



PCR multiplex, antigénuries, sérologies et autres : pour qui ? pour quoi ?

Aurore LAGRANGE

PH

Service de pneumologie et réhabilitation respiratoire

Hôpital NOVO

PONTOISE - AINCOURT



Hôpital
NOVO

Site de Pontoise

SOMMAIRE

- PCR Multiplex
- Antigénuries
- Sérologies
- Autres prélèvements
- Mise en pratique
- A retenir

PCR multiplex

- Qu'est-ce que c'est ?
- Test PCR = méthode de biologie moléculaire permettant de rechercher des segments d'acide nucléique en les amplifiant
- Test combiné pour la recherche de plusieurs germes (virus et bactéries) ≠ test unitaire



PCR multiplex

- Qu'est-ce que c'est ?
- Germes recherchés :
 - 15 virus : Grippe A/B et H1N1, VRS A,B, Virus parainfluenzae (1 à 4), Adénovirus, Coronavirus dont SARS-CoV-2, Metapneumovirus, Entérovirus, Rhinovirus
 - 4 bactéries : *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Bordetella pertussis*
- Dans quels prélèvements ? : écouvillon naso-pharyngé, LBA

PCR multiplex

- **Pour qui ?**
- Cibles pour ce test :
 - Patients hospitalisés en USC ou en réanimation
 - Pneumonies graves
 - Patients immunodéprimés
 - Contexte d'éclosion virale

PCR multiplex

- **Pour en faire quoi ?**
- Pour faciliter la prise en charge des infections respiratoires : traitement adapté au germe
- Pour limiter la propagation notamment en milieu hospitalier

PCR multiplex

- **Interprétation :**
- Doit tenir compte du contexte clinique et épidémiologique
- Résultat qualitatif
 - Ne donne pas d'information sur la phase de la maladie
 - Ne donne pas d'information sur la contagiosité du patient

ANTIGENURIES

- Qu'est-ce que c'est ?
- Détection d'antigène par technique d'immunochromatographie sur prélèvement urinaire
- 2 germes : *Streptococcus pneumoniae* et *Legionella pneumophila* sérotype 1
- Technique rapide : résultat en 15 minutes
- Précaution d'emploi : faux négatifs (amélioration de sensibilité du test si urines concentrées), reste positif plusieurs semaines



ANTIGENURIES

- **Pour qui ?**
- Attention aux dérives de prescription :
 - indication uniquement en cas de pneumonie avérée
 - indications distinctes pour légionelle et pneumocoque (les prescriptions sont souvent couplées)

ANTIGENURIES

- **Pour qui ?**
- Antigénurie légionelle :
 - Tableau clinique compatible : signes extra-respiratoires ++ (myalgies, céphalées, signes digestifs et neurologiques)
 - Terrain : immunodépression dont patient sous anti-TNF +++, > 50 ans, homme, tabagisme, pathologies chroniques cardiaques - pulmonaires - rénales

ANTIGENURIES

- Pour qui ?
- Antigénurie pneumocoque :
 - Pas d'indication en 1ère intention : privilégier hémocultures et prélèvement respiratoire
 - Sauf dans le cas d'une pneumonie grave hospitalisée en réanimation
 - En cas d'évolution défavorable et de prélèvements microbiologiques initiaux négatifs
 - Aucune indication chez l'enfant (portage élevé)

ANTIGENURIES

- **Pour en faire quoi ?**
- Tenir compte de leur sensibilité variable : serait augmentée lorsque la pneumonie est plus grave et notamment bactériémique. Mais existence de faux positifs et de faux négatifs
- Ne sont pas négativées par la prise d'antibiotique et résultat beaucoup plus rapide que les examens bactériologiques standards
- Mais restent longtemps positives après l'épisode (de 6 semaines à 6 mois)
- Des études montrent que l'adaptation de l'antibiothérapie aux résultats des antigénuries n'améliore ni la survie des patients ni le coût de la prise en charge en comparaison avec une antibiothérapie empirique
(*Falguera et al, Thorax 2010 ; Metersky et al, Chest 2007*)

ANTIGENURIES

- Pour en faire quoi ?
- Antigénurie légionelle :
 - Est la méthode qui permet de faire le diagnostic dans la plupart des cas avérés
 - Avant ce test : diagnostic sur faisceau d'arguments cliniques et biologiques
 - Ne détecte que le sérotype 1 (80-90% des cas)
 - Ne permet pas les analyses épidémiologiques pour la recherche de la source de contamination

ANTIGENURIES

- Pour en faire quoi ?
- Antigénurie pneumocoque :
 - Intérêt controversé dans la prise en charge des pneumonies communautaires
 - Le pneumocoque est systématiquement ciblé dans le traitement probabiliste d'une pneumonie
 - Avantage du test : permet de réduire le spectre de l'antibiothérapie lorsqu'il est positif
 - Rétrocession de l'antibiothérapie aux résultats positifs : problématique des faux positifs et des infections à plusieurs germes
 - Intérêt épidémiologique ?

SEROLOGIES

- Qu'est-ce que c'est ?
- Recherche d'Anticorps dans une prise de sang (serum) : IgM et IgG
- Nécessite que le système immunitaire fabrique des anticorps spécifiques vis-à-vis du germe : délai par rapport au début de l'infection



SEROLOGIES

- Qu'est-ce que c'est ?
- Résultat rendu entre quelques heures et 1 semaine
- Selon les germes : le taux IgG/IgM peut permettre de distinguer primo-infection / infection récente / infection ancienne
- => contrôle de la sérologie après 2-3 semaines pour étudier la cinétiques des Ac

SEROLOGIES

- **Pour qui ?**
- Pas d'indication en aigu dans la prise en charge des infections aiguës
- Permet éventuellement de faire un diagnostic rétrospectif
- Cas particuliers

SEROLOGIES

- **Pour qui ?**
- Cas particulier du SARS-CoV-2
 - Patients immunodéprimés après vaccination
- Cas particulier d'*Aspergillus*
 - bilan de lésion évocatrice sur imagerie pulmonaire
 - + chez patients immunodéprimés ou porteurs d'une maladie pulmonaire chronique avec tableau clinique compatible

SEROLOGIES

- Pour en faire quoi ?
- Faire un diagnostic rétrospectif
- Cas particulier du SARS-CoV-2 :
 - Pas d'indication pour évaluer le degré de protection chez les patients immunocompétents car pas de corrélat de protection clairement établi, exception faite des sujets immunodéprimés
 - Permet d'adapter la protection aux patients immunodéprimés après une vaccination : évaluation de l'efficacité de la vaccination (décision de traitement préventif par Ac monoclonaux)

SEROLOGIES

- Pour en faire quoi ?
- Cas particulier d'*Aspergillus* :
 - Pour la recherche :
 - d'ABPA
 - d'Aspergillome ou d'aspergillose pulmonaire chronique
 - Interprétation dépendante de la clinique + de l'imagerie +/- autres marqueurs biologiques (éosinophiles, IgE spécifiques anti-*Aspergillus*)

ET AUTRES...



• Quels autres examens de microbiologie dans les infections respiratoires ?

• Bactériologie standard / recherche de mycobactéries / recherche fongique :

- Examen des crachats (ECBC, BK crachats,...)
- Tubage gastrique
- Prélèvements de fibroscopie bronchique : aspiration bronchique, LBA
- Analyse bactériologique du liquide pleural
- Prélèvement de ganglion (chirurgie, écho-endoscopie, cytoponction)
- Biopsies chirurgicales
- Hémocultures



ET AUTRES...

- **Quels autres examens de microbiologie dans les infections respiratoires ?**
- PCR de germes spécifiques : PCR *tuberculosis*, PCR pneumocystose
- Anatomopathologie : colorations spécifiques de certains germes (mycobactéries, pneumocystose)

EN PRATIQUE

- Identification des germes dans les infections respiratoires :
 - Seulement dans 35 à 60% des cas, près de 0% dans les infections prises en charge en ville
 - Plus important dans le cas des patients hospitalisés, rare en ville
- Beaucoup d'examens de microbiologie différents mais une sensibilité souvent faible

EN PRATIQUE

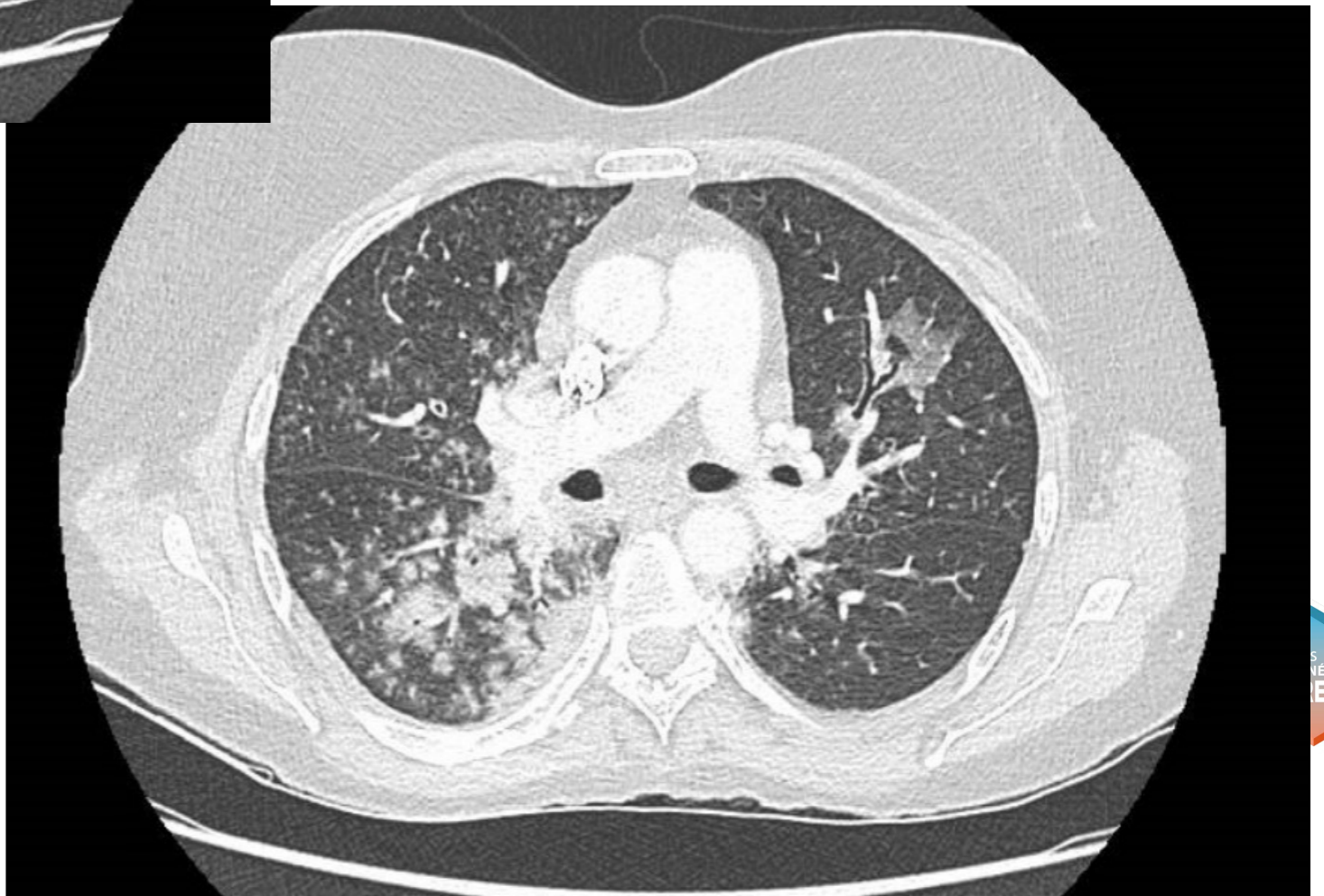
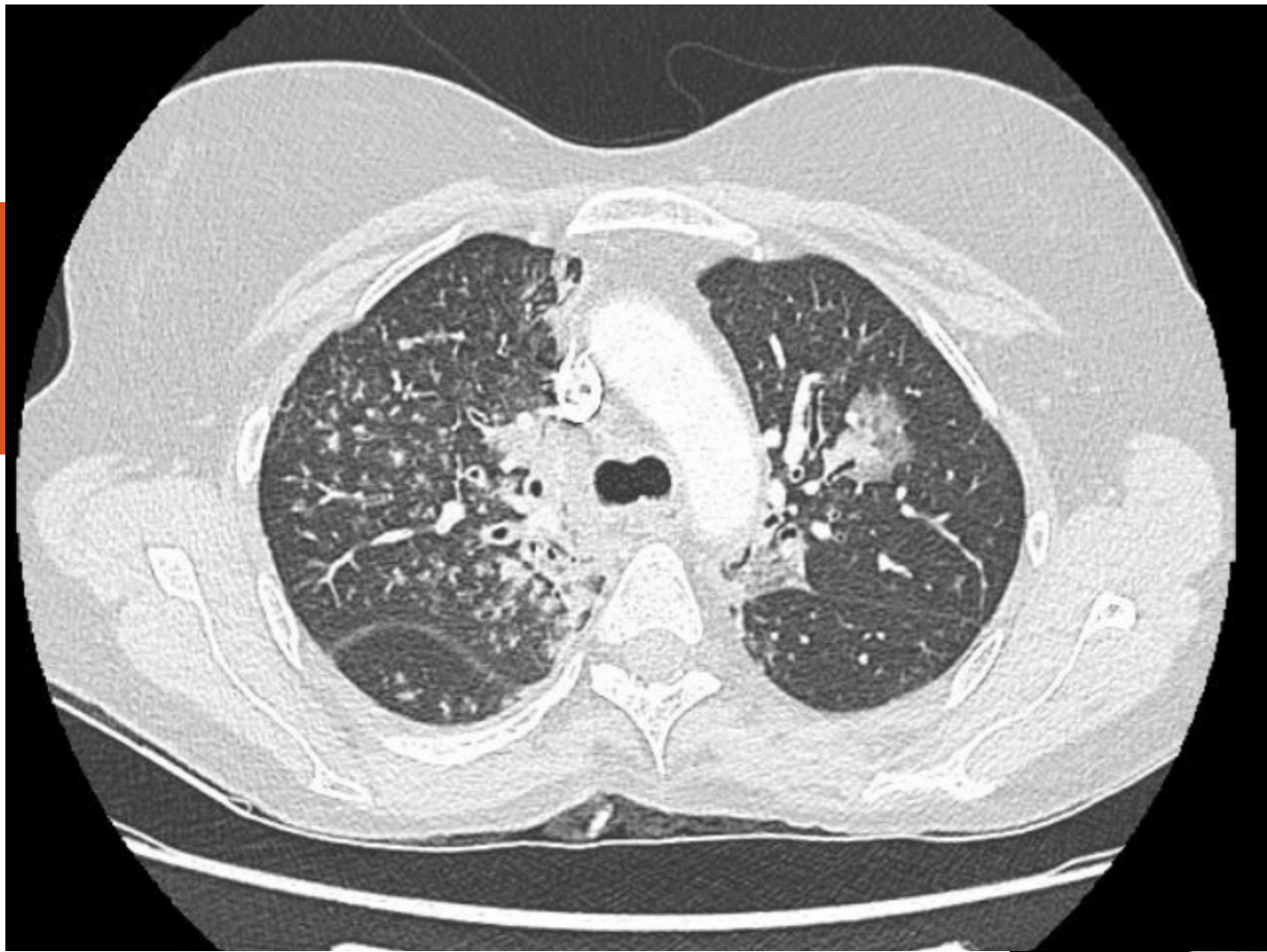
- A quoi ça sert ?
 - Adaptation du traitement (antibiotique,...) : le plus efficace
 - Réduction du spectre ciblé par le traitement pour éviter les effets indésirables et le développement de résistances collatérales

EN PRATIQUE

- S'adapter au contexte du patient :
 - Gravité de l'infection
 - Terrain : pathologie respiratoire chronique, immunodépression,...
 - Type de germe compatible avec la présentation
- Délai pour les résultats :
 - on n'attend pas les résultats pour débuter le traitement
 - mais faire les prélèvements après avoir débuter les antibiotiques peut les négativer
- Coût des examens par rapport à l'impact de leurs résultats

MISE EN PRATIQUE

- **Mme MDG, 48 ans**
- Consulte pour syndrome confusionnel fébrile
- ATCD : insuffisance cardiaque chronique, lymphome ancien en rémission
- Le bilan montre une pneumonie bilatérale :
 - Hypoxie nécessitant 3 L/min d'O₂, hypotension persistante
 - Syndrome inflammatoire biologique : leucocytes normaux mais CRP 404 mg/l ; hyponatrémie 128 mmol/l, cytolysse hépatique modérée (ASAT 3N, ALAT 1,5N)
- => TDM



MISE EN PRATIQUE

- **Mme MDG, 48 ans**
- Quel bilan microbiologique préconisez-vous ?

MISE EN PRATIQUE

- **Mme MDG, 48 ans**

- **Résultats :**

Nature du prélèvement

URINES POUR RECHERCHE D'ANTIGENES SOLUBLES

RECHERCHE D'ANTIGENES SOLUBLES

◦ Antigène Legionella pneumophila
séro groupe 1

Négatif

(1)

La sensibilité et la spécificité du test sont proches de 100%.

L'antigénurie est rapidement positive, 2 à 3 jours après le début des symptômes. Elle est spécifique du sérotype 1 de *L.pneumophila* mais des réactions croisées sont possibles avec d'autres *Legionella*.

Lorsque le résultat est positif, il est recommandé:

- de confronter les résultats à la symptomatologie et aux images radiologiques (persistance d'une antigénurie positive de 2 mois à 1 an)
- d'effectuer la recherche de *Legionella* par culture sur un prélèvement respiratoire.

L'isolement de la souche permet une confirmation du sérotype et une comparaison de la souche avec celle de l'environnement suspectée par le CNR.

En cas d'antigénurie négative et de forte suspicion de légionellose, réaliser une PCR *Legionella* sur un prélèvement pulmonaire profond. Un résultat négatif n'exclut pas le diagnostic de légionellose liée à un autre sérotype ou une autre espèce de *Legionella*.
(Données CNR)

Antigène Streptococcus
pneumoniae

Négatif

(1)

Ce test est interprétable uniquement dans le cadre d'une suspicion de pneumopathie aiguë communautaire grave chez l'adulte.
Un résultat négatif n'exclut pas le diagnostic.
La spécificité du test au cours des infections pulmonaires aiguës est de 88% et la sensibilité de 86%.

En cas de positivité:

- Réaction croisée possible avec d'autres bactéries possédant un polysaccharide C de la paroi cellulaire commun avec *S.pneumoniae* (*S.mitis*, *S.oralis*, *S.agalactiae*, *K.pneumoniae*, *Haemophilus*, entérocoques...
- Faux positifs chez des patients présentant une surinfection BPCO
- Peut être le reflet d'une infection ancienne (l'élimination des antigènes se prolonge pendant au moins 3 mois après l'épisode infectieux)
- Le portage de *S.pneumoniae* chez l'enfant engendre un résultat positif
- La vaccination anti-pneumococcique positive le test dans les 5 jours après son administration

Quel que soit le résultat du test, les examens microbiologiques (prélèvements respiratoires et hémocultures) restent indispensables et complémentaires.
(Données CNR)

MISE EN PRATIQUE

- M
- Ré

Nature du prélèvement	ECOUVILLON NASO PHARYNGE	
BIOLOGIE MOLECULAIRE (Recherche par PCR Temps réel multiplex)		
Influenzae A	Négative	(1)
Influenzae A sous type H1N1/pdm09	Négative	(1)
Influenzae A sous type H1	Négative	(1)
Influenzae A sous type H3	Négative	(1)
Influenzae B	Négative	(1)
Coronavirus 229E	Négative	(1)
Coronavirus HKU1	Négative	(1)
Coronavirus NL63	Négative	(1)
Coronavirus OC43	Négative	(1)
Parainfluenzae virus 1	Négative	(1)
Parainfluenzae virus 2	Négative	(1)
Parainfluenzae virus 3	Négative	(1)
Parainfluenzae virus 4	Négative	(1)
VRS A/B	Négative	(1)
Métapneumovirus humain A/B	Négative	(1)
Adénovirus	Négative	(1)
Bocavirus	Négative	(1)
Rhinovirus/Enterovirus	Négative	(1)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Positive	(1)
<i>Legionella pneumophila</i>	Négative	(1)
<i>Bordetella pertussis</i>	Négative	(1)
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Négative	(1)
SARS Cov-2	Négative	(1)

La recherche de légionnelle sur écouvillonnage naso-pharyngé par PCR syndromique est déconseillée car de moindre sensibilité sur ce type de prélèvement. En cas de forte suspicion de légionellose, réaliser un prélèvement profond (Fibroaspiration, LBA)

(QIASTAT DX - QIAGEN)

MISE EN PRATIQUE

- **M. S, 51 ans**
- Sans ATCD à part un pacemaker pour un trouble de la conduction AV
- Consulte pour fièvre brutale à 39,5°C avec douleur thoracique droite, toux sans expectoration
- SaO₂ à 96% en AA, FR 19/min, hémodynamique normale
- Radio thoracique :



MISE EN PRATIQUE

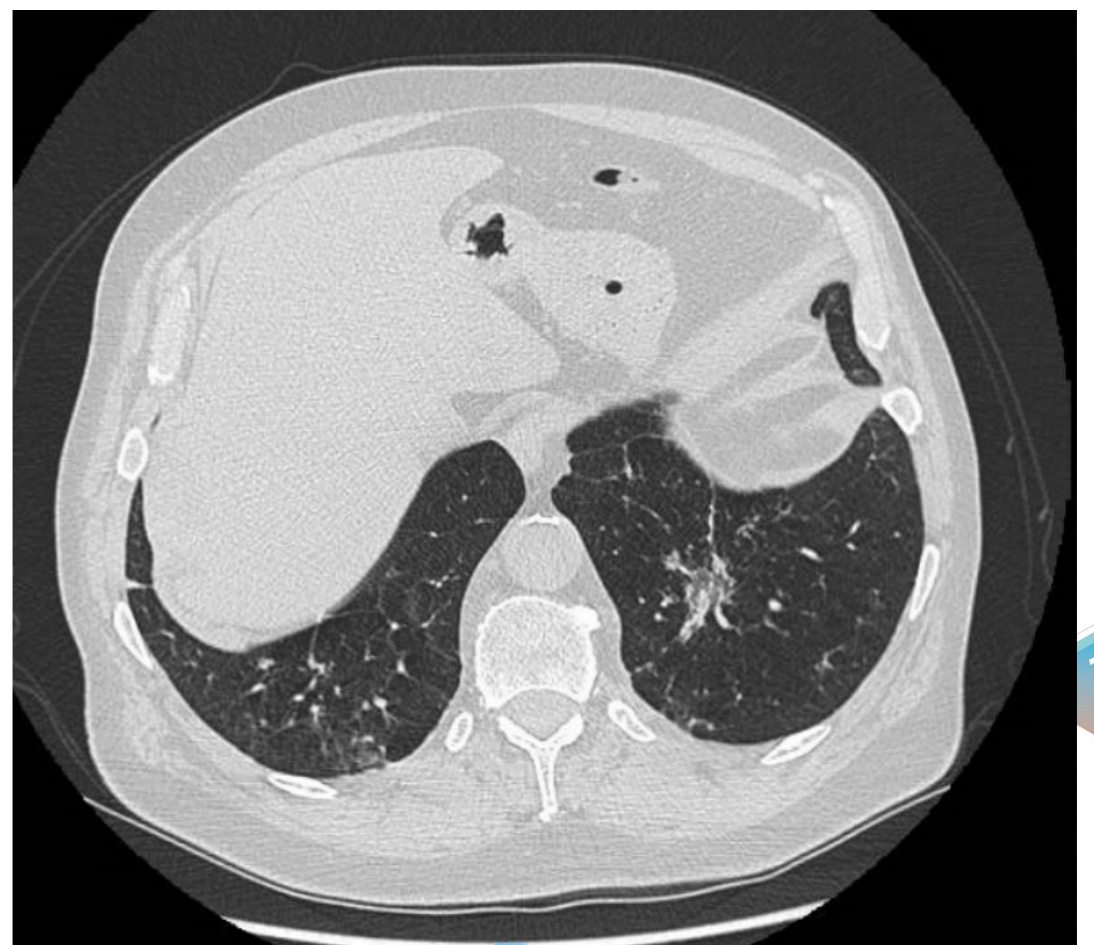
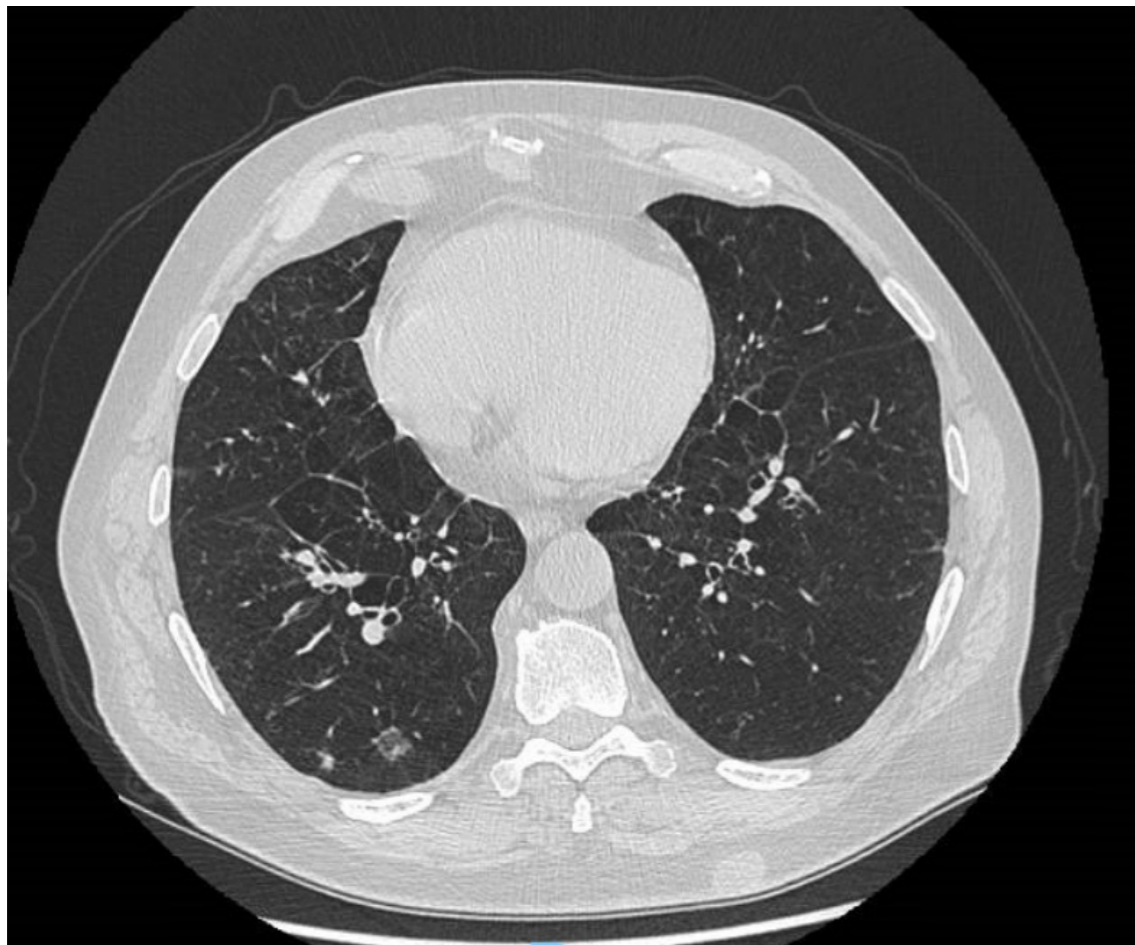
- M. S, 51 ans
-
- Quel bilan microbiologique préconisez-vous ?

MISE EN PRATIQUE

- **M. L, 64 ans**
- ATCD d'asthme modéré depuis l'âge de 26 ans, contrôlé sous corticothérapie inhalée à bonne dose
-
- Consulte pour majoration de la dyspnée à l'effort, parfois des sibilances audibles, avec toux et expectorations chroniques depuis 3 mois

MISE EN PRATIQUE

- M. L, 64 ans



MISE EN PRATIQUE

- **M. L, 64 ans**
- Quel bilan microbiologique préconisez-vous ?

MISE EN PRATIQUE

- M. L, 64 ans
- Résultats

• IgE TOTALES (ImmunoCAP PHADIA)

Prélèvement : 28.02.2023 Sérum 06h 00

607,0 kU/l

N : < 114,0

(03.07.21 : 556,0)

Validé par : Dr. Souad Mehlal Sedkaoui

• DOSAGE D'IgE SPECIFIQUES (ImmunoCAP PHADIA)

Prélèvement : 28.02.2023 Sérum 06h 00

m3 Aspergillus fumigatus

1,68 kU/l

(03.07.21 : 1,30)

Les IgE spécifiques unitaires sont quantifiables entre 0,10 kU/l et 100,00 kU/l.
Un résultat supérieur ou égal à 0,10 kU/l traduit une sensibilisation à l'allergène testé.
Les résultats sont à interpréter en fonction de la clinique et des tests cutanés.

NB : Pour les demandes d'examens d'allergologie, votre prescription est susceptible d'avoir été revue dans un souci de respect de la nomenclature des actes de biologie médicale qui n'autorise pas le cumul sur un même dossier :

- De plus de 5 pneumallergènes unitaires
- De plus de 5 trophallergènes unitaires
- De plusieurs mélanges de pneumallergènes (Phadiatop, mw, gx, wx, tx, ex, rx...)
- De plus de 3 mélanges de trophallergènes (Trophatop, fx)
- D'allergènes unitaires et de mélanges d'allergènes
- D'allergènes unitaires et de d'allergènes multiples séparés sur un même support (test CLA)
- De mélanges de pneumallergènes ou de trophallergènes et d'allergènes multiples séparés sur un même support (test CLA)

Nous conservons toutefois le prélèvement 15 jours et restons à votre disposition pour réaliser de nouveaux examens sur un autre dossier si nécessaire.

Validé par : Dr. Souad Mehlal Sedkaoui

• SEROLOGIE DES INFECTIONS A ASPERGILLUS (dépistage)

Prélèvement : 28.02.2023 Sérum 06h 00

Ac anti-A fumigatus EIA Bio-rad

Positif

>80 UA/ml

Seuil : 5

Résultat contrôlé.

Ac anti-A fumigatus HAI Fumouze

Négatif

<80

Seuil : 80

• SEROLOGIE DES INFECTIONS A ASPERGILLUS (confirmation) (Immuno-électrophorèse)

Réactif : Microgen FSK1

Prélèvement : 28.02.2023 Sérum 06h 00

Ac anti-Aspergillus fumigatus

Antigène métabolique

6 arcs de précipitation

Antigène somatique

5 arcs de précipitation

Réactions de dépistage confirmées par l'immunoélectrophorèse, présence d'un nombre significatif d'arcs de précipitation.

Résultat à interpréter en fonction du contexte clinique.

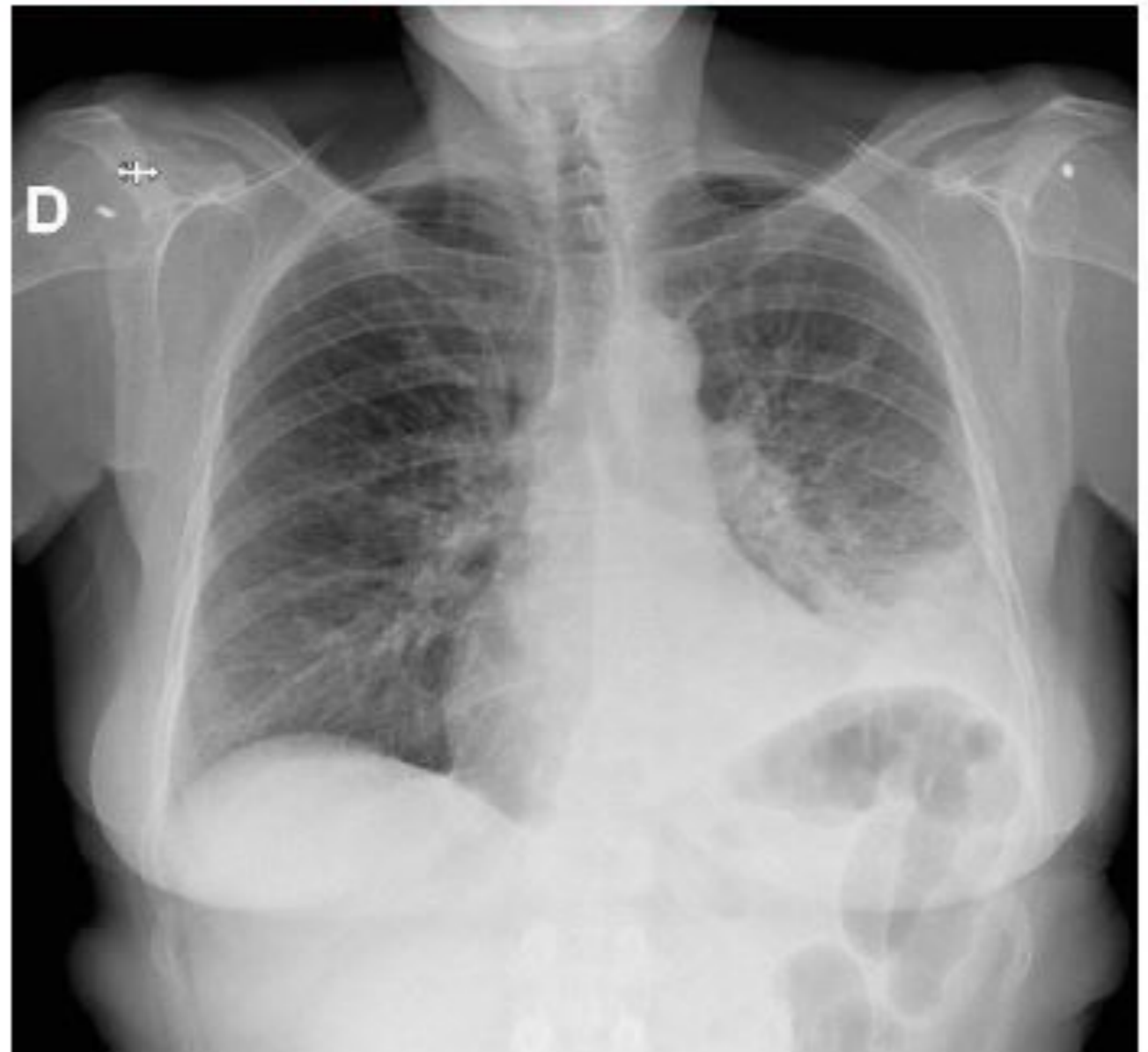
Validé par : Dr. Mathilde Roussel

MISE EN PRATIQUE

- **Mme B., 53 ans**
- ATCD : polyarthrite rhumatoïde sous anti-TNF
- Consulte pour AEG puis fièvre depuis 4 jours
- Cliniquement : SaO₂ 91% en AA, FR 32/min, hémodynamique conservée. Dyspnée au moindre effort, crépitants des 2 bases, céphalées, nausées sans vomissement, diarrhée.
- Syndrome inflammatoire biologique (leucocytes normaux mais CRP 416 mg/l), hyponatrémie 127 mmol/l, cytolysse hépatique modérée à 2-3 N

MISE EN PRATIQUE

- **Mme B., 53 ans**
- **Radio thoracique :**



MISE EN PRATIQUE

- **Mme B, 53 ans**
- Quels examens microbiologistes préconisez-vous ?

MISE EN PRATIQUE

- Mme B., 53 ans
- Résultats :

Nature du prélèvement

URINES POUR RECHERCHE D'ANTIGENES SOLUBLES

RECHERCHE D'ANTIGENES SOLUBLES

◦ Antigène *Legionella pneumophila*
sérotype 1

Positif

(1)

La sensibilité et la spécificité du test sont proches de 100%.

L'antigénurie est rapidement positive, 2 à 3 jours après le début des symptômes. Elle est spécifique du sérotype 1 de *L.pneumophila* mais des réactions croisées sont possibles avec d'autres *Legionella*.

Lorsque le résultat est positif, il est recommandé:

- de confronter les résultats à la symptomatologie et aux images radiologiques (persistance d'une antigénurie positive de 2 mois à 1 an)

- d'effectuer la recherche de *Legionella* par culture sur un prélèvement respiratoire.

L'isolement de la souche permet une confirmation du sérotype et une comparaison de la souche avec celle de l'environnement suspectée par le CNR.

En cas d'antigénurie négative et de forte suspicion de légionellose, réaliser une PCR *Legionella* sur un prélèvement pulmonaire profond. Un résultat négatif n'exclut pas le diagnostic de légionellose liée à un autre sérotype ou une autre espèce de *Legionella*.
(Données CNR)

MESSAGES PRINCIPAUX

- Pour qui faire un bilan microbiologique ?
 - => Presque exclusivement pour les patients hospitalisés :
 - Terrain fragile (immunodépression, pathologie chronique)
 - Infection pulmonaire avec critères de gravité
- A quoi sert ce bilan ?
 - Améliorer la prise en charge : traitement mieux ciblé
 - Meilleure efficacité
 - Eviter le développement collatéral de résistances
 - Eviter la propagation d'agents infectieux contagieux
- Inconvénients de ces examens
 - Sensibilité imparfaite donc fiabilité des résultats à interpréter notamment selon le contexte
 - Délai d'obtention des résultats



Je vous remercie de
votre attention !