Université de Lille

Année Universitaire 2020/2021

Faculté de Pharmacie de Lille

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT

DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 12 octobre 2021

Par Mme MAUBARET Clara

Documentation microbiologique des infections ostéo-articulaires : Comparaison des performances de deux flacons d'hémoculture pour la détection des bactéries anaérobies

---

Membres du jury :

Présidente : Madame le Professeur Anne Goffard, PU-PH, CHU Lille

Assesseurs : Madame le Docteur Caroline Loiez, Praticien hospitalier, CHU Lille
Monsieur le Docteur Nicolas Ettahar, Praticien Hospitalier, CH de Valenciennes
Monsieur le Professeur Eric Senneville, PU-PH, CH de Tourcoing

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Christian Cattoen, Praticien Hospitalier, CH de Valenciennes

Faculté de Pharmacie
de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
☎ 03.20.96.40.40 - 🖷 : 03.20.96.43.64

Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective	Régis BORDET
Vice-présidente ressources	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations	

avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire

M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSE	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie

Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique

Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique

Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	**Biomathématiques**
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale

M.	RUEZ	Richard	Hématologie
M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurye	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Université de Lille

Faculté de Pharmacie de Lille

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

Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64

http://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 ma présidente de jury

Madame le professeur Anne Goffard
Professeur des Universités-Praticien Hospitalier
Service de Virologie
CHU Lille

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse. Recevez ici le témoignage de mon profond respect.

A mes juges

Madame le docteur Caroline Loiez
Praticien Hospitalier
Service de Bactériologie
CHU Lille

Je suis très touchée par ta participation à ce jury de thèse, je te remercie d'apporter ton expertise microbiologique à ce travail. Sois assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le docteur Nicolas Ettahar
Praticien Hospitalier
Service des Maladies Infectieuses
CH de Valenciennes

Je vous remercie d'avoir accepté avec enthousiasme de faire partie de ce jury et d'évaluer ce travail. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance.

Monsieur le professeur Eric Senneville
Professeur des universités – Praticien hospitalier
Service Universitaire des Maladies Infectieuses et du Voyageur
CH de Tourcoing

C'est un immense honneur pour moi de vous présenter ce travail en tant qu'infectiologue référent du CRIOAc Lille-Tourcoing. Soyez assuré de mon profond respect et de ma gratitude.

A mon directeur de thèse,

Monsieur le docteur Christian Cattoen
Praticien Hospitalier
Service de Microbiologie
CH de Valenciennes

Je vous remercie de m'avoir ouvert les portes de votre service, d'avoir partagé votre savoir et de m'avoir fait l'honneur d'accepter de diriger votre dernière thèse. Vos conseils, votre expérience, votre écoute et bienveillance tout au long de ce travail m'ont été d'une précieuse aide et je vous en suis infiniment reconnaissante.
Merci.

JE TIENS EGALEMENT A REMERCIER PARTICULIEREMENT

Toute l'équipe du CH de Valenciennes de m'avoir aidé à accomplir ce travail et particulièrement les biologistes et techniciens pour le semestre si agréable passé dans le service.

David, Sébastien, Julie, Solange, Laila, Sandrine, Céline, Maureen, Yann, Fabien, Evelyne, Françoise, Océane, Lucie, Renata, Morgane, Guillaume, Laurie, Fanny, Anne-Sophie, Charlène, Héléna, Vanessa, Véronique, Colette, Sabine

Vous avez toujours su vous rendre disponible malgré mon avalanche de questions. C'était un réel plaisir de travailler et d'échanger avec vous.

Tristan, Maxime, Gisèle, Frédérique, Edith, Manica

Vous avez su me transmettre votre goût pour la bactériologie et plus largement la microbiologie. Votre expérience et vos connaissances m'ont nourri et fait progresser.

De plus, je remercie *Hélène Béhal,* biostatisticienne au CHU de Lille, qui a pris le temps de m'écouter et m'a infiniment aidé dans l'élaboration de ce travail.

Et *Marie,* étudiante en BTS, qui a amorcé le travail expérimental.

JE REMERCIE EGALEMENT TOUTES LES EQUIPES QUE J'AI PU RENCONTRER AU COURS DE MES STAGES

Les techniciens de bactériologie et virologie avec qui j'ai passé un premier semestre aussi drôle que délicieux.

Les équipes du PTI, de toxicologie et d'oncologie moléculaire avec qui j'ai pu partager quelques discussions autour de pauses café.

Aux équipes du CH d'Arras, particulièrement l'équipe d'hématologie qui m'a accueilli avec enthousiasme et gentillesse ainsi que tous les biologistes : Marie-Noëlle, Simone, Fabien, Benoit, Marie qui ont été adorables et apprenants.

Une pensée particulière pour les biologistes d'hématologie qui ont fait de mon seul stage en hématologie un joyeux souvenir :

Pascal, pour m'avoir aussi bien appris la tergiversation qu'à reconnaître un lymphocyte hyperbasophile.

Maha, pour m'avoir transmis tes connaissances affûtées en cytologie et hémostase, pour tes douceurs qui sentaient bon l'Orient, pour ta gentillesse et ton humilité.

Toute l'équipe de parasitologie-mycologie avec qui les échanges sont aussi plaisants que fantasques.

Enfin, je remercie les internes avec qui j'ai pu passer de très bons moments, je vous remercie de m'avoir accompagné, soutenu, supporté, fait rire, ému pendant ces belles années lilloises.

JE DEDIE CETTE THESE A

Mes parents,

Votre soutien tout au long de ma scolarité et la liberté que vous m'avez accordée ont permis de me réaliser.

Ma sœur,

Depuis notre plus tendre enfance, notre complicité me construit, me grandit et m'épanouit.

Mes amis,

De près ou de loin, passés ou futurs, les moments partagés avec vous sont une incroyable et merveilleuse aventure.

TABLE DES MATIERES

FIGURES ET TABLEAUX 19
ABREVATIONS 21
INTRODUCTION 23
GENERALITES SUR LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES 23
Définitions 23
Epidémiologie 23
Mode de contamination 24
Cas particulier de l'ostéite du pied diabétique 24
Localisations anatomiques 25
Infection sur matériel 25
Caractère aigu/chronique et délai d'apparition de l'infection 26
CRIOAc et IOA complexe 27
DIAGNOSTIC 29
Clinique 29
Imagerie 30
Biologie 31
Marqueurs sanguins 31
Marqueurs articulaires 31
MICROBIOLOGIE 32
Epidémiologie bactérienne générale des IOA 32
Prélèvements à visée microbiologique et bonnes pratiques 36
Mise en culture 38
Les critères diagnostiques microbiologiques 40
Apport de la biologie moléculaire 40
Les anaérobies dans les IOA 42
Epidémiologie générale 42
Milieux de culture 44
PRISE EN CHARGE 46
Principe de l'antibiothérapie 46
Chirurgicale 51
Prévention 53
OBJECTIFS DU TRAVAIL 55
MATERIEL ET METHODES 57
DESCRIPTION DE L'EPIDEMIOLOGIE DES IOA 57
SOUCHES BACTERIENNES ET FLACONS D'HEMOCULTURES 57
RECUEIL DES PRELEVEMENTS CLINIQUES 57
ETUDE COMPARATIVE ENTRE DEUX TYPES DE FLACONS D'HEMOCULTURES 58
ETUDE COMPARATIVE ENTRE LE FLACON BACTEC LYTIQUE/F BD™ ET LE MILIEU D'ENRICHISSEMENT ROSENOW A PARTIR DES PRELEVEMENTS CLINIQUES 58
ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES 58
RESULTATS 61
DESCRIPTION DE L'EPIDEMIOLOGIE DU CHV AU COURS DE L'ANNEE 2020 61
COMPARAISON DES PERFORMANCES DE DEUX FLACONS ANAEROBIES : FLACONS FN BIOMERIEUX® ET BACTEC LYTIQUE/F BD™ 67
COMPARAISON DES PERFORMANCES DU FLACON BD BACTEC/LYTIC ET DE NOTRE TECHNIQUE DE ROUTINE LE BOUILLON ROSENOW DANS LA DETECTION DES ANAEROBIES SUR 188 PRELEVEMENTS CLINIQUES 73
DISCUSSION 79
CONCLUSION 85
BIBLIOGRAPHIE 86

FIGURES ET TABLEAUX

Figure n° 1 Répartition des différents types d'IOA et sites anatomiques d'après les données françaises de 2014 à 2019 (9). 25
Figure n° 2 Les étpes de la formation du biofilm 26
Figure n° 3 : L'épidémiologie des spondylodiscites d'après les données des CRIOAc français recueillies de 2014 à 2019 sur 306 spondylodiscites (9).. 34
Figure n° 4 Répartition de l'épidémiologie bactérienne de l'ostéite du pied diabétique d'après les données d'une revue répertoriant 4 études (30). 34
Figure n° 5 Epidémiologie générale des infections sur matériel, tout site confondu (9,14,31,32). 35
Figure n° 6 Logigramme du travail comparatif entre le flacon Bactec Lytique/F BD et le Rosenow : de la réception à l'identification des anaérobies. 60
Figure n° 7 Epidémiologie bactérienne tout site d'infection confondu. 61
Figure n° 8 Répartition de l'épidémiologie des entérobactérales tout site d'infection confondu. 62
Figure n° 9 Répartition de l'épidémiologie des staphylocoques à coagulase négative tout site d'infection confondu. 62
Figure n° 10 Répartition des différents types d'IOA et des sites d'infections sur matériel. 63
Figure n° 11 (ci-dessous) Epidémiologie bactérienne en fonction du type d'IOA. 64
Figure n° 12 Epidémiologie bactérienne des IOAM précoces (< 1 mois) et retardées à tardives (> 1 mois). 66
Figure n° 13 Taux de résistance à la méticilline de S. aureus, des SCN et des entérobactérales aux C3G dans les IOAM en fonction du délai d'apparition de l'infection. 66
Figure n° 14 Courbe de survie représentant la probabilité de détection d'un flacon positif en fonction du délai en heures pour les 24 souches anaérobies testées avec une quantité de 40 UFC.. 69
Figure n° 15 Courbe de survie représentant la probabilité de détection d'un flacon positif en fonction du délai en heures pour les 14 souches anaérobies testées avec une quantité de 400 UFC. 70
Figure n° 16 Courbe de survie représentant la probabilité de détection d'un flacon positif en fonction du délai en heures pour 14 souches anaérobies testées avec le flacon BD. 71
Figure n° 17 Courbe de survie représentant la probabilité de détection d'un flacon positif en fonction du délai en heures pour 14 souches anaérobies testées avec le flacon Biomérieux.. 72
Figure n° 18 Répartition des différents types d'infection pour les 86 patients. 73
Figure n° 19 Représentation de la nature des 188 prélèvements cliniques reçus. 74

Figure n° 20 Histogramme et table des données des 6 patients pour lesquels au moins une bactérie anaérobie a été détectée par le bouillon Rosenow. 75
Figure n° 21 Histogramme et table des données des 14 patients pour lesquels au moins une bactérie anaérobie a été détectée par le Flacon Bactec Lytique/F BD™. 76
Tableau n° 1 Liste simplifiée des critères de complexité des IOA……..28

Tableau n° 2 Traitement documenté des arthrites septiques sur articulation native (20). 47
Tableau n° 3 Traitement documenté des spondylodiscites à pyogènes, adapté des recommandations de la SPILF de 2007. 48
Tableau n° 4 Résumé de l'antibiothérapie utilisée en fonction des espèces retrouvées dans les IOA sur matériel, adapté des recommandations du CHU de Lille (81). 49
Tableau n° 5 Taux de résistance sur l'année 2020 des principales espèces de staphylocoques, des entérobactérales et Pseudomonas aeruginosa. 63
Tableau n° 6 Résumé des caractéristiques des prélèvements reçus par type d'infection. 64
Tableau n° 7 Délais de positivité des flacons ensemencés en prenant la moyenne des deux essais. 67
Tableau n° 8 Comparaison des délais et taux de positivité des flacons BD et Biomérieux pour les quantités 40 et 400 UFC. 70
Tableau n° 9 Description globale des 86 patients pour lesquels au moins un prélèvement clinique a été reçu. 73
Tableau n° 10 Taux de détection des bactéries anaérobies par prélèvement et par patient. 74
Tableau n° 11 Tableaux de contingence pour l'analyse de concordance entre le flacon Bactec Lytique/F BD™ et le bouillon Rosenow pour la détection des anaérobies et des 5 espèces principales. 77
Tableau n° 12 Analyse de la concordance entre le flacon BD Bactec/Lytique et le bouillon Rosenow pour les anaérobies et les 5 espèces principales. 78

ABREVATIONS

IOA : Infection ostéo-articulaire

IOAM : Infection ostéo-articulaire sur matériel

CRIOAc : Centre de référence des infections ostéo-articulaires complexes

IRM : Imagerie par résonnance magnétique

TDM : Tomodensitométrie

CRP : Protéine Réactive C

VS : Vitesse de sédimentation

MSIS : Musculo-Skeletal Infection Society

SCN : Staphylocoques à coagulase négative

PBDV : Ponction-biopsie disco-vertébrale

SPILF : Société de pathologie infectieuse de langue française

REMIC : Référentiel de microbiologie

PSM 2 : Poste de sécurité microbiologique de type 2

CMI : Concentration minimale inhibitrice

PCR : Polymerase Chain Reaction

NGS : Next-Generation Sequencing

PCR-ESI/MS : Polymerase Chain-Reaction – ElectroSpray Ionization/Mass spectrometry

VF : Viande – Foie

VL : Viande – Levure

BGN : Bacilles à Gram négatif

SASM/SARM : Staphylococcus aureus Sensible ou Résistant à la méticilline

C1G/C3G : Céphalosporines 1ère ou 3ème génération

SCNSM/SCNRM : Staphylocoques à coagulase négative Sensible ou Résistant à la méticilline

ERV : Entérocoques résistants à la Vancomycine

ISO : Infection du site opératoire

SFAR : Société Française d'Anesthésie-Réanimation

AAF : Aérobie-anaérobie facultative

INTRODUCTION

GENERALITES SUR LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES

Définitions

Les infections ostéo-articulaires (IOA) représentent un groupe hétérogène d'infections. Elles correspondent à une invasion puis une destruction du tissu osseux ou de l'articulation, physiologiquement stérile, par un ou plusieurs micro-organismes (1). Différentes entités cliniques sont à distinguer :

- Les arthrites septiques qui se définissent par une atteinte inflammatoire de la membrane synoviale causée par une prolifération microbienne intra-articulaire touchant souvent le genou. (2)
- Les spondylodiscites qui désignent les infections de disques intervertébraux et corps vertébraux adjacents, majoritairement localisées au niveau lombaire. (3)
- Les ostéites et ostéomyélites qui regroupent les infections du tissu osseux et caractérisées par une origine hématogène pour les ostéomyélites.
- Les pseudarthroses septiques qui correspondent aux foyers de fracture non consolidés après plus de 6 mois qui s'infectent.

Epidémiologie

En France, la prévalence des IOA est en augmentation, passant de 54 cas pour 100 000 habitants en 2008 à 70 cas en 2013. Cette évolution entraîne des coûts supplémentaires avec des séjours hospitaliers plus longs et des ré-hospitalisations (450 millions d'euros en 2013 vs 258 millions en 2008). L'âge moyen au diagnostic est de 65,4 ans et ces infections touchent majoritairement les hommes. Dans 70% des cas, les IOA concernent des patients avec au moins une comorbidité telle qu'une pathologie cardiaque, un diabète, une artériopathie oblitérante des membres inférieurs ou une plaie type ulcère. En 2013, le taux de mortalité était de 3,5 pour 100 000 habitants et chez les patients avec des comorbidités, il était sept fois plus élevé que chez des patients sans comorbidités. (4)

Mode de contamination

Les IOA peuvent se développer par trois mécanismes physiopathologiques.

Tout d'abord, il s'agit de la dissémination hématogène. L'IOA est alors le foyer secondaire d'une bactériémie pour lequel la porte d'entrée est rarement mise en évidence. C'est le mécanisme dominant dans les arthrites septiques sur articulation native et les spondylodiscites. (1,5)

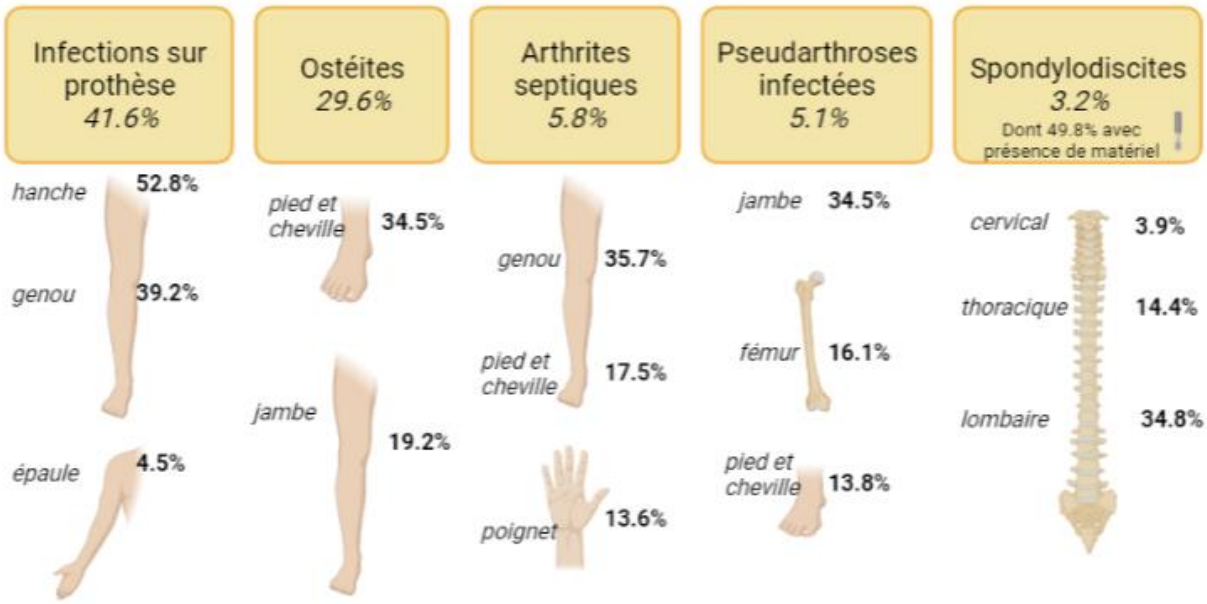
Deuxièmement, l'IOA peut se développer par contiguïté d'une infection des tissus mous avoisinants. Cela peut être à partir d'une plaie aigüe type érysipèle ou une plaie chronique telle qu'un escarre ou un pied diabétique qui s'étendront par la suite à l'os.

Le dernier mécanisme possible à l'origine de l'infection est l'inoculation directe causée par une effraction accidentelle, lors d'un traumatisme avec fracture ouverte par exemple ou bien une effraction iatrogène, lors d'un geste invasif au bloc opératoire (pose de matériel) ou de ponctions itératives.

Cas particulier de l'ostéite du pied diabétique

Environ 15 à 25% des sujets diabétiques développeront un ulcère au niveau du pied dans leur vie et dans 40 à 80% des cas cette plaie s'infectera. L'élargissement au tissu osseux dépend de la sévérité de l'infection du pied avec une prévalence d'ostéite allant de 10% à 60% (6,7). Cette complication est la confluence d'une insuffisance veineuse qui réduit les capacités de cicatrisation des plaies, d'une neuropathie périphérique qui diminue la sensibilité du pied et d'une baisse des défenses immunitaires. Les microtraumatismes plantaires, causés par la pression et les contraintes physiques, sont ainsi une porte d'entrée pour les bactéries qui vont infecter les tissus mous et s'étendre à l'os compact puis spongieux. (1,8)

Localisations anatomiques



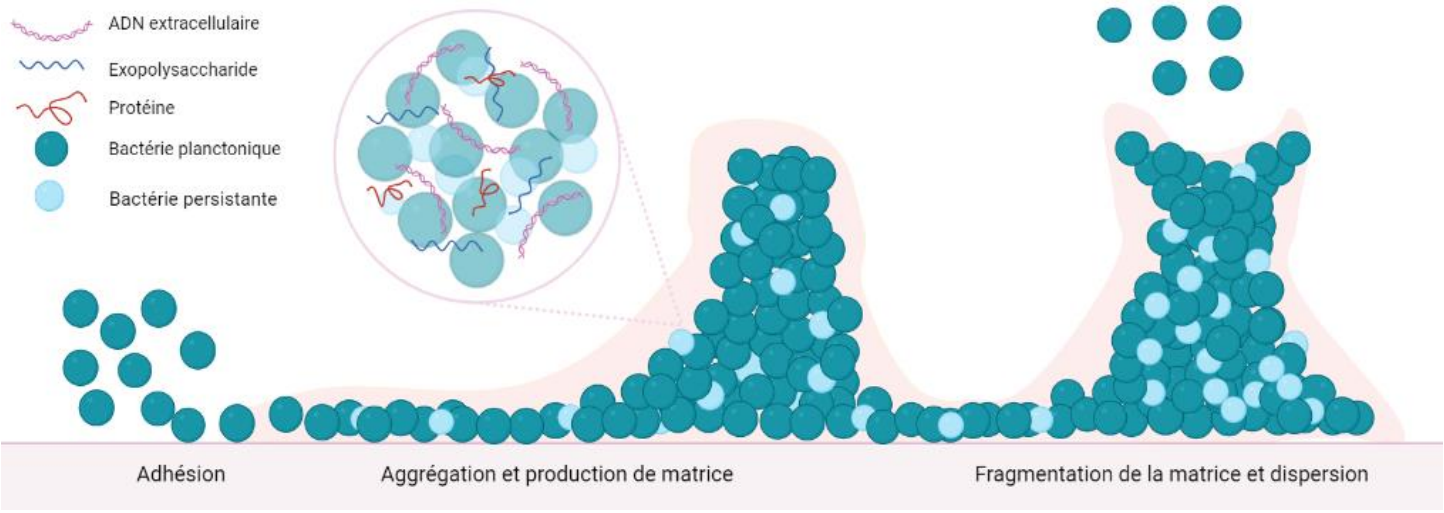
<u>Figure n° 1</u> Répartition des différentes entités cliniques d'IOA et sites anatomiques, adaptée des données françaises de 2014 à 2019 (9).

Dans les ostéites du pied diabétique, les sites les plus touchés sont le calcanéum, le 5ème métatarse, le 1er métatarse et la première phalange distale. (8)

Infection sur matériel

Les IOA sur matériel comportent les infections sur prothèse et les infections sur matériel d'ostéosynthèse. D'après le recueil de données françaises réalisé de 2014 à 2019, elles représentent 42% de toutes les IOA et sont en augmentation en raison du vieillissement de la population et de l'augmentation des arthroplasties (9). En 2005, les données du réseau RAISIN estimaient l'incidence de ces infections entre 0,6 et 1,6% par rapport au nombre de prothèses posées. (10)

La pathogénicité des infections sur matériel est particulière et repose notamment sur la formation d'un biofilm à la surface du matériel inséré. Le biofilm est constitué d'une communauté de microorganismes adhérant entre eux, qui sécrètent une matrice extracellulaire formant une fine couche adhésive, composée d'exopolysaccharides, de protéines et d'ADN extracellulaire, sur une surface inerte. La formation du biofilm est un processus dynamique qui s'installe en plusieurs étapes.



<u>Figure n° 2</u> Les étapes de la formation du biofilm

Les bactéries commencent par adhérer à la surface inerte à l'aide notamment d'adhésines puis s'agrègent entre elles, se multiplient pour former des micro-colonies. Lors de l'agrégation bactérienne, elles activent la transcription de gènes produisant de la matrice extra-cellulaire. Cette couche protectrice permet de les rendre inaccessibles au système immunitaire ainsi qu'aux antibiotiques mais aussi du fait du défaut de pénétration des nutriments, de leur induire une croissance ralentie. Par la suite lors de la maturation, les bactéries remodèlent le biofilm et forment des tours, larges agrégats de bactéries. Enfin, la matrice est morcelée par les nucléases et protéases ce qui permet la dispersion de bactéries métaboliquement actives, dites bactéries planctoniques, qui vont coloniser de nouvelles surfaces. Ce phénomène est à l'origine de la persistance des infections. La pathogénicité du biofilm s'explique aussi par la présence de bactéries appelées « persister ». Elles représentent une sous-population préexistante de bactéries avec une sensibilité diminuée aux antibiotiques responsable de rechutes (11–13).

<u>Caractère aigu/chronique et délai d'apparition de l'infection</u>

La détermination du caractère aigu ou chronique d'une IOA est un critère important pour la prise en charge globale du patient notamment pour l'attitude chirurgicale à adopter. Les IOA sont considérées comme aigues lorsque le début de la prise en charge est moins de 3 à 4 semaines après le début des symptômes qui sont généralement bruyants. Elles sont une urgence diagnostique et thérapeutique et

oriente vers un traitement chirurgical conservateur. A l'inverse, les IOA sont dites chroniques lorsque les symptômes apparaissent plus de 3 à 4 semaines avant le diagnostic et ce passage à la chronicité dirige plutôt vers l'ablation de matériel généralement. (1,14)

Concernant les IOAM, elles sont de plus classées en fonction du délai d'apparition de l'infection après la pose de matériel, cependant aucun consensus existe pour cette classification entre les pays. Cette chronologie oriente vers le mécanisme physiopathologique à son origine et le type de bactérie potentiellement en cause. En France, les IOAM sont départagées en infection précoce si les premiers signes cliniques apparaissent dans le mois suivant la prise en charge au bloc opératoire, retardée entre 2 mois et 6 mois et tardive au-delà de 6 mois. (10) Les infections précoces et retardées sont le plus souvent relatives à une inoculation directe lors de la pose de matériel alors que les infections tardives sont associées à une bactériémie. (15)

CRIOAc et IOA complexe

Devant l'augmentation des IOA et l'impact économique de la prise en charge, le gouvernement français a créé en 2008 un réseau national, composé de 9 Centres de Référence, les CRIOAc (Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires complexes), pour améliorer la prise en charge des patients, promouvoir la recherche clinique et collecter des données épidémiologiques. (16) Avec cette création, les centres de référence ont établi une liste de critères pour distinguer les IOA simples des complexes. Les cas sont discutés lors de réunions pluridisciplinaires pour déterminer le caractère simple ou complexe et établir une stratégie de prise en charge. D'après les données du réseau national, de 2014 à 2019, les IOA complexes représentent 62% des IOA et sont associées à une mortalité et morbidité plus importante.

Critères de complexité	
Facteurs de risque de l'hôte	Patient avec des comorbidités sévères limitant le choix thérapeutique Patient avec des allergies sévères
Critère microbiologique	Microorganisme difficile à traiter ou multirésistant
Critère chirurgical	Prise en charge nécessitant une résection osseusse et une reconstruction osseuse +/- des tissus mous
Rechute	Rechute d'un épisode d'IOA précédent

Tableau n° 1 Liste simplifiée des critères de complexité des IOA. La présence d'un de ces critères définit une IOA complexe. Adapté de Ferry et al (15).

DIAGNOSTIC

Le diagnostic d'IOA repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques. Selon le contexte, il doit être posé rapidement pour limiter le risque de séquelles fonctionnelles liées à la destruction cartilagineuse et osseuse, le risque de septicémie et adapter la prise en charge. De plus, la difficulté diagnostic réside en la multiplicité des recommandations et l'absence de consensus sur certains points.

Clinique

Le tableau clinique dans les IOA est variable, parfois insidieux et peu informatif.

Lors d'infections aigues, les patients peuvent avoir des signes généraux de sepsis avec de la fièvre, des frissons liés à une dissémination hématogène ainsi que des signes locaux avec une articulation rouge, douloureuse, gonflée, une impotence fonctionnelle dans le cas d'arthrite septique, ou bien dans les ostéomyélites, une douleur et sensibilité osseuse lors de l'examen clinique (1,3,16).

Pour les spondylodiscites, le patient se plaint de rachialgies et de raideur rachidienne. La fièvre est inconstante, elle n'est présente que chez la moitié des patients. La recherche de troubles neurologiques associés est primordiale, pouvant être le témoin d'une compression médullaire et impliquant une prise en charge neurochirurgicale en urgence. (3,18)

Pour les infections sur prothèse, la présence d'une fistule à proximité de la prothèse signe l'infection (10,19,20). Les autres éléments cliniques varient selon la précocité d'apparition de l'infection à la suite de la pose de matériel. Un mois après l'implantation, une mauvaise cicatrisation de plaie avec un écoulement, une douleur anormale, une mauvaise récupération fonctionnelle, un épanchement seront des arguments en faveur d'une infection précoce. (15,21,22) Plus tardivement, une infection sur prothèse sera évoquée devant une douleur anormale et/ou la présence d'un descellement prothétique. (10,15) L'absence de signes locaux et généraux n'éliminent cependant pas le diagnostic d'infection sur prothèse.(10)

Chez les patients diabétiques, la présence d'une inflammation des tissus mous, d'une ulcération en regard d'une proéminence osseuse, d'un orteil œdématié en « saucisse », d'une profondeur de plaie de plus de 3 mm doivent faire suspecter une ostéite. Un test de contact osseux peut être effectué, qui consiste à introduire une

curette métallique à pointe mousse dans la plaie profonde ou l'ulcération pour sentir la corticale osseuse. La consistance de « sucre mouillé » évoque une ostéite. Cet examen clinique a une très bonne valeur prédictive positive. (1,6,7)

Imagerie

L'imagerie est un élément clé dans la prise en charge des IOA et chaque technique a ses spécificités et ses indications.

La radiographie standard est en première ligne du bilan initial d'IOA. Elle permet de visualiser l'épaississement des tissus mous et de la capsule articulaire, les séquestres osseux ainsi que les zones d'ostéolyse. Grâce à sa facilité d'accès et sa répétabilité, la radiographie est l'examen de 1ère intention devant toute suspicion d'infection sur matériel et dans le diagnostic d'ostéite du pied diabétique. L'inconvénient majeur de cette technique est que les premiers signes radiologiques sont observés seulement une dizaine de jours après le début de l'infection. A cause de ce délai d'apparition, cet examen n'est pas utile lors du bilan diagnostique d'IOA aigue. Il est néanmoins recommandé dans les arthrites septiques pour écarter un diagnostic différentiel et avoir un cliché de référence pour le suivi des patients. (1,17,19,21,23–25)

L'échographie articulaire est un examen non-invasif, très sensible, permettant la visualisation de collections et d'épanchement intra-articulaire néanmoins son intérêt dans le bilan de lésions osseuses ou articulaires est limité. Elle peut aider à la réalisation d'une ponction articulaire dans les arthrites septiques et les infections précoces sur matériel ou lors de ponctions difficiles de collections. (17,20,25)

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) et la tomodensitométrie osseuse (TDM) sont les examens les plus résolutifs montrant l'état osseux et l'état des parties molles avoisinantes. De plus, l'IRM permet la visualisation de lésions précoces. En cas d'infections sur matériel, les signes tomodensitométriques possiblement rencontrés sont la présence d'appositions périostées, de zones d'ostéolyse floues autour de la prothèse ou de collections de parties molles. La radiographie étant plus facilement accessible, le TDM avec produit de contraste n'est qu'en 2ème intention dans la stratégie d'imagerie des infections chroniques sur matériel (20). L'IRM est quant à lui l'examen de choix dans les spondylodiscites. Les modifications mises en évidence à l'imagerie telles qu'une inflammation des parties molles, un rehaussement discal ou une hyperdensité discale sont des signes avec une sensibilité de plus 90% pour le

diagnostic de spondylodiscites. En cas de matériel d'ostéosynthèse rachidien, une IRM avec une injection de produit de contraste est préconisée. (10,18,26) Ces deux techniques ont cependant la principale limite d'être perturbées par la présence de certains types de matériel. (1)

La scintigraphie osseuse est un examen très sensible mais peu spécifique. Elle peut être positive en cas de métastase, acte chirurgical ou traumatisme récent ce qui n'en fait pas un examen de première ligne. Elle peut cependant être utilisée en cas de contre-indication à l'IRM pour le diagnostic des spondylodiscites. (18,25,26)

Biologie

Marqueurs sanguins

Parmi les signes biologiques, les marqueurs sanguins de l'inflammation sont une aide au diagnostic. La protéine réactive C (CRP), synthétisée par le foie, est un paramètre augmenté dans les inflammations et infections en général, de même que la vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS). Après une opération chirurgicale ou en cas de pathologie inflammatoire chronique, la CRP est de base augmentée. L'évaluation de sa cinétique en répétant les dosages est ainsi plus pertinente pour le diagnostic et le suivi. Son ascension évoque une infection tandis qu'une normalisation indique que le traitement mis en place est efficace. (19) L'association des deux paramètres est conseillée lors d'un diagnostic difficile d'infection sur matériel chronique. Les seuils recommandés varient légèrement selon les recommandations, généralement une CRP > 10 mg/L et une VS > 30 mm sont un argument supplémentaire en faveur d'une infection sur matériel. (10,19,24) Plus récemment, la présence de D-Dimères sériques > 860 ng/ml a été introduite dans les critères diagnostiques de la MSIS de 2018 (27). Cependant, les résultats de plusieurs études semblent mitigés quant à son intérêt et le seuil diagnostic reste à définir (28). Lors d'infection sur matériel dans le mois post-opératoire, la cinétique de la CRP seule est utilisée. (20) Dans le cas de l'ostéite du pied diabétique, une méta-analyse récente indique que parmi tous les marqueurs sériques, la VS semble être le meilleur argument biologique pour le diagnostic. (29)

Marqueurs articulaires

Lors d'arthrite septique sur articulation native, l'analyse cytologique de la ponction de liquide articulaire est utile au diagnostic et peut également être évacuatrice et soulager

le patient en diminuant l'inoculum bactérien. L'aspect trouble du liquide et plus de 2 000 éléments/mm^3 avec une large majorité de polynucléaires neutrophiles (PNN) sont des arguments en faveur d'une arthrite septique cependant aucun seuil précis n'est établi pour la définition d'arthrite. Une recherche de cristaux peut être effectuée pour éliminer un diagnostic différentiel. (1,2,17)

Dans les infections précoces sur matériel, la ponction articulaire n'est pas forcément recommandée si la clinique est évidente sauf dans le cas de sepsis grave où une antibiothérapie doit être initiée. (20)

Concernant les infections chroniques sur matériel, l'International Consensus on Periprosthetic Joint infection de 2013 a défini un seuil de plus de 3000 éléments/mm^3 avec plus de 80% de PNN dans le liquide articulaire comme critère diagnostique. Ils ont également introduit comme critère un nouveau marqueur, la leucocyte estérase. Sur le même principe que pour le diagnostic des infections urinaires, c'est un test colorimétrique qui se positive (++) à la présence de cette enzyme contenue dans les PNN. (24)

Néanmoins, devant le manque de spécificité des marqueurs de l'inflammation, de nouveaux biomarqueurs sanguins et articulaires sont étudiés comme l'interleukine-6 ou l'alpha-défensine. Ce peptide anti-microbien sécrété par les PNN semble prometteur. Bien que des études soient encore en cours pour déterminer son intérêt diagnostique notamment en France, il a été récemment ajouté dans les critères modifiés du MSIS 2018 (27,30).

MICROBIOLOGIE

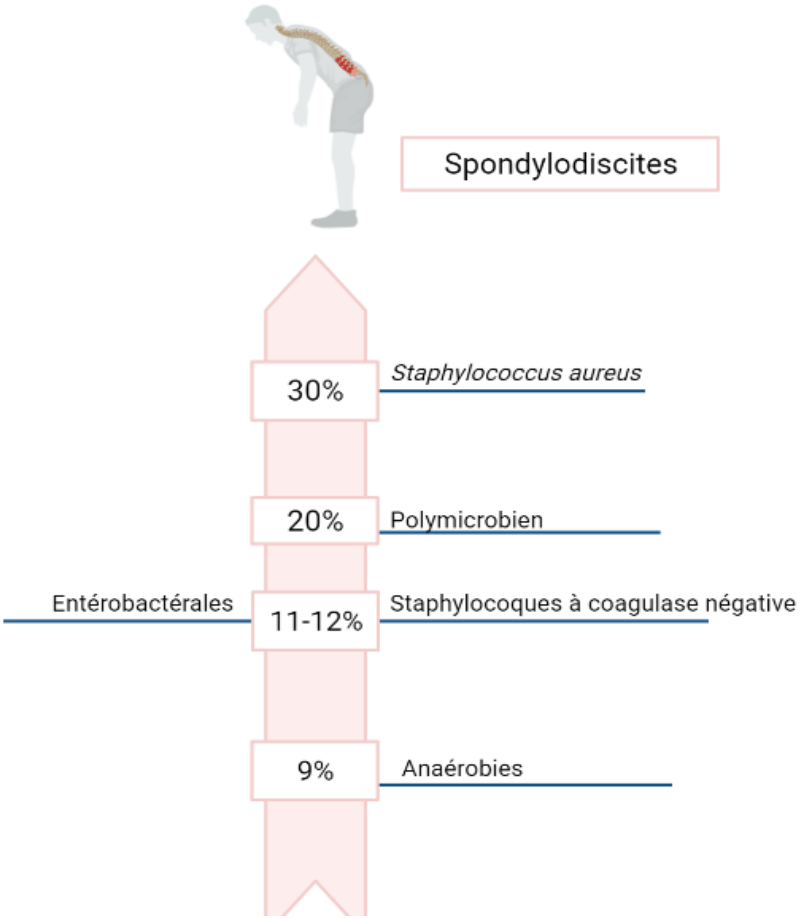
Epidémiologie bactérienne générale des IOA

L'épidémiologie bactérienne des IOA varie selon le site anatomique, l'âge du patient, le mode de contamination ou encore la présence de matériel. Elle est cependant dominée par *Staphylococcus aureus.* Dans les données des CRIOAc français qui ont recensé plus de 19 000 épisodes infectieux, *S. aureus* représente 45% de toutes les IOA. (9) Cette forte prévalence peut s'expliquer par le portage important de *S. aureus* dans la population générale et par les facteurs de virulence multiples des staphylococci qui leur permettent l'adhésion, l'invasion et la survie dans le tissu hôte (31). *S. aureus* est également capable d'échapper au système immunitaire par plusieurs phénomènes

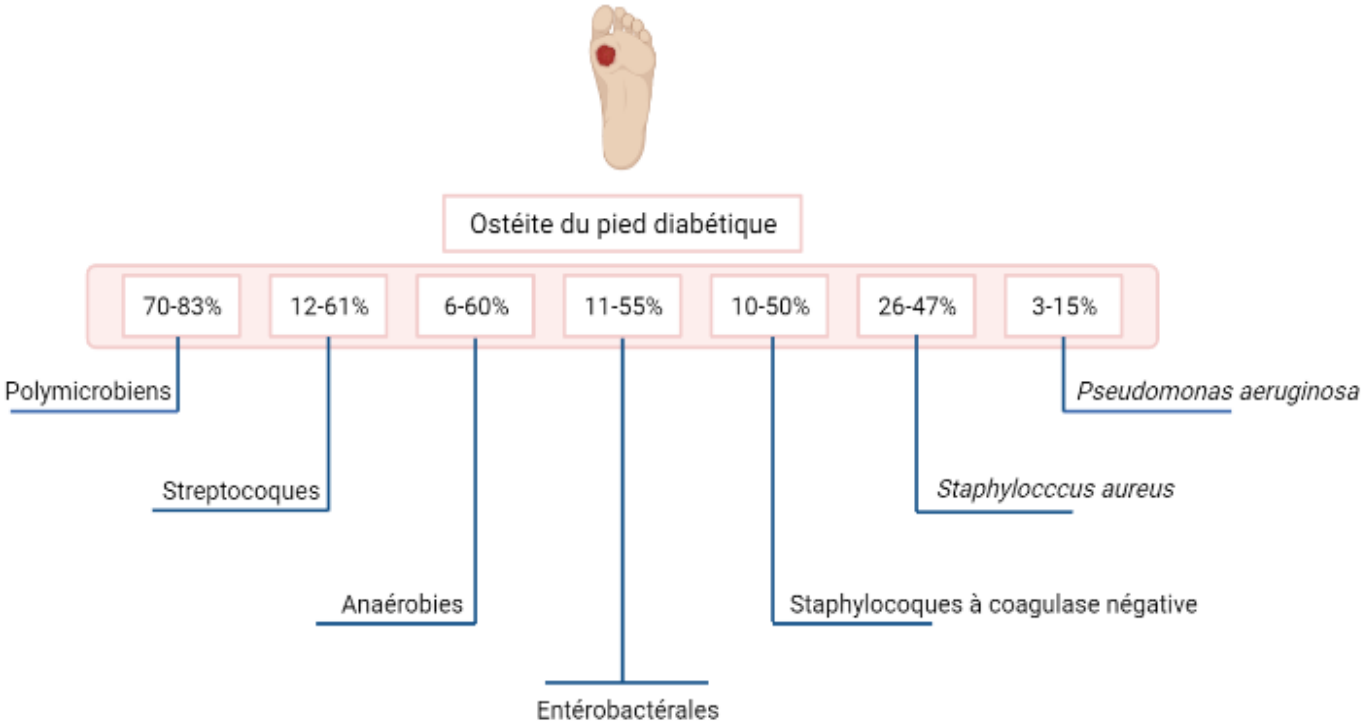
(formation de biofilm, internalisation dans le réseau des ostéocytes et survie dans les ostéoblastes/ostéoclastes) ce qui le rend responsable d'infections chroniques et difficiles à traiter. (32)

Dans les arthrites septiques, les pathogènes les plus fréquemment rencontrés derrière *S. aureus* sont les streptocoques puis les bacilles à Gram négatif (17). Chez l'enfant de moins de 4 ans, les bacilles à Gram négatif constituent une part plus importante avec notamment *Kingella kingae,* coccobacille présent au niveau de l'oropharynx, responsable d'infections peu bruyantes et pour lequel la recherche se fait généralement par biologie moléculaire (33). D'autres étiologies plus rares peuvent être suspectées selon le contexte notamment *Neisseria gonorrhoeae* lors d'atteinte polyarticulaire chez des patients ayant eu des rapports sexuels non protégés ou *Pasteurella multocida* après une morsure d'animaux. Néanmoins, entre 20 et 25% des arthrites septiques demeurent sans documentation microbiologique. (9,17)

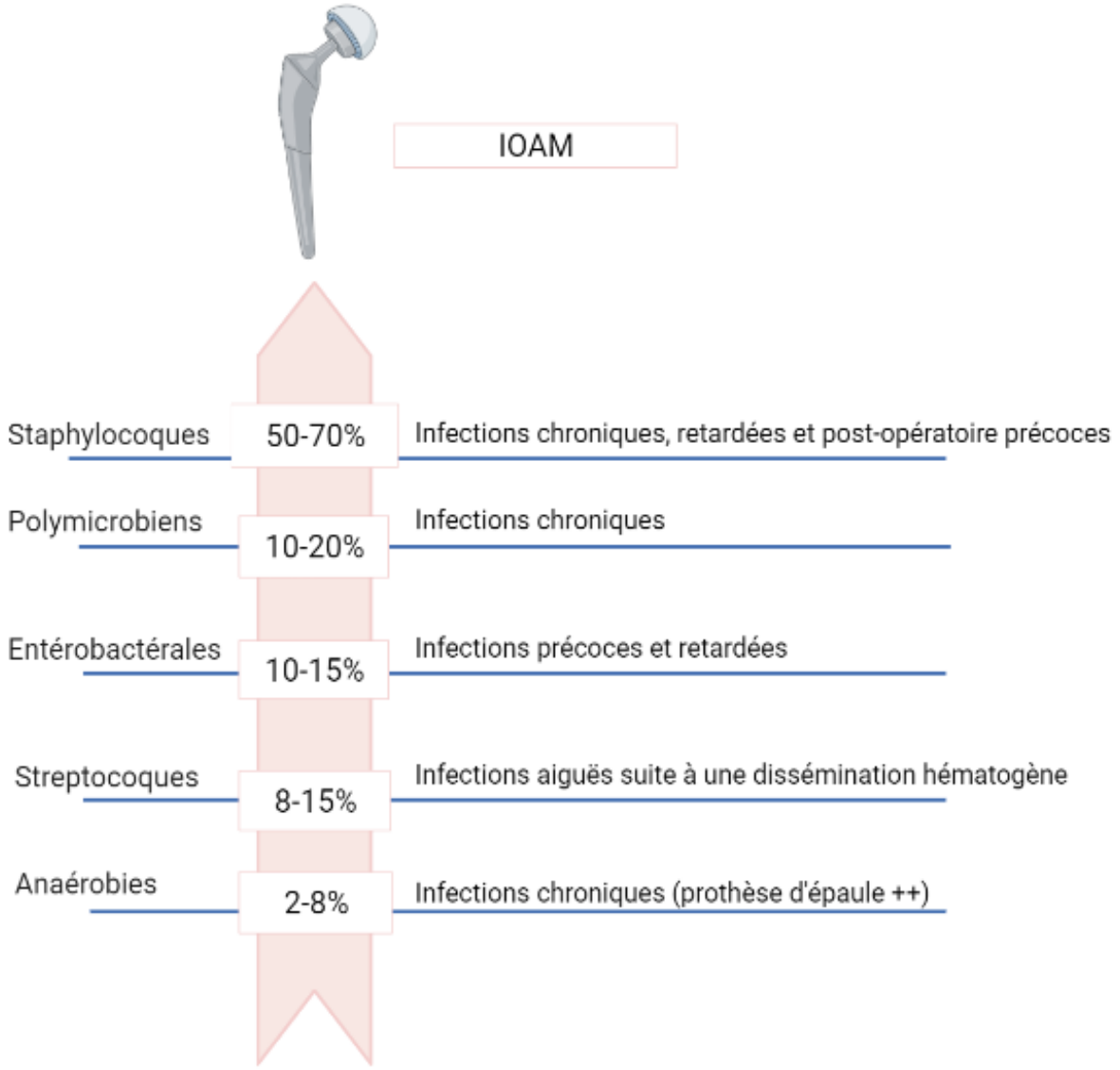
L'épidémiologie des ostéomyélites aigües est similaire à celle des arthrites septiques chez les enfants. Les principaux pathogènes retrouvés sont *S. aureus*, les streptocoques (*S. pyogenes* et *S. pneumoniae)* et *Kingella kingae. Streptococus agalactiae* et les bacilles Gram négatif sont des microorganismes plutôt retrouvés chez les nouveaux-nés. Il est également possible d'observer des ostéomyélites à Salmonella spp. chez les patients drépanocytaires. (34)



<u>Figure n° 3</u> : L'épidémiologie des spondylodiscites d'après les données des CRIOAc français recueillies de 2014 à 2019 sur 306 spondylodiscites (9). D'autres étiologies non représentées ici sont possibles telles que la brucellose et les mycobactéries et doivent être recherchées spécifiquement selon l'origine du patient et ses facteurs de risque (26).



<u>Figure n° 4</u> Répartition de l'épidémiologie bactérienne de l'ostéite du pied diabétique d'après les données d'une revue répertoriant 4 études (7).



<u>Figure n° 5</u> Epidémiologie générale des infections sur matériel, tout site confondu (9,14,32).

Les staphylocoques comprennent *S. aureus* et les staphylocoques à coagulase négative. Ces bactéries commensales de la peau et des muqueuses, sont impliquées dans les IOAM par notamment leur capacité à former du biofilm et sont généralement plus résistantes aux antibiotiques. Lors des infections sur matériel, il est possible de retrouver les staphylocoques sous forme de « Small Colony Variant ». Cette dénomination désigne une sous-population de bactéries à croissance ralentie résultant d'une adaptation de la bactérie aux conditions environnantes hostiles et possédant une sensibilité diminuée aux antibiotiques. Ces variants phénotypiques perdent leurs caractéristiques non essentielles à la survie en réduisant l'utilisation de leur métabolisme avec une diminution de certaines activités enzymatiques (hémolyse, coagulase pour *S. aureus*). Leur petite taille (1/10ème du phénotype sauvage) est la

conséquence du manque de certains composants dans l'élaboration de leur paroi bactérienne. Lorsque les conditions extérieures sont plus favorables, ces bactéries peuvent retourner à l'état sauvage et être responsables de rechutes (35,36).

Prélèvements à visée microbiologique et bonnes pratiques

Les prélèvements à visée microbiologique sont indispensables pour la documentation de l'infection et l'adaptation de la prise en charge. La qualité des prélèvements reçus au laboratoire est primordiale. Les sites prélevés sont normalement stériles et la moindre rupture d'asepsie peut contaminer le prélèvement et rend l'interprétation microbiologique difficile.

Dans le cadre d'une arthrite septique, la ponction du liquide articulaire est l'examen clé pour orienter le clinicien. Elle doit être effectuée dans des conditions d'asepsie en zone cutanée saine et avant toute antibiothérapie qui diminuerait la sensibilité de détection du microorganisme en cause. A l'arrivée au laboratoire, un examen direct est réalisé. Cet examen a une excellente spécificité mais une mauvaise sensibilité, il n'est positif que dans un tiers des cas. Des hémocultures peuvent également être prélevées pour compléter la documentation même en l'absence de fièvre. (17) La ponction articulaire peut également avoir sa place dans le diagnostic d'infection sur prothèse. En cas de doute sur une infection de prothèse potentielle, une ponction articulaire à visée bactériologique peut être réalisée même si une antibiothérapie a été instaurée au préalable. Si le résultat est négatif et que le doute persiste, la ponction peut être répétée après une fenêtre thérapeutique de 72h. (10,20)

Pour les spondylodiscites primitives, plusieurs séries d'hémocultures sont à effectuer en 1ère intention. Si elles reviennent stériles, une ponction-biopsie disco-vertébrale en percutanée ou chirurgicalement est préconisée pour documenter l'infection. Ce geste, guidé par imagerie, se fait sous anesthésie locale, à l'aide d'une aiguille fine ou d'un trocart et si possible sans que le patient soit sous antibiotique. Dans l'idéal, 3 prélèvements biopsiques, 2 vertébraux et 1 discal, doivent être faits et envoyés au laboratoire de microbiologie dont une biopsie qui sera conservée pour de la biologie moléculaire éventuelle. Le liquide de rinçage du disque récupéré par aspiration peut également être envoyé pour analyse microbiologique. La réalisation d'hémocultures 30 minutes à 4 heures après le geste biopsique est conseillée car cela permettrait

d'augmenter la sensibilité. En cas de négativité d'une 2ème PBDV percutanée, la biopsie chirurgicale est recommandée. (18,26)

La biopsie osseuse est également l'examen de référence pour documenter les ostéites du pied diabétique. Elle peut être effectuée en per opératoire par voie percutanée ou chirurgicalement en passant par une zone de peau saine et après une fenêtre thérapeutique de 15 jours si possible. En raison de la neuropathie sensitive du diabétique, le geste peut être exécuté sans anesthésie locale. Cet examen est conseillé chez les patients pour lesquels la documentation et un antibiogramme s'avèrent nécessaires (traitement récent, patient à risque de sélection de résistance) ou en cas de doute diagnostic. (6,23)

Les prélèvements per opératoires sont précieux et doivent être réalisés dans de bonnes conditions pour être pertinents et utiles au diagnostic.

Dans les infections sur prothèse, il est recommandé d'effectuer plusieurs prélèvements per opératoires, qu'ils soient solides ou liquides (pus, liquide articulaire) préférentiellement au niveau des tissus macroscopiquement infectés et à l'interface entre la prothèse et l'os. Les prélèvements sont réalisés en conditions d'asepsie chirurgicale, en prenant soin de changer d'instrument entre chaque prélèvement, en évitant tout contact avec la flore cutanée et avant toute antibioprophylaxie. Un arrêt des antibiotiques au mieux 14 jours avant le bloc opératoire est également préconisé pour augmenter les chances de documenter l'infection. Le nombre exact de prélèvements à effectuer diffère selon les recommandations. Il est conseillé d'en faire entre 3 et 6 d'après les américains et 5 d'après la SPILF. La multiplicité des prélèvements permet d'augmenter la sensibilité de détection et de distinguer les microorganismes de contamination des vrais pathogènes lors de l'interprétation microbiologique. En revanche, un nombre de prélèvements trop important, de plus de 6, augmente le risque de contamination. La localisation précise du tissu prélevé doit être renseignée pour faciliter l'interprétation microbiologique. Il est également possible d'envoyer en culture des composants prothétiques ou du matériel d'ostéosynthèse en faisant attention à ne pas les contaminer lors de leur extraction. (10,19,37,38)

Tous les prélèvements superficiels tels que l'écouvillonnage d'un orifice de fistule, d'un escarre ou d'une cicatrice purulente sont à proscrire car ils sont probablement contaminés par de la flore cutanée, ne sont pas le reflet de l'infection profonde et peuvent ainsi entraîner une prise en charge inadaptée. (10)

Mise en culture

La documentation microbiologique des IOA doit faire face à plusieurs difficultés techniques que sont l'épidémiologie microbienne très variée des IOA, le faible inoculum bactérien présent au sein des prélèvements et la présence de bactéries à croissance ralentie qui peuvent être piégées dans du biofilm notamment dans les infections chroniques. Le référentiel de microbiologie (REMIC) indique la méthode à suivre pour traiter les prélèvements ostéoarticulaires et leur mise en culture afin d'augmenter la sensibilité de détection et ainsi optimiser les chances de documenter l'infection. (37,39)

Tous les prélèvements ostéoarticulaires sont manipulés sous une hotte à flux laminaire type PSM2. L'opérateur en charge des prélèvements doit les manipuler le moins possible avec des gants stériles pour éviter une contamination extérieure. (39)

Pour les liquides articulaires, la mise en culture dépend de la présence de matériel ou non. Lors d'une suspicion d'arthrite septique sur articulation native, le prélèvement sera ensemencé sur des milieux solides et éventuellement dans des flacons d'hémocultures directement au lit du patient si le délai d'acheminement au laboratoire est long et qu'une antibiothérapie a été instaurée avant la ponction. En présence de matériel, le liquide prélevé sera ensemencé sur des milieux gélosés riches, incubés en aérobiose, sous 5% de CO_2 et en anaérobiose ainsi que dans des milieux liquides d'enrichissement ou des flacons d'hémocultures aérobie et anaérobie qui seront gardés 14 jours pour détecter les bactéries difficiles à faire pousser comme *Cutibacterium acnes* et les *Small Colony Variant*. Si des bouillons d'enrichissement ont été ensemencés, il est conseillé de les repiquer en fin d'incubation même sans trouble pour s'assurer de leur stérilité. (10,37)

Pour les biopsies disco-vertébrales dans le cadre d'une spondylodiscite native, il est recommandé d'ensemencer des milieux solides ainsi que des bouillons d'enrichissement à garder au minimum une dizaine de jours voire plus pour les anaérobies. (18)

Les prélèvements solides du bloc opératoire sont mis dans des tubes stériles contenant parfois des billes afin de faciliter leur broyage ultérieur et transmis au laboratoire le plus rapidement possible pour éviter de perdre les bactéries fragiles. L'étape de broyage est essentielle car elle permet de libérer les bactéries du tissu osseux et du biofilm. Le broyage peut s'effectuer par l'intermédiaire d'homogénéiseurs

ou disperseurs à billes qui sont des contenants stériles avec des billes d'acier et de l'eau de qualité biologie moléculaire entièrement fermés qui permettent d'augmenter la sensibilité et de diminuer le risque de contamination des prélèvements (40). Le broyage au mortier et pilon est à proscrire. Les broyats et liquides sont ensuite ensemencés sur des milieux solides enrichies : gélose au sang incubée en aérobiose, gélose au sang cuit sous CO_2 et gélose au sang ou gélose Schaedler en anaérobiose à 35°C. Des bouillons d'enrichissement aérobie et anaérobie ou des flacons d'hémocultures aérobie et anaérobie sont également ensemencés pour lesquels l'incubation est prolongée à 14 jours. (24,37,39)

Pour la mise en culture de composants prothétiques ou de matériel d'ostéosynthèse, les méthodes divergent. Afin de décoller le biofilm adhérant à la prothèse, plusieurs équipes ont montré qu'effectuer une sonication du matériel prothétique avec de l'eau stérile avant d'ensemencer des milieux aérobies et anaérobies permettait d'augmenter la sensibilité de la culture et notamment dans la recherche des anaérobies. Cependant, les études sont nuancées et aucune recommandation internationale indique de pratiquer cette technique en routine. (24,41–44) D'autres auteurs se sont penchés sur l'utilisation d'un agent chimique réducteur pour disloquer le biofilm, le dithiothreitol (DTT). L'ajout de ce dénaturant dans le pot contenant le matériel permettrait également d'augmenter la sensibilité et d'être aussi efficace que la sonication. De même, aucun consensus n'en fait une pratique courante. (37,45)

Plusieurs auteurs se sont également intéressés à l'utilisation des flacons d'hémocultures dans les IOA aux vues des difficultés techniques de la documentation et en particulier dans les IOAM. Dans une étude prospective menée sur 369 patients, les auteurs ont comparé les données microbiologiques rendues par des méthodes conventionnelles (milieux gélosés et bouillons d'enrichissement) et celles obtenues après inoculation dans des flacons d'hémocultures aérobie et anaérobie. Ils ont démontré que les flacons étaient une alternative plus sensible qui permettaient de réduire le délai de détection des bactéries en restant aussi spécifique que les milieux conventionnels. D'après certaines études, les flacons d'hémocultures permettent également de détecter plus de microorganismes que les techniques de culture standard. (46–49).

Les flacons d'hémocultures sont des milieux enrichis, contenant des protéines et des vitamines pour la pousse bactérienne, de l'anticoagulant pour la fluidification du sang ainsi que des composés (résines adsorbantes, suspension de charbon…) permettant

d'inactiver les antibiotiques éventuels. Cependant, la nature de ces composants diffère selon les flacons, ce qui peut être à l'origine d'une variabilité dans le délai de pousse et la détection de certaines bactéries. (50)

Les critères diagnostiques microbiologiques

L'interprétation des résultats microbiologiques est délicate et doit prendre en compte le nombre de prélèvements effectués et positifs, le type d'espèce retrouvé, le nombre de milieux positifs pour un même prélèvement et le contexte clinique. Le diagnostic microbiologique est d'autant plus compliqué qu'aucun consensus n'est établi concernant ces critères.

Certaines recommandations s'accordent sur le fait qu'un seul prélèvement profond revenant positif à une bactérie connue pathogène, dont la question d'une contamination ne se pose pas, est un critère suffisant pour le diagnostic d'une IOA tandis que pour d'autres, un seul prélèvement positif correspond à un critère mineur et doit être nécessairement associé à d'autres critères pour poser le diagnostic. Pour les microorganismes appartenant à la flore cutanée telles que les SCN, *Cutibacterium acnes* et les corynébactéries, la présence de la même bactérie obtenue dans au moins 3 prélèvements per opératoires est nécessaire pour poser le diagnostic d'infection certaine d'après les recommandations françaises. (10,19,24,39) Le REMIC recommande d'identifier et réaliser un antibiogramme sur tous les aspects de colonies, particulièrement pour les staphylocoques qui peuvent avoir des phénotypes de résistance différents. De plus, le laboratoire doit déterminer les CMI des glycopeptides sur les staphylocoques et vérifier la présence ou l'absence de résistance à la méticilline. Concernant les streptocoques, les CMI d'amoxicilline, céfotaxime, lévofloxacine et rifampicine sont également à déterminer (39).

Pour les cas compliqués, le diagnostic final d'IOA sera retenu lors de discussions pluri-disciplinaires en confrontant les données microbiologiques, radiologiques, anatomo-pathologiques et cliniques.

Apport de la biologie moléculaire

Parmi les nouveaux outils diagnostiques, la biologie moléculaire semble offrir de nouvelles données et perspectives dans le cadre des IOA.

Une des technologies est la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) universelle bactérienne. L'amplification génique concerne le gène codant la sous-unité 16S de l'ARN ribosomal car il a l'avantage d'être très conservé dans toutes les bactéries. Ce gène comprend des régions communes à toutes les bactéries et d'autres régions hypervariables spécifiques d'espèce qui peuvent être amplifiées, séquencées puis comparées à une banque de données. Son intérêt dans le diagnostic des IOAM est cependant mitigé. Dans son étude prospective menée sur 264 patients suspects d'infection de prothèse, l'équipe de Bémer *et a*l. a comparé la détection de microorganismes par culture et par amplification d'ARN 16s. Les résultats traduisent un manque de sensibilité de cette technique car aucun microorganisme n'a été retrouvé chez 64 patients atteints d'IOAM alors que la culture était positive pour 40 d'entre eux. Néanmoins, lorsque le patient est déjà sous traitement antibiotique, il semblerait que l'ARN 16s soit plus performant que la culture (51). D'autres auteurs ont comparé le rendement de la PCR à partir du liquide de sonication à ceux de la culture de liquide de sonication et de tissus sans montrer une différence significative entre les différentes méthodes. (52)

Seconde méthode diagnostique innovante, la PCR multiplex est une technique permettant d'amplifier les gènes de plusieurs espèces bactériennes en même temps. Cette technique permet un diagnostic rapide, et est utilisée notamment dans les approches syndromiques de méningites. Dans cet esprit, quelques études se sont intéressées à son application dans les IOAM. L'équipe de Achermann et *al*. a testé un kit de PCR multiplex destiné au diagnostic de bactériémie et fongémie sur 37 patients avec une IOA sur prothèse. La PCR avait la même sensibilité que la culture et était significativement plus sensible lorsque les patients étaient sous antibiotiques. Une des limites de l'étude était le panel choisi qui correspondait aux bactéries les plus souvent présentes au niveau sanguin (53). Par la suite, une autre équipe a dessiné une nouvelle PCR multiplex comprenant des espèces bactériennes plus adaptées et plus retrouvées dans les IOAM tels que *Cutibacterium acnes* ou Corynebacterium spp. Dans leur étude, la PCR présentait une sensibilité significativement meilleure que la culture de tissus peropératoires (54).

Le séquençage haut-débit ou nouvelle génération (NGS pour *Next-Generation Sequencing*) est un outil de biologie moléculaire qui amplifie et séquence plusieurs régions génomiques un très grand nombre de fois. Ces séquences sont ensuite alignées sur des génomes de référence obtenus à partir de banque de données. Dans une étude comparative menée chez 44 patients atteints d'infections sur prothèse

d'épaule, les auteurs ont comparé la culture et le NGS. Le NGS retrouvait dans plus de 90% des cas des infections polymicrobiennes tandis que la culture était monomicrobienne (55). De même, une autre équipe a évalué le rôle du NGS dans les IOA sur prothèse de hanche et de genou. Les données du NGS ont permis d'identifier des pathogènes potentiels dans les cas où la culture était négative. Cependant, un grand nombre de microorganismes a été retrouvé avec en moyenne 8,9 bactéries dans le groupe de patients non infectés d'après les critères MSIS et 4,7 bactéries dans le groupe infectés (56) L'imputabilité dans l'infection de tous ces microorganismes retrouvés grâce au NGS interroge et reste à définir.

Découverte et mise au point dans le cadre d'un programme américain de biodéfense, la PCR couplée à la spectrométrie de masse (PCR-ESI/MS) combine l'amplification en multiplexage d'acides nucléiques présent dans un prélèvement puis l'ionisation par électronébulisation des amplicons qui seront ensuite séparés par leur temps de vol qui dépend de leur charge et masse. Ces temps de vols sont détectés et traduits en signal spectral qui permettra de calculer la composition nucléotidique de chaque amplicon puis via des algorithmes déterminera quelles espèces sont présentes (57). D'après les études menées sur des liquides de sonication de prothèse, cette technologie paraît aussi voire plus sensible mais moins spécifique que la culture. En effet dans certaines études, la PCR ESI/MS est positive pour des patients non suspects d'infections (58–60).

Les anaérobies dans les IOA

Epidémiologie générale

Les IOA causées par des microorganismes anaérobies sont rares. La présence de ces bactéries dans les IOA varie selon la localisation et le mode de contamination. (11) Les bactéries le plus souvent responsables d'infections sont *Cutibacterium acnes,* Bacteroides spp.*, Finegoldia magna, Parvimonas micra,* Clostridium spp. et Fusobacterium spp. (61,62)

Lors d'arthrites septiques sur articulation native, les anaérobies sont très peu fréquents, moins de 1% (2). Les données de la littérature sont plutôt anciennes et possiblement biaisées par le manque de détection des techniques microbiologiques de l'époque. Dans la majeure partie, les infections sont dues à une dissémination

hématogène et implique un seul microorganisme, principalement des bacilles Gram négatif anaérobies (63). *Bacteroides* du groupe *fragilis*, est notamment retrouvé chez des patients avec un foyer infectieux à distance et Fusobacterium spp. chez des patients avec une infection de la sphère ORL. D'autres anaérobies comme Clostridium spp. peuvent être responsables d'arthrites dans un contexte généralement d'antécédent de trauma telle qu'une fracture ouverte ainsi que *Finegoldia magna,* cocci à Gram positif appartenant à la flore commensale de la peau et du tractus digestif, associé également à des arthrites post-chirurgicales ou post-traumatiques. (61,63,64)

Les spondylodiscites à anaérobies sont moins rares cependant il existe peu de séries de cas dans la littérature. Elles représentent environ 9% des spondylodiscites sur articulation native et 13% des spondylodiscites sur matériel d'après les dernières données des CRIOAc. (9) Les genres d'anaérobies majeurs dans ces infections sont Bacteroides spp. et Cutibacterium spp., et se retrouvent dans des contextes différents. Le genre *Bacteroides* et particulièrement l'espèce *Bacteroides fragilis*, anaérobie de la flore digestive, se retrouve plutôt dans les spondylodiscites par contiguïté de tissus adjacents infectés (infection intra-abominale ou pelvienne) ou à la suite d'une bactériémie à porte d'entrée digestive. (65,66) *Cutibacterium acnes*, présent au niveau de la flore cutanée, est quasi exclusivement corrélé aux spondylodiscites à la suite d'un geste chirurgical invasif et est responsable d'infection lente et chronique. (65,67) Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer la pathogénicité et la persistance de *C. acnes* lors de spondylodiscites. Tout d'abord, la pré-existence d'une hernie discale qui faciliterait l'entrée du microorganisme dans le nucleus pulposus du disque intervertébral où l'atmosphère anaérobie est plus adaptée pour leur survie ainsi que leur résistance à la phagocytose au sein des macrophages. De plus, ces bactéries induiraient une inflammation chronique en stimulant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires expliquant les douleurs lombaires notamment. (68) De manière plus anecdotique, d'autres anaérobies peuvent être responsables de spondylodiscites, tels que Fusobacterium spp. et *Parvimonas micra*, notamment chez des patients atteints d'une pathologie dentaire. (69,70)

Dans les ostéites et notamment du pied diabétique, les infections sont plus souvent plurimicrobiennes avec un mélange de bactéries anaérobies et aérobies. Selon les études, les anaérobies représentent entre 4 et 60% des microorganismes retrouvés dans les ostéites du pied diabétique. (7) Les bactéries le plus souvent rencontrées sont Bacteroides spp. ainsi que les cocci anaérobies tels que Peptostreptococcus spp. (63,71) Chez les diabétiques, la présence d'une flore anaérobie semblerait associée à

des infections profondes notamment par l'ischémie et la nécrose qui favoriserait leur prolifération (72). Les autres ostéites chroniques indiquent également une domination des anaérobies bacilles Gram négatif avec Bacteroides spp. suivis des cocci à Gram positif ainsi que Prevotella spp., naturellement présent au sein de la flore buccale, généralement associés à des ostéites du crâne. (64)

Pour les infections sur matériel, le microorganisme anaérobie prédominant est *C. acnes*. (61,73) Cette bactérie qui réside dans les follicules pilo-sébacés, est généralement responsable d'infections situées au niveau de l'épaule jusqu'à en être le microorganisme majoritaire dans certaines cohortes. (9,74,75) Les infections sur matériel d'épaule à *C. acnes* sont cliniquement peu bruyantes, avec un syndrome inflammatoire qui n'est pas toujours présent, et en per-opératoire, le chirurgien peut éventuellement observer des pseudomembranes. Ces infections qui touchent plutôt les hommes, sont causées par une contamination du site opératoire et se déclarent généralement au-delà de 3 mois. (76) *C. acnes* est muni de multiples facteurs de virulence tels que des protéases qui détruisent le tissu hôte, une activité bêta-hémolytique pour certaines souches et une capacité à former du biofilm ce qui explique sa prévalence plus importante dans les infections sur matériel. (77) Cependant, du fait de sa présence au sein du microbiote cutané, son implication dans l'infection n'est pas toujours évidente. *Finegoldia magna* est également décrit, dans de rares cas, comme responsable d'infections de prothèse de hanche et de genou dans un contexte post-chirurgical sans qu'il y ait de facteur de risque particulier associé. (78,79) D'autres anaérobies tels que Bacteroides spp. ont déjà été retrouvé dans des infections sur matériel notamment chez des patients immunodéprimés ou souffrant d'une pathologie gastro-intestinale. (80) Des cas rarissimes d'infections sur matériel à Clostridium spp., Fusobacterium spp., Veillonella spp. et *Parvimonas micra* ont également été mis en évidence. (81)

Milieux de culture

Les anaérobies stricts sont inhibés et détruits par le dioxygène atmosphérique car ils ne possèdent pas ou peu d'enzymes détoxifiantes telles que la catalase, la superoxyde dismutase ou les peroxydases. Ces enzymes permettent d'éliminer les espèces chimiques réactives de l'oxygène présentes dans le milieu, toxiques pour les bactéries. Les caractéristiques des milieux de culture pour anaérobies sont ainsi de fournir une

atmosphère dénuée de dioxygène par réduction chimique ou dégazage et d'apporter les nutriments nécessaires à la croissance de bactéries anaérobies exigeantes.

Parmi les milieux solides utilisés, il existe le milieu de Schaedler, enrichi en facteurs de croissance (hémine, vitamine K3) nécessaire à la pousse de bactéries exigeantes et constitué de chlorhydrate de L-cystéine qui est un agent réducteur permettant de maintenir l'anaérobiose. (82) Le milieu riche TGY (Trypticase-Glucose-Yeast) contient quant à lui du thioglycolate de sodium comme agent réducteur. D'autres milieux solides sont également utilisés tels que les milieux VL (Viande-Levure) et VF (Viande-Foie) qui sont des milieux très riches et très réducteurs.

Les milieux solides Schaedler, VF et VL sont également disponibles en bouillon d'enrichissement permettant un temps de pousse plus long. Un autre bouillon employé dans la détection des anaérobies est le bouillon Rosenow. Ce milieu contient les éléments nécessaires à la pousse de bactéries exigeantes (peptones, extrait de viande, glucose, cervelle lyophilisée), un morceau de marbre blanc qui améliore la croissance bactérienne, de la cystéine et un indicateur de pH (l'indicateur d'Andrade) qui fait virer en rose le milieu lors de la fermentation du glucose et en jaune lors de la réduction du milieu. Ce milieu, paraffiné par la suite, peut aussi indiquer la production de gaz par refoulement du bouchon de paraffine. Enfin, un des milieux liquides anaérobies utilisé est le bouillon thioglycolate qui contient de la caséine, de l'extrait de levure, du glucose et de la résazurine qui est l'indicateur coloré qui vire au rose lors de l'acidification du milieu.

PRISE EN CHARGE

La mise en place de la stratégie thérapeutique nécessite un dialogue entre l'infectiologue, le chirurgien orthopédiste et le microbiologiste. Les IOA complexes font l'objet de multiples réunions de concertation pluridisciplinaires au sein des CRIOAc afin de discuter et d'optimiser la meilleure prise en charge possible pour le patient. La combinaison d'une intervention chirurgicale et d'un traitement médical est généralement nécessaire pour traiter efficacement les différents types d'infections.

Principe de l'antibiothérapie

De par la diversité des situations cliniques, l'antibiothérapie instaurée sera différente, néanmoins plusieurs éléments communs doivent être pris en considération comme :

- Le type d'infection et ses particularités telles que sa localisation, la présence de matériel, le mode de contamination et sa chronicité
- La documentation microbiologique
- Les caractéristiques de l'antibiotique que sont sa diffusion dans l'os, son activité sur le biofilm, ses effets indésirables, son spectre d'activité, sa biodisponibilité par voie orale, son risque de sélection de mutants résistants
- Le terrain du patient

Dans le cadre d'arthrites septiques sur articulation native, une antibiothérapie probabiliste peut être administrée avant les prélèvements microbiologiques si le patient présente un sepsis ou bien avant les résultats microbiologiques si le liquide synovial est purulent. Sinon, elle sera initiée à partir de résultats positifs. Le traitement probabiliste couvre le SASM et les streptocoques pour les patients jeunes (< 70 ans), avec une C1G type Céfazoline et est élargi aux BGN pour les sujets âgés (> 70 ans) en mettant une C3G type Céfotaxime ou Ceftriaxone. Une dose d'aminoside peut être également associée si le patient est en choc septique. L'antibiothérapie ciblée est initiée selon les résultats de l'examen direct puis adaptée en fonction du pathogène retrouvé et de son antibiogramme. (17)

	Traitement IV	Relais oral
SASM	Oxa-/Cloxacilline ou Céfazoline	Fluoroquinolones + Rifampicine/Clindamycine
SARM	Vancomycine ou Teicoplanine	Fluoroquinolones + Rifampicine/Clindamycine
Streptocoques	Amoxicilline	Amoxicilline
Entérobactérales	C3G ou Céfépime	Fluoroquinolones ou Avis infectiologique selon antibiogramme
Pseudomonas aeruginosa	Ceftazidime + Ciprofloxacine	Avis infectiologique selon antibiogramme
Anaérobies	Amoxicilline ou Métronidazole	Amoxicilline ou Clindamycine
Neisseria gonorrhoeae	C3G	Fluoroquinolones

<u>Tableau n° 2</u> Traitement documenté des arthrites septiques sur articulation native, d'après les recommandations françaises de 2020 (17).

La durée du traitement est de 7 jours pour la phase en intra-veineux puis de 4 à 6 semaines pour le relais oral.

Pour les spondylodiscites, l'initiation d'un traitement antibiotique avant les résultats microbiologiques se fait uniquement pour les patients instables en sepsis ou présentant des signes neurologiques (18,26). Concernant le traitement documenté, les dernières recommandations de la SPILF sont anciennes. La durée optimale de traitement n'est pas réellement définie, il semblerait qu'une durée de 6 semaines soit communément admise.

	Traitement initial	Traitement d'entretien
SASM SCNMS	Pénicilline M ou Céfazoline + Aminoglycosides	Pénicilline M ou Céfazoline
SARM SCNMR	Vancomycine +/- Acide Fusidique ou Rifampicine	Rifampicine + Acide Fusidique ou cotrimoxazole
Enterococcus spp	Amoxicilline ou Vancomycine/Teicoplanine + Aminoglycosides	Amoxicilline
Streptococcus spp	Amoxicilline	Amoxicilline ou Clindamycine
BGN	C3G + Fluoroquinolones ou Aminoglycosides	Fluroroquinolones
P. aeruginosa	Ceftazidime + Amikacine/Tobramycine/Ciprofloxacine ou Aztréonam	Ciprofloxacine
Anaérobies	Clindamycine	Clindamycine

.

<u>Tableau n° 3</u> Traitement documenté des spondylodiscites à pyogènes, adapté des recommandations de la SPILF de 2007 (18).

Pour les infections chroniques sur matériel, un traitement probabiliste est toujours mis en place en post-opératoire après avoir effectué les prélèvements microbiologiques. Cette antibiothérapie probabiliste à large spectre couvre les Gram positif et les Gram négatif. Une molécule anti-anaérobie peut être instaurée si les anaérobies ne rentrent pas dans le spectre d'activité de la bêtalactamine choisie. Un aminoside peut être également ajoutée selon la gravité du patient (20,83).

Après documentation microbiologique, un traitement ciblé est mis en place. Les objectifs de cette antibiothérapie sont d'avoir une bonne pénétration intra-osseuse, une efficacité malgré les contraintes de l'environnement (biofilm, croissance ralentie, bactéries intracellulaires…) et la possibilité d'une administration orale prolongée. Les antibiotiques ayant une bonne diffusion osseuse sont la rifampicine, la clindamycine, les fluoroquinolones, l'acide fusidique et la fosfomycine. Malheureusement, ces antibiotiques sont également parmi les plus à risque de sélectionner des mutants résistants. De ce fait, une bithérapie est nécessaire dans le traitement documenté des IOAM. La durée du traitement varie entre 6 semaines et 3 mois avec un relais par voie orale au bout de 2 semaines.

Traitement probabiliste des IOAM

Anti-Gram positif	Vancomycine ou Daptomycine
Anti-Gram négatif	Céfépime ou C3G ou Pipéracilline/Tazobactam
Si allergie aux bêta-lactamines	*Aztréonam + Clindamycine*
Anti-anaérobie	Métronidazole
Si sepsis, choc septique	Gentamicine ou Amikacine

Traitement documenté des IOAM

Staphylocoques	Rifampicine + Lévofloxacine
Streptocoques et entérocoques	Amoxiclline + Rifampicine ou Vancomycine + Rifampicine
Bacilles à Gram négatif	C3G + Lévofloxacine
Pseudomonas aeruginosa	Ceftazidime/Imipénème/Céfépime + Lévofloxacine

<u>Tableau n° 4</u> Résumé de l'antibiothérapie utilisée en fonction des espèces retrouvées dans les IOAM, adapté du protocole d'antibiothérapie du CHU de Lille (81).

La prise en charge de l'ostéite du pied diabétique associe généralement une chirurgie avec un traitement antibiotique. Néanmoins, certains patients sont éligibles à un traitement médical uniquement ce qui a pour avantage de diminuer les désordres

biomécaniques et les complications causés par une chirurgie. Considérée comme une IOA chronique, l'antibiothérapie de l'ostéite du pied diabétique se compose d'une association de molécules à bonne diffusion osseuse et qui permettent une administration prolongée. La durée du traitement est de 6 semaines au maximum avec une réévaluation clinique au bout de 2 à 4 semaines. Le traitement antibiotique peut être plus court si le tissu osseux infecté a été complètement enlevé au bloc opératoire et qu'il n'y a pas d'infection des tissus mous associée (6,23).

Lorsque les patients ne peuvent être opérés ou lorsque la prise en charge n'a pu être optimale, l'infection est considérée comme non complètement traitée et une antibiothérapie suppressive peut être instaurée. Elle consiste en l'administration d'antibiotique en monothérapie sans durée limitée et permet de prévenir les rechutes chez des patients compliqués. Les molécules choisies sont discutées en conseil pluridisciplinaire (10,83).

Malgré des recommandations établies, les équipes hospitalières utilisent d'autres schémas thérapeutiques en administrant des molécules plus récentes et généralement absentes des recommandations nationales souvent anciennes. C'est le cas pour la daptomycine, lipopeptide cyclique, qui est une molécule bactéricide avec une activité anti-biofilm. Elle possède un spectre d'activité large, elle est notamment anti-SARM, anti-SCNRM et anti-ERV. Cette molécule est de plus plutôt bien tolérée. Dans une étude européenne menée sur 6 ans, 638 patients atteints d'IOA avec présence de matériel ou non ont été traités par daptomycine. Le taux de succès clinique était de 82% avec dans la grande majorité des cas une absence de rechute à 2 ans (84). Cette molécule fait déjà partie des recommandations américaines en traitement alternatif pour les IOA sur matériel documentées à Gram positif (19).

Une des autres molécules faisant partie des schémas thérapeutiques possibles est le ceftobiprole. Cette céphalosporine 5ème génération possède un spectre extrêmement large comprenant les staphylocoques résistants à la méticilline et certains bacilles à Gram négatif (Entérobactérales et *Pseudomonas aeruginosa*). Elle a une activité bactéricide *in vitro* rapide sur les staphylocoques impliqués dans les IOAM et notamment sur les souches de SCN résistantes à la méticilline (85). Le registre canadien sur l'emploi des antibiotiques a recueilli sur 38 patients l'indication et le taux de succès clinique à la suite d'une prescription de ceftobiprole. L'indication de traitement pour IOA a concerné 9 patients et pour 7 d'entre eux une amélioration clinique ou un succès a été observé. Néanmoins, les 9 patients traités pour une IOAM

avaient une autre molécule associée (Daptomycine, Vancomycine ou Fluoroquinolones). (86)

Parmi les molécules intéressantes, la dalbavancine, glycopeptide semi-synthétique, semble apporter de nouvelles perspectives dans la prise en charge des patients atteints d'IOAM. De même que pour les précédentes molécules, elle a une activité anti-staphylococcique, anti-biofilm et une bonne diffusion osseuse. L'avantage novateur de cet antibiotique est sa demi-vie très longue (environ 15 jours) qui faciliterait la prise en charge avec un schéma d'administration monitoré en fonction des dosages de la molécule. Sur une cohorte nationale récente de 17 patients atteints d'IOAM traités par dalbavancine, 47.1% d'entre eux ont été considéré comme guéris. Ce chiffre est en dessous de la moyenne des études actuellement disponibles qui indiquent plus de 70% de succès clinique. Néanmoins, cette molécule semble être une arme supplémentaire dans l'arsenal anti-Gram positif par sa propriété pharmacocinétique unique, sa bonne tolérance et sa faible sélection de mutants résistants. (87,88)

Chirurgicale

La prise en charge chirurgicale dépend des caractéristiques de l'infection et du terrain du patient. Elle doit jongler entre différentes problématiques que sont le traitement de l'infection, la conservation du capital osseux et le maintien de la fonction.

Lors d'arthrites septiques sur articulation native, la prise en charge chirurgicale peut être un lavage articulaire plus ou moins associée à une synovectomie, effectué sous arthroscopie. Le drainage de l'articulation permet l'évacuation de la charge bactérienne et des facteurs pro-inflammatoires responsables de la destruction cartilagineuse. (1,17)

Pour les ostéomyélites aigues, le traitement chirurgical est principalement l'évacuation de pus sous périosté formé à la suite de l'implantation de microorganismes par dissémination hématogène. (89)

Pour les ostéites chroniques, la technique chirurgicale employée se décompose en plusieurs temps. En premier, le chirurgien retire tous les tissus infectés et éventuels séquestres puis pose une entretoise contenant des antibiotiques et stabilise l'os avec un fixateur externe. Dans un second temps, il reconstruit l'os avec un greffon d'os spongieux et s'assure de la bonne couverture cutanée (10,89).

Trois stratégies sont possibles pour le traitement des IOAM, l'une d'entre-elles est le DAIR (*debridement, antibiotics and implant retention*). Cette prise en charge consiste à ouvrir l'articulation par la même voie d'abord que lors de la pose, d'exciser les tissus infectés, laver abondamment la cavité articulaire puis refermer le patient. Le chirurgien peut également changer les pièces modulaires de la prothèse selon le contexte. Cette stratégie est indiquée en 1ère intention dans les infections précoces sur matériel et le mieux c'est qu'elle soit effectuée par la même équipe que lors de la pose (20). Cette technique est mise en œuvre également pour les patients inopérables. (19)

La stratégie en 1 temps consiste en l'ablation du matériel en place, combinée à un débridement puis une réimplantation de prothèse durant la même opération. Cette technique est préférée à la reprise en deux temps lorsque l'infection concerne des patients avec un bon capital osseux et des tissus mous en bon état et que les pathogènes en cause sont connus (19). Ce procédé est en 1ère ligne dans les prothèses d'épaule infectées et peut être utilisé dans les infections dans le mois suivant l'implantation d'une prothèse de hanche ou de genou (10,20) Cette procédure, par rapport à celle en 2 temps, a l'avantage de permettre une bonne récupération fonctionnelle du patient et de diminuer les coûts d'hospitalisation.

La reprise en 2 temps demeure la méthode de référence pour les infections sur matériel. Elle comprend dans un premier temps le débridement des tissus infectés, l'ablation de la prothèse et du ciment puis l'insertion d'une entretoise souvent articulée et imprégnée d'antibiotiques qui diffusent localement. Celle-ci sert à garder une fonctionnalité et à faciliter la réimplantation. Les prélèvements à visée microbiologique sont effectués lors de cette dépose. Par la suite, le patient reçoit des antibiotiques, puis dans un second temps, de 2 semaines à plusieurs mois, a lieu la réimplantation d'une nouvelle prothèse (19,24).

Enfin, la prise en charge chirurgicale pour l'ostéite du pied chez le diabétique réside en la résection de l'os infecté voire l'amputation. Elle n'est pas systématique d'autant plus qu'elle modifie la biomécanique du pied, pouvant entraîner de nouveaux points de pression plantaire. Néanmoins, l'option chirurgicale doit être considérée devant un sepsis sans autre point d'appel, une destruction osseuse trop avancée ou un patient pour lequel une antibiothérapie prolongée sera compliquée à envisager (90).

Prévention

La chirurgie orthopédique est catégorisée en chirurgie propre d'après la classification d'Altemeier. Cela indique à l'administration d'une antibioprophylaxie afin de diminuer le risque d'infection du site opératoire (ISO). D'après les dernières recommandations de la SFAR, la prévalence des ISO en chirurgie orthopédique est de 3 à 5% et l'emploi d'une antibioprophylaxie permet de réduire à moins de 1% ce taux. Les bactéries ciblées sont les plus retrouvées dans ces infections sont (*S. aureus, S. epidermidis, Cutibacterium acnes,* entérobactérales*,* Streptococcus spp.). Lors de la mise en place de matériel, l'antibioprophylaxie est initiée 30 minutes avant le début du geste et comporte généralement une C1G type Céfazoline en IV lente qui est réinjectée toutes les 4 heures. En cas d'allergie aux bêta-lactamines, la clindamycine ou la vancomycine peuvent être utilisées. Si le patient doit être repris au cours du même séjour pour un motif non infectieux (évacuation d'un hématome, luxation), l'antibioprophylaxie devra être différente que lors de la première intervention et cibler *S. aureus* résistant à la méticilline. (91) En revanche, pour une reprise septique dans le mois suivant la pose de matériel, les recommandations françaises de 2014 n'ont pas tranché sur la prescription ou non d'une antibioprophylaxie. (20)

Un autre point important dans la prévention des IOA post-opératoires concerne la gestion pré-opératoire du risque infectieux. La SFAR préconise d'effectuer au minimum une douche pré-opératoire et de pratiquer une désinfection large du site opératoire par antiseptique en solution alcoolique. En revanche, aucun dépistage nasal de SARM ou ECBU systématique n'est recommandé pour la chirurgie orthopédique (92).

Enfin, au sein du bloc opératoire, le traitement et contrôle microbiologique de l'air fait partie de l'arsenal de prévention du risque infectieux. Ces mesures permettent d'abaisser le risque d'aérobiocontamination et de contamination de la table d'opération (93).

OBJECTIFS DU TRAVAIL

En France, les IOA sont en augmentation, leur diagnostic est difficile et requiert une expertise pluridisciplinaire. La documentation bactériologique de ces infections est complexe et nécessite une méthodologie particulière pour détecter les microorganismes présents dans les tissus infectés. L'un des objectifs de ce travail est de livrer une analyse descriptive de la documentation bactériologique des IOA sur l'année 2020 dans 3 centres hospitaliers du Nord Pas-de-Calais, Valenciennes, Maubeuge et Denain. Grâce aux données microbiologiques et cliniques, le but est de décrire l'épidémiologie bactérienne, le taux de résistance retrouvé dans ces prélèvements et de faire l'état des lieux des pratiques de prélèvements et des différents types de prélèvements reçus au laboratoire de bactériologie de Valenciennes.

L'intérêt des flacons d'hémocultures dans la documentation microbiologique dans les IOA a été démontré par une meilleure sensibilité par rapport aux milieux d'enrichissement standards (46,47,94,95). Cependant, le REMIC précise que « *seuls certains flacons d'hémoculture anaérobies sont compatibles avec la croissance et la détection des anaérobies à Gram positif impliqués dans les IOA »* (39,50). Dans ce contexte, l'objectif du travail expérimental consiste à évaluer les performances de deux flacons d'hémocultures anaérobies largement utilisés : flacon Bactec Lytique/F BD™ et flacon FN Biomérieux™.

Par la suite, à partir de prélèvements cliniques, l'objectif est de confronter les performances du flacon d'hémoculture Bactec Lytique/F BD™ qui semble plus efficace dans la détection des anaérobies avec la technique employée en routine au sein du laboratoire de bactériologie de Valenciennes, le bouillon d'enrichissement anaérobie Rosenow qui est un milieu majoritairement utilisé au niveau régional.

MATERIEL ET METHODES

DESCRIPTION DE L'EPIDEMIOLOGIE DES IOA

Afin de décrire la documentation bactériologique des IOA, une extraction des données microbiologiques des prélèvements ostéoarticulaires sur l'année 2020 a été effectué à partir du logiciel de validation biologique (DXLab). Certaines informations cliniques, notamment les sites anatomiques prélevés et la présence de matériel, ont également été récupérées à partir des dossiers patients sur les différents supports informatisés (Caducée, Sillage et DxCare) des hôpitaux de Valenciennes, Maubeuge et Denain.

SOUCHES BACTERIENNES ET FLACONS D'HEMOCULTURES

Les performances de deux flacons d'hémocultures ont été analysées : le flacon Bactec Lytique/F BD™ et le flacon FN Biomérieux™. Pour les comparer, différentes espèces anaérobies conservées à -20°C appartenant à la collection de souches du CHV ont été étudiées. Les espèces ensemencées ont été choisies en tenant compte de l'épidémiologie générale des anaérobies dans les IOA et des espèces les plus fréquemment rencontrées. Les flacons Bactec Lytique/F BD™ et FN Biomérieux™ ont été ensuite respectivement incubés dans les automates d'hémocultures BD BACTEC™ FX et BacT/ALERT® Virtuo™ pour une durée de 14 jours. Pour chaque flacon positif, le délai de positivité a été récupéré à partir des données de l'automate.

RECUEIL DES PRELEVEMENTS CLINIQUES

Les performances du flacon Bactec Lytique/F BD™ ont ensuite été comparées à la méthode de détection des anaérobies utilisée en routine au sein du laboratoire du Centre Hospitalier de Valenciennes. Pour cela, 188 prélèvements cliniques ostéoarticulaires des centres hospitaliers de Valenciennes, Maubeuge et Denain ont été pris en charge entre novembre 2020 et mars 2021. Les prélèvements cliniques ont été traités au fur et à mesure de leur arrivée au laboratoire en double avec la technique de routine et le flacon Bactec Lytique/F BD™.

ETUDE COMPARATIVE ENTRE DEUX TYPES DE FLACONS D'HEMOCULTURES

Pour la comparaison des deux flacons, les souches anaérobies choisies ont été repiquées sur un milieu gélosé standard (gélose Columbia avec 5% sang de mouton) puis incubées en jarre anaérobie. Après 24 à 48 heures d'incubation, les souches ont été mises en culture selon le mode opératoire de qualification des flacons d'hémocultures Bact/ALERT® Virtuo™. La mise en culture s'est effectuée avec deux inocula bactériens différents (40 UFC et 400 UFC) pour comparer la sensibilité de détection des flacons d'hémocultures et a été répétée deux fois. L'utilisation de l'inoculum à 40 UFC correspond au protocole de mise en culture fourni par le fabricant. Deux critères ont été ensuite étudiés pour déterminer les performances des flacons pour chaque souche testée : la présence d'une pousse ou non et le délai de positivité.

ETUDE COMPARATIVE ENTRE LE FLACON BACTEC LYTIQUE/F BD™ ET LE MILIEU D'ENRICHISSEMENT ROSENOW A PARTIR DES PRELEVEMENTS CLINIQUES

Les prélèvements cliniques reçus au laboratoire ont suivi le flux de travail de routine qui applique les recommandations du référentiel de microbiologie et parallèlement ils ont été ensemencés dans le flacon d'hémoculture pour comparer les deux milieux. (Figure n°5).

ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES

Les variables quantitatives ont été décrites par la moyenne et l'écart type ou par la médiane et l'intervalle interquartile. Les variables qualitatives ont été décrites par des fréquences et des pourcentages.

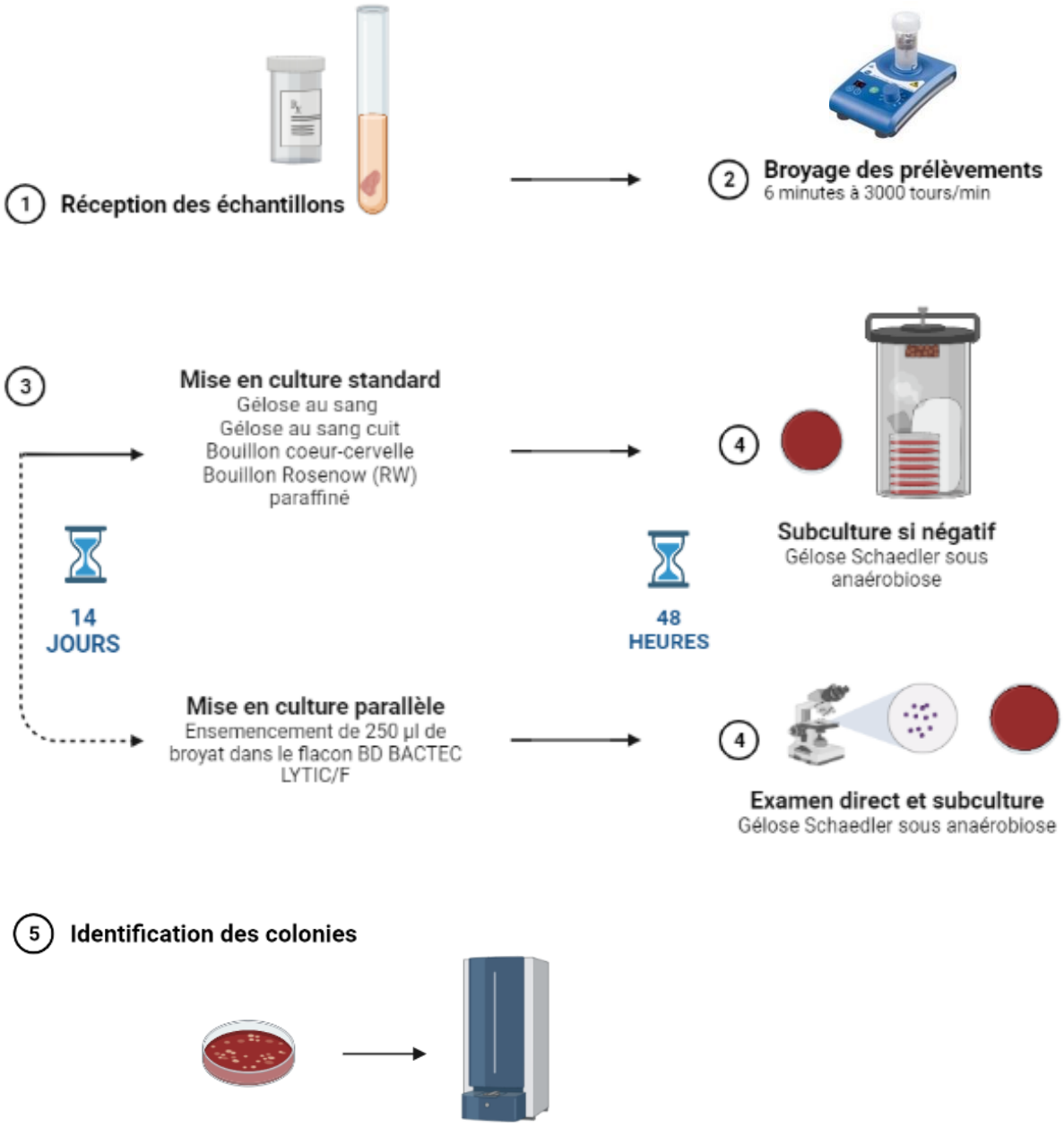
L'incidence cumulée de la positivité a été estimée par la méthode de Kaplan Meier. L'effet du flacon sur la positivité a été évalué par le modèle de Cox à risques proportionnels avec l'estimateur sandwich pour tenir compte de la corrélation entre les échantillons (chaque souche a été introduite dans chacun des flacons). Le Hazard

ratio (risque instantané) a été estimé avec son intervalle de confiance à 95%. Cette analyse a été réalisée séparément pour la quantité de 40 UFC et de 400 UFC.

La même méthode a été employée pour estimer l'effet de la quantité sur la positivité, en séparant le flacon Biomérieux et le flacon BD. Seules les souches ayant été testées avec les 2 quantités ont été analysées pour cette partie.

La concordance entre la méthode conventionnelle et le flacon BD la positivité a été évaluée par l'intermédiaire du Kappa de Cohen. La concordance est considérée comme excellente au-delà de 0,80, bonne entre 0,60 et 0,80, modérée entre 0,40 et 0,60 et médiocre sous le seuil de 0,40.

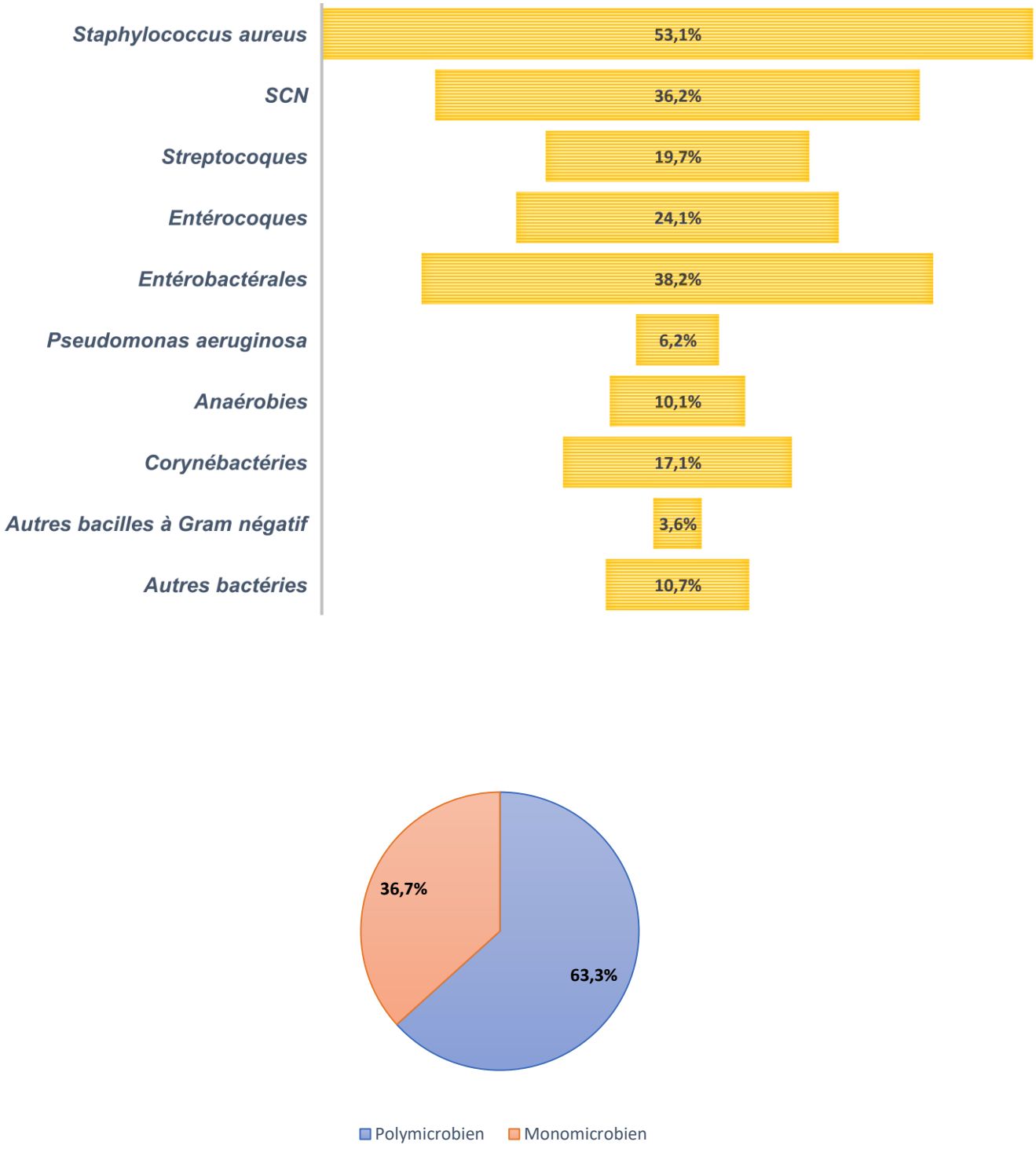
Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS version 9.4 (SAS Institute, Cary NC, USA).



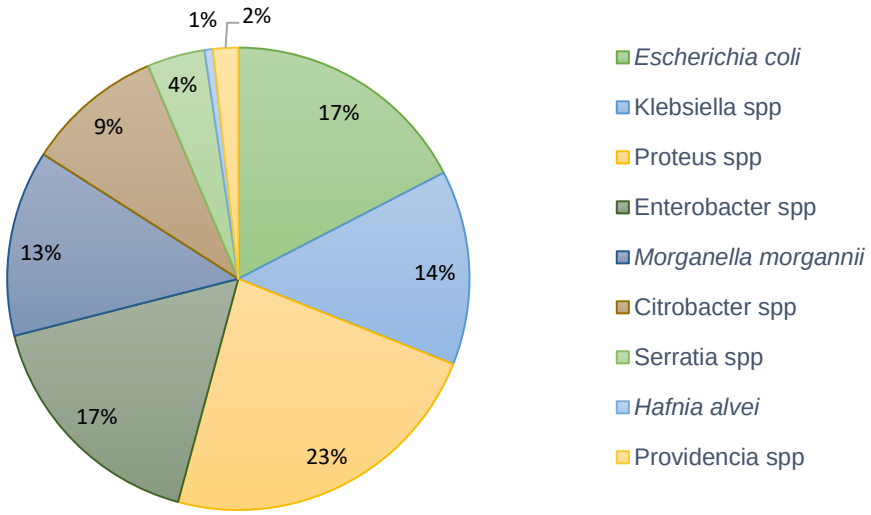
<u>Figure n° 6</u> Logigramme du travail comparatif entre le flacon Bactec Lytique/F BD™ et le Rosenow : de la réception à l'identification des anaérobies.

RESULTATS

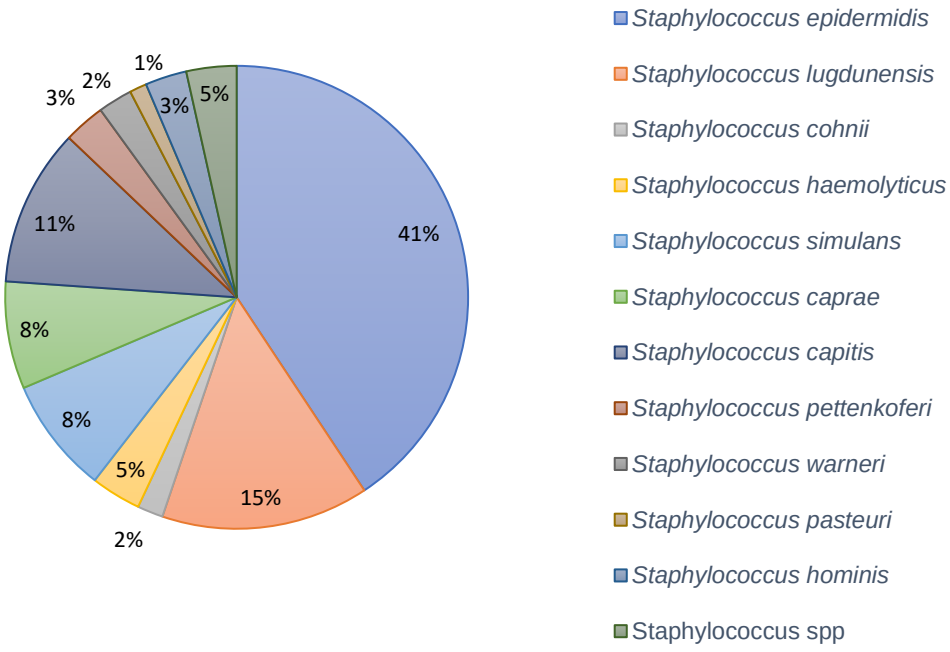
DESCRIPTION DE L'EPIDEMIOLOGIE DU CHV AU COURS DE L'ANNEE 2020



<u>Figure n° 7</u> Epidémiologie bactérienne tout site d'infection confondu.



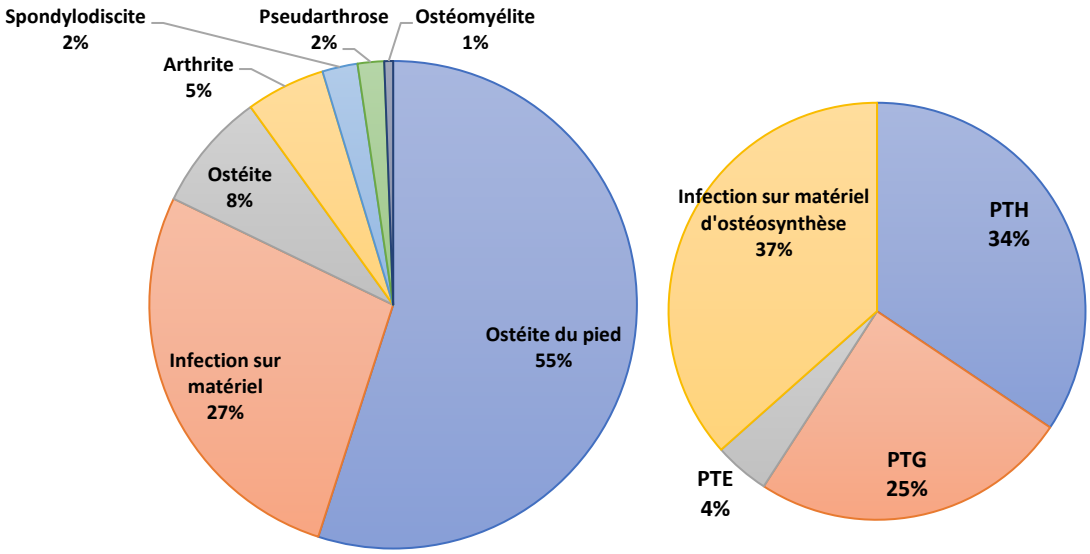
<u>Figure n° 8</u> Répartition de l'épidémiologie des entérobactérales tout site d'infection confondu.



<u>Figure n° 9</u> Répartition de l'épidémiologie des staphylocoques à coagulase négative tout site d'infection confondu.

Staphylococcus aureus Résistance à la méticilline	11,1% (N = 20)
SCN Résistance à la méticilline	58,9% (N = 73)
Staphylococcus epidermidis Résistance à la méticilline	69% (N = 49)
Staphylococcus lugdunensis Résistance à la méticilline	12% (N = 3)
Staphylococcus capitis Résistance à la méticilline	47,4% (N = 9)
Pseudomonas aeruginosa Résistance à la Ceftazidime	4,8% (N = 1)
Enterobactérales Résistance aux Céphalosporines 3ème génération	14.3% (N = 17)
Mécanisme de résistance des entérobactérales	58,8% BLSE (N = 10) 41,2 % Céphalosporinase de haut niveau (N = 7)

<u>Tableau n° 5</u> Taux de résistance sur l'année 2020 des principales espèces de staphylocoques, des entérobactérales et *Pseudomonas aeruginosa*.

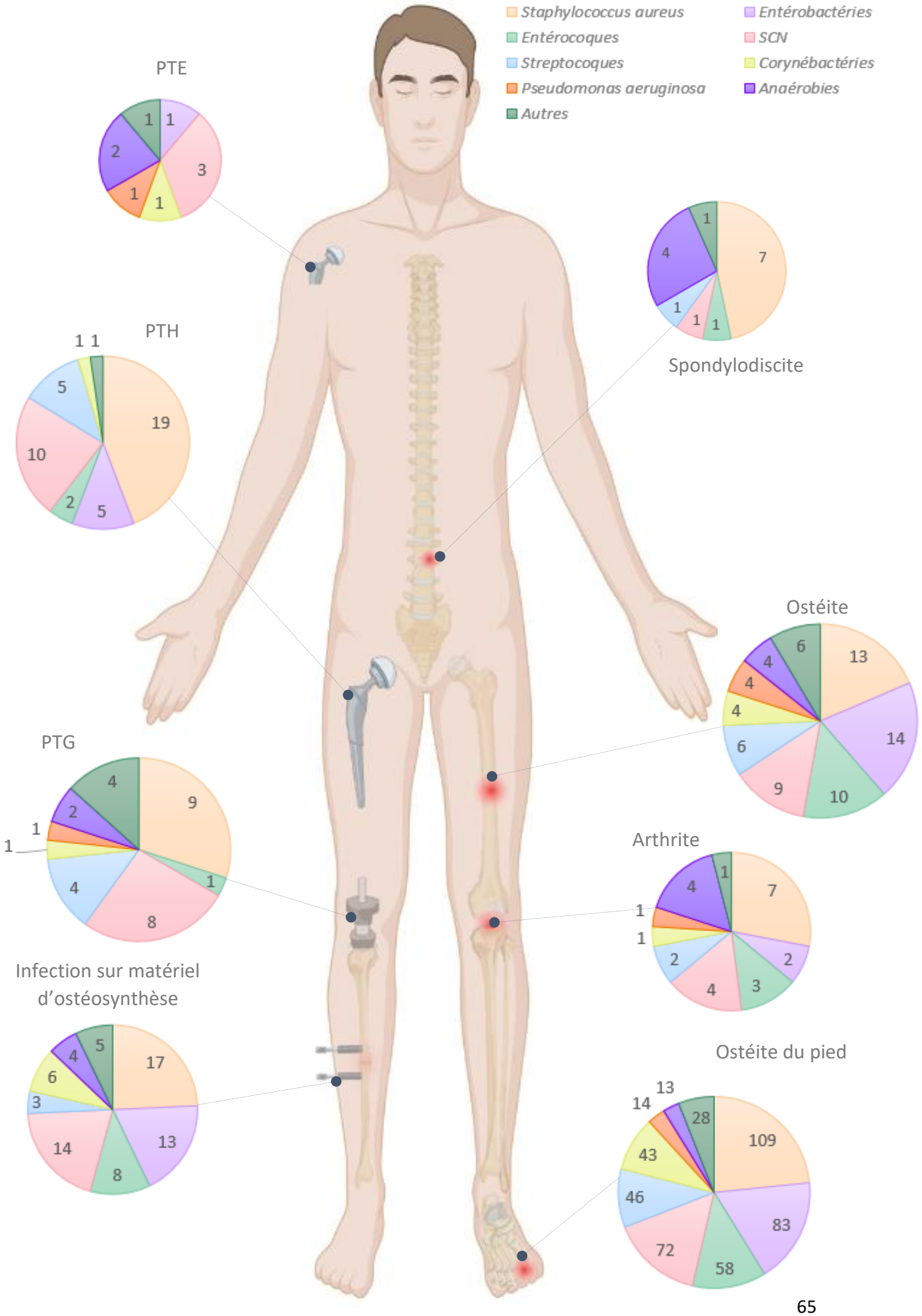


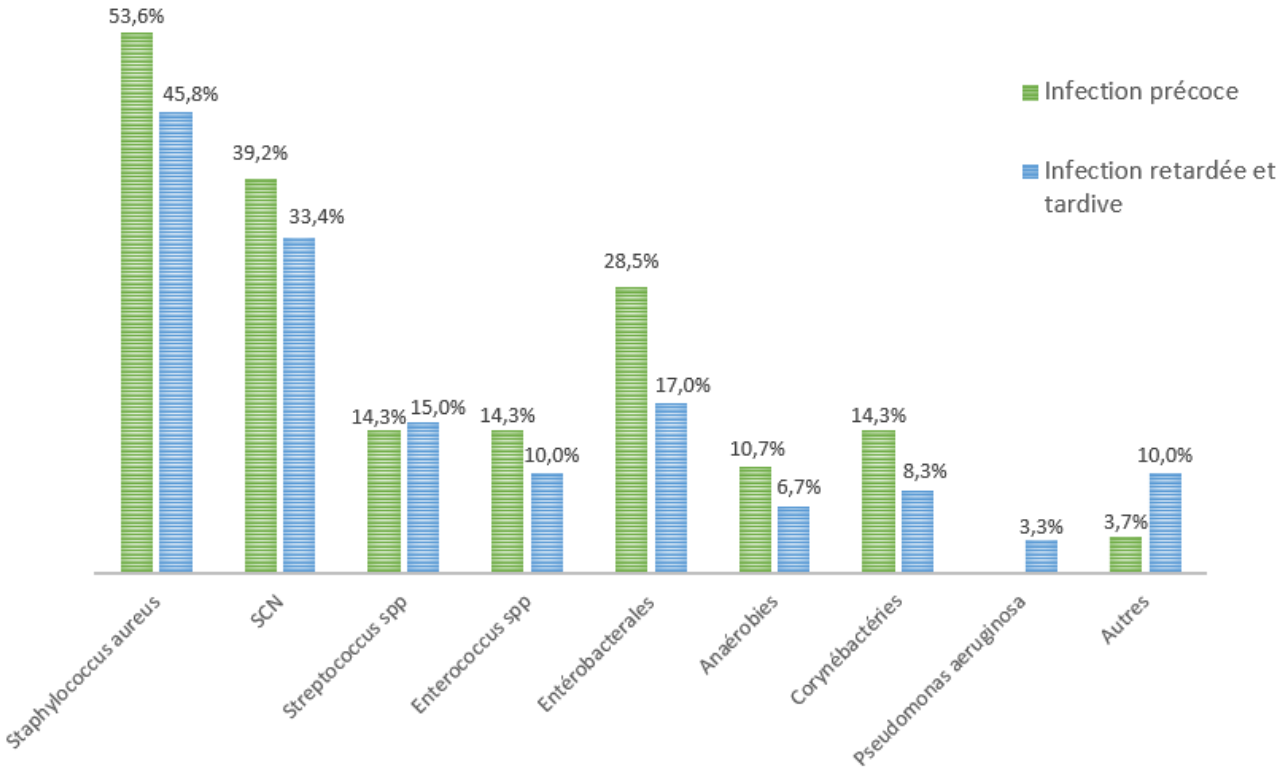
<u>Figure n° 10</u> Répartition des différents types d'IOA et des sites d'infection sur matériel.

	Nombre moyen de prélèvements	Nombre moyen de prélèvements positifs	Nombre moyen de microorganismes
Ostéite du pied	1,8	1,7	3,1
Ostéite	2	1,9	3,1
Infection sur matériel	3,4	3	2
Spondylodiscite	1,5	1,4	1,1
Pseudarthrose	3	2,3	1,5
Arthrite	1,5	1,5	1,3

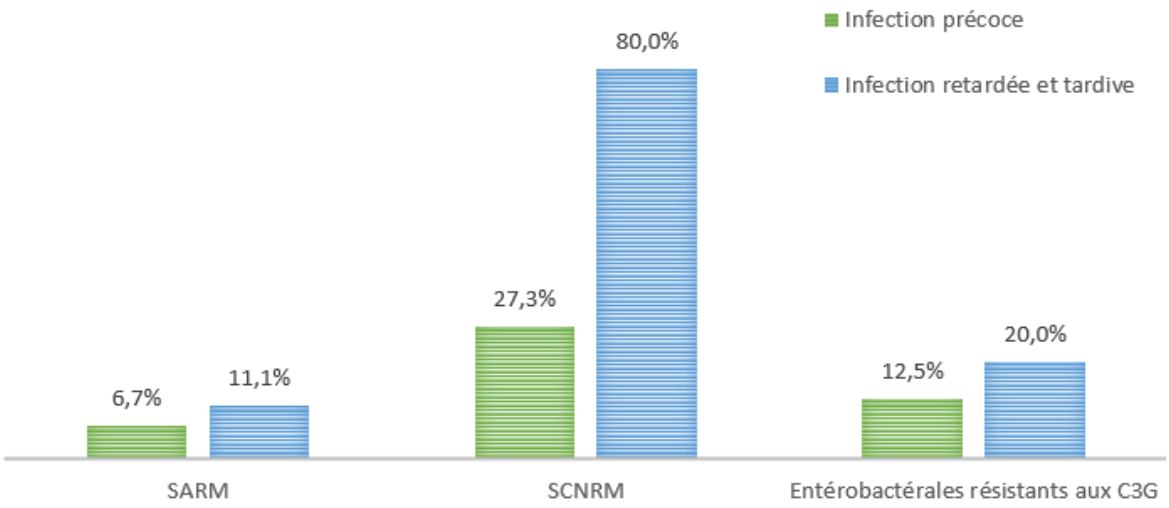
Tableau n° 6 Résumé des caractéristiques des prélèvements reçus par type d'infection.

Figure n° 11 (ci-dessous) Epidémiologie bactérienne en fonction du type d'IOA.


Staphylococcus aureus
Entérobactéries
Entérocoques
SCN
Streptocoques
Corynébactéries
Pseudomonas aeruginosa
Anaérobies
Autres
PTE
1 1 3 1 1 2
Spondylodiscite
7 1 1 1 4
PTH
1 1 19 5 10 2 5
Ostéite
13 6 4 4 4 6 14 9 10
PTG
9 4 2 1 1 4 8 1
Arthrite
7 1 4 1 1 2 4 3 2
Infection sur matériel d'ostéosynthèse
17 5 4 6 3 14 8 13
Ostéite du pied
109 28 13 14 43 46 72 58 83



<u>Figure n° 12</u> Epidémiologie bactérienne des IOAM précoces (< 1 mois) et retardées à tardives (> 1 mois).



<u>Figure n° 13</u> Taux de résistance à la méticilline de *S. aureus*, des SCN et des entérobactérales aux C3G dans les IOAM en fonction du délai d'apparition de l'infection.

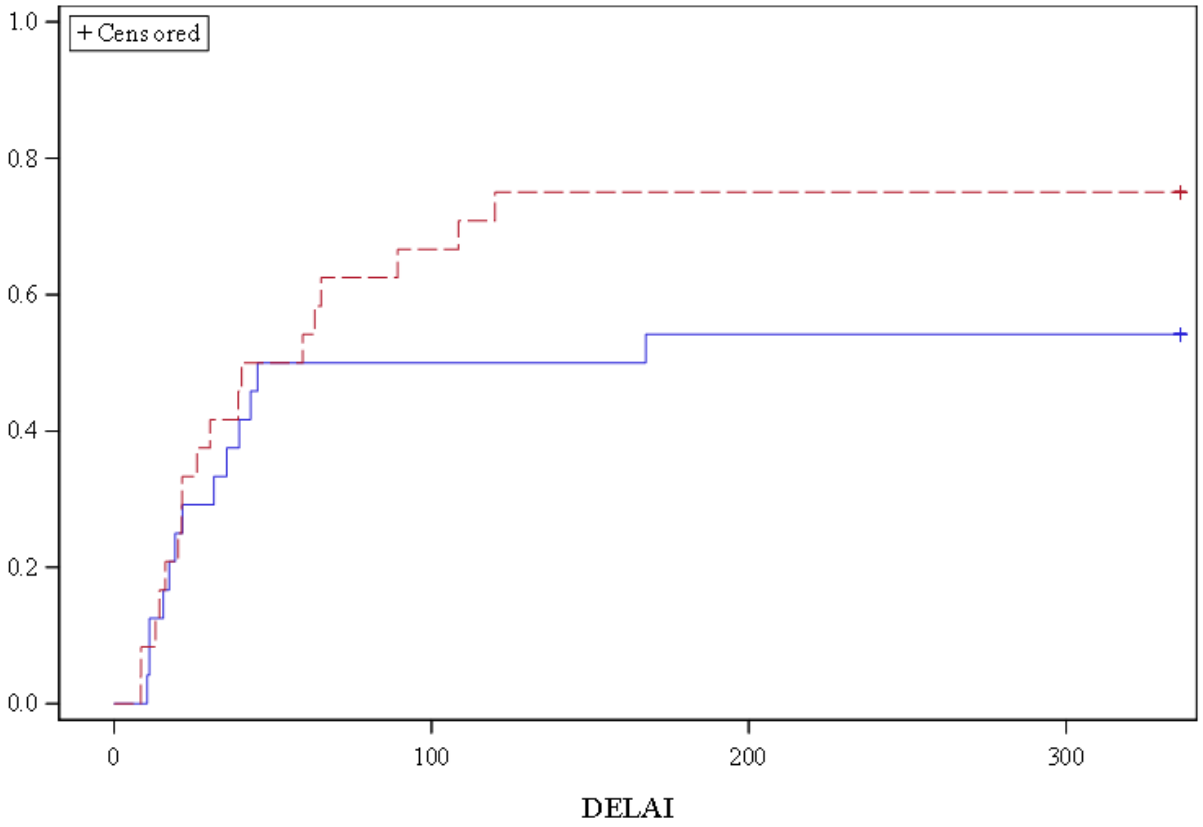
COMPARAISON DES PERFORMANCES DE DEUX FLACONS ANAEROBIES : FLACONS FN BIOMERIEUX® ET BACTEC LYTIQUE/F BD®.

<u>Tableau n° 7</u> Délais de positivité des flacons ensemencés en prenant la moyenne des deux essais. Les données sont en heures-minutes

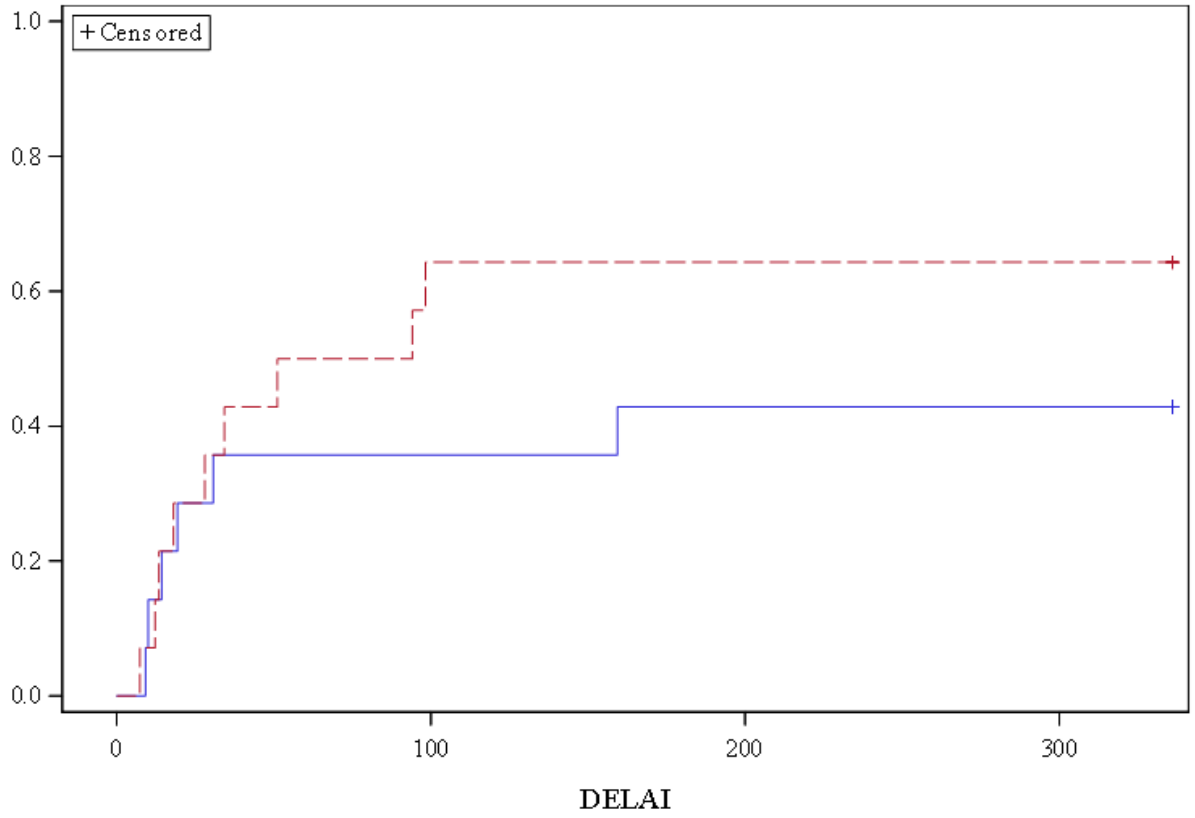
Souches testées	Flacons FN Biomérieux®	Flacons Bactec Lytique/F BD®	Quantité
Bacteroides fragilis Souche n°1	31,4	16,1	40 UFC
Bacteroides fragilis Souche n°2	39,4	21,4	40 UFC
Bacteroides fragilis Souche n°3	35,48	20,2	40 UFC
Bacteroides fragilis Souche n°3	30,7	18,07	400 UFC
Clostridium perfringens Souche n°1	11,12	8,37	40 UFC
Clostridium perfringens Souche n°2	11,1	8,44	40 UFC
Clostridium perfringens Souche n°2	9,19	7,38	400 UFC
Clostridium rammosum	15,45	13,03	40 UFC
Clostridium rammosum	14,3	12,19	400 UFC
Clostridium tertium	10,4	14,25	40 UFC
Clostridium tertium	10,04	13,44	400 UFC
Cutibacterium acnes Souche n°1	Absence de culture à J14	63,21	40 UFC
Cutibacterium acnes Souche n°2	Absence de culture à J14	120	40 UFC
Cutibacterium acnes Souche n°3	Absence de culture à J14	108,52	40 UFC
Cutibacterium acnes Souche n°3	Absence de culture à J14	94,07	400 UFC
Cutibacterium avidum	167,54	59,42	40 UFC
Cutibacterium avidum	159,36	51,13	400 UFC
Cutibacterium granulosum	Absence de culture à J14	89,3	40 UFC
Cutibacterium granulosum	Absence de culture à J14	98,3	400 UFC
Finegoldia magna Souche n°1	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	40 UFC
Finegoldia magna Souche n°1	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	400 UFC

Finegoldia magna Souche n°2	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	40 UFC
Finegoldia magna Souche n°2	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	400 UFC
Fusobacterium necrophorum	Absence de culture à J14	21,27	40 UFC
Fusobacterium nucleatum	43	40,17	40 UFC
Parvimonas micra Souche n°1	45,2	Absence de culture à J14	40 UFC
Parvimonas micra Souche n°2	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	40 UFC
Parvimonas micra Souche n°2	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	400 UFC
Parvimonas micra Souche n°3	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	40 UFC
Parvimonas micra Souche n°3	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	400 UFC
Peptoniphilus harei	Absence de culture à J14	30,2	40 UFC
Peptoniphilus harei	Absence de culture à J14	28	400 UFC
Peptostreptococcus anaerobius	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	40 UFC
Peptostreptococcus anaerobius	Absence de culture à J14	Absence de culture à J14	400 UFC
Ruminococcus gnavus	17,34	65,2	40 UFC
Veillonela parvula Souche n°1	26,12	19,24	40 UFC
Veillonela parvula Souche n°2	21,4	39,08	40 UFC
Veillonela parvula Souche n°2	19,35	34,23	400 UFC

Sur les 24 souches testées, 13 ont cultivé sur flacons FN et 18 ont cultivé sur flacons Bactec. La moyenne du délai de positivité pour les souches qui ont cultivé dans les 2 flacons est de 26 heures pour BD tandis qu'elle est de 38 heures pour les flacons Biomérieux. Les 3 souches de *Cutibacterium acnes*, *Peptoniphilus harei* et *Fusobacterium necrophorum* ont cultivé exclusivement sur flacon BD. Une seule souche de *Parvimonas micra* a cultivé sur flacon Biomérieux. En revanche, aucune souche de *Finegoldia magna*, de *Peptostreptococcus anaerobius* et 2 souches de *Parvimonas micra* n'ont cultivé quel que soit le flacon.



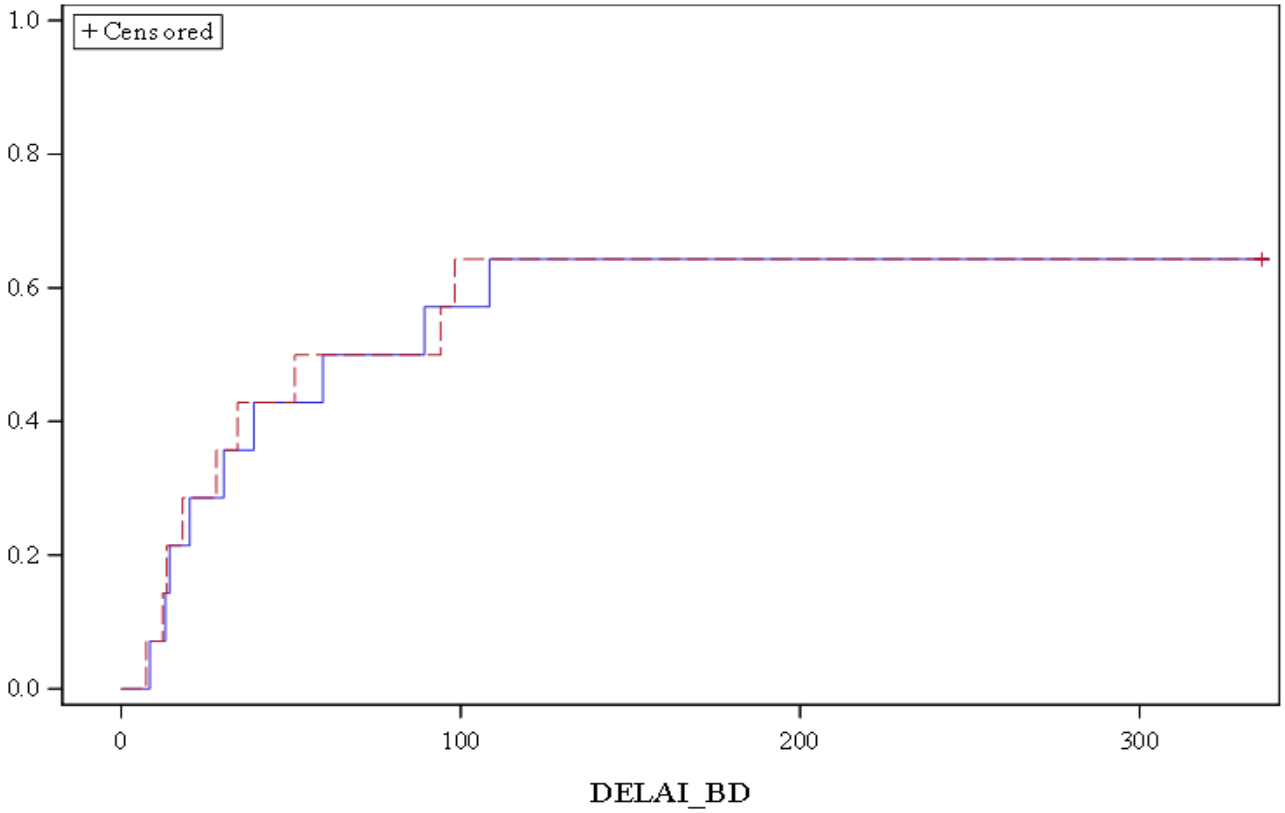
<u>Figure n° 14</u> Courbe de survie représentant la probabilité de détection d'un flacon positif en fonction du délai en heures pour les 24 souches anaérobies testées avec une quantité de 40 UFC. La ligne bleue représente le flacon Biomérieux tandis que le flacon BD est représenté par la ligne rouge en pointillé.



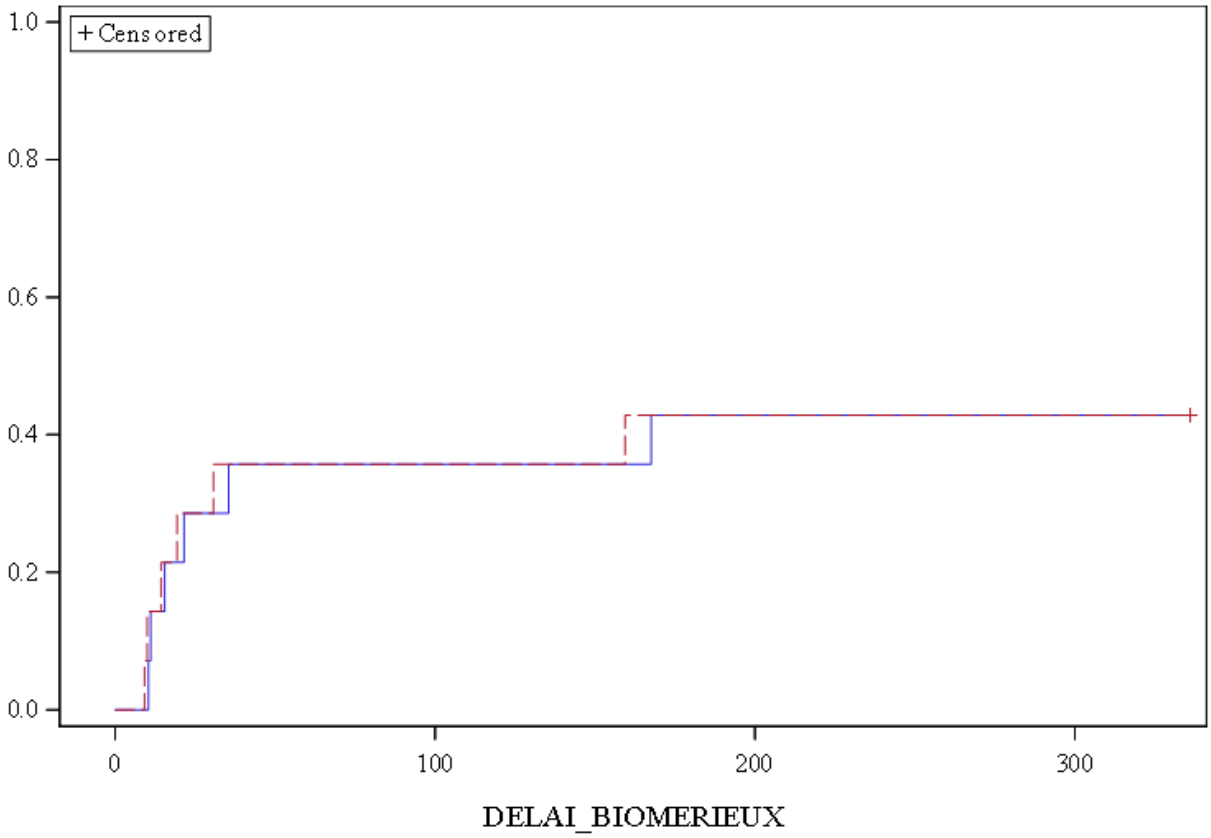
<u>Figure n° 15</u> Courbe de survie représentant la probabilité de détection d'un flacon positif en fonction du délai en heures pour les 14 souches anaérobies testées avec une quantité de 400 UFC. La ligne bleue représente le flacon Biomérieux tandis que le flacon BD est représenté par la ligne rouge en pointillé.

	Flacon BD vs Flacon Biomérieux		
40 UFC	p = 0,062	OR = 1,556	IC = [0,978 ; 2,476]
400 UFC	p = 0,0693	OR = 1,678	IC = [0,96 ; 2,932]

<u>Tableau n° 8</u> Comparaison des délais et taux de positivité des flacons BD et Biomérieux pour les quantités 40 et 400 UFC.



<u>Figure n° 16</u> Courbe de survie représentant la probabilité de détection d'un flacon positif en fonction du délai en heures pour 14 souches anaérobies testées avec le flacon BD. La ligne bleue représente la quantité de 40 UFC et la ligne rouge en pointillé correspond à la quantité de 400 UFC. Aucune différence significative n'a été mis en évidence entre les deux quantités pour le flacon BD (p = 0.23).



<u>Figure n° 17</u> Courbe de survie représentant la probabilité de détection d'un flacon positif en fonction du délai en heures pour 14 souches anaérobies testées avec le flacon Biomérieux. La ligne bleue représente la quantité de 40 UFC et la ligne rouge en pointillé correspond à la quantité de 400 UFC. Une différence significative a été mis en évidence entre les deux quantités pour le flacon Biomérieux (p=0.028).

Age moyen	65 ans
Sexe ratio H/F	1,7
Nombre de prélèvements en moyenne par patient	2,34
Patients sous antibiotiques lors des prélèvements	28%

Tableau n° 9 Description globale des 86 patients pour lesquels au moins un prélèvement clinique a été reçu.

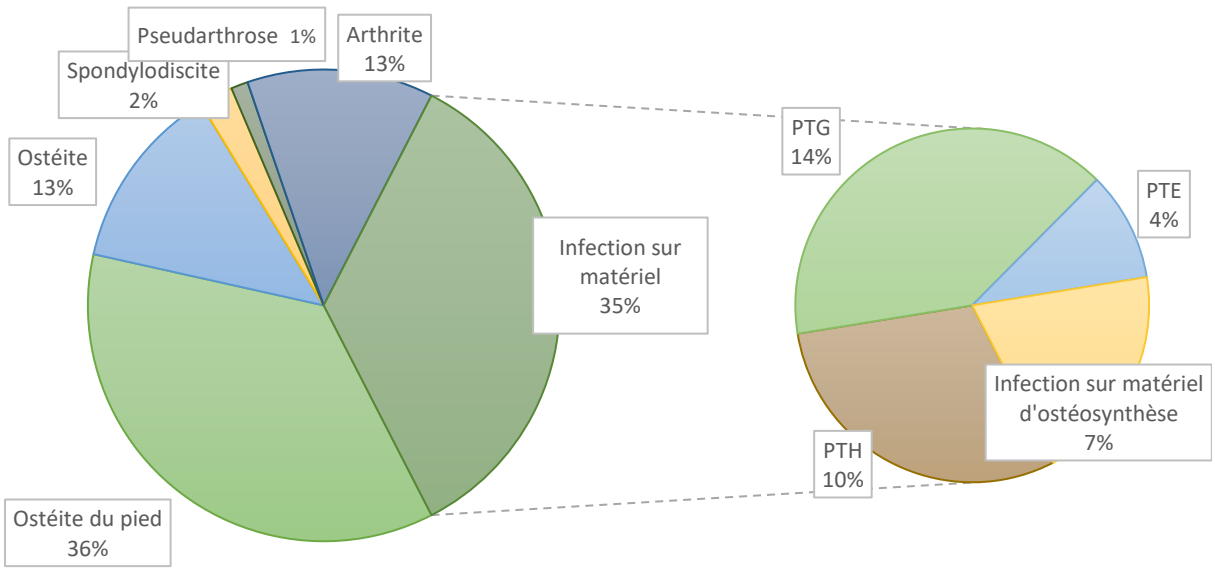


Figure n° 18 Répartition des différents types d'infection pour les 86 patients.

.

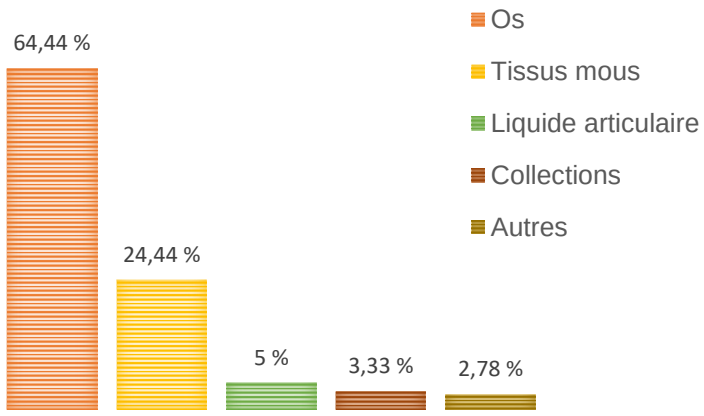
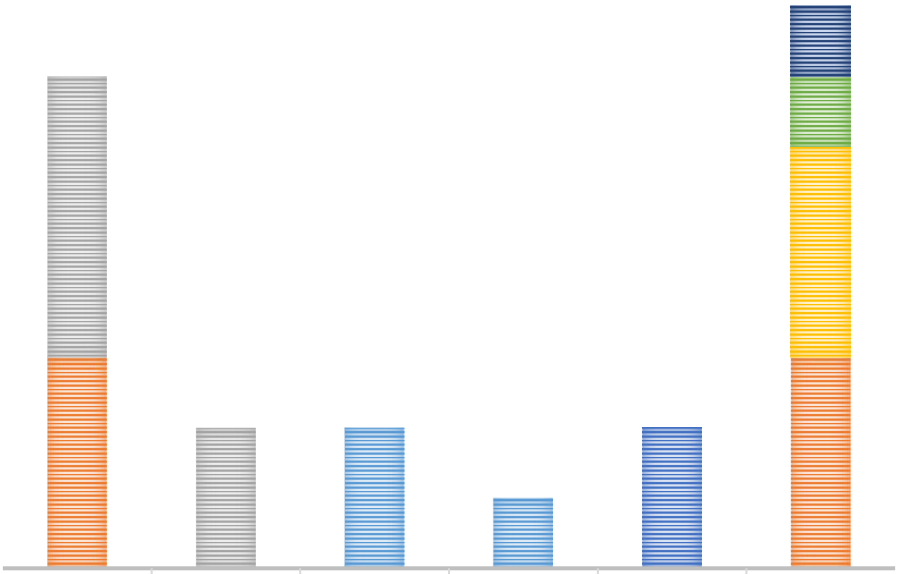


Figure n° 19 Représentation de la nature des 188 prélèvements cliniques reçus.

	Flacon BD Bactec/Lytic		Rosenow	
	Prélèvement	Patients	Prélèvement	Patients
Positif	25 (13,3%)	14 (16,3%)	14 (7,4%)	6 (7%)
Négatif	163 (86,7%)	62 (83,7%)	174 (92,6%)	80 (93%)
Total	188 (100%)	86 (100%)	188 (100%)	86 (100%)

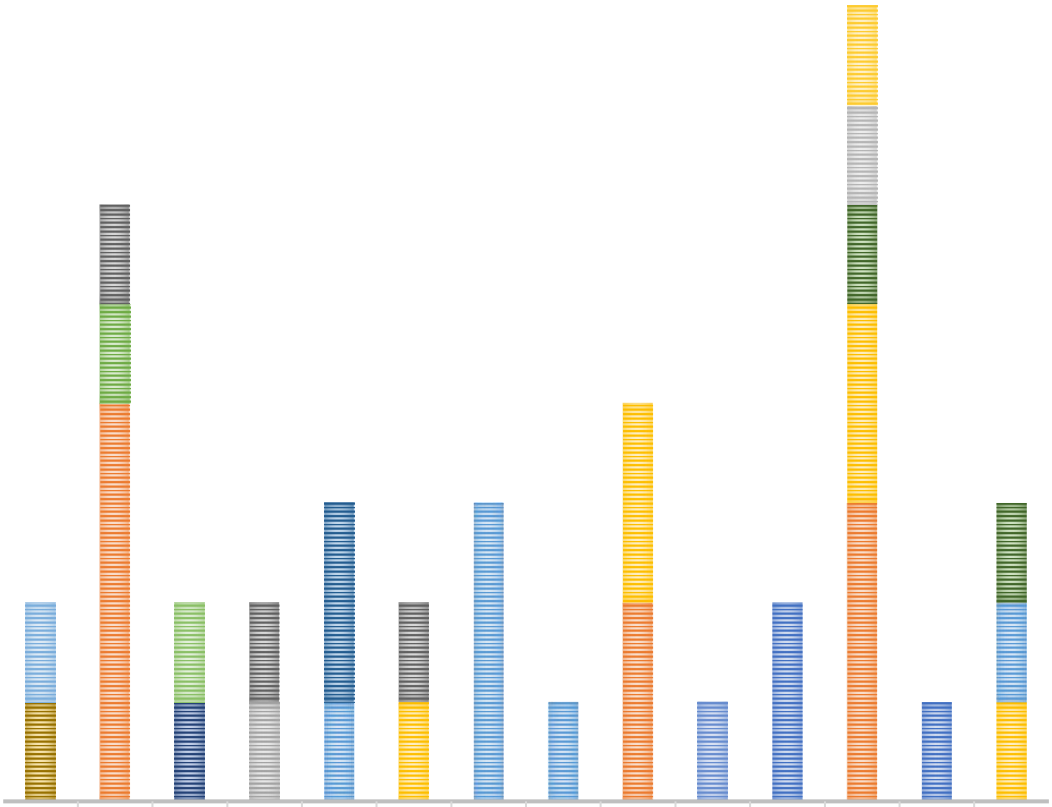
Tableau n° 10 Taux de détection des bactéries anaérobies par prélèvement et par patient.



	Patient n°4	Patient n°23	Patient n°39	Patient n°43	Patient n°66	Patient n°70
Bacteroides caccae						*1*
Anaerococcus vaginalis						*1*
Fusobacterium nucleatum			*2*	*1*		
Finegoldia magna						*3*
Parvimonas micra	*4*	*2*				
Bacteroides fragilis	*3*					*3*
Cutibacterium acnes					*2*	

<u>Figure n° 20</u> Histogramme et table des données des 6 patients pour lesquels au moins une bactérie anaérobie a été détectée par le bouillon Rosenow.

.



	Patient n°1	Patient n°4	Patient n°6	Patient n°23	Patient n°34	Patient n°35	Patient n°39	Patient n°43	Patient n°44	Patient n°52	Patient n°66	Patient n°70	Patient n°72	Patient n°75
Bidifobacterium dentium			1											
Porphyromonas somerae	1													
Egerthella lenta												1		
Bacteroides caccae												1		
Peptoniphilus sp														
Anaerococcus nagyae										1				
Anaerococcus vaginalis												1		1
Slackia exigua					2									
Peptoniphilus olsenii	1													
Peptoniphilus indolicus		1		1		1								
Peptoniphilus harei														
Veillonela parvula			1											
Peptococcus niger		1												
Fusobacterium nucleatum					1		3	1						1
Finegoldia magna						1			2			2		1
Parvimonas micra				1										
Bacteroides fragilis		4							2			3		
Cutibacterium acnes											2		1	

<u>Figure n° 21</u> Histogramme et table des données des 14 patients pour lesquels au moins une bactérie anaérobie a été détectée par le Flacon Bactec Lytique/F BD™.

<u>Tableau n° 11</u> Tableaux de contingence pour l'analyse de concordance entre le flacon Bactec Lytique/F BD™ et le bouillon Rosenow pour la détection des anaérobies et des 5 espèces principales.

Anaérobie		**Rosenow**		
		Positif	Négatif	Total
BD	Positif	13	12	25
	Négatif	1	162	163
	Total	14	174	188

Cutibacterium acnes		**Rosenow**		
		Positif	Négatif	Total
BD	Positif	2	1	3
	Négatif	0	185	185
	Total	2	186	188

Bacteroides fragilis		**Rosenow**		
		Positif	Négatif	Total
BD	Positif	6	3	9
	Négatif	0	179	179
	Total	6	182	188

Finegoldia magna		**Rosenow**		
		Positif	Négatif	Total
BD	Positif	2	4	6
	Négatif	1	181	182
	Total	3	185	188

Parvimonas micra		**Rosenow**		
		Positif	Négatif	Total
BD	Positif	1	2	3
	Négatif	5	180	185
	Total	6	182	188

Fusobacterium nucleatum		**Rosenow**		
		Positif	Négatif	Total
BD	Positif	3	3	6
	Négatif	0	182	182
	Total	3	185	188

	Coefficient Kappa	Interprétation
Anaérobies	0,6315	Accord fort
Cutibacterium acnes	0,7974	Accord fort
Bacteroides fragilis	0,792	Accord fort
Finegoldia magna	0,4324	Accord modéré
Fusobacterium nucleatum	0,6594	Accord fort
Parvimonas micra	0,2053	Accord faible

Tableau n° 12 Analyse de la concordance entre le flacon Bactec Lytique/F BD™ et le bouillon Rosenow pour les anaérobies et les 5 espèces principales.

DISCUSSION

Un des premiers enjeux de ce travail était de livrer une analyse descriptive de l'épidémiologie locale. L'intérêt de cette description est de pouvoir évaluer les taux de résistance et les espèces majoritairement retrouvées dans les IOA afin d'adapter au mieux les schémas thérapeutiques probabilistes à l'écologie locale. L'antibiothérapie choisie doit être le plus juste compromis entre l'efficacité thérapeutique, c'est-à-dire la couverture du ou des microorganismes dominants et le risque de sélection de mutants résistants, avec l'épargne de molécules à large spectre.

Dans notre cohorte, l'espèce majoritaire retrouvée dans les prélèvements ostéoarticulaires tout type d'infection confondu est *Staphylococcus aureus* (53.1%) qui demeure le pathogène principal impliqué dans les IOA d'après les dernières données françaises (9). Ensuite, les entérobactérales (38.2%) et les staphylocoques à coagulase négative (36.2%) sont les catégories les plus représentées de notre épidémiologie. Cette répartition peut être liée au fait qu'un grand nombre de nos prélèvements étaient polymicrobiens (63.3%). En effet, dans les données des CRIOAc, les catégories bactériennes des IOA polymicrobiennes les plus représentées étaient *S. aureus*, entérobactérales, SCN suivis des entérocoques en 4ème position ce qui correspond à nos données. (9) Le taux important d'infections polymicrobiennes dans notre cohorte peut s'expliquer par une part élevée d'ostéite du pied (55%) qui sont généralement des infections plurimicrobiennes (96).

Concernant les taux de résistance des staphylocoques, la résistance à la méticilline retrouvée chez les SCN est de 58,9% ce qui est comparable à l'épidémiologie lyonnaise évaluée sur 5 ans (59,1%) et supérieure à l'épidémiologie lilloise documentée de 2002 à 2011 (45%). Quant à *Staphylococcus aureus*, le taux de résistance à la méticilline est de 11.1% ce qui est inférieur à l'étude rétrospective lilloise (22.9%) et légèrement en dessous du taux lyonnais (16.1%) (97,98). Cette différence peut s'expliquer par le taux de résistance à la méticilline qui est en constante diminution ces dernières années (99).

La catégorisation des infections sur matériel nous indique une plus grande part d'infections retardées et tardives (>1 mois) (N=60) que précoces (<1 mois) (N=28). Les différentes entités bactériennes sont représentées dans des proportions relativement similaires. Néanmoins, les entérobactérales semblent plus souvent associées à des infections précoces comme l'ont constaté de précédents travaux (97).

Dans notre travail, une part plus élevée de SCN résistant à la méticilline a été également observée chez les patients atteints d'infections retardées à tardives (27.3% vs 80%).

Cette analyse rétrospective présente la limite du recueil de données cliniques qui a permis de catégoriser les différents types d'infection et de les classer en fonction du délai d'apparition après un bloc opératoire pour les IOAM. En effet, les informations renseignées sur les dossiers médicaux des différents hôpitaux de Sambre-Avesnois, Valenciennes et Maubeuge ont été parfois imprécises ou manquantes ce qui n'a pas toujours permis de classer les patients voire de mal les classer.

Dans la seconde partie du travail, l'objectif était d'évaluer les outils du diagnostic microbiologique des IOA. Pour cela, nous nous sommes intéressés aux performances du flacon BD et du flacon Biomérieux dans la détection des bactéries anaérobies. Dans notre travail, le flacon BD a détecté 75% et 62.3% des souches testées tandis que le flacon Biomérieux seulement 54.2% et 42.9% pour les quantités respectives de 40 et 400 UFC. Peu de données existent dans la littérature sur les performances des flacons anaérobies. Néanmoins, une équipe slovène a comparé le flacon BD Lytic et Biomérieux FN plus et a également retrouvé un meilleur taux de positivité pour les flacons BD que pour les flacons Biomérieux, respectivement 79.2% et 70.8%. D'autres auteurs ont également comparé 4 flacons anaérobies dont le flacon BD et Biomérieux utilisés dans nos travaux et ont montré une supériorité du taux de positivité du flacon Bactec Lytic avec 94% de souches détectées et significativement supérieur au flacon Biomérieux FN plus (100).

Le temps de détection moyen dans notre étude était de 26 heures pour le flacon BD et de 38 heures pour le flacon Biomérieux. Ce délai de positivité plus court semble être en accord avec la littérature. En effet, les équipes slovène et suédoise ont observé un délai de positivité significativement plus court avec les flacons BD qu'avec les flacons Biomérieux dans la détection des anaérobies. (100,101)

Dans notre étude comparative, aucune différence significative entre les flacons BD et Biomérieux n'a pu être mis en évidence sur leur taux de positivité et délai de positivité quel que soit la quantité inoculée (*p=0.062* et *p=0.0693*). Ce manque de significativité est à nuancer en regard de la petite taille de notre échantillon et reste tout de même proche de la limite de significativité. D'autres souches pourraient être testées afin d'observer une possible différence statistique.

Le choix de deux quantités différentes inoculées, 40 et 400 UFC, avait comme intérêt de vérifier la méthode indiquée par Biomérieux et d'évaluer l'impact d'un inoculum 10 fois plus important sur les performances. Nous avons pu observer qu'il n'y avait aucune différence significative (*p=0.23*) entre les deux inocula pour le délai de positivité concernant le flacon BD. En revanche, une différence significative (*p=0.028*) a été démontrée pour le flacon Biomérieux, la méthode utilisée étant celle de ce fabricant.

Parmi les espèces testées, les 3 souches de *C. acnes* n'ont été détectées qu'avec le flacon BD. Ce résultat concorde avec les travaux menés par Jeverica *et al*. qui a comparé 4 flacons d'hémocultures Biomérieux et 2 flacons BACTEC différents pour la détection de cette bactérie. Sur 99 souches de *C. acnes*, le même flacon BACTEC Lytic que notre étude a détecté 92% des souches tandis que le flacon Biomérieux FN n'en a détecté que 1%. Parmi les autres flacons anaérobies Biomérieux utilisés, le FN plus et iFN plus n'ont détecté que 28% des souches, en revanche, le flacon Biomérieux anaérobie SN avait un taux de positivité de 94% (50). De même, Almuhayawi *et al*. avait détecté *C. acnes* seulement dans le flacon BD Bactec/Lytic sur 4 différents flacons anaérobies testés (100). Une des raisons évoquées à cette différence de détection serait le contenu des flacons et notamment la présence de chélateurs d'antibiotiques (suspension de charbon ou billes polymériques adsorbantes) dans les flacons qui ne cultivent pas *C. acnes* (50). Cette bactérie étant l'anaérobie le plus fréquemment retrouvé dans les IOA, cette observation interroge sur le choix des flacons d'hémocultures utilisés au laboratoire dans le diagnostic de ces infections.

D'autres espèces n'ont cependant pas cultivé quel que soit le flacon utilisé. C'est le cas de *Peptostreptococcus anaerobius*, *Finegoldia magna* et *Parvimonas micra*. L'équipe slovène a également observé qu'une souche de *Peptostreptococcus anaerobius* et de *Finegoldia magna* n'avaient pas cultivé quel que soit le flacon. En revanche, dans leur étude *Parvimonas micra* cultivait dans les 2 flacons (101). Ce manque de détection pour certaines espèces pourrait s'expliquer par le fait que nos souches provenaient de la collection du CHV et étaient pour certaines assez anciennes. Ainsi, les repiquages successifs et la rupture de la chaîne du froid lors de leur conservation ont pu altérer la viabilité des souches et interférer dans nos résultats.

Les nutriments présents dans les milieux d'hémocultures peuvent aussi être à l'origine d'un défaut de croissance bactérienne. En effet, la présence de SPS, anticoagulant présent dans les flacons, pourrait être une cause de non-pousse chez certaines espèces bactériennes. En concentrations trop faibles dans les flacons d'hémocultures,

le SPS pourrait ne pas inhiber suffisamment la voie des lectines responsable de l'activation du complément ce qui inhiberait la croissance bactérienne (102). Des auteurs ont montré que ce composé inhibait complètement la croissance de *Peptostreptococcus anaerobius* et retardait celle de *Finegoldia magna*, anciennement *Peptococcus magnus*, deux espèces qui n'ont pas cultivé dans notre étude (103).

Cette différence de détection entre les flacons pour les bactéries anaérobies n'est cependant pas valable pour les autres espèces aérobies ou aérobies-anaérobies facultatives (AAF). En effet, quelques travaux montrent la supériorité des flacons Biomérieux sur les entérobacterales notamment (104). C'est pourquoi, ils sont préférentiellement utilisés dans le diagnostic microbiologique de septicémie qui est très largement causée par des bactéries aérobies ou AAF.

Nous nous sommes penchés ensuite sur l'évaluation du flacon BD Bactec/Lytic qui semblait être plus efficace dans la détection des anaérobies et de notre méthode conventionnelle utilisée en routine, le bouillon Rosenow. Son utilisation étant restreinte au Nord de la France, aucune étude à ce jour n'a évalué et comparé ces deux méthodes pour la détection de bactéries anaérobies dans le diagnostic d'IOA. Dans notre travail, le flacon BD a identifié plus de prélèvements positifs que le Rosenow (13.3% vs 7.4%) et correspondait à plus de patients également (16.3% vs 7%). D'autres travaux vont dans ce sens, notamment Hughes *et al*. qui est l'équipe pionnière à avoir évaluer l'intérêt des flacons d'hémocultures par rapport aux méthodes standards de bouillons d'enrichissement et milieux solides dans le diagnostic des IOA. Ils retrouvaient une sensibilité significativement meilleure des flacons d'hémocultures par rapport aux milieux solides et au bouillon anaérobie FA (fastidious anaerobic) pour la culture de tissus péri-prothétiques. De plus, l'amélioration de sensibilité par les flacons s'accompagnait d'une excellente spécificité (48). Une étude plus récente de 2016 montrait également une augmentation de 47% de la sensibilité en utilisant les flacons par rapport aux milieux solides standards et au bouillon thioglycolate (46).

L'analyse de concordance effectuée montre un accord fort dans la détection des bactéries anaérobies entre le bouillon Rosenow et le flacon Bactec. Néanmoins, les espèces *Finegoldia magna* et *Parvimonas micra* présentent un accord modéré voire faible entre les deux techniques. Cette observation est le reflet de notre travail expérimental qui indiquait une mauvaise détection de ces deux espèces avec le flacon BD. Les résultats de l'analyse de concordance par espèce sont à nuancer car les échantillons étaient de petite taille entre 3 et 9.

Bien que non évalué dans notre travail, la détection des bactéries par la méthode des flacons permettrait également de réduire le délai de pousse par rapport aux méthodes standards (46). Cette observation est probablement due à l'automatisation des systèmes de flacons d'hémocultures qui prennent en continu les données de croissance bactérienne comparé aux techniques conventionnelles qui demandent l'intervention d'un opérateur une à 2 fois par jour pour évaluer macroscopiquement la pousse bactérienne.

Enfin, l'utilisation du flacon BD a permis de détecter une diversité d'espèces bactériennes anaérobies plus importante qu'avec le bouillon Rosenow, respectivement 18 et 7 espèces. En comparaison, l'étude de van den Bijllaardt *et al*. menée sur 57 patients atteints d'infections sur prothèse, retrouvait aussi un nombre de pathogènes plus grand par flacons d'hémocultures que par culture traditionnelle (49). Parmi les patients pour lesquels nous avons retrouvé au moins une bactérie anaérobie par flacon BD, 7 souffraient d'une ostéite du pied et cela correspondait à 4 patients pour le bouillon Rosenow. Le nombre de microorganismes anaérobies retrouvés en moyenne par prélèvement et par patient était sensiblement supérieur pour le flacon BD (1.76 bactéries) que pour le bouillon Rosenow (1.33 bactéries) chez ces patients. Il est intéressant de comparer ces données à l'étude de Ledermann *et al*. qui a évalué la performance diagnostique de l'inoculation de biopsie osseuse de patients atteints d'ostéite du pied et de la cheville dans un flacon d'hémoculture pédiatrique. L'équipe a retrouvé significativement plus de microorganismes avec le flacon, 1.67 en moyenne par rapport à la culture standard, 1.05 en moyenne (105).

Un des biais de cette étude est le délai d'ouverture des flacons d'hémoculture lorsqu'ils sont positifs. En effet, aucune recommandation microbiologique n'indique quand ouvrir le flacon lorsqu'il se positive. Dans notre travail nous avons pris la décision de laisser le flacon incuber encore 5 jours après la positivité afin de permettre, en cas d'infections plurimicrobiennes, aux bactéries anaérobies plus lentes de pousser notamment *C. acnes*. Cependant, aucune étude à ce jour n'a évalué ce paramètre dans le diagnostic des IOA et ce choix arbitraire est sans doute à moduler à la lumière de futures données.

Suite à la mise en évidence d'une plus grande diversité bactérienne et de la meilleure détection de *C. acnes*, le flacon BD Bactec/Lytique et le système BD ont été choisi lors

de la mise en place des flacons d'hémocultures dans le diagnostic microbiologique d'IOA au sein du laboratoire du CH de Valenciennes.

CONCLUSION

Afin d'explorer les difficultés du diagnostic des IOA, nous avons étudié les performances de deux flacons d'hémocultures, outils démontrés sensibles, dans la détection de bactéries anaérobies. Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre les flacons, néanmoins aucune souche de *C. acnes*, anaérobie le plus représenté dans ces infections, n'a été détectée par le flacon FN Biomérieux. Un nombre de souches testées plus important pourrait permettre d'observer une différence significative entre ces flacons.

Le flacon BD a été ensuite comparé au bouillon Rosenow ce qui a permis de mettre en évidence un plus grand nombre de bactéries anaérobies notamment chez les patients atteints d'ostéite du pied. La pathogénicité et l'imputabilité de ces microorganismes dans les infections polymicrobiennes restent à éclaircir.

Enfin, l'étude de l'épidémiologie locale a permis de faire un point récent sur les taux de résistance retrouvés et les principales espèces impliquées dans les IOA dans la région. Ce recueil apporte des informations supplémentaires pour l'élaboration de schémas probabilistes adaptés à l'épidémiologie locale.

BIBLIOGRAPHIE

1. Infections ostéo-articulaires de l'adulte et de l'enfant, ECN pilly 2020

2. Ross JJ. Septic Arthritis of Native Joints. Infect Dis Clin North Am. juin 2017.

3. Dp L, Fa W. Osteomyelitis. Lancet (London, England). 2004

4. Key features of bone and joint infections following the implementation of reference centers in France. Médecine Mal Infect. 1 juin 2018

5. Épidémiologie et physiopathologie générale des infections ostéo-articulaires. Rev Francoph Lab. 1 mars 2016

6. Recommandations pour la pratique clinique, prise en charge du pied diabétique infecté, 2006, SPILF

7. Senneville EM, Lipsky BA, van Asten SAV, Peters EJ. Diagnosing diabetic foot osteomyelitis. Diabetes Metab Res Rev. 1 mars 2020

8. Mandell JC, Khurana B, Smith JT, Czuczman GJ, Ghazikhanian V, Smith SE. Osteomyelitis of the lower extremity: pathophysiology, imaging, and classification, with an emphasis on diabetic foot infection. Emerg Radiol. 1 avr 2018

9. Epidemiology of complex bone and joint infections in France using a national registry: The CRIOAc network. J Infect 19 déc 2020

10. Recommandations de pratique clinique Infections ostéo-articulaires sur matériel (prothèse, implant, ostéosynthèse), 2009, SPILF

11. Tande AJ, Patel R. Prosthetic Joint Infection. Clin Microbiol Rev. 1 avr 2014

12. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science. 21 mai 1999

13. Arciola CR, Campoccia D, Montanaro L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. Nat Rev Microbiol. juill 2018

14. DU IOA - F.Laurent C. DUPIEUX-CHABERT- Physiopathologie des IOA - Lyon 2018.

15. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-Joint Infections. 2009

16. The CRIOAc healthcare network in France: A nationwide Health Ministry program to improve the management of bone and joint infection. Orthop Traumatol Surg Res. 1 févr 2019

17. Recommandations françaises 2020 sur la prise en charge des arthrites septiques sur articulation native de l'adulte.

18. Recommandations pour la pratique clinique, Spondylodiscites infectieuses primitives et secondaires à un geste intra-discal sans mise en place de matériel, 2007, SPILF

19. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, et al. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. janv 2013

20. Recommandations de bonnes pratiques - Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation, HAS, mars 2014

21. Colston J, Atkins B. Bone and joint infection. Clin Med. avr 2018

22. Diagnosis and management of prosthetic joint infection : Current Opinion in Infectious Diseases LWW.

23. Lipsky BA, Senneville É, Abbas ZG, Aragón-Sánchez J, Diggle M, Embil JM, et al. Guidelines on the diagnosis and treatment of foot infection in persons with diabetes (IWGDF 2019 update). Diabetes Metab Res Rev. 1 mars 2020

24. Parvizi J, Gehrke T, Chen AF. Proceedings of the International Consensus on Periprosthetic Joint Infection. Bone Jt J. 1 nov 2013

25. Apport de l'imagerie au diagnostic de l'infection ostéoarticulaire. Médecine Mal Infect. 1 juin 2004

26. Berbari EF, Kanj SS, Kowalski TJ, Darouiche RO, Widmer AF, Schmitt SK, et al. 2015 Infectious Diseases Society of America (IDSA) Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Native Vertebral Osteomyelitis in Adults. Clin Infect Dis. 15 sept 2015

27. Parvizi J, Tan TL, Goswami K, Higuera C, Della Valle C, Chen AF, et al. The 2018 Definition of Periprosthetic Hip and Knee Infection: An Evidence-Based and Validated Criteria. J Arthroplasty. mai 2018

28. Ackmann T, Möllenbeck B, Gosheger G, Schwarze J, Schmidt-Braekling T, Schneider KN, et al. Comparing the Diagnostic Value of Serum D-Dimer to CRP and IL-6 in the Diagnosis of Chronic Prosthetic Joint Infection. J Clin Med. sept 202

29. Suzanne AV van A, Edgar JGP, Yin X, Lawrence AL. The Role of Biomarkers to Diagnose Diabetic Foot Osteomyelitis. A Meta-analysis. Curr Diabetes Rev. 30 nov 2016

30. Ys L, Kh K, Hj K, S T, Ty K, Mg M, et al. Synovial Fluid Biomarkers for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. The Journal of bone and joint surgery. 2017

31. Urish KL, Cassat JE. Staphylococcus aureus Osteomyelitis: Bone, Bugs, and Surgery. Infect Immune,22 juin 2020

32. Muthukrishnan G, Masters EA, Daiss JL, Schwarz EM. Mechanisms of Immune Evasion and Bone Tissue Colonization that make Staphylococcus aureus the Primary Pathogen in Osteomyelitis. Curr Osteoporos Rep. déc 2019

33. Ad I, M R. Paediatric bone and joint infection. EFORT open reviews. 2017

34. Peltola H, Pääkkönen M. Acute Osteomyelitis in Children. 2014

35. A B, J N, M K-M, D S-N, J B, T M, et al. Characterization of Staphylococcus epidermidis and Staphyloccocus warneri small-colony variants associated with prosthetic-joint infections. Journal of medical microbiology. 2014.

36. Proctor RA, von Eiff C, Kahl BC, Becker K, McNamara P, Herrmann M, et al. Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. Nat Rev Microbiol. avr 2006

37. Drago L, Clerici P, Morelli I, Ashok J, Benzakour T, Bozhkova S, et al. The World Association against Infection in Orthopaedics and Trauma (WAIOT) procedures for Microbiological Sampling and Processing for Periprosthetic Joint Infections (PJIs) and other Implant-Related Infections. J Clin Med. 28 juin 2019.

38. Peel TN, Spelman T, Dylla BL, Hughes JG, Greenwood-Quaintance KE, Cheng AC, et al. Optimal Periprosthetic Tissue Specimen Number for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection. J Clin Microbiol. 1 janv 2017

39. REMIC 2018 -Les infections ostéo-articulaires. Rottman M, Laurent F.

40. Roux A-L, Sivadon-Tardy V, Bauer T, Lortat-Jacob A, Herrmann J-L, Gaillard J-L, et al. Diagnosis of prosthetic joint infection by beadmill processing of a periprosthetic specimen. Clin Microbiol Infect. 1 mars 2011

41. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. N Engl J Med. 16 août 2007

42. Portillo ME, Salvadó M, Alier A, Martínez S, Sorli L, Horcajada JP, et al. Advantages of sonication fluid culture for the diagnosis of prosthetic joint infection. J Infect. juill 2014

43. Rieber H, Frontzek A, Alefeld M, Heinrich S, Barden B, Jerosch J, et al. Sonicate fluid inoculated into blood culture bottles does not improve diagnosis of periprosthetic joint infection caused by anaerobes. A retrospective analysis. Anaerobe. avr 2020

44. Portillo ME, Salvadó M, Trampuz A, Plasencia V, Rodriguez-Villasante M, Sorli L, et al. Sonication versus Vortexing of Implants for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection. J Clin Microbiol. 1 févr 2013

45. Drago L, Signori V, De Vecchi E, Vassena C, Palazzi E, Cappelletti L, et al. Use of dithiothreitol to improve the diagnosis of prosthetic joint infections. J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc. nov 2013

46. Peel TN, Dylla BL, Hughes JG, Lynch DT, Greenwood-Quaintance KE, Cheng AC, et al. Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles. mBio 2 mars 2016

47. Sanabria A, Røkeberg MEO, Johannessen M, Sollid JE, Simonsen GS, Hanssen A-M. Culturing periprosthetic tissue in BacT/Alert® Virtuo blood culture system leads to improved and faster detection of prosthetic joint infections. BMC Infect Dis. 10 juill 2019

48. 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. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. oct 2011

49. W van den B, Op van der J, M P, M J, Ag B, Aq R. Culturing periprosthetic tissue in blood culture bottles results in isolation of additional microorganisms. European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2019

50. Growth detection of Cutibacterium acnes from orthopaedic implant-associated infections in anaerobic bottles from BACTEC and BacT/ALERT blood culture systems and comparison with conventional culture media. Anaerobe. 1 févr 2020

51. Evaluation of 16S rRNA gene PCR sensitivity and specificity for diagnosis of prosthetic joint infection: a prospective multicenter cross-sectional study J Clin Microbiol. 2014

52. Gomez E, Cazanave C, Cunningham SA, Greenwood-Quaintance KE, Steckelberg JM, Uhl JR, et al. Prosthetic Joint Infection Diagnosis Using Broad-Range PCR of Biofilms Dislodged from Knee and Hip Arthroplasty Surfaces Using Sonication. J Clin Microbiol. nov 2012

53. Achermann Y, Vogt M, Leunig M, Wüst J, Trampuz A. Improved Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection by Multiplex PCR of Sonication Fluid from Removed Implants. J Clin Microbiol. avr 2010

54. Cazanave C, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen AD, Karau MJ, Schmidt SM, Gomez Urena EO, et al. Rapid Molecular Microbiologic Diagnosis of Prosthetic Joint Infection. J Clin Microbiol. juill 2013

55. Namdari S, Nicholson T, Abboud J, Lazarus M, Ramsey ML, Williams G, et al. Comparative study of cultures and next-generation sequencing in the diagnosis of shoulder prosthetic joint infections. J Shoulder Elbow Surg. 1 janv 2019

56. Tarabichi M, Shohat N, Goswami K, Alvand A, Silibovsky R, Belden K, et al. Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection: The Potential of Next-Generation Sequencing. JBJS. 17 janv 2018

57. Ecker DJ, Sampath R, Massire C, Blyn LB, Hall TA, Eshoo MW, et al. Ibis T5000: a universal biosensor approach for microbiology. Nat Rev Microbiol. juill 2008

58. Jacovides CL, Kreft R, Adeli B, Hozack B, Ehrlich GD, Parvizi J. Successful identification of pathogens by polymerase chain reaction (PCR)-based electron spray ionization time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF-MS) in culture-negative periprosthetic joint infection. J Bone Joint Surg Am. 19 déc 2012

59. Melendez DP, Uhl JR, Greenwood-Quaintance KE, Hanssen AD, Sampath R, Patel R. Detection of prosthetic joint infection by use of PCR-electrospray ionization mass spectrometry applied to synovial fluid. J Clin Microbiol. juin 2014

60. Greenwood-Quaintance KE, Uhl JR, Hanssen AD, Sampath R, Mandrekar JN, Patel R. Diagnosis of prosthetic joint infection by use of PCR-electrospray ionization mass spectrometry. J Clin Microbiol. févr 2014

61. Walter G, Vernier M, Pinelli PO, Million M, Coulange M, Seng P, et al. Bone and joint infections due to anaerobic bacteria: an analysis of 61 cases and review of the literature. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1 août 2014

62. Rieber H, Frontzek A, Jerosch J, Alefeld M, Strohecker T, Ulatowski M, et al. Periprosthetic joint infection caused by anaerobes. Retrospective analysis reveals no need for prolonged cultivation time if sensitive supplemented growth media are used. Anaerobe. avr 2018

63. Brook I. Microbiology and management of joint and bone infections due to anaerobic bacteria. J Orthop Sci Off J Jpn Orthop Assoc. mars 2008

64. Anaerobic osteomyelitis and arthritis in a military hospital: A 10-year experience. Am J Med. 1 janv 1993

65. Anaerobic Spondylodiscitis: Case Series and Systematic Review. South Med J, 2005

66. *Bacteroides fragilis* Vertebral Osteomyelitis: Case Report and a Review of the Literature. South Med J, 2007

67. Spondylodiscitis due to Propionibacterium acnes: report of twenty-nine cases and a review of the literature. Clin Microbiol Infect. 1 avr 2010

68. Chen Z, Cao P, Zhou Z, Yuan Y, Jiao Y, Zheng Y. Overview: the role of Propionibacterium acnes in nonpyogenic intervertebral discs. Int Orthop. 1 juin 2016

69. Latta TN, Mandapat AL, Myers JP. Anaerobic Spondylodiscitis due to Fusobacterium Species: A Case Report Review of the Literature. Case Rep Infect Dis. 2015

70. van Duijvenbode DC, Kuiper JWP, Holewijn RM, Stadhouder A. Parvimonas micra Spondylodiscitis: A Case Report and Systematic Review of the Literature. J Orthop Case Rep. 2018

71. Microbiology of osteomyelitis in diabetic foot infections. J Foot Ankle Surg. 1 janv 1995

72. Charles PGP, Uçkay I, Kressmann B, Emonet S, Lipsky BA. The role of anaerobes in diabetic foot infections. Anaerobe. août 2015

73. Shah NB, Tande AJ, Patel R, Berbari EF. Anaerobic prosthetic joint infection. Anaerobe. déc 2015

74. B W, B T, M D, P L, C L. A 7-year retrospective review from 2005 to 2011 of Propionibacterium acnes shoulder infections in Ottawa, Ontario, Canada. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2013

75. Achermann Y, Sahin F, Schwyzer HK, Kolling C, Wüst J, Vogt M. Characteristics and outcome of 16 periprosthetic shoulder joint infections. Infection. 1 juin 2013

76. Mf L, P B, A F, C C, A C, Ac V, et al. Arthroplastic and osteosynthetic infections due to Propionibacterium acnes: a retrospective study of 52 cases, 1995-2002. European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2005

77. Achermann Y, Goldstein EJC, Coenye T, Shirtliff ME. Propionibacterium acnes: from Commensal to Opportunistic Biofilm-Associated Implant Pathogen. Clin Microbiol Rev. juill 2014

78. Levy P-Y, Fenollar F, Stein A, Borrione F, Raoult D. Finegoldia magna: A Forgotten Pathogen in Prosthetic Joint Infection Rediscovered by Molecular Biology. Clin Infect Dis. 15 oct 2009

79. Söderquist B, Björklund S, Hellmark B, Jensen A, Brüggemann H. Finegoldia magna Isolated from Orthopedic Joint Implant-Associated Infections. J Clin Microbiol. nov 2017

80. Shah N, Osmon D, Tande AJ, Steckelberg J, Sierra R, Walker R, et al. Clinical and Microbiological Characteristics of Bacteroides Prosthetic Joint Infections. J Bone Jt Infect. 19 mars 2017

81. Jc RD, P GR, B GH, Aa QS, Mb BV, M F-S. Fusobacterium nucleatum prosthetic hip infection: Case report and review of the literature of unusual anaerobic prosthetic joint infection. Anaerobe. 2018

82. Schaedler RW, Dubos R, Costello R. THE DEVELOPMENT OF THE BACTERIAL FLORA IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF MICE. J Exp Med. 1 juill 1965

83. Protocole d'antibiothérapie hébergement septique Clinique d'Orthopédie-Traumatologie, CHU Lille

84. Malizos K, Sarma J, Seaton RA, Militz M, Menichetti F, Riccio G, et al. Daptomycin for the treatment of osteomyelitis and orthopaedic device infections: real-world clinical experience from a European registry. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2016

85. Isnard C, Dhalluin A, Malandain D, Bruey Q, Auzou M, Michon J, et al. In vitro activity of novel anti-MRSA cephalosporins and comparator antimicrobial agents against staphylococci involved in prosthetic joint infections. J Glob Antimicrob Resist. juin 2018

86. Zhanel GG, Kosar J, Baxter M, Dhami R, Borgia S, Irfan N, et al. Real-life experience with ceftobiprole in Canada: Results from the CLEAR (CanadianLEadership onAntimicrobialReal-life usage) registry. J Glob Antimicrob Resist. 1 mars 2021

87. Matt M, Duran C, Courjon J, Lotte R, Moing VL, Monnin B, et al. Dalbavancin treatment for prosthetic joint infections in real-life: a national cohort study and literature review. J Glob Antimicrob Resist. 1 juin 2021

88. Buzón-Martín L, Zollner-Schwetz I, Tobudic S, Cercenado E, Lora-Tamayo J. Dalbavancin for the Treatment of Prosthetic Joint Infections: A Narrative Review. Antibiotics. 31 mai 2021

89. Rubens-Duval B. DIU IOA-Traitement chirurgical des Ostéomyélites / Ostéites -.2018

90. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJG, Armstrong DG, et al. 2012 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections. Clin Infect Dis. 15 juin 2012

91. Recommandations : Antibioprophylaxie en chirurgie et médecine interventionnelle, 2017, SFAR

92. Recommandations : Gestion préoperatoire du risque infectieux, 2013, SF2H

93. AVIS N° 2018-02/SF2H du 23 mars 2018 relatif au traitement d'air au bloc opératoire pour la prévention du risque infectieux en chirurgie.

94. Minassian AM, Newnham R, Kalimeris E, Bejon P, Atkins BL, Bowler IC. Use of an automated blood culture system (BD BACTEC^{TM}) for diagnosis of prosthetic joint infections: easy and fast. BMC Infect Dis. 4 mai 2014

95. J B, E T, S S. Isolation of clinically significant microorganisms from prosthetic joint tissue using BacT/ALERT paediatric blood culture bottles compared with solid culture media and enrichment broth. Pathology. 2020

96. A H-H, E S. Diabetic foot osteomyelitis. Diabetes & metabolism. 2008

97. Microbiologic epidemiology depending on time to occurrence of prosthetic joint infection: a prospective cohort study. Clin Microbiol Infect. 1 mars 2019

98. Bacterial epidemiology of osteoarticular infections in a referent center: 10-year study. Orthop Traumatol Surg Res. 1 oct 2013

99. Rapport de l'Observatoire National d'Epidémiologie et Résistance Bactérienne en France - 2018.

100. Almuhayawi M, Altun O, Abdulmajeed AD, Ullberg M, Özenci V. The Performance of the Four Anaerobic Blood Culture Bottles BacT/ALERT-FN, -FN Plus, BACTEC-Plus and -Lytic in Detection of Anaerobic Bacteria and Identification by Direct MALDI-TOF MS. PLOS ONE. 10 nov 2015

101. Mueller-Premru M, Jeverica S, Papst L, Nagy E. Performance of two blood culture systems to detect anaerobic bacteria. Is there any difference? Anaerobe. juin 2017

102. Palarasah Y, Skjoedt M-O, Vitved L, Andersen TE, Skjoedt K, Koch C. Sodium polyanethole sulfonate as an inhibitor of activation of complement function in blood culture systems. J Clin Microbiol. mars 2010

103. Graves MH, Morello JA, Kocka FE. Sodium polyanethol sulfonate sensitivity of anaerobic cocci. Appl Microbiol. juin 1974

104. Ziegler R, Johnscher I, Martus P, Lenhardt D, Just H-M. Controlled Clinical Laboratory Comparison of Two Supplemented Aerobic and Anaerobic Media Used in Automated Blood Culture Systems To Detect Bloodstream Infections. J Clin Microbiol. mars 1998

105. A novel intraoperative technique seeding morselized bone tissue into pediatric blood culture bottles improves microbiological diagnosis in patients with foot and ankle osteomyelitis. J Orthop Sci. 1 mai 2020

Université de Lille

FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Année Universitaire 2020/2021

Nom : Maubaret

Prénom : Clara

Titre de la thèse : Documentation microbiologique des infections ostéo-articulaires : Comparaison des performances de deux flacons d'hémoculture pour la détection des bactéries anaérobies.

Mots-clés : Infections ostéo-articulaires – Diagnostic microbiologique – Bactéries anaérobies – Flacons d'hémoculture.

Résumé : Les infections ostéo-articulaires sont en augmentation en raison du vieillissement de la population. Leur diagnostic microbiologique est délicat et doit faire face à plusieurs problématiques (biofilm, bactéries à croissance lente, bactéries intra-cellulaires). L'utilisation des flacons d'hémocultures a montré être un outil efficace pour augmenter la sensibilité de ce diagnostic. Néanmoins, les performances des flacons semblent disparates pour les bactéries anaérobies. Dans ce travail, nous avons dans un premier temps décrit l'épidémiologie locale des IOA sur l'année 2020. Puis, nous avons effectué un travail expérimental de comparaison de performances à partir d'une collection de souches anaérobies du CH de Valenciennes, en inoculant deux quantités différentes dans le flacon BD Bactec/Lytic™ et le flacon Biomérieux FN®. Dernièrement, nous avons comparé le flacon BD qui semblait le plus performant avec la méthode de référence utilisée au laboratoire, le bouillon Rosenow, pour la détection de bactéries anaérobies à partir de prélèvements cliniques. L'épidémiologie locale recueillie reflète l'épidémiologie nationale avec quelques nuances dont une majorité d'infections polymicrobiennes, une faible proportion de SARM (11.1%) et un recrutement important d'ostéite du pied. Concernant les performances, le flacon BD semble présenter une meilleure détection des bactéries à Gram positif et notamment *C. acnes*, anaérobie principal des IOA. Enfin, le flacon BD semble détecter une diversité plus importante de microorganismes anaérobies par rapport au bouillon Rosenow. A la suite de ce travail, le laboratoire du CH de Valenciennes a mis en place l'utilisation des flacons BD pour le diagnostic microbiologique des IOA.

<u>Membres du jury</u> :
Présidente : Madame le Professeur Anne Goffard, PU-PH, CHU Lille

Assesseurs : Madame le Docteur Caroline Loiez, Praticien hospitalier, CHU Lille
Monsieur le Docteur Nicolas Ettahar, Praticien Hospitalier, CH de Valenciennes
Monsieur le Professeur Eric Senneville, PU-PH, CH Tourcoing

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Christian Cattoen, Praticien Hospitalier, CH de Valenciennes