

Test microbiologiques conventionnels : intérêts et limites

Dr Jacques Tankovic
Hôpital Saint-Antoine

Patient ambulatoire : aucun prélèvement

Prélèvements pour le patient hospitalisé

Hémocultures : 2 ou mieux 3

- Volume optimal de sang : 40-60 ml
- Si 2 hémoc et remplissage insuffisant des flacons (moins de 8 ml) : < 40 ml
- En même temps (bactériémie continue)
- **Rendement** des hémocultures dans la PAC : faible, estimé à environ **10%**

ECBC

(Examen cyto-bactériologique du crachat)

- Forcément contaminé par la flore oropharyngée
- Rinçage buccal à l'eau stérile avant le prélèvement
- Avant toute antibiothérapie
- Si antibiothérapie préalable : bcp plus difficile à interpréter

- Si toux productive
 - Vérifier la présence de pus/particules purulentes dans le prélèvement
- Sinon crachat induit
 - Par kinésithérapie respiratoire
 - Nébulisation d'eau salée isotonique ou hypertonique ?

L'examen microscopique peut apporter la documentation microbiologique si

- absence d'antibiothérapie préalable
- prélèvement de bonne qualité

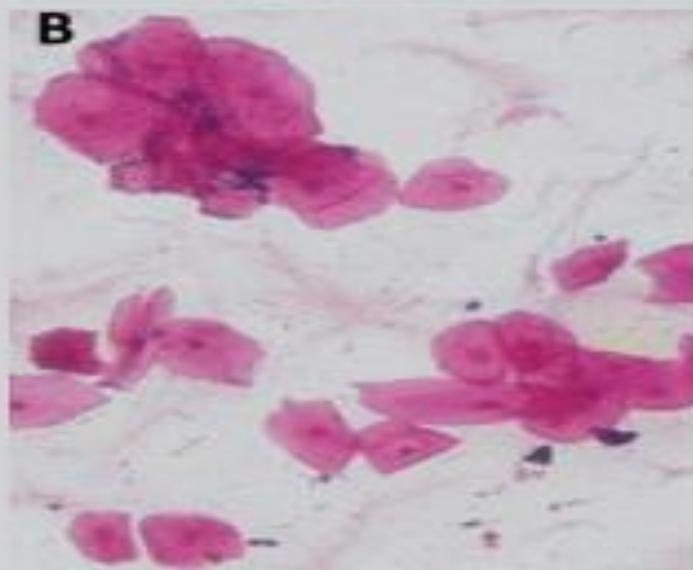
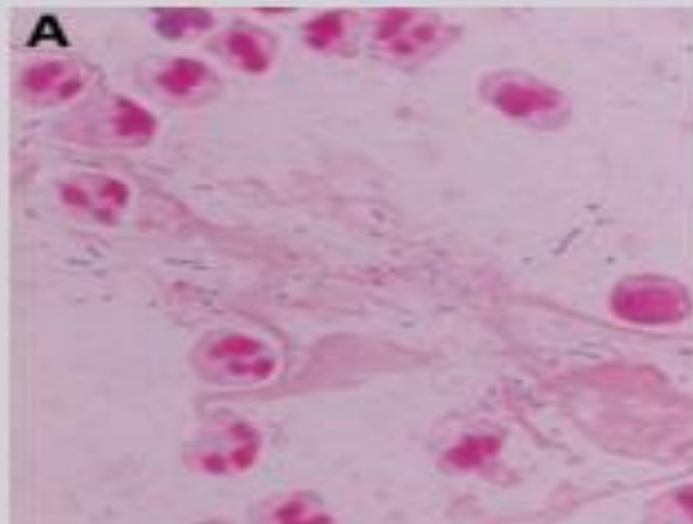


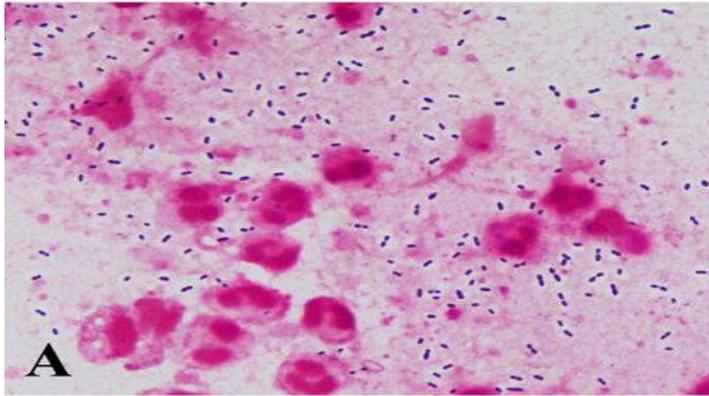
Figure 1. Examen direct

- A.** Expectoration de bonne qualité, avec la présence de nombreux polymorphonucléaires.
- B.** Expectoration de mauvaise qualité, avec la présence de nombreuses cellules épithéliales.

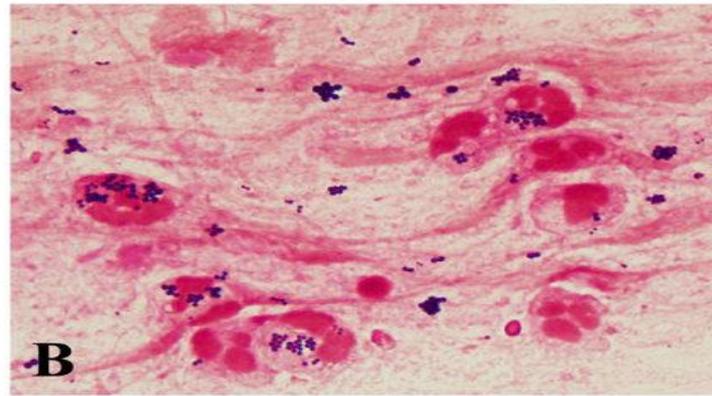
Critères cytologiques de mise en culture de l'ECBC

N cellules/champ (x100)		Indication de Culture (Bartlett)
épithéliales	leucocytes	
>25	<10	Non
>25	10-25	Non
>25	>25	Non
10-25	<10	Non
10-25	10-25	Non
10-25	>25	Oui
<10	<10	Non
<10	10-25	Oui
<10	>25	Oui

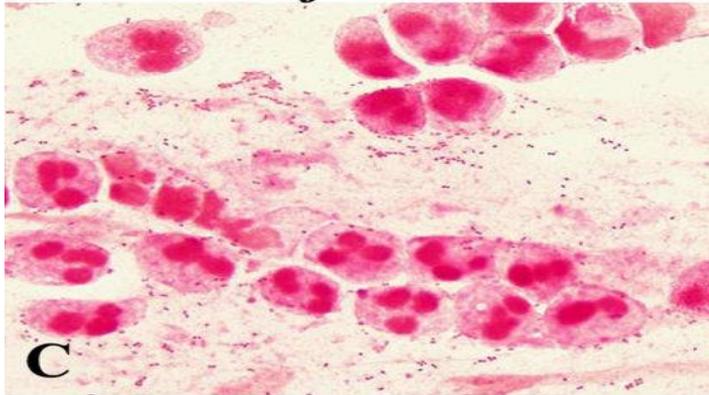
S. pneumoniae



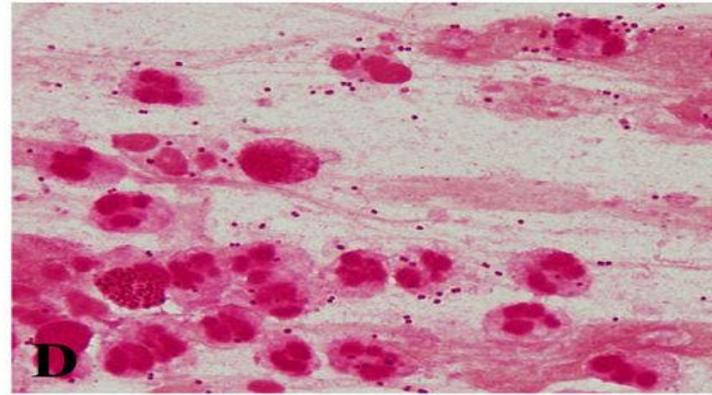
S. aureus



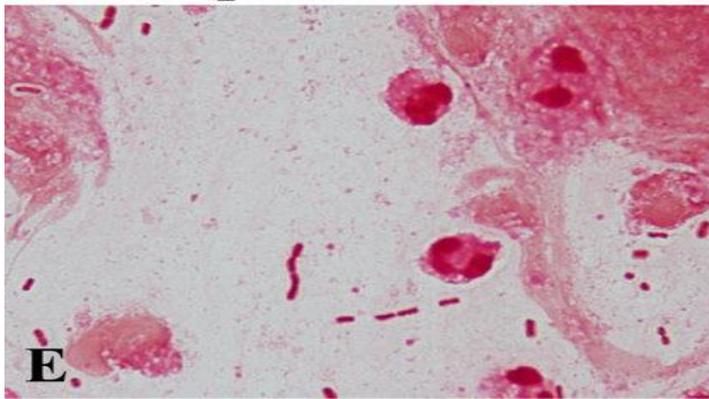
H. influenzae



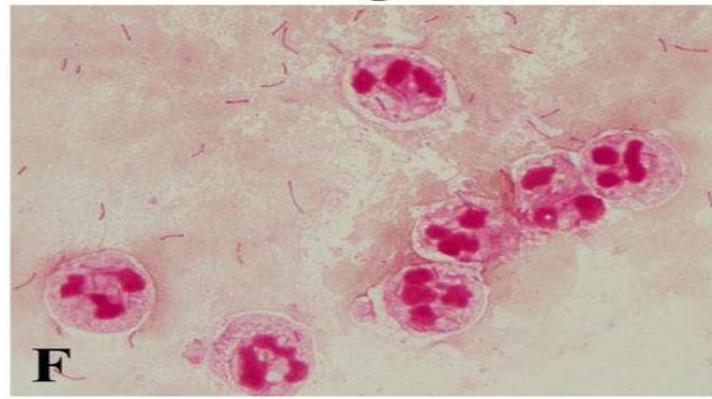
M. catarrhalis

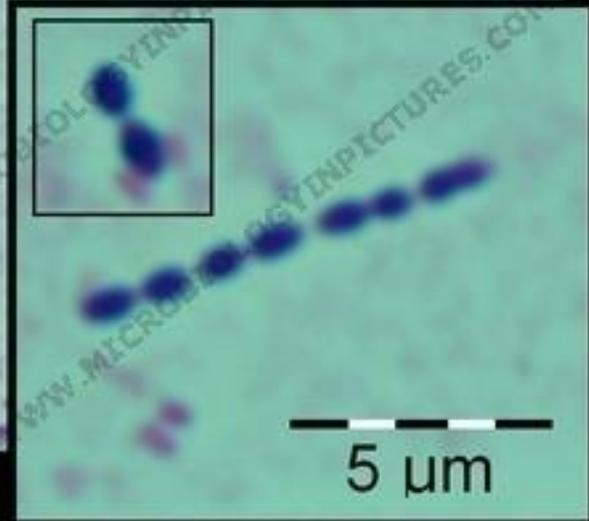
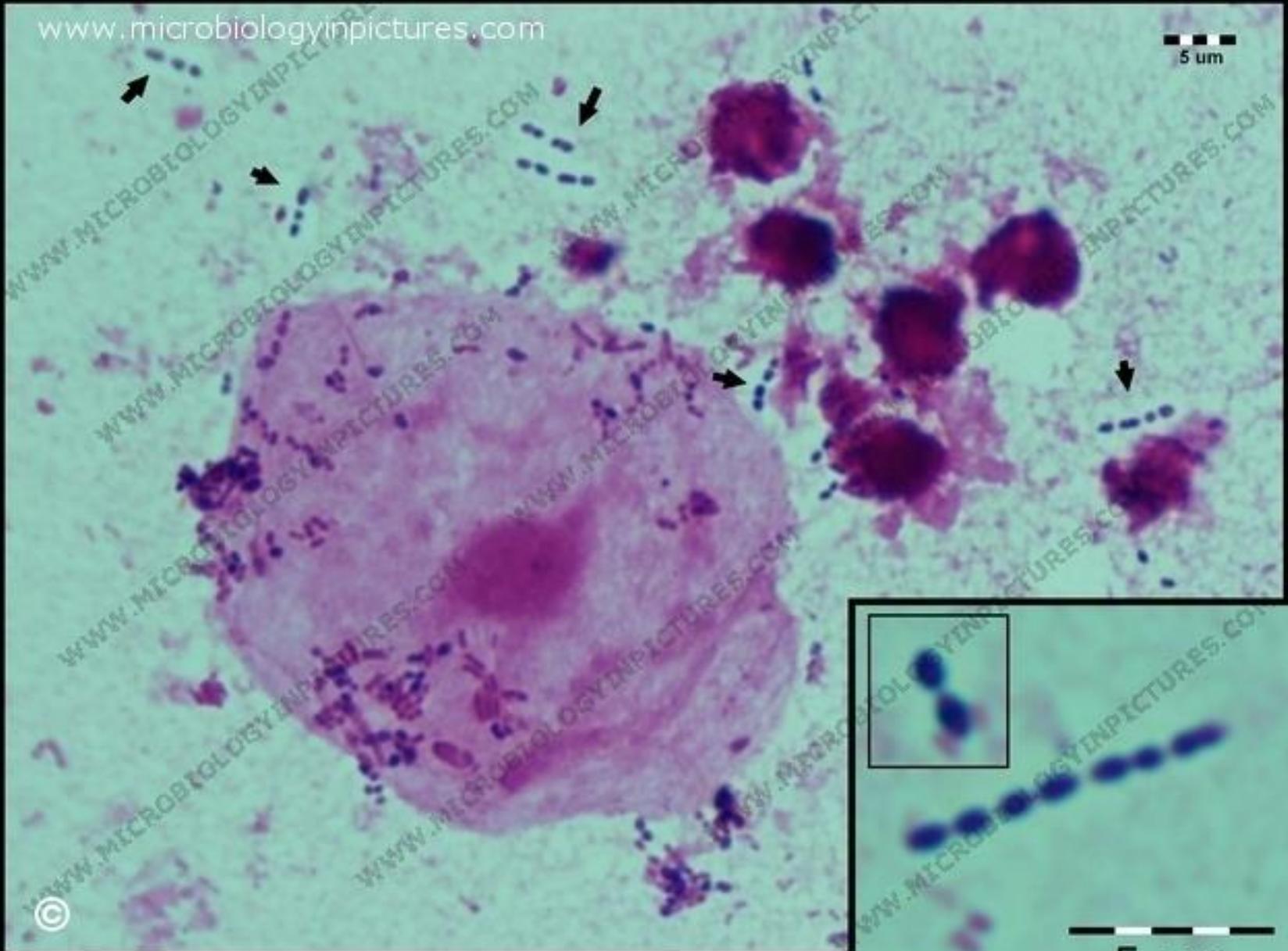


K. pneumoniae



P. aeruginosa





Streptococcus pneumoniae

Hen sN.

Seuils de significativité des prélèvements respiratoires à visée bactériologique

Prélèvement respiratoire	Seuil de significativité /mL
Expectoration	$\geq 10^7$
Aspiration trachéale	$\geq 10^5$
LBA	$\geq 10^4$
Prélèvement distal protégé	$\geq 10^3$

Importance d'un ensemencement rapide du prélèvement : sinon : Perte viabilité pathogène, Prolifération bactéries commensales

Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults

S Jain, NEJM 2015

- **Ecouvillon nasopharyngé pour recherche de virus** : 2272 des 2320 patients (98%)
- **Hémocultures** (91%)
- **Antigènes urinaires** (légionelle et pneumocoque) (85%)
- **ECBC (41%)**
- **ECBC de bonne qualité (12%)**

Antigénurie pneumocoque : Se/Sp

- Horita, Respirology 2013 : méta-analyse
 - 10 études, 2315 patients
 - Sensibilité 75% (95% CI: 71–79)
 - Spécificité 80 % (95% CI: 78–82)
- Performances **limitées**, meilleures dans les formes sévères, en **reanimation** en particulier

Antigénurie légionelle

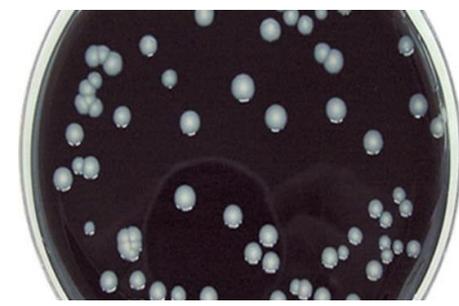
- Sensibilité 85-90%
- Spécificité 99%

- Détecte essentiellement les souches de sérotype 1 de *L. pneumophila*
- Positif dès le début de la maladie (2-3 jours)
- Reste positif 2 mois en moyenne
- Si + : confirmer systématiquement la positivité après chauffage 5 minutes à 100°C

Exceptionnels faux + : SAL (AC lapin)

Conclusion : Test négatif n'élimine pas complètement le diagnostic

Legionella : autres tests



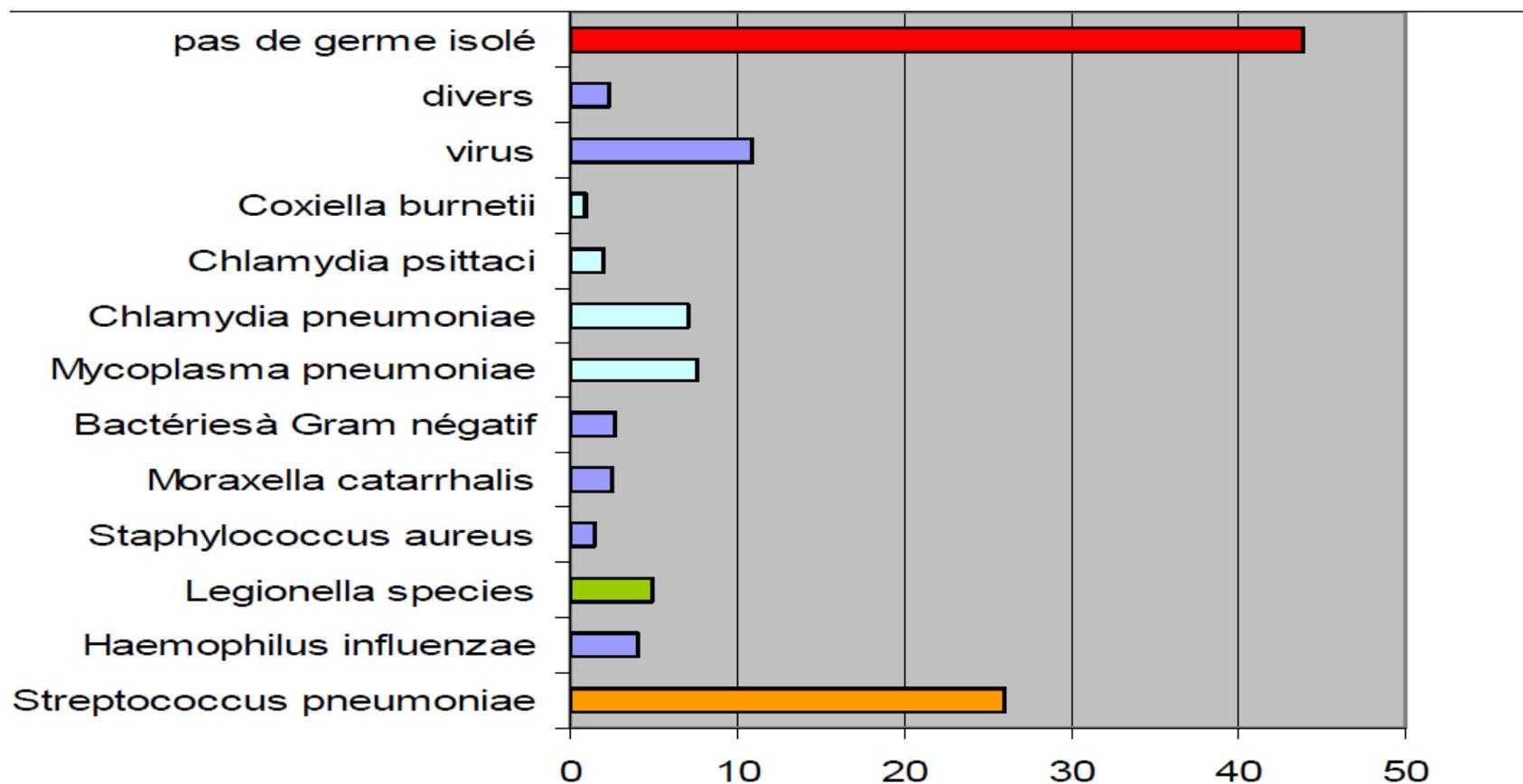
- **Culture (pas forcément faite systématiquement par le labo) :**
 - Peut être demandée *a posteriori* : bactérie environnementale, résistante, survit plusieurs jours dans le prélèvement)
 - Milieux spécifiques (BCYE)
 - Culture lente : culture **ne se positive pas avant 3 j**, boîtes incubées 10 j
 - Intérêt :
 - Rattraper des légionelloses à antigénurie négative (sérotypage non 1)
 - **Mais faible sensibilité de la culture : 25-75%**
 - Permettre les enquêtes épidémiologiques (envoi souche CNR) : Toujours demander une culture
- **Sérologie = 0**
 - Montée des AC **tardive** (15 js)
 - 2 sérums à 2-3 semaines d'intervalle (séroconversion, diagnostic que rétrospectif)

Mycoplasma pneumoniae

Chlamydophila

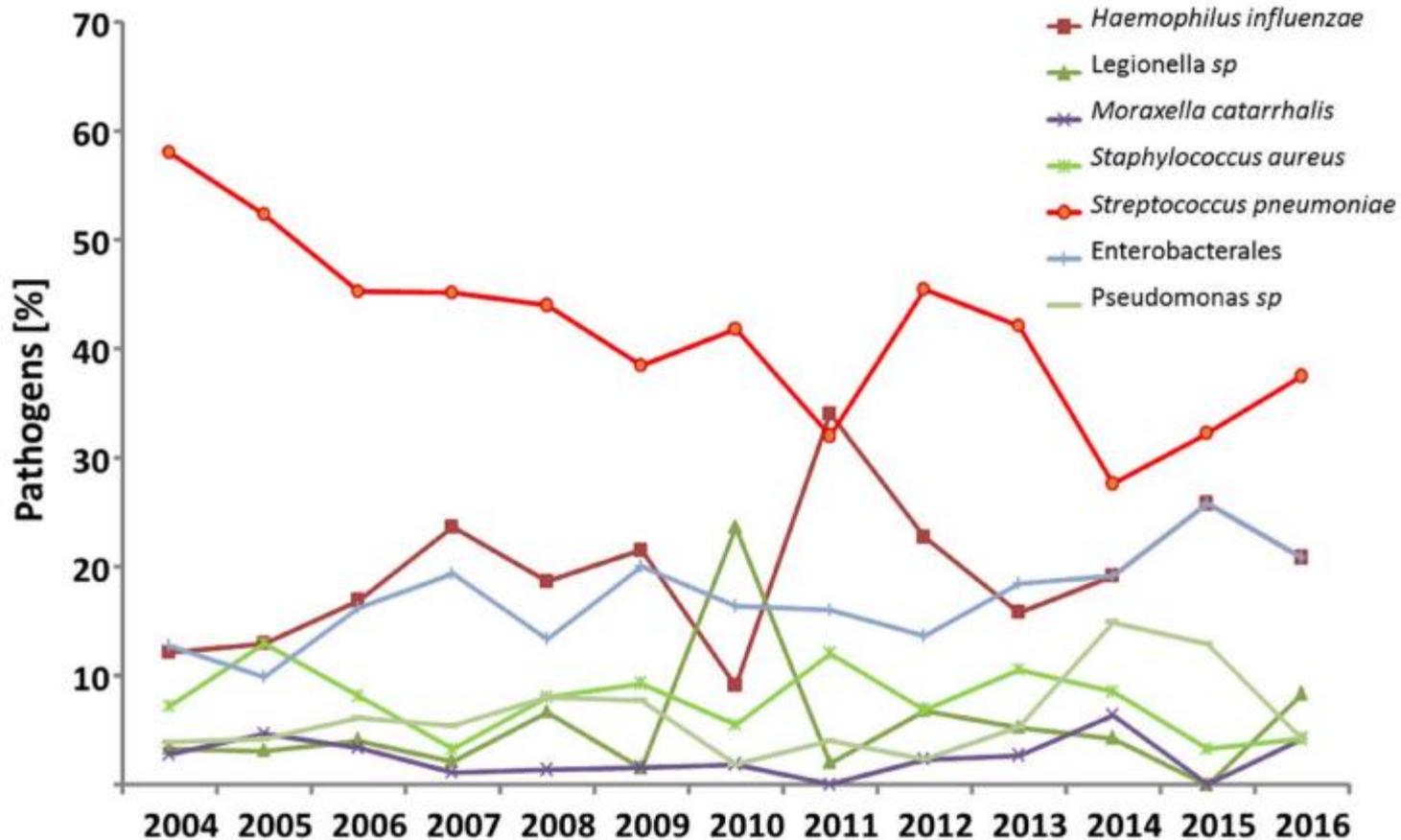
- **Culture** : Non
- **Sérologie** :
 - **Mycoplasme, Enfant, adolescent** : apparition précoce d'IgM dès la 1^{ère} semaine de l'infection, signant l'infection récente
 - Reste : Séroconversion, Dg rétrospectif, fiabilité limitée
 - **Intérêt de la PCR syndromique**

Microorganismes responsables de PAC hospitalisées en Europe



Shift in bacterial etiology from the CAPNETZ cohort in patients with CAP : data over more than a decade

DCW Braken, Infection 2021, 10 500 patients, 11 centres (10 D, 1 NL)



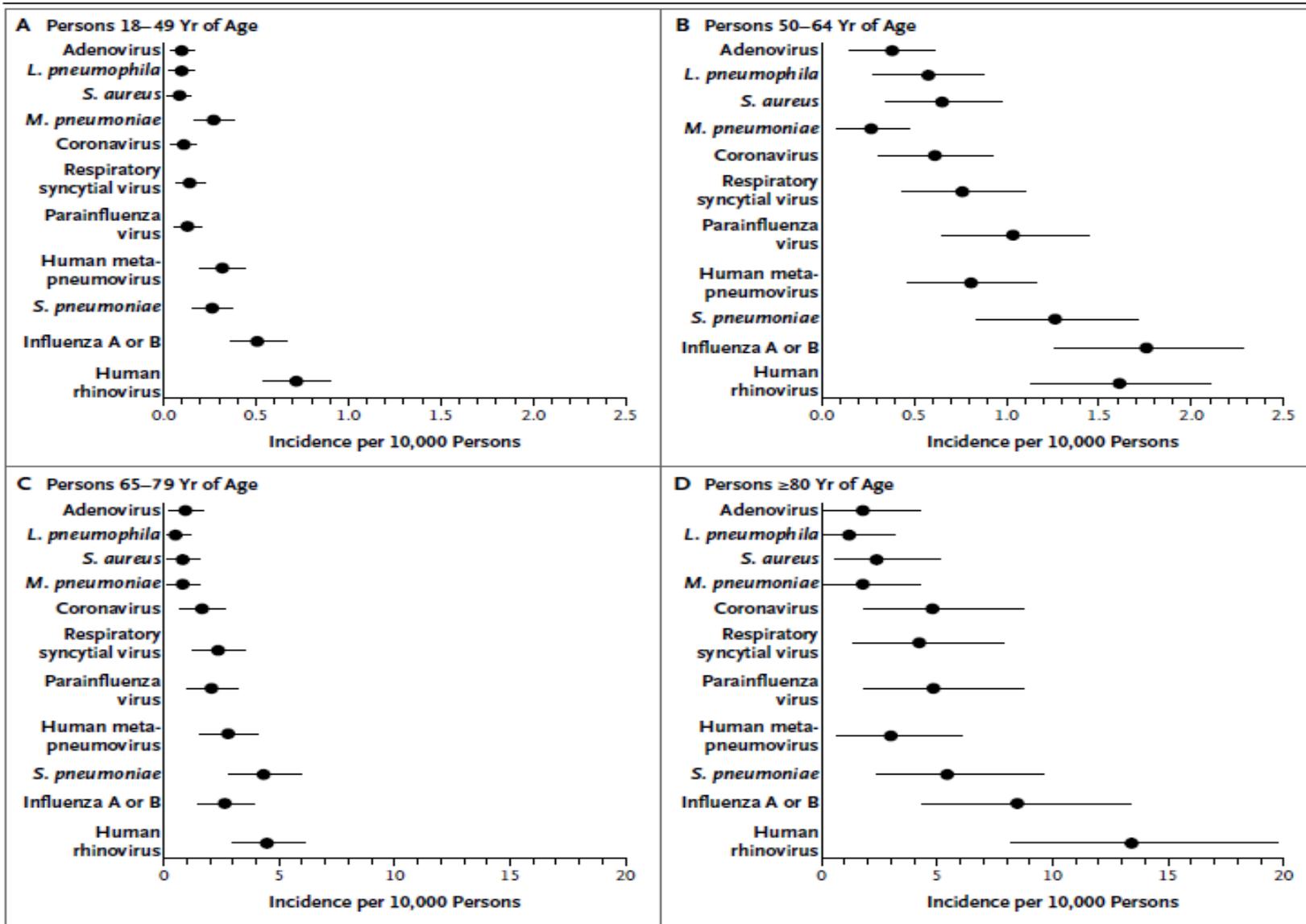
Taux documentation : 21%

Microbes	Community acquired pneumonia (CAP)					
	Total detections*			Detections deemed * relevant**		
	All methods combined	FAP plus	Standard methods	All methods combined	FAP plus	Standard methods
Viruses	38	35 (92)	28 (74)	38	35 (92)	28 (74)
Influenza A virus	16	16 (100)	13 (81)	16	16 (100)	13 (81)
Human metapneumovirus	13	10 (77)	10 (77)	13	10 (77)	10 (77)
Respiratory syncytial virus	3	3 (100)	3 (100)	3	3 (100)	3 (100)
Coronavirus	3	3 (100)	–	3	3 (100)	–
Parainfluenza virus	2	2 (100)	2 (100)	2	2 (100)	2 (100)
Rhino-/enterovirus	1	1 (100)	0 (0)	1	1 (100)	0 (0)
Bacteria	91	81 (89)	41 (45)	52	49 (94)	30 (58)
<i>H. influenzae</i>	25	25 (100)	14 (56)	23	23 (100)	13 (57)
<i>S. pneumoniae</i>	20	18 (90)	11 (55) ^b	20	18 (90)	11 (55) ^b
<i>M. catarrhalis</i>	8	8 (100)	2 (25)	2	2 (100)	2 (100)
<i>E. coli</i>	6	5 (83)	2 (33)	0	0 (–)	0 (–)
<i>S. aureus</i>	5	4 (80)	2 (40)	2	1 (50)	1 (50) ^c
<i>S. agalactiae</i>	5	5 (100)	0 (0)	0	0 (–)	0 (–)
<i>S. epidermidis</i>	5	–	5 (100)	0	–	0 (–)
<i>K. pneumoniae</i>	3	3 (100)	1 (33)	1	1 (100)	0 (0)
<i>S. marcescens</i>	3	3 (100)	1 (33)	1	1 (100)	1 (100)
<i>P. aeruginosa</i>	3	2 (67)	1 (33)	0	0 (–)	0 (–)
<i>Proteus</i> spp.	2	2 (100)	0 (0)	0	0 (–)	0 (–)
<i>K. oxytoca</i>	1	1 (100)	0 (0)	0	0 (–)	0 (–)
<i>A. calcoaceticus</i> – <i>A. baumannii</i> complex	1	1 (100)	0 (0)	0	0 (–)	0 (–)
<i>E. cloacae</i> complex	1	1 (100)	0 (0)	0	0 (–)	0 (–)
<i>M. pneumoniae</i>	2	2 (100)	1 (50)	2	2 (100)	1 (50)
<i>L. pneumophila</i>	1	1 (100)	1 (100) ^d	1	1 (100)	1 (100) ^d
Other detections	4	–	4 (100)	1	–	1 (100)
<i>C. albicans</i>	3	–	3 (100)	0	–	0 (–)
<i>P. jirovecii</i>	1	–	1 (100)	1	–	1 (100)
Total	133	116 (87)	73 (55)	91	84 (92)	59 (65)

Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults

S Jain, NEJM 2015

- **Ecouvillon nasopharyngé pour recherche de virus** : 2272 des 2320 patients (98%)
- **Hémocultures** (91%)
- **Antigènes urinaires** (légionelle et pneumocoque) (85%)
- **ECBC (41%)**
- **ECBC de bonne qualité (12%)**



Documentation 38%, Virus 28%, Bactéries 14%, **Pneumocoque 5% (2/3 : Ag urinaire)**

Conclusion

- Difficulté de la documentation microbiologique des PAC
- Antibiothérapie préalable
- ECBC de qualité rarement obtenu
- Faux négatifs
- Faux positifs : Comment différencier de façon fiable colonisation/infection haute/infection basse ?