UNIVERSITÉ LILLE II
Année Universitaire 2015/2016

Faculté des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques de Lille

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE

SOUTENU PUBLIQUEMENT DEVANT LE JURY LE 10 JUIN 2016
PAR
SIMON BENZIMRA

CONFORMEMENT AUX DISPOSITIONS DU DECRET DU 10 SEPTEMBRE 1990, TIENT LIEU DE

THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

ÉTUDE COMPARATIVE DES MILIEUX DE ROSENOW ET DE SCHAEDLER POUR LE DIAGNOSTIC DES INFECTIONS OSTÉO-ARTICULAIRES

Jury :

Président : Mme. A. GOFFARD
Maitre de Conférences des Universités, Université de Lille II
Médecin Praticien Hospitalier, CHRU de Lille

Assesseurs : M. E. SENNEVILLE
Professeur des Universités, Université Lille II
Médecin Praticien Hospitalier, CH de Tourcoing

Mme C. LOIEZ
Médecin Praticien Hospitalier, CHRU de Lille

Directeur de thèse : M. N. BLONDIAUX
Pharmacien Praticien Hospitalier, CH de Tourcoing

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel : 03.20.96.40.40 – Télécopie : 03.20.96.43.64http://pharmacie.univ-lille2.fr

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents :	Professeur Alain DUROCHER
	Professeur Régis BORDET
	Professeur Eric KERCKHOVE
	Professeur Eric BOULANGER
	Professeur Frédéric LOBEZ
	Professeur Damien CUNY
	Professeur Benoit DEPREZ
	Professeur Murielle GARCIN
	Monsieur Pierre RAVAUX
	Monsieur Larbi AIT-HENNANI
	Monsieur Antoine HENRY
Directeur Général des Services :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Damien CUNY
Vice-Doyen, 1er assesseur :	Professeur Bertrand DECAUDIN
Assesseur en charge de la pédagogie	Dr. Annie Standaert
Assesseur en charge de la recherche	Pr. Patricia Melnyk
Assesseur délégué à la scolarité	Dr. Christophe Bochu
Assesseur délégué en charge des relations internationales	Pr. Philippe Chavatte
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante	M. Thomas Morgenroth
Chef des services administratifs :	Monsieur Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie Clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie Clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie Clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSE	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et économie Pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et économie Pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie Organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie Cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique

Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie Industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie Cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie Cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacologie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme		Béatrice	Toxicologie

Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie Thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie Pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie

M.	WILLEMAGNE	Baptiste	Chimie Organique
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie Pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	CUCCHI	Malgorzata	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et économie Pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérengère	Pharmacie Galénique
M.	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique

Faculté des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel : 03.20.96.40.40 – Télécopie :
03.20.96.43.64http://pharmacie.univ-lille2.fr

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs

Remerciements

A Madame le Professeur Anne GOFFARD

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse
Que ce travail soit le témoin de ma reconnaissance et de mon profond respect

A Monsieur le Professeur Eric SENNEVILLE

Que vous trouviez ici mes sincères et respectueux remerciements pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail. Merci pour votre accessibilité et le temps que vous donnez à la formation des étudiants. Permettez-moi de vous témoigner toute ma reconnaissance et mon profond respect

A Madame le Docteur Caroline LOIEZ

Vous me faites l'honneur d'accepter de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma gratitude

A Monsieur le Docteur Nicolas BLONDIAUX

Avant tout merci de m'avoir fait confiance en me proposant ce sujet de thèse. Tes qualités humaines et professionnelles m'ont permis d'acquérir de nombreuses connaissances. La précision de tes enseignements et la passion avec lesquelles tu les dispenses resteront un modèle pour moi. Ce fût un honneur de passer cette année à tes cotés. Trouve ici l'expression sincère de mon respect et de ma reconnaissance.

A l'ensemble du personnel du laboratoire de biologie polyvalente du centre hospitalier de Tourcoing

Merci pour votre accueil et votre gentillesse durant cette année passée à vos cotés. Une pensée particulière à toutes les filles de bactériologie, ce fût un réel plaisir de travailler et d'apprendre à vos cotés.

A Monsieur le Docteur Pierre PATOZ

Merci pour tous les enseignements que tu m'as dispensés durant cette année, ce fut un réel plaisir de travailler avec toi. Que tu trouves ici l'expression de mon respect et de ma reconnaissance

A Philippe CHOISY, Vincent DERDOUR et au Dr Michel Valette

J'ai eu de la chance de pouvoir m'entourer de personnes aussi aguerries que vous à la recherche scientifique. Merci du temps consacré à mes données, vos outils informatiques et statistiques se sont révélés indispensables pour ce travail.

A mes parents

Merci pour tout, merci pour votre éducation, merci d'avoir toujours été là, de m'avoir poussé, de m'avoir soutenu, tout ce que j'ai accompli je vous le dois. Je vous aime

A mes grands parents

Merci à papy Polo pour tout ce qu'il représente pour moi. J'ai une pensée toute particulière pour mémé Marinette qui est encore là mais plus vraiment… tu es mes plus beaux souvenirs d'enfance, je sais que tu tenais à assister à la fin de mes études, malheureusement il en est autrement, ce travail t'est dédié, tu me manques. Je vous aime

A ma famille formidable

Je pense bien sûr à mes sœurs Cécile et Laurène qui ont toujours été là pour moi, à mon frère Antoine dont je suis très fier, à mes parents de cœur Vincent et Danièle. Je n'oublie pas mes beaux frères Loys et Fred ainsi que la petite Zoé. Que nous restions tous unis et soudés. Je vous aime

A ma bande de Tours

Je pense aux bitos, mon presque jumeau Mamat, mon binôme Luc, mes blonds préférés Hugo Chonchon et Fred, mon bon Mr Pousse et le plus gentil des Doudou. Je remercie ces études de m'avoir permis de vous rencontrer, vous êtes une seconde famille.

A mes amis

A mes vieux amis de Bourges Davy, Cyril, Lilian, et Marc
A mes autres amis de fac Quentin, Clément et JP
A mes amis de Lille Sandra, Haciba, Anaïs, Elodie, Cyprien, Julien et Antoine
A Benoit
Parce que vous êtes tous importants pour moi, vous m'avez tous accompagné à différents moments de ma vie, et qu'à chaque fois que je vous revois, rien ne change. Merci

A Honorine

Déjà plusieurs années que tu partages mon quotidien. J'espère avoir la chance de passer le reste de ma vie à coté. Tu es la fille la plus merveilleuse que j'ai rencontré, je t'admire et je t'aime profondément.

Sommaire

I. Les infections ostéo-articulaires sur matériel : 17
A. Généralités : 17
1. Classification : 17
2. Critères diagnostiques: 18
3. Epidémiologie : 21
4. Facteurs de risques : 25
5. La problématique du biofilm: 25
B. Diagnostic : 27
1. Définition du test idéal : 28
2. Apport des examens sanguins : 28
3. Apports des examens d'imageries: 31
4. Apport de l'anatomopathologie : 32
5. Cytologie et biochimie du liquide synovial : 32
6. Diagnostic microbiologique standard : 35
7. Diagnostic microbiologique par biologie moléculaire : 46
C. Prise en charge médico-chirurgicale: 52
1. Prise en charge des infections ostéo-articulaires sur prothèse : 52
2. Prise en charge des pseudarthroses infectées : 55
II. L'infection du pied diabétique : 55
A. Généralités : 55
1. Physiopathologie du pied diabétique : 55
2. Epidémiologie 57
B. Microbiologie de l'infection du pied diabétique : 57
III. Matériel et méthode : 61
A. Modalité de l'étude : 61
1. Population étudiée : 61
B. Présentation des milieux : 67
1. Milieu de Rosenow cystéine: 67
2. Milieu de Schaedler (avec vitamine K + Hémine) : 68
C. Mise en œuvre de l'étude: 69
1. Les prélèvements : 69
2. Protocole microbiologique : 69
D. Traitements des données : 72
1. Performances statistiques de la méthode : 72
2. Performance microbiologique de chaque milieu : 72

IV. Résultats et Discussion: 75
A. Performances statistiques des milieux de Rosenow seul et de Schaedler seul dans le diagnostic des IOAM 75
B. Comparaison microbiologique des résultats des milieux de Rosenow et Schaedler. 78
V. Conclusion 89
VI. Bibliographie: 90

LISTE DES ABBREVIATION

CH: Centre Hospitalier

CRIOAC: Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes

CHRU: Centre Hospitalier Régional Universitaire

IOAM: Infection Ostéo-Articulaire sur Matériel

IOAP: Infection Ostéo-Articulaire sur Prothèse

IDSA: Infectious Diseases Society of America

MSIS: Musculoskeletal Infection Society

SPILF: Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française.

PNN: Polynucléaire Neutrophile

RAISIN: Réseau d Alerte de Surveillance et d'Investigation des Infections Nosocomiales

ISO: Infection sur Site Opératoire

PTH: Prothèse Totale de Hanche

PTG: Prothèse Totale de Genou

IPTH: Infection sur PTH

IPTG: Infection sur PTG

Sp: Spécificité

Se: Sensibilité

VPP: Valeur prédictive positive

VPN: Valeur prédictive négative

RW: Rosenow

SCH: Schaedler

EPP: Erreur Prédictive Positive

EPN: Erreur Prédictive Négative

DPM: Délai de Ponction Moyen post arthroplastie primaire

CRIOGO: Centre Régional des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest

US: Ultrason

UFC : Unité Formant Colonie

STD : Standard

SCN : Staphylocoque à coagulase négative

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition des différentes familles et espèces bactériennes en pourcentage lors des infections sur site opératoire des interventions d'orthopédie et de traumatologie. Données *RAISIN 2013*[8] 22
Figure 2 : Répartition des espèces et familles bactériennes retrouvées dans l'ensemble des prélèvements ostéo-articulaires parvenus au laboratoire de microbiologie du CHRU de Lille de 2002 à 2011, d'après *Titécat et al*[11]. 24
Figure 3 : Formation du biofilm, adapté de Costerton et al (Costerton JW, 2001)[70]. 26
Figure 4 : Concentration d'α-défensine chez les patients avec reprise septique contre reprise aseptique. Les concentrations sont représentées sur une échelle logarithmique. D'après *Deirmengian et al*[21]. 34
Figure 5 : Courbe ROC montrant la sensibilité et la spécificité prédictives du test avec plusieurs nombres de prélèvements, utilisant les seuils de 1, 2 ou 3 échantillons positifs pour le même organisme. Le nombre de prélèvements prélevés est indiqué à côtés de chaque point. D'après *Atkins et al*[23]. 37
Figure 6 : Pourcentage de concordance entre la présence d'infections (critères bactériologiques seuls et critères MSIS) et le nombre de sites opératoires prélevés. Intervalle de confiance au risque α= 2.5%. Adapté de *Bemer et al*[24]. 38
Figure 7 : Taux de détection bactérien en fonction du nombre de jours d'incubation. D'après *Schafer et al*[27]. 41
Figure 8 : Distribution des isolats bactériens en fonction du temps de détection. D'après *Shafer et al*[27]. 41
Figure 9 : Présentation des différentes propriétés des ultrasons en fonction des différentes combinaisons fréquence/intensité utilisées. D'après *Erriu et Al* [28]. 43
Figure 10 : Effet de la durée du traitement antibiotique préopératoire sur la sensibilité des différentes cultures (liquide de sonication et tissus périprothétiques) dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèse. D'après *Trampuz et al*[30]. 44
Figure 11 : Intérêt de la PCR du gène de l'ARN 16S. Les 49 cas IOAP non confirmées ne possédaient aucun argument clinique histologique et bactériologique en faveur d'une IOAP. D'après *Bemer et al*[33]. 47
Figure 12 : Distributions des différents types respiratoires bactériens retrouvés par biologie moléculaire au sein de 3 types d'ulcérations chroniques : ulcère secondaire à une insuffisance veineuse, ulcère du pied diabétique et ulcère par excès de pression. D'après *Dowd et al*[64]. 59
Figure 13 : Répartition des indications des 125 blocs opératoires. 62
Figure 14 : Répartition des indications opératoires pour les 99 patients. 62
Figure 15 : Conclusion quant à l'existence d'une infection grâce à l'apport des résultats de la culture des différents milieux : STD seul, SCH seul, RW seul, RW+SCH. 78

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification Mc Pherson. Adapté d'*Anagnostakos et Al*[3]. 18
Tableau 2 : Critères de définitions des infections ostéo-articulaires d'après les principales sociétés savantes. 20
Tableau 3 : Ecologie microbienne des infections ostéo-articulaires sur matériel, d'après *Tande A et Al*[10]. 23
Tableau 4 : Analyse ROC et caractéristiques des différents marqueurs sanguins en fonction des seuils optimaux, d'après *Alijanipour et Al.* 29
Tableau 5 : Evaluation des performances des différents marqueurs cytologiques et biochimiques sur le liquide synovial dans le diagnostic d'infection, adapté de *Bedair et al*[18]. 33
Tableau 6 : Comparaison des performances de la culture sur hémoculture du liquide synovial préopératoire et à celles de la culture des tissus péri-prothétiques et de l'écouvillonnage de cicatrice, d'après *Font-Vizcarra et al.* 36
Tableau 7 : Probabilité que les prélèvements histologiques soit positifs ou négatifs en fonction du nombre de prélèvements microbiologiques (de 1 à 7). D'après *Atkins et al*[23]. 37
Tableau 8 : Sensibilité et Spécificité des différents milieux de cultures dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèse. D'après *Hughes et al*[26]. 39
Tableau 9 : Nombres de souches bactériennes isolées sur les différents milieux liquides : Rosenow ensemencé directement au bloc opératoire et Brain-Heart (BH) ensemencé au laboratoire. D'après *Senneville et al*[25]. 40
Tableau 10 : Comparaison des performances de la culture du liquide de sonication et du liquide après vortex. D'après *Portillo et al*[31]. 45
Tableau 11 : Rendement de la PCR sur le liquide de sonication, comparé à celui des cultures tissulaires, du liquide synovial et du liquide de sonication. D'après *Gomez et al*[36]. 48
Tableau 12 : Spectre de la PCR multiplex Septifast®. D'après *Achermann et al*[37]. 49
Tableau 13 : Comparaison du rendement de la PCR multiplex (adaptée au diagnostic d'IOAP) sur le liquide de sonication aux rendements des différentes cultures (liquide de sonication, liquide synovial et tissus péri-prothétiques). D'après *Cazanave et al*[38]. 50
Tableau 14 : Comparaison des performances de la culture du liquide synovial et de la PCR-ESI/MS dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèse. D'après *Kerryl et al*[42]. 51
Tableau 15 : Nombres de blocs opératoires par patient pour les PTH. 63
Tableau 16 : Nombres de blocs opératoires par patient pour les PTG. 64
Tableau 17 : Nombres de blocs opératoires par patient pour les PTC et PTE. 64
Tableau 18 : Répartition des critères d'inclusions au sein des blocs opératoires catégorisés « septique ». 66
Tableau 19 : Répartition des nombres de sites opératoires prélevés en fonction des diverses indications. 69
Tableau 20 : Nombre d'isolats bactériens identifiés par bloc opératoire. 71
Tableau 21 : Qualification de la concordance selon la valeur *Kappa*. 73
Tableau 22 : Répartitions des différentes espèces bactériennes au sein des familles retenues pour réaliser les différentes analyses de concordance. 73
Tableau 23 : Tableau de contingence représentant la répartition des blocs opératoires catégorisés positifs en fonction du résultat de la culture du milieu de Rosenow, et des reprises septiques et aseptiques selon les critères IDSA. 75

Tableau 24: Tableau de contingence représentant la répartition des blocs opératoires catégorisés positifs en fonction du résultat de la culture du milieu de Schaedler, en fonction des reprises septiques et aseptiques selon les critères IDSA. 76
Tableau 25 : Tableau de contingence pour l'analyse de concordance des milieux de RW et de SCH. . 77
Tableau 26 : Analyse de concordance des résultats des milieux de Rosenow et des milieux de Schaedler. 77
Tableau 27 : Synthèse des valeurs Kappa des différentes études de concordances réalisées pour comparer les résultats des milieux STD+RW et STD+SCH après application des critères IDSA sur la population avec matériel en place (n=45). 79
Tableau 28 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des staphylocoques à coagulase négative entre les résultats de culture des milieux STD+RW d'une part et STD+SCH d'autre part, sur la population avec matériel en place (n=45). 80
Tableau 29 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des bactéries anaérobie strictes entre les résultats de culture des milieux STD+RW d'une part et STD+SCH d'autre part, sur la population avec matériel en place (n=45). 81
Tableau 30 Synthèse des valeurs Kappa des différentes études de concordances réalisées pour comparer les résultats microbiologiques des milieux de RW seul et de SCH seul sur la population générale. 82
Tableau 31 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des staphylocoques à une coagulase négative entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125). 82
Tableau 32 Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des germes appartenant au genre *Corynebacterium spp* entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125). 83
Tableau 33 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour mise en évidence des germes anaérobies entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125). 84
Tableau 34 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence de l'espèce *Propionibacterium acnes* entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125). 85

Introduction

Le Centre Hospitalier Gustave Dron de Tourcoing est Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexes (**CRIOAC**) en association avec le Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille. Ce type de centre nécessite la collaboration étroite de nombreux professionnels de santé notamment infectiologue, chirurgien orthopédiste et microbiologiste.

L'essentiel des pathologies prises en charge au bloc opératoire d'orthopédie et de traumatologie du CH de Tourcoing correspond à des échecs septiques de pose d'implants (Prothèse, plaque, vis etc) et à des complications infectieuses liées aux pathologies du pied (d'origine diabétique, neuropathique ou vasculaire). Il est primordial de documenter ces infections afin d'adapter la prise en charge chirurgicale et anti-infectieuse. Tous les prélèvements issus de ces blocs opératoires sont précieux. Les protocoles microbiologiques, mis en œuvre pour les traiter, sont définis préalablement en fonction des dernières recommandations scientifiques. Ces infections sont de par leurs mécanismes de colonisation et de persistance (présence d'un biofilm bactérien), des pathologies complexes et difficiles à traiter. Les bactéries responsables sont très nombreuses, elles sont dans la plupart des cas facilement cultivables, mais il existe également une part non négligeable d'infections provoquées par des bactéries exigeantes notamment anaérobies qui sont difficiles à mettre en évidence par les méthodes microbiologiques classiques.

Le CRIOAC Nord Ouest a développé une méthode microbiologique, en place depuis plusieurs années, qui consiste à ensemencer en per-opératoire des prélèvements d'os, de tissus ou de liquide articulaire dans un milieu de Rosenow adapté à la culture des bactéries exigeantes et anaérobie strictes. Le Rosenow est un milieu complexe inventé il y a plus d'un siècle, peu utilisé en pratique courante dans la plupart des laboratoires de microbiologie, ces derniers lui préférant des milieux tel que le bouillon de Schaedler voire le bouillon au thioglycolate, plus répandus. Notre étude se propose de comparer les performances des milieux de Rosenow et de Schaedler pour la détection des micro-organismes responsables d'infections ostéo-articulaires selon un procédé propre à notre CRIOAC qui est un ensemencement de ces milieux directement au bloc opératoire, sans broyage préalable des échantillons.

I. Les infections ostéo-articulaires sur matériel :

A. Généralités :

1. Classification :

Les infections ostéo-articulaires sur matériel (**IOAM**) sont très souvent classées selon leurs mode de contamination, direct ou indirect. Elles sont dites directes, lorsqu'il y a effraction tissulaire et que l'os et/ou le matériel implanté sont mis à nu. La barrière naturelle que constitue notre peau ne remplit plus son rôle de protection, et les germes peuvent pénétrer dans les tissus profonds. On distingue alors les infections iatrogènes, lors de la réalisation d'un geste invasif (ponction articulaire, infiltration, chirurgie), et les infections suite à un traumatisme (fracture ouverte). A l'inverse on parle de contamination indirecte lorsque le foyer infectieux initial (digestif, pulmonaire etc…) est distant du matériel en place. Ce dernier s'infecte alors secondairement par le biais de la circulation sanguine (voie hématogène).

On ne peut réduire une IOAM uniquement au mode de contamination. Il est très difficile de grouper ces infections tant le nombre de facteurs rentrant en compte est important. Une classification idéale rendrait compte du mode de contamination, mais aussi du délai entre la contamination et l'apparition des symptômes, des spécificités de l'os ou de l'articulation touchée, des facteurs liés à l'hôte etc… Plus les variables sont importantes et plus la hiérarchisation devient fastidieuse à utiliser au quotidien. Cependant il est nécessaire de catégoriser ces infections pour évaluer la sévérité de l'atteinte et dicter la démarche thérapeutique ou chirurgicale à adopter.

Les deux classifications les plus utilisées par la communauté scientifique dans le cadre des infections ostéo-articulaires sur prothèse (**IOAP**) portent le nom de leurs auteurs : Tsukaymada et McPherson.

La classification de Tsukaymada (Tsukaymada DT, 1996)[1] (Segawa H, 1999)[2] prend en compte le mode de contamination et le délai d'apparition de l'infection après une éventuelle opération. Elle distingue 4 groupes :

- les infections *de novo* sans suspicion de sepsis, lors d'intervention de reprise de prothèse après descellement par exemple, avec des prélèvements per-opératoires positifs.
- les infections postopératoires précoces, survenant dans le mois suivant l'intervention
- les infections retardées, chroniques se manifestant plus d'un mois après l'intervention
- les infections hématogènes.

La classification de McPherson s'inspire largement de celle de Tsukaymada en conservant les 3 groupes infections précoces, retardées et hématogènes. A ceci, McPherson ajoute une graduation de l'infection en fonction de l'état de santé du patient et de ses facteurs de risques pouvant augmenter la gravité de l'infection ou rendre plus difficile la guérison. Enfin il ajoute une composante locale prenant en compte les facteurs de risques liés à la plaie (Voir Tableau 1 et 2) (Anagnostakos K, 2009)[3].

Type d'infection	Facteurs systémiques liés à l'hôte	Facteurs locaux
I : infection précoce (< à 4 semaines postopératoire)	**A**: Aucun facteur de risque	**1**: Aucun facteur de risque
II: infection hématogène	**B**: 1-2 Facteurs de risques	**2**: 1-2 Facteurs de risque
III: infection retardée (> 4 semaines postopératoire)	**C**: > 2 Facteurs de risques ; PNN < 1000/mm3; LT CD4 < 100/mm3; Infection chronique active sur un autre site, Dysplasie ou néoplasie du système immunitaire.	**3**: > 2 facteurs de risques

Facteurs de risques systémiques:	**Facteurs de risques locaux (lié à la plaie):**
Age > 80 ans	Infection active présente depuis au moins 3 mois
Immunosuppresseurs	Perte de tissus sains lors d'un précédent traumatisme
Alcoolisme	Abcès subcutané > 8 mm 3
Cancer	Fistule
	Antécédent de fracture ou de traumatisme au niveau de l'articulation
Dermatite ou cellulite Chronique	considérée
Insuffisance pulmonaire	Insuffisance circulatoire périphérique
Cathéter à demeure	multiples incisions avec adhésion cutané
Dialyse	
Dénutrition	
Maladie inflammatoire chronique	
Tabagisme	
Immunodépression	
Diabète	
Insuffisance hépatique	

Tableau 1 : Classification Mc Pherson. Adapté d'*Anagnostakos et Al*[3].

2. Critères diagnostiques:

Devant la grande variabilité clinique, radiologique et biologique des infections ostéo-articulaires sur matériel, il est difficile de disposer de critères qui affirment le diagnostic dans tous les cas.

Toutefois, plusieurs algorithmes décisionnels ont été proposés par différentes sociétés savantes. Parmi eux, les plus utilisés sont ceux proposés par l'**IDSA** (Infectious Diseases Society of America (Osmon DR, 2013)[4]), la **MSIS** (Musculoskeletal Infection Society (Parvizi J Z. B., 2011)[5]) et la **SPILF** (Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF, 2009) [6]). Afin d'harmoniser les pratiques, une conférence de consensus internationale, pour la prise en charge des infections ostéo-articulaires sur prothèse, regroupant une centaine de sociétés savantes appartenant à 51 pays, à été établie en 2009 (Parvizi J G. T., 2013)[7].

Toutes les définitions sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Définition Infections ostéo-articulaires sur prothèse ou sur matériel (SPILF)	IDSA		MSIS		SPILF		Consensus	
	CM	Cm	CM	Cm	CM	Cm	CM	Cm
Présence d'une fistule au contact de la prothèse ou de l'implant	**X**		**X**		**X**		**X**	
Isolement sur au moins 3 sites d'un microorganisme commensal de la peau	X		X		X		X	
Isolement sur au moins 2 sites du même microorganisme (commensale ou non)	**X**		**X**				**X**	
Isolement sur au moins 1 site d'un microorganisme pathogène	**X**		**X**		**X**		**X**	
Présence de pus au contact de la prothèse ou de l'implant	X			X	X			X
Preuve histologique d'inflammation		X		X				X
1 site positif avec n'importe quel microorganisme				X				X
Augmentation des leucocytes dans le liquide articulaire				X				X
Augmentation du pourcentage des polynucléaires neutrophiles (**PNN**) dans le liquide synovial				X				X
Elévation de la CRP ET de la VS				X				X
Bandelette Leucocyte estérase "+ + " sur le liquide articulaire								X

Tableau 2 : Critères de définitions des infections ostéo-articulaires d'après les principales sociétés savantes.

CM= critère majeur ; Cm= critère mineur.

Remarque :

Les définitions proposées par la MSIS, l'IDSA et la conférence de consensus concernent uniquement les IOAP. Celle proposée par la SPILF regroupe toutes les infections ostéo-articulaires sur matériel, y compris les matériaux d'ostéosynthèses et implants divers.

La présence d'un critère majeur affirme le diagnostic d'infection. La présence d'une fistule, ou d'un germe pathogène sur au moins 1 sites opératoire, sont 2 arguments (croix rouges) reconnus par tous les groupes d'experts comme étant des critères majeurs. La SPILF se démarque des autres sociétés savantes concernant le nombre de sites opératoires positifs à des germes commensaux (Staphylocoques à coagulase négative, *Corynebacterium spp* ou *Propionibacterium acnes*) nécessaires pour affirmer le diagnostic. Pour la SPILF 3 sites sont nécessaires pour les autres seulement 2 (croix vertes).

Les recommandations du consensus international sont une adaptation de celles publiées par la MSIS. D'après la MSIS, au moins 4 critères mineurs doivent êtres présents pour affirmer le diagnostic, tandis que le consensus international a jugé suffisant la présence de 3 critères mineurs. Le critère « purulence au contact de la prothèse » est catégorisé comme critère majeur par la MSIS, il passe en mineur pour la conférence de consensus. Enfin les experts internationaux se sont mis d'accord pour intégrer un nouveau critère mineur absent des recommandations de la MSIS qui est la positivité des bandelettes leucocyte estérase sur le liquide synovial.

La « preuve histologique d'inflammation» catégorisée critère mineur pour l'IDSA dans le tableau, est définie dans leur argumentaire, comme étant un élément de preuve « suggérant fortement » une infection sur prothèse.

La SPILF stipule qu'en l'absence de critères majeurs et en l'absence d'inflammation tissulaire (Preuve histologique), systémique (CRP, VS) et du liquide synovial (PNN < 65%) ont peut écarter une infection.

3. Epidémiologie :

a) Epidémiologie générale :

Les IOAM restent heureusement des infections rares. Le rapport de 2013, du Réseau d' Alerte de Surveillance et d'Investigation des Infections Nosocomiales (**RAISIN),** présente les taux d'incidences d'infections sur sites opératoires (**ISO**) pour différentes interventions d'orthopédie ou de traumatologie (RAISIN, 2013)[8]. Les ISO sont décrites comme étant des infections survenant dans un délai de 30 jours suivant une opération chirurgicale.

Le taux d'incidence globale des ISO sur 5 opérations d'orthopédie prioritaires suivies par l'étude était de **0.72%** (IC [0.62-0.82] ; α=5%). Les taux d'incidence d'ISO détaillés pour 4 d'entre elles sont les suivants :

- 1ère intention de prothèse totale de hanche (**PTH)** (n=12201)**: 0.72%** (IC [0.57-0.87] ; α=5%)
- Reprise de prothèse de hanche (n=1545): **1.75%** (IC [1.09-2.41] ; α=5%)
- 1ère intention de prothèse totale de genou (**PTG)** (n=9430) : **0.34%**(IC [0.22-0.46] ; α=5%)
- Reprise de prothèse de genou (n=484) : **1.24%** (IC [0.25-2.23] ; α=5%)

Les taux d'incidences sont plus élevés pour les reprises de prothèse. Ce rapport regroupe des données recueillies sur 25833 opérations de chirurgie orthopédique réalisées en France. Il faut noter que la durée moyenne de suivi de ces patients était de 51,6j avec une médiane de 47j. Nous avons vu précédemment que les infections retardées étaient définies comme apparaissant dans un délai supérieur à 4 semaines sans limite de temps (Anagnostakos K, 2009)[3] (Tsukaymada DT, 1996)[1], en effet certaines surviennent plusieurs années après la première intervention. De plus les infections hématogènes ne rentrent pas dans le cadre de cette étude.

Le Rochester Epidemiology Project (Tsaras G, 2012)[9] a étudié 76 infections sur prothèse pour un total de 7367 interventions de 1969 à 2007 aux Etats-Unis. Les taux d'incidences cumulés d'apparitions d'infections étaient respectivement de 0.5, 0.8 et 1.4% à 1, 5 et 10 ans. Même avec plus de recul les chiffres sont similaires et les IOAP restent des événements rares.

Concernant la traumatologie, l'étude RAISIN s'est intéressée aux ISO survenant après la réduction de fracture par ostéosynthèse de 6621 blocs opératoires. Le taux d'incidence globale des ISO pour les 2 opérations prioritaires retenues était de 0.63% (IC [0.44-0.83] ; α=5%). Le détail est présenté ci-dessous :

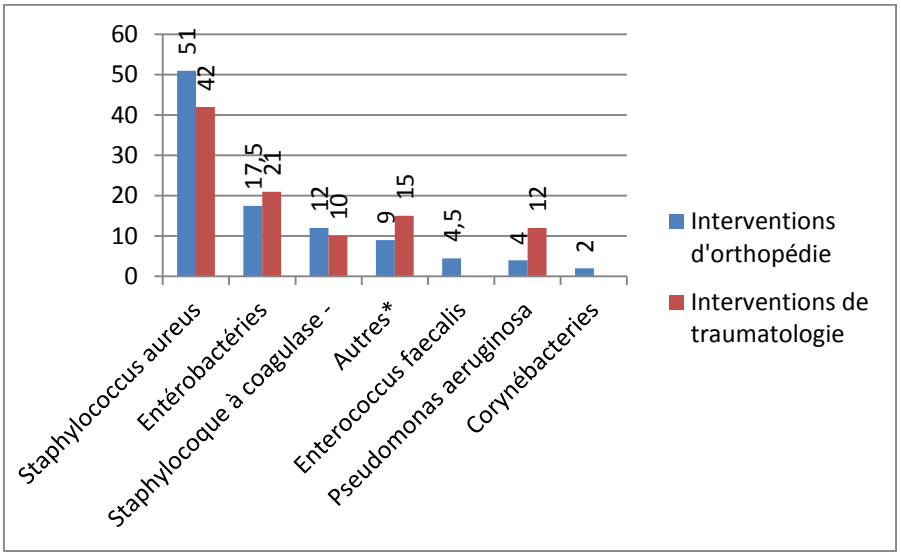
- Ostéosynthèse de l'extrémité supérieure du fémur (n=1581) **: 0.44%** (IC [0.11-0.77] ; α=5%)
- Autres ostéosynthèses (n=5040) : **0.69%** (IC [0.46-0.92] ; α=5%).

La durée moyenne de suivi post opératoire des patients de traumatologie était de 34.4 jours avec une médiane à 32 jours. Même constat que pour l'orthopédie les infections après ostéosynthèse restent des événements rares.

b) ***Epidémiologie microbienne :***

La littérature est très hétérogène sur ce sujet. Les données épidémiologiques variant en fonction du site anatomique étudié (hanche, genou, etc), de la méthodologie employée (avec ou sans les contaminations) ou encore du type d'infection (précoce, retardé ou hématogène).

Au niveau national, l'épidémiologie microbienne des ISO lors des interventions d'orthopédie et de traumatologie rapportées par le RAISIN en 2013 montre les distributions suivantes :



*le groupe « Autres » est un cumul des bactéries dont le pourcentage est inférieur à 2%

Figure 1 : Répartition des différentes familles et espèces bactériennes en pourcentage lors des infections sur site opératoire des interventions d'orthopédie et de traumatologie. Données *RAISIN 2013*[8]

Le genre *Staphylococcus* est retrouvé dans près de 58% des IOAM. Dans 47% des cas il s'agit de l'espèce *Staphylococcus aureus.* Les entérobactéries sont impliquées en moyenne dans 19% des cas. Cette étude ne rapporte pas le détail des bactéries anaérobies qui sont inclues dans le groupe « Autres ». Même remarque que pour l'épidémiologie générale le temps de suivi n'est pas assez long pour étudier l'épidémiologie de toutes les IOAM (retardées et hématogènes).

Pour avoir une vision plus globale et plus détaillée de l'épidémiologie microbienne des IOAP, voici les résultats d'une méta-analyse (tableau 4) regroupant 14 études incluant au total plus de 2400 patients présentant des infections de prothèses de genoux ou de hanche (Tande AJ, 2014)[10]

	% de patients avec infections ostéo-articulaires sur prothèse					
	Hanche et Genou					
Infection	Toutes périodes[a]	Infection précoce[b]	Hanche[c]	Genou[c]	Epaule[d]	Coude[e]
Staphylococcus aureus	27	38	13	23	18	42
Staphylocoques à coagulase négative	27	22	30	23	41	41
Streptococcus spp	8	4	6	6	4	4
Enterococcus spp	3	10	2	2	3	0
Bacilles à Gram négatif aérobies ou aéro/anaérobies facultatifs	9	24	7	5	10	7
Bactéries anaérobies	4	3	9	5	3	0
Propionibacterium acnes					24	1
Culture négative	14	10	7	11	15	5
Polymicrobien	15	31	14	12	16	3
Autres	3					

[a] Données regroupées de 2435 articulations

[b] Données regroupées de 637 articulations

[c] Données de 1979 hanches et 1427 genoux avec infections ostéo-articulaires sur prothèse issues de la « Mayo Clinic Prosthetic Joint Infection Database »

[d] Données regroupées de 199 épaules

[e] Données regroupées de 110 coudes

Tableau 3 : Ecologie microbienne des infections ostéo-articulaires sur matériel, d'après *Tande A et Al*[10].

Sur 1979 infections sur PTH (**IPTH**) et 1427 infections sur PTG (**IPTG**) environ 50% des infections sont dûes à seulement 3 types d'agents infectieux : les staphylocoques à coagulase négative, le staphylocoque doré et les entérobactéries. Le genre *Staphylococcus* représente 43% des cas, dont 13% de *Staphylococcus aureus.* Pour les IPTG, les données montrent une répartition équivalente entre les staphylocoques à coagulase négative et *Staphylococcus aureus* avec 23% chacun. Les entérobactéries apparaissent dans des proportions moindres par rapport aux données RAISIN avec une implication dans 7 % des cas d'IPTH et 5% dans les IPTG. Les bactéries anaérobies strictes sont

impliquées dans près de 9 % des IPTH et de 5% des IPTG. Leur place dans les IOAM est importante et tous les moyens doivent être mis en œuvre pour les identifier.

Les données épidémiologiques bactériennes locales établies par le laboratoire de microbiologie du CHRU de Lille (Titécat M, 2013)[11] portant sur l'ensemble des prélèvements ostéo-articulaires traités sur site de 2002 à 2011 (5006 souches bactériennes) donnent la répartition suivante :

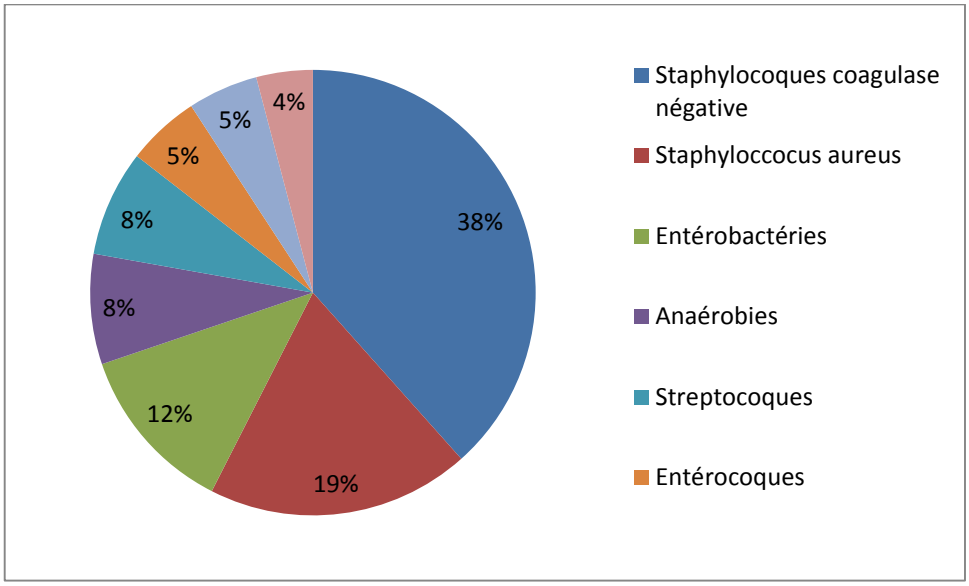


Figure 2 : Répartition des espèces et familles bactériennes retrouvées dans l'ensemble des prélèvements ostéo-articulaires parvenus au laboratoire de microbiologie du CHRU de Lille de 2002 à 2011, d'après *Titécat et al*[11].

Le genre *Staphylococcus* est encore majoritaire, présent dans 57% des prélèvements avec une prédominance des staphylocoques à coagulase négative (38%). Les entérobactéries sont à nouveau la 3eme cause d'infection (12%). Les anaérobies prennent encore une fois une part non négligeable (8%) des infections ostéo-articulaires.

Les études microbiologiques apportent des informations importantes qu'il est nécessaire d'interpréter selon la méthodologie employée. Ainsi, les microorganismes contaminants (commensaux de la peau) ne sont pas systématiquement retirés des statistiques impliquant dans certains cas une surestimation de la place prise par les staphylocoques à coagulase négative dans les IOAM. En effet, ils peuvent être présents dans de nombreux prélèvements de manière non significative (sur un seul site opératoire) et ne pas être écartés des statistiques ce qui rend leur proportion faussement élevée. Les bactéries anaérobies sont fragiles et difficiles à isoler par les méthodes de bactériologie classique, elles nécessitent des milieux spéciaux, une atmosphère strictement anaérobie et une attention particulière. Les difficultés de culture de ces bactéries doivent être prises en compte car un protocole non adapté sous-estime probablement la part prise par les anaérobies dans les IOAM.

4. Facteurs de risques :

La prévention des IOAM passe par l'identification des facteurs de risques associés. En agissant en amont pour améliorer le mode de vie du patient, ou remettre en cause certaine prise en charge thérapeutique ont peut espérer diminuer l'incidence de ces infections.

Les facteurs de risques liés au patient et à son mode de vie sont nombreux. L'obésité (IMC supérieur à 35), les intoxications chroniques (tabagisme, alcoolisme) sont reconnues pour augmenter les probabilités d'infection. Les troubles immunitaires iatrogènes ou non (cancers, diabète, polyarthrite rhumatoïdes, traitement d'immunosuppresseur, etc) augmentent également ce risque (Tande AJ, 2014).

Il existe un score pour déterminer l'état de santé du patient en préopératoire établi par l'American *Society of Anesthesiologists*, le score ASA. Il est échelonné de 1 à 5, le niveau 1 correspondant à un patient sain, le 5 à un patient dont l'espérance de vie ne dépasse pas 24 h sans opération. Il prend en compte l'atteinte des fonctions vitales et la présence d'une maladie systémique. Un score ASA élevé à 3,4 ou 5 est un facteur de risque infectieux notable postopératoire.

Enfin, le type et les modalités de l'intervention ont une influence sur le risque d'infection post opératoire. Les opérations menées en urgence ou les reprises chirurgicales (après luxation par exemple) sont plus à risque d'infection qu'une opération programmée *de novo*. Il a été également montré qu'un patient ayant un séjour hospitalier préopératoire supérieur à deux jours était plus à risque de développer une infection après son intervention (RAISIN, 2013).

5. La problématique du biofilm:

La population bactérienne s'organise, s'adapte, se transforme en ce que l'on nomme « un biofilm » afin de survivre à la surface de corps étranger (prothèse, plaques etc) implantés *in vivo*.

Les biofilms bactériens sont présents dans l'environnement, dans les secteurs industriels (notamment dans les systèmes hydriques) et *in vivo* chez les êtres pluricellulaires. Chez l'homme la plaque dentaire est reconnue comme étant l'un de ces biofilms mais ils peuvent également être impliqués dans de nombreuses pathologies : otite moyenne, prostatite chronique, periodontite, endocardite sur valve native, fibrose kystique, infection ostéo-articulaire sur matériel etc.

La formation des biofilms bactériens est avant tout une adaptation des bactéries à leur environnement. L'organisation en biofilm permet à la population bactérienne de se protéger dans son ensemble vis-à-vis d'agresseurs éventuels que représentent les agents antimicrobiens, les bactériophages, les amibes ou le système immunitaire de l'hôte.

Sa formation commence par l'adhésion de bactéries au niveau d'une surface (dans notre cas un implant) avec établissement de liaisons réversibles au départ. Les bactéries se multiplient alors sous forme de micro-colonies (*Small Colony Variant* ou SCV), consistant en une forme de survie au métabolisme ralenti. Les populations bactériennes présentes, mono ou pluri microbienne, vont synthétiser une matrice extracellulaire formée d'exo-polysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques. Cette matrice porte le nom de « slime ». A ce stade où coexistent SCV et slime, la fixation du biofilm sur les matériaux est irréversible (liaisons covalentes). La maturation se poursuivant, les bactéries situées au cœur du biofilm deviennent moins exposées à l'oxygène et aux nutriments que les bactéries plus proches de la surface. Elles doivent donc s'adapter en formant un véritable réseau hydrique permettant la circulation de nombreux composés. Un réseau de communication ou « *quorum sensing* » s'établit alors entre les bactéries qui permet de réguler de façon générale l'expression de certains gènes, via différents signaux intercellulaires, ceci concourant à la persistance du biofilm.

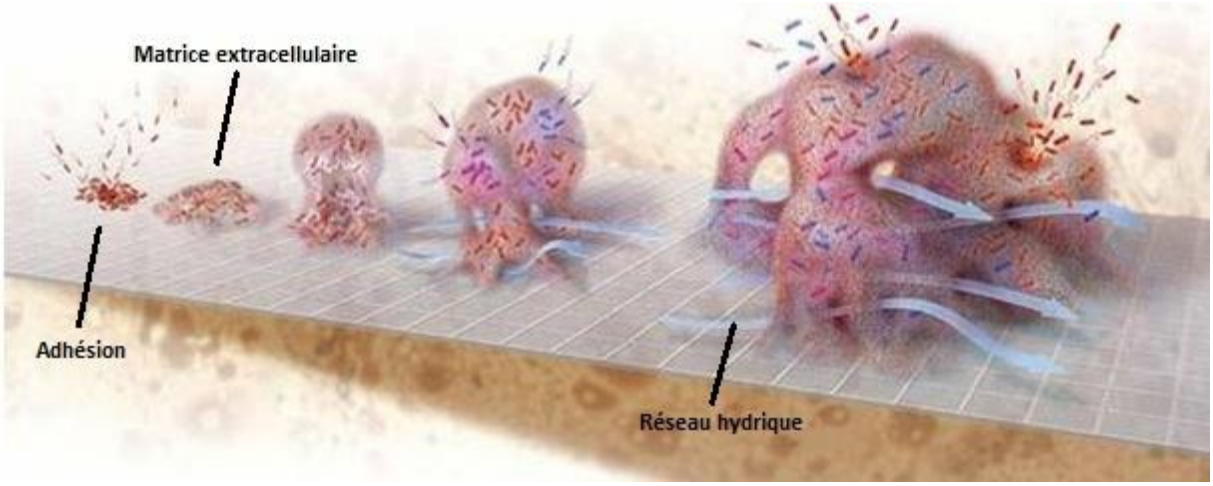


Figure 3 : Formation du biofilm, adapté de Costerton et al (Costerton JW, 2001)[70].

Pour combattre la formation du biofilm, plusieurs mécanismes de défense innés de l'organisme hôte s'activent. L'immunité cellulaire combat l'infection au niveau local avec recrutement de Polynucléaires Neutrophiles (PNN), entrainant la libération de cytokines inflammatoires. L'immunité humorale est responsable de la production d'anticorps spécifiques des structures antigéniques du biofilm. Les immuns complexes, ainsi que les fragments protéiques du biofilm activent le système du complément. La plupart du temps ces mécanismes seront inefficaces contre la constitution et la

persistance du biofilm, entrainant au contraire une inflammation chronique participant à la détérioration tissulaire périphérique.

Dans les IOAM, le biofilm pose un véritable problème de prise en charge, notamment vis-à-vis de l'action des antibiotiques. Cet échappement thérapeutique résulte de plusieurs mécanismes :

- la diminution de la pénétration des agents antimicrobiens, ce qui par conséquent les empêche d'atteindre leur cible. Le biofilm est parfois considéré comme un 3eme compartiment de diffusion.
- l'état de croissance ralenti des SCV serait à l'origine de la diminution d'efficacité des antibiotiques. Plus le biofilm est mature plus les bactéries centrales sont dans un état de quiescence beaucoup moins sensible à l'action des antibiotiques.
- les béta-lactamases, produites par les micro-organismes du biofilm peuvent s'y accumuler, inhibant l'activité des béta-lactamines.
- les bactéries en périphéries du biofilm peuvent synthétiser des pompes à efflux qui permettent de rejeter certains antibiotiques dans le milieu extérieur.

Les échecs d'éradication d'un biofilm mature à la surface d'un implant se soldent souvent par le retrait de ce dernier.

(Dolan RM, 2002)[12], (Zimmerli W, 2012)[13], (SPILF, 2009)[6]

B. Diagnostic :

En l'absence d'amélioration après une chirurgie, lors de laquelle un matériel a été posé, il est impératif de faire la distinction entre un échec septique ou aseptique. La prise en charge étant totalement différente. En cas d'échec septique la thérapeutique s'orientera souvent vers un changement de l'implant associé à un traitement anti-infectieux. Dans le cas d'un échec aseptique le traitement sera uniquement chirurgical avec une conservation de l'implant et sans traitement médicamenteux associé. Les tests diagnostiques sont donc d'une grande aide pour le clinicien, mais il est difficile d'obtenir des marqueurs affirmant avec certitude le diagnostic d'IOAM.

1. Définition du test idéal :

Le test optimal serait positif dans absolument tous les cas d'IOAM, donc sans aucun faux négatif. De la même façon il sera systématiquement négatif en l'absence d'infection, donc sans faux positif. Ce test aurait une sensibilité (**Se)** de 100% et une Spécificité (**Sp**) de 100%.

Il existe deux autres outils statistiques pour évaluer la performance d'un test qui sont la Valeur Prédictive Positive (**VPP**) et la Valeur Prédictive Négative (**VPN**). La VPP est définie comme étant la probabilité d'avoir la maladie lorsque le test est positif. A l'inverse la VPN est la probabilité de ne pas avoir la maladie en cas de test négatif.

D'après les recommandations des sociétés savantes les résultats bactériologiques peuvent définir une IOAM. Dans le cas de test microbiologique, notamment pour la culture bactérienne, la présence de faux positif peut avoir des conséquences thérapeutiques lourdes, la Sp se doit d'être proche de 100%. En ce qui concerne les faux négatifs, ils sont plus tolérables, car certaines bactéries sont exigeantes et difficiles à cultiver. S'il y a une forte suspicion clinique, et des milieux de cultures négatifs, le clinicien prudent et connaissant les difficultés rencontrées par la microbiologie n'écartera pas systématiquement son diagnostic.

2. Apport des examens sanguins :

a) CRP et VS :

La CRP et la VS sont les marqueurs sanguins de l'inflammation, les plus couramment utilisés. Leurs coûts sont faibles de même que leurs temps de réalisation. Leurs principaux inconvénients sont leurs manques de Sp, ils augmentent dans tout type d'inflammation (allergique, traumatique, néoplasique, infectieuse, etc…). Une méta-analyse (Berbari E, 2010)[14] regroupant 23 études et 3225 patients retrouvent une sensibilité (Se) de 88% et une spécificité (Sp) de 74% pour la CRP avec un seuil moyen de positivité fixé à 10 mg/L. Pour la VS, cette même méta-analyse regroupe 25 études et 3370 patients, la Se est de 75% et la Sp de 70% avec un seuil moyen de positivité fixé à 30 mm/h. En effet pour les IOAM parfois l'inflammation est vraiment frustre et les marqueurs classiques peuvent être négatifs. Une autre étude rétrospective (Alijanipour P, 2013)[15], portant sur 273 infections de prothèses de hanche et genou (critère MSIS hors VS/CRP), a essayé de fixer le seuil optimal (avec Se et Sp maximum) de la CRP et de la VS en fonction de la localisation et du délai d'apparition des symptômes. La méthode utilisée pour fixer les seuils est une analyse par la courbe ROC. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Variable / articulation	Valeurs*	Seuil (courbe ROC)*	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
VS						
Hanches	80 (50-95)	48,5	78	90	57	96
Genoux	90 (61-104)	46,5	87	87	56	97
CRP						
Hanches	56 (21-85)	13,5	90	88	44	99
Genoux	135 (42-222)	23,5	92	94	85	96
VS+ CRP						
Hanches			75	84	21	98
Genoux			89	85	55	97
VS						
Hanches et genoux (infections précoces)	80 (51-100)	54,5	80	93	32	99
CRP						
Hanches et genoux (infections précoces)	131 (48-226)	23,5	87	94	41	99

* CRP (mg/L) VS (mm/h)

Tableau 4 : Analyse ROC et caractéristiques des différents marqueurs sanguins en fonction des seuils optimaux, d'après *Alijanipour et Al*.

On observe des seuils décisionnels optimaux, pour les infections précoces (inférieur à 4 semaines postopératoires), identique pour le genou ou la hanche fixé à 23.5mg/l pour la CRP et 54.4 mm/h pour la VS. Avec pour la CRP une Se et Sp de 87% et 94% respectivement, pour la VS une Se et Sp de 80% et 93% respectivement. On observe en effet une amélioration de la Se et de la Sp pour des seuils décisionnels plus élevés de la VS et CRP que les seuils classiquement utilisés. On notera également des seuils de décisionnel de CRP différents pour les infections retardées (supérieur à 4 semaines) en fonction de la localisation. Pour les infections de prothèse de hanche le seuil optimal est fixé à 13.5 mg/l (Se=90% ; Sp= 88%) tandis que pour les infections de prothèse de genou retardées le seuil est fixé à 23.5 mg/l (Se= 92% ; Sp= 94%). Pour la VS des infections retardées les seuils sont indépendants de la localisation et fixés à 48.5 mm/h pour la hanche et 46.5 mm/h pour le genou. Cette étude nous montre également que dans l'ensemble les seuils décisionnels classiques pour la CRP et la Vs sont trop bas et non adaptés aux IOAP.

b) Interleukine 6 (IL-6) :

Il existe d'autres marqueurs sanguins qui peuvent être utiles dans le diagnostic IOAM. L'interleukine 6 (IL-6) est un marqueur précoce de l'inflammation. L'intérêt théorique de ce marqueur est son rapide retour à la normale en l'absence d'inflammation postopératoire. Il pourrait de ce fait être un marqueur intéressant pour le diagnostic d'infection précoce. La méta-analyse (Berbari E, 2010)[14] précédemment citée a regroupé 3 études étudiant l'IL-6 incluant 432 patients au total. La Se et la Sp retrouvées sont de 97% et 91% respectivement avec un seuil décisionnel à 12 pg/ml.

A l'heure actuelle, il y un manque de données robustes concernant le lien entre ce marqueur et les IOAM. En effet les critères diagnostics sont souvent non explicités, il pourrait être intéressant, de regrouper une cohorte de patients avec matériel en place, de classer les reprises comme septique d'après des critères définis et reconnus (IDSA, MSIS), de mesurer les taux sérique d'IL-6 pour évaluer une Se et Sp fiable, et de déterminer le seuil décisionnel optimal pour ce marqueur dans les IOAM.

c) Apport de la sérologie :

Une étude récente (Marmor S, 2016)[16] propose une approche originale via la détection d'anticorps circulants dirigés contre des antigènes spécifiques d'espèces bactériennes impliqués dans les IOAP. Cette étude incluait 455 patients (279 aseptique, 176 septiques). La méthode sérologique multiplex mise au point permet de détecter 16 antigènes :

- 8 antigènes permettant d'identifier *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis*
- 4 antigènes permettant d'identifier *Streptococcus agalactiae*
- 4 antigènes permettant d'identifier *Propionibacterium acnes*.

Les différents antigènes retenus ont été sélectionnés en comparant les anticorps issus de sérum de 66 patients avec IOAP à celui de 98 donneurs sains. On remarque que le spectre de ce test sérologique est assez restreint au vu de l'épidémiologie microbienne des infections sur matériel. Des prélèvements peropératoires on été mis en culture en parallèle afin de déterminer les germes responsables des infections.

Les Se et Sp sont respectivement pour :

- les staphylocoques, de 72.3% et 80.7%.
- *Streptococcus agalactiae* 75% et 92.6%
- *Propionibacterium acnes* 38.5% et 84.8%

Les spécificités sont faibles pour un test recherchant des anticorps visant directement des antigènes de bactéries théoriquement impliqués dans des IOAP. A ce stade, ce test peut apporter un argument supplémentaire en faveur ou en défaveur, mais en aucun cas affirmer le diagnostic infectieux. Nous pouvons imaginer que malgré la sélection précise des anticorps visant des structures bactériennes cibles impliqués dans les IOAP pour le développement de ce test, il doit y a probablement des réactions croisées en cas d'autres foyers d'infections par ces mêmes germes.

3. Apports des examens d'imageries:

L'imagerie médicale est un outil indispensable pour la médecine moderne. Dans le cadre des IOAM, à l'heure actuelle, aucune technique d'imagerie ne permet à elle seule de faire le diagnostic. Elles permettent cependant d'apporter des signes évocateurs d'infections, d'établir des diagnostics différentiels, et d'aider aux prélèvements en localisant l'emplacement précis de lésions tissulaires ou d'éventuelles collections.

La radiographie au rayon X est l'examen de 1ère intention dans les suspicions d'IOAM car elle permet d'apprécier la présence ou non d'un foyer de fracture autour du matériel, une éventuelle luxation de prothèse, la présence de gaz dans l'articulation, une collection. Ce type d'image permet régulièrement d'orienter vers des causes septiques ou non d'échec.

Il est souvent nécessaire d'avoir recours à des examens de plus haute résolution tel que :

- La tomodensitométrie (ou scanner) avec injection de produit de contraste, qui est de choix, pour apprécier l'environnement tissulaire périprothétique et pour confirmer les éléments diagnostiques apportés par la radiographie classique.

- La scintigraphie osseuse, quant à elle, permet de mettre en évidence des zones de remodelages osseux et d'hypervascularisation présents dans les infections. Deux types de marquages peuvent être utilisés :
    - Le marquage de l'hydroxy-diphosphonate ou du méthyl hydroxy-diphosphonate au Technétium 99 (HDP-Tc99m ou HMDP-Tc99m). Ces composés sont utilisés par les ostéoblastes pour la minéralisation des os, leurs marquages permettent de suivre cette activité. La Se de cet examen est excellente mais sa Sp est médiocre.
    - Et le marquage des leucocytes à l'hexa-méthyl-propylène-amine-oxime au Technétium 99 métastable (HMPAO-Tc99m). Avec une lecture à 24h, après réinjection des polynucléaires marqués, une fixation doit persister. Cet examen montre une meilleur Sp que le précédent.

(SPILF, 2009)[6]

4. Apport de l'anatomopathologie :

Bien que considérée comme critère mineur de décision dans les définitions adoptées par la MSIS et la conférence internationale de consensus, l'analyse histologique des tissus périprothétiques peut contribuer fortement au diagnostic d'IOAM. La mise en évidence d'un infiltrat tissulaire de polynucléaire neutrophile (PNN) est très en faveur d'un phénomène inflammatoire local. A l'examen microscopique d'une coupe tissulaire, après coloration HES (Hématéine, Eosine, Safran), la présence d'au moins 5 PNN par champs au grossissement x 400 sur au moins 5 champs signe l'inflammation aigüe. Insensible à une éventuelle antibiothérapie en cours au moment du prélèvement, cet examen reste toutefois tributaire de l'expérience du pathologiste et de la qualité des coupes observées.

5. Cytologie et biochimie du liquide synovial :

Il est recommandé et admis par toutes les sociétés savantes que toute suspicion d'arthrite septique doit faire l'objet d'une ponction articulaire avant tout geste chirurgical. Le liquide synovial ainsi recueilli est source d'information précieuse. En effet, les données cytologiques, biochimiques et microbiologiques vont permettre d'orienter ou non le diagnostic vers une infection. Si la ponction pré-opératoire n'est pas réalisable, un prélèvement per-opératoire est couramment effectué.

La leucocytose à prédominance de PNN est en faveur d'une arthrite septique. Les seuils décisionnels optimaux semblent être différents pour le genou et pour la hanche. Ils sont également différents en fonction du type d'infection, précoce ou retardée. Il est évident que l'inflammation ou une éventuelle hémarthrose postopératoire influence le taux de leucocytes au sein du liquide synovial. Concernant les infections retardées sur prothèse de genou, les seuils pour affirmer une leucocytose varient selon les études. Une des plus larges d'entre elles (Ghanem E, 2008)[17] menées à ce sujet incluait 429 genoux dont 161 infectés. A l'aide de courbes ROC les seuils optimaux présentant la meilleure combinaison de Se et Sp ont été déterminés. Les seuils retenus sont les suivants :

- Leucocytes > 1100/ µL (Se=90.7% ; Sp= 88.1%)
- PNN > 64% (Se= 95% ; Sp=95%)

Une étude (Bedair H, 2011)[18] rétrospective sur les échecs précoces, incluant 146 ponctions articulaires pré-opératoires, 127 non infectés (Délai de Ponction Moyen post arthroplastie primaire

(DPM)=15.9 j post-opératoires) et 19 infectés (DPM=20.8 j post-opératoires). Les taux de leucocytes et le taux de PNN post-opératoire pour le groupe « infecté » étaient significativement plus importants que dans le groupe « non infecté » avec respectivement : 92600/µL dont 89.6% de PNN et 4200/µL dont 76.9% de PNN. Le seuil optimal de leucocyte retenu (courbe ROC) pour les infections précoces de prothèse de genou est de 27800/ µL. Ce seuil pourrait contribuer à un diagnostic d'infection précoce. Les résultats des différentes performances statistiques en fonction des différents seuils décisionnels retenus sont présentés ci-dessous:

Test diagnostique	Sensibilité* (%)	Spécificité* (%)	VPP* (%)	VPN* (%)
Liquide synovial: % PNN				
Seuil ≥ 89%	84 (78-90)	69 (62-77)	29 (22-37)	97 (94-100)
Liquide synovial: Taux de GB				
Seuil ≥ 10,700 cell/µL	95 (91-98)	91 (87-96)	62 (54-70)	99 (98-100)
Seuil ≥ 27,800 cell/µL	84 (78-90)	99 (98-100)	94 (90-98)	98 (95-100)
Liquide synovial: Taux de GB				
Seuil optimal ≥ 10,536 cell/µL	94 (90-99)	92 (87-97)	70 (61-78)	99 (97-100)

* Intervalle de confiance au risque α=5%

Tableau 5 : Evaluation des performances des différents marqueurs cytologiques et biochimiques sur le liquide synovial dans le diagnostic d'infection, adapté de *Bedair et al*[18].

Concernant les infections sur prothèse de hanche, une étude (Schinsky MF, 2008)[19] concernant 201 liquides de ponction de hanche (55 infectés) détermine un seuil de leucocytes >4200/ µL (Se=84% ; Sp=93%) dont au moins 80% de PNN (Se=84% ; Sp=82%). Globalement, un seuil moyen de 3000 leucocytes / µL est généralement admis dans la plupart des études sur les ponctions articulaires.

La conférence de consensus internationale a inclus comme critère mineur dans sa définition des infections de prothèse articulaire un test biochimique sur le liquide synovial. Il s'agit de la détermination de l'activité leucocyte estérase, enzyme présente dans les PNN activés, à partir d'une bandelette habituellement utilisée pour le diagnostic des infections urinaires. Une étude (Wetters NG, 2012)[20] incluant 223 ponctions articulaires (180 genoux et 43 hanches ; DPM= 42.7 mois) a évalué la pertinence de ce test en préopératoire et en peropératoire. En tout 156 bandelettes ont été réalisées en préopératoire et 93 en peropératoire (26 patients ont eux les 2). En préopératoire, la Se et la Sp étaient respectivement de 93% et 77% avec une bandelette positive à 1 ou 2 « + ». Tandis

qu'en per-opératoire la Se était de 100% (avec par conséquent une Valeur Prédictive Négative de 100%) et une Sp de 86.8%. Ce test peut s'avérer utile en cours d'opération pour orienter une prise ne charge en cas de doute sur la présence ou non d'une infection, une bandelette négative écartant

cette possibilité avec un très bon niveau de confiance. Ce test est limité par les interférences dues à d'éventuels débris ou du sang qui rendent la bandelette illisible et la subjectivité d'interprétation d'un test colorimétrique.

Le dosage de la CRP ou de l'IL-6 sur le liquide synovial a été également proposé (Tande AJ, 2014), mais les résultats de ces tests ne sont pas reconnus comme des critères diagnostiques ou considérés comme des arguments supplémentaires en faveur d'une hypothèse infectieuse.

De nouveaux biomarqueurs présents dans le liquide synovial ont été récemment évalués. Parmi eux, l'α-défensine, un peptide antimicrobien, qui est sécrété dans le liquide synovial par les cellules immunitaires humaines en réponse à la présence d'un pathogène. Une étude récente (Deirmengian C, 2015)[21] a comparé le dosage de l' α-défensine et l'activité leucocyte-estérase sur bandelette en per-opératoire. L'étude incluant 46 patients (23 infectés selon les critères MSIS, 23 non infectés), la Se et la Sp pour le dosage de l' α-défensine dans le liquide synovial étaient de 100% contre respectivement de 69% et 100% pour les bandelettes leucocyte estérase, avec de plus 8 bandelettes illisibles sur 46 tests pratiqués. Le seuil décisionnel pour la positivité de l'α-défensine a été fixé à 5.2 mg/L comme le montre le graphique suivant :

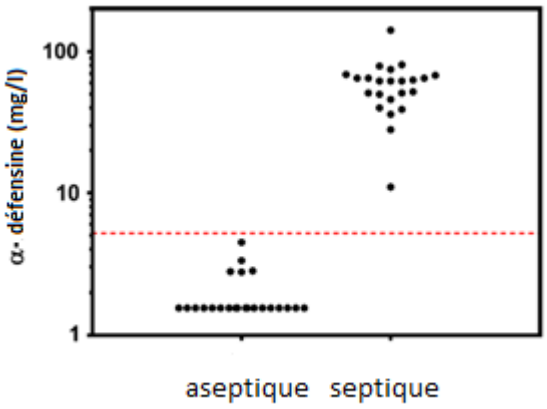


Figure 4 : Concentration d'α-défensine chez les patients avec reprise septique contre reprise aseptique. Les concentrations sont représentées sur une échelle logarithmique. D'après *Deirmengian et al*[21].

6. Diagnostic microbiologique standard :

Les prélèvements à visée microbiologique destinés à la mise en culture sont de diverses natures : le liquide synovial, les tissus et os à proximité de l'implant ainsi que les implants eux-mêmes. Ils peuvent être effectué en pré-opératoire ou en per-opératoire. Certaines équipes pratiquent des biopsies tissulaires pré-opératoires sous arthroscopie. Cependant ces pratiques n'ont jamais montré d'avantages vis-à-vis de la ponction articulaire. Au vu du caractère invasif d'un tel geste ces biopsies pré-opératoires ne sont pas recommandées.

Les articulations, les os sont des milieux dépourvus de flores commensales saprophytes, ce qui pose la problématique des contaminants. En effet ces sites devant être stériles toutes bactéries retrouvées doivent être traitées et considérées par le microbiologiste. Mais comment interpréter pour le clinicien une bactérie commensale retrouvée isolément sur un seul site opératoire? Quelle est la marche à suivre face à cela ? On ne peut pas écarter une authentique ostéite à un germe commensal, de même qu'on ne peut écarter un contaminant lors de la perforation de la peau ou introduit par l'opérateur. C'est une problématique récurrente en bactériologie lorsque l'on reçoit des prélèvements issus de sites stériles.

a) Culture du liquide synovial en flacon d'hémoculture :

Une ponction préopératoire positive en culture permet de confirmer le diagnostic d'infection si le germe est reconnu comme pathogène. Elle permet également de déterminer la sensibilité aux antibiotiques du ou des germe(s) responsable(s) afin d'optimiser le traitement qui sera mis en place en per-opératoire et adapter l'imprégnation d'antibiotiques d'un éventuel ciment prothétique. Il est indispensable de mettre en culture le liquide synovial prélevé en pré ou per-opératoire. Les techniques microbiologiques standards employées sont similaires à celles des prélèvements tissulaires per-opératoires, et seront traitées dans le prochain paragraphe.

En plus de l'ensemencement standard il est recommandé de mettre en culture le liquide synovial dans des flacons d'hémoculture. Une étude (Font-Vizcarra L, 2010)[22] incluant 87 patients présentant une infection sur prothèse précoce ou retardée (54 genoux et 33 hanches) ayant eu une ponction de liquide articulaire préopératoire a évalué la performance d'un ensemencement des liquides collectés dans des flacons d'hémoculture. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Type d'infection	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
Aigue				
Liquide synovial	91,39	100	100	93,6
Tissus périprothétiques	78,94	80,95	78,95	80,95
Ecouvillon	80,65	99,3	98,68	88,68
Chronique				
Liquide synovial	78,94	100	100	87,96
Tissus périprothétiques	56,98	80,95	67,12	73,38
Ecouvillon	39,53	99,29	97,14	73,06

Tableau 6 : Comparaison des performances de la culture sur hémoculture du liquide synovial préopératoire et à celles de la culture des tissus péri-prothétiques et de l'écouvillonnage de cicatrice, d'après *Font-Vizcarra et al*.

Les Se et Sp, pour la culture du liquide synovial, sont respectivement de 91.39% et 100%, pour les infectons précoces et de 78.94% et 100% pour les infections retardées. Ces Se et Sp sont déterminés par rapport à divers signes cliniques, biologiques et d'imagerie médicale qui ont servi à définir les types d'infections.

Les hémocultures présentent plusieurs avantages notamment la présence de résines qui absorbent les antibiotiques. L'observation d'une fenêtre thérapeutique libre d'antibiotique d'une durée d'au moins 2 semaines avant toute ponction est tout de même recommandée. Les flacons d'hémoculture sont, de plus, des milieux de transports idéaux si les délais d'acheminement au laboratoire sont supérieurs à 2 heures. En outre, l'inoculation rapide des flacons via une seringue de prélèvement limite le contact avec l'oxygène pour les bactéries anaérobies.

b) Les prélèvements per-opératoires :

Ces prélèvements sont indispensables pour établir le diagnostic d'infection. Il est important de les réaliser dans des conditions strictes d'asepsie selon un protocole défini afin de limiter les risques de contamination.

Pour répondre à cette problématique, la multiplication des prélèvements et des sites prélevés est une solution. Il a été montré que les meilleurs taux de Se et de Sp étaient obtenus lorsque l'on disposait de 5 ou 6 prélèvements per-opératoires, dont au moins deux positifs au même germe (Atkins BL, 1998)[23].

Résultats microbiologiques	Probabilité que les échantillons histologiques soit positifs quand le nombre suivant d'échantillons sont prélevés:							Probabilité que les échantillons histologiques soit négatifs quand le nombre suivant d'échantillons sont prélevés:						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Tout négatifs	0,41	0,16	0,07	0,03	0,01	0,004	0,002	0,94	0,88	0,83	0,78	0,73	0,68	0,64
1 échantillon positif	0,6	0,48	0,29	0,16	0,08	0,04	0,02	0,06	0,12	0,16	0,2	0,24	0,27	0,29
2 échantillons positifs		0,35	0,43	0,35	0,24	0,14	0,08		0,04	0,01	0,02	0,03	0,04	0,06
3 ou plus échantillons positifs			0,21	0,47	0,67	0,81	0,9			0,0002	0,0009	0,002	0,004	0,007

Tableau 7 : Probabilité que les prélèvements histologiques soit positifs ou négatifs en fonction du nombre de prélèvements microbiologiques (de 1 à 7). D'après *Atkins et al*[23].

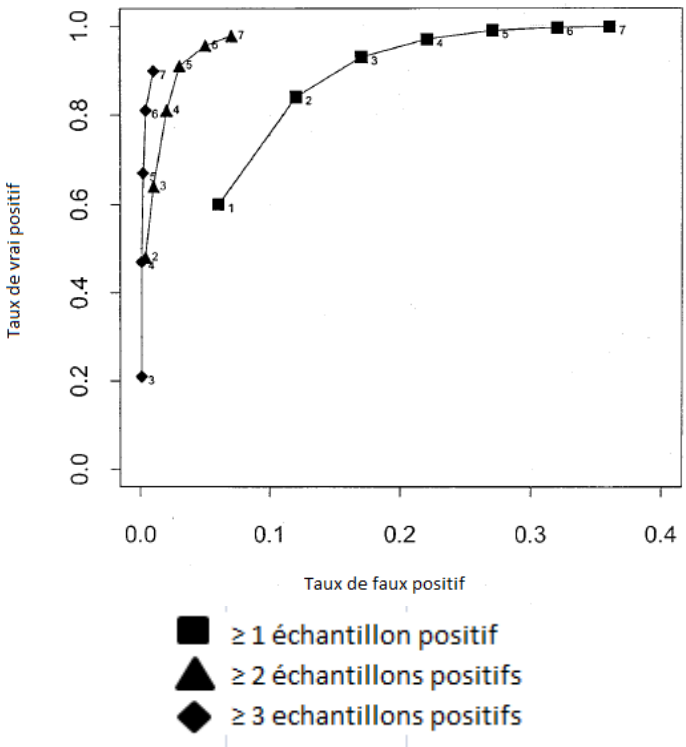


Figure 5 : Courbe ROC montrant la sensibilité et la spécificité prédictives du test avec plusieurs nombres de prélèvements, utilisant les seuils de 1, 2 ou 3 échantillons positifs pour le même organisme. Le nombre de prélèvements prélevés est indiqué à côtés de chaque point. D'après *Atkins et al*[23].

Toutefois, les critères de distinction entre infection et non-infection dans cette étude étaient basés uniquement sur des données d'anatomopathologie, limitant l'impact de ses conclusions.

Une étude beaucoup plus récente (Bemer P, 2015)[24] menée par le Centre Régional des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest (**CRIOGO**) montre qu'il n'y a pas d'avantage à prélever 5 sites plutôt que 4 sites. Cette étude incluait 215 cas d'infections sur prothèse et 49 cas de reprises aseptiques. Les taux de concordance, lorsque 4 sites sont prélevés, avec les critères IDSA microbiologiques seuls d'une part et les critères globaux IDSA d'autre part, sont de 98.1% et 99.7%. Ces taux de concordance ne sont pas significativement différents de ceux observés lorsque 5 sites sont prélevés (chiffres non fournis). Pour 3 sites ces mêmes taux passent respectivement à 93.3% et 99.2%, ce qui traduit le fait qu'il y a plus de cultures significatives avec 4 prélèvements qu'avec 3 prélèvements.

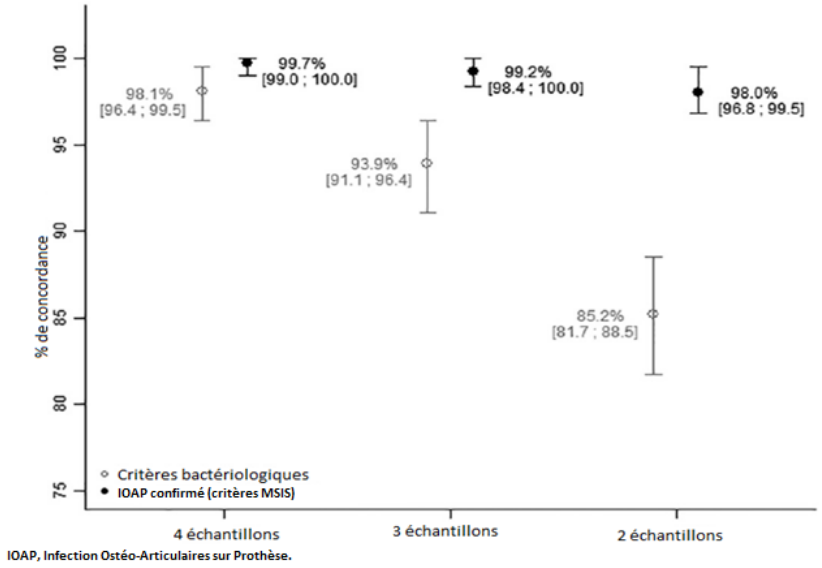


Figure 6 : Pourcentage de concordance entre la présence d'infections (critères bactériologiques seuls et critères MSIS) et le nombre de sites opératoires prélevés. Intervalle de confiance au risque α= 2.5%. Adapté de *Bemer et al*[24].

A la lumière des données bibliographiques, il est donc raisonnable, lors de suspicion d'IOAM de réaliser des prélèvements au niveau de 4 sites opératoires.

Une fois les prélèvements faits il est nécessaire de les acheminer rapidement au laboratoire. En effet un circuit court augmente les chances de cultiver des bactéries exigeantes telles que les bactéries anaérobies strictes. Après réception, et avant l'ensemencement il est recommandé de broyer les prélèvements solides afin de tenter de détacher les bactéries du biofilm.

Pour la mise en culture de ces prélèvements il est recommandé d'ensemencer des milieux aérobies et anaérobies, ainsi qu'un un milieu d'enrichissement liquide. Quatre types de milieux (gélosés, 2 bouillons d'enrichissement différents et flacons d'hémocultures Bactec) ont été comparés dans une étude (Hughes HC, 2011)[26] pour la détection des IOAP. Voici les résultats :

	Milieu de culture			
Sensibilité/Spécificité	Milieux solides	Milieu liquide enrichi	Bouillon anaérobie	Hémoculture Bactec
Sensibilité % (IC 95%)	39 (18-61)	83 (66-99)	57 (35-78)	87 (72-100)
Spécificité % (IC 95%)	100 (97-100)	97 (95-100)	100 (97-100)	98 (96-100)

IC, Intervalle de confiance

Seuil de positivité fixé à 2 sites positifs

Tableau 8 : Sensibilité et Spécificité des différents milieux de cultures dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèse. D'après *Hughes et al*[26].

Les contaminations ayant été retirées, on remarque que la Sp est excellente car 2 milieux de cultures positifs provenant de 2 échantillons distincts confirment le diagnostic d'infection. Cependant on notera que la Se des milieux standards seule est médiocre. L'apport d'un bouillon d'enrichissement supplémentaire est impératif.

L'étude récente menée par le CRIOGO (Bemer P, 2015)[24] montre que sur 171 cas d'infections sur prothèse impliquant des bactéries aérobies, les taux de positivités des milieux de cultures des prélèvements per-opératoires étaient de :

- 70.1% sur gélose au sang
- 69% pour la gélose chocolat
- 68.8% pour le bouillon Schaedler
- et 83.0% pour le flacon d'hémoculture pédiatrique.

Sur les 21 cas d'infections sur prothèse impliquant des bactéries anaérobies, les taux de positivités des milieux de cultures des prélèvements peropératoires étaient :

- 31.4% sur gélose au sang
- 53.3% sur gélose chocolat
- 56.2% sur gélose au sang mis en anaérobie
- 75.2% pour le bouillon Schaedler
- Et 54.3% pour le flacon d'hémoculture pédiatrique.

Au final le bouillon de Schaedler est statistiquement meilleur que les autres milieux pour la détection des anaérobies. Pour les aérobies c'est le flacon d'hémoculture qui est le meilleur. La gélose au sang semble être similaire à la gélose chocolat pour les bactéries aérobies. Cependant pour les bactéries anaérobies la gélose chocolat semble être plus performante notamment pour l'isolement de *Propionibacterium acnes*. En conclusion cette étude recommande d'utiliser 3 milieux de cultures par

prélèvement : une gélose chocolat sous CO_2, un flacon d'hémoculture pédiatrique et un bouillon de Schaedler.

Les laboratoires de la métropole Lilloise du CRIOAC utilisent le milieu de Rosenow (RW) comme milieu d'enrichissement pour la culture des bactéries anaérobies. Ce milieu à la particularité d'être ensemencé directement au bloc opératoire (sans broyage). Une étude Lilloise (Senneville E, 2006)[25] à montré une récupération d'un diagnostique positif significatif (hors contamination) sur la culture bactérienne pour 1/3 des patients de la cohorte (72 patients) grâce à cette technique.

Espèces bactériennes (nombre total d'isolement)	Sur milieu standard seul**	Sur milieu de Rosenow seul	Sur les deux
S. aureus (15)	12	10	7
Staphylocoque coagulase négatif (38)	25	31	18
Autre Gram positif* (26)	18	25	17
Bactérie Gram négatif (4)	1	3	0
Anaérobies (14)	0	14	0
Total (97)	56	83	42

* *Streptococcus spp, Enterococcus spp, Corynebacterium spp*

** Brain Heart seul

Tableau 9 : Nombres de souches bactériennes isolées sur les différents milieux liquides : Rosenow ensemencé directement au bloc opératoire et Brain-Heart (BH) ensemencé au laboratoire. D'après *Senneville et al*[25].

On observe un gain pour la culture des bactéries anaérobies strictes mais également pour les anaérobies facultatifs comme les Staphylocoques coagulase négative et les Streptocoques.

Outre le type de milieux de culture à utiliser se pose la question de leur durée d'incubation. Cette question est primordiale si on considère des germes à croissance lente tel que le genre *Propionibacterium* dont les durées moyennes de pousse varient de 2 à 5 jours. Une étude (Schafer P, 2008)[27] incluant 110 patients avec infections sur prothèses, montre qu'au bout de 7 jours d'incubation seulement 73.6% des infections étaient diagnostiquées via la culture. Voici la courbe de suivi des délais d'apparition des cultures positives significatives (contaminations exclues) :

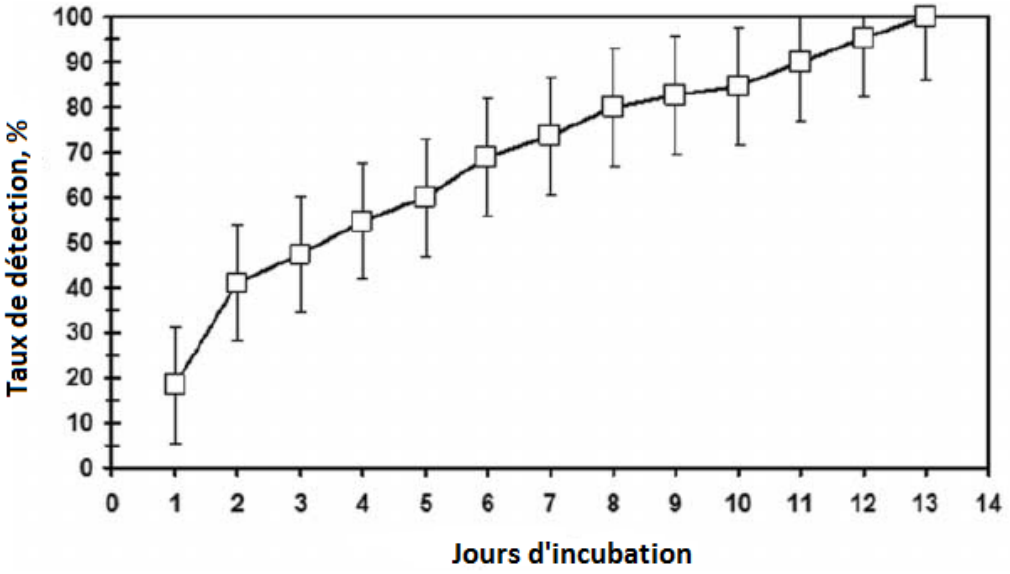


Figure 7 : Taux de détection bactérien en fonction du nombre de jours d'incubation. D'après *Schafer et al*[27].

Cette étude montre également que plus le temps d'incubation est long plus on détecte d'éventuels contaminants. En effet le temps médian de positivité des cultures significatives est de 4 jours, contre 7 jours pour celui des cultures positives considérées comme non significatives (contaminations). Un résultat est considéré comme contaminant si une souche bactérienne ne pousse que sur 1 seul site et que l'anatomopathologie est négative, sans prendre en compte l'habitat naturel de la souche (aucune distinction entre bactéries potentiellement virulentes et commensales). Un résultat est positif si une bactérie est présente sur au moins 2 sites, ou si 1 des sites est positif en culture associée à un résultat d'anatomopathologie positif. Voici la répartition des souches bactériennes en fonction du temps d'incubation :

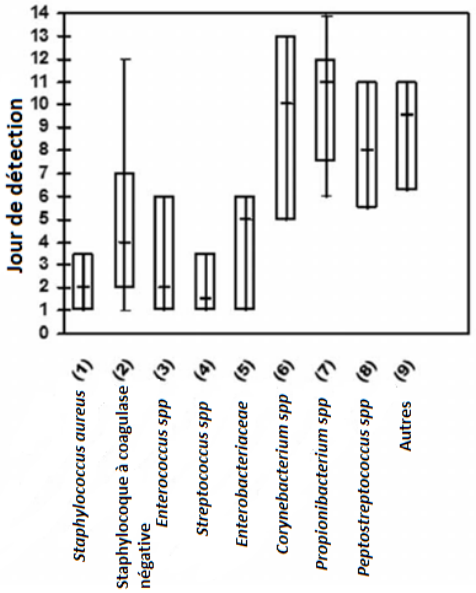


Figure 8 : Distribution des isolats bactériens en fonction du temps de détection. D'après *Shafer et al*[27].

Avec une telle durée d'incubation il est très important d'avoir des critères décisionnels stricts afin d'éviter de prendre en compte un contaminant pour la mise en route du traitement.

L'étude du CRIOGO (Bemer P, 2015)[24] s'est également intéressée aux délais de positivité des milieux étudiés. Il en ressort que toutes les bactéries aérobies ont été détectées par les flacons d'hémocultures au bout de 5 jours contre 7 jours pour les milieux gélosés. 84.1% des bactéries aérobies poussaient en moins de 10h sur les flacons d'hémoculture contre 71.4 % entre 18 et 24 h pour les milieux solides. 93% des bactéries aérobies étaient détectés au bout de 2 jours sur les milieux solides, les 7 % restant étaient détectés entre le 3eme et le 7eme jour. Sur le bouillon de Schaedler, 14% des *Propionibacterium acnes* étaient détectés entre 2 et 4 jours et 86% entre 5 et 14 jours. Les délais recommandés par cette étude sont donc de 5, 7 et 14 jours pour respectivement les flacons d'hémocultures pédiatriques, la gélose chocolat et le bouillon de Schaedler.

En conclusion, Il est indispensable de conserver un milieu enrichi adapté à la culture des bactéries exigeantes et anaérobie stricte pendant une durée de 14 jours. De plus une incubation comprise en 5 et 7 jours est recommandée pour le milieu gélosé enrichi.

c) Sonication de l'implant :

Dans certains centres, les équipes chirurgicales envoient l'implant ou la prothèse entière au laboratoire afin d'effectuer une recherche microbiologique. L'idée est de détacher le biofilm, de le dissocier du matériel sans tuer les bactéries, puis d'ensemencer le liquide de sonication comme vu précédemment.

Le mécanisme d'action des ultrasons (US) permettant de détacher les bactéries d'une surface résulte d'un phénomène mécanique appelé la cavitation (Erriu M, 2013)[28]. Via des basses fréquences (40-100kHz) et des hautes intensités (> 10W/cm^2), les ondes ultrasoniques forment des variations de pressions au sein du biofilm. Lors des phases de basse pression des bulles microscopiques se forment. Lors des phases de haute pression ces bulles se contractent plus ou moins violemment en fonction de l'intensité des US choisis. Si l'intensité des US est trop élevée, à la fin du cycle de haute pression, le diamètre des bulles de gaz est réduit à une valeur très faible. Ce changement soudain de diamètre provoque une onde de choc au sein des bulles, elles éclatent. La température du gaz interne peut monter jusqu'à 5000 °K, au maximum de compression. Ce qui a pour conséquence de fragmenter les molécules d'eau et de produire des radicaux libres. Ces derniers provoquent une lyse des membranes bactériennes. Lorsque les intensités d'US sont maitrisées ce phénomène est beaucoup moins violent, ce que l'on appelle la cavitation stable et l'énergie libérée permet de détacher mécaniquement le biofilm. A contrario (Pitt WG, 2003)[29] il semblerait que de basses

intensités (2W/cm^2) associées de basses fréquences permettent une meilleure croissance du biofilm dans son ensemble.

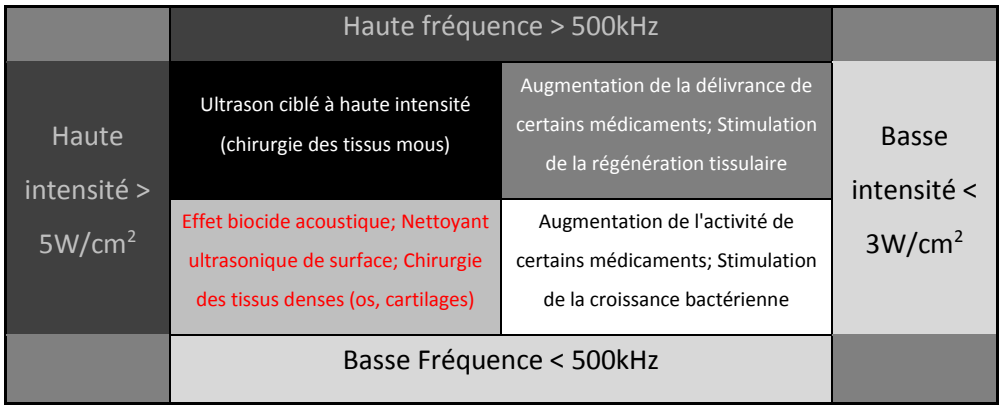


Figure 9 : Présentation des différentes propriétés des ultrasons en fonction des différentes combinaisons fréquence/intensité utilisées. D'après *Erriu et Al* [28].

Dans le cadre des infections ostéo-articulaires sur prothèse de nombreux travaux ont été effectués pour comparer le résultat de la culture du liquide de sonication avec différentes méthodes de diagnostic. Une étude prospective (Trampuz A, 2007)[30] a comparé les résultats de la sonication avec ceux obtenus via les méthodes de cultures classiques. Elle incluait 331 patients qui nécessitaient un changement de prothèse, 207 prothèses de genou et 124 prothèses de hanche, 252 aseptiques et 79 septiques. Les prothèses ont été retirées puis placées directement par le chirurgien dans un container stérile avec 400 mL de solution Ringer. Le container est alors vortexé pendant 30 secondes puis soniqué pendant 5 minutes (40 Hz ; 0.2 W/cm^2). En parallèle, du liquide synovial pré-opératoire ainsi que des tissus per-opératoires sont ensemencés sur milieux standards, bouillon thioglycolate et flacon d'hémoculture pédiatrique. La Se du liquide de sonication était de 78.5%, supérieur à celle des tissus per-opératoires 60.8% (2 sites positifs ; p<0.001) et non significativement supérieur à celle du liquide synovial pré-opératoire 56.3% (p=0.058). Les Sp étaient respectivement de 98.8%, 99.2% et 98.1 % pour le liquide de sonication, les tissus et le liquide synovial. Il semblerait que la culture du liquide de sonication possède également une meilleure sensibilité que la culture des tissus péri-prothétiques dans le cas où la fenêtre libre d'antibiotique préopératoire n'a pas été respectée :

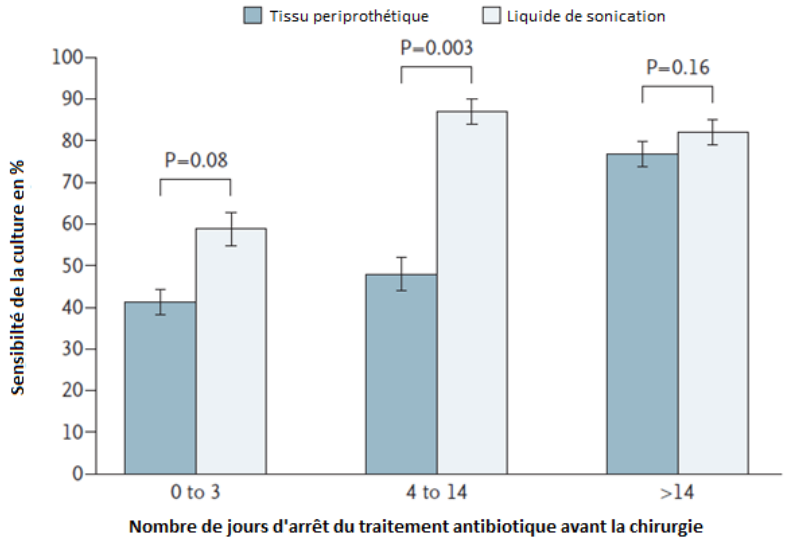


Figure 10 : Effet de la durée du traitement antibiotique préopératoire sur la sensibilité des différentes cultures (liquide de sonication et tissus périprothétiques) dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèse. D'après *Trampuz et al*[30].

On observe pour un intervalle libre en antibiotique compris entre 4 et 14 jours avant les prélèvements, une meilleure Se pour la culture du liquide de sonication (p=0.003). Les résultats de la sonication sont rendus sous forme d'Unité Formant Colonie (UFC) par ml avec un seuil fixé à 5 UFC/mL.

Les laboratoires ne disposant pas d'appareil de sonication ont recours seulement au vortex de l'implant. Une étude (Portillo ME, 2013)[31] incluant 135 patients (35 prothèses infectées) a comparé cette technique à la sonication de l'implant associée au vortex comme utilisé par *Trampuz et al* (Trampuz A, 2007)[30]. Les seuils comparatifs retenus pour la culture du liquide de sonication sont de 1 UFC/mL et 50 UFC/mL. Les résultats sont présentés ci-dessous :

Valeur seuil	Nombre d'IOAP (n=35)	Nombre de RA	Sensibilité (%)*	Spécificité (%)*	VPP (%)*	VPN (%)*
Seuil ≥ 1CFU/ml						
Liquide de sonication	25	7	71 (54-85)	93 (86-87)	78 (60-91)	90 (83-91)
Liquide après vortex	24	8	69 (51-83)	92 (85-96)	75 (57-89)	89 (82-95)
Seuil ≥ 50CFU/mL						
Liquide de sonication	21	1	60 (42-76)	99 (95-100)	95 (77-99)	88 (80-93)
Liquide après vortex	14	1	40 (24-58)	99 (95-100)	93 (68-99)	83 (75-89)

IOAP, Infections Ostéo-Articulaires sur Prothèse; RA, Reprise Aseptique

* Intervalle de confiance au risque α=5%

Tableau 10 : Comparaison des performances de la culture du liquide de sonication et du liquide après vortex. D'après *Portillo et al*[31].

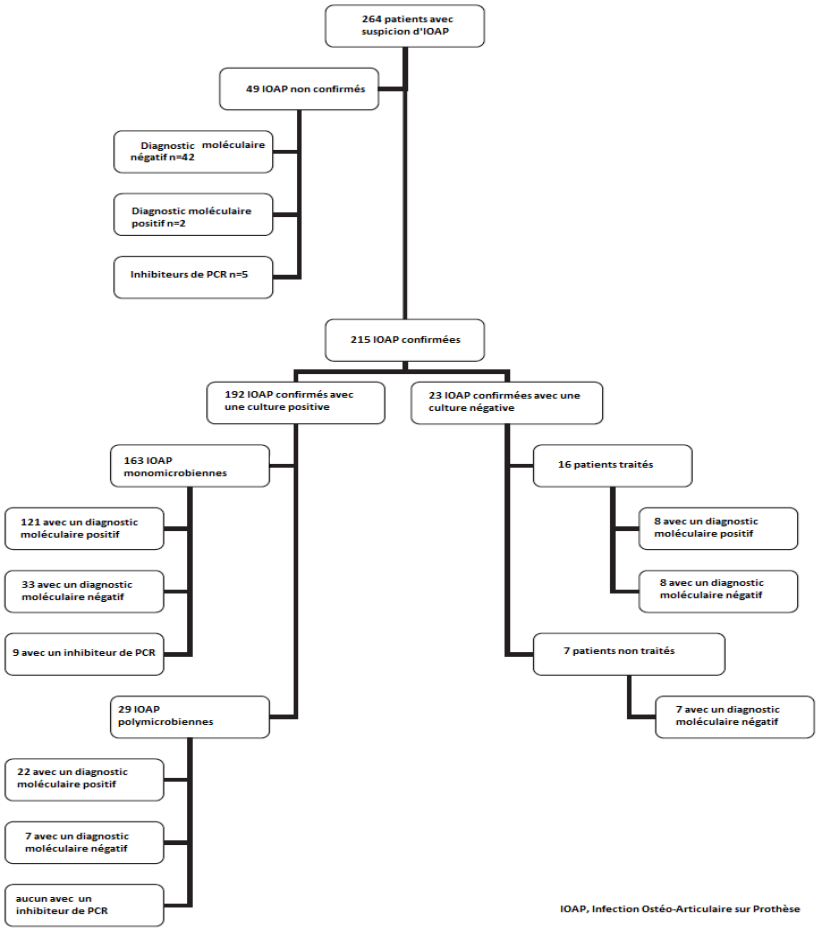
Pour un seuil de positivité du liquide de sonication fixé à 1 UFC/mL, les Se et Sp entre les deux méthodes sont comparables. En revanche pour un seuil à 50 UFC/mL la Se du vortex plus sonication est supérieure à celle du vortex seul, 60% contre 40%. Cela peut traduire un détachement du biofilm de la surface des prothèses plus important grâce à la 1ere méthode.

Les laboratoires référents du CRIOAC Nord Ouest, ne traite pas les prothèses ou implants entiers. Cette technique implique des coûts avec une logistique particulière : des containers spéciaux pour recueillir la prothèse, un automate de sonication et de vortex. Les diverses manipulations entre le dépôt de la prothèse et la mise en culture du liquide de sonication peuvent multiplier les risques de contamination. De plus l'innocuité des US vis-à-vis de toutes les espèces bactériennes n'est pas prouvée. Le débat est ouvert quant à son intérêt vis-à-vis de la culture des tissus péri-prothétiques ou du liquide synovial. A défaut de sonication des implants, les laboratoires du CRIAOC ensemencent un milieu d'enrichissement directement au bloc opératoire, tel que décrit par *Senneville et al* (Senneville E, 2006)[25] permettant également de documenter des IOAM non retrouvées par la culture standard des tissus péri-prothétiques. La comparaison des deux méthodes serait une piste intéressante à explorer.

7. Diagnostic microbiologique par biologie moléculaire :

a) la PCR du gène de l'ARN 16S :

Chez les bactéries le ribosome est constitué de 2 sous-unités de poids moléculaires différents, une grande, la sous-unité 50S, et une petite, la sous-unité 30S. La sous-unité 30S est elle-même constituée d'un ARN de poids moléculaire de 16S ainsi que de 20 protéines. Le gène codant pour l'ARN 16S est présent exclusivement chez les procaryotes. Il est constitué de 1500 nucléotides incluant 9 régions hypervariables, mais présente également des régions constantes. L'association de régions hypervariables et de régions conservées permet théoriquement d'identifier toutes les espèces bactériennes (A. Renvoisé, 2013)[32]. À partir de ce postulat, il devient donc intéressant de rechercher la présence d'ADN bactérien directement sur des prélèvements per-opératoires dans le cadre de suspicion d'IOAM. Une étude française prospective menée récemment par le CRIOGO (Bémer P., 2014)[33] a déterminé la Se et Sp de la recherche par PCR du gène codant l'ARN 16S sur les tissus per-opératoires dans ce contexte. Ces travaux multicentriques incluaient 264 suspicions d'infections sur prothèses (165 hanches, 88 genoux, 10 épaules et 1 coude), dont 215 infections confirmées. Les critères d'inclusions cliniques, bactériologiques et histologiques, dans le groupe « infecté » étaient ceux de l'IDSA (Osmon DR, 2013)[4]. La PCR du gène de l'ARN 16S a été réalisée sur les 5 sites prélevés pour chaque patient en parallèle de la culture. Les Se et Sp de la PCR du gène de l'ARN 16S sur les prélèvements per-opératoire pour la détection des IOAP étaient respectivement de 73.3% et de 95.5%. Les résultats sont présentés dans le diagramme suivant :



Nous pouvons observer que pour 40 patients avec une culture significativement positive la PCR était négative. Pour 9 patients la PCR n'était pas contributive.

En revanche la PCR a permis de documenter 8 infections chez des patients sous antibiotiques au moment des prélèvements.

Figure 11 : Intérêt de la PCR du gène de l'ARN 16S. Les 49 cas IOAP non confirmées ne possédaient aucun argument clinique histologique et bactériologique en faveur d'une IOAP. D'après *Bemer et al*[33].

En prenant en compte les coûts (137,7 euros (Catalogue des analyses du CHRU de Lille, analyse n°1724, 2016)[34]) ainsi que la complexité technique de cette analyse (amplification puis séquençage), la réalisation systématique d'une PCR du gène de l'ARN 16S sur tout prélèvement ne semble pas apporter un avantage déterminant pour la documentation des infections ostéo-articulaires sur prothèse.

Certains auteurs proposent toutefois de recourir à cette technique sur tous les prélèvements négatifs en culture (Levy PY, 2013)[35]. Dans cette étude regroupant 2308 patients avec une infection ostéo-articulaire la PCR a permis de documenter 141 infections supplémentaires en complément de la culture. Cependant, ni le nombre de prélèvement par patient, ni la significativité des cultures et/ou des PCR en fonction du nombre de sites prélevés n'est rapportée. De plus, la présence ou non de matériel n'est pas systématiquement précisée. Enfin le diagnostic d'infection n'est pas réalisé à partir de critères objectifs ou référencés.

L'apport de cette technique de biologie moléculaire par rapport à la culture a également été testé sur le liquide de sonication (Gomez E, 2012)[36] issu de 366 reprises de prothèses dont 135 classées comme septique. Comme élément supplémentaire de comparaison, la culture des prélèvements tissulaires per-opératoires a été prise en compte. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Test	Sensibilité (%)[a]	Spécificité %[a]
Culture tissulaire	70,4 (64,5-76,3)	98,7 (97,2-100)
Culture du liquide de sonication	72,6 (66,8-78,4)	98,3 (96,6-100)
PCR sur liquide de sonication (Seuil < 26 cycles)	70,4 (64,5-76,3)	97,8 (95,9-99,7)
Combinaison des 3 tests*	83,0 (78,2-87,8)	95,7 (93,1-98,3)
Culture du liquide de sonication + PCR (Seuil < 26 cycles	78,5 (73,2-83,8)	97,0 (94,8-99,2)
Culture du liquide synovial	64,7 (56,5-72,9)	96,9 (93,9-99,9)
PCR sur liquide de sonication (Seuil < 27,59 cycles)	80,0 (74,8-85,2)	90,9 (87,2-94,6)

*Cultures tissulaire + Culture liquide de sonication + PCR sur liquide de sonication

[a]Intervalle de confiance au risque α=5%

Tableau 11 : Rendement de la PCR sur le liquide de sonication, comparé à celui des cultures tissulaires, du liquide synovial et du liquide de sonication. D'après *Gomez et al*[36].

On remarque qu'il n'y a pas différence significative entre la Se et la Sp des 3 techniques. Lorsque le seuil de cycle de PCR est fixé à 27.59 (déterminé par une courbe ROC) la Se de la PCR du liquide de sonication augmente par rapport à la culture de ce dernier. Cependant on perd en spécificité.

En conclusion, La PCR ARN 16 S peut être un outil intéressant dans les cas où toutes les cultures bactériennes demeurent stériles après 14 jours d'incubation malgré une forte suspicion clinique.

b) Les PCR multiplex :

Le terme « multiplex » se dit d'une PCR capable d'amplifier plusieurs amorces simultanément. La société Roche Diagnostics® a été l'une des premières à commercialiser un kit de PCR multiplex prêt à l'emploi (Septifast®) pour le diagnostic rapide des bactériémies ou fongémies les plus courantes. Ce kit permet la détection des micro-organismes suivants :

Groupe et organisme
Organisme Gram négatif
Escherichia coli
Klebsiella pneumoniae/oxytoca
Serratia marcescens
Enterobacter cloacae/aerogenes
Proteus mirabilis
Pseudomonas aeruginosa
Acinetobacter baumannii
Stenotrophomonas maltophilia
Organisme Gram positif
Staphylococcus aureus
Staphylocoque coagulase négative [a]
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus spp.[b]
Enterococcus faecalis/faecium
Fungi
Candida albicans
Candida glabrata
Candida krusei
Candida tropicalis
Candida parapsilosis
Aspergillus fumigatus

[a] Incluant: *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus*, *S. pasteuri*, *S. warneri*, *S. cohnii* subsp. *urealyticum*, *S. hominis* subsp. *hominis*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii* subsp. *cohnii*, *S. capitis* subsp. *ureolyticus*, *S. capitis* subsp. *capitis*, *S. caprae*, *S. saprophyticus*, *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus*, *S. xylosus*, *S. epidermidis*, and *S. haemolyticus*.

[b] Incluant: *Streptococcus agalactiae*, *S. anginosus*, *S. bovis/S. gallolyticus*, *S. constellatus*, *S. cristatus*, *S. gordonii*, *S. intermedius*, *S. milleri*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. parasanguinis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. thermophilus*, *S. vestibularis*, and *S. viridans*.

Une équipe (Achermann Y, 2010)[37] a eu l'idée d'utiliser ce kit sur le liquide de sonication d'explants orthopédiques et de comparer ses résultats avec ceux de la culture. L'étude portait sur 37 infections sur prothèse (17 hanches, 14 genoux, 4 épaules et 1 coude) pour lesquels 19 patients étaient sous antibiotiques au moment des prélèvements.

Tableau 12 : Spectre de la PCR multiplex Septifast®. D'après *Achermann et al*[37].

La Se de la PCR Septifast® sur le liquide de sonication n'était pas statistiquement supérieure à celle de la culture de ce dernier respectivement 78% contre 62%. Sous antibiothérapie la sensibilité de la PCR montait à 100% contre 42% pour la culture. La limite de ce résultat est qu'en réalité la PCR était faussement négative dans 8 cas, où la culture a montré une infection à *Propionibacterium acnes* ou a *Corynebacterium spp.*. En effet le kit ne dispose pas d'amorces spécifiques à ces genres bactériens empêchant leur détection. Ces 8 cas étaient dans le groupe sans antibiotique résultant d'une Se pour la PCR de 56% contre une Se pour la culture du liquide de sonication de 77%.

Dans l'esprit de ce travail une équipe américaine (Cazanave C, 2013)[38] a mis au point une PCR multiplex spécialement « *designée* » pour le diagnostic des infections ostéo-articulaires. Cette technique permet la détection de : *Staphylococcus spp*. (*S. aureus* et les staphylocoques à coagulase négative les plus courants), *Streptococcus spp*., *Enterobacteriaceae*, cocci à Gram positif anaérobies stricts, *Enterococcus spp/Granulicatella spp/ Abiotrophia spp, Corynebacterium spp, Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroïdes* du groupe *fragilis* et *Propionibacterium spp./Actinomyces spp.* . L'étude en découlant incluait 434 patients dont 144 IOAP (définis par la présence de signe d'inflammation tissulaire et/ou la présence d'une fistule et/ou la présence de pus au contact de la prothèse). Les Se ont étés établies par rapport à la définition des IOAP utilisées dans cette étude, et à partir de culture significative pour les tissus péri-prothétiques (≥ 2 sites opératoires positifs). La Se de la PCR multiplex

sur le liquide de sonication était de 77.1% significativement plus importante (p=0.04) que celle de la culture des tissus péri-prothétiques (70.1%) mais non significativement différente (*p=0.41)* de celle de la culture du liquide de sonication (72.9%). 33 patients avaient reçu des antibiotiques dans les 14 jours pré-opératoire, sur cette cohorte la PCR sur le liquide de sonication a une meilleure Se que celles des cultures de tissus ou du liquide de sonication. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau suivant :

Test	Nombre de patients avec des prélèvements positifs		Sensibilité % (IC 95%)	Spécificité % (IC 95%)	VPP % (IC 95%)	VPN % (IC 95%)
	Reprise aseptique	IOAP (n=144)				
Culture du liquide synovial	5/161	59/89	66,3 (55,5-76,0)	96,9 (92,9-99,0)	92,2 (82,7-97,4)	83,9 (77,8-88,8)
Culture des tissus periprothétiques						
Toute croissance	45	119	82,6 (75,4-88,4)	84,5 (79,8-88,5)	72,6 (65,1-79,2)	90,7 (86,6-93,9)
≥ 2 sites positifs (au même organisme)	6	101	70,1 (62,0-77,5)	97,9 (95,6-99,2)	94,4 (88,2-97,9)	86,9 (82,7-90,3)
Culture du liquide sonication	5	105	72,9 (64,9-80,0)	98,3 (96,0-99,4)	95,5 (89,7-98,5)	88,0 (83,9-91,3)
PCR (adaptée aux IOAP) sur liquide sonication						
Touts résutats positifs	6	111	77,1 (69,3-83,7)	97,9 (95,6-99,2)	94,9 (89,2-98,1)	89,6 (85,7-92,7)

IC, Intervalle de Confiance; VPP, Valeur Prédictive Positive; VPN, Valeur Prédictive Négative; IOAP, Infection Ostéo-Articulaire sur Prothèse.

Tableau 13 : Comparaison du rendement de la PCR multiplex (adaptée au diagnostic d'IOAP) sur le liquide de sonication aux rendements des différentes cultures (liquide de sonication, liquide synovial et tissus péri-prothétiques). D'après *Cazanave et al*[38].

Suite à ces travaux sur le liquide de sonication, cette même PCR multiplex (sans les amorces pour *Bacteroides* du groupe *fragilis* et pour le genre *Proteus*) a été testée sur les tissus per-opératoires (Seong Yeol Ryu, 2014)[39]. Cette étude portait sur 95 sujets dont 64 infections sur prothèse de genou. La Se retrouvée par rapport au critère de définition d'IOAP utilisé par cette équipe (similaire à ceux de *Cazanave et al*), était médiocre 15.6% associée à une Sp de 96.8%. La limite de cette étude est le fait que la PCR n'a été réalisée que sur 1 seul site alors qu'au moins 2 sites étaient prélevés par patient.

Un autre groupe (Dante P. Melendez, 2015)[40] a testé cette PCR sur le liquide synovial prélevé en préopératoire. Sur un total de 88 liquides synoviaux associés à une infection sur prothèse, 49 avaient une PCR positive, contre 67 pour la culture. Soit des Se respectives de 55.6% et 76.1%. De plus 48 infections sur prothèse avaient reçu des antibiotiques dans les 30 jours avant la ponction. Sur ces 48 sujets la PCR était positive dans 31 cas contre 41 cas pour la culture. Soit des Se respectives de 64.5% et 85.4%.

Encore une fois l'utilité d'une PCR systématique ne montre que peu d'avantages vis-à-vis de la culture standard, notamment sur les tissus per-opératoires et sur le liquide synovial pré-opératoire.

Pour le liquide de sonication de la prothèse cette PCR multiplex peu représenter une alternative. À la lumière de ces données, il apparaît que les tests de biologie moléculaire peuvent être considérés comme des outils complémentaires à la culture, notamment en cas de négativité de cette dernière.

Néanmoins, leur coût et leur difficulté de mise en œuvre ne permettent pas leur utilisation en routine, réservant leur usage aux seuls laboratoires spécialisés.

c) La PCR couplée à la spectrométrie de masse avec ionization par ElectroSpray (ESI/MS) :

Cette technologie entièrement automatisée est un couplage de l'amplification génique et de la performance de la spectrométrie de masse. Comme toute PCR une étape d'extraction des acides nucléiques doit être réalisée au préalable. Les amorces choisies pour l'amplification ciblent un large nombre d'amplicons permettant d'englober toutes les espèces bactériennes d'intérêt médical. Puis les différents morceaux d'acides nucléiques amplifiés sont ionisés par électronébulisation au sein d'un spectromètre de masse couplé à la technique de séparation du temps de vol (*Time-Of-Flight* ou TOF). Grace à ce temps de vol et à la masse moléculaire de chaque combinaison d'amplicons, l'analyseur formule un spectre permettant de calculer les séquences nucléotidiques amplifiées. Puis via des algorithmes mathématiques les séquences d'acides nucléiques sont converties en une liste de microorganismes présents au sein du prélèvement (Ecker DJ, 2008)[41].

Dans le domaine des IOAP, cette technologie a été utilisée (Kerryl E., 2013)[42] sur le liquide de sonication des prothèses. Cette étude utilisait l'automate PLEX-ID® PCR-ESI/MS (Abbott) et comparait ses performances avec la culture standard. Les résultats sur un total de 431 sujets (dont 279 aseptiques et 152 septiques) sont les suivants :

Définition d'IOAP	Paramètre	Culture du liquide de sonication	PCR-ESI/MS sur liquide de sonication	*p*
IDSA + MSIS	Sensibilité	69,7 (106/152)	77,6 (118/152)	0,0105
	Spécificité	99,3 (277/279)	93,5 (261/279)	0,0002

Tableau 14 : Comparaison des performances de la culture du liquide synovial et de la PCR-ESI/MS dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèse. D'après *Kerryl et al*[42].

Comme on peut le remarquer les résultats montrent un manque de spécificité pour la méthode qui est seulement de 93.5% contre 99.3% pour la culture du liquide de sonication.

Cette technique à également été évaluée sur le liquide synovial préopératoire (Melendez DP, 2014)[43]. La cohorte de patients était plus restreinte, en effet sur 103 liquides synoviaux seulement 21 étaient classés comme septiques selon les critères MSIS. L'automate utilisé était la PCR-ESI/MS BAC® (Ibis Biosciences) qui permet de détecter plus de 3400 espèces bactériennes, 40 espèces de *Candida* et 4 gènes de résistance. Au final, la PCR ESI/MS était positive dans 17 cas contre 18 cas pour la culture. Soit des Se respective de 81% et 86%. La Sp était encore une fois encore moins bonne pour la PCR ESI/MS que pour la culture du liquide synovial : 95% contre 100%.

Au final cette méthode montre, par ces 2 études, un manque de spécificité par rapport à la culture. Une spécificité moindre entraîne plus de faux positifs, dommageables pour la prise en charge thérapeutique en découlant.

C. Prise en charge médico-chirurgicale:

Il faut distinguer la prise en charge des infections sur matériel d'ostéosynthèse et celles sur prothèse. Leur but sera d'éradiquer l'infection, de sauvegarder le capital osseux et de préserver la fonction dans le cadre d'une articulation. Cette prise en charge combine une intervention chirurgicale associée à un traitement antibiotique.

1. Prise en charge des infections ostéo-articulaires sur prothèse :

a) Débridement, lavage avec maintien de la prothèse :

Cette intervention s'adresse aux patients présentant une infection postopératoire précoce (survenant dans le mois post-opératoire) ou lors d'une infection retardée avec apparition récente des symptômes (inférieur à 3 semaines). Les patients non éligibles à une chirurgie plus lourde (consistant à changer la prothèse) peuvent également bénéficier de cette intervention. La présence d'un trajet fistuleux en regard de la prothèse orientera le chirurgien vers un changement de cette dernière (Osmon DR, 2013)[4] .

Cette procédure est considérée comme la moins invasive car l'implant est conservé. Elle consiste en la réouverture de l'articulation par la cicatrice initiale et le débridement de tous les tissus nécrosés ou paraissant infectés. Le chirurgien prend soin d'évacuer toute purulence ou un éventuel hématome. Puis il procède à un lavage abondant de l'articulation notamment de la jonction os-

implant. Si cette jonction est mobile, il devra envisager un changement d'implant par une méthode en 1 ou 2 temps (HAS, mars 2014)[44].

Après la réalisation des prélèvements microbiologiques, une antibiothérapie peropératoire ou post-opératoire immédiate par voie intraveineuse (IV) doit être mise en place. Cette voie sera utilisée durant une période de 2 à 6 semaines. A la fin de cette période un relais *per os* sera mis en place pour une durée variable selon le(s) microorganisme(s) isolé(s).

Une étude (Koyonos L, 2011)[45], parmi de nombreuses réalisées sur ce sujet, montre des taux de succès très mitigés concernant cette technique. Sur 136 patients, cette procédure n'avait pas permis d'éradiquer l'infection chez 90 d'entre eux. Les patients étaient classés selon le délai d'apparition de l'infection. Ils étaient 52 présentant une infection précoce, 50 avec une infection retardée mais avec une symptomatologie d'apparition récente (symptômes depuis moins de 4 semaines) et 36 avec une infection chronique. Les taux d'échec étaient respectivement 69%, 56% et 72%, un échec étant défini comme recours à une nouvelle chirurgie ou la mise en place d'une antibiothérapie suppressive.

Cette technique reste une 1ere intention chirurgicale peu invasive. En cas d'échec il sera nécessaire de changer la prothèse.

b) Le changement de prothèse en 1 temps :

Cette opération s'adresse, d'après les recommandations, aux patients présentant une PTH, dont le capital osseux est bon et les tissus périprothétiques sont préservés. De plus il est préférable que le micro-organisme en cause, soit connu et qu'il soit sensible aux antibiotiques couramment utilisés dans ce type d'infection (bonne diffusion osseuse et peu de toxicité). En dehors de ces critères il est préférable d'avoir recours à un changement de prothèse en 2 temps opératoire (Osmon DR, 2013)[4]

Cette intervention consiste à retirer l'implant, débrider les tissus infectés, laver puis, dans un même temps opératoire, poser une nouvelle prothèse.

L'antibiothérapie IV sera mise en place le plus rapidement possible après les prélèvements microbiologiques et ceux pour une durée variant de 2 à 6 semaines selon le(s) microorganisme(s) ciblé(s), suivi d'un relais *per os* d'une durée variable.

Une méta analyse (Beswick AD, 2012)[46] regroupant 11 études soit 1225 patients ayant bénéficié d'un changement de PTH en 1 temps opératoire montre une incidence de réinfection de 8.6%.

c) Le changement de prothèse en 2 temps :

Cette procédure est considérée par de nombreuses équipes comme le « *gold standard* » du traitement des IOAP. La première étape consiste à retirer la prothèse et éventuellement les ciments fixateurs présents. Après un débridement des tissus infectés on place ce que l'on appelle un « spacer » ou une entretoise. Ce spacer articulé ou non sert à combler l'espace vide laissé par le dépôt de la prothèse. Dans la majorité des cas il est imprégné d'antibiotique (aminoside et/ou vancomycine) permettant une diffusion locale.

Si le germe responsable de l'infection n'est pas connu, une fenêtre thérapeutique libre de tout antibiotique est impérative avant l'opération. Lors de ce 1er temps opératoire le chirurgien réalisera des prélèvements microbiologiques afin de documenter l'infection permettant d'adapter la stratégie antibiotique post opératoire. Si la sonication est disponible, la prothèse sera recueillie dans un container stérile puis envoyé au laboratoire. Le temps entre la résection de l'implant et la réimplantation d'une nouvelle prothèse varie de 2 semaines à 6 mois.

Là encore l'antibiothérapie IV sera débutée immédiatement après les prélèvements bactériologiques pendant une durée de 4 à 6 semaines. De nouveaux prélèvements bactériologiques seront réalisés lors de la repose de prothèse. Si ces derniers reviennent négatifs, il n'est pas recommandé d'instaurer un relais antibiotique *per-os* (SPILF, 2009)[6].

Comparativement au changement en 1 temps, le 2 temps implique 2 chirurgies, des durées d'hospitalisation plus longue et donc des coûts plus importants. De plus l'impact fonctionnel au niveau de l'articulation est plus important entraînant des périodes de récupération plus longues. A l'heure actuelle les recommandations au recours à un changement de prothèse en 1 temps sont restreintes (Osmon DR, 2013)[4]. Il est possible que ces recommandations évoluent lors des prochaines mises à jour proposées par les diverses sociétés savantes, notamment vis-à-vis des prothèses de genou. Une étude (Kunutsor SK, 2016)[47] parue très récemment va dans ce sens. Cette méta analyse a comparé les résultats de 10 études portant sur le remplacement de prothèse de genou en 1 temps (423 patients) contre 108 études pour le 2 temps (5129 patients). Les taux de réinfection pour le 1 temps et pour le 2 temps étaient respectivement de 7.6 % et de 8.8 %., statistiquement équivalent.

d) Echec du remplacement en 2 temps:

Il arrive malheureusement que cette procédure soit un échec. Les principales causes sont évidemment un échec d'éradication de l'infection ou même une réinfection. Il semblerait que dans 2 cas sur 3 cet échec soit la conséquence d'une nouvelle infection (Zmistowski B, 2013)[48]. Les options sont encore nombreuses et sont à adapter au cas par cas. Elles peuvent aller, d'une procédure de lavage avec maintien de la prothèse, d'un nouveau changement en 2 temps ou d'une antibiothérapie

suppressive au long cours. Dans les plus mauvaises situations, le chirurgien peut-avoir recours à une arthrodèse (fixation chirurgicale d'une articulation) voire à une amputation. Toutes ces possibilités dépendent bien entendu de l'état général du patient, des comorbidités associées, de son capital osseux et tissulaire restant ainsi que de sa volonté à subir de nouvelles opérations chirurgicales lourdes. La stratégie à adopter est discutée au sein d'une équipe médicale pluridisciplinaire regroupant *a minima* chirurgiens, infectiologues et microbiologistes (Tande AJ, 2014)[10].

2. Prise en charge des pseudarthroses infectées :

La pseudarthrose correspond à la « constitution d'une fausse articulation, pathologique, entre les fragments osseux d'une fracture non consolidée » (Quevauvilliers, 2009)[49]. Lorsque celle-ci s'infecte il faut débrider les tissus nécrosés et retirer le matériel d'ostéosynthèse existant.

Des prélèvements per-opératoire, pour documenter l'infection, sont à réaliser. Puis classiquement une antibiothérapie systémique doit être mise en place pour une durée de 6 semaines.

Une stabilisation de la pseudarthrose est nécessaire, soit par des fixateurs externes soit par un implant interne. On viendra alors combler cette pseudarthrose par autogreffe d'os spongieux. Puis le chirurgien recouvre cette reconstruction osseuse par un lambeau tissulaire (SPILF,2009)[6].

II. L'infection du pied diabétique :

Dans le cadre de notre étude et du recrutement singulier du bloc opératoire d'orthopédie et de traumatologie du CH de Tourcoing, il m'a semblé judicieux de tracer brièvement les contours de cette pathologie, ainsi que les aspects microbiologiques de cette entité infectieuse particulière.

A. Généralités :

1. Physiopathologie du pied diabétique :

Ce que l'on nomme pied diabétique est une conséquence de nombreux troubles physiologiques liés au diabète. La principale cause est la neuropathie périphérique, elle est présente chez plus de 50 % des diabétiques de type 2 de plus de 60 ans (Young MJ, 1993)[50]. Elle touche tous les types de nerfs,

sensitifs, moteurs et végétatifs. L'atteinte sensitive est la plus problématique car elle entraine une perte des sensations au niveau du pied (tactile, thermique, algique ou plus profonde). L'atteinte motrice va provoquer des déformations au niveau du pied (orteils en griffe, pied hyper creux, etc), diminuant sa mobilité et augmentant la pression plantaire. L'atteinte végétative va entrainer des troubles d'adaptation vasomotrice au changement de pression et une fragilité cutanée. Tous ces éléments combinés favorisent à l'occasion d'un traumatisme cutané, l'apparition d'ulcérations (Société Francophone du diabète, 2015)[51].

A partir du moment où l'ulcère commence à se former de nombreux facteurs empêchent sa cicatrisation naturelle et la chronicité s'installe.

Le principal facteur est l'ischémie provoquée par la présence de macro-angiopathie athéro-sclérosique présente chez plus de 50% des diabétiques de plus de 60 ans (Gregg AW, 2004)[52]. Les macro-angiopathies sont le résultat de dépôt de plaque d'athérome au niveau des grosses et moyennes artères (Quevauvilliers, 2009)[49], entrainant un rétrécissement luminal. Cela à pour conséquence une diminution de la perfusion sanguine. La distribution de ces macroangiopathies chez le sujet diabétique est volontiers distale avec une atteinte depuis les artères fémorale et poplitée jusqu'à l'artère métatarsienne. A ceci s'ajoute un déficit de la microcirculation (altération des échanges endothéliaux, épaississement des membranes basales etc) entrainant une mauvaise distribution des flux sanguins (Falanga, 2005)[53].

Les cellules mêmes au sein de l'ulcère chronique présentent des caractéristiques responsables de son entretien. Les macrophages intervenant dans la réponse inflammatoire et le débridement de la plaie semblent avoir une capacité diminuée de libération des cytokines. Les fibroblastes, importants par leur rôle de synthèse des matrices extracellulaires semblent être sénescents et répondent beaucoup moins aux facteurs de croissance (Falanga, 2005)[53]. Les métallo-protéases (MMP), enzymes produites par de nombreuses cellules telles que les fibroblastes, les macrophages, les polynucléaires neutrophiles (PNN) et éosinophiles (PNE), jouent un rôle important dans le débridement initial des lésions. Mais également dans la phase de réparation où elles sont impliquées dans l'angiogénèse, le remodelage des matrices extracellulaires (MEC) ainsi que dans les mouvements cellulaires des fibroblastes et des kératinocytes (Bjarnsholt T, 2008)[54]. Un excès de MMP 9 est retrouvé dans les lésions chroniques du pied diabétique entrainant un excès de remodelage des MEC et une altération des mouvements cellulaires (Falanga, 2005)[53].

Une autre cause majeure de la non cicatrisation des lésions du pied diabétique est la récurrence des infections. En effet un ulcère est une porte d'entrée pour d'éventuels germes pyogènes. Le risque principal est la dissémination à l'os provocant une ostéite aigue.

Enfin de nombreux facteurs de risques lié à l'hôte prennent une part importante dans la survenu des complications du pied diabétique, notamment le contrôle glycémique et le tabagisme (Nalini S, 2005)[55].

2. Epidémiologie

Une importante étude épidémiologique a été menée au début des années 90 (Young MJ, 1993)[50] au Royaume Uni. Sur 6487 patients diabétiques (type 1 et 2) étudiés la prévalence des neuropathies périphériques était de 22.7% chez les diabétiques de type 1 et de 32.1% chez les diabétiques de type 2. Cette étude montre également que la prévalence des neuropathies périphériques au sein de cette population augmente avec l'âge, ainsi chez les 20-29 ans la prévalence est seulement de 5% contre 44.2% chez les 70-79 ans.

Le pied diabétique est une complication fréquente du diabète de type 1 ou 2. L'incidence annuelle pour cette population est environ de 2 %. Une fois diagnostiqués environ 15% des patients développeront une ostéite, et 15.6% des patients devront subir une amputation (Ramsey SD, 1999)[56]. Le pied diabétique est également un problème de santé public par les coûts qu'il entraine. On estime que pour un patient entre 40 et 60 ans de sexe masculin les coûts attribués à la prise ne charge de son pied diabétique les 2 premières années sont d'environ 25000 euros.

B. Microbiologie de l'infection du pied diabétique :

La peau contient naturellement une flore microbienne dite commensale, composée de bactéries aérobies et anaérobies généralement peu virulentes. Ceci implique à l'occasion d'une brèche cutanée, une colonisation par cette même flore de la lésion. Une ulcération chronique du pied chez un patient diabétique n'est donc par définition pas stérile. La difficulté est de déterminer à quel moment s'arrête la colonisation, et quand, commence l'infection. Le terme de lésion colonisée implique un nombre limité de bactéries n'entravant pas la cicatrisation naturelle (Bjarnsholt T, 2008)[54]. De vieilles études quantifiaient le nombre de bactéries présentes au sein des lésions chroniques et proposaient un seuil supérieur ou égal à 10^5 bactéries / g de tissu pour différencier une lésion infectée d'une lésion colonisée. La limite de cette hypothèse est quelle ne considère pas le fait que les bactéries ne sont pas distribuées uniformément au sein de la lésion, la possibilité de ne pas catégoriser correctement une réelle infection devient alors probable (Percival SL, 2010)[57].

Le diagnostic d'infection du pied diabétique est purement clinique et caractérisé par la présence d'au moins deux signes suivants : augmentation de volume, induration, érythème péri-lésionnel, ou douleur, chaleur locale ou présence de pus (SPILF S. d., Recommandations pour la pratique clinique: prise en charge du pied diabétique infecté, 2006)[58].

Il est maintenant admis que les bactéries s'organisent en biofilm au sein des ulcérations chroniques. Une étude (James GA, 2007)[59]a recherché via la microscopie électronique la présence de biofilm au sein de 50 échantillons provenant de lésions chroniques et 16 échantillons provenant de lésions dites aiguës. Il en ressort la présence d'un biofilm bactérien dans 60 % des lésions chroniques contre 6 % au sein des lésions dites aiguës. Le principe de formation du biofilm des lésions chroniques du pied diabétique est le même que celui du biofilm des infections ostéo-articulaires sur matériel (voir chapitre I.A.5).

Deux hypothèses se côtoient quant à la manière d'appréhender le biofilm dans une lésion chronique. La première hypothèse est l'hypothèse de la « spécificité bactérienne ». Elle suggère que au sein de la population hétérogène du biofilm seulement 1 ou 2 espèces bactériennes (souvent les pyogènes) sont responsables de l'infection et du retard de cicatrisation. Contrairement, la seconde hypothèse dite de la « non spécificité bactérienne » suggère que c'est la combinaison de toutes les bactéries présentes au sein du biofilm, commensales et pyogènes, qui fonctionne comme une même unité et qui est responsable du retard de cicatrisation (Percival SL, 2010)[57]. Cette entité est retrouvée dans la littérature sous le terme de « Pathogroupe Fonctionnel Equivalent » (Dowd SE W. R., 2008)[60] (Lavigne JP, 2014)[61]. En effet il semblerait que des espèces habituellement non pathogènes voir commensales de la peau, pourraient au sein d'une lésion chronique, vivre symbiotiquement et agir en synergie pour survivre. Cela implique 2 voie thérapeutiques différentes, une plus classique ciblant des espèces bactériennes spécifiques, l'autre plus novatrice ciblant des voies de communications et d'interactions entre les bactéries du biofilm.

L'écologie bactérienne des lésions chroniques du pied diabétique a été largement étudiée ces dernières années. Grâce aux données de la culture bactérienne, le nombre moyen de bactéries isolées d'un prélèvement varie entre 2 et 4 selon les études. Les germes ou familles de germes aérobies les plus fréquemment isolés par les méthodes classiques sont *S. aureus*, les staphylocoques à coagulase négative, *P. aeruginosa*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. et les *Enterobacteriaceae*. Concernant les bactéries anaérobies strictes les plus fréquemment isolées sont *Peptostreptococcus* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Finegoldia magna* et *Peptoniphilus asaccharolyticus* (Howell-Jones RS, 2005)[62]. La limite de la culture est qu'elle permet d'isoler des bactéries dites « cultivables », qui ont une croissance rapide et facile sur des milieux classiques de laboratoire.

L'arrivée des méthodes de biologie moléculaire a bouleversé l'approche microbiologique des lésions chroniques. Une étude (Price LB, 2009)[63], étudiant 26 lésions chroniques dont 12 du pied diabétique, retrouve 44 familles bactériennes via la biologie moléculaire (ARN 16 S) contre seulement 9 via la culture. Ces nouvelles méthodes ont permis de montrer une proportion d'environ 30% de bactéries anaérobies strictes au sein des lésions du pied diabétique, pourcentage largement sous-estimé par la culture (Dowd SE S. Y., 2007)[64].

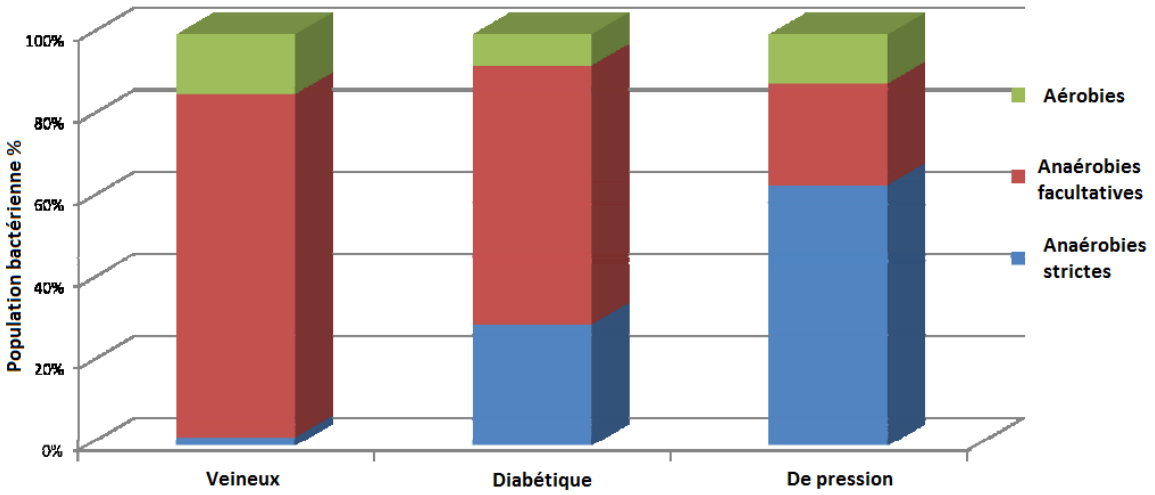


Figure 12 : Distributions des différents types respiratoires bactériens retrouvés par biologie moléculaire au sein de 3 types d'ulcérations chroniques : ulcère secondaire à une insuffisance veineuse, ulcère du pied diabétique et ulcère par excès de pression. D'après *Dowd et al*[64].

Dans cette étude où différentes techniques de biologie moléculaires sont utilisées on retrouve, après amplification partielle du gène codant le ribosome bactérien puis pyroséquençage, les séquences de près de 46 espèces différentes sur un total de 10 lésions chroniques du pied diabétique. Les répartitions étaient les suivantes : 15 bactéries anaérobies strictes, 12 aérobies et 19 aéro-anaérobies facultatives. Les genres bactériens les plus représentés étaient *Staphylococcus* (29.72%), *Peptoniphilus* (6.98%), *Rhodopseudomonas* (6.94%), *Enterococcus* (6.4%), *Veillonella* (5.41%), *Clostridium* (5.40%) et l'espèce *Finegoldia magna* (5.34%). Dans cette même étude aucune bactérie anaérobie n'a été isolée en culture sur les lésions du pied diabétique.

Une autre investigation menée par la même équipe (Dowd SE W. R., 2008)[60] à étudié l'écologie bactérienne de 40 pieds diabétiques. Le genre bactérien majoritaire était *Corynebacterium* présent dans près de 30 lésions. Les genres *Bacteroides*, *Peptoniphilus*, *Finegoldia* et *Anaerococcus* étaient présent dans respectivement 25, 25, 23 et 22 lésions.

Les bactéries anaérobies survivent au sein du biofilm bactérien des lésions chroniques grâce à leur symbiose avec les bactéries aérobies. En effet, en consommant l'oxygène, les bactéries aérobies créent des micros environnements locaux dépourvus d'oxygène au sein desquelles les anaérobies peuvent se développer. De plus il a été montré que dans les régions internes du biofilm, près de la surface d'adhésion, les taux d'oxygène étaient faibles permettant la survie des anaérobies (Dowd SE S. Y., 2007)[64]. La présence de ces bactéries dans les ulcères chroniques du pied diabétique, largement sous estimée par la culture, joue un rôle important dans l'entretien des lésions. Il est donc primordial de tout mettre en œuvre pour essayer de les isoler via la culture lorsque la biologie moléculaire n'est pas à disposition. Le prélèvement et l'ensemencement au bloc opératoire sur milieux enrichis et adaptés à la détection des anaérobies semblent donc tout à fait appropriés dans ce contexte également.

III. Matériel et méthode :

Le Centre Hospitalier Gustave Dron de Tourcoing est, avec le CHRU de Lille, le Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Complexe de la région Nord Ouest. Dans le cadre de cette activité tous les prélèvements précieux issus du bloc opératoire de traumatologie et d'orthopédie sont traités de la même façon selon un protocole défini. Comme vu précédemment l'écologie bactérienne de ce type de bloc opératoire est très variable (anaérobie, aérobie, SCV…). Pour préserver la vitalité des bactéries exigeantes une partie des prélèvements est directement ensemencés au bloc opératoire dans un milieu de Rosenow.

Les laboratoires réalisant la prise en charge des prélèvements ostéo-articulaires utilisent dans leur grande majorité le milieu de Schaedler pour la recherche des bactéries exigeantes et/ou anaérobies strictes. Tandis que le milieu Rosenow paraît plus complexe, et est peu utilisé par les paires pour la recherche de ce type de bactéries. Nous avons voulu tester le milieu de Schaedler dans les mêmes conditions d'utilisation que le milieu de Rosenow afin de déterminer lequel était le plus adapté à notre méthode. Dans un premier temps nous évaluerons les performances statistiques (Se, Sp, VPP, VPN) de la méthode dans le diagnostic des IOAM. Dans un second temps nous comparerons les performances microbiologiques de ces milieux sur les IOAM ainsi que sur la totalité de la population étudiée.

A. Modalité de l'étude :

1. Population étudiée :

a) Population générale :

Nous avons suivi tous les blocs opératoires de traumatologie et d'orthopédie ayant donné lieu à des prélèvements microbiologiques entre le 18 aout 2015 et le 19 novembre 2015. Durant cette période nous avons reçu des prélèvements provenant de 125 blocs différents pour un total de 99 patients.

Les indications opératoires étaient réparties de la façon suivante :

- 29 (23%) reprises de prothèses totales de hanche (PTH)
- 28 (22%) reprises de prothèses totales de genou (PTG)
- 4 (3%) reprises de prothèses totales d'épaule (PTE) ou de coude (PTC)
- 14 (11%) reprises d'ostéosynthèse avec matériel en place
- 14 (11%) pied diabétique
- 15 (12%) pied non diabétique sans matériel
- 21 (17%) autre

Parmi les 21 blocs « autres » les indications opératoires étaient les suivantes :

- 12 blocs pour reprise d'ostéosynthèse après ablations du matériel dont : 4 fémurs, 2 rotules, 5 tibias, 1 fibula.
- 2 blocs de main pour un phlegmon et un panaris.
- 3 arthrites : 2 genoux et 1 hanche dont 2 septiques et 1 goutteuses.
- 4 blocs avec les indications suivantes : 1 coude pour hygroma septique, 1 ischion pour escarre, 1 jambe (cuisse, tibia) pour cellulite, 1 disque intervertébral.

Sous forme de graphique :

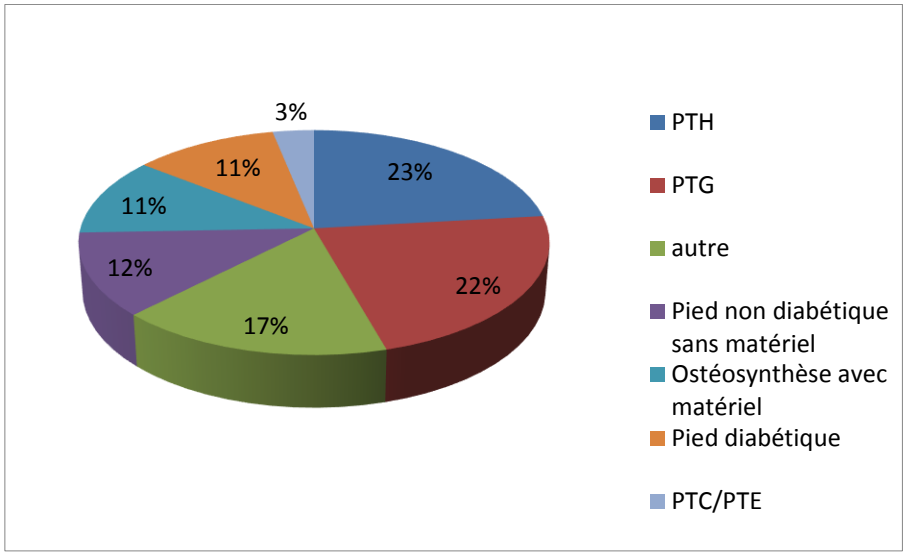


Figure 13 : Répartition des indications des 125 blocs opératoires.

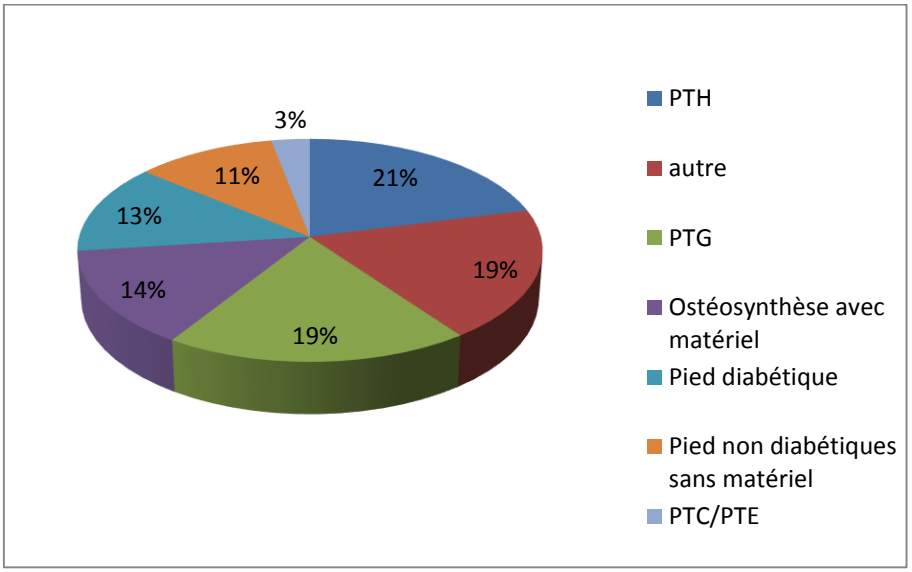


Figure 14 : Répartition des indications opératoires pour les 99 patients.

La population étudiée est composé de 64 hommes et de 35 femmes soit un ratio H/F= 1.8. Les âges des patients étaient compris entre 23 et 94 ans avec une moyenne de 62 ans, 60 ans pour les hommes et 66 ans pour les femmes.

b) Population avec matériel en place:

Dans le cadre de notre étude sur l'apport du milieu de Schaedler dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur matériel nous avons écarté les blocs opératoires concernant les pieds diabétiques et les pieds non diabétiques sans matériel, ramenant la population à 75 blocs concernant 57 patients. Il a fallu ensuite étudier les indications précises de tous les blocs opératoires. Elles sont présentées ci-dessous :

PTH : 29 blocs opératoires concernant 21 patients.

Nombres de blocs	Nombres de Patients
1	15
2	5
4	1

Tableau 15 : Nombres de blocs opératoires par patient pour les PTH.

Pour les 15 patients ayant bénéficiés d' 1 seul bloc opératoire :

- 3 poses de spacer dans le cadre de changement de prothèse en 2 temps.
- 3 reposes de prothèse dans le cadre de changement en 2 temps.
- 2 lavages d'articulation.
- 5 descellements de prothèse.
- 2 ponctions de liquide synovial au bloc opératoire.

Pour les 5 patients ayant bénéficiés de 2 blocs opératoires :

- 4 changements de prothèse en 2 temps.
- 1 patient a bénéficié d'un rescellement puis d'un lavage.

Pour le patient ayant bénéficié de 4 blocs opératoires il s'agissait dans l'ordre :

- d'une ponction de liquide synovial
- d'un lavage

- d'un changement de prothèse en 2 temps.

PTG : 28 blocs concernant 19 patients.

Nombres de blocs	nombres de patients
1	11
2	7
3	1

Tableau 16 : Nombres de blocs opératoires par patient pour les PTG.

Pour les 11 patients ayant bénéficiés d'un seul bloc opératoire :

- 2 changements de prothèse en 1 temps
- 3 poses de spacer dans le cadre de changement de prothèse en 2 temps
- 1 repose de prothèse dans le cadre d'un changement en 2 temps.
- 3 lavages articulaires
- 1 pour prélèvements biopsiques osseux
- 1 ponction de liquide synovial au bloc opératoire.

Pour les 7 patients ayant bénéficiés de 2 blocs opératoires :

- 5 changements de prothèse en 2 temps
- 1 patient a bénéficié d'un lavage puis d'un 1er temps de changement de prothèse
- 1 patient a bénéficié dans un 1er temps d'une ponction de liquide synovial, puis dans un 2ème temps d'une synovectomie et d'une biopsie osseuse.

Pour le patient ayant bénéficié de 3 blocs opératoires il s'agissait dans l'ordre :

- D'un lavage
- D'un changement de prothèse en 2 temps.

PTE/PTC : 4 blocs (3 PTC et 1 PTE) concernant 3 patients.

Nombres de blocs	Nombres de patients
1	2
2	1

Tableau 17 : Nombres de blocs opératoires par patient pour les PTC et PTE.

Pour les 2 patients ayant bénéficiés d'un 1 bloc opératoire :

- 1 changement en 1 temps de PTC
- 1 repose de prothèse d'épaule dans le cadre d'un changement en 2 temps

Pour le patient ayant bénéficié de 2 blocs opératoires il s'agissait dans l'ordre :

- d'un lavage articulaire
- d'un rescellement.

Reprise d'ostéosynthèse avec matériel en place : 14 Blocs concernant 14 patients.

Sur ces 14 blocs opératoires les sites concernés étaient les suivants :

- 2 coudes
- 1 fémur
- 2 fibulas
- 4 tibias
- 3 malléoles
- 2 pieds

A chaque fois le matériel d'ostéosynthèse était présent (clous, vis, plaques etc….).

c) Population finale.

Afin d'éviter les biais dût au contact des tissus avec des antibiotiques locaux, tous les blocs de 2ème temps opératoires mettant en jeu un spacer imprégné ont été exclus. Soit 8 blocs de PTH, 7 blocs de PTG et 1 bloc de PTE.

Les patients avec des milieux standards stériles sous antibiotiques au moment des prélèvements ont été également écartés : soit 6 blocs de PTG et 2 de PTH.

Enfin pour les patients ayant bénéficié de plusieurs blocs opératoires, seul le premier bloc à été pris en considération, les autres ont été écartés. Cela concernait 2 PTH, 3 PTG et 1 PTC.

Au final il nous restait 45 blocs opératoires dont :

- 17 PTH
- 12 PTG
- 2 PTC

- 14 blocs de reprise avec matériel d'ostéosynthèse en place.

Ces 45 blocs correspondent à 44 patients car un même patient a bénéficié d'une reprise de PTH et d'un bloc de reprise avec matériel d'ostéosynthèse en place.

d) Définitions des critères diagnostiques d'infections sur matériel :

Pour comparer l'intérêt des milieux de Schaedler ou de Rosenow dans le diagnostic des IOAM, il était impératif de classer les patients selon des critères diagnostiques d'infection indépendants de ces deux milieux de culture. Pour cela nous avons utilisés les critères recommandés par l'IDSA:

Les critères utilisés étaient les suivants :

- La présence d'une fistule au regard de la prothèse
- Purulence au contact de la prothèse
- D'un point de vu microbiologique sur les milieux standards (**STD**):
    - La présence d'au moins 1 site positif à un germe potentiellement virulent
    - Au moins 2 sites positifs à un germe commensal de la flore cutanée (*P. acnes*, Staphylocoques à coagulase négative, *Corynebacterium spp.*)

	STD+	Fistule	Purulence	Total
Septique	28	3	2	33

Tableau 18 : Répartition des critères d'inclusions au sein des blocs opératoires catégorisés « septique ».

12 blocs ne remplissait pas ces critères il s'agissait de blocs de reprise catégorisés comme « aseptiques ».

B. Présentation des milieux :

1. Milieu de Rosenow cystéine:

La première version de ce milieu fût décrite par le Dr Edouard C. Rosenow (Rosenow, 1919)[65] sous le nom de bouillon cervelle-dextrose dans le cadre d'étude sur la microbiologie des infections dentaires. Il contenait à l'époque de l'extrait de bœuf, de l'agar, un morceau de cervelle fraiche, du dextrose et l'indicateur d'Andrade qui est de la fuchsine acide. Il est rapporté que le morceau de cervelle rend la partie basse du tube anaérobie, tandis que la partie haute du tube reste en aérobie. Ce qui implique tout les gradients d'oxygène possible du bas vers le haut du tube. C'est un milieu permettant l'isolement des bactéries exigeantes, aérobies/anaérobies facultatives et des bactéries anaérobies strictes. Ce milieu a ensuite été repris en 1923 (Hayden, 1923)[66] par Hayden R.L. . Il modifia sa composition en y ajoutant du marbre qui favoriserait la croissance des anaérobies. En plus de l'absence d'O_2 moléculaire, la croissance des bactéries anaérobies strictes nécessite un environnement ayant une valeur basse de potentiel redox ce qui est obtenu ici par l'ajout d'un composé à fonction thiol : La cystéine. Après régénération au bain marie pendant 20 min ce composé génère de l'H_2S participant à l'abaissement du potentiel redox (Freney J, 2007)[67].

La composition du milieu de Rosenow cystéine (Biorad®) utilisé pour notre étude est la suivante:

- Peptone
- Extrait de viande
- Chlorure de Sodium
- Glucose
- Chlorhydrate de Cystéine
- Indicateur d'Andrade (fuchsine acide à 5%)
- Marbre Blanc
- Cervelle lyophilisée

Le milieu possède un pH final de 7.2 +/- 0.2. Les peptones, glucose, la cervelle lyophilisé ainsi que les extrait de viande servent de base nutritive afin d'apporter des sources de carbone, d'azote et d'énergie aux bactéries. L'indicateur d'Andrade est rose à pH acide (5) et jaune pale à pH alcalin (8) (Freney J, 2007)[67]. En cas de fermentation le milieu s'acidifie il devient rose. En cas de réduction le milieu s'alcalinise et devient jaune.

2. Milieu de Schaedler (avec vitamine K + Hémine) :

Ce milieu a été élaboré en 1965 par le Dr Russell W. Schaedler de la *Rockefeller Institute* de New York dans le cadre d'étude de la flore digestive de souris (Schaedler RW, 1965)[68]. Une étude originelle montre un meilleur rendement du bouillon de Schaedler quant à la détection des anaérobies par rapport à 7 milieux usuels, dont le bouillon au thioglycolate (Stalons R, 1974)[69]. La composition du bouillon de Schaedler enrichie en hémine et vitamine K (Oxoïde®) utilisé pour notre étude est la suivante:

- Peptone pancréatique de caséine
- Peptone papainique de soja
- NaCl
- KH_2PO_4
- Peptone spécial
- Extrait de levure
- Cystéine
- Hémine
- Vitamine K1
- Vitamine K3
- Tampon TRIS

Le tampon TRIS permet le maintient d'un pH stable de 7.4 +/- 0.2. La combinaison des peptones de caséine, des peptones de soja, du NaCl et du KH_2PO_4 forme ce que l'on appelle une base trypticase soja. Cette base classique, supplémentée par la peptone spéciale (composition inconnue) et l'extrait de levure, permet les apports en source de carbone d'azote et en énergie. Les vitamines et facteurs de croissances tel que la vitamine K1, la vitamine K3 et l'hémine rendent ce milieu extrêmement complet pour la croissance des bactéries exigeantes. Ainsi l'hémine et la vitamine K3 favorisent la croissance de nombreuses bactéries du genre Bacteroides (Stalons R, 1974)[69]. La positivité du milieu s'apprécie lorsque ce dernier devient trouble

C. Mise en œuvre de l'étude:

1. Les prélèvements :

Pour chaque site opératoire, le chirurgien prélève deux échantillons, un qu'il dépose dans un pot stérile classique (que nous nommerons échantillon « standard ») et un qu'il ensemence directement au bloc dans un milieu de Rosenow, préalablement régénéré au laboratoire. Dans le cadre de notre étude les chirurgiens ont accepté de prélever un échantillon supplémentaire par site afin d'ensemencer un milieu de Schaedler en parallèle du milieu de Rosenow, directement au bloc.

Nous avons reçu 249 échantillons du bloc opératoire dans le cadre de notre étude. La répartition du nombre de site opératoire prélevé selon les indications des blocs est la suivante :

Nombre de sites	PTH	PTG	PTE/PTC	O + m	P diab	P	A
1	7	4	2	6	9	8	11
2	7	4	0	2	4	1	7
3	14	18	2	5	1	6	3
4	1	2	0	0	0	0	0
5	0	0	0	1	0	0	0
Total	29	28	4	14	14	15	21
moyenne	2,3	2,6	2,0	2,1	1,4	1,9	1,6

O + m = Ostéosynthèse avec matériel en place ; P diab = Pied diabétique ; P = Pied non diabétique ; A= Autres.

Tableau 19 : Répartition des nombres de sites opératoires prélevés en fonction des diverses indications.

Nous détaillerons plus loin les échantillons prélevés sur matériel.

2. Protocole microbiologique :

Réception des échantillons :

Dès réception des échantillons, à n'importe quelle période du jour ou de la nuit, les bouillons de Rosenow et Schaedler ensemencés au bloc opératoire sont paraffinés. Ceci pour maintenir un

environnement anaérobie le plus précocement possible. Ces derniers sont ensuite incubés dans une étuve thermostatée à 37°C.

Concernant les échantillons « standards », en journée ils sont acheminés en bactériologie après réception et enregistrement dans les meilleurs délais. En période de garde à partir de 18h, ils sont stockés jusqu'à leur prise en charge le lendemain matin.

J0 :

Afin d'éviter toute contamination, l'ensemencement des échantillons a lieu sous un Poste de Sécurité Microbiologique ou PSM (HERAsafe KS, Thermo scientific®) dont le plan de travail à été préalablement nettoyé à l'alcool à 70°. L'opérateur doit porter une surblouse et des gants stériles. Il doit veiller à avoir bien préparé son matériel au préalable (avec le minimum au sein du PSM) afin d'éviter les entrées et sorties.

Tous les échantillons solides (tissus, os…) subissent une étape de broyage avant l'ensemencement. Un millilitre d'eau et des billes de verre, tous stériles, sont ajoutés à chaque pot contenant un échantillon solide. Puis chaque pot est agité sur un Vortex-génie 2 (Scientific industries®) à vitesse maximum pendant 4 minutes. Cette étape permet de détacher mécaniquement des bactéries présentent au sein d'un éventuel biofilm.

A partir du liquide de broyage on réalise 2 étalements sur lame pour la réalisation d'une coloration de Gram et d'une coloration de May-Grunwald-Giemsa. Puis on ensemence 10 µL (1 oese) du liquide de broyage sur chaque milieu de culture suivant:

- Une gélose Columbia + 5% de sang de cheval (COH Oxoïd®)
- Une gélose Chocolat-VITOX enrichie en vitamine B12 et NAD (CHOCV Oxoïd®)
- Une gélose au pourpre de Bromocrésol (BCP Oxoïd®)
- Un Bouillon Cœur Cervelle (BH Oxoïd®)

Une fois l'ensemencement terminé, on place les milieux COH, BCP et BH dans une étuve thermostatée à 37°C. La gélose CHOCV est incubée à 37°C dans une jarre contenant 20% d'O_2 et +/- 9.5% de CO_2, atmosphère obtenue grâce à un Anoxomat® (MART Microbiology®).

En cas de stérilité :

Les milieux BCP et COH sont conservés 48 heures. La gélose CHOCV et le bouillon BH sont conservés 5 jours. A l'issue de 5 jours de culture négative, les échantillons « standards » sont rendus « Stériles à 5 jours ».

Les milieux de Rosenow et de Schaedler sont conservés 14 jours. Si aucun trouble ou aucun virage de couleur n'apparaît ils sont systématiquement repiqués au 12ème jour. Lors du repiquage d'un de ces milieux on ensemence 2 géloses solides :

- Une gélose Chocolat-VITOX enrichie en vitamine B12 et NAD (CHOCV Oxoïd®)
- Une gélose Schaedler + 5% de sang de mouton + hémine et vitamine K1 (SCH Oxoïd®)

La gélose CHOCV est alors incubée à 37°C dans une jarre sous CO_2 comme précédemment. La gélose SCH est incubée à 37°C dans une jarre préalablement mise en anaérobiose grâce à l'Anoxomat®.

Si la CHOCV et la SCH sont stériles à 48 heures du repiquage, les échantillons ensemencés dans les milieux de Rosenow et/ou de Schaedler sont rendus « Stériles à 14 jours ».

<u>En cas de positivité :</u>

Toute les colonies présentes sur les milieux de culture ont été identifiées à l'aide d'un spectromètre de masse MALDI-TOF : le Vitek MS® Biomérieux®

Si le bouillon BH devient trouble, il est alors repiqué sur une gélose CHOCV. Les colonies présentent seront identifiés comme décrit ci-dessus.

Les antibiogrammes de chaque espèce bactérienne ont été réalisés et interprétés selon les recommandations du CASFM (Bonnet R, recommandation 2015 v.2.0 juillet)[70]. En fonction des espèces isolées, Ils ont été réalisés soit en milieu liquide grâce à l'automate Vitek 2® (Biomérieux®), soit en diffusion en milieu gélosé.

Au total, 243 souches bactériennes ont été isolées des 125 blocs opératoires

Nombres de germes	0	1	2	3	4	5	6	7	8	10	Total
Nombres de blocs	36	38	21	13	8	5	1	1	1	1	125

Tableau 20 : Nombre d'isolats bactériens identifiés par bloc opératoire.

Tous milieux confondus (standards, Rosenow et Schaedler), 36 blocs avaient une culture demeurée stérile, 38 blocs mettaient en évidence une culture mono-microbienne et 51 blocs une culture pluri-microbienne.

D. Traitements des données :

Toutes les données issues de cette étude ont été analysées avec l'aide des techniciens chargés de la recherche clinique et du Dr Michel Valette du Service Universitaire des Maladies Infectieuses et du Voyageur du CH de Tourcoing. Elles ont été intégré dans une base de donnée Microsoft Access® afin d'automatiser les calculs sans perte d'information. Les analyses statistiques ont été réalisées via le logiciel *Wolfram Mathematica 10* ® à partir cette base de données.

1. Performances statistiques de la méthode :

L'analyse statistique portait sur les 45 blocs opératoires sélectionnés dans notre population initiale et définis ci-dessus. Habituellement, pour un dossier patient, les résultats des cultures des milieux de Rosenow et/ou de Schaedler sont intégrés avec les résultats des milieux de culture standard pour une interprétation synthétique des données microbiologiques.

Afin de déterminer l'apport respectif de ces deux milieux liquides nous avons dissocié leurs résultats de ceux de la culture des échantillons standards qui subissent un traitement pré-analytique (délais avant ensemencement, broyage) et analytique (temps d'incubation, atmosphère) différents. Ainsi, pour comparer ces deux milieux, nous avons considéré qu'ils représentaient une nouvelle méthode diagnostique à évaluer indépendamment de la culture en milieu standard permettant la stratification des patients selon les critères IDSA.

Cette démarche nous renseignera sur l'apport clinique de l'ensemencement d'un milieu de RW au bloc d'une part et d'un milieu SCH d'autre part.

Afin d'écarter d'éventuelles contaminations les critères microbiologiques de l'IDSA ont été appliqués. Un bloc est considéré comme positif si on retrouve un germe virulent, ou un germe commensal sur au moins 2 sites.

2. Performance microbiologique de chaque milieu :

Ces études ont été réalisées à l'aide d'analyse de concordance à partir d'une base de données Microsoft Access® et du logiciel *Wolfram Mathematica 10* ®.

Cette analyse permet de déterminer la concordance entre deux méthodes diagnostiques, c'est à dire la possibilité qu'auront les deux méthodes à donner le même résultat, ici « culture positive » ou « culture négative ». Cette concordance (ou accord) peut être quantifiée grâce au calcul d'un coefficient *Kappa* qui résulte de la somme d'une composante « aléatoire » et d'une composante d'accord « véritable ». Pour notre étude ce coefficient permet de chiffrer l'intensité ou la qualité de l'accord réel entre les résultats des cultures de 2 milieux ou de deux combinaisons de différents milieux. Plus *Kappa* est proche de 1 plus l'accord sera parfait, et inversement :

valeur du Ƙ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Tableau 21 : Qualification de la concordance selon la valeur *Kappa.*

Pour plus de lisibilité, nous avons décidé de comparer les résultats des cultures des milieux en regroupant les micro-organismes isolés en groupes (Tableau n°22). Toutefois, l'espèce *Staphylococcus aureus* ayant été retrouvée dans 26 à 38% des blocs opératoires en fonction des populations étudiées, elle a été considérée comme un groupe à part entière. Nous avons également volontairement isolé l'espèce *Propionibacterium acnes,* qui est une bactérie anaérobie commensale qui rentre dans les critères de contamination fixé par les différentes sociétés savantes.

Entérobacteriacea	Staphylococcus coagulase négative	Enterococcus app	Streptococcus spp
Citrobacter freundii	Staphylococcus capitis	Enterococcus avium	Streptococcus agalactiae
Citrobacter koseri	Staphylococcus caprae	Enterococcus durans	Streptococcus anginosus
Enterobacter cloacae	Staphylococcus carnosus	Enterococcus faecalis	Streptococcus constellatus
Escherichia coli	Staphylococcus cohnii	Enterococcus faecium	Streptococcus dysgalactiae subsp. dysgalactiae
Klebsiella oxytoca	Staphylococcus epidermidis		Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis
Klebsiella pneumoniae	Staphylococcus haemolyticus		Streptococcus gallolyticus
Morganella morganii	Staphylococcus hominis		Streptococcus mitis/oralis
Proteus mirabilis	Staphylococcus lugdunensis		Streptococcus pyogenes
Serratia marcescens	Staphylococcus pasteuri		Gemella haemolysans
	Staphylococcus schleiferi		Gemella sanguinis
	Staphylococcus sciuri		
	Staphylococcus simulans		
	Staphylococcus warneri		

Anaérobie	Bacille Gram Négatif non fermentant (BGNF)	Corybacterium spp	Autres
Actinomyces odontolyticus	Acinetobacter baumannii	Corynebacterium confusum	Haemophilus parainfluenzae
Clostridium acetobutylicum	Pseudomonas aeruginosa	Corynebacterium jeikeium	Micrococcus luteus
Clostridium perfringens	Stenotrophomonas maltophilia	Corynebacterium simulans	Moraxella osloensis
Finegoldia magna	Arthrobacter cumminsii	Corynebacterium striatum	Neisseria subflava
Peptoniphilus asaccharolyticus		Corynebacterium tuberculostearicum	
Prevotella buccae		Dermabacter hominis	
Propionibacterium avidum			

Tableau 22 : Répartitions des différentes espèces bactériennes au sein des familles retenues pour réaliser les différentes analyses de concordance.

Pour évaluer l'apport du milieu de RW par rapport au milieu de SCH dans les conditions d'utilisations habituelles du CRIOAC, il faut considérer les résultats rendus au clinicien. En effet, les résultats de la culture des milieux de Rosenow sont constamment interprétés avec ceux des milieux standards (STD). Une première analyse de concordance a donc été réalisé, sur la population avec matériel en place, entre les résultats des combinaisons RW+ STD et SCH + STD, après application des critères IDSA microbiologique afin d'écarter les contaminations.

La deuxième analyse de concordance menée porte sur la comparaison des résultats microbiologiques bruts (hors critère IDSA) du milieu de RW d'une part et du milieu de SCH d'autre part, sur la population générale (125 blocs opératoires)

IV. Résultats et Discussion:

A. Performances statistiques des milieux de Rosenow seul et de Schaedler seul dans le diagnostic des IOAM.

Pour réaliser une analyse en concordance pertinente, la population étudiée doit être la plus homogène possible. C'est pourquoi nous avons réalisé cette étude sur les 45 blocs opératoires mettant en jeu du matériel prothétique ou d'ostéosynthèse. Nous sommes partis du fait, que, dans notre étude, les échantillons d'un même site prélevés au bloc opératoire ne subissaient pas le même traitement pré-analytique. Les échantillons « standards »(STD) sont mis en culture avec un délai dépendant du ramassage des échantillons au bloc opératoire et de l'organisation du laboratoire (de 2h à plus de 10h pour les échantillons parvenant en période de garde). De plus ces prélèvements sont tous broyés afin de détacher les bactéries d'un éventuel biofilm. A l'inverse les échantillons destinés aux milieux d'enrichissement (RW ou SCH) sont ensemencés directement au bloc, mais ne subissent aucun broyage. Pour cette première analyse, cette méthode peut être considérée comme indépendante par rapport à la culture sur STD. Il a ainsi été possible d'évaluer la Se et la Sp de chaque technique en fonction des critères établissant le diagnostic d'IOAM selon l'IDSA. Selon ces critères, 33 blocs sur les 45 étaient considérés comme septiques.

Milieu de Rosenow		Aseptique	Septique	total ligne
	Bloc Neg	100. % 12 92.3 %	3.03 % 1 7.69 %	28.9 % 13 100. %
	Bloc Pos	0 0 0	97.0 % 32 100. %	71.1 % 32 100. %
	total colonne	100. % 12 26.7 %	100. % 33 73.3 %	100. % 45 100. %

Tableau 23 : Tableau de contingence représentant la répartition des blocs opératoires catégorisés positifs en fonction du résultat de la culture du milieu de Rosenow, et des reprises septiques et aseptiques selon les critères IDSA.

Sur cette même population, le milieu de RW ensemencé directement au bloc opératoire était positif dans 97% des cas de reprise septique (sensibilité statistique Se pour n=33). Il n'y avait aucun cas, où le milieu de RW était positif dans le cadre d'une reprise aseptique, entrainant une spécificité (Sp) de 100% (n=12). Lorsque le RW est négatif, le risque d'avoir tout de même une IOAM est de 8% (VPN=92%). Le tableau récapitulatif des performances statistiques du milieu de RW seul vis-à-vis de la détection des IOAM par rapport aux critères IDSA est disponible en **Annexe 1**.

Milieu de Schaedler		Aseptique	Septique	total ligne
	Bloc Neg	100. % 12 85.7 %	6.06 % 2 14.3 %	31.1 % 14 100. %
	Bloc Pos	0 0 0	93.9 % 31 100. %	68.9 % 31 100. %
	total colonne	100. % 12 26.7 %	100. % 33 73.3 %	100. % 45 100. %

Tableau 24: Tableau de contingence représentant la répartition des blocs opératoires catégorisés positifs en fonction du résultat de la culture du milieu de Schaedler, en fonction des reprises septiques et aseptiques selon les critères IDSA.

En ce qui concerne le milieu de SCH ensemencé directement au bloc opératoire, sa Se est de 94% en cas de reprise septique de prothèse (n=33). De même que pour le milieu de RW il n'y avait aucun cas où le milieu de SCH était positif dans le cadre d'une reprise aseptique, la Sp étant donc de 100% (n=12). Lorsque le SCH est négatif, le risque d'avoir tout de même une IOAM est de 14% (VPN=86%).Le tableau récapitulatif des performances statistiques du milieu de SCH seul vis-à-vis de la détection des IOAM par rapport aux critères IDSA est disponible en **Annexe 2**.

Ces données de Se élevées (RW : 97% et SCH : 94%) tranchent par rapport à celles obtenues dans certaines études publiées précédemment (Hughes HC, 2011)[26]. Cette étude avait pour but d'évaluer la Se et Sp de 4 milieux de cultures dont 2 bouillons enrichies pour la culture des bactéries anaérobies, pour le diagnostic des IOAP. Les Se retrouvés étaient respectivement de 83% et 57 % pour le bouillon à la viande cuite de Robertson et pour le bouillon « *fastidious anerobic* ». Toutefois, les données semblent difficilement comparables, dans l'étude de Hughes et coll., les critères diagnostics de sélection reposaient uniquement sur l'infiltration tissulaire par des PNN. De plus, la population étudiée était différente ; sur 141 cas de reprises de PTH et de PTG seulement 23 cas

étaient considérés comme septique, soit un ratio septique/aseptique de 0.16 contre 3.75 pour notre population (45/12).

On constate que tous les blocs positifs en milieux standard le sont également avec les milieux de RW et de SCH.

Nous avons donc réalisé une analyse de concordance entre les résultats du RW et du SCH afin de déterminer si l'un des milieux apportait un avantage décisif pour le diagnostic des IOAM :

Milieu de Schaedler		Milieu de Rosenow: Neg	Milieu de Rosenow: Pos	total ligne
	Neg	100. % **13** 92.9 %	3.13 % **1** 7.14 %	31.1 % **14** 100. %
	Pos	0 **0** 0	96.9 % **31** 100. %	68.9 % **31** 100. %
	total colonne	100. % **13** 28.9 %	100. % **32** 71.1 %	100. % **45** 100. %

Tableau 25 : Tableau de contingence pour l'analyse de concordance des milieux de RW et de SCH.

Ce tableau montre que le milieu de RW documente une IOAM de plus (n=32) par rapport au milieu de SCH (n=31) parmi la population des 45 blocs opératoires sélectionnés. L'analyse de concordance donne le résultat suivant :

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	45
Concordance observée (p_0)	0.977778
Concordance aléatoire (p_c)	0.580
Coefficient Kappa (κ) $\frac{\text{intensité de la concordance}}{\text{concordance réelle}}$ / concordance potentielle	**0.947**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.947
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**100.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	6.327×10^{-8}

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Tableau 26 : Analyse de concordance des résultats des milieux de Rosenow et des milieux de Schaedler.

La concordance statistique est dites « excellente » (*kappa*=0.95), il n'y a donc pas de différence significative entre les deux milieux utilisés seul dans l'orientation diagnostic pour les IOAM.

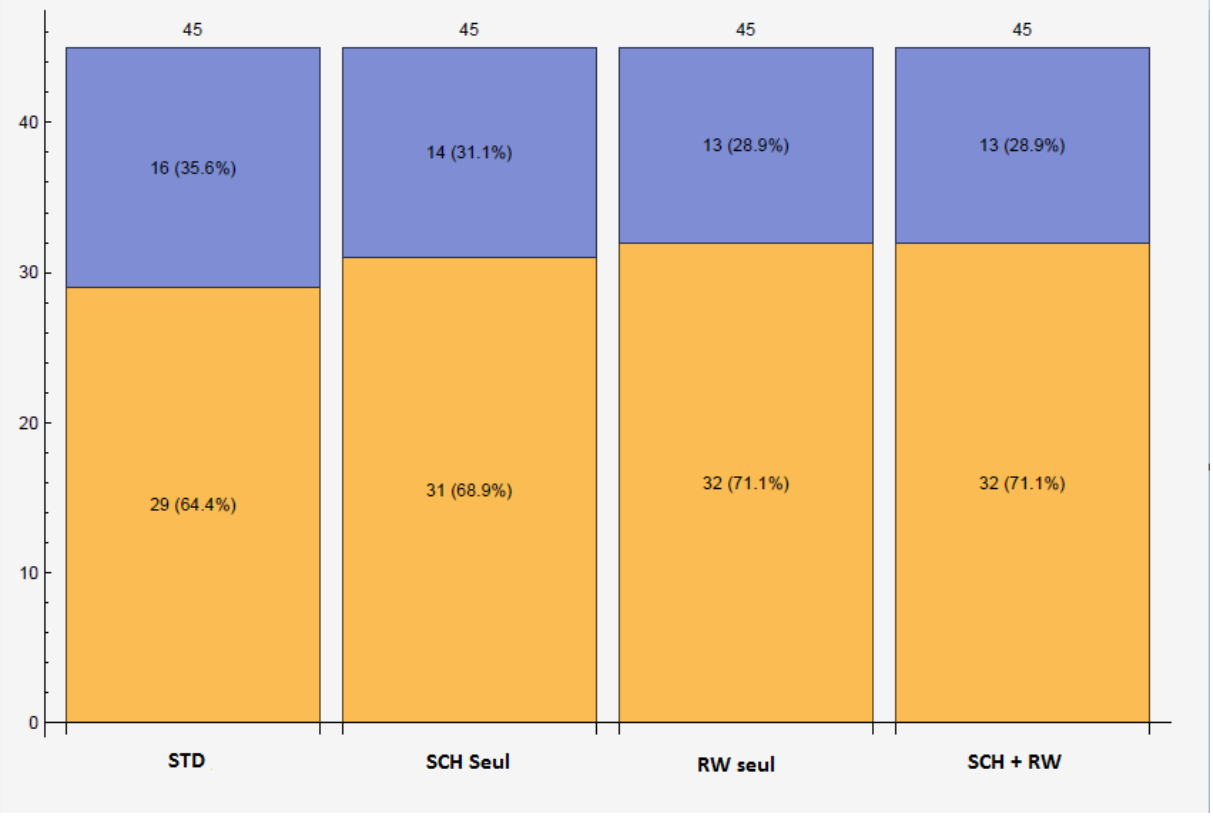


Figure 15 : Conclusion quant à l'existence d'une infection grâce à l'apport des résultats de la culture des différents milieux : STD seul, SCH seul, RW seul, RW+SCH.

Ce diagramme montre que l'utilisation seule de cette méthode d'ensemencement au bloc opératoire a permis de détecter toute les infections diagnostiquées par STD d'une part, mais a permis également de détecter une infection au sein de 3 blocs supplémentaires pour le milieu de RW contre 2 blocs supplémentaires pour le milieu de SCH. En revanche, l'emploi des deux milieux simultanément ne documente pas plus d'IOAM que le RW seul et ne présente donc aucun intérêt diagnostique.

B. Comparaison microbiologique des résultats des milieux de Rosenow et Schaedler.

L'analyse mise en œuvre ci-dessus ne permet une approche que du type positif/négatif et ne présage en rien de l'intérêt diagnostic de chaque milieu en termes de rendement microbiologique, en particulier quant aux espèces microbiennes mises en évidence. Cette approche est indispensable, car

une fois l'infection diagnostiquée, la documentation microbiologique, dans le sens des espèces identifiées, conditionne la stratégie de prise en charge anti-infectieuse.

Dans cette optique, il n'est plus possible d'analyser les résultats des cultures des bouillons RW et SCH isolément. Ils doivent être associés aux résultats des cultures sur STD pour permettre une interprétation exhaustive du dossier microbiologique telle qu'elle est réalisée au quotidien par l'infectiologue.

Population « matériel prothétique et d'ostéosynthèse » (45 blocs opératoires) :

Une première analyse a été réalisée sur nos 45 patients porteurs de matériel ostéo-articulaire. Chaque couple RW+STD et SCH+STD a été étudié en appliquant les critères diagnostiques de l'IDSA afin de s'affranchir des cas de contamination pouvant potentiellement biaiser l'analyse statistique. Les résultats synthétisés des différentes analyses de concordances entre les deux combinaisons de milieux pour la détection des familles bactériennes retenues sont les suivant :

Groupes	Effectif RW	Effectif SCH	Valeur de *Kappa*	Signification
Staphylococcus aureus	17	17	1	Excellente
Corynebacterium spp	1	1	1	Excellente
Enterobacteriaceae	8	7	0,92	Excellente
Bacilles à Gram négatif « non fermentant »	5	4	0,88	Excellente
Enterococcus spp	5	4	0,88	Excellente
Streptococcus spp	5	5	0,78	Bonne
Staphylocoque à coagulase négative	2	5	0,42	Moyenne
Anaérobies	4	1	0,38	faible

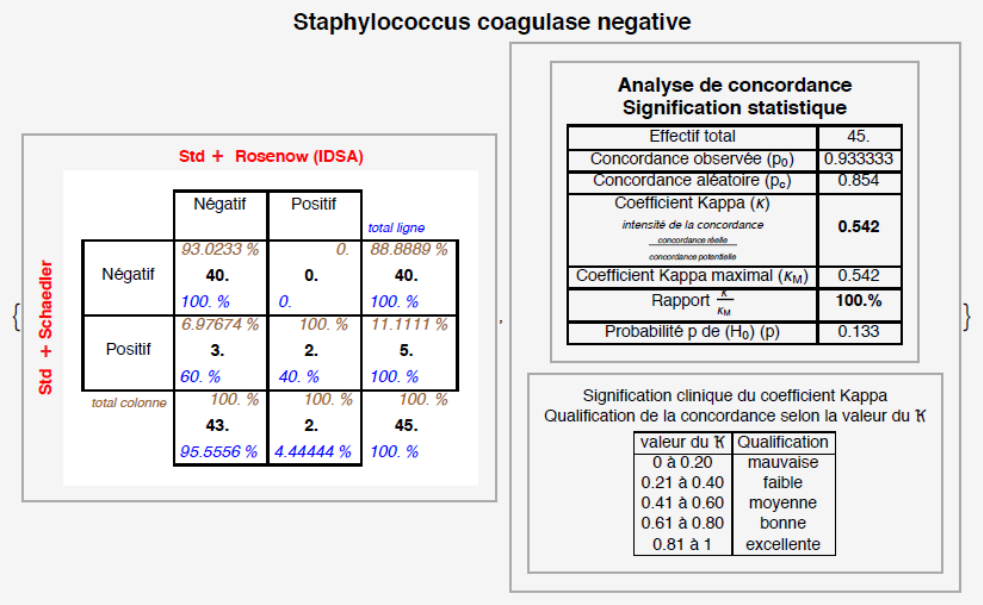
Tableau 27 : Synthèse des valeurs Kappa des différentes études de concordances réalisées pour comparer les résultats des milieux STD+RW et STD+SCH après application des critères IDSA sur la population avec matériel en place (n=45).

Le détail des différentes analyses de concordance, groupe bactérien par groupe bactérien, est disponible en **Annexe 3**.

Les résultats des cultures sont similaires (concordance excellente) en ce qui concerne la détection de *Staphylococcus aureus,* des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae,* des bacilles Gram négatif « non fermentants » et des bactéries appartenant aux genres *Enterococcus* et *Corynebacterium.* Pour la détection des bactéries appartenant au genre *Streptococcus* la concordance est bonne, toutefois

les milieux de RW et SCH se retrouvent sur un pied d'égalité, ne contribuant qu'à une documentation supplémentaire par rapport à la culture STD seule pour ce groupe bactérien.

En revanche, les deux milieux ne semblent pas aussi performants quant à la détection des infections des bactéries anaérobies strictes et des staphylocoques à coagulase négative (**SCN**), le détail est présenté ci-dessous :



Staphylococcus coagulase negative

Std + Rosenow (IDSA)

Std + Schaedler	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	93.0233 % **40.** 100. %	0. **0.** 0.	88.8889 % **40.** 100. %
Positif	6.97674 % **3.** 60. %	100. % **2.** 40. %	11.1111 % **5.** 100. %
total colonne	100. % **43.** 95.5556 %	100. % **2.** 4.44444 %	100. % **45.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	45.
Concordance observée (p_0)	0.933333
Concordance aléatoire (p_c)	0.854
Coefficient Kappa (κ) intensité de la concordance = concordance réelle / concordance potentielle	**0.542**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.542
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**100.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.133

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Tableau 28 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des staphylocoques à coagulase négative entre les résultats de culture des milieux STD+RW d'une part et STD+SCH d'autre part, sur la population avec matériel en place (n=45).

Les SCN ont été identifiés comme responsables d'IOAM dans 5 blocs opératoires (11%), ce qui se rapproche des données rapportées par le RAISIN[8] en 2013. L'utilisation du milieu de SCH a permis de conclure, dans 3 cas, à une réelle infection à *Staphylococcus epidermidis* non retrouvée avec l'emploi du milieu de RW.

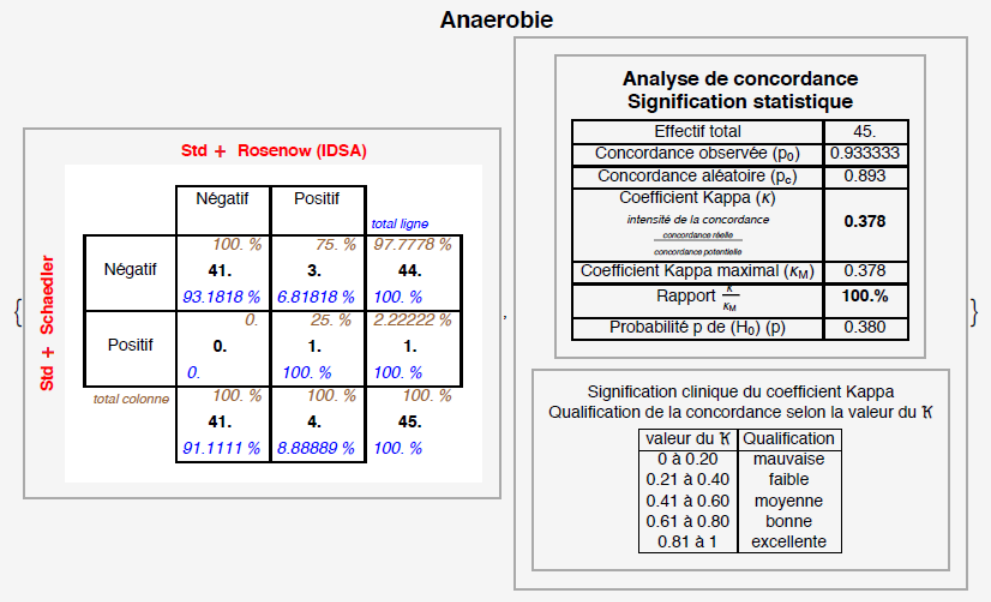


Tableau 29 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des bactéries anaérobie strictes entre les résultats de culture des milieux STD+RW d'une part et STD+SCH d'autre part, sur la population avec matériel en place (n=45).

Les bactéries anaérobies strictes ont été retrouvées en culture dans 4 blocs opératoires (5%). Pour un seul bloc opératoire, la même espèce, *Clostridium perfringens,* a été identifiée aussi bien sur RW que sur SCH. En revanche le RW a permis de documenter 3 infections supplémentaires à bactérie anaérobie stricte (*Clostridium acetobutylicum, Finegoldia magna, Peptoniphilus asaccharolyticus*) par rapport au SCH.

Population générale (125 blocs opératoires) :

Pour obtenir une significativité statistique supérieure nous avons réalisé la même analyse de concordance, mais cette fois sur l'ensemble des données recueillies sur notre période d'étude et qui concerne donc 125 blocs opératoires de tout type. Les résultats microbiologiques ont été étudiés sous leur forme la plus brute, c'est-à-dire sans application d'aucun critère de sélection devant la variété des tableaux cliniques. Ainsi toutes les indications opératoires du bloc traumatologie/orthopédie ont été prises en compte. Les résultats de cette analyse sont synthétisés dans le tableau suivant :

Groupes bactériens	Effectif RW	Effectif SCH	Valeur de *Kappa*	Concordance
Enterobacteriaceae	21	22	0,916	Excellente
Staphylococcus aureus	32	30	0,914	Excellente
Enterococcus spp	14	12	0,828	Excellente
Bacilles à Gram négatif « non fermentant »	9	8	0,685	Bonne
Streptococcus spp	12	9	0,637	Bonne
Anaérobies	6	1	0,488	Moyenne
Staphylocoque à coagulase négative	23	22	0,431	Moyenne
Corynebacterium spp	6	1	0,276	Faible
Propionibacterium acnes	4	0	0	Mauvaise

Tableau 30 Synthèse des valeurs Kappa des différentes études de concordances réalisées pour comparer les résultats microbiologiques des milieux de RW seul et de SCH seul sur la population générale.

Le détail des différentes analyses de concordance (non présenté ici) est disponible en **Annexe 4**

Comme précédemment les analyses de concordance ne permettent pas de démarquer un milieu par rapport à l'autre en ce qui concerne la culture des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae,* de *Staphylococcus aureus,* des bactéries appartenant aux genres *Enterococcus, Streptococcus* et des bacilles à Gram négatif « non fermentants ».

Concernant les staphylocoques à coagulase négative (Tableau n°31), on observe une concordance moyenne avec quasiment autant de documentations supplémentaires apportées par le RW que par le SCH.

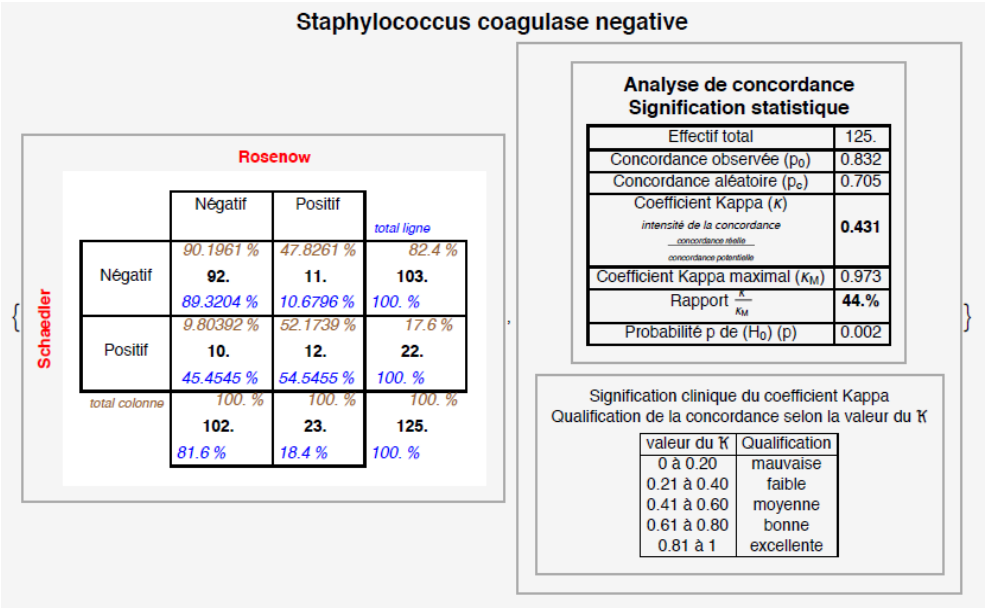


Tableau 31 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des staphylocoques à une coagulase négative entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125).

Initialement, 75 blocs concernaient du matériel orthopédique. 30 d'entre eux avaient été exclus de notre sélection pour diverses raisons (antibiothérapie en cours, 2ème temps opératoire, présence d'un spacer imprégné, etc). Parmi ces 30 blocs exclus, les milieux de SCH et RW ont permis de documenter 3 IAOM à SCN, tout en respectant les critères IDSA. Une seule de ces infections était documentée par les 2 milieux, les 2 autres l'étaient uniquement grâce au SCH. Sur l'ensemble des blocs avec matériel (n=75), le nombre d'infections à SCN documentées par le SCH seul est donc de 5 (3 parmi la population finale sélectionnée (n=45, cf. p77), 2 parmi les blocs exclus de cette sélection (n=30)).

Le SCH est donc plus performant que le RW pour la documentation des IOAM à SCN, en revanche, leur apport n'apparaît pas significativement différent pour la documentation des infections des lésions chroniques du pied à SCN, avec pour chaque milieu 3 documentations supplémentaires apportées.

Concernant le genre *Corynebacterium* (Tableau n°32) l'analyse de concordance donne un index *k* jugé de concordance « faible » alors que la même analyse donnait une concordance« excellente » dans la population avec matériel en place :

Corynebacterium spp

Rosenow / Schaedler

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	119. (100. %, 95.9677 %)	5. (83.3333 %, 4.03226 %)	124. (99.2 %, 100. %)
Positif	0. (0., 0. %)	1. (16.6667 %, 100. %)	1. (0.8 %, 100. %)
total colonne	119. (100. %, 95.2 %)	6. (100. %, 4.8 %)	125. (100. %, 100. %)

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	125.
Concordance observée (p_0)	0.96
Concordance aléatoire (p_c)	0.945
Coefficient Kappa (κ) intensité de la concordance = concordance réelle / concordance potentielle	**0.276**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.276
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**100.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.456

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du κ

valeur du κ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Tableau 32 Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des germes appartenant au genre *Corynebacterium spp* entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125).

Sur la population générale, aucun critère clinique n'a été utilisé pour s'affranchir des contaminations dues à la flore cutanée. Le RW dans les mêmes conditions d'utilisation que le SCH parait plus performant quant à la détection de ce groupe bactérien car il apporte l'information de leur détection dans 5 blocs supplémentaires. Hors sur ces 5 blocs où nous avons retrouvé ces bactéries, 2 blocs de

PTH retrouvaient ces bactéries comme contaminant (exclus de la population des 45 sur matériel), et les 3 autres blocs concernaient, comme précédemment des indications opératoires en lien avec des ulcérations chroniques du pied (diabétique ou non).Nous rappelons que pour certains auteurs le genre *Corynebacterium* apparaît comme majoritaire dans la population bactérienne du pied diabétique (Dowd SE W. R., 2008)[60].Concernant ce type de pathologie, nous avons vu dans la première partie qu'aucun critère microbiologique ne pouvait être appliqué pour détecter d'éventuelles contaminations. En effet selon certaines études (Percival SL, 2010)[57].les staphylocoques à coagulase négative tout comme les corynébactéries peuvent faire partie d'une population pluri microbienne qui, dans son ensemble, est responsable de la chronicité de la plaie. Cette information supplémentaire reste donc précieuse pour l'infectiologue pour le choix de la thérapeutique anti-infectieuse.

À la lumière des données précédentes il semblerait que le milieu de SCH présente un avantage par rapport au milieu de RW concernant la détection des infections à staphylocoques à coagulase négative pour le diagnostic des IOAM. En revanche le RW parait présenter un avantage concernant la détection du genre *Corynebacterium* notamment pour le diagnostic microbiologique des lésions chroniques du pied.

Concernant les bactéries anaérobies strictes (Tableau 33), elles ont été retrouvées en culture dans 6 blocs opératoires (5%) :

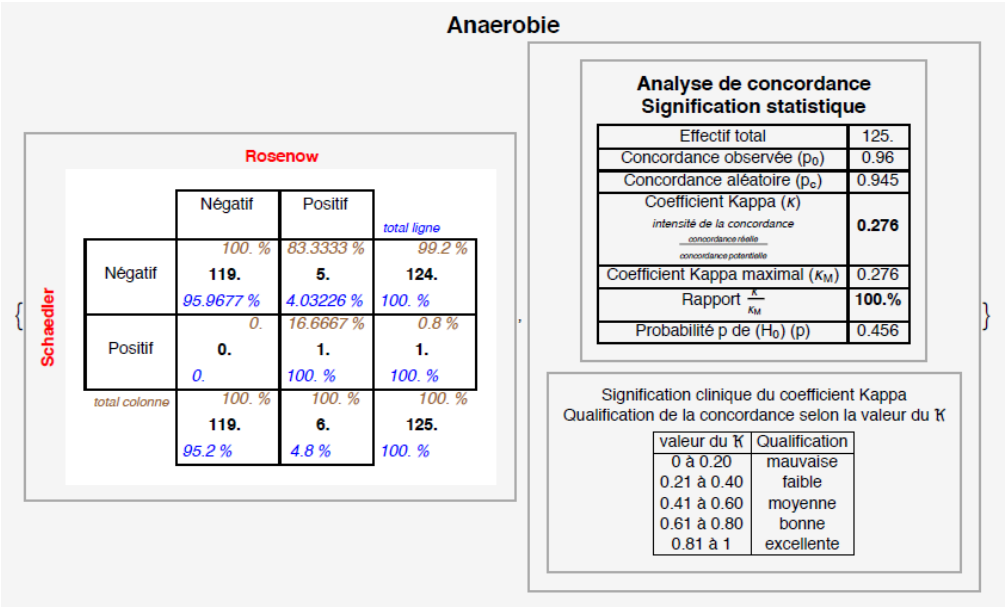


Tableau 33 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour mise en évidence des germes anaérobies entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125).

Le seul bloc opératoire où les deux milieux ont retrouvé la même bactérie anaérobie stricte (*Clostridium perfringens)* est celui cité plus haut dans la population avec matériel en place. Le RW à permis de mettre en évidence au moins une bactérie anaérobie dans 5 blocs opératoires supplémentaires sur la population générale par rapport au SCH. Les bactéries anaérobies retrouvées dans ces 5 blocs étaient : *Peptoniphilus asaccharolyticus*, *Clostridium acetobutylicum*, *Finegoldia magna, Prevotella buccae* et *Propionibacterium avidum.* La concordance statistique entre les deux milieux pour la recherche des bactéries anaérobies est « faible » dans les deux populations étudiées. Jugée comme d'importance clinique majeure dans la physiopathologie des IOAM, notamment en cas de suspicion de sepsis sur PTE (Tande AJ, 2014)[10], nous avons isolé l'espèce *Propionibacterium acnes* de ce groupe bactérien pour affiner l'analyse de concordance qui a produit les résultats suivants :

Propionibacterium acnes

Schaedler / Rosenow

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	100. % **121.** 96.8 %	100. % **4.** 3.2 %	100. % **125.** 100. %
Positif	0. **0.** Indeterminate	0. **0.** Indeterminate	0. **0.** Indeterminate
total colonne	100. % **121.** 96.8 %	100. % **4.** 3.2 %	100. % **125.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	125.
Concordance observée (p_0)	0.968
Concordance aléatoire (p_c)	0.968
Coefficient Kappa (κ) intensité de la concordance = concordance réelle / concordance potentielle	**0.000**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.000
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**Indeterminate%**
Probabilité p de (H_0) (p)	1.000

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du κ

valeur du κ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Tableau 34 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence de l'espèce *Propionibacterium acnes* entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125).

L'espèce *Propionibacterium acnes* a été retrouvée en culture dans 4 blocs opératoires (3%) grâce au RW. En revanche, elle n'a été détectée dans aucun des SCH.

La composition des milieux RW et SCH est normalement propice à la culture des bactéries anaérobies strictes et aéro-anaérobies facultatives. Nous mettons toutefois ici en évidence, grâce aux analyses de concordance au sein de ce groupe bactérien, un avantage pour le milieu de RW. Notons qu'aucune bactérie anaérobie n'a été retrouvée dans les ulcérations chroniques (diabétique ou non). Les 2 blocs supplémentaires retrouvés par le milieu de RW en dehors de la population avec matériel en place, étaient une opération d'une escarre d'ischion infectée et une reprise de PTG non inclus dans la population des 45 blocs (antibiothérapie en cours). Ceci contraste avec la proportion de

bactéries anaérobies rapportée dans la littérature (Howell-Jones RS, 2005)[62] et est d'autant plus surprenant si on s'intéresse aux études de biologie moléculaire (Dowd SE S. Y., 2007)[64].

Nous avons comparé nos données à celles publiées par le CRIOGO (Bemer P, 2015)[24]. Dans cette étude, le bouillon de SCH est utilisé pour la détection des bactéries anaérobies. Elle incluait une population plus importante que celle de notre travail (215 reprises septiques et 49 reprises aseptiques). Le bouillon de SCH avait permis de détecter 75.2% des infections causés par des germes anaérobies (16 cas / 21). Hormis la taille, notre population sur matériel est comparable à cette étude, en terme de proportion infecté / non infecté (ratio de 4,4 contre 3.75 pour notre population). La proportion d'infection à germe anaérobie stricte détecté grâce au SCH est plus basse pour notre étude 2% contre 7% pour l'étude du CRIOGO (pas de distinction entre *Propionibacterium acnes* et anaérobies strictes). Avec le RW nous nous rapprochons de ce chiffre sur la population avec matériel en place avec 5% d'infections à bactéries anaérobies strictes détectées. Sur notre population globale nous atteignons 8% (anaérobies strictes + *Propionibacterium acnes*) de blocs positifs avec le milieu de RW, mais le recrutement est alors différent de celui de l'étude du CRIOGO. La comparaison devient moins évidente lorsque l'on considère les différences pré-analytiques des deux études. Dans notre travail, les échantillons sont directement ensemencés dans les SCH et RW au bloc opératoire et ne sont pas broyés, tandis que ceux de l'étude du CRIOGO sont traités comme nos échantillons STD, c'est-à-dire broyés et ensemencés au laboratoire. La différence de performance des milieux RW et SCH dans notre étude pourrait être expliquée par une possible capacité du RW à favoriser le passage plus rapide des bactéries d'un mode quiescent dans le biofilm à un mode planctonique sans l'effet mécanique déstabilisateur du broyage. Comme précisé précédemment le milieu de RW possèderait grâce aux morceaux de cervelle un gradient d'oxygène à l'intérieur du tube, et une anaérobiose parfaite se formerait près des morceaux de cervelle (Rosenow, 1919)[65], rendant ce milieu peut-être plus favorable à la culture des bactéries anaérobies strictes.

Une autre piste de réflexion peut être suivie avec le constat troublant que, dans notre étude, le RW et le SCH ont permis l'isolement de bacilles à Gram négatif « non fermentants » qui sont normalement des bactéries aérobies strictes et qui ne devraient théoriquement pas croître dans ces conditions de culture. Cette observation remet en cause la perfection de notre anaérobiose. En effet, le coulage dans chaque tube de paraffine liquide pour l'obtention d'une atmosphère anaérobie est une action opérateur-dépendant et si l'anneau de paraffine coulé est trop fin il peut se désolidariser des parois du tube après durcissement et laisser passer l'oxygène de l'air, toxique pour certaines espèces anaérobies strictes. Encore une fois, le RW tirerait ici son épingle du jeu par le maintien, au contact des morceaux de cervelle, d'une anaérobiose sur au moins la partie la plus profonde du bouillon.

Les milieux de RW et SCH sont avant tout des milieux pour la culture des bactéries exigeantes et fastidieuses et une des raisons théoriques de l'ensemencement direct au bloc opératoire, est de limiter le contact de certaines bactéries anaérobies strictes avec l'oxygène. Il semblerait, d'après nos résultats, que le milieu de RW remplisse le mieux ce rôle. Le seul avantage supplémentaire, retrouvé dans nos travaux, à l'utilisation du milieu de SCH serait dans la documentation des IOAM à staphylocoques à coagulase négative. Cependant, dans sa composition, le SCH ne possède pas d'élément favorisant plus la croissance de ce groupe bactérien que le RW ou même les milieux STD. De plus il avait déjà été montré (Senneville E, 2006)[25] que le RW ensemencé au bloc opératoire permet de récupérer de nombreuses bactéries aéro-anaérobies facultatives dont les staphylocoques à coagulase négative. Une des explications possibles est que la frontière entre le caractère contaminant et l'imputabilité de ces bactéries dans un processus infectieux est mince, la preuve en est que les différentes sociétés savantes ne sont pas toutes d'accord quant au nombre d'échantillons devant être positifs afin affirmer un diagnostic d'infection (3 échantillons pour la SPILF (SPILF, 2009)[6] ou 2 pour la MSIS (Parvizi J Z. B., 2011)[5] et l'IDSA (Osmon DR, 2013)[4]). En fonction des critères utilisés, l'apport du SCH concernant ce groupe bactérien apparaît donc comme plus ou moins pertinent. Cette constatation se trouve d'autant plus renforcée que le nombre des sites opératoires prélevés est important. En effet, il est recommandé de prélever au moins 4 échantillons représentant autant de sites opératoires (Bemer P, 2015)[24] pour l'interprétation de données microbiologiques mettant en jeu des espèces bactériennes commensales de la peau. Dans notre étude, le nombre d'échantillons prélevés par bloc opératoire sur la population avec matériel en place est en moyenne de 2,4. Toutefois si l'on considère que les échantillons ensemencés directement au bloc sur RW ou SCH correspondent à des sites différents, cette moyenne passe à 4,8 ; ce qui mène à une situation confortable pour l'interprétation des données microbiologiques.

Les données de notre travail nous amènent à nous questionner sur l'intérêt du broyage des échantillons, théoriquement nécessaire pour détacher les bactéries présentent au sein du biofilm, et de leur mise en culture sur milieux STD. Notre étude nous montre d'aussi bon, voir même de meilleurs résultats, au niveau de la détection des micro-organismes avec des échantillons non broyés et ensemencés au bloc opératoire par rapport aux milieux STD ensemencés au laboratoire avec des échantillons broyés. Les milieux STD ne sont pas mis en anaérobiose, donc théoriquement nous ne pouvons y mettre en évidence de bactéries anaérobies strictes ce qui pourrait être un début d'explication. Mais il s'avère que les RW et SCH utilisés n'ont pas permis exclusivement de documenter des infections supplémentaires à bactéries anaérobies strictes par rapport à la culture sur STD.

Les données de notre étude ne donnent toutefois pas d'information quant aux délais de positivité des différents milieux ; STD, RW et SCH. Ces deux derniers sont conservés 14 jours, or il a été montré que plus les délais de positivité étaient longs plus il y avait de chance de voir apparaitre des contaminations (Schafer P, 2008)[27]. Cette étude utilisant notamment le milieu de SCH montre que près de 48% des souches de contamination émergent entre le 7^{e} et le 14^{e} jour.

À ce titre, les milieux STD permettent un diagnostic plus rapide que les RW ou SCH car ils ne nécessitent pas forcément une étape de repiquage et sont moins sensibles que les bouillons de culture au phénomène de contamination par un nombre de manipulations plus réduit. De plus, les milieux STD permettent d'identifier plus rapidement le caractère plurimicrobien de la culture et de mettre en évidence pour une même espèce bactérienne des aspects morphotypiques culturaux différents pouvant présenter des profils de sensibilité aux antibiotiques disparates (Zimmerli W, 2012)[13]. De ce fait, l'abandon des cultures sur STD n'apparaît pas envisageable.

Néanmoins, dans cette problématique, le RW présente un avantage supplémentaire par rapport au SCH, qui réside dans sa facilité de lecture grâce à son indicateur coloré. Les milieux de SCH apparaissent plus fastidieux à lire ; la détection du seul trouble du bouillon, témoin d'une culture positive, pas toujours très franc, peut provoquer un retard pour le repiquage et donc pour le rendu des résultats au clinicien.

Nous l'avons montré dans ce travail, la particularité de notre procédé analytique, réside dans le fait que les bouillons RW ou SCH sont ensemencés directement au bloc opératoire sans étape de broyage. Nos résultats indiquent que cette méthode ne grève pas la sensibilité de la détection des micro-organismes responsables d'infection, au contraire. Toutefois, afin de rendre complètement comparables nos données avec celles des autres CRIOAC de France, il serait judicieux de réaliser une étude comparant le rendement microbiologique d'un RW lorsqu'il est ensemencé directement au bloc sans broyage par rapport à celui d'un RW ensemencé au laboratoire après broyage de l'échantillon, en même temps que les milieux STD. Cette étude permettrait peut-être de déterminer si l'éventuel gain de performance dépend plutôt du broyage que du délai d'ensemencement de l'échantillon ou inversement.

Enfin, concernant la problématique des IOAM, il serait intéressant d'évaluer la place de notre méthode par rapport aux résultats obtenus lors de la sonication des prothèses explantées ; cette méthode étant celle utilisée par les équipes parmi les plus reconnues dans ce domaine (Trampuz A, 2007)[30].

V. Conclusion

Les infections ostéo-articulaire sur matériel (prothèse, matériel d'ostéosynthèse) ainsi que l'infection des ulcérations chroniques du pied d'origine diabétique, vasculaire ou périphérique ont un point commun essentiel : le biofilm bactérien. Cette organisation tout à fait particulière de la population bactérienne pour résister à son environnement pose un véritable problème thérapeutique. Ces affections dans la population générale restent rares, cependant les coûts engendrés, du fait de leur caractère souvent chronique, sont considérables.

Le diagnostic biologique et microbiologique de ce type d'infection n'est pas figé, et de nombreuses équipes à travers le monde proposent régulièrement de nouvelles approches. Le biologiste médical doit en permanence assurer une veille scientifique qui lui permettra de mettre à jour ses techniques en fonctions des dernières recommandations. Le CRIAOC Nord-Ouest, à mis en place depuis plusieurs années, une méthode singulière, utilisée par aucun autre centre, qui consiste en l'ensemencement per-opératoire de prélèvements d'os, de tissus ou de liquide articulaire au sein d'un milieu enrichi et adapté à la culture des anaérobies strictes : le milieu de RW. Ce milieu complexe contenant des morceaux de cervelle et du marbre datant du début du 20^{e} siècle n'est pas utilisé par les autres centres dans cette indication, lui préférant le bouillon de SCH.

Cette méthode a permis de documenter un nombre d'infections en sus, non détectées par les méthodes de culture bactérienne classiques. En outre, le RW fait au moins aussi bien que le SCH pour la détection de la plupart des groupes bactériens étudiés. Il se positionne même mieux concernant les bactéries anaérobies strictes, une des problématiques séminales quant à l'utilisation de ce type de milieu dans le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires.

Le SCH, quant à lui, a permis d'améliorer le rendement de la documentation des IOAM à staphylocoques à coagulase négative. L'absence de ligne consensuelle des différentes sociétés savantes sur l'approche de ce groupe bactérien en tant que pathogène véritable ou contaminant de culture rend difficilement interprétable ce résultat.

Même si à l'issue de ce travail, la méthode diagnostic du CRIOAC Nord-Ouest, consistant en l'ensemencement d'un RW au bloc opératoire, s'en retrouve légitimée, notamment pour la documentation des infections à bactéries anaérobies strictes, il reste à évaluer l'intérêt du broyage préalable et du délai d'ensemencement des échantillons dans ce milieu pour juger de sa performance vis-à-vis de celle employée dans les autres Centres. De plus il apparaît nécessaire de pouvoir positionner notre méthode vis-à-vis de la sonication des matériels explantés, recommandée par de nombreuses équipes.

VI. Bibliographie:

1. Tsukaymada DT, Estrada R, Gustilo R. **Infection after total hip arthroplasty. A study of the treatment of one hundred and six infections**. *Journal of Bone & Joint Surgery*, 1996. **78**:512-523

2. Segawa H, Tsukayama DT, Kyle RF, Becker DA, Gustilo RB. **Infection after total knee arthroplasty. A retrospective study of the treatment of eighty-one infections**. *Journal of Bone & Joint Surgery*, 1999. **81**:1434-1445

3. Anagnostakos K , Schmid NV, Kelm J, Grün U, Jung J. **Classification of hip joint infections**. *International journal of medical sciences*, 2009. **6**:227-223

4. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, Rao N, Hanssen A, Wilson WR. **Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America**. *Clinical infectious disease,* 2013. 56:e1-25

5. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, DellaValle CJ, Garvin KL, Mont MA, Wongworawat MD, Zalavras CG. **New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society**. *Clinical orthopaedics and related research,* 2011. **469**:2992-2994

6. **Recommandations de pratique clinique *Infections ostéo-articulaires sur matériel* (prothèse, implant, ostéosynthèse)**. Version mai 2009 pour la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française.

7. Parvizi J, Gehrke T. **Proceedings of the International Consensus Meeting on periprosthetic joint infection**. Musculoskeletal Infection Society, Rochester, MN, 2013.

8. **Surveillance des infections du site opératoire, France 2013 : Résultats**. RAISIN, INVS, CCLIN AR.

9. Tsaras G, Osmon DR, Mabry T, Lahr B, St Sauveur J, Yawn B, Kurland R, Berbari EF. **Incidence, secular trends, and outcomes of prosthetic joint infection: a population-based study, Olmsted county, Minnesota, 1969-2007**. *Infection control & hospital epidemiology*, 2012. **33**:1207-1212

10. Tande AJ, Patel R. **Prosthetic joint infection**. *Clinical Micriobiology Reviews*, 2014. **27** :302-345

11. M. Titécat, E. Senneville, F. Wallet , H. Dezèque, H. Migaud, R.-J. Courcol, C. Loïez. **Bactérial epidemiology of osteoarticular infections in a referent center : 10-year study**. *Orthopaedics and Traumatology: Surgery and research*, 2013. **99**:653-658

12. Rodney M. Dolan, William Costerton. **Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms**. *Clinical Microbiology reviews,* 2002. **15**:167-193

13. Zimmerli W, Moser C. **Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections**. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2012. **65**:158-168

14. Berbari E, Mabry T, Tsaras G, Spangehl M, Erwin PJ, Murad MH, Steckelberg J, Osmon D. **Inflammatory blood laboratory levels as markers of prosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis**. *Journal of Bone & Joint Surgery*. 2010. **92**:2102-9

15. Alijanipour P, Bakhshi H, Parvizi J. **Diagnosis of periprosthetic joint infection: the threshold for serological markers**. *Clinical orthopaedics and related research*, 2013. **471**:3186-3195

16. Marmor S, Bauer T, Desplaces N, Heym B, Roux AL, Sol O, Roge J, Mahe F, Desire L, Aegerter P, Ghout I, Ropers J, Gaillard JL, Rottman M. **Multiplex antibody detection for non-invasive genus-level diagnosis of prosthetic joint infection**. *Journal of clinical microbiology*, 2016. **54**:1065-1073

17. Ghanem E, Parvizi J, Burnett RS, Sharkey PF, Keshavarzi N, Aggarwal A, Barrack RL. **Cell count and differential of aspirated fluid in the diagnosis of infection at the site of total knee arthroplasty**. *Journal of Bone & Joint Surgery, 2008.* **90**:1637-1643

18. Bedair H, Ting N, Jacovides C, Saxena A, Moric M, Parvizi J, Della Valle CJ. **The Mark Coventry Award: diagnosis of early postoperative TKA infection using synovial fluid analysis**. *Clinical orthopaedics and related research*, 2011. **469**:34-40

19. Schinsky MF, Della Valle CJ, Sporer SM, Paprosky WG. **Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty**. *Journal of Bone & Joint Surgery,* 2008. **90**:1869-1875

20. Wetters NG, Berend KR, Lombardi AV, Morris MJ, Tucker TL, Della Valle CJ. **Leukocyte esterase reagent strips for the rapid diagnosis of periprosthetic joint infection**. *J. Arthroplasty,* 2012. **27**:8-11

21. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Schiller K, Booth RE, Parvizi J. **The Alpha-défensin test for periprosthetic joint infection outperforms the leucocyte Esterase Test Strip**. *Clinical orthopaedics and related research*, 2015. **473**:198-203

22. Font-Vizcarra L, Garcia S, Martinez-Pastor JC, Sierra JM, Soriano A. **Blood culture flasks for culturing synovial fluid in prosthetic joint infections**. *Clinical orthopaedics and related research*, 2010. **468**:2238-2243

23. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DW, Simpson H, Peto TE, McLardy-Smith P, Berendt AR, OSIRIS Collaborative Study Group. **Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty**. *Journal of clinical microbiology*, 1998. **36**:2932-2939

24. Bemer P, Leger J, Tande D, Plouzeau C, Valentin AS, Jolivet-Gougeon A, Lemarié C, Kempf M, Héry-Arnaud G, Bret L, Juvin ME, Giraudeau B, Corvec S, Burucoa C, the CRIOGO. **How many samples and how many culture medi to diagnose a prosthetic joint infection: a clinical and microbiological prospective multicenter study**. *Journal of clinical microbiology*, 2015. **54**:385-391

25. Senneville E, Savage C, Nallet I, Yazdanpanah Y, Giraud F, Migaud H, Dubreuil L, Courcol R & Mouton Y. **Improved aero-anaerobe recovery from infected prosthetic joint samples taken from 72 patients and collected intraoperatively in Rosenow's broth**. *Acta orthopeadica*, 2006. **77**:120-124

26. Hughes HC, Newnham R, Athanasou N, Atkins BL, Bejon P, Bowler ICJW. **Microbiological diagnosis of prosthetic joint infections: a prospective evaluation of four bacterial culture media in the routine laboratory**. *Clinical Microbiology and Infection*, 2011. **17**:1528-1530

27. Schafer P, Fink B, Sandow D, Margull A, Berger I, Frommelt L. **Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy**. *Clinical infectious diseases,* 2008. **47**:1403-1409

28. Erriu M, Blus C, Szmukler-Moncler S, Buogo S, Levi R, Barbato G, MAdonnaripa D, Denotti G, Piras V, Orrù G. **Microbial biofilm modulation by ultrasound: Current concepts and controversies**. *Ultrasonics sonochemistry*, 2013. **21**:15-22

29. Pitt WG,Ross SA. **Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth**. *Biotechnology progress*, 2003. **19**:1038-1044

30. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, Mandrekar JN, Cockerill FR, Steckelberg JM, Greenleaf JF, Patel R. **Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection**. *The New England journal of Medecine,* 2007. **357**:654-363

31. Portillo ME, Salvadó M, Trampuz A, Plasencia V, Rodriguez-Villasante M, Sorli L, Puig L, Horcajadad JP. **Sonication versus Vortexing of Implants for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection**. *Journal of clinical microbiology*, 2013. **51**:591-594

32. A. Renvoisé , F. Brossier , W. Sougakoff , V. Jarlier , A. Aubry. **Broad-range PCR: Past, present, or future of bacteriology?** *Medecine et maladies infectieuses*, 2013. 43:322-330

33. Bémer P., Plouzeau C,Tande D,Léger J,Giraudeau B,Valentin AS,Jolivet-Gougeon A, Vincent P, Corvec S, Gibaud S, Juvin ME, Héry-Arnaud G, Lemarié C,Kempf M, Bret L,Quentin R, Coffre C, de Pinieux G, Bernard L, Burucoa C, CRIOGO. **Evaluation of 16S rRNA Gene PCR Sensitivity and Specificity for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection: a Prospective Multicenter Cross-Sectional Study**. *Journal of Clinical Microbiology*, 2014. **52**:3583-3589

34. http://biologiepathologie.chru-lille.fr/catalogue-analyses/Detail.php?codeCatalogueAnalyses=1724

35. Levy PY, Fournier PE, Fenollar F, Raoult D. **Systemic PCR detection in culture-negative osteoarticular**.*The American Journal of Medicine*, 2013. **126**:1143.e25-33

36. Gomez E, Cazanave C, Cunningham SA, Greenwood-Quaintance KE, Steckelberg JM, Uhl JR, Hanssen AD, Karau MJ, Schmidt SM, Osmon DR, Berbari EF, Mandrekar J, Patel R. **Prosthetic joint infection diagnosis using broad-range PCR of biofilms dislodged from knee and hip arthroplasty surfaces using sonication**. *Journal of Clinical Microbiology,* 2012. **50**:3501-3508

37. Achermann Y, Vogt M, Leunig M, Wust J, Trampuz A**. Improved diagnosis of periprosthetic joint infection by multiplex PCR of sonication fluid from removed implants**. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010. **48**:1208-1214

38. Cazanave C, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen AD, Karau MJ, Schmidt SM, Gomez Urena EO, Mandrekar JN, Osmon DR, Lough LE, Pritt BS, Steckelberg JM, Patel R. 2013. **Rapid molecular microbiologic diagnosis of prosthetic joint infection**. *Journal of Clinical Microbiology,* 2013. **51**:2280-2287

39. Seong Yeol Ryu , Kerryl E. Greenwood-Quaintance, Arlen D.Hanssen ,Jayawant N. Mandrekar, Robin Patel. **Low sensitivity of periprosthetic tissue PCR for prosthetic knee infection diagnosis**. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease,* 2014. **79**:448-453

40. Dante P. Melendez,Kerryl E. Greenwood-Quaintance,b Elie F. Berbari,Douglas R. Osmon,Jayawant N. Mandrekar,Arlen D. Hanssen,Robin Patel. **Evaluation of a Genus- and Group-Specific Rapid PCR Assay Panel on Synovial Fluid for Diagnosis of Prosthetic Knee Infection**. *Journal of clinical microbiology*, 2015. **54**:120-126

41. Ecker DJ, Sampath R, Massire C, Blyn LB, Hall TA, Eshoo MW, Hofstadler SA. **Ibis T5000: a universal biosensor approach for microbiology**. *Nature reviews microbiology,* 2008. **6**:553-558

42. Kerryl E. Greenwood-Quaintance, James R. Uhl, Arlen D. Hanssen, Rangarajan Sampath, Jayawant N. Mandrekar, Robin Patel. **Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Use of PCR-Electrospray Ionization Mass Spectrometry**. *Journal of clinical microbiology,* 2013. **52**:642-649

43. Melendez DP, Uhl JR, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen A, Sampath R, Patel R. **Detection of Prosthetic Joint Infection by Use of PCR-Electrospray Ionization Mass Spectrometry Applied to Synovial Fluid**. *Journal of clinical microbiology,* 2014. **52**:2202-2205

44. Haute Autorité de Santé, HAS. **Prothèse de hanche et de genou: diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation**, mars 2014

45. Koyonos L, Zmistowski B, Della Valle CJ, Parvizi J. **Infection control rate of irrigation and debridement for periprosthetic joint infection**. *The association of Bone and Joint Surgeons*, 2011. **469**:3043-3048

46. Beswick AD, Elvers KT, Smith AJ, Gooberman-Hill R, Lovering A, Blom AW. **What is the evidence to guide surgical treatment of infected hip protheses? Systematic review of longitudinal studies in unselected patients**. *BMC medicine*, 2012. **16**:10-18

47. Kunutsor SK, Whitehouse MR, Lenguerrand E, Blom AW, Beswick AD, INFORM team. **Re-infection outcomes following one- and two-stage surgical revision of infected knee prosthesis: a systematic review and meta-analysis**. *Plos one,* 2016. **11**:e0151537

48. Zmistowski B, Tetreault MW, Alijanipour P, Chen AF, Della Valle CJ, Parvizi J.. **Recurrent periprosthetic joint infection: persistent or New infection**. *The journal of arthroplasty*, 2013. **28**:1486-1489

49. Quevauvilliers J. **dictionnaire médical**. 6e edition Masson 2009

50. Young MJ, Boulton AJ, Macleod AF, Williams DR, Sonksen PH. **A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population**. *Diabetologia*, 1993. **36**:150-154

51. Société Francophone du diabète, SFD. **Référentiel de bonnes pratiques pour la prévention et le traitement local des troubles trophiques podologiques chez les patients diabétiques à haut risque podologique**. 2015

52. Gregg AW, Sorlie P, Paulose-Ram R, Gu Q, Eberhardt MS, Wolz M, Burt V, Curtin L, Engelgau M, Geiss L. **Prevalence of lower-extremity disease in U.S. Adult population >= 40 years of age with and without diabetes**. *Diabetes care*, 2004. **27**:1591-1597

53. Falanga V. **Wound healing and its impairment in diabetic foot**. *Lancet,* 2005. **366**:1736-1743

54. Bjarnsholt T, Kirketerp-Moller K, Ostrup Jensen P, Madsen KG, Phipps R, Krogfelt K, Hoiby N, Givskov M, Techn Dr. **Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis**. *Wound repair and regeneration*, 2008. **16**:2-10

55. Nalini S, Armstrong DG, Lipsky BA. **Preventing foot ulcers in patients with diabetes**. *Journal of the American Medical Association*, 2005. **293**:217-228

56. Ramsey SD, Newton K, Blough D, McCulloch DK, Sandhu N, Reiber GE, Wagner EH. **Incidence, outcomes, and Cost of foot ulcers in patients with diabetes**. *Diabetes care* 1999. **22**:382-387

57. Percival SL, Thomas JG, Williams DW. **Biofilms and bacterial imbalances in chronic wounds: anti-Koch**. *International wound journal*, 2010. **7** :169-175

58. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. **Recommandations pour la pratique Clinique : Prise en charge du pied diabétique infecté**. Mars 2006

59. James GA, Swogger E, Wolcott E, deLancey Pulcini E, Secor P, Sestrich J, Costerton JW, Stewart PS. **Biofilms in chronic wounds**. *Wounds repair and regeneration,* 2007. **16:**37-44

60. Dowd SE, Wolcott RD, Sun Y, Mckeehan T, Smith E, Rhoads D. **Polymicrobial Nature of Chronic Diabetic Foot Ulcer Biofilm Infections Determined Using Bacterial Tag Encoded FLX Amplicon Pyrosequencing (bTEFAP)**. *Plos one*, 2008. **3**:e3326

61. Lavigne JP, Sotto A, Dunyach-Remy C, Lipsky BA. **New Molecular Techniques to Study the Skin microbiota in diabetic foot ulcer**. *Wound healing society*, 2014. **4**:38-49

62. Howell-Jones RS, Wilson MJ, Hill KE, Howard AJ, Price PE, Thomas DW. **A review of the microbiology, antibiotic usage and resistance in chronic skin wounds**. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005. **55**:143-149

63. Price LB, Liu CM, Melendez JH, Frankel YM, Engelthaler D, Aziz M, Bowers J, Rattray R, Ravel J, Kingley C, Keim PS, Lazrus GS, Zenilman JM. **Community Analysis of Chronic Wound Bacteria Using 16S rRNA Gene-Based Pyrosequencing Impact of Diabetes and Antibiotics on Chronic Wound Microbiota**. *Plos one,* 2009. **4**:e6462

64. Dowd SE, Sun Y, Secor PR, Rhoads DD, Wolcott BM, James GA, Wolcott RD. **Survey of bacterial diversity in chronic wounds using Pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing**. *BMC microbiology*, 2007. **8**:43

65. Rosenow E.C. **Studies on elective localization**. *Journal of Dental Researh*, 1919. **1**:205-249

66. Hayden RL**. Elective localization in the eye of bacteria from infected teeth**. *Arch Intern Medicine*. 1923. **32**:828-849

67. Freney J, Renaud F, Roland L, Riegel P. **Précis de bactériologie clinique**. 2eme éditions Eska.

68. Schaedler RW, Dubos R, Costello R. **The development of the bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice**. *The journal of experimental medicine*, 1965. **122**:59-66

69. Stalons R, Thornsberry C, Dowell VR JR. **Effect of Culture Medium and Carbon Dioxide Concentration on Growth of Anaerobic Bacteria Commonly Encountered in Clinical Specimens**. *Applied microbiology,* 1974. **27**:1098-1104

70. Bonnet R, Bru JP, Caron F, Cattoir V, Chardon H, Courvalin V, Dubreuil L, Jarlier V, Lambert T, Lefort A, Merens A, Nicolas-Chanoine MH, Plesiat P, Ploy MC, Soussy CJ, Varon E, Weber P . **Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie / European comitee on antimicrobial susceptibility testing**. recommandation 2015 v.2.0 juillet

71. Costerton JW, Stewart PS. **Battling biofilms**. *Scientific American,* 2001. **285**:74-81

Annexes

Annexe 1 : Performances statistiques de l'ensemencement du milieu de Rosenow au bloc opératoire pour le diagnostic des IOAM.

Prévalence (*p*)	73%
Performance du test	
Sensibilté	97%
Faux positif	0%
Spécificité	100%
Faux negatif	3%
Prédiction clinique: Valeurs prédictives	
VPP	100%
EPP	0%
VPN	92%
EPN	8%

EPP: Erreur Prédictive Positive

EPN: Erreur Prédictive Négative

Annexe 2 : Performances statistiques de l'ensemencement du milieu de Schaedler au bloc opératoire pour le diagnostic des IOAM.

Prévalence (*p*)	73%
Performance du test	
Sensibilité	94%
Faux positif	0%
Spécificité	100%
Faux négatif	6%
Prédiction clinique: Valeurs prédictives	
VPP	100%
EPP	0%
VPN	86%
EPN	14%

Annexe 3 : Tableau de contingence et analyse de concordance associée pour la mise en évidence des différentes familles bactériennes entre les résultats de culture des milieux STD+RW d'une part et STD+SCH d'autre part, sur la population avec matériel en place (n=45).

Staphylococcus Aureus

Std + Rosenow (IDSA) / Std + Schaedler

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	100. % **28.** 100. %	0. **0.** 0.	62.2222 % **28.** 100. %
Positif	0. **0.** 0.	100. % **17.** 100. %	37.7778 % **17.** 100. %
total colonne	100. % **28.** 62.2222 %	100. % **17.** 37.7778 %	100. % **45.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	45.
Concordance observée (p_0)	1.
Concordance aléatoire (p_c)	0.530
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**1.000**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	1.000
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**100.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	2.638×10^{-10}

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Enterobacteriacea

Std + Rosenow (IDSA) / Std + Schaedler

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	100. % **37.** 97.3684 %	12.5 % **1.** 2.63158 %	84.4444 % **38.** 100. %
Positif	0. **0.** 0.	87.5 % **7.** 100. %	15.5556 % **7.** 100. %
total colonne	100. % **37.** 82.2222 %	100. % **8.** 17.7778 %	100. % **45.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	45.
Concordance observée (p_0)	0.977778
Concordance aléatoire (p_c)	0.722
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**0.920**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.920
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**100.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.000

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Bacille Gram Negatif non fermantant

Std + Rosenow (IDSA)

Std + Schaedler

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	100. % **40.** 97.561 %	20. % **1.** 2.43902 %	91.1111 % **41.** 100. %
Positif	0. **0.** 0.	80. % **4.** 100. %	8.88889 % **4.** 100. %
total colonne	100. % **40.** 88.8889 %	100. % **5.** 11.1111 %	100. % **45.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	45.
Concordance observée (p_0)	0.977778
Concordance aléatoire (p_c)	0.820
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**0.877**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.877
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**100.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.006

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Enterococcus spp

Std + Rosenow (IDSA)

Std + Schaedler

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	100. % **40.** 97.561 %	20. % **1.** 2.43902 %	91.1111 % **41.** 100. %
Positif	0. **0.** 0.	80. % **4.** 100. %	8.88889 % **4.** 100. %
total colonne	100. % **40.** 88.8889 %	100. % **5.** 11.1111 %	100. % **45.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	45.
Concordance observée (p_0)	0.977778
Concordance aléatoire (p_c)	0.820
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**0.877**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.877
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**100.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.006

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Streptococcus spp

Std + Rosenow (IDSA)

Std + Schaedler

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	97.5 % **39.** 97.5 %	20. % **1.** 2.5 %	88.8889 % **40.** 100. %
Positif	2.5 % **1.** 20. %	80. % **4.** 80. %	11.1111 % **5.** 100. %
total colonne	100. % **40.** 88.8889 %	100. % **5.** 11.1111 %	100. % **45.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	45.
Concordance observée (p_0)	0.955556
Concordance aléatoire (p_c)	0.802
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**0.775**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	1.000
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**78.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.010

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du κ

valeur du κ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Corynebacterium spp

Std + Rosenow (IDSA)

Std + Schaedler (IDSA)

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	100. % **44.** 100. %	0. **0.** 0.	97.7778 % **44.** 100. %
Positif	0. **0.** 0.	100. % **1.** 100. %	2.22222 % **1.** 100. %
total colonne	100. % **44.** 97.7778 %	100. % **1.** 2.22222 %	100. % **45.** 100. %

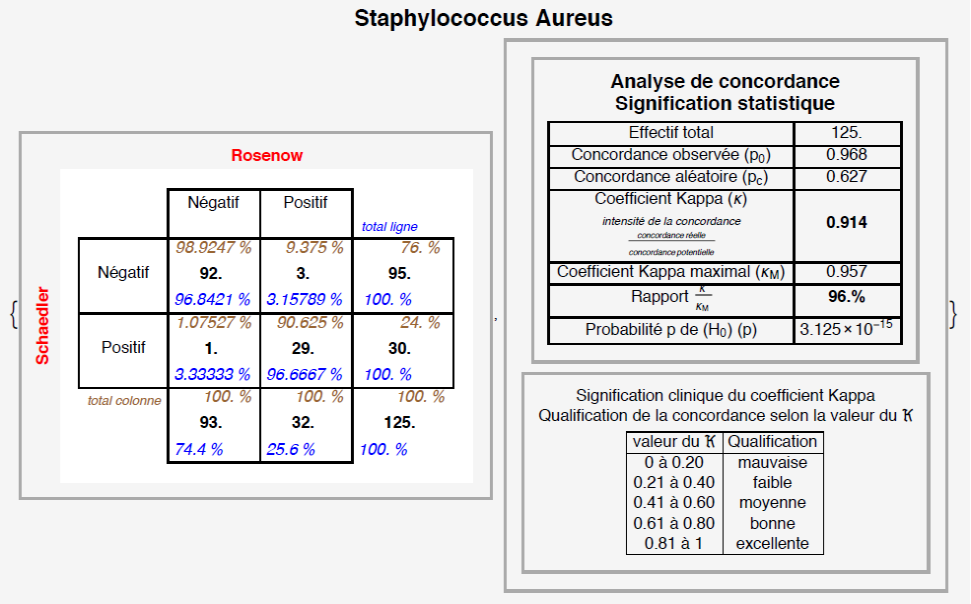
Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	45.
Concordance observée (p_0)	1.
Concordance aléatoire (p_c)	0.957
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**1.000**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	1.000
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**100.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.153

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du κ

valeur du κ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Annexe 4 : Tableau de contingence et analyse de concordance associé pour la mise en évidence des différentes familles bactériennes entre les milieux de RW et de SCH sur la population générale (n=125).



Staphylococcus Aureus

Schaedler × Rosenow

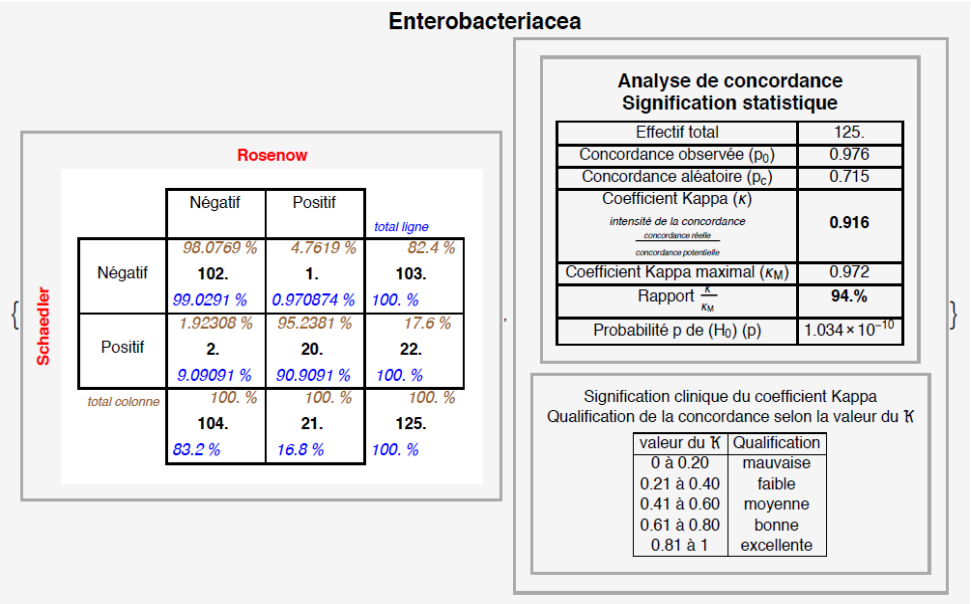
Schaedler \ Rosenow	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	98.9247 % **92.** 96.8421 %	9.375 % **3.** 3.15789 %	76. % **95.** 100. %
Positif	1.07527 % **1.** 3.33333 %	90.625 % **29.** 96.6667 %	24. % **30.** 100. %
total colonne	100. % **93.** 74.4 %	100. % **32.** 25.6 %	100. % **125.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	125.
Concordance observée (p_0)	0.968
Concordance aléatoire (p_c)	0.627
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**0.914**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.957
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**96.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	3.125×10^{-15}

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente



Enterobacteriacea

Schaedler × Rosenow

Schaedler \ Rosenow	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	98.0769 % **102.** 99.0291 %	4.7619 % **1.** 0.970874 %	82.4 % **103.** 100. %
Positif	1.92308 % **2.** 9.09091 %	95.2381 % **20.** 90.9091 %	17.6 % **22.** 100. %
total colonne	100. % **104.** 83.2 %	100. % **21.** 16.8 %	100. % **125.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	125.
Concordance observée (p_0)	0.976
Concordance aléatoire (p_c)	0.715
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**0.916**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.972
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**94.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	1.034×10^{-10}

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Bacille Gram négatif non fermentant

Rosenow / **Schaedler**

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	98.2759 % **114.** 97.4359 %	33.3333 % **3.** 2.5641 %	93.6 % **117.** 100. %
Positif	1.72414 % **2.** 25. %	66.6667 % **6.** 75. %	6.4 % **8.** 100. %
total colonne	100. % **116.** 92.8 %	100. % **9.** 7.2 %	100. % **125.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	125.
Concordance observée (p_0)	0.96
Concordance aléatoire (p_c)	0.873
Coefficient Kappa (κ) intensité de la concordance = concordance réelle / concordance potentielle	**0.685**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.937
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**73.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.004

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du κ

valeur du κ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Enterococcus spp

Rosenow / **Schaedler**

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	99.0991 % **110.** 97.3451 %	21.4286 % **3.** 2.65487 %	90.4 % **113.** 100. %
Positif	0.900901 % **1.** 8.33333 %	78.5714 % **11.** 91.6667 %	9.6 % **12.** 100. %
total colonne	100. % **111.** 88.8 %	100. % **14.** 11.2 %	100. % **125.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	125.
Concordance observée (p_0)	0.968
Concordance aléatoire (p_c)	0.814
Coefficient Kappa (κ) intensité de la concordance = concordance réelle / concordance potentielle	**0.828**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.914
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**91.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	9.223×10^{-6}

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du κ

valeur du κ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Streptococcus spp

Rosenow / Schaedler

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	98.2301 % **111.** 95.6897 %	41.6667 % **5.** 4.31034 %	92.8 % **116.** 100. %
Positif	1.76991 % **2.** 22.2222 %	58.3333 % **7.** 77.7778 %	7.2 % **9.** 100. %
total colonne	100. % **113.** 90.4 %	100. % **12.** 9.6 %	100. % **125.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	125.
Concordance observée (p_0)	0.944
Concordance aléatoire (p_c)	0.846
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**0.637**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.844
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**75.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	0.002

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Stérile à 14 jours

Rosenow / Schaedler

	Négatif	Positif	total ligne
Négatif	79.1045 % **53.** 96.3636 %	3.44828 % **2.** 3.63636 %	44. % **55.** 100. %
Positif	20.8955 % **14.** 20. %	96.5517 % **56.** 80. %	56. % **70.** 100. %
total colonne	100. % **67.** 53.6 %	100. % **58.** 46.4 %	100. % **125.** 100. %

Analyse de concordance
Signification statistique

Effectif total	125.
Concordance observée (p_0)	0.872
Concordance aléatoire (p_c)	0.496
Coefficient Kappa (κ) *intensité de la concordance* $\frac{\text{concordance réelle}}{\text{concordance potentielle}}$	**0.746**
Coefficient Kappa maximal (κ_M)	0.810
Rapport $\frac{\kappa}{\kappa_M}$	**92.%**
Probabilité p de (H_0) (p)	3.926×10^{-17}

Signification clinique du coefficient Kappa
Qualification de la concordance selon la valeur du ϰ

valeur du ϰ	Qualification
0 à 0.20	mauvaise
0.21 à 0.40	faible
0.41 à 0.60	moyenne
0.61 à 0.80	bonne
0.81 à 1	excellente

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
☎ 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
http://pharmacie.univ-lille2.fr/

Université de Lille 2 DROIT ET SANTÉ

DEMANDE D'AUTORISATION DE SOUTENANCE

Nom et Prénom de l'étudiant : BENZIARA Simon

Date, heure et lieu de soutenance :

Le 11/01/2016 (jour / mois / année) à 18 h 15 Amphithéâtre ou salle : Pauling

Avis du conseiller (directeur) de thèse

Nom : BLONDIAUX Prénom : Nicolas

☒ Favorable

☐ Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 25/04/2016

Signature:

Avis du Président de Jury

Nom : GOFFARD Prénom : Anne

☒ Favorable

☐ Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 28/04/16

Signature:

Décision de Monsieur le Doyen

☐ Favorable

☐ Défavorable

Le Doyen

D. CUNY

NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

NA/ 2015

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES
(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2015/2016

Nom : **Benzimra**
Prénom : **Simon**

Titre de la thèse : Etude comparative des milieux de Rosenow et de Schaedler pour le diagnostic des infections ostéo-articulaires.

Mots-clés : Microbiologie, Comparaison de milieux de cultures, Diagnostic, infections ostéo-articulaires, infections du pied diabétique, Rosenow, Schaedler.

Résumé : L'étude portait sur les prélèvements issus de 125 blocs opératoires d'orthopédie et de traumatologie du Centre Hospitalier de Tourcoing. Ils provenaient en majorité de patients présentant une infection ostéo-articulaire sur matériel (prothèse, matériel d'ostéosynthèse) ou une ulcération chronique du pied (d'origine diabétique, neuropathique ou vasculaire). Dans notre institution, ces prélèvements sont en partie ensemencés directement par le chirurgien au bloc opératoire dans un milieu d'enrichissement propice à la culture des bactéries exigeantes et anaérobies strictes : le milieu de Rosenow (RW), peu utilisé dans les autres centres où le milieu de Schaedler (SCH) lui est préféré.
A partir d'une sous-population homogène de 45 blocs opératoires mettant en jeu du matériel orthopédique, nous avons comparé les performances statistiques (sensibilité et spécificité) de chacun de ces deux milieux pour le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur matériel tenant compte des critères de décision recommandés par l'IDSA. Les sensibilités du RW et du SCH étaient de 97 % et de 94% respectivement et les spécificités de 100% pour les 2 milieux. . Une analyse de concordance statistique ne mettait pas en évidence de différence significative entre les milieux dans leur contribution au diagnostic des infections sur matériel.
La performance de chacun des milieux, groupe bactérien par groupe bactérien, a ensuite été évaluée sur la sous-population avec matériel en place (n=45) et sur la population générale de l'étude (n=125). Le RW montre de meilleures performances quant à la détection des bactéries anaérobies strictes (espèce *Propionibacterium acnes* comprise). En revanche, le SCH permet de documenter plus d'infections ostéo-articulaires sur matériel à staphylocoques à coagulase négative. Ce résultat est à interpréter avec précaution tant la limite entre contamination et infection est mince avec ce type de micro-organisme.

Membres du jury :

Président : Madame le Docteur A. GOFFARD

Assesseur(s) : Monsieur le Professeur E. SENNEVILLE

Madame le Docteur C. LOIEZ

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur N. BLONDIAUX