

Apport des explorations bactériologiques dans le diagnostic des pneumonies aiguës communautaires

Cécile Bébéar

**Laboratoire de Bactériologie EA3671
Infections humaines à mycoplasmes et à chlamydiae
CNR des infections à chlamydiae**

**Université Victor Segalen Bordeaux 2, CHU de Bordeaux
Bordeaux, France**

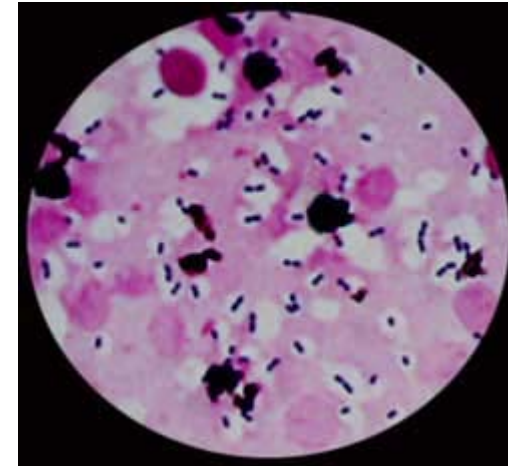


Etiologie des pneumonies aiguës communautaires (PAC)

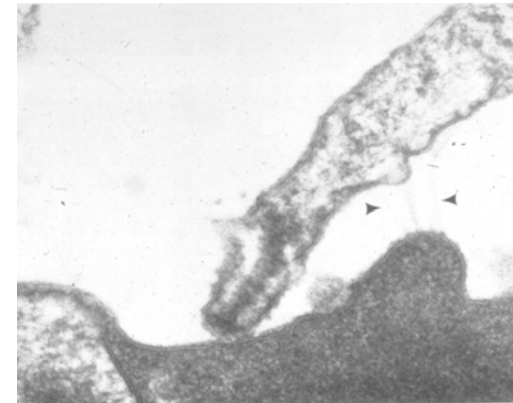
En France, chez l'adulte, séries hospitalières

- Pas de germe isolé : 50%
- Pneumocoque : 30- 47% des cas
- *Mycoplasma pneumoniae*
- Virus : 22-30%

- *Chlamydia pneumoniae* et *C. psittaci* : 5-10%
- *Legionella pneumophila* : 5%
- *Haemophilus influenzae* : 5 à 22% (Hémoc ⊕ <1%)
- Autres (<5%) : *M. catarrhalis*, staphylocoques
E. coli, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, anaérobies,
Coxiella burnetii

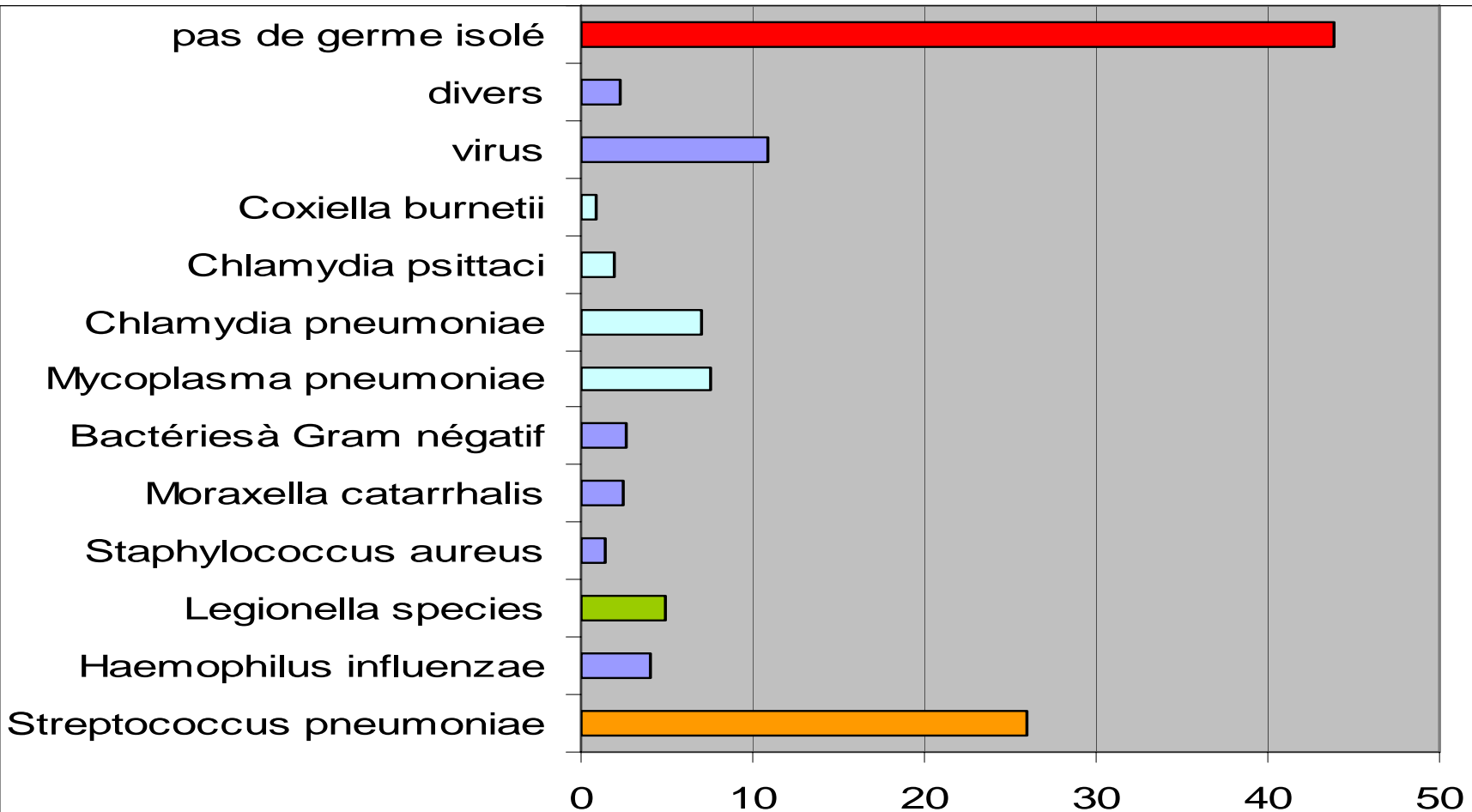


S. pneumoniae



M. pneumoniae

Microorganismes responsables de PAC hospitalisées en Europe



Diagnostic bactériologique des PAC

- **Prélèvements respiratoires**
 - ECBC
 - Prélèvements sous fibroscopie (LBA, PDP, brosse)
 - Aspiration nasopharyngée, écouvillon gorge, nez
- **Hémocultures** (+ ds 2 à 20% des PAC, pneumo++)
- **Antigénurie**
 - Pneumocoque
 - *Legionella pneumophila*
- **Diagnostic moléculaire (PCR):** *M. pneumoniae*,
C. pneumoniae
- **Sérologies:** *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*,
L. pneumophila

L'ECBC

- **Recommandé pour les patients hospitalisés**
- **ECBC obtenu chez 24-81% des patients avec un rendement d'environ 30%**
 - examen direct : présence de bactéries ?
→ orientation du traitement antibiotique
 - culture : identification de la bactérie (seuil quantitatif), sensibilité antibiotiques
- **Sensibilité et spécificité variables en fonction de la bactérie**
 - ex : 90% de sensibilité pour le pneumocoque contre 58% pour *H. influenzae*

L'ECBC

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

Antigénurie pneumocoque

Test « Binax NOW *S. pneumoniae* urinary antigen »

- Test rapide (15 min) d'immunochromatographie sur membrane
- Dans les urines au cours des pneumopathies
- Tous les sérotypes détectés (polysaccharide C)
- Sensibilité variable suivant la gravité (PAC bactériémiques vs non bactériémiques)
Excellente spécificité ($\approx 100\%$) chez l'adulte
- Non négativé par une antibiothérapie de 7 j
- Persiste plusieurs semaines
- MAIS coût élevé et pas validé chez l'enfant

Variation de la sensibilité du test Binax NOW en fonction de la gravité de la PAC à *S. pneumoniae*

PAC à Sp certaine (Hémoculture +)

Nombre de patients	Test positif (%)
28	23 (82%)
20	16 (80%)
13	10 (77%)
45	40 (89%)

PAC à Sp probable (prélèvement respiratoire +)

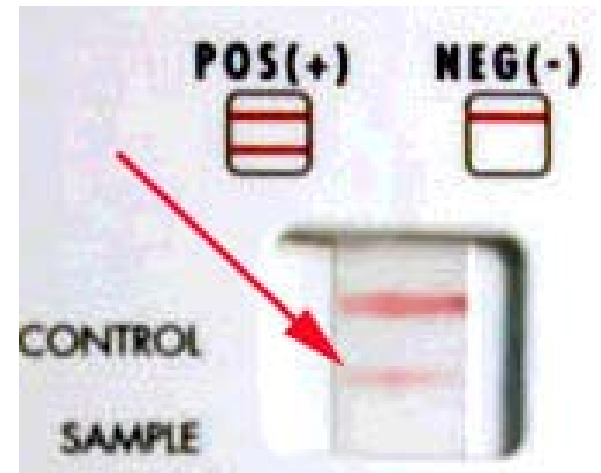
Nombre de patients	Test positif (%)
16	7 (44%)
54	28 (52%)
14	9 (64%)
52	23 (44%)

Variation des valeurs prédictives du test Binax Now *S. pneumoniae* (Sp) en fonction de l'incidence (I)

Se = 86%, Sp = 94% au cours de pneumonies à pneumo avec hémoc +
I = 30%; I = 10%

Hémoc S.p +	Hémoc S.p -	VPP/VPN
258	42	VPP = $258/300 = 86\%$
86	54	VPP = $86/140 = 61\%$
42	658	VPN = $658/700 = 94\%$
14	846	VPN = $846/860 = 98\%$
300	700	1000
100	900	

Détection d 'Ag urinaire de *S. pneumoniae* par immunochromatographie sur membrane



Antigénurie *Legionella pneumophila*

Test « Binax NOW *L. pneumophila* urinary antigen »

- Test rapide d'immunochromatographie sur membrane
 - Dans les urines au cours des pneumopathies, 1-3 j après le début → 1 an, 80% des malades
 - Uniquement le sérotype 1 détecté (80% des légionelloses)
 - Sensibilité 86-93%, spécificité >95%
 - Sensibilité accrue par concentration des urines
 - Sensibilité variable suivant la forme d'acquisition
 - Corrélation sévérité de l'infection excrétion urinaire Lp
 - Non négativé par une antibiothérapie de 7 j
- ⇒ La technique de diagnostic de la légionellose
- culture, peu sensible et lente
 - diagnostic sérologique rétrospectif, plus épidemiologique

Détection de *M. pneumoniae* par biologie moléculaire

- **1^{ère} publication de PCR en 1989** (Bernet, JCM, 89)
1989-2003 : 34 articles (Loens, JCM, 03)
- **Cibles variées**
ARNr 16S
adhésine P1 +++ (meilleure sensibilité)
- **Techniques variées:** crachats, ANP, ecouv. gorge
 - ADN : PCR convent., **PCR en temps réel**
 - ARN : NASBA, RT-PCR
- ☞ **Sensibilité: 78-92%, spécificité: 92-100%**
- **Apparition récente de kits commercialisés (PCR temps réel++), PCR multiplex (Mp/Cp; Mp/Cp/Lp)**

Comparaison de trousse de PCR en temps réel commercialisées pour *M. pneumoniae*

A. Touati, A. Bénard, A. Ben Hassen, C. M. Bébéar, S. Pereyre
J. Clin. Microbiol., sous presse

Méthodes	Nbr positifs	Sensibilité (%)	p^*
« Maison »	42	100	-
Nanogen	41	97,6	0,32
Simplexa	37	88,1	0,025
Diagenode	36	85,7	0,014
Cepheid	35	83,3	0,008
Venor	26	61,9	<0,001

Diagnostic sérologique de *M. pneumoniae*

- **Très utilisé**, signe l'infection mais diag. rétrospectif
 - **2 sérums** à 2-3 semaines d'intervalle +++
 - **Cinétique des AC**
 - IgM : 7-10 j après début infection, enfants +++
 - IgG : pic à 21 j, décroissance plusieurs mois
 - IgA : peu d'études, signe d'infection récente, intérêt chez l'adulte (↑ en cas de réinfection)
 - **Différentes techniques**
 - Fixation du complément
 - ELISA IgM, A, G
- ⇒ En résumé, diagnostic de l'infection à *M. pneumoniae*:
PCR temps réel + sérologie

Détection de *C. pneumoniae* par biologie moléculaire

- Plus de 18 PCR maisons publiées
 - Cibles variées
 - ARNr 16S, ITS 16S-23S
 - gène omp ++ (meilleure sensibilité)
 - Techniques variées: crachats, ANP, ecouv. gorge
 - ADN : PCR convent., PCR en temps réel
 - ARN : NASBA, RT-PCR
 - Apparition récente de kits commercialisés, PCR multiplex
- ⇒ Mais pas de standardisation, sensibilité variable selon les labos, mises au point encore nécessaires...

Diagnostic sérologique de *C. pneumoniae*

- **Méthode de choix MAIS** forte séroprévalence chez l'adulte, avec réactions croisées avec autres *Chlamydia*
 - **2 sérums** à 2-3 semaines d'intervalle +++
 - **2 techniques**
 - MIF: technique de référence mais subjective et non standardisée
 - ELISA: IgM, G, plus adapté à la routine, résultats très variables suivant les kits
 - **Cinétique des AC**
 - Primoinfection: ↑ IgM en 2-3 semaines, IgG en 6-8 semaines
 - Réinfection: pas d'IgM, ↑ IgG in 1-2 semaines
 - **Absence de concordance avec la PCR**
- ⇒ En résumé, diagnostic de l'infection à *C. pneumoniae*:
difficile, associer PCR temps réel + sérologie

Stratégie diagnostique microbiologique (conférence de consensus SPILF 2006)

- **PAC acquises en ville :**

aucun bilan microbio chez les patients ayant de faibles critères de gravité

- **PAC hospitalisées en dehors de la réa :**

- Hémocultures et ECBC dans un 1^{er} temps
- Détection d'Ag urinaires pneumo et/ou légionelle pas d'emblée

- **PAC hospitalisées en réa :**

Hémocultures, ECBC ou prélèvement sous fibroscopie, Ag urinaires pneumo et légionelle