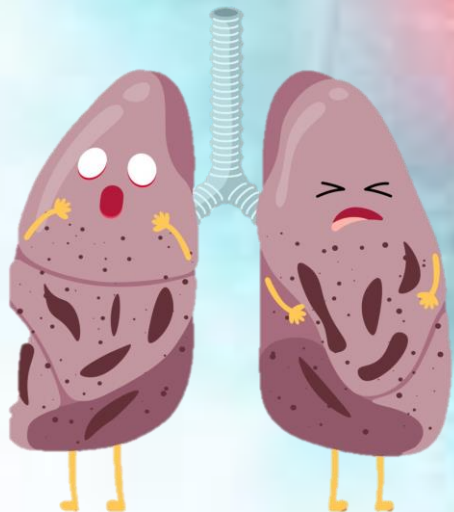


Diagnostic Microbiologique des Pneumonies Aiguës Communautaires de l'Adulte

Smaoui Hanen

Hôpital d'Enfants Béchir Hamza de Tunis

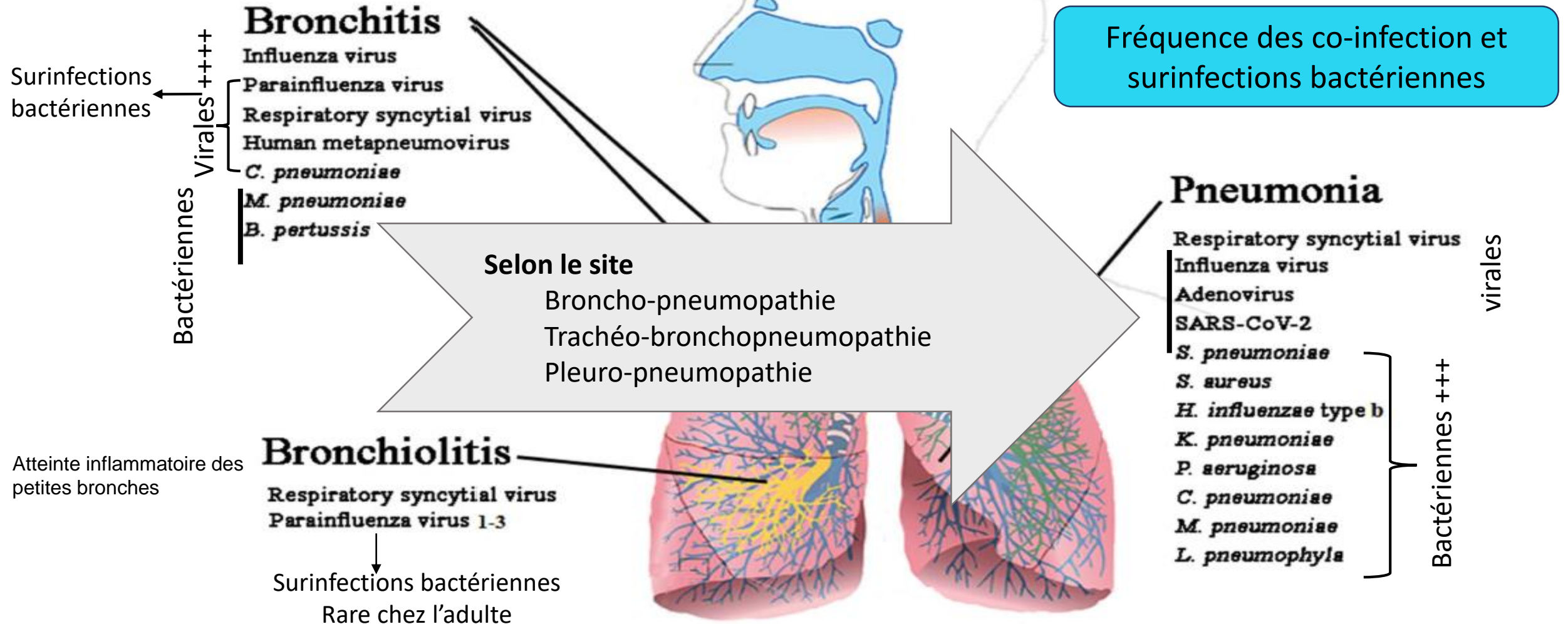


32ème Congrès National de la STPI
2ème Congrès Francophone de Pathologie Infectieuse et de Microbiologie Clinique
5 - 7 mai 2023
Yasmine Hammamet, Tunisie

Classification des IRB

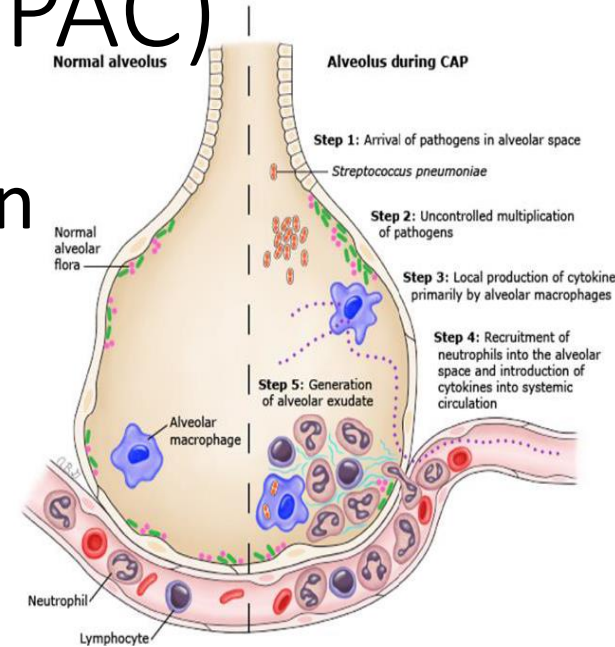
Lower respiratory tract

Inflammation aiguë des bronches chez un sujet indemne de bronchite chronique

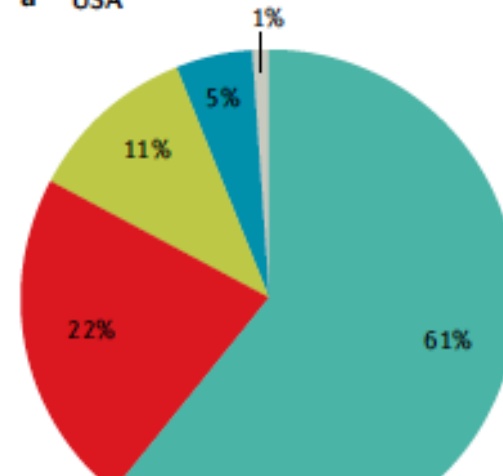


La pneumonie aiguë communautaire (PAC)

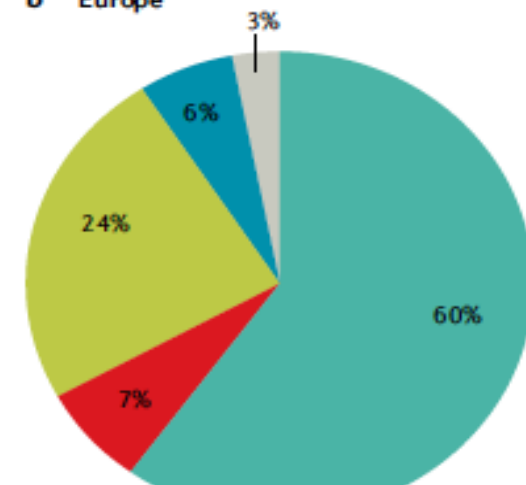
- Une infection du parenchyme pulmonaire d'évolution aiguë, acquise en milieu extrahospitalier
- Etiologies très diversifiées :
 - bactéries, virus, fongiques co-infections....
 - Non documentée...
- Affection potentiellement grave pouvant engager le pronostic vital.



a USA



b Europe

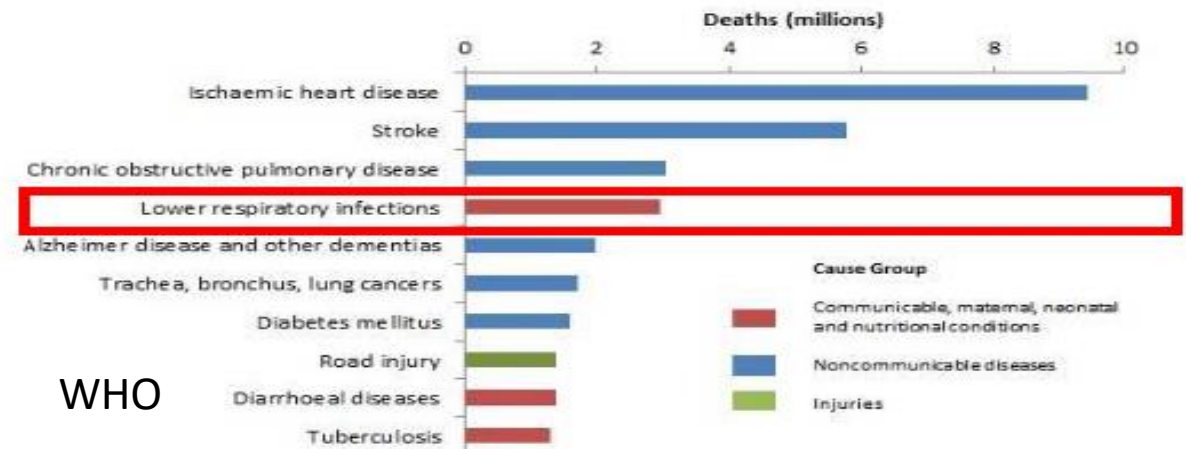


La pneumonie aigue communautaire

Un véritable fardeau humain

- Incidence : 1,7-11,6 cas pour 1000 personnes par an
- Mortalité
 - 35 décès / 100 000 personnes par an
 - 2,5 Millions de décès/an
- 1^{ère} cause de décès d'origine infectieuse dans le monde
- 4^{ème} cause toutes causes confondues
- Etude Global Burden of Diseases (2019) :
 - IRB y compris la pneumonie et la bronchiolite, affectaient **489 millions** de personnes dans le monde.
 - Enfants de < 5 ans et les adultes de > **70 ans** sont les populations les plus touchées par la **pneumonie**

Top 10 global causes of deaths, 2016



WHO

Source: Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva, World Health Organization: 2018.

Evaluer la gravité

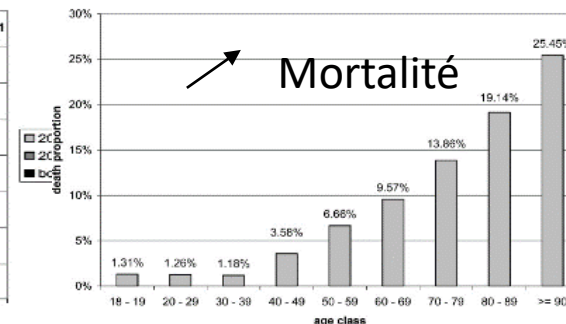
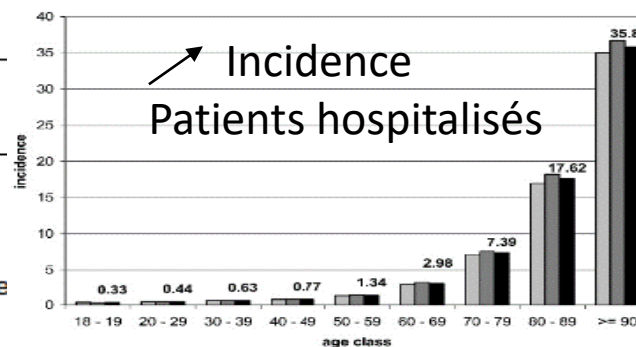
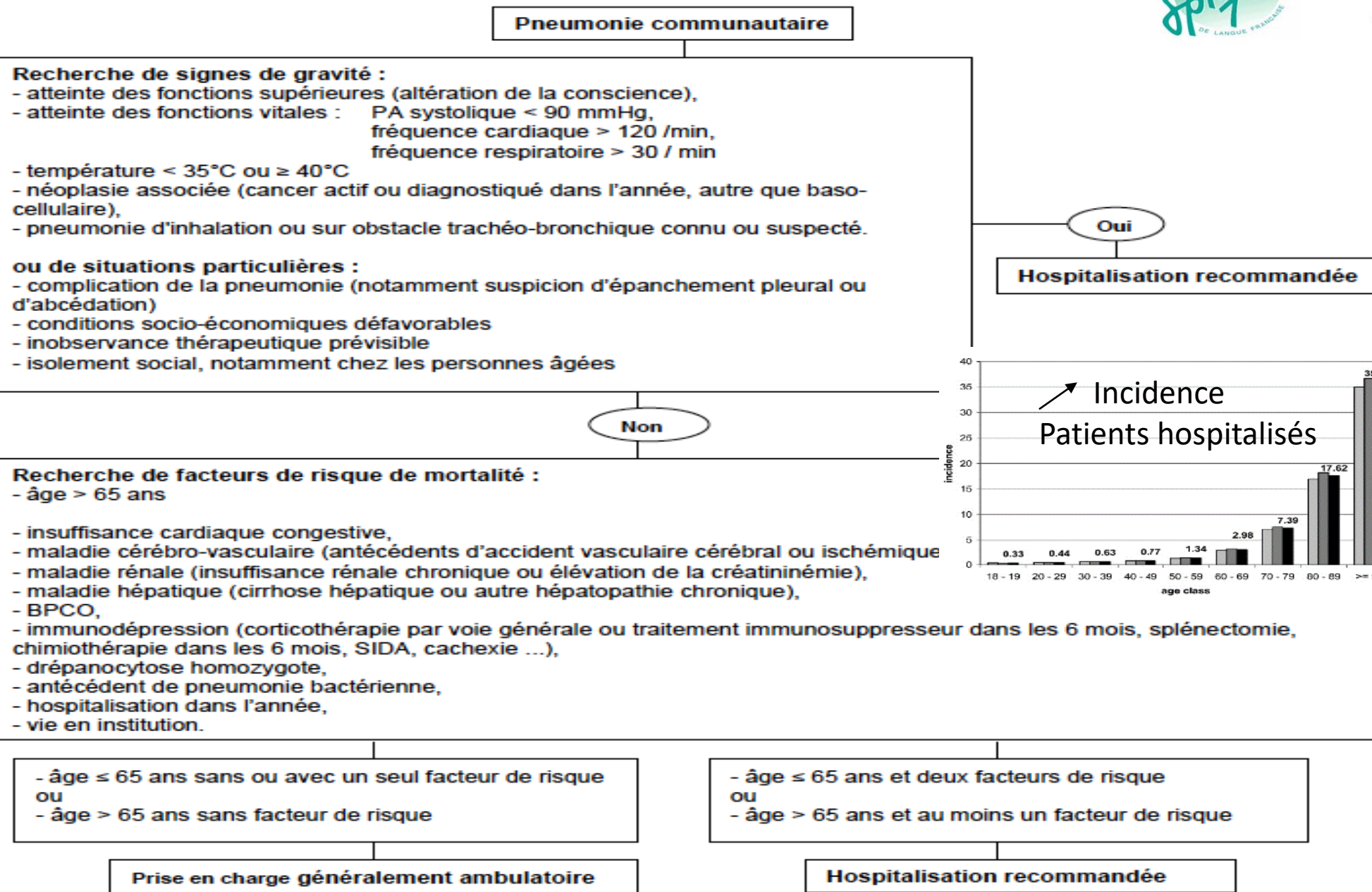
Au cours de la pneumonie, la prise en charge (indication et choix de l'antibiothérapie initiale (probabiliste), le lieu...) tient compte de la gravité du patient +++

En général :
la PAC légère est traitée en ambulatoire
la PAC modérément sévère dans les services hospitaliers
la PAC sévère dans les unités de soins intensifs (USI) avec ou sans ventilation mécanique



Distinction des patients à hospitaliser d'emblée repose sur la recherche et l'analyse de signes de gravité et de facteurs de risque de mortalité.

Figure 1 : Prise en charge en ambulatoire ou à l'hôpital des pneumonies communautaires:



80% des décès liés aux pneumonies > 65 ans

Les scores prédictifs de gravité

- Outils à la disposition du clinicien à la phase initiale de la prise en charge
- Déterminer les variables statistiquement associées à la mortalité

Prédiction de la mortalité

Score de Fine (*Pneumonia Severity Index, PSI*)

Score CRB-65

Tableau 1 : Score CRB 65

Critères du score CRB 65

C : Confusion

R : Fréquence respiratoire ≥ 30 / mn

B : Pression artérielle systolique < 90 mmHg
ou
Pression artérielle diastolique ≤ 60 mmHg

65 : Age* ≥ 65 ans

Conduite à tenir

0 critère : traitement ambulatoire possible

≥ 1 critère : évaluation à l'hôpital

« C » pour confusion, « R » pour respiratoire, « B » pour « blood pressure » et « 65 » pour 65 ans.

* Plus que l'âge civil, l'âge physiologique - notamment chez les patients sans co-morbidité - est à prendre en compte

Prédiction du recours à la VM / amines

Score SMART-COP

Le score CRB 65, plus simple, ne prenant en compte que 4 critères de gravité, représente un « outil » facilement utilisable en ville

Diagnostic positif

- Clinique
 - Radiographie thoracique
- } L'origine bactérienne ou virale ne peut être déterminée
- Marqueurs biologiques
 - NFS
 - CRP

} Valeur d'orientation, non indispensable au diagnostic
Ne sont pas à réaliser de 1^{ère} intention

 - PCT : résultats controversés selon les études → biomarqueur de gravité (évaluer le risque de complication voir de mortalité)

L'utilisation conjuguée de ces marqueurs apporte cependant des arguments pour la prise en charge diagnostique et thérapeutique, mais ne doivent jamais remplacer le bon sens clinique

Diagnostic microbiologique : quels examens, pour quels patients?

- n'est pas indispensable, Il ne doit pas retarder la prise en charge
- le germe est rarement recherché dans les pneumopathies d'évolution simple où la prise en charge est probabiliste.
- L'enquête microbiologique est conditionnée par la gravité :
 - patients nécessitant une hospitalisation
 - patients avec prise en charge ambulatoire ne s'améliorant pas malgré une antibiothérapie adaptée (active sur Pyo et/ou SARM) ou facteurs de risque pour ces bactéries (IDSA, 2019)
- Les études utilisant les méthodes de détection plus performantes arrivent à identifier un pathogène dans environ 80 % des cas.
- Cependant, le lien de causalité entre le pathogène retrouvé et la pathologie respiratoire ne peut pas être toujours prouvé : faire la part entre colonisation et infection



Examens microbiologiques pourquoi ?



- Un diagnostic précoce et précis de l'étiologie d'une PAC est crucial pour :
 - Une prise en charge thérapeutique adéquate,
 - Mise en place de mesures efficaces de contrôle des infections
 - Une réduction de la durée d'hospitalisation
- Il doit inclure la détection de bactéries et virus +/- levures
- Il permettra
 - Une réévaluation de la place des pathogènes → actualiser les données épidémiologiques
 - Un suivis de l'évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques
 - La détection de nouveaux variants (ex: prévention des épidémies/pandémie grippe; COVID...)



Actualisation consensus thérapeutiques nationaux
Adaptation de la prise en charge thérapeutique : ATBs, ATVs, Vaccins

Examens microbiologiques comment ?



Diagnostic direct

Mise en évidence de l'agent pathogène
ou l'un de ses constituants
(antigène, génome)

→ Outils usuels

→ Outils moléculaires

Plusieurs prélèvements
Plusieurs techniques

Diagnostic indirect

Mise en évidence de la réponse
à l'infection : recherche des
anticorps (IgM, IgG)

Sérologie

Deux sérums à 2-3 semaines
d'intervalle

Diagnostic rétrospectif

Interprétation difficile

M. pneumoniae; *C. pneumoniae*

Réalisation d'investigations microbiologiques selon :

- Niveau de gravité
- Comorbidités, terrain (IDSA 2019)

	SPLF 2006	ERS 2011	ATS/IDSA 2007/2019
Ambulatoire	Bilan microbiologique inutile pour les patients ayant des critères de faible gravité (PSI I et II)	Microbiological tests such as cultures and Gram stains are not recommended	Routine diagnostic tests to identify an etiologic diagnosis optional for outpatients with CAP
Hospitalisation	- Patients hospitalisés en dehors de la réanimation (PSI III et IV), hémocultures et analyse de l'expectoration peuvent être recommandées	- Blood cultures recommended, - Sputum Gram stain and culture should be performed when a purulent sputum sample can be obtained.	Pretreatment blood samples for culture and an expectorated sputum sample for stain and culture (in patients with a productive cough) are recommended if severe pneumonia or empirical antibiotic therapy active on <i>P. aeruginosa</i> and/or <i>MRSA</i> or with prior infection or risks factors for <i>P. aeruginosa</i> and/or <i>MRSA</i> .
	- AgU <i>S. pneumoniae</i> et/ou <i>L.pneumophila</i> non recommandées d'emblée	- Pneumococcal and Legionella urine antigen tests should be performed in patients admitted to the hospital for reasons of illness severity. - If aetiological diagnosis of the atypical agents is considered in the management of the individual patient, A combination of IgM antibody detection and PCR may be the most sensitive approach.	
	↓ Formes graves	- Application of molecular tests (PCR) for the detection of influenza and RSV should be considered during the winter season.	
Réanimation	Tous	All	All Nouveauté 2019 : plus de patients auxquels les prélèvements resp pour examen microbiologique doivent être systématiques

Diagnostic microbiologique direct

La bonne pratique

Pour une meilleure Sté et Spté du diagnostic et selon l'étiologie recherchée :

Choisir le/les bon(s) prélèvement(s)

Réaliser un prélèvement de bonne qualité, à temps (précoce), avant toute antibiothérapie

Effectuer un transport dans les conditions optimales (selon agents étiologiques recherchés)

Choisir la (les) bonne(s) technique(s) microbiologique(s) adaptée(s) aux étiologies suspectées

→ Dialogue clinico-biologique



ECBC

La qualité du prélèvement conditionne la performance du test

✓ Avantage : non invasif

✓ **MAIS**

• Risque de contamination : à réaliser le matin au réveil, après un rinçage bucco-dentaire à l'eau distillée stérile

• Effort de toux +/- induit (kiné...)+++ , crachat purulent

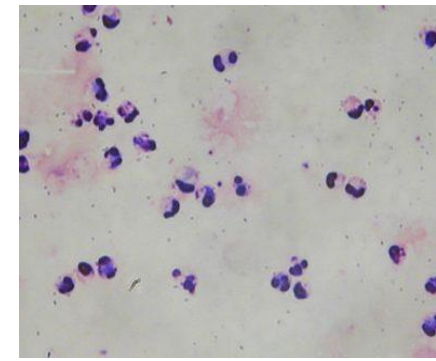
✓ Qualité du prélèvement ++

• Examen microscopique →

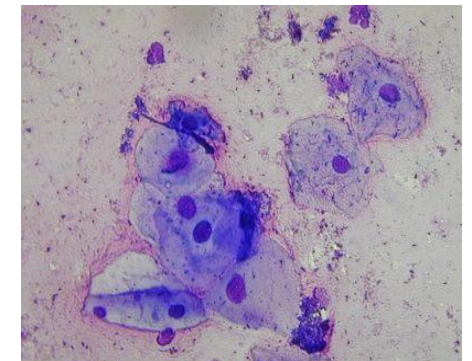
• Critères d'acceptation pour mise en culture (critères de Bartlett) (sauf mucoviscidose, *Legionella*, Mycobactérie) : Présence de cellules épithéliales, flore et PNN

• interprétation+++

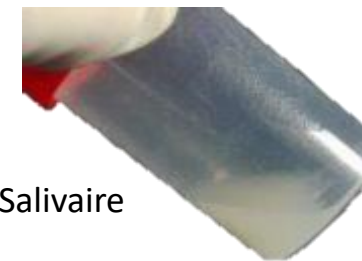
✓ Culture quantitative : seuil des positivité $>$ ou $= 10^7$ UFC/ml



Crachat classe 5 → accepté



Crachat classe 1 → à rejeter



Salivaire



PURULENT



Examen avec culture : ECBC

Le faible rendement ECBC : difficultés d'obtenir un bon prélèvement de crachat avant le début de l'antibiothérapie

→ Si ECBC réalisé correctement, chez un malade sans antibiotiques et d'autant plus que la PAC est bactériémique → Sté de la culture ECBC jusqu'à 80 %

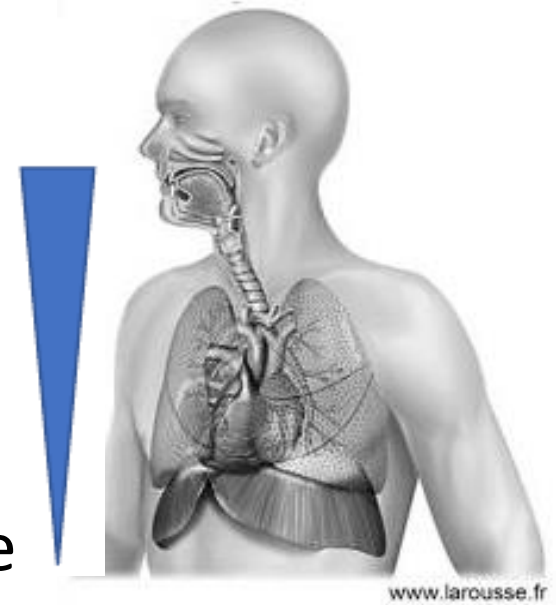
PAC à pneumocoque bactériémiques	n	Examen direct positif	Culture positive
Population globale	105	31%	44%
Patients ayant eu un examen	74	45%	62%
<u>Patients ayant un examen validé</u>	58	57%	79%
Au moment du prélèvement			
▪ <u>Pas d'antibiotiques</u>	15	80%	93%
▪ Antibiothérapie ≤ 6 h	18	61%	78%
▪ Antibiothérapie entre 6 et 24 h	18	50%	89%
▪ Antibiothérapie ≥ 24 h	7	14%	29%



Autres prélèvements pulmonaires

PT, PTP, LBA

flore respiratoire



- Formes sévères
- PT → Pb de contamination : Critères d'acceptation pour mise e (critères de Bartlett) idem ECBC
- PTP et LBA (explore un vaste territoire alvéolaire)
 - Les germes isolés proviennent du poumon profond+++ → moins de contamination
- Culture quantitative ; seuil selon type de prélèvement : PT : 10^6 UFC/ml; LBA : 10^4 UFC/ml ; PTP : 10^3 UFC/ml

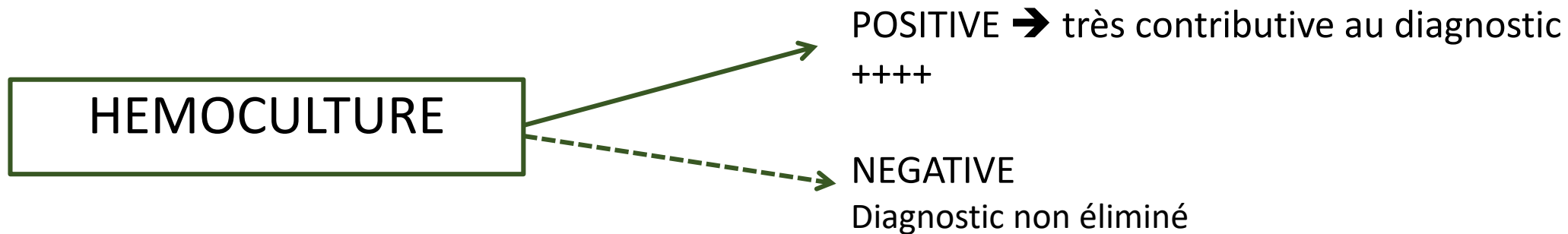


Examens avec culture

Hémoculture



- Bonne spécificité, faible sensibilité
- PAC rarement bactériémiques → Le taux de positivité est faible (< 7%), varie selon:
 - Hospitalisée ou en ambulatoire : PAC hospitalisée >> PAC sans hospitalisation
 - Agent étiologique : pneumocoque (50 à 91%) > *S. aureus* (3 à 23%) (Afshar N. J HospMed 2009)



Hémocultures: facteurs prédictifs de positivité

Predicting Bacteremia in Patients with Community-Acquired Pneumonia

25000 patients avec une PAC

Am J Respir Crit Care Med Vol 169. pp 342–347, 2004

Mark L. Metersky, Allen Ma, Dale W. Bratzler, and Peter M. H

TABLE 4. RISK OF BACTEREMIA ACCORDING TO THE NUMBER OF PREDICTORS PRESENT

Risk of Bacteremia	No. of Clinical Predictors and Prior Antibiotic Status	Derivation Cohort		Validation Cohort	
		No. of Patients	No. Bacteremic (%)	No. of Patients	No. Bacteremic (%)
Low	Zero predictors and prior antibiotics	2,243	53 (2%)	2,245	61 (3%)
Moderate	Zero predictors and no prior antibiotics	1,902	94 (5%)	1,979	95 (5%)
Moderate	One predictor and prior antibiotics	3,659	160 (4%)	3,240	155 (5%)
High	One predictor and no prior antibiotics	2,933	257 (9%)	2,890	267 (9%)
High	≥ Two predictors	2,297	322 (14%)	2,417	376 (16%)
	All patients	13,034	886 (7%)	12,771	954 (7%)

TABLE 3. INDEPENDENT PREDICTORS OF BACTEREMIA IN COMMUNITY-ACQUIRED PATIENTS WITH PNEUMONIA

Characteristic	Derivation Cohort OR (95% CI)	Validation Cohort OR (95% CI)
Prior antibiotics	0.5 (0.5–0.6)	0.5 (0.5–0.6)
Comorbidities		
Liver disease	2.3 (1.6–3.4)	1.4 (1.0–2.2)
Vital signs		
Systolic blood pressure < 90 mm Hg	1.7 (1.3–2.3)	1.8 (1.4–2.3)
Temperature < 35 C° or ≥ 40 C°	1.9 (1.4–2.6)	1.5 (1.1–2.1)
Pulse ≥ 125/min	1.9 (1.6–2.3)	1.7 (1.4–2.0)
Laboratory and radiographic data		
Blood urea nitrogen ≥ 30 mg/dl (11 mmol/L)	2.0 (1.8–2.3)	2.2 (1.9–2.5)
Sodium < 130 mmol/L	1.6 (1.3–2.1)	1.8 (1.4–2.2)
WBC < 5,000/mm ³ or > 20,000/mm ³	1.7 (1.4–2.0)	1.9 (1.6–2.2)

↘ Positivité

Hépatopathie

Gravité

↗ Positivité

Definition of abbreviations: CI = confidence interval; OR = odds ratio; WBC = white blood cell.



Antigénuries, en pratique!

- Simple, résultat rapide
- Sensibilité variable : 70 à 90%
- Bénéfice?
- **Antigénurie pneumocoque**
- Spécificité 94-99% (mauvaise chez l'enfant)
- Faux positifs : longue durée de positivité (20% > 2 mois après l'épisode), vaccination récente+++,
- Pneumocoque toujours couvert par l'antibiothérapie probabiliste: intérêt?



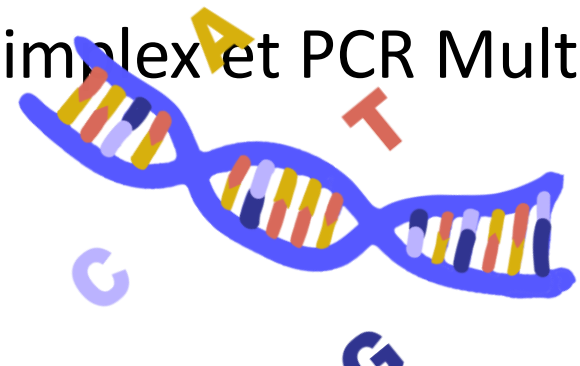
- **Antigénurie Légionnelle**
- Intérêt si contexte évocateur ou PAC grave
- Spécificité 99%, si Lp sérogroupe 1
- Positivité < 2 mois, mais parfois plus prolongée chez les immunodéprimés

AgU SP = seulement si grave
AgU LP = si contexte évocateur ou grave

Techniques moléculaires



- Formes sévères
- Outil de référence pour la recherche
 - de virus respiratoire au cours de la pneumonie.
 - De bactéries non ou difficilement cultivables : *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila*
- Prélèvements respiratoires : pulmonaires et nasopharyngés (l'aspiration nasopharyngée aurait une sensibilité > l'écouvillon nasopharyngé)
- Plusieurs techniques: classique, temps réel +++ → Sensibilité
- Rapidité de la réponse <24h voir qq heures → PCR simple et PCR Multiplex (plusieurs virus, plusieurs bactéries,..)
- Difficulté d'interprétation : portage



Techniques moléculaires : panels syndromiques PCR multiplex (Virus + bactéries...)



Le choix du prélèvement dépend du panel de PCR multiplex à utiliser

Aspiration nasopharyngée

Ecouvillonnage nasopharyngé

HAUT

Expectoration

Aspiration bronchique

Lavage broncho-alvéolaire

BAS

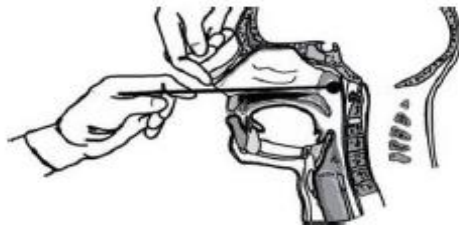
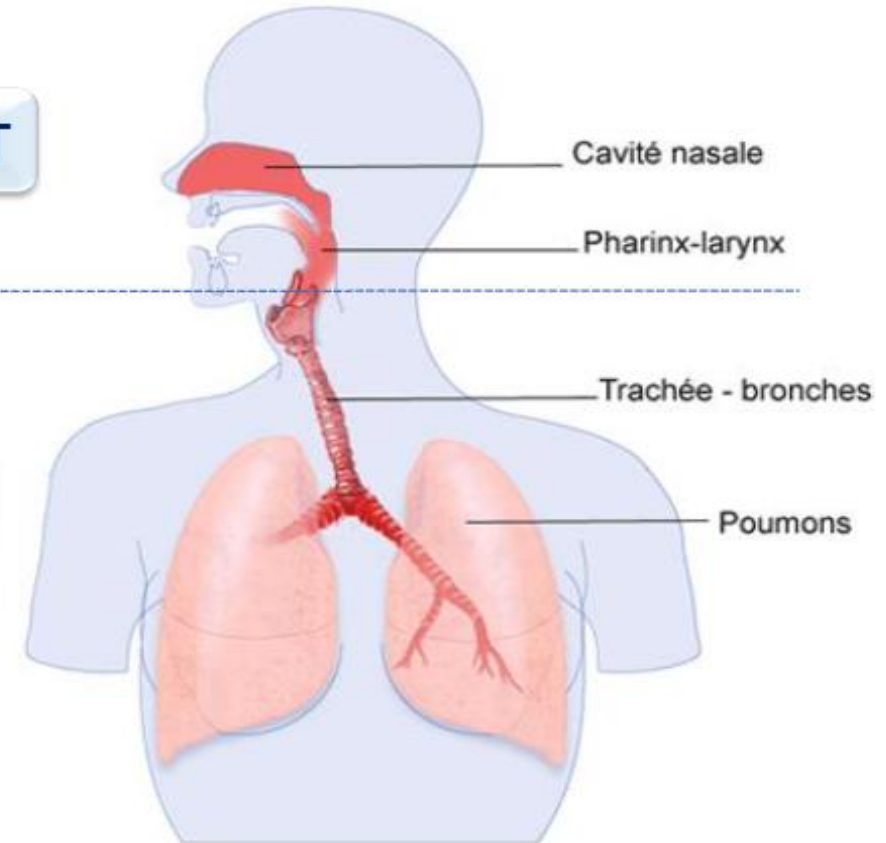


Table 2. The most relevant FDA-approved syndromic panels for the diagnosis of respiratory illnesses for both the upper and the lower respiratory tracts.

Assay	Company	Target	Time-to-Result	Type of Amplification	Reference
QIAstat-Dx Respiratory SARS-CoV-2 Panel	QIAGEN GmbH	22 Pathogens (FLU A, FLU A subtype H1N1/2009, H1, and H3; FLU B; CoV 229E, HKU1, NL63, OC43; SARS-CoV-2; PIV 1, 2, 3, and 4; RSV A/B; h-MPV A/B; ADV; h-BocAV; RV/Enterovirus; <u><i>Mycoplasma pneumoniae</i></u> ; <u><i>Legionella pneumophila</i></u> ; <u><i>Bordetella pertussis</i></u>)	About 1 h	Multiplex real-time RT-PCR	[76,77]
BioCode Respiratory Pathogen Panel (RPP)	Applied BioCode, Inc.	17 Pathogens (ADV; CoV 229E, OC43, HKU1, NL63; h-MPV A/B; FLU A, FLU A subtype H1N1/2009, H1, and H3; FLU B; PIV 1, 2, 3, and 4; RSV A/B; RV/Enterovirus; <u><i>Bordetella pertussis</i></u> ; <u><i>Chlamydia pneumoniae</i></u> ; <u><i>Mycoplasma pneumoniae</i></u>)	About 5 h	RT-PCR	[78]
ePlex Respiratory Pathogen Panel 2	GenMarkDiagnostics, Inc.	18 Pathogens (ADV; CoV 229E, OC43, HKU1, NL63; SARS-CoV-2; h-MPV A/B; FLU A, FLU A subtype H1N1/2009, H1, and H3; FLU B, PIV 1, 2, 3, and 4; RSV A, B; RV/Enterovirus; <u><i>Chlamydia pneumoniae</i></u> ; <u><i>Mycoplasma pneumoniae</i></u>)	About 2 h	RT-PCR	[10,79]
eSensor Respiratory Viral Panel (RVP)	Clinical MicroSensors, Inc.	14 Pathogens (FLU A, FLU A subtype H1N1/2009, H1, and H3; FLU B; RSV A, B; PIV 1, 2, and 3; h-MPV; RV; ADV species B/E; ADV species C)	About 8 h	Multiplex microarray, competitive DNA hybridization	[80]
FilmArray Pneumonia plus Panel	BioFireDiagnostics, LLC	27 Pathogens and 7 resistant genes (Semi-quantitative detection: <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex; <i>Enterobacter cloacae</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Haemophilus influenzae</i> ; <i>Klebsiella aerogenes</i> ; <i>Klebsiella oxytoca</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> group; <i>Moraxella catarrhalis</i> ; <i>Proteus</i> spp.; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Serratia marcescens</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Streptococcus agalactiae</i> ; <i>Streptococcus pneumoniae</i> ; <i>Streptococcus pyogenes</i> Qualitative detection: <u><i>Legionella pneumophila</i></u> ; <u><i>Mycoplasma pneumoniae</i></u> ; <u><i>Chlamydia pneumoniae</i></u> ; FLU A; FLU B; ADV; CoV; PIV; RSV; RV/Enterovirus; h-MPV; Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Resistance: ESBL: CTX-M; Carbapenemases: KPC, NDM, Oxa48-like, VIM, IMP; Methicilin Resistance: mecA/mecC and MREJ)	About 1 h	Nested multiplex RT-PCR	[7,81–83]

Techniques moléculaires : panels syndromiques

- l'introduction des panels syndromiques dans le flux de travail de diagnostic pourrait améliorer la prise en charge des PAC :
 - Disponibilité simultanée de tous les résultats des agents étiologiques
 - administration précoce d'une antibiothérapie ciblée
 - ajustement et désescalade rapides de la thérapie empirique; parfois même un arrêt de cette antibiothérapie
- économiser des jours d'antibiotiques
- réduire les hospitalisations et les durées de séjour, ainsi que le nombre de radiographies thoraciques et autres examens ...

Les mPCR de dernière génération pourraient permettre un meilleur usage des antibiotiques, en particulier une épargne antibiotique



PAC confirmées radiologiquement Avec crachats de bonne qualité ou aspirations endotrachéales (n=323)

85 % des patients avaient reçu des ATB dans les 72 heures avant admission
78 % avaient un pathogène bactérien détecté par PCR, mais seulement 32 % étaient positifs à la culture (P < 0,0001).

	Analyse de routine	PCR Multiplex nouvelle génération (VIRUS + BACTERIES)
Détection d'un pathogène	39%	87%
Bactérie	32%	81%
Virus	30 % (82% = co-infection!)	

Les tests moléculaires avaient le potentiel de permettre une désescalade du nombre et/ou du spectre des antimicrobiens chez 77 % des patients

Table 3. Estimated Potential Impact of Comprehensive Molecular Testing on Antimicrobial Prescribing in Patients With Community-Acquired Pneumonia (n = 320)

Potential Modification	Antibiotic Agent	N (%)
De-escalation		247 (77.2)
Remove 1 agent		113
	CLR	108
	AMC	2
	Other ^a	3
Remove 2 agents		12
	CLR + AMX	6
	CLR + DOX	6
Reduce spectrum of agent		12
	AMC to DOX	8
	AMC to AMX	2
	Other ^b	2
Reduce number and spectrum		110
	AMC + CLR to DOX	61
	AMC + CLR to AMX	22
	AMX + CLR to AMC	12
	AMX + CLR to DOX	5
	CRO + CLR to DOX	4
	AMC + CLR to LEV	2
Other ^c		4
Escalation		19 (5.9)
Add 1 agent		2
	CIP	1
	DOX	1
Increase spectrum of agent		15
	CLR to DOX	6
	CLR to CIP	3
	DOX to AMC	3
	Other ^d	3
Increase number and spectrum		2
	AMX to DOX + CLR	1
	CLR to AMX + CIP	1
No change		54 (16.9)

Abbreviations: AMC, amoxicillin-clavulanic acid; AMX, amoxicillin; AZM, azithromycin; CIP, ciprofloxacin; CLR, clarithromycin; CRO, ceftriaxone; DOX, doxycycline; LEV, levofloxacin.

^a DOX (1 patient), CRO (1 patient), AMX (1 patient).

^b DOX to CLR (1 patient), DOX to AMX (1 patient).

^c AMX + CLR to CIP (1 patient), AMC + CRO + CLR to CIP (1 patient), AMC + AZM to AMX (1 patient), AMC + DOX to AMX (1 patient).

^d DOX to CIP (1 patient), CLR to AMC (1 patient), AMX to DOX (1 patient).

Apports des tests moléculaires

- Une PCR bactérienne à large panel, négative sur un échantillon respiratoire de bonne qualité, peut avoir une valeur prédictive négative utile dans la PAC
- Problématique : détection des bactéries par des techniques moléculaires alors que la culture bactérienne conventionnelle est négative sans ATB préalable !!!!



Possible excrétion des constituants moléculaires des bactéries du microbiome dans un état de biofilm
(en l'absence de contamination salivaire ou d'antibiothérapie antérieure)

Diagnostic indirect : la sérologie

- *M. pneumoniae* / *C. pneumoniae* / *Legionella pneumophila* / *Coxiella burnetii*
- 2 sérums à 2-3 semaines d'intervalle +++
- Diagnostic rétrospectif
- Aujourd'hui, la place de ces tests est très restreinte, principalement limitée aux études épidémiologiques du fait de l'avènement des techniques de biologie moléculaire.

Diagnostic des pleuro-pneumopathies

Liquide pleural

- Un épanchement pleural est associé à une pneumopathie dans 20 à 40 % des cas
- Analyse biochimique : liquide est exsudatif (PP) → taux de protides supérieur à 30 g/l, ou un rapport protidopleurie/protides sériques supérieur à 0,5; ou un rapport LDH pleurale/LDH sérique supérieur à 0,6
- Analyse cytologique : % PNN / Lympho
- Culture → faible sensibilité mais grande spécificité (absence flore commensale)
- Germe isolé dans 21% à 62% des cas
 - Hémo-culture : 11-27%
 - Culture liquide pleural : 14-54%
- Les preuves actuelles ne montrent pas d'utilité pour l'utilisation de routine de la PCT.

En plus de la culture intérêt :

- Antigènes solubles (Binax Now)

pos dans ~70% des PP à Sp

Se 90%, Spe 95%

- PCR ciblée Sp +++

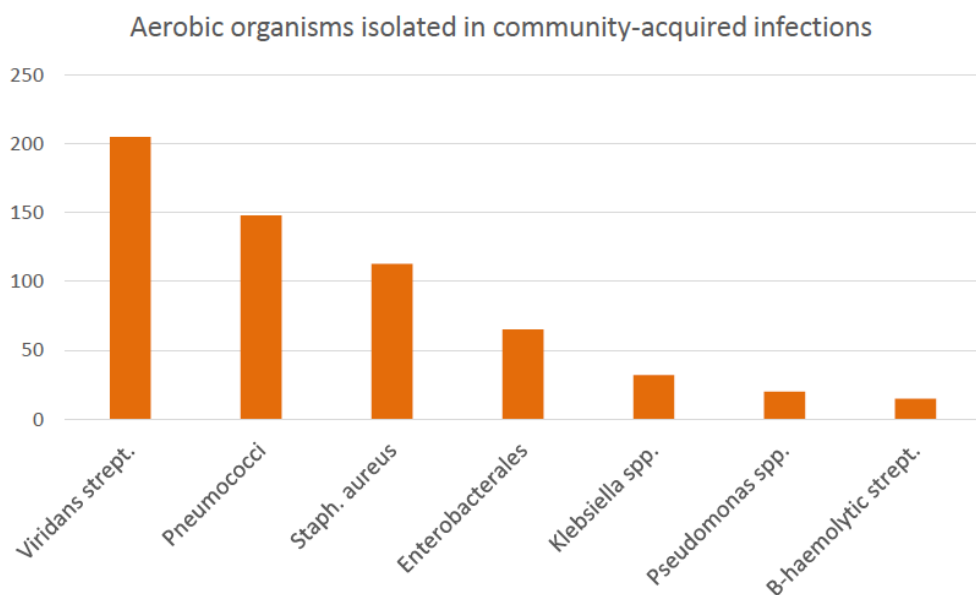
Optimising microbiological yield

Blood cultures are positive in approximately 17% of the cases and in 1 in 10 patients, may represent the only positive microbiology [7–9].

Bedside inoculation of pleural fluid in blood culture bottles in addition to standard cultures increases the proportion of patients with identifiable pathogens by roughly 20% (from 37.7% to 58.5%) [10] and has now become a common practice. Additionally, the AUDIO study demonstrated that culture of pleural tissue biopsies substantially increased the microbiological yield as compared with pleural fluid and blood specimens (45% vs 20% vs 10%, respectively) in 20 patients with clinically established pleural infection [11]. This suggests that bacteria may preferentially

Augmentation de la sensibilité et du rendement de la culture :

- Inoculation flacon HC → de 20%
- Culture biopsie pleurale → 25% pour rapport au liquide pleural et 35% par rapport l'HC

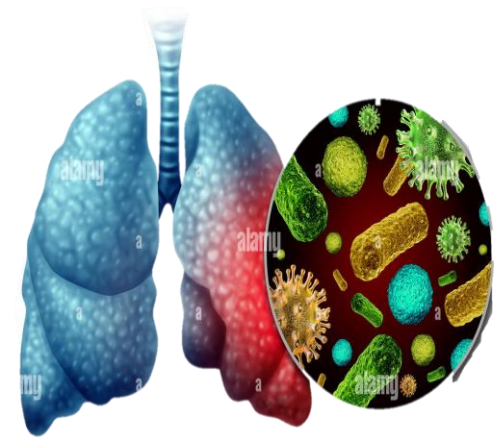


Nucleic acid amplification testing (NAAT) on pleural fluid specimens has shown potential for a rapid (a few hours) and precise identification of microorganisms [12], particularly when patients have received antibiotics, or an anaerobic infection is suspected [13]. The standard method involves polymerase chain reaction (PCR) amplification of the 16S rRNA gene (conserved regions are common to all bacteria),

Bedawi EO et al; Eur Respir J 2022; (ERS society)

Rapidité + Précision de l'identification Bact

Etiologie des PAC : quels agents infectieux ?



- Pyogènes :
 - Pneumocoque : pneumopathies et des pleuro-pneumopathies ++++
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Staphylococcus aureus* +/- : pleuropneumopathies sévères (rôle PVL+++)
 - BGN

Table 2 Aetiology of community-acquired pneumonia in Europe by treatment setting^{2 5 10-53 55}

Pathogen	Percentage means		
	Outpatient	Hospital	Intensive care unit
<i>S pneumoniae</i>	38	27	28
<i>M pneumoniae</i>	8	5	2
<i>H influenzae</i>	13	6	7
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	21	11	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.5	3	9
Enterobacteriaceae	0	4	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3	4
<i>Legionella</i> spp.	0	5	12
<i>C burnetii</i>	1	4	7
Respiratory viruses	17	12	3
Unclear	50	41	45

- Atypiques :
 - *Mycoplasma pneumoniae* +++
 - *Chlamydomphila pneumoniae* : plus rare
 - Autres : *Legionella pneumophila*

- Les virus

- Co-infections virus-bactérie : quel est le principal effecteur?

The Microbial Etiology of Community-Acquired Pneumonia in Adults: from Classical Bacteriology to Host Transcriptional Signatures

Copyright © 2022 American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Naomi J. Gadsby,^a Daniel M. Musher^{b,c}

TABLE 1 Etiology of lobar pneumonia and bronchopneumonia in the preantibiotic era^a

Etiologic agent	Lobar pneumonia (n = 3,319)	Bronchopneumonia (n = 815)
Pneumococcus	96.1	18–81
Streptococcus	2.8	7–50
Haemophilus	0.2	0–27 ^b
Staphylococcus	0.2	1–12
Klebsiella	0.5	0
Mixed infection	0.2	12
No etiology identified	0	16–32

^aComposite data from Heffron et al. (8) are presented as percentage of total number of cases. Numbers for lobar pneumonia were very similar in all studies cited and are, therefore, averaged. Numbers for bronchopneumonia showed great variation and, therefore, are presented as a range.

^bIn one study, sputum was cultured only on blood agar, which generally does not allow growth of *H. influenzae*.

TABLE 2 Etiologic agents and studies used to detect them in 359 cases of community-acquired pneumonia, 1985–1988 (69)^a

Etiologic agent	Blood culture	Sputum culture	Serology	Total
Pneumococcus	4	11	–	15
Haemophilus	<1	10	–	11
Mycoplasma/Chlamydiae	–	–	8	8
Legionella	–	Not stated	“Most”	7
Gram-negative rods ^b	<1	5 ^b	–	6
<i>S. aureus</i>	1	2	–	3
Other bacteria	2	4	–	6
Pneumocystis	–	3	–	3
Postobstructive	–	–	–	5
Aspiration	–	–	–	3
Unknown	–	–	–	33

^aData are presented as percentage of total number of cases; total exceeds 100% because coinfections were detected in some cases. Viruses were not sought. –, not reported.

TABLE 3 Intensive study of etiology of pneumonia, including conventional microbiology, urine antigen, serologic studies, and limited PCR^a

Etiologic agent	MacFarlane et al. (71)	Snijders et al. (73)	Lim et al. (74)	Johansson et al. (75)	Huijskens et al. (72)
Pneumococcus	30	37	48	64	34
Haemophilus	8	0	7	11	5
<i>S. aureus</i>	1	1	1	1	2
Gram-negative rods	1	4	1	1	4
Legionella	0	4	3	1	4
Viruses	8	5	19	29	29
Mycoplasma/Chlamydia	1	7	18	8	2
No pathogen detected	56	44	25	11	36

^aData are presented as percentage of total cases studied; totals exceed 100% because coinfections were frequently identified. See text for methodology.

TABLE 4 Etiology of infectious pneumonia in adults 2011–2014: all studies as above, with molecular studies for viruses and “atypical bacteria”^a

Etiologic agent	Musher et al. (15)	Jain et al. (13)	Bonten et al. (76)
Bacteria	28	15	30
Pneumococcus	9	5	16
Haemophilus	6	<1	7
<i>S. aureus</i>	5	2	3
Pseudomonas	3	<1	2
Legionella	1	1	1
Mycoplasma/Chlamydia	–	<3	1
Other bacteria	4	3	3
Mycobacteria	2	1	<1
Nocardia	1	0	0
Fungi (PCP)	3	1	2
Viruses	25	27	3
Rhinovirus	12	9	–
Coronavirus	3	2	–
Human metapneumovirus	2	4	–
Influenza	1	6	3
Parainfluenza	2	3	–
RSV	2	3	–
No cause identified	46	62	66

^aData from Musher et al. (15) are presented as percentage of total number of cases. Viruses were not sought. –, not reported. pneumonia in 13% of cases. Had attention not been paid to commensal bacteria, a total of 45% of cases of pneumonia might have been said to be viral. This study

quality sputum specimen at or shortly after admission^a

Etiologic group	Number (%)
Recognized bacterial pathogen	54 (45.0%) ^b
Recognized bacterial pathogen + viral coinfection	14 (11.7%)
Respiratory virus alone	16 (13.3%)
Commensal bacteria alone	21 (17.5%)
Commensal bacteria alone + viral coinfection	10 (8.3%)
Undetermined	5 (4.2%)
Total	120 (100%)

^aAdapted from Musher et al. (16).

^bIncluded in this category are 13 cases in which a recognized bacterial pathogen was isolated but, based on Gram stain and quantitative culture results, an etiologic role for coinfection with commensal flora was thought to be likely.

Etiologies des PAC

- La technologie d'amplification des acides nucléiques a révolutionné le diagnostic des PAC, montrant l'importance de la pneumonie virale entraînant une hospitalisation (pneumonie sévère) avec ou sans co-infection bactérienne
- La pandémie de Covid-19 a considérablement modifié notre perception de l'impact des virus respiratoires et de leur rôle dans les pneumonies aiguës communautaires

Tunisie

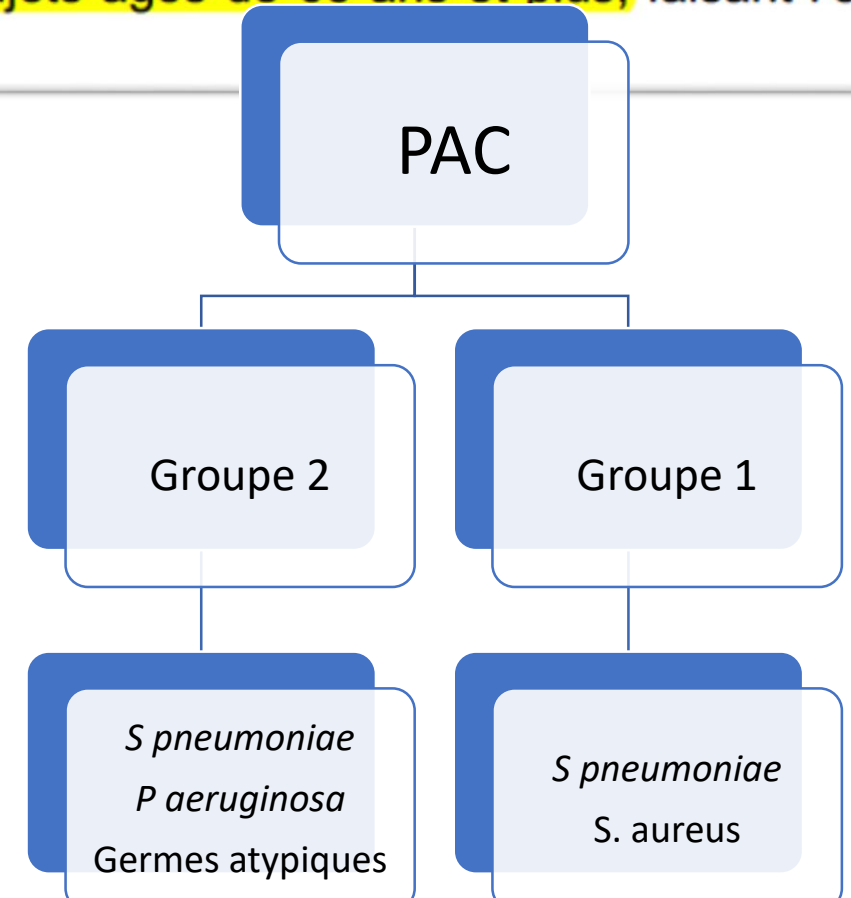
Particularités de la pneumopathie aigüe communautaire chez le sujet âgé.

Particularities of community-acquired pneumonia in the elderly.

Nous avons mené une étude rétrospective comparative englobant 80 patients qui ont été hospitalisés entre l'année 2006 et 2013 pour PAC. Le diagnostic de pneumopathie a été retenu devant la présence de signes cliniques d'infection respiratoire associés à une opacité parenchymateuse sur la radiographie du thorax. Le

suivant l'admission. Notre population a été divisée en deux groupes selon l'âge: groupe 1 (N = 40) : groupe englobant des adultes âgés entre 18 et 64 ans représentant le groupe témoin et groupe 2 (N = 40) : groupe des sujets âgés de 65 ans et plus, faisant l'objet de l'étude.

sévérité de la maladie. L'enquête bactériologique, réalisée chez la plupart des patients, a été contributive que dans 20 % des cas pour le groupe 1 et dans 31 % des cas pour le groupe 2. L'examen cyto-bactériologique des crachats et les hémocultures sont les examens les plus fréquemment demandés. Au terme de ce bilan bactériologique, plusieurs germes ont été isolés dans les deux groupes. Le staphylocoque était le germe le plus fréquemment isolé chez les sujets jeunes alors qu'ils s'agissaient du *Pseudomonas aeruginosa* et des germes atypiques dans le groupe des sujets âgés. Le streptocoque *pneumoniae* a été isolé chez les patients des deux groupes.



Bacterial and Viral Infection in Patients Hospitalized for Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Implication for Antimicrobial Management and Clinical Outcome

COPD: JOURNAL OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE
2021, VOL 18, NO. 1, 53–61

Salma Messous^{a,b}, Aida Elargoubi^b, Sylvie Pillet^c, Alain Rajoharison^d, Jonath

Années : 2014-2015 / multicentrique (centre de Tunisie)
84 adultes : exacerbation BPCO
ECBC + mPCR

Overall, at least **one bacterium** at the significant rate of 10^7 CFU/ml was detected in 15 patients (**20.3%**), the genome of at least **one viral** pathogen was detected in 45 patients (**60.8%**) and **no pathogen** was detected in 21 patients (28.4%). A **bacterium-virus co-infection** was present in seven patients (**9.5%**), as depicted in Table 4 that recapitu-

Table 4. Description of the 15 pathogen associations recorded in the 74 patients tested for bacterial and viral agents in sputum specimen.

Pathogen association	Number of cases
<i>Bacterium-bacterium</i>	1
- <i>Klebsiella pneumoniae</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Bacterium-virus(es)</i>	7
- <i>Haemophilus parainfluenzae</i> + influenza virus A/H1N1	1
- <i>Acinetobacter baumannii</i> + influenza virus A/H1N1	1
- <i>Acinetobacter baumannii</i> + respiratory syncytial virus type B	1
- <i>Klebsiella pneumoniae</i> + rhinovirus	1
- <i>Haemophilus influenzae</i> + rhinovirus	1
- <i>Escherichia coli</i> + rhinovirus	1
- <i>Streptococcus pneumoniae</i> + rhinovirus + parainfluenza virus type 1	1
<i>Virus-virus</i>	7
- Bocavirus + rhinovirus	4
- Adenovirus + rhinovirus	1
- Influenza virus A/H3N2 + rhinovirus	1
- Parainfluenza virus type 3 + human coronavirus HKU-1	1

Table 3. List of pathogens recovered from the sputum samples of the patients of the study.

Pathogen	Number
<i>Conventional bacteriological cultures (n = 74)^a</i>	15
- <i>Acinetobacter baumannii</i>	2
- <i>Escherichia coli</i>	1
- <i>Klebsiella pneumoniae</i> } 3	2
- <i>Haemophilus influenzae</i>	3
- <i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
- <i>Staphylococcus aureus</i>	1
- <i>Streptococcus pneumoniae</i>	2
<i>Molecular testing (n = 84)</i>	
<i>Bacteria</i>	1
- <i>Chlamydia pneumoniae</i>	1
<i>Viruses</i>	63
- Influenza virus A/H1N1	7
- Influenza virus A/H3N2	5
- Influenza virus B	1
- Rhinovirus	33
- Respiratory syncytial virus B	1
- Parainfluenza virus type 1	2
- Parainfluenza virus type 3	1
- Human coronavirus 229E	2
- Human coronavirus OC43	2
- Human coronavirus NL63	2
- Human coronavirus HKU-1 ^b	2
- Human bocavirus	4
- Adenovirus	1

^aThe result was considered positive for a threshold of 10^7 UFC/ml. Ten sputum samples could not be tested by conventional culture.

^bThe HKU-1 type of human coronavirus was available only in the Fast-track panel.

Table 5. Baseline characteristics and follow-up of the 74 patients for whom a sputum specimen was available for conventional bacterial culture and molecular techniques, according to the category of pathogen(s) recovered from the sputum of COPD patients.

Variable	Group 1: Bacterial pathogen (n = 15)	Group 2: Viral pathogen (n = 38)	Group 3: No pathogen (n = 21)	p Value
Age in years, mean ± SD	67.6 ± 9	69.3 ± 8.5	65.3 ± 40.4	NS
Male sex, nb (%)	15 (100)	34 (89.5)	21 (100)	NS
Smoking history in packets/year, mean ± SD	72.2 ± 76.6	59 ± 70.7	41.9 ± 41.7	NS
Number of previous exacerbations in the last 12 months, mean ± SD	2.8 ± 1.7	2.7 ± 2	2.2 ± 1	NS
BMI in kg/m ² , mean ± SD	28.1 ± 4.7	25.7 ± 4.6	23.8 ± 5	NS
<i>GOLD severity classification</i>				0.05
– Stage 2, no. (%)	2 (13.3)	0 (0)	3 (14.3)	
– Stage 3, no. (%)	6 (40)	19 (52.8)	14 (66.7)	
– Stage 4, no. (%)	7 (46.7)	17 (47.2)	4 (19)	
PaO ₂ in kPa, mean ± SD	16.6 ± 1.8	11.5 ± 0.6	17.9 ± 2.0	NS
PaCO ₂ in kPa, mean ± SD	5.8 ± 1.8	5.6 ± 1.9	6.02 ± 1.9	NS
pH, mean ± SD	7.38 ± 0.07	7.37 ± 0.06	7.34 ± 0.07	NS
WBC in cells/mm ³ × 10 ³ , mean ± SD	14.5 ± 8.3	12.4 ± 5.3	11.3 ± 6.4	NS
CRP in mg/l, mean ± SD	104.3 ± 70.8	40.3 ± 40.2	60.3 ± 57.7	0.001
<i>Duration of treatment by levofloxacin</i>				NS
– 2 days, nb (%)	4 (26.7)	21 (55.3)	9 (42.9)	
– 7 days, nb (%)	11 (73.3)	17 (44.7)	12 (57.1)	
<i>Follow-up at 6 months</i>				
– Recurrence of exacerbation, n (%)	10 (66.7)	2 (5.3)	2 (9.5)	0.0001
– Death, nb (%)	3 (20)	1 (2.8)	1 (4.8)	NS
<i>Follow-up at 12 months</i>				
– Recurrence of exacerbation nb (%)	12 (80)	4 (10.5)	3 (14.3)	0.0001
– Death, nb (%)	3 (21.4)	1 (2.8)	2 (9.5)	NS

Values are reported as mean ± SD or as frequency (%).

NS, not significant; AECOPD, acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; BMI, body mass index; CRP, C-reactive protein; PaO₂, partial pressure of oxygen in arterial blood; PaCO₂, partial pressure of carbon dioxide in arterial blood; WBC, white cell blood count.

Table 6. Multivariate analysis conducted for studying the relationship between the occurrence of a new episode of exacerbation of COPD (recurrence) within 6 or 12 months and different explicative parameters in the 74 patients for whom univariate results are shown in Table 5.

Variable	Recurrence at 6 months		Recurrence at 12 months	
	OR [CI 95%]	p Value	OR [CI 95%]	p Value
Number of previous episodes of exacerbation	1.27 [0.81–2.01]	0.31	1.27 [0.83–1.96]	0.13
CRP (< 36 mg/l vs > 36 mg/l)	1.40 [0.23–8.42]	0.71	4.54 [0.90–22.96]	0.07
GOLD score (4 vs 2 + 3)	0.20 [0.03–1.30]	0.09	0.51 [0.11–2.40]	0.39
Pathogen category (group 1 vs groups 2 + 3)	37.72 [5.93–239.93]	<0.0001	22.97 [4.76–120.75]	<0.0001

CONCLUSION

- Malgré la vaccination contre *S. pneumoniae* et, en l'absence de celle contre *H. influenzae* NT, → 50 % des cas de pneumonie entraînant une hospitalisation de l'adulte
- Un virus respiratoire est retrouvé chez 25 à 60 % des patients atteints de pneumonie, les coïnfections bactériennes ne sont pas rares
- L'examen microscopique et la culture d'échantillons d'expectoration de haute qualité fournissent des informations fiables sur l'étiologie si pas d'antibiothérapie préalable

CONCLUSION

Diagnostic microbiologique des PAC

- Réévaluer la place des pathogènes
- Suivre l'évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques
- Adaptation thérapeutique
- Détection de « nouveaux » pathogènes
- Devrait faciliter la sélection d'un antibiotique à spectre étroit approprié ou arrêter une ATB inutile

BACTERIEMINE

PAC

VIRALE

MERCI POUR VOTRE
ATTENTION

