

Diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires sur prothèse

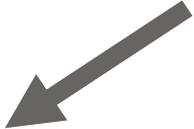
Pr. Ag. Basma Mnif Chaabène

Laboratoire de Microbiologie
CHU Habib Bourguiba Sfax

XXVIème congrès de la STPI
22 Avril 2016

Infections ostéo-articulaires

Arthrite, Ostéite, Ostéo-arthrite, **Infections sur matériel**

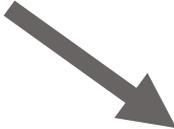


AIGUES

Urgence

Septicémies

Traitement empirique



CHRONIQUES

Rien ne presse

Bilan de l'infection

Trouver le germe

Infections ostéo-articulaires

Diagnostic bactériologique plusieurs particularités

- Nécessaire
- Plusieurs agents pathogènes
 - *S. aureus* : chef de **file**
- Prélèvements fiables (invasifs)
 - ponction articulaire
 - per-opératoires
 - hémocultures

Infections ostéo-articulaires

Diagnostic bactériologique difficile

les bactéries incriminées :

- **€ flore commensale cutanée**
 - risque de faux positif par **contamination** au moment du prélèvement ou au cours de l'ensemencement
- **Croissance lente et/ou difficile :**
 - physiologie intrinsèque : anaérobies (***P. acnes***)
 - état métabolique dans les IOA chroniques : variants métaboliques (Small Colony Variants "**SCV**"), **Biofilm**
- **Nombre limité au site infecté :**
 - antibiothérapie préalable
 - piégées dans le **biofilm**

Infections ostéo-articulaires

Diagnostic bactériologique résultat dépend

- Qualité des prélèvements
- Rapidité du transport
- Techniques utilisées au laboratoire

Prise en charge bactériologique des IOA

Chirurgien orthopédiste

Evacuer / Nettoyer
Prélever



Microbiologiste

Détecter
Identifier
Etudier la sensibilité aux antibiotiques



Infectiologue

Choisir l'antibiothérapie optimale



**On ne trouve que ce
que l'on cherche**

Épidémiologie bactérienne des IOA

IOA

- Adulte : **S. aureus** (68%), Streptocoques (20%), Entérobactéries (10%), *N.gonorrhoeae*, *N.meningitidis*
- NNé : **S.aureus**, *S. agalactiae*, Entérobactéries
- Nourrisson, enfant : **Kingella kingae**, **S. aureus**, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *N.meningitidis*
- ↓ *H. influenzae* depuis vaccination
- Contexte clinique spécifique : *Borrelia burgdoferi* (Lyme) et *Trophyma whipplei* (Whipple)

Infection de prothèse ostéo-articulaire

- **S. aureus** (25%), **SCN** (25%),
- Streptocoques et entérocoques (10%),
- Anaérobies, *P. acnes* (10%),
- BGN (10%)
- Corynébactéries, levures, BK.....
- Contamination per-opératoire ou hématogène

3 catégories d'IPOA

BIOFILM

Temps

0-3 mois

3-24 mois

>24 mois

Type

Précoce
Post-
opératoire

Retardé
(chronique)

Tardif

Voie

de contamination

Péri-opératoire

Hématogène

Signes

Fièvre, épanchement,
chaleur, drainage

Douleur persistante,
Descellement,
Fistule

Aigü ou subaigü

Bactéries

S. aureus
Streptococci
Enterococci

Coagulase-negative
staphylococci
P. acnes

S. aureus
E. coli



Infections de prothèse ostéo-articulaire: IPOA

Particularités :

Bactéries de la flore cutanée

Anaérobies (*Propionibactéries*)

Biofilm / « *Small Colony Variants* »

Antibiothérapie préalable



Caractéristiques bactériennes

Issues de la flore cutanée
(contaminants ou pathogènes ?)

Différemment distribuées
dans les tissus

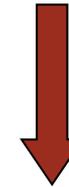


**Prélèvements
multiples**

Interactions bactéries/matériaux

Biofilm

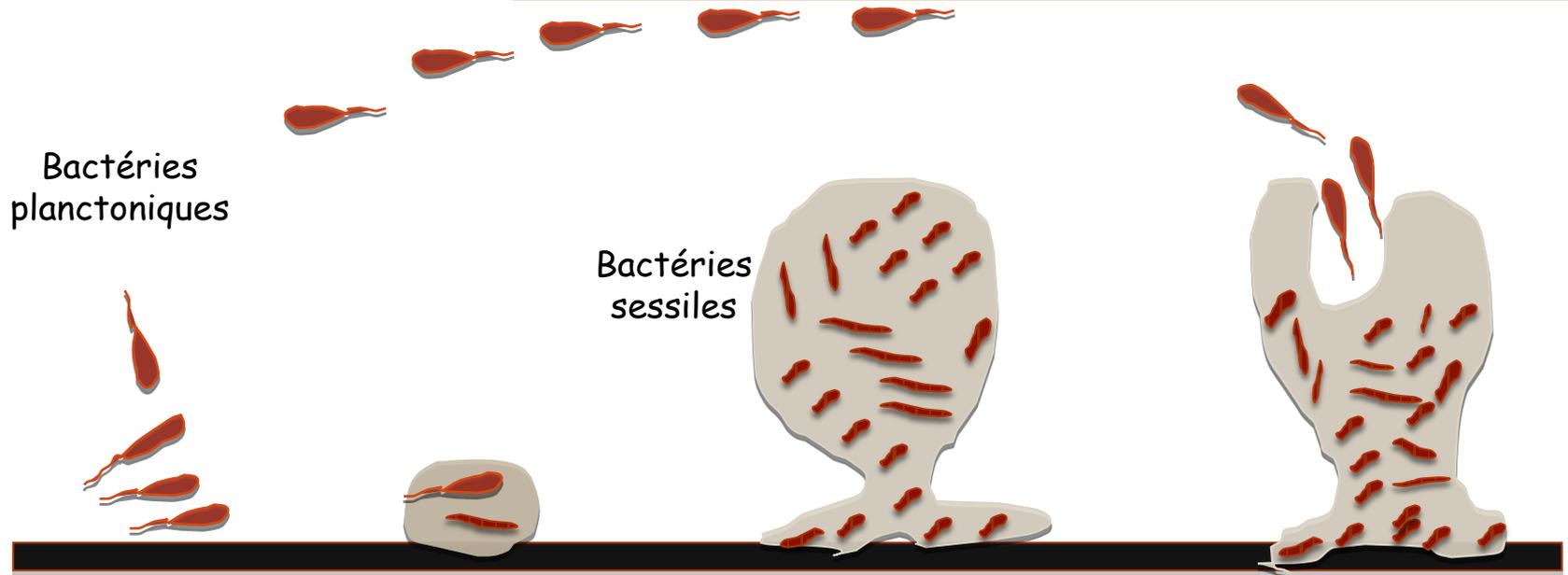
- Caractères cultureux modifiés
- Bactéries déficientes 'SCV' : résistantes aux ATB
- Adhérence au matériel : broyage sonication



**Milieux et techniques
particulières**

IPOA: Biofilm

Biofilm : Assemblage de bactéries irréversiblement associées à une surface inerte, incluses dans une matrice extracellulaire polysaccharidique



Attachement réversible

**Sécrétion de matrice extracellulaire
Formation de micro-colonies
Attachement irréversible**

**Maturation
Structure tridimensionnelle
communications intercellulaires :
Quorum sensing**

Détachement des bactéries

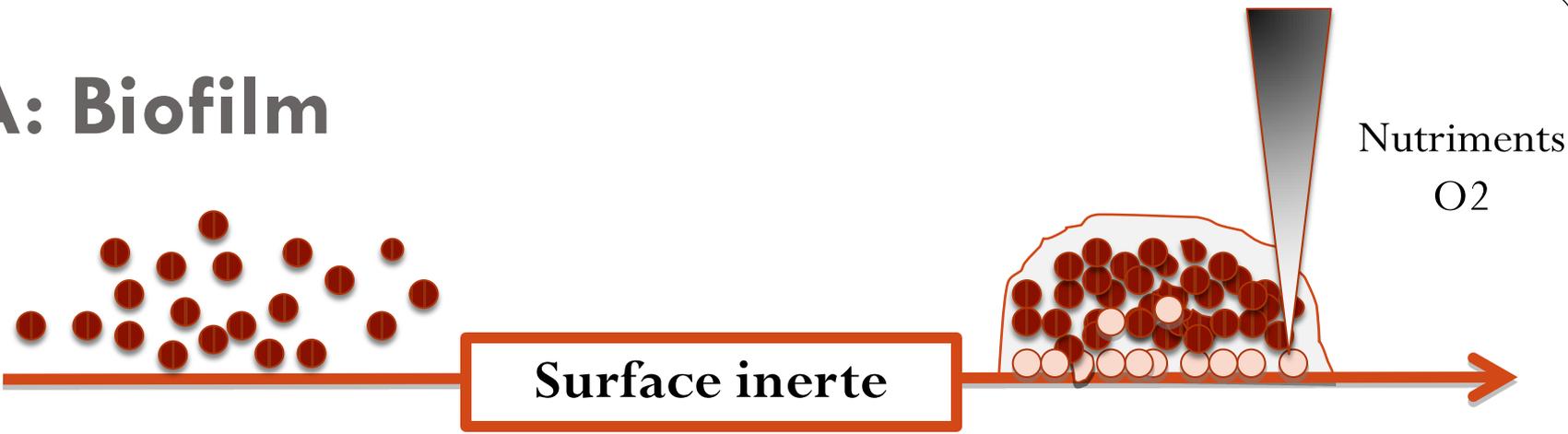
IPOA: Biofilm



**Bactéries non adhérentes
à croissance exponentielle
« vie planctonique »**

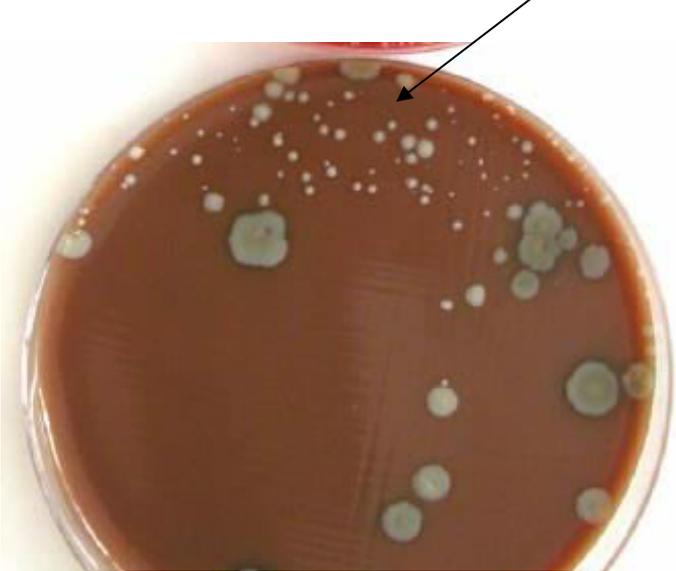
**Bactéries adhérentes (surface inerte et entre elles)
à croissance stationnaire, «SCV»
« vie en biofilm »**

IPOA: Biofilm

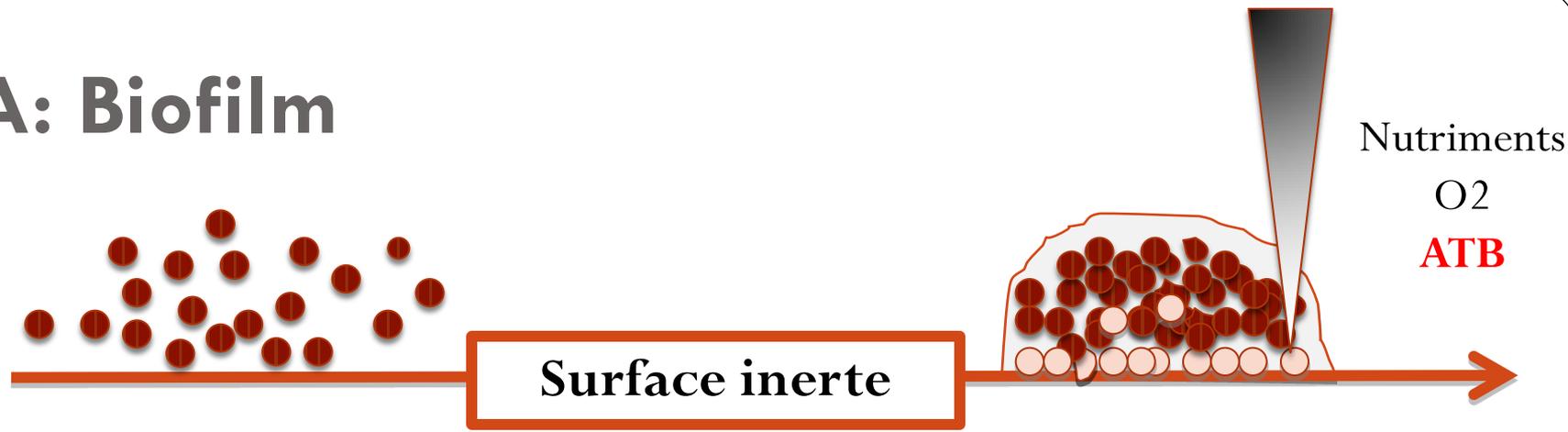


**Bactéries non adhérentes
à croissance exponentielle
« vie planctonique »**

**Bactéries adhérentes (surface inerte et entre elles)
à croissance stationnaire « SCV »
« vie en biofilm »**



IPOA: Biofilm



Bactéries non adhérentes
à croissance exponentielle
« vie planctonique »

- Clinique bruyante
- Accessibilité aux ATB

Résistance classique

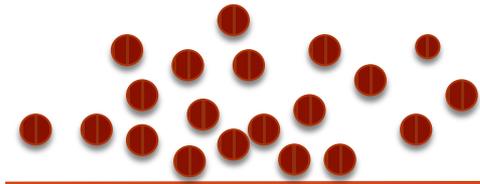
Bactéries adhérentes (surface inerte et entre elles)
à croissance stationnaire « SCV »
« vie en biofilm »

- paucisymptomatique; rechutes
- « Résistance aux **ATB** » :

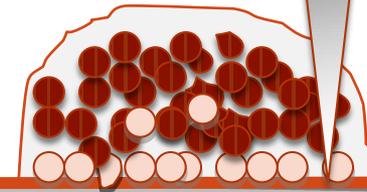
- Diffusion
- Inactivation (environnement pH)
- Immunodépression locale

Résistance adaptative

IPOA: Biofilm



Surface inerte



Nutriments

O₂

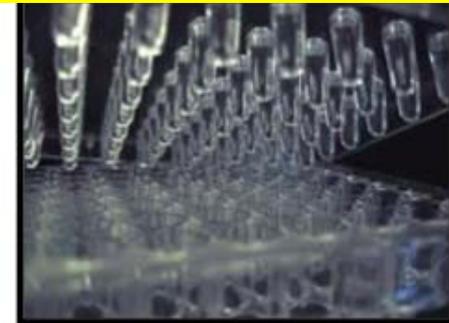
ATB

Détermination de la
"Minimal Inhibitory Concentration"
(MIC)
"Minimal Bactericidal Concentration"
(MBC)

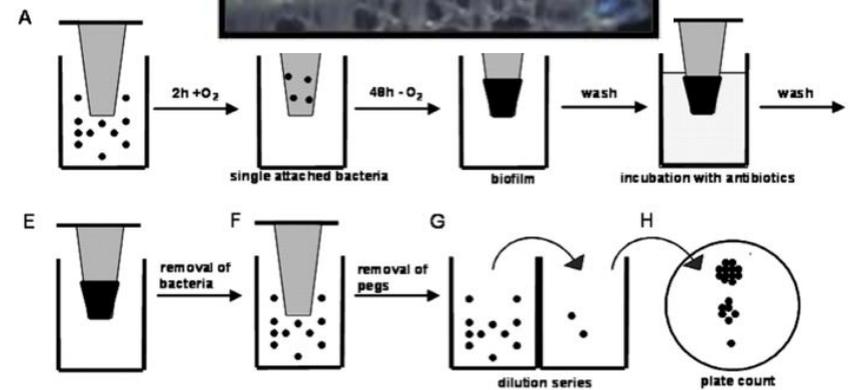
Détermination de la
"Minimal Biofilm Eradication Concentration"
(MBEC)



Résistance classique

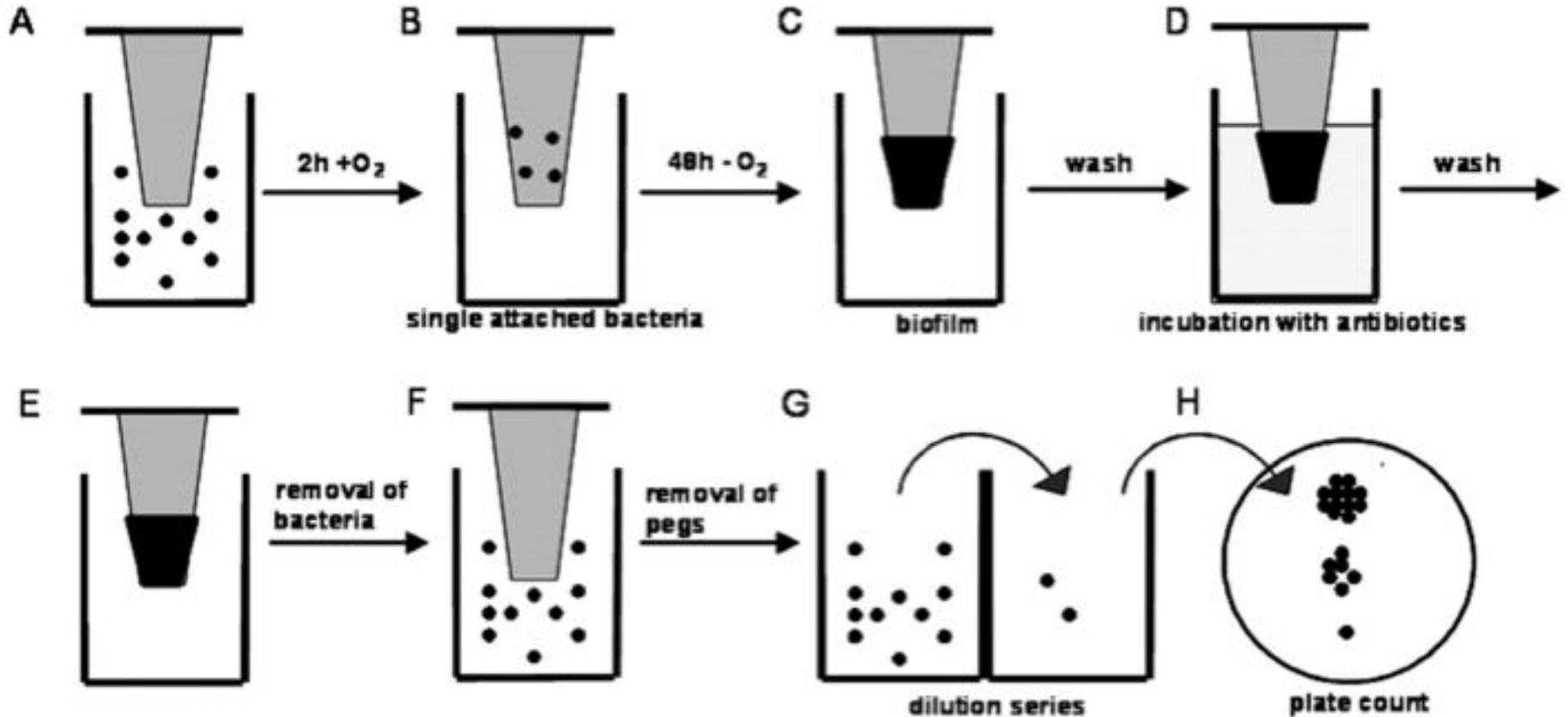


pegs



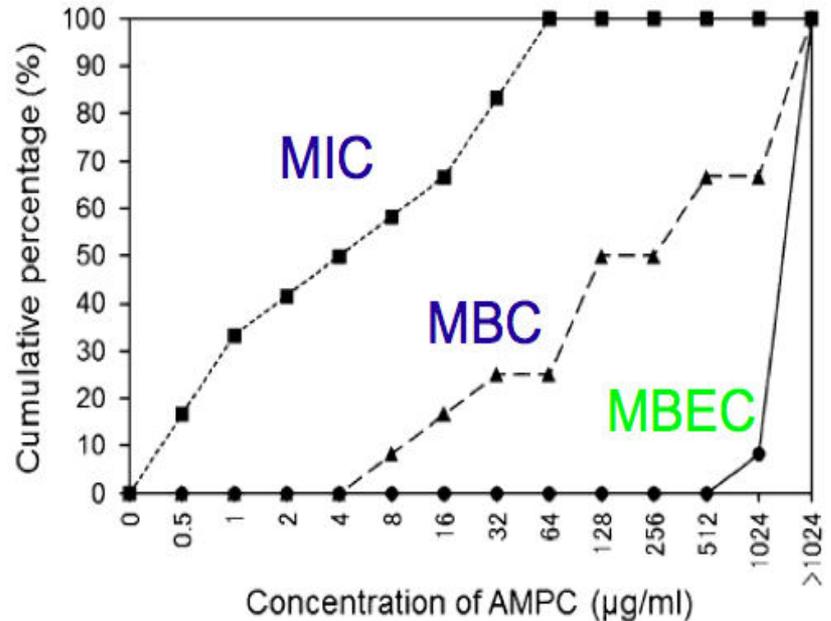
Résistance adaptative

In vitro : Calgary Biofilm Device

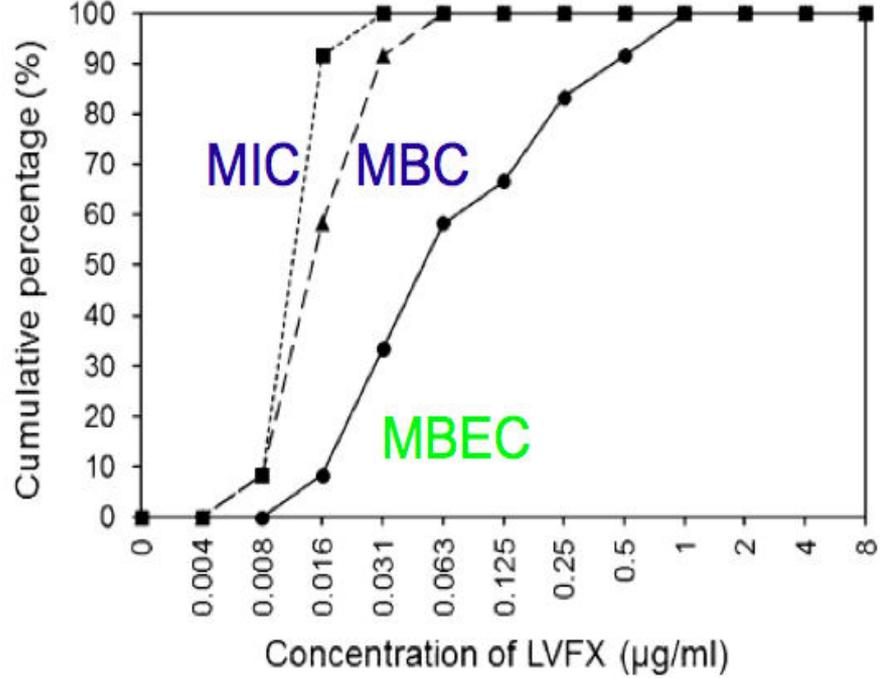


Activité antibiotique: bactéries planctoniques vs. biofilms

ampicilline et lévofloxacine vs. *H. influenzae* (liquide de l'oreille moyenne)



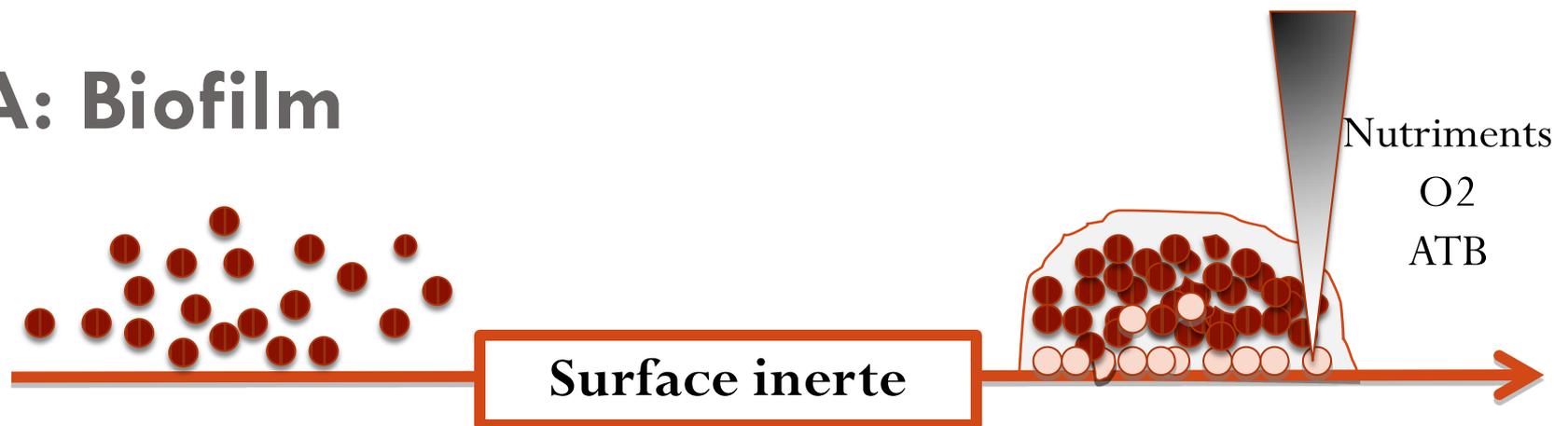
MBEC >> MBC >> MIC



MBEC > MBC ~ MIC

Takei et al, *J Infect Chemother* (2013) 19:504-9

IPOA: Biofilm



Bactéries non adhérentes
à croissance exponentielle
« vie planctonique »

Choix d'antibiotiques diffusant bien dans os et articulations

Clinique brayante
- Accessibilité aux ATB

Résistance classique

Bactéries adhérentes (surface inerte et entre elles)

Choix d'antibiotiques diffusant bien dans os et ayant une activité bactéricide sur les bactéries à croissance ralentie, éventuellement en position intracellulaire :

Rifampicine + fluoroquinolone
À discuter : Daptomycine, Linezolide, Tigécycline

macération (environnement pH)
• Immunodépression locale

Résistance adaptative

IPOA:

du prélèvement aux techniques moléculaires

Clinical Infectious Diseases 2013;56(1):e1-25

IDSA GUIDELINES

Diagnosis and Management of Prosthetic
Infection: Clinical Practice Guidelines
Infectious Diseases Society of America

2009

Recommandations de pratique clinique



ostéo-articulaires sur matériel
prothèse, implant, ostéo-synthèse)

PAS DE CONSENSUS

REMIC, ESCMID (manual of Microbiology), UK Standards for
Microbiology Investigations (UK-SMI),.....

PubMed/Medline : prosthetic joint infections ;1995 à 2016 >>

1900 études

Prosthetic Joint Infection

Aaron J. Tande,^a Robin Patel^{a,b}

TABLE 3 Proposed definitions for prosthetic joint infection^a

Criterion	Definition of prosthetic joint infection					
	Musculoskeletal Infection Society		International consensus		Infectious Diseases Society of America	
	Definitive evidence	Supportive evidence	Definitive evidence	Supportive evidence	Definitive evidence	Supportive evidence
Sinus tract communicating with the prosthesis	X		X		X	
Identical microorganisms isolated from 2 or more cultures	X		X		X	
Purulence surrounding the prosthesis		X			X	
Acute inflammation upon histological examination of periprosthetic tissue		X		X		X
Single culture with any microorganism		X		X		
Single culture with a virulent microorganism						X
Elevated synovial fluid leukocyte count ^b		X		X		
Elevated synovial fluid neutrophil percentage		X		X		
Elevated serum ESR and CRP values		X		X		

^a The MSIS definition requires 4 supportive criteria; the International Consensus Meeting definition requires 3 supportive criteria. Data are from references 60, 61, and 251. ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein.

^b The International Consensus Meeting definition also includes a “++” result on the leukocyte esterase strip.

IPOA:

du prélèvement aux techniques moléculaires

Standardisation et établissement de protocoles

- Types de prélèvements et nombre
- Techniques de prélèvements
- Techniques de transport
- Techniques de laboratoire :
 - Broyage
 - Type de milieux de culture
 - Durée d'incubation
 - Identification et antibiogramme
 - Techniques moléculaires et sonication
 - Conservation

IPOA: prélèvements

- **Fistule** = intérêt discutable
- **Prélèvements profonds** : +++
 - Ponction articulaire
 - Ponction au trocart à biopsie (True-cut®)
 - Si ponction difficile
 - **Prélèvements tissulaires per-opératoires** +++++
- **Hémocultures** : les infections aiguës
- **Liquides de drainage** : que pour la surveillance du site infecté opéré.

IPOA: Fistule

- Écouvillonnage superficiel : **NON**
- Aspiration profonde APRES désinfection cutanée soigneuse : ?!!
- Indication : patients inopérables
- Plusieurs prélèvements si possible car pvt peu fiable
 - Spécificité : médiocre
 - Sensibilité : médiocre



IPOA: ponction articulaire

+++



+



+



IPOA : Pvt per-opérateurs

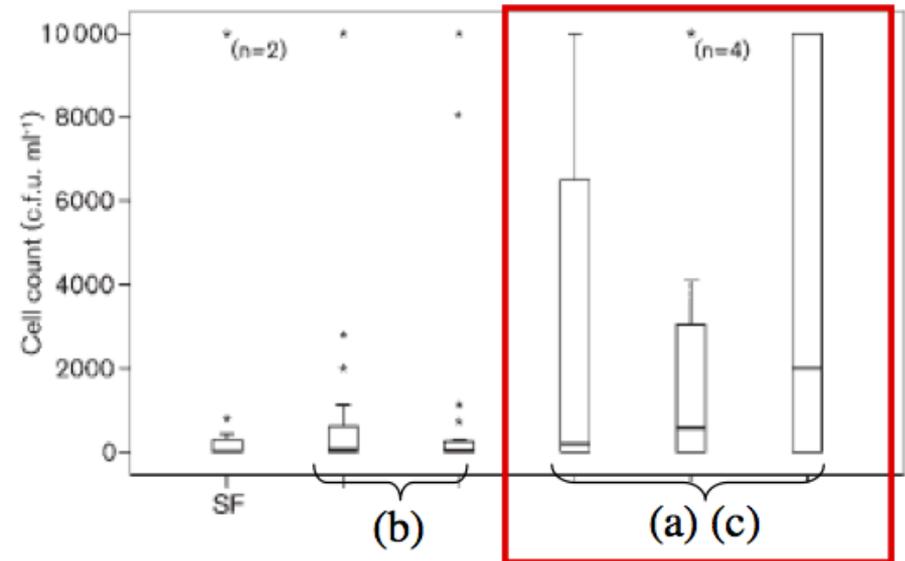
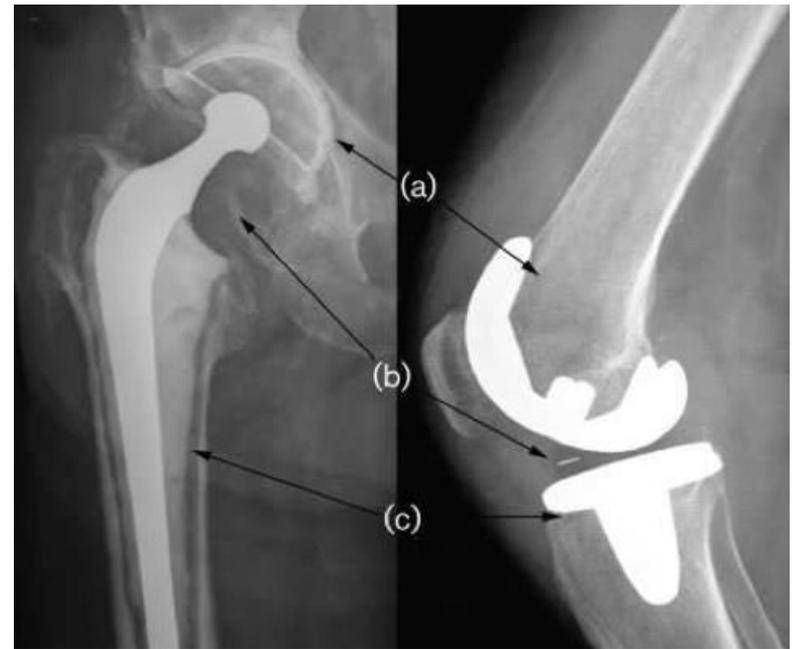
Recommandations SPLIF 2009 et IDSA 2013

- Arrêt de l'antibiothérapie (**au moins 15 jours**)
- **5 prélèvements** +++ en des sites anatomiques différents solides et liquides (bactériologie) multi-sites et étagés
 - < 5 pvt : difficulté d'interprétation des résultats
 - > 5 pvt : surcharge de travail
- 1 prélèvement (histopathologie)
- Le matériel (ostéosynthèse ou prothèse) doit être envoyé au laboratoire
- Acheminement rapide (< 2 h) au laboratoire de bactériologie, sinon utilisation de milieux de transport
- Bons d'analyses avec renseignements cliniques ++++

IPOA : Pvt per-opératoires

Choix des prélèvements

- Biopsies étagées multi-sites
- Etude prospective 54 patients
- Pas d'antibiotiques
- 5 prélèvements 18 IPOA
 - Liquide articulaire et capsule (b)
 - tissus d'interface os-implant (a, c)
- Culture + PCR 16S
- Résultats
 - **Cultures positives a/c >>> b**
 - Sensibilité PCR < SE culture



IPOA : Pvt per-opérateurs

Fenêtre antibiotique

- Pas d'antibiotique lors des prélèvements (per-opérateur)
- Fenêtre antibiotique d'au moins 2 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**

IPOA :

bonne gestion des pvt



**Seringues avec bouchon spécial
Female Luer-lock**



**Pot 60 ml Stérile
sous emballage
stérile**



**Milieu de transport
(si >2 H)**

IPOA :

bonne gestion des pvt

Ce qu' il faut faire



Ce qu' il ne faut pas faire



IPOA :

pvt post-opératoire

- Liquide de drainage post opératoire
 - Surveillance
 - positif au même germe
 - risque accru de rechute ou de récurrence de l'infection



IPOA : pvt précieux

TTT des pvts sous hotte à flux laminaire (PSM 2)



IPOA :

Broyage des pvt tissulaires



Mortier/Pilon



Broyeur à billes

Ex: Ultra turrax



Broyeur homogénéiseur

(malaxage + homogénéisation)

Ex: Seward stomacher, Bagmixer....



IPOA :

Milieux de culture à utiliser

Milieux Enrichis : SOLIDES + LIQUIDES ?

Incubation : aérobiose + anaérobiose

Prolongée (5 jours) ou plus???



Review

Optimizing culture methods for diagnosis of prosthetic joint infections: a summary of modifications and improvements reported since 1995

Lone Heimann Larsen,¹ Jeppe Lange,^{2,3} Yijuan Xu^{4,5}
and Henrik C. Schönheyder¹

Quels milieux ?
Quels temps d'incubation ?

CLINICAL RESEARCH

Blood Culture Flasks for Culturing Synovial Fluid in Prosthetic Joint Infections

Lluís Font-Vizcarra MD, Sebastián García MD, PhD,
Juan C. Martínez-Pastor MD, Josep M. Sierra MD,
Alex Soriano MD, PhD

Table 4. Sensitivity, specificity, PPV and NPV of each sample according to the type of infection (acute or chronic)

Type of infection	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)	Accuracy
Acute					
Synovial fluid	91.39	100	100	93.6	96.19
Periprosthetic tissue	78.94	80.95	78.95	80.95	80
Swab	80.65	99.3	98.68	88.68	91.91
Chronic					
Synovial fluid	78.94	100	100	87.96	91.7
Periprosthetic tissue	56.98	80.95	67.12	73.38	71.23
Swab	39.53	99.29	97.14	73.06	76.75

Microbiological diagnosis of prosthetic joint infections: a prospective evaluation of four bacterial culture media in the routine laboratory

Clinical Microbiology and Infection ©2011 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, CMI, 17, 1514–1530

H. C. Hughes^{1,2}, R. Newnham¹, N. Athanasou¹,
B. L. Atkins^{1,2,4}, P. Bejon^{2,4,5} and I. C. J. W. Bowler¹

TABLE 2. Sensitivity and specificity of each culture method for diagnosis of prosthetic joint infection

	Culture media			
Sensitivity/specificity	Direct plates	Cooked meat broth	Fastidious anaerobic broth	BACTEC blood culture bottles
Sensitivity, % (95% CI)	39 (18–61)	83 (66–99)	57 (35–78)	87 (72–100)
Specificity, % (95% CI)	100 (97–100)	97 (95–100)	100 (97–100)	98 (96–100)

CI, confidence interval.

A joint was deemed to be infected if ≥ 2 specimens per patient were positive on culture. This was compared to a histological criterion standard.



Clinical Infectious Diseases 2008;47:1403–9

Prolonged Bacterial Culture to Identify Late Periprosthetic Joint Infection: A Promising Strategy

Peter Schäfer,¹ Bernd Fink,² Dieter Sandow,¹ Andreas Margull,¹ Irina Berger,³ and Lars Frommelt⁴

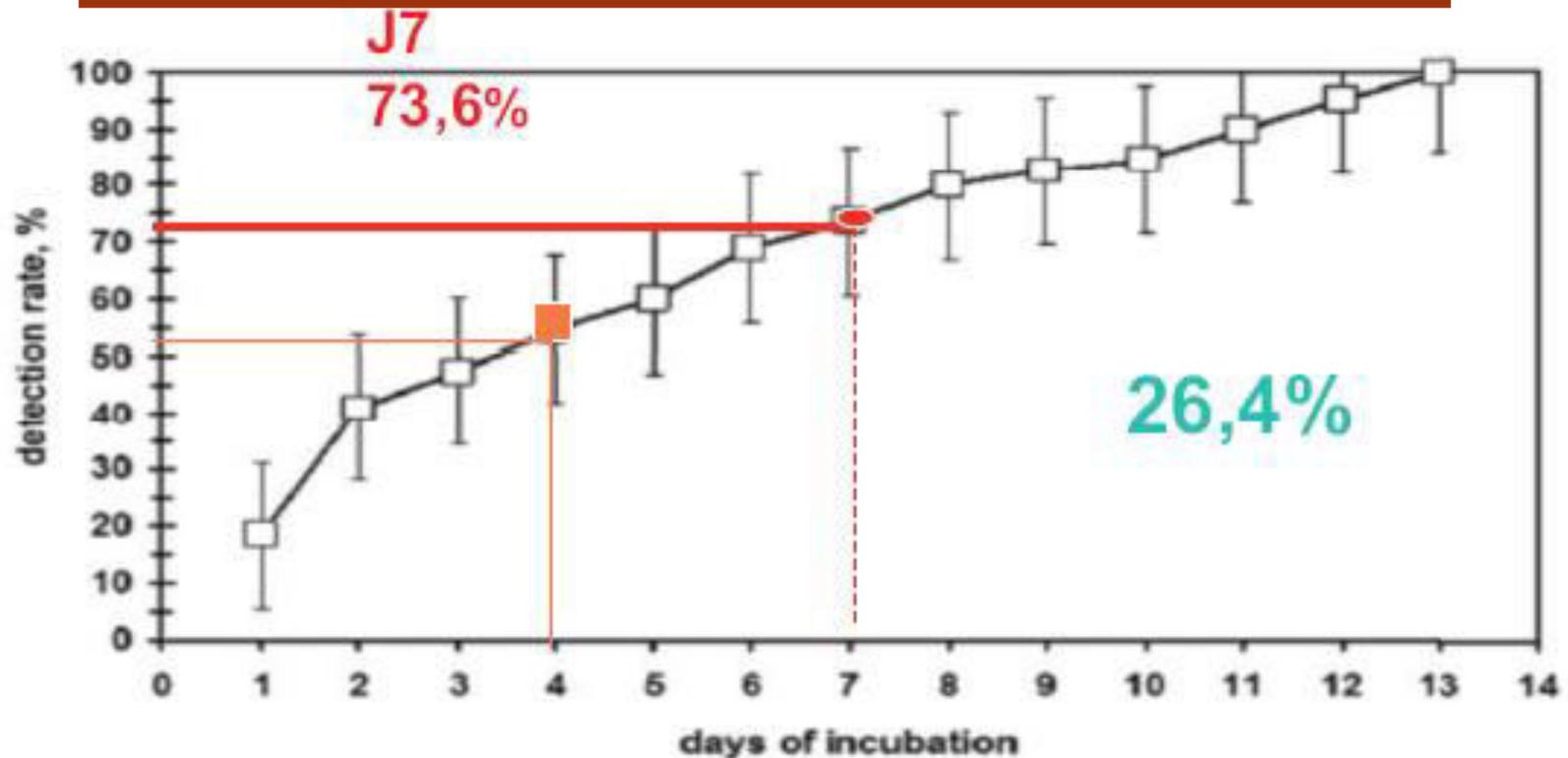
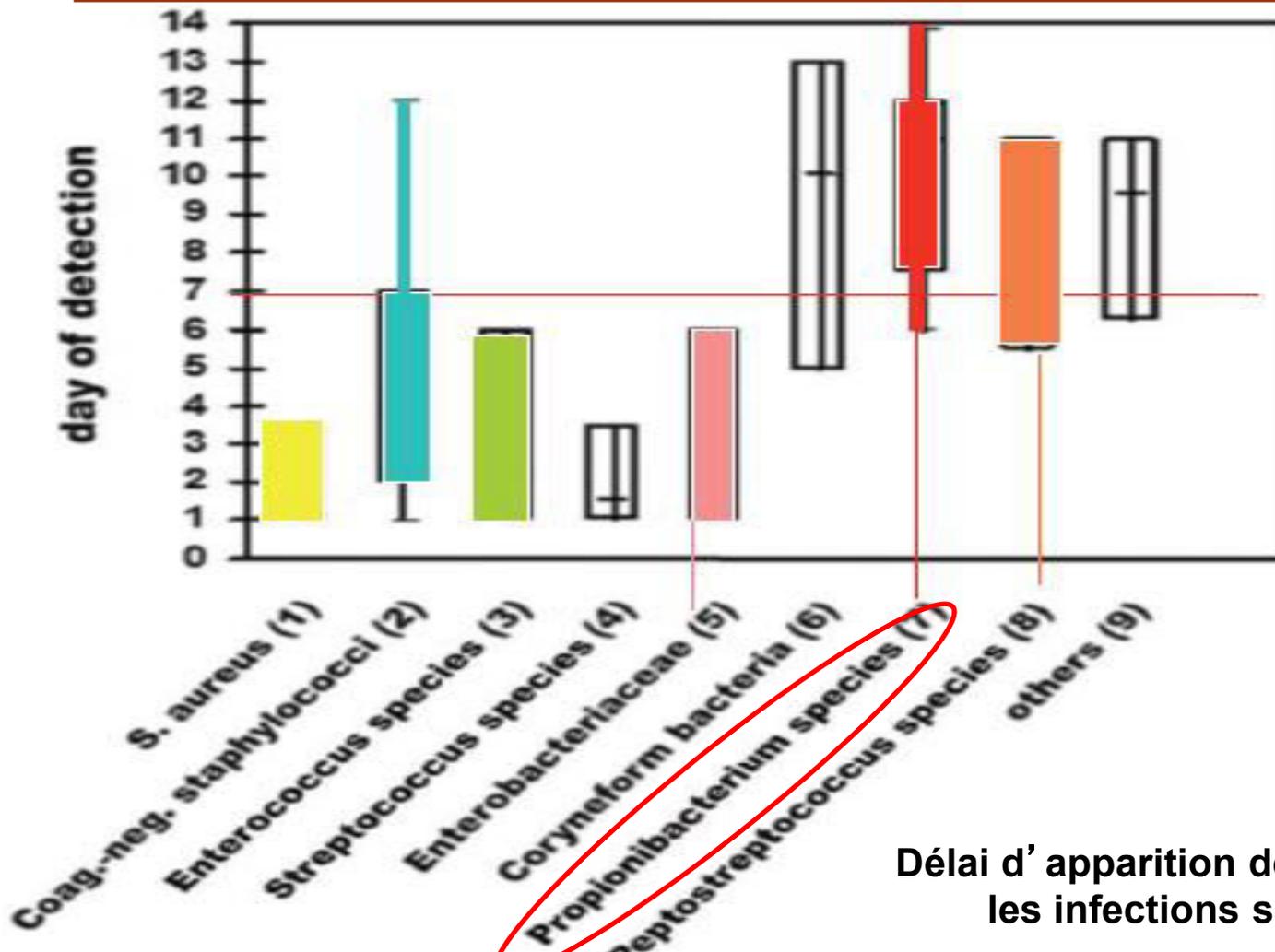


Figure 1. Time to diagnosis of infection by culture. Whisker lines span the 95% Hall-Wellner CI.

Clinical Infectious Diseases 2008;47:1403–9

Prolonged Bacterial Culture to Identify Late Periprosthetic Joint Infection: A Promising Strategy

Peter Schäfer,¹ Bernd Fink,² Dieter Sandow,¹ Andreas Margull,¹ Irina Berger,³ and Lars Frommelt⁴



Délai d'apparition des bactéries dans les infections sur prothèses



Journal

Pro
Ass

Yvonr



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur

ScienceDirect

www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte

www.em-consulte.com

Médecine et
maladies infectieuses

440

Im-

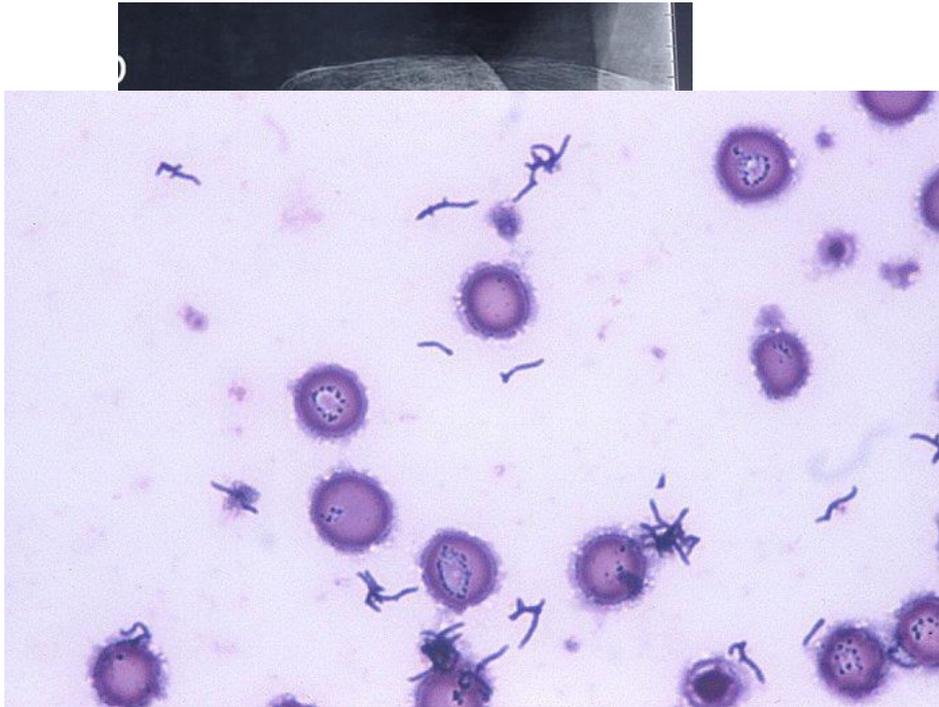
Médecine et maladies infectieuses xxx (2014) xxx–xxx

General review

Propionibacterium acnes, an emerging pathogen: From acne to implant-infections, from phylotype to resistance

Propionibacterium acnes, un pathogène émergent : de l'acné aux infections sur matériel, du phylotype à la résistance

G.G. Aubin^{a,b}, M.E. Portillo^c, A. Trampuz^d, S. Corvec^{a,*,b}



Anaerobic Thioglycolate Broth Culture for Recovery of *Propionibacterium acnes* from Shoulder Tissue and Fluid Specimens

Samantha K. Shannon,^a Jayawant Mandrekar,^b Daniel R. Gustafson,^a Stefanea L. Rucinski,^a Aaron L. Dailey,^a Robert E. Segner,^a Mindy K. Burman,^a Kerri J. Boelman,^a David T. Lynch,^a Jon E. Rosenblatt,^a Robin Patel^a

Division of Clinical Microbiology^a and Division of Biomedical Statistics and Informatics,^b Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA

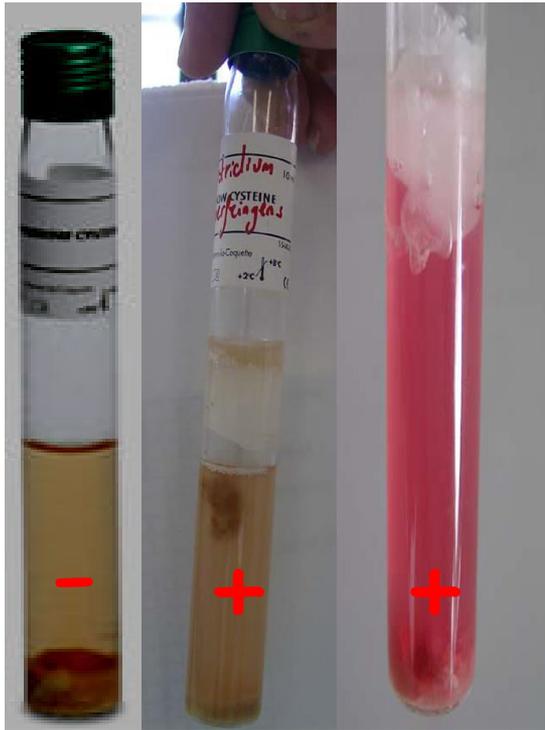


- Transport dans des conditions d'anaérobiose
- Régénération des bouillons

IPOA :

Maitrise de l' utilisation des bouillons d' enrichissement

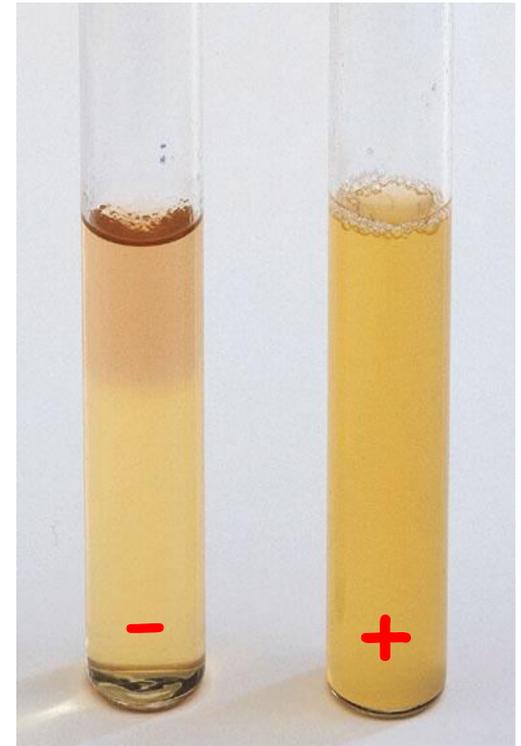
Rosenow



Cooked meat



Thioglycolate



Repiquer les milieux clairs à J14

Microbiological diagnosis of prosthetic joint infections: a prospective evaluation of four bacterial culture media in the routine laboratory

Clinical Microbiology and Infection ©2011 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, CMI, 17, 1514–1530

B. L. Atkins^{1,2,4}, P. Bejon^{2,4,5} and I. C. J. W. Bowler¹

TABLE 2. Sensitivity and specificity of each culture method for diagnosis of prosthetic joint infection

	Culture media			
	Direct plates	Cooked meat broth	Fastidious anaerobic broth	BACTEC blood culture bottles
Sensitivity/specificity				
Sensitivity, % (95% CI)	39 (18–61)	83 (66–99)	57 (35–78)	87 (72–100)
Specificity, % (95% CI)	100 (97–100)	97 (95–100)	100 (97–100)	98 (96–100)

CI, confidence interval.

A joint was deemed to be infected if ≥ 2 specimens per patient were positive on culture. This was compared to a histological criterion standard.



Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles

Trisha N. Peel,^{a,b} Brenda L. Dylla,^a John G. Hughes,^a David T. Lynch,^a Kerryl E. Greenwood-Quaintance,^a Allen C. Cheng,^{c,d} Jayawant N. Mandrekar,^e Robin Patel^{a,f}

- **Cohorte de 369 sujets : révision d'arthroplastie dont 117 → critères de dg d'infection prothétique selon IDSA**
- **Collection : milieux de transport anaérobie**
- **Homogénéisation : Seward Stomacher 80 Biomaster dans 5 ml de Bouillon CC**
- **Ensemencement :**
 - **0.1 ml gélose sang/ gélose chocolat sous CO₂ pd 5 jours**
 - **0.1 ml gélose sang en anaérobiose pd 14 jours**
 - **1 ml bouillon thioglycolate pd 14 jours**
 - **1 ml flacons HC BACTEC Plus Aerobic/F et BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F pd 14 jours**



Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles

Milieux	Résultats culture modèle bayésien (sans Gold Standard)		Résultats culture Critères IDSA (Gold Standard)	
	Sensibilité	Spécificité	Sensibilité	Spécificité
Géloses Aér + Ana	48.9	99.7	33.3	100
Géloses Aér + Ana + B thioglycolate	62.6	98.1	44.4	98.8
Flacons HC Aér + Ana	92.1	99.7	60.7	98.8
Flacons HC Aér + Ana + B thioglycolate	92.1	99.7	63.3	98.8
Flacons HC Aér + Ana + Gélose Aér	94.6	99.7	62.4	98.8
Flacons HC Aér + Ana + Gélose Ana	96.8	99.8	62.3	98.0
Flacons HC Aér + Ana + Gélose Aér + Ana	99.1	99.7	64.1	98.0
Tous les milieux	99.1	97.3	67.5	96.8

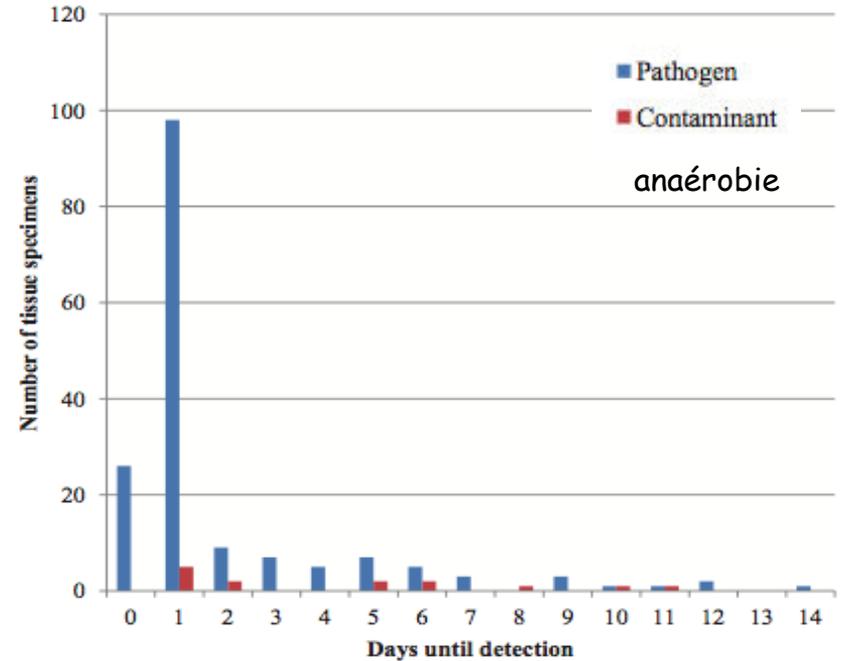
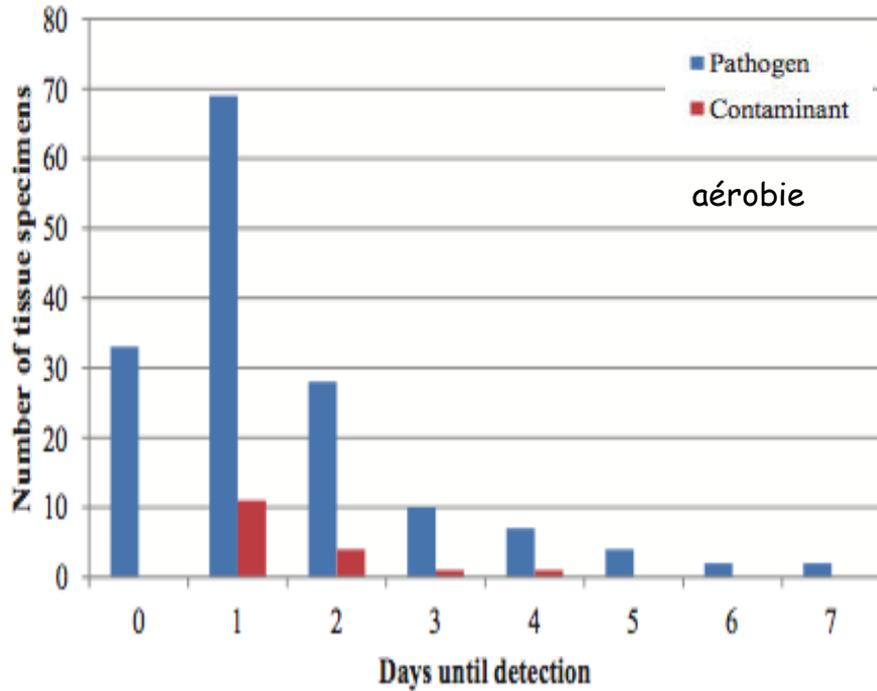
Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles

Trisha N. Peel,^{a,b} Brenda L. Dylla,^a John G. Hughes,^a David T. Lynch,^a Kerryl E. Greenwood-Quaintance,^a Allen C. Cheng,^{c,d} Jayawant N. Mandrekar,^e Robin Patel^{a,f}

Milieux	Temps de détection moyen (extrêmes) heures
Géloses Aérobie	41 (21, 63)
Géloses Anaérobie	62 (43, 144)
B thioglycolate	65 (43, 92)
Flacons HC Aér	21 (14, 45)
Flacons HC Ana	23 (16, 47)

Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles

Trisha N. Peel,^{a,b} Brenda L. Dylla,^a John G. Hughes,^a David T. Lynch,^a Kerryl E. Greenwood-Quaintance,^a Allen C. Cheng,^{c,d} Jayawant N. Mandrekar,^e Robin Patel^{a,f}



Quelle place pour les flacons hémocultures ?

- **Apport des flacons hémocultures**
 - Faible inoculum
 - Antibiotique en pré-op
 - Réduction des délais de croissance
 - Identification rapide / antibiogramme
- **Inconvénient des flacons hémocultures**
 - Technique ++ et risque de contamination
 - Quel type de flacon ?
 - dilution ?
 - Temps, coût
 - Infection polymicrobienne ?



Corvec et al., 2012 IJAO, Velay et al., DMID 2010, Hughes et al., JCM 2001

IPOA : Bactériologie standard

Recommandations SPLIF 2009, IDSA 2013, REMIC 2010.....

- Examen direct après coloration
- Ponction articulaire : cytologie + culture (solides + flacons d' hémocultures)
- Culture des pvts tissulaires broyés :
 - sur géloses enrichies (sang + chocolat isovitalex)
 - 5 jours en aérobiose

REMIC 2015 :

- Incubation des géloses 14 jours low, ...
- Flacons d' hémocultures pour les broyats tissulaires
 - 14 jours
 - Repiquage si troubles et systématique à J14 si clairs +++
- Recherche de mycobactéries pas systématique mais y penser souvent (surtout si négatif)
- Conservation des pvts jusqu' au rendu des résultats
- Congélation des pvts et des souches à -80° C

IPOA :

résultats microbiologiques

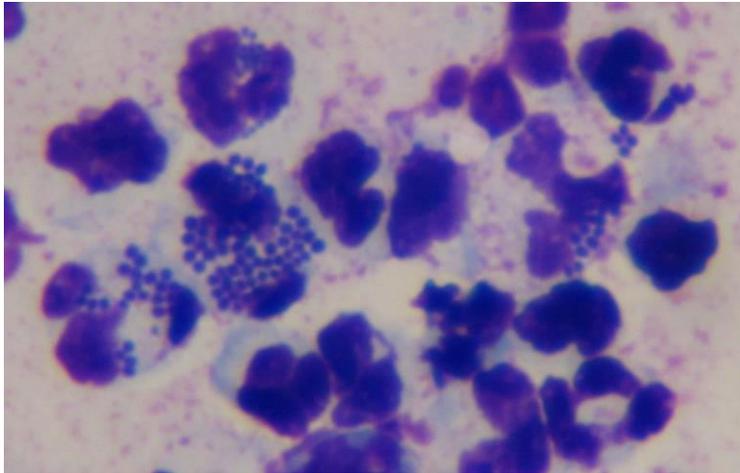
Ponction articulaire

	Articulation native		Articulation prothésée		
	Normale	infection	Hanche Sckinsky	Genou Ghanem	Genou Trampuz
Leucocytes/mm³	<200	>10 000	>4200	>1100	>1700
Sensibilité			84%	90.7%	94%
Spécificité			93%	88.1%	88%
PNN	<25%	>90%	80%	>64%	65%
Sensibilité			84%	95%	97%
Spécificité			82%	94.7%	90%

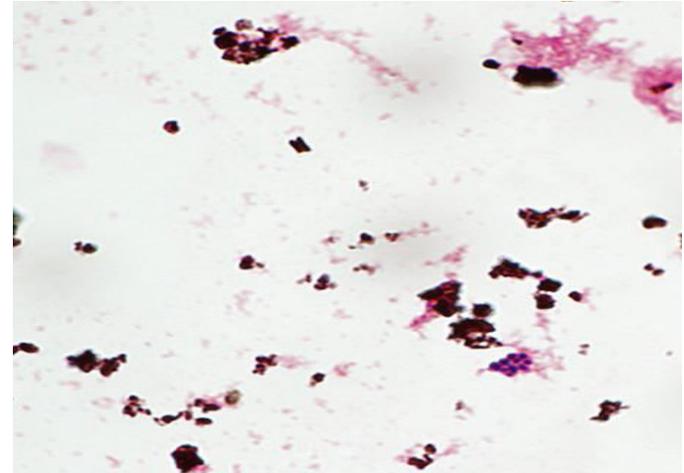
IPOA :

résultats microbiologiques

Infection aigue



Infection chronique



sensibilité 5%

IPOA :

Infection aigue



Dg facile

- ❑ Bactéries " normales "
- ❑ Culture rapide en 24 h

résultats microbiologiques

Infection chronique



Dg très difficile

- ❑ Bactéries "stressées"
- ❑ Culture lente >> 48 heures
- ❑ Culture Svt uniquement en bouillon
- ❑ Résultats longs à obtenir
- ❑ Aspect polymorphe des colonies
- ❑ Antibiogrammes différents
- ❑ Polymicrobienne ou 'SCV'

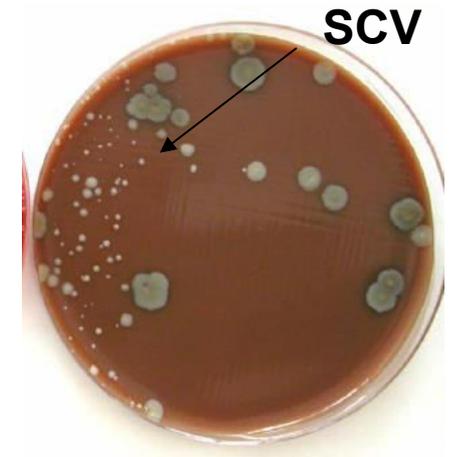
IPOA :

Micro colonies

« Small Colony Variants »(SCV)

Faciles à méconnaître

- Colonies petites et chétives
- Tps de doublement x 10 / Culture retardée > 3 j
- Adhérentes ++ (biofilm) : broyage/sonication
- Auxotrophie :
 - Hémine, menadione (R aminosides)
 - Thymidine (R aux folates (SXT))
 - Vit K.....
- Métabolisme de l'ATP profondément perturbé
- Extraction d'ADN difficile
- Activité ATB perturbée : antibiogramme difficile
 - Oxacilline
 - Vancomycine
- Perte de l'activité bactéricide des ATB
 - Même avec des concentrations très élevées (CMB 200 x N)

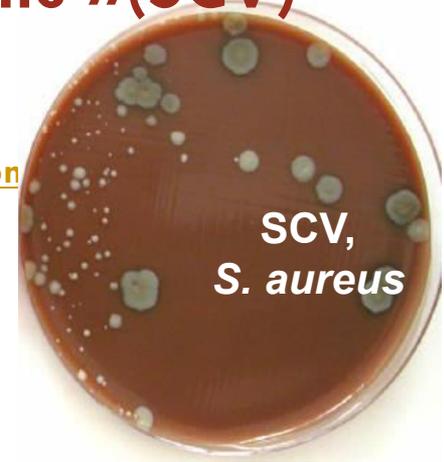


IPOA :

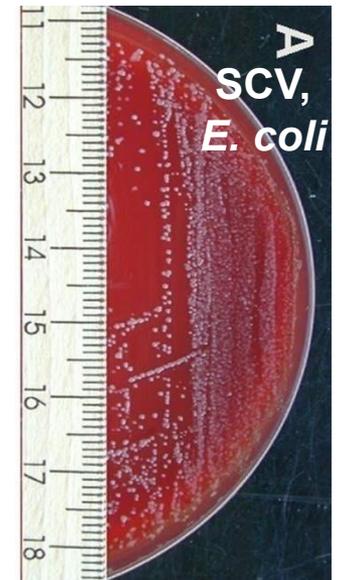
Micro colonies

« Small Colony Variants »(SCV)

- **SCV** surtout pour ***S. aureus*** mais aussi autres espèces
 - Sendi P *Staphylococcus aureus* small colony variants in prosthetic joint infection Clin Infect Dis. 2006
 - Sendi P *Escherichia coli* variants in periprosthetic joint infection: diagnostic challenges with sessile bacteria and sonication. J Clin Microbiol. 2010



- Prévalence : **30%**
- **La présence des « SCV » doit être recherchée et signalée systématiquement**
- présence de « SCV » =
 - Ablation de la prothèse
 - Sans Spacer ?
 - Réimplantation après 6 - 8 semaines d'antibiothérapie efficace sur les « SCV » :
 - Intérêt des associations d'AB comportant : rifampicine+++ , ciprofloxacine, daptomycine, minocycline, tigécycline.



Sendi, JCM; 2010

ttt chirurgical des PJI : algorithme de Zimmerli (ECCMID 2015)

Conditions

Durée des symptômes \leq 3 semaines
+ Implant stable
+ Absence de fistule
+ Souche sensible

TOUS +

Traitement

Débridement-
conservation prothèse

SINON

Tissus mous intacts

Chirurgie en 1 temps

Tissus mous endommagés, fistule, abcès

Germes résistants ou difficiles à traiter

Patient débilité, non opérable, alité

Pas d'amélioration fonctionnelle
après la mep de la prothèse

- « Small colony variants »
- Germes multirésistants stt
BGN résistant aux
quinolones
- *Enterococcus spp*
- levures

ttt antibiotique

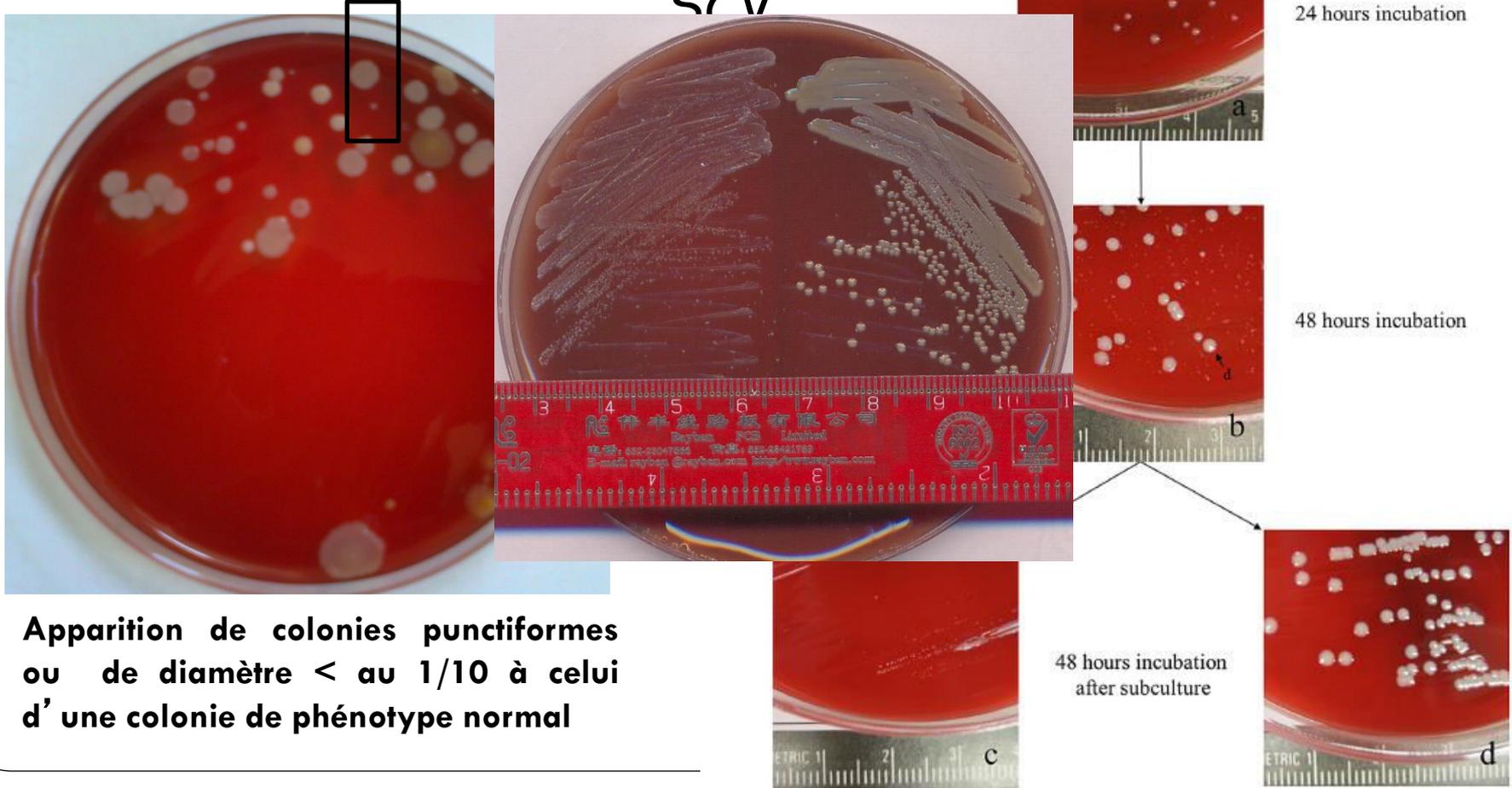
Ablation prothèse

Clinical Characteristics and Outcomes of Prosthetic Joint Infection Caused by Small Colony Variant Staphylococci

Aaron J. Tande,^{a,b} Douglas R. Osmon,^a Kerryl E. Greenwood-Quaintance,^b Tad M. Mabry,^c Arlen D. Hanssen,^c Robin Patel^{a,b,d}

Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine,^a Infectious Diseases Research Laboratory,^b Department of Orthopedic Surgery,^c and Division of Clinical Microbiology, Department of Laboratory Medicine and Pathology,^d Mayo Clinic, Rochester, Minnesota, USA

Définition d'un "SCV"



Cas de sepsis sur PTH à *S. aureus* "SCV" à Sfax

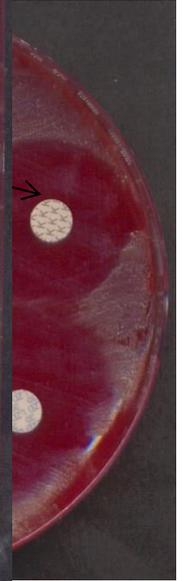
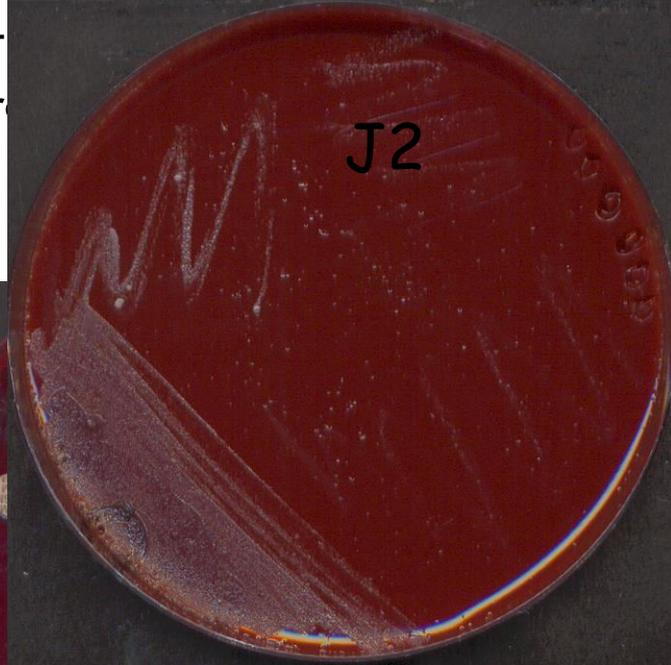
Dnase : neg

Coagulase :
neg

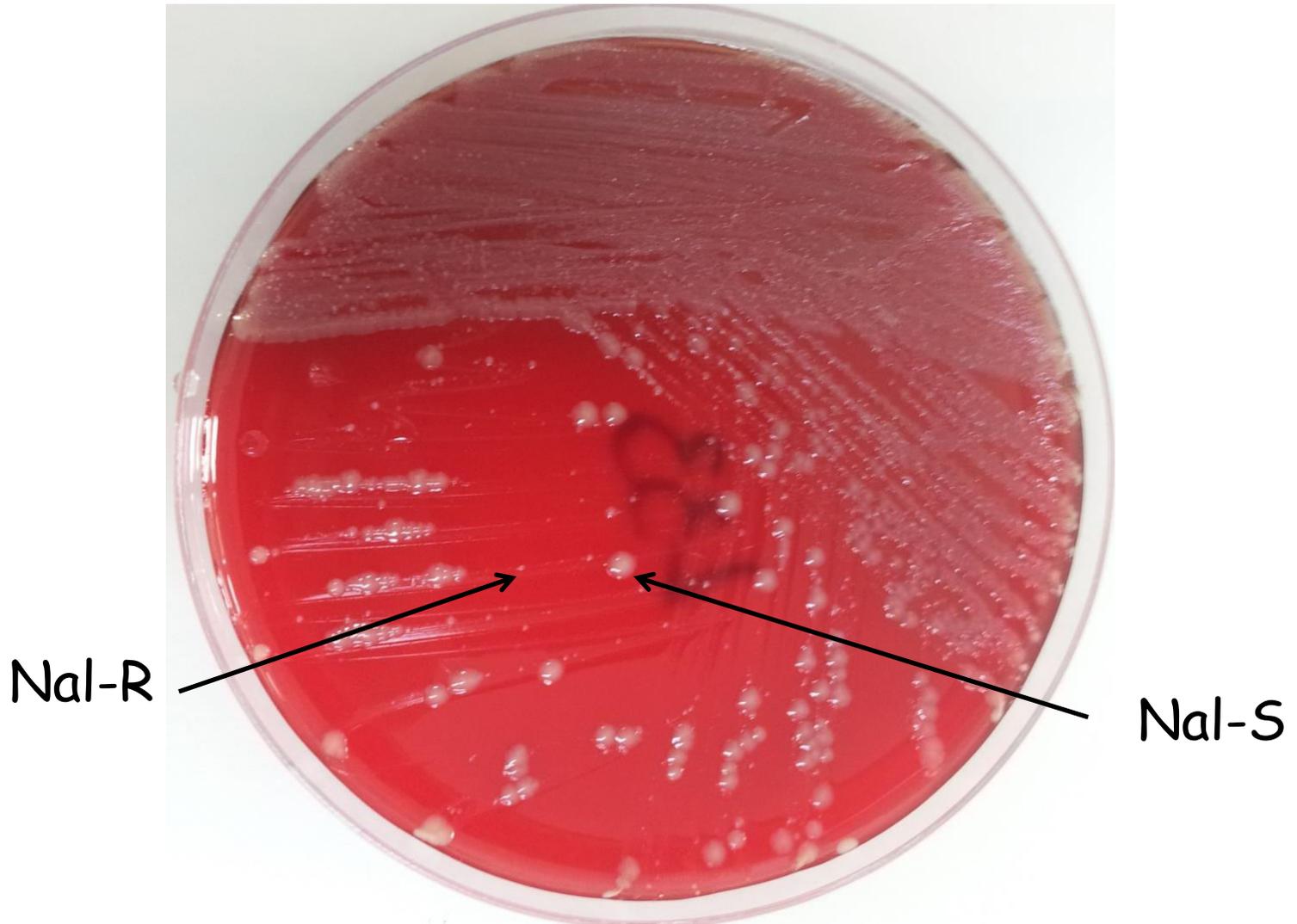
Agg : neg

ID 32 st

S. aur



Ostéomyélite à *Salmonella* (SCV)



Antibiotiques ayant une activité anti-biofilm

- **Staphylocoques : Rifampicine (en association)**
- **Streptocoques : Pénicillines (ceftriaxone)**
- **Entérocoques : aucun (fosfomycine + gentamicine)**
- **Bacilles à Gram négatif : Ciprofloxacine**
- **Candida : Echinocandines (capsosungine, antidulafungine, micafungine)**

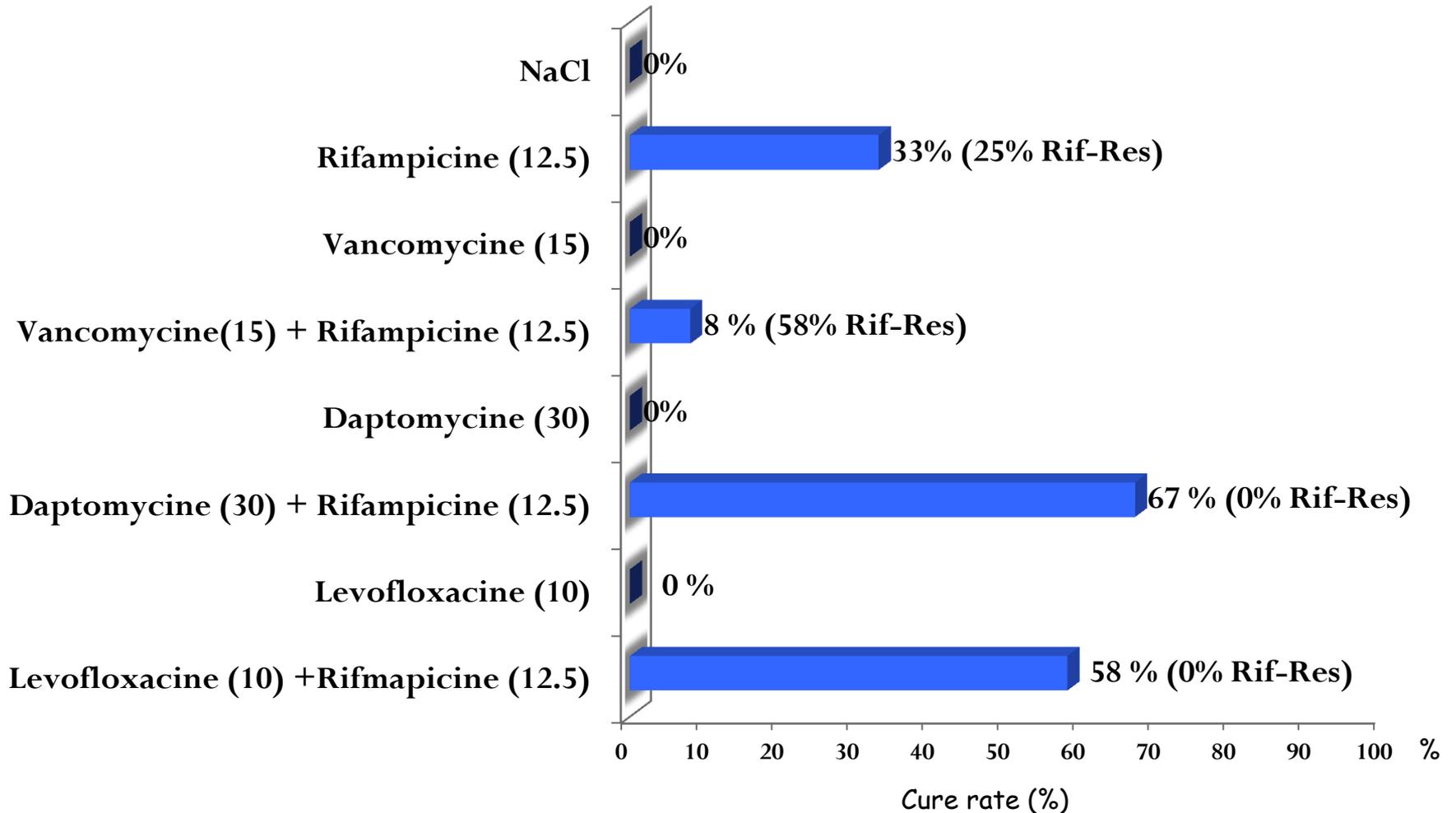
Rôle de la rifampicine dans les sepsis sur matériel ttt avec conservation du matériel

Auteur	Références	Taux de succès ttt	
		Sans RIFA	Avec RIFA
Brandt et al	Clin Infect Dis, 1997	31%	NA
Deirmangian et al	J Arthroplasty, 2003	35%	NA
Zimmerli et al	JAMA, 1998	58%	100%
Giulieri et al	Infection, 2004	50%	87%
Barberan et al	Am J Med, 2006	ND	83%
El Helou et al	EJCID, 2010	63%	93%



Les associations combinant la rifampicine : **standard** dans le ttt des sepsis sur matériel avec conservation du matériel

Cure rate of tissue-cage associated MRSA (ATCC 43300) infection



Factors associated with rifampin resistance in staphylococcal periprosthetic joint infections (PJI): a matched case-control study

Y. Achermann · K. Eigenmann · B. Ledergerber ·
L. Derksen · P. Rafeiner · M. Clauss · R. Nüesch ·
C. Zellweger · M. Vogt · W. Zimmerli

Infection (2013) 41:431-437
DOI 10.1007/s15010-012-0325-7

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL STUDY

FDR d'émergence de la résistance à la rifampicine (analyse multivariée)

FR	OR (95% CI)	p
Sexe masculin	3.6 (1.2-11)	0.023
> 3 révisions	4.7 (1.6-14)	0.006
ttt inadéquat par rifampicine ^{\$}	5.4 (1.2-2.5)	0.029
ttt avec un fort inoculum*	4.9 (1.6-15)	0.005

^{\$} : ttt empirique avec la rifampicine associée à un antibiotique à spectre étroit (ex : oxacilline, clindamycine) ou association de la rifampicine avec un antibiotique oral à faible biodisponibilité (bêta-lactamine orale) ou à faible dose inadéquate

* : ttt IV < 2 semaines, absence de débridement chirurgical

IPOA :

Antibiotiques et infections chroniques

- **Antibiogramme = activité bactériostatique des AB, dans des conditions standardisées.**
- **Pas forcément de similitude entre l'activité d'un AB sur une gélose et dans un os ou une articulation infectée**
- **Antibiogramme de tous les variants**
- **Interprétation délicate : bactéries de croissance lente**
- **Problème avec les micro-colonies instables : il faut déterminer les CMI par E-test**
- **Problèmes avec**
 - **Glycopeptides +++ : détermination des CMI obligatoire (>2 mg/l)**
 - **Oxacilline : rechercher le gène *mecA* pour détecter les SARM**
 - **Pristinamycine et souches Erythro R**

IPOA :

Interprétation de la documentation per-opératoire

5 prélèvements/
sans antibiotique*

$\geq 1/5$ pvt pos à
une bactérie \neq à la
flore cutané

Ex : *S. aureus*, *P. aeruginosa*, EB...

Infection
certaine

$\geq 3/5$ pvt pos au
même germe \neq
flore cutané

Ex SCN, *P. acnes*,
corynébactéries

Infection
certaine

1/5 pvt pos au
même germe \neq
flore cutané

Ex SCN, *P. acnes*,
corynébactéries

Infection probablement
exclue
(PCR? Histologie?)

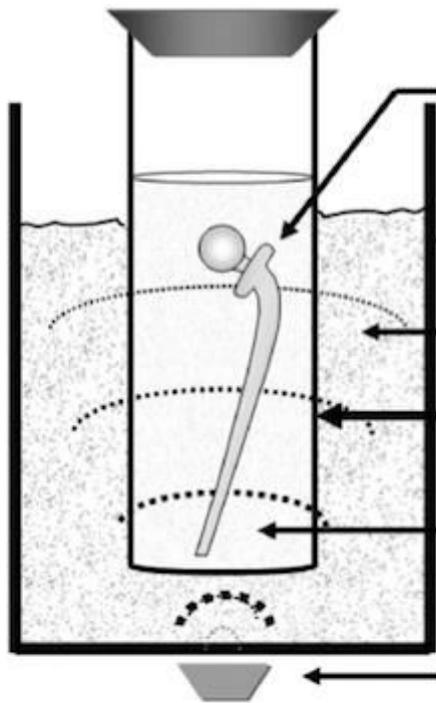
5/5 pvt
négatifs

* : fenêtre antibiotique de 3 à 4 semaines

D'après SPLIF

IPOA :

améliorer le dg bactériologique **Sonication**



Prothèse dans container
stérile

Tampon

Générateur d'ultra-son
Basse puissance 40kHz,

~5 min

Tor Monsen et al. J. Clin. Microbiol. 2009;47:2496-2501



- Implants prothétiques recueillis dans des jarres en polypropylène stériles
- Sonication / Bain à ultrasons à basse fréquence
- Liquide de sonication mis en culture
- Numérations bactériennes

Détache les biofilms des surfaces des implants sans altérer la viabilité bactérienne

IPOA :

améliorer le dg bactériologique **Sonication**



Tor Monsen et al. J. Clin. Microbiol. 2009;47:2496-2501

~5 min



- Implants prothétiques recueillis dans jarres en polypropylène stériles
- Sonication / Bain à ultrasons à basse fréquence
- Liquide de sonication mis en culture
- Numérations bactériennes

Détache les biofilms des surfaces des implants sans altérer la viabilité bactérienne

IPOA :

améliorer le dg bactériologique **Sonication**

Etude **princeps** : Trampuz, NEJM 2007

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection

Andrej Trampuz, M.D., Kerryl E. Piper, M.S., Melissa J. Jacobson, A.S.,

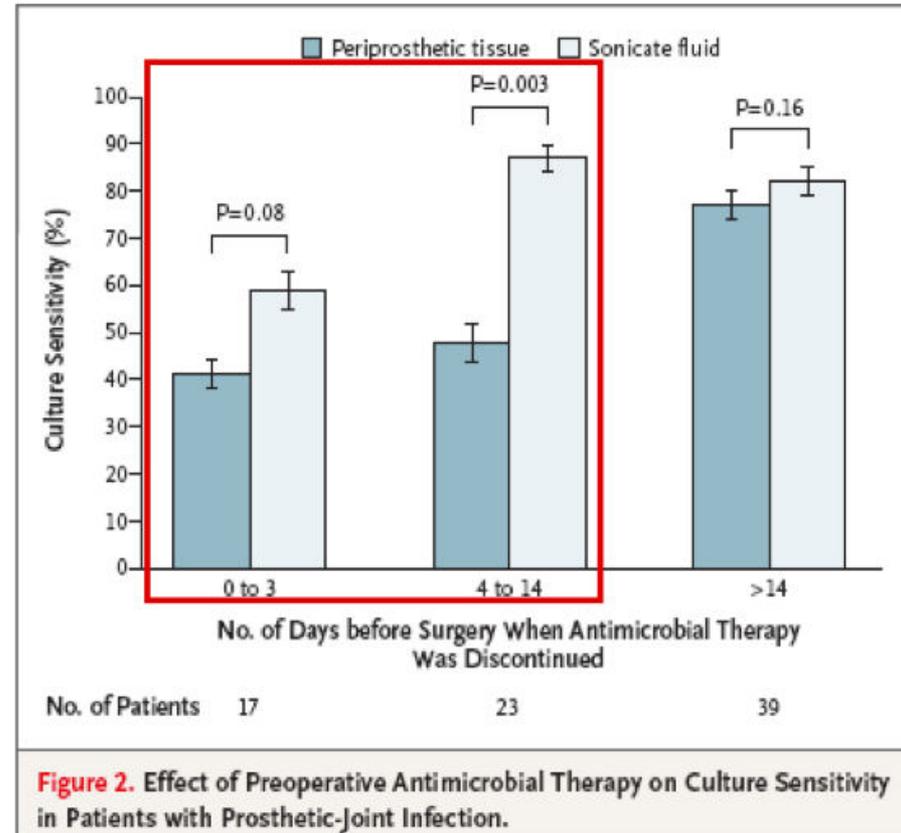
331 patients : 79 IPOA

Sensibilité des cultures :

Tissus 61% VS Sonicats 79%

Patients traités dans les 15j précédant la chirurgie:

Tissus 45% VS Sonicats 75%



Quelle place pour la sonication ?

- Problème du matériel (préanalytique)?
 - Problème des protocoles ?
 - Problème seuil ?
 - Prudence comparaison ?
- Implants prothétiques recueillis dans des jarres en polypropylène **stériles**
 - Sonication / **Bain** à ultrasons à **basse fréquence**
 - Liquide de sonication mis en culture
 - Numérations bactériennes
 - **Seuil bactérien significatif**



Métanalyse

Meta-Analysis of Sonication Fluid Samples from Prosthetic Components for Diagnosis of Infection after Total Joint Arthroplasty

Zanjing Zhai,^a Haowei Li,^a An Qin,^a Guangwang Liu,^b Xuqiang Liu,^a Chuanlong Wu,^a Huiwu Li,^a Zhenan Zhu,^a Xinhua Qu,^a Kerong Dai^a

TABLE 1 Characteristics of the 12 reports in our meta-analysis of the diagnosis of PJI using SFC^a

Study authors (yr) (reference)	Country	No. of patients	Mean age (yr)	Enrollment period	Study design, enrollment type	Sample site(s) (n)	Diagnostic criteria for PJI ^b
Puig-Verdié et al. (2013) (11)	Spain	152	62.7	January 2007 to December 2008	Prospective, consecutive	Hip (54) and knee (98)	IOF, H, M
Portillo et al. (2013) (16)	Spain	135	73	June 2006 to April 2012	Prospective, consecutive	Knee (85), hip (41), shoulder (5), and elbow (4)	IOF, M
Janz et al. (2013) (19)	Germany	102	67.7	October 2010 to December 2011	Prospective, NA ^c	Hip (102)	IOF, M
Janz et al. (2013) (12)	Germany	59	67	October 2010 to March 2011	Prospective, NA	Hip and knee (NA)	IOF, M
Cazanave et al. (2013) (14)	United States	434	67	April 2006 to May 2011	Retrospective, NA	Hip (162) and knee (272)	IOF, H
Esteban et al. (2012) (10)	Spain	75	66	2004 to 2009	Retrospective, consecutive	Hip and knee (NA)	IOF, M
Bjerkkan et al. (2013) (18)	Norway	54	69	January 2005 to May 2007	Prospective, consecutive	Hip (47) and knee (7)	IOF, H, M
Vergidis et al. (2011) (20)	United States	36	60.5	July 2007 to July 2010	Retrospective, consecutive	Elbow (36)	IOF, H, M
Achermann et al. (2010) (13)	Switzerland	47	71	August 2008 to March 2009	Prospective, consecutive	Knee, hip, Shoulder, elbow, and ankle (NA)	IOF, H, M
Piper et al. (2009) (15)	United States	136	65	August 2004 to November 2008	Retrospective, NA	Shoulder (136)	IOF, H
Trampuz et al. (2007) (9)	United States	331	69	August 2003 to December 2005	Retrospective, NA	Hip (124) and knee (207)	IOF, H
Trampuz et al. (2006) (17)	United States	78	71	July 1998 to August 2003	Prospective, NA	Hip (10) and knee (68)	IOF, M

^a SFC, sonication fluid cultures.

^b IOF, intraoperative finding; H, histological examination; M, microbiological or laboratory examination.

^c NA, not available.

Métanalyse

Meta-Analysis of Sonication Fluid Samples from Prosthetic Components for Diagnosis of Infection after Total Joint Arthroplasty

Zanjing Zhai,^a |
Kerong Dai^a

TABLE

Subgroup

Overall

400ml Ringer's
solution added



Prosthesis
collection in
rigid sterile
container



Vortex
30 seconds



Sonicate
5 minutes



Inoculate
sonicate
fluid on
solid agar



Aspirate
sonicate
fluid



Centrifuge
5 minutes



Vortex
30 seconds

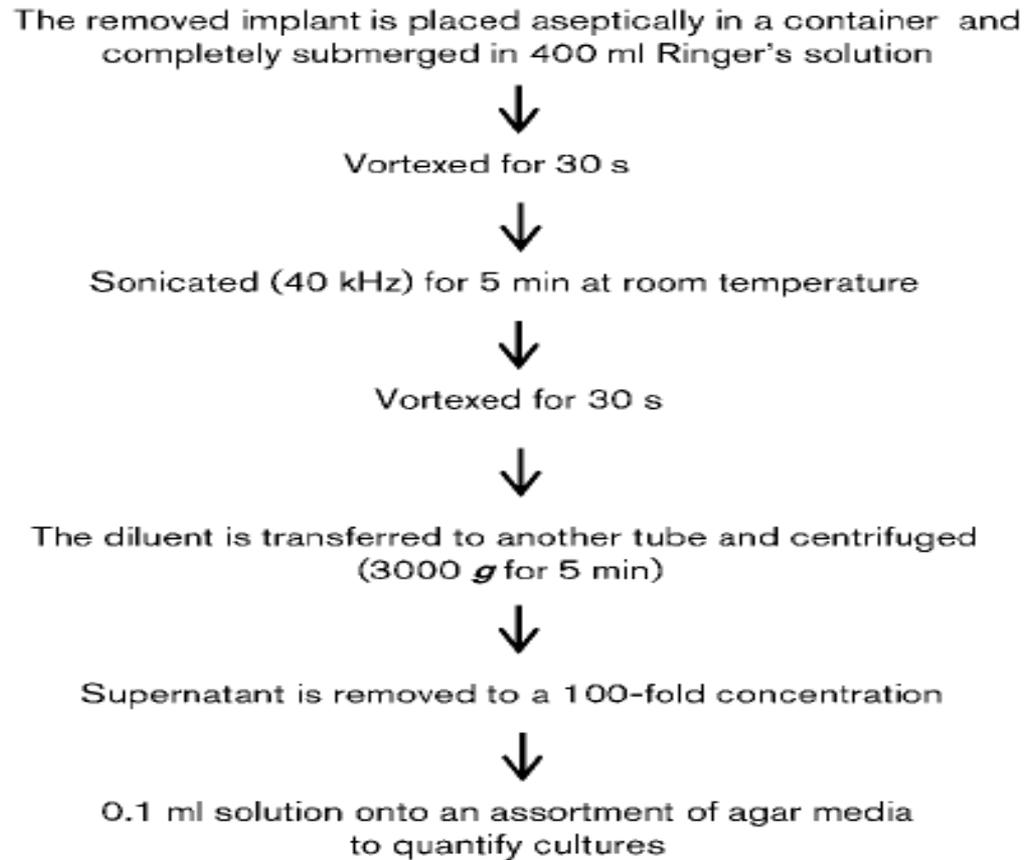


Fig. 1. Effective protocol for sonication of prosthetic material. Limits for interpretation of growth: ≥ 20 c.f.u. per plate [≥ 20 c.f.u. (10 ml Ringer's solution) $^{-1}$]. Ringer's solution was used by Trampuz *et al.* (2007), Monsen *et al.* (2009) and Sampedro *et al.* (2010). Ringer's solution (25 %, v/v) containing L-cysteine (0.05 %, w/v) as a reducing agent for optimal isolation of *P. acnes* was used by Tunney *et al.* (1998, 1999). According to Tunney *et al.* (1998, 1999), Trampuz *et al.* (2007), Monsen *et al.* (2009), Sampedro *et al.* (2010), Gomez & Patel (2011b).

IPOA :

améliorer le dg bactériologique

Détection moléculaire

- **PCR universelle ARNr16S**
 - réservée aux laboratoires spécialisés
 - interprétation délicate
 - non adaptée aux infections polymicrobiennes
 - sensibilité < culture
- **PCR spécifiques**
 - plus sensibles que PCR 16S
 - *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. acnes*



Indications limitées à
discuter :

Échecs des cultures standards
Patients sous antibiotiques
PCR spécifiques d'abord

améliorer le dg bactériologique



Journal of Clinical Microbiology p. 2742-2746

August 2013 Volume 51 Number 8

Métanalyse

PCR-Based Diagnosis of Prosthetic Joint Infection

Xinhua Qu,^a Zanjing Zhai,^a Huiwu Li,^a Haowei Li,^a Xuqiang Liu,^a Zhenan Zhu,^a You Wang,^a Guangwang Liu,^{a,b} Kerong Dai^a

TABLE 1 Characteristics of the 14 reports in our meta-analysis of the diagnosis of PJI based on PCR^a

Study (reference)	Country	No. of patients	Mean age (yrs)	Study design, enrollment	Sample type	Sample condition	Sample site(s)	PCR type	Target gene	Diagnostic criteria of PJI
Portillo et al., 2012 (15)	Spain	86	73	Prospective, consecutive	Sonicated PF	Fresh	Hip, knee, elbow, and shoulder	RT multiplex PCR	NA	IOF, M
Marín et al., 2012 (11)	Spain	122	72	Prospective, NA	BS or SFS	Fresh	Hip, knee, elbow, and shoulder	PCR	16S rRNA gene	IOF, H
Jacovides et al., 2012 (7)	United States	80	67	Prospective, consecutive	SFS	Frozen	Hip and knee	PCR	16S rRNA gene	IOF, M
Gomez et al., 2012 (6)	United States	366	66	Retrospective, NA	Sonicated PF	Frozen	Hip and knee	RT-qPCR	16S rRNA gene	IOF, H
Esteban et al., 2012 (4)	Spain	75	66	NA, consecutive	Sonicated PF	Frozen	Hip and knee	RT-PCR	16S rRNA gene	M
Bergin et al., 2010 (3)	United States	64	NA	Prospective, consecutive	SFS	NA	Knee	RT-qPCR	16S rRNA gene	IOF, H, M
Piper et al., 2009 (11)	United States	134	65	NA, NA	Sonicated PF	Frozen	Shoulder	RT-qPCR	S probes; P 16S rRNA gene	IOF, H
Kobayashi et al., 2009 (8)	Japan	24	NA	Prospective, consecutive	BS	Fresh	Hip and knee	RT-qPCR	16S rRNA gene	M
Kobayashi et al., 2008 (9)	Japan	54	NA	Prospective, consecutive	BS	Fresh	Hip and knee	RT multiplex qPCR	S and P probes	M
Gallo et al., 2008 (5)	Czech Republic	101	66	Prospective, NA	SFS	Fresh	Hip, knee, and elbow	PCR	16S rRNA gene	IOF, H, M, R
Moojen et al., 2007 (12)	Netherlands	76	NA	Retrospective, NA	BS	Fresh	Hip	qPCR	16S rRNA gene	IOF, H, M, R
Panousis et al., 2005 (13)	United Kingdom	91	66	Prospective, consecutive	SFS	Fresh	Hip and knee	Broad-range PCR	16S rRNA gene	IOF, M
Tunney et al., 1999 (16)	United Kingdom	119	NA	NA, NA	BS	Fresh	Hip	PCR	16S rRNA gene	M
Mariani et al., 1996 (10)	United States	50	NA	NA, NA	SFS	Frozen	Knee	PCR	16S rRNA gene	M

^a Abbreviations: PF, prosthesis fluid; BS, biopsy sample; SFS, synovial fluid sample; RT, real time; qPCR, quantitative PCR; P, *Propionibacterium*; S, *Staphylococcus* H, histological examination; IOF, intraoperative finding; M,

PCR : sensibilité = 86% et Spécificité = 91%

Antibiothérapie préalable

Très sensible : PCR sur sonicat

Très spécifique : PCR sur plusieurs prélèvements

PCR spécifique > PCR universelle

COÛT ???

IPOA :

améliorer le dg bactériologique

PCR-temps réel spécifique // PCR conventionnelle universelle 16S

Eur J Clin Microbiol Infect Dis
DOI 10.1007/s10096-014-2263-z

ARTICLE

Complementarity between targeted real-time specific PCR and conventional broad-range 16S rDNA PCR in the syndrome-driven diagnosis of infectious diseases

A.-S. Morel • G. Dubourg • E. Prudent • S. Edouard •
F. Gouriet • J.-P. Casalta • F. Fenollar • P. E. Fournier •
M. Drancourt • D. Raoult

Received: 4 September 2014 / Accepted: 7 October 2014

IPOA :

améliorer le dg bactériologique

PCR-temps réel spécifique // PCR conventionnelle universelle 16S

Table 1 Diagnosis technique for each infection, grouped by syndrome, and comparison with standard microbiological results

	Meningitis	Respiratory infections	Cerebral abscesses	Osteoarticular infections	Endocarditis	Ocular infections	Adenitis	Pericarditis
No. of diagnoses/no. of samples	73/2,306	197/2,998	44/130	287/4,316	183/3,558	37/1,052	131/772	10/131
Both performed	12	16	22	175	123	3	83	3
Real-time specific PCR positive (%)	50	127	5	140	98	1	51	0
Both positive (%)								3
Conventional PCR positive (%)								7
RT negative / 16S positive (%)								0
16S negative with RT positive (%)	8 (66.7)	3 (25)	3 (13.6)	140 (80)	76 (61.7)	1 (50)	44 (53)	0
Culture positive/performed (%)	19/48 (39.5)	84/121 (69.4)	33/37 (81.8)	129/207 (62.3)	36/84 (40.5)	10/14 (71.4)	15/21 (71.4)	5/9 (55.6)

Sensibilité PCR 16 S / PCR TR Sp :

***S. Aureus* : 19/117 = 16,2%**

***K. kingae* : 7/26 = 27%**

Morel et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014. “Complementarity between targeted real-time specific PCR and conventional broad-range 16S rDNA PCR in the syndrome-driven diagnosis of infectious diseases.”



Clinical Microbiology Reviews p. 302–345

April 2014 Volume 27 Number 2

Prosthetic Joint Infection

Aaron J. Tande,^a Robin Patel^{a,b}

<i>negative</i>						
<i>Streptococcus</i>	8	4	6	6	4	4
<i>Enterococcus</i>	3	10	2	2	3	0
BGN aérobies	9	24	7	5	10	7
Anaérobies	4	3	9	5		
<i>Propionibacterium acnes</i>					24	1
Autres anaérobies					3	0
Culture négative	14	10	7	11	15	5
Culture polymicrobienne	15	31	14	12	16	3

IPOA :

épidémiologie bactérienne

	PTH+ PTG		PTH	PTG	épaule	coude
	total	aigue				
Nb prothèses infectées	2435	637	1979	1427	199	110
<i>Staphylococcus aureus</i>	27	38	13	23	18	42
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	27	22	30	23	41	41
<i>Streptococcus</i>	8	4	6	6	4	4
<i>Enterococcus</i>	3	10	2	2	3	0
BGN aérobies	9	24	7	5	10	7
Anaérobies	4	3	9	5		
<i>Propionibacterium acnes</i>					24	1
Autres anaérobies					3	0
Culture négative	14	10	7	11	15	5
Culture polymicrobienne	15	31	14	12	16	3

IPOA :

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, cristaux, granulome polyéthylène ...

IPOA :

épidémiologie bactérienne hôpital Habib Bourguiba

44 suspicions d'infections de prothèses (2011-2015) :

- **97 prélèvements peropératoires : 20 → un seul prélèvement
13 → \geq 3 prélèvements**
- **18 positifs (41%)**
 - **12 *Staphylococcus* : 8 *S. aureus*, 4 SCN**
 - **5 BGN : entérobactéries, *P. aeruginosa***
 - **1 corynébactérie**
 - **→ 6 « SCV » : 33%**
- **Enrichissement flacons d'hémocultures :
9 IPOA → 2 positifs**

IPOA :

Rendu du résultat

doit comporter :

- La date du prélèvement
- L'intitulé exact du prélèvement : liquide articulaire, pus contact prothèse ...
- Le résultat de l'examen cytologique : présence ou absence de polynucléaires neutrophiles, d'hématies, la numération des éléments si liquide articulaire
- Le résultat de l'examen du Gram
- Le résultat de la culture (*indiquant les milieux utilisés : géloses nutritives enrichies ensemencées en aérobie, sous 5% CO₂, en anaérobie, en bouillons enrichis aérobie et anaérobie, cultivés 10 jours*) :

exemple

- Culture positive dans tous les milieux
- Culture positive uniquement en bouillons aérobie et anaérobie
- Culture positive uniquement en bouillon anaérobie

Avec EX :

Staphylococcus aureus, un seul aspect de colonies

Staphylococcus epidermidis : Plusieurs aspects ayant le même antibiogramme

Staphylococcus epidermidis : Plusieurs aspects ayant 3 antibiogrammes différents

- La date de rendu du résultat

IOAP :

Comment optimiser le diagnostic microbiologique ?

- **Arrêt de l'antibiothérapie** avant la chirurgie
 - >15 jours, au mieux 3 semaines à 1 mois
 - Surtout infections retardées ou tardives
 - Chirurgie septique programmée
- **Multiplier** les prélèvements : d'interface +++
- Prise en charge au laboratoire : **personnel formé**
 - **Broyage** nécessaire
 - Intérêt des flacons d'**hémoculture**
 - Cultures prolongées, critères d'interprétation++
- Réserver la PCR aux patients traités-cultures négatives
- Sonication ? Choix pré-opératoire selon critères définis
Echec 1ère reprise, infection chronique

IPOA : Conclusions

Dg bactériologique des IOA

- Difficile
- Prise en charge multidisciplinaire
- Dépend de la qualité des prélèvements
- Meticuleux

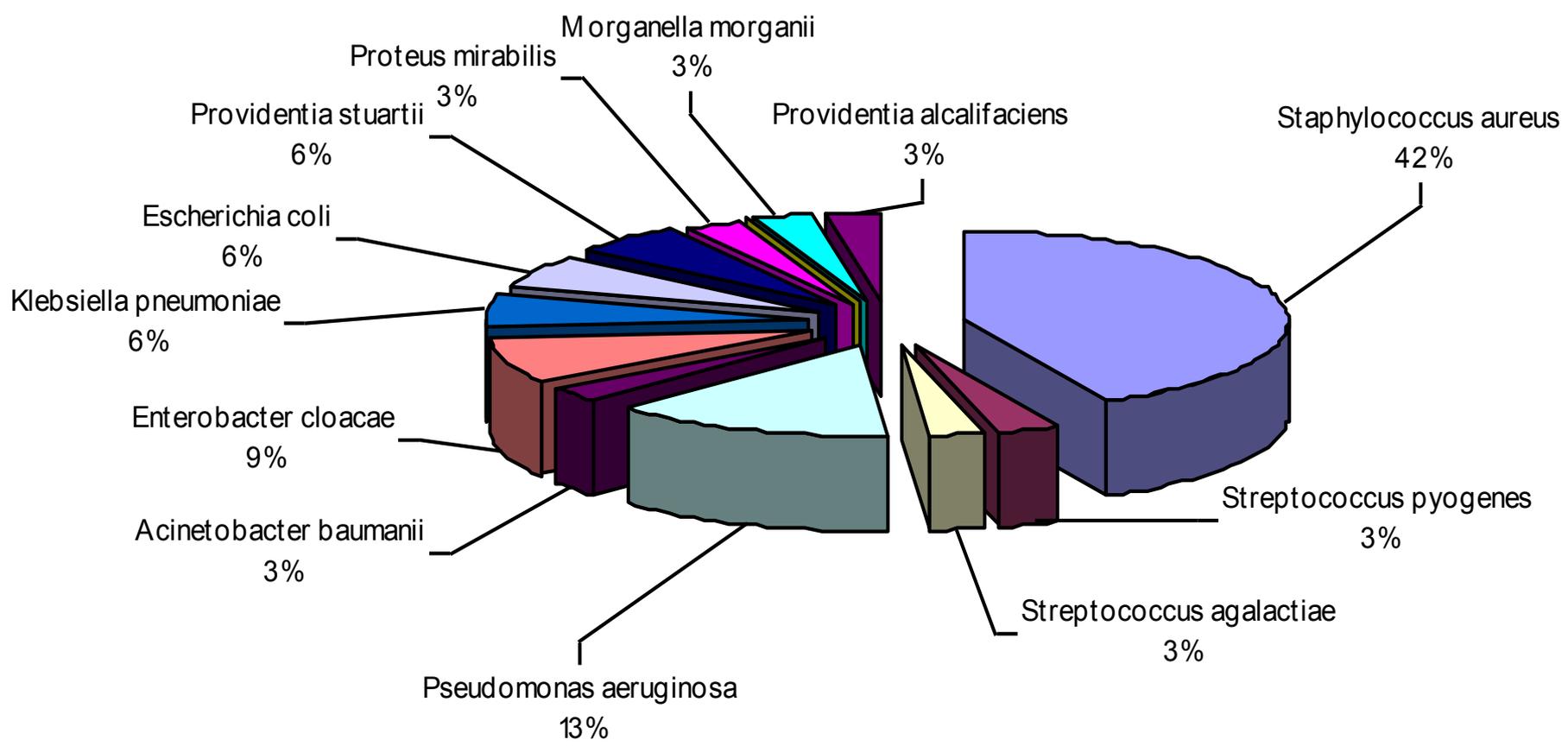
Bactériologie : pierre angulaire du diagnostic d'IPOA
Les microbiologistes ont un rôle d'expertise essentiel
!

- Pas automatisable
- Onéreux
- Standard : Résultats sont souvent longs à obtenir
- PCR : sur demande, couteuse
- Mais informations capitales pour traiter les malades

MERCI

Sepsis sur matériel:

épidémiologie bactérienne



Bactéries responsables d'infection sur matériel orthopédique entre 2006 et 2010 à Sfax

22% : BMR