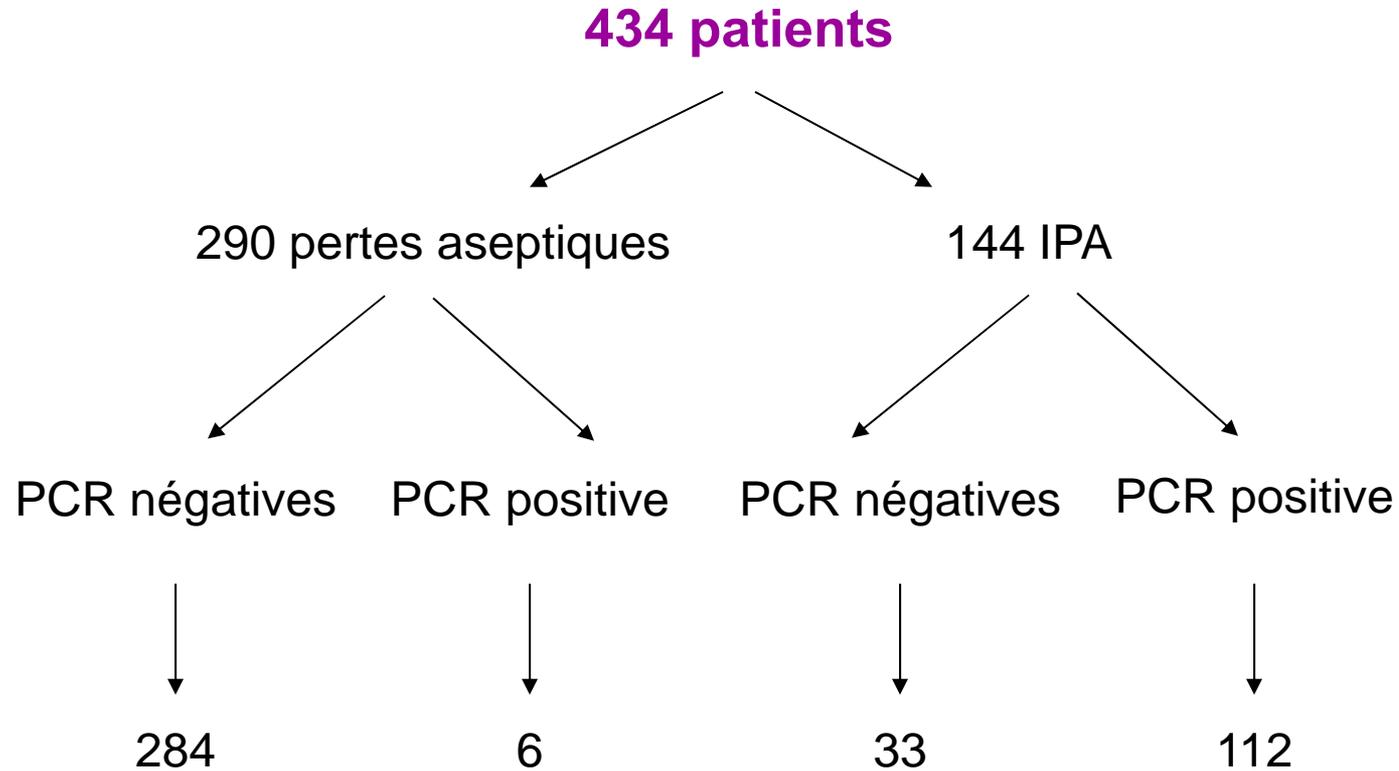
→ obtention liquide de sonication

→ culture du liquide de sonication

→ extraction du liquide de sonication avec un kit « DNA-free »
(QIAamp UCP Pathogen Mini Kit)

. Panel de 10 PCR en temps réel

Résultats – évaluation du panel 10 PCR



Résultats tests microbiologiques

Microbiologic tests	Patients with aseptic failure (N = 290)	Patients with PJI (N = 144)
Synovial-fluid culture – no./total no. (%)	5/161 (3.1)	59/89 (66.3)
Periprosthetic tissue culture – no. (%)		
≥1 pos. culture	45 (15.5)	119 (82.6)
≥2 pos. culture w/ same organism	6 (2.1)	101 (70.1)
Sonicate-fluid culture – no. of positive (%)	5 (1.7)	105 (72.9)
10 assay panel results – no. of positive (%)		
Any positive	6 (2.1)	111 (77.1)
<i>Staphylococcus</i> sp.	2 (0.7)	75 (52.1)
<i>S. aureus</i>	0	28
Coagulase negative staphylococci	2	47
<i>Streptococcus</i> sp.	3 (1.0)	11 (7.6)
<i>Enterococcus</i> sp.	0	11 (7.6)
Enterobacteriaceae	1 (0.3)	8 (5.6)
Gram-positive anaerobic cocci	0	8 (5.6)
<i>Propionibacterium</i> sp.	0	8 (5.6)
<i>P. aeruginosa</i>	0	5 (3.5)
<i>Corynebacterium</i> sp.	0	4 (2.8)
<i>C. jeikeium</i>	-	0
Other <i>Corynebacterium</i> sp.	-	4
<i>Proteus</i> sp.	0	1 (0.7)
<i>B. fragilis</i>-group	0	0

Résultats

11 IPA poly microbiennes

10/11 + pour PCR *Staphylococcus*

5/11 2 PCR+, 2/11 3 PCR+, 4/11 4 PCR+

8/11 (72.7%) avec fistule

Bactéries anaérobies

14 IPA (9.7%) + pour au moins 1 des 3 « PCR anaérobies »

6/144 (4.2%) IPA mono microbiennes à anaérobies

3 *Propionibacterium* sp.

2 cocci anaérobies Gram positif (*Finegoldia magna*)

1 *Actinomyces* sp.

Résultats

Comparaison des tests microbiologiques pour le diagnostic des IPA

Test (N = 434)	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value	Negative predictive value
10 assay panel	77.1	97.9	94.9	89.6
Sonicate culture (>20 CFU/plate)	72.9	98.3	95.5	88.0
Tissue culture				
≥1 positive culture	82.6	84.5	72.6	90.7
≥ 2 positive culture w/ same organism	70.1	97.9	94.4	86.9
Synovial fluid culture (N = 250)	66.3	96.9	92.2	83.9

P = 0.049

P = 0.134

“Take-home messages”

- **Diagnostic moléculaire avec le panel 10 PCR utilisé sur le liquide de sonication comparé à la culture du liquide de sonication**
 - . **Aussi spécifique** → pas de problème de faux positifs
 - . **Au moins aussi sensible**
 - . **Plus rapide** → max. 2 jours vs. 14 jours
- **Intéressant pour les patients avec**
 - . Infections poly microbiennes
 - . Antibiothérapie préopératoire (culture décapitée)
- **Pas intéressant pour les patients avec**
 - . Infections fongiques ou agents inhabituels (mycobactéries)

Valorisation

- **2011** : « **Development of Real-Time PCR Assays to Rapidly Detect Anaerobic Bacteria Which Cause Prosthetic Joint Infection** »

Cazanave C, Greenwood-Quaintance KE, Schmidt SM, Karau MJ, Steckelberg JM, Patel R. **51st ICAAC**, septembre 2011. Poster D-1290
ASM ICAAC ID Fellows Grant Program

- **2012** : « **Identification of Non-diphtheriae *Corynebacterium* by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry** »

Alatoom AA, Cazanave C*, Cunningham SA, Ihde SM, Patel R. **J Clin Microbiol.** 2012;50(1):160-3

* 1^{ers} co-auteurs

- **2012** : « ***Corynebacterium* Prosthetic Joint Infection** »

Cazanave C, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen AD, Patel R. **J Clin Microbiol.** 2012;50(5):1518-23.

Valorisation

- « **Rapid Molecular Microbiologic Prosthetic Joint Infection Diagnosis** »

Cazanave C, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen AD, Karau MJ, Schmidt SM, Gomez E, Mandrekar JN, Osmon DR, Lough LE, Steckelberg JM, Patel R. En cours de soumission

- « **Prosthetic Joint Infection Diagnosis using Broad-Range PCR of Biofilms Dislodged from Knee and Hip Arthroplasty Surfaces** »

Gomez E, Cazanave C, Cunningham SA, Greenwood-Quaintance KE, Steckelberg JM, Uhl JR, Hanssen AD, Karau MJ, Schmidt SM, Osmon DR, Berbari EF, Mandrekar JN, Patel R. **J Clin Microbiol**. En cours de reviewing

Remerciements

- Pr. Robin PATEL
- CMIT
- Pr. Michel DUPON
- Pr. Didier NEAU
- Tout le staff de l'ID Research Lab
 - . Kerryl
 - . Suzannah
 - . Melissa
 - . Paschalis
 - . Eric
 - . Ashley



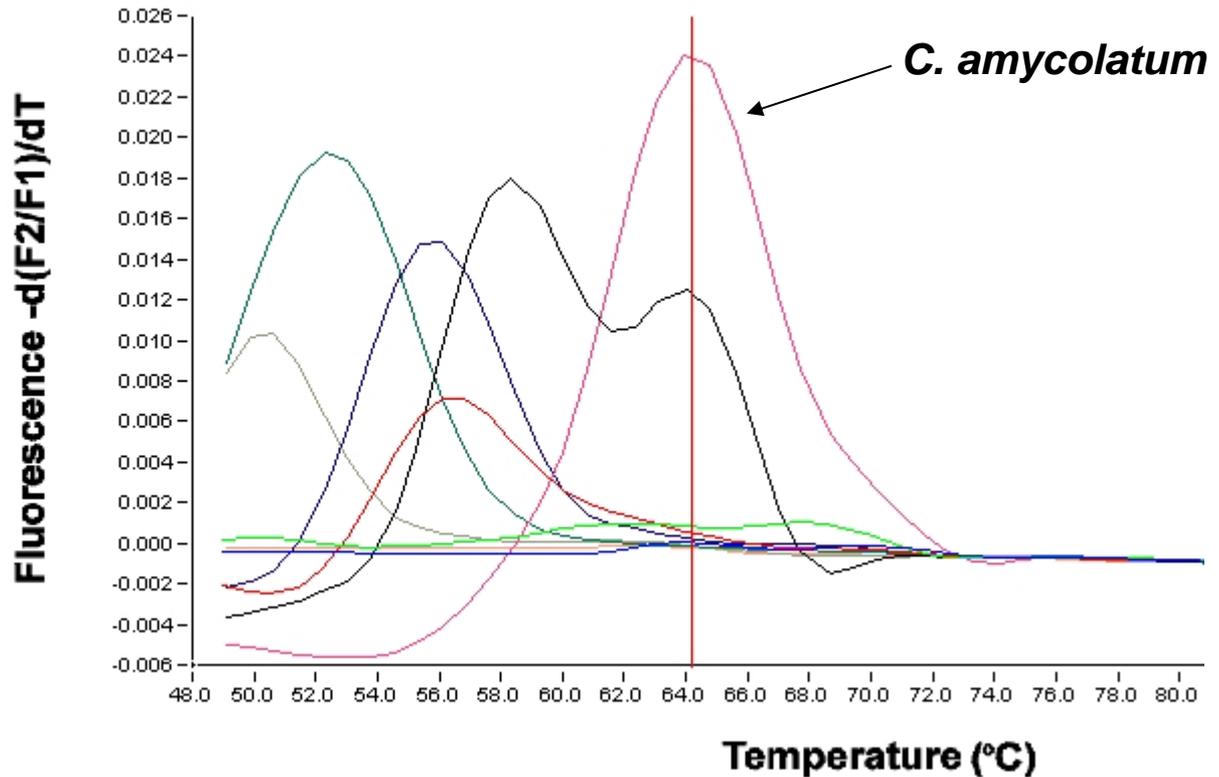
MERCI POUR VOTRE ATTENTION



Bordeaux, “miroir d’eau”

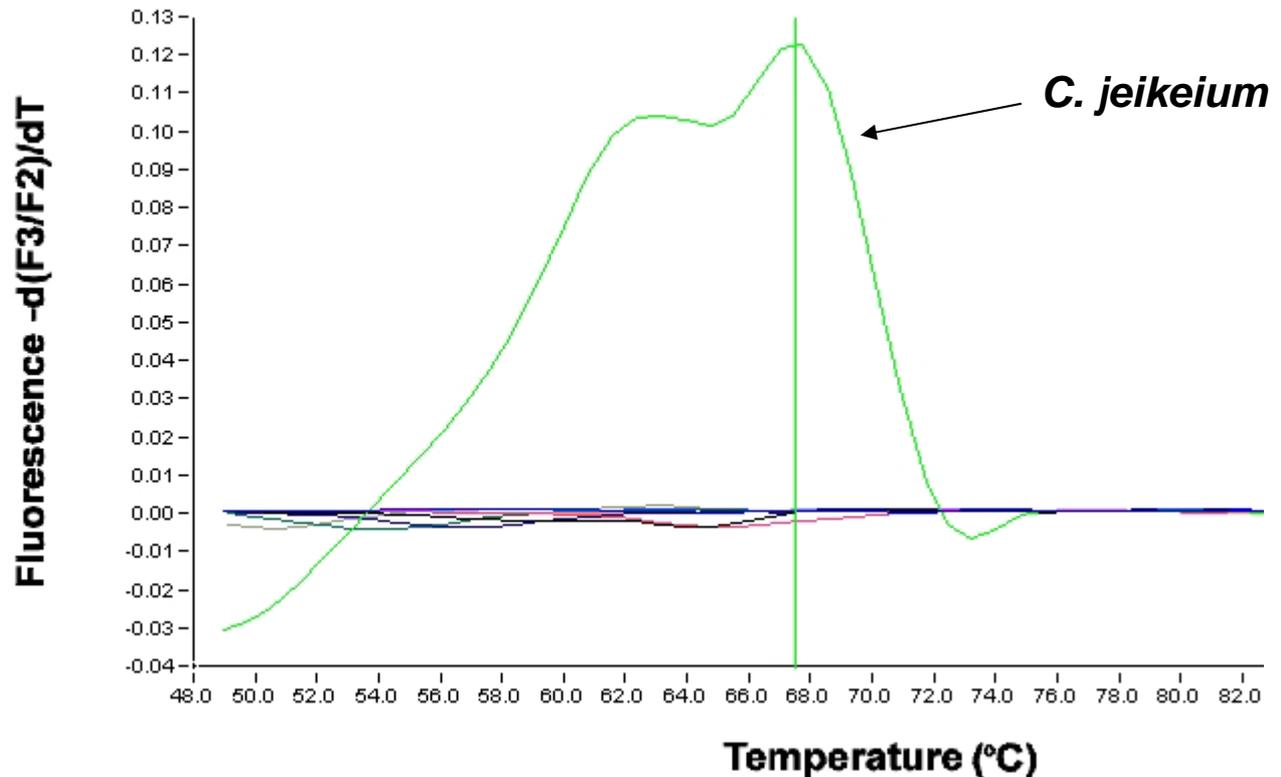
Corynebacterium species assay

- 1 NT
- 2 C. jeik
- 3 C. auri
- 4 C. tuberculo.
- 5 C. amy 6281(2)
- 6 C. sim 7734
- 7 C. pro 7596(2)
- 8 C. str 8764
- 9 C. group F1 7363



Corynebacterium species assay

- 1 NT
- 2 C. jej
- 3 C. auri
- 4 C. tuberculo.
- 5 C. amy 6281 (2)
- 6 C. sim 7734
- 7 C. pro 7596(2)
- 8 C. str 8764
- 9 C. group F1 7363



Streptococcus assay

- 1 NT
- 2 7601 S. mit CT
- 3 5613(2) S. ang
- 4 7463 S. aga
- 5 7131 S. mut

