

Diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires : les pièges à éviter

N. DESPLACES¹

RÉSUMÉ

Le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires est généralement considéré comme un exercice difficile pour le laboratoire de biologie médicale. Cependant, il est absolument indispensable d'établir un diagnostic fiable pour permettre de traiter efficacement ces infections qui sont responsables de séquelles fonctionnelles souvent lourdes et onéreuses, et qui peuvent survenir à tous les âges de la vie. Les bactéries en cause sont des pathogènes reconnus, mais également des bactéries commensales ou saprophytes qui tirent profit de la présence d'un matériel étranger ou d'un statut immunitaire déficient du patient. Qu'elle soit aiguë ou chronique, associée ou non à la présence de matériel, hématogène, post-traumatique ou post-opératoire, le diagnostic microbiologique d'une infections ostéo-articulaire repose sur la mise en évidence, dans plusieurs prélèvements, des mêmes bactéries (même identification et même antibiogramme). Pour « techniquer » ces prélèvements précieux, en particulier les prélèvements per-opératoires profonds, le laboratoire doit avoir mis en place des protocoles permettant d'en optimiser la culture sans risquer de les contaminer.

MOTS-CLÉS : infections ostéo-articulaires, diagnostic microbiologique, prélèvements, techniques microbiologiques, *Staphylococcus*, *Propionibacterium acnes*.

I. - INTRODUCTION

La documentation bactériologique des infections ostéo-articulaires (IOA) hématogènes, post-traumatiques ou post-opératoires, avec ou sans matériel, et la détermination de l'activité des antibiotiques sur les bactéries en cause, constituent deux étapes indispensables pour le diagnostic bactériologique et le traitement optimal de ces infections délabrantes pouvant survenir à tous les âges de la vie. L'infection peut être aiguë ou chronique, les bactéries responsables faciles à isoler et à identifier, ou au contraire difficiles à mettre en évidence en raison d'exigences particulières.

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.

Malheureusement, malgré des efforts récents, les méthodes de culture des prélèvements et les critères microbiologiques permettant de différencier bactéries « pathogènes » et bactéries « contaminantes », restent imparfaitement standardisés.

II. - LES PRÉLÈVEMENTS

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, 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.

A) Prélèvements superficiels

L'écouvillonnage d'une fistule (Figure 1) ou d'une cicatrice désunie permet d'isoler des bactéries cutanées dont l'intérêt pathologique est discutable et ne devrait pas être effectué. Le résultat peut induire en erreur et n'a aucune valeur décisionnelle raisonnable sauf peut être si une

¹ Laboratoire de biologie médicale, CRIOA Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint-Simon, 125 rue d'Avron, 75960 Paris Cedex 20.

souche de *Staphylococcus aureus* est isolée (1). S'ils sont tout de même « techniques », une réserve doit être émise sur le compte rendu du résultat.

Les prélèvements superficiels peuvent être à l'origine d'erreurs diagnostiques qu'il n'est pas nécessaire de provoquer.

B) Prélèvements profonds

Ces prélèvements sont précieux et ont une valeur indiscutable.

Après une préparation cutanée antiseptique rigoureuse, ils doivent être réalisés à distance de toute antibiothérapie (au moins quinze jours après l'arrêt d'une antibiothérapie) et avant l'administration d'une antibio-prophylaxie, qui risque de masquer la présence de bactéries difficiles à mettre en évidence (*Propionibacterium acnes* par exemple).

Prélevés lors d'une intervention, il s'agit de liquides de **ponction 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...).

Plusieurs prélèvements doivent être effectués pour confronter les résultats (voir plus loin).

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 (2).

C) Autres prélèvements

Lorsqu'il s'agit d'une infection aiguë, l'agent pathogène doit être recherché avant toute antibiothérapie, non seulement au niveau du site infecté mais également dans le sang et d'autres liquides ou sites : urines, selles, peau, sphère ORL, voies génitales, etc. Il sera trop tard pour identifier une éventuelle porte d'entrée lorsque la bactérie aura été isolée des prélèvements profonds per-opératoires et l'antibiothérapie débutée depuis 48 heures.

D) Modalités de transport

Les prélèvements ostéo-articulaires doivent parvenir au laboratoire à température ambiante, le plus rapidement possible et en tout cas moins de deux heures après avoir été effectués. Si ce délai ne peut pas être respecté, il faut utiliser des milieux de transport appropriés permettant la survie de bactéries fragiles ou anaérobies (milieux Amies ou Stuart).

Ces prélèvements sont transportés dans des contenants adaptés protégeant les prélèvements eux-mêmes, le transporteur, la secrétaire ou le technicien qui les reçoit.

Les modalités du transport de ces prélèvements doivent avoir été déterminées dans un protocole signé par les intervenants, afin de respecter les règles de bonne pratique et d'être conformes à la réglementation.



Fig. 1 - Fistule d'une ostéite chronique.

Les prélèvements liquides prélevés par aspiration peuvent être transvasés dans un pot de prélèvement (mais attention au risque de contaminer le prélèvement), laissés dans la seringue bouchée avec un bouchon spécial (ex. : Female Luer-lock Ref 888.06, Vygon) après avoir chassé l'air, ou ensemencés directement dans des flacons d'hémocultures aérobie et anaérobie après désinfection soignée du bouchon des flacons et en ayant soin de conserver quelques millilitres du prélèvement pour qu'un examen cytologique et/ou biochimique soit possible.

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.

III. - ÉTUDE DES PRÉLÈVEMENTS AU LABORATOIRE

A) Règles de bases

Les prélèvements doivent être ensemencés dans un **poste de sécurité microbiologique de type II (PSM II)** (hotte permettant la protection du manipulateur et du

produit manipulé) par un technicien de laboratoire portant une **tunique à manches longues à usage unique**, des **gants stériles** recouvrant l'extrémité des manches afin que leur préparation avant la mise en culture soit exempte de contamination cutanée ou salivaire. En effet, dans les infections chroniques, à côté des bactéries pathogènes reconnues (*S. aureus*, streptocoques bêta-hémolytiques...), de nombreuses bactéries commensales (staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries,...) peuvent également être responsables d'IOA surtout lorsque du matériel étranger est ou a été mis en place. Le caractère pathologique des bactéries isolées est authentifié par leur présence dans plusieurs prélèvements profonds (voir plus loin) si elles ont le même antibiogramme.

Au total, la prise en charge des prélèvements requiert le matériel suivant (hors milieux de culture) :

- PSM II
- Cytocentrifugeuse
- Centrifugeuse
- Broyeur
- Microscope avec polarisation
- Loupe binoculaire avec éclairage incident
- Matériel à usage unique
- Casaque en non tissé à usage unique à manches longues
- Gants stériles

B) Choix des milieux de culture

Il n'existe pas dans la littérature d'étude comparant les différents milieux de culture qu'il est possible d'utiliser pour ensemer des prélèvements ostéo-articulaires. Cependant, qu'ils soient liquides ou solides, tous les prélèvements ostéo-articulaires doivent être ensemerés sur des milieux riches, utilisés habituellement au laboratoire pour permettre la croissance de bactéries très exigeantes.

Sont recommandés les milieux suivants :

- Gélose au sang en aérobie.
- Gélose chocolat supplémentée en polyvitamines, sous 5 % de CO₂.
- Gélose au sang (ou gélose Columbia) en anaérobiose.
- Des milieux liquides enrichis en facteurs de croissance, type flacons d'hémocultures aérobie **et** anaérobie.

À noter que les milieux d'enrichissement en tube (ex. : Rosenow ou Schaedler) n'ont pas la même composition que les milieux d'hémocultures, plus riches.

Les milieux gélosés peuvent être ensemerés en double de façon à examiner les géloses en décalé et éviter les contaminations croisées.

C) Incubation des milieux de culture

Traditionnellement, les cultures en aérobie étaient incubées pendant 4 jours et les cultures anaérobies pendant 7 jours, et on considérait que prolonger l'incubation des boîtes au-delà favorisait la croissance de contaminants. Plus

ieurs études récentes ont brisé ce dogme. Une incubation prolongée de 14 jours est maintenant recommandée pour permettre la mise en évidence des bactéries exigeantes, de croissance lente, en général des bactéries anaérobies mais également de *P. acnes*, bactérie anaérobie aéro-tolérante très capricieuse (3, 4).

Les cultures sur gélose en aérobie et sous CO₂ doivent être observées tous les jours et les cultures anaérobies toutes les 48 heures ; les bouillons d'enrichissement sont repiqués dès qu'un trouble ou qu'une culture est observée. Il est intéressant d'utiliser des flacons transparents et non translucides ; les flacons sont systématiquement repiqués au terme du délai d'incubation (ou davantage sur indication particulière) sur les mêmes milieux de culture gélosés et incubés 48 heures supplémentaires.

Bien que globalement très performants, et même en prolongeant l'incubation 14 jours, les flacons d'hémocultures aérobie et anaérobie incubés dans leur automate ne permettent pas toujours la croissance, ou la détection, de certaines bactéries à croissance lente (*Peptostreptococcus*, *P. acnes* par exemple). Les flacons nécessitent alors un repiquage systématique.

Toutefois, il ne faut pas repiquer les bouillons d'enrichissement trop précocement s'ils ne sont pas à l'évidence positifs, car le risque de les contaminer est important. Plus on repique un bouillon, plus le risque d'isoler secondairement une bactérie sans intérêt pathologique est important. **Moins les prélèvements sont manipulés, moins on risque de les contaminer.**

La culture des mycobactéries n'est pas faite systématiquement. Elle peut l'être sur un liquide articulaire, à l'initiative du biologiste. Sur les prélèvements solides, la recherche des mycobactéries doit être demandée par le prescripteur, conformément à la nomenclature générale des actes de biologie médicale.

D) Étude du liquide articulaire

Le volume et l'aspect du liquide doivent être indiqués.

Sont réalisées :

- une numération des éléments à la cellule,
- une formule des éléments après coloration de May-Grünwald-Giemsa d'un frottis du liquide ou mieux après cytocentrifugation,
- la recherche de cristaux de pyrophosphate de calcium ou d'acide urique en contraste de phase ou en polarisation, et éventuellement de corps étrangers réfringents si le laboratoire dispose d'un microscope à polarisation,
- une coloration de Gram sur un frottis du liquide ou mieux après cytocentrifugation, avec recherche de bactéries,
- des colorations spéciales (Ziehl-Neelsen, auramine, ...) sur orientation clinique.

L'examen cytologique des liquides articulaires est indispensable à l'interprétation des résultats (**Tableau I**) et per-

Tableau I - Comparaison des valeurs seuils du nombre de leucocytes et du pourcentage de polynucléaires neutrophiles pour suspecter/prédire une infection articulaire.

	Articulation native		Articulation prothésée		
	Normal	Infection	PT hanche Schinsky (5)	PT genou Ghanem (6) Trampuz (7)	
Leucocytes/mm ³	< 2 000	> 50 000	> 4 200	> 1 100	1 700
Sensibilité			84 %	90,7 %	94 %
Spécificité			93 %	88,1 %	88 %
PNN	< 25 %	> 90 %	80 %	> 64 %	65 %
Sensibilité			84 %	95 %	97 %
Spécificité			82 %	94,7 %	90 %

PNN : polynucléaires neutrophiles.

met de prolonger la durée des cultures en cas d'arguments cytologiques, cliniques et radiologiques en faveur d'une infection certaine et de prélèvements négatifs. Le nombre de leucocytes et le pourcentage de polynucléaires neutrophiles dans les infections sur prothèses de hanche est moins bien déterminé que pour les prothèses de genou ; la valeur seuil de 4 200 leucocytes/mm³, la seule validée à ce jour, est sans doute trop élevée. Il est également important de signaler que *P. acnes* et *Corynebacterium jeikeium* sont généralement associés à un nombre de leucocytes < 1 000 /mm³ (7).

Dans de rares cas d'infection aiguë, l'examen au Gram permet un choix thérapeutique en urgence.

E) Étude des prélèvements solides

L'examen cytologique peut être effectué sur un frottis par écouvillonnage du prélèvement avant broyage (mais risque de contamination du prélèvement), car le broyage du prélèvement ne permet plus d'identifier les cellules. Plusieurs frottis sont préparés sur des lames pour coloration par :

- le May-Grünwald-Giemsa pour l'examen cytologique,
- le Gram pour la recherche de bactéries, ce qui va parfois permettre une orientation thérapeutique en urgence,
- sur demande particulière, le Ziehl-Neelsen ou l'auramine pour la recherche des mycobactéries.

Les prélèvements tissulaires doivent être broyés, soit dans un mortier stérile sous PSM II, en s'aidant de pilons stériles et de bistouris stériles à usage unique (mais risque d'accident d'exposition à des produits biologiques), soit en utilisant un broyeur, dont il existe différents types. Le broyat obtenu doit ressembler à de la « purée ». Il est aspiré dans une seringue montée sur une aiguille mousse (ex. : BD Blunt Fill Needle 18G) pour être ensemencé sur les milieux de culture et dans les bouillons d'enrichissement (sans ouvrir le flacon anaérobie).

F) Sonication du matériel

Il est possible de traiter le matériel étranger (vis, plaque, pièces prothétiques) aux ultra-sons (Figures 2 et 3) pour



Fig. 2 - Sonication de matériel prothétique.



Fig. 3 - Prélèvement du sonicat.

mettre en évidence des bactéries prisonnières du biofilm. Le matériel à analyser est déposé dans des conteneurs adaptés, solides (de préférence aux sacs qui peuvent avoir des fuites), dans lesquels du liquide de Ringer a été ajouté en salle d'opération par la panseuse (volume variable en fonction du volume du matériel). La sonication est brève, 5 minutes à 50 Hz (6, 8). La Mayo Clinic recommande que la sonication soit précédée et suivie par 30 secondes d'homogénéisation au vortex (9). Le sonicat est ponctionné/aspiré puis 0,5 ml est ensemencé uniquement sur

les milieux solides, de façon à éviter la croissance d'un contaminant dans les milieux liquide d'enrichissement.

Il est également possible de centrifuger le sonicat dans un tube conique (3 150 x g pendant 5 minutes) et d'ensemencer 0,1 ml du culot de centrifugation.

Le nombre de colonies permettant d'établir que la bactérie isolée est bien responsable de l'infection, n'est pas clairement établi. Ce nombre dépend du germe en cause et des conditions expérimentales : 1 à 10 unités formant colonies (UFC) sans centrifugation et 200 UFC après centrifugation du sonicat (9, 10).

La majorité des études publiées démontrent que la culture du sonicat est plus sensible que celle des prélèvements tissulaires.

Après coloration d'un frottis de sonicat au Gram, les bactéries sont souvent visibles (Figure 4).

IV. - RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

A) Dans les infections aiguës

L'examen direct du frottis de pus coloré par le Gram révèle la présence de nombreux polynucléaires neutrophiles plus ou moins altérés et permet dans la majorité des cas d'identifier la bactérie responsable en quelques minutes (Figure 5).

Les cultures sont généralement positives en 24 heures. Les colonies sont monomorphes et les pathogènes les plus souvent isolés sont :

- *S. aureus*,
- les streptocoques bêta-hémolytiques des groupes B, C, G, ou A, ou les streptocoques du groupe *milleri*,
- plus rarement : entérobactéries, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pneumoniae*...

L'antibiogramme est obtenu 24 heures plus tard. Il est possible de mettre en évidence par PCR une résistance à l'oxacilline voire la présence d'une bactérie multi-résistante (BMR) dans le prélèvement en cas de suspicion (ex. : système GeneXpert).

La recherche de toxines

Dans certaines infections particulièrement graves, il est possible d'adresser la souche de *S. aureus* ou de *Streptococcus pyogenes* dans des laboratoires spécialisés (centres nationaux de référence), pour effectuer la recherche de gènes codant pour des toxines : TSST-1, entérotoxines, cyto-toxines (PVL), exfoliatines, etc.

B) Dans les infections chroniques

En raison du faible nombre de bactéries, du biofilm, et probablement du caractère hétérogène du processus infectieux, la mise en évidence à l'examen direct de polynucléaires neutrophiles et de bactéries est le plus souvent négative.

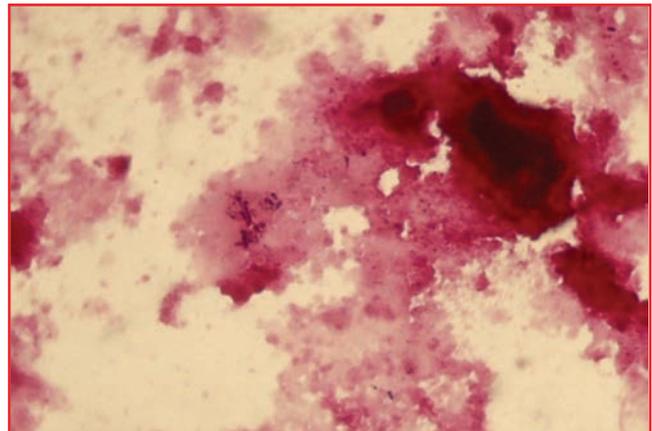


Fig. 4 - Coloration de Gram sur sonicat. Présence de bactéries à Gram positif dans des débris (*P. acnes* en culture).

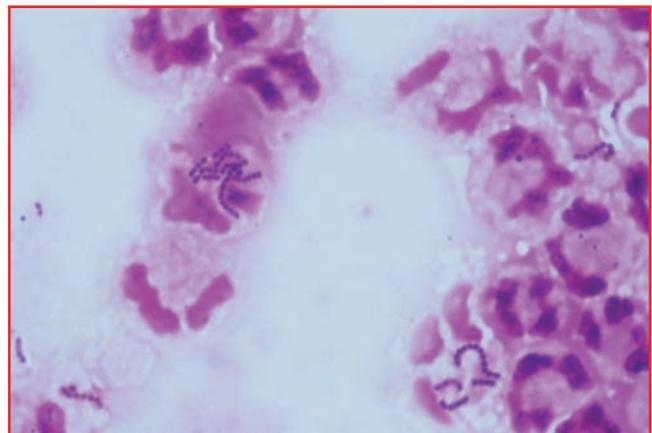


Fig. 5 - Arthrite aiguë purulente à *S. pneumoniae*. Noter la présence de rares diplocoques.



Fig. 6 - Infection chronique à *S. epidermidis* sur prothèse articulaire. Polymorphisme des colonies.

Les cultures des prélèvements profonds revêtent souvent un ou plusieurs des caractères suivants :

- **Un faible nombre de colonies**, qui apparaissent rarement avant 48 heures de culture (Figure 6).
- **Une positivité uniquement en milieux liquides enrichis** et après plusieurs jours (5 à 10 jours pour *P. acnes*, et parfois plus de 10 jours pour certaines bactéries anaérobies).
- **L'existence de microcolonies**, de culture lente (plus de 3 jours) et de subculture fastidieuse, exigeantes, adhérentes, d'aspect atypique. Leur sensibilité aux antibiotiques est difficile à lire et souvent différente des colonies qui cultivent plus rapidement. Ces microorganismes au

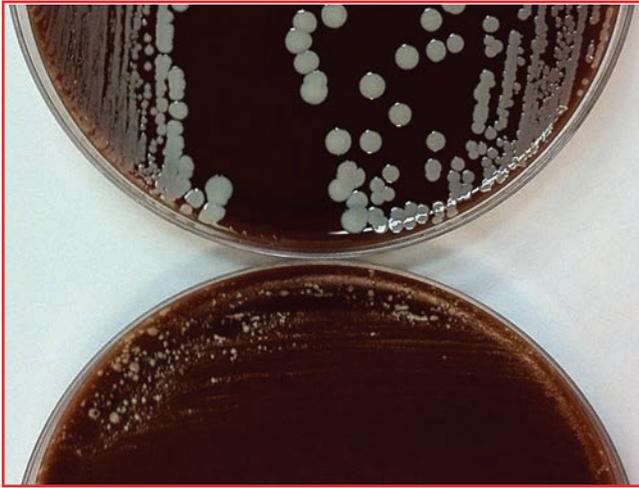


Fig. 7 - Microcolonies (*small colony variants*) de *S. epidermidis* (bas). Noter la taille des colonies par rapport à la culture d'une souche habituelle (haut).



Fig. 8 - Microcolonies (*small colony variants*) de *S. aureus* après 6 jours de culture.



Fig. 9 - Infection sur prothèse de hanche à *S. epidermidis*. Polymorphisme des colonies, ayant pourtant le même antibiogramme.



Fig. 10 - Ostéomyélite chronique à *S. aureus*. Polymorphisme des colonies, de même génotype mais présentant des profils de résistance différents.



Fig. 11 - Ostéite chronique du sternum à *S. aureus* après chirurgie. Polymorphisme des colonies présentant différents profils de multi-résistance.



Fig. 12 - Infection de prothèse de genou connue à *S. lugdunensis* chez une patiente non opérable ayant rechuté après avoir arrêté son antibiothérapie « suppressive » au long cours. Plusieurs aspects de colonies et de microcolonies (variants déficients), d'antibiogrammes différents.



Fig. 13 - Culture de *S. epidermidis*. Colonies d'aspect normal et colonies déficientes satellites.

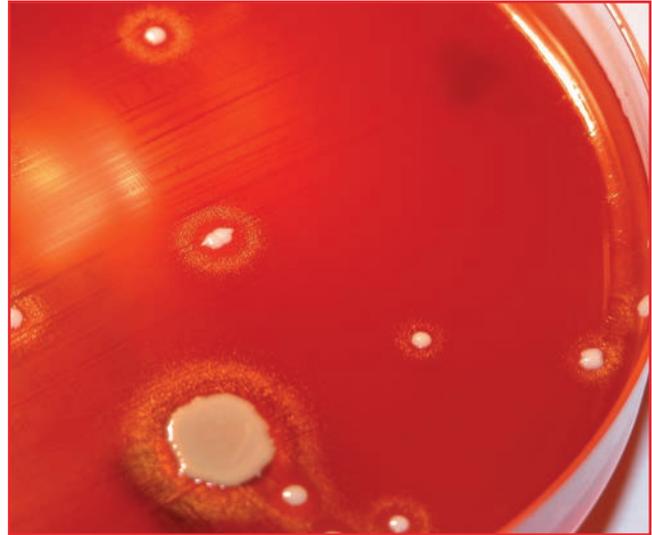


Fig. 14 - *S. aureus*. Colonies d'aspect normal et colonies satellites naines.



Fig. 15 - *S. lugdunensis*. Plusieurs aspects de colonies et même antibiogramme.



Fig. 16 - Infection polymicrobienne d'une prothèse de cheville associant *P. aeruginosa*, *S. lugdunensis*, *Streptococcus constellatus* et *Streptococcus oralis*.

métabolisme ralenti (*small colony variants*) (Figures 7 et 8) peuvent être méconnus si les milieux de culture sont éliminés trop rapidement (11). Chez *S. aureus*, il peut manquer des caractères d'identification tels que la coagulase, la DNase ou l'hémolysine, conduisant à une mauvaise identification si on ne dispose pas d'un spectromètre de masse ou de techniques de biologie moléculaire.

– **La présence de colonies ayant des aspects différents** (Figures 9 à 15) sur un même milieu gélosé, pouvant faire penser à une contamination (surtout pour les staphylocoques à coagulase négative). L'identification de ces germes est parfois délicate avec les galeries phénotypiques classiques si on ne dispose pas d'un spectromètre de masse. La dénomination « staphylocoque non *aureus* » ou « staphylocoque à coagulase négative » est insuffisante et ne permet pas d'interpréter les résultats en l'absence d'une identification précise d'espèce (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, etc.). Ces différents types de colonies peuvent donner des profils très différents à l'antibiogramme bien que possédant le même génotype, par exemple par électrophorèse en champ pulsé (12).

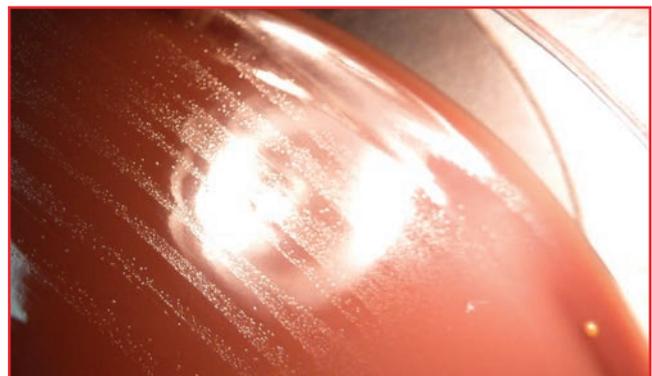


Fig. 17 - Colonies de *Mycoplasma hominis* : ostéoarthrite purulente de la cheville chez une femme greffée de moelle (lymphome) et présentant une hypogammaglobulinémie sévère.

- **Des associations bactériennes** : dans 10 à 20 % des cas, plusieurs bactéries d'espèces différentes sont associées (entérobactérie, entérocoque et staphylocoque à coagulase négative, par exemple) (Figure 16).
- Des bactéries plus rares sont isolées : *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter fetus*, différentes espèces de streptocoques, voire *Mycoplasma hominis* (Figure 17).

Même si une culture bactérienne est présente après 24-48 heures de culture, il est important d'effectuer une deuxième lecture au bout de 3 à 4 jours pour repérer des colonies ayant une morphologie différente des premières colonies examinées.

L'utilisation d'une loupe binoculaire avec éclairage latéral est extrêmement utile pour détecter les différents aspects des colonies et pour les prélever.

La méconnaissance de ces particularités conduit à des erreurs bactériologiques : résultat faussement négatifs, méconnaissance de micro-colonies ayant un antibiogramme différent des premières colonies isolées, abandon d'un prélèvement considéré à tort comme contaminé.

Les souches bactériennes de prélèvements profonds, précieux, doivent être conservées congelées à -80 °C.

C) Les prélèvements stériles

Parfois, il est nécessaire de confronter les informations bactériologiques, cliniques, radiologiques et histopathologiques pour déterminer l'existence d'une infection ou pour la suspecter, alors que les prélèvements bactériologiques sont restés désespérément négatifs. Cela peut correspondre à plusieurs situations : soit une antibiothérapie n'a pas été arrêtée au moins deux semaines avant les prélèvements (parfois 4 semaines pour un streptocoque bêta-hémolytique), soit le transport des prélèvements n'a pas été idéal ou les conditions de culture n'ont pas été correctes.

D) L'étude de l'activité des antibiotiques

Elle doit être effectuée selon les règles de l'art à partir des différentes colonies dans chaque prélèvement (recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

La lecture de l'antibiogramme est facile pour les bactéries qui cultivent rapidement, mais beaucoup plus difficile lorsque les bactéries se multiplient lentement.

Quelques principes simples :

- Les antibiogrammes réalisés sur des contaminants perturbent la réflexion.
- Il ne faut pas faire un même antibiogramme en prenant plusieurs colonies d'aspects différents.
- Les microcolonies qui cultivent tardivement ne doivent pas être négligées ; elles sont souvent plus résistantes que les colonies de taille normale déjà isolées et identifiées.
- Il est important d'étudier séparément les différents types de colonies, qui peuvent avoir des antibiogrammes identiques ou différents : pour un même patient, il est possible d'identifier plusieurs phénotypes de résistance pour un même staphylocoque (12).
- Il est capital d'identifier tous les phénotypes de résistance pour que l'antibiothérapie soit active sur l'ensemble des bactéries isolées, sinon le risque d'échec est majeur.

Au final, la valeur d'un résultat bactériologique repose sur plusieurs éléments :

- l'examen direct et la présence de polynucléaires neutrophiles (inconstante avec *P. acnes* (10)),
- la présence ou l'absence de bactéries à la coloration de Gram,
- le résultat des cultures sur des milieux gélosés et dans des milieux liquides enrichis (aérobie et anaérobie) après une incubation à 37 °C d'au moins 14 jours,
- la méthode d'identification bactérienne.

L'interprétation est facile :

- Tous les prélèvements sont positifs avec la même bactérie ayant le même antibiogramme (ou les mêmes bactéries ayant les mêmes antibiogrammes) dans les différents prélèvements étudiés (12, 13).

L'interprétation est plus délicate :

- Un seul prélèvement a été effectué et n'est positif qu'en milieu d'enrichissement avec une bactérie, souvent d'origine cutanée : seul l'isolement d'une bactérie pathogène (*S. aureus*, streptocoque bêta-hémolytique, *S. pneumoniae*, *Campylobacter*...) est significative.
- Plusieurs prélèvements profonds sont positifs à un « staphylocoque à coagulase négative » : importance d'une identification à l'espèce précise et de la réalisation d'antibiogrammes séparés sur les différents types de colonies et à partir de chaque prélèvement.
- Il est important de rappeler qu'au moins 20 % des IOA chroniques sévères sont polymicrobiennes et que le traitement doit être adapté à toutes les bactéries isolées.

Un prélèvement profond ne peut être rendu « stérile » que s'il a été cultivé en milieux enrichis (gélosés et liquides en aérobie et en anaérobie) et incubé au moins 14 jours. Il faut souligner que 14 jours ne sont pas toujours suffisants pour isoler certaines bactéries anaérobies et que d'autres bactéries requièrent des milieux spécifiques (mycobactéries par exemple).

V. - CONCLUSION

Pour éviter les pièges que posent les prélèvements ostéo-articulaires, il est nécessaire d'être exigeant dans la qualité des prélèvements qui parviennent au laboratoire et très rigoureux dans la méthodologie utilisée pour leur mise en culture.

Il est indispensable de disposer dans le laboratoire de microbiologie d'une infrastructure qui permette de prendre en charge les prélèvements profonds sans risquer de les contaminer et d'assurer des conditions optimales de culture des bactéries exigeantes et de croissance lente.

N'importe quelle bactérie peut être responsable d'une IOA, surtout en présence de matériel étranger, mais la réalité de l'infection ne sera acceptée qu'à la condition d'isoler une bactérie de même antibiotype (ou des bactéries

ayant chacune le même antibiotype) à partir de plusieurs prélèvements de qualité.

Conflit d'intérêt : aucun.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Mackowiack PA, Jones SR, Smith JW. Diagnostic value of sinus tract cultures in chronic osteomyelitis. *JAMA* 1978 ; **239** : 2772-5.
- (2) 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.
- (3) Schäfer P, Fink B, Sandow D, Margull A, Berger I, Frommelt L. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy. *Clin Infect Dis* 2008 ; **47** : 1403-9.
- (4) Butler-Wu SM, Burns EM, Pottinger PS, Magaret AS, Rakeman JL, Matsen FA III, Cookson BT. Optimization of periprosthetic culture for diagnosis of *Propionibacterium acnes* prosthetic joint infection. *J Clin Microbiol* 2011 ; **49** (7) : 2490-5.
- (5) Schinsky MF, Della Valle CJ, Sporer SM, Paprosky WG. Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2008 ; **90** : 1869-75.
- (6) Ghanem E, Parvizi J, Burnett RS, Sharkey PF, Keshavarzi N, Aggarwal A, Barrack RL. Cell count and differential of aspirated fluid in the diagnosis of infection at the site of total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2008 ; **90** : 1637-43.
- (7) Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR, Mandrekar J, Steckelberg JM, Patel R. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *Am J Med* 2004 ; **117** : 556-62.
- (8) Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hansenn AD, Unni KK, Osmon DR, Mandrekar JN, Cockerill FR, Steckelberg JM, Greenleaf JF, Patel R. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med* 2007 ; **357** : 654-63.
- (9) Tande A, Patel R. Prosthetic joint infection. *Clin Microbiol Rev* 2014 ; **27** (2) : 302-45.
- (10) Piper KE, Jacobson MJ, Cofield RH, Sperling JW, Sanchez-Sotelo J, Osmon DR, McDowell A, Patrick S, Steckelberg JM, Mandrekar JN, Fernandez Sampedro M, Patel R. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. *J Clin Microbiol* 2009 ; **47** : 1878-84.
- (11) Proctor RA, Kahl B, von Eiff C, Vaudaux PE, Lew DP, Peters G. Staphylococcal small colony variants have novel mechanisms for antibiotic resistance. *Clin Infect Dis* 1998 ; **27** (Suppl 1) : S68-74.
- (12) Galdart JO, Morvan A, Desplaces N, El Solh N. Phenotypic and genomic variation among *Staphylococcus epidermidis* strains infecting joint prostheses. *J Clin Microbiol* 1999 ; **37** : 1306-12.
- (13) Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, Crook DWM, Simpson H, et al. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. *J Clin Microbiol* 1998 ; **36** : 2932-9.