

Mise au point

INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES : APPORT DE L'EXAMEN BACTERIOLOGIQUE

Andrianarivelo A. M¹, Ravaoaraisaina Z. M^{2*}, Razanadrakoto I. I², Rasamindrakotroka A³

1. Ancien Chef de Travaux en Bactériologie-Virologie, Service Bactériologie CHU Joseph Ravoahangy Andrianavalona, Antananarivo.
2. Interne en Biologie Médicale, Service de Bactériologie CHU Joseph Ravoahangy Andrianavalona, Antananarivo.
3. Professeur titulaire en Biologie Médicale, Laboratoire de Biologie Médicale Université d'Antananarivo.

RESUME

Les infections ostéo-articulaires (IOA) sont des pathologies regroupant les infections atteignant l'os et l'articulation dont l'origine est diverse pouvant être native (communautaire, hémotogène), sur matériel ou iatrogène (nosocomiale), et enfin vasculaire (chez le diabétique). La fiabilité de la documentation microbiologique des IOA dépend de la qualité des prélèvements, des modalités de leur transport jusqu'au laboratoire et des techniques utilisées au laboratoire. Des mesures sont à respecter afin d'assurer la fiabilité et la précision des examens bactériologiques.

Suivant la prescription, différents types de prélèvements peuvent être réalisés : les prélèvements superficiels, les prélèvements profonds, les hémocultures ou d'autres prélèvements sur des sites susceptibles d'être un réservoir des bactéries infectantes. Après une préparation cutanée antiseptique rigoureuse, tous les prélèvements à visée bactériologique doivent se faire avant toute antibiothérapie (prophylactique ou thérapeutique). Les prélèvements doivent parvenir à température ambiante, le plus rapidement possible au laboratoire (délai moins de 2 heures avec un maximum de 4 heures) à + 20°C dans un pot stérile sans SSI 0.009, sans compresse et sans huile. L'étiquetage des prélèvements doit être soigneux. Au laboratoire de bactériologie, tout prélèvement ostéo-articulaire doit être considéré comme un prélèvement précieux car l'isolement

d'une bactérie dans ce type de prélèvement peut avoir des conséquences lourdes pour le malade, mais également pour le médecin traitant.

Mots clés : Bactériologie, infection ostéo-articulaire, prélèvement.

ISSN : 2706-6843

INTRODUCTION

Les infections ostéo-articulaires (IOA) sont des pathologies regroupant les infections atteignant l'os et l'articulation dont l'origine est diverse pouvant être native (communautaire, hémotogène), sur matériel ou iatrogène (nosocomiale), et enfin vasculaire (chez le diabétique) [1]. L'intérêt de cette revue de la littérature réside dans le fait que la phase pré-analytique de ces prélèvements précieux peut influencer la fiabilité de la documentation microbiologique alors que ces infections sont graves et de traitement difficile. La fiabilité de la documentation microbiologique des IOA dépend de la qualité des prélèvements, des modalités de leur transport jusqu'au laboratoire et des techniques utilisées au laboratoire [2]. Il y a des mesures spécifiques à respecter afin d'assurer la fiabilité et la précision des examens bactériologiques au cours des infections ostéo-articulaires.

PHASE PRE-ANALYTIQUE

La phase pré-analytique se définit comme une série d'étapes précédant l'analyse.

La prescription

La prescription constitue l'une des premières étapes. Il s'agit d'une demande d'examen microbiologique indiquée devant toute suspicion d'infection ostéo-articulaire qu'elle soit aiguë ou chronique, primitive ou sur matériel. Cette demande ne sera effectuée que devant toute indication d'un prélèvement ostéo-articulaire [3]. Différents prélèvements sont apportés au laboratoire, mais tous n'ont pas la même importance. Une feuille de renseignement doit les accompagner, précisant : l'identité du malade, le service demandeur, le chirurgien et/ou le médecin en charge du patient, la date et l'heure des prélèvements, la localisation du site prélevé, la nature des prélèvements et l'existence ou non d'une antibiothérapie, ainsi que tout autre renseignement utile à la qualité de l'analyse et à la validation des résultats.

Les prélèvements

Différents types de prélèvements existent. Les prélèvements superficiels concernent les liquides de drain, du flacon de Redon, le pus des fistules. Vu qu'il y a un grand risque de contamination par la flore cutanée, ce type de prélèvement expose aux errances diagnostiques. Les prélèvements profonds intéressent les pus profonds, les séquestres osseux, les liquides articulaires, les matériels d'ostéosynthèse. Les tissus qui semblent être les éléments à prélever les plus indiqués ont une valeur diagnostique indiscutable. Les hémocultures, selon les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS), constituent également une aide précieuse au diagnostic [4]. Les hémocultures doivent être prélevées impérativement au moment du pic thermique en respectant le volume de sang recommandé afin d'augmenter les chances d'isolement d'un germe. Réaliser systématiquement 2 hémocultures est recommandé afin de faciliter l'interprétation de l'isolement d'un germe commensal, en privilégiant le flacon aérobie [5]. Des prélèvements systématiques de tous les sites susceptibles d'être un réservoir des bactéries

infectantes tel au niveau de la gorge, d'une plaie, des prélèvements d'urines, de selles, ou génitaux peuvent être également effectués [2].

Les modalités de prélèvement

Après une préparation cutanée antiseptique rigoureuse, tous les prélèvements à visée bactériologique doivent être réalisés avant toute antibiothérapie dans les infections aiguës, après arrêt de toute antibiothérapie en cas de traitement en cours d'une infection chronique ou aiguë, avant l'administration d'une antibioprophylaxie, qui risque de masquer la présence de bactéries difficiles à mettre en évidence (*Propionibacterium acnes* par exemple) [3]. La fenêtre à respecter est d'au moins 15 jours et plus élargie (plus d'un mois) dans le cas où l'antibiotique utilisé est la vibramycine, la rifampicine, ou le fluoroquinolone, sinon la mention d'une prise d'antibiotique est obligatoire sur le bon de demande. Au cours de ces prélèvements, des conditions d'asepsie de type chirurgical sont fortement recommandées puisque les prélèvements sont habituellement non renouvelables. Si la quantité du prélèvement est faible ou s'il s'agit d'un prélèvement de pus, l'utilisation d'écouvillon est à proscrire du fait de la dessiccation rapide et de la durée de vie courte des bactéries fragiles ou anaérobies. Par contre, une seringue, bouchée sans l'aiguille, peut être utilisée pour permettre la survie des bactéries dans le cas d'étude cytologique et de culture [3]. Pour les ponctions articulaires, le prélèvement se fait sur une peau non infectée, avec une seringue rincée préalablement avec un anticoagulant stérile et adaptée par la suite à une aiguille de calibre suffisant pour pouvoir aspirer les liquides épais et visqueux. En cas d'inspiration non productive, il va falloir ajouter 3 ml de sérum salé isotonique, puis aspirer de nouveau tout le liquide introduit. Pour les autres prélèvements liquides, il faut prélever sur des tubes héparinés fermés hermétiquement de type Vacutainer® ou sur EDTA si on prévoit de faire une étude par biologie moléculaire par *Polymerase Chain Reaction* (PCR). En absence de tubes héparinés, on peut également ensemercer directement dans des flacons d'hémoculture aérobie et anaérobie après

désinfection soigneuse du bouchon [3]. Sinon, les prélèvements liquides peuvent être aussi prélevés par aspiration et transvasés dans un pot de prélèvement en faisant attention au risque de contamination, ou laissés dans la seringue bouchée avec un bouchon spécial type *Female Luer-lock* du laboratoire Vygon, après avoir chassé l'air [3]. Les prélèvements solides sont déposés dans des pots stériles secs ou dans des milieux de transport choisis par le laboratoire. Les pots stériles utilisés au bloc opératoire doivent être sous double emballage stérile avant utilisation pour éviter les fautes d'asepsie lors des manipulations [2]. Quelles que soient les méthodes utilisées, il faut toujours conserver quelques millilitres de liquide dans un tube sec ou seringue stérile bouchée sans aiguille pour l'examen cytologique et/ou biochimique. Concernant les prélèvements en per opératoire, des prélèvements sur des sites différents sont nécessaires. Il s'agit de liquide articulaire, d'abcès, de biopsies synoviales, de biopsies disco-vertébrales, de fragments tissulaires pathologiques (os, capsule, tissus nécrotiques, tissus d'interposition...), parfois de matériel (vis, matériel prothétique...). De multiples sites de l'ordre de 3 à 5 sites suspects différents sont indiqués tout en changeant de pinces entre 2 prélèvements. Le nombre de sites de prélèvements ne doit pas être inférieurs à 3 pour confronter les résultats afin d'éviter le risque de faux positif, ni excéder les 5 sites pour éviter le risque de faux négatif. Les prélèvements per opératoires profonds effectués avec un écouvillon doivent être abandonnés (faible quantité de prélèvement, dessèchement rapide, etc.). Ils ont globalement une faible sensibilité et une faible spécificité comparativement aux prélèvements tissulaires [6]. Après chaque prélèvement, l'identification des tubes est obligatoire avec mention du nom, date de naissance, date et heure de prélèvement, et surtout les sites anatomiques [3].

Modalités de transport

Les prélèvements doivent parvenir à température ambiante, le plus rapidement possible au laboratoire (en moins de 2 heures avec un maximum de 4 heures) à + 20°C dans un pot stérile sans SSI 0.009, sans compresse et sans huile. Si ce délai ne peut pas être respecté, des

milieux de transport appropriés permettant la survie de bactéries fragiles et/ou anaérobies (Portagerm ®) doivent être utilisés. Ces prélèvements doivent être transportés dans des contenants adaptés protégeant les prélèvements eux-mêmes, le transporteur, le secrétaire ou le technicien qui les reçoit. Les hémocultures seront également protégées du froid [3]. L'étiquetage doit être soigneux.

Sont considérés comme prélèvements incorrects l'écouvillon desséché qui ne permet pas l'isolement de la bactérie en cause, les prélèvements profonds qui parviennent au laboratoire au bout de 24 heures sans milieu de transport et les prélèvements solides baignant dans du liquide de Bouin ou dans du Formol. Une procédure doit être écrite, validée et appliquée pour assurer le transport des échantillons du bloc opératoire au laboratoire afin de respecter les règles de bonne pratique et d'être conformes à la réglementation [7].

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Tout prélèvement ostéo-articulaire doit être considéré au laboratoire comme un prélèvement précieux car l'isolement d'une bactérie dans ce type de prélèvement peut avoir des conséquences lourdes pour le malade, mais également pour le chirurgien [7].

Examen direct

Les prélèvements doivent être manipulés sous une hotte protectrice (flux laminaire ou non) par un technicien de laboratoire portant des gants stériles afin que leur préparation avant la mise en culture (broyage, sonication...) soit exempte de contamination [7]. Concernant les prélèvements liquides, la première étape est l'examen microscopique du prélèvement qui va permettre de déterminer l'aspect du liquide avant toute analyse. La deuxième étape est l'examen au microscope après coloration de Gram après cytocentrifugation, ou autres colorations spécifiques selon la demande (coloration de Ziehl Neelsen, ou coloration par Auramine). Ce premier examen permet d'avoir une orientation diagnostique de la bactérie en cause. En cas de recherche de germes positive, le résultat provisoire est communiqué sans délai aux médecins traitant pour une orientation

thérapeutique d'urgence (établissement d'une antibiothérapie probabiliste) [3].

Mise en culture

Qu'ils soient liquides ou solides, tous les prélèvements doivent être ensemencés sur des milieux riches (gélose au sang, gélose au chocolat supplémenté en polyvitamines), et dans des milieux liquides enrichis (type bouillons d'hémoculture), incubés en aérobiose et en anaérobiose de façon prolongée (au moins 5 à 10 jours) pour permettre la croissance de bactéries exigeantes de croissance lentes [7]. Les types de milieu avec leurs modes d'incubation respectifs sont la gélose au sang, incubée en aérobiose à 37°C pendant 5 jours, la gélose au sang (Columbia), incubée en anaérobiose à 37°C pendant 15 jours, la gélose au chocolat supplémentée en polyvitamines, sous 5% de CO₂ à 37°C pendant 5 jours, le bouillon d'hémoculture aérobie et anaérobie à 37°C pendant 15 jours (culture à la recherche de *Kingella kingae* et germes anaérobies). Les cultures en aérobiose doivent être observées tous les jours, alors que les cultures anaérobies toutes les 48 heures. Les bouillons sont repiqués dès qu'un trouble ou qu'une culture est observée et sont systématiquement repiqués après au moins sept jours d'incubation [3].

Identification

Différents tests d'identification des bactéries sont utilisés comme les tests enzymatiques (oxydase, catalase, coagulase,...), les tests biochimiques (galeries Api 20E, 20A ou 10S), le sérogroupage et sérotypage pour *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella*, Antigènes solubles (détection de constituants polysaccharidiques de la paroi bactérienne pour les *Streptococcus pneumoniae*, *Streptocoque Bêta- hémolitique*, *Haemophilus influenzae B*) [3] et les autres méthodes d'identification comme la biologie moléculaire par les méthodes par PCR à la recherche d'ADN 16S. C'est une méthode plus rapide que la culture, intéressante si les bactéries à rechercher sont de croissance lente ou difficile (*Kingella kingae* chez l'enfant).

Antibiogramme

L'antibiogramme est le test *in vitro* de sensibilité aux antibiotiques. Il se fait sur toutes les souches bactériennes isolées sur milieu de culture Mueller Hinton au sang ou non avec des disques d'antibiotiques adaptés selon le germe.

L'interprétation est facile lors des infections ostéo-articulaires aiguës et facilitée également par l'absence d'introduction d'antibiotique avant le prélèvement. Elle est délicate et rendue difficile dans les infections ostéo-articulaires chroniques, lors d'une prise préalable d'antibiotique ou d'une mauvaise qualité de prélèvement. Lors de ces interprétations difficiles, il faut tenir compte de la flore commensale de la peau et de la flore contaminante coexistante [8,9]. Concernant la flore commensale colonisante du revêtement cutané à l'état naturel, il y a des bactéries aérobies (*Staphylocoques* à coagulase négative, corynébactéries, *Acinetobacter*, *Neisseria* non pathogènes, *Aerococcus*), des bactéries anaérobies (*Propionibacterium acnes*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*). Concernant la flore bactérienne contaminante coexistante, il y a les bactéries de l'environnement (*Pseudomonas sp*, *Acinetobacter sp*), les bactéries des flores digestive, génito-urinaire et buccale, les bactéries colonisantes d'orifice naturel : *Staphylococcus aureus* [8,9].

Pour l'interprétation des résultats de culture positive, l'infection est dite véritable si plusieurs prélèvements sont positifs avec les mêmes bactéries de mêmes phénotypes de résistance aux antibiotiques. Une infection est probable si un ou deux prélèvements sont positifs mais une confrontation bactériologique, anatomo-pathologique, clinique, radiologique et chirurgicale sont utiles. Une probable contamination est évoquée si un seul prélèvement est positif avec un seul milieu de culture positif sur plusieurs effectués. Un résultat est ininterprétable si un seul prélèvement est positif sur un seul prélèvement effectué [3].

Devant une culture négative, il faut recourir à la biologie moléculaire à la recherche de germes de culture difficile ou à croissance lente à la

recherche d'ADN ribosomal 16S ou ARN ribosomal 16S commun à toutes les bactéries par PCR universelle ou PCR ciblée spécifique d'une espèce (exemple recherche de *Kingella kingae* chez l'enfant de moins de 4 ans) [10]. Le diagnostic des infections à *K. kingae* par culture de prélèvements ostéo-articulaires est peu rentable et bénéficie de l'apport majeur de la PCR, dont le rendement est 5 à 10 fois supérieur; celle-ci peut être réalisée à partir des liquides du flacon de Redon, même après le début de l'antibiothérapie, mais apparaît peu contributive à partir du sang. Un simple prélèvement oropharyngé permet d'isoler la souche dans près de 70 % des cas d'arthrite à *K. kingae*, et de réaliser un antibiogramme [11].

Le rendu des résultats peut se faire en plusieurs temps. La première communication de résultat peut se faire après la réalisation de l'examen direct à J0 et ensuite, après la primoculture à J2. Pour le bouillon enrichi c'est s à partir du J4. Les hémocultures et culture en anaérobiose ou cultures de germes à croissance lente peut s'étendre vers J15. Ainsi les résultats négatifs ne seront jamais déclarés avant le 15^{ème} jours. Le risque de l'examen bactériologique de ces prélèvements ostéo-articulaires est d'obtenir des résultats erronés qui auront de lourdes conséquences thérapeutiques et cliniques donc sur l'évolution des patients.

Un bon résultat dépend de la qualité du prélèvement, des modalités de transport, de la prise en charge au laboratoire, des faux négatifs qui engendrent une persistance ou récurrence de l'infection et des faux positifs qui engendrent une antibiothérapie prolongée de façon abusive ou une reprise chirurgicale injustifiée [3].

CONCLUSION

Il est nécessaire d'être exigeant dans la qualité des prélèvements qui parviennent au laboratoire et très rigoureux dans la méthodologie, de disposer dans le laboratoire de microbiologie d'une infrastructure qui permet de manipuler les prélèvements profonds sans courir le risque de les contaminer et de faire cultiver des bactéries exigeantes et lentes à pousser. N'importe quelle bactérie peut être responsable d'une infection ostéo-articulaire surtout en présence de matériel étranger, mais la réalité de l'infection ne sera

acceptée qu'à la condition qu'elle ait été isolée dans plusieurs prélèvements de qualité. Tout ceci offre au médecin traitant la possibilité de traiter l'infection selon le germe réellement en cause. Les prélèvements bactériologiques pour le diagnostic d'une infection ostéo-articulaire représentent souvent un véritable défi pour le microbiologiste. En effet, si dans les infections aiguës, la culture est souvent rapide et le pathogène facilement identifiable, il en est tout autrement dans les infections chroniques. Seule l'expérience du bactériologiste, sa mise en alerte par tous les renseignements qui lui auront été donnés, peuvent permettre l'isolement du ou des microorganismes en cause. Toutefois, une collaboration entre cliniciens, chirurgiens, radiologues, anatomo-pathologistes et microbiologistes est indispensable pour une confrontation pluridisciplinaire de la véracité du diagnostic.

* **Auteur correspondant** : RAVAOARISAINA
Zakaso Mbololona
Mail : zakaso.ravaoarisaina@yahoo.com
Adresse actuel : Service de Biologie, CHU
Ambohimandra
Antananarivo

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Carek PJ, Dickerson LM, Sack JL. Diagnosis and management of osteomyelitis. Am Fam Physician. 2001; 63(12): 2413-2.
2. Desplace N. Diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires : les pièges à éviter. Feuilles de Biologie. 2014; LV (321) : 5 -13.
3. Société Française de Microbiologie. Diagnostic microbiologique des infections osseuses et articulaires. In : REMIC 4^{ème} édition ; 2010 : 165-70.
4. Recommandation Haute Autorité de Santé. Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation. 2014.
5. Ferroni A, Péjin Z, Odent T, Cadilhac C, Berche P, Glorion C. The role of the microbiologist in the diagnosis of

- pediatric osteoarticular infections. Arch Pédiatr. 2010; 17:766-7.
6. Aggarwal VK, Higueira C, Dermangian G, Parvizi J, Austin MS. Swab cultures are not as effective as tissue cultures for diagnosis of periprosthetic joint infections. Clin Orthop Relat Res. 2013; 471: 3196-203.
 7. Carsenti Dellamonica H, Archambaud M, Desplaces N. Microbiological pitfalls in the diagnostic of bone and joint infections. Med Mal Infect. 2005; 35: 129- 3.
 8. Sharp S. Commensal and pathogenic microorganisms of humans. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, éd. Manuel of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology 1999; 23-32.
 9. Lavigne IP, Jourdan N, Dereure O, Michaux-Charachon S. Complications infectieuses de plaies: revue de la littérature. JPC. 2003; 38 : 7-13.
 10. Cherkaoui A, Ceroni D, Ferey S, Emonet S, Schrenzel J. Infections ostéo-articulaires septiques à culture négative chez l'enfant : avez-vous pensé à *Kingella kingae* ? Rev Med Suisse 2009; 2235-39.
 11. Basmaci R, Bidet P, Bonacorsi S. *Kingella kingae*, premier germe des infections ostéo-articulaires de l'enfant. Feuillet de Biologie. 2013 ; LV (315) : 15 – 23.