

MICROBIOLOGIE DES INFECTIONS OSTÉO-ARTICULAIRES (IOA)

DUACAI

12 avril 2024

Dr Caroline LOÏEZ - Service de Bactériologie - CHU Lille

GRANDE HÉTÉROGÉNÉITÉ DES IOA

Selon le site anatomique

- ❑ **Arthrite** : atteinte articulaire infectieuse ou non (microcristallines)
- ❑ **Ostéite** : infection osseuse post-traumatique ou post-opératoire
- ❑ **Ostéomyélite** : infection osseuse hématogène
- ❑ Ostéo-arthrite
- ❑ Spondylodiscite
- ❑ A part : le pied diabétique (grade I, II, III, IV)

Selon les modalités de contamination

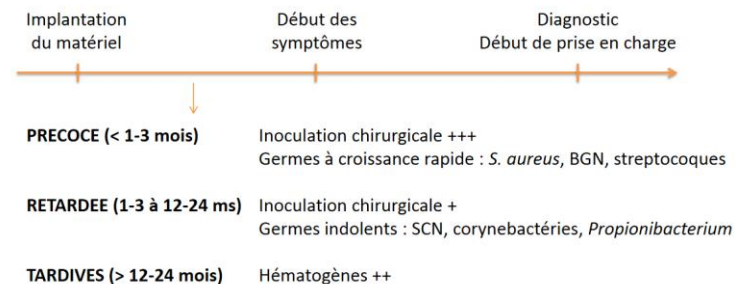
- ❑ **Hématogène** au cours d'une bactériémie
- ❑ **Inoculation** (ponction, infiltration, chirurgie, arthroscopie, fracture)
- ❑ **Contiguïté** à partir d'un foyer septique (plaie chronique..)

Selon la présence ou non de matériel

- ❑ IOA natives
- ❑ IOA sur matériel : **prothèse, ostéosynthèse**

Selon la chronologie de l'infection

- ❑ IOA **précoce** <21 jours après la pose du matériel
- ❑ IOA **retardée ou tardive** > 21 jours après la pose du matériel
 - **Aiguë** : symptômes récents = URGENCE DIAGNOSTIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
 - **Chronique** : symptômes anciens



ÉPIDÉMIOLOGIE DES IOA

Site anatomique	Mode de contamination	Bactéries les plus fréquentes
Arthrite aiguës	Hématogène	S.aureus Streptocoques Entérobactéries <i>N. gonorrhoeae</i>
	Inoculation directe	Intra-articulaire : S.aureus , SCN, <i>C.acnes</i>
		Post-morsure : <i>Pasteurella</i> , <i>Capnocytophaga</i> ,...
Ostéomyélites	Hématogène	Nouveau-né : S.aureus , <i>S.agalactiae</i> , entérobactéries
		Enfant : Kingella kingae , <i>S.pyogenes</i>
		Cas particulier drépanocytose : <i>Salmonella</i> spp
Spondylodiscites		S.aureus Streptocoques spp. Entérobactéries <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (mal de Pott)
IOA post-opératoires	Contamination directe du foyer de fracture	S.aureus Streptocoques spp. <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> spp, anaérobies, infections plurimicrobiennes
	Contamination opératoire (chirurgie propre)	Staphylococcus spp
IOA sur matériel	<p>PHRC MICROBIOS, Bémer et al, CRIOGO, JCM 2014</p> <p>- 192 IPOA, 85% monomicrobiennes, 15% polymicrobiennes - 90% de documentation bactériologique</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ S. aureus 33% ■ STACN 23% □ Streptocoques 12% ■ Enterobactéries 6% □ P. aeruginosa 2% ■ Anaérobies 7% ■ Autres 2% ■ IP polymicrobiennes 15% 	<p>Bactéries reconnues pathogènes (<i>S.aureus</i>, Streptocoques, entérobactéries ...)</p> <p>Bactéries commensales (SCN, corynébactéries, <i>C.acnes</i>..)</p>

■ Cocci à Gram positif (≥70%)

- *S. aureus* (35-40%)
- SCN (essentiellement *S. epidermidis*) (≥50 %)
- Streptocoques β-hémolytiques : A, C, G
- Entérocoques

■ Bacilles à Gram négatif (≥15%)

- BGN type entérobactéries (75%)
- BGN non fermentants (25%)
(essentiellement *Pseudomonas*)

■ Anaérobies (8%)

- (essentiellement *C. acnes*)

■ Bacilles à Gram positif (4%)

- Corynébactéries
- Bacillus...

■ Levures (< 1%)

Bactéries reconnues pathogènes
(*S. aureus*, Str. β-hémolytiques, entérobactéries ...)

Bactéries commensales
(SCN, corynébactéries, *C. acnes*..)



Problème : distinguer les bactéries de la flore commensale des bactéries responsables de l'infection

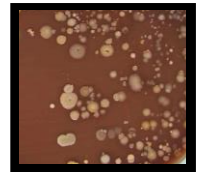
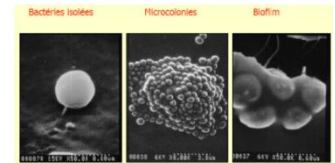
PROBLÉMATIQUE : infection sur matériel

□ Biofilm

Organisation des bactéries en biofilm, les rendant moins accessibles aux défenses immunitaires et aux antibiotiques

□ Variants microcolonies

Modifications métaboliques et biochimiques des bactéries, leur permettant de survivre dans le biofilm et les rendant plus difficiles à « cultiver »



→ **PASSAGE À LA CHRONICITÉ**

Infection chronique +++

- ✓ Diagnostic souvent difficile (≠ infections aiguës)
- ✓ Symptomatologie souvent frustrée
- ✓ Pas d'urgence, mais importance d'identifier la bactérie en cause

❑ Faisceau d'arguments +++

- clinique

Médecin / Chirurgien

- imagerie

Radiologue / Méd.nucléaire

- biologie

Biologistes / Microbiologistes

❑ Confirmation microbiologique

❑ Diagnostic souvent délicat +++

- Faible inoculum bactérien
- Répartition non homogène des bactéries dans le site infecté
- Bactéries au métabolisme ralenti : croissance lente / colonies polymorphes
- Prélèvement plurimicrobien parfois (8 -10 %)

❑ Qualité des résultats

- fonction :
- de la qualité des prélèvements
 - des techniques utilisées au laboratoire (à vérifier)
 - des échanges entre le chirurgien et le laboratoire (en particulier si recherches spécifiques)

PRÉLÈVEMENTS : pourquoi faire de bons prélèvements ?

- ❑ **Documenter l'infection +++**

Identification du ou des micro-organismes responsables de l'infection, en les différenciant des bactéries de la flore commensale d'où importance de prélèvements fiables

- ❑ **Mettre en route une antibiothérapie (association) adaptée**

Étude de la sensibilité aux antibiotiques, afin de permettre un traitement adéquat

Étape indispensable au traitement optimal
des infections osseuses
Pas de traitement sans preuve microbiologique

Pas de prélèvement = Pas d'ATB

PRÉLÈVEMENTS : quels types de prélèvements réaliser?

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...: **controverser**



Perte de chance pour le patient



Prélèvements profonds +++

= seuls prélèvements à valeur indiscutable

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



CONDITIONS DE PRÉLÈVEMENTS

❑ Avant toute antibiothérapie

>< faux négatifs

- Pas d'antibiotique lors des prélèvements
- Fenêtre antibiotique d'au moins 2 sem dans l'idéal, en cas d'infection chronique sous antibiotique :
 - . 1 mois pour la vibramycine, la rifampicine et les fluoroquinolones
 - . au moins 2 semaines pour les autres ATB

❑ Après décontamination cutanée soigneuse

>< faux positifs

afin d'éviter la contamination par les bactéries commensales de la peau

❑ Multiplication des prélèvements per-opératoires

>< faux positifs et faux négatifs

en cas d'infection chronique

valeur des bactéries authentifiées par leur présence dans plusieurs prélèvements profonds
car répartition non homogène des bactéries

Idéalement : > 3 à 5 prélèvements distincts (endroits suspects)



Changement de pince entre 2 prélèvements pour éviter les contaminations croisées

MODALITÉS DE TRANSPORT

- ❑ A température ambiante (20°C)
- ❑ Le plus rapidement possible (moins de 2 heures)
sinon utilisation de milieu de transport pour permettre la survie de bactéries fragiles ou de bactéries anaérobies
- ❑ Contenant stérile
 - pot stérile (sans sérum physiologique, sans compresse, sans huile)
 - flacon
- ❑ Identification précise des différents sites anatomiques prélevés
(liquide articulaire, synoviale, os, tissus mous...)

Pas d'écouvillon



Préparation des prélèvements = étape primordiale

Manipulation sous PSM de type 2

- ❑ avec des gants changés entre chaque série
- ❑ par du personnel formé

Broyage pour les fragments osseux et tissulaires → but = libérer les bactéries enchâssées dans le **biofilm**

- ❑ Homogénéiseur / disperseur de billes (tubes commercialisés stériles en triple emballage)
- ❑ Sonication : difficile à mettre en œuvre
- ❑ Mortier et pilon à proscrire (Rémic 2015) : risque de contamination +++



Examen microscopique

Cytologie du liquide articulaire

- ❑ **Quantification** des leucocytes
- ❑ **Formule** leucocytaire

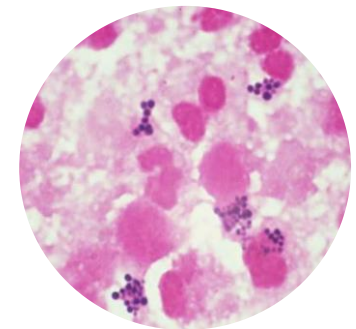
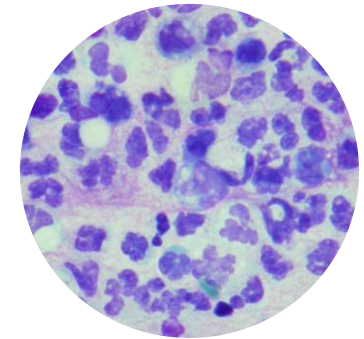
Arthrite septique > 10 000 leucocytes/mm³ – 90% PNN
Infection de prothèse > 1 700 leucocytes/mm³ – 65% PNN

(Trampuz, Am J Med 2004)

- ❑ Recherche de **microcristaux** : diagnostic différentiel (goutte ou chondrocalcinose)

Coloration de Gram

- ❑ Sensibilité 6%
- ❑ Spécificité 99%



Lecture des cultures

Milieux de cultures enrichis

- Géloses aérobies et anaérobies
- Flacons (augmentation de la sensibilité de la culture et gestion automatisée)



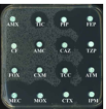
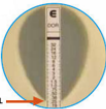
Incubation prolongée

- Au moins 5 jours pour les milieux solides
- Au moins 14 jours pour les milieux liquides



Identification de toutes les morphologies de colonies (attention aux Small Colony Variants)

Antibiogramme selon les recommandations CA-SFM/EUCAST + molécules à bonne diffusion osseuse)

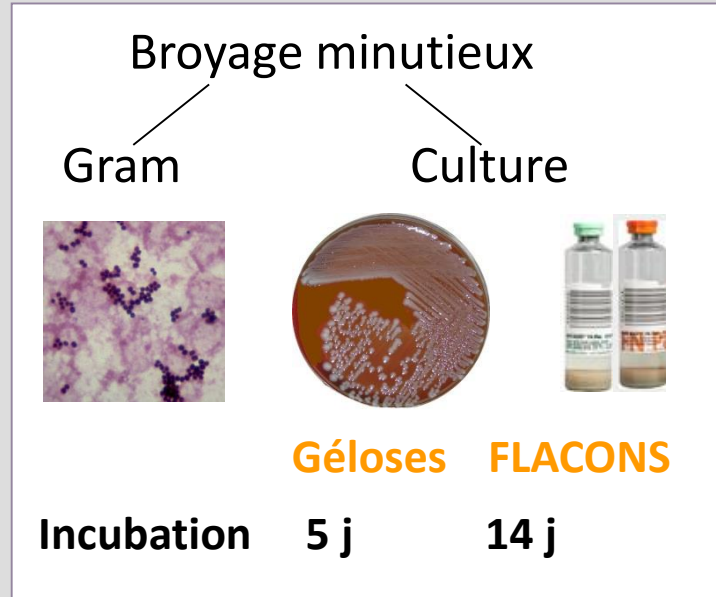
Antibiogramme par dilution en milieu liquide		
Méthodes automatisées		CMI approchées
Microméthode		CMI
Antibiogramme par diffusion en milieu gélifié		
Méthode des disques		Diamètre inversement corrélé à la CMI (abaques)
Méthode des bandelettes	 CMI 0.25 µg/mL	CMI +/-

+ INTERPRÉTATION de l'antibiogramme
en fonction des mécanismes de résistance, des gènes de résistance...

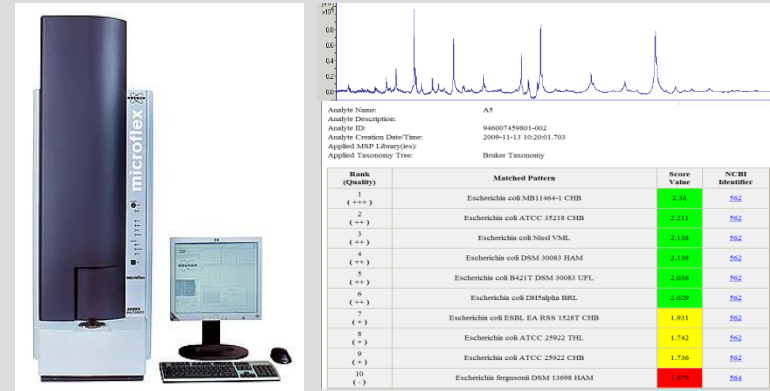
Conservation des souches
pendant minimum 3 ans



Prélèvement standard



Identification par spectrométrie de masse (MALDI-TOF®)



Antibiogramme automatisé (VITEK2®)



Résultats Antibiogramme	Carte : AST-P581	N° de lot : 361221440	Péremptio n : 5 janv. 2013 12:00 CET		
	Termin ée le : 13 oct. 2011 00:55 CEST	État : Final	Heure de l'analyse : 9,25 heures		
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Test céfoxitine screen	NEG	-	Linézolide	1	S
Benzylpénicilline	0,25	R	Téicoplanine	<= 0,5	S
Oxacilline	<= 0,25	S	Vancomycine	2	S
Gentamicine	<= 0,5	S	Minocycline	<= 0,5	S
Kanamycine	<= 4	S	Tétracycline	<= 1	S
Tobramycine	<= 1	S	Fosfomycine	<= 8	S
Ofloxacine	<= 0,5	S	Nitrofurantoiné	<= 16	S
Résistance inducible à la clindamycine	NEG	-	Acide fusidique	<= 0,5	S
Érythromycine	<= 0,25	S	Rifampicine	<= 0,5	S
Lincomycine	<= 1	S	Triméthoprimé/sulfaméthoxazole	<= 10	S
Pristinamycine	<= 0,5	S			

+= Antibiotique déduit **= Modification AES **= Modification Utilisateur

PROTOCOLE

Site 1



Standard 1

Site 2



Standard 2

Site 3

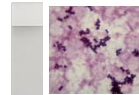


Standard 3

AU BLOC OPERATOIRE



Gram



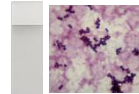
Incubation
5 j



Incubation
14 j



Gram



Incubation
5 j



Incubation
14 j



Gram



Incubation
5 j



Incubation
14 j

AU LABORATOIRE

❑ Bactéries le plus fréquemment en cause

= bactéries pyogènes

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

❑ Examen direct

- souvent positif : présence de bactéries (morphologie à préciser)
- présence de PNN

❑ Culture

- cultures souvent positives après 24 heures d'incubation
- aspect souvent monomorphes des colonies

❑ Recherche de la porte d'entrée (plaie, ECBU, ...)

Diagnostic des infections aiguës = facile
En absence de toute antibiothérapie

❑ Bactéries impliquées

- bactéries pathogènes habituelles (*S.aureus*, Str. β -hémolytiques, entérobactéries ...)
- bactéries commensales (SCN, corynébactéries, *C.acnes*...)

bactéries au métabolisme ralenti : donc culture lente

faible inoculum bactérien

répartition non homogène des bactéries dans le site infecté

❑ Examen direct : peu contributif

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

❑ Culture

- souvent lente (> 48 h)
- parfois uniquement dans les milieux enrichis
- présence de colonies d'aspect différent et de microcolonies
- possibilité d'association bactérienne

possible uniquement si prélèvements bien faits +++

Comparaison de plusieurs prélèvements profonds

Infection certaine

- ☐ Au moins 2 prélèvements positifs

Infection probablement exclue

- ☐ Tous les prélèvements stériles

Infection possible à discuter

- ☐ Autres cas
- ☐ Importance de la confrontation des données
 - cliniques,
 - chirurgicales,
 - radiologiques,
 - anatomopathologiques
 - et bactériologiques

	Infection Unlikely (all findings negative)	Infection Likely (two positive findings) ^a	Infection Confirmed (any positive finding)
Clinical and blood workup			
Clinical features	Clear alternative reason for implant dysfunction (e.g. fracture, implant breakage, malposition, tumour)	1) Radiological signs of loosening within the first five years after implantation 2) Previous wound healing problems 3) History of recent fever or bacteraemia 4) Purulence around the prosthesis ^b	Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis
C-reactive protein		> 10 mg/l (1 mg/dl) ^c	
Synovial fluid cytological analysis ^d			
Leukocyte count ^e (cells/μl)	≤ 1,500	> 1,500	>3,000
PMN (%) ^e	≤ 65%	> 65%	> 80%
Synovial fluid biomarkers			
Alpha-defensin ^g			Positive immunoassay or lateral-flow assay ^g
Microbiology ^f			
Aspiration fluid		Positive culture	
Intraoperative (fluid and tissue)	All cultures negative	Single positive culture ^g	≥ two positive samples with the same microorganism
Sonication ^h (CFU/ml)	No growth	> 1 CFU/ml of any organism ^g	> 50 CFU/ml of any organism
Histology ^{e,i}			
High-power field (400x magnification)	Negative	Presence of ≥ five neutrophils in a single HPF	Presence of ≥ five neutrophils in ≥ five HPF
			Presence of visible microorganisms
Others			
Nuclear imaging	Negative three-phase isotope bone scan ^c	Positive WBC scintigraphy ^l	

g. Interpretation of single positive culture (or < 50 UFC/ml in sonication fluid) must be cautious and taken together with other evidence. If a preoperative aspiration identified the same microorganism, they should be considered as two positive confirmatory samples. Uncommon contaminants or virulent organisms (e.g. *Staphylococcus aureus* or Gram negative rods) are more likely to represent infection than common contaminants (such as coagulase-negative staphylococci, micrococci, or *Cutibacterium acnes*).

Diagnostic des infections chroniques = délicat
Surtout en présence de matériel

5 à 25% des IOA

- ❑ Patient sous antibiotiques
- ❑ Prélèvement de mauvaise qualité
- ❑ Transport trop long
- ❑ Milieux de culture non adaptés
- ❑ Bactérie fragile ou ne cultivant pas sur les milieux classiques : mycobactéries, Mycoplasma...

Biologie moléculaire

- ❑ Technique rapide mais pas miraculeuse
- ❑ Problème de sensibilité liée à la présence de biofilm (extraction de l'ADN du biofilm difficile)
- ❑ On ne trouve que ce que l'on cherche
- ❑ Technique réservée à des situations très précises

Biologie moléculaire pour adapter l'antibiothérapie d'attente

- ❑ Recherche du gène *mecA* directement dans les prélèvements témoignant de la présence probable de staphylocoques résistants à la méticilline (Gene Xpert, Cepheid)
- ❑ Adaptation de l'antibiothérapie d'attente

Dubouix JCM 2011
Titécat DMID 2012
Valour DMID 2014

Biologie moléculaire pour documenter l'infection

- ❑ PCR spécifiques : toujours plus sensibles que la PCR 16S
 - ❑ *Kingella kingae* +++ (IOA enfant)
 - ❑ *S. aureus*
 - ❑ *Bartonella*, Whipple...
- ❑ PCR universelle ARN16S
 - ❑ Sensibilité inférieure à la culture
 - ❑ Non adaptée aux prélèvements plurimicrobiens
 - ❑ Laboratoire spécialisée
 - ❑ Indications : ED positif et/ou culture négative sous antibiotiques
- ❑ PCR multiplex : panel plutôt adapté aux IOA aigus

Fihman JI 2017
Bjerkas JMM 2012
Bemer JCM 2014
Plouzeau JCM 2015

Du côté du chirurgien

- ❑ Importance de la qualité des prélèvements réalisés par le chirurgien
- ❑ Absence d'antibiotiques au moment des prélèvements
- ❑ Prélèvements profonds, multiples avec changement de pince entre chaque

Du côté du laboratoire

- ❑ Personnel formé
- ❑ Conditions de culture : broyage, milieux de culture enrichis, incubation prolongée +++ → résultats parfois longs
- ❑ Biologie moléculaire : indications limitées
- ❑ Autres tests : marqueurs synoviaux de l'inflammation (alpha-défensive, leucocyte estérase...)

Pas de diagnostic d'IOA (sur matériel) sans de bons prélèvements bactériologiques
Importance du dialogue chirurgien, infectiologue, anesthésiste, bactériologiste