



HAL
open science

Impact d'un changement de protocole de mise en culture pour le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires sur prothèse au CHU de Caen

Aurélian Piquery

► To cite this version:

Aurélian Piquery. Impact d'un changement de protocole de mise en culture pour le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires sur prothèse au CHU de Caen. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03610907

HAL Id: dumas-03610907

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03610907v1>

Submitted on 16 Mar 2022

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.



THESE

(Spécialité DES Biologie Médicale)

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 2019

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Impact d'un changement de protocole de mise en culture pour le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires sur prothèse au CHU de Caen

Présentée par

Aurélian PIQUERY

Soutenue publiquement le 28 septembre 2021 devant le jury composé de

M. Jean-Christophe GIARD	Professeur des Universités UFR Santé – Université de Caen Normandie	Président du jury
Mme Damasie MALANDAIN	Docteur en Biologie Médicale Microbiologie CHU de Caen	Examineur
M. Christophe ISNARD	Docteur en Biologie Médicale Microbiologie CHU de Caen Maitre de Conférence des Universités UFR Santé – Université de Caen Normandie	Examineur
M. Jocelyn MICHON	Médecin Infectiologue CHU de Caen	Examineur
M. Goulven ROCHONGAR	Chirurgien orthopédiste CHU de Caen	Examineur

Thèse dirigée par le Dr Damasie MALANDAIN

LISTE DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS

Directeur de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques

Professeur Michel BOULOUARD

Assesseurs

Professeur Pascale SCHUMANN-BARD

Professeur Anne-Sophie VOISIN-CHIRET

Directrice administrative

Madame Sarah CHEMTOB

Directrice administrative adjointe

Madame Emmanuelle BOURDON

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

BOULOUARD Michel	Physiologie, Pharmacologie
BUREAU Ronan	Biophysique, Chémoinformatique
COLLOT Valérie	Pharmacognosie
DALLEMAGNE Patrick	Chimie médicinale
DAUPHIN François	Physiologie, Pharmacologie
DELEPEE Raphaël	Chimie analytique
FABIS Frédéric	Chimie organique
FRERET Thomas	Physiologie, Pharmacologie
GARON David	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
GIARD Jean-Christophe	Bactériologie, Virologie
MALZERT-FREON Aurélie	Pharmacie galénique
ROCHAIS Christophe	Chimie organique
SCHUMANN-BARD Pascale	Physiologie, Pharmacologie
SICHEL François	Toxicologie

SOPKOVA Jana..... Biophysique, Drug design

VOISIN-CHIRET Anne-Sophie Chimie médicinale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

ANDRE Véronique – HDR..... Biochimie, Toxicologie

BOUET Valentine – HDR Physiologie, Pharmacologie

CAILLY Thomas – HDR Chimie bio-inorganique, Chimie organique

DENOYELLE Christophe – HDR..... Biologie cellulaire et moléculaire,
Biochimie, Cancérologie

DHALLUIN Anne Bactériologie, Virologie, Immunologie

ELDIN de PECOULAS Philippe – HDR Parasitologie, Mycologie médicale

GROO Anne-Claire Pharmacie galénique

KIEFFER Charline..... Chimie médicinale

KRIEGER Sophie (Praticien hospitalier) – **HDR** Biologie clinique

LAPORTE-WOJCIK Catherine Chimie bio-inorganique

LEBAILLY Pierre – HDR..... Santé publique

LECHEVREL Mathilde – HDR Toxicologie

LEGER Marianne..... Physiologie, Pharmacologie

LEPAILLEUR Alban – HDR Modélisation moléculaire

N'DIAYE Monique Parasitologie, Mycologie médicale,
Biochimie clinique

PAIZANIS Eleni..... Physiologie, Pharmacologie

POTTIER Ivannah Chimie et toxicologie analytiques

PREVOST Virginie – HDR..... Chimie analytique, Nutrition, Education
thérapeutique du patient

QUINTIN Jérôme..... Pharmacognosie

RIOULT Jean-Philippe Botanique, Mycologie, Biotechnologies

SAINT-LORANT Guillaume (Praticien hospitalier)..... Pharmacie clinique

SINCE Marc Chimie analytique

VILLEDIEU Marie – HDR Biologie et thérapies innovantes des cancers

PROFESSEUR AGREGÉ (PRAG)

PRICOT Sophie..... Anglais

PERSONNEL ASSOCIÉ A TEMPS PARTIEL (PAST)

SEDILLO Patrick Pharmacie officinale

SEGONZAC Virginie Pharmacie officinale

Enseignants titulaires du Diplôme d’Etat de Docteur en Pharmacie

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier grandement ma directrice de thèse, le Dr MALANDAIN Damasie, pour toute son aide. Je suis ravi d'avoir travaillé en sa compagnie car outre son appui scientifique, elle a toujours été là pour me soutenir et me conseiller au cours de l'élaboration de cette thèse.

J'adresse tous mes remerciements à M. GIARD Jean-Christophe, Professeur à l'Université de Caen, de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être président du jury de cette thèse.

Je tiens à remercier le Dr ISNARD Christophe pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse, pour sa participation scientifique ainsi que le temps qu'il a consacré à ma formation.

Je remercie également les Dr MICHON Jocelyn et ROCHCONGAR Goulven pour l'honneur qu'ils me font de faire partie de mon jury de thèse

Je remercie toutes les personnes avec qui j'ai partagé mes études et notamment ces années de thèse.

À tous les copains de la Boséteam avec qui nous nous sommes suivis durant toutes nos années d'études (et redoublements).

À l'équipe des ateliers de Rungeal sans qui je n'aurais jamais eu ce concours.

À mes co-internes, sans qui mes cafés auraient eu une autre saveur avec une mention spéciale pour Hugo et Charlie qui reconnaîtront sûrement un jour que c'était la partie pédalo qui prenait le plus de temps, pas la partie canard.

À ma famille, merci pour votre soutien, un jour peut-être vous saurez ce que je fais exactement.

À mes parents et ma sœur qui m'ont toujours soutenu et supporté pendant toutes ces années d'études, vous êtes géniaux.

À ma belle-famille, merci de m'avoir accueilli parmi vous avec autant de gentillesse.

À Rosita, dont les ronronnements m'ont permis de décompresser dans mes séances d'écriture de thèse.

À Ingrid, merci d'être à mes côtés depuis presque 10 ans. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour pour toi.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	12
PARTIE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES IOAP.....	14
I. LES INFECTIONS OSTÉO-ARTICULAIRES.....	14
1. <i>Définition</i>	14
2. <i>Ostéites natives</i>	16
a. Arthrite septique.....	16
b. Ostéomyélite.....	17
c. Infection de pied diabétique.....	18
d. Spondylodiscite.....	18
3. <i>Les Infections Ostéo-Articulaires Complexes (IOAC)</i>	19
II. LES IOAP.....	21
1. <i>Incidence et épidémiologie des IOAP</i>	21
2. <i>Facteurs de risque</i>	22
3. <i>Classification et Physiopathologie</i>	22
4. <i>Particularités des IOAP</i>	24
a. Agents pathogènes incriminées.....	24
b. Mécanismes de persistance bactériens : Biofilm et Small Colony Variant (SCV).....	26
5. <i>Traitement des IOAP</i>	28
III. DIAGNOSTIC DES IOAP.....	30
1. <i>Clinique</i>	30
2. <i>Imagerie</i>	31
3. <i>Histologique</i>	31
4. <i>Biologique</i>	32
5. <i>Microbiologique</i>	34
a. Pré-analytique.....	34
b. Analytique.....	35
Examen microscopique.....	35
Prétraitement du prélèvement avant culture.....	36
Culture microbiologique.....	37
c. Interprétation des résultats microbiologiques.....	41
6. <i>Autres méthodes de diagnostic microbiologique</i>	43
a. PCR spécifiques.....	43
b. PCR multiplex.....	43
c. Séquençage Nouvelle Génération.....	44

PARTIE 2 : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE	46
I. OBJECTIF DE L'ÉTUDE	46
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES	46
1. <i>Caractéristiques des prélèvements sélectionnés pour l'étude</i>	46
2. <i>Cultures microbiologiques</i>	47
a. Avant le changement de méthode.....	47
b. Après le changement de méthode.....	47
III. RÉSULTATS.....	49
1. <i>Avant le changement de méthode</i>	49
a. Statistiques générales	49
b. IOAP de Hanche : Écologie bactérienne et concordance du critère microbiologique au diagnostic.....	50
c. IOAP de Genou : Écologie bactérienne et concordance du critère microbiologique au diagnostic.....	51
2. <i>Après le changement de méthode</i>	51
a. Statistiques générales	52
b. IOAP de Hanche : Écologie bactérienne et concordance du critère microbiologique au diagnostic.....	53
c. IOAP de Genou : Écologie bactérienne et concordance du critère microbiologique au diagnostic.....	53
3. <i>Coût du changement de protocole d'ensemencement</i>	54
CONCLUSION – DISCUSSION	55
BIBLIOGRAPHIE	61

Liste des abréviations

IOAP : Infection Ostéo-articulaire sur Prothèse

IAS : Infection Associée aux Soins

CRIOGO : Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

IOA : Infection Ostéo-Articulaire

VIH : Virus de l'immunodéficience Humaine

PR : Polyarthrite Rhumatoïde

IOAM : Infection Ostéo-articulaire sur Matériel

SCN : Staphylocoque à Coagulase Négative

IOAC : Infection Ostéo-Articulaire Complexe

RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

CRIOAC : Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes

PTH : Prothèse Totale de Hanche

PTG : Prothèse Totale de Genou

HAS : Haute Autorité de Santé

ISO : Infections du Site Opératoire

BGN : Bacille Gram Négatif

PNN : Polynucléaire Neutrophile

MSCRAMM : Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules

CHIPS : Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus aureus*

CC : Complexe Clonal

SCV : Small Colony Variant

PGA : Polyglucosamine

PNAG : Polymère de β -1,6-N-acétyl-D-glucosamine

di-GMPc : diguanylate Mono-Phosphate Cyclase

P : Pourcentage de concentration os/sérum

TDM : Tomodensitomètre

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

VPP : Valeur Prédictive Positive

VPN : Valeur Prédictive Négative

CRP : Protéine C Réactive

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

MSIS : MuskuloSkeletal Infection Society

REMIC : Référentiel en Microbiologie Médicale

PSMII : Poste de Sécurité Microbiologique de type II

ED : Examen Direct

SPILF : Société Française de Pathologie Infectieuse en Langue Française

IDSA: Infectious Disease Society of America

PCR : Polymerase Chain Reaction

ADN : Acide Désoxyribonucléique

MRSA : Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

NGS: Next Generation Sequencing

ARN: Acide RiboNucléique

SBS : Sequencing By Synthesis

DIM : Département de l'Information Médicale

BCP : BromoCrésol Pourpre

Liste des Figures

Figure 1 - IOA natives versus IOA sur matériel (IOAM) – Schéma réalisé sur VisibleBody®	15
Figure 2 - Coupe sagittale d'un os long – Schéma fait sur VisibleBody®.....	17
Figure 3 - Réseau des CRIOAC 2017-2022.....	20
Figure 4 - Développement et structure d'un biofilm bactérien - D'après David Lebeaux et Jean-Marc Ghigo (35).....	26
Figure 5 - Passage entre les modes de vie planctonique et biofilm, d'après (35).....	28
Figure 7 - Milieux utilisés avant et après changement de méthode.....	48
Figure 8 - Flow chart des prélèvements traités au laboratoire de Microbiologie avant changement de méthode.....	49
Figure 9 - Écologie des IOAP de hanche.....	50
Figure 10 - Écologie des IOAP de genou.....	51
Figure 11 - Flow chart des prélèvements traités au laboratoire de Microbiologie après changement de méthode.....	52
Figure 12 - Écologie des IOAP de hanche.....	53

Liste des Tableaux

Tableau 1 - Bactéries incriminées dans les arthrites septiques en fonction de leur porte d'entrée	16
Tableau 2 - Facteurs de risque d'IOAP	22
Tableau 3 - Classification des IOAP en fonction de leur délai de survenue, d'après Zimmerli et al. (17).....	22
Tableau 4 - Classification de Tsukayama, d'après (18).....	23
Tableau 5 - Pénétration osseuse des antibiotiques- d'après (11) (P = pourcentage de concentration os/sérum).....	29
Tableau 6 - Choix du type d'examen d'imagerie en fonction du type d'IOAP, d'après (11).....	31
Tableau 7 - Classification de Morawietz – d'après (42).....	32
Tableau 8 - Récapitulatif des études concernant l'examen direct dans le diagnostic des IOAP, d'après (52,53).....	35
Tableau 9 - Examen direct des prélèvements ostéo-articulaire dans plusieurs CHU de France.....	36
Tableau 10 - Pratiques microbiologiques pour les prélèvements ostéo-articulaires sur prothèses dans plusieurs centres hospitaliers de France	39
Tableau 11 - Pourcentages de concordance au diagnostic d'IOAP des différentes combinaisons de milieux de culture (77).....	40
Tableau 12 - Calcul du coût du changement de protocole	54

Introduction

Les Infections Ostéo-Articulaires sur Prothèses (IOAP) sont des infections graves ayant une morbidité et une mortalité élevée (1). Elles ont aussi un coût élevé pour la sécurité sociale avec plus de 8000 euros par épisode d'IOAP (2). Leur prise en charge repose sur concertation pluridisciplinaire entre chirurgiens orthopédistes, anesthésistes, infectiologues, microbiologistes, hygiénistes, radiologues, rhumatologues, pharmaciens hospitaliers et rééducateurs fonctionnels.

Bien que de nombreuses recommandations existent dans le but d'éviter leur survenue (lutte contre les Infections Associées aux Soins (IAS), antibioprophylaxie chirurgicale) leur nombre continue de croître. Ceci étant dû en partie à l'augmentation continue du nombre de prothèses posées en France (3).

Leur diagnostic reposant sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques, histologiques et microbiologiques, leur diagnostic au laboratoire de microbiologie est donc crucial. Ce diagnostic, comme beaucoup d'autres en microbiologie, repose essentiellement sur la culture de prélèvements peropératoires solides, et de liquides articulaires pré ou peropératoires. Le plus souvent, les échantillons sont broyés afin de rendre les bactéries disponibles pour la culture. À la suite de ces cultures, les bactéries obtenues sur ces milieux sont identifiées et un antibiogramme est réalisé afin de permettre aux cliniciens d'ajuster l'antibiothérapie au plus vite.

Historiquement, ces cultures étaient réalisées sur milieux gélosés. En cas de broyage préalable, la sensibilité est bonne, en effet, près de 89% des prélèvements étaient positifs en culture lors d'une IOAP avérée cliniquement (4). Cependant, lors d'infections à bactéries à croissance lente ou lors d'une infection décapitée par une antibiothérapie préalable au prélèvement, la sensibilité du diagnostic microbiologique diminue. Au laboratoire de Microbiologie du CHU (Centre Hospitalier Universitaire) de CAEN, 5 prélèvements peropératoires étaient reçus et 4 milieux gélosés additionnés d'un milieu liquide étaient ensemencés rendant la technique chronophage et coûteuse.

À la suite d'une étude de 2016 du Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest (CRIOGO) de Bemer et al. étudiant les milieux utilisables dans le diagnostic des IOAP, leur nombre et le nombre de prélèvements nécessaire, a été prise la décision de mettre à jour le protocole d'ensemencement des prélèvements d'IOAP au laboratoire de microbiologie du CHU de CAEN.

En effet, en sélectionnant des milieux à plus forte sensibilité (Notamment le flacon hémoculture et la gélose au sang cuit), il est possible de travailler sur moins de prélèvements (4 au lieu de 5) et sur moins de milieux (3 au lieu de 5) tout ceci en conservant une concordance entre le critère microbiologique et le diagnostic d'IOAP. De plus, l'utilisation du flacon d'hémoculture devrait permettre d'augmenter la sensibilité du diagnostic microbiologique pour les IOAP.

Cette thèse, bien que perturbée par l'épidémie de Covid-19, s'intéresse à l'effet de ce changement de protocole sur les performances du laboratoire de microbiologie dans le diagnostic des IOAP de hanche et de genou.

Après une présentation des Infections Ostéo-Articulaires (IOA), nous insisterons sur les IOAP ainsi que sur leur diagnostic au laboratoire de microbiologie et les différentes techniques le composant avant de présenter les statistiques obtenues avant et après changement de méthode.

Enfin, nous discuteront des résultats obtenus, des pistes d'amélioration et des perspectives d'avenir dans le diagnostic microbiologique des IOAP.

Partie 1 : Revue bibliographique sur les IOAP

I. Les infections ostéo-articulaires

1. Définition

Les IOA sont définies par la présence d'un agent infectieux, le plus souvent une bactérie, dans l'os, une articulation ou une prothèse articulaire. Leur fréquence est rare mais il s'agit de pathologies graves dont l'éradication est compliquée et qui sont susceptibles de mettre en jeu le pronostic fonctionnel du patient. La prévalence des IOA en France était en 2008 de 70 cas pour 100 000 habitants par an avec une prédominance chez les personnes âgées avec une prévalence à 209 pour 100 000 habitants par an chez les patients de plus de 70 ans (2). Une étude de Kurtz et al. montre une incidence de 50 pour 100 000 habitants par an avec une prévision d'augmentation de plus de 150% d'ici 2030 (5). Les patients possèdent une ou plusieurs comorbidités dans 70% des cas (2). Les comorbidités retrouvées chez les patients sont (6):

- Le diabète
- L'éthylisme chronique, le tabagisme et la toxicomanie
- L'immunodépression pathologique : Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH), Polyarthrite Rhumatoïde (PR)
- L'immunodépression réactionnelle : Corticothérapie, traitement antirejet de greffe, chimiothérapie anticancéreuse

Il est possible de classer les IOA selon plusieurs critères :

- Selon le mode de contamination
- Selon la localisation
- Selon la présence ou non de matériel

Il existe trois modes de contamination principaux dans les IOA. Premièrement, la majorité des IOA se fait par la voie hématogène au décours d'une bactériémie (7). Dernièrement, les IOA surviennent à la suite d'une inoculation ou contamination directe à la suite d'un geste chirurgical ou en post-traumatique. Enfin, le dernier mode de contamination est la contamination par contiguïté. Une infection des parties molles, par exemple lors d'un mal perforant plantaire sur pied diabétique, va être suivi par le passage de bactéries dans la circulation lymphatique. Ces bactéries vont ensuite aller coloniser une articulation ou un os sur le territoire du drainage lymphatique.

Les localisations des IOA sont multiples. Elles peuvent toucher tous les os et toutes les articulations du corps humain avec des particularités selon le type d'articulation (native ou prothétique). Le genou est l'articulation la plus touchée suivi de la hanche. La figure 1 récapitule les différentes localisations des IOA en fonction de la présence ou non de matériel.

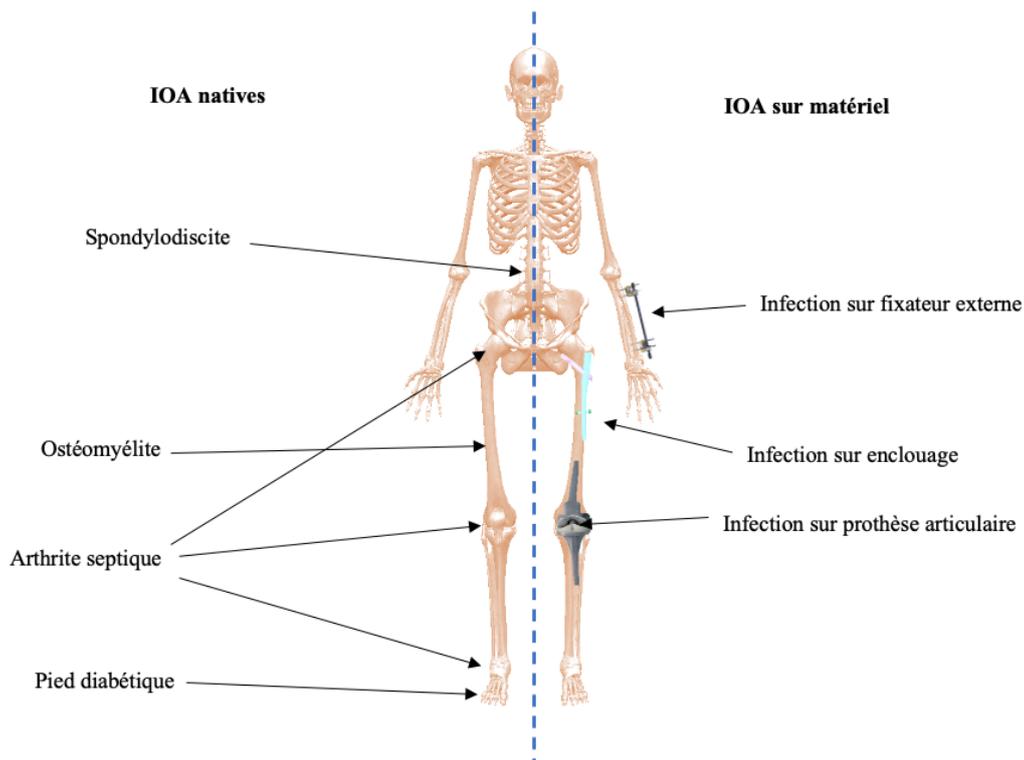


Figure 1 - IOA natives versus IOA sur matériel (IOAM) – Schéma réalisé sur VisibleBody®

2. Ostéites natives

Les infections natives les plus fréquentes sont les arthrites septiques, viennent ensuite les ostéomyélites puis les spondylodiscites (2).

a. *Arthrite septique*

L'arthrite septique correspond à la multiplication d'un agent infectieux (le plus souvent bactérien) dans le liquide synovial articulaire. Cette multiplication bactérienne va entraîner une réaction inflammatoire locale puis une chondrolyse avec une fibrose et donc un risque d'impotence fonctionnelle. De plus, en l'absence d'un traitement antibiotique débuté rapidement et adapté au germe, le risque d'envahissement septique locorégional puis général est élevé, mettant en jeu le pronostic vital du patient.

Tous les individus peuvent être atteints mais la prévalence des arthrites septiques est plus importante chez les enfants et chez les personnes âgées avec une prédominance masculine (8). Chez les enfants, lors d'une arthrite septique, l'atteinte des cartilages de croissance est possible et va entraîner, en cas de retard à la prise en charge, des troubles de la croissance osseuse (9).

Le plus souvent, dans l'arthrite septique, le point de départ est la diffusion hématogène d'une bactérie à partir d'un foyer infectieux à distance. La bactérie la plus rencontrée est *Staphylococcus aureus* mais il existe certaines particularités liées à l'origine de la contamination et aux caractéristiques du patient. Le tableau suivant récapitule les bactéries incriminées dans les arthrites septiques en fonction de la porte d'entrée (10).

*Tableau 1 - Bactéries incriminées dans les arthrites septiques en fonction de leur porte d'entrée
D'après García-Arias M et al.(10)*

Origine hématogène
Tous patients confondus
<i>S. aureus</i>
En fonction de l'âge
< 2 mois : <i>S. aureus</i> et <i>Streptococcus agalactiae</i>
2 mois – 5 ans : <i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Kingella kingae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
Après 5 ans : <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i>
Adulte jeune : <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Groupes à risque
Arthrite rhumatoïde : <i>S. aureus</i>
Toxicomanie intraveineuse : <i>S. aureus</i> , pathogènes opportunistes, Bacilles à Gram négatif
Sujets âgés et patients avec maladie chronique : <i>S. agalactiae</i>
Patients immunodéprimés : Bacilles à Gram négatif

Pour les patients appartenant aux groupes à risque, l'origine de leur arthrite septique n'est pas seulement hémotogène mais peut aussi survenir à la suite d'une inoculation directe comme par exemple lors d'une infiltration intra-articulaire de corticoïde dans le cadre d'un traitement local de la PR.

b. Ostéomyélite

L'ostéomyélite est une infection osseuse dont l'origine est hémotogène. L'infection siègera préférentiellement au niveau de la métaphyse des os longs. Cette infection peut être uni ou multifocale. Les ostéomyélites aiguës sont rares chez les adultes et sont plus fréquentes chez les enfants.

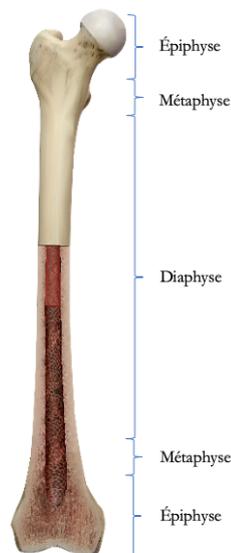


Figure 2 - Coupe sagittale d'un os long – Schéma fait sur VisibleBody®

Aux extrémités distales des métaphyses est retrouvé le réseau vasculaire métaphysaire qui se termine en fines boucles sinusoïdales. Ces boucles sinusoïdales sont le siège d'un important ralentissement circulatoire favorisant la greffe bactérienne en cas de bactériémie. En raison d'un potentiel de croissance plus élevé et d'un réseau vasculaire développé, le risque d'embolisation septique est maximal au niveau de la métaphyse des os longs. De plus, ce réseau vasculaire est particulièrement développé chez l'enfant au niveau des grosses articulations des os long (genou et hanche principalement).

c. Infection de pied diabétique

L'infection de pied diabétique correspond, elle, à une ostéite secondaire. Elle est principalement due à *S. aureus*. Elle désigne l'infection des structures anatomiques du pied faisant suite à une plaie locale négligée. La progression de cette plaie locale est favorisée par le diabète et ses complications. La fréquence et la sévérité des infections chez les diabétiques sont liées à plusieurs facteurs. La neuropathie diabétique entraîne une insensibilité du pied et va ainsi retarder la mise en décharge de la plaie et aggraver l'infection. Les micro et macroangiopathies induites par le diabète vont altérer les possibilités de réparation cicatricielle, favoriser la pullulation bactérienne, notamment les anaérobies, et diminuer la diffusion des antibiotiques au sein du foyer bactérien. Le diabète provoque aussi une altération des fonctions des polynucléaires neutrophiles et donc un déficit des mécanismes cellulaires de défense. De plus, le pied possède des particularités anatomiques qui vont favoriser la dissémination bactérienne. L'inflammation au sein du pied va induire une hyperpression et une ischémie secondaire (11).

Au cours de leur vie, 15 à 25% des patients diabétiques développeront une plaie chronique au pied et une infection en découlera dans 40 à 80% des cas (11).

d. Spondylodiscite

Les spondylodiscites infectieuses correspondent à l'infection d'un ou plusieurs disques intervertébraux et des vertèbres adjacentes. L'atteinte est généralement lombaire et ne concerne généralement qu'un seul étage. Plus rarement, on retrouve des atteintes thoraciques et cervicales (12). Ce sont des infections graves qui nécessitent une prise en charge urgente.

La contamination par la voie hématogène est la plus retrouvée chez l'enfant ceci étant lié à une meilleure vascularisation des disques chez cette population. Chez les adultes, elle peut faire suite à un geste chirurgical local (ponction, infiltration, chirurgie rachidienne ...) ou à distance (chirurgies urologique, vasculaire, viscérale, cardiaque ...) mais aussi parvenir jusqu'aux disques intervertébraux par dissémination à partir d'un foyer à distance (12). Dans de rares cas, le passage des bactéries par contiguïté est retrouvé, notamment lors d'une aortite infectieuse post-greffe ou s'il y a un abcès adjacent (8).

Généralement monomicrobiennes, ces infections peuvent être polymicrobiennes sur des terrains immunodéprimés par une pathologie chronique (diabète) ou par un traitement (immunosuppresseurs, chimiothérapie anticancéreuse ...). Les bactéries les plus impliquées dans les spondylodiscites sont les staphylocoques avec *S. aureus* en chef de file des spondylodiscites par voie hématogène et *Staphylococcus epidermidis* pour les contaminations par inoculation directe.

Les autres bactéries impliquées dans la voie hématogène sont : les entérobactéries, les streptocoques/entérocoques, *Mycobacterium tuberculosis* (dans le cas d'un séjour en zone d'endémie) et *Brucella* spp (sur la notion de profession exposée). Concernant les contaminations par inoculation directe, ce sont majoritairement des bactéries de la flore cutanée proche du territoire infecté qui sont retrouvés : Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN), *Cutibacterium acnes* et les streptocoques (12) (11).

Le traitement d'une spondylodiscite est primordial car en l'absence de traitement, le risque est une extension locorégionale de l'infection avec atteinte des muscles para-vertébraux et du canal médullaire (abcès ou épидурite). Ceci peut entraîner à terme des lésions neurologiques irréversibles.

3. Les Infections Ostéo-Articulaires Complexes (IOAC)

Les IOAC recouvrent majoritairement les infections sur prothèse ou matériel d'ostéosynthèse (clou, plaque, vis, fixateur), les infections post-traumatiques (fractures ouvertes) et les infections osseuses chroniques (11). Dans d'autres cas, une IOA classique peut basculer en IOAC. Ceci est fonction du terrain du patient. Il peut s'agir de patients en échec d'une première prise en charge médico-chirurgicale, ou de patients présentant une infection nécessitant un programme chirurgical particulier (nécessité de retirer les tissus abimés notamment de l'os, nécessité de reconstruction osseuse et/ou techniques particulières pour refermer la plaie appelé lambeaux). Les comorbidités du patient ou les germes impliqués peuvent aussi complexifier la prise en charge. Un patient nécessitant un traitement antibiotique rendu difficile par la présence de bactéries particulières ou d'allergie aux antibiotiques ou de contre-indication à un antibiotique d'intérêt, ou un patient présentant une défaillance d'organes (insuffisance rénale, hépatique...) ou à risque de décompensation de maladies chroniques préexistantes (insuffisance cardiaque, diabète, immunodépression...) pouvant modifier la prise en charge (14).

La prise en charge de ces IAOC est complexe et repose sur la collaboration de nombreux spécialistes en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) : chirurgiens orthopédistes, anesthésistes, infectiologues, microbiologistes, hygiénistes, radiologues, rhumatologues, pharmaciens hospitaliers et rééducateurs fonctionnels.

Depuis 2012, les Centres de Référence des Infections ostéo-articulaires complexes (CRIOACS) coordonnent la lutte contre les IOAC. Les CRIOAC bénéficient d'un système d'information en ligne leur permettant de coordonner régionalement et nationalement la prise en charge des IAOC.

Ce système d'information a permis la création d'une base de données qui est renseignée pour chaque patient présenté en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP) (15).

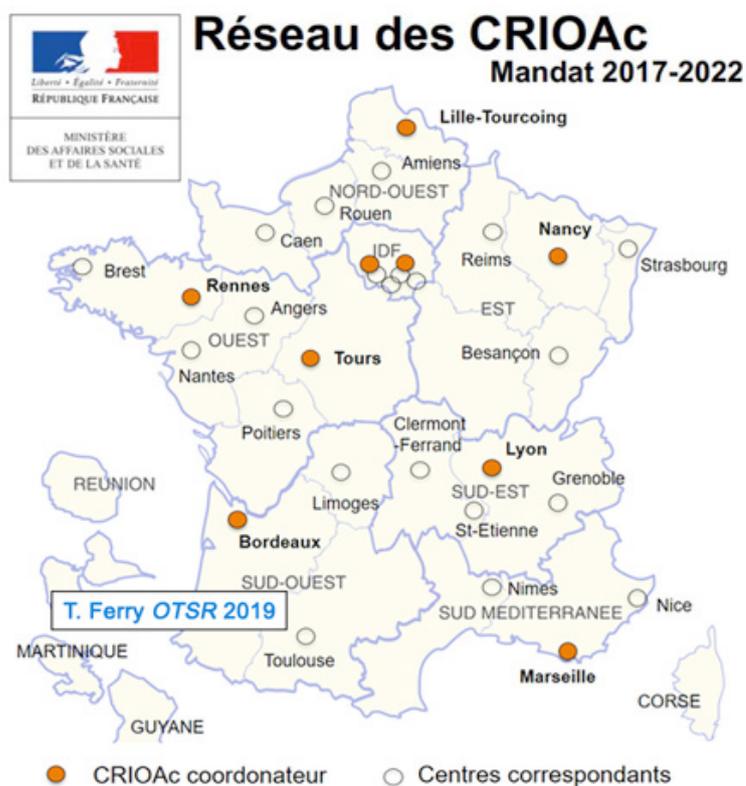


Figure 3 - Réseau des CRIOAC 2017-2022

Le CHU de Caen fait partie du CRIOAC Nord-Ouest coordonné par le CHU de Lille et le CH de Tourcoing.

Cette thèse abordera les IOAP et plus particulièrement des IOAP sur Prothèse Totale de Hanche (PTH) et Prothèse totale de Genou (PTG) car ce sont ces deux types de prothèses qui sont le plus posées au CHU de Caen et donc pour lesquelles il y a le plus d'infections.

II. Les IOAP

1. Incidence et épidémiologie des IOAP

En 2013, les infections ostéo-articulaires complexes étaient associées à plus de 45 000 hospitalisations annuelles avec une incidence de 70 pour 100 000 habitants. (15). Dans une étude épidémiologique menée par Grammatico-Guillon et al. le coût moyen du séjour pour une IOAM était de 8 161€ en 2008 avec une incidence cette année-là de 54 pour 100 000 habitants. (2). Ce contexte a contribué à la création du réseau des CRIOAC.

En 2018, en France, ont été posées 143 227 PTG et PTH. Cette valeur a augmenté de 2,6% en 2019 (3).

Dans un rapport de 2020 sur des données de 2018-2019, la Haute Autorité de Santé (HAS) retrouve un taux brut d'infection du site opératoire (PTH et PTG) à 3 mois d'environ 0,9% avec une évolution de 0,89% à 0,94% de 2018 à 2019. Ces taux tendent à augmenter avec la durée du séjour de pose (3). Cette augmentation en fonction de la durée du séjour s'explique par le fait que pour des patients avec plus de facteurs de risque de complication, les hospitalisations durent plus longtemps par rapport à un patient plus jeune et sans facteurs de risque. De plus, pour ces patients, le temps opératoire est généralement plus long et donc le risque d'ISO augmente.

Le risque global d'infection sur prothèse articulaire après pose est de 2%. Tout ceci donne en valeur absolue entre 2 500 et 3 000 IOAP par an.

2. Facteurs de risque

Les patients possédant un ou plusieurs critères du tableau suivant sont considérés comme étant à risque de développer une IOAP (16).

Tableau 2 - Facteurs de risque d'IOAP

D'après Diagnosis and prevention of Periprosthetic Joint Infections – Clinical practice Guidelines (16)

Maladies d'organes	Cadiopathies : arythmies, fibrillation auriculaire, cardiopathie congestive Insuffisance rénale Insuffisance hépatique : hépatite, cirrhose, Stéatose Hépatique non alcoolique
Immunodépression	Transplantation Cancer Vascularites périphériques Arthrite inflammatoire (PR, Spondylarthrite ankylosante)
Mode de vie	Mésusage d'alcool Tabagisme Diabète contrôlé ou non Malnutrition
Autres	Anémie Troubles psychiatrique (dépression incluse)

3. Classification et Physiopathologie

Habituellement, les IOAP sont classées en fonction du délai de survenue des signes cliniques après la chirurgie. Une pléiade de classification existe : Zimmerli, Tsukayama, Coventry, MacPherson... Aujourd'hui, les classifications les plus utilisées sont celle de Zimmerli (17) et de Tsukayama (18).

Tableau 3 - Classification des IOAP en fonction de leur délai de survenue, d'après Zimmerli et al. (17)

	Infection précoce	Infection retardée	Infection tardive
Délai après chirurgie	< 3 mois	3 à 24 mois	> 24 mois
Pathogénèse probable	Voie peropératoire ou post-opératoire immédiat		Voie hématogène
Pathogènes fréquemment impliqués	<i>S. aureus</i> SCN BGN	Germes de la flore cutanée : <i>C. acnes</i> SCN <i>Corynebacterium spp</i>	<i>S. aureus</i> Entérobactéries <i>Streptococcus spp.</i>

Cette classification différencie 3 grands temps dans l'apparition des signes cliniques en post-opératoire. Une infection précoce intervient moins de 3 mois après la pose d'une prothèse. Les infections retardées surviennent dans les 3 à 24 mois après la pose d'une prothèse. Ces infections précoces et retardées sont d'origine exogène (19) et ont pour source l'inoculation d'un germe en peropératoire ou post-opératoire immédiat. Leur délai de survenue est lié à la pathogénicité des bactéries incriminées. La contamination de ces deux types d'infection se fait au moment de l'intervention (à partir de la flore endogène du patient ou de l'équipe chirurgicale) ou en période post-opératoire précoce à partir de la cicatrice.

Les infections tardives surviennent plus de 2 ans après la pose de la prothèse et ont pour origine la greffe d'une bactérie pathogène au décours d'une bactériémie dont la porte d'entrée est majoritairement cutanée. D'autres portes d'entrée existent pour ces infections : dentaire, urinaire, respiratoire ... (20). Dans la majorité des cas, la porte d'entrée n'est pas retrouvée.

La classification de Tsukayama est utilisée dans les dernières recommandations de la HAS datant de 2014. Son principal atout est d'orienter la prise en charge médico-chirurgicale.

Tableau 4 - Classification de Tsukayama, d'après (18)

Infection post-opératoire précoce	Infection chronique retardée	Infection aigüe hématogène	Infection méconnue
< 4 semaines après l'opération	> 4 semaines après l'opération	Risque de greffe prothétique en fonction du pathogène	Révélee par une microbiologie positive

Cette classification est proche de celle de Zimmerli concernant les infections précoces et retardées. Dans le cas des infections hématogènes, elle ne place pas de curseur quant au délai de survenue. Le risque de greffe bactérienne sur la prothèse varie en fonction du pathogène : de 1% pour les BGN à 30-40% pour *S. aureus* (11).

Une infection méconnue survient quand, lors d'une reprise de prothèse pour un descellement considéré comme aseptique, les prélèvements microbiologiques sont positifs. C'est pourquoi, pour une prothèse, toute luxation de prothèse doit être considérée comme septique jusqu'à preuve du contraire.

Concernant la physiopathologie des IOAP, les bactéries vont adhérer directement au matériel ou via les protéines de l'hôte. Elles vont s'agréger entre elles grâce à des adhésines et la production de polysaccharides et vont entraîner la formation d'un biofilm.

L'activité bactéricide des polynucléaires neutrophiles (PNN) va être diminuée par la seule présence du matériel étranger. L'ensemble de ces phénomènes va aboutir à une réaction inflammatoire autour de la prothèse avec activation d'ostéoclastes et résorption osseuse à l'origine d'un descellement prothétique (21).

4. Particularités des IOAP

a. *Agents pathogènes incriminés*

Les agents pathogènes incriminés varient en fonction de la classification de Zimmerli (Voir Tableau 3) et du terrain du patient. En effet, dans les infections précoces ce sont des bactéries à forte pathogénicité qui sont majoritairement retrouvées avec en chef de file *S. aureus*.

S. aureus sera responsable d'une clinique bruyante dans un délai inférieur à 3 mois après la pose de la prothèse. Dans une étude de 1984, Zimmerli et al. ont démontré que l'inoculum bactérien nécessaire à la formation d'un abcès sur matériel est 1 000 fois inférieur par rapport à une articulation native (22). *S. aureus* est une espèce pathogène qui colonise 30% de la population générale principalement au niveau des fosses nasales antérieures (23). Pour pouvoir coloniser les tissus, cette bactérie possède des adhésines de surface appelées MSCRAMM pour Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules. Elles lui permettent de se lier au facteur Willebrand présent au niveau des endothéliums lésés, aux protéines de liaison au collagène ou à la fibronectine ou au clumping factor A et B. Cette adhésion peut aboutir à la formation d'un biofilm.

En plus de ses capacités d'adhésion, *S. aureus* a développé de multiples stratégies d'échappement au système immunitaire de l'hôte. Elle va produire des enzymes telles que la staphylokinase qui va interagir avec des peptides antimicrobiens ou défensines afin d'entraîner leur inactivation. Elle inhibe également le recrutement des PNN au site de l'infection par la sécrétion de CHIPS (Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus aureus*). La protéine A, présente dans la paroi des *S. aureus*, est un superantigène. En se liant directement au fragment Fc des anticorps, elle empêche l'opsonisation de la bactérie. Enfin, la coagulase de *S. aureus*, en se liant à la prothrombine va former de la staphylothrombine entraînant ainsi la formation d'un caillot protégeant la bactérie de la phagocytose.

Dans les infections retardées sont principalement retrouvées *C. acnes* et les SCN. Les SCN disposent de peu de facteurs de virulence comparés à *S. aureus*. Leur virulence repose sur leur capacité à former du biofilm et sur leur capacité à échapper au système immunitaire. Les facteurs de virulence des SCN ne vont pas agresser l'hôte mais leur permettre de persister au niveau des articulations (24) c'est pourquoi l'apparition de signes cliniques est plus tardive lors d'une IOAP à SCN.

C. acnes est un bacille Gram positif anaérobie commensal de la peau le plus souvent responsable d'infection de follicules pileux ou de glandes sébacées. Il a été démontré dans une étude de 2016 de Phadnis et al. qu'une préparation standard (préparation de la peau à l'aide de chlorhexidine alcoolique ou de polyvidone alcoolique, antibioprophylaxie) peut ne pas être suffisante pour prévenir ces infections (25). Cette bactérie possède des facteurs de virulence provoquant une réponse inflammatoire et induisant une adhésion bactérienne aboutissant à la formation d'un biofilm. Tous ces phénomènes se produisent très rapidement en présence de matériel prothétique (26). *C. acnes* a la particularité d'infecter préférentiellement les prothèses d'épaules (27) ceci étant dû au fait qu'elle colonise plus facilement la peau des épaules et aisselles par rapport à celle des hanches et des genoux (28). *C. acnes* étant à la fois responsable d'infections cutanées et sur prothèses ostéo-articulaires, Corvec et al. ont, dans une étude de 2017, recherché s'il y avait des différences génotypiques entre les *C. acnes* responsables d'IOAP et ceux responsables d'infections cutanées. Il en ressort de cette étude que les *C. acnes* de complexe clonal CC18 et 28 vont préférentiellement donner des infections de la peau et les complexes clonaux CC36 et 53 des IOAP (29).

Les entérobactéries et les streptocoques sont, dans la grande majorité des cas, agents d'IOAP tardives. Ils colonisent les prothèses au décours d'une bactériémie à point d'appel urinaire ou digestif pour les entérobactéries ou à point d'appel digestif, buccal ou cutané pour les streptocoques.

Des recherches sur l'écologie bactérienne en fonction du site de la prothèse ont été menées récemment. Dans une étude de Lemaigen et al. de 2021, il n'y a pas de différences d'écologie microbienne entre les prothèses excepté pour les entérobactéries, les anaérobies et les streptocoques (30). Une autre étude de 2019 a des résultats différents avec une différence entre prothèses de hanche et de genou au niveau des anaérobies, des mycobactéries et des infections polymicrobiennes. La conclusion que l'on peut tirer de ces études est qu'aucune bactérie ne touche préférentiellement les PTH et PTG.

Dans de très rares cas et en fonction du terrain peuvent survenir des IOAP à *Candida*. L'espèce la plus représentée est *Candida albicans* et elle survient principalement chez des personnes diabétiques (31). Les IOAP à *Candida* sont rares, elles représentent moins de 1% des IOAP, mais graves, la survie à 2 ans étant de 44 à 70% (32). De plus, les *Candida* ont la capacité de former des biofilms sur le matériel et ainsi persister au niveau de la prothèse et entraînent donc plus de 2 fois plus de chirurgies supplémentaires (32).

b. Mécanismes de persistance bactériens : Biofilm et Small Colony Variant (SCV)

Un biofilm est une communauté de micro-organismes « sessiles » attachés irréversiblement sur une surface vivante ou inanimée et englués dans une substance visqueuse : le biofilm. Le biofilm est composé d'exopolysaccharides bactériens et de substances exogènes de l'environnement local.

La matrice du biofilm est hautement hydratée et peut contenir jusqu'à 97 % d'eau. Elle peut être constituée de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, d'agents tensioactifs, de lipides, de glycolipides et de cations (33). La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance. Un des exopolysaccharides le plus souvent retrouvés est un polymère de β -1,6-N-acétyl-D-glucosamine (polyglucosamine, PGA ou PNAG). On retrouve ce polymère chez plusieurs espèces bactériennes, dont *S. aureus*, *Escherichia coli*, et *S. epidermidis*.(34).

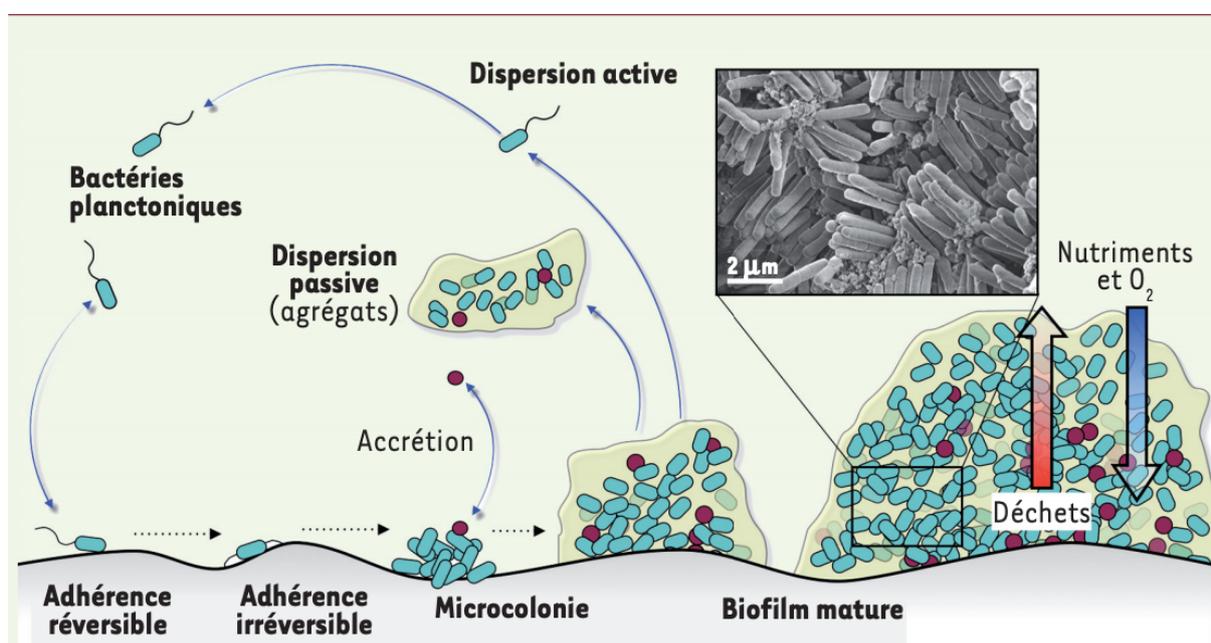


Figure 4 - Développement et structure d'un biofilm bactérien - D'après David Lebeaux et Jean-Marc Ghigo (35)

Après les phases d'adhérence réversible puis irréversible, la bactérie forme une microcolonie qui produit une matrice extracellulaire (en beige) pouvant accueillir d'autres espèces microbiennes par agglomération. Le biofilm mature est le site de gradients inverses en nutriments (flèche bleue) et en déchets (flèche rouge) définissant des niches physiques et chimiques. Il peut se disperser et libérer des bactéries mobiles (dispersion active) ou des agrégats bactériens entourés de matrice (dispersion passive) (35).

Le biofilm permet aux bactéries de résister aux agressions extérieures (36). En effet, les bactéries présentes au sein d'un biofilm sont 1000 fois plus résistantes aux antibiotiques par rapport à des bactéries cultivées en milieu liquide (37). Plusieurs phénomènes expliquent cela. Tout d'abord, la matrice extracellulaire constitue une barrière de diffusion pour les antibiotiques et permettrait une adaptation progressive des bactéries au stress antibiotique (37). De nombreux antibiotiques, telles que les bêta-lactamines sont plus efficaces sur les bactéries se multipliant rapidement. Or, au sein d'un biofilm, la croissance bactérienne est ralentie du fait d'un accès limité aux nutriments, au pH élevé et une plus faible concentration en oxygène. Les bactéries passent d'un mode de vie planctonique à un mode de vie biofilm. Ce ralentissement est lié au « *quorum sensing* » (voir figure 5). La proximité et les contacts rapprochés entre les bactéries du biofilm facilitent la communication et les échanges inter-bactériens mais induisent aussi une plus grande compétition entre bactéries.

Pour survivre, les bactéries vont communiquer et adapter leurs comportements en fonction de la concentration de certaines molécules. Ces petites molécules diffusibles sont, chez les bactéries Gram négatives, des homosérines lactones, des quinolones et furanostyles, et des courts peptides chez les bactéries à Gram positives (37).

Ces molécules vont se fixer sur des récepteurs bactériens spécifiques et vont permettre l'activation d'un régulateur induisant une réponse phénotypique collective lorsqu'un seuil de molécules est dépassé : perception d'un *quorum* ou *quorum sensing* (35).

Deux enzymes jouent un rôle clé : les diguanylate cyclases et les phosphodiesterases. L'augmentation de la concentration de di-GMPc mène à la formation de biofilm avec production de matrice extracellulaire (en beige foncé) alors que sa diminution conduit à la dispersion du biofilm. Cette dispersion s'accompagne de l'expression de facteurs de virulence dont l'expression est inhibée au sein du biofilm.

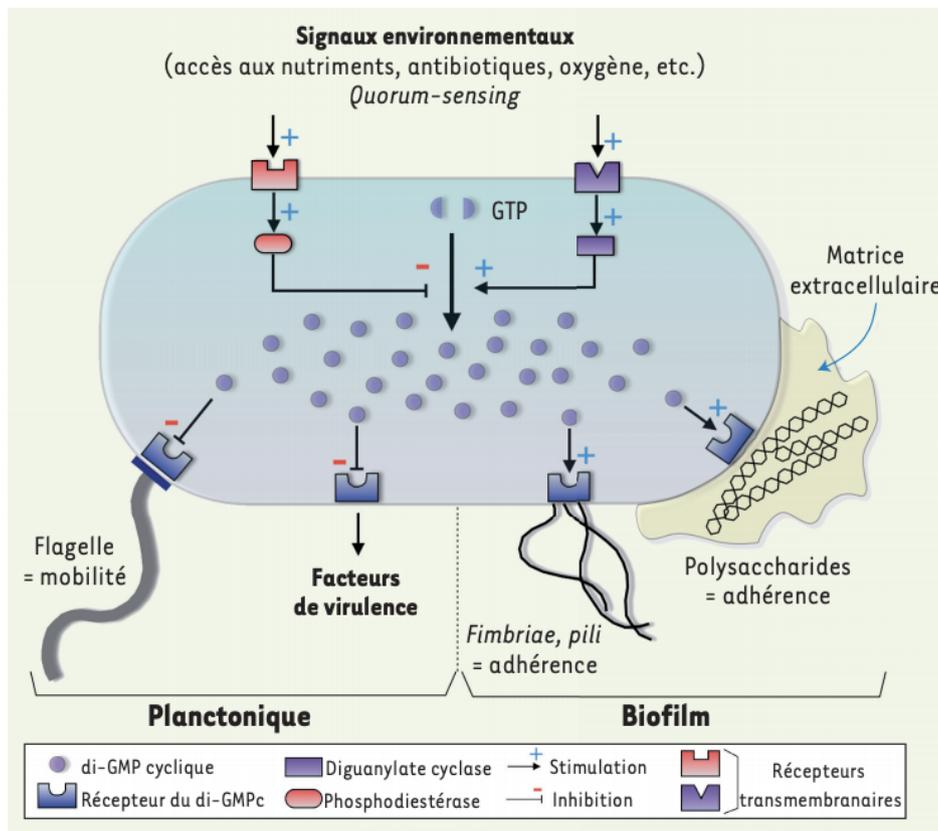


Figure 5 - Passage entre les modes de vie planctonique et biofilm, d'après (35)

Cette croissance ralentie des bactéries au sein du biofilm va favoriser l'émergence de SCV : bactéries caractérisées par une croissance plus lente liée à un déficit métabolique acquis. Cette croissance ralentie va entraîner une difficulté à les mettre en évidence par culture sur gélose au laboratoire.

5. Traitement des IOAP

La prise en charge des IOAP est complexe et va nécessiter le travail conjoint des orthopédistes, des infectiologues et des microbiologistes. Elles peuvent, parfois, nécessiter le recours aux CRIOAC.

Le traitement des IOAP va associer antibiothérapie et chirurgie. Le traitement chirurgical doit précéder ou intervenir en même temps que le traitement antibiotique et être fait en urgence devant des signes cliniques de gravité : abcès, choc septique. La prise en charge chirurgicale dépend de la durée entre la pose de la prothèse et les signes cliniques.

Dans le cas d'une infection aiguë, c'est à dire survenant dans les 4 semaines après la pose de la prothèse, d'origine post-opératoire ou hémotogène, vont être réalisés une arthrotomie pour synovectomie et lavage ; Uniquement les pièces mobiles seront changées (11).

Dans le cas d'une infection chronique, deux méthodes sont possibles. Le changement en 1 ou 2 temps. Le changement en 1 temps consiste à l'ablation de la prothèse avec repose immédiate. Le changement en 2 temps comprend une ablation de prothèse et la repose d'une nouvelle après quelques semaines. Lors de ces interventions pourront être utilisées des ciments imprégnés d'antibiotiques (11).

Quel que soit le délai entre la pose de la prothèse et les premiers signes cliniques, dans le cas d'un descellement de prothèse, elle doit systématiquement être changée.

Concernant les traitements antibiotiques, ils doivent être adaptés à la fois à l'agent infectieux incriminé et à la fois au site infecté. Il faut donc utiliser des antibiotiques actifs contre les germes identifiés et possédant une bonne diffusion osseuse. Les antibiotiques possédant la meilleure pénétration osseuse sont les Fluoroquinolones et la Rifampicine, de plus, ces molécules ont une demi-vie osseuse supérieure à leur demi-vie plasmatisée. Le tableau 6, résume les différentes pénétrations osseuses des antibiotiques.

Quelle que soit la molécule, sa diffusion est meilleure dans un os spongieux du fait de sa meilleure vascularisation et dans l'os infecté. L'antibiothérapie ne doit débuter qu'après réalisation des prélèvements microbiologiques.

Tableau 5 - Pénétration osseuse des antibiotiques- d'après (11) (P = pourcentage de concentration os/sérum)

Bonne (P > 30%)	Fluoroquinolones / Macrolides / Acide fusidique / Rifampicine Cyclines (mais doute sur leur activité intra-osseuse) Téicoplanine / Triméthoprim / Fosfomycine / Clindamycine
Moyenne (10 < P < 30%)	Céphalosporine / Uréidopénicillines / Vancomycine / Sulfaméthoxazole Linézolide / Métronidazole / Daptomycine
Faible (P < 10%)	Pénicillines M / Aminopénicilline / C1G / Imipénèmes Polypeptides (seraient inactifs dans l'os) Aminosides (pénétration faible mais accumulation)

L'antibiothérapie probabiliste va consister en l'utilisation d'une bêta-lactamine à large spectre et la Daptomycine. Dans le choix de la bêta-lactamine, l'association Pipéracilline + Tazobactam est la plus utilisée actuellement (11). En relai, la rifampicine est utilisée sur les infections staphylococciques sur matériel à bactérie sensible. En effet, elle possède une excellente activité anti-biofilm (39). Concernant la durée de traitement, il est recommandé de maintenir un traitement pendant 12 semaines chez les patients avec une infection documentée microbiologiquement (40).

III. Diagnostic des IOAP

1. Clinique

Toute personne ayant une prothèse articulaire doit être mise au courant des signes d'alerte faisant suspecter une IOAP. Tout d'abord, la cicatrice de la chirurgie doit rester propre. Tout incident cicatriciel tel que la persistance ou l'apparition d'une inflammation locale et/ou l'absence et retard de cicatrisation ainsi qu'une désunion voire une nécrose et/ou tout écoulement même non purulent doit alerter. La réapparition ou aggravation de la douleur locale postopératoire ainsi que la dégradation de la récupération fonctionnelle sont aussi deux signes d'alerte. Enfin, la présence de signes généraux tels que la fièvre et/ou des frissons sont à prendre en compte. Pour les PTG, un épanchement douloureux doit faire évoquer une IOAP. Tous ces signes sont importants à connaître car la prise en charge d'une IOAP dans le mois suivant la pose est une urgence médico-chirurgicale (41).

Les signes cliniques affirmant une IOAP précoce sont les suivants : (41)

- Un écoulement purulent ;
- Un abcès ;
- Une fistule.

Les signes étant évocateurs d'une IOAP précoce sont les suivants, ils recourent les signes d'alerte à connaître pour les patients :

- Un incident cicatriciel : (41)
 - Persistance ou apparition d'une inflammation locale ;
 - Absence et retard de cicatrisation, désunion, nécrose ;
 - Tout écoulement non purulent ;
- La réapparition ou aggravation de la douleur locale postopératoire ;
- La dégradation de la récupération fonctionnelle ;
- Un épanchement douloureux.

Dans les IOAP tardives, la clinique est celle d'une articulation ayant toujours été douloureuse avec localement une articulation chaude et un épanchement chronique. Il n'y a pas de signes systémiques de sepsis et le syndrome inflammatoire biologique peut être inconstant (11).

2. Imagerie

Le choix du type d'examen d'imagerie varie en fonction du type d'IOAP.

Dans le cadre des infections post-opératoires précoces, aucun examen d'imagerie ne trouve sa place dans le diagnostic hormis l'échographie afin de guider une éventuelle ponction articulaire.

Pour les infections post-opératoires retardées, les signes que l'on doit retrouver à la radiographie conventionnelle sont des zones d'ostéolyse ou la présence d'un liseré périprothétique évolutif. L'échographie articulaire va permettre de guider la ponction articulaire et de rechercher un éventuel épanchement. Le TDM (Tomodensitomètre) et l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) vont permettre d'étudier les parties molles à la recherche d'un abcès. Des artefacts produits par la prothèse peuvent également être retrouvés

Dans les IOAP tardives (origine hématogène), seule la radiographie est utile au diagnostic. Elle va permettre de rechercher des signes de descellement de la prothèse. L'échographie articulaire permettra, comme pour les IOAP précoces et retardées, de guider la ponction articulaire (11). Le tableau suivant (Tableau 7) récapitule tout ceci.

Tableau 6 - Choix du type d'examen d'imagerie en fonction du type d'IOAP, d'après (11)

Infection post-opératoire précoce	Infection post-opératoire retardée	Infection hématogène (tardive)
Pas d'examen d'imagerie	Radiographie conventionnelle Échographie articulaire TDM et IRM	Radiographie conventionnelle Échographie articulaire

3. Histologique

Actuellement, aucun « gold standard » n'existe pour le diagnostic histologique des IOAP. Morawietz et al. ont proposé en 2007 une classification histologique des tissus périprothétiques avec un seuil de 5 neutrophiles par champ (au grossissement 40) (42). En 2009, ils ont modifié ce seuil en le passant à 23 neutrophiles sur 10 champs différents avec un maximum de 10 neutrophiles comptés par champ (43). Le tableau 8 détaille la classification de Morawietz.

Tableau 7 - Classification de Morawietz – d’après (42)

Type I	Réaction granulomateuse macrophagique aux débris d’usure prothétique
Type II	Réaction inflammatoire dominée par les polynucléaires neutrophiles → Correspond à une infection périprothétique
Type III	Mélange des types I et II → Associé à une infection
Type IV	Tissu fibreux riche en vaisseaux, exsudat fibrineux et rares PNN → Tissu de matrice cicatricielle

Comme le montre cette classification, l’infiltration de neutrophiles au sein des tissus périprothétiques est considérée comme étant en faveur d’une IOAP. De plus, cette classification permet de différencier les IOAP des réactions classiques au sein des tissus périprothétiques. En 2018, Bémer et al. ont évalué si le seuil de 23 neutrophiles était meilleur que celui à 5 sur des IOAP sur des IOAP confirmées. Le seuil à 23 neutrophiles, en plus de bénéficier d’une meilleure sensibilité, spécificité, VPP (Valeur Prédictive Positive) et VPN (Valeur Prédictive Négative) permet aussi une lecture plus rapide des coupes de tissus périprothétiques. En effet, s’arrêter à 10 neutrophiles maximum par champ avant de passer au suivant permet de changer plus rapidement de champs et de gagner du temps sur la lecture de la coupe (44).

4. Biologique

Biologiquement, le diagnostic des IOAP repose sur la recherche de marqueurs de l’inflammation dans le sang et dans le liquide articulaire. Ces marqueurs sont plus ou moins sensibles et spécifiques. Le marqueur sanguin de l’inflammation le plus utilisé, pas uniquement dans les IOAP, est le dosage de la protéine C réactive (CRP). Une valeur normale de la CRP (et/ou de la vitesse de sédimentation) ne peut exclure une IOAM (45) notamment dans les IOAM faiblement symptomatiques (46). Malgré une bonne sensibilité (88%) et une relativement bonne spécificité (74%) (47), les causes d’élévation de la CRP sont tellement nombreuses que l’on ne peut en faire un marqueur pathognomonique d’IOAM. Le dosage des leucocytes sanguins dans la numération formule sanguine n’est pas contributif lui non plus. En effet, la leucocytose sanguine peut être normale dans une IOAM et n’a donc aucune VPP ni VPN (45).

La recherche, ces dernières années, s’est accélérée dans le but de trouver un marqueur synovial d’IOAM. Plusieurs ont été testés : l’alpha défensine, la calprotectine et le D-Lactate mais en routine, aucun de ces marqueurs n’est utilisé.

L'alpha défensine est un peptide antimicrobien sécrété par les PNN en réponse à la présence d'un pathogène. Elle peut être détectée au laboratoire via un test ELISA. Ce test a montré des sensibilités et spécificités supérieures à 95% au cours de plusieurs études (48). L'alpha défensine pourrait jouer un rôle dans le diagnostic des IOAP. Le seul écueil à l'utilisation de ce marqueur en routine est son coût.

La calprotectine est une protéine présente dans le cytoplasme des neutrophiles. Elle fait partie du bilan lors d'une recherche de maladie intestinale. Lors de l'activation des neutrophiles, la calprotectine est excrétée de la cellule au niveau de l'infection. Elle présente des propriétés antimicrobiennes en se liant au zinc et au manganèse, métaux de transition permettant la survie bactérienne. La calprotectine pourrait donc être un bon marqueur synovial d'IOAP. Dans une étude de 2018, elle a montré une sensibilité de 86,7%, une spécificité de 91,7%, une VPP de 81,3% et une VPN de 94,4% (49). Sa spécificité et sa VPN en ferait un bon marqueur d'exclusion d'IOAP.

Le D-lactate est un métabolite, pathogène spécifique, produit presque exclusivement par des bactéries. Le D- et le L-lactate sont deux isomères du lactate produits au niveau intracellulaire. Les cellules des mammifères ne peuvent produire que du L-lactate via la Lactate déshydrogénase au contraire des cellules bactériennes qui produisent du D-Lactate. Ce D-Lactate, s'il est retrouvé dans un fluide biologique, pourrait signer la présence d'une bactérie. En appliquant les critères diagnostiques de la MusculoSkeletal Infection Society (MSIS) au sujet des IOAP, le D-lactate a présenté, dans une étude de 2020, une sensibilité de 94,3%, une spécificité de 78,4% (50). Le D-lactate étant uniquement bactérien, il pourrait devenir un marqueur spécifique d'infection au niveau articulaire. En effet, tous les marqueurs synoviaux pouvant servir dans le diagnostic des IOAP, alpha défensine, alpha-2-macroglobuline, leucocyte estérase, adénosine désaminase et calprotectine sont tous des marqueurs de présence de PNN. Ces PNN pouvant aussi être présent lors d'un descellement aseptique, cela entraîne un risque de faux positifs important.

5. Microbiologique

Actuellement, il n'y a pas de procédure définie pour le traitement des prélèvements ostéo-articulaires au laboratoire. Certaines recommandations sont émises par le REMIC (Référentiel de Microbiologie Médicale) mais les pratiques diffèrent entre chaque CHU.

a. Pré-analytique

Le diagnostic des IOAP étant crucial, la qualité des prélèvements est un point essentiel. Afin de limiter les contaminations de prélèvements et donc les faux positifs, il est recommandé de prélever dans des conditions d'asepsie chirurgicale stricte : les prélèvements peropératoires sont donc les prélèvements de choix pour le diagnostic des IOAP. Ils doivent être multiples en des sites anatomiquement différents et si possible macroscopiquement pathologiques (45) et avec du matériel stérile et différent pour chaque échantillon. Les prélèvements à proscrire sont : les prélèvements superficiels de plaies, de cicatrices ou de fistule par écouvillonnage et les liquides de drainage (45).

Concernant les liquides de ponction (i.e. les liquides articulaires), la culture doit être associée avec un examen cytologique. Le matériel d'ostéosynthèse peut être envoyé au laboratoire (45).

Afin d'éviter les faux négatifs, il est préférable de commencer le traitement antibiotique après la réalisation des prélèvements chirurgicaux. Dans le cas où le traitement antibiotique ne peut être différé, il est recommandé d'instaurer une fenêtre thérapeutique de 15 jours sans antibiotique(s) lorsque l'état du patient le permet (51).

Le transport au laboratoire, est une étape cruciale. Afin d'optimiser les flux de prélèvements, une concertation et une coopération doit avoir lieu entre les services de chirurgie, le laboratoire et la logistique de l'établissement. La durée d'acheminement idéale à ne pas dépasser à température ambiante est de 4 heures (45). Si ce délai ne peut être respecté, l'utilisation de milieux de transport permettant la survie des bactéries fragiles et des anaérobies est recommandée.

Les prélèvements ostéo-articulaires étant précieux et non renouvelables, les résultats microbiologiques ont un enjeu clinique majeur et parfois médico-légal. C'est pourquoi il faut maximiser les chances d'isoler les microorganismes responsables d'IOAP tout en évitant les contaminations. Pour cela, la manipulation des échantillons doit se faire sous hotte à flux laminaire type Poste de Sécurité Microbiologique de Type II (PSMII) par un technicien portant des gants et utilisant du matériel stérile.

b. Analytique

Examen microscopique

L'examen direct (ED) après coloration de GRAM est une étape importante dans le diagnostic microbiologique au laboratoire. Cependant, en fonction des prélèvements observés, il présente ou non une bonne sensibilité.

Beaucoup d'études ont tenté d'établir des valeurs de sensibilité, spécificité, VPP et VPN pour l'examen direct avec de grandes disparités en fonction des études. Le tableau suivant (tableau 8) récapitule toutes ces statistiques.

Tableau 8 - Récapitulatif des études concernant l'examen direct dans le diagnostic des IOAP, d'après (52,53)

Auteur	Année	Effectif	Échantillon	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
Feldman et al. (54)	1995	33	Liquide articulaire	20	Non calculé (NC)	NC	NC
Barrack et al. (55)	1997	67	Liquide articulaire	10	100	NC	NC
Violainen et al. (56)	2002	68	Liquide articulaire	67	100	NC	NC
Parvizi et al. (57)	2006	70	Liquide articulaire	35	97	94	54
Atkins et al. (58)	1998	297	Tissu & Liquide articulaire	6	100	NC	NC
Morgan et al. (59)	2009	921	Tissu & Liquide articulaire	27	100	99	79
Oethinger et al. (60)	2011	269	Tissu & Liquide articulaire	9	99	NC	NC
Kraemer et al. (61)	1993	55	Tissu	23	100	100	81
Della Valle et al. (62)	1999	413	Tissu	15	99	71	85
Spangehl et al. (63)	1999	202	Tissu	19	98	63	89
Ko et al. (64)	2005	40	Tissu	0	0	0	0
Ghanem et al. (65)	2009	1004	Tissu	31	100	99	75
Banit et al. (66)	2002	121	Écouvillon de tissu	43	100	NC	NC
Johnson et al. (67)	2010	202	Écouvillon de tissu	10	100	100	62
Zywiell et al. (68)	2011	347	Écouvillon de tissu	7	99	92	57
Trampuz et al. (69)	2007	326	Liquide de sonication	45	100	100	86
Schindler et al. (70)	2011	62	Non spécifié	2	NC	NC	NC

La sensibilité est dépendante du type d'échantillon, dans un liquide articulaire, contrairement aux tissus, les bactéries sont en suspension dans le liquide donc plus facile à observer après réalisation d'un frottis. La sensibilité obtenue pour les liquides articulaires varie de façon importante : de 10 à 67% et elle est inférieure à 23% pour les tissus.

La spécificité va dépendre principalement de l'opérateur et de son expérience à l'examen direct mais aussi du type de coloration de GRAM qui va être réalisée, mais elle est très souvent excellente (supérieure à 97%).

Ces disparités expliquent des différences de pratique en fonction des CHU. Au CHU de Caen, l'ED sera maintenu uniquement pour les liquides articulaires car son excellente spécificité permet une adaptation précoce de l'antibiothérapie. Il ne sera plus pratiqué sur les prélèvements périprothétiques car on retrouve dans ces échantillons un coagulum rendant les bactéries moins « disponibles » pour l'ED, de plus, le broyage du prélèvement a tendance à faire diminuer la sensibilité de l'ED. Certains CHU ne travaillent que sur les prélèvements liquides alors que d'autres travaillent sur tous les prélèvements. Le centre hospitalier de Garches travaille sur les liquides et sur un écouvillonnage des prélèvements solides. Cette technique entraîne un risque de contamination des échantillons et demande une certaine dextérité de la part des techniciens.

Toutes ces pratiques sont répertoriées dans le tableau suivant (tableau 9).

Tableau 9 - Examen direct des prélèvements ostéo-articulaire dans plusieurs CHU de France

Nantes	Lille	Versailles	Garches	Lyon
Prélèvements liquides	Prélèvements liquides	Tous les prélèvements	Pour tous les prélèvements après écouvillonnage	Tous les prélèvements

Prétraitement du prélèvement avant culture

Avant la mise en culture, l'étape de prétraitement des prélèvements est essentielle. Plusieurs méthodes existent dans le but de rendre les bactéries du prélèvement, notamment celles présentes dans le biofilm, disponibles pour la culture. Deux méthodes existent : le broyage mécanique et la sonication.

Le broyage mécanique consiste en la dispersion, l'homogénéisation, l'agitation et le broyage du prélèvement dans un tube jetable à verrouillage hermétique. Il existe actuellement deux grands types de broyeurs à billes représentés par 2 marques : Ultra-turrax® et Retsch®. Les broyeurs Ultra-turrax® sont des broyeurs disperseurs à billes simples alors que les broyeurs Retsch® ajoutent des vibrations au broyage par billes. Ces vibrations permettraient une meilleure extraction des bactéries du prélèvement. Cependant, aucune étude n'a réellement comparé les 2 méthodes.

La sonication consiste à soumettre le matériel prothétique à des ultrasons à basse fréquence dans un liquide pour préserver la viabilité bactérienne. Cette sonication permettrait une meilleure extraction des bactéries au sein du biofilm de la surface du matériel (71). Les valeurs de sensibilité et spécificité de la culture après sonication sont respectivement de 79% et 95% selon Liu et al. (72) et de 80% et 95% respectivement d'après Zhai et al. (73). L'inconvénient de la mise en place de la sonication est qu'il faut revoir tout le trajet d'un prélèvement ostéo-articulaire d'un point de vue logistique. En effet, les prélèvements et les prothèses doivent être mis directement dans une cuve de sonication au bloc puis acheminés au laboratoire de Microbiologie. Cette manipulation devant se faire dans les règles de stérilité les plus strictes, elle est à risque de contamination et entraîne, parfois, des faux positifs. De plus, le sonicateur et les cuves de sonication ont un coût assez élevé.

Dans le cas où la mise en place d'un système de sonication du matériel ostéo-articulaire n'est pas possible, certaines études suggèrent qu'un traitement par dithiothréitol pourrait remplacer cette sonication. Le dithiothréitol, aussi appelé réactif de Cleland, possède une action réductrice qui va induire une rupture des pont disulfures des protéines. Il va donc permettre de libérer les bactéries présentes au sein des protéines d'un biofilm. Sambri et al. ont démontré que la culture présentait une meilleure sensibilité après un traitement par dithiothréitol par rapport à un prélèvement qui n'a pas été traité (74).

Culture microbiologique

Les recommandations actuelles de culture des prélèvements ostéo-articulaires dans le REMIC sont assez larges. Cinq prélèvements sont nécessaires. Pour le choix des milieux utilisés, il faut tenir compte de l'écologie bactérienne des IOAP. Il est recommandé d'utiliser au minimum :

- une gélose au sang incubée en anaérobiose avec lecture précoce à J1 et J2 et une lecture tardive à J14-15.
- une gélose au sang cuit (aussi appelée gélose chocolat) supplémentée incubée sous 5% de CO₂, avec lecture précoce à J1 et J2 et lecture tardive à J14-15.
- une gélose pour bactéries anaérobies (au choix entre la gélose au sang ou la gélose Schaedler®) incubée en anaérobiose avec lecture précoce à J2 ou J3 et lecture tardive (75).
- un milieu liquide de type bouillon cœur-cervelle et/ou bouillon Schaedler® avec lecture régulière jusqu'à 14 jours.

Une lecture tardive des géloses n'est pas réalisable, en effet, les géloses se déshydratent lors d'une incubation prolongée. En réalité, ces recommandations sont obsolètes et induisent une hétérogénéité des pratiques dans les laboratoires de microbiologie du CRIOAC (voir Tableau 11).

En effet, certains laboratoires de CHU comme Nantes, Lille, Versailles et Garches associent des milieux de culture gélosés, des bouillons Schaedler ® pour les anaérobies et des flacons d'hémocultures alors que Lyon n'utilise pas de flacon d'hémocultures. Les milieux de choix pour les anaérobies restent les géloses au sang incubées en anaérobiose ou les bouillons Schaedler®.

Concernant les flacons hémocultures, les plus utilisées sont les flacons anaérobies car les bactéries aérobies strictes seront retrouvées sur la gélose chocolat. Certains centres ajoutent un flacon d'hémoculture aérobie ou un flacon pédiatrique. Ces deux types de flacons ont exactement la même composition mais diffèrent par le type d'échantillon accepté, et le volume de bouillon de culture présent à l'intérieur. Les flacons d'hémocultures aérobies et anaérobies sont validés pour les matrices suivantes : le sang et les liquides biologiques normalement stériles, possèdent 40mL de bouillon de culture et acceptent de 8 à 10mL de milieu biologique. Les flacons pédiatriques sont prévus pour ne recevoir que du sang, ils possèdent 30mL de milieu de culture et peuvent accepter jusqu'à 4mL de sang (76).

L'avantage de ces flacons d'hémocultures est leur grande sensibilité mais aussi la présence de billes qui adsorbent en partie les antibiotiques. Elles permettent aussi un temps de pousse réduit par rapport à une gélose (10 heures contre 16 à 24 heures) (77) mais elle permettent aussi de prolonger, de façon automatisée, des cultures sans risque de déshydratation du milieu de culture (ce qui arrive avec les géloses) ni temps technique supplémentaire pour trier et lire les milieux de culture. De plus, à l'intérieur de l'automate, les flacons d'hémocultures sont en agitation constante ce qui permet de réduire le temps de croissance bactérienne. Récemment, il a été confirmé que l'utilisation des flacons d'hémocultures (aérobies et anaérobies) pour l'ensemencement des liquides articulaires ainsi que les broyats de prélèvements ostéo-articulaires possède une bonne sensibilité (70%) et une bonne spécificité (97%) (78).

Tableau 10 - Pratiques microbiologiques pour les prélèvements ostéo-articulaires sur prothèses dans plusieurs centres hospitaliers de France

	Nantes	Lille	Versailles	Garches	Lyon
Nombre de prélèvements	Non communiqué	5	5	Non communiqué	7
Broyeur	Retsch®	Ultra-turrax®	Flacon à billes (non précisé)	Retsch®	Ultra-Turrax®
Gélose Sang aérobie		50 µL Incubation 5j Lectures à j2 – j5	50 µL Incubation 10j en atmosphère enrichie en CO ₂ Lectures à j1-j2-j5	50 µL Incubation 2j Lectures à j1 – j2	20µL Incubation 2j Lectures à j1-j2
Gélose Sang anaérobie			50 µL Incubation 10j Lectures à j2 ou j3–j5–j10	50 µL Incubation 2j Lectures à j1 – j2 ET 50 µL Incubation 5j Lecture à j5	20µL Incubation 5j Lectures à j2-j5 ET 20µL Incubation 14j Lectures à j7-j14
Gélose Chocolat PVX en atmosphère enrichie en CO ₂ (5%)	100µL Incubation 7j Lectures à j1-j2-j7	50 µL Incubation 5j Lectures à j2 – j5	50 µL Incubation 10j Lectures à j1-j2-j5	50 µL Incubation 5j Lectures à j1-j2-j5	20µL Incubation 2j L : j1-j2 ET 20µL Incubation 5j Lecture à j5
Bouillon Schaedler®	1mL Incubation 10j				200µL Incubation 14j Lectures à j1-j2-j7-j14 + mirage quotidien
Hémoculture aérobie		1mL Incubation 15j	1mL Incubation 14j		
Hémoculture anaérobie	3 à 5 mL Incubation 10j	1mL Incubation 15j	1mL Incubation 14j	3 mL Incubation 7j	
Hémoculture pédiatrique				3 mL Incubation 7j	
Lorsque 2 milieux sont ensemencés avec des lectures tardives pour l'un des deux, cela est fait pour limiter le nombre de contaminations à l'ouverture des boîtes.					

Bémer et al. ont, dans une étude de 2015, comparé plusieurs méthodes et milieux de culture afin de déterminer quel était le meilleur schéma d'un point de vue médico-économique pour le diagnostic des IOAP. Il en ressort que la combinaison d'un ensemencement des broyats et liquides articulaires dans des flacons d'hémocultures, sur une gélose chocolat sur un milieu sélectif des bactéries anaérobies est la meilleure combinaison. Le choix du milieu anaérobie doit se faire entre un bouillon Schaedler et une gélose au sang incubée en atmosphère anaérobie. Cette combinaison de milieux de culture permet aussi de diminuer le nombre de prélèvements à 4 permettant ainsi d'envoyer le 5^e prélèvement pour une analyse anatomopathologique. Le pourcentage de concordance au critère microbiologique est de 98,3% pour les bactéries aérobies et de 85,7% pour les anaérobies et le pourcentage de concordance au diagnostic est de 100% (77) (voir tableau 11).

Tableau 11 - Pourcentages de concordance au diagnostic d'IOAP des différentes combinaisons de milieux de culture (77)

TABLE 3 Percentages of agreement according to the combination of culture media for the 192 cases of PJI^a

Culture media	% agreement of bacteriological criterion		% agreement of confirmed PJI diagnosis	
	Aerobes	Anaerobes	Aerobes	Anaerobes
Blood culture bottle, chocolate agar plate, and anaerobic broth medium	98.3	85.7	100.0	100.0
Blood culture bottle, blood agar plate, and anaerobic broth medium	97.7	85.7	100.0	100.0
Chocolate agar plate and anaerobic broth medium	92.4	81.0	98.3	100.0
Blood agar plate and anaerobic broth medium	92.4	76.2	99.4	100.0
Blood culture bottle and chocolate agar plate	97.7	66.7	100.0	95.2
Blood culture bottle and blood agar plate	96.5	47.6	100.0	90.5

^a Of the total number of prosthetic joint infection (PJI) cases, 171 represent infection with aerobes, and 21 represent infection with anaerobes.

c. Interprétation des résultats microbiologiques

Les critères microbiologiques permettant le diagnostic des IOAP se font en fonction du nombre de prélèvements positifs et en fonction du germe incriminé. Les recommandations actuelles de la HAS datant de 2009 sont les suivantes : la présence d'au moins 3 prélèvements (3 prélèvements per opératoires ou 2 prélèvements per opératoires + 1 prélèvement par ponction articulaire réalisée quelques jours avant la chirurgie) positifs au(x) même(s) bactérie(s) appartenant à la flore cutanée (ex : staphylocoque à coagulase négative, *C. acnes*, corynébactérie...) et dont l'isolement pose la question d'une éventuelle contamination est en faveur d'une infection certaine.

La présence d'au moins 1 prélèvement positif (1 prélèvement par ponction articulaire ou 1 prélèvement per opératoire ou par flacon d'hémoculture ensemencé) à une bactérie n'appartenant pas à la flore cutanée et pour lequel la question d'une contamination ne se pose pas (ex : *S. aureus*, entérobactéries, *P. aeruginosa*...) ou avec une bactérie exceptionnellement rencontrée pour laquelle la question d'une contamination ne se pose pas (ex : *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Pasteurella*) est aussi en faveur d'une infection certaine.

L'infection peut être exclue ou le prélèvement considéré comme contaminé si l'on observe qu'un seul prélèvement per opératoire positif à un germe de la flore cutanée (staphylocoque à coagulase négative, *C. acnes*, corynébactérie...) sans signe histologique d'infection et avec moins de 65 % de polynucléaires neutrophiles dans le liquide de ponction articulaire (45).

Ce critère microbiologique va s'ajouter aux critères radiologique et infectiologique pour entrer dans le diagnostic d'IOAP.

La Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) ajoute à ces recommandations HAS des critères cliniques et biologiques.

D'après la SPILF, une infection est considérée comme certaine si on observe : (45)

- La présence d'une fistule au contact de la prothèse ou de l'implant,
- La présence de pus dans l'articulation ou au contact de la prothèse ou de l'implant
- La présence d'au moins 3 prélèvements (3 prélèvements peropératoire ou 2 peropératoire + un liquide articulaire préopératoire) positifs aux mêmes bactéries appartenant à la flore cutanée et dont l'isolement pose la question d'une éventuelle contamination.
- La présence d'au moins un prélèvement positif à une bactérie n'appartenant pas à la flore cutanée et pour laquelle la question d'une contamination ne se pose pas.

En l'absence de fistule au contact de la prothèse ou de pus dans l'articulation, une infection est considérée comme exclue ou non détectable si l'on observe l'un des critères suivants :

- Les prélèvements peropératoires sont stériles
- Un seul prélèvement per opératoire est positif à un germe de la flore cutanée sans signe histologique d'infection et avec moins de 65% de polynucléaires neutrophiles dans le liquide articulaire
- Dans ces 2 situations, une CRP inférieure à 10 mg/l peut conforter l'absence d'infection.

D'après l'Infectious Disease Society of America (IDSA) (79), le critère microbiologique est positif si l'on observe la présence de minimum 2 prélèvements per opératoires ou la combinaison d'un prélèvement per opératoire avec un liquide articulaire pré opératoire à un même germe. Il est aussi positif avec un seul prélèvement positif uniquement si le germe est considéré comme un germe virulent et fréquemment rencontré dans les IOAP. À ce critère microbiologique s'ajoute un critère clinique avec la présence d'une fistule au contact de la prothèse ou de pus au niveau périprothétique et un critère anatomopathologique avec la présence d'une inflammation tissulaire sur la lame observée.

6. Autres méthodes de diagnostic microbiologique

Lorsque les méthodes dites classiques de diagnostic sont en échec ou lorsqu'il est nécessaire d'adapter rapidement l'antibiothérapie, peuvent être discutées des méthodes alternatives de diagnostic. Ces méthodes sont : les PCR (Polymerase Chain Reaction) spécifiques d'une bactérie avec ou sans recherche de gène de résistance aux antibiotiques ou des PCR recherchant un panel de bactéries connues pour être responsables d'IOAP ou le séquençage de tout l'ADN (Acide Désoxyribonucléique) présent dans un prélèvement chirurgical afin de retrouver des bactéries pathogènes.

a. *PCR spécifiques*

Dans certains cas, l'antibiothérapie ne peut être différée après les prélèvements microbiologiques augmentant ainsi le risque d'obtenir des cultures stériles. Afin de s'affranchir de cela, les microbiologistes peuvent, en concertation avec les infectiologues et chirurgiens, décider de faire des PCR spécifiques à la recherche de pathogènes particuliers et éventuellement d'un de leurs facteurs de virulence ou de résistance aux antibiotiques. *S. aureus* et les SCN étant les bactéries les plus représentées dans les IOAP, il existe des PCR *S. aureus* et SCN permettant à la fois de rechercher la bactérie mais aussi de rechercher la cassette *mecA* synonyme de résistante à la méticilline. Par exemple, la PCR Xpert® MRSA (Meticillin Resistant *S. aureus*) SSTI de chez Cepheid® possède une très bonne corrélation avec les cultures une sensibilité de 94,4% et une spécificité de 100% dans la détection des *S. aureus* et plus particulièrement du *S. aureus* Résistant à la Méticilline (SARM) (80). Son principal avantage réside dans sa rapidité. En effet, la PCR dure environ une heure contre 16 à 24 heures pour une culture et presque autant pour l'antibiogramme.

b. *PCR multiplex*

Les PCR spécifiques ne pouvant tester qu'un seul pathogène ou un seul genre bactérien, ont été développées des PCR multiplex afin d'en tester plusieurs à la fois. L'inconvénient de ces PCR est qu'elles ont faible concordance avec la culture (58%) (81) surtout lorsque l'inoculum bactérien est faible. En revanche, elles trouvent leur place lorsque les prélèvements ostéo-articulaires sont faits sous antibiothérapie. De plus, sur les liquides synoviaux uniquement, elles détectent mieux les pathogènes à faible virulence tels que *C. acnes* et les SCN que la culture et elles le font dans un temps réduit (82). Il faut cependant faire attention à ce que le panel contienne bien des pathogènes tels que *Fingoldia magna* et *C. acnes* ce qui n'est pas le cas de tous les kits commerciaux.

c. Séquençage Nouvelle Génération

Le séquençage nouvelle génération (NGS), également connu sous le nom de séquençage à haut débit, est un terme commun utilisé pour décrire différentes technologies de séquençage moderne. Ces technologies récentes permettent de séquencer l'ADN et l'ARN (Acide Ribonucléique) beaucoup plus rapidement que les méthodes précédentes comme le séquençage de Sanger. Les technologies NGS présentent 3 étapes communes :

- La préparation de banques : les banques sont créées en utilisant une fragmentation aléatoire de l'ADN suivie de la liaison avec des petits séquences spécifiques ;
- L'amplification : la banque est amplifiée grâce à des méthodes d'amplification clonale et de PCR ;
- Le séquençage : l'ADN est séquencé en utilisant différentes approches en fonction de la technologie utilisée.

La technologie NGS la plus utilisée est la technologie Illumina®. Cette technologie utilise l'amplification clonale et le séquençage par synthèse (SBS). Le processus permet d'identifier simultanément les bases d'ADN lorsqu'elles sont incorporées dans la chaîne d'acide nucléique. Chaque base émet un signal de fluorescence unique lorsqu'elle est ajoutée au brin en cours de synthèse, ceci est utilisé pour déterminer la séquence d'ADN.

La technologie NGS peut être utilisée pour séquencer l'ADN de n'importe quel organisme, fournissant des informations précieuses en réponse à presque n'importe quelle question biologique. En tant que technologie hautement évolutive, le séquençage de l'ADN peut être appliqué à de petites régions ciblées ou à l'ensemble du génome grâce à une variété de méthodes.

Son application à la microbiologie et au diagnostic des IOAP a été évaluée par de nombreuses études dernièrement. Ces études se font majoritairement sur le liquide synovial (83) (84) ou sur liquide de sonication (85) ce qui limite le nombre de prélèvements utilisables. De plus, son coût est élevé, environ 300 dollars par patient (83) et son délai de rendu est supérieur aux PCR, environ 48h (83). Cependant, sa sensibilité est relativement bonne, environ 80% (83) et permet, dans certains cas, de trouver des bactéries même en cas de culture négative (86). Cependant, malgré une bonne sensibilité, le NGS reste moins sensible que la culture et la sensibilité la meilleure est obtenue en combinant la culture et le NGS (83).

L'identification par une approche métagénomique n'apparaît, pour le moment, pas comme une alternative suffisamment efficace, pour être utilisée en routine au laboratoire.

L'utilisation de ces méthodes génomiques pour la détection des résistances aux antibiotiques présentent de belles promesses. Elles sont spécifiques, présenteraient une bonne sensibilité pour des approches sans culture préalable. De plus, elles permettraient une standardisation et une lecture objective possible. En revanche, cette technique ne permet pas de savoir si un gène est exprimé ou non et donc le risque de faux positif est élevé. De plus, face à des mécanismes encore inconnus, le risque de faux négatifs est élevé (87).

Partie 2 : Étude expérimentale

I. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact de plusieurs changements dans le diagnostic microbiologique des IOAP au CHU de Caen. Ces changements ont été faits dans le but d'améliorer les performances analytiques du laboratoire de microbiologie. Pour cela, plusieurs modifications dans le traitement des prélèvements ont été faites d'après l'étude du CRIOGO de Janvier 2016 (77).

Le critère de jugement de cette étude est une amélioration de la concordance entre le résultat microbiologique (d'après les critères de l'IDSA) et le diagnostic fait en RCP.

Les objectifs secondaires de cette étude sont de réduire les coûts en diminuant aussi le nombre de milieux utilisés mais aussi de réduire le temps technicien dédié à ces IOAP (notamment pour les ensemencements, les lectures des cultures et les ED) afin de mieux répartir les ressources humaines du laboratoire.

II. Matériel et méthodes

1. Caractéristiques des prélèvements sélectionnés pour l'étude

Les prélèvements sélectionnés pour cette étude sont issus d'infections sur prothèses de hanches et genou. Ces deux prothèses ont été choisies car ce sont les deux types de prothèses les plus posées au CHU. Les types de prélèvements retenus sont les suivants :

- Les liquides articulaires préopératoires
- Les liquides articulaires per opératoires
- Les prélèvements de tissus périprothétiques per opératoires : os, collections périprothétiques, fausses membranes, abcès, produits de fraisage ...

Les écouvillonnages et les écoulements de plaie n'ont pas été sélectionnés pour cette étude conformément aux recommandations de la SPILF (45).

Pour inclure ces prélèvements, nous avons sélectionné les codifications T840 et T845 selon la DIM (Département de l'information Médicale). Ces codifications représentent les séjours suivants : T840 : « Complication mécanique d'une prothèse articulaire interne » et T845 : « Infection et réaction inflammatoire dues à une prothèse articulaire interne ». Sur ces séjours, nous avons répertorié les données suivantes : types de prélèvements faits, bactéries rencontrées et le nombre de prélèvements positifs par patient pour ces séjours.

Le diagnostic global retenu en RCP suit les recommandations de l'IDSA (79). Le critère microbiologique suit aussi les recommandations de l'IDSA. Nous avons regardé l'impact du changement de protocole d'ensemencement des prélèvements d'IOAP sur le critère microbiologique par rapport au diagnostic d'IOAP retenu en RCP.

2. Cultures microbiologiques

a. Avant le changement de méthode

Avant le changement de méthode, le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèses se faisait sur 5 échantillons. Les milieux ensemencés étaient au nombre de 5 par échantillon. Il y avait :

- Une gélose au sang cuit ou gélose chocolat incubée en atmosphère enrichie au CO₂ (5%) avec 50 µL (une goutte) pendant 5 jours ;
- Une gélose au sang incubée en aérobiose avec 50 µL (une goutte) pendant 3 jours ;
- Une gélose au sang incubée en anaérobiose avec 50 µL (une goutte) pendant 5 jours ;
- Une gélose BCP (BromoCrésol Pourpre) incubée en aérobiose avec 50 µL (une goutte) pendant 3 jours ;
- Un bouillon Schaedler® incubé en aérobiose avec 150-200 µL (3-4 gouttes) pendant 14 jours.

Les prélèvements osseux et les tissus étaient broyés dans des broyeurs à bille de marque Ultra-turrax® contenant 2mL d'eau ARN free. L'eau ARN free est une eau ne contenant aucun matériel génétique (ARN et/ou ADN) et permettant la réalisation de PCR à partir du broyat sans risque de contamination. Un examen direct était fait sur tous les prélèvements, que ce soit les liquides articulaires ou les prélèvements broyés.

b. Après le changement de méthode

Le changement de méthode s'est fait suite à l'article de Bémer et al. (77) concernant le nombre et le type de milieux utilisables pour le diagnostic des IOAP. Nous avons aussi regardé ce qui se faisait dans d'autres laboratoires de microbiologie pour ajuster notre choix sur les milieux à utiliser, les volumes à ensemencer et les durées d'incubation (voir tableau 11 lignes bleues dans le tableau).

Les milieux qui ont été retenus sont les suivants :

- Un flacon d'hémoculture anaérobie ensemencé avec 3 à 5 mL de broyat et incubée pendant 15 jours ;
- Une gélose au chocolat ensemencée avec 3-4 gouttes (150-200 μ L) de broyat et incubée en atmosphère enrichie en CO₂ pendant 5 jours ;
- Une gélose au sang ensemencée avec 3-4 gouttes (150-200 μ L) de broyat et incubée en anaérobiose pendant 5 jours.

Les géloses ensemencées sont lues au bout de 24h puis tous les jours.

Les broyeurs utilisés sont toujours des broyeurs à billes de marque Ultra-turrax® mais leur volume est désormais de 5mL. Cette différence de volume permet d'avoir plus de volume de broyage pour les biopsies et donc plus de volume à ensemencer dans les flacons hémoculture avec un objectif entre 3 et 5 mL. Ceci peut aussi avoir un effet indésirable qui est de diluer les échantillons et donc les bactéries dans le liquide de broyage. L'examen direct n'est plus fait que sur les liquides articulaires dorénavant, sa sensibilité étant trop mauvaise sur les prélèvements broyés (Voir partie Résultats).

La figure 7 illustre ces changements de méthode.

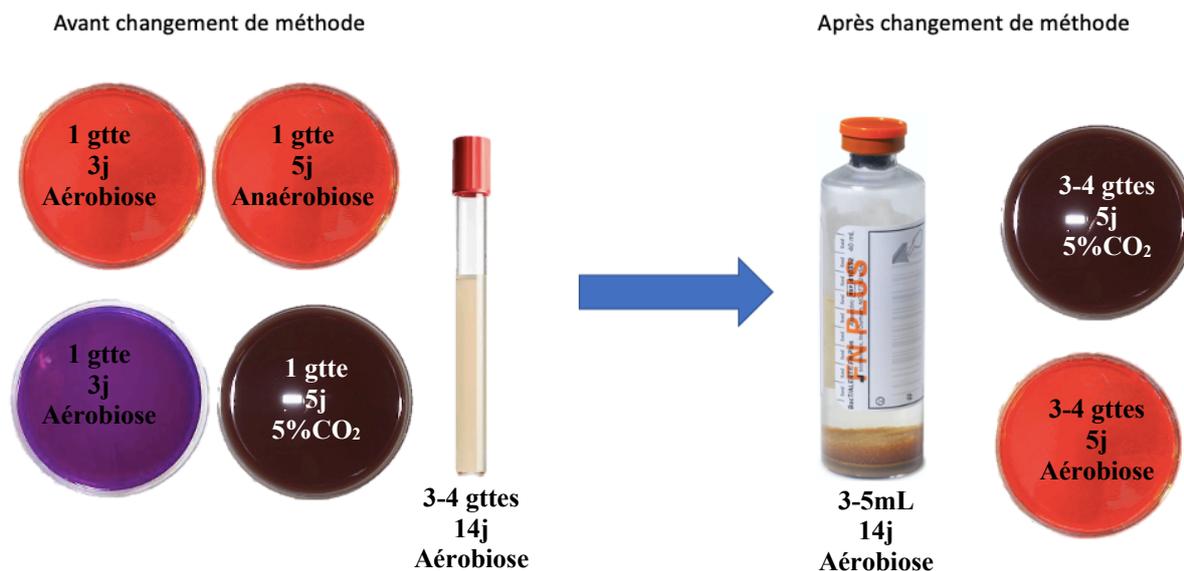


Figure 6 - Milieux utilisés avant et après changement de méthode

De plus, pour pouvoir mener à bien ce changement de méthode, d'autres petits changements ont été faits au laboratoire. Les aiguilles et seringues permettant le transfert des échantillons dans les flacons d'hémoculture ont été modifiées. La seringue est maintenant de 10mL et les aiguilles ont un gauge plus important afin de ne pas se boucher avec les broyats.

III. Résultats

1. Avant le changement de méthode

a. Statistiques générales

Au CHU de Caen, sur l'année 2019, il y a eu 267 séjours pour des descellements aseptiques et des IOAP de hanche et genou dont 106 pour lesquels le service de microbiologie a reçu des prélèvements : 101 pour des IOAP et 10 pour des descellements aseptiques pour lesquels il y avait un doute d'IOAP. Pour ces 101 séjours, le laboratoire de Microbiologie a reçu 10 liquides articulaires préopératoires, 62 liquides articulaires peropératoires et 435 prélèvements de tissus périprothétiques peropératoires.

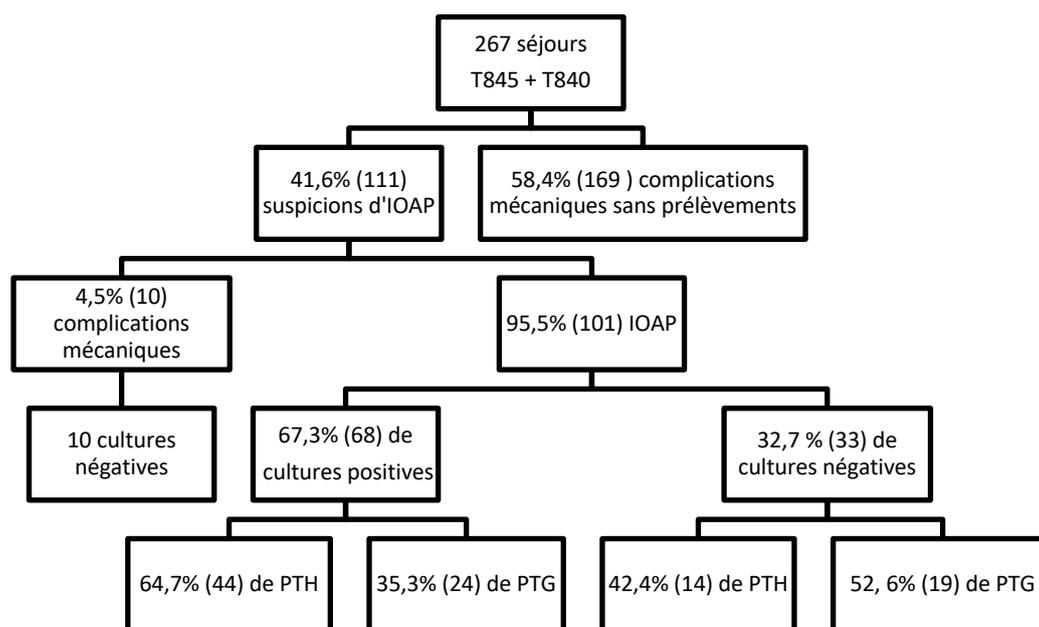


Figure 7 - Flow chart des prélèvements traités au laboratoire de Microbiologie avant changement de méthode

La répartition de ces séjours est de 57% pour les PTH et 43% pour les PTG. Assez logiquement, on retrouve plus d'infections de PTH (56%) que d'infection de PTG (44%). Le flow-chart ci-dessus récapitule tout cela (voir figure 8).

Le nombre moyen de prélèvements par patients était de 4,9 (1-8). En principe, si plus de 5 prélèvements sont reçus, une non-conformité est réalisée afin d'indiquer au service prescripteur que seuls 5 prélèvements sont acceptés etensemencés et le biologiste voit avec le clinicien quels prélèvements privilégier.

Pour l'examen direct, toutes IOAP confondues, la sensibilité de l'ED pour les liquides articulaires préopératoires est de 10% et de 9,7 % en peropératoire. Pour les pus, la sensibilité de l'ED est de 8,8%. La spécificité pour tous ces prélèvements est de 100% dans les deux cas.

Le pourcentage de concordance de la microbiologie au diagnostic d'infection sur prothèse est de 67,3 % toutes prothèses confondues (voir figure 8).

b. IOAP de Hanche : Écologie bactérienne et concordance du critère microbiologique au diagnostic

L'écologie des IOAP de hanche est dominée par les staphylocoques avec plus de la moitié des infections (voir figure 9). Le staphylocoque le plus représenté est *S. aureus*. Les bactéries qui sont le plus retrouvées ensuite sont des bactéries de la flore digestive

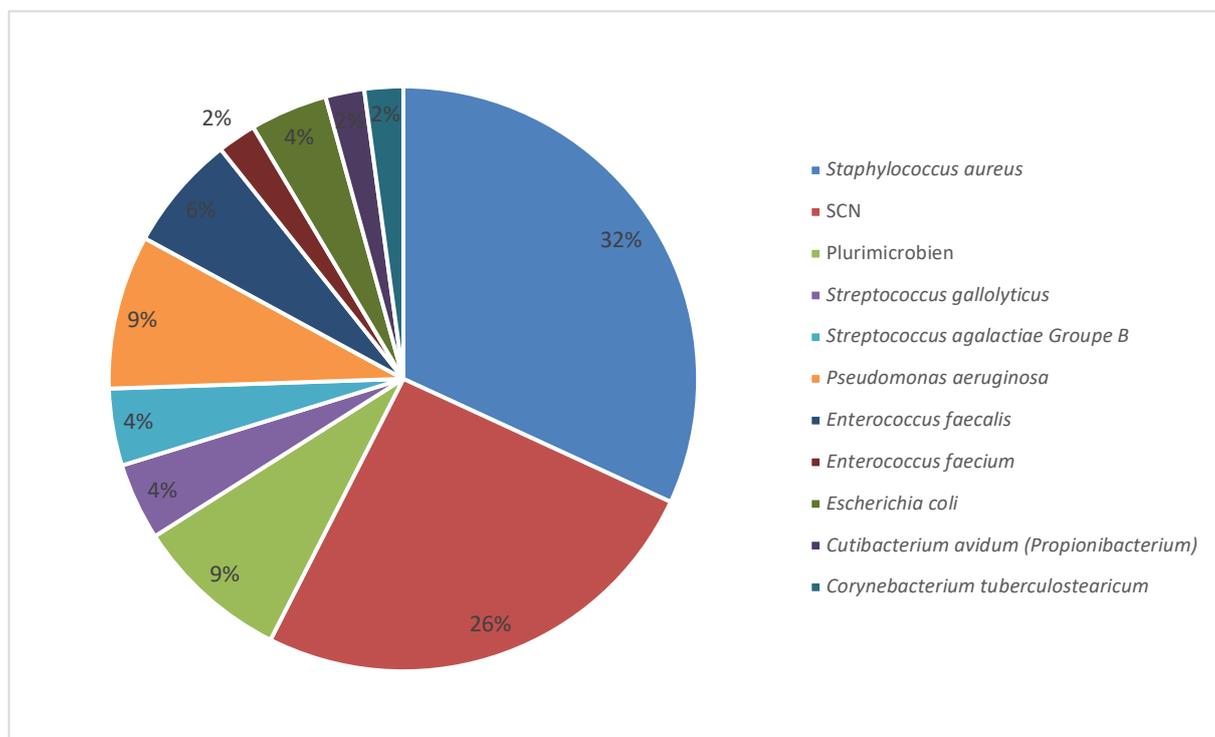


Figure 8 - Écologie des IOAP de hanche

Au sein des SCN, c'est *Staphylococcus epidermidis* qui est le staphylocoque le plus présent dans les IOA de hanche, suivi par *Staphylococcus lugdunensis* puis *Staphylococcus capitis*.

Le pourcentage de concordance de la microbiologie au diagnostic d'IOAP est de 74,5% pour les PTH. C'est à dire que dans des 25,5% des cas, les cultures restent stériles cependant, dans un peu moins de la moitié des cas, de nouveaux prélèvements ont été faits lors d'un nouveau séjour pour IOAP et l'infection a été documentée microbiologiquement. Parmi les prélèvements revenus négatifs aucune recherche d'ARN 16s n'a été faite. Les prélèvements de descelllements aseptiques avec un doute sur un IOAP que nous avons reçus sont tous restés stériles. Lors de 3 séjours codés comme étant une complication mécanique, des prélèvements ont été faits et sont tous revenus positifs (un à *S. aureus*, un à *E. coli* et un à *S. epidermidis*) ce qui a permis de revenir sur le diagnostic de complication mécanique vers une IOAP.

c. IOAP de Genou : Écologie bactérienne et concordance du critère microbiologique au diagnostic.

L'écologie des IOAP de genou est dominée par les staphylocoques, environ 70% des infections, avec *S. aureus* en chef de file (voir figure 10). Parmi les SCN, le plus représenté est, comme pour les PTH, *S. epidermidis*.

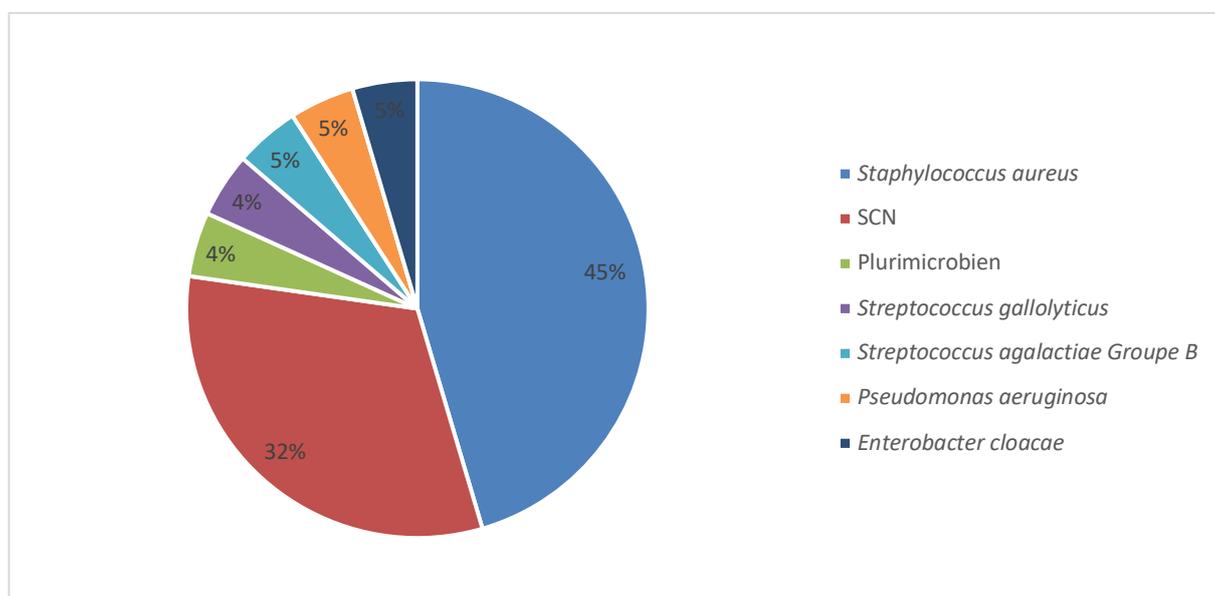


Figure 9 - Écologie des IOAP de genou

Les autres bactéries représentées sont majoritairement des bactéries de la flore digestive.

Le pourcentage d'adéquation au diagnostic d'IOAP de genou, selon les critères de la SPILF est de 56% donc dans 44% des cas, la microbiologie est restée négative malgré une infection, cependant, dans un peu moins de la moitié des cas, de nouveaux prélèvements ont été faits lors d'un nouveau séjour pour IOAP et l'infection a été documentée microbiologiquement. Parmi ces prélèvements négatifs, aucune recherche d'ARN 16s n'a été faite. De plus, dans 52% des cas, la bactérie en cause n'a pas été identifiée.

2. Après le changement de méthode

L'épidémie de Covid-19 ayant entraîné des réorganisations dans la programmation des chirurgies orthopédiques, l'année 2020 n'a pas été incluse dans cette étude. De plus, le matériel nécessaire pour le changement de méthode ayant tardé à arriver, la nouvelle méthode n'a été mise en routine qu'à partir du 9 mai 2021.

a. Statistiques générales

Depuis début mai 2021, il y a eu 60 séjours concernant des IOAP et descellements aseptiques dont 22 pour des IOAP et 38 pour des descellements aseptiques. Parmi les 22 IOAP, 15 ont été correctement enregistrées par le laboratoire et 7 l'ont mal été. Par conséquent, les échantillons n'ont pas étéensemencés avec le bon protocole. Dans les 15 IOAP correctement enregistrées, 11 concernaient des PTH et 4 des PTG. Pour ces 15 IOAP, nous avons reçu au laboratoire : 8 liquides articulaires peropératoires et 61 prélèvements de tissus périprothétiques peropératoires. Le Flow chart suivant (voir figure 11) récapitule cela.

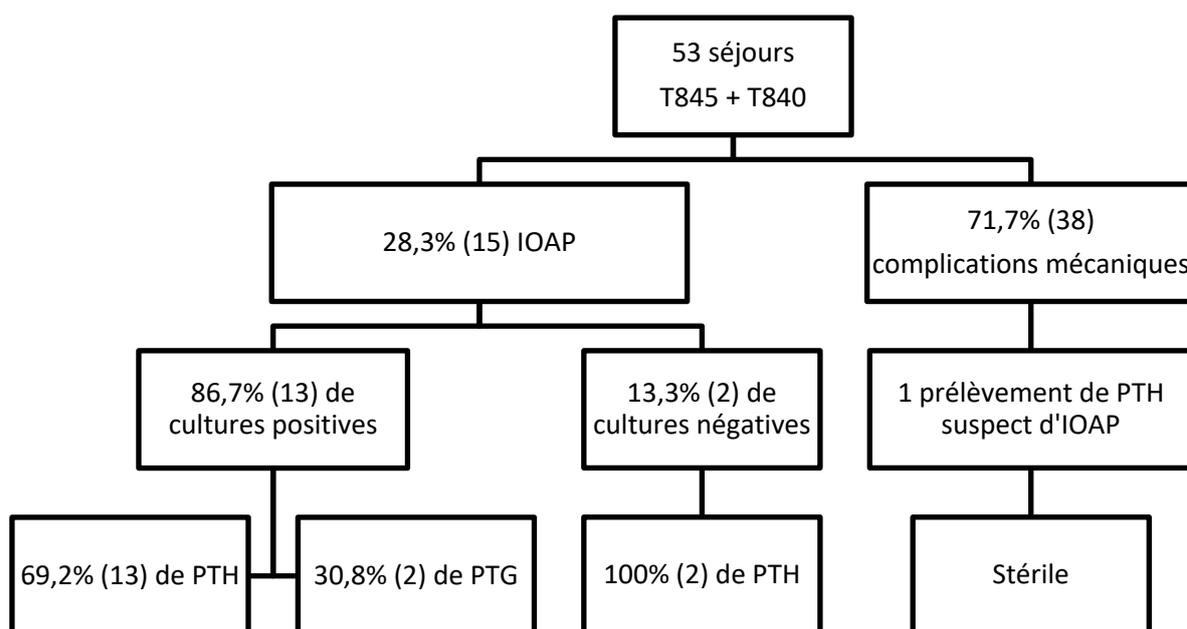


Figure 10 - Flow chart des prélèvements traités au laboratoire de Microbiologie après changement de méthode

Le nombre moyen de prélèvements par IOAP est de 3,8 (1-8) par patient. L'examen direct n'étant plus fait que sur les liquides articulaires, 6 ED ont été réalisés et 1 est revenu positif toutes prothèses confondues. La sensibilité est de l'ED est donc de 16,7 % sur cette période avec toujours une spécificité de 100%. La concordance du critère microbiologique au diagnostic toutes prothèses confondues est de 86,7%.

b. IOAP de Hanche : Écologie bactérienne et concordance du critère microbiologique au diagnostic

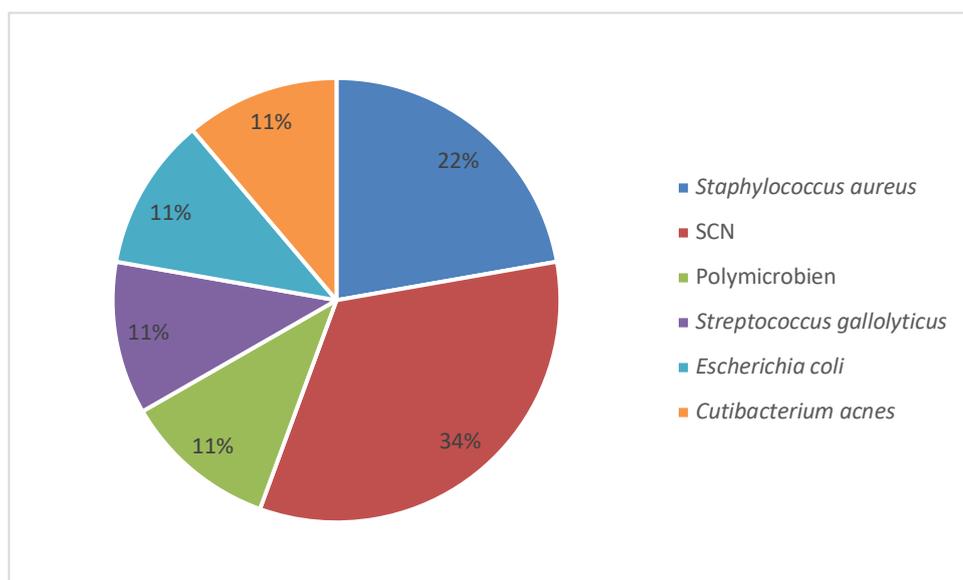


Figure 11 - Écologie des IOAP de hanche

L'écologie des IOAP de hanche reste dominée par les staphylocoques avec toujours *S. aureus* en chef de file.

Le taux de concordance du critère microbiologique au diagnostic pour les IOAP de PTH est de 82%. Une recherche d'ARN 16s a été faite pour l'un des deux prélèvements négatifs, elle est revenue positive sans pouvoir identifier le germe en cause. Pour la deuxième patiente, elle est connue avec un sepsis chronique à *E. coli* sur sa PTH et était traitée par Ceftriaxone depuis 3 mois au moment de la reprise chirurgicale.

c. IOAP de Genou : Écologie bactérienne et concordance du critère microbiologique au diagnostic

Depuis mai 2021, il y a eu 4 IOAP suspectées de genou. Sur ces 4 IOAP, toutes ont été confirmées en culture, les bactéries incriminées sont *S. aureus*, *Staphylococcus schleiferi* (un staphylocoque à coagulase négative) et *Streptococcus dysgalactiae* et il y a eu une infection fongique de prothèse avec *Candida parapsilosis*.

La concordance du critère microbiologique au diagnostic d'IOAP est de 100% sur ce faible effectif.

3. Coût du changement de protocole d'ensemencement

Concernant le coût matériel de ce changement de protocole, il est détaillé dans le tableau ci-dessous (voir tableau 12).

Tableau 12 - Calcul du coût du changement de protocole

	Avant changement de méthode (en euros TTC)	Après changement de méthode (en euros TTC)
Gélose au sang	0,66	0,33
Gélose au sang cuit	0,33	0,33
Gélose BCP	0,3	
Bouillon Schaedler®	0,67	
Hémoculture anaérobie		1,74
Coût global par échantillon	1,95	2,4
Coût global par séjour pour IOAP	9,8	9,6

Nous sommes donc passé d'un coût de 9,8 euros pour le matériel nécessaire au protocole de recherche d'IOAP à 9,6 euros.

Conclusion – Discussion

L'objectif principal de cette étude est d'améliorer la sensibilité de la microbiologie dans le diagnostic des IOAP. Pour cela, nous avons procédé à un changement de protocole d'ensemencement des prélèvements réalisés lorsqu'une IOAP était suspectée.

Avant ce changement de protocole d'ensemencement, 32,7% des cultures étaient stériles malgré un diagnostic clinique d'IOAP. Le critère microbiologique n'était donc rempli que dans 65% des cas. La stérilité de ces cultures est liée à 2 facteurs : le manque de sensibilité des milieux de culture et l'antibiothérapie. En effet, lorsque l'état clinique du patient le nécessitait, l'antibiothérapie était débutée avant même les prélèvements. Le plus souvent, il s'agissait de bactériémies. L'utilisation du flacon d'hémoculture, en plus de son excellente sensibilité permet d'augmenter le pourcentage de concordance au diagnostic grâce à l'augmentation du volume ensemencé (3 à 5mL versus 50 µL avant changement de méthode), à la présence d'un bouillon nutritif au sein du flacon d'hémoculture, une agitation permanente des flacons au sein de l'automate et la présence de résines adsorbant les antibiotiques.

Le flacon d'hémoculture anaérobie a été retenu devant les autres types car il permet, avec une très bonne sensibilité, de faire pousser des bactéries anaérobies, aéro-anaérobies facultatives et les bactéries anaérobies aérotolérantes tout comme la gélose au sang en anaérobie. De plus, les flacons d'hémocultures sont incubés dans un Virtuo® de chez Biomerieux®, qui permet une lecture automatisée de la pousse bactérienne au sein des flacons d'hémoculture. En effet, une détection automatique du dégagement de CO₂, produit par les bactéries, au sein du flacon est faite par l'automate. Les bactéries aérobies strictes pousseront seulement sur la gélose chocolat. Avec ces trois milieux, tous les métabolismes respiratoires bactériens sont couverts. Lorsque le flacon d'hémoculture est positif, il est repiqué sur deux géloses au sang mises en aérobiose et anaérobiose et un ED est réalisé.

L'étude de Bémer et al. laissait le choix entre un bouillon Schaedler® et une gélose anaérobie pour le milieu de choix pour les bactéries anaérobies. Malgré des performances légèrement supérieures de Schaedler® dans cette étude, notre choix s'est porté sur la gélose anaérobie car elle permet de séparer plus facilement les bactéries lors d'une infection polymicrobienne. En effet, en cas de présence de *S. aureus* et d'une bactérie anaérobie, le staphylocoque, de par son développement rapide, va très rapidement troubler le Schaedler® alors que la bactérie anaérobie n'aura pas eu encore le temps de pousser. En revanche, l'avantage du Schaedler® est qu'il permet d'ensemencer plus de volume, il a par conséquent une meilleure sensibilité et il permet aussi aux bactéries aérobies strictes de pousser. La recommandation de durée d'incubation de la gélose anaérobie dans cette étude était de 7 jours,

actuellement nous incubons la gélose 5 jours comme pour toutes les autres géloses anaérobies. Cette durée d'incubation pourra être augmentée à l'avenir en fonction des performances du nouveau protocole.

L'épidémie de Covid-19, qui a débuté début 2020, a entraîné énormément de déprogrammation de chirurgies. C'est près de 85% des chirurgies en France qui ont été reportées durant la crise Covid (88). C'est pourquoi nous n'avons pas inclus cette année dans les statistiques. La diminution du nombre de pose de prothèses en 2020 a eu des répercussions sur le nombre de descellement aseptiques et d'infections sur prothèses début 2021.

Cette méthode n'a été mise en routine qu'à partir du 9 mai 2021. Tout ce contexte explique le peu de séjours pour suspicion d'IOAP inclus après changement de méthode.

Ainsi il n'a pas été possible d'obtenir des statistiques significatives avant et après changement de méthode. Des statistiques non paramétriques ont été faites retrouvant toutes un p non significatif ($p=1$). Une étude plus approfondie sur une plus grande durée est nécessaire. Cependant, certaines tendances se détachent et sont à confirmer sur plus de séjours et plus de prélèvements. Cela sera fait en mai 2022.

Le nombre de prélèvements reçus pour l'ensemencement est passé de 5 à 4 et permettrait à l'avenir d'en faire parvenir un cinquième afin qu'il soit examiné au laboratoire d'anatomopathologie afin de répondre mieux répondre au critère de l'IDSA.

D'un point de vue médico-économique, la diminution du nombre de prélèvements utilisés et du nombre de milieux ensemencés permet de maintenir un coût constant pour le laboratoire de microbiologie du CHU de Caen (voir tableau 12).

Le pourcentage global de concordance du critère microbiologique au diagnostic, toutes prothèses confondues a augmenté, passant de 67,3% à 86,7%. Le pourcentage de concordance au diagnostic pour les IOAP de hanche est légèrement plus élevé après le changement de protocole (81,8%) qu'avant changement de méthode (74,5%).

Le peu de prélèvements m'a permis de vérifier les causes de stérilité des prélèvements arrivés au laboratoire. Il s'agit de 2 séjours pour IOAP chez deux patientes différentes. La première est une patiente qui est connue pour un sepsis chronique à *E. coli* sur PTH. Lors des prélèvements pour son changement de prothèse, elle était déjà sous antibiothérapie (Ceftriaxone) depuis plusieurs semaines ce qui peut expliquer la négativité des prélèvements réalisés. Concernant la deuxième patiente, 3 liquides articulaires ont été prélevés avant l'opération et un seul est revenu positif à *Parvimonas micra* dans un laboratoire externe au CHU.

P. micra est un cocci GRAM positif anaérobie fréquemment isolé dans la plaque dentaire des personnes atteintes de parodontite (89). Lors d'interventions dentaires, il arrive que cette bactérie passe dans le compartiment sanguin et aille coloniser une articulation ou un os entraînant alors arthrite septique ou ostéomyélite (90). Chez cette patiente, aucune intervention dentaire n'est décrite avant l'infection. Dans le cas de cette patiente, les cultures microbiologiques classique ont été mises en défaut mais la recherche de l'ARN 16s par PCR a permis le diagnostic.

Au niveau de l'épidémiologie bactérienne des IOAP de hanche, elles sont restées essentiellement les mêmes, avec une majorité de staphylocoque et *S. aureus* en bactérie la plus représentée ce qui est conforme à la littérature (91).

Concernant les IOAP de genou, le taux d'adéquation a considérablement augmenté avec la mise en place de la nouvelle méthode avec un passage de 55,8% à 100% de concordance au diagnostic. En regard du trop faible échantillon d'épisode d'IOAP après changement de méthode (uniquement 4), les statistiques sont non significatives ($p=1$). Il en est de même pour l'écologie bactérienne des IOAP de genou. Cette excellente statistique est à confirmer sur d'autres prélèvements.

Une étude plus approfondie des cultures revenues positives, après changement de méthode, a été faite. Cela concerne 12 patients : 9 avaient une PTH et 3 une PTG. Parmi ces patients, 5 ont été prélevés alors qu'ils étaient sous antibiotiques depuis au maximum 48h. Deux raisons expliquent cela. Tout d'abord, 2 patients ont eu des flacons d'hémocultures positifs ce qui a conduit à la mise en place d'une antibiothérapie. Enfin, les 3 autres patients avaient eu un liquide articulaire préopératoire qui était positif et donc l'IOAP était déjà documentée. Malgré ces antibiothérapies, l'utilisation des flacons hémocultures a permis d'obtenir les bactéries incriminées.

Avant changement de méthode, 32,7% des cultures étaient négatives. Lors d'une culture négative et afin de documenter l'infection, il peut être discuté en RCP la réalisation d'une PCR ARN 16s. Aucune n'a été faite pour ces prélèvements. En revanche, dans un peu moins de la moitié des cas, de nouveaux prélèvements ont été faits et ont permis de documenter l'infection.

La mise en place de l'ensemencement en flacon d'hémoculture n'a, pour le moment, pas provoqué de faux positifs (par contamination du flacon) et donc entraîné un surdiagnostic. Ces faux positifs provoqueraient une augmentation du temps technique nécessaire et la réalisation d'examen complémentaires (antibiogrammes principalement). C'est un paramètre qui sera à surveiller.

Concernant l'examen direct des prélèvements ostéo-articulaires et des liquides articulaires, la sensibilité avant changement de méthode était en accord avec statistiques retrouvées dans plusieurs études (voir tableau 9). Après changement de méthode, la sensibilité de l'examen direct, sur les liquides articulaires, a légèrement augmenté passant de 9,7% en préopératoire et 10% en post-opératoire à 16,7% après changement de protocole. Ceci est à modérer par le faible nombre de liquides articulaires (6 pour des PTH et 3 pour des PTG) reçus sur cette période et nécessite d'être confirmé sur plus de prélèvements.

Les statistiques que laisse entrevoir ce changement de méthode sont très prometteuses mais vont nécessiter d'être confirmées sur plus d'épisodes d'IOAP. Un bilan sera réalisé en mai 2022.

Cette étude a permis aussi de mettre en évidence un problème d'enregistrement des prélèvements pour près de 32% d'entre eux. Pour procéder à ce changement de méthode, un nouveau bon de demande pour la prescription des examens a été créé et les anciens bons ont été jetés.

La secrétaire des blocs opératoire a été contactée afin d'enlever les anciens bons et de les remplacer par les nouveaux. Cependant, plusieurs épisodes d'IOAP ont été enregistrés sous des anciens bons et n'ont donc pas été ensemençés selon la nouvelle méthode microbiologique.

De même, certains épisodes d'IOAP ont été envoyés au laboratoire avec le bon de prescription adapté mais la recherche d'analyse demandée par cochage d'une case sur le bon n'était pas la bonne. Bien que la précision de la présence d'une PTH ou PTG était écrite manuellement sur le bon, ces deux erreurs n'ont été corrigées ni par l'Accueil Biologique Commun (ABC) chargé d'enregistrer les prélèvements, ni par le laboratoire de microbiologie.

Ces erreurs ont eu lieu au tout début du changement de protocole et aucune erreur d'enregistrement n'est à déplorer pour le mois de Juillet.

Le laboratoire de Microbiologie du CHU de Caen ayant une volonté permanente d'amélioration, de nouvelles techniques microbiologiques plus performantes sont mises en routine régulièrement.

Dernièrement, des étuves intelligentes ont été mises en place au laboratoire. Ces étuves permettent l'incubation des géloses et la prise de clichés pour évaluer s'il y a une pousse bactérienne ou non. De plus, l'étuve n'étant que très rarement ouverte, les géloses au sang cuit incubées en CO₂ ne subiront pas de variations d'atmosphère ni de température comme elles subissaient avant lors des ouvertures fréquentes de l'étuve et des ouvertures de boîtes. Ceci permettrait de réduire les temps de pousse. De plus, ces étuves prenant des clichés des géloses, il est maintenant possible de programmer une lecture des géloses à J1, J2 et J5 tout en conservant les géloses dans la bonne atmosphère et ainsi éviter les manipulations et donc les risques de contamination. Lors de la mise en place d'un nouvel incubateur complètement clos et stable en température pour les flacons d'hémoculture, nous avons gagné 2h de temps quant à la positivité du prélèvement. Il sera intéressant de mesurer ce paramètre à l'avenir.

Dorénavant, les liquides articulaires ne sont plus envoyés au laboratoire d'Hématologie pour réaliser la cytologie du liquide car elle est maintenant réalisée en Microbiologie. En effet, l'acquisition récente d'un automate de cytologie des liquides permet de réaliser la cytologie au laboratoire de Microbiologie. Ceci permet au préleveur de faire un flacon stérile de moins et donc de diminuer les manipulations du prélèvement et donc les risques de contamination. De plus, nous avons un plus grand volume de prélèvement qui est envoyé en Microbiologie. Ce sont les techniciens qui gèrent les examens à faire en fonction de la quantité de prélèvement reçu, avec en priorité l'ensemencement du flacon d'hémoculture. En cas de réception d'une quantité importante de liquide articulaire, le technicien pourra mettre jusqu'à 5mL dans le flacon d'hémoculture et ainsi augmenter la sensibilité de la recherche microbiologique ce qui n'était pas fait avant, les géloses étaient ensemencées et 400 µL étaient utilisés au maximum.

Concernant le diagnostic des IOAP, les perspectives d'avenir à court ou moyen terme sont nombreuses.

Tout d'abord en apportant certaines modifications qui ont déjà été faites dans certains laboratoires d'autres CHU.

L'utilisation de broyeurs de la marque Ultra-turrax®, majoritairement utilisés dans les autres CHU (voir tableau 11), permettrait une meilleure extraction des bactéries du biofilm et permettrait ainsi d'augmenter la sensibilité des cultures microbiologiques. De plus, le broyage de prélèvements périprothétiques, par rapport à la sonication, permettrait de ne pas retirer la prothèse. La mise en place de ce type de broyeurs a un coût, de plus la place prise par le broyeur et son caisson d'isolation phonique est importante et ils ne peuvent pas être utilisés sous un PSMII. Ce type de broyeurs a été demandé au plan médical d'équipement de 2023 et, si cette demande est acceptée, ils seront utilisés en routine dans le nouveau CHU.

La sonication des prélèvements impliquerait de grands changements logistiques au laboratoire de microbiologie mais il permettrait de rechercher la présence de l'agent pathogène sur toute la prothèse et non plus sur des prélèvements périprothétiques. Ceci permettrait, avec un risque de faux positifs (73), d'augmenter encore plus la sensibilité de la culture microbiologique. De plus, la sonication permet de mieux extraire les bactéries présentes dans un biofilm (71). Ce projet d'acquisition de sonicateur paraît compliqué avec la reconstruction du CHU à venir. En effet, avec le nouveau CHU, les blocs opératoires seront très loin du laboratoire de microbiologie et les pneumatiques mis en place ne pourront pas contenir une cuve de sonication avec la prothèse dedans. L'utilisation du DTT pourrait être une alternative intéressante à la sonication et son utilisation va être envisagée à l'avenir.

Enfin, la biologie médicale, et plus particulièrement la microbiologie, étant en constante évolution, l'arrivée de nouvelles techniques de diagnostic devrait avoir lieu. Ces techniques pour l'instant réservées aux grands centres, aux CNR et ou utilisées en recherche vont, à moyen terme, être utilisées en routine.

Parmi ces techniques, la métagénomique est la plus avancée. En séquençant tout ce qui est présent dans un broyat ou un sonicat, les microbiologistes pourraient mettre en évidence à la fois des bactéries à croissance difficile, ou lente, et des gènes de résistance aux antibiotiques, ou de pathogénicité (85). L'inconvénient de cette technique est qu'elle permet de connaître le génotype d'une bactérie mais pas son phénotype. C'est-à-dire qu'elle permet de savoir si un gène est présent mais pas s'il est exprimé. Un séquençage permettant d'obtenir énormément de données sur un prélèvement, le microbiologiste aura pour mission de sélectionner ce qui est digne d'intérêt pour concourir au diagnostic d'IOAP et cette interprétation bio-informatique est difficile. Cette nouvelle méthode nécessiterait aussi une augmentation de temps technique avec des techniciens formés spécialement à cette nouvelle méthode.

À terme, si les statistiques observées durant cette étude sont confirmées, cette méthode pourrait être mise en place pour tous les prélèvements ostéo-articulaires hors prothèse.

Bibliographie

1. Trampuz A, Widmer AF. Infections associated with orthopedic implants. *Curr Opin Infect Dis.* août 2006;19(4):349-56.
2. Grammatico-Guillon L, Baron S, Gettner S, Lecuyer A-I, Gaborit C, Rosset P, et al. Bone and joint infections in hospitalized patients in France, 2008: clinical and economic outcomes. *J Hosp Infect.* sept 2012;82(1):40-8.
3. Bora A. Infections sur prothèse en chirurgie orthopédique. 2021;30.
4. 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.* oct 2014;52(10):3583-9.
5. Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am.* avr 2007;89(4):780-5.
6. Cordero-Ampuero J, de Dios M. What are the risk factors for infection in hemiarthroplasties and total hip arthroplasties? *Clin Orthop.* déc 2010;468(12):3268-77.
7. Mandal S, Berendt AR, Peacock SJ. Staphylococcus aureus bone and joint infection. *J Infect.* avr 2002;44(3):143-51.
8. Allais É. Diagnostic bactériologique des infections ostéo-articulaires : apport d'une nouvelle technique basée sur la technologie des puces à ADN. Thèse d'exercice. 2010;
9. Gutierrez K. Bone and joint infections in children. *Pediatr Clin North Am.* juin 2005;52(3):779-94, vi.
10. García-Arias M, Balsa A, Mola EM. Septic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* juin 2011;25(3):407-21.
11. Pilly E, Épaulard O, Le Berre R, Chirouze C, Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (France). ECN.Pilly 2020: maladies infectieuses et tropicales : prépa. ECN, tous les items d'infectiologie. 2019.
12. Cottle L, Riordan T. Infectious spondylodiscitis. *J Infect.* juin 2008;56(6):401-12.
13. DGOS. Infections Ostéo-Articulaires complexes [Internet]. Ministère des Solidarités et de la Santé. 2021 [cité 8 janv 2021]. Disponible à: <https://solidarites->

sante.gouv.fr/soins-et-maladies/prises-en-charge-specialisees/infections-osteo-articulaires/article/infections-osteo-articulaires-complexes

14. Infection ostéoarticulaire | Espace santé HCL [Internet]. [cité 31 mai 2021]. Disponible à: <https://www.chu-lyon.fr/fr/infection-osteoarticulaire>
15. Matt M, Bessis S. Infections ostéo-articulaires. *Med Mal Infect.* 2019;49 Suppl 1:S1-5.
16. Periprosthetic Joint Infections - Clinical Practice Guideline | American Academy of Orthopaedic Surgeons [Internet]. [cité 1 juin 2021]. Disponible à: <https://www.aaos.org/quality/quality-programs/tumor-infection-and-military-medicine-programs/diagnosis--prevention-of-periprosthetic-joint-infections/>
17. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med.* 14 oct 2004;351(16):1645-54.
18. Tsukayama DT, Estrada R, Gustilo RB. Infection after total hip arthroplasty. A study of the treatment of one hundred and six infections. *J Bone Joint Surg Am.* avr 1996;78(4):512-23.
19. Bernard L. Mécanismes physiopathologiques des infections sur matériel orthopédique. *Rev Rhum - REV RHUM.* 1 avr 2006;73:327-31.
20. Crémet L, Broquet A, Brulin B, Jacqueline C, Dauvergne S, Brion R, et al. Pathogenic potential of *Escherichia coli* clinical strains from orthopedic implant infections towards human osteoblastic cells. *Pathog Dis.* nov 2015;73(8):ftv065.
21. Masson E. Infection ostéoarticulaire [Internet]. EM-Consulte. [cité 3 juin 2021]. Disponible à: <https://www.em-consulte.com/article/917284/infection-osteoarticulaire>
22. Zimmerli W, Lew PD, Waldvogel FA. Pathogenesis of foreign body infection. Evidence for a local granulocyte defect. *J Clin Invest.* avr 1984;73(4):1191-200.
23. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev.* juill 1997;10(3):505-20.
24. von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis.* nov 2002;2(11):677-85.
25. Phadnis J, Gordon D, Krishnan J, Bain GI. Frequent isolation of *Propionibacterium acnes* from the shoulder dermis despite skin preparation and prophylactic antibiotics. *J Shoulder Elbow Surg.* févr 2016;25(2):304-10.

26. Achermann Y, Goldstein EJC, Coenye T, Shirtliff ME. Propionibacterium acnes: from Commensal to Opportunistic Biofilm-Associated Implant Pathogen. Clin Microbiol Rev. juill 2014;27(3):419-40.
27. Levy PY, Fenollar F, Stein A, Borriero F, Cohen E, Lebaill B, et al. Propionibacterium acnes postoperative shoulder arthritis: an emerging clinical entity. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 15 juin 2008;46(12):1884-6.
28. Boisrenoult P. Cutibacterium acnes prosthetic joint infection: Diagnosis and treatment. Orthop Traumatol Surg Res OTSR. févr 2018;104(1S):S19-24.
29. Tropism and virulence of Cutibacterium (formerly Propionibacterium) acnes involved in implant-associated infection - PubMed [Internet]. [cité 9 juin 2021]. Disponible à: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28454760/>
30. Lemaignen A, Bernard L, Marmor S, Ferry T, Grammatico-Guillon L, Astagneau P, et al. Epidemiology of complex bone and joint infections in France using a national registry: The CRIOAc network. J Infect. févr 2021;82(2):199-206.
31. Fourcade C, Bouige A, Lourtet-Hascouet J, Gautié L, Marlin P, Bicart-See A, et al. Infections de prothèse articulaire à candida sp.: a propos de 21 cas. :14.
32. Brown TS, Petis SM, Osmon DR, Mabry TM, Berry DJ, Hanssen AD, et al. Periprosthetic Joint Infection With Fungal Pathogens. J Arthroplasty. août 2018;33(8):2605-12.
33. Flemming H-C, Wingender J. The biofilm matrix. Nat Rev Microbiol. sept 2010;8(9):623-33.
34. Tremblay YDN, Hathroubi S, Jacques M. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. Can J Vet Res. avr 2014;78(2):110-6.
35. Lebeaux D, Ghigo J-M. Infections associées aux biofilms: Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale? médecine/sciences. août 2012;28(8-9):727-39.
36. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. Cell Microbiol. juill 2009;11(7):1034-43.
37. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat Rev Drug Discov. févr 2003;2(2):114-22.
38. Landini P, Antoniani D, Burgess JG, Nijland R. Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. Appl Microbiol Biotechnol. avr 2010;86(3):813-23.

39. Zimmerli W, Sendi P. Role of Rifampin against Staphylococcal Biofilm Infections In Vitro, in Animal Models, and in Orthopedic-Device-Related Infections. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 29 janv 2019 [cité 12 juin 2021];63(2). Disponible à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6355554/>
40. Bernard L, Arvieux C, Brunschweiler B, Touchais S, Ansart S, Bru J-P, et al. Antibiotic Therapy for 6 or 12 Weeks for Prosthetic Joint Infection. *N Engl J Med*. 27 mai 2021;384(21):1991-2001.
41. Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 8 janv 2021]. Disponible à: https://www.has-sante.fr/jcms/c_1228574/fr/prothese-de-hanche-ou-de-genou-diagnostic-et-prise-en-charge-de-l-infection-dans-le-mois-suivant-l-implantation
42. Morawietz L, Classen R-A, Schröder JH, Dynybil C, Perka C, Skwara A, et al. Proposal for a histopathological consensus classification of the periprosthetic interface membrane. *J Clin Pathol*. juin 2006;59(6):591-7.
43. Morawietz L, Tiddens O, Mueller M, Tohtz S, Gansukh T, Schroeder JH, et al. Twenty-three neutrophil granulocytes in 10 high-power fields is the best histopathological threshold to differentiate between aseptic and septic endoprosthesis loosening. *Histopathology*. 2009;54(7):847-53.
44. Bémer P, Léger J, Milin S, Plouzeau C, Valentin AS, Stock N, et al. Histopathological Diagnosis of Prosthetic Joint Infection: Does a Threshold of 23 Neutrophils Do Better than Classification of the Periprosthetic Membrane in a Prospective Multicenter Study? *J Clin Microbiol* [Internet]. 27 août 2018 [cité 11 juin 2021];56(9). Disponible à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6113493/>
45. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF), Collège des Universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales (CMIT), Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique (GPIP), Société Française d'Anesthésie et de Réanimation (SFAR), Société Française de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (SOFECOT), Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH), et al. [Recommendations for clinical practice. Osteo-articular infection therapy according to materials used (prosthesis, implants, osteosynthesis)]. *Med Mal Infect*. oct 2009;39(10):745-74.
46. Vaishya R, Sardana R, Butta H, Mendiratta L. Laboratory diagnosis of Prosthetic Joint Infections: Current concepts and present status. *J Clin Orthop Trauma*. juin 2019;10(3):560-5.

47. Berbari E, Mabry T, Tsaras G, Spangehl M, Erwin PJ, Murad MH, et al. Inflammatory blood laboratory levels as markers of prosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis. *J Bone Joint Surg Am.* 1 sept 2010;92(11):2102-9.
48. Bonanzinga T, Ferrari MC, Tanzi G, Vandenbulcke F, Zahar A, Marcacci M. The role of alpha defensin in prosthetic joint infection (PJI) diagnosis: a literature review. *EFORT Open Rev.* 23 janv 2019;4(1):10-3.
49. Wouthuyzen-Bakker M, Ploegmakers JJW, Ottink K, Kampinga GA, Wagenmakers-Huizenga L, Jutte PC, et al. Synovial Calprotectin: An Inexpensive Biomarker to Exclude a Chronic Prosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty.* avr 2018;33(4):1149-53.
50. Karbysheva S, Yermak K, Grigoricheva L, Renz N, Perka C, Trampuz A. Synovial Fluid d-Lactate-A Novel Pathogen-Specific Biomarker for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection. *J Arthroplasty.* août 2020;35(8):2223-2229.e2.
51. Esposito S, Leone S. Prosthetic joint infections: microbiology, diagnosis, management and prevention. *Int J Antimicrob Agents.* oct 2008;32(4):287-93.
52. Wouthuyzen-Bakker M, Shohat N, Sebillotte M, Arvieux C, Parvizi J, Soriano A. Is Gram staining still useful in prosthetic joint infections? *J Bone Jt Infect.* 29 janv 2019;4(2):56-9.
53. OUYANG Z, ZHAI Z, QIN A, LI H, LIU X, QU X, et al. Limitations of Gram staining for the diagnosis of infections following total hip or knee arthroplasty. *Exp Ther Med.* mai 2015;9(5):1857-64.
54. Feldman DS, Lonner JH, Desai P, Zuckerman JD. The role of intraoperative frozen sections in revision total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* déc 1995;77(12):1807-13.
55. Barrack RL, Jennings RW, Wolfe MW, Bertot AJ. The Coventry Award. The value of preoperative aspiration before total knee revision. *Clin Orthop.* déc 1997;(345):8-16.
56. Virolainen P, Lähteenmäki H, Hiltunen A, Sipola E, Meurman O, Nelimarkka O. The reliability of diagnosis of infection during revision arthroplasties. *Scand J Surg SJS Off Organ Finn Surg Soc Scand Surg Soc.* 2002;91(2):178-81.
57. Parvizi J, Ghanem E, Menashe S, Barrack RL, Bauer TW. Periprosthetic infection: what are the diagnostic challenges? *J Bone Joint Surg Am.* déc 2006;88 Suppl 4:138-47.
58. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DW, Simpson H, Peto TE, et al.

Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group. *J Clin Microbiol.* oct 1998;36(10):2932-9.

59. Morgan PM, Sharkey P, Ghanem E, Parvizi J, Clohisy JC, Burnett RSJ, et al. The value of intraoperative Gram stain in revision total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* sept 2009;91(9):2124-9.

60. Oethinger M, Warner DK, Schindler SA, Kobayashi H, Bauer TW. Diagnosing periprosthetic infection: false-positive intraoperative Gram stains. *Clin Orthop.* avr 2011;469(4):954-60.

61. Kraemer WJ, Saplys R, Waddell JP, Morton J. Bone scan, gallium scan, and hip aspiration in the diagnosis of infected total hip arthroplasty. *J Arthroplasty.* déc 1993;8(6):611-6.

62. Della Valle CJ, Scher DM, Kim YH, Oxley CM, Desai P, Zuckerman JD, et al. The role of intraoperative Gram stain in revision total joint arthroplasty. *J Arthroplasty.* juin 1999;14(4):500-4.

63. Spangehl MJ, Masterson E, Masri BA, O'Connell JX, Duncan CP. The role of intraoperative gram stain in the diagnosis of infection during revision total hip arthroplasty. *J Arthroplasty.* déc 1999;14(8):952-6.

64. Ko PS, Ip D, Chow KP, Cheung F, Lee OB, Lam JJ. The role of intraoperative frozen section in decision making in revision hip and knee arthroplasties in a local community hospital. *J Arthroplasty.* févr 2005;20(2):189-95.

65. Ghanem E, Ketonis C, Restrepo C, Joshi A, Barrack R, Parvizi J. Periprosthetic infection: where do we stand with regard to Gram stain? *Acta Orthop.* févr 2009;80(1):37-40.

66. Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop.* août 2002;(401):230-8.

67. Johnson AJ, Zywiell MG, Stroh DA, Marker DR, Mont MA. Should gram stains have a role in diagnosing hip arthroplasty infections? *Clin Orthop.* sept 2010;468(9):2387-91.

68. Zywiell MG, Stroh DA, Johnson AJ, Marker DR, Mont MA. Gram stains have limited application in the diagnosis of infected total knee arthroplasty. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* oct 2011;15(10):e702-705.

69. 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. *N Engl J Med.* 16

août 2007;357(7):654-63.

70. Schindler M, Christofilopoulos P, Wyssa B, Belaieff W, Garzoni C, Bernard L, et al. Poor performance of microbiological sampling in the prediction of recurrent arthroplasty infection. *Int Orthop*. mai 2011;35(5):647-54.

71. Carmen JC, Roeder BL, Nelson JL, Robison Ogilvie RL, Robison RA, Schaalje GB, et al. Treatment of Biofilm Infections on Implants with Low-frequency Ultrasound and Antibiotics. *Am J Infect Control*. mars 2005;33(2):78-82.

72. Liu H, Zhang Y, Li L, Zou HC. The application of sonication in diagnosis of periprosthetic joint infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. janv 2017;36(1):1-9.

73. Zhai Z, Li H, Qin A, Liu G, Liu X, Wu C, et al. Meta-Analysis of Sonication Fluid Samples from Prosthetic Components for Diagnosis of Infection after Total Joint Arthroplasty. *J Clin Microbiol*. mai 2014;52(5):1730-6.

74. Sambri A, Cadossi M, Giannini S, Pignatti G, Marcacci M, Neri MP, et al. Is Treatment With Dithiothreitol More Effective Than Sonication for the Diagnosis of Prosthetic Joint Infection? *Clin Orthop*. janv 2018;476(1):137-45.

75. Référentiel en microbiologie Médicale [Internet]. Société Française de Microbiologie. [cité 30 juin 2021]. Disponible à: <https://www.sfm-microbiologie.org/boutique/referentiel-en-microbiologie-medicale-remic/>

76. BACT/ALERT Flacons [Internet]. bioMérieux France. [cité 9 août 2021]. Disponible à: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/bactalert-flacons>

77. Bémer P, Léger J, Tandé D, Plouzeau C, Valentin AS, Jolivet-Gougeon A, et al. How Many Samples and How Many Culture Media To Diagnose a Prosthetic Joint Infection: a Clinical and Microbiological Prospective Multicenter Study. *J Clin Microbiol*. févr 2016;54(2):385-91.

78. Li C, Ojeda-Thies C, Trampuz A. Culture of periprosthetic tissue in blood culture bottles for diagnosing periprosthetic joint infection. *BMC Musculoskelet Disord*. 22 juin 2019;20(1):299.

79. 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 Off Publ Infect Dis Soc Am*. janv 2013;56(1):e1-25.

80. Sambri A, Pignatti G, Romagnoli M, Donati D, Marcacci M, Cadossi M. Intraoperative diagnosis of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* using Xpert MRSA/SA SSTI assay in prosthetic joint infection. *New Microbiol. avr* 2017;40(2):130-4.
81. 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. *Clin Microbiol Infect.* 1 janv 2018;24(1):83.e1-83.e6.
82. 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. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1 févr 2018;90(2):115-9.
83. Huang Z, Li W, Lee G-C, Fang X, Xing L, Yang B, et al. Metagenomic next-generation sequencing of synovial fluid demonstrates high accuracy in prosthetic joint infection diagnostics. *Bone Jt Res.* 19 août 2020;9(7):440-9.
84. Ivy MI, Thoendel MJ, Jeraldo PR, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen AD, Abdel MP, et al. Direct Detection and Identification of Prosthetic Joint Infection Pathogens in Synovial Fluid by Metagenomic Shotgun Sequencing. *J Clin Microbiol.* sept 2018;56(9):e00402-18.
85. Thoendel MJ, Jeraldo PR, Greenwood-Quaintance KE, Yao JZ, Chia N, Hanssen AD, et al. Identification of Prosthetic Joint Infection Pathogens Using a Shotgun Metagenomics Approach. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 oct 2018;67(9):1333-8.
86. Tarabichi M, Shohat N, Goswami K, Alvand A, Silibovsky R, Belden K, et al. Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: The Potential of Next-Generation Sequencing. *J Bone Joint Surg Am.* 17 janv 2018;100(2):147-54.
87. Bonnet PR. Les méthodes de dépistage de la résistance actuelles et à venir. :38.
88. Le retard pris dans les activités chirurgicales ne sera pas rattrapé avant 2021 [Internet]. What's Up Doc. 2020 [cité 31 août 2021]. Disponible à: <https://www.whatsupdoc-lemag.fr/article/le-retard-pris-dans-les-activites-chirurgicales-ne-sera-pas-rattrape-avant-2021>
89. Bactéries anaérobies : généralités - ClinicalKey Student [Internet]. [cité 18 août 2021]. Disponible à: <https://www-clinicalkey-com.ezproxy.normandie-univ.fr/student/content/emc/51-s2.0-S2211969814613157>
90. Bactéries anaérobies à Gram positif - ClinicalKey Student [Internet]. [cité 18

août 2021]. Disponible à: <https://www-clinicalkey-com.ezproxy.normandie-univ.fr/student/content/emc/51-s2.0-S2211969815613255#hl0001849>

91. Dumaine V, Jeanne L, Paul G, Eyrolle L, Salmon-Ceron D, Tomeno B, et al. [Surveillance of operative site infections in an orthopedic and traumatology surgery department: an example of methodology]. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot.* févr 2007;93(1):30-6.



VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA
FACULTE

DES SCIENCES
PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE



Faculté des Sciences Pharmaceutiques

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

TITRE

Impact d'un changement de protocole de mise en culture pour le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires sur prothèse au CHU de Caen

Résumé

Les infections ostéo-articulaires sur prothèses IOAP sont associées à une morbi-mortalité élevée et, en corrélation avec l'augmentation de la pose de prothèses, leur nombre est en croissance. Leur prise en charge nécessite une concertation pluridisciplinaire et leur diagnostic au laboratoire de microbiologie est complexe. Les recommandations étant floues concernant la prise en charge des prélèvements, nous nous sommes basés sur une étude de Bemer et al. Pour changer notre prise en charge des IOAP au CHU de Caen et essayer de gagner en efficacité.

Une comparaison de concordance au diagnostic a été faite entre les prélèvements reçus au laboratoire de microbiologie avant et après changement de protocole d'ensemencement entre 2019 et 2021.

L'épidémie de Covid qui a débuté fin 2019 – début 2020, en France, a entraîné un retard au changement de méthode qui n'a pu se faire qu'en mai 2021. Ceci provoquant un faible nombre de prélèvements après changement de méthode ne permettant pas de conclure statistiquement à une amélioration des performances du laboratoire de microbiologie. Cependant, les statistiques faites montrent de belles promesses qui nécessiteront d'être confirmées sur plus de prélèvements.

TITLE

Impact of a change in culture protocol for the microbiological diagnosis of osteoarticular infections on prosthesis at the Caen University Hospital

Summary

Prosthetic Joint Infections (PJI) are associated with high morbidity-mortality and, in correlation with the increase in the use of prostheses, their number is growing. Their management requires multidisciplinary consultation and their diagnosis in the microbiology laboratory is complex. As the recommendations concerning the management of samples are unclear, we are based on a study by Bemer et al. to change our management of PJI at the CHU de Caen and try to gain in efficiency.

A diagnostic concordance comparison was made between the samples received at the microbiology laboratory before and after changing the inoculation protocol between 2019 and 2021.

The Covid epidemic which started at the end of 2019 - beginning of 2020, in France, led to a delay in the change of method which could only be done in May 2021. This led to a low number of samples after change of method which does not allow us to conclude statistically to an improvement in the performance of the microbiology laboratory. However, the statistics recorded show great promises that need to be confirmed on more samples.

Mots-clés

Microbiologie – Infection ostéo-articulaire sur prothèse - Hémoculture