



**BON USAGE DES  
OUTILS  
DIAGNOSTIQUES EN  
MICROBIOLOGIE**

**Infections respiratoires –  
ECBC & PCR multiplex :  
comprendre, choisir, interpréter**



Université  
Paris Cité



Hôpital Bichat  
Claude-Bernard  
AP-HP

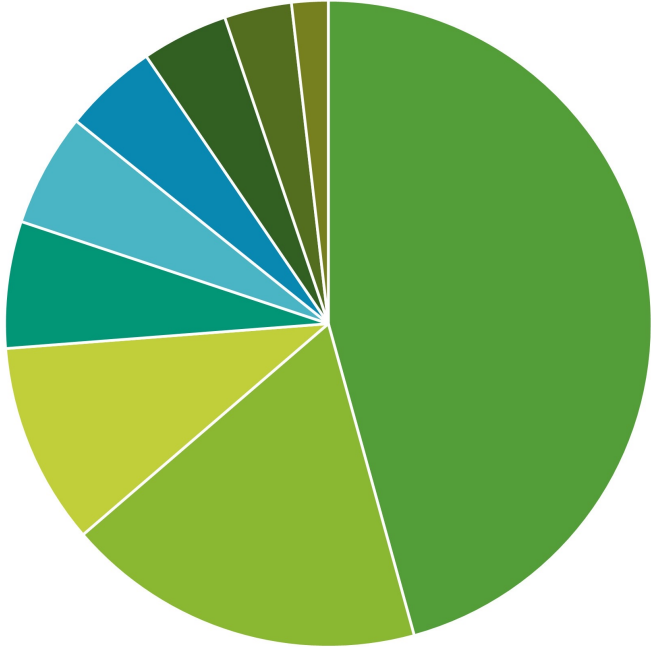
**Dr Mathilde Neuville** Equipe Mobile d'Antibiothérapie

**Dr Emilie Rondinaud** Service de Bactériologie

Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris

# Pathogènes respiratoires communautaires

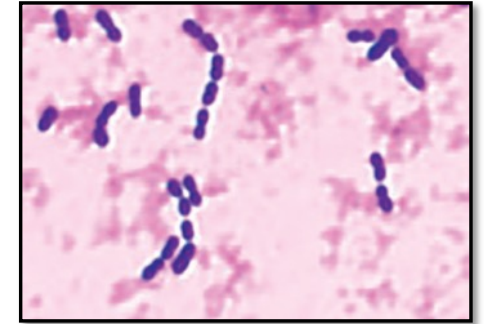
Non documentée  
dans 50 % des cas



- Streptococcus pneumoniae*
- Haemophilus sp*
- Mycoplasma pneumoniae*
- Legionella pneumophila*
- Staphylococcus aureus*
- Chlamydia pneumoniae*
- Entérobactéries
- Moraxella catarrhalis*
- Pseudomonas aeruginosa*

Shoar and Musher, Pneumonia, 2020

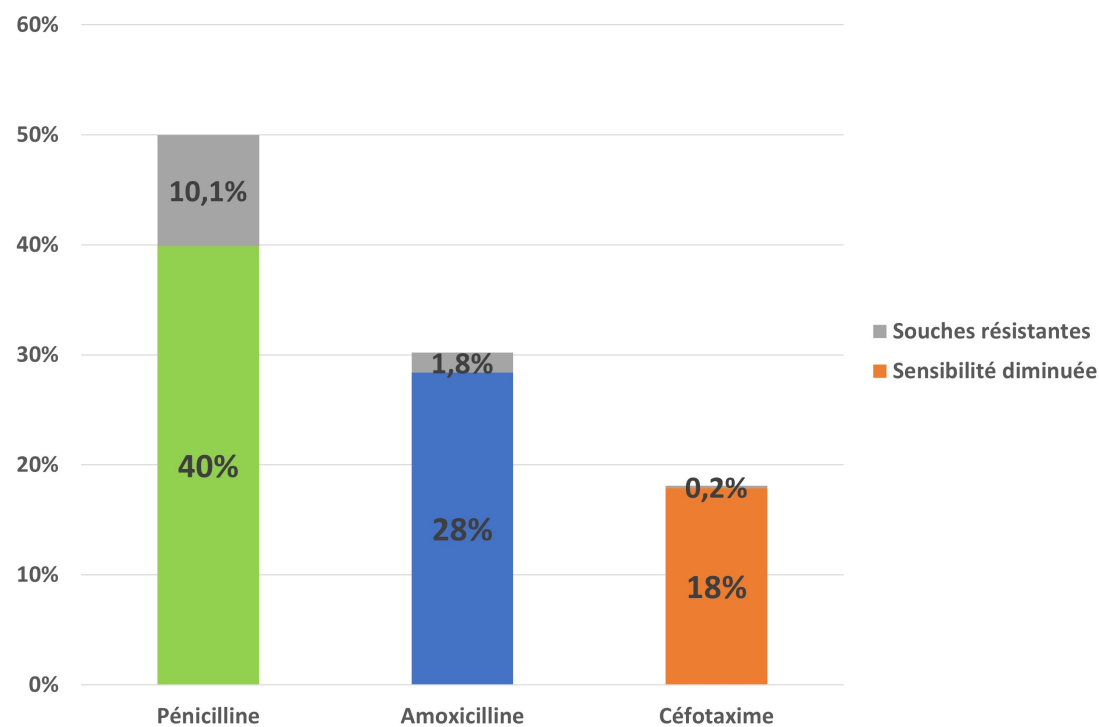
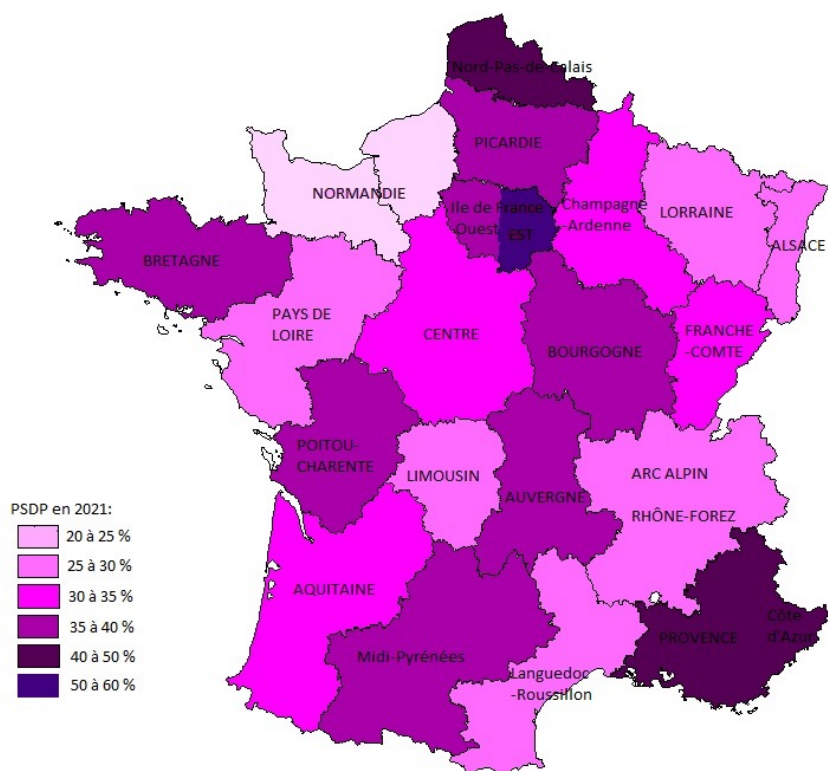
# *Streptococcus pneumoniae*



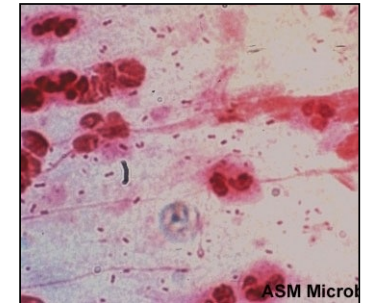
- **Morphologie** : Cocci à Gram positif en diplocoques ou en chainettes, encapsulé
- **Aspects culturels** :
  - Culture sur gélose au sang et PVX
  - Anaérobies aéro-tolérante 35°
- **Sensibilité aux antibiotiques** :
  - $\beta$ -lactamines :
    - **Modification de la cible** : PLP mosaïques => Pneumocoque de Sensibilité Diminuée aux Penicillines (PSDP)
      - **PeniG** : R, AMX, CTX : S => **33%** *Rapport activité CNR Pneumocoque et ORP 2024*
  - Macrolides : **36%** de résistance *Rapport activité CNR Pneumocoque et ORP 2024*
  - Cotrimoxazole : **7%** de résistance *Rapport activité CNR Pneumocoque et ORP 2024*
  - Fluoroquinolones : **Rares**



# Streptococcus pneumoniae



# Haemophilus influenzae



- **Morphologie** : Cocco-Bacilles à Gram négatif, fins, petits, polymorphes

- **Aspects culturels** :

- Culture sur gélose **PVX** (NAD + Hémine = facteurs **V** et **X**)
- Aéro-anaérobies facultatifs 35°C, préférentiellement **CO<sub>2</sub> 5-10%**

- **Sensibilité aux antibiotiques** :

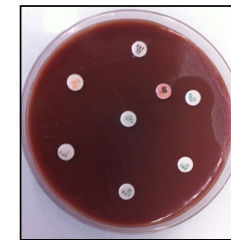
- $\beta$ -lactamines :
  - **Pénicilline plasmidique de type TEM-1 ou ROB-1**
    - **AMX : R, AMC, CTX : S** => **27%** *Rapport activité CNR Haemophilus 2024*

- **Modification des PLP3 (diminution d'affinité)** :

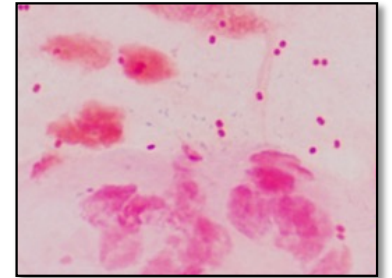
- **AMX, AMC : R, CTX : S** => **11%** des souches invasives versus **48%** des souches non invasives *Rapport activité CNR Haemophilus 2024*
- **AMX, AMC : R, CTX : R** => **3%** des souches invasives versus **45%** des souches non invasives *Rapport activité CNR Haemophilus 2024*

Tout mécanisme confondu : **35%** des souches invasives versus **64%** des souches non invasives *Rapport activité CNR Haemophilus 2024*

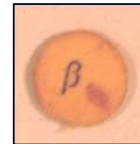
- Fluoroquinolones : **0,4%** des souches invasives versus **7%** des souches non invasives *Rapport activité CNR Haemophilus 2024*
- Cotrimoxazole : **17%** des souches invasives versus **28%** des souches non invasives *Rapport activité CNR Haemophilus 2024*



# *Moraxella catarrhalis*



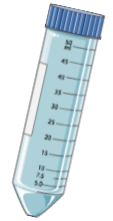
- **Morphologie** : Cocci à Gram négatif
  - **Aspects culturels** :
    - Culture sur gélose au sang et PVX (moins exigeant que *H. influenzae*)
    - Aérobie strict 35°C, préférentiellement CO<sub>2</sub> 5-10%
  - **Sensibilité aux antibiotiques** :
    - $\beta$ -lactamines :
      - **Pénicillinase plasmidique de type BRO**
        - AMX : R, AMC, CTX : S => 95 à 100 % des souches
- => Pas de résistance décrite à l'AMC
- Fluoroquinolones : rares
  - Cotrimoxazole : rares



# Cas clinique

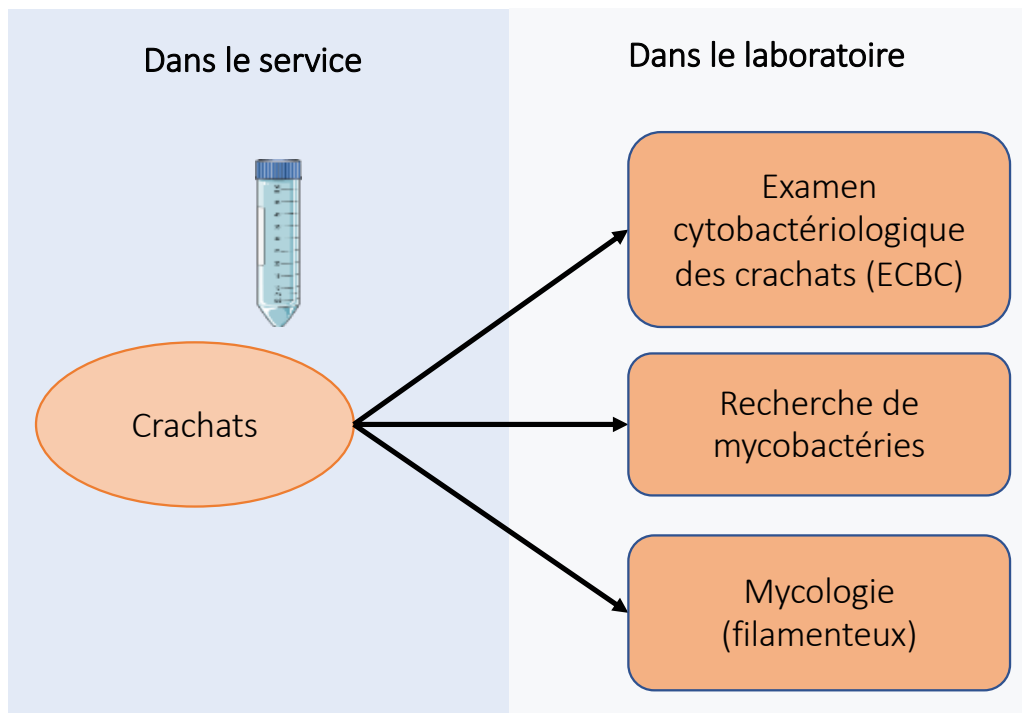
- Monsieur B, 42 ans, sans antécédent particulier, se présente chez son médecin généraliste pour toux productive associée à un essoufflement et une fièvre depuis 2 jours.
- A l'examen clinique, le patient présente une température à 39,6°C, un pouls à 100 pulsations par min, une fréquence respiratoire à 25 par min, une TA à 120/70 mmHg et des râles crépitants de la base pulmonaire gauche. Le diagnostic de pneumonie aigüe communautaire est évoqué.
- Quel(s) sont le(s) examen(s) microbiologique(s) susceptible(s) d'être prescrit(s) par son médecin généraliste?
  - Antigènes solubles Legionelle et Pneumocoque
  - Examen Cytobactériologique des Crachats
  - PCR Multiplex (Panel respiratoire haut)
  - Aucun examen microbiologique
  - Sérologie *Mycoplasma pneumoniae*

# Un crachat: Quoi ? Qui ? Quand ? Comment ?



Pour le patient : 1 crachat = 1 prélèvement

Au laboratoire : 1 crachat = plusieurs analyses possibles = plusieurs laboratoires



➔ **PRECISER** ce qui est recherché et l'envoyer au bon endroit (importance des renseignements cliniques !)

# Actualisation des recommandations de prise en charge des pneumonies aiguës communautaires chez l'adulte par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF).



## **2. Recommandations 2025**

**- Dans les PAC ambulatoires, il n'est pas recommandé de réaliser d'ECBC (Grade C-2) ;**

# Actualisation des recommandations de prise en charge des pneumonies aiguës communautaires chez l'adulte par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF).



- Dans les PAC hospitalisées non graves, il est recommandé de réaliser un ECBC en cas de sécrétions muco-purulentes (sous réserve d'un examen de bonne qualité avec acheminement rapide au laboratoire [84]), et particulièrement dans les situations suivantes (Grade C-2) :

- Patients traités de manière probabiliste par une antibiothérapie non conventionnelle (autre qu'amoxicilline, amoxicilline-acide clavulanique, macrolides ou C3G parentérale),
- Patients préalablement connus pour une infection respiratoire à SARM ou à *Pseudomonas aeruginosa*,
- Patients hospitalisés qui ont reçu une antibiothérapie parentérale dans les trois derniers mois,
- En cas de non-réponse au traitement antibiotique de première ligne et/ou d'évolution défavorable (72 h).

- Il est fortement recommandé de réaliser des examens de documentation bactériologique en cas de prescription probabiliste d'une bêtalactamine active sur *P. aeruginosa*, ce afin de faciliter la réévaluation de l'antibiothérapie et la désescalade en l'absence d'isolement de cette bactérie (avis d'expert) ;

**FICHE**

**Choix et durées  
d'antibiothérapies dans les  
exacerbations aiguës de  
bronchopneumopathie  
chronique obstructive  
(EABPCO)**

---

Validée par le Collège le 11 juillet 2024

Mis à jour en déc. 2024

**Place de la culture bactérienne des expectorations (ECBC)**

L'ECBC n'est pas indiqué. Les rares situations justifiant d'un ECBC nécessitent un avis spécialisé. En cas de patient diagnostiqué BPCO colonisé à *P. aeruginosa* : un avis spécialisé est recommandé.

# Management of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Guidelines from the Société de pneumologie de langue française (summary)



L'ECBC n'est pas recommandé en première intention chez un patient hospitalisé pour une EABPCO (accord d'expert). En revanche, en cas de suspicion d'infection à germes résistants (échec d'une première ligne d'antibiothérapie, antécédent d'infection ou colonisation à germes résistants), il est recommandé de réaliser un ECBC avec analyse bactérienne à la recherche notamment de *P. aeruginosa* (accord d'experts). Un ECBC peut également être effectué en cas d'immunodépression, d'EABPCO itératives, d'exacerbation sévère ou d'obstruction bronchique sévère.

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Quand prélever un ECBC ?

- ✓ En soins intensifs
- ✓ PAC après échec du traitement empirique
- ✓ Patients atteints de mucoviscidose / transplantation pulmonaire
- ✓ Suspicion d'infection à *P. aeruginosa*, ou traitement probabiliste à large spectre
- ✓ *Lorsque d'autres types de prélèvements pulmonaires sont nécessaires mais non réalisables (aspiration trachéale ou bronchique, LBA, prélèvement distal protégé)*

## Ne pas réaliser d'ECBC quand :

- ✓ Pneumonie aiguë communautaire (PAC) traitée en ambulatoire ou en dehors des soins intensifs
- ✓ PAC de bonne évolution clinique
- ✓ Crachats non purulents

De façon générale :

- Les ECBC sont rarement contributifs, contaminés par la salive dans >50 % des cas
- Seuil de significativité de la culture =  $10^7$  UFC/mL (surtout si culture monomicrobienne ++)

# Examen cytobactériologique des crachats (ECBC)

## Comment prélever un crachat ?

- De préférence à jeun
- Après rinçage bucco-dentaire à l'eau stérile
- Après un effort de toux +/- kinésithérapie

→ À envoyer au laboratoire en moins de deux heures pour éviter la multiplication des bactéries de la flore buccale et la diminution de viabilité du *S pneumoniae*

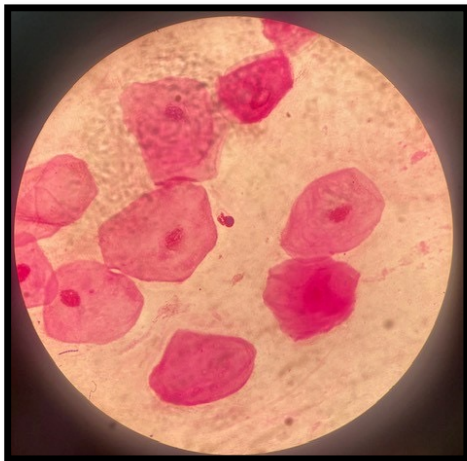
# Examen cytobactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation d'un ECBC

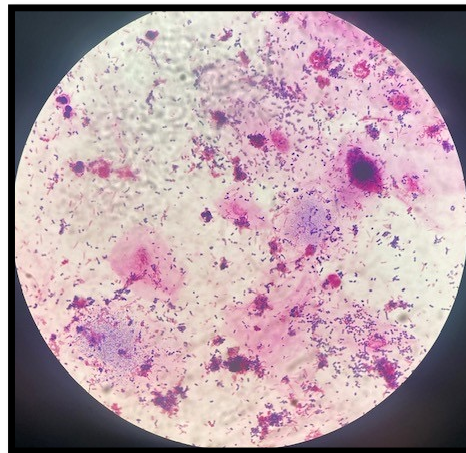
Critères de qualité basés sur l'analyse microscopique :

- Nombre de cellules épithéliales squameuses
- Nombre de leucocytes

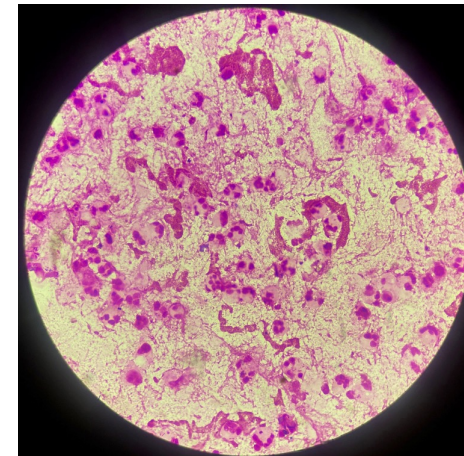
par champ à faible grossissement (x100) sur un frottis d'une coloration de Gram



Cellules épithéliales +++



Leucocytes++  
Cellules épithéliales ++  
Germes++



Leucocytes+++  
Bacilles à Gram négatif++

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation d'un ECBC

Critères de qualité basés sur l'analyse microscopique :

- Nombre de cellules épithéliales squameuses
  - Nombre de leucocytes
- par champ à faible grossissement (x100) sur un frottis d'une coloration de Gram

Classification de Murray et Washington :

Nombre des cellules par champ (x100)		Score (Murray et Washington)
Cellules épithéliales	Leucocytes	
>25	<10	1
>25	10-25	2
>25	>25	3
10-25	<10	Non précisé
10-25	10-25	Non précisé
10-25	>25	4
<10	<10	Non précisé
<10	10-25	Non précisé
<10	>25	5

*Bartlett, R. C. 1974. Medical microbiology: quality, costs, and clinical relevance.  
Murray PR, Washington JA. 1975. Mayo Clinic Proceedings.*

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation d'un ECBC

Critères de qualité basés sur l'analyse microscopique :

- Nombre de cellules épithéliales squameuses
  - Nombre de leucocytes
- par champ à faible grossissement (x100) sur un frottis d'une coloration de Gram

Classification de Murray et Washington :

Nombre des cellules par champ (x100)		Score (Murray et Washington)
Cellules épithéliales	Leucocytes	
>25	<10	1
>25	10-25	2
>25	>25	3
10-25	<10	Non précisé
10-25	10-25	Non précisé
10-25	>25	4
<10	<10	Non précisé
<10	10-25	Non précisé
<10	>25	5

Bonne qualité microscopique du prélèvement => Mise en culture

*Bartlett, R. C. 1974. Medical microbiology: quality, costs, and clinical relevance. Murray PR, Washington JA. 1975. Mayo Clinic Proceedings.*

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation d'un ECBC

Critères de qualité basés sur l'analyse microscopique :

- Nombre de cellules épithéliales squameuses
- Nombre de leucocytes

par champ à faible grossissement (x100) sur un frottis d'une coloration de Gram

Classification de Murray et Washington :

Nombre des cellules par champ (x100)		Score (Murray et Washington)
Cellules épithéliales	Leucocytes	
>25	<10	1
>25	10-25	2
>25	>25	3
10-25	<10	Non précisé
10-25	10-25	Non précisé
10-25	>25	4
<10	<10	Non précisé
<10	10-25	Non précisé
<10	>25	5

Réaction inflammatoire mais contamination par la salive => Acceptable pour une mise en culture

Bonne qualité microscopique du prélèvement => Mise en culture

*Bartlett, R. C. 1974. Medical microbiology: quality, costs, and clinical relevance. Murray PR, Washington JA. 1975. Mayo Clinic Proceedings.*

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation d'un ECBC

Critères de qualité basés sur l'analyse microscopique :

- Nombre de cellules épithéliales squameuses
  - Nombre de leucocytes
- par champ à faible grossissement (x100) sur un frottis d'une coloration de Gram

Classification de Murray et Washington :

Nombre des cellules par champ (x100)		Score (Murray et Washington)
Cellules épithéliales	Leucocytes	
>25	<10	1
>25	10-25	2
>25	>25	3
10-25	<10	Non précisé
10-25	10-25	Non précisé
10-25	>25	4
<10	<10	Non précisé
<10	10-25	Non précisé
<10	>25	5

Contamination par la salive +++ =>  
Pas de mise en culture, autre  
prélèvement ou autre stratégie  
diagnostic

Réaction inflammatoire mais  
contamination par la salive =>  
Acceptable pour une mise en culture

Bonne qualité microscopique du  
prélèvement => Mise en culture

*Bartlett, R. C. 1974. Medical microbiology: quality, costs, and clinical relevance.  
Murray PR, Washington JA. 1975. Mayo Clinic Proceedings.*

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation d'un ECBC

Critères de qualité basés sur l'analyse microscopique :

- Nombre de cellules épithéliales squameuses
  - Nombre de leucocytes
- par champ à faible grossissement (x100) sur un frottis d'une coloration de Gram

Classification de Murray et Washington (adaptée de celle de Bartlett) :

Nombre des cellules par champ (x100)		Score (Murray et Washington)
Cellules épithéliales	Leucocytes	
>25	<10	1
>25	10-25	2
>25	>25	3
10-25	<10	Non précisé
10-25	10-25	Non précisé
10-25	>25	4
<10	<10	Non précisé
<10	10-25	Non précisé
<10	>25	5

Contamination par la salive +++ =>  
Pas de mise en culture, autre  
prélèvement ou autre stratégie  
diagnostic

Réaction inflammatoire mais  
contamination par la salive =>  
Acceptable pour une mise en culture

Bonne qualité microscopique du  
prélèvement => Mise en culture

### Bonne qualité de l'ECBC

A l'examen direct :

- >25 Leucocytes /champ
- <10 Cellules épithéliales /champ
- Présence d'un seul agent pathogène prédominant

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Réalisation de la culture d'un ECBC :

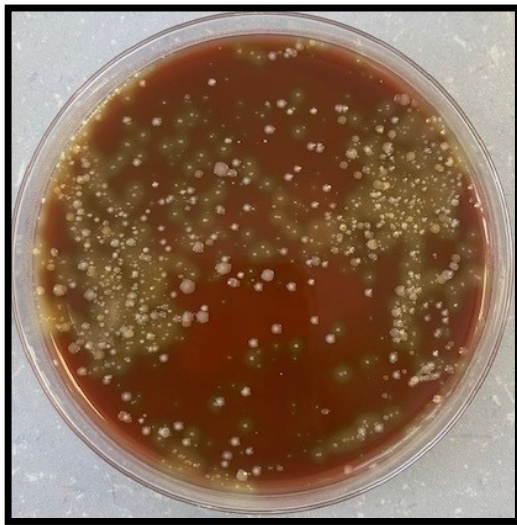
- Préalable : fluidification par N-Acétylcystéine et homogénéisation (vortex)
- Mise en culture :
  - Milieux enrichis et spécifiques :
    - Géloses au sang cuit (PVX) sous 5% CO<sup>2</sup>, Gélose au sang en aérobie et anaérobie  
=> Germes exigeants en culture
    - Géloses spécifiques : Drigalski (Gram -), ANC (Gram +, anaérobies), CAN (champignons, levures), BMPO, BCYE (Legionelle)... => Recherche spécifique et inhibition de la flore oropharyngée
  - Dilution pour un résultat semi-quantitatif

	Seuil de significativité (UFC/mL)	Dilutions proposées (REMIC V7 2022)	Dilutions réalisées au laboratoire de Bactériologie de Bichat (Pour exemple)
Expectoration	$\geq 10^7$	$10^{-5} / 10^{-7}$	Pur / $10^{-4}$
Aspiration endo-trachéale	$\geq 10^5$	$10^{-3} / 10^{-5}$	Pur / $10^{-3}$
Lavage broncho-alvéolaire	$\geq 10^4$	$10^{-2} / 10^{-4}$	Pur / $10^{-2} / 10^{-4}$
Prélèvement Distal Protégé	$\geq 10^3$	Pur / $10^{-2}$	Pur / $10^{-2} / 10^{-4}$

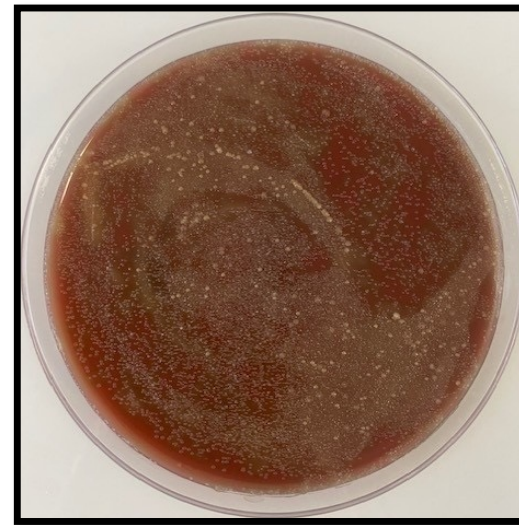
# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation de la culture d'un ECBC :

- Présence d'un pathogène dominant  $\geq 10^7$  UFC/mL
- Correspondance avec l'examen direct



Flore oropharyngée



$> 10^7$  UFC/ ml *Haemophilus influenzae*  
+ Flore oropharyngée

# Examen cytobactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation de la culture d'un ECBC :

Pré-requis :

- Connaitre la flore commensale normale de l'oropharynx
- Connaitre les pathogènes recherchés
- Connaitre le seuil de significativité d'un ECBC

- ✓ Flore normale des voies aériennes supérieures : abondante
- ✓ Varie selon l'âge
- ✓ Varie selon le terrain : BPCO, asthme...
- ✓ Les genres les plus souvent retrouvés chez l'adulte sain :
  - *Streptococcus*
  - *Veillonella*
  - *Prevotella*
  - *Neisseria*
  - *Haemophilus*
  - *Rothia*
  - *Actinomyces*
  - *Gemella*

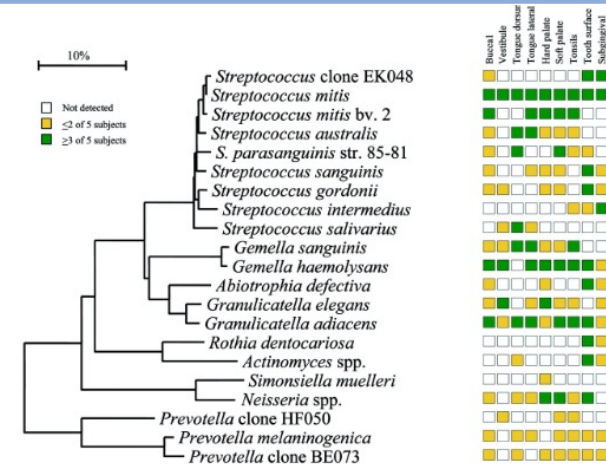


FIG. 10. Site specificity of predominant bacterial species in the oral cavity. In general, bacterial species or phylotypes were selected on the basis of their detection in multiple subjects for a given site. Distributions of bacterial species in oral sites among subjects are indicated by the columns of boxes to the right of the tree as follows: not detected in any subject (clear box), <math>< 15\%</math> of the total number of clones assayed (yellow box), <math>\geq 15\%</math> of the total number of clones assayed (green box). The 15% cutoff for low and high abundance was chosen arbitrarily. Marker bar represents a 10% difference in nucleotide sequences.

Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. 2005. JCM.  
Chaturvedi AK, Vogtmann E, Shi J, et al. 2025. JAMA Network Open.

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

- ✓ Les bactéries commensales peuvent potentiellement devenir pathogènes :
  - ✓ *Streptococcus pneumoniae* (4-20% de portage chez l'adulte (variable selon méthode de détection), 20-40 % chez l'enfant)
  - ✓ *Haemophilus influenzae*
  - ✓ *Moraxella catarrhalis*
  - ✓ *Staphylococcus aureus* (≈ 40% de portage chez l'adulte, ≈ 25% chez l'enfant)
  
- ✓ La pathogénicité est favorisée par :
  - ✓ Déséquilibre du microbiote,
  - ✓ Interactions entre virus respiratoires et bactéries commensales,
  - ✓ Altération de l'immunité locale

=> **Seuil de significativité de l'ECBC :  $\geq 10^7$  bactéries/mL**

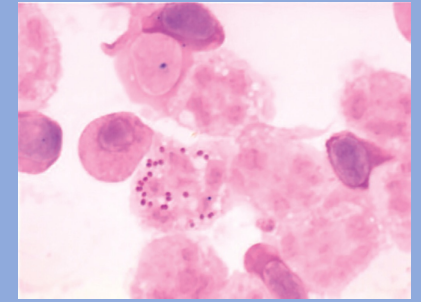
## Bonne qualité de l'ECBC de l'examen direct

- >25 Leucocytes /champ
  - <10 Cellules épithéliales /champ
  - Présence d'un seul agent pathogène prédominant
- +
- Culture d'un pathogène dominant**  
**Avec  $\geq 10^7$  bactéries/mL**  
+/- associée à une flore oropharyngée

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation de la culture d'un ECBC :

Quid de *Neisseria meningitidis* retrouvé en culture d'un ECBC?



Coloration de Gram de *Neisseria meningitidis* dans un LCR

Jusqu'à 35% de portage sain :

- selon l'âge (Adolescents++, jeunes adultes)
- selon le terrain

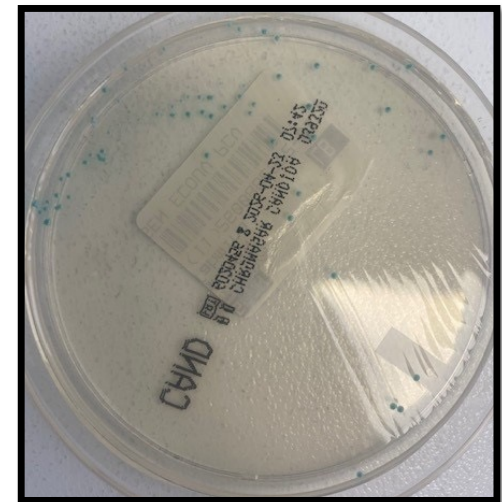
- ✓ Réservoir strictement humain
- ✓ La majorité des porteurs ne développent jamais de maladie invasive
- ✓ La colonisation oropharyngée = événement immunisant, induisant une réponse protectrice contre l'organisme
- ✓ La diversité génétique des souches portées est importante, et la plupart des souches retrouvées chez les porteurs asymptomatiques sont peu ou non virulentes
- ✓ Le portage asymptomatique constitue le principal réservoir de transmission de *N. meningitidis* dans la population, et la bactérie fait partie de la flore oropharyngée normale chez l'homme

# Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC)

## Interprétation de la culture d'un ECBC :

Quid des levures retrouvés en culture d'un ECBC?

- ✓ Colonisation ou contamination oropharyngée
- ✓ Ne signe pas une infection pulmonaire même chez les patients atteints de pathologies respiratoires chroniques
- ✓ *Candida albicans* et autres espèces de *Candida* très fréquemment isolées
- ✓ Recherche non recommandée en absence de suspicion clinique d'infection fongique (immunodépression sévère, critères radiologiques évocateurs...)



Murray PR, Van Scoy RE, Roberts GD. 1977, Mayo Clinic Proceedings.  
Miceli MH, Diaz JA, Lee SA. 2011. The Lancet.

# Sérologies bactériennes

## → Peu d'intérêt

Aide à certains diagnostics des pneumopathies communautaires atypiques :

- ✓ *Mycoplasma pneumoniae*
- ✓ *Chlamydiae pneumoniae*
- ✓ *Legionella pneumoniae*

MAIS :

- Délais de rendu ++
- Second prélèvement souvent nécessaire pour interprétation des taux sériques

**=> Diagnostic rétrospectif**

# Antigènes solubles urinaires

- Recherche de 2 pathogènes :

- ✓ *Streptococcus pneumoniae*
- ✓ *Legionella pneumophila*

- Avantages :

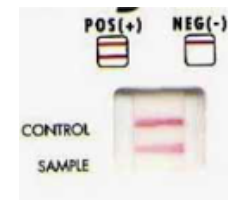
- Rapidité du résultat : 10-15 minutes
- Prélèvement facile : urines

Et :

- Lorsque la croissance bactérienne est inhibée par la prise d'antibiotique préalable
- Lorsque la réalisation des prélèvements respiratoires est difficile

- Techniques bactériologiques :

- Immunochromatographie avec révélation colorimétrique ou par l'immunofluorescence +/- associée à des lecteurs optiques => augmentation de la sensibilité (+ traçabilité (accréditation++))
- Immunoenzymatique (ELISA)



# Actualisation des recommandations de prise en charge des pneumonies aiguës communautaires chez l'adulte par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF).



## 2. Recommandations 2025

- **Dans les PAC ambulatoires** : il n'est pas recommandé de réaliser d'antigénurie *Legionella*<sup>2</sup> ou pneumocoque (Grade C-2) ;

# Actualisation des recommandations de prise en charge des pneumonies aiguës communautaires chez l'adulte par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF).



- Dans les PAC hospitalisées non graves : il n'est pas recommandé de réaliser d'antigénurie pneumocoque (Grade B-2). Il n'est pas non plus recommandé de réaliser d'antigénurie *Legionella*, sauf en cas d'arguments évocateurs (cf. [Tableau 2](#)) (Grade B-2) ;
- Dans les PAC hospitalisées graves, il est recommandé de réaliser une antigénurie pneumocoque et *Legionella*<sup>2</sup> (Grade B-1).

## Légionellose

- Situation à risque (voyage, exposition à de l'eau en aérosols, etc.)
- Non-réponse à 48 h–72 h de traitement par bêtalactamine bien conduit
- Comorbidités, immunodépression
- Rapidement progressif (2 à 3 jours)
- Signes extra-respiratoires : digestifs (douleurs abdominales, diarrhées, vomissements), neurologiques (troubles de conscience, céphalées), myalgies, pouls dissocié
- Insuffisance rénale, hyponatrémie, cytolyse, rhabdomyolyse
- Opacités alvéolaires uni- ou bilatérales

# Antigènes solubles urinaires

## Pneumocoque

→ **Recommandée uniquement pour les pneumonies sévères de l'adulte (USI) et les pleurésies purulentes (VPP++)**

- Détection antigène C-polysaccharidique de *Streptococcus pneumoniae*
- Sensibilité médiocre ≈ **66 %**, meilleure dans les pneumonies sévères ou bactériémiques
- Spécificité ≈ **90 %** chez l'adulte
- Faux positifs possibles (BPCO) surtout chez l'enfant (21-54 % des enfants porteurs au niveau nasopharyngé)
- Excrétion dans les urines de **6 semaines à 3 mois** après une infection sans impact de l'antibiothérapie
- Alternative/complément à la culture (Gold standard) :
  - ✓ *Qualité du prélèvement* => risque de contamination par la flore oropharyngée
  - ✓ *Identification par spectro de masse Maldi-Tof* => difficulté à différencier *S. pneumoniae* des autres Streptocoques alpha – hemolytiques (Optochine R) avec une amélioration des bases de données aujourd'hui

# Antigènes solubles urinaires

## Légionelle

→ À réaliser si pneumonie sévère et/ou suspicion de pneumonie à germe atypique

- Très bonne spécificité >99 %, assez bonne sensibilité (80-90 % pour le sérotype 1 (70-90% des cas)), sévérité et origine (nosocomiale 50 %)
- Faux négatif si trop précoce/début des symptômes (positif dans les 2-3 jours après)
- Détection du sérotype 1 principalement => autres sérotypes fonction des kits utilisés (à discuter avec le laboratoire)
- Excrété dans les urines **2 mois** en moyenne, jusqu'à 1 an → en cas de pneumopathies récidivantes



- Test négatif → n'exclut pas le diagnostic
- Test positif → culture prélèvement respiratoire systématique ++

# Antigènes solubles urinaires

## Légionelle

### → Points importants au laboratoire :

- Risque de faux positifs : il est recommandé de tester une seconde fois les urines sur le surnageant après chauffage (5 min à 95°C puis centrifuger 15 min à 1200 rpm)
  - ✓ Chauffer pour éliminer les réactions non spécifiques
  - ✓ Concentrer pour augmenter la sensibilité
- Alternative/complément à la culture (Gold standard) :
  - ✓ Croissance difficile (minimum 72h) et contamination par flore oropharyngée donc utilisation de milieu spécifique (BCYE) additionné d'antibiotiques : BMPA (BCYE + ATB), MWY(BCYE + ATB), 35°C +/-2, 10j atm humide => Sensibilité 25 à 75%
  - ✓ Reconnaissance des colonies difficile : aspect translucide, verre fritté (loupe binoculaire), identification par spectro de masse MALDI-Tof
  - ✓ Pas d'antibiogramme réalisé (*recommandations CNR Legionelle Lyon*)

# Antigènes solubles urinaires

## Légionelle

- Autre alternative : PCR Légionelle, sur prélèvement respiratoire profond
  - Sensibilité 85 – 100%
  - Rapide
  - Détection de tous les sérotypes et/ou espèce (fonction cible)

=> **Déclaration Obligatoire** ET envoi au CNR pour sérotypage (demandé par l'ARS pour investigation épidémiologique)

# Approches syndromiques

- Multiplication des PCR multiplex rapides : triplex, panels
- Résultats rapides (moins d'1 à 4 h selon les plateformes et/ou l'équipement disponible).
- Possibilités variables selon les laboratoires + Point of Care (EBMD)
- Plusieurs types :
  - Triplex : SARS-CoV2, grippe, VRS
  - Panel respiratoire « haut » : principalement sur écouvillon naso-pharyngé
  - Panel respiratoire « bas » : sur prélèvement respiratoire profond
- Sensibilité et spécificité élevées

# Panels respiratoires « hauts »

**BioFire® Respiratory Panel 2.1 plus (RP2.1plus)**  
Marqué CE-IVD

23 pathogènes

VIRUS		BACTÉRIES
* Adénovirus	* Virus de la grippe A	* <i>Bordetella pertussis</i> (ptxP)
* Coronavirus HKU1	* Virus de la grippe A/H1	* <i>Bordetella parapertussis</i> (IS1001)
* Coronavirus NL63	* Virus de la grippe A/H1-2009	* <i>Chlamydia pneumoniae</i>
* Coronavirus 229E	* Virus de la grippe A/H3	* <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
* Coronavirus OC43	* Virus de la grippe B	
* Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2)	* Parainfluenza 1	
* Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV)	* Parainfluenza 2	
* Métapneumovirus humain	* Parainfluenza 3	
* Rhinovirus/Entérovirus humain	* Parainfluenza 4	
	* Virus respiratoire syncytial	


23 CIBLES  
45 min

**QIAStat-Dx Respiratory SARS-CoV-2 PCR ID**

Rapid PCR Identification of Respiratory Viruses and Bacteria

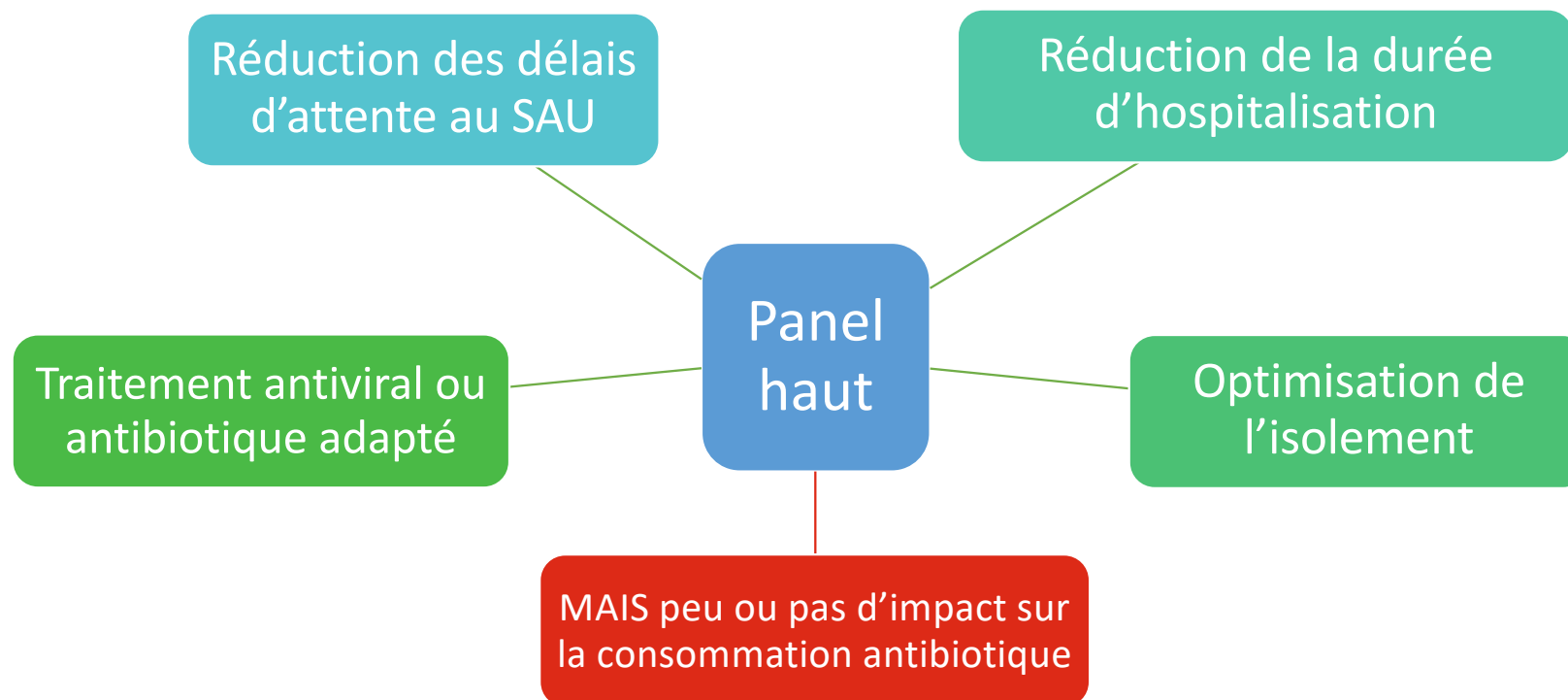
Turnaround Time: 4 hours

Brochure for Clinics: [Download](#)

 <b>Viruses</b>	Influenza A Influenza A subtype H1N1/2009 Influenza A subtype H1 Influenza A subtype H3 Influenza B SARS-CoV-2 Coronavirus 229E Coronavirus HKU1 Coronavirus NL63 Coronavirus OC43	Parainfluenza virus 1 Parainfluenza virus 2 Parainfluenza virus 3 Parainfluenza virus 4 Respiratory syncytial virus A/B Human metapneumovirus A/B Adenovirus Bocavirus Rhinovirus/Enterovirus
	<b>Bacteria</b>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Bordetella pertussis</i>

- Nombreux virus : Grippe A dont H1N1, Grippe B, SARS-CoV-2, VRS, Rhinovirus, Coronavirus OC43, Metapneumovirus... Sensibilité > 90%
- Des bactéries atypiques, intra-cellulaires : *Bordetella pertussis* +/- *B. parapertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*
- ⚠ • DiagCORE (QIAGEN) : contient *Legionella pneumophila* : non recommandée sur prélèvement respiratoire haut
- *Bordetella pertussis* : sensibilité des kits insuffisante pour exclure un diagnostic de coqueluche => PCR spécifique recommandée

Actualisation des recommandations de prise en charge des pneumonies aiguës communautaires chez l'adulte par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF).



# Actualisation des recommandations de prise en charge des pneumonies aiguës communautaires chez l'adulte par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF).



## 2. Recommandations 2025

- Dans les PAC ambulatoires : la recherche des virus respiratoires ainsi que l'utilisation des PCR syndromiques ne sont pas recommandées (avis d'expert) ;
- Dans les PAC hospitalisées non graves :

Il est recommandé de réaliser une PCR virale quadriplex à la recherche des virus Influenza A/B, du VRS et du SARS-CoV-2, selon le contexte épidémique.

Une PCR syndromique panel respiratoire « haut » ou une recherche étendue (incluant notamment *M. pneumoniae*) selon l'équipement local disponible et réalisée sur prélèvement nasopharyngé peut être proposée d'emblée ou en deuxième intention si la PCR virale quadriplex est négative (Grade C- 2) :

- lorsqu'une recherche de bactéries atypiques (notamment *M. pneumoniae*) est envisagée (en fonction de la présentation clinique et/ou de l'épidémiologie) et si la PCR spécifique n'est pas disponible ;
- si la mise en évidence d'un virus autre que VRS/Grippe A et B/SARS-CoV-2 peut influencer sur la prise en charge du patient (désescalade ou arrêt des antibiotiques, isolement).

# Panels respiratoires « bas »


**91.4% Sensitivity**  
**99.5% Specificity**

**Transferable Resistance markers**  
 Overall PPA 89.9%  
 Overall NPA 99.3%


CE marked FDA cleared

## Hospitalized Pneumonia

Gram-positive bacteria	Enterobacteriales	Non-fermenting bacteria	Others / Fungi	Resistance	Gene
Staphylococcus aureus Streptococcus pneumoniae	Citrobacter freundii Escherichia coli Enterobacter cloacae complex Klebsiella aerogenes (E. aerogenes) Proteus spp. Klebsiella pneumoniae Klebsiella oxytoca Klebsiella varicola Serratia marcescens Morganella morganii	Moraxella catarrhalis Pseudomonas aeruginosa Acinetobacter baumannii complex Stenotrophomonas maltophilia Legionella pneumophila	Pneumocystis jirovecii Haemophilus influenzae Mycoplasma pneumoniae Chlamydia (Chlamydia) pneumoniae	Macrolide/ Lincosamide ermB Oxacillin mecA mecC Penicillin tem shf 3rd generation Cephalosporins ctt-M kpc imp ndm oxa-23 oxa-24/40 oxa-48 oxa-58 vim Sulfonamide sul1 Fluoroquinolone gyrA83 gyrB87	

**TTR = 4 à 5 heures**  
**Rendu semi-quantitatif**

Le panel n'inclut pas :  
**Hafnia**  
**Achromobacter**


**CE marked FDA cleared**

## Pneumonia Panel plus

**BACTÉRIES** (Résultats semi-quantitatifs)  
*Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complexe  
*Enterobacter cloacae* complexe  
*Escherichia coli*  
*Haemophilus influenzae*  
*Klebsiella aerogenes*  
*Klebsiella oxytoca*  
 Groupe *Klebsiella pneumoniae*  
*Moraxella catarrhalis*  
*Proteus* spp.  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Serratia marcescens*  
*Staphylococcus aureus*  
*Streptococcus agalactiae*  
*Streptococcus pneumoniae*  
*Streptococcus pyogenes*

**BACTÉRIES ATYPIQUES** (Résultats qualitatifs)  
*Chlamydia pneumoniae*  
*Legionella pneumophila*  
*Mycoplasma pneumoniae*

**VIRUS**  
 Adénovirus  
 Coronavirus  
 Métapneumovirus humain  
 Entérovirus/rhinovirus humains  
 Virus de la grippe A  
 Virus de la grippe B  
 Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS CoV)  
 Virus parainfluenza  
 Virus respiratoire syncytial

**GÈNES DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES**  
**Résistance à la pénicilline**  
*mecA/C* et MREJ  
**Carbapénémases**  
 IMP  
 KPC  
 NDM  
 OXA-48-like  
 VIM  
**BLSE**  
 CTX-M

**TTR= 1 heure**  
**Rendu quantitatif**

Le panel n'inclut pas :  
**Hafnia**  
**C. freundii**  
**Stenotrophomonas**  
**Achromobacter**  
**M. morganii**

	Sensibilité	Spécificité
LBA	96,2 %	98,4 %
Expectoration	96,3 %	97,3 %

- Contient *Legionella pneumophila*, et autres intra-cellulaires : *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* mais aussi *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *S. aureus*
- Associés aux gènes de résistance (mecA, BLSE, Carbapénémases)
- +/- virus (en fonction des kits)

# Actualisation des recommandations de prise en charge des pneumonies aiguës communautaires chez l'adulte par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF).



Un panel syndromique respiratoire « bas » réalisé sur prélèvement respiratoire profond (AT, PDP ou LBA, à défaut sur expectoration de bonne qualité) peut être proposé (Grade C- 2) :

- lorsqu'une antibiothérapie non conventionnelle est utilisée en traitement probabiliste (c'est-à-dire différente de l'association C3G+Macrolide)
- lorsqu'une recherche de bactéries atypiques (en particulier *Legionella*<sup>3</sup>) est envisagée, en fonction de la présentation et de l'épidémiologie, et si la PCR *Legionella* spécifique n'est pas disponible.

# Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society



Andre C. Kalil,<sup>1,a</sup> Mark L. Metersky,<sup>2,a</sup> Michael Klompas,<sup>3,4</sup> John Muscedere,<sup>5</sup> Daniel A. Sweeney,<sup>6</sup> Lucy B. Palmer,<sup>7</sup> Lena M. Napolitano,<sup>8</sup> Naomi P. O'Grady,<sup>9</sup> John G. Bartlett,<sup>10</sup> Jordi Carratalà,<sup>11</sup> Ali A. El Solh,<sup>12</sup> Santiago Ewig,<sup>13</sup> Paul D. Fey,<sup>14</sup> Thomas M. File Jr,<sup>15</sup> Marcos I. Restrepo,<sup>16</sup> Jason A. Roberts,<sup>17,18</sup> Grant W. Waterer,<sup>19</sup> Peggy Cruse,<sup>20</sup> Shandra L. Knight,<sup>20</sup> and Jan L. Brozek<sup>21</sup>

**Table 2. Risk Factors for Multidrug-Resistant Pathogens**

Risk factors for MDR VAP

- Prior intravenous antibiotic use within 90 d
- Septic shock at time of VAP
- ARDS preceding VAP
- Five or more days of hospitalization prior to the occurrence of VAP
- Acute renal replacement therapy prior to VAP onset

Risk factors for MDR HAP

- Prior intravenous antibiotic use within 90 d

Risk factors for MRSA VAP/HAP

- Prior intravenous antibiotic use within 90 d

Risk factors for MDR *Pseudomonas* VAP/HAP

- Prior intravenous antibiotic use within 90 d

# Facteurs de risque d'infection à EBLSE

**Table 1** Risk factors for ESBL-producing *Enterobacteriaceae* isolation in ICU patients

Risk factors for ESBL-PE carriage	Risk factors for ESBL-PE infections on previously colonized patients
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Travel in high-prevalence countries</li> <li>- Recent hospitalization</li> <li>- Previous antibiotic therapy within 90 d with <math>\beta</math>-lactams and/or fluoroquinolones</li> <li>- Charlson comorbidity index <math>&gt; 3</math></li> <li>- Chronic dialysis</li> <li>- High colonization pressure in your unit</li> <li>- Duration of previous hospital and ICU stay</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Immunocompromised status</li> <li>- High SAPS II</li> <li>- Admission with shock</li> <li>- Previous colonization with ESBL-positive <i>Enterobacter cloacae</i> or <i>Klebsiella pneumoniae</i> (versus ESBL-positive <i>Escherichia coli</i>)</li> <li>- <math>\beta</math>-lactam/<math>\beta</math>-lactamase inhibitor before infection</li> <li>- Urinary catheterization</li> <li>- Intravenous catheterization</li> </ul>

Abbreviations: ESBL-PE, extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*; ICU, intensive care unit; SAPS, simplified acute physiological score.

# PAVM : intérêt des approches syndromiques

Portage d'EBLSE et FdR de *P. aeruginosa* : quel traitement probabiliste ?

Panel (PCR multiplex)

■ PCR (+) ■ PCR (-)

Entérobactéries

*P. aeruginosa*

*A. baumannii*

CTX-M  
(BLSE)

KPC, NDM,  
OXA48, VIM, IMP  
(carbapénémases)

*S. aureus*

*mecA / mecC*  
(RM)

**PAVM à entérobactérie non-BLSE**

Ex: *Escherichia coli* (⇒ ceftriaxone) ou *Enterobacter cloacae* (risque d'AmpC dérégulée ⇒ céfépime)

± 2<sup>ème</sup> molécule (FQ ou aminoside) si sepsis grave ou choc septique (ATS-IDSA 2016)

# PAVM : intérêt des approches syndromiques

Portage d'EBLSE et FdR de *P. aeruginosa* : quel traitement probabiliste ?

Panel (PCR multiplex)

■ PCR (+) ■ PCR (-)

Entérobactéries

*P. aeruginosa*

*A. baumannii*

CTX-M  
(BLSE)

KPC, NDM,  
OXA48, VIM, IMP  
(carbapénémases)

*S. aureus*

*mecA / mecC*  
(RM)

PAVM à entérobactérie productrice de BLSE

Traitement initial par carbapénème ou alternative active sur EBLSE

± bithérapie si sepsis grave ou choc septique (ATS-IDSA 2016)

# PAVM : intérêt des approches syndromiques

Portage d'EBLSE et FdR de *P. aeruginosa* : quel traitement probabiliste ?

Panel (PCR multiplex)

■ PCR (+) ■ PCR (-)

Entérobactéries

*P. aeruginosa*

*A. baumannii*

CTX-M  
(BLSE)

KPC, NDM,  
OXA48, VIM, IMP  
(carbapénémases)

*S. aureus*

*mecA / mecC*  
(RM)

PAVM à *P. aeruginosa*

Traitement initial selon écologie locale

(prévalence des résistances aux différentes  $\beta$ -lactamines, ex : ceftazidime)

# Approches syndromiques



- Avantages :
  - Résultats fiables => **désescalade thérapeutique précoce**
  - Permet d'éviter l'utilisation antibiotiques lorsque l'infection est virale
  - Mise en place de mesure d'isolement et de surveillance épidémiologique (période épidémique/SAU)
- Limites générales :
  - PCR = détection d'ADN/ARN
  - Un résultat positif ne signifie pas une infection active
    - portage sain, reflet d'une infection ancienne...
  - Un résultat négatif ne signifie pas absence de pathogène
    - absents du panel
    - sensibilité faible

**POSITIF ≠ INFECTION**  
**NEGATIF ≠ SAIN**

# Approches syndromiques

- **Dialogue clinico-biologique** indispensable
  - Pertinence de la prescription
  - Conditions de réalisation : échantillons validés/panel
  - Interprétation
  - Connaissance des différents panels existants (sensibilité)
  - Coût++
- **Recommandations :**
  - Patients hospitalisés
  - Patients à risque de complication
  - Situation épidémique

# Conclusion

## Comment utiliser les examens microbiologiques pour optimiser l'antibiothérapie?

**Outils traditionnels (ECBC, Sérologie, Antigènes solubles)**

⇒ peu d'impact sur la prise en charge des patients en dehors des patients grave de réanimation

**Panels syndromiques (PCR)**

⇒ rapport coût / intérêt dans la prise en charge

