

Etat des lieux de la microbiologie CRIOAC Grand Est

Enquête de pratiques et confrontations aux recommandations du REMIC 2022

Isabelle Patry – CHU Besançon
Microbiologistes Grand Est



Enquête de pratiques



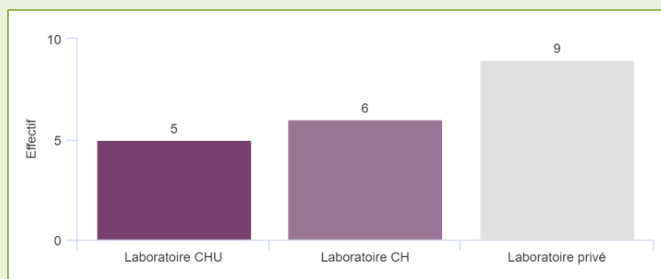
Méthodologie

- Questionnaire construit à partir du REMIC 7.1 Chapitre Infections osseuses et articulaires
- Soumis via le logiciel Sphinx aux biologistes correspondants par les biologistes référents du CRIOAC (Nancy) et centres correspondants (Dijon, Reims, Strasbourg, Besançon)
- Réponse de façon anonyme

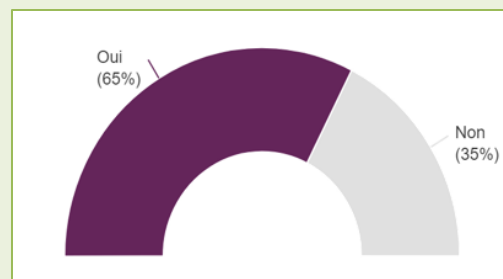
Réponses

20 réponses exploitables représentant plus de 20 000 prélèvements annuels

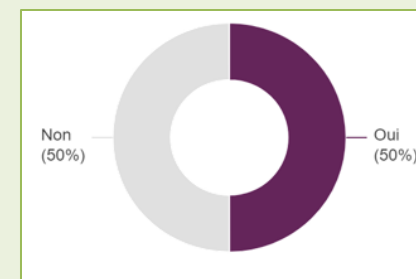
Organisation



Paillasse IOA dédiée

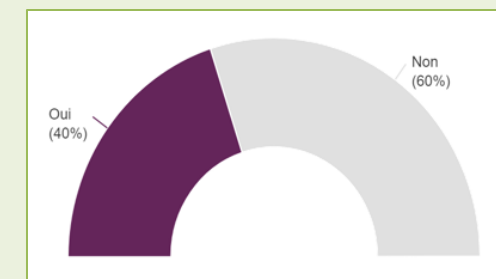


Ensemencement 24/24*



*Etablissements 24/24

Participation aux RCP





Prélèvements

Règles générales

- Conditions d'asepsie chirurgicale
- Délai minimal de 15 jours par rapport à tout traitement antibiotique si l'état du patient le permet
- Multiplier les prélèvements

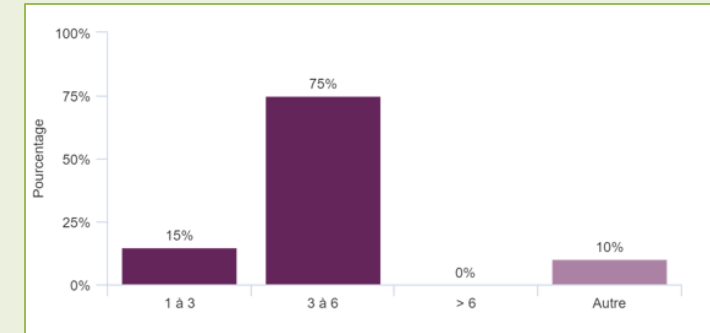
Préconisations

- 3 à 6 prélèvements en des sites anatomiques différents
 - Acheminement au laboratoire dans les 2 heures à température ambiante
 - Bon de demande spécifique
 - Recherche de mycobactéries à préciser
-
- Privilégier interfaces et liquides articulaires
 - Limiter le nombre de prélèvements tissulaires :
4 prélèvements si cultures classiques + enrichissement
3 prélèvements si culture en flacons hémocultures

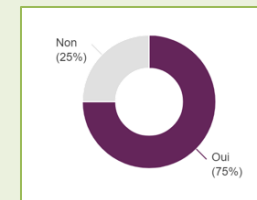
Bémer et al. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2025
Esteban J, Clinical Microbiology Reviews 2025.

En pratique

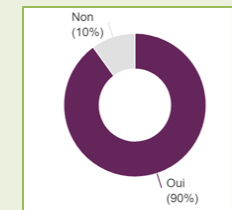
3 à 6 prélèvements



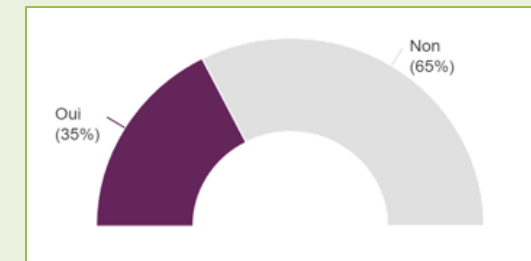
Transport < 2 h



Température ambiante



Bon de demande spécifique





Prélèvements

Règles générales

- Libérer les bactéries de la matrice osseuse et éventuellement du biofilm tout en évitant la contamination des échantillons

Préconisations

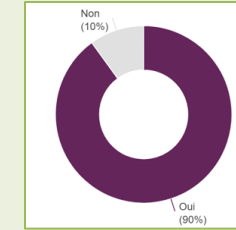
- Manipulation stérile sous PSM2
- Mortier et pilons proscrits
- Broyeurs/Disperseurs à billes automatisés avec liquide compatible avec les techniques de biologie moléculaire
- Sonication pour le matériel d'ostéosynthèse

	Broyage	Volume liquide	Composition liquide	Encombrement	Bruit	Durée	Coût Broyeur	Coût flacon
UltraTURRAX	BO / BT	2 mL	Eau biomoléculaire	-	++	1 biopsie à la fois 6 min (CHV) 1 min (fournisseur)	€	€
SpinAX	BO- / BT	5 mL	NaCl 0,85%	-	< 56 dB	1 biopsie à la fois 1 min	€€	€
TISSUainer	BO / BT	10 mL	Milieu de transport	++	++	1 à 8 biopsies à la fois 2 min 30	€€€	€

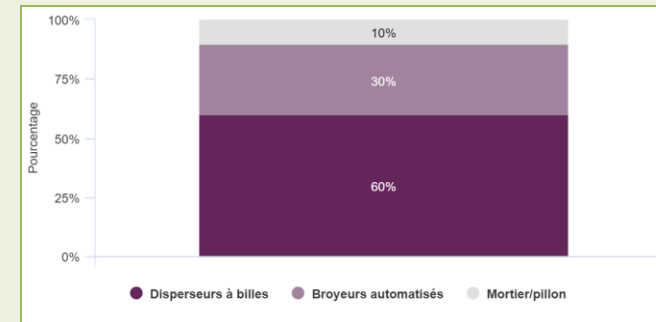
Gandon F, CH Valenciennes, RICAI 2025

En pratique

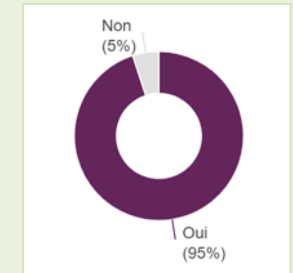
Manipulation sous PSM2



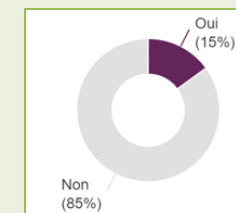
Dispositifs de broyage



Compatibilité biologie moléculaire



Sonication





Prélèvements

Objectif :

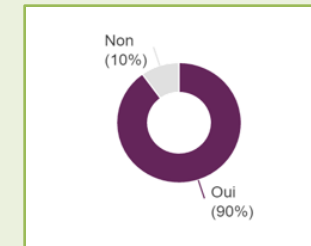
- Disposer de matériel pour des examens complémentaires

Préconisations

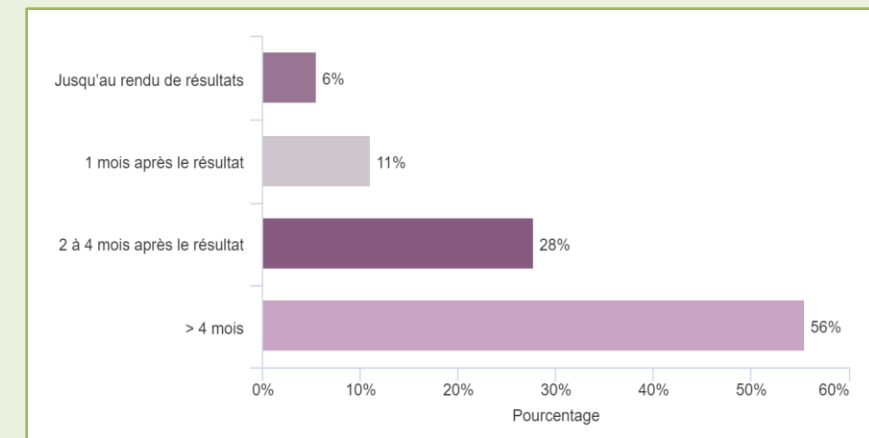
- Conservation d'une fraction d'échantillon au congélateur au moins jusqu'au rendu des résultats et idéalement 2 à 4 mois après ce dernier

En pratique

Conservation des échantillons



Durée de conservation





Examen cytologique

Règles générales

L'examen cytologique devrait comporter :

- Une coloration de Gram pour la recherche de bactéries dont la sensibilité est faible (6%)
- Une coloration adaptée pour l'appréciation semi-quantitative des polynucléaires

Liquides articulaires

Réception d'un tube citraté ou hépariné pour :

- Quantification des leucocytes
- Formule leucocytaire
- Recherche de microcristaux

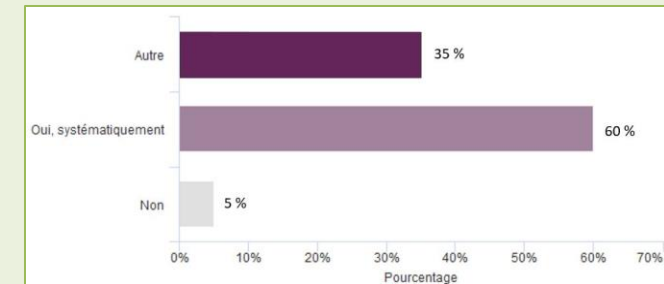
Coloration de Gram

- Inutile dans le diagnostic d'IOA

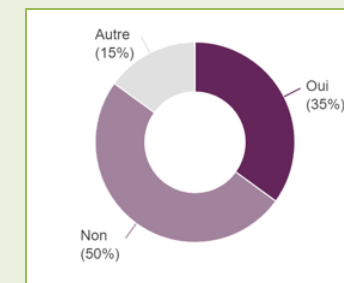
Bémer et al. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2025
Esteban J, Clinical Microbiology Reviews 2025.

En pratique

Examen cytologique



Liquide articulaire (tube citraté ou hépariné)





Ensemencement

Règles générales

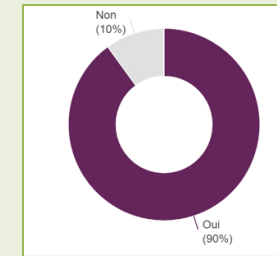
- Eviter la contamination des cultures
- Ensemencement sur des milieux riches et atmosphères variées

Préconisations

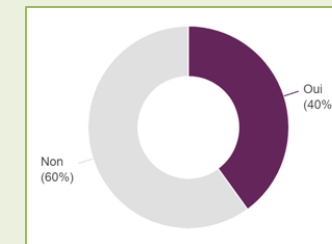
- L'ensemencement et le repiquage des milieux doivent systématiquement être effectués sous PSM
- Possibilité de doubler les géloses
- Liquide articulaire : ensemencement en flacons hémoculture directement au lit du malade ou au bloc opératoire

En pratique

Manipulation sous PSM2



Géloses doublées





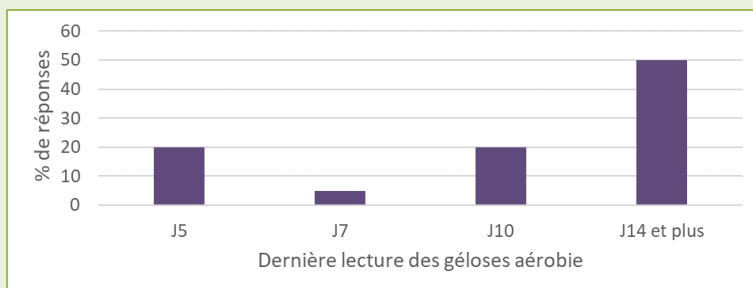
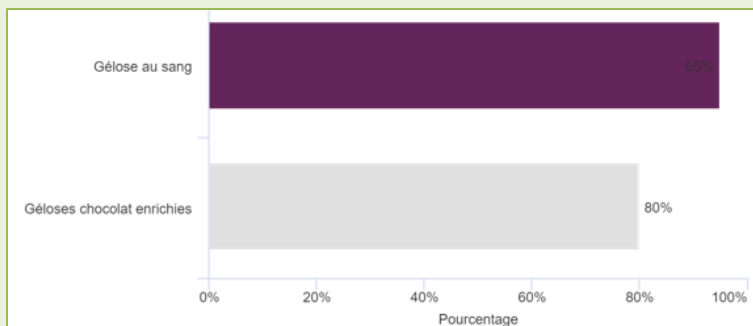
CULTURES

Cultures

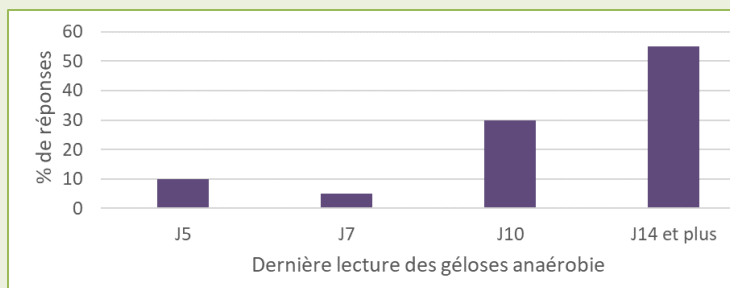
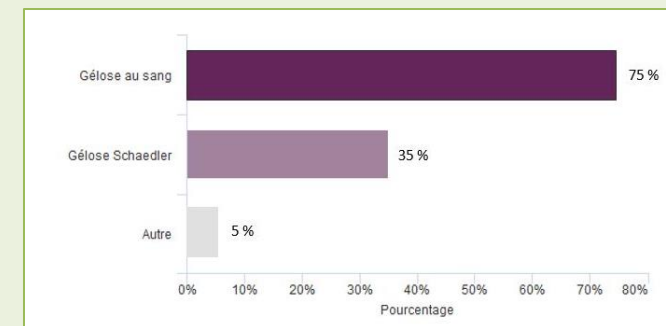
Préconisations

- Gélose au sang Aérobie avec lecture précoce J1, J2 et tardive
- Gélose Chocolat enrichie (5% CO₂) avec lecture précoce J1, J2 et tardive
- Gélose pour bactéries anaérobies incubée en anaérobiose avec lecture précoce J2 ou J3 et tardive
- Un milieu liquide de type bouillon Schaedler ou Cœur-Cerveille avec lecture jusqu'à J14. Les flacons d'hémoculture peuvent être utilisés.

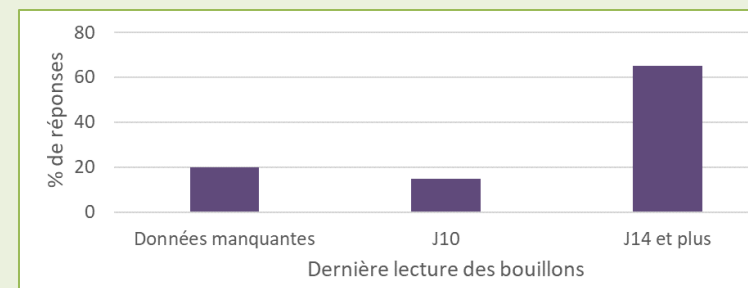
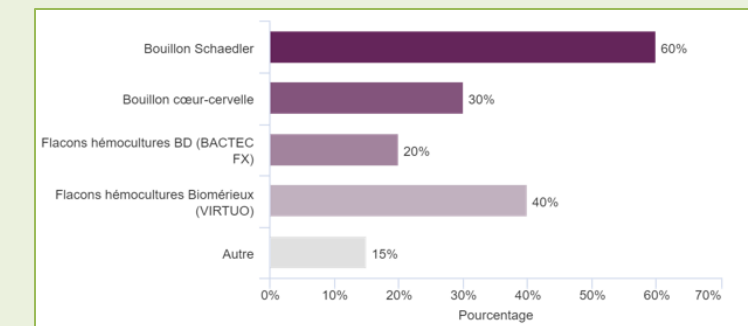
Géloses aérobies



Géloses anaérobies



Bouillons d'enrichissement





Cultures

Règles générales

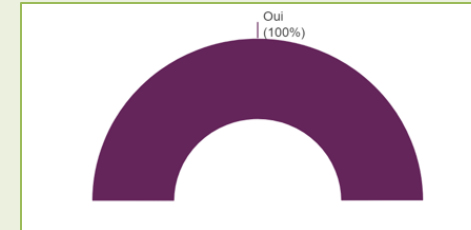
- Rechercher les variants métaboliques de type SCV
- Présence de plusieurs phénotypes de résistance pour une même espèce bactérienne chez le même patient

Préconisations

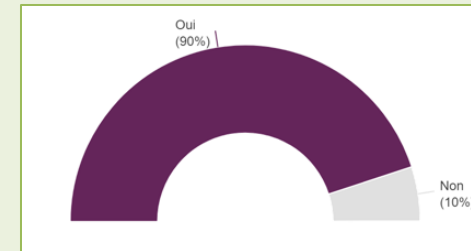
- Une identification et un antibiogramme doivent être réalisés sur tous les aspects de colonies isolées
- Staphylocoques : il est recommandé de vérifier la sensibilité aux bêta-lactamines et déterminer les CMI des glycopeptides.

En pratique

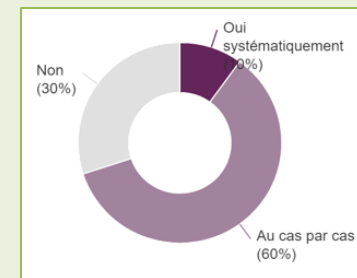
Identification sur tous les morphotypes



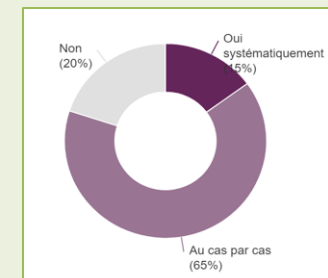
Antibiogramme



Bêta-lactamines



Glycopeptides





Interprétation et conservation des souches

Règles générales

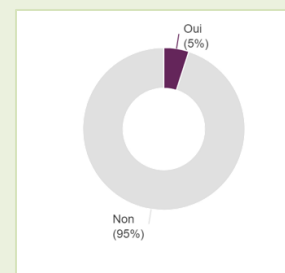
- L'interprétation des résultats microbiologiques dans le cadre des IOA est complexe (contexte clinique, la ou les espèces identifiées, nature et nombre d'échantillons positifs...)
- Conservation des souches pour des considérations cliniques

Préconisations

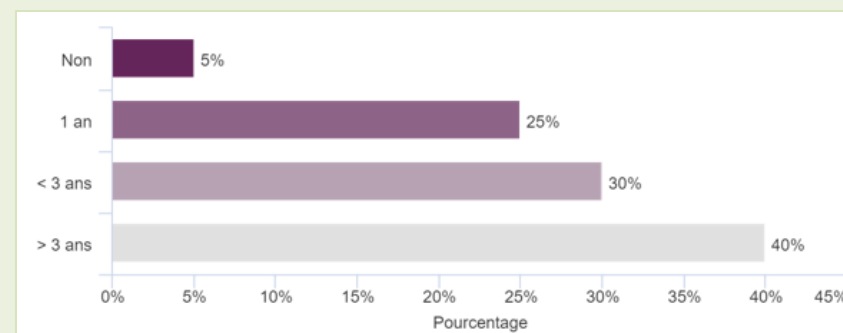
- Réalisation d'un compte-rendu synthétique des résultats microbiologiques souhaitable
- Conservation systématique dans un congélateur type -20°C ou type -80° pendant au minimum 3 ans

En pratique

Compte-rendu synthétique



Durée de conservation des souches





Biologie moléculaire

Règles générales

- Les méthodes moléculaires peuvent compléter les cultures sans jamais se substituer à elles
- Sensibilité imparfaite : seul un résultat positif est réellement contributif
- Deux approches en fonction du contexte :
PCR universelle
PCR spécifique (plus sensible)

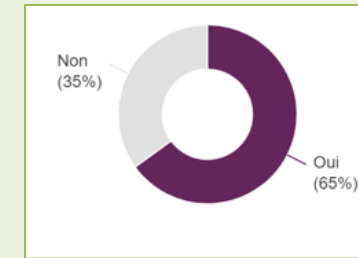
Indications

Après discussion clinico-biologique

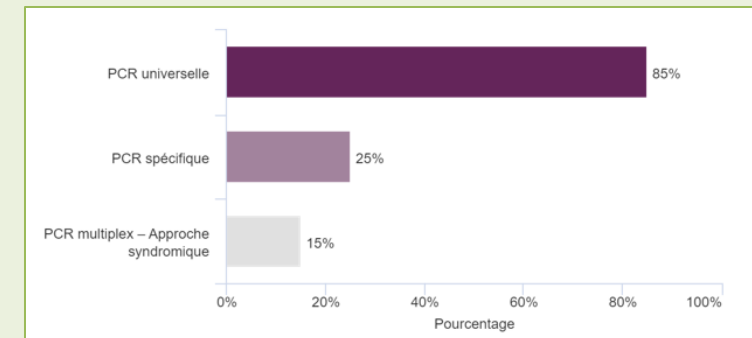
- Forte suspicion clinique avec antibiothérapie préalable et/ou critères biologiques mais cultures négatives
- Absence de critère clinique mais culture positive posant le problème d'une éventuelle contamination de laboratoire

En pratique

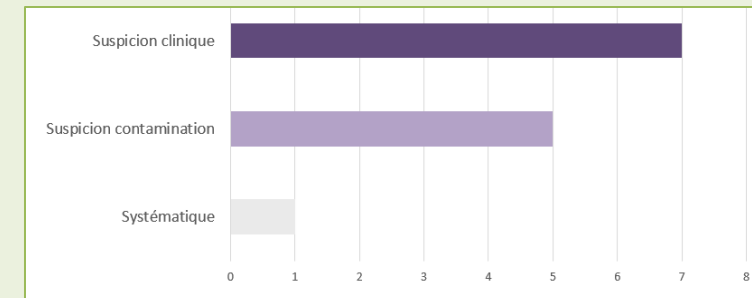
Recours à la biologie moléculaire



Méthodes



Indications





Conclusions

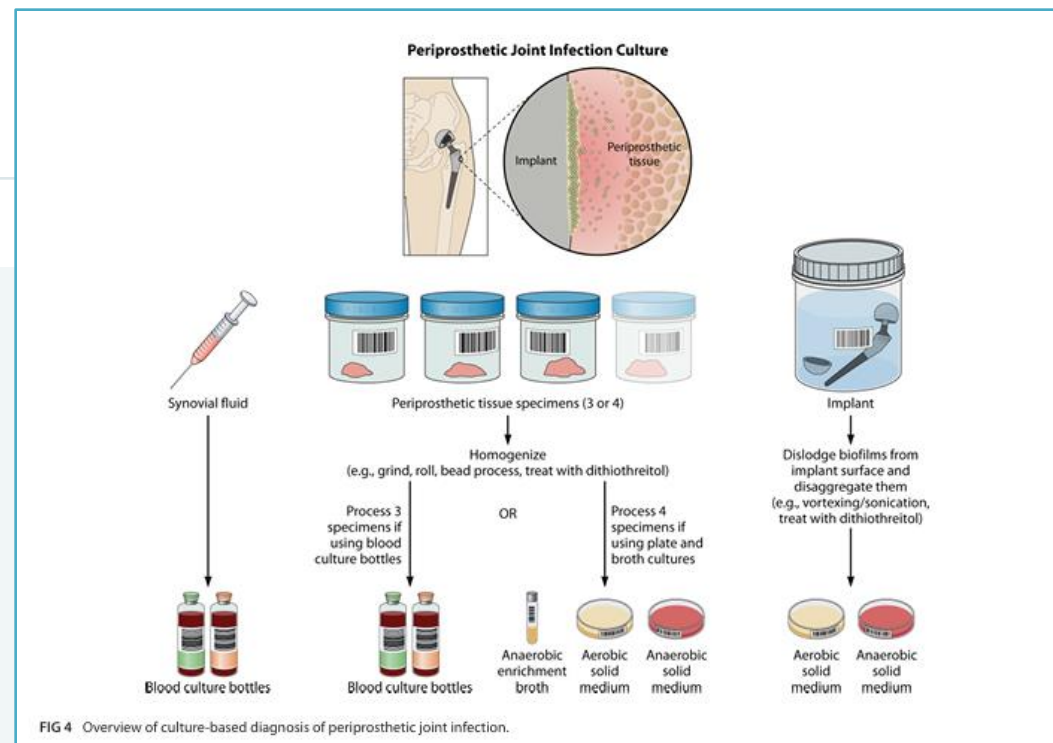
Conformité aux recommandations du REMIC 2022 $\geq 90\%$ pour :

- Nombre de prélèvements
- Dispositifs de prélèvements adaptés
- Conservation des échantillons pour examens complémentaires
- Manipulation sous PSM2
- Gélosesensemencées et atmosphères d'incubation
- Identifications et antibiogrammes pour tous les morphotypes
- Conservation des souches après analyse

Pistes d'amélioration :

- Bon de demande IOA Grand Est ?
- Durée d'incubation des cultures tardives - Positionnement des flacons hémocultures
- Durée de conservation de souches bactériennes

Place complémentaire de la biologie moléculaire par rapport à la culture

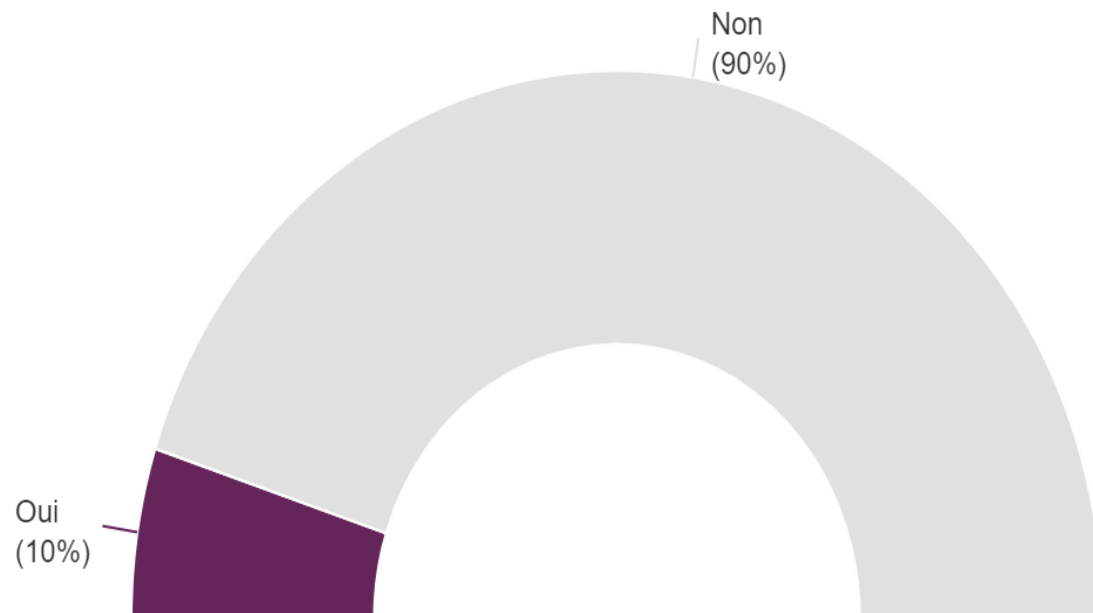




DIAGNOSTIC MOLECULAIRE

METAGENOMIQUE

Aujourd'hui, positionnez-vous le NGS dans votre stratégie diagnostique ?





Merci de votre attention

Merci de votre participation