

# Diagnostic microbiologique des Infections Ostéo-Articulaires

**Dr Céline DUPIEUX-CHABERT**

[celine.dupieux-chabert@chu-lyon.fr](mailto:celine.dupieux-chabert@chu-lyon.fr)

Laboratoire de Bactériologie – Institut des Agents Infectieux - Hôpital de la Croix Rouse

Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes Rhône-Alpes

# Diagnostic bactériologique des IOA

- IOA très majoritairement **bactériennes** (97%)
- **Diagnostic bactériologique indispensable** pour affirmer l'infection et choisir le traitement adapté (antibiogramme)
- **Avant antibiothérapie** ou après arrêt prolongé
- Diagnostic bactériologique parfois **difficile**
  - microorganismes très variés, isolement parfois laborieux
  - infections polymicrobiennes
  - interprétation parfois délicate
- Résultats dépendent
  - qualité des **prélèvements**
  - rapidité du **transport** (<2-4h)
  - **techniques** utilisées au laboratoire



# Les prélèvements bactériologiques

## ■ Fistule / cicatrice

- écouvillonnage : à proscrire, mauvaise concordance avec  
prélèvements profonds  
*Mackowiack, JAMA 1978 ;  
Treteault et al, J Arthroplasty 2013*
- aspiration profonde après rinçage de la fistule : non recommandée,  
peu contributif sauf isolement de *S. aureus* (VPP 78%)



## ■ **Hémocultures** en cas d'infection aiguë

## ■ **Prélèvements profonds** : liquide articulaire, prélèvements per-opératoires +++

## ■ **Liquides de drainage** : surveillance du site infecté opéré ; si +, risque accru de récurrence ; ne pas utiliser à visée diagnostique

# Prélèvements profonds 1/2

## ■ Liquide articulaire

- ponction pré-opératoire : documentation utile au choix de la prise en charge chirurgicale en 1 ou 2 temps
- pour la bactériologie :  
poudrier ou **tube sec stérile**,  
ET **flacons d'hémocultures** aéro/anaérobie ou pédiatrique (mais pas à la place du tube)
- pour la cytologie : tube avec anti-coagulant  
(héparine ou citrate)

- Biopsie sous scan (très petite biopsie)  
en tube avec un peu de sérum phy stérile



# Prélèvements profonds 2/2

## ■ Prélèvements tissulaires per-opératoires

Ni trop, ni trop peu...

Objectifs : augmenter la sensibilité tout en limitant les contaminations

- Avant antibiothérapie ou après fenêtre antibiotique
- Prélèvements **multiples** +++

Recommandations :

- **minimum 3 prélèvements**
- **optimum 5** à 7 prélèvements

sites anatomiques différents, macroscopiquement pathologiques si possible : os, synoviale, liquide articulaire, pus ...

privilégier tissus d'interface

- 1 prélèvement pour **anatomo-pathologie** (PNN, autres étiologies)



identification du prélèvement, nature, localisation, traitement antibiotique, ATCD...



# Prise en charge des prélèvements au laboratoire

- Prélèvements précieux, non renouvelables
- Impératif = **éviter la contamination**
  - Hotte à flux laminaire PSM2
  - Matériel stérile
  - Limiter les manipulations
- Nécessité d'un **prétraitement** des prélèvements solides
- Après ensemencement, **congélation** des surplus de prélèvements jusqu'au rendu définitif (et souvent plus) pour
  - colorations spécifiques
  - éventuelles recherches complémentaires : mycobactéries, champignons, ...
  - techniques moléculaires

# Prétraitement des prélèvements

- Les prélèvements solides (fragments d'os ou de tissus) doivent être impérativement **broyés avant ensemencement**



  
Chronophage  
Risque de  
contaminations



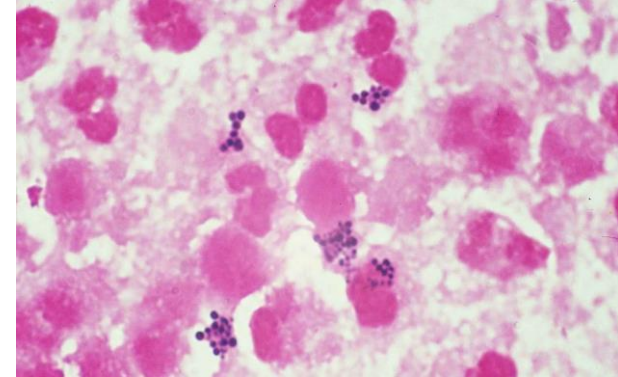
ex : poudrier à billes (prêt à l'emploi, usage unique)

- transport, broyage et conservation des prélèvements
- limite les manipulations donc les risques de contaminations
- libération des bactéries de matrice osseuse/biofilm : ↗ sensibilité

# Examen direct

Orientation diagnostique : réaction cellulaire ? présence de bactéries ?

- Coloration de Gram : bactéries
  - sensibilité faible (6 à 30 %, faible sur prothèse)
  - spécificité élevée (99 %)
- Appréciation semi-quantitative des leucocytes
- Cytologie du liquide articulaire
  - Quantification des leucocytes, formule leucocytaire
  - Recherche de microcristaux



	Arthrite septique	Infection de prothèse
Seuil GB	> 10 000/mm <sup>3</sup>	> 1 700/mm <sup>3</sup>
Seuil PNN	> 90 %	> 65 %



# Mise en culture

Bactéries d'IOA chroniques : biofilm / intracellulaire / métaboliquement peu actives + très diverses → **milieux riches variés, nombreux et incubation longue**

## Recommandations Référentiel de Microbiologie REMIC

- Gélose au sang en aérobiose
- Gélose au sang cuit, supplémentée, sous 5% de CO<sub>2</sub>
- Gélose au sang en anaérobiose
- Milieu liquide Bouillon Schaedler et/ou Bouillon Cœur-Cervelle

Lecture régulière → résultats rendus progressivement à J1, J2... jusqu'aux **résultats définitifs à J14**

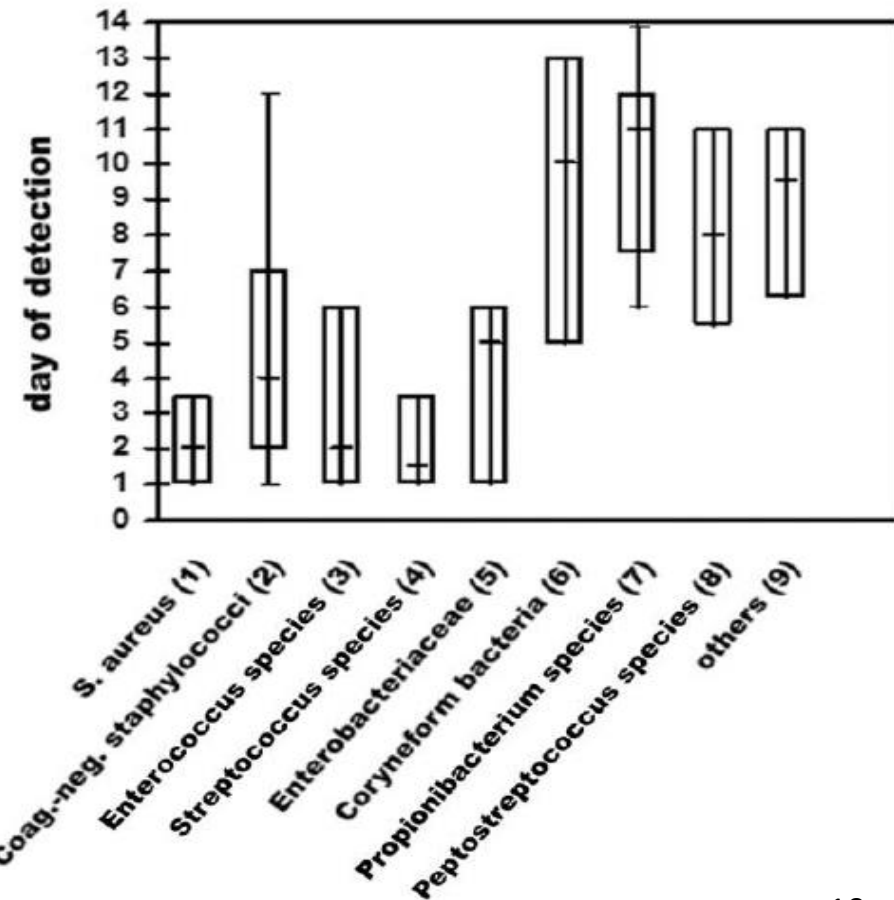
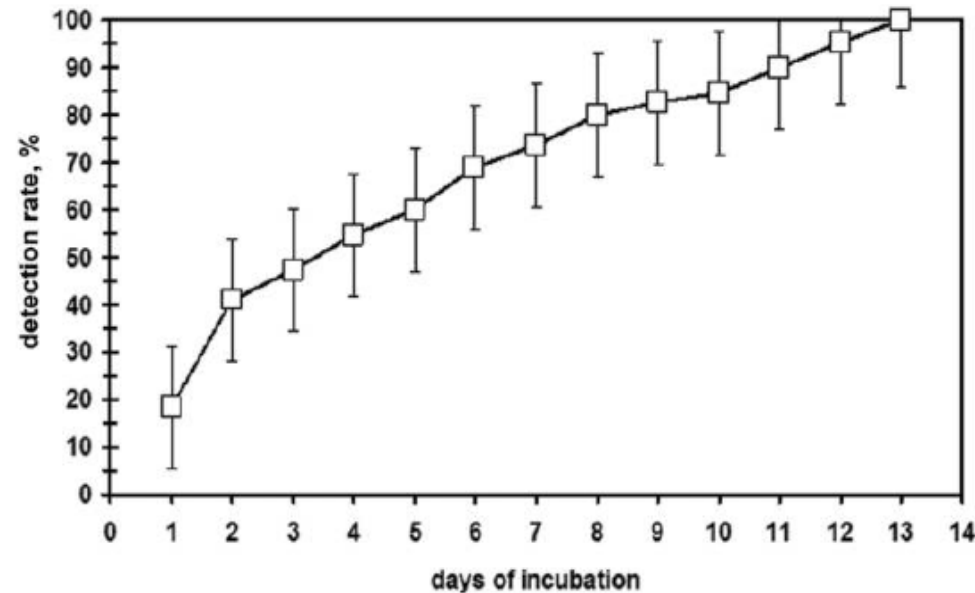


attention pousse tardive ou infections polymicrobiennes

- Utilisation possible des **flacons d'hémocultures** avec incubation prolongée jusqu'à J14 dans un automate :
  - ensemencement du liquide articulaire :
    - directement par le préleveur
    - enfant +++
  - ensemencement du broyat en remplacement du milieu liquide

# Mise en culture

## Incubation longue (14 jours)



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

# Lecture des cultures

- Lecture attentive :
  - détection d'infections **plurimicrobiennes** ( $\approx 15\%$ )
  - recherche des **différents aspects** de colonies même si même espèce
    - > différents antibiogrammes
  - recherche des **micro-colonies/Small Colony Variants (SCV)** :
    - variants au métabolisme ralenti, d'où croissance retardée
    - parfois difficultés d'identification phénotypique
    - potentiellement plus résistants aux antibiotiques
    - perte activité bactéricide des antibiotiques
    - sources de récives
- D'où : observation des cultures par du personnel formé  
identification et antibiogramme sur chaque aspect de colonie  
conservation de toutes les souches



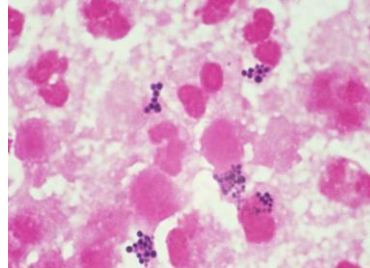
*S. aureus* SCV

# Interprétation +/- complexe

## ■ Infections aiguës à espèces classiques

### Bactéries « normales »

- ED +
- réaction cellulaire ++
- culture rapide



*S. aureus*

## ■ Infections chroniques

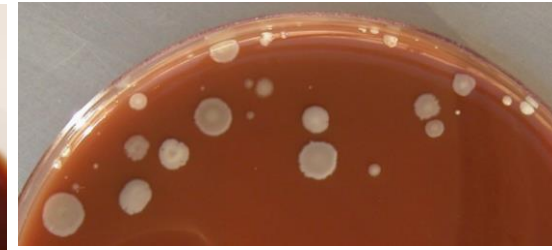
### Bactéries « stressées »

- ED –
- peu de PNN
- culture lente >> 48 heures
- peu de colonies
- bactéries de la flore cutanée fréquentes sur matériel
- aspects polymorphes des cultures +/- SCV
- antibiogrammes différents

J2



J10



Staphylocoques à coagulase négative

# Interprétation des cultures

Fonction de :

- **contexte clinique** (infection aiguë vs chronique, ostéomyélite vs arthrite primitive vs infection sur prothèse, antibiothérapie préalable)
- la ou les **espèces** identifiées
- la nature et le **nombre des prélèvements positifs** et éventuellement, pour ces derniers, le **nombre de milieux positifs et de colonies** observées

Mais : pas de consensus définitif

# Interprétation des cultures

## ■ Retenir le diagnostic d'IOA quand

- $\geq 2$  ou  $3$  prélèvements per-opératoires

ou 2 prélèvements espacés dans le temps (1 per-op + 1 liq articulaire ou 1 hémoc)

positifs à la même bactérie (**même espèce et même antibiogramme**) appartenant à la **flore cutanée** (SCN, *C. acnes*, corynébactéries, ...)

- $\geq 1$  prélèvement (per-op ou pré-op ou hémoc) positif à une bactérie virulente, n'appartenant pas à la flore cutanée ou pour laquelle la question d'une contamination ne se pose pas (*Staphylococcus aureus*, entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Campylobacter* spp., *Pasteurella*, ...)

## ■ Infection probablement exclue

En absence de signe histologique, cytologique ou clinique

- tous les prélèvements per-opératoires stériles (à condition d'avoir été réalisés après 15 jours d'arrêt de toute antibiothérapie)
- 1 seul prélèvement per-opératoire positif à une bactérie de la flore cutanée ou avirulente

# Que faire des prélèvements restés stériles ?

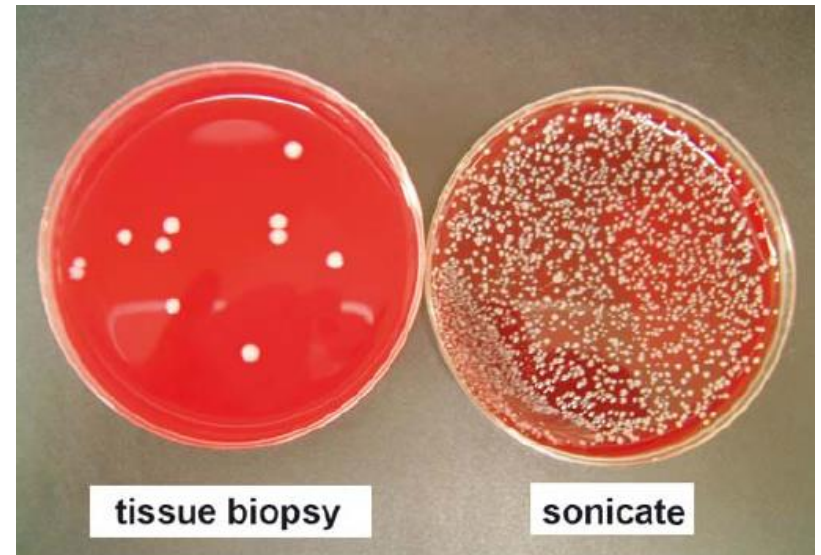
➡ 10 à 25 % des IOA selon les séries et les contextes épidémiocliniques

- patient sous antibiotique (arrêt minimum 15 j)
- prélèvement mal fait
- transport trop long
- culture inadéquate
- bactérie trop fragile
- mycobactérie
- espèce particulière et/ou non cultivable

**Comment améliorer le diagnostic ?**

# Sonication des implants

- Objectif : décoller les bactéries engluées dans le biofilm sur le matériel
- Sonication des prothèses et matériels dans soluté de Ringer puis ensemencement du liquide *(Trampuz et al. N Engl J Med 2007)*



Sonicate considéré positif si  $\geq 5$  UFC / 0,5 mL

↗ sensibilité de la culture (Se 78,5 % ; Spé 98,8 %)

Intérêt quand fenêtre antibiotique trop courte ou inexistante  
Mais pas d'étude comparative par rapport au broyage (équivalent ?)  
et lourdeur pour le laboratoire



# Approches moléculaires

## ■ Pour documenter l'infection

### • PCR universelle 16S

Avantage : pas d'a priori

Problèmes : manque de sensibilité (< à la culture) -> **contributive que si +**  
pb pour les infections plurimicrobiennes  
laboratoires spécialisés, délais et coûts

*Bemer et al, J Clin Microbiol 2014 ; Levy et al, Am J Med 2013*

### • PCR ciblées : + sensibles que PCR 16S

- *Kingella kingae* (enfant < 4 ans)
- *Staphylococcus spp* et *S. aureus*
- *Streptococcus spp* et *S. pneumoniae*
- *Cutibacterium acnes*

*Chometon et al, Pediatr Infect Dis J 2007*

■ **Indications plutôt limitées** : à réserver quand culture – et forte suspicion d'IOA, notamment si patient sous ATB

Avenir :  
métagénomique ?

# Approches moléculaires rapides

## ■ Pour orienter le traitement probabiliste

- **Diagnostic en  $\approx$  1h des IOA à SASM et SARM** par le test GeneXpert MRSA (détection *S. aureus* et gène *mec*)
  - **sensibilité et spécificité excellentes** → adaptation précoce du traitement probabiliste (stop vancomycine ou daptomycine)
  - pb coût : sur combien de prélèvements le faire et lesquels ?

*Dubouix-Bourandi et al, J Clin Microbiol 2011 ;  
Valour et al, Diagn Microbiol Infect Dis 2014*

## ■ Tests PCR multiplex (« syndromiques »)

- Unyvero ITI, Biofire FilmArray JI...
- Problèmes : espèces ciblées limitées, manque de sensibilité quand faible inoculum
- Uniquement quelques marqueurs de résistance

*Malandain et al, Clin Microbiol Infect 2018*



# A RETENIR Diagnostic microbiologique des IOA

- Rôle fondamental dans le diagnostic et le traitement des IOA (**antibiogramme**)
- **Points clés du diagnostic microbiologique**
  - Qualité (asepsie) et gestion des prélèvements
  - Conditions de cultures
  - Résultats échelonnés parfois longs à obtenir
  - Collaboration indispensable bactériologiste - chirurgien - infectiologue
- **Nouveaux outils** : doivent trouver leur place
  - Amélioration des cultures
  - Outils moléculaires
  - Biomarqueurs

**CULTURE !**

# Références bibliographiques

- Recommandations de pratique clinique « Infections ostéo-articulaires sur matériel (prothèse, implant, ostéo-synthèse) ». SPILF, 2009
- Recommandation de bonne pratique « Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation ». HAS, 2014
- Second International Consensus Meeting (ICM) on orthopaedic infections. 2018
- Référentiel en microbiologie médicale, 6ème édition. Société Française de Microbiologie, 2018