



HAL
open science

Performances analytiques et impact thérapeutique de la PCR multiplex Unyvero® ITI dans les infections ostéo-articulaires sur matériel

Claire Richarme

► To cite this version:

Claire Richarme. Performances analytiques et impact thérapeutique de la PCR multiplex Unyvero® ITI dans les infections ostéo-articulaires sur matériel. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-02169365

HAL Id: dumas-02169365

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02169365>

Submitted on 1 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES
UFR DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année 2018

**PERFORMANCES ANALYTIQUES ET IMPACT THERAPEUTIQUE DE LA PCR
MULTIPLEX UNYVERO® ITI DANS LES INFECTIONS OSTEO-
ARTICULAIRES SUR MATERIEL**

MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE BIOLOGIE MEDICALE

Conformément aux dispositions du décret N° 90-810 du 10 septembre 1990, tient lieu de

THÈSE
PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
DIPLÔME D'ÉTAT

Claire RICхарME

[Données à caractère personnel]

MÉMOIRE SOUTENU PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE
GRENOBLE

Le 21/09/2018

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :

Mme la professeure Muriel CORNET

Membres :

Mme la docteure Sandrine BOISSET (directrice de thèse)

Mme la docteure Patricia PAVESE

M. le docteur Brice RUBENS DUVAL

L'UFR de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les mémoires ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Michel SEVE**

Vice-doyen et Directrice des Etudes : **Mme Christine DEMEILLIERS**

Année 2017-2018

ENSEIGNANTS -CHERCHEURS

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	ALDEBERT	DELPHINE	LAPM-UMR CNRS 5163
PU-PH	ALLENET	BENOIT	THEMAS TIMC-IMAG UMR CNRS 5525
PU	BAKRI	ABDELAZIZ	TIMC-IMAG CNRS UMR 5525
MAST	BARDET	JEAN-DIDIER	-
MCF	BATANDIER	CECILE	LBFA – INSERM U1055
PU-PH	BEDOUCHE	PIERRICK	THEMAS TIMC-IMAG – UMR CNRS 5525
MCF	BELAIDI-CORSAT	ELISE	HP2 – INSERM U1042
MAST	BELLET	BEATRICE	-
MCF	BOUCHERLE	BENJAMIN	DPM
DCE	BOULADE	MARINE	SyMMES
PU	BOUMENDJEL	AHCENE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	BOURGOIN	SANDRINE	IAB – CRI INSERM U823
DCE	BOUVET	RAPHAEL	HP2
MCF	BRETON	JEAN	LCIB – UMR E3 CEA
MCF	BRIANCON-MARJOLLET	ANNE	HP2 – INSERM U1042
PU	BURMEISTER	WILHEM	UVHCI- UMI 3265 EMBL CNRS
MCU-PH	BUSSER	BENOIT	IAB – CRI INSERM U823
MCF	CAVAILLES	PIERRE	LAPM – UMR 5163 CNRS
AHU	CHANOINE	SEBASTIEN	THEMAS TIMC-IMAG UMR CNRS 5525
MCF	CHOISNARD	LUC	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	CHOVELON	BENOIT	DPM – UMR 5063 CNRS
PU-PH	CORNET	MURIEL	THEREX TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
DCE	COUCHET	MORGANE	LBFA
Professeur Emérite	DANEL	VINCENT	-
PU	DECOUT	JEAN-LUC	DPM UMR 5063 CNRS
MCF	DEMEILLERS	CHRISTINE	TIMC-IMAG INSERM U1055
PU-PH	DROUET	CHRISTIAN	GREPI
PU	DROUET	EMMANUEL	UVHCI UMI 3265 EMBL CNRS
MCF	DURMORT	CLAIRE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
PU-PH	FAURE	PATRICE	HP2 – INSERM U1042
MCF	FAURE-JOYEUX	MARIE	HP2- INSERM U1042
PRCE	FITE	ANDREE	-

Mise à jour le 09/01/2018

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
AHU	GARNAUD	CECILE	THEREX TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
PRAG	GAUCHARD	PIERRE-ALEXIS	-
MCU-PH	GERMI	RAPHAELE	IBP-IBS UMI 3265 EMBL-CNRS
MCF	GEZE	ANNABELLE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	GILLY	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	GODIN-RIBUOT	DIANE	HP2 INSERM U1042
Professeure Emérite	GRILLOT	Renée	-
MCF	GROSSET	CATHERINE	DPM UMR 5063 CNRS
MCF	GUIEU	VALERIE	DPM UMR 5063 CNRS
AHU	HENNEBIQUE	AURELIE	TIMC-IMAG
MCF	HININGER-FAVIER	ISABELLE	LBFA
MCF	KHALEF	NAWEL	TIMC-IMAG CNRS UMR 5525
MCF	KRIVBOC	SERGE	LCBM IRTSV CEA
DCE	LE	CONG ANH KHANH	CERMA V
PU	LENORMAND	JEAN-LUC	THEREX TIMC-IMAG
PU	MARTIN	DONALD	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
PRCE	MATTHYS	LAURENCE	-
AHU	MAZET	ROSELINE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	MELO DI LIMA	CHRISTELLE	LECA – UMR CNRS 5553
AHU	MINOVES	MELANIE	
PU	MOINARD	CHRISTOPHE	BFA INSERM U1055
DCE	MONTEMAGNO	CHRISTOPHE R	LRB
DCE	MOULIN	SOPHIE	HP2
PU-PH	MOSSUZ	PASCAL	
MCF	MOUHAMADOU	BELLO	LECA – UMR CNRS 5553
MCF	NICOLLE	EDWIGE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	OUKACINE	FARID	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	PERES	BASILE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	PEUCHMAUR	MARINE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	PEYRIN	ERIC	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	PLUCHART	HELENE	
MCF	RACHIDI	WALID	LCIB – UMR E3 CEA
MCF	RAVELET	CORINNE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	RIBUOT	CHRISTOPHE	HP2 – INSERM U1042
PAST	RIEU	ISABELLE	-
Professeure Emérite	ROUSSEL	ANNE-MARIE	-
PU-PH	SEVE	MICHEL	IAB-CR INSERM – U823 IAB
MCF	SOUARD	FLORENCE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	SPANO	MONIQUE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
DCE	TAHER	RALEB	IBS

Mise à jour le 09/01/2018

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	TARBOURIECH	NICOLAS	UVHCI – UMR 3265 EMBL CNRS
MCF	VANHAVERBEKE	CECILE	DPM – UMR 5063 CNRS
DCE	VERNET	CELINE	CRI-IAB
DCE	VRAGNIAU	CHARLES	UVHCI
PU	WOUESSIDDJEWE	DENIS	DPM – UMR 5063 CNRS

AHU : Assistant Hospitalo-Universitaire
 ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
 BCI : Biologie du Cancer et de l'Infection
 CHU : Centre Hospitalier Universitaire
 CIB : Centre d'Innovation en Biologie
 CRI : Centre de Recherche INSERM
 CNRS : Centre National de Recherche Scientifique
 DCE : Doctorants Contractuels Enseignement
 DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire et de Cognition et Ontogenèse »
 HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
 IAB : Institut Albert Bonniot,
 IBS : Institut de Biologie Structurale
 LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
 LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
 LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
 LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
 LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
 LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
 MAST : Maître de Conférences Associé à Temps Partiel
 MCF : Maître de Conférences des Universités
 MCU-PH : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers
 PAST : Professeur Associé à Temps Partiel
 PRAG : Professeur Agrégé
 PRCE : Professeur certifié affecté dans l'enseignement
 PU : Professeur des Universités
 PU-PH : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers
 SyMMES : Systèmes Moléculaires et nanoMatériaux pour l'Energie et la Santé
 TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation
 UMR: Unité Mixte de Recherche
 UVHCI: Unit of Virus Host Cell Interactions

Mise à jour le 09/01/2018

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

A Madame la Professeure Muriel Cornet, de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. J'ai pu bénéficier de la qualité de vos enseignements pendant mes études de pharmacie et de celle de votre encadrement pendant mon passage dans le service de Parasitologie-Mycologie.

A Madame le Docteur Sandrine Boisset, d'avoir accepté d'encadrer ce travail. Merci pour tes conseils, ton enthousiasme et ta disponibilité. Ta porte est toujours grande ouverte et je t'en remercie ! Merci aussi de tout ce que tu fais pour la formation des internes.

A Madame le Docteur Patricia Pavese, de me faire l'honneur de juger ce travail. Merci pour votre gentillesse, votre disponibilité et votre pédagogie. Merci d'avoir pris le temps de vous investir sur ce projet sur le versant clinique.

A Monsieur le Docteur Brice Rubens Duval, d'avoir pu vous libérer pour juger ce travail. Merci pour votre implication dans l'inclusion des patients et les réunions pluridisciplinaires.

A mes amis,

A mes amis pharmaciens de Grenoble, la *Swag Team*, Robin, Meyrionne, Maëlle, Léa, Mélakey, Sapó, Loulou, Solène et Amandine. Merci pour ces belles années de pharma, ces parties de tarot, ces pré-soirées et ces vacances ensoleillées (je ne parle pas de nos sorties catamaran). Un mot particulier pour Léa et Maëlle sans qui la préparation à l'internat n'aurait pas été la même. Et merci à Chris pour ta relecture.

A mes chers co-internes et amis, ceux de ma promo d'abord : Benj, Simon, Rézadoudou, VTH, Zélinou et JD, et tous ceux que j'ai rencontrés pendant mon internat : Fan-fan, Charlotte, Gladys, Quentin-petit-beignet, Caro, Aurélie, Théo, Arnaud le président dictateur, Arnaud l'organisateur de festivités, Julliane et tous les autres Biololos.

A ceux d'Annecy, les P'tits Potes, merci de rester toujours les mêmes ! A bientôt aux quatre coins de la France et du monde. Une pensée spéciale pour Julie et nos belles années de coloc.

Aux *Privas*, Marion, Audrey et Leslie, mes plus vieilles amies de la Rue Burgat et alentours. Vous me manquez !

A ma famille,

A Emilien, pour ta présence et ton soutien ! Merci de me permettre de donner le meilleur de moi-même.

A mes parents, pour votre dévouement et votre soutien tout au long de ces années d'études.

A ma belle-famille, merci de m'accueillir aussi bien.

À toutes les personnes que j'ai rencontrées pendant mon internat et qui ont contribué à ma formation, et particulièrement :

A toute l'équipe du laboratoire de bactériologie. Merci à l'ensemble des techniciens pour votre gentillesse et votre aide, et merci aux biologistes de m'avoir transmis votre intérêt pour la discipline. Merci pour votre disponibilité et votre bienveillance. Un mot particulier pour Yvan et ta disponibilité auprès des internes.

Un grand merci aux biologistes du CH de Chambéry pour votre accueil. J'ai énormément appris pendant ces six mois passés avec vous.

Merci à l'équipe de la **société Curetis** pour leur aide apportée dans ce projet.

Table des matières

Liste des tableaux	9
Liste des figures	10
Abréviations	11
INTRODUCTION	12
PARTIE I – RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	13
1 Infections ostéo-articulaires (IOA) sur prothèse : notions générales	13
1.1 Physiopathologie	13
1.1.1 Porte d'entrée de la bactérie	13
1.1.2 Mécanismes de persistance bactérienne	13
1.1.3 Système immunitaire	16
1.2 Classification	16
1.2.1 Type de matériel utilisé	16
1.2.2 Durée d'évolution	16
1.3 Epidémiologie	17
1.3.1 Données sur les IOA précoces sur prothèses	17
1.3.2 Données sur les IOA retardées sur prothèses	17
1.3.3 Données selon le mode de contamination bactérienne et les micro-organismes	17
1.3.4 Impact économique	19
1.4 Facteurs de risques d'infection	19
2 Diagnostic	20
2.1 Critères diagnostiques	20
2.2 Présentation clinique	21
2.2.1 Infection précoce (< 1 mois)	21
2.2.2 Infection retardée ou tardive (> 1 mois)	21
2.3 Paramètres biologiques non spécifiques	21
2.3.1 CRP	21
2.3.2 Cytologie des liquides articulaires	22

2.4	Imagerie	22
2.5	Anatomopathologie	23
2.6	Diagnostic microbiologique conventionnel	24
2.6.1	Prélèvements.....	24
2.6.2	Hémocultures	24
2.6.3	Place de la ponction articulaire	25
2.6.4	Examen direct.....	25
2.6.5	Culture	25
2.6.6	Ensemencement sur flacons d'hémoculture	28
2.7	Diagnostic microbiologique par biologie moléculaire	28
2.7.1	Généralités.....	28
2.7.2	PCR universelle 16s.....	29
2.7.3	PCR spécifiques d'espèce	30
2.7.4	PCR multiplex	31
3	Traitement des IOA sur prothèse	39
3.1	Traitement chirurgical	39
3.2	Traitement anti-infectieux.....	39
3.2.1	Recommandations	39
3.2.2	Problématique de l'antibiothérapie large spectre	42
	PARTIE II : TRAVAIL PERSONNEL EXPERIMENTAL.....	43
	CONCLUSIONS	65
	ANNEXES	68
	BIBLIOGRAPHIE.....	73

Liste des tableaux

Tableau I – Classification de Tsukayama des infections sur prothèses (34).....	16
Tableau II - Micro-organismes impliqués dans les infections postopératoires sur prothèse (hanche ou genou) de moins de trois mois. D’après le rapport de l’HAS 2014 (1).....	18
Tableau III - Critères diagnostiques de l’infection de prothèse selon différentes sociétés savantes.	20
Tableau IV - Cytologie des liquides articulaires	22
Tableau V – Résumé des recommandations concernant l’interprétation des cultures bactériennes pour le diagnostic d’infection sur prothèse.....	27
Tableau VI – Performances analytiques de la culture dans les infections de prothèses	28
Tableau VII – Résumé des performances de la PCR 16s dans le diagnostic des IOA sur prothèse	29
Tableau VIII – Résumé des études évaluant les performances du kit Unyvero ITI dans le diagnostic des infections de prothèses.....	37
Tableau IX – Antibiotiques utilisés selon le germe en cause (1,15,43,98)	41

Liste des figures

Figure 1 - <i>Staphylococcus aureus</i> en microscopie électronique. Issus de culture à gauche. Au sein d'un biofilm à droite. D'après Geipel et al (19).....	14
Figure 2 - Formation d'un biofilm. D'après Olson et al (20).....	15
Figure 3 - Aspect des Small Colony Variant (A) et d'un phénotype classique de <i>Staphylococcus aureus</i> (B) sur gélose au sang. D'après Sendi et al (31)	15
Figure 4 - Radiographie de hanche gauche montrant les signes caractéristiques d'infection (ostéolyse et descellement prothétique). (14).....	16
Figure 5 - Délai de détection de différentes espèces bactériennes. D'après Schäfer et al (52)	26
Figure 6 – Le système Unyvero® (78)	32
Figure 7 - Sample Tube et Unyvero Lysator (78).....	33
Figure 8 - Cartouche ITI (Implant and Tissue Infection) (78)	34
Figure 9 - Unyvero Analyzer (78)	34
Figure 10 – Détection automatisée des hybridations	34
Figure 11 – Micro-organismes et marqueurs de résistance du panel Unyvero®.....	35

Abréviations

ADN = Acide désoxyribonucléique

AMM = Autorisation de mise sur le marché

CoNS = *coagulase negative staphylococci*

CRP = Protéine C réactive

HAS = Haute Autorité de Santé

IDSA = *Infectious Diseases Society of America*

IFN γ = Interféron γ

IMC = Indice de masse corporelle

IL-1 = Interleukine 1

IOA = Infection ostéo-articulaire

ITI = *Implant and Tissue Infection*

mPCR = *multiplex PCR*

MSIS = *Muskuloskeletal Infection Society*

PCR = *Polymerase Chain Reaction*

PJI = *Prosthetic joint infection*

PNN = polynucléaires neutrophiles

REMIC = Référentiel en microbiologie médicale

SCV = *Small colony variants*

SPIILF = Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française

SCN = Staphylocoques à coagulase négative

TNF α = Tumor necrosis factor α

UFC = unités formant colonies

INTRODUCTION

En 2012 en France, 135 365 prothèses de hanche et 85 569 prothèses de genou ont été posées, selon les données nationales issues du programme de médicalisation des systèmes d'information (1). Environ 1 à 2 % d'entre elles s'infecteront (2–6), avec potentiellement d'importantes conséquences fonctionnelles (dysfonctionnement de la prothèse, morbidité voire mortalité) et économiques. Le diagnostic d'infection ostéo-articulaire (IOA) sur prothèse se base sur un faisceau d'arguments : cliniques, radiographiques, histologiques et microbiologiques.

Actuellement, il n'existe pas de « gold standard » pour le diagnostic microbiologique. L'examen direct associé à la culture bactérienne restent les techniques couramment utilisées et recommandées (7). Cependant, ces techniques manquent parfois de sensibilité : inférieure à 20 % pour l'examen direct (8–10), et entre 65 et 94 % pour la culture (8,9,11,12). Par ailleurs, les germes responsables d'infections ostéo-articulaires sur prothèse se trouvent parfois dans un état métabolique latent (biofilm, *small colony variants*) (13), et présentent une croissance lente et difficile. Le diagnostic peut donc parfois être retardé de plusieurs semaines.

Les méthodes de biologie moléculaire, basées sur la mise en évidence de l'ADN bactérien, constituent une alternative diagnostique rapide. Le système de PCR multiplexe ITI (Implant & Tissue Infection) Unyvero® (Curetis) est un système automatisé qui permet de détecter 85 micro-organismes (bactéries et levures) ainsi que 17 marqueurs de résistance, en 5 heures, directement à partir de l'échantillon biologique.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer les performances diagnostiques de cette PCR et son impact dans la démarche thérapeutique dans le cadre des infections ostéo-articulaires sur prothèses.

La première partie de ce manuscrit constitue un rappel bibliographique de la physiopathologie, de l'épidémiologie, et de la démarche diagnostique et thérapeutique des IOA sur prothèse. La seconde partie présente les résultats de l'étude sous la forme d'un article en anglais.

PARTIE I – RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1 Infections ostéo-articulaires (IOA) sur prothèse : notions générales

Les infections ostéo-articulaires (IOA) constituent un ensemble d'entités cliniques diverses pouvant être classées en fonction de différents critères : localisation, délai d'évolution, voie de contamination, présence de matériel (14).

Dans ce travail seront abordées uniquement les infections ostéo-articulaires sur matériel.

1.1 Physiopathologie

1.1.1 Porte d'entrée de la bactérie

La contamination bactérienne peut se faire par plusieurs mécanismes (15). Premièrement par inoculation directe du pathogène en période péri-opératoire ou post-traumatique. Deuxièmement, la contamination peut être hématogène à partir d'un foyer septique à distance. Dans ce cas il peut s'agir d'un foyer ORL, dentaire, cutané, endocardique ou urinaire. Par exemple, Murdoch *et al.* ont montré que le taux d'infection de prothèse était de 34 % au cours d'une bactériémie à *Staphylococcus aureus* (16). Enfin, la contamination peut se faire par contiguïté, c'est-à-dire propagation d'une infection des parties molles vers le matériel.

1.1.2 Mécanismes de persistance bactérienne

Certains mécanismes physiopathologiques sont spécifiques de l'infection de matériel. Ils permettent non seulement à la bactérie de persister et ainsi créer l'infection, mais rendent aussi ces infections difficiles à diagnostiquer et à éradiquer.

1.1.2.1 Biofilm

Au contact de certaines surfaces, les bactéries s'agrègent en biofilm. Il s'agit d'une communauté de bactéries organisée et structurée, et entourée d'une matrice extracellulaire.

Cette structure particulière constitue un facteur de virulence à l'origine de nombreuses infections chroniques (17)(18).

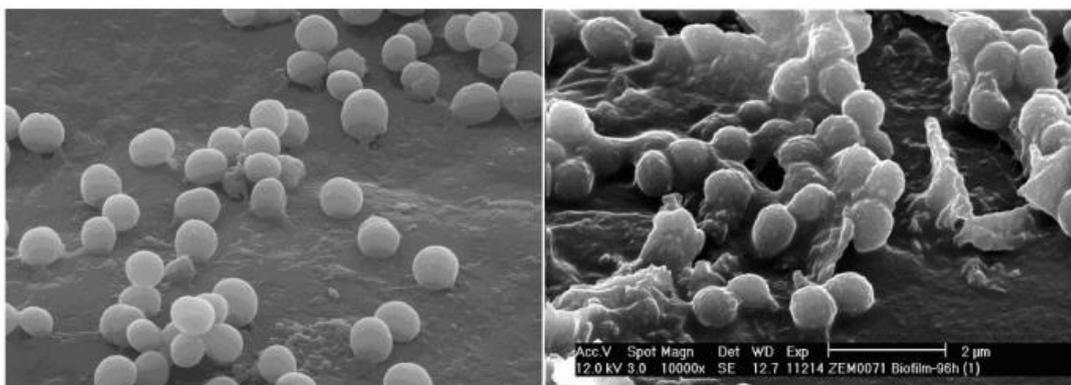


Figure 1 - *Staphylococcus aureus* en microscopie électronique. Issus de culture à gauche. Au sein d'un biofilm à droite. D'après Geipel et al. (19)

Au sein des biofilms, les micro-organismes sont enveloppés d'une matrice polymérique, appelée *slime* (20). Cette structure est constituée d'une matrice polysaccharidique riche en eau, ADN, protéines et molécules de signalisation (21,22). Les bactéries enchâssées dans ce biofilm entrent ensuite dans une phase de croissance lente, ou « dormance ». Quand la densité bactérienne devient suffisamment importante au sein de cette structure, la transmission d'information est favorisée, et l'expression de certains gènes bactériens est coordonnée : ce phénomène s'appelle le *quorum sensing* (23). Les bactéries peuvent alors se détacher du biofilm et se disséminer. Au total, l'organisation en biofilm des bactéries représente un mécanisme de protection contre différents facteurs externes, comme les antibiotiques et l'immunité de l'hôte (24).

En présence de matériel orthopédique, le biofilm étant favorisé, le risque d'infection est donc augmenté. En effet, il a été montré chez l'animal que la présence d'un corps étranger réduisait d'un facteur 100 000 l'inoculum bactérien nécessaire à provoquer une infection (25).

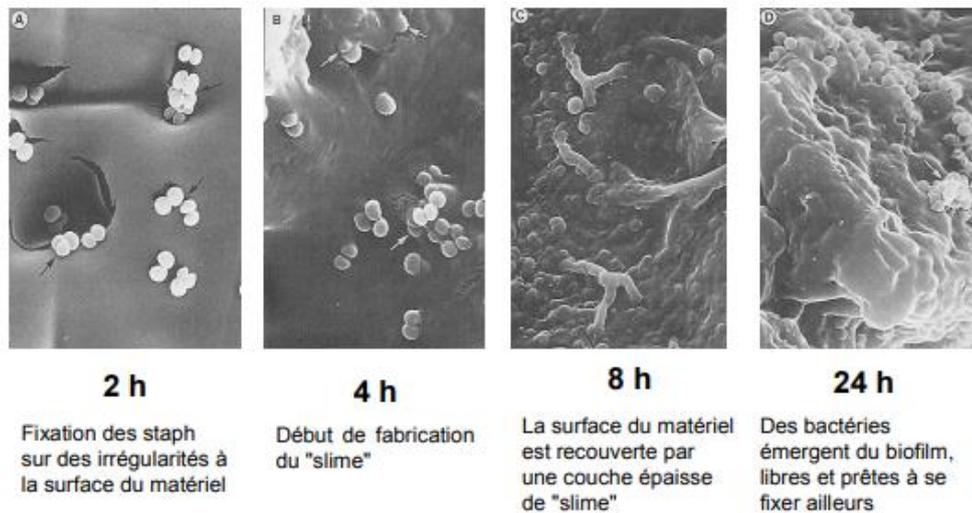


Figure 2 - Formation d'un biofilm. D'après Olson *et al.* (20)

1.1.2.2 *Small colony variant*

Les *small colony variants* (SCVs) constituent une sous-population de bactéries au sein du biofilm. Ces bactéries présentent des caractères phénotypiques modifiés (colonies de petite taille), et se trouvent en phase de croissance ralentie (26). Ce ralentissement de croissance a pour conséquence l'expression réduite de protéines transmembranaires, donc un défaut de pénétration de certains antibiotiques (27,28). Ces bactéries ont aussi la capacité de survivre à l'intérieur des cellules (29). Elles sont associées à un risque accru de persistance de l'infection (30).

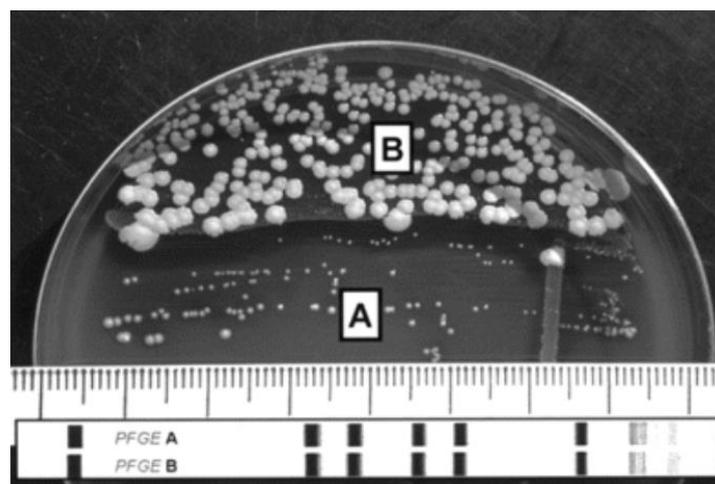


Figure 3 - Aspect des *Small Colony Variants* (A) et d'un phénotype classique de *Staphylococcus aureus* (B) sur gélose au sang. D'après Sendi *et al.* (31)

1.1.3 Système immunitaire

La pose de matériel orthopédique entraîne une réaction inflammatoire, avec libération de médiateur de l'inflammation (IL-1, TNF α , IFN γ). La persistance de cette inflammation peut favoriser l'adhérence bactérienne. Par ailleurs, il existe une immunodépression locale, avec inhibition fonctionnelle des macrophages et des polynucléaires neutrophiles (32,33).

1.2 Classification

Il n'existe pas de classification universelle des infections ostéo-articulaires sur matériel orthopédique. Cependant, on peut les classer selon le type de matériel concerné, ou la durée d'évolution.

1.2.1 Type de matériel utilisé

Le risque infectieux n'est pas le même en fonction du type de matériel utilisé. On oppose les prothèses et plaques vissées, matériel interne et définitif, aux fixateurs externes dont les orifices communiquent avec l'extérieur et sont colonisés par la flore cutanée (15). Notre travail s'intéressa aux matériels internes exclusivement.

1.2.2 Durée d'évolution

La classification la plus utilisée est celle de Tsukayama (34). Elle distingue plusieurs types d'infections selon le délai de diagnostic après la mise en place du matériel. Certains éléments cliniques permettent d'orienter vers ces différents types d'infection (Tableau I).

	Délai d'apparition après opération	Eléments cliniques
Infection post-opératoire précoce	< 1 mois	Tableau clinique marqué (fièvre, frissons, cicatrice inflammatoire, douleur)
Infection tardive	> 1 mois	Douleur persistante, fistule
Infection hématogène	En général > 1 mois	Contexte de bactériémie
Prélèvements bactériologique positifs	En général > 1 mois	Absence de signes cliniques septiques

Tableau I – Classification de Tsukayama des infections sur prothèses (34)

1.3 Epidémiologie

1.3.1 Données sur les IOA précoces sur prothèses

En France en 2010, le taux d'incidence des IOA précoces était de 0,60 % pour les prothèses de hanche, de 1,53 % pour les prothèses partielles de hanche et de 0,34 % pour les prothèses de genou (1).

1.3.2 Données sur les IOA retardées sur prothèses

Des études françaises de 2001 à 2007 ont montré que le taux d'incidence des IOA retardées (1 mois – 1 an) était de 0,55 à 1,11 % pour les prothèses de hanche, de 6,9 % pour les prothèses partielles de hanche et de 0,9 à 4,29 % pour les prothèses de genou (2–6).

1.3.3 Données selon le mode de contamination bactérienne et les micro-organismes identifiés

La majeure partie des IOA sur prothèse est diagnostiquée dans les trois premiers mois après la pose (74 – 90 %) (1).

Les infections sont le plus souvent monomicrobiennes. Les staphylocoques sont les germes les plus fréquemment isolés, avec des proportions similaires entre les infections causées par *Staphylococcus aureus* et celles causées par les staphylocoques à coagulase négative. Pour les autres micro-organismes, il existe des différences d'incidence entre ceux isolés dans les prélèvements provenant d'infections de moins de 3 mois et ceux répertoriés plus de trois mois après la pose (35). La SPILF souligne tout de même qu'en présence de matériel, n'importe quelle espèce bactérienne peut être impliquée, y compris *Brucella*, *Pasteurella*, *Listeria*, *Haemophilus* et *Campylobacter* (15).

Le Tableau II montre la répartition des micro-organismes impliqués dans les infections postopératoires sur prothèse de moins de trois mois.

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram-positif qui fait partie de la flore commensale des muqueuses (nez, gorge, intestin) chez 30 à 50 % de la population, mais qui constitue une des bactéries les plus fréquemment impliquées en médecine humaine. Le traitement habituel de cette bactérie est la méticilline, une bêta-lactamine stable vis-à-vis des pénicillinases que

peut produire *S. aureus*. Depuis les années 1960, certaines souches ont acquis un gène, appelé *mecA*, qui leur confère une résistance à la pénicilline, via la modification de la cible bactérienne de cet antibiotique. La proportion de souches pénicillino-résistantes est évaluée à 15 % en 2015 en France (36,37). A noter, l'identification d'un second gène de résistance à la pénicilline en 2011, *mecC* (38). Dans le contexte des IOA sur prothèse, cette proportion varie selon les études, mais les souches sont le plus souvent sensibles à la pénicilline (1,35,39).

Cutibacterium acnes est surtout impliqué dans les infections de prothèses d'épaule (13).

Micro-organismes retrouvés < 3 mois	Pourcentage en fonction des études
Staphylococcus	75 - 88 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	42 - 55 %
Sensible à la pénicilline	27 - 38 %
Résistant à la pénicilline	8 - 26 %
Staphylocoque à coagulase négative	21 - 48 %
Streptococcus	20 %
<i>Streptococcus spp.</i>	3 - 7 %
<i>Enterococcus spp.</i>	12 - 16 %
Bacilles à Gram négatif	14 - 39 %
Entérobactéries	7 - 32 %
<i>Acinetobacter spp.</i>	0,5 - 4 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 - 12 %
Corynebacterium	2 - 20 %
Anaérobies	8 %
Infections polymicrobiennes	32 - 46 %
Mycobactéries	Exceptionnel
Levures	Exceptionnel
Groupe HACEK (<i>Haemophilus, Kingella, Aggregatibacter, Capnocytophaga, Eikenella</i>)	Exceptionnel

Tableau II - Micro-organismes impliqués dans les infections postopératoires sur prothèse (hanche ou genou) de moins de trois mois. D'après le rapport de l'HAS 2014 (1)

1.3.4 Impact économique

En France en 2008, les dépenses concernant les IOA pour l'Assurance Maladie étaient estimées à 259 millions d'euros, avec un surcoût pour les IOA sur matériel de 1 500 euros/séjour. Le coût moyen d'hospitalisation pour une IOA sur matériel a été évalué à 8161 euros, significativement plus important que le coût moyen d'une IOA native (40).

L'étude rétrospective de Klouche *et al.* sur l'année 2006 a montré que l'impact économique de l'infection de prothèse de hanche était élevé : le surcoût était essentiellement dû à une durée d'hospitalisation et de réhabilitation plus longue (durée moyenne d'hospitalisation de 9 jours pour les reprises aseptiques et 30 jours pour les reprises septiques). Le coût de la prise en charge d'une PTH septique était 3,6 fois plus élevé qu'une arthroplastie primitive (41).

1.4 Facteurs de risques d'infection

Il existe plusieurs facteurs favorisant l'infection de prothèse : âge supérieur à 65 ans, diabète, obésité (IMC > 40), polyarthrite rhumatoïde, temps opératoire long (> 2,5 heures), tabagisme actif, cirrhose, présence d'un hématome post-opératoire, traitement anticoagulant préopératoire (INR > 1,5) (1). Cependant aucun de ces facteurs ne permet de prédire la survenue d'infection précoce.

2 Diagnostic

2.1 Critères diagnostiques

Le diagnostic des IOA sur prothèse est basé sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques, histologiques et radiographiques. Les performances de ces différents examens sont variables.

Le

Tableau III synthétise les recommandations de différentes sociétés savantes. Le détail de ces différents critères sera développé par la suite.

	Muskuloskeletal Infection Society (42)		Infectious Diseases Society of America (43)		Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (15)	
	Critère majeur	Critère mineur	Critère majeur	Critère mineur	Critère majeur	Critère mineur
Présence d'une fistule	X		X		X	
Deux cultures positives au même germe	X		X			
Trois cultures positives au même germe					X	
Présence de pus autour de la prothèse		X	X		X	
Inflammation du tissu périprothétique à l'examen histologique		X		X		
Une culture positive		X				
Une culture positive à un germe virulent				X	X	
Taux de leucocytes élevé dans le liquide articulaire		X				
Pourcentage de PNN élevé dans le liquide articulaire		X				
CRP élevée		X				

Tableau III - Critères diagnostiques de l'infection de prothèse selon différentes sociétés savantes.

2.2 Présentation clinique

2.2.1 Infection précoce (< 1 mois)

Dans le mois suivant la mise en place, des signes cliniques locaux affirment l'infection précoce sur prothèse : un écoulement purulent, un abcès ou une fistule à la peau (1,43).

D'autres signes cliniques sont évocateurs d'infection sur prothèse, même en l'absence de signes généraux (fièvre, frissons) (1) :

- Incident cicatriciel : écoulement, retard de cicatrisation, désunion, cicatrice inflammatoire
- Douleur locale postopératoire
- Dégradation de la récupération fonctionnelle

La fièvre est souvent causée par des micro-organismes virulents comme *Staphylococcus aureus* ou des bacilles à Gram négatif (44).

2.2.2 Infection retardée ou tardive (> 1 mois)

L'existence d'une fistule à proximité de la prothèse affirme l'infection jusqu'à preuve du contraire (15). L'infection pourra être aussi suspectée en cas de descellement de prothèse ou de douleur persistante.

Des germes moins virulents comme les staphylocoques à coagulase négative ou *Cutibacterium acnes* sont généralement à l'origine de ce type d'infection (44).

2.3 Paramètres biologiques non spécifiques

Aucun paramètre biologique n'est à lui seul spécifique de l'infection osseuse.

2.3.1 CRP

Il est recommandé de réaliser un dosage du taux sérique de la CRP devant l'existence de signes cliniques évocateurs. Si le diagnostic n'est pas établi, il est recommandé de répéter le dosage du taux sérique de la CRP (1). La CRP est élevée après l'opération et se normalise en trois

semaines en l'absence d'infection (45). Des dosages répétés de la CRP sont plus informatifs qu'un dosage isolé (46).

2.3.2 Cytologie des liquides articulaires

Une numération leucocytaire supérieure à 1700 éléments/mm³ dans une ponction articulaire de genou (avec prothèse) est en faveur d'une infection avec une sensibilité de 94 % et une spécificité de 88 %, en l'absence de pathologie inflammatoire associée. Une formule leucocytaire avec plus de 65 % de polynucléaires neutrophiles est également en faveur d'une infection avec une sensibilité de 97 % et une spécificité de 98 % (12,47). L'étude de Ghanem et al. (10) a montré que le seuil de leucocytes en faveur d'une infection sur prothèse pouvait même être abaissé à 1100 leucocytes/mm³.

	Articulation native		Prothèse articulaire
	Normal	Arthrite septique	Infection de prothèse
Leucocytes/mm³	< 200	> 50 000	> 1 700 d'après (12) > 1 100 d'après (10)
Polynucléaires Neutrophiles (%)	< 25	> 90	> 65 d'après (12) > 64 d'après (10)

Tableau IV - Cytologie des liquides articulaires

2.4 Imagerie

Pour le diagnostic d'infection précoce, aucun examen d'imagerie n'est nécessaire. Seule l'échographie peut être utile pour guider une ponction au niveau de la hanche (1).

Pour le diagnostic d'infection retardée, il est recommandé de pratiquer une radiographie standard en première intention. La sensibilité de la radiographie est de 14 % et sa spécificité de 70 % (15).



Figure 4 - Radiographie de hanche gauche montrant les signes caractéristiques d'infection (ostéolyse et descellement prothétique) (14)

Le scanner avec injection de produit de contraste iodé est recommandé en deuxième intention. Il permet l'analyse des parties molles. En cas de suspicion d'infection articulaire, l'absence d'épanchement intra-articulaire a une valeur prédictive négative de 96 % (15).

Enfin, l'imagerie utilisant les radio-isotopes a sa place en troisième intention. La scintigraphie osseuse a une bonne sensibilité mais une spécificité de 30 à 40 %. La scintigraphie aux polynucléaires marqués a une sensibilité de 81 à 97 % et une spécificité de 89 à 100 % (15).

2.5 Anatomopathologie

Il est recommandé de réaliser un examen anatomopathologique du tissu osseux et de la synoviale. Histologiquement, on définit une infection sur matériel par la présence de plus de 5 polynucléaires neutrophiles par champ au grossissement x400 dans au moins 5 champs microscopiques. De plus, l'examen anatomopathologique permet d'orienter le diagnostic vers une infection à mycobactéries ou une infection fongique (15).

2.6 Diagnostic microbiologique conventionnel

2.6.1 Prélèvements

Les prélèvements doivent être réalisés dans des conditions d'asepsie strictes et être acheminés au laboratoire le plus rapidement possible (idéalement dans les deux heures) (7).

2.6.1.1 Prélèvements opératoires

Il est recommandé d'effectuer cinq prélèvements péri-prothétiques (8), en des sites anatomiques différents et, si possible, pathologiques macroscopiquement (7,15). Un nombre de prélèvements inférieur entraîne une moins bonne sensibilité de l'examen ainsi que des difficultés d'interprétation, et un nombre supérieur engendre une probabilité accrue de contamination sans preuve d'amélioration de la sensibilité et une surcharge de travail inutile pour le laboratoire (7).

2.6.1.2 Place des prélèvements superficiels

Une seule étude a montré que l'écouvillonnage de la plaie pouvait s'avérer être intéressant, car il pourrait exister une concordance entre les prélèvements superficiels et profonds pour *S. aureus* et les bacilles à Gram négatif (48). Une autre étude a montré que l'isolement d'une bactérie autre que *Staphylococcus aureus* d'un prélèvement de fistule n'était pas prédictif du germe responsable de l'infection (49).

C'est pourquoi l'écouvillonnage superficiel de la cicatrice ou de la fistule n'est pas recommandé (1,46,49), du fait de la difficulté d'interprétation des résultats (1,46,49). Une culture positive à un germe de la flore cutanée pourrait induire en erreur le clinicien sur une éventuelle infection profonde. Seulement 44 % des cultures de fistules sont positives au germe responsable de l'infection osseuse.

2.6.2 Hémocultures

Dans le cadre d'un bilan de suspicion d'infection ostéo-articulaire, les hémocultures gardent leur place même en l'absence de signes généraux (1).

2.6.3 Place de la ponction articulaire

Lorsque le diagnostic est évident (signes cliniques locaux affirmant l'infection), la ponction n'est pas indispensable sauf si un traitement antibiotique probabiliste doit être instauré en urgence (sepsis grave) avant l'intervention. En cas de doute diagnostique, il est recommandé de réaliser systématiquement et rapidement une ponction articulaire à visée diagnostique et bactériologique (1).

2.6.4 Examen direct

L'examen direct après coloration de Gram a une bonne spécificité (de 98 à 100% (9,50,51)) mais une très faible sensibilité (12% d'après Atkins *et al.* (8), 19% d'après Spangehl *et al.* (9), 30% d'après Ghanem *et al.* (51)).

2.6.5 Culture

Pour permettre la culture bactérienne, l'antibiothérapie devra être arrêtée au moins deux semaines avant le prélèvement (15).

2.6.5.1 Mise en œuvre

L'ensemencement des prélèvements est réalisé sous hotte à flux laminaire en utilisant du matériel stérile à usage unique. La Société Française de Microbiologie recommande d'ensemencer (7) :

- Une gélose au sang en aérobiose avec lecture précoce à J1, J2 et tardive
- Une gélose chocolat supplémentée en polyvitamines, sous 5 % de CO₂ avec lecture précoce à J1, J2 et tardive
- Une gélose pour germes anaérobies avec lecture précoce à J2 ou J3 et tardive
- Un milieu liquide (bouillon Schaedler ou bouillon cœur-cervelle) avec lecture régulière jusqu'à 14 jours

La culture prolongée permet l'isolement de bactéries à croissance lente comme *Cutibacterium acnes* (52), et permet de détecter les infections pluri-microbiennes (10 à 15% des IOA (7)). La lecture doit être attentive à la recherche des différents aspects de colonies, notamment de micro-colonies (*small colony variants*).

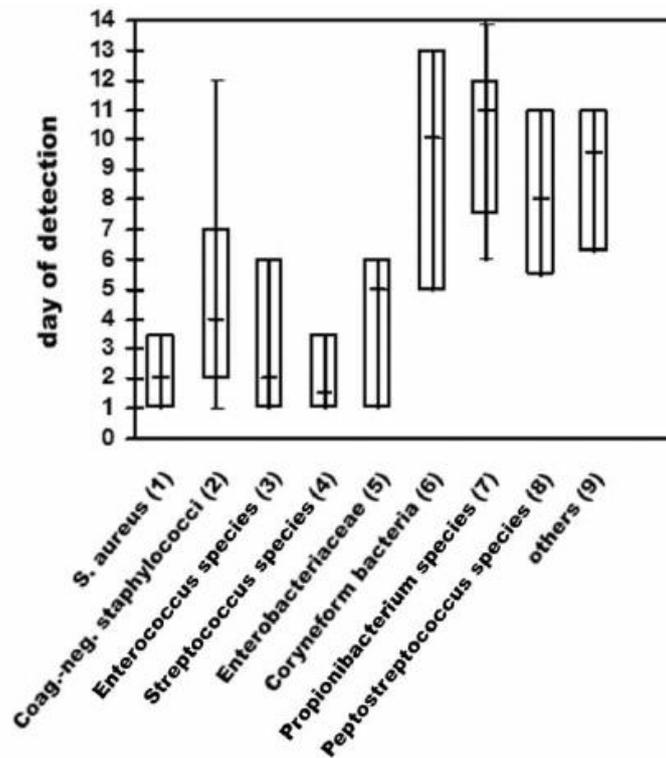


Figure 5 - Délai de détection de différentes espèces bactériennes. D'après Schäfer et al (52)

Il est recommandé de broyer les prélèvements solides (fragments d'os, de tissus) afin de libérer les bactéries du biofilm (15). Une étude menée dans notre laboratoire a montré que le broyage permettait de réduire le délai de positivité des cultures et le risque de contamination et favorisait la détection des *small colony variants* (53).

Il est recommandé de réaliser un antibiogramme sur les différents types de colonies isolées, notamment pour les staphylocoques, car il est fréquent d'observer plusieurs phénotypes de résistance pour une même espèce bactérienne chez le même patient (1,7).

2.6.5.2 Interprétation des cultures

Au niveau bactériologique, une infection est considérée comme certaine d'après la SPILF (15) :

- Si au moins un prélèvement est positif à une bactérie n'appartenant pas à la flore cutanée et pour laquelle la question d'une contamination ne se pose pas (*Staphylococcus aureus*, entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Pasteurella*)

- Ou si au moins trois prélèvements sont positifs aux mêmes bactéries appartenant à la flore cutanée (staphylocoque à coagulase négative, *Cutibacterium acnes*, corynébactérie...) et dont l'isolement pose la question d'une éventuelle contamination.

D'autres sociétés savantes ont émis des recommandations concernant l'interprétation des cultures. Le Tableau V résume ces recommandations.

La négativité de tous les prélèvements n'exclut pas une infection.

	Critères majeurs d'infection	Critères mineurs d'infection
SPILF 2009 (15) REMIC 2015 (7)	1 prélèvement positif à germe virulent 3 prélèvements positifs à germe cutané	
MSIS 2011 (42)	2 prélèvements positifs	1 prélèvement positif
IDSA 2012 (43)	2 prélèvements positifs 1 prélèvement positif à germe virulent	≥ 1 prélèvement positif à germe cutané

SPILF = Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française ; REMIC = Référentiel en Microbiologie Médicale ; MSIS = Musculoskeletal Infection Society ; IDSA = Infectious Diseases Society of America

Tableau V - Résumé des recommandations concernant l'interprétation des cultures bactériennes pour le diagnostic d'infection sur prothèse

2.6.5.3 Performances analytiques de la culture

La culture bactérienne dans les infections de prothèses n'a pas une sensibilité parfaite. Dans les études, elle est soit comparée à la clinique, soit à l'histologie. Sa sensibilité varie selon les études de 65 à 94 % ; celle-ci augmente avec le nombre de prélèvements effectués (8), mais diminue en cas d'administration d'antibiotiques au préalable (11). Le Tableau VI résume ces données de performance.

	Sensibilité	Spécificité	Méthode comparative	Remarques
Atkins <i>et al.</i> 1998 (8)	65%	99.6%	Histologie	Une culture était considérée comme positive si 3 prélèvements étaient positifs au même germe
Pandey <i>et al.</i> 2000 (11)	89%	-	Clinique	
Spangehl <i>et al.</i> 1999 (9)	94%	97%	Faisceau d'arguments cliniques et biologiques	
Trampuz <i>et al.</i> 2004 (12)	77 - 88%	-	Faisceau d'arguments cliniques et biologiques	Meilleure sensibilité sur tissus péri-prothétiques que sur ponction synoviale

Tableau VI – Performances analytiques de la culture dans les infections de prothèses

2.6.5.4 Place de la sonication

La sonication a pour but de décoller les micro-organismes de la surface d'un matériel explanté. Dans l'étude de Trampuz *et al.* (54), la culture de liquide de sonication a montré une meilleure sensibilité que la culture de tissu péri-prothétique (79 % vs 61 %, $p < 0,05$). Mais la spécificité de cette méthode s'est parfois révélée décevante (50 % d'après Esteban *et al.* (55)), à cause de contaminations liées au processus de réalisation. Aucune étude n'a comparé cette méthode au broyage. Elle n'est actuellement pas recommandée en routine en France (7,15).

2.6.6 Ensemencement sur flacons d'hémoculture

L'ensemencement de 1 à 3 mL de liquide articulaire dans des flacons d'hémoculture (aérobie/anaérobie) a montré une meilleure sensibilité que la culture standard des tissus péri-prothétiques (56), sauf pour certaines bactéries à croissance lente (*Cutibacterium acnes*).

L'incubation doit être prolongée jusqu'à 14 jours (1).

2.7 Diagnostic microbiologique par biologie moléculaire

2.7.1 Généralités

De nombreuses IOA sur prothèse restent non documentées, soit par manque de sensibilité des méthodes conventionnelles, soit à cause d'un traitement antibiotique préalable (57). Les

méthodes de biologie moléculaire, basées sur la mise en évidence de l'ADN bactérien, peuvent dans ces cas-là avoir un intérêt évident. Cependant, leur sensibilité est variable : leur place reste donc en complément des méthodes classiques de culture.

Les méta-analyses de Li *et al.* (58) et Qu *et al.* (59) ont évalué l'intérêt de la PCR (PCR 16s et PCR spécifiques confondues) dans le diagnostic des IOA sur prothèse. Les sensibilités étaient comprises entre 79 et 86 % et les spécificités entre 86 et 91 %.

2.7.2 PCR universelle 16s

La PCR universelle permet la mise en évidence du gène de la sous-unité 16s de l'ARN ribosomal bactérien, structure très conservée entre les espèces bactériennes. Cette PCR est donc une PCR pan-bactérienne. L'amplification est couplée à une étape d'identification par séquençage du produit de PCR. Ces différentes étapes ne permettent pas un rendu du résultat en quelques heures. Les performances analytiques de la PCR 16s sont résumées dans le Tableau VII.

	Sensibilité% [IC95]	Spécificité% [IC95]	Méthode comparative	Remarques
Fénollar <i>et al.</i> 2016 (60)	93%	96%	Microbiologie	Intérêt en cas d'antibiothérapie préalable ou de germes déficients (<i>Granulicatella</i>)
Bémer <i>et al.</i> 2014 (61)	73% [67-79]	95% [85-99]	Clinique, histologie et microbiologie	Sensibilité moyenne expliquée par le faible inoculum bactérien des infections chroniques. Intérêt en cas d'antibiothérapie préalable
Marin <i>et al.</i> 2011 (62)	81% [66-90]	96% [90-99]	Clinique et histologie	Bonne spécificité de la PCR même lorsqu'un seul prélèvement était positif (contrairement à la culture)
Panousis <i>et al.</i> 2005 (63)	92%	74%	Clinique, microbiologie	Nombreux faux positifs liés à des contaminations
Fihman <i>et al.</i> 2007 (64)	53%	86%	Clinique, imagerie, biologie	Meilleure spécificité que la culture
Zegaer <i>et al.</i> 2014 (65)	23%	97-100%	Clinique, imagerie	Faible sensibilité liée à la présence de biofilm

Tableau VII – Résumé des performances de la PCR 16s dans le diagnostic des IOA sur prothèse

D'après Tunney *et al.* (66), le seuil de sensibilité de la PCR 16s est de 10^4 UFC/mL pour les germes de culture « classique » (staphylocoques, entérobactéries) et de 10^5 UFC/mL pour les germes de culture plus lente (*Cutibacterium*).

La PCR 16s constitue donc une méthode assez spécifique mais parfois mise en défaut sur sa sensibilité. On peut l'expliquer par le fait que l'ADN bactérien soit difficile à extraire des bactéries du biofilm et des *small colony variants*. C'est ce que montre l'étude de Zegaer *et al.* (65), qui a testé la PCR 16s sur les bactéries productrices de biofilm. La sensibilité de la PCR était seulement de 23 % quand les bactéries produisaient du biofilm.

De plus, la PCR universelle n'est pas adaptée aux infections plurimicrobiennes.

Le risque de contamination est le principal problème de la PCR universelle. Des mesures d'hygiène strictes doivent donc être appliquées, aussi bien lors du prélèvement que du traitement de l'échantillon au laboratoire.

2.7.3 PCR spécifiques d'espèce

L'alternative à la PCR universelle, potentiellement sujette aux contaminations, est la PCR spécifique d'espèce. Elle a l'avantage de s'affranchir des bactéries contaminantes et d'avoir un délai de rendu plus court que la PCR 16s. Ces méthodes, qui ne ciblent qu'un seul pathogène, ont un intérêt restreint dans le diagnostic des infections de prothèses, à cause de la diversité microbiologique de ce type d'infection. Leur place reste donc en deuxième ligne, lorsque le diagnostic est déjà orienté.

Il existe des PCR classiques (avec étape d'extraction et d'amplification) ainsi que des PCR prêtes à l'emploi (kits commerciaux).

Le GeneXpert® (Cepheid) permet de détecter simultanément la présence de *S. aureus* et la résistance à la méticilline en moins d'une heure. Les études d'évaluation de cette méthode dans les infections de prothèses à *S. aureus* ont montré de bonnes performances : une sensibilité de 94 à 100 % et une spécificité de 91 à 100 % (67–69).

2.7.4 PCR multiplex

Comme pour les PCR spécifiques, les PCR multiplex peuvent être soit « maison », c'est-à-dire élaborées au laboratoire avec des amorces ciblant les gènes d'intérêt, soit des kits commerciaux prêts à l'emploi.

2.7.4.1 PCR multiplex « maison »

Melendez *et al.* (70) et Cazanave *et al.* (71) ont évalué une méthode de PCR multiplex maison, sur LightCycler® (Roche), détectant les principaux pathogènes des infections sur prothèses. Les performances étaient variables, avec une sensibilité de 77 % sur liquide de sonication contre 56 % pour les liquides articulaires non prétraités et une spécificité de 92 à 98 %. Ces techniques ne détectaient pas la résistance à la méticilline des staphylocoques.

2.7.4.2 Kit SeptiFast, LightCycler®, Roche

Cette PCR multiplex, utilisable sur le LightCycler® (Roche), a été conçue pour détecter et identifier les bactéries et champignons lors d'épisodes de bactériémies. Elle a tout de même été testée pour le diagnostic des infections de prothèse. Elle a montré de bons résultats : 78 à 96 % de positivité pour la PCR mutliplex versus 62 % et 71 % de positif pour la culture (72,73). Elle avait un intérêt particulier chez les patients ayant déjà reçu des antibiotiques (72).

En revanche, ce kit ne permet pas la détection de gènes de résistance aux antibiotiques ni de certaines bactéries comme les corynébactéries et le *Cutibacterium acnes*.

2.7.4.3 Kit Genotype®, Hain Lifescience

Cette PCR, conçue initialement pour identifier les bactéries lors de bactériémies, a été testée sur des liquides de sonication et comparée à la culture. Les taux de positivité étaient supérieurs à la culture : la PCR permettait de confirmer le diagnostic clinique d'infection lorsque la culture était négative, ou de confirmer l'infection alors qu'elle n'était pas suspectée cliniquement, en détectant des germes pathogènes comme *S. aureus* (74).

2.7.4.4 Kit Prove-it® Bone and Joint, Mobidiag

Le kit commercial Prove-it® utilise la technologie des puces à ADN. Cette technologie combine une amplification par PCR multiplex et une détection par hybridation sur sonde. Ce test permet la détection et l'identification de 60 espèces bactériennes ainsi que du gène de résistance à la

méticilline des staphylocoques. En comparaison à des critères cliniques, la PCR Prove-it® avait une sensibilité de 82 % et une spécificité de 74 %, et montrait un intérêt particulier chez les patients ayant déjà reçu un traitement antibiotique (75).

2.7.4.5 FilmArray® Bone and Joint Infection, Biofire

Le système FilmArray® est un dispositif automatisé (cassettes de réactifs prêtes à l'emploi) en cours de développement qui utilise la technologie de la PCR multiplex nichée, ou nested-PCR. Une première PCR multiplex amplifie toutes les cibles du panel, puis une deuxième PCR amplifie chaque cible individuellement à l'aide de couples d'amorces internes au produit de la première PCR. Le kit nécessite 2 minutes de préparation pour une durée totale d'analyse d'environ une heure. Les résultats préliminaires ont montré une bonne corrélation avec la culture (76). Cependant, ce kit ne détecte pas certains germes fréquemment retrouvés dans les IOA sur prothèse comme *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri* et *Cutibacterium acnes*.

2.7.4.6 Kit Unyvero®, Curetis

La partie expérimentale de ce travail de thèse a consisté en l'évaluation de ce système (cf Partie II – Travail expérimental).



Figure 6 – Le système Unyvero (78)

Présentation et principe du système

L'Unyvero System est composé de trois modules : l'Unyvero Lysator, l'Unyvero Cockpit et l'Unyvero Analyser, qui peuvent être utilisés en association avec différentes cassettes, de panels différents, selon la localisation de l'infection et les micro-organismes recherchés.

Le module ITI, pour Implant and Tissue Infection, se positionne dans le diagnostic des infections de matériel orthopédique. Il permet le dépistage simultané de plusieurs micro-organismes et marqueurs de résistance aux antibiotiques dans des échantillons en 4 à 5 heures. Le système est facile à utiliser et ne demande que 5 min de manipulation par l'utilisateur.

La lyse

Les échantillons sont placés dans l'Unyvero Sample Tube, qui contient déjà les réactifs nécessaires à la lyse de l'échantillon (billes de verre, tampon de lyse, protéinase K), et celui-ci est placé dans l'Unyvero Lysator, qui procède à la lyse des échantillons. La lyse chimique est associée à une lyse enzymatique par la Protéinase K, à une lyse mécanique par les billes de verre et à une lyse thermique (modification de la température).



Figure 7 - Sample Tube et Unyvero Lysator (78)

L'analyse moléculaire

Au sein du système, la purification de l'ADN, la réalisation de la PCR multiplex en point final et le dépistage des amplicons par hybridation sont automatisés.



Figure 8 - Cartouche ITI (Implant and Tissue Infection) (78)



Figure 9 - Unyvero Analyzer (78)

La cassette contient les réactifs nécessaires à ces étapes (colonne et tampon de purification de l'ADN, huit chambres de PCR indépendantes, réactifs, amorces et marqueurs fluorescents pour la phase d'amplification, sondes d'hybridation). Elle est chargée dans l'un des deux emplacements de l'Unyvero Analyzer après que le Sample Tube et le Master Mix lui ont été intégrés.

L'analyse commence par une étape de PCR multiplex en point final, où les ADN sont amplifiés et marqués par fluorescence. Chacune des 8 chambres de PCR contient une matrice sur laquelle des sondes sont fixées. Ces sondes sont des fragments complémentaires des séquences à détecter. Les produits d'amplifications s'hybrident donc avec ces sondes, et la détection finale des hybridations se fait grâce à une lecture optique de la fluorescence.

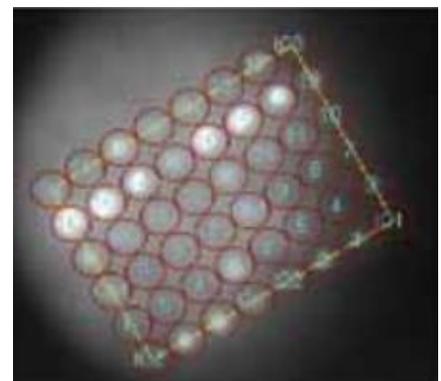


Figure 10 – Détection automatisée des hybridations

Un contrôle interne (un gène synthétique sans homologie significative avec des séquences connues) est amplifié dans chacune des huit chambres de PCR afin de vérifier les différentes étapes de l'analyse : purification, amplification et hybridation.

Le panel

Le panel Unyvero couvre les germes principalement retrouvés dans les infections de prothèses (85 micro-organismes) ainsi que 17 gènes de résistance aux antibiotiques. Il est intéressant car

il contient notamment des anaérobies comme *Cutibacterium acnes* et *Finegoldia magna*, des corynébactéries et des levures, qui ne sont pas inclus dans d'autres techniques (72,77).

La figure 11 montre les micro-organismes et résistances détectés par le panel Unyvero.

GROUP	PATHOGEN
Universal Bacteria	
Gram-positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Coagulase negative staphylococci ¹
	<i>Streptococcus</i> spp. ²
	<i>Streptococcus agalactiae</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i> / <i>dysgalactiae</i>
	<i>Granulicatella adiacens</i>
	<i>Abiotrophia defectiva</i>
	<i>Enterococcus</i> spp. ³
	<i>Enterococcus faecalis</i>
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i> spp. ⁴
Enterobacteriaceae	<i>Citrobacter freundii</i> / <i>koseri</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex ⁵
	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Klebsiella variicola</i>
	<i>Proteus</i> spp. ⁶

GROUP	PATHOGEN
Non-fermenting bacteria	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Anaerobic bacteria	<i>Propionibacterium acnes</i>
	<i>Finegoldia magna</i>
Fungi	<i>Bacteroides fragilis</i> group ⁷
	<i>Candida</i> spp.
	<i>Candida albicans</i>
	<i>Candida glabrata</i>
	<i>I.orientalis</i> (<i>C.krusei</i>)
	<i>Candida tropicalis</i>

GENE	RESISTANCE AGAINST
<i>aac(6)aph(2')</i>	Aminoglycoside
<i>ermA</i>	Macrolide/Lincosamide
<i>ermC</i>	Macrolide/Lincosamide
<i>mecA</i>	Oxacillin
<i>mecC</i> (LGA251)	Oxacillin
<i>vanA</i>	Vancomycin
<i>vanB</i>	Vancomycin
<i>aacA4</i>	Aminoglycoside
<i>ctx-M</i>	3rd generation Cephalosporins

GENE	RESISTANCE AGAINST
<i>kpc</i>	Carbapenem
<i>imp</i>	Carbapenem
<i>ndm</i>	Carbapenem
<i>oxa-23</i>	Carbapenem
<i>oxa-24/40</i>	Carbapenem
<i>oxa-48</i>	Carbapenem
<i>oxa-58</i>	Carbapenem
<i>vim</i>	Carbapenem

1 incl. *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. lugdunensis*
2 incl. *S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. sanguinis*, *S. dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*, *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, *S. gordonii*
3 incl. *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. avium*, *E. hirae*, *E. durans*, *E. raffinosus*
4 incl. *C. jeikeium*, *C. belfanti*, *C. amycolatum*, *C. striatum*, *C. aurimucosum*
5 incl. *E. cloacae*, *E. amnigenus*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*
6 incl. *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. penneri*, *P. hauseri*
7 incl. *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. uniformis*

Figure 11 – Micro-organismes et marqueurs de résistance du panel Unyvero

Sensibilité analytique et données du fournisseur

Les seuils de détection des différents agents pathogènes et des gènes de résistance ont été testés par le fournisseur avec plusieurs dilutions de souches de références dans une solution tampon. Les seuils de détection sont compris entre 10^4 et 10^8 agents pathogènes/mL selon les germes.

La détermination de la sensibilité du test a été effectuée en comparaison à la culture sur 300 échantillons cliniques : les sensibilités variaient de 50 à 100 % selon les germes, mais le nombre d'échantillons positifs était faible.

Performances du kit (Tableau VIII)

Plusieurs études ont évalué les performances du système Unyvero ITI dans les infections sur prothèse. Lorsqu'il était comparé à des critères clinico-biologiques, ce test montrait une sensibilité diagnostique variant de 31 à 79 % et une spécificité de 89 à 100 % (47,78–81). Lorsqu'il était testé sur des échantillons ayant subi une étape de sonication, sa sensibilité était de 51 à 60 % et la spécificité de 94 à 98 % (82,83). La concordance entre les résultats de la PCR et de la culture a aussi été calculée. Les taux de concordance globale étaient compris entre 62 et 82 %. La concordance était bonne pour les prélèvements négatifs mais décevante pour les prélèvements positifs, surtout lorsque l'infection était plurimicrobienne (47,79,82,84–86). La détection du gène *mecA* était meilleure dans la version 2 du kit que dans la version 1 (85). Certains auteurs ont dû faire face à plusieurs résultats invalides, liés à des échecs de PCR dans une ou plusieurs chambres de PCR (85,86). Plusieurs études soulignaient la rapidité de rendu de résultat de la PCR, en comparaison à la culture (81,87).

Ces données sont détaillées dans le Tableau VIII.

Une seule étude (87) a évalué l'impact médico-économique de la PCR Unyvero dans les infections de prothèse. Cette étude de faible effectif (n=10) montrait une diminution des coûts globaux de séjour hospitalier chez les patients ayant bénéficié du diagnostic par PCR, par réduction du délai diagnostique et une meilleure adaptation de l'antibiothérapie.

Tableau VIII – Résumé des études évaluant les performances du kit Unyvero ITI dans le diagnostic des infections de prothèses

Etude	Pays	Nombre de patients	Design de l'étude ¹	Type d'échantillons ²	Version Unyvero testée	Méthode de comparaison	Performances de la mPCR (PCR multiplex) Unyvero®				Commentaires
							Concordance avec la culture	Concordance avec la PCR 16s	Sensibilité [IC95]	Spécificité [IC95]	
Borde et al. 2015 (84)	Allemagne	54 (mPCR sur 28)	Prosp Mono	T	V1	Clinique, imagerie	82% (23/28) (+): 3/7 (-): 20/21	82% (23/28) (+): 3/7 (-): 20/21			Faible nombre de positifs (n=7)
Hischebeth et al. 2016 (78)	Allemagne	31	Prosp Mono	LS, LA	?	Clinique, microbio, histologie			LS : 50% [26-74] LA : 56% [31-79]	LS et LA : 100% [75-100]	
Prieto-Borja et al. 2016 (82)	Espagne	68	Prosp Mono	LS, PS	?	Clinique, microbio, histologie	77% (27/35) (+): 20/27 (-): 7/8		60%	98%	1 seul faux positif (SCN) Meilleure spécificité que la culture
Malandain et al. 2018 (85)	France	440 échantillons (239 patients)	Retrosp Multi	T (broyés en pot à billes), Liquides de broyage pour la mPCR (décongelés)	V1 et V2	Clinique, microbio	58% (256/440) (+): 102/276 (-): 154/164	70% (276/394)			Nombreux faux négatifs expliqués par un faible inoculum Meilleure détection de la méticillino-résistance avec la version 2 du kit : 6% (V1) et 35% (V2)
Villa et al. 2017 (79)	Italie	47	Prosp Mono	T et P prétraités par DTT ³ , LA non traités	?	Clinique, microbio	T : 35% (11/31) LA : 69% (11/16)		Total : 34% [20-51] LA : 44% [15-77]		

¹ Prosp = prospective, Retrosp = retrospective, Mono = monocentrique, Multi = multicentrique

² T=tissus per-opératoires, LA=liquides articulaires, LS=liquides de sonication, PS=prothèses après sonication, P=prothèses

³ DDT = dithiothreitol (agent chimique qui favoriserait la libération des bactéries du biofilm (88))

Lafeuille et al. 2017 (86)	France	40	Retrospro Mono	T	V2	Culture	62% (21/34) (-) : 4/5 (+) mono-microbien : 16/23 (+) poly-microbien : 1/6				Plusieurs résultats invalides (6/40)
Suda et al. (80)	Allemagne	28	Prosp Mono	LA, T	?	Clinique, microbio			31%	100%	
Lausmann et al. (81)	Allemagne	60	Prosp Mono	LA, T (LA pour mPCR)	V1	Culture			79% [61-91]	100% [87-100]	Meilleure sensibilité pour infections aiguës que chroniques
Morgenstern et al. (47)	Allemagne	142	Prosp Mono	LA pré-opératoires	?	Clinique, microbio, histologie	82% (116/142)		60% [48-71]	89% [79-96]	Sensibilité similaire à la culture
Renz et al (83)	Allemagne	111	Prosp Mono	LS	V1	Clinique, microbio, histologie			51% [40-63]	94% [80-99]	Sensibilité similaire à la culture

3 Traitement des IOA sur prothèse

La prise en charge des IOA sur prothèse est complexe et nécessite une collaboration entre différentes disciplines (infectiologues, chirurgiens orthopédiques, biologistes, radiologues, rééducateurs, anatomopathologistes, hygiénistes).

3.1 Traitement chirurgical

L'infection précoce est une urgence chirurgicale. Le matériel peut être conservé mais il est recommandé de réaliser une excision de tous les tissus infectés *via* la voie d'abord initiale (1). Le succès de l'opération est lié à la précocité de la prise en charge (15,89–91), et varie de 50 à 80 % (92). En cas de persistance de signes cliniques ou biologiques d'infection, la prothèse sera déposée.

L'infection chronique nécessite quant à elle un changement de matériel (43). Le changement en un temps consiste en la dépose de la prothèse infectée, le débridement et l'implantation d'une nouvelle prothèse lors de la même intervention chirurgicale. Ce type de chirurgie est à privilégier, surtout si le germe responsable est déjà identifié et si son profil de sensibilité aux antibiotiques est large ou si le patient ne peut subir deux interventions chirurgicales rapprochées (15). Par opposition, un changement en deux temps consiste à déposer la prothèse, mettre en place un espaceur, laisser un intervalle libre permettant d'obtenir les résultats microbiologiques, et enfin réimplanter la prothèse lors d'une nouvelle chirurgie. Il sera réalisé notamment chez les patients aux longues histoires d'infection de prothèse.

3.2 Traitement anti-infectieux

3.2.1 Recommandations

Le traitement antimicrobien s'articule autour de plusieurs principes : l'antibiothérapie doit être débutée en association (d'abord de façon probabiliste après réalisation des prélèvements puis adaptée aux résultats de l'antibiogramme), les concentrations plasmatiques doivent être élevées, et les molécules utilisées doivent avoir une bonne pénétration osseuse (15).

L'antibiothérapie probabiliste per-opératoire après prélèvement est une antibiothérapie large spectre. Il a été montré qu'une antibiothérapie empirique inadaptée était associée à un plus fort risque d'échec (39,93,94). L'association Pipéracilline/Tazobactam + Vancomycine est recommandée (1,15). L'association d'une céphalosporine de 3^{ème} génération (ceftriaxone ou céfotaxime) avec de la vancomycine peut également être utilisée.

Ensuite, le choix des molécules se fait en fonction de l'agent pathogène retrouvé et de son antibiogramme. Le traitement initial se fait par voie intraveineuse et dure entre 5 (1) et 15 jours (15). Les molécules utilisées sont résumées dans le

Tableau IX. Les posologies varient selon le poids du patient et sa fonction rénale et ne seront pas détaillées ici.

Dans les cas où le staphylocoque est résistant à la méticilline et à la vancomycine, ou si le patient est allergique ou ne tolère pas ces molécules, le linézolide ou la daptomycine peuvent être utilisés (hors AMM) (43,59). Ces molécules ont montré une bonne efficacité sur les bactéries du biofilm (95,96).

Le traitement doit être administré pendant 6 semaines minimum, et ne dépasse généralement pas les 12 semaines (1,15,97). L'efficacité thérapeutique est évaluée cliniquement, sur l'aspect de la cicatrice et la diminution des douleurs notamment.

	Traitement initial (2 semaines ou 3 semaines pour <i>P.aeruginosa</i>)	Relai oral
Staphylocoques multi-sensibles	Oxacilline ou cloxacilline ou céfazoline + Gentamicine ou rifampicine	Rifampicine + Ofloxacine (ou ciprofloxacine ou lévofloxacine) ou clindamycine
Staphylocoques résistants à la méticilline	Vancomycine + Rifampicine ou acide fusidique ou doxycycline	Rifampicine + Clindamycine ou acide fusidique ou cotrimoxazole ou linézolide ou doxycycline ou daptomycine
Entérobactéries	Cefotaxime ou ceftriaxone + Ciprofloxacine ou ofloxacine ou gentamicine	Ofloxacine
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ceftazidime ou céfépime ou carbapénème (sauf ertapénème) + Ciprofloxacine ou amikacine ou tobramycine ou fosfomycine	Ciprofloxacine
Streptocoques (sauf entérocoques)	Amoxicilline ou ceftriaxone ± Gentamicine	Amoxicilline ou clindamycine
Entérocoques	Amoxicilline ± Gentamicine	Amoxicilline ± Rifampicine
Anaérobies à Gram positif	Amoxicilline ou céfazoline ou ceftriaxone ou clindamycine	
Anaérobies à Gram négatif	Clindamycine ou métronidazole ou amoxicilline/acide clavulanique	

Tableau IX – Antibiotiques utilisés selon le germe en cause (1,15,43,98)

3.2.2 Problématique de l'antibiothérapie large spectre

L'antibiothérapie empirique post-opératoire doit couvrir les germes fréquemment rencontrés dans les IOA sur prothèse : staphylocoques, streptocoques, bacilles à Gram négatif et anaérobies. Mais ce large spectre peut avoir plusieurs conséquences : l'apparition de diarrhée post-antibiotique à *Clostridium difficile* (99), ou la sélection de bactéries multi-résistantes (36,37).

Une désescalade vers une antibiothérapie à spectre plus étroit doit être réalisée le plus tôt possible, dès que l'identification bactérienne et la sensibilité aux antibiotiques sont connues.

PARTIE II : TRAVAIL PERSONNEL EXPERIMENTAL

Cette partie constitue un résumé en français du travail expérimental réalisé au laboratoire de bactériologie. L'article en anglais qui suit présente l'étude détaillée.

Les méthodes actuelles de diagnostic des infections de prothèse sont basées sur la culture bactérienne standard, avec ensemencement des prélèvements per-opératoires sur différents milieux de culture et lecture des cultures jusqu'à J+15. Ces méthodes, en plus d'être longues, ont été décrites comme ayant une sensibilité imparfaite (8). D'autre part, il a été montré que le succès du traitement de l'infection de prothèse était lié au délai de prise en charge.

Les méthodes de biologie moléculaire, basées sur la mise en évidence de l'ADN bactérien, constituent une alternative diagnostique rapide. Le système de PCR multiplex Unyvero® ITI (Implant & Tissue Infection) (Curetis) offre la possibilité de détecter simultanément 85 espèces bactériennes et fongiques, certaines pouvant être minoritaires, dans un même échantillon en moins de 5 heures. Il permet également de détecter 17 gènes de résistance aux antibiotiques.

Plusieurs études ont évalué les performances diagnostiques de ces PCR multiplex. Elles ont souligné la rapidité de rendu de résultat de ces techniques, en comparaison à la culture (81,87). La spécificité était bonne et la sensibilité variait de 31 à 79 % selon les études (47,78-81). Peu d'études ont abordé l'impact sur la prise en charge médicale et chirurgicale des patients. Le but de ce travail a donc été d'évaluer les performances analytiques du kit de PCR multiplex Unyvero® ITI, mais aussi de mesurer son impact sur la prise en charge des infections ostéo-articulaires sur matériel orthopédique.

Le kit a été testé de manière prospective sur 22 échantillons (15 liquides articulaires per-opératoires et 7 liquides de ponction) de novembre 2017 à juin 2018, provenant de 21 patients suspects d'infection de matériel. La PCR Unyvero® était réalisée en parallèle de la culture. Le résultat de la PCR n'était pas communiqué au médecin. Un groupe d'experts (infectiologues, chirurgiens orthopédiques, microbiologistes) se réunissait *a posteriori*, pour évaluer la

contribution potentielle qu'aurait eue la PCR multiplex dans la prise en charge des patients à partir des données médicales et du résultat de la PCR. Les performances analytiques de la PCR ont été calculées, et l'impact du résultat sur la prise en charge médico-chirurgicale a été évalué.

Parmi les 22 liquides articulaires étudiés, 9 étaient stériles en culture et 13 étaient positifs (10 cultures mono-microbiennes et 3 cultures poly-microbiennes). Dix-huit résultats de PCR étaient valides (18/22). Sur ces 18 résultats de PCR interprétables, 67 % étaient concordants avec la culture (12/18). Les taux de concordance étaient de 7/9 pour les cultures négatives, 5/7 pour les cultures mono-microbiennes et 0/2 pour les cultures poly-microbiennes. Les 6 résultats discordants étaient 4 cultures positives avec PCR négatives ou incomplètes, et 2 cultures négatives avec PCR positives. Les bactéries retrouvées exclusivement en culture étaient présentes en faible quantité (très rares colonies sur gélose ou détectées seulement après enrichissement), ce qui pouvait expliquer l'absence de détection en PCR. Les prélèvements plurimicrobiens en culture étaient positifs en PCR, mais avec une détection uniquement du germe prédominant. Parmi les 2 discordances PCR positive/culture négative, un cas était un vrai positif de la PCR (un autre prélèvement était positif en culture au même germe) et une PCR était un faux positif (absence d'infection de prothèse). La sensibilité de la PCR multiplex était de 73 % et la spécificité de 86 %.

Le temps moyen de rendu de la PCR était de 23 heures, et celui de rendu final des cultures était de 20 jours.

Parmi les 18 résultats valides présentés au groupe d'experts, 12 auraient mené à une modification de prise en charge. Parmi ces 12 modifications de traitement, 6 auraient permis un gain de temps dans l'adaptation thérapeutique (allant de 2 à 22 jours), et 6 auraient conduit à une prise en charge erronée (arrêt ou modification à tort de l'antibiothérapie ou de la prise en charge chirurgicale). Les conséquences liées à cette erreur de prise en charge étaient qualifiées de faible à grave (1 faible, 3 modérées, 2 graves). Dans 2 cas où la PCR entraînait une modification thérapeutique erronée (2/6), les conséquences sur la prise en charge chirurgicale étaient graves (absence de détection d'un *Candida* et programmation d'une repose de

prothèse dans un cas, et lavage articulaire à tort chez un patient non infecté pour le 2^{ème} cas). Dans les 4 autres cas où la PCR entraînait une modification thérapeutique erronée (4/6), le traitement (réduction du spectre ou arrêt de l'antibiothérapie) était modifié à tort à cause de l'absence de détection par la PCR, ou d'une détection incomplète, des germes présents dans le liquide synovial. Les conséquences de ces modifications étaient estimées de faible à modérée, car l'antibiothérapie aurait pu être réajustée selon les résultats de la culture et des antibiogrammes. Il faut souligner que dans 2 de ces 4 cas, l'erreur de modification de prise en charge ne pouvait pas être directement imputée à la PCR car le diagnostic microbiologique était fait sur les prélèvements tissulaires per-opératoires, non analysés en PCR.

Malgré son manque de sensibilité, la PCR constituait une alternative diagnostique plus rapide que la culture, qui permettait dans un tiers des cas de faire gagner du temps sur la prise en charge thérapeutique.

L'article qui suit présente le détail de ces résultats. Cette étude est en train d'être poursuivie afin de confirmer ces résultats sur un nombre plus important de patients et à terme d'évaluer l'impact médico-économique (durée d'hospitalisation, traitement antibiotique) de l'implémentation de ce kit de PCR dans la prise en charge des infections ostéo-articulaires sur matériel orthopédique.

Diagnostic performances and therapeutic impact of the Unyvero ITI multiplex PCR in periprosthetic joint infections

INTRODUCTION

Prosthetic Joint Infections (PJI) are rare but potentially serious complications of arthroplasty. They represent 1 to 2% of hip and knee arthroplasties (1,2), but may have consequences for the patients and for society. Not only they may alter functional prognosis and cause high morbidity for patients, but they also have a sizeable economic impact on the society, with high healthcare costs (3,4). Due to the aging of the population, the number of joint replacements will increase unavoidably, and so will the incidence of PJI. Microbiological diagnosis remains challenging and conventional culture is still the reference method, despite of its lack of sensitivity (10-30% false negative) (5,6) and its long turnaround time.

Diagnosis of infection and administration of appropriate antimicrobials are crucial for successful treatment. It has been shown that a long time from onset of symptoms to debridement surgery was associated with a high risk of treatment failure (7–9), as well as ineffective empiric antibiotic therapy (10–12). Broad-spectrum antibiotic therapies have to be as short as possible to avoid well-known effects as antimicrobial resistance or disruption of normal microbiota (13,14).

Often described as more sensitive than culture, the molecular techniques constitute a diagnostic alternative widely estimated in the literature. They have the advantage of a rapid turnaround time, with good performances (15–17). Previous studies have demonstrated the benefits of the 16s rRNA gene PCR (17–20), but this method remains a long and heavy technique which needs technical time, material requirements and does not allow to detect polymicrobial infections (18). New molecular methods have been developed since, such as several commercial multiplex PCR kits (21,22). Among them, the multiplex-PCR (mPCR) Unyvero® ITI (Implant & Tissue Infection) (Curetis) system offers the possibility to detect simultaneously 85 pathogens and 17 resistance markers, directly from the native sample, in less than 5 hours. Several studies have evaluated the performances of the method and have showed an interest of the technique, in particular for pathogens that are difficult to cultivate, and for patients who had previously received antimicrobial treatment (23–27). To the best of our knowledge, no studies have evaluated the clinical benefit of this multiplex PCR.

The aims of our study were firstly to evaluate the diagnostic performances of the Unyvero ITI G2 multiplex PCR (Curetis) for detecting causative pathogens and resistance markers from joint fluids, and secondly evaluate the clinical impact of this assay on the management of PJI. To achieve our objectives, we conducted a prospective study. The clinical impact of this PCR on therapeutic decisions (antibiotic treatment, surgical and medical care) was established by a group of experts (infectious disease specialists, orthopaedic surgeons and microbiologists) through a review of patient's medical records and PCR results.

MATERIALS AND METHODS

Design of the study and ethical statements

From November 2017 to June 2018, a prospective non-interventional monocentric study was carried out at the Grenoble Teaching Hospital in France. All patients received written information about the study. No written informed consent was required for inclusion. The ethics committee approval is currently being completed.

Patients

Patients with suspected PJI who had been admitted at the Grenoble Teaching Hospital were enrolled into the study. PJI was suspected on clinical signs (sinus tract, joint swelling, effusion, pain), biological signs (elevated CRP), radiological signs (loosening) or on patient's history (prior documented infection). All patients were treated according to the standard algorithm when PJI is suspected: a pre-operative joint aspiration and/or per-operative tissue samplings (4 to 7 samples) were collected. A same patient could be included several times, provided the fact that the samples were separated by at least 15 days. Each new episode was considered as a case. Patient demographic characteristics, prosthesis localization, clinical signs, antimicrobial therapy and biological data (CRP) were collected.

Conventional culture and susceptibility testing

Periprosthetic tissue samples were processed by using the bead-mill processing pre-analytical method (Ultra Turrax, IKA). All samples were inoculated on blood agar Columbia (Biomérieux) and chocolate agar Polyvitex (Biomérieux), both incubated under a Co₂-enriched atmosphere for 5 days, and on Schaedler broth (Biomérieux), incubated for 14 days. Schaedler broths were inspected weekly for cloudiness and if necessary subcultured on blood agar plates incubated

under aerobic and anaerobic conditions. Bacterial isolates were identified by MALDI-TOF mass spectrometry (Brucker) and antimicrobial susceptibility testing was performed using Phoenix 50 AST system (Becton Dickinson) or E-test strips according to French (CA-SFM) guidelines. Synovial fluids could also be inoculated into blood culture bottles (BacTec, Beckton Dickinson) by the surgeon. Blood culture bottles were incubated at 36 ± 1 °C for 15 days or until a positive growth was signaled. Synovial fluids were kept at room temperature until multiplex PCR was performed. The time intervals between sampling and culture results were collected.

Multiplex PCR assay Unyvero® (mPCR)

Excess material of joint fluid was used for the PCR experiments. The mPCR cartridge was used as recommended by the manufacturer. One hundred eighty microliters of synovial fluid were transferred in the lysis incubator for 30 min. After that, the sample was placed in the Unyvero cartridge with the Master mix vial. Then the cartridge was loaded in the analyzer for amplification and detection for about 4.5 hours. The cartridge contains eight individual PCR chambers with individual arrays for array purification. At the end of the analysis, qualitative and semi-quantitative results were given. Results over 250 units were considered positive. Version 2 of the cartridge was tested. The whole technical hands-on time was about 5 minutes.

The kit allows detecting a large list of pathogens among the most frequently involved in PJI: 85 pathogens (bacteria and yeasts) and 17 antimicrobial resistance markers. The method contains also an internal control, which is co-processed in every PCR chamber to verify DNA purification, PCR and array hybridization.

The time intervals between sampling and mPCR results were collected. The results of the PCR testing were not communicated to the treating physicians in such a way that no therapeutic or medical decisions were based on the results of the mPCR.

16s rRNA gene PCR

16s rRNA gene PCR was performed when prescribed by the clinicians. A 440bp DNA fragment of the 16SrRNA gene was amplified with primer 91E and 13BS as described by Gauduchon *et al.* (28). Amplicon was sequenced by Biofidal (Lyon, France). The sequence obtained was compared in a phylogenetic analysis with those available in the BIBI Database (<http://umr5558-sud-str1.univ-lyon1.fr/lebibi/lebibi.cgi>).

Experts concertation

After the end of infectious episodes and data collection, a retrospective analysis of the test results and clinical data was performed. A multidisciplinary panel of experts (infectious disease specialists, orthopaedic surgeons and microbiologists) met to assess if having the result of mPCR would have changed the management of the patients. For that, they had firstly access to the prior patient's history, before microbiological sampling (surgical and medical history, biological results). Then the first microbiological results were presented to them in the chronological order in which they truly were available in our laboratory (Gram staining, leucocytes count), followed by mPCR results. At this time, they had to assess what impact the mPCR result would have had on the patient care: 1) changes in surgical management, 2) changes in antibiotic therapy, 3) changes in other medical treatment. In order to examine possible time saving effects of the molecular based technique, time to results of culture was compared to the time of mPCR results. Experts' confidence in mPCR was evaluated using a five-point Likert Scale where 1 corresponded to "No confidence at all" and 5 to "Complete confidence". Finally, mPCR results were compared to conventional culture results. The final diagnoses (infection/no infection) were defined retrospectively by reviewing entire medical records and microbiological results. mPCR results were compared to final diagnoses, taken as the reference. Experts had to determine if taking the mPCR result into account would have led to an adequate or an inappropriate treatment, and for inappropriate treatment, they had to rank the consequences of this wrong medication on a five-point Likert scale ranging from 1 to 5, where 1 corresponded to "low consequences", and 5 to "severe consequences".

Statistical analysis

Data were given as numbers and percentages. Agreement rates, sensitivity and specificity were assessed only with interpretable results of the mPCR (totally and partially invalid results were excluded). Sensitivity and specificity were calculated taking the final diagnoses as the reference.

RESULTS

Patients

Twenty-one patients were included into this study. Samples and clinical information are shown in Table 1. Patients were 46 to 90 years old. Twenty-two samples were collected,

corresponding to 15 synovial fluids obtained during operation and 7 preoperative synovial aspirations. Fifteen patients (68%) received antibiotics after the sampling or the Gram staining results, and among them, 73% (11/15) were empirical broad-spectrum antibacterial therapies. Only one joint aspiration was performed in a patient who previously received antibiotic. The diagnosis of PJI was retained for 14 patients and excluded for 7 patients.

Table 1 – Clinical and samples characteristics of the 21 patients included in the study

Characteristic	n (%)
Demographic data	
Number of patients	21
Median age [range]	71 [46-90]
Female	11 (52%)
Prosthesis localization	
Knee	16 (76%)
Hip	4 (19%)
Ankle	1 (5%)
Samples	
Collected during the surgical procedure	15 (68%)
Pre-operative joint fluid aspiration	7 (32%)
Clinical presentation	
Local signs (sinus tract, joint swelling, effusion, pain)	19 (90%)
Elevated CRP (>10mg/L)	14 (67%) (3 missing data)
Loosening of joint implants	10 (48%)
Prior PJI	9 (43%)
Antibiotic therapy	
Post-operative or post-sampling antibiotic treatment	15 (68%)
Broad-spectrum post-operative antibiotic treatment	11 (50%)
Samples collected after antibiotic therapy	1 (5%)
Final diagnosis	
Infected	14 (67%)
Non infected	7 (33%)

Culture results (Table 2)

Among the 22 samples, 9 remained sterile and 13 were culture positive. Of these, 3 were polymicrobial and 10 were monomicrobial. Seven samples were positive in culture during the first 6 days and 6 were positive only after 14 days of culture. The most common causative pathogens isolated in culture were staphylococci: *Staphylococcus aureus* (n=6) and coagulase-negative staphylococci (n=5) (Table 2). Methicillin resistance was observed in 2 out of 13 staphylococci (CoNS n=2). The mean time between sampling and culture results was 20 days [min 14; max 29 days].

For 15 cases, synovial fluid and periprosthetic tissue samples (bone and soft tissues) have been collected simultaneously during the surgical procedure. In 6 cases, additional bacteria were

found on periprosthetic tissues and not on synovial fluid (1 *Cutibacterium acnes*, 1 *Finnegoldia magna* + 1 *Peptoniphilus harei*, 3 CoNS, 1 *Klebsiella oxytoca*). Among them, 1 CoNS was considered as a contamination. In 5 cases, the detected pathogen did not differ between tissue samples and joint aspirate. Four cases were negative on all samples.

Seven cases had only a pre-operative joint aspiration. Four were positive in culture.

Table 2 - Microorganisms isolated by culture in the 22 synovial fluids

Synovial fluid culture	Microorganisms isolated	Number of cases
Monomicrobial (n=9)	CoNS	4
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2
	<i>Staphylococcus caprae</i>	1
	<i>Staphylococcus capitis</i>	1
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4
	<i>Candida albicans</i>	1
Polymicrobial (n=3)	<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Serratia marcescens</i>	1
	<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Enterobacter cloacae</i>	1
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Cutibacterium acnes</i>	1
Negative (n=9)		9
Total		22

16s rRNA PCR was performed for only 4 patients because of a high suspicion of infection. PCR were negative in 3 cases and positive in 1 case with *Anaerococcus tetradius* and *Peptoniphilus harei* (PCR performed on 2 different samples).

mPCR results

Among the 22 samples, 9 were negative, 9 were positive (3 *Staphylococcus aureus*, 5 coagulase-negative staphylococci, and one with these 2 bacteria), 3 showed total invalid results and 1 showed a partial invalid result (dysfunction of 7 of 8 PCR chambers). Two mPCR detected the *mecA* gene on two CoNS. The mean time between sampling and mPCR result was 23 hours [min 5h, max 100h].

Concordant results between culture and mPCR (Table 3 and Figure 1)

Twelve out of 18 (67%) were fully concordant for the pathogen identification: 7/9 negative samples and 5/7 monomicrobial samples. These data are shown in Table 3 and Figure 1. Among the staphylococci detected by mPCR, all were concordant with culture for the methicillin-resistance detection.

Table 3 – Concordance between mPCR and culture results

			mPCR results					Total
			Concordant	Discordant				
				1 bacteria less	1 bacteria more	Difference in identification	Negative mPCR	
Culture results	Positive culture	Monomicrobial	5	-	0	0	2	7
		Polymicrobial	0	1	0	1	0	2
	Negative culture		7	-	2	-	-	9
Total		12	1	2	1	2	18	

Discordant results (Table 4)

Among the 6 discordant cases, 4 were fully discordant and 2 were partially discordant. One bacterial agent was detected in 2 cases by mPCR only (2 CoNS) and in 2 cases by culture only (1 *Candida albicans*, 1 *Staphylococcus capitis*). Two polymicrobial samples showed partial discordance: mPCR detected only the predominant microorganism. In one case, mPCR detected *Staphylococcus aureus* and CoNS while culture revealed *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter cloacae* but not any CoNS. In a second case, mPCR detected CoNS while culture revealed also *Cutibacterium acnes*. For one of the two patients with sample negative in culture but positive in mPCR, the same bacteria was detected in a previous sample by culture. Among the 4 microorganisms found in culture but not in mPCR, *Cutibacterium acnes*, *Candida albicans* and *Enterobacter cloacae* were detected only after incubation of enrichment broth (after 15 days for *C. acnes* and *C. albicans*, and after 5 days for *E. cloacae*), and for *Staphylococcus capitis*, only very few colonies were grown on plates. Except for *Staphylococcus caprae* (corresponding to an invalid mPCR), all microorganisms found in culture were included in the mPCR panel.

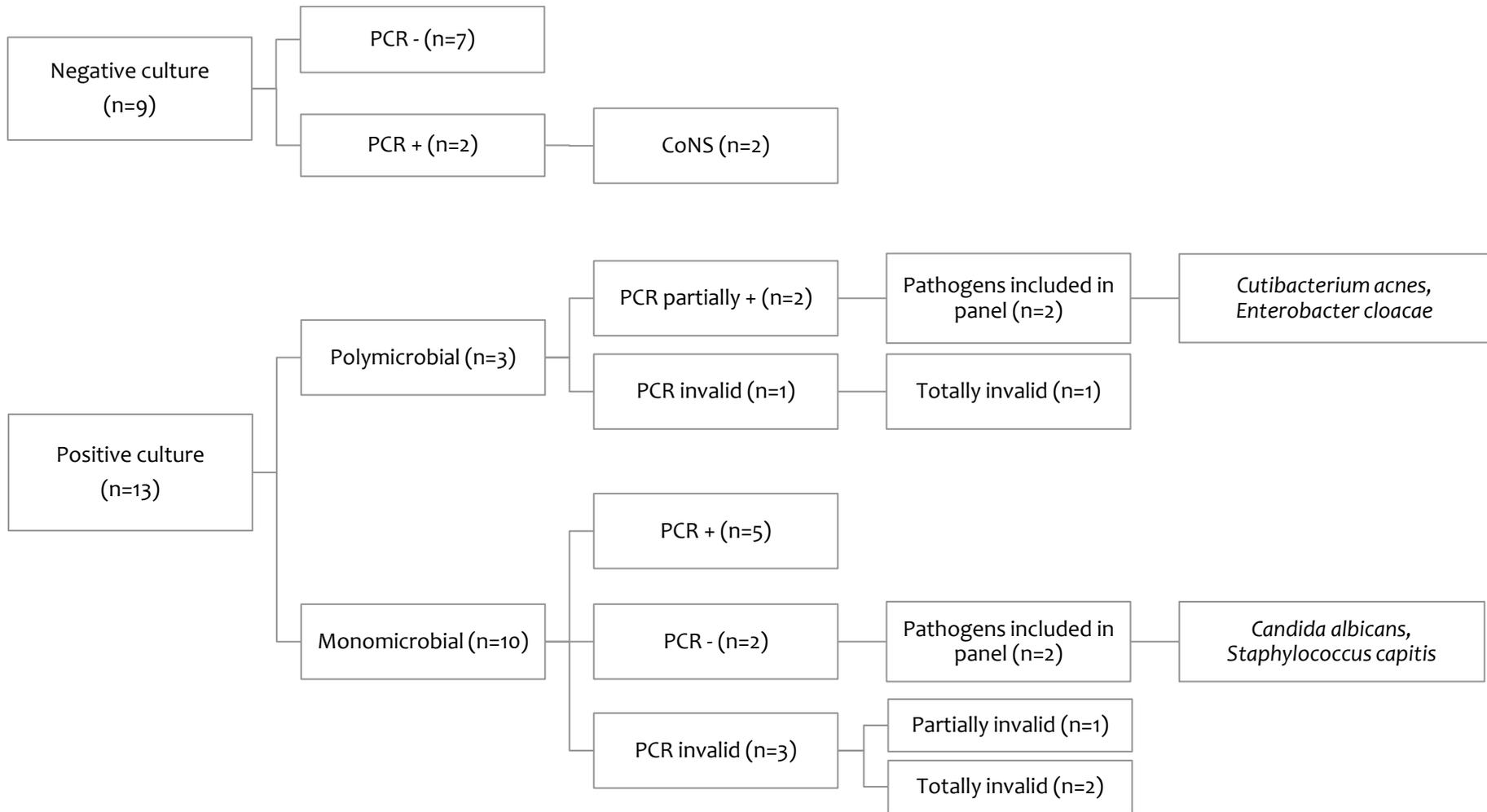


Figure 1 - Flow Chart of the PCR Unyvero® results according to the culture results

Table 4 – Discordant results between culture and mPCR

Discordance	Patient n°	Synovial fluid culture	Synovial fluid mPCR	16s rRNA gene PCR	Final diagnosis about PJI
C+/mPCR-	9	<i>Candida albicans</i> *	Negative		Infected
	21	<i>Staphylococcus capitis</i>	Negative		Infected
C-/mPCR+	11	Negative	CoNS	Negative	Non infected
	21bis	Negative	CoNS		Infected
Partial discordance	13	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> + CoNS		Infected
	19	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Cutibacterium acnes</i> *	CoNS		Infected

CoNS = coagulase negative staphylococci, C- = negative culture, C+ = positive culture, mPCR- = negative multiplex PCR, mPCR+ = positive multiplex PCR, * = cultured after extended incubation of enrichment broth

Sensibility and specificity

Multiplex PCR showed a sensitivity of 73% and a specificity of 86%. Conventional microbiological method showed a sensitivity of 87% and a specificity of 100%.

Semi-quantitative scores of mPCR (Table 5)

Semi-quantitative scores of CoNS detection are presented in Table 5. All CoNS found in culture in the synovial fluid were detected in mPCR with a score over 1000. CoNS detected by mPCR with scores under 400 were not confirmed by culture, but 2 were identified in other per- or pre-operative samples.

Table 5 – Semi-quantitative scores of CoNS detection

Patient n°	Semi-quantitative score of mPCR	Detection of CoNS by culture
11	309	No
21bis	381	No*
18	384	No*
13	397	No
19	1052	Yes
1	1145	Yes
16	2319	Yes

* In 2 cases, CoNS were identified in other per- or pre-operative samples

Impact on medical and surgical treatment

Among the 18 valid results presented to the panel of experts, 12 results (67%) would have led to a modification of treatment, but half would have not been relevant. The detail of the impact of the PCR in the management of patients is presented in table S1 in appendix. Among the 18 interpretable cases, 11 (61%) received a post-sampling antimicrobial therapy. When mPCR were positive (n=5), antibiotics would have been changed to narrow-spectrum antimicrobials, thanks to the absence of resistance genes detection.

The clinicians would have adjusted the treatment sooner for 6 patients (from 2 to 22 days earlier), 6 results would have led to an erroneous therapeutic decision (erroneously stop or modification of an antibiotic treatment or surgical care) and 6 results would have had no clinical impact. The 6 benefits of treatment adaptation would have been: 3 changes or stops of antibiotic therapy, 1 prosthesis replacement with adapted post-operative antibiotics, 1 start of anti-rheumatological treatments and 1 scheduled surgery cancellation associated with a stop of antimicrobial therapy. Time savings ranged from 2 to 22 days. Detection of resistance genes (*mecA*) influenced a therapy modification in 1 case.

Six modifications out of 12 would have been inappropriate, and would have had different levels of severity, from low to serious. In 3 cases, mPCR did not detect all the microorganisms present in the samples; antimicrobial therapy spectrum would have been too narrow. In 1 case, antibiotic therapy would have been mistakenly stopped. In 1 case, prosthesis re-implantation would have been improperly scheduled. In the last case where mPCR detected CoNS, one irrigation would have been improperly scheduled.

Table 6 - Medical and surgical treatment changes

Evaluation of the changes	mPCR results	Type of change
Beneficial therapeutic adaptation (n=6)	Negative	Start of anti-rheumatological treatments (n=1)
		Scheduled surgery cancellation + stop of antimicrobial therapy (n=1)
		Stop of antimicrobial therapy (n=1)
	Positive	Prosthesis replacement with adapted post-operative antibiotics (n=1)
		Revision of antimicrobial therapy (n=2)
Erroneous therapeutic decision (n=6)	Negative	Stop of antimicrobial therapy (n=1)
		Scheduling of re-implantation (n=1)
	Positive	Revision of antimicrobial therapy (n=3)
		Scheduling of unnecessary surgery (irrigation) (n=1)

Experts rated their confidence in making clinical decisions based on the mPCR results with an average score of 3.9 (median score = 5) on the five-point Likert scale. In 12 cases, the group was convinced by the PCR result and was confident (score 5/5). In 4 cases corresponding to patients with a strong clinical suspicion of PJI, the experts were not convinced (score 1/5) by the reliability of the negative results of the mPCR.

DISCUSSION

The multiplex PCR Unyvero® was fully concordant with culture in 12/18 (67%) samples from patients with suspected PJI. Concordance rate was 7/9 for sterile cultures, 5/7 for monomicrobial cultures and 0/2 for polymicrobial cultures. Previous studies showed similar agreement rates ranging from 58% to 69% (25,29,30). Two studies presented higher concordance rates (82%), but they were conducted on a low number of positive samples (23,27). In our study, multiplex PCR showed a sensitivity of 73% and a specificity of 86%. In the literature, sensitivity ranges from 31 to 79% and specificity from 89 to 100% (26,27,29,31,32). In a large-scale retrospective study (440 samples), Malandain *et al.* (25) showed that the concordance rate of mPCR with culture was 58.1%. Concordance was good mostly on negative samples (154/164) whereas positive samples were not well detected (102/276). Concerning the discordant results, they highlighted a negative inoculum effect, with a lack of detection when the bacterial inoculum was low. Our observations are consistent with these previous results. Among microorganisms identified in culture (mono- or poly-microbial) but not in mPCR, 3 out of 4 (*Cutibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Enterobacter cloacae*) were detected after at least 5 days of culture in enrichment broths, and 1 out of 4 (*Staphylococcus capitis*) cultured with only very few colonies on plates. We can hypothesize that bacteria were present at low abundance in these samples, as described in prosthetic infections (18,33). In our study, the 2 samples with polymicrobial cultures were mPCR positive; PCR succeeded to detect the predominant microorganism in all cases (*S. aureus* and *S. epidermidis*) but not the second one (*C. acnes* and *E. cloacae*). Other authors showed a lack of detection of pathogens in polymicrobial specimens (25,30). The PCR detection limit is estimated by the manufacturer at 10⁵ colony forming units (CFU)/mL for *C. acnes*, *C. albicans* and *E. cloacae* and at 10⁴ CFU/mL for CoNS, which could have affected the results, compared to conventional microbiological methods (prolonged cultures, bead-mill processing).

Synovial fluid culture showed good but not perfect performances, with 4 false negatives. The sensitivity of the synovial fluid culture method in our study was 87% and specificity 100%.

Previous studies showed a culture sensitivity of about 60-90% in PJI (5,6,34,35), and it has been demonstrated that sensitivity increased with the number of specimens collected (5). It is recommended to collect and culture five operative specimens to produce a diagnostic test that is both sensitive and specific. That's why in our study, for patients having surgery (n=15), culture was performed on multiple samples (4 to 7 different samples for a same patient), which permitted to increase sensitivity of the culture method. Nevertheless, we have chosen to perform mPCR only on joint fluid. This limitation is linked to the fact that it will be not possible to implement such mPCR for all the per-operative samples (4 to 7 for one patient) for technical and economic reasons. In 5 cases, diagnosis was based on bone and tissue samples culture only (synovial fluid culture was negative or incomplete). We should point out here a limit of our study. The final diagnosis taking into account bone and tissue cultures, we introduced a bias into the evaluation of the mPCR performances.

CoNS were more frequently detected by mPCR. In 4 cases, CoNS didn't grow in culture whereas mPCR were positive. In one case, mPCR permitted to detect the causative pathogen (CoNS). In this case, as the bacterium was also identified on a previous sample by culture, it was considered as a true positive. In a second case, CoNS was also detected by culture on another tissue sample. In a third case, CoNS was considered as a contaminant, another etiology for the septic symptoms was found (implantable venous access device infection). PCR detected a coinfection CoNS/*S. aureus* in a fourth case whereas cultures grew with *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter cloacae*. We can wonder if CoNS were missed in culture because of the abundance of other microorganisms in the sample or if it is a false positive result of the mPCR. Here we would point out the difficulties in interpreting a positive CoNS mPCR. Morgenstern *et al.* (27) also noticed the difficulty discriminating between false-positive from true-negative findings. In 2 cases out of 7 patients with diagnosis of aseptic implant failure and with CoNS positive mPCR and negative culture, they finally concluded with septic failures by reviewing additional data obtained during subsequent revision surgery. Interestingly, we showed in our study that all CoNS found in culture in synovial fluid were detected by mPCR with a semi-quantitative score over 1000. CoNS detected by mPCR with scores under 400 were not always confirmed by culture. In these cases, other clinical elements will have to be considered to conclude about the infectious nature of the symptoms, and mPCR should be performed on other samples to confirm the first result.

The number of invalid results is important to note. In our study, 3/22 mPCR results were fully invalid and 1 was partially invalid with the dysfunction of 7 out of 8 PCR chambers. These 4

samples were positive in culture. Malandain *et al.* (25) observed a lower rate of these invalid results (10/450 samples) and Lafeuille *et al.* (30) a similar rate (6/40). Preanalytical treatment of samples may need to be set up to solve this problem, but to the detriment of the short technical hands-on time.

To improve therapeutical adaptation, and avoid the use of glycopeptides for too long as empirical treatment, it is essential to know if staphylococcal strains are susceptible to methicillin. Another molecular method, the GeneXpert MRSA/SA (Cepheid) assay, can detect simultaneously the presence of staphylococci and methicillin resistance with a sensitivity of 94% and a specificity of 100% (36). This method, which targets a single pathogen, has a limited interest in the diagnosis of PJI, because of the microbiological diversity of this type of infection. In the study of Malandain *et al.* (25), mPCR detected *mecA* gene in only 6% of the cases (samples previously frozen) with Version 1 of the kit, and 35% with Version 2. In our study, all specimens were processed immediately upon receipt in the laboratory with the Version 2. All staphylococci detected by mPCR were concordant with culture for the methicillin resistance detection.

Unyvero panel contains the most relevant pathogens and resistance phenotypes involved in PJI. In our study, except for *Staphylococcus caprae*, all microorganisms identified in culture were in the mPCR panel. Other multiplex PCR have been developed in the past decade. Melendez *et al.* (37) evaluated a “homemade” PCR: performances were average (sensitivity of 56%) and it did not detect methicillin resistance. Moreover, the technique was time consuming. SeptiFast (LightCycler®, Roche) kit, designed to detect microorganisms during bacteremia episodes, has been tested in the context of PJI (21). It showed good performances but did not detect resistance markers or certain bacteria such as *Corynebacterium* and *Cutibacterium acnes*. FilmArray® Bone and Joint Infection (Biofire, Biomérieux) seems to be the easiest and fastest kit to use, with a global analysis time of 1 hour. Unfortunately, it does not detect several prevalent microorganisms such as *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri* and *Cutibacterium acnes* (38). This technique is still in development. Unyvero therefore appears to be the most complete panel currently on the market. It is also very easy to operate with 5 minutes hands-on time and does not require specific skills.

The other benefit of the Unyvero system is the rapidity of results reporting. An important issue in the successful management of PJI is the delay in determining the identity of the causative agents and their antimicrobial susceptibility. The turnaround time of the technique is 5 hours. In our study, the mean time between sampling and mPCR result was 23 hours. This delay

corresponded to the verification of inclusion criteria. In real practice, this delay may be shortened. But in any case, the median time to results was widely shorter for the PCR than for the conventional culture (20 days).

In addition to evaluating the diagnostic performances of Unyvero mPCR, we aimed to evaluate the clinical impact of Unyvero PCR on the management of patients suspected of PJI. To the best of our knowledge, our study is the first to evaluate this point. For this purpose, patients were included prospectively, followed by a retrospective review of the medical records. Of the 18 results presented to the expert group, the clinicians would have started an appropriate treatment sooner for 6 (33%) patients (from 2 to 22 days earlier), 6 (33%) results would have led to an erroneous therapeutic decision (erroneously stop or modification of an antibiotic treatment or surgical care) and 6 (33%) results would have had no clinical impact. In 4 cases, the erroneously stop or modification of an antibiotic treatment with narrow-spectrum antibiotics, was due to a partial detection or a lack of detection of microorganisms in samples. In these cases, consequences have been estimated not particularly serious (from low to moderate on the Likert scale), as the antimicrobial therapies would have been adjusted as soon as the culture results were available. In 2 cases, the mPCR results would have had potentially serious consequences. (i) Multiplex PCR did not detect *Candida* in one patient for whom the experts would have decided on aseptic arthritis. (ii) Multiplex PCR detected CoNS for one patient; an arthroscopic irrigation would have been improperly scheduled. For this patient, another etiology for the septic symptoms was identified.

This pilot study showed that mPCR can bring a real benefit in 1/3 of the cases for antimicrobial therapy adjustment but cannot replace culture. It is well-known that empiric broad spectrum antibiotics may not provide optimal coverage and can exacerbate resistance (13,14). In case of positive mPCR results, antimicrobial therapies should be adjusted, in order to target the predominant germ. Antimicrobial spectrum will eventually be expanded or adjusted according to clinical evolution or culture results. Particular attention should be paid to positive CoNS results with low semi-quantitative scores.

PJI can have not only clinical impacts but also high economic effects. At this stage of the study, we assess here neither the cost of Unyvero mPCR testing nor the potential savings made when results lead to improved treatment decisions. A previous study showed that the addition of the Unyvero PCR technique to traditional techniques (culture) was associated with faster diagnosis and shorter hospital stays than traditional techniques only, allowing cost savings at hospital level, even if the average cost of Unyvero kits was more than 400€/patient (39). But

this study was performed on only 10 patients and other larger-scale studies have to confirm these results. The clinical impact of this antibiotherapy change is currently being further evaluated from a health-economic point of view.

At this stage, our study presents an insufficient statistical power due to the small number of patients included. These results have to be confirmed on more patients. This study is still ongoing at the time of the thesis defence.

CONCLUSION

This pilot study indicates that the mPCR Unyvero has lower performances than culture, but its rapid turnaround time makes it an interesting alternative method for PJI diagnosis. We highlight the faster reporting of PCR results that enables clinicians to start a targeted therapy earlier. The PCR would improve the management of 1/3 of the patients. For another 1/3 of the patients, mPCR results have to be completed with the culture. These outcomes are encouraging and mPCR performances should be improved by testing additional preanalytical methods. This study is still ongoing to verify and validate these early promising results.

BIBLIOGRAPHY

1. Dumaine V, Jeanne L, Paul G, Eyrolle L, Salmon-Ceron D, Tomeno B, et al. Proposition d'un protocole de suivi des infections avérées de site opératoire en chirurgie orthopédique et traumatologique. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique*. 2008 Mar 27;93(1):30–6.
2. Lecuire F, Gontier D, Carrere J, Giordano N, Rubini J, Basso M. Bilan de 10 ans de surveillance du taux d'infections du site opératoire dans un service d'orthopédie. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique*. 2008 Apr 18;89(6):479–86.
3. Grammatico-Guillon L. Surveillance hospitalière des infections ostéoarticulaires en France: analyse des données médico-administratives. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*. 2013 Feb 5;39–44.
4. Klouche S, Sariali E, Mamoudy P. Total hip arthroplasty revision due to infection: A cost analysis approach. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*. 2010 Apr 1;96(2):124–32.
5. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DWM, Simpson H, Peto TEA, et al. Prospective Evaluation of Criteria for Microbiological Diagnosis of Prosthetic-Joint Infection at Revision Arthroplasty. *J Clin Microbiol*. 1998 Jan 10;36(10):2932–9.
6. Pandey R, Berendt AR, Athanasou NA, Group) (The OSIRIS Collaborative Study. Histological and microbiological findings in non-infected and infected revision arthroplasty tissues. *Arch Orth Traumat Surg*. 2000 Oct 1;120(10):570–4.

7. Lora-Tamayo J, Murillo O, Iribarren JA, Soriano A, Sánchez-Somolinos M, Baraia-Etxaburu JM, et al. A Large Multicenter Study of Methicillin–Susceptible and Methicillin–Resistant *Staphylococcus aureus* Prosthetic Joint Infections Managed With Implant Retention. *Clin Infect Dis*. 2013 Jan 15;56(2):182–94.
8. Cobo J, Miguel LGS, Euba G, Rodríguez D, García-Lechuz JM, Riera M, et al. Early prosthetic joint infection: outcomes with debridement and implant retention followed by antibiotic therapy. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011 Nov 1;17(11):1632–7.
9. Meehan AM, Osmon DR, Duffy MCT, Hanssen AD, Keating MR. Outcome of Penicillin-Susceptible Streptococcal Prosthetic Joint Infection Treated with Debridement and Retention of the Prosthesis. *Clin Infect Dis*. 2003 Apr 1;36(7):845–9.
10. Peel TN, Cheng AC, Buising KL, Choong PFM. Microbiological Aetiology, Epidemiology, and Clinical Profile of Prosthetic Joint Infections: Are Current Antibiotic Prophylaxis Guidelines Effective? *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Jan 5;56(5):2386–91.
11. Senneville E, Joulie D, Legout L, Valette M, Dezèque H, Beltrand E, et al. Outcome and Predictors of Treatment Failure in Total Hip/Knee Prosthetic Joint Infections Due to *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 2011 Aug 15;53(4):334–40.
12. Joulie D, Girard J, Mares O, Beltrand E, Legout L, Dezèque H, et al. Factors governing the healing of *Staphylococcus aureus* infections following hip and knee prosthesis implantation: A retrospective study of 95 patients. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*. 2011 Nov;97(7):685–92.
13. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm; 2017.
14. WHO. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014. 257 p. Available from: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
15. Li Z, Yu A. Diagnostic Value of a PCR-Based Technique for Prosthetic Joint Infection. *J Clin Microbiol*. 2014 Jun;52(6):2281–2.
16. Qu X, Zhai Z, Li H, Li H, Liu X, Zhu Z, et al. PCR-Based Diagnosis of Prosthetic Joint Infection. *J Clin Microbiol*. 2013 Aug;51(8):2742–6.
17. Fenollar F, Roux V, Stein A, Drancourt M, Raoult D. Analysis of 525 Samples To Determine the Usefulness of PCR Amplification and Sequencing of the 16S rRNA Gene for Diagnosis of Bone and Joint Infections. *J Clin Microbiol*. 2006 Jan 3;44(3):1018–28.
18. Bémer P, Plouzeau C, Tande D, Léger J, Giraudeau B, Valentin AS, et al. Evaluation of 16S rRNA Gene PCR Sensitivity and Specificity for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection: a Prospective Multicenter Cross-Sectional Study. *J Clin Microbiol*. 2014 Jan 10;52(10):3583–9.
19. Marin M, Garcia-Lechuz JM, Alonso P, Villanueva M, Alcalá L, Gimeno M, et al. The role of universal 16S rRNA gene PCR and sequencing in the diagnosis of prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol*. 2011 Dec 14;JCM.00170-11.

20. Panousis K, Grigoris P, Butcher I, Rana B, Reilly JH, Hamblen DL. Poor predictive value of broad-range PCR for the detection of arthroplasty infection in 92 cases. *Acta Orthopaedica*. 2005 Jan 1;76(3):341–6.
21. Achermann Y, Vogt M, Leunig M, Wüst J, Trampuz A. Improved Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection by Multiplex PCR of Sonication Fluid from Removed Implants. *J Clin Microbiol*. 2010 Jan 4;48(4):1208–14.
22. Metso L, Mäki M, Tissari P, Remes V, Piiparinen P, Kirveskari J, et al. Efficacy of a novel PCR- and microarray-based method in diagnosis of a prosthetic joint infection. *Acta Orthopaedica*. 2014 Apr 1;85(2):165–70.
23. Borde JP, Häcker GA, Guschl S, Serr A, Danner T, Hübner J, et al. Diagnosis of prosthetic joint infections using UMD-Universal Kit and the automated multiplex-PCR Unyvero i60 ITI® cartridge system: a pilot study. *Infection*. 2015 Oct 1;43(5):551–60.
24. Prieto-Borja L, Rodriguez-Sevilla G, Auñón A, Pérez-Jorge C, Sandoval E, Garcia-Cañete J, et al. Evaluation of a commercial multiplex PCR (Unyvero i60®) designed for the diagnosis of bone and joint infections using prosthetic-joint sonication. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica (English ed)*. 2017 Apr 1;35(4):236–42.
25. Malandain D, Bémer P, Leroy AG, Léger J, Plouzeau C, Valentin AS, et al. Assessment of the automated multiplex-PCR Unyvero i60 ITI® cartridge system to diagnose prosthetic joint infection: a multicentre study. *Clinical Microbiology and Infection*. 2018 Jan 1;24(1):83.e1-83.e6.
26. Lausmann C, Zahar A, Citak M, Brañes J, Schmidl S, Frommelt L, et al. Are There Benefits In Early Diagnosis Of Prosthetic Joint Infection With Multiplex Polymerase Chain Reaction? *J Bone Jt Infect*. 2017 Sep 28;2(4):175–83.
27. Morgenstern C, Cabric S, Perka C, Trampuz A, Renz N. Synovial fluid multiplex PCR is superior to culture for detection of low-virulent pathogens causing periprosthetic joint infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2018 Feb 1;90(2):115–9.
28. Gauduchon V, Chalabreysse L, Etienne J, Célard M, Benito Y, Lepidi H, et al. Molecular Diagnosis of Infective Endocarditis by PCR Amplification and Direct Sequencing of DNA from Valve Tissue. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003 Feb 1;41(2):763–6.
29. Villa F, Toscano M, De Vecchi E, Bortolin M, Drago L. Reliability of a multiplex PCR system for diagnosis of early and late prosthetic joint infections before and after broth enrichment. *International Journal of Medical Microbiology*. 2017 Sep 1;307(6):363–70.
30. Lafeuille E, Devriese F, Fourniols E, Jauréguiberry S, Aubry A. Apport du test moléculaire multiplex ITI G2 au diagnostic des infections ostéoarticulaires (IOA). *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2017 Jun 1;47(4, Supplement):S82.
31. Hischebeth GTR, Randau TM, Buhr JK, Wimmer MD, Hoerauf A, Molitor E, et al. Unyvero i60 implant and tissue infection (ITI) multiplex PCR system in diagnosing periprosthetic joint infection. *Journal of Microbiological Methods*. 2016 Feb 1;121:27–32.

32. Suda AJ, Tinelli M, Beisemann ND, Weil Y, Khoury A, Bischel OE. Diagnosis of periprosthetic joint infection using alpha-defensin test or multiplex-PCR: ideal diagnostic test still not found. *International Orthopaedics (SICOT)*. 2017 Jul 1;41(7):1307–13.
33. Zimmerli W, Waldvogel FA, Vaudaux P, Nydegger UE. Pathogenesis of Foreign Body Infection: Description and Characteristics of an Animal Model. *J Infect Dis*. 1982 Oct 1;146(4):487–97.
34. Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR, Mandrekar J, Steckelberg JM, Patel R. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *The American Journal of Medicine*. 2004 Oct 15;117(8):556–62.
35. Spangehl MJ, Masri BA, O'connell JX, Duncan CP. Prospective Analysis of Preoperative and Intraoperative Investigations for the Diagnosis of Infection at the Sites of Two Hundred and Two Revision Total Hip Arthroplasties. *JBJS*. 1999 May;81(5):672.
36. Valour F, Blanc-Pattin V, Freydière A-M, Bouaziz A, Chanard E, Lustig S, et al. Rapid detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistance in bone and joint infection samples: evaluation of the GeneXpert MRSA/SA SSTI assay. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2014 Mar 1;78(3):313–5.
37. Melendez DP, Greenwood-Quaintance KE, Berbari EF, Osmon DR, Mandrekar JN, Hanssen AD, et al. Evaluation of a Genus- and Group-Specific Rapid PCR Assay Panel on Synovial Fluid for Diagnosis of Prosthetic Knee Infection. *J Clin Microbiol*. 2016 Jan 1;54(1):120–6.
38. Monteix A. Preliminary evaluation of the development version of FilmArray BJI panel: a fast way for the detection of bacteria and fungi in bone and joint infections. Poster presented at; 2017 Apr 22; ECCMID.
39. Torres C, Oyangüez I, Prieto L, Rodriguez G, Esteban J. Costs analysis of PCR Unyvero™ i60-ITI technique for detecting microorganisms in patients with suspected chronic infection at musculoskeletal implants. *Value in Health*. 2015;18(7):A351.

Table S1 - Retrospective evaluation of the treatment modifications

Treatment modification	Patient n°	mPCR result	Final diagnosis about PJI	Retrospective evaluation of the changes	Evaluation of consequences severity
Beneficial therapeutic adaptation	1	Positive	Infected with <i>Staphylococcus epidermidis</i>	19 days benefit on the beginning of the surgical and antimicrobial treatment	
	2	Negative	Non infected	16 days benefit on the beginning of the anti-rheumatological therapy	
	7	Negative	Non infected	22 days benefit on the beginning of the surgical and antimicrobial adjustment	
	8	Negative	Non infected	16 days benefit on the stop of the antimicrobial therapy	
	20	Positive	Infected with <i>Staphylococcus aureus</i>	2 days benefit on antimicrobial adjustment	
	21bis	Positive	Infected with <i>Staphylococcus capitis</i>	17 days benefit on antimicrobial adjustment	
Erroneous therapeutic decision	3	Negative	Infected with <i>Cutibacterium acnes</i>	Premature stop of antimicrobial therapy (inefficacy on <i>Cutibacterium</i>)	Moderate
	9	Negative	Infected with <i>Candida albicans</i>	Inappropriate antimicrobial therapy (inefficacy on <i>Candida</i>) + scheduling of prosthesis re-implantation	Serious
	10	Positive	Infected with <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Finegoldia magna</i>	Inappropriate antimicrobial therapy (inefficacy on <i>Finegoldia</i>)	Moderate
	11	Positive	Non infected	Scheduling of unnecessary surgery (irrigation)	Serious
	13	Positive	Infected with <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> and <i>Klebsiella oxytoca</i>	Inappropriate antimicrobial therapy (inefficacy on <i>Klebsiella</i> and <i>Enterobacter</i>)	Low
	19	Positive	Infected with <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Cutibacterium acnes</i> and <i>Staphylococcus capitis</i>	Inappropriate antimicrobial therapy (inefficacy on <i>Cutibacterium</i>)	Moderate
No modification	6	Negative	Non infected	No adjustment	
	14	Negative	Non infected	No adjustment	
	15	Positive	Infected with <i>Staphylococcus aureus</i>	No adjustment	
	16	Positive	Infected with <i>Staphylococcus epidermidis</i>	No adjustment	
	17	Negative	Non infected	No adjustment	
	21	Negative	Infected with <i>Staphylococcus capitis</i>	No adjustment	
Not evaluable	4	Invalid	Infected with <i>Staphylococcus caprae</i>	Not evaluable	
	5	Invalid	Infected with <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Serratia marcescens</i>	Not evaluable	
	12	Invalid	Infected with <i>Staphylococcus aureus</i>	Not evaluable	
	18	Invalid and positive	Infected with <i>Granulicatella adjacens</i> , <i>Staphylococcus warneri</i> , <i>Peptoniphilus harei</i> and <i>Anaerococcus tetradius</i>	Not evaluable	

CONCLUSIONS

THÈSE SOUTENUE PAR : Claire RICHARME

TITRE : PERFORMANCES ANALYTIQUES ET IMPACT THERAPEUTIQUE DE LA PCR MULTIPLEX UNYVERO® ITI DANS LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES SUR MATERIEL

CONCLUSION :

Les infections ostéo-articulaires sur prothèse constituent une complication rare mais grave des chirurgies orthopédiques. Les méthodes diagnostiques actuelles, essentiellement basées sur l'isolement en culture des micro-organismes à partir de prélèvements per-opératoires, sont mal standardisées et manquent de sensibilité. Souvent décrites comme plus sensibles que la culture, les techniques moléculaires, basées sur la mise en évidence de l'ADN bactérien, sont en plein essor. La PCR multiplex Unyvero® est l'une des dernières solutions innovantes apparues sur le marché. Elle permet de détecter simultanément, dans un même échantillon, 85 agents pathogènes et 17 gènes de résistance aux antibiotiques. Le panel contient notamment des anaérobies comme *Cutibacterium acnes* et *Fingoldia magna*, des corynébactéries et des levures. Plusieurs études ont évalué les performances analytiques de cette PCR mais aucune n'a mesuré l'impact de cette nouvelle technique diagnostique sur la prise en charge des patients.

Ce travail avait pour objectif d'évaluer les performances diagnostiques de cette PCR et son impact dans la démarche thérapeutique (ajustement de l'antibiothérapie, prise en charge chirurgicale et médicale) des infections ostéo-articulaires sur matériel, dans le cadre d'une étude monocentrique non-interventionnelle réalisée entre novembre 2017 et juin 2018 au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes.

La rapidité de rendu des résultats constitue le réel atout de cette méthode diagnostique. En effet, cette technique ne nécessite que quelques minutes de manipulation technique et permet le rendu du résultat en 5 heures environ, contrairement à la culture standard, pour laquelle le délai de rendu définitif était de 20 jours en moyenne.

Notre étude a montré que la concordance entre les résultats de la PCR et ceux de la culture était de 67 %. La sensibilité était de 76 % et la spécificité de 86 %. Ces données sont en accord

avec la littérature. Certains auteurs ont pu montrer que le manque de sensibilité de la technique pouvait être expliqué par une mauvaise détection des faibles inocula bactériens. Les résultats discordants de l'étude sont en cours d'investigation.

Notre étude est la première à avoir évalué l'impact du résultat de la PCR multiplex Unyvero dans la prise en charge des patients suspects d'infection de matériel. Pour cela, un groupe d'experts (infectiologues, chirurgiens orthopédiques, microbiologistes) se réunissait *a posteriori*, pour évaluer la contribution potentielle de la PCR multiplex dans la prise en charge des patients à partir des données médicales et du résultat de la PCR. Sur les 18 résultats valides présentés au groupe d'experts, 6 auraient permis un gain de temps dans l'adaptation thérapeutique (allant de 2 à 22 jours), 6 auraient conduit à une prise en charge erronée (arrêt ou modification à tort de l'antibiothérapie ou de la prise en charge chirurgicale), et 6 n'auraient pas modifié la prise en charge. Quatre erreurs étaient liées à des discordances entre les résultats de la PCR et ceux de la culture. Ces discordances sont en cours d'investigation. Dans les 2 autres cas, l'erreur ne pouvait pas être imputée à la PCR car le diagnostic microbiologique était fait sur les prélèvements tissulaires per-opératoires, non analysés en PCR.

Au final, la PCR multiplex Unyvero apparaît comme un outil pertinent, simple à utiliser et rapide. Cette étude est en train d'être poursuivie afin de confirmer ces résultats sur un nombre plus important de patients et à terme d'évaluer l'impact médico-économique (durée d'hospitalisation, traitement antibiotique) de l'implémentation de ce kit de PCR dans la prise en charge des infections ostéo-articulaires sur matériel orthopédique.

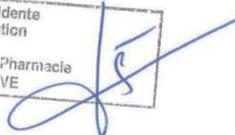
VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 28/08/18

LE DOYEN

Pr. Michel SÈVE

Pour la Présidente
et par délégation
Le Doyen de Pharmacie
Pr. Michel SEVE



LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Pr. Muriel CORNET



ANNEXES

DONNEES PATIENT					PCR UNYVERO				CYTOLOGIE & GRAM			CULTURES COURTES				CULTURES LONGUES		PCR COMPLEMENTAIRE			
Patient N°	Date de naissance	Sexe	Date des prélèvements	Articulation	Intitulé du prélèvement	Date de réalisation	Heure de réalisation	Résultat	Score	Aspect	Cytologie	Gram	Quantité germe	Résultat des cultures	Date de rendu	Date de rendu ATBg	Résultat des cultures	Date de rendu	PCR 16s	PCR spécifique	Date de réalisation
1	04/08/1940	F	04/10/2017	Genou	Liquide articulaire	05/10/2017	10h	SCN mecA+	1145	Purulent	10000 EB/mm3 (90% PN)	Absence de bactérie	AppEnr	S.epidermidis	11/10/2017	11/10/2017	Négatif à J15	23/10/2017			
					HOFFA							Absence de bactérie		Négatif à J5	11/10/2017		Négatif à J15	23/10/2017			
					Synovial genou D							Absence de bactérie	AppEnr	S.epidermidis	11/10/2017		Négatif à J15	23/10/2017			
					Contact de l'implant							Absence de bactérie	AppEnr	S.epidermidis	11/10/2017	11/10/2017	Négatif à J15	23/10/2017			
					Arrière du fémur							Absence de bactérie	AppEnr	S.epidermidis	11/10/2017		Négatif à J15	23/10/2017			
2	23/11/1952	F	10/10/2017	Genou	Liquide articulaire	11/10/2017	9h	Négatif		Coagulé	-	Absence de bactérie		Négatif à J5	16/10/2017		Négatif à J15	26/10/2017			
					Fibrose antérieure							Absence de bactérie		Négatif à J5	16/10/2017		Négatif à J15	26/10/2017			
					Fibrose postérieure							Absence de bactérie		Négatif à J5	16/10/2017		Négatif à J15	26/10/2017			
					Fibrose postérieure							Absence de bactérie		Négatif à J5	16/10/2017		Négatif à J15	26/10/2017			
3	11/02/1952	H	11/12/2017	Genou	Liquide articulaire	13/12/2017	10h	Négatif		Coagulé	-	Absence de bactérie		Négatif à J5	18/12/2017		Négatif à J15	03/01/2018			
					Liquide articulaire							Absence de bactérie		Négatif à J5	18/12/2017		Négatif à J15	28/12/2017			
					Synovial							Absence de bactérie		Négatif à J5	18/12/2017		Négatif à J15	28/12/2017			
					Synovial							Absence de bactérie		Négatif à J5	18/12/2017		Propionibacterium acnes	05/01/2018			
					Membrane							Absence de bactérie		Négatif à J5	18/12/2017		Négatif à J15	05/01/2018			
4	24/03/1938	H	05/01/2018	Genou	1 liquide articulaire (ponction)	05/01/2018		INVALIDE		Hémorragique	-	Absence de bactérie	AppEnr	S.caprae	11/01/2018		Négatif à J15	29/01/2018			
5	25/02/1947	H	08/01/2018	Genou	Liquide articulaire + 4 autres	09/01/2018		INVALIDE		Hémorragique	-	Nbx CGP	AN	S.aureus + S.marcescens	09/01/18 16/01/18	11/01/18 16/01/18	Négatif à J15	02/02/2018			
													AN	S.aureus	09/01/2018	11/01/2018	Négatif à J15	02/02/2018			
													N	S.aureus	09/01/2018		Négatif à J15	02/02/2018			
													AN	S.aureus + S.marcescens	09/01/18 16/01/18		Négatif à J15	02/02/2018			
													AN	S.aureus	09/01/2018		Négatif à J15	02/02/2018			
6	27/01/1961	H	09/01/2018	Hanche	Liquide articulaire	09/01/2018	13h	Négatif		Coagulé	-	Absence de bactérie		Négatif à J5	15/01/2018		Négatif à J15	29/01/2018			
					Membrane synoviale							Absence de bactérie		Négatif à J5	15/01/2018		Négatif à J15	29/01/2018			
					Capsule articulaire							Absence de bactérie		Négatif à J5	15/01/2018		Négatif à J15	29/01/2018			
					Fond de cotyle							Absence de bactérie		Négatif à J5	15/01/2018		Négatif à J15	29/01/2018			
					Fond de cotyle							Absence de bactérie		Négatif à J5	15/01/2018		Négatif à J15	29/01/2018			

7	24/08/1946	F	15/01/2018	Genou	Liquide articulaire	15/01/2018	18h	Négatif		Hémato-purulent	10000 (90% PN)	Absence de bactérie	Négatif à J5	22/01/2018		Négatif à J15	02/02/2018	Négative	14/02/2018						
					Pus PTG							Absence de bactérie								Négatif à J5	22/01/2018	Négatif à J15	02/02/2018	Négative	14/02/2018
					Biopsie au contact de la prothèse							Absence de bactérie								Négatif à J5	22/01/2018	Négatif à J15	02/02/2018		
					Biopsie au contact de la prothèse							Absence de bactérie								Négatif à J5	22/01/2018	<i>Staph warneri</i>	07/02/2018		
					Biopsie au contact de la prothèse							Absence de bactérie								Négatif à J5	22/01/2018	Négatif à J15	02/02/2018		
8	29/07/1956	F	23/01/2018	Genou	Liquide articulaire	23/01/2018	16h30	Négatif		Hémorragique	<5	Absence de bactérie	Négatif à J5	29/01/2018		Négatif à J15	08/02/2018								
					Biopsie synoviale							Absence de bactérie								Négatif à J5	29/01/2018	Négatif à J15	08/02/2018		
					Biopsie synoviale							Absence de bactérie								Négatif à J5	29/01/2018	Négatif à J15	08/02/2018		
					Centromédullaire fémur							Absence de bactérie								Négatif à J5	29/01/2018	Négatif à J15	08/02/2018		
					Centromédullaire tibia							Absence de bactérie								Négatif à J5	29/01/2018	Négatif à J15	08/02/2018		
					Membrane synoviale							Absence de bactérie								Négatif à J5	29/01/2018	Négatif à J15	08/02/2018	Négative	26/01/2018
9	28/04/1948	H	30/01/2018	Genou	1 liquide articulaire (ponction)	31/01/2018	15h30	Négatif		Hémorragique		Absence de bactérie	Négatif à J5	05/02/2018		<i>Candida albicans</i>	22/02/2018								
10	02/12/1929	F	02/02/2018	Hanche	Liquide articulaire	05/02/2018	12h	<i>S.aureus</i>	1218	Hémorragique		Absence de bactérie	AppEnr	<i>S.aureus</i>	05/02/2018	07/02/2018	-								
					Liquide articulaire							Absence de bactérie	AppEnr	<i>S.aureus</i>	07/02/2018		Négatif à J15	01/03/2018							
					Liquide articulaire							Absence de bactérie	Rares	<i>S.aureus</i>	05/02/2018		<i>Peptoniphilus harei</i>	01/03/2018							
					Membrane synoviale							Absence de bactérie	AppEnr	<i>S.aureus</i>	05/02/2018		<i>Finegoldia magna</i>	02/03/2018							
					Membrane synoviale							Absence de bactérie	Rares	<i>S.aureus</i>	05/02/2018		Négatif à J15	01/03/2018							
					Membrane synoviale							Absence de bactérie	Très rares	<i>S.aureus</i>	05/02/2018	06/02/2018	Négatif à J15	01/03/2018							
11	03/03/1972	H	29/03/2018	Genou	1 liquide articulaire (ponction)	29/03/2018	18h30	SCN	309	Hémorragique		Absence de bactérie	Négatif à J5	03/04/2018		Négatif à J15	18/04/2018	Négative	05/04/2018						
12	11/02/1928	F	15/04/2018	Genou	Liquide articulaire	15/04/2018	14h	INVALIDE		Hémorragique et purulent		N CGP Staph	<i>S.aureus</i>	18/04/2018		Négatif à J15	02/05/2018								
13	02/09/1949	H	29/04/2018	Cheville	1 liquide articulaire	30/04/2018	17h	<i>S.aureus</i> + SCN	<i>S.aureus</i> 969 + SCN 397	Coagulé		Qq CGP Staph	AN Apr Enr	<i>S.aureus</i> <i>E.cloacae</i>	03/05/18 09/05/18	03/05/18 14/05/18	Négatif à J15	18/05/2018							
					Biopsie contact plaque							N CGP	N	<i>S.aureus</i>	03/05/2018		Négatif à J15	18/05/2018							
					Biopsie contact plaque							N CGP	TN	<i>S.aureus</i>	03/05/2018		-								
					Biopsie contact plaque							Q CGP	N	<i>S.aureus</i>	03/05/2018		-								
					Biopsie contact plaque							Q CGP	N	<i>S.aureus</i>	03/05/2018		Négatif à J15	18/05/2018							
					Tissu (sans précision)							TN CGP	TN AprEnr AprEnr	<i>S.aureus</i> <i>K.oxytoca</i> <i>E.cloacae</i>	03/05/18 09/05/18 09/05/18	09/05/18 14/05/18 14/05/18	Négatif à J15	18/05/2018							
					Tissu (sans précision)							TN CGP	TN AprEnr AprEnr	<i>S.aureus</i> <i>K.oxytoca</i> <i>E.cloacae</i>	03/05/18 09/05/18 09/05/18	03/05/18 14/05/18 14/05/18	Négatif à J15	18/05/2018							

14	30/07/1947	H	04/05/2018	Genou	Liquide articulaire	04/05/2018	17h	Négatif		Hémorragique	540 EB/mm3 (93% PNN)	Absence de bactérie		Négatif à J5	09/05/2018		Négatif à J15	18/05/2018				
15	07/09/1937	H	05/05/2018	Genou	Liquide articulaire	09/05/2018	17h	S.aureus	1050	Hémorragique		Absence de bactérie	Q	SAMS	09/05/2018	09/05/2018	Négatif à J15	25/05/2018				
					Biopsie							N CGP Staph	Nx	SAMS	09/05/2018		Négatif à J15	25/05/2018				
					Biopsie							AN CGP Staph	Nx	SAMS	09/05/2018		Négatif à J15	25/05/2018				
					Biopsie							Q CGP Staph	Q	SAMS	09/05/2018		Négatif à J15	25/05/2018				
					Biopsie							Q BGP N CGP Staph	AN	SAMS	09/05/2018		Négatif à J15	25/05/2018				
					Biopsie							N CGP Staph	N	SAMS	09/05/2018	15/05/2018	Négatif à J15	25/05/2018				
16	21/03/1967	F	15/05/2018	Hanche	Liquide articulaire	15/05/2018	16h	SCN mecA+	2319	Hémorragique		Absence de bactérie	R	S.epidermidis	18/05/2018	18/05/2018	Négatif à J15	05/06/2018				
					Biopsie contact prothèse							Absence de bactérie	R	S.epidermidis	18/05/2018	18/05/2018	Négatif à J15	05/06/2018				
					Biopsie fond de cotyle							Absence de bactérie	TR	S.epidermidis	18/05/2018		Négatif à J15	05/06/2018				
					Fausse membrane fond cotyle							Absence de bactérie		Négatif à J5	23/05/2018		S.epidermidis	05/06/2018				
					Produit d'alésage cotyle							Absence de bactérie	TR	S.epidermidis	18/05/2018		Négatif à J15	05/06/2018				
17	29/07/1934	F	23/05/2018	Genou	1 liquide articulaire	24/05/2018	9h	Négatif				Absence de bactérie		Négatif à J5	28/05/2018		Négatif à J15	07/06/2018				
18	25/04/1937	H	22/05/2018	Genou	Liquide articulaire	23/05/2018	9h	SCN +Autres résultats invalides	384	Coagulé		Absence de bactérie		Négatif à J5	28/05/2018		Granulicatella adiacens	12/06/2018	Peptoniphilus harei		30/06/2018	
					Biopsie synoviale									Négatif à J5	28/05/2018		Négatif à J15	12/06/2018				
					Biopsie synoviale									Négatif à J5	28/05/2018		Granulicatella adiacens + S.warneri	12/06/2018				
					Interface									Négatif à J5	28/05/2018		Granulicatella adiacens	12/06/2018	Anaerococcus tetradicus		02/07/2018	
					Os									Négatif à J5	28/05/2018		Négatif à J15	12/06/2018				
19	29/02/1940	H	24/05/2018	Hanche	Liquide articulaire	24/05/2018	16h	SCN	1052	Coagulé		Absence de bactérie	AppEnr	S.epidermidis	05/06/2018	05/06/2018	S.epidermidis + Propioniacnes	22/06/2018				
					Fibrose							Absence de bactérie	TR	S.epidermidis	29/05/2018	05/06/2018	S.epidermidis + S.capitis	20/06/2018				
					Intra fémorale							Absence de bactérie	TR	S.epidermidis	29/05/2018	30/05/2018	S.epidermidis	21/06/2018				
					Intra fémorale							Absence de bactérie	R	S.epidermidis	29/05/2018		Négatif à J15	22/06/2018				
					Intra fémorale							Absence de bactérie	Q	S.epidermidis	29/05/2018		S.epidermidis	21/06/2018				
					Liquide sur flacon d'hémoc							Positif à CGP Staph		S.epidermidis	Morpho le 25/05	Id + ATB le 29/05	-					
					Fibrose							Absence de bactérie		Négatif à J5	30/05/2018		S.epidermidis	20/06/2018				

20	25/06/1952	F	31/05/2018	Genou	Liquide articulaire	01/06/2018	9h	S. aureus	652	Purulent	10000 EB/mm3 (100%PN)	Q CGP staph	AN	SAMS	02/06/2018	02/06/2018	Négatif à J15	19/06/2018			
					Biopsie synoviale							TR CGP	N	SAMS	04/06/2018		Négatif à J15	19/06/2018			
					Biopsie synoviale							R CGP	N	SAMS	04/06/2018		Négatif à J15	20/06/2018			
21	14/09/1945	F	28/05/2018	Genou	Liquide articulaire	29/05/2018	9h	Négatif		Hématique		Absence de bactérie	TR (3 colonies)	S. capitis	06/06/2018	06/06/2018	Négatif à J15	14/06/2018			
					Liquide sur flacon d'hémoc										Négatif	12/06/2018					
21bis	14/09/1945	F	19/06/2018	Genou	Liquide articulaire	19/06/2018	17h	SCN	381	Légèremt hématique	140 EB/mm3 (70% lympho)	Absence de bactérie		Négatif à J5	25/06/2018		Négatif à J15	06/07/2018			
					Liquide articulaire sur flacon d'hémoc							-		Négatif à J15	04/07/2018		-				
					Biopsie capsule							Absence de bactérie		Négatif à J5	25/06/2018		Négatif à J15	06/07/2018			
					Biopsie fémur							Absence de bactérie		Négatif à J5	25/06/2018		Négatif à J15	06/07/2018			
					Biopsie coupe tibiale							Absence de bactérie		Négatif à J5	25/06/2018		Négatif à J15	06/07/2018			
					Biopsie rotule							Absence de bactérie		Négatif à J5	25/06/2018		Négatif à J15	06/07/2018			
					Biopsie fémur							Absence de bactérie		Négatif à J5	25/06/2018		Négatif à J15	06/07/2018			
					Biopsie fémur							Absence de bactérie		Négatif à J5	25/06/2018		Négatif à J15	06/07/2018			

BIBLIOGRAPHIE

1. [En ligne]. HAS 2014; [cité le 8 févr 2018]. Disponible: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-03/rbp_recommandations_protheses_infectees_vd.pdf
2. Dumaine V, Jeanne L, Paul G, Eyrolle L, Salmon-Ceron D, Tomeno B, et al. Proposition d'un protocole de suivi des infections avérées de site opératoire en chirurgie orthopédique et traumatologique. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique*. 27 mars 2008;93(1):30-6.
3. Debarge R, Nicolle MC, Pinaroli A, Ait Si Selmi T, Neyret P. Infection du site opératoire après arthroplastie totale de genou: Taux observé après 923 interventions dans un centre formateur. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Réparatrice de l'Appareil Moteur*. 1 oct 2007;93(6):582-7.
4. Lecuire F, Gontier D, Carrere J, Giordano N, Rubini J, Basso M. Bilan de 10 ans de surveillance du taux d'infections du site opératoire dans un service d'orthopédie. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique*. 18 avr 2008;89(6):479-86.
5. Eveillard M, Mertl P, Tramier B, Eb F. Effectiveness of Gentamicin-Impregnated Cement in the Prevention of Deep Wound Infection After Primary Total Knee Arthroplasty. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. oct 2003;24(10):778-80.
6. Merrer J, Girou E, Lortat-Jacob A, Montravers P, Lucet J-C, Chirurgie G de R sur l'Antibioprophylaxie en. *Surgical Site Infection After Surgery to Repair Femoral Neck Fracture: A French Multicenter Retrospective Study*. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. oct 2007;28(10):1169-74.
7. Société Française de Microbiologie. Infections osseuses et articulaires. Dans: REMIC : Société Française de Microbiologie Ed. 2015. p. 285-93.
8. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DWM, Simpson H, Peto TEA, et al. Prospective Evaluation of Criteria for Microbiological Diagnosis of Prosthetic-Joint Infection at Revision Arthroplasty. *J Clin Microbiol*. 10 janv 1998;36(10):2932-9.
9. Spangehl MJ, Masri BA, O'connell JX, Duncan CP. Prospective Analysis of Preoperative and Intraoperative Investigations for the Diagnosis of Infection at the Sites of Two Hundred and Two Revision Total Hip Arthroplasties. *JBJS*. mai 1999;81(5):672.
10. Ghanem E, Parvizi J, Burnett RSJ, Sharkey PF, Keshavarzi N, Aggarwal A, et al. Cell Count and Differential of Aspirated Fluid in the Diagnosis of Infection at the Site of Total Knee Arthroplasty. *JBJS*. août 2008;90(8):1637.
11. Pandey R, Berendt AR, Athanasou NA, Group) (The OSIRIS Collaborative Study. Histological and microbiological findings in non-infected and infected revision arthroplasty tissues. *Arch Orth Traum Surg*. 1 oct 2000;120(10):570-4.

12. Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR, Mandrekar J, Steckelberg JM, Patel R. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *The American Journal of Medicine*. 15 oct 2004;117(8):556-62.
13. Tande AJ, Patel R. Prosthetic Joint Infection. *Clin Microbiol Rev*. 4 janv 2014;27(2):302-45.
14. ECN PILLY 2018. Infections ostéo-articulaires (IOA) de l'adulte et de l'enfant. Dans: *Maladies infectieuses et tropicales - Préparation ECN . ALINÉA Plus*. [En ligne]. [cité le 8 févr 2018]. Disponible: <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/ecn-pilly-2018/ecn-2018-ue6-153-nb.pdf>
15. [En ligne]. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF). Recommandations de pratique clinique - Infections ostéo-articulaires sur matériel (prothèse, implant, ostéo-synthèse); [cité le 9 mars 2018]. Disponible: http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/_documents/consensus/inf-osseuse-court.pdf
16. Murdoch DR, Roberts SA, Fowler VG, Shah MA, Taylor SL, Morris AJ, et al. Infection of Orthopedic Prostheses after Staphylococcus aureus Bacteremia. *Clin Infect Dis*. 15 févr 2001;32(4):647-9.
17. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science*. 21 mai 1999;284(5418):1318-22.
18. Gristina AG. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science*. 25 sept 1987;237(4822):1588-95.
19. Geipel U. Pathogenic organisms in hip joint infections. *Int J Med Sci*. 2 sept 2009;6(5):234-40.
20. Olson ME, Ruseska I, Costerton JW. Colonization of n-butyl-2-cyanoacrylate tissue adhesive by Staphylococcus epidermidis. *J Biomed Mater Res*. 1 juin 1988;22(6):485-95.
21. Sutherland IW. The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in Microbiology*. 1 mai 2001;9(5):222-7.
22. Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. Biofilm in Implant Infections: Its Production and Regulation. *The International Journal of Artificial Organs*. 1 nov 2005;28(11):1062-8.
23. Vuong C, Gerke C, Somerville GA, Fischer ER, Otto M. Quorum-Sensing Control of Biofilm Factors in Staphylococcus epidermidis. *J Infect Dis*. 1 sept 2003;188(5):706-18.
24. Anderl JN, Zahller J, Roe F, Stewart PS. Role of nutrient limitation and stationary-phase existence in Klebsiella pneumoniae biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*. avr 2003;47(4):1251-6.
25. Zimmerli W, Waldvogel FA, Vaudaux P, Nydegger UE. Pathogenesis of Foreign Body Infection: Description and Characteristics of an Animal Model. *J Infect Dis*. 1 oct 1982;146(4):487-97.
26. Proctor RA. Microbial Pathogenic Factors: Small-Colony Variants. 1 janv 2000;41-54.

27. Von CE, Proctor RA, Peters G. Staphylococcus aureus small colony variants: formation and clinical impact. *Int J Clin Pract Suppl.* déc 2000;(115):44-9.
28. Von CE. Staphylococcus aureus small colony variants: a challenge to microbiologists and clinicians. *Int J Antimicrob Agents.* juin 2008;31(6):507-10.
29. Melter O, Radojevič B. Small colony variants of Staphylococcus aureus--review. *Folia Microbiol (Praha).* nov 2010;55(6):548-58.
30. Proctor RA, von Eiff C, Kahl BC, Becker K, McNamara P, Herrmann M, et al. Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nature Reviews Microbiology.* avr 2006;4(4):295-305.
31. Sendi P, Rohrbach M, Graber P, Frei R, Ochsner PE, Zimmerli W. Staphylococcus aureus Small Colony Variants in Prosthetic Joint Infection. *Clin Infect Dis.* 15 oct 2006;43(8):961-7.
32. Zimmerli W, Sendi P. Pathogenesis of implant-associated infection: the role of the host. *Semin Immunopathol.* 1 mai 2011;33(3):295-306.
33. Bernard L, Vaudaux P, Merle C, Stern R, Huggler E, Lew D, et al. The inhibition of neutrophil antibacterial activity by ultra-high molecular weight polyethylene particles. *Biomaterials.* 1 sept 2005;26(27):5552-7.
34. Tsukayama DT, Estrada R, Gustilo RB. Infection after Total Hip Arthroplasty.: A Study of the Treatment of One Hundred and Six Infections. *JBJs.* avr 1996;78(4):512.
35. Moran E, Masters S, Berendt AR, McLardy-Smith P, Byren I, Atkins BL. Guiding empirical antibiotic therapy in orthopaedics: The microbiology of prosthetic joint infection managed by debridement, irrigation and prosthesis retention. *Journal of Infection.* 1 juill 2007;55(1):1-7.
36. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm; 2017.
37. INVS Santé Publique France. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) France - Synthèse 2015 [En ligne]. nov 2016. Disponible: <http://invs.santepubliquefrance.fr//Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Resistance-aux-anti-infectieux/Contexte-enjeux-et-dispositif-de-surveillance/Reseaux-et-partenaires/EARS-Net-France-Synthese-2015>
38. García-Álvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, Curran MD, et al. Meticillin-resistant Staphylococcus aureus with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *The Lancet Infectious Diseases.* 1 août 2011;11(8):595-603.
39. Peel TN, Cheng AC, Choong PFM, Buising KL. Early onset prosthetic hip and knee joint infection: treatment and outcomes in Victoria, Australia. *Journal of Hospital Infection.* 1 déc 2012;82(4):248-53.

40. Grammatico-Guillon L. Surveillance hospitalière des infections ostéoarticulaires en France: analyse des données médico-administratives. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*. 5 févr 2013;39-44.
41. Klouche S, Sariali E, Mamoudy P. Total hip arthroplasty revision due to infection: A cost analysis approach. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*. 1 avr 2010;96(2):124-32.
42. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Valle CJD, et al. New Definition for Periprosthetic Joint Infection: From the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clin Orthop Relat Res*. 1 nov 2011;469(11):2992.
43. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, et al. Diagnosis and Management of Prosthetic Joint Infection: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 1 janv 2013;56(1):e1-25.
44. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-Joint Infections. *New England Journal of Medicine*. 14 oct 2004;351(16):1645-54.
45. Shih LY, Wu JJ, Yang DJ. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein values in patients with total hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. déc 1987;(225):238-46.
46. Trampuz A, Zimmerli W. Prosthetic joint infections: update in diagnosis and treatment. *Swiss Med Wkly*. 30 avr 2005;135(17-18):243-51.
47. Morgenstern C, Cabric S, Perka C, Trampuz A, Renz N. Synovial fluid multiplex PCR is superior to culture for detection of low-virulent pathogens causing periprosthetic joint infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 1 févr 2018;90(2):115-9.
48. Cuñé J, Soriano A, Martínez JC, García S, Mensa J. A Superficial Swab Culture is Useful for Microbiologic Diagnosis in Acute Prosthetic Joint Infections. *Clin Orthop Relat Res*. févr 2009;467(2):531-5.
49. Mackowiak PA, Jones SR, Smith JW. Diagnostic Value of Sinus-tract Cultures in Chronic Osteomyelitis. *JAMA*. 30 juin 1978;239(26).
50. Trampuz A, Steckelberg JM, Osmon DR, Cockerill FR, Hanssen AD, Patel R. Advances in the laboratory diagnosis of prosthetic joint infection. *Rev Med Microbiol*. janv 2003;14(1):1-14.
51. Ghanem E, Ketonis C, Restrepo C, Joshi A, Barrack R, Parvizi J. Periprosthetic infection: where do we stand with regard to Gram stain? *Acta Orthopaedica*. 1 janv 2009;80(1):37-40.
52. Schäfer P, Fink B, Sandow D, Margull A, Berger I, Frommelt L. Prolonged Bacterial Culture to Identify Late Periprosthetic Joint Infection: A Promising Strategy. *Clin Infect Dis*. 1 déc 2008;47(11):1403-9.
53. Teissier G. Apport du broyage mécanique des prélèvements per-opératoires et de la PCR pan-bactérienne dans le diagnostic des infections de prothèse articulaire de hanche et de genou [Thèse d'exercice]. 2013.

54. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection. *New England Journal of Medicine*. 16 août 2007;357(7):654-63.
55. Esteban J, Gomez-Barrena E, Cordero J, Martín-de-Hijas NZ, Kinnari TJ, Fernandez-Roblas R. Evaluation of Quantitative Analysis of Cultures from Sonicated Retrieved Orthopedic Implants in Diagnosis of Orthopedic Infection. *J Clin Microbiol*. 2 janv 2008;46(2):488-92.
56. Font-Vizcarra L, García S, Martínez-Pastor JC, Sierra JM, Soriano A. Blood Culture Flasks for Culturing Synovial Fluid in Prosthetic Joint Infections. *Clin Orthop Relat Res*. 1 août 2010;468(8):2238-43.
57. Berbari EF, Marculescu C, Sia I, Lahr BD, Hanssen AD, Steckelberg JM, et al. Culture-Negative Prosthetic Joint Infection. *Clin Infect Dis*. 1 nov 2007;45(9):1113-9.
58. Li Z, Yu A. Diagnostic Value of a PCR-Based Technique for Prosthetic Joint Infection. *J Clin Microbiol*. juin 2014;52(6):2281-2.
59. Qu X, Zhai Z, Li H, Li H, Liu X, Zhu Z, et al. PCR-Based Diagnosis of Prosthetic Joint Infection. *J Clin Microbiol*. août 2013;51(8):2742-6.
60. Fenollar F, Roux V, Stein A, Drancourt M, Raoult D. Analysis of 525 Samples To Determine the Usefulness of PCR Amplification and Sequencing of the 16S rRNA Gene for Diagnosis of Bone and Joint Infections. *J Clin Microbiol*. 3 janv 2006;44(3):1018-28.
61. Bémer P, Plouzeau C, Tande D, Léger J, Giraudeau B, Valentin AS, et al. Evaluation of 16S rRNA Gene PCR Sensitivity and Specificity for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection: a Prospective Multicenter Cross-Sectional Study. *J Clin Microbiol*. 10 janv 2014;52(10):3583-9.
62. Marin M, Garcia-Lechuz JM, Alonso P, Villanueva M, Alcalá L, Gimeno M, et al. The role of universal 16S rRNA gene PCR and sequencing in the diagnosis of prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol*. 14 déc 2011;JCM.00170-11.
63. Panousis K, Grigoris P, Butcher I, Rana B, Reilly JH, Hamblen DL. Poor predictive value of broad-range PCR for the detection of arthroplasty infection in 92 cases. *Acta Orthopaedica*. 1 janv 2005;76(3):341-6.
64. Fihman V, Hannouche D, Bousson V, Bardin T, Lioté F, Raskine L, et al. Improved diagnosis specificity in bone and joint infections using molecular techniques. *J Infect*. déc 2007;55(6):510-7.
65. Zegaer BH, Ioannidis A, Babis GC, Ioannidou V, Kossyvakis A, Bersimis S, et al. Detection of Bacteria Bearing Resistant Biofilm Forms, by Using the Universal and Specific PCR is Still Unhelpful in the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infections. *Front Med*. 2014;1:1-8.
66. Tunney MM, Patrick S, Curran MD, Ramage G, Hanna D, Nixon JR, et al. Detection of Prosthetic Hip Infection at Revision Arthroplasty by Immunofluorescence Microscopy and PCR Amplification of the Bacterial 16S rRNA Gene. *J Clin Microbiol*. 10 janv 1999;37(10):3281-90.

67. Valour F, Blanc-Pattin V, Freydière A-M, Bouaziz A, Chanard E, Lustig S, et al. Rapid detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistance in bone and joint infection samples: evaluation of the GeneXpert MRSA/SA SSTI assay. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 1 mars 2014;78(3):313-5.
68. Titécat M, Loïez C, Senneville E, Wallet F, Dezèque H, Legout L, et al. Evaluation of rapid *mecA* gene detection versus standard culture in staphylococcal chronic prosthetic joint infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 1 août 2012;73(4):318-21.
69. Dubouix-Bourandy A, Ladoucette A de, Pietri V, Mehdi N, Benzaquen D, Guinand R, et al. Direct Detection of *Staphylococcus Osteoarticular Infections* by Use of Xpert MRSA/SA SSTI Real-Time PCR. *J Clin Microbiol*. 12 janv 2011;49(12):4225-30.
70. Melendez DP, Greenwood-Quaintance KE, Berbari EF, Osmon DR, Mandrekar JN, Hanssen AD, et al. Evaluation of a Genus- and Group-Specific Rapid PCR Assay Panel on Synovial Fluid for Diagnosis of Prosthetic Knee Infection. *J Clin Microbiol*. 1 janv 2016;54(1):120-6.
71. Cazanave C, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen AD, Karau MJ, Schmidt SM, Urena EOG, et al. Rapid Molecular Microbiologic Diagnosis of Prosthetic Joint Infection. *J Clin Microbiol*. 7 janv 2013;51(7):2280-7.
72. Achermann Y, Vogt M, Leunig M, Wüst J, Trampuz A. Improved Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection by Multiplex PCR of Sonication Fluid from Removed Implants. *J Clin Microbiol*. 4 janv 2010;48(4):1208-14.
73. Portillo ME, Salvadó M, Sorli L, Alier A, Martínez S, Trampuz A, et al. Multiplex PCR of sonication fluid accurately differentiates between prosthetic joint infection and aseptic failure. *Journal of Infection*. 1 déc 2012;65(6):541-8.
74. Esteban J, Alonso-Rodriguez N, del-Prado G, Ortiz-Pérez A, Molina-Manso D, Cordero-Ampuero J, et al. PCR-hybridization after sonication improves diagnosis of implant-related infection. *Acta Orthopaedica*. 1 juin 2012;83(3):299-304.
75. Metso L, Mäki M, Tissari P, Remes V, Piiparinen P, Kirveskari J, et al. Efficacy of a novel PCR- and microarray-based method in diagnosis of a prosthetic joint infection. *Acta Orthopaedica*. 1 avr 2014;85(2):165-70.
76. Monteix A. Preliminary evaluation of the development version of FilmArray BJI panel: a fast way for the detection of bacteria and fungi in bone and joint infections. *ECCMID*; 2017.
77. [En ligne]. Prove-it® Bone&Joint assay presentation; [cité le 29 juin 2018]. Disponible: <http://www.isogen-lifescience.com/molecular-diagnostics/bonejoint>
78. Hischebeth GTR, Randau TM, Buhr JK, Wimmer MD, Hoerauf A, Molitor E, et al. Unyvero i60 implant and tissue infection (ITI) multiplex PCR system in diagnosing periprosthetic joint infection. *Journal of Microbiological Methods*. 1 févr 2016;121:27-32.
79. Villa F, Toscano M, De Vecchi E, Bortolin M, Drago L. Reliability of a multiplex PCR system for diagnosis of early and late prosthetic joint infections before and after broth enrichment. *International Journal of Medical Microbiology*. 1 sept 2017;307(6):363-70.

80. Suda AJ, Tinelli M, Beisemann ND, Weil Y, Khoury A, Bischel OE. Diagnosis of periprosthetic joint infection using alpha-defensin test or multiplex-PCR: ideal diagnostic test still not found. *International Orthopaedics (SICOT)*. 1 juill 2017;41(7):1307-13.
81. Lausmann C, Zahar A, Citak M, Brañes J, Schmidl S, Frommelt L, et al. Are There Benefits In Early Diagnosis Of Prosthetic Joint Infection With Multiplex Polymerase Chain Reaction? *J Bone Jt Infect*. 28 sept 2017;2(4):175-83.
82. Prieto-Borja L, Rodriguez-Sevilla G, Auñon A, Pérez-Jorge C, Sandoval E, Garcia-Cañete J, et al. Evaluation of a commercial multiplex PCR (Unyvero i60®) designed for the diagnosis of bone and joint infections using prosthetic-joint sonication. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica (English ed)*. 1 avr 2017;35(4):236-42.
83. Renz N, Feihl S, Cabric S, Trampuz A. Performance of automated multiplex PCR using sonication fluid for diagnosis of periprosthetic joint infection: a prospective cohort. *Infection*. 1 déc 2017;45(6):877-84.
84. Borde JP, Häcker GA, Guschl S, Serr A, Danner T, Hübner J, et al. Diagnosis of prosthetic joint infections using UMD-Universal Kit and the automated multiplex-PCR Unyvero i60 ITI® cartridge system: a pilot study. *Infection*. 1 oct 2015;43(5):551-60.
85. Malandain D, Bémer P, Leroy AG, Léger J, Plouzeau C, Valentin AS, et al. Assessment of the automated multiplex-PCR Unyvero i60 ITI® cartridge system to diagnose prosthetic joint infection: a multicentre study. *Clinical Microbiology and Infection*. 1 janv 2018;24(1):83.e1-83.e6.
86. Lafeuille E, Devriese F, Fourniols E, Jauréguiberry S, Aubry A. Apport du test moléculaire multiplex ITI G2 au diagnostic des infections ostéoarticulaires (IOA). *Médecine et Maladies Infectieuses*. 1 juin 2017;47(4, Supplement):S82.
87. Torres C, Oyagüez I, Prieto L, Rodriguez G, Esteban J. Costs analysis of PCR Unyvero™ i60-ITI technique for detecting microorganisms in patients with suspected chronic infection at musculoskeletal implants. *Value in Health*. 2015;18(7):A351.
88. Drago L, Romanò CL, Mattina R, Signori V, De Vecchi E. Does Dithiothreitol Improve Bacterial Detection from Infected Prostheses? A Pilot Study. *Clin Orthop Relat Res*. oct 2012;470(10):2915-25.
89. Cobo J, Miguel LGS, Euba G, Rodríguez D, García-Lechuz JM, Riera M, et al. Early prosthetic joint infection: outcomes with debridement and implant retention followed by antibiotic therapy. *Clinical Microbiology and Infection*. 1 nov 2011;17(11):1632-7.
90. Meehan AM, Osmon DR, Duffy MCT, Hanssen AD, Keating MR. Outcome of Penicillin-Susceptible Streptococcal Prosthetic Joint Infection Treated with Debridement and Retention of the Prosthesis. *Clin Infect Dis*. 1 avr 2003;36(7):845-9.
91. Lora-Tamayo J, Murillo O, Iribarren JA, Soriano A, Sánchez-Somolinos M, Baraia-Etxaburu JM, et al. A Large Multicenter Study of Methicillin-Susceptible and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Prosthetic Joint Infections Managed With Implant Retention. *Clin Infect Dis*. 15 janv 2013;56(2):182-94.

92. Romanò CL, Manzi G, Logoluso N, Romanò D. Value of debridement and irrigation for the treatment of peri-prosthetic infections. A systematic review. *Hip Int.* août 2012;22 Suppl 8:S19-24.
93. Senneville E, Joulie D, Legout L, Valette M, Dezèque H, Beltrand E, et al. Outcome and Predictors of Treatment Failure in Total Hip/Knee Prosthetic Joint Infections Due to *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 15 août 2011;53(4):334-40.
94. Joulie D, Girard J, Mares O, Beltrand E, Legout L, Dezèque H, et al. Factors governing the healing of *Staphylococcus aureus* infections following hip and knee prosthesis implantation: A retrospective study of 95 patients. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research.* nov 2011;97(7):685-92.
95. Smith K, Perez A, Ramage G, Gemmell CG, Lang S. Comparison of biofilm-associated cell survival following in vitro exposure of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms to the antibiotics clindamycin, daptomycin, linezolid, tigecycline and vancomycin. *International Journal of Antimicrobial Agents.* avr 2009;33(4):374-8.
96. Liang SY, Khair HN, McDonald JR, Babcock HM, Marschall J. Daptomycin versus vancomycin for osteoarticular infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a nested case-control study. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* avr 2014;33(4):659-64.
97. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, Coenye T, Donelli G, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clinical Microbiology and Infection.* mai 2015;21:S1-25.
98. Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Adults and Children. *Clin Infect Dis.* 1 févr 2011;52(3):e18-55.
99. Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. *Clostridium difficile* Colitis. *New England Journal of Medicine.* 27 janv 1994;330(4):257-62.



Serment de Galien



« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

Auteur : Claire RICCHARME

Titre : PERFORMANCES ANALYTIQUES ET IMPACT THERAPEUTIQUE DE LA PCR MULTIPLEX UNYVERO® ITI DANS LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES SUR MATERIEL

RÉSUMÉ : Les méthodes actuelles de diagnostic des infections ostéo-articulaires (IOA) sur matériel, basées sur la culture bactérienne standard, présentent parfois des défauts de sensibilité et le délai d'obtention du résultat est souvent long. Les méthodes de biologie moléculaire constituent une alternative diagnostique rapide. Le but de cette étude a été d'évaluer les performances analytiques du kit de PCR multiplex Unyvero® ITI, et de mesurer son impact sur la prise en charge des patients.

Une étude prospective non-interventionnelle monocentrique a permis d'inclure 21 patients suspects d'infection sur matériel. La PCR Unyvero® était réalisée en parallèle de la culture sur les liquides articulaires. Un groupe d'experts se réunissait a posteriori, pour évaluer la contribution potentielle de la PCR dans la prise en charge des patients.

Parmi les 22 échantillons analysés, 9 étaient stériles en culture et 13 étaient positifs. La concordance entre les résultats de la PCR et ceux de la culture était de 67 %. La sensibilité était de 73 % et la spécificité de 86 %. Parmi les 18 résultats valides présentés au groupe d'experts, 6 auraient permis un gain de temps dans l'adaptation thérapeutique (allant de 2 à 22 jours), 6 auraient conduit à une adaptation thérapeutique erronée (arrêt ou modification à tort de l'antibiothérapie ou de la prise en charge chirurgicale) et 6 n'auraient pas modifié la prise en charge. Le temps moyen de rendu de la PCR était de 23 heures contre 20 jours en moyenne pour la culture.

La rapidité de rendu des résultats constitue le réel atout de cette méthode diagnostique. L'évaluation de son impact médico-économique dans la prise en charge des IOA est en cours d'étude.

MOTS CLÉS : Infections ostéo-articulaires, PCR multiplex, Unyvero, impact thérapeutique

FILIÈRE : Biologie médicale