

OPTIMISATION DES TRAITEMENTS DES I.O.A.

19 ème Journée de Pharmacologie Clinique Cochin - SVP

Place du laboratoire de microbiologie

Nicole DESPLACES
Groupe Hospitalier Diaconesses Croix-Saint-Simon
PARIS 20

Trouver la bactérie

- Indispensable pour traiter correctement ces infections.
- Facile si infection aiguë,
- Souvent difficile si infection chronique
 - Plusieurs prélèvements avant traitement AB ou après arrêt prolongé des AB (3 – 4 semaines)
 - Isolement laborieux des bactéries,
 - Plusieurs antibiogrammes,
 - Identification problématique (SCN),
 - Infections polymicrobiennes,

Importance de la qualité des prélèvements, du transport et des techniques utilisées au laboratoire.

Qualité des prélèvements

- Fistule
- Pus sur la compresse
- L'écouvillon sur la cicatrice

NUL

Prélèvements profonds dans le site de l'infection

- Liquide articulaire et lavages, biopsies synoviales
- Abscesses sous périoste
- Ponction médullaire, biopsie osseuse
- Prélèvements per-opératoires (tissus, os, matériels...)

Prélever est un geste médical

Qualité du transport

- Ponction

- Seringue bouchée à θ ° ambiante
- Flacons d'hémoculture à 37°C
- Tube hépariné.

Pas de transvasement dans un pot

- Prélèvements per-opératoires

- pots stériles spéciaux prévus pour cet usage, vendus sous emballage stérile unitaire .

- Milieux de transport



- Transport rapide
- < 2 heures
- Protocolisé
- Respect des bonnes pratiques

Au laboratoire

- Techniquer sous PSM 2 (hotte flux laminaire type 2)
- Casaque à usage unique et Gants stériles,
- Matériel à usage unique,
- Culture sur plusieurs géloses (O₂, CO₂, Anaérobiose), et dans
- Milieux liquides d'enrichissement Aérobie et Anaérobie,
- Culture prolongée au moins 10 jours, mieux 14 jours,
- Penser au BK,
- Conserver les prélèvements jusqu'au rendu des résultats,
- Congélation des prélèvements pour étude ultérieure,

Examen bactériologique

Liquides articulaires :

- Numération des éléments
- Recherche de cristaux
- Cytocentrifugation et colorations
 - MGG : Formule des éléments nucléés
 - Gram : Recherche de bactéries

Prélèvements tissulaires

- Colorations de frottis
 - MGG : cytologie (PNN, macrophages)
 - Gram : présence de bactéries ou non
 - Autres colorations Ziehl , auramine

Cultures prolongées en aérobiose et en anaérobiose **10 à 14 jours**

Liquides articulaires : Interprétation

< 1 000 GB	5 000 - 60 000 GB / mm ³			100 000 GB	
< 20% PNN	50% PNN	60-80% PNN		> 90%PNN	> 90% PNN
Arthrose	P R	Cristaux	Réactionnelle	Cristaux	Infection
Trauma	Lupus		Chlamydia, Yersinia, Salmonelle, Shigelle, Campylo, Neisseria, Lyme PCR	Infection	
Algodystrophie	Psoriasis				
Mécanique		Inflammatoire +/- septique			Septique

Liquide articulaire et prothèse

Cytologie		GB / mm ³	PNN %
PTG Infectée	Moyenne	18.900	92
	Ecart	(300 - 178.000)	(55 - 100)
Descellement aseptique	Moyenne	300	7
	Ecart	(100-16.000)	(0 - 79)

** Trampuz (Mayo Clinic) , Am J Med 15 oct 2004

Liquide articulaire et prothèse

Infection sur PTG	SENSIBILITE	SPECIFICITE
GB > 1700 / mm ³	94%	88%
PNN > 65%	97%	98%

** Trampuz, Am J Med 15 oct 2004

sensibilité = vrais (+), spécificité = vrais (-)

Définition de l'infection

- Au moins 2 prélèvements différents positifs avec les mêmes bactéries et
- Présence de polynucléaires neutrophiles
 - > 5 PNN/champ au x 400 dans au moins 10 champs

Diagnostic bactériologique

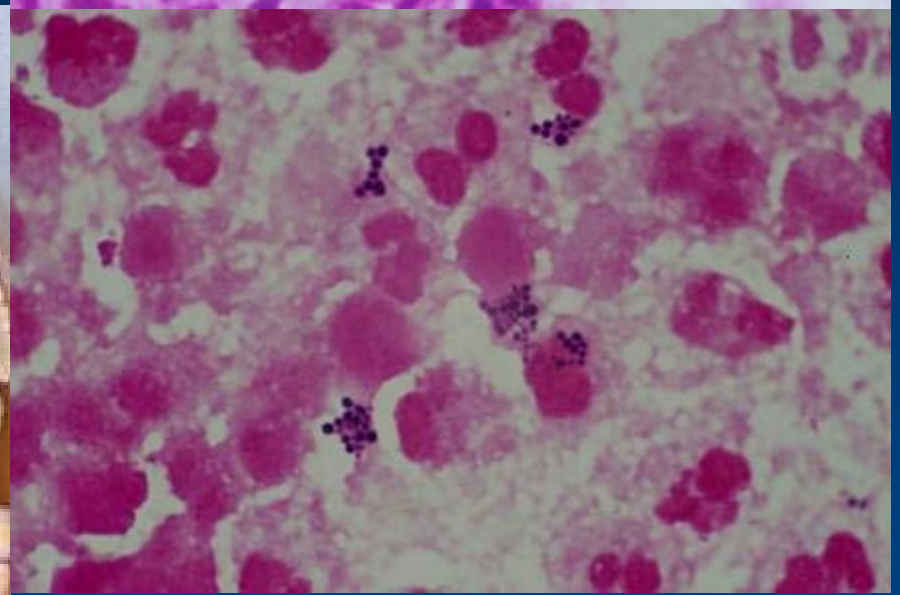
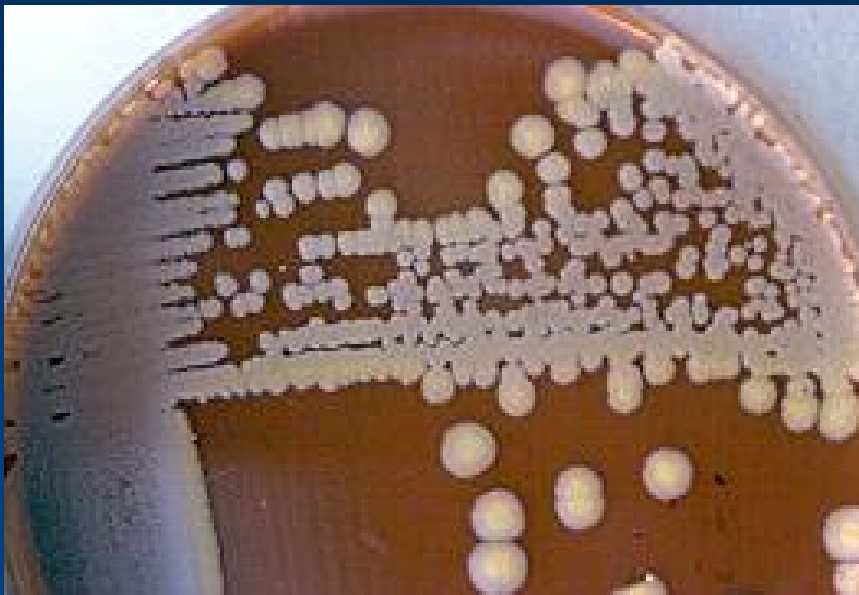
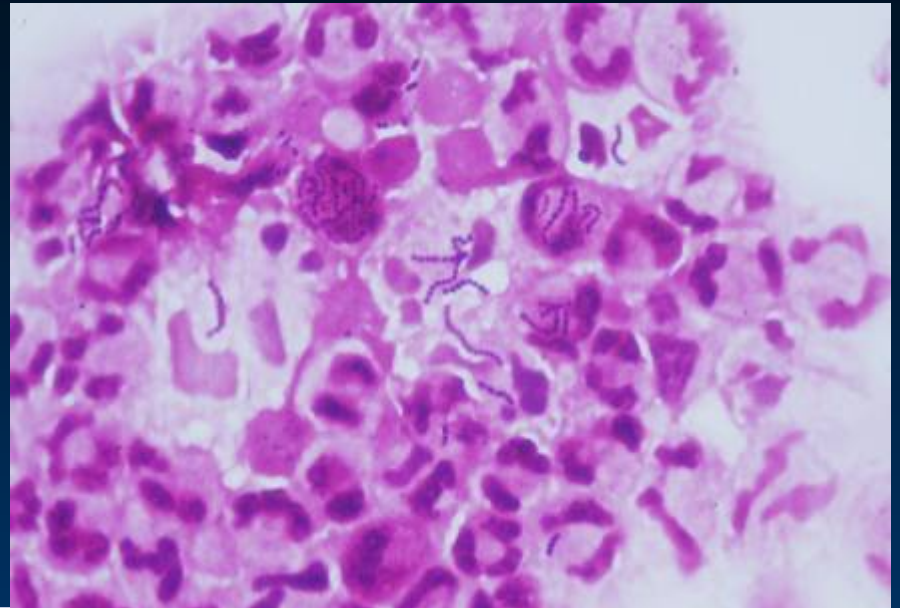
Infection aiguë

Facile

Bactérie normale

Culture rapide

ABg en 24 -48h

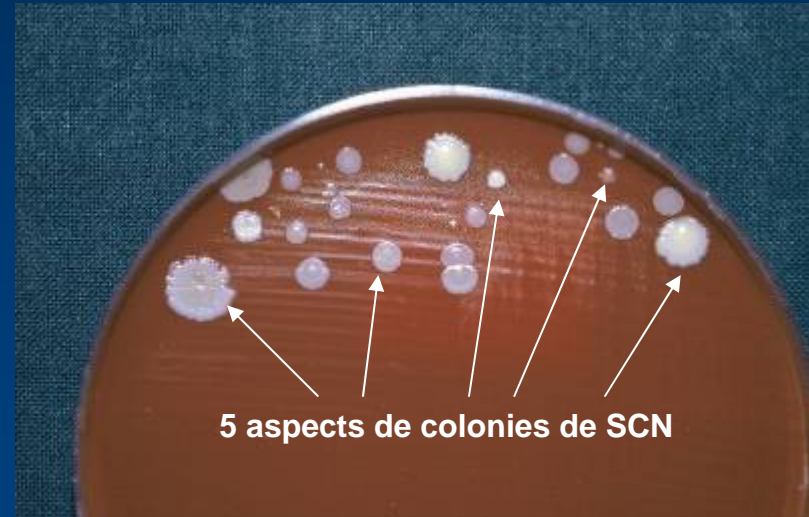


Diagnostic bactériologique

Infection chronique

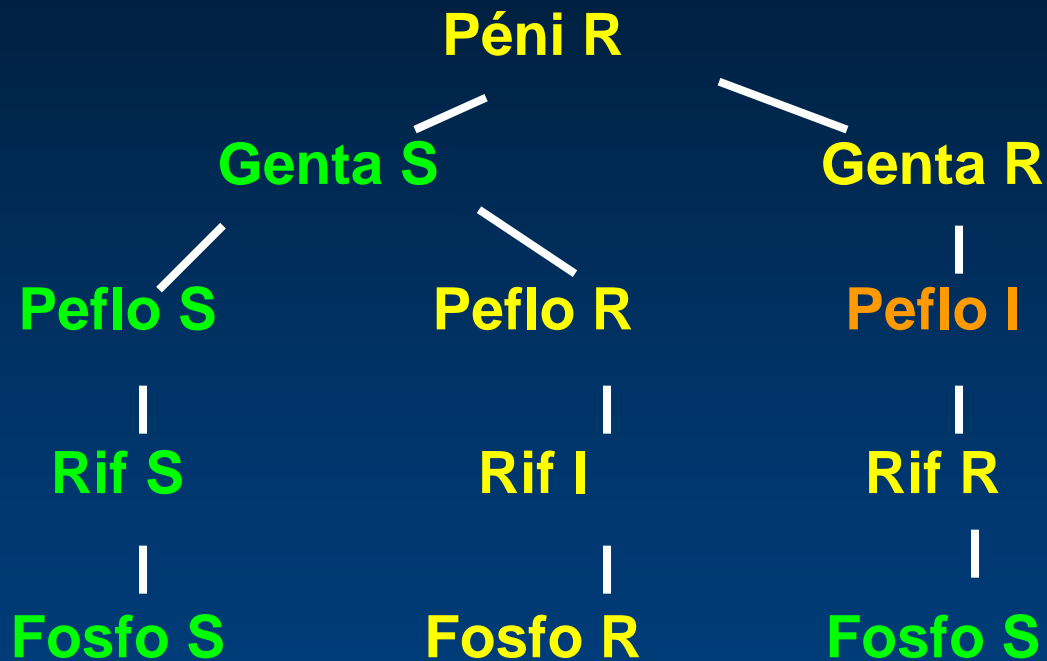
Souvent difficile, déconcertant

- Bactéries invisibles à l'examen direct
- Peu de PNN
- Les bactéries cultivent souvent mal
 - Lentement : 4 -13 j
 - En petit nombre
 - Plusieurs aspects
 - Cultures en bouillons d'enrichissement
- Aspect polymicrobien des cultures
- Plusieurs phénotypes de résistance....
- Identification difficile parfois

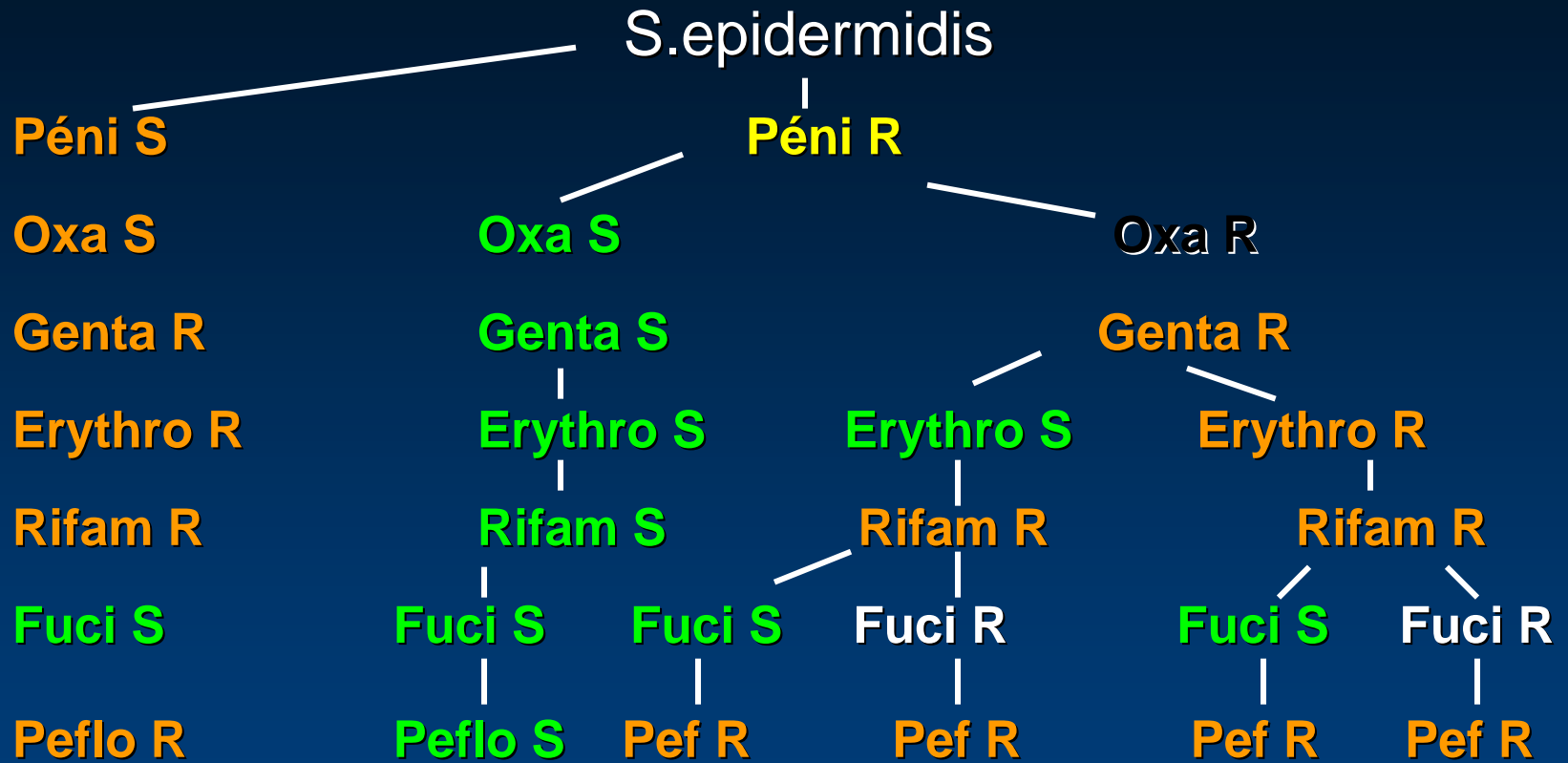


➔ Plusieurs prélèvements positifs

Variation phénotypique de résistance d'un même *S. aureus*



Variations phénotypiques d'un même génotype



Isolés dans
2 prélèvements sur 5

2/5

1/5

2/5

1/5

3/5

Revue de 100 PTA infectées traitées à la CSS :

460 prélèvementsensemencés

sur géloses Chocolat CO2 et Columbia Ana pendant 10 jours
et dans bouillons aérobie et anaérobie repiqués à J 7- J8 / 48 h

Résultats des cultures

Géloses	+	+ ou -	-	-	-
B Aer	+	+	+	+	
B Ana	+	+	+	-	+
%	21%	30 %	26 %	13 %	10 %

50%

« Prolonged Bacterial Culture to Identify late periprosthetic joint infection : a promising strategy »

CID 2008 : 47; 1 dec
(ENDO-KLINIK Hambourg)

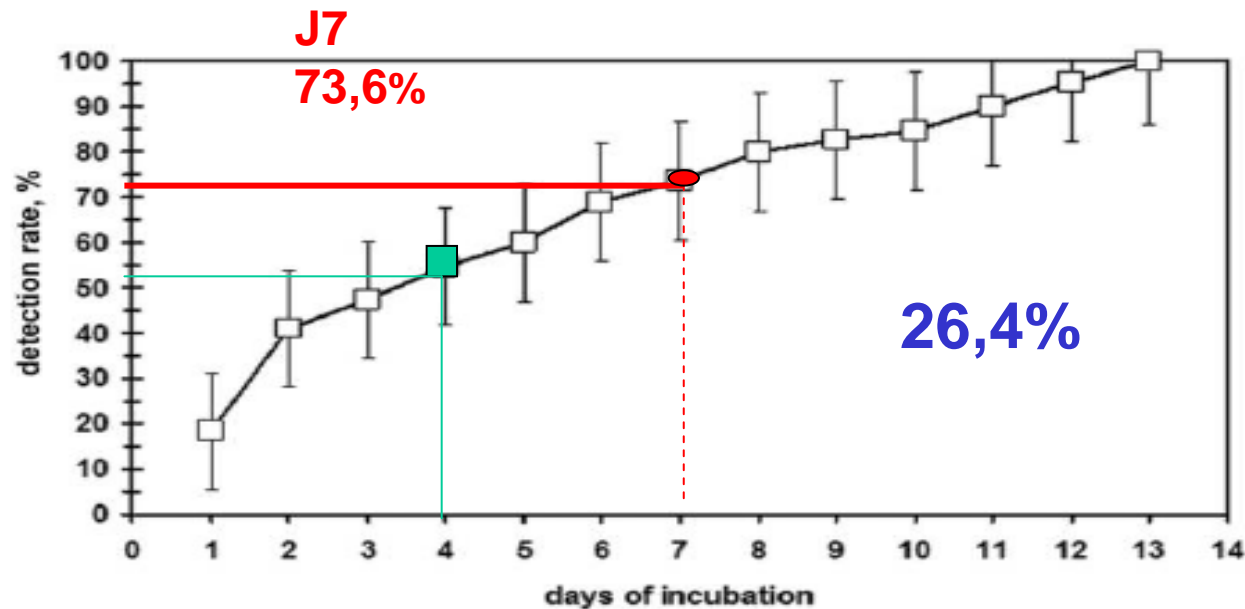
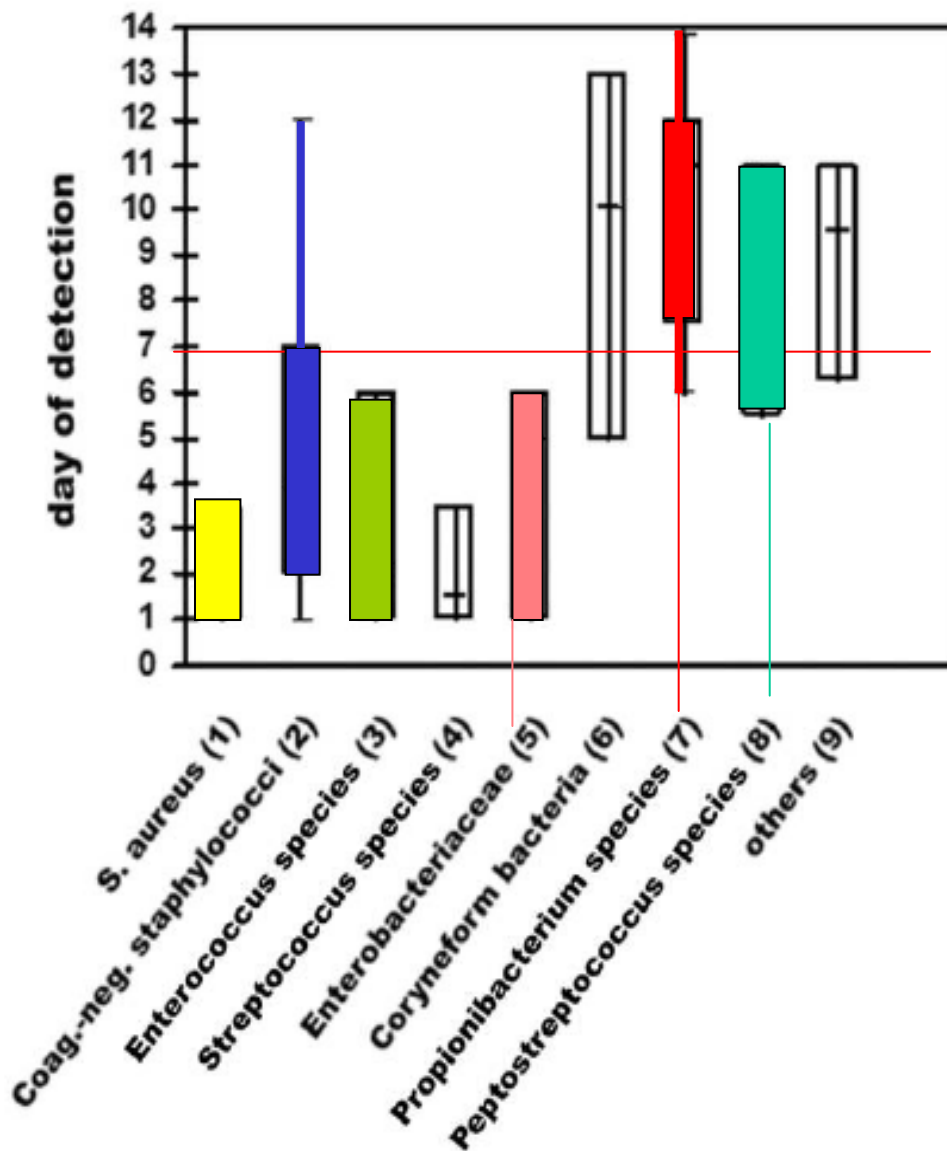


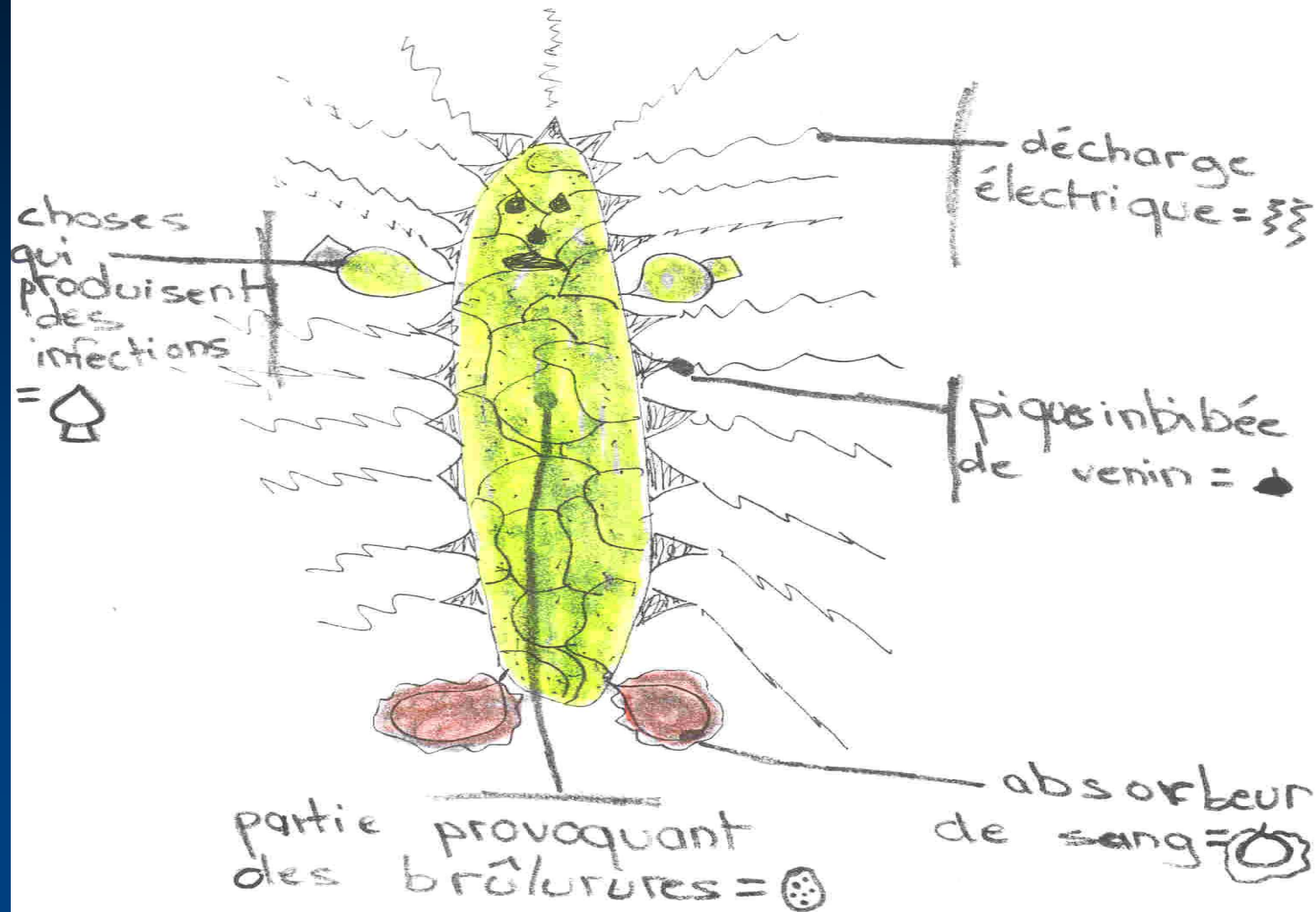
Figure 1. Time to diagnosis of infection by culture. Whisker lines span the 95% Hall-Wellner CI.



Délai
d'apparition des
bactéries dans
les infections sur
prothèses

CID 2008 1 Dec

STAPHILOCOQUE DORÉ



Marie
10 ans

Infections ostéo-articulaires : bactéries en cause

ADULTES

- Staphylococcus aureus
- Streptocoques β hém.
 - B, C, G, A
- Entérobactéries
 - *E coli*,
 - *K.pneumoniae*
 - *Salmonella*
 -
- Entérocoques
- Anaérobies (cocci ou bacilles)
- M. tuberculosis ou atypiques

- *Pneumocoque*,
- *Haemophilus spp*

NOUVEAUX-NES, ENFANTS

- **Staphylococcus aureus**
- Streptocoques β hém. B (NN) et A
- Entérobactéries
 - *E coli*,
 - *K.pneumoniae*
 - *Salmonella* (drépano)
 - *E. cloacae* (drépano)
- *Pneumocoque*,
- *Haemophilus spp*

- *Kingella kingae*
 - (arthrites du nourrisson)

Infections sur prothèses : bactéries en cause

PATHOGENES

- Staphylococcus aureus
- Streptocoques β hém. B, C, G, A
- Entérobactéries
 - *E coli*, *K.pneumoniae*
 - *Salmonella*
 -
- Entérocoques
- Anaérobies (cocci ou bacilles)
- M. tuberculosis ou atypiques

- *Pneumocoque*,
- *Haemophilus spp*
- *Listeria monocytogenes*
- *Campylobacter*
- *Brucella*
- *Pasteurella*.....

OPPORTUNISTES

- Staph à coag négative
- Corynébactéries
 - *C striatum*
 - *JK*
- *Propionibacterium acnes* ou sp.
- *Pseudomonas aeruginosa*

- Champignons
 - Levure *Candida*
 - *Aspergillus*, *Scedosporium*
 -

PEAU, AIR, EAUX

Bactériologie IOA chronique souvent difficile ?

Mode de survie particulier des bactéries dans l'os ou au contact d'un séquestre ou d'un matériel étranger :

- Biofilm
- Internalisation des bactéries
- Small colony variants

Les Prélèvements Stériles

- 5 à 20% selon les séries :
 - Patient sous antibiotique, (arrêt minimum 15 j)
 - Prélèvement mal fait,
 - Transport trop long,
 - Culture inadéquate,
 - Bactérie trop fragile,
 - Mycobactérie,
 - Champignon
 - Corps étranger, ...

PCR

- **PCR universelle**
 - détecte potentiellement tous les germes isolés en clinique. Cible étant le gène codant pour l'ARN 16S commun à toutes les bactéries
 - Apport incontestable mais résultat tardif
- **PCR spécifiques** ciblées sur des bactéries (*K kingae*, ...)
- Volume minimum (100µl), congelé à -80°C
- Surtout sur les liquides articulaires, (os décevant)

Conclusions

Les IOA = infections sévères

- Diagnostic bactériologique facile ou difficile, mais capital
- Comment optimiser ?
 - plusieurs prélèvements profonds
 - des cultures particulières
 - Résultats concordants
- Examens associés
 - Hémocultures,
 - sérologies : Brucellose, Lyme, ...
- Coopération médico-chirurgicale indispensable :
 - une excision chirurgicale soigneuse
 - une antibiothérapie lourde, IV prolongée
 - une surveillance étroite du patient sous traitement.

Biofilm

Attachment

1



Growth

2



Detachment

3

