Université de Lille UFR3S-Pharmacie
Année Universitaire 2025/2026

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 02/10/2026
Par M. GIRARD Maximilien

DIAGNOSTIC DES PNEUMONIES À BACTÉRIES ATYPIQUES POST-COVID : ÉVALUATION D'UN NOUVEAU RÉACTIF DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE AU CENTRE HOSPITALIER DE VALENCIENNES

Membres du jury :

Président :
Monsieur le Professeur FOLIGNÉ Benoît, Professeur des Universités, Université de Lille

Directeur de thèse :
Monsieur le Docteur PALUCH Maxime, Praticien hospitalier, CH Valenciennes

Assesseur(s) :
Madame le Docteur MAZARS Edith, Praticien hospitalier, CH Valenciennes

Madame le Docteur TETART Macha, Praticien hospitalier, CH Tourcoing

Madame le Docteur GIGANDON Anne, Praticien hospitalier, CH de Paris Saint-Joseph

Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-présidente Formation	Corinne ROBACZEWSKI
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-président Ressources Humaine	Jean-Philippe TRICOIT
Directrice Générale des Services	Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Recherche	Karine FAURE
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Emmanuelle LIPKA
Vice-Doyen International	Vincent DERAMECOURT
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoire-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyen Santé numérique et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyenne Vie de Campus	Anne-Laure BARBOTIN
Vice-Doyen étudiant	Victor HELENA

Faculté de Pharmacie

Vice - Doyen	Pascal ODOU
Premier Assesseur et Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté et Assesseur aux Ressources et Personnels	Emmanuelle LIPKA
Responsable de l'Administration et du Pilotage	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE
Chargé de mission 1er cycle	Philippe GERVOIS
Chargée de mission 2eme cycle	Héloïse HENRY
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche	Nicolas WILLAND
Chargé de mission Relations Internationales	Christophe FURMAN
Chargée de Mission Qualité	Marie-Françoise ODOU
Chargé de mission dossier HCERES	Réjane LESTRELIN

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bio inorganique	85
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M	BEDART	Corentin	ICPAL	86
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	86

M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86

Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	87
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais

M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BAILLY	Christian	ICPAL	86
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M	AYED	Elya	Pharmacie officinale	
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
Mme	DANICOURT	Frédérique	Pharmacie officinale	
Mme	DUPIRE	Fanny	Pharmacie officinale	
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
Mme	GEILER	Isabelle	Pharmacie officinale	
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M	POTHIER	Jean-Claude	Pharmacie officinale	

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ROGNON	Carole	Pharmacie officinale	

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

Hospitalo-Universitaire (PHU)

Civ	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMPAGNE	Nina	Chimie Organique	

Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	FERRY	Lise	Biochimie	
M	HASYEOUI	Mohamed	Chimie Organique	
Mme	HENRY	Doriane	Biochimie	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M	LAURENT	Arthur	Chimie-Physique	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	RAAB	Sadia	Physiologie	

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	DELOBEAU	Iris	Pharmacie officinale
M	RIVART	Simon	Pharmacie officinale
Mme	SERGEANT	Sophie	Pharmacie officinale
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

LRU / MAST

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FRAPPE	Jade	Pharmacie officinale
M	LATRON-FREMEAU	Pierre-Manuel	Pharmacie officinale
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

CYCLE DE VIE DU DOCUMENT

Version	Modifié par	Date	Principales modifications
1.0		12/12/2025	Création
2.0		02/01/2022	Mise à jour
2.1		21/06/2022	Mise à jour
2.2		01/02/2024	Mise à jour
2.3		15/11/2024	Mise à jour
2.4		18/02/2025	Mise à jour

UFR3S-Pharmacie

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

A mon président de jury,

Monsieur le Professeur Benoit FOLIGNÉ,

Professeur des Universités Laboratoire de Bactériologie, Faculté de pharmacie de l'Université de Lille

Je souhaite vous exprimer ma profonde gratitude pour avoir accepté la présidence de mon jury de thèse et pour l'attention que vous portez à l'évaluation de ce travail. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À mes assesseurs,

Madame le Docteur Macha TETART,

Praticien Hospitalier, CH de Tourcoing

Je tiens à vous adresser mes plus sincères remerciements pour avoir accepté de faire partie de ce jury et d'évaluer mon travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de ma reconnaissance.

Madame le Docteur Edith MAZARS,

Praticien Hospitalier, CH de Valenciennes

Je vous suis très reconnaissant de faire partie de ce jury de thèse. Merci pour votre dévouement et votre pédagogie pendant mon semestre à Valenciennes. Vous nous avez transmis énormément tout en nous poussant à faire nos propres expériences afin d'apprendre. Votre façon de travailler m'a beaucoup inspiré. Je suis ravi que vous ayez accepté d'évaluer ce travail.

Madame le Docteur GIGANDON Anne,

Praticien hospitalier, CH de Paris Saint-Joseph

Chère Anne, je suis ravi que tu aies accepté de faire partie de ce jury de thèse. Cela me rend d'autant plus heureux sachant que tu as été mon encadrante pendant mon semestre de FFI. C'est grâce à l'équipe de Saint-Joseph et toi que j'ai eu envie de choisir cette spécialité, merci pour tous tes enseignements et ta patience. T'avoir au sein de mon jury signifie beaucoup pour moi. Merci pour ces moments passés ensemble au laboratoire mais aussi en dehors où j'ai découvert une personne formidable.

À mon directeur de thèse,

Monsieur le Docteur Maxime PALUCH,

Praticien Hospitalier, CH de Valenciennes

Je tiens à t'adresser mes sincères remerciements pour ton accompagnement tout au long de ce travail de thèse. Merci pour tous tes conseils, ta patience et toutes les réponses à mes nombreuses questions. J'ai appris énormément lors de cet exercice à tes côtés et pendant mon semestre à Valenciennes. Merci Maxime pour la confiance que tu m'as accordée, pour ta disponibilité et ta bonne humeur quotidienne.

Table des matières

Remerciements 15

Index des tableaux 20

Index des figures 22

Liste des abréviations 24

I. Introduction 25

II. Généralités 26

II.1 Définitions 26

II.2 Structure et organisation fonctionnelle de l'appareil respiratoire inférieur 28

II.2.1 Anatomie de l'appareil respiratoire bas 28

II.2.2 L'épithélium de l'appareil respiratoire 29

II.2.3 L'appareil muco-ciliaire 31

II.2.4 Les alvéoles pulmonaires 32

II.2.5 Microbiotes respiratoires et infections 33

II.3 Les PAC à bactéries atypiques 35

II.3.1 *Mycoplasma pneumoniae* 37

II.3.1.1 Généralités sur *M. pneumoniae* 37

II.3.1.2 Cycle de réplication de *M. pneumoniae* 38

II.3.1.3 Infections dues à *M. pneumoniae* 40

II.3.1.4 *M. pneumoniae* et manifestations extra-pulmonaires 41

II.3.2 *Chlamydia* spp. 42

II.3.2.1 Généralités sur *Chlamydia* 42

II.3.2.2 *Chlamydia* et cycle infectieux 43

II.3.2.3 *C. pneumoniae* 45

II.3.2.4 *C. psittaci* 47

II.3.3 *Legionella* spp. 50

II.3.3.1 Généralités sur *Legionella* spp 50

II.3.3.2 Cycle de réplication 52
II.3.3.3 La légionellose 54
II.3.3.4 Virulence et espèces de *Legionella* 55
II.4 Épidémiologie des PAC 59
II.4.1 Les PAC bactériennes 60
II.4.2 Focus sur l'épidémiologie de la légionellose 62
II.4.3 Les PAC virales 66
II.4.4 Focus sur l'impact du SARS-COV2 sur l'épidémiologie 68
II.4.5 Autres étiologies 70
II.5 Diagnostic et prise en charge des PAC à bactéries atypiques 71
II.5.1 Diagnostic 74
II.5.1.1 Imageries thoraciques 74
II.5.1.2 Antigénurie *L. pneumophila* 74
II.5.1.3 Prélèvements respiratoires 76
II.5.1.3.1 Écouvillons et aspirations nasopharyngés 76
II.5.1.3.2 Prélèvements respiratoires profonds et milieux de culture 77
II.5.1.4 Polymerase Chaine Reaction 79
II.5.1.5 Sérologie 85
II.5.1.6 Autres marqueurs biologiques 86
II.5.2 Prise en charge thérapeutique des PAC 87
II.5.2.1 Traitements et nouvelles recommandations de 2025 87
II.5.2.2 Antibiorésistance et bactéries atypiques 90
III. Matériel et méthode 92
III.1 Présentation du Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB Kit 92
III.2 Dossier de validation de méthode et accréditation COFRAC 93
III.2.1 Maîtrise des risques 95
III.2.2 Fidélité intermédiaire 96
III.2.3 Exactitude 96

III.2.4 Sensibilité et spécificité 96
III.2.5 Comparaison de méthodes 97
III.2.6 Essais de contamination 97
IV. Résultats 99
IV.1 Fidélité intermédiaire 99
IV.2 Exactitude 99
IV.3 Sensibilité et spécificité 102
IV.4 Comparaison de méthode 103
IV.5 Essais de contamination 103
V. Discussions 104
V.I Épidémiologie des PAC à bactéries atypiques au CH de Valenciennes 104
V.II Discussions 113
VI. Conclusion 120
VI. Bibliographie 121
Annexes 135
Annexe 1 : Test d'inclusivité 135
Annexe 2 : Test de réactivité croisée 138
Annexe 3 : Dossier de validation de méthode du kit Respiratory Bacterial ELITe MGB 139

Index des tableaux

Tableau 1 : Principales espèces de *Mycoplasma* impliquées en pathologie humaine (34–36) 37
Tableau 2 : Principales espèces de *Chlamydia* impliquées en pathologie humaine (50,51,53,54) 43
Tableau 3 : Principales espèces de *Legionella* (81–83,97–99) 57
Tableau 4 : Éléments évocateurs d'une légionellose ou d'une PAC à *M. pneumoniae* selon les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7) 59
Tableau 5 : Définition d'une pneumonie aigüe grave d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7) 73
Tableau 6 : Score 65 d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2010 (123). 73
Tableau 7 : Principaux panels PCR utilisés à Valenciennes sur prélèvements respiratoires ciblant les bactéries atypiques (130–133) 81
Tableau 8 : Liste des comorbidités modifiant l'antibiothérapie probabiliste d'une PAC d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7) 87
Tableau 9 : Antibiothérapies probabilistes des PAC non graves d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7) 88
Tableau 10 : Antibiothérapies probabilistes des PAC graves d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7) 89
Tableau 11 : Formules de la sensibilité et de la spécificité (145) 97
Tableau 12 : Tests de fidélité intermédiaire pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB 99
Tableau 13 : Tests d'exactitude pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB 100
Tableau 14 : Autres tests d'exactitude pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB 101
Tableau 15 : LoD de chaque cible selon la fiche fournisseur ELITECH exprimée en org/mL (organismes/mL) 102
Tableau 16 : Chiffres d'activité du laboratoire de microbiologie du GCS SHAB 104
Tableau 17 : Épidémiologie de *M. pneumoniae* au CH de Valenciennes issue des extractions DxLab et Glims entre 2021 et août 2026 107
Tableau 18 : Épidémiologie de *C. pneumoniae* au CH de Valenciennes issue des extractions DxLab et Glims entre 2021 et août 2026 108

Tableau 19 : Épidémiologie de *C. psittaci* au CH de Valenciennes issue des extractions Glims entre 2025 et août 2026 108
Tableau 20 : Épidémiologie de *L. pneumophila* au CH de Valenciennes issue des extractions DxLab et Glims entre 2021 et août 2026 109
Tableau 21 : Épidémiologie de *Legionella* spp au CH de Valenciennes issue des extractions Glims entre 2025 et août 2026 109
Tableau 22 : Antigénuries *L. pneumophila* de sérogroupe 1 positives au CH de Valenciennes entre 2017 et août 2026 110

Index des figures

Figure 1 : Radiographie du thorax d'une pneumonie franche lobaire aigüe droite d'après le Collège national des pédiatres universitaires, 2023 (8)..... 27
Figure 2 : Bronchioles et alvéoles pulmonaires d'après Elsevier Masson, 2026 29
Figure 3 : Schéma de l'épithélium respiratoire d'après Marcello et al, 2023 (15) 31
Figure 4 : Cils de l'appareil respiratoire en microscopie électronique d'après histology.be (19) 32
Figure 5 : Espèces bactériennes prédominantes au sein des microbiotes oro-pharyngé et pulmonaire d'après Hilty et al, 2010 (27) 34
Figure 6 : Radiographie thoracique montrant des infiltrats bilatéraux dus à *M. pneumoniae* d'après le Collège national des pédiatres universitaires, 2023 (8)..... 36
Figure 7 : *M. pneumoniae* en microscopie d'après Atkinson et al, 2008 (42) 38
Figure 8 : Cycle réplicatif intra-cellulaire de *M. pneumoniae* d'après Xiu et al, 2024 (39) 39
Figure 9 : Érythème polymorphe dû à *M. pneumoniae* d'après Larquey et al, 2016 (49) 41
Figure 10 : Cycle infectieux de *Chlamydia* d'après Bastidas et al, 2013 (57) 44
Figure 11 : Séroprévalence des anticorps anti-*C. pneumoniae* en population générale d'après Kuo CC et al., 1995 (59) 46
Figure 12 : Hôtes principaux et génotypes de *C. psittaci* d'après Wang et al, 2024 (74) 48
Figure 13 : 35 cas français de *C. psittaci* analysés par le CNR entre 2010 et 2021 d'après Carrer et al, 2024 (78)..... 49
Figure 14 : Cycle infectieux de *Legionella* d'après Jamilloux et al, 2012 (86) 53
Figure 15 : Principales étiologies bactériennes de PAC d'après Shoar et al., 2020 (101) 61
Figure 16 : Données des 4336 souches cliniques de *Legionella* reçues par le CNR entre 2012 et 2019 d'après Jarraud S., 2025 (81) 64
Figure 17 : Répartition des méthodes diagnostiques des cas de légionellose déclarés en France de 2010 à 2024 selon Santé Publique France (113) 65
Figure 18 : Épidémiologie issue du réseau de surveillance RENAL 2024-2025 (117) 67

Figure 19 : Épidémiologie issue du réseau de surveillance RELAB 2024-2025 (117) 67
Figure 20 : Détection annuelle par PCR de *C. pneumoniae* en Europe et Taiwan entre 2018-2023 d'après Tagini et al, 2025 (68) 70
Figure 21 : Algorithme décisionnel pour une prise en charge ambulatoire ou hospitalière d'une PAC d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2010 (123) 72
Figure 22 : *Legionella* sur gélose BCYE d'après Thermo Fisher et AEMIP (128,129) 78
Figure 23 : Diagramme du nombre de PCR *M. pneumoniae* (A) et *C. pneumoniae* (B) positives au GCS de 2021 à 2026 111
Figure 24 : Diagramme du nombre de PCR *L. pneumophila* positives au GCS de 2021 à 2026 (A) et nombre d'antigénuries *L. pneumophila* SG1 positives au GCS de 2017 à 2026 (B) 111

Liste des abréviations

ANSES :	Agence national de sécurité sanitaire
BCYE :	Buffered charcoal yeast extract
BPCO :	Bronchopneumopathie chronique obstructive
CDC :	US Center for disease control and prevention
CH :	Centre hospitalier
CNR :	Centre national de référence
COFRAC :	Comité français d'accréditation
CQI :	Contrôle de qualité interne
CRP :	Protéine C réactive
DVM :	Dossier de validation de méthode
EB :	Corps élémentaire
ECBC :	Examen cytobactériologique des crachats
EEQ :	Évaluateurs externes de qualité
EHPAD :	Établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes
IST :	Infection sexuellement transmissible
LCV :	Legionella containing vacuole
LPS :	Lipopolysaccharide
MIP :	Macrophage infectivity potentiator
PAC :	Pneumonie aigüe communautaire
PCR :	Polymerase chain reaction
PCT :	Procalcitonine
PFLA :	Pneumonie franche lobaire aigüe
QUAMIC :	Qualité en microbiologie
RB :	Corps réticulé
RENAL :	Réseau national des laboratoires des centres hospitaliers
SARS-CoV2 :	Severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2
SFM :	Société française de microbiologie
SIADH :	Sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique
SPILF :	Société de pathologie infectieuse de langue française
SPLF :	Société de pneumologie de langue française
TAR :	Tour aéroréfrigérante

I. Introduction

Les infections respiratoires aigües sont un enjeu majeur de santé publique, représentant l'une des principales causes de morbi-mortalité dans le monde. Les pneumonies aigües ont des étiologies infectieuses, dont le diagnostic est primordial pour une prise en charge adaptée du patient en raison de leur fréquence et de leur gravité potentielle. Parmi ces pneumonies aigües, les pneumonies communautaires ont une incidence importante chez l'adulte, le sujet âgé ; et chez le jeune enfant dans les pays en voie de développement. Le premier agent étiologique bactérien est le *Streptococcus pneumoniae*, responsable d'une forme de pneumonie franche lobaire, décrite comme « typique ». En opposition à ce tableau clinique, des bactéries dites « atypiques » ont été décrites comme responsables de pneumonies communautaires telles que *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* et *Legionella* spp, avec généralement un tableau clinique plus progressif et plus frustre excepté pour la légionellose. Ces bactéries atypiques ne poussent pas sur les milieux de culture conventionnels utilisés en microbiologie. Leur identification sur prélèvements respiratoires est difficile voire impossible en culture et nécessite l'utilisation d'autres outils comme la biologie moléculaire ou la sérologie. Étant intracellulaires strictes, ou dénuées de paroi, elles sont également naturellement résistantes aux bêtalactamines, traitement de première intention des pneumonies bactériennes typiques.

Depuis 2020 et l'épidémie de SARS-CoV2, l'utilisation de PCR multiplexe (Polymerase Chain Reaction) sur les différents prélèvements respiratoires s'est généralisée dans les laboratoires de biologie médicale, permettant au clinicien d'obtenir un diagnostic étiologique plus rapide et plus exhaustif. Le nombre de panels PCR multiplexe respiratoires disponibles a considérablement augmenté ces dernières années, ciblant divers pathogènes en fonction du kit choisi, selon le contexte du patient, les pathogènes suspectés ou le contexte épidémiologique.

Dans ce contexte, la société ELITechGroup a mis sur le marché récemment le panel PCR Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, ciblant les bactéries atypiques *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, *L. pneumophila* et *Legionella* non *pneumophila*. L'objet de ce travail est d'évaluer la place et la pertinence de ce panel de biologie moléculaire pour le diagnostic de pneumonies bactériennes communautaires à bactéries atypiques au sein du Centre Hospitalier de Valenciennes.

II. Généralités

II.1 Définitions

La pneumonie aigüe se définit par l'atteinte du parenchyme pulmonaire distal, due à un agent infectieux, qu'il soit bactérien, viral, parasitaire ou fongique. Cette définition repose sur la présence de signes fonctionnels respiratoires fébriles, associée à une imagerie thoracique évocatrice de ces atteintes parenchymateuses. Celle-ci se développe lorsqu'une quantité suffisante d'agents infectieux parvient à atteindre la partie terminale de l'arbre respiratoire, malgré les systèmes de défenses de celui-ci. Cette prolifération microbienne provoque alors une inflammation locale et systémique, accompagnée de la destruction des tissus. D'après les chiffres du Global Burden of Disease Collaboration, les infections basses du système respiratoire sont responsables de 2.5 millions de décès dans le monde en 2023 (1). Les PAC (pneumonies aigües communautaires) sont la 1ère cause de décès due aux infections dans les pays occidentaux. Elles affectent tout particulièrement les jeunes enfants, les personnes âgées, les patients immunodéprimés ou ceux avec des comorbidités. En France, 500 000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année, avec une mortalité de 2 à 5 %, pouvant atteindre 40 % chez les patients admis en réanimation principalement en raison de complications comme le sepsis, l'insuffisance respiratoire ou le syndrome de détresse respiratoire aigüe (2), (3). Certains facteurs de risques de pneumonies ont été identifiés comme l'âge avancé, les antécédents de pneumonies infectieuses (dont le COVID-19), le tabac, l'asthme et autres maladies chroniques respiratoires, l'immunodépression, la pollution de l'air dans les milieux urbains et industriels, les comorbidités cardiovasculaires et le diabète (4).

Les pneumonies aigües font partie des 3 principales formes d'infections respiratoires aigües communautaires, touchant les voies aériennes inférieures avec la bronchite aigüe et l'exacerbation aigüe de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO). Les PAC se déclarent en ville ou maximum 48h après l'hospitalisation du patient et peuvent être prises en charge soit en ambulatoire, soit à hôpital, en fonction de la gravité de celles-ci et des comorbidités du patient. Seuls 10 à 20 % des cas nécessitent une hospitalisation pour leur prise en charge, mais représentent 90 % des dépenses de santé dues aux PAC (2). Les infections respiratoires basses nosocomiales et de

l'immunodéprimé sont différentes quant à leur mécanisme physiopathologique et aux agents infectieux impliqués. Elles ne seront pas développées dans cette thèse.

La pneumonie aigüe est une pathologie décrite depuis le IV^{ème} siècle avant J.C., par Hippocrate, où il dépeint un tableau clinique associant fièvre, toux, crachats et douleurs (5). C'est en 1875 qu'un médecin, E. Klebs, observe pour la première fois des bactéries dans les voies respiratoires de patients décédés après une pneumonie (5). En 1881, *S. pneumoniae* est découvert par deux microbiologistes, Louis Pasteur le découvrant dans la salive et George M. Sternberg (6). Première bactérie identifiée comme responsable de pneumonies, elle provoque des infections pulmonaires dont le tableau clinique, dit « typique », a un début brutal, avec des signes cliniques francs comme une fièvre importante ou une douleur thoracique localisée et des images radiologiques évocatrices de consolidation pulmonaire (7). Aussi appelée « pneumonie franche lobaire aigüe » (PFLA), les images en radiographie ou scanner thoracique montrent une opacité dense, bien délimitée, généralement unilatérale (Figure 1) (8).

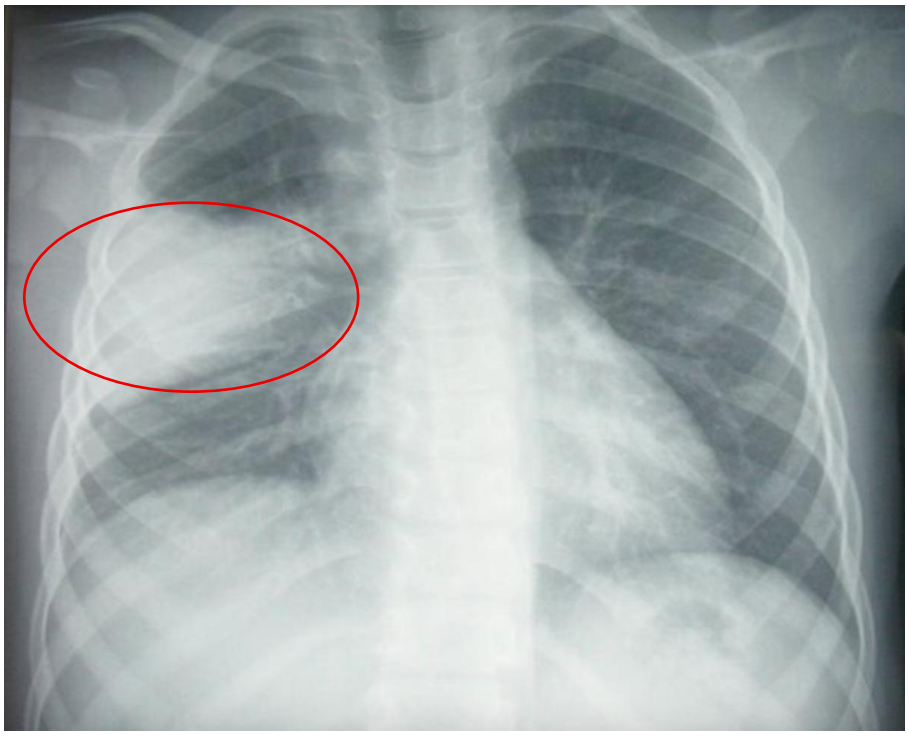


Figure 1 : Radiographie du thorax d'une pneumonie franche lobaire aigüe droite d'après le Collège national des pédiatres universitaires, 2023 (8)

Sur cette radiographie pulmonaire, la zone d'opacité alvéolaire est entourée en rouge.

Au début du XX^{ème} siècle, la mortalité des pneumonies aigües dépassent la mortalité de la tuberculose, avant de diminuer dans la seconde moitié du XX^{ème} siècle notamment grâce à l'utilisation des antibiotiques, à l'amélioration de la médecine et aux nouvelles techniques chirurgicales, aux soins intensifs et à l'apparition des vaccins antipneumococciques dans les années 1970 (5,9).

En opposition à cette forme typique, se distingue les formes « atypiques » de PAC, avec des tableaux cliniques moins bruyants, un temps d'incubation plus long, une imagerie thoracique différente et des symptômes d'apparition plus progressive par rapport à *S. pneumoniae* (8,10). Initialement utilisé pour décrire les PAC attribuées aux virus au XX^{ème} siècle, le terme de « pneumonie à bactérie atypique » désigne aujourd'hui les PAC dues à certaines bactéries spécifiques comme *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, *Legionella* spp (*L. pneumophila* ou *L.* non *pneumophila*).
Ces formes de pneumonies, dites « atypiques », généralement moins sévères, figurent parmi les plus fréquemment diagnostiquées en médecine de ville (11,12). À l'exception de la légionellose, elles ne nécessitent une prise en charge hospitalière que dans une faible proportion de cas. Découverte en 1977 lors d'un congrès de la Légion Américaine à Philadelphie, *L. pneumophila* a infecté 182 personnes et a provoqué 29 décès par pneumonie sévère en se propageant grâce au système de climatisation (13). Parmi les bactéries atypiques développées dans cet exposé, c'est celle qui provoque les infections les plus graves avec un tableau clinique et une imagerie qui se rapproche de ceux de *S. pneumoniae*.
Ces bactéries atypiques étant intracellulaires et/ou dépourvues de paroi, elles sont naturellement résistantes aux bêtalactamines, traitement de référence des PAC bactériennes typiques. Ceci explique pourquoi ces étiologies de pneumonie sont évoquées en cas d'échec thérapeutique après 48h de bêtalactamines (10).

II.2 Structure et organisation fonctionnelle de l'appareil respiratoire inférieur

II.2.1 Anatomie de l'appareil respiratoire bas

L'appareil respiratoire bas commence à partir de la trachée. Il se sépare en 2 avec la bronche souche gauche pour le poumon gauche et la bronche souche droite pour le poumon droit. À gauche, cette bronche principale se divise en 2 bronches lobaires : la

bronche supérieure gauche, et la bronche inférieure gauche, tandis qu'à droite, la bronche principale se divise en 3 bronches lobaires : la bronche supérieure droite, la bronche moyenne droite et la bronche inférieure droite.

Ces bronches lobaires se prolongent ensuite en bronches segmentaires, puis en bronchioles. À leur extrémité distale, la bronchiole terminale se termine en sac alvéolaire, composé de plusieurs alvéoles, bien séparées par des cloisons inter-alvéolaires : cet ensemble forme l'unité fonctionnelle appelée « acinus pulmonaire ». Les acini sont regroupés entre eux formant une unité anatomique appelée « lobule pulmonaire » (Figure 2) (14).

Le parenchyme pulmonaire chez l'Homme comprend 280 à 300 millions d'alvéoles, représentant une surface d'échange gazeux de 80 m² entre l'air alvéolaire et le sang des capillaires sanguins provenant des artères pulmonaires, pauvre en oxygène (14).

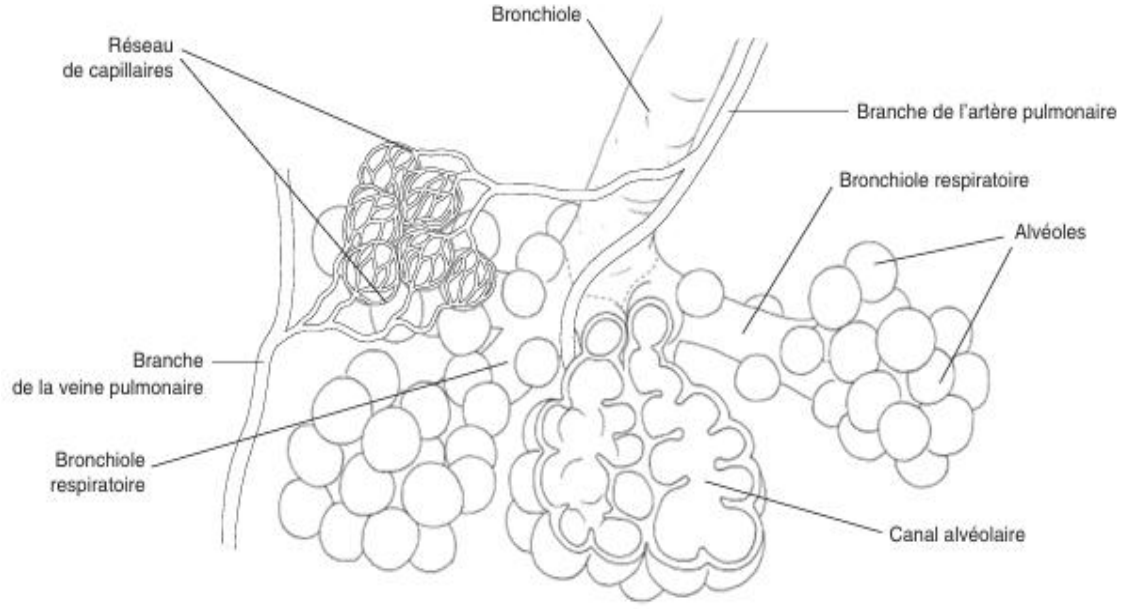


Figure 2 : Bronchioles et alvéoles pulmonaires d'après Elsevier Masson, 2026

II.2.2 L'épithélium de l'appareil respiratoire

Le parenchyme pulmonaire possède plusieurs barrières protectrices. Il est naturellement protégé des microorganismes pathogènes et d'autres agressions par l'épithélium respiratoire des voies aériennes, le mucus, l'appareil muco-ciliaire et les macrophages alvéolaires.

Les agents pathogènes arrivent au niveau des voies respiratoires après inhalation de particules en suspension, exposant le parenchyme pulmonaire à un risque d'infection. Ce risque d'infection est variable en fonction des quantités de microorganismes inhalées, de la virulence du pathogène et/ou de sa souche, du système immunitaire de l'hôte et de la présence de matériel de ventilation/d'intubation, dont la présence altère le fonctionnement de l'appareil muco-ciliaire.

L'épithélium respiratoire est un épithélium pseudostratifié au niveau de la trachée et des bronches. Le mot pseudostratifié fait référence au fait qu'il semble être constitué de plusieurs couches de cellules alors que toutes ses cellules sont accrochées à la lame basale. Il est composé de (Figure 3) :

- Cellules ciliées, les plus nombreuses. Ces cellules épithéliales ont à leur pôle apical une centaine de cils, qui mesurent 5 à 7 µm de hauteur, à l'origine de la clairance du mucus respiratoire.
- Cellules caliciformes (ou goblet cells). Ces cellules épithéliales produisent le mucus. Elles contiennent de nombreuses vacuoles de mucus dans leur cytoplasme, stockées au pôle apical, avant leurs expulsions.
- Club cells (anciennement cellules de Clara). Ce sont des cellules épithéliales sécrétoires, principalement présentes au niveau des bronchioles. Elles produisent la protéine CC16 (Club Cell Secretory Protein) au rôle anti-inflammatoire et elles participent à la détoxification des substances inhalées (enzymes du cytochrome P450). Elles peuvent également agir comme cellules progénitrices, pour régénérer l'épithélium bronchiolaire en cas de lésion.
- Cellules basales. Elles servent de soutien aux autres cellules de l'épithélium et d'ancrage à la membrane basale. Elles peuvent se différencier en cellules ciliées ou cellules caliciformes, pour le renouvellement cellulaire de l'épithélium respiratoire (15,16).

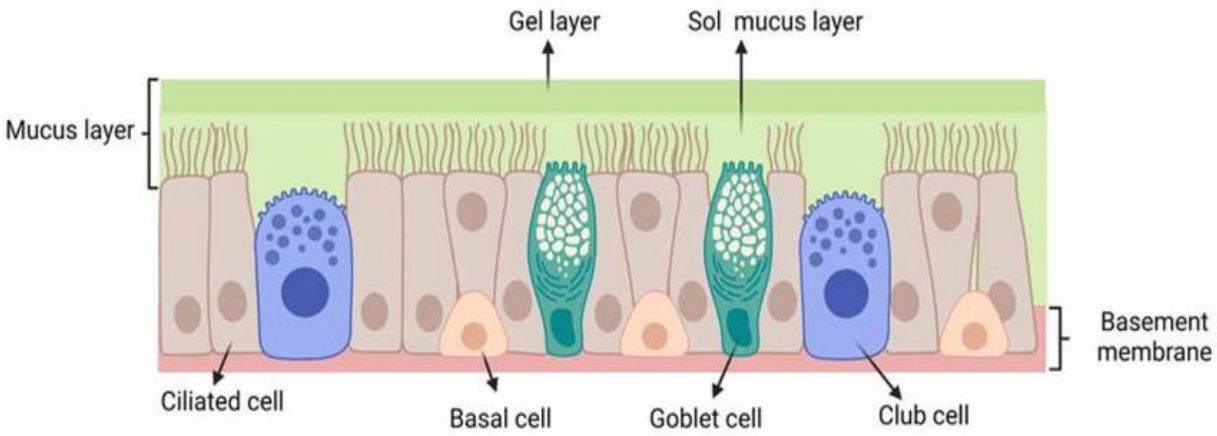


Figure 3 : Schéma de l'épithélium respiratoire d'après Marcello et al, 2023 (15)

II.2.3 L'appareil muco-ciliaire

Le mucus forme une couche protectrice à la surface de l'épithélium respiratoire. Il assure la lubrification et la protection physique des muqueuses contre les poussières, les allergènes et les microorganismes qui ne sont pas retenus par la cavité nasale, le nasopharynx et le pharynx, qui eux arrêtent toutes les particules dont le diamètre est supérieur à 10 μm.

Ce mucus est divisé en deux couches : une couche profonde fluide, et une couche superficielle avec une viscosité plus importante. Il est composé à 95 % d'eau, permettant la mobilité du mucus sur l'épithélium. Il est également composé de mucines, des glycoprotéines de haut poids moléculaire donnant sa viscosité au mucus et sa capacité à piéger les particules inhalées (14). Des électrolytes participent à son hydratation (ions sodium, ions chlores, bicarbonates…), autorisant une meilleure clairance par les cils respiratoires. On y trouve pour finir des protéines aux activités antimicrobiennes comme des immunoglobulines de type IgA sécrétoires produites par les lymphocytes tissulaires, des protéines du compléments, des défensines, lactoferrines, lysozymes et phospholipase A2 (17).

Ce mucus est ensuite évacué vers les voies aériennes supérieures grâce aux battements coordonnés des cils : on parle alors de clairance mucociliaire (Figure 4) (16).

En cas d'anomalie des battements de cils, le manque de clairance de ce mucus chargé en particules inhalées et en agents pathogènes peut conduire à une infection. Par

exemple, les virus respiratoires, comme le virus de la grippe, infectent et détruisent les cellules ciliées entraînant une altération de la clairance muco-ciliaire. Cela permet à des bactéries comme *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* ou *S. pyogenes* de proliférer et de provoquer une surinfection grâce à une clairance inefficace et une immunité locale affaiblie par le virus de la grippe. Les cas de co-infections du virus de la grippe et *S. aureus* sont fréquents dans les périodes épidémiques de grippe et peuvent être gravissimes avec des pneumonies nécrosantes post-grippales (18).

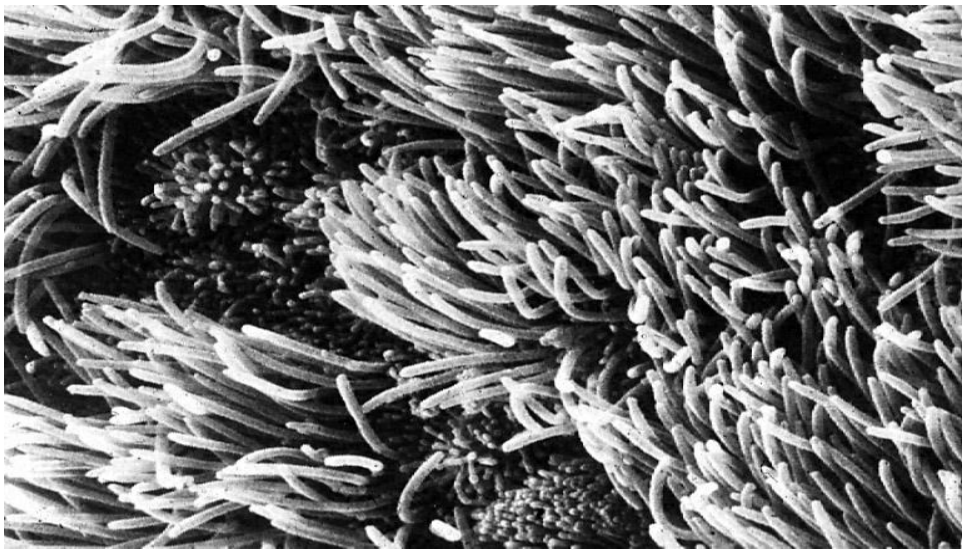


Figure 4 : Cils de l'appareil respiratoire en microscopie électronique d'après histology.be (19)

D'autres anomalies peuvent également altérer le fonctionnement de l'appareil muco-ciliaire, comme la mutation génétique CFTR du canal chlore rencontrée dans la mucoviscidose. Cette mutation est responsable d'une hyperviscosité du mucus par un défaut de transport des ions chlores Cl^- et donc un défaut d'hydratation du mucus, le rendant plus épais, visqueux et adhérent. Il va alors s'accumuler dans les bronches, entraînant des obstructions et des infections chroniques respiratoires (20).

II.2.4 Les alvéoles pulmonaires

Les alvéoles sont le lieu où se produisent les échanges gazeux par diffusion passive à travers la barrière alvéolo-capillaire. Elles ont un diamètre de 100 µm à l'expiration,

300 µm à l'inspiration et sont entourées d'un important réseau de capillaires sanguins, formé à partir des artères pulmonaires.

La barrière alvéolo-capillaire est constituée d'une couche de cellules endothéliales, d'une membrane basale et d'une couche de cellules épithéliales respiratoires. Ces cellules épithéliales sont les pneumocytes de type 1, et de type 2.
Les pneumocytes de type 1 représentent 95 % de la surface des alvéoles pulmonaires et sont de fines cellules aplaties et allongées. Elles assurent les échanges gazeux entre l'air alvéolaire et les capillaires sanguins par diffusion grâce à leur faible épaisseur. Les pneumocytes de type 2, moins nombreux que les pneumocytes de type 1, peuvent servir de cellules progénitrices capables de remplacer les pneumocytes de type 1 et produisent le surfactant pulmonaire. Cette substance tensioactive composée de protéines et de lipides est indispensable au maintien de l'ouverture alvéolaire. Elle recouvre la surface des alvéoles et des bronchioles, réduisant la tension de surface et empêchant l'affaissement des alvéoles lors de l'expiration. Sans surfactant, les alvéoles adhéreraient les unes aux autres lors de l'expiration rendant la prochaine inspiration difficile (21).

Les macrophages alvéolaires constituent la première ligne de défense du système immunitaire pour protéger le parenchyme pulmonaire. Dans les conditions physiologiques, les macrophages intra-alvéolaires vont phagocyter le faible inoculum bactérien échappant à l'appareil muco-ciliaire, qui atteint les alvéoles pulmonaires. Quand leur capacité phagocytaire est dépassée, la réaction inflammatoire locale se déclenche (4). Présents librement dans la lumière alvéolaire, ils attestent de l'origine profonde des expectorations utilisées lors des ECBC (Examen Cytobactériologique des Crachats) et par conséquent, de leur qualité.

II.2.5 Microbiotes respiratoires et infections

La présence seule d'une bactérie pathogène ne peut expliquer le tableau de pneumonie. Elle doit être en quantité importante d'où l'élaboration de seuils quantitatifs sur les différents prélèvements respiratoires pour les bactéries responsables d'infections respiratoires cultivables sur les milieux de culture utilisés au laboratoire de biologie médicale (22,23). Ces seuils permettent de différencier une colonisation

bactérienne des voies respiratoires d'une infection respiratoire basse, puisque l'Homme possède un microbiote oro-pharyngé où le portage asymptomatique de certains pathogènes est fréquent. Par exemple, le portage nasopharyngé chez l'Homme en population générale de *S. aureus* peut être permanent ou transitoire chez respectivement 20 % et 30 % des personnes en population générale (24,25). *N. meningitidis* peut également coloniser les voies aériennes respiratoires avec une prévalence de 5 % chez l'enfant, avant d'atteindre son pic de prévalence de 23,9 % chez les jeunes adultes de 19 ans (26).

L'Homme possède plusieurs microbiotes au rôle barrière protecteur, empêchant la colonisation et la multiplication d'un pathogène chez l'hôte. Les microbiotes respiratoires forment un continuum de l'oropharynx au poumon, avec un microbiote pulmonaire dérivant du microbiote oro-pharyngé. Les méthodes de séquençage métagénomique réalisées sur des prélèvements respiratoires profonds ont permis de remettre en cause le dogme du poumon stérile (27). Les espèces bactériennes dominantes de ces deux microbiotes sont globalement identiques chez le sujet sain, avec les Bacteroidetes, qui représentent 50 % de la diversité pulmonaire (*Prevotella*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*), les Firmicutes avec *Streptococcus* (dont *S. mitis*, *S. oralis*, *S. infantis*,…), les Proteobacteria avec *Neisseria* et *Haemophilus* et les Actinobacteria avec *Rothia* (Figure 5) (27,28).

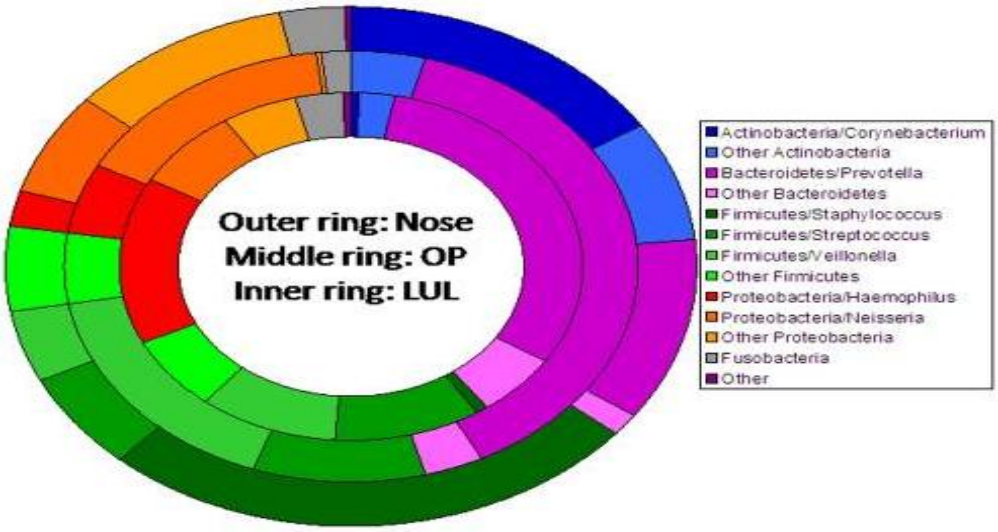


Figure 5 : Espèces bactériennes prédominantes au sein des microbiotes oro-pharyngé et pulmonaire d'après Hilty et al, 2010 (27)

OP = oropharynx, LUL = lavage broncho-alvéolaire.

En 2 mois de vie, le microbiote pulmonaire a achevé sa maturation et joue des rôles primordiaux dans l'homéostasie pulmonaire. Il joue un rôle dans l'architecture pulmonaire, un rôle de barrière par exclusion compétitive en privant les bactéries pathogènes de nutriments, un rôle dans l'immunité innée et adaptative, mais également dans l'éducation du système immunitaire (28).

Les bactéries ne sont pas les seuls micro-organismes composant ce microbiote. On peut y retrouver des virus, principalement des bactériophages mais aussi les Anelloviridae (dont le Torque teno virus), les Herpersviridae (dont le Cytomegalovirus, l'Epstein Bar Virus, les Herpès Simplex Virus), des Papillomavirus humains. On peut y retrouver également des protozoaires comme *Entamoeba gingivalis*, ou *Trichomonas tenax* qui lui vit principalement dans le tartre dentaire, mais également des champignons comme *Candida*, *Saccharomyces*, et *Aspergillus* (29,30).

II.3 Les PAC à bactéries atypiques

Comme évoqué plus tôt dans cet exposé, certains éléments sont évocateurs d'une pneumonie à bactéries atypiques. Le plus évocateur est l'échec thérapeutique à 48h d'un traitement bien conduit par bêtalactamines lors de la réévaluation systématique des patients atteints de PAC. Un début progressif en 2 à 3 jours et un temps d'incubation plus long sont aussi évocateurs d'une PAC à bactéries atypiques. Cependant, ces deux derniers arguments ne sont pas vrais pour la légionellose avec des cas de pneumonies graves d'emblée, contrairement à la plupart des PAC subaigües dues à *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *C. psittaci*. Ces PAC subaigües ont une clinique aspécifique. Elles montrent des atteintes pulmonaires à type infiltrats irréguliers ou interstitiels diffus souvent bilatéraux (Figure 6).



Figure 6 : Radiographie thoracique montrant des infiltrats bilatéraux dus à *M. pneumoniae* d'après le Collège national des pédiatres universitaires, 2023 (8)

La légionellose a une imagerie montrant des opacités alvéolaires uni ou bi-lobaires et des images de consolidation. Ses images sont plus proches de celles de la PFLA (31).

Bien que la majorité des cas de pneumonies atypiques soient sporadiques, il existe des épidémies communautaires liées à ces bactéries atypiques. *M. pneumoniae* et *C. pneumoniae* sont des bactéries à transmission interhumaine peu contagieuses responsables d'épidémies au sein d'un foyer familial, ou des lieux comme des casernes, des écoles, des internats étudiants ou tout autre lieu avec contacts rapprochés et prolongés. Ces contextes épidémiques pour ces 2 bactéries sont des éléments évocateurs à prendre en compte pour le clinicien. La légionellose est due à une contamination environnementale, alors que *C. psittaci* a une transmission zoonotique (10).

Enfin, la présence de manifestations extra-pulmonaires permet d'orienter le clinicien vers les bactéries atypiques. Elles sont variées et surtout présentes dans les infections à *M. pneumoniae* (32).

II.3.1 *Mycoplasma pneumoniae*

II.3.1.1 Généralités sur *M. pneumoniae*

M. pneumoniae appartient au genre Mollicutes et a été identifié comme agent de pneumonie atypique dans les années 1960 (33). Parmi les 18 espèces de mycoplasmes retrouvés chez l'Homme, seuls *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *M. hominis* et *U. urealyticum* sont décrits comme sources d'infection chez l'Homme (Tableau 1) (33).

Tableau 1 : Principales espèces de *Mycoplasma* impliquées en pathologie humaine (34–36)

IST = infections sexuellement transmissibles.

	Type d'infections	Fréquence d'implication clinique
M. pneumoniae	Infections respiratoires supérieures et inférieures	Très fréquent
M. genitalium	IST (cervicite, urétrite, maladie inflammatoire pelvienne)	Fréquent
M. hominis	Commensal des voies urogénitales. Endométrite, salpingite, atteintes articulaires, infections néo-natales	Rare, pathogène opportuniste
U. urealyticum	Commensal des voies urogénitales. Urétrite	Rare, pathogène opportuniste

M. genitalium possède le plus petit génome des mycoplasmes (37). Celui de *M. pneumoniae* fait 816 394 paires de bases, codant pour 687 gènes. Les génomes de faible taille des espèces appartenant au genre Mollicutes et leur faible capacité biosynthétique pour de nombreux métabolites essentiels (acides aminés, lipides, nucléotides, cofacteurs enzymatiques, …) expliquent les difficultés à obtenir des cultures in-vitro et leurs particularités biologiques (38). En effet, les mycoplasmes sont incapables de synthétiser de parois cellulaires de peptidoglycanes, car les gènes responsables permettant ce processus sont absents de leurs génomes. Cela les rend impossible à classifier avec la coloration de Gram et les rend également naturellement

résistants aux bêtalactamines en raison de l'absence de paroi, mais aussi de leur caractère intracellulaire (38).

Ce sont des pathogènes intracellulaires, pouvant pénétrer dans de nombreuses cellules humaines, animales ou végétales, en fonction de leur tropisme infectieux (39).

II.3.1.2 Cycle de réplication de *M. pneumoniae*

Pour effectuer son cycle intracellulaire, *M. pneumoniae* va se fixer à ses récepteurs à la surface des cellules contenant de l'acide sialique, grâce à ses adhésines P1 qui ont une forte affinité pour les cellules épithéliales respiratoires (40). L'adhésine P1 est une protéine de 170kDa, avec des variations permettant de séparer en deux types principaux l'espèce *M. pneumoniae* : le type 1 et le type 2 (41). Cette adhésion se fait par une des extrémités du mycoplasme, le « tip », où l'adhésine P1 est en forte concentration (Figure 7).

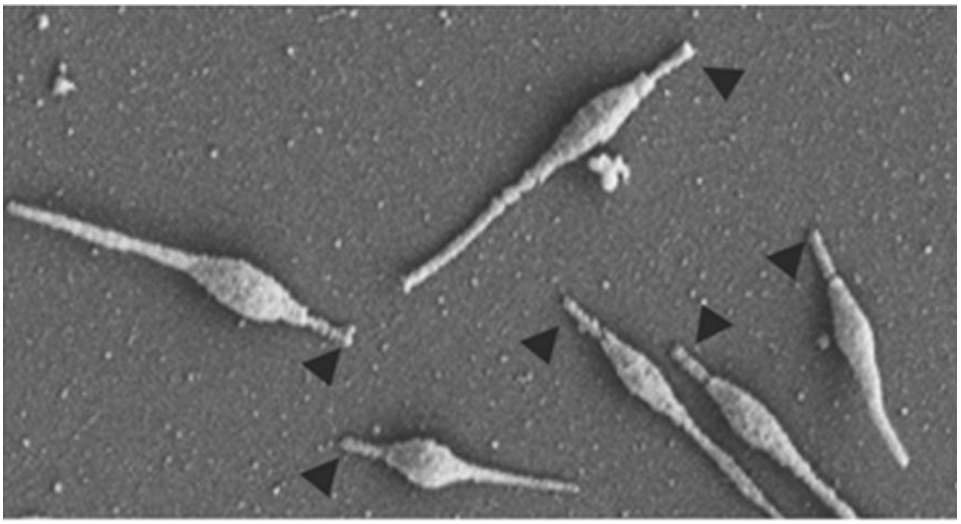


Figure 7 : *M. pneumoniae* en microscopie d'après Atkinson et al, 2008 (42)

Cette fixation va entraîner un arrêt de l'activité ciliaire et la formation d'invaginations à la surface de la cellule épithéliale après réarrangement du cytosquelette, qui vont se transformer en vésicules d'endocytose permettant l'internalisation de *M. pneumoniae*. Une fois dans la cellule, une partie de ces vésicules sera détruite par fusion avec des vésicules lysosomales ou par autophagie. S'il survit, *M. pneumoniae* peut rester dans sa vésicule d'endocytose, mais va majoritairement perdurer dans le cytoplasme,

proche du noyau cellulaire ou bien dans le noyau. La bactérie va alors se multiplier dans la cellule lentement et durablement, avec une potentielle persistance à l'état latent (Figure 8).

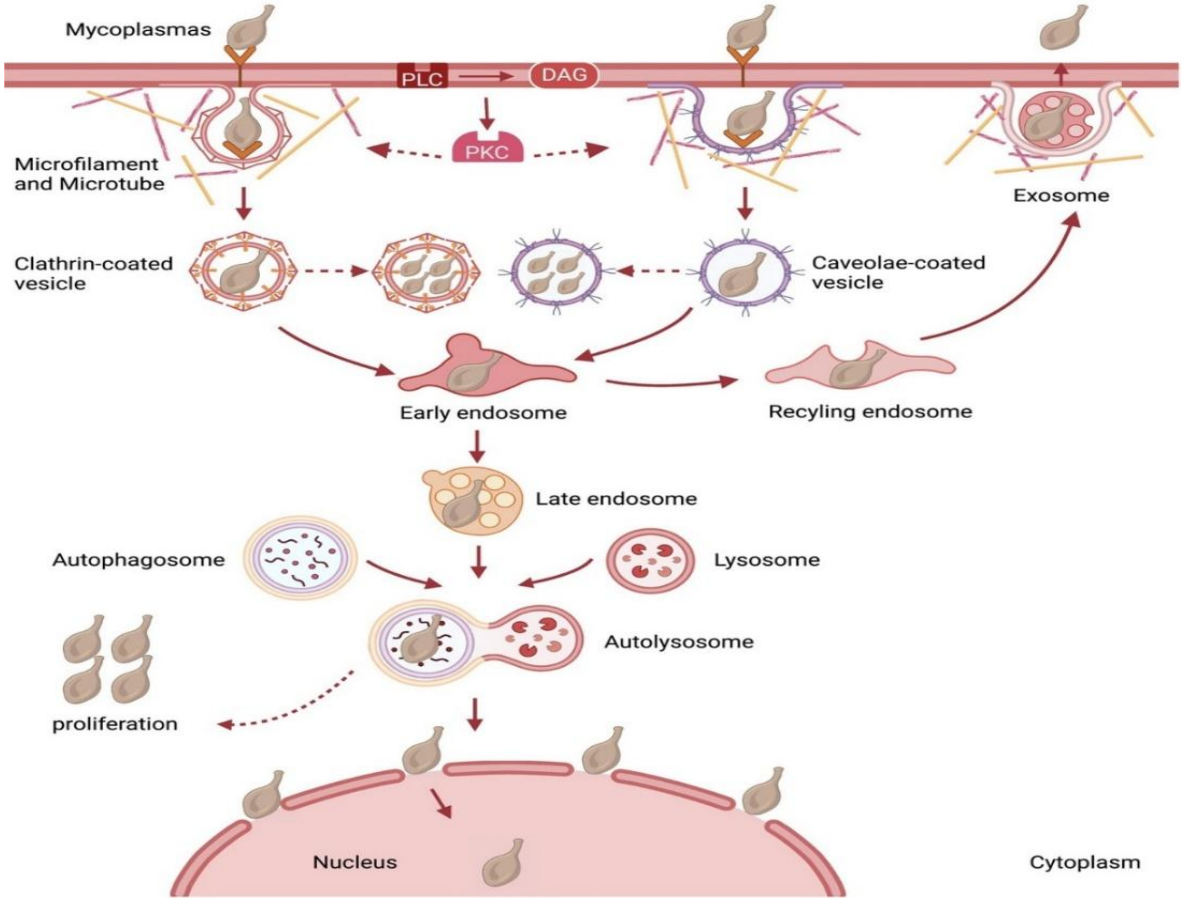


Figure 8 : Cycle réplicatif intra-cellulaire de *M. pneumoniae* d'après Xiu et al, 2024 (39)

Certains mycoplasmes vont être libérés par exocytose dans le milieu extracellulaire afin d'éviter cette dégradation par les lysosomes et persister dans le milieu extracellulaire. Ils peuvent aussi se disséminer dans la circulation systémique ou infecter d'autres cellules voisines. La présence extra-cellulaire va permettre de coloniser la surface des muqueuses respiratoires en adhérant étroitement aux cellules épithéliales ciliées perturbant l'activité ciliaire et diminuant la clairance de *M. pneumoniae*. Cela va favoriser sa persistance prolongée dans l'appareil respiratoire du patient de manière asymptomatique ou la présence de symptômes respiratoires chroniques (43).

Au cours de l'infection, *M. pneumoniae* produit une toxine appelée CARD TX (Community-acquired Respiratory Distress syndrome Toxin) se fixant au surfactant

pulmonaire et entraînant des lésions de l'épithélium respiratoire. Elle est très immunogène et peut être un gène cible de détection par PCR (41).

II.3.1.3 Infections dues à *M. pneumoniae*

M. pneumoniae a un tropisme respiratoire avec les cellules bronchiques humaines, mais aussi les hépatocytes humains et les macrophages (39). Cette bactérie est responsable d'infections des voies respiratoires supérieures et inférieures. Les entités cliniques les plus souvent retrouvées sont la pharyngite aigüe et la trachéobronchite, surtout chez l'enfant (44).

Sa transmission interhumaine se fait par voie respiratoire, donnant dans les cas les plus graves des pneumonies, décrites comme subaigües, bénignes et spontanément résolutives. Les pneumonies due à *M. pneumoniae* ont des tableaux cliniques non spécifiques avec un début progressif, un syndrome fébrile, des signes ORL et une toux sèche sans altération de l'état général. Elles nécessitent dans la plupart des cas une prise en charge ambulatoire, d'où le terme de « walking pneumonia ».

Ces PAC sont fréquentes chez les enfants scolarisés de 5 à 15 ans et chez les jeunes adultes. *M. pneumoniae* est responsable d'épidémies fréquentes dans les endroits clos tels que des écoles, des collectivités comme des universités, foyers ou casernes. Une étude faite en Chine sur la séroprévalence des IgG anti-*M. pneumoniae* chez les enfants âgés de 0 à 6 ans a mis en évidence une augmentation importante de cette séroprévalence avec l'âge. Elle passe de 10 % chez les enfants de moins d'un an à 32,5 % chez ceux âgés de 6 ans. L'augmentation la plus marquée est observée entre 4 et 6 ans, avec une séroprévalence passant respectivement de 20,2 % à 32,5 %. Cette évolution coïncide avec le début de la scolarisation et l'entrée en maternelle, période de forte exposition à *M. pneumoniae* (45). Les PAC dues à cette bactérie sont plus rares à l'âge adulte (46).

Les épidémies dues à *M. pneumoniae* se propagent lentement et peuvent durer longtemps en lien avec la longue période d'incubation de *M. pneumoniae* allant de 4 à 20 jours. Certaines études montrent également de nombreuses formes de portages asymptomatiques de *M. pneumoniae*, pouvant être des réservoirs de cette bactérie et une source importante de transmission (10,47). Ces épidémies ont un caractère cyclique, tous les 3 à 7 ans. L'adhésine P1 de *M. pneumoniae* est une protéine très

immunogène divisée en deux génotypes 1 et 2. Une infection par *M. pneumoniae* induit une forte réponse en anticorps anti-*M. pneumoniae* spécifique du génotype d'adhésine. La baisse de l'immunité collective et l'émergence de nouveaux variants d'adhésine P1 expliquent pourquoi ces pics épidémiques de *M. pneumoniae* sont tous les 3 à 7 ans (43).

II.3.1.4 *M. pneumoniae* et manifestations extra-pulmonaires

Les manifestations extra-pulmonaires sont soit des lésions directes dues à l'infection, soit des lésions d'origine auto-immune. La présence d'auto-anticorps après une infection serait due à une similitude antigénique entre glycoprotéines membranaires de *M. pneumoniae* et certains tissus humains, entraînant des manifestations auto-immunes post-infectieuses. Les plus fréquentes sont dermatologiques et neurologiques. Les manifestations cutanées peuvent être un érythème polymorphe (Figure 9), un érythème noueux ou bien un syndrome de Steven-Johnson (32).
Sur les 1309 patients âgés de plus de 15 ans et 3 mois inclus dans l'étude française MYCADO, les manifestations extra-pulmonaires étaient présentes chez 12 % des patients hospitalisés ayant une infection respiratoire à *M. pneumoniae* (32). En pédiatrie, une association pneumonie et érythème polymorphe doit faire évoquer une infection par à *M. pneumoniae* au pédiatre. La guérison de cet érythème polymorphe se fait spontanément en 2 à 3 semaines, jusqu'à 6 semaines dans les formes graves (48,49).



Figure 9 : Érythème polymorphe dû à *M. pneumoniae* d'après Larquey et al, 2016 (49)

Concernant les formes neurologiques, les encéphalites et le syndrome de Guillain Barré sont les formes les plus fréquentes et les plus graves. D'autres manifestations extra-pulmonaires plus rares sont possibles comme des anémies hémolytiques auto-immunes due à des agglutinines froides, des thromboses, thrombopénies, vascularites, myalgies, péricardites, endocardites, ou glomérulonéphrites (32).

II.3.2 *Chlamydia* spp.

II.3.2.1 Généralités sur *Chlamydia*

La famille Chlamydiaceae comprend 15 espèces de *Chlamydia*, nouvellement appelées *Chlamydophila*. Elles peuvent être source d'un large éventail d'infections aussi bien chez l'Homme que chez les animaux. Chez l'Homme, 3 bactéries sont bien connues pour être pathogènes : *C. trachomatis*, *C. psittaci* et *C. pneumoniae* (Tableau 2). *C. trachomatis* est la première cause d'infections bactériennes sexuellement transmissibles et de trachomes dans le monde. Souvent asymptomatiques, les infections à *C. trachomatis* peuvent provoquer des grosses extra-utérines et une infertilité tubaire. *C. psittaci*, quant à elle, est responsable de zoonoses chez l'Homme avec comme réservoir et foyers primaires d'infections les oiseaux de la famille des Psittacidae. Enfin, *C. pneumoniae* est associée à de nombreuses infections respiratoires hautes et basses chez l'Homme. *C. felis* a récemment été identifié comme étiologie de conjonctivite folliculaire chronique suite à une transmission zoonotique avec les chats domestiques (50). Une autre bactérie de cette famille, *C. caviae*, peut provoquer des PAC suite à une transmission zoonotique due à des cochons d'Inde malades (51). La majorité des infections à *Chlamydia* ont tendance à être initialement asymptomatiques et non traitées. Elles peuvent persister des semaines voire des mois chez l'Homme (52).

Tableau 2 : Principales espèces de *Chlamydia* impliquées en pathologie humaine (50,51,53,54)

IST = infections sexuellement transmissibles, LGV = lymphogranulomatose vénérienne, RPM = rupture prématurée des membranes.

	Type d'infections	Fréquence d'implication clinique
C. trachomatis	Trachome, IST (cervicite, urétrite, LGV), RPM, infertilité tubaire	Très fréquent
C. pneumoniae	Infections respiratoires supérieures et inférieures	Très fréquent
C. psittaci	Infections respiratoires supérieures et inférieures	Fréquence d'implication difficile à estimer
C. caviae	Conjonctivite bénigne, infections respiratoires supérieures et inférieures	Très rare
C. felis	Conjonctivite folliculaire chronique	Très rare

Ce sont des bactéries intracellulaires stricts. *Chlamydia* présente une membrane cytoplasmique et une membrane externe comme les Gram-négatif, mais sont dépourvues de peptidoglycane. Leur caractère intra-cellulaire obligatoire et l'absence de peptidoglycane expliquent leur résistance naturelle aux bêtalactamines. Ces bactéries sont incapables de synthétiser leur propre ATP en dehors d'une faible capacité à faire de la glycolyse. Ce sont des parasites énergétiques intra-cellulaires (55).

II.3.2.2 *Chlamydia* et cycle infectieux

Les membres de la famille de Chlamydiaceae ont tous un cycle commun biphasique de développement, alternant successivement entre corps élémentaire (EB), forme infectieuse, et le corps réticulé (RB), forme non infectieuse et réplicative. Ces corps élémentaires vont se fixer à la membrane épithéliale en formant un complexe tertiaire entre adhésines bactériennes, leurs récepteurs membranaires et les protéoglycanes à héparane sulfate (56). La formation de ce complexe induit un réarrangement du cytosquelette et l'entrée du corps élémentaire dans les cellules épithéliales par vésicule d'endocytose. Cette vésicule survit dans la cellule en inhibant sa fusion avec

les vésicules lysosomales et se transforme rapidement en inclusion, grâce à des protéines produites par *Chlamydia* spp. Une fois cette inclusion intra-cytoplasmique formée, les corps élémentaires vont persister et se transformer en corps réticulés pour que la bactérie puisse se répliquer. Ces corps réticulés vont importer de nombreux nutriments de la cellule hôte dans la vésicule réplicative (ATP, nutriments, acides aminés…), avant de se multiplier par division binaire (57).

Après division cellulaire, les corps réticulés vont s'accumuler avant de se différencier en corps élémentaire, de façon asynchrone. Ce cycle infectieux de *Chlamydia* dure 48 à 72h et se termine par le relargage des corps élémentaires, soit par la lyse cellulaire, soit par extrusion de l'inclusion. Les corps élémentaires libres vont pouvoir infecter de nouvelles cellules à leur tour (Figure 10) (57,58).

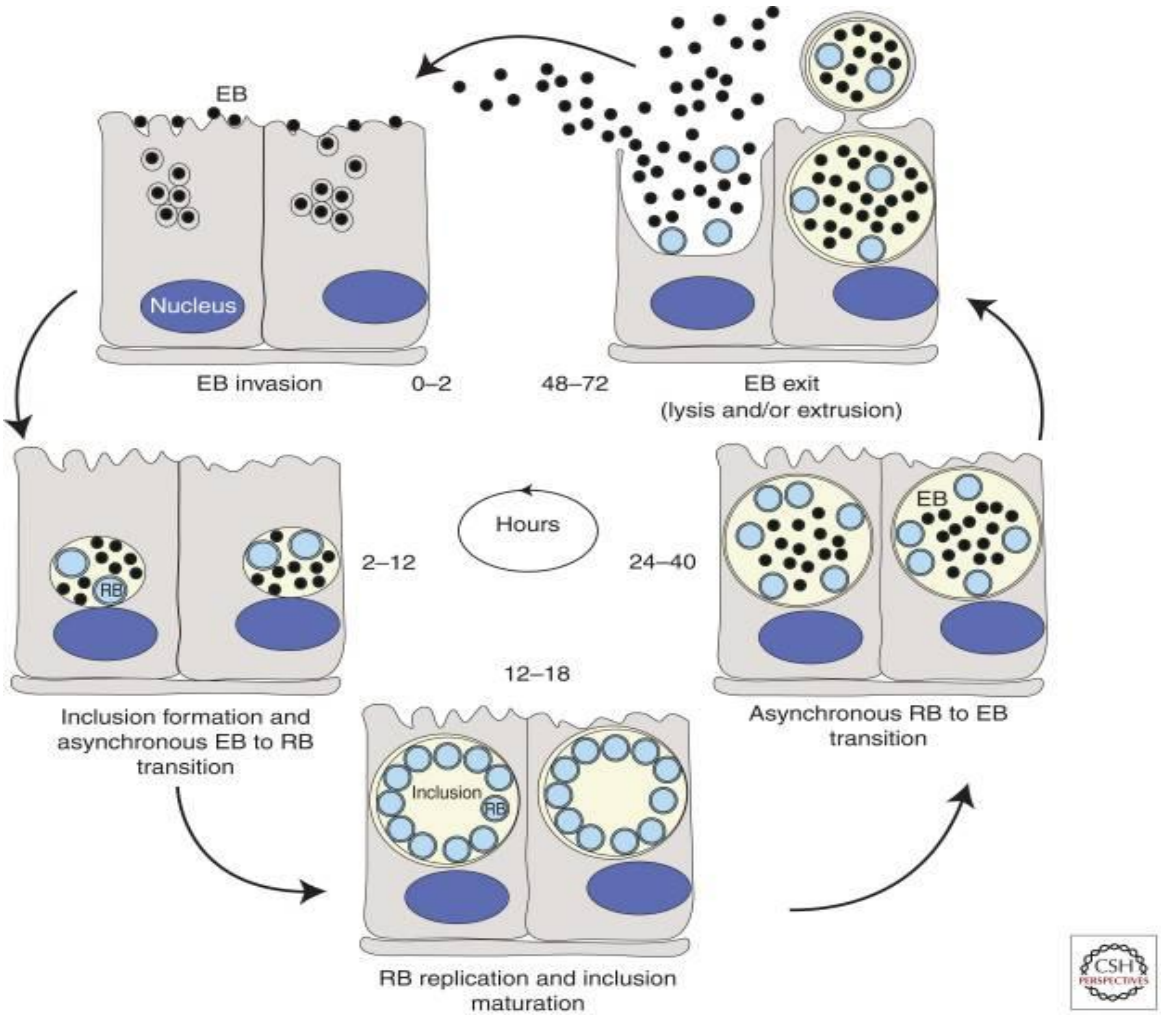


Figure 10 : Cycle infectieux de *Chlamydia* d'après Bastidas et al, 2013 (57)

II.3.2.3 *C. pneumoniae*

C. pneumoniae a été identifiée comme bactérie responsable de pneumonies en 1983 (59). C'est une bactérie au réservoir strictement humain : aucun réservoir animal contrairement à *C. psittaci*, ou environnemental n'est retrouvé pour cette bactérie (60). Cette bactérie peu contagieuse a une transmission interhumaine par voie respiratoire, essentiellement par gouttelettes respiratoires et nécessite des contacts rapprochés et prolongés. En effet, certaines populations sont particulièrement à risque d'exposition à *C. pneumoniae* comme les enfants scolarisés, les adolescents, les militaires en casernes, les étudiants vivant en internat au sein de leur université, les maisons de retrait et EHPAD, ou même les domiciles familiaux puisque les collectivités favorisent la circulation de cette bactérie (60,61). Toutes ces collectivités peuvent être le lieu d'épidémies, lentes et durables, en lien avec la longue période d'incubation de 3 à 4 semaines de *C. pneumoniae* (53,62).

Comme évoqué ci-dessus, *C. pneumoniae* nécessite un contact rapproché pour favoriser sa transmission. Une étude de séroprévalence menée à Seattle sur 5242 personnes a permis de mettre en évidence l'évolution de la prévalence de *C. pneumoniae* en population générale. Avant 5 ans, les enfants sont peu affectés par les infections à *C. pneumoniae* contrairement aux enfants plus âgés et adolescents en milieu scolaire. Le graphique ci-dessous montre une augmentation très importante de la séroprévalence de *C. pneumoniae* passant de 5 % à 5 ans, à 50 % à l'âge de 20 ans. Cette séroprévalence continue d'augmenter et atteint 75 % chez les personnes âgées (Figure 11). Elle est légèrement plus élevée chez les hommes que chez les femmes en population générale (59,62)

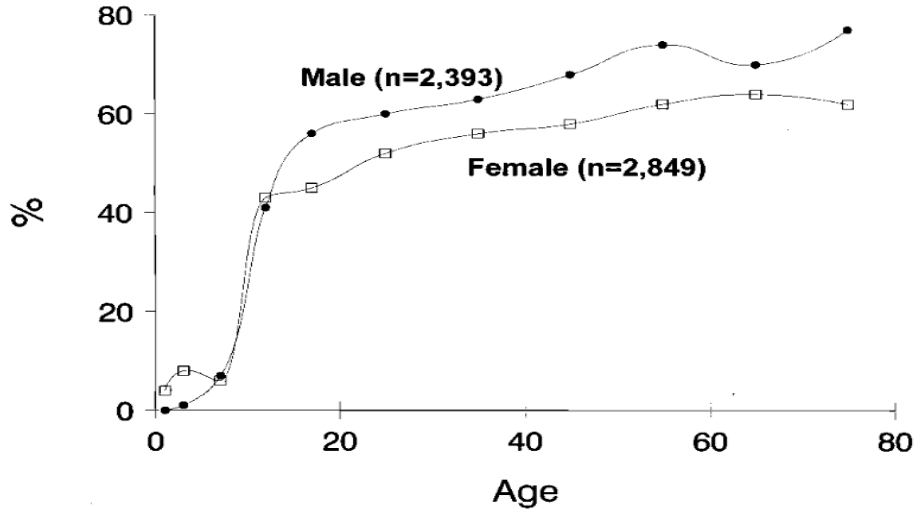


Figure 11 : Séroprévalence des anticorps anti-*C. pneumoniae* en population générale d'après Kuo CC et al., 1995 (59)

Ces chiffres de séroprévalence montrent l'étendue de la circulation de *C. pneumoniae* en population générale et sont confirmés par d'autres études. Une deuxième étude sérologique japonaise menée de 1991 à 2000 a montré une séroprévalence entre 50 et 70 % pour *C. pneumoniae* au sein de la population adulte, avec, selon l'étude, la certitude que presque l'ensemble de la population générale est entré en contact avec *C. pneumoniae* au moins une fois au cours de sa vie (63). Des études confirment cette séroprévalence en IgG anti-*C. pneumoniae* de 50 % à l'âge de 20 ans (64,65) tandis que d'autres montrent une séroprévalence égale à 95 % à l'âge de 50 ans (65). Ces infections induisent la production temporaire d'anticorps anti-*C. pneumoniae* entre 3 et 5 ans, expliquant la possibilité pour une population de s'infecter et de se réinfecter ultérieurement (66).

C. pneumoniae provoque des infections respiratoires supérieures et inférieures, dont la plupart sont bénignes et asymptomatiques. On compte parmi elles, la pharyngite, la sinusite, la bronchite, la bronchiolite et la pneumonie aigüe communautaire (62). Les symptômes les plus fréquemment retrouvés sont une rhinorrhée, des maux de gorge, et se résorbent spontanément en une semaine dans la plupart des infections à *C. pneumoniae*. Ces symptômes sont suivis d'une toux sèche dans 75 à 90 % des cas (62). *C. pneumoniae* peut persister après une infection aigüe au niveau de la muqueuse respiratoire pendant plusieurs semaines et peut être responsable d'une toux chronique. Certaines études ont montré une association entre persistance

chronique de *C. pneumoniae* et le développement de certaines maladies chroniques telles que l'athérosclérose, la BPCO et l'asthme (62,67). L'infection la plus grave due à cette bactérie est la pneumonie aigüe communautaire, dont le pronostic reste favorable avec une mortalité inférieure à 2 %. La clinique de ces PAC est non-spécifique, avec une installation progressive des symptômes comme la fièvre, des céphalées, des laryngites, une dysphonie, une toux sèche et une fatigue importante. (68).
Les infections à *C. pneumoniae* touchent principalement les enfants scolarisés, les adolescents et les jeunes adultes, tandis que la mortalité est plus élevée chez les personnes âgées.

Des manifestations extra-pulmonaires sont possibles lors d'une PAC à *C. pneumoniae*, mais elles sont plus rares que pour les infections à *M. pneumoniae*. Elles peuvent être neurologiques (méningo-encéphalites, syndrome Guillain-Barré), cardiaques (myocardites, péricardites), dermatologiques avec des érythèmes ou rhumatologiques. Ces manifestations correspondent à une réaction immunologique post-infectieuse (69).

II.3.2.4 *C. psittaci*

Aussi appelée « parrot fever », la psittacose est une infection zoonotique due à *C. psittaci* dont la transmission est due à son principal réservoir, les oiseaux. Cette bactérie est plus pathogène que *C. pneumoniae*. Elle est classée par le US Centers for Disease Control and Prevetion (CDC) comme agent biologique de classe B, caractérisé par une capacité modérément facile à se propager, une morbidité modérée et une faible mortalité. Néanmoins, la mortalité de la psittacose au XX^{ème} siècle était de 50 %, avec entre 1920 et 1930 une grosse épidémie aux Etats-Unis affectant 800 personnes. Cette épidémie a entraîné une mesure de quarantaine systématique pour contrôler et prévenir les cas de psittacose dus aux perroquets importés aux Etats-Unis, mesure maintenue pendant plus de 40 ans (70). Cette bactérie doit son nom aux oiseaux de la famille des Psittacidae, qui regroupe 37 genres et 179 espèces comme les perroquets, perruches, inséparables, touïs, et palettes, qui sont des réservoirs majeurs pour *C. psittaci* (12).

L'ornithose et la psittacose sont deux termes utilisés pour décrire une infection chez l'Homme à *C. psittaci*. La psittacose désigne une infection transmise par un oiseau psittacidé tandis que l'ornithose désigne une infection transmise par un oiseau non-psittacidé. La chlamydiose aviaire est le terme utilisé pour définir une infection chez les oiseaux par *C. psittaci* mais également par d'autre espèces de *Chlamydia* identifiées plus récemment comme *C. gallinacea*, *C. abortus*, *C. avium*, *C. buteonis* et d'autres.

L'ampleur de la distribution environnementale et l'étendue du réservoir de *C. psittaci* sont inconnus, mais cette bactérie a été retrouvée chez plus de 460 espèces d'oiseaux. On connaît comme réservoirs naturels de cette bactérie les oiseaux domestiques, les oiseaux sauvages, les pigeons dans les zones urbaines, les oiseaux d'élevage comme les volailles, des mammifères préalablement contaminés par des oiseaux (chiens, chats, chevaux, porcs…) et des reptiles. Une étude au sein des perroquets sauvages a montré une séroprévalence pour *C. psittaci* de 37 %. Chez les psittacidés, la chlamydiose est souvent symptomatique (perte de poids, gêne respiratoire, diarrhée…). En revanche, chez les volailles, le portage est généralement asymptomatique. Chaque génotype de *C. psittaci* a son hôte spécifique préférentiel et peuvent infecter l'Homme (Figure 12) (71–73).

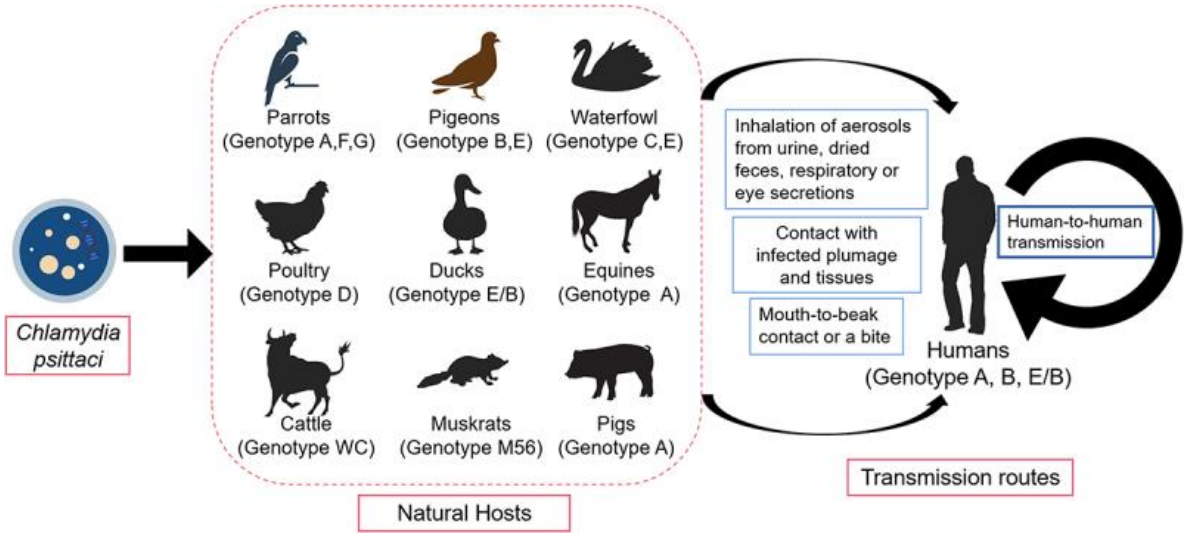


Figure 12 : Hôtes principaux et génotypes de *C. psittaci* d'après Wang et al, 2024 (74)

En France, les canards, les pigeons et les psittacidés sont les principales sources d'infection humaine par *C. psittaci*. En 2013, une épidémie au sein des travailleurs d'un

élevage de poulets et de canards a provoqué 8 cas confirmés de psittacose. La même souche de *C. psittaci* a été identifiée chez les canards, les poulets et les travailleurs par biologie moléculaire, mettant en évidence la souche largement répandue au sein des élevages de canards : le génotype E/B (75).

Le mode de contamination le plus courant consiste à inhaler de la poussière contenant des sécrétions ou des fientes d'oiseaux séchées, là où *C. psittaci* est excrétée. Cela peut se produire plus rarement par contact direct de type « bec à bouche », voir par morsure (71). Une transmission interhumaine a déjà été décrite à partir de cas graves de psittacoses, mais reste rare (76).

Les personnes à risques d'infections par *C. psittaci* sont les employés du secteur avicole, les personnes travaillant avec des oiseaux de compagnie, les vétérinaires, les employés de zoo ou de propriétaires d'oiseaux de compagnie comme les colombophiles. Les personnes en contact avec des oiseaux en cage représente 70 % des cas connus lors d'une exposition aviaire professionnelle ou personnelle (77). Certains foyers endémiques européens sont connus comme l'Europe du Nord ou la côte Atlantique française en lien avec l'élevage de volailles (54,78). On remarque la forte représentation de la côte Atlantique parmi les cas français de psittacose entre 2010 à 2021, analysés par le CNR (Centre National de Référence) *Chlamydia* de Bordeaux (Figure 13) (78).

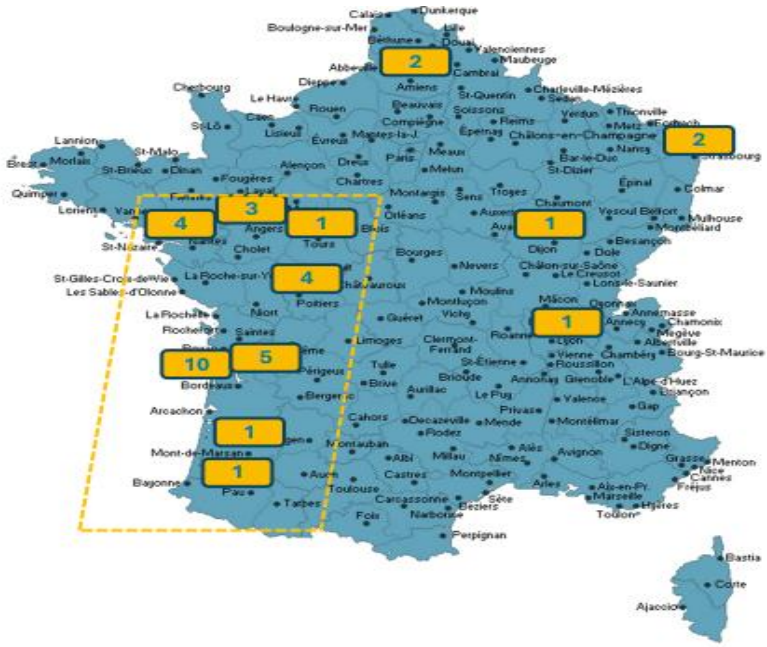


Figure 13 : 35 cas français de *C. psittaci* analysés par le CNR entre 2010 et 2021 d'après Carrer et al, 2024 (78)

Après inhalation, le temps d'incubation de la psittacose est de 5 à 14 jours avant l'apparition des premiers symptômes. La clinique est non spécifique et s'apparente à un syndrome pseudo-grippal bénin dans la majorité des cas, avec fièvre, frissons, toux sèche, maux de tête et myalgies (54). Cependant *C. psittaci* peut provoquer une pneumonie atypique sévère caractérisée par une dyspnée fébrile, des céphalées intenses, des myalgies (85 à 95 % des cas) et d'autres signes neurologiques comme la confusion (32 % des cas) mais aussi des vertiges. Ces symptômes neurologiques peuvent être d'ailleurs les premiers à se manifester, entraînant l'hospitalisation en neurologie (71,78). L'imagerie pulmonaire de cette PAC à *C. psittaci* montre dans une majorité des cas une condensation alvéolaire (88 %) plutôt qu'un syndrome interstitiel. Ces signes cliniques sont accompagnés d'anomalies biologiques comme un syndrome inflammatoire biologique important avec une CRP (protéine C réactive) moyenne de 338 mg/L, une rhabdomyolyse, insuffisance rénale, cytolyse (78,79).
La valeur moyenne élevée de la CRP et le caractère inflammatoire important des infections à *C. psittaci* pourrait s'expliquer en partie par une adaptation incomplète de ce pathogène zoonotique pour l'Homme, d'où la forte réaction inflammatoire (80).

II.3.3 *Legionella* spp.

II.3.3.1 Généralités sur *Legionella* spp.

Legionella est un bacille à Gram négatif, aérobie stricte, et intracellulaire. Il existe 60 espèces de *Legionella*, dont 24 sont pathogènes pour l'Homme causant des infections respiratoires basses (81,82).
Les espèces appartenant au genre *Legionella* sont responsables de 2 types d'infection chez l'Homme : la fièvre de Pontiac, un syndrome pseudo-grippal où *Legionella* n'infecte pas les poumons, de guérison spontanée en 2 à 5 jours ; et la légionellose une pneumonie aigüe sévère avec une mortalité proche de 10 %, pouvant atteindre jusqu'à 30 à 50 % chez les patients pris en charge en réanimation. On peut également retrouver certaines infections extra-pulmonaires beaucoup plus rares de localisation secondaire après une bactériémie à *Legionella* surtout chez les patients immunodéprimés (81).
Leur génome, de grande taille, représente un patrimoine génétique d'environ 3 000 gènes. Il code pour de nombreux facteurs de virulence favorisant leur survie et leur

réplication intracellulaire. Leurs principaux facteurs de virulence sont leurs flagelles, le système de sécrétion Dot/Icm (ou SST4), leur LPS (lipopolysaccharide) ou encore MIP (Macrophage Infectivity Potentiator). Ces bactéries sont incapables de synthétiser la cystéine, d'où l'utilisation de milieux spécifiques pour leur culture.

Les espèces appartenant au genre *Legionella* sont ubiquitaires dans l'environnement. Elles sont retrouvées dans les eaux naturelles des lacs, des rivières et autres cours d'eau à une concentration très faible. Elles peuvent coloniser les réseaux d'eaux artificiels tels que les systèmes de distribution d'eau chaude sanitaire, les TAR (tours aéroréfrigérantes), les bains à remous, et les stations d'épuration. Les réseaux d'eau sont la principale source de contamination. Leur croissance est favorisée par des températures comprises entre 20 et 42°C, températures fréquemment retrouvées dans les réseaux d'eau artificiels. Leur développement est également favorisé par un faible débit voire l'absence d'écoulement, la présence de biofilms ou de tartre. La concentration en sels minéraux comme le cuivre ou le zinc pourrait jouer un rôle dans leur développement. Elles peuvent supporter des températures allant de 0 à 50°C, avec un arrêt de leurs multiplications au-delà de 50°C (81,83,84).
Elles peuvent survivre longtemps dans l'environnement en résistant aux traitements chimiques ou physiques de désinfection en formant ou en colonisant des biofilms inter-espèces. La formation de biofilm est importante pour la survie de *Legionella*, mais elle persiste surtout dans l'environnement grâce à leur capacité à infecter et à se multiplier dans les amibes ou protozoaires ciliés présents naturellement dans l'environnement (85,86). Ces amibes se nourrissent de bactéries et d'autres microorganismes. *Legionella* a non seulement acquis la capacité d'éviter la dégradation intracellulaire mais également d'y survivre et de s'y multiplier. Les amibes *Naegleria*, *Acanthamoeba* et *Hartmannella* sont ubiquitaires dans les sols, les eaux naturelles et les réseaux d'eau artificiels. Plusieurs espèces, notamment *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *N. gruberi* et *H. vermiformis*, constituent des hôtes de multiplication pour *Legionella* (87,88).
De nombreuses études ont montré la présence des amibes dans les réseaux d'eau hospitaliers, des tours aéroréfrigérantes ou des réseaux d'eau chaude sanitaire. Une étude épidémiologique dans un hôpital américain après 26 cas de légionelloses nosocomiales, a montré que 86 % des points d'eau prélevés ont révélé la présence d'*H. vermiformis*, contenant la souche épidémique de *L. pneumophila*. Une étude française portant sur les installations de climatisation et les réseaux d'eau a montré

une multiplication des légionelles dans 88 % des prélèvements dans lesquels étaient présentes amibes libres et légionelles. En revanche, aucune prolifération de légionelles n'a été constatée dans les échantillons avec des légionelles seules, sans amibes. Certaines études montrent une augmentation de leur pathogénicité après interaction avec les amibes (89,90).

Ces amibes constituent ainsi un réservoir environnemental pour les légionelles, favorisant leur multiplication et leur protection vis-à-vis des traitements de désinfection.

II.3.3.2 Cycle de réplication

Comme d'autres pathogènes intracellulaires, *Legionella* possède une réplication biphasique, avec deux états phénotypiques distincts. La première forme est une forme réplicative intra-cytoplasmique dans une vacuole et non virulente, où la bactérie est filamenteuse et non flagellée. La seconde forme est la forme virulente, mature et mobile grâce à ses flagelles (86).

Legionella va infecter par le même mécanisme les amibes libres dans l'environnement que les macrophages chez l'Homme. Après inhalation d'aérosols contenant *Legionella*, la bactérie va atteindre la partie distale de l'arbre respiratoire pour accéder aux macrophages alvéolaires, son site de réplication. Pour effectuer son cycle intracellulaire, la bactérie va utiliser un de ses principaux facteurs de virulence : la protéine MIP. Cette protéine de surface est exposée sur la membrane externe de *Legionella* et favorise l'adhésion aux membranes cellulaires. Après internalisation, l'appareil de sécrétion de type IV (SST4), principal facteur de virulence de *L. pneumophila*, va induire la formation d'une vacuole réplicative « Legionella-containing vacuole » (LCV). Aussi appelé Dot/Icm (Defective for Organelle Trafficking/Intracellular multiplication), ce système de sécrétion permet de libérer plus de 300 protéines effectrices bactériennes dans le cytoplasme de la cellule hôte. Ces protéines permettent à la bactérie d'échapper à la fusion du phagosome et du lysosome, autorisant *Legionella* à établir une niche réplicative à partir de vésicules du réticulum endoplasmique (87).

Une fois dans sa vacuole protectrice, *Legionella* adopte sa forme réplicative pour la division cellulaire. Une fois la phase de réplication terminée, le manque de nutriment induit sa différenciation en forme infectieuse. La bactérie se retrouve libre dans le cytoplasme et va induire une lyse de la cellule hôte via la formation de pores. Ce

processus réplicatif aboutit à une augmentation très rapide de la concentration bactérienne dans les poumons entraînant l'infection ou l'augmentation de sa concentration dans l'environnement (Figure 14) (87).

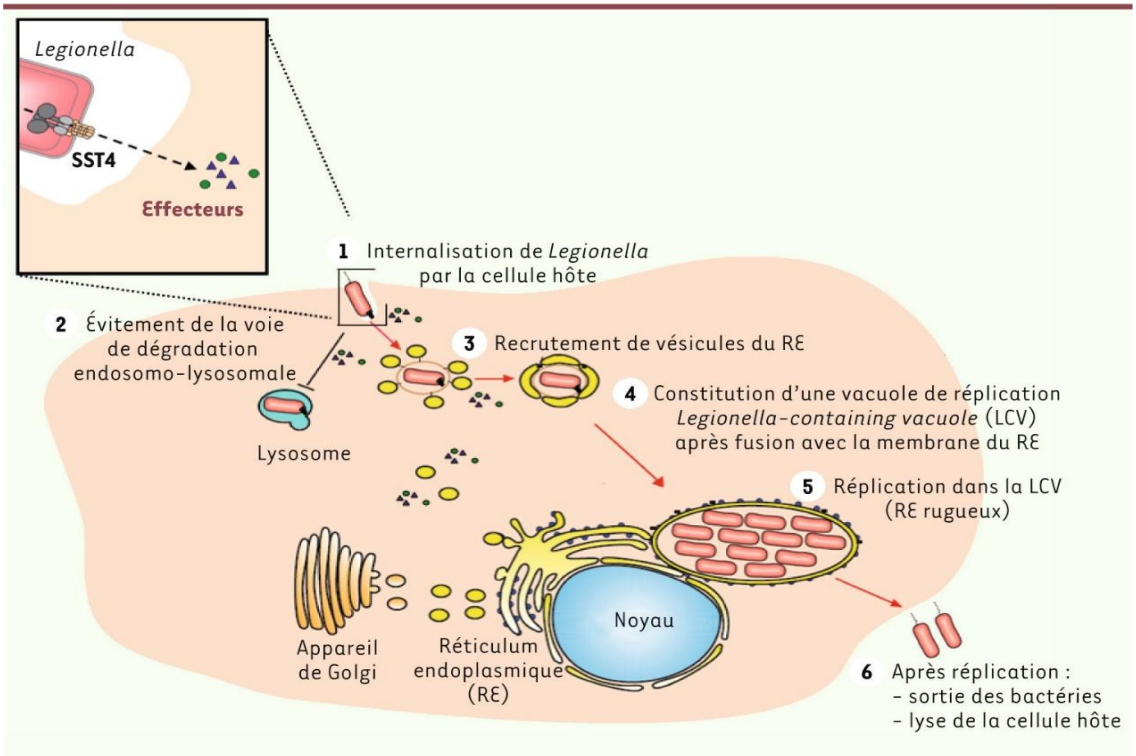


Figure 14 : Cycle infectieux de *Legionella* d'après Jamilloux et al, 2012 (86)

Il n'existe pas de transmission interhumaine de *Legionella*. Il est donc inutile d'isoler dans une chambre seule un patient atteint de légionellose. La contamination des personnes exposées se fait inhalation de microgouttelettes d'eau contaminées par des légionelles libres dans l'environnement. Il est fortement envisagé que l'infection puisse également être contractée par l'inhalation d'amibes infectées par des légionelles. La personne exposée recevrait alors une quantité bien supérieure en légionelles en cas d'inhalation d'amibes (88). Toutes les espèces *Legionella* sont omniprésentes et cohabitent dans les environnements hydriques à l'exception de *L. longbeachae*. Cette espèce est généralement associée à des mélanges de terre naturels dans des environnements de rempotage chauds et humides. La contamination a lieu lors du jardinage avec manipulation de terreaux, de terre ou de composts chez des patients exposés à ces sols (10).

II.3.3.3 La légionellose

La légionellose est une maladie à déclaration obligatoire à l'Agence Régionale de Santé (ARS), ce qui permet un suivi des cas sur le territoire français très détaillé. Malgré une soixantaine d'espèces répertoriées appartenant au genre *Legionella*, 90 % des cas de légionellose diagnostiqués sont dus à *L. pneumophila*, dont 85 % par le sérogroupe 1.

La légionellose est une pneumonie modérée à sévère dont 98 % des patients atteints devront être hospitalisés, avec une mortalité atteignant jusqu'à 50 % chez les patients de réanimation (81,83). Le déclenchement d'une infection se fait en fonction de la pathogénicité/virulence de la souche, de la concentration de légionelles dans l'eau et de certains facteurs de risques liés aux patients exposés. Ces facteurs de risques de légionellose sont l'âge supérieur à 50 ans, le sexe masculin, le tabagisme, l'éthylisme, le diabète, l'insuffisance cardiaque ou rénale, les traitements immunosuppresseurs, la corticothérapie prolongée, les cancers et hémopathies, mais également une exposition fréquente ou prolongée à des sources d'eau contaminée. Statistiquement, 75 % des patients développant une légionellose avaient au moins un de ces facteurs de risques (83). Selon l'OMS, 75 à 80 % des cas notifiés ont plus de 50 ans avec un âge moyen de 64 ans, et 60 à 70 % sont des hommes (91).

Dans la plupart des cas, la légionellose a une période d'incubation de 2 à 10 jours, avec une clinique brutale et non spécifique, avec des signes généraux marqués. La fièvre, présente dans 70 à 100 % des cas, est supérieure à 38,5°C. Cette fièvre importante est accompagnée de symptômes respiratoires comme une toux sèche, une dyspnée et une douleur thoracique. Des signes extra-pulmonaires peuvent être présents : des diarrhées, myalgies, céphalées et confusion, dissociation du pouls et de la température. L'imagerie montre dans la plupart des cas une opacité alvéolaire uni ou bilatérale. Il n'y a aucune différence clinique entre la maladie du légionnaire due à *L. pneumophila* et à *L.* non *pneumophila* (81,92).

Concernant les anomalies biologiques chez les patients atteints de légionellose, la plus fréquente est l'hyponatrémie, bien que peu spécifique. Son mécanisme n'est pas connu. Plusieurs mécanismes sont évoqués dont une sécrétion inappropriée

d'hormone antidiurétique (SIADH), une inflammation systémique ou une atteinte rénale liée à l'infection (93). On retrouve d'autres anomalies comme une hypophosphatémie (très évocatrice mais transitoire), une insuffisance rénale aigüe, une augmentation des CPK et une cytolyse hépatique. Le syndrome inflammatoire biologique est important avec une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles et une lymphopénie, associée à une CRP élevée supérieure à 250 mg/L (82).

La déclaration obligatoire permet de mener des enquêtes épidémiologiques afin d'identifier la source environnementale de la contamination du ou des patient(s) dans 68 % des cas de ces investigations. Cependant, ces investigations ne représentent que 3 à 12 % des cas de légionellose : elles nécessitent une souche clinique de *Legionella* exploitable et des moyens humains importants. Les enquêtes permettent de relier un patient à une source précise environnementale en identifiant les lieux fréquentés par le patient (hôtel, spa, hôpital, lieu de travail, domicile…) et en faisant des prélèvements environnementaux pour comparer génétiquement par NGS la souche clinique de *Legionella* et les souches environnementales retrouvées (94).

Le diagnostic de légionellose se fait principalement sur l'antigénurie urinaire. C'est cette antigénurie positive qui conduira à la réalisation de prélèvements pulmonaires pour l'obtention de la souche, d'où l'envoi presque exclusivement de souches *L. pneumophila* de sérogroupe 1 au CNR.

II.3.3.4 Virulence et espèces de *Legionella*

Il est possible de diviser *L. pneumophila* en 16 sérogroupes selon la variabilité de leurs lipopolysaccharides de surface (LPS). Le sérogroupe 1 est le plus fréquent et le plus virulent (82). La détermination de ce sérogroupe peut se faire par séro-agglutination pour identifier le sérogroupe de *L. pneumophila* par agglutination de particules de latex (83).

Comme mentionné dans la partie sur le cycle infectieux, un des principaux facteurs de virulence de *Legionella* est le système effecteur Dot/Icm composé de plus de 300 gènes. Chez les espèces de *L.* non *pneumophila*, le nombre, la composition et l'homologie des différents effecteurs sont variables par rapport à *L. pneumophila* et

expliquent leurs moins bonnes adaptations aux macrophages humains. Également, le gène MIP est présent chez toutes les espèces de *Legionella*, mais sa séquence génétique va varier en fonction des espèces et impacte la capacité de chaque espèce à infecter les macrophages. Par exemple, le gène MIP de *L. micdadei* possède 71% d'homologie avec le gène MIP de *L. pneumophila* (95). Plus la séquence génétique de MIP va varier, plus nous pouvons parler d'homologues fonctionnels (MIP-like genes) allant de 24 à 31 kDa, dont le but reste de favoriser l'entrée dans la cellule de *Legionella* (96). *L. pneumophila* doit sa virulence supérieure grâce à une combinaison d'effecteurs et de facteurs de virulence mieux adaptés aux macrophages humains par rapport aux espèces *L.* non *pneumophila*. Concernant la virulence, L'espèce la plus proche de *L. pneumophila* est *L. longbeachae*. (97,98).

Cette différence de virulence implique de nombreux autres effecteurs et facteurs de virulence que MIP et le système Dot/Icm qui ne seront pas développés dans cette thèse.

Les espèces *L.* non *pneumophila* infectent les amibes dans leurs environnements mais peinent à provoquer des infections graves chez l'Homme. Les espèces *L.* non *pneumophila* peuvent provoquer la fièvre de Pontiac, avec des cas documentés à *L. feelei*, *L. micdadei*, *L. anisa* et *L. longbeachae*. La majorité des cas de légionellose à *L.* non *pneumophila* sont décrits chez les patients immunodéprimés. Au sein de cette population, la majorité des cas de légionellose sont dues à *L.* non *pneumophila*. Dans la plus grande étude de légionellose chez les patients transplantés d'organe solide, sur les 22 cas de cette étude, 50 % étaient dus à *L. pneumophila* et 50 % à *L.* non *pneumophila* (82).

Les principales espèces de *Legionella* impliquées en en pathologie humaine sont listées dans le tableau ci-dessous (Tableau 3).

Tableau 3 : Principales espèces de *Legionella* (81–83,97–99)

Espèces	Nombres de sérogroupes	Réservoir environnemental	Virulence et implication clinique
L. pneumophila	15-16	Eaux douces naturelles et artificielles (TAR, réseaux d'eau chaude sanitaire, spas, humidificateurs)	Espèce la plus virulence. Le SG1 est responsable de >90 % des cas de légionellose en France
L. longbeachae	2	Sols, terreaux, composts. Peu présente dans l'eau	2ème cause mondiale de légionellose. Fréquemment impliquée en Australie et en Nouvelle-Zélande
L. micdadei	1	Eaux douces naturelles, réseaux d'eau chaudes sanitaires, spas	Légionellose de l'immunodéprimé. Formes extra-pulmonaires avec abcès et infections cutanées. Fièvre de Pontiac
L. bozemanii	2	Eaux douces naturelles, réseaux d'eau chaudes sanitaires	Légionellose de l'immunodéprimé. Formes extra-pulmonaires avec abcès et infections cutanées
L. dumoffii	1	Eaux douces naturelles, réseaux d'eau chaudes sanitaires	Légionellose de l'immunodéprimé. Formes extra-pulmonaires avec abcès et infections cutanées
L. anisa	1	Eaux douces naturelles, réseaux d'eau chaudes sanitaires	Exceptionnellement source de légionellose. Fièvre de Pontiac

Espèces	Nombres de sérogroupes	Réservoir environnemental	Virulence et implication clinique
L. maceachernii	1	Eaux douces naturelles, réseaux d'eau chaudes sanitaires	Légionellose de l'immunodéprimé
L. feeleii	2	Eaux douces naturelles, TAR et réseaux d'eau chaudes sanitaires	Rares cas de légionellose. Fièvre de Pontiac
L. jordanis	1	Eaux douces naturelles et eaux usées	Peu de documentation. Très rares cas de légionellose
L. gormanii	1	Eaux douces naturelles, réseaux d'eau chaudes sanitaires	Très rares cas de légionellose chez l'immunodéprimé
L. sainthelensi	2	Eaux douces naturelles	Rares cas de légionellose sévère chez l'immunodéprimé
L. oakridgensis	1	Eaux douces naturelles, TAR	Très rares cas de légionellose chez l'immunodéprimé

Afin de clôturer cette partie consacrée aux bactéries atypiques responsables de PAC, le tableau ci-dessous présente une synthèse des contextes cliniques évocateurs de légionellose et de PAC à *M. pneumoniae* (Tableau 4).

Tableau 4 : Éléments évocateurs d'une légionellose ou d'une PAC à *M. pneumoniae* selon les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7)

	PAC à *Mycoplasma pneumoniae*	Légionellose
Contexte	Épidémies (familiale, institution) Non-réponse à 48 h–72 h de traitement par bêtalactamine bien conduit	– 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
Terrain	Jeune > âgé	Comorbidités, immunodépression
Clinique	– Progressif : tableau de toux fébrile trainante, signes respiratoires hauts – Signes extra-respiratoires : cutanéomuqueux, digestifs, neurologiques (céphalées), myalgies, arthralgies	– Rapidement progressif (2 à 3 j) – Signes extra-respiratoires : digestifs (douleurs abdominales, diarrhées, vomissements), neurologiques (troubles de conscience, céphalées), myalgies, pouls dissocié
Biologie	Anémie hémolytique, insuffisance rénale	Insuffisance rénale, hyponatrémie, cytolyse, rhabdomyolyse
Radiologie	– Infiltrat non systématisé des deux bases – Syndrome interstitiel micronodulaire centrolobulaire–bronchiolite ± infiltrats alvéolaires	Opacités alvéolaires uni- ou bilatérales

II.4 Épidémiologie des PAC

D'après les nouvelles recommandations de la SPILF (Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française) et de la SPLF (Société de Pneumologie de Langue Française) de 2025, la réalisation de prélèvements nasopharyngés ou respiratoires pour documenter une pneumonie (PCR à la recherche de virus respiratoires, PCR syndromiques, ou par mise en culture au laboratoire) n'est pas recommandée pour les PAC ambulatoires (7). La réalisation d'antigénuries *Legionella* ou pneumocoque dans les cas de PAC ambulatoires n'est pas recommandée non plus. Leur diagnostic se fait grâce à la clinique ou par l'imagerie thoracique quand celle-ci est faisable (radiographie de thorax, échographie pleuropulmonaire, scanner thoracique). Les prélèvements respiratoires et l'antigénurie sont recommandés lorsque les patients atteints de PAC sont hospitalisés (7).

Toutes les différentes méthodes diagnostiques évoquées précédemment seront développées dans la partie diagnostic de cet exposé. Quant aux critères d'hospitalisation des patients atteints de pneumonies, ceux-ci seront développés dans la partie diagnostic et prise en charge des PAC.

L'épidémiologie abordée dans cette partie porte sur les PAC documentées et correspondent donc dans la majorité des cas aux PAC hospitalisées même si certaines méta-analyses citées ici incluent des patients ambulatoires. Parmi les bactéries atypiques développées dans cette thèse, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *C. psittaci* donnent des infections bénignes dans la majorité des cas, spontanément résolutives ne nécessitant pas d'hospitalisation. Un biais est très probable quant à leur impact au sein de l'épidémiologie des PAC, avec une sous-estimation du nombre d'infections dues à ces bactéries atypiques. Ce biais s'explique par l'absence de documentation microbiologique des infections gérées en ambulatoire.

L'identification du pathogène responsable est un enjeu majeur, puisqu'elle permettra une prescription d'antibiotique adéquate quand c'est nécessaire. Dans 30 à 50 % des cas de PAC, aucune documentation microbiologique n'est retrouvée malgré la présence d'images radiologiques évocatrices de pneumonie (100).

II.4.1 Les PAC bactériennes

Une méta-analyse sur les PAC faite en 2020 a regroupé 146 articles pour un total de 82674 patients afin de déterminer les principales étiologies bactériennes de PAC. Parmi les patients inclus, 77 % étaient hospitalisés, 20 % étaient hospitalisés ou ambulatoires et 2,7 % d'entre eux seulement étaient ambulatoires. La figure ci-dessous représente les résultats de cette méta-analyse (Figure 15) (100,101).

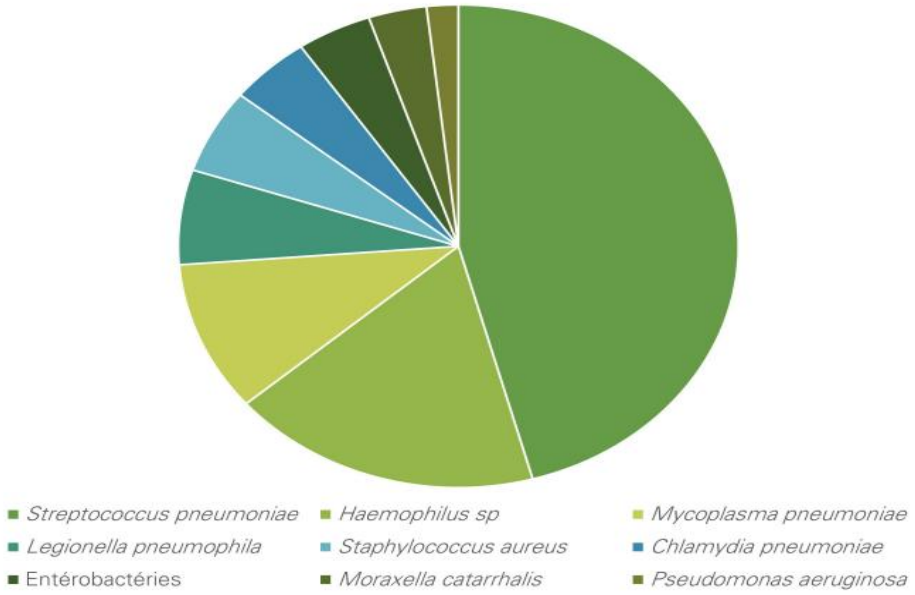


Figure 15 : Principales étiologies bactériennes de PAC d'après Shoar et al., 2020 (101)

La première étiologie infectieuse bactérienne est le *S. pneumoniae*, il représente à lui seul 50 % des PAC hospitalisées (2). Il provoque des infections surtout chez les sujets âgés de plus de 40 ans (102). Son incidence a nettement diminué dans les pays développés notamment grâce à la vaccination antipneumococcique des populations permettant une immunité collective et une réduction jusqu'à 90 % du nombre d'infections invasives à *S. pneumoniae* chez les enfants de moins de 5 ans (103). Le pneumocoque est responsable de 30 à 45 % des pneumonies aigües communautaires en Europe, contre 15 % aux États-Unis, où le taux de vaccination antipneumococcique est plus important (47).

M. pneumoniae et *C. pneumoniae* sont les 2 pathogènes bactériens les plus souvent retrouvés dans les PAC non sévères prises en charge en ambulatoire. Ces deux pathogènes sont à évoquer surtout dans des contextes épidémiques (2).

D'après une étude internationale publiée dans Eurosurveillance, *M. pneumoniae* était responsable de 8,6 % des infections respiratoires entre 2017 et 2020 pour les patients chez qui sa recherche avait été demandée. Ces patients étaient des enfants et des adultes, et correspondaient à des patients ambulatoires et/ou hospitalisés (104). *M. pneumoniae* affecte particulièrement les enfants âgés de 5 à 15 ans en milieu scolaire, et les jeunes adultes. Des études estiment que *M. pneumoniae* est responsable aux alentours de 15 à 20 % des cas de PAC, et jusqu'à 40 % chez les enfants (46).

M. pneumoniae demeure le 2ème agent des pneumonies aigües communautaires hospitalisées chez les personnes âgées après le *S. pneumoniae*. Les épidémies dues à *M. pneumoniae* arrivent de manière cyclique, tous les 3-5 ans. Comme mentionné plus tôt dans cet exposé, ce caractère cyclique est dû à la diminution de l'immunité collective au cours du temps et à l'apparition de nouveaux variants de l'adhésine P1 de *M. pneumoniae* (43).

L'implication de *C. pneumoniae* au sein de l'épidémiologie des infections respiratoires est largement sous-estimée. Selon certaines études, *C. pneumoniae* serait responsable jusqu'à 10 % des PAC (62,67).

Chez les patients de réanimation, *S. pneumoniae* et *L. pneumophila* sont les 2 agents les plus fréquemment retrouvés dans les cas de PAC graves (2). L'épidémiologie propre à la légionellose sera développée juste après.

Comme pour *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae*, les données épidémiologiques des infections à *C. psittaci* sont sûrement sous-estimées. D'après une méta-analyse de 2017 incluant 57 études de minimum 100 patients (Europe, Afrique, Océanie, Amérique du Nord, Amérique du Sud et Asie), *C. psittac*i serait responsable d'1 % des PAC dans le monde (105). La psittacose est depuis 1988 une maladie professionnelle pour les personnes travaillant dans les élevages avicoles (106). 75 % des patients atteints de PAC à *C. psittaci* sont des hommes. Ce pourcentage élevé d'homme atteint est surement dû au fait que la majorité des travailleurs du milieu avicole sont des hommes. En février 2024, l'Autriche, le Danemark, l'Allemagne, la Suède et les Pays-Bas ont signalé une augmentation du nombre de cas de psittacoses sur leurs territoires entre 2023 et début 2024. La plupart des cas retrouvaient une exposition à des oiseaux sauvages ou domestiques (54).

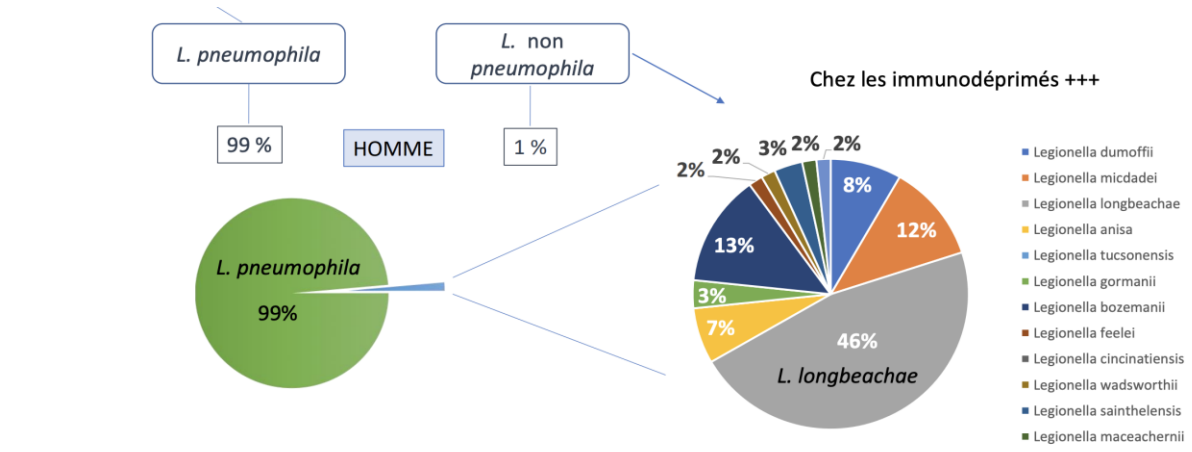
II.4.2 Focus sur l'épidémiologie de la légionellose

La légionellose est une infection à caractère saisonnier, dont l'incidence augmente entre juin et octobre avec la chaleur (92). Également, le nombre de cas de légionellose augmente d'années en années en Europe, passant de 5367 cas par an en 2005, à 15267 cas par an en 2024 (107,108).

Certains facteurs météorologiques peuvent favoriser la survenue de cas de légionellose comme l'augmentation de la température moyenne, le taux de précipitation et d'humidité, la pression partielle de vapeur. Ces facteurs pourraient jouer un rôle clé dans la survie et la dissémination de *Legionella* sous forme d'aérosol. Pour certains auteurs, il existerait une association entre le réchauffement climatique et l'augmentation des taux d'incidence de la maladie (81). L'augmentation du nombre de cas de légionellose est aussi due au vieillissement de la population mais également à l'augmentation de l'utilisation d'immunosuppresseurs avec une population de plus en plus immunodéprimée (109).

En France en 2024, 1939 cas de légionellose ont été déclarés à Santé Publique France. Ce nombre est similaire à celui de 2022, et 12 % plus bas qu'en 2023. Deux régions ont un nombre de cas déclarés plus important chaque année : Provence-Alpes-Côte d'Azur et Rhône-Alpes avec une incidence respectivement de 3,9 cas et 3,8 cas pour 100 000 habitants (110).
Les épidémies sont rares, avec une grande majorité des cas étant sporadiques. En France, la plus importante épidémie a eu lieu dans le Pas-de-Calais en hiver 2003, avec 90 cas répertoriés pour 17 décès. Le renforcement de la surveillance a permis d'identifier l'origine de cette épidémie qui était une tour de refroidissement (111). Plus récemment en septembre 2025, la 2ème plus grosse épidémie de légionellose en France a eu lieu à Albertville avec 50 cas déclarés, faisant 2 morts (112).
Les cas déclarés de légionelloses sont d'acquisition communautaires pour 90 % d'entre eux, tandis que les 10 % restants sont d'acquisition nosocomiales. Ces cas nosocomiaux sont principalement dus aux circuits d'eau chaude sanitaire utilisés à l'hôpital lors de la douche ou l'utilisation de l'évier (81).

D'après le CNR *Legionella* basé à Lyon, en France entre 2012 et 2019 sur les 4336 souches cliniques reçues pendant cette période, 99 % de leurs souches étaient des *L. pneumophila*. *L. longbeachae* est l'espèce la plus retrouvée parmi les *L.* non *pneumophila*, représentant 46 % des autres espèces (Figure 16) (81).



Données CNR, souches cliniques de 2012 à 2019, N=4336

Figure 16 : Données des 4336 souches cliniques de *Legionella* reçues par le CNR entre 2012 et 2019 d'après Jarraud S., 2025 (81)

D'autres chiffres disponibles sont en accord avec ceux présentés précédemment. D'après le rapport d'activité du CNR *Legionella* de 2024, sur les 590 souches cliniques reçues cette année-là, 579 (98,1 %) étaient des *L. pneumophila* dont 529 de sérogroupe 1. Les sérogroupes 2 à 16 de *L. pneumophila* représentaient 50 des 590 souches cliniques reçues par le CNR en 2024 soit 8,4 %. Parmi les 11 souches restantes reçues, 8 étaient des *L. longbeachae*, 1 *L. anisa*, 1 *L. micdadei* et 1 *L. bozemanii* (94).

Le diagnostic de légionellose se fait dans 90 % des cas par l'antigénurie urinaire (110). Cette méthode ne recherchant que le sérogroupe 1 de *L. pneumophila*, il est donc possible de passer à côté d'une infection pulmonaire chez un patient à *L. pneumophila* d'autres sérogroupes ou par *L.* non *pneumophila* (Figure 17).

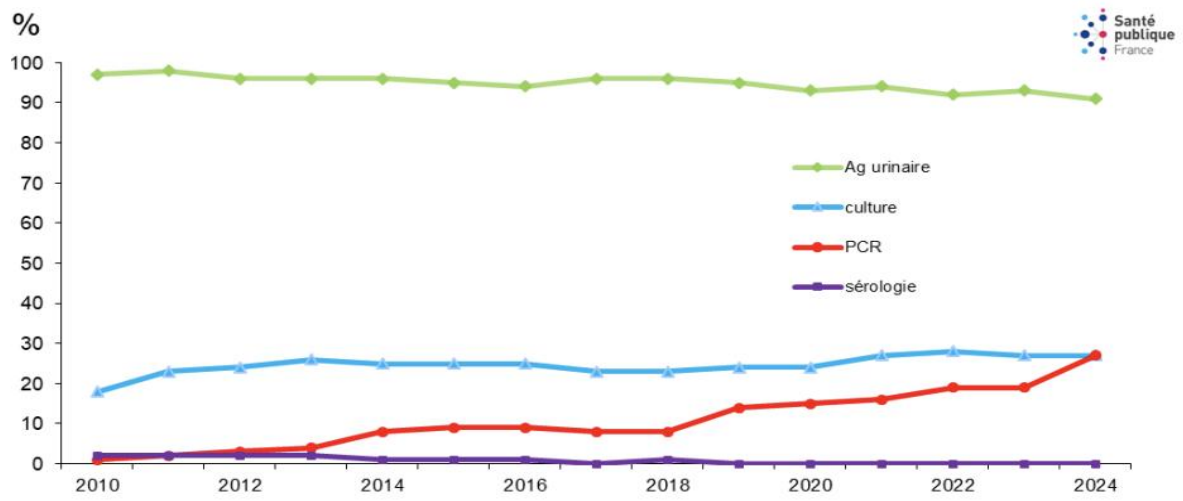


Figure 17 : Répartition des méthodes diagnostiques des cas de légionellose déclarés en France de 2010 à 2024 selon Santé Publique France (113)

Ces données épidémiologiques des espèces responsables de la légionellose sont donc biaisées par le fait que le diagnostic est fondé dans la grande majorité des cas sur l'antigénurie. Avec l'utilisation de plus en plus fréquente de la PCR en première intention ces dernières années en complément de l'antigénurie, ces chiffres peuvent être amenés à changer (94).

Les espèces de *L.* non *pneumophila* sont identifiées soit après culture positive sur prélèvements respiratoires, soit après envoi des prélèvements au CNR pour expertise et identification. La charge des infections à *L.* non *pneumophila* est compliquée à estimer au sein de l'épidémiologie des PAC. L'utilisation massive de l'antigénurie mais également le fait que *L.* non *pneumophila* soient sources de formes légères à modérées, font qu'une grande partie des infections demeurent non documentées (114).

En population générale, *L. longbeachae* est responsable d'environ 30 % des cas de légionellose en Australie, Nouvelle-Zélande, Nouvelle Calédonie (115). En Thaïlande, sur 556 cas de PAC en population générale, 5% étaient dus à *L. longbeachae* (48). Entre 2015 et 2016, une étude portant sur 197 cas de légionelloses en Nouvelle-Zélande a montré que 63% de ces infections étaient dues à *L. longbeachae* (99).

D'après les rapports d'activité du CNR, *L. longbeachae*, *L. micdadei* et *L. bozemanii* semblent être les espèces de *L.* non *pneumophila* les plus impliquées en pathologies humaines (81,83).

II.4.3 Les PAC virales

Grâce à l'avènement des techniques de PCR multiplex, la documentation par biologie moléculaire des infections respiratoires basses a permis de mettre en lumière l'importance des virus au sein des étiologies de PAC.

Le Réseau National des Laboratoires des Centres Hospitaliers (RENAL), fondé en 1990, regroupe 35 centres hospitaliers français et fournit toute l'année les données des infections virales respiratoires des patients hospitalisés. Le réseau RELAB, composé de laboratoires de biologie médicale, permet lui d'obtenir les étiologies des infections respiratoires virales communautaires (116,117). Grâce à ces deux réseaux, le CNR des virus des infections respiratoires (Hospices civils de Lyon et l'Institut Pasteur de Paris) obtient, semaines après semaines, les chiffres précis de la dynamique épidémique des virus respiratoires en France. L'épidémiologie des infections respiratoires virales est fortement conditionnée par le caractère saisonnier de ces infections virales respiratoires, responsables d'épidémies lors de périodes de l'année bien spécifiques pour chaque virus. Cette épidémiologie obtenue par les deux réseaux RENAL et RELAB est illustrée, semaines après semaines, dans les deux figures ci-dessous (Figures 18-19).

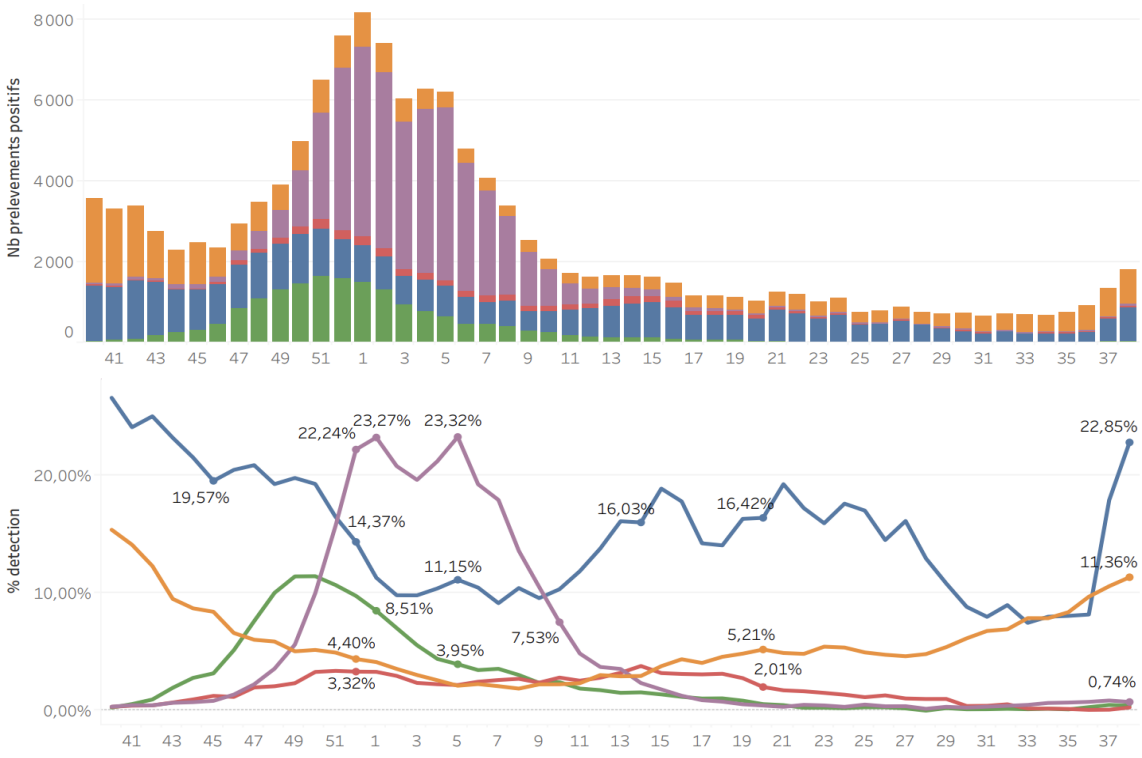


Figure 18 : Épidémiologie issue du réseau de surveillance RENAL 2024-2025 (117)

En violet = virus de la grippe, en vert = VRS, en orange = Covid-19, en bleu = rhinovirus, en rouge = métapneumovirus.

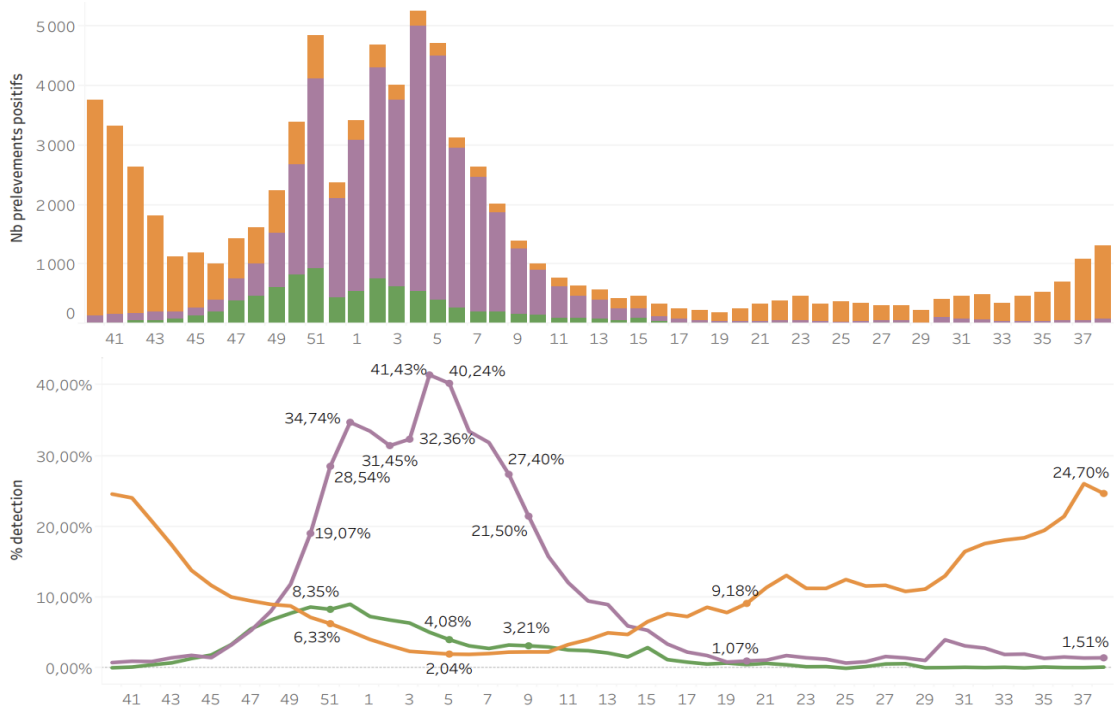


Figure 19 : Épidémiologie issue du réseau de surveillance RELAB 2024-2025 (117)

En violet = virus de la grippe, en vert = VRS, en orange = Covid-19.

Ces virus sont tous à transmission respiratoire interhumaine. Les PAC virales associent souvent des signes respiratoires et un syndrome grippal (fièvre, asthénie, myalgies, céphalées…). Au sein des PAC hospitalisées, des virus sont retrouvés chez 25 à 50 % des patients, avec une prédominance des virus influenza, le virus respiratoire syncitial, le métapneumovirus et les virus parainfluenza (2).
Le fait d'identifier un virus par PCR ne doit pas pour autant éliminer la présence d'une bactérie, ou entraîner la suspension de l'antibiothérapie probabiliste puisque les co-infections bactéries/virus sont fréquentes (101). Selon certaines études, ces co-infections peuvent atteindre 25% des cas diagnostiqués de PAC (118).

II.4.4 Focus sur l'impact du SARS-COV2 sur l'épidémiologie

À la mi-décembre 2019, le premier foyer d'infection du SARS-CoV2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) ou Covid-19 est apparu à Wuhan en Chine, se répandant ensuite au monde entier sous forme de pandémie, atteignant la France fin janvier. Pour freiner la propagation exponentielle du virus en Europe et en France, un confinement national est décrété le 17 mars jusqu'au 11 mai 2020. Le 25 mars 2020, 205 000 cas de Covid-19 et 11 810 décès avaient été déclarés au sein de l'Union Européenne (119), avant de croître de manière exponentielle pour atteindre 988 000 cas pour 105 000 décès (120). S'en sont suivies deux autres périodes de confinement sur le territoire français : du 30 octobre 2020 au 15 décembre 2020, puis du 3 avril au 3 mai 2021. Grâce à ces mesures de confinement couplées à d'autres mesures comme le port du masque, une hygiène renforcée des mains et la distanciation sociale, la circulation des pathogènes responsables de pneumonie a drastiquement diminué.

À partir de mars 2020, la mise en place des mesures de lutte contre le Covid-19 a entraîné une chute brutale des détections de *M. pneumoniae* de manière uniforme dans les 21 pays de cette étude, passant de 8,6 % à 1,7 % entre 2020 et 2021. Contrairement à d'autres pathogènes respiratoires comme le virus de la grippe ou le VRS qui sont réapparus rapidement dès la levée partielle des restrictions, *M. pneumoniae* est resté à des niveaux quasi indétectables tout au long de l'année 2021. Cette disparition durable de *M. pneumoniae* au sein de l'épidémiologie des PAC pourrait s'expliquer par sa faible contagiosité et sa longue période d'incubation (104).

Fin 2023 et début 2024, une épidémie de *M. pneumoniae* a eu lieu en Europe, en Chine et aux Etats-Unis ayant un impact en ville comme à l'hôpital. L'étude française MYCADO menée dans 74 hôpitaux français a inclus 1309 patients de plus de 15 ans et 3 mois avec une infection confirmée à *M. pneumoniae* entre septembre 2023 et février 2024. L'âge moyen de ces 1309 patients étaient de 43 ans, montrant que toutes les tranches d'âge ont été impactées par cette épidémie. Parmi les patients inclus, 65 % d'entre eux avaient des images de condensations alvéolaires, inhabituelles pour les infections à *M. pneumoniae*. Habituellement d'allures interstitielles, ces images pulmonaires montrent une gravité plus importante des infections, des atteintes respiratoires chez les patients au cours de cette épidémie avec 31,7 % des patients admis en unité de soins intensifs. Cette épidémie est due à la reprise de la circulation de cette bactérie et à la baisse de l'immunité collective (32).

Comme *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* a presque totalement disparu de l'épidémiologie européenne et taïwanaise des infections respiratoires communautaires, entre les années 2020 et 2022. Les différentes mesures de lutte contre le Covid-19 ont brutalement diminué sa transmission et, malgré les levées partielles des restrictions, *C. pneumoniae* était quasi indétectable jusqu'à fin 2022. Une nouvelle transmission et circulation *C. pneumoniae* a été détectée 2023 avec un taux d'infection cependant inférieur à la période pré-Covid. Les auteurs évoquent aussi l'hypothèse d'une diminution de l'immunité collective entre 2020 et 2023, pouvant expliquer un rebond important du nombre d'infections, surtout chez les enfants (Figure 20) (68).

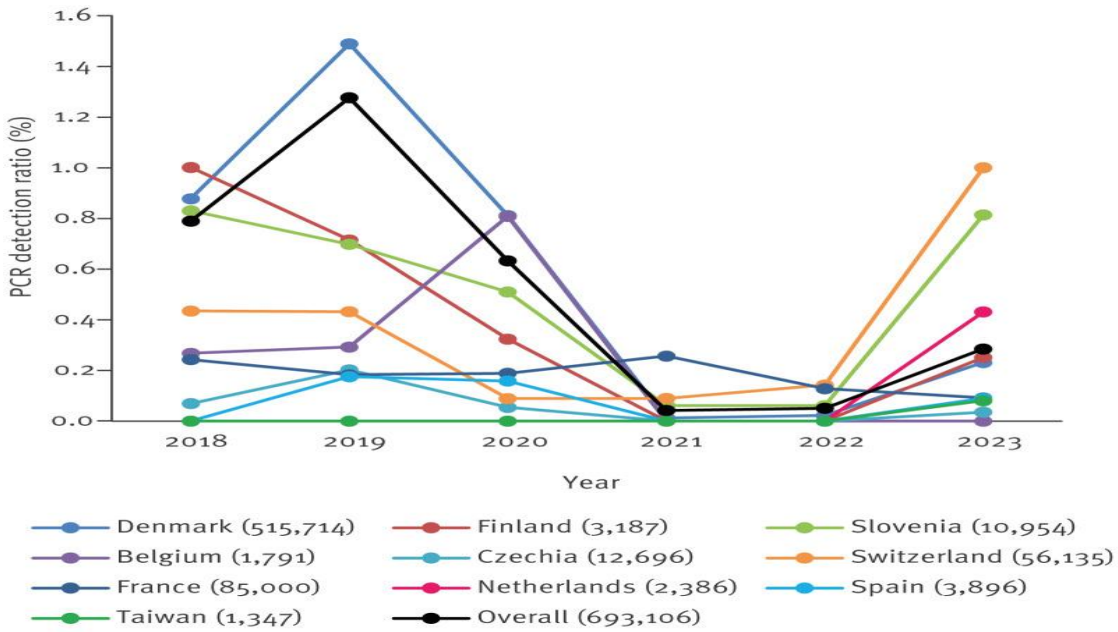


Figure 20 : Détection annuelle par PCR de *C. pneumoniae* en Europe et Taiwan entre 2018-2023 d'après Tagini et al, 2025 (68)

La légionellose a également été impactée par la pandémie Covid-19. L'année 2020 avec 1233 cas déclarés est l'année avec le moins de cas déclarés depuis 2016 (1218 cas). Les années 2019 et 2021 recensaient respectivement 1816 et 2060 cas déclarés de légionellose d'après Santé Publique France (113).

II.4.5 Autres étiologies

Pour les pneumonies nosocomiales, se déclarant chez les patients après 48h d'hospitalisation, les étiologies infectieuses sont très différentes des pneumonies communautaires, impliquant des bacilles à Gram négatif non fermentants (comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii complex*, *Stenotrophomonas maltophilia*), *S. aureus*, les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp *Proteus* spp,…), et plus rarement des étiologies communautaires comme *S. pneumoniae* et *H. influenzae*. Les bactéries atypiques sont peu fréquentes dans l'épidémiologie des pneumonies infectieuses nosocomiales (121).

Concernant les pneumonies associées aux soins, tout particulièrement chez le patient immunodéprimé, des pathogènes opportunistes peuvent être sources d'infections comme *Aspergillus* spp, *Pneumocystis jirovecii*, ou des mycobactéries atypiques (1).

Des étiologies non infectieuses peuvent mimer une pneumonie infectieuse tant sur le plan clinique que radiologique. Elles sont nombreuses et d'étiologies très variées comme les pneumopathies d'hypersensibilité après exposition à un ou plusieurs antigènes (oiseaux, moisissures, …), les pneumonies interstitielles idiopathiques, les maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde, lupus, sclérodermie, …), la sarcoïdose avec des infiltrats diffus. Ces pneumonies non infectieuses peuvent également être d'origine médicamenteuses comme l'amiodarone ou le méthotrexate, mais également à la suite à une prolifération de polynucléaires éosinophiles dans les poumons (daptomycine, …), après à l'inhalation de substances irritantes pour les poumons, ou un cancer pulmonaire. Deux épisodes de pneumonies dans le même territoire doivent faire évoquer un cancer pulmonaire sous-jacent (122).
Toutes ces étiologies ne sont pas parties de l'exposé, ne seront pas développées par la suite.

II.5 Diagnostic et prise en charge des PAC à bactéries atypiques

Afin d'optimiser la prise en charge des patients atteints de PAC, certains critères permettent de décider quels patients nécessitent une hospitalisation. Ces critères illustrés dans la figure ci-dessous datent de 2010 et ont été établis par la SPLF et la SPILF. (102). Ils n'ont pas été modifiés lors des nouvelles recommandations de prise en charge d'une PAC publiées en 2025 (123). Grâce à ces critères, le clinicien peut déterminer si une hospitalisation est nécessaire ou si une prise en charge ambulatoire est suffisante (Figure 21).

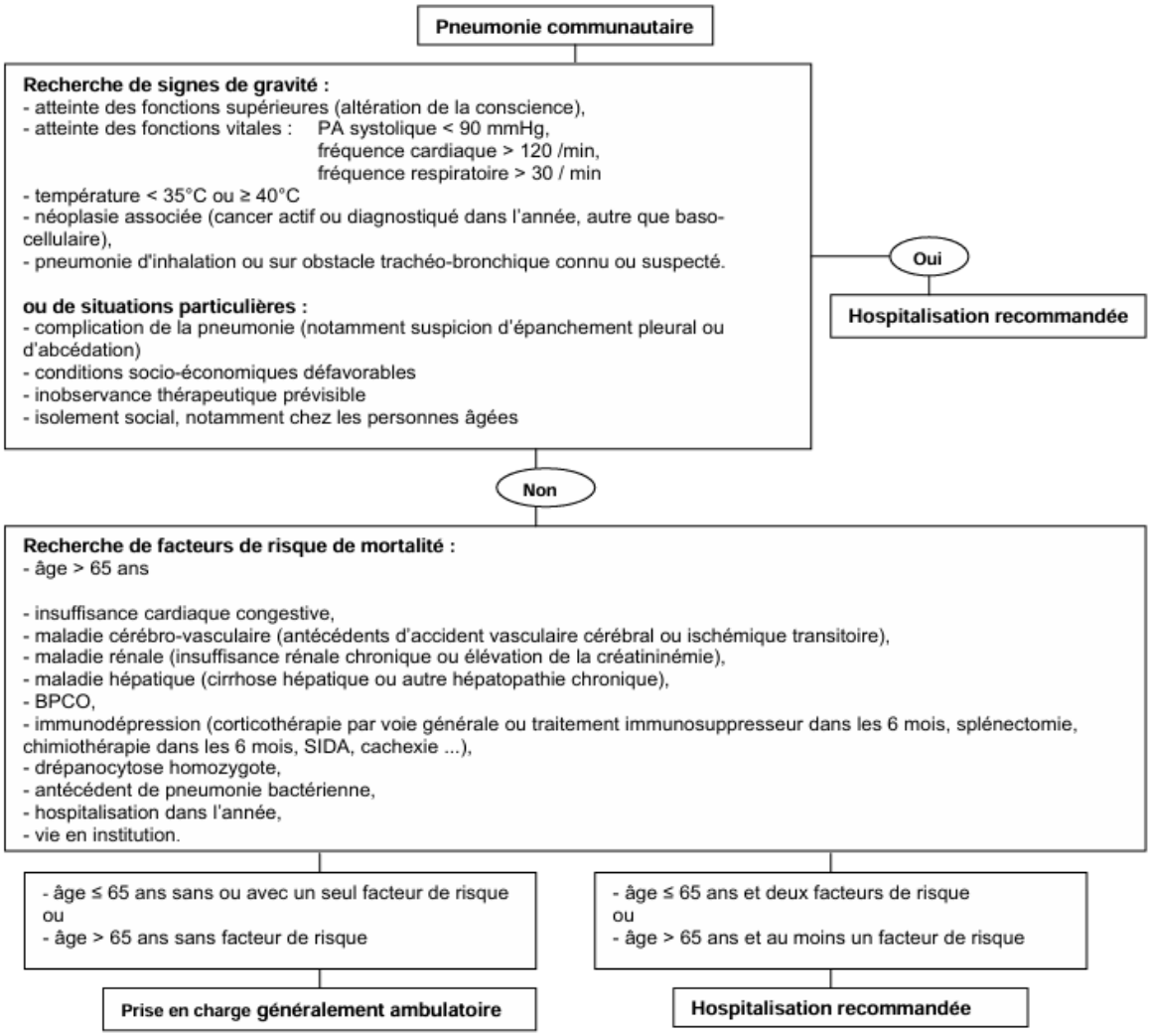


Figure 21 : Algorithme décisionnel pour une prise en charge ambulatoire ou hospitalière d'une PAC d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2010 (123)

Afin de mieux identifier les cas graves de PAC, les critères de gravité ont été modifiés depuis les recommandations de 2010. Pour être catégorisée comme PAC grave, il faut la présence chez le patient d'un critère grave, ou la présence de 3 critères mineurs. Ces critères sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 5).

Tableau 5 : Définition d'une pneumonie aigüe grave d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7)

Tableau 1 Définition d'une pneumonie aiguë grave si présence d'un critère majeur ou d'au moins 3 critères mineurs (selon ATS/IDSA) [86—90,131].

Critères majeurs	Choc septique
	Détresse respiratoire nécessitant recours à la ventilation mécanique
Critères mineurs	Fréquence respiratoire ≥ 30 cycles/min
	$PaO_2/FIO_2 \leq 250$*
	Infiltrats multilobaires (*i.e.*, ≥ 2)
	Confusion/désorientation
	Urée plasmatique ≥ 7,14 mmol/L
	Leucopénie (leucocytes < 4 000/mm^3)†
	Thrombocytopénie (plaquettes < 100 000/mm^3)
	Hypothermie (température corporelle < 36 °C)
	Hypotension nécessitant une expansion volémique

* (FiO_2 estimée par la formule : $FiO_2 = 0,21 + 0,03 \times$ débit O_2 (L/min) [132].
† Due à l'infection seule (*i.e.*, pas la chimiothérapie anticancéreuse).

Afin de faciliter l'utilisation de l'algorithme décisionnel élaboré en 2010 pour orienter la décision d'hospitaliser ou non le patient, le score CRB-65 a été créé et repose uniquement sur quatre critères de gravité, ce qui le rend plus simple à utiliser en médecine de ville (Tableau 6).

Tableau 6 : Score 65 d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2010 (123)

Critères du score CRB 65	**Conduite à tenir**
C : Confusion **R** : Fréquence respiratoire ≥ 30 / mn **B** : Pression artérielle systolique < 90 mmHg ou Pression artérielle diastolique ≤ 60 mmHg **65** : Age* ≥ 65 ans	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 comorbidité - est à prendre en compte	

De ce choix d'hospitaliser ou non le patient, vont découler des examens paracliniques et diagnostiques pour une meilleure prise en charge des cas graves ou à risque de complications.

II.5.1 Diagnostic

Le diagnostic des PAC se fait grâce à la combinaison de symptômes respiratoires (toux, fièvre, douleur, crachats) associés à une imagerie pulmonaire systématiquement réalisée pour le diagnostic d'une pneumonie. La réalisation de prélèvements respiratoires est indispensable pour l'identification du pathogène. Cette identification se fait grâce à l'examen direct fait sur le prélèvement, sa mise en culture au laboratoire de microbiologie, mais également l'utilisation de kits de PCR spécifiques. La réalisation d'antigénuries est possible, tout comme l'utilisation de la sérologie sur sérum.

Dans un premier temps, je détaillerai l'imagerie pulmonaire, puis les méthodes d'antigénuries *L. pneumophila* de sérogroupe 1, puis les prélèvements respiratoires avec les différents kits de PCR pouvant être réalisés sur ceux-ci avant d'aborder de la place de la sérologie comme outil diagnostic.

II.5.1.1 Imageries thoraciques

L'échographie pleuropulmonaire ou la radiographie pulmonaire sont recommandées pour le diagnostic des PAC. Elles peuvent être réalisées en première intention en ambulatoire comme à l'hôpital. Elles sont recommandées dans les 24h et maximum jusqu'à 3 jours, mais ne doivent pas retarder le début de l'antibiothérapie (102). Si l'imagerie n'a pas été réalisée au début de la prise en charge de la PAC, elle peut être réalisée à 72h en cas d'évolution défavorable (7).
En ambulatoire, il n'est pas recommandé d'utiliser le scanner thoracique en première intention. Dans les PAC hospitalisées, le scanner est réalisé après une radiographie ou une échographie si un doute diagnostic persiste après l'évaluation de la première imagerie thoracique (7).

II.5.1.2 Antigénurie *L. pneumophila*

Comme mentionné plus tôt dans cet exposé, plus de 90 % des cas de légionellose sont diagnostiqués par antigénurie (112). Indiquée chez les patients hospitalisés en cas de contexte évocateur de légionellose ou chez les patients graves, c'est l'examen

de première intention pour diagnostiquer la légionellose. Il peut aussi être couplée à l'antigénurie pneumocoque pour les patients hospitalisés graves (7).

Disponible en France depuis 1996, l'antigénurie est un test immuno-chromatographique conçu pour détecter spécifiquement le LPS du sérogroupe 1 de *L. pneumophila*. L'antigène LPS peut être détectée de façon précoce avec une positivité de l'antigénurie au bout de 2 à 3 jours. Sa sensibilité est meilleure dans les formes graves (88 à 100 %) que dans les formes peu sévères (40 à 53 %), en lien avec la quantité plus importante de LPS excrétée dans les urines chez les patients graves Cette antigénurie peut être transitoire, ou rester positive moins de 2 mois. Chez l'immunodéprimé, la positivité de l'antigénurie peut être prolongée jusqu'à 1 an (83).

On peut augmenter sa sensibilité en ultracentrifugeant les urines, mais également par l'utilisation de lecteur optique pour les tests immuno-chromatographiques. Ces deux méthodes donnent d'aussi bons résultats, mais la seconde permet de s'affranchir de l'étape de centrifugation et est très répandue dans les laboratoires de biologie médicale.

Le CNR *Legionella* affirme une meilleure sensibilité de l'antigénurie pour la détection de *L. pneumophila* de sérogroupe 1 par rapport à la PCR sur prélèvements respiratoires profonds, en raison de l'accumulation du LPS dans les urines (83). L'antigénurie a une sensibilité inférieure pour les souches nosocomiales de *L. pneumophila* de sérogroupe 1 par rapport aux souches communautaires (81), (83).

La spécificité de l'antigénurie *Legionella* est de 96-99 % selon les études et les données du CNR (83). Quelques faux positifs ont été identifiés dont l'utilisation de sérum anti-lymphocytaire de lapin. Cependant le CNR confirme l'absence de faux positifs après chauffage et centrifugation (81,82). Pour éviter de rendre un résultat faussement positif, il est recommandé de chauffer 1 mL d'urine à 95°C pendant 5 minutes avant de centrifuger (15 minutes à 1000g) et de refaire l'antigénurie une deuxième fois sur le surnageant. Ce chauffage permet de dégrader les protéines ou anticorps responsables des réactions faussement positives, sans dégrader le LPS qui est thermostable. Si le résultat après chauffage revient négatif, l'antigénurie *Legionella* est à considérer comme négative.

Pour poser le diagnostic d'infection à *L. pneumophila* de sérogroupe 1, la sensibilité de l'antigénurie est meilleure que la détection par PCR sur prélèvements respiratoires,

à l'exception des souches nosocomiales. La PCR sur prélèvements respiratoires est plus sensible pour les autres sérogroupes de *L. pneumophila* et pour *L.* non *pneumophila*. Dans certains cas, les LPS des autres sérogroupes peuvent parfois être détectés à cause de réactions croisées mais la sensibilité de leur détection est insuffisante pour en faire une méthode diagnostic fiable (83).

L'excrétion urinaire du LPS de *L. pneumophila* de sérogroupe 1 est intermittente. Le CNR recommande de changer de méthode diagnostique et d'utiliser les PCR sur prélèvements respiratoires plutôt que de refaire une antigénurie si le diagnostic de légionellose est toujours évoqué (83).

II.5.1.3 Prélèvements respiratoires

D'après les nouvelles recommandations de 2025, ces prélèvements sont indiqués uniquement chez les patients hospitalisés (100). Dans le cadre du diagnostic de PAC à bactéries atypiques, ils sont réalisés pour faire de la biologie moléculaire ou pour ensemencer des milieux de culture spécifiques à la recherche de *Legionella*. Pour les patients pris en charge en ambulatoire, ils ne sont donc pas recommandés.

II.5.1.3.1 Écouvillons et aspirations nasopharyngés

L'écouvillonnage nasopharyngé consiste à prélever des sécrétions et des cellules du nasopharynx à l'aide d'un écouvillon stérile et flexible. L'écouvillon est accompagné d'un milieu de transport M4RT (Multi-Microbe / Room Temperature) maintenant la viabilité des virus, *Chlamydia* et *Mycoplasma*. Un écouvillon VCM (Virus, *Chlamydia*, *Mycoplasma*) accompagné d'un milieu de transport peut aussi être utilisé pour ces prélèvements (124,125). Il est réalisé dans le but de détecter des infections respiratoires grâce à la biologie moléculaire.
C'est le prélèvement de référence pour la recherche de virus respiratoires et des bactéries atypiques comme *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *C. psittaci*. Ces prélèvements sont adéquats vu le caractère diffus de l'infection. En pédiatrie, des aspirations nasopharyngées peuvent être réalisées. Pour le diagnostic de légionellose, la recherche de *Legionella* par PCR n'est pas recommandée sur ces prélèvements au vue de sa sensibilité plus faible (7).

II.5.1.3.2 Prélèvements respiratoires profonds et milieux de culture

Les crachats ou expectorations sont des prélèvements non invasifs dont la valeur diagnostique peut diminuer due à un pourcentage important de contamination salivaire des prélèvements estimé à 50 % et une antibiothérapie préalable. Sa qualité est évaluée grâce au score de Murray, en fonction de la quantité de cellules épithéliales et de macrophages alvéolaires (100). Sa sensibilité et sa spécificité sont fortement influencées par la gravité clinique de la pneumonie. Il doit être recueilli à jeun, après un lavage bucco-dentaire, et lors d'un effort de toux ou d'un massage de kinésithérapie respiratoire. Son seuil significatif de culture est de 10^7 UFC/mL (126).

L'aspiration trachéale est un prélèvement réalisé chez les patients intubés qui ne peuvent pas expectorer ou chez lesquels les méthodes invasives sont contre-indiquées. C'est un prélèvement fréquemment réalisé en réanimation via la sonde d'intubation. Comme les crachats, l'aspiration peut être contaminé par la flore commensale. Son seuil significatif de culture est de 10^5 UFC/mL (127).

Le lavage bronchoalvéolaire est un prélèvement invasif réalisé sous endoscopie respiratoire. Un volume de 50 mL de sérum physiologique est injecté puis récupéré par aspiration permettant une exploration des bronchioles et des alvéoles d'une importante portion du parenchyme pulmonaire. On peut également réaliser un mini-LBA en injectant seulement 20 mL de sérum physiologique chez les patients instables. Le seuil significatif du LBA est de 10^4 UFC/mL (127).

D'autres prélèvements peuvent être réalisés comme un brossage télescopique protégé sous fibroscopie, ou un prélèvement bronchique distal protégé (PBDP) sans fibroscopie. Ils ont un seuil significatif de culture de 10^3 UFC/mL (127).

Ces différents seuils de significativité facilitent la différenciation entre colonisation et infection pour certains pathogènes, pouvant être commensaux de l'oropharynx ou responsables de PAC comme *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus*, ou *M. cattarhalis*. Le recueil de ces prélèvements doit se faire dans un pot stérile. Ils doivent être acheminés rapidement au laboratoire, idéalement en moins de 2 heures (127).

En laboratoire, *Legionella* nécessite l'utilisation de milieux spécifiques afin d'obtenir une culture positive. Le CNR recommande l'utilisation de plusieurs milieux dont le Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) supplémenté avec 0,1 % d'alpha-cétoglutarate. Ce milieu est riche en fer et en cystéine qui sont indispensables à la

croissance de *Legionella*. En cas de prélèvement respiratoire contaminé par la salive, le CNR suggère d'utiliser un milieu BMPA, qui correspond à un milieu BCYE additionné d'antibiotiques pour inhiber la croissance d'autres bactéries comme la céfamandole, polymycine B et anisomycine. Le milieu MWY est également recommandé par le CNR : c'est un milieu BCYE additionné de glycine, polymycine B, anisomycine et vancomycine. Le milieu GVPC a été développé pour les prélèvements environnementaux d'eau et correspond à un milieu BCYE avec alpha-cétoglutarate, glycine, cycloheximide, vancomycine et polymycine B.

Le CNR préconise l'ensemencement de 100 à 200 µL de prélèvement « au râteau » sur un milieu BCYE et sur un milieu avec antibiotique (BMPA, MWY ou GPVC) pour chaque demande de recherche de légionelles. Ces milieux doivent être incubés à 35°C en aérobiose pendant 10 jours en atmosphère humide pour éviter le dessèchement des milieux de culture. Un pourcentage de 5% de CO_2 inhibe la croissance des légionelles. Les colonies bactériennes obtenues sont petites, avec un aspect de « verre fritté » à la loupe binoculaire (Figure 22).

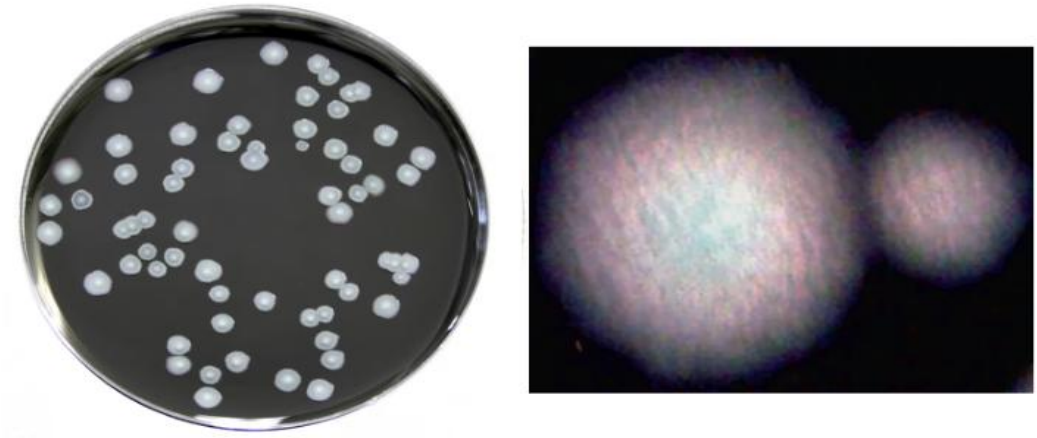


Figure 22 : *Legionella* sur gélose BCYE d'après Thermo Fisher et AEMIP (128,129)

À gauche, petites colonies blanches de Legionella sur milieu BCYE. À droite, aspect verre fritté des colonies de Legionella à la loupe binoculaire.

La sensibilité de la culture est estimée entre 50 et 60 %, avec une meilleure sensibilité de l'aspiration bronchique par rapport au LBA et l'expectoration. À J3 d'incubation, 49% des cultures sont positives à J3. Pour *L. pneumophila* de sérogroupe 1, 95 % des cultures sont positives à J5. À J10, 100% des cultures seront positives pour *Legionella* spp même pour les espèces à croissance plus lente. La culture peut être positive

malgré la mise en place d'une antibiothérapie ciblant les bactéries atypiques, avec une positivité jusqu'à 30 jours après dans les cas sévères. L'identification de l'espèce à partir des colonies se fait par l'utilisation de la spectrométrie de masse MALDI-TOF, qui est très performante pour identifier *L. pneumophila* et les espèces de *L.* non *pneumophila*. C'est également à partir des colonies que peut être fait la séro-agglutination pour identifier le sérogroupe de *L. pneumophila* (83).
25 % des cas de légionellose ont une culture positive pour l'envoi au CNR de la souche pour les études épidémiologiques (83). Cependant, le laboratoire peut directement envoyer les prélèvements respiratoires au CNR afin que celui réalise la culture sur milieux spécifiques, puis l'étude la souche par séquençage.

II.5.1.4 Polymerase Chaine Reaction

La PCR est une technique permettant de dupliquer un fragment d'ADN ou d'ARN pour obtenir des milliards de copies identiques à partir d'un échantillon grâce à des cycles de PCR. Ces produits d'amplification sont ensuite détectés afin de rendre un résultat qualitatif ou quantitatif au clinicien. Une PCR qualitative détecte la présence ou l'absence d'une cible rendant un résultat positif ou négatif pour un échantillon. La PCR quantitative mesure en temps réel la quantité exacte d'ADN ou d 'ARN présente dans un échantillon souvent exprimée en nombre de copies par millilitre grâce à l'utilisation d'une gamme de calibration. La recherche de génomes microbiens peut se faire à partir de tous les liquides ou tissus biologiques avec nécessité de prétraitement pour certains types d'échantillons.
Deux méthodes de détection des produits d'amplification sont possibles : la méthode en point final et la méthode en temps réel. La méthode en point final permet une évaluation qualitative uniquement. La PCR en temps réel est devenue la méthode de référence pour la détection des virus respiratoires et des bactéries atypiques, grâce son excellente sensibilité et spécificité. Elle permet l'obtention de résultats fiables et rapides. Après une première étape d'extraction des acides nucléique à partir de l'échantillon, l'identification de l'agent infectieux par PCR se fait par amplification et détection d'une séquence génétique spécifique de celui-ci. Un cycle de PCR est composé 3 étapes se répétant à la suite : la dénaturation de l'ADN à 95-96°C, l'hybridation des amorces spécifiques à 68°C et l'élongation des séquences grâce à une ADN polymérase à 72°C. À partir d'un brin d'ADN après n cycles, nous aurons 2^n

molécules d'ADN. Grâce à l'utilisation de fluorophores, la détection des prélèvements positifs par PCR se fait par fluorescence. L'intérêt de la PCR temps réel est l'obtention du « Cycle Threshold » ou cycle seuil (Ct). Ce Ct correspond au nombre de cycles de PCR nécessaires pour que la fluorescence dépasse le seuil de détection et que le résultat soit interprété comme positif.

Les différents kits PCR actuellement utilisés sur prélèvements respiratoires au CH de Valenciennes ciblant les bactéries atypiques sont le BIOFIRE FILMARRAY Pneumonia Plus (BioMérieux, Marcy l'Étoile), le Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2 (Qiagen France, les Ulis) et le Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB (ELITechGroup France, Puteaux) (Tableau 7).
Depuis août 2022, la seconde version du panel Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV-2 intègre la cible *C. pneumoniae*, qui n'était pas recherchée dans la première version de ce panel (130).
Nous avons inclus les panels Eplex Respiratory Pathogen (RP2) et Respiratory Bacterial ELITe MGB alors qu'ils ne sont plus utilisés au CH de Valenciennes depuis respectivement 2021 et novembre 2025. Nous avons pris en compte ces panels dans cette thèse puisque certains résultats patients inclus dans nos extractions pour réaliser l'épidémiologie du CH de Valenciennes ont été obtenus grâce à ces 2 panels.
Avant 2020, la première version de l'Eplex Respiratory Pathogen (Roche Diagnostics France, Meylan ex Genmark diagnostics) ne ciblait pas le SARS-CoV-2. En 2020 et jusqu'à la fin de son utilisation en 2021, sa seconde version a été utilisée à Valenciennes permettant la détection du SARS-CoV-2 (131).

Tableau 7 : Principaux panels PCR utilisés à Valenciennes sur prélèvements respiratoires ciblant les bactéries atypiques (130–133)

MERS-CoV = Middle East respiratory syndrome-related Coronavirus, BLSE = bêta-lactamase à spectre étendu.

Nom du panel	Prélèvements acceptés	Bactéries ciblées	Virus ciblés	Gènes de résistances ciblés
BOIFIRE FILMARRAY Pneumonia Plus	- Expectoration - Aspiration nasopharyngée - Aspiration bronchique ou trachéale - LBA	*- Acinetobacter baumannii complexe* *- Enterobacter cloacae complexe* *- Escherichia coli* *- H. influenzae* *- Klebsiella aerogenes* *- Klebsiella oxytoca* *- Klebsiella pneumoniae* *- M. catarrhalis* *- Proteus* spp *- Pseudomonas aeruginosa* *- Serratia marcescens* *- S. aureus* *- S. agalactiae* *- S. pneumoniae* *- S. pyogenes* *- C. pneumoniae* *- M. pneumoniae* *- L. pneumophila*	- Adénovirus - Coronavirus - Métapneumovirus - Rhino/entérovirus - Virus de la grippe A - Virus de la grippe B - MERS-Cov - Virus parainfluenza - VRS	- Carbapénèmases : IMP, KPC, NDM, OXA-48 like, VIM - BLSE : CTX-M - Résistance à la méticilline : mecA/C et MREJ

Nom du panel	Prélèvements acceptés	Bactéries ciblées	Virus ciblés	Gènes de résistances ciblés
Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2	- Écouvillon nasopharyngé - Aspiration nasopharyngée - Expectoration - Aspiration bronchique ou trachéale - LBA	- *Bordetella pertussis* - *M. pneumoniae* - *C. pneumoniae* - *L. pneumophila*	- Adénovirus - Bocavirus - Coronavirus 229E - Coronavirus HKU1 - Coronavirus NL63 - Coronavirus OC43 - SARS-CoV2 - Métapneumovirus - Rhino/entérovirus - Virus de la grippe A - Virus de la grippe A/H1 - Virus de la grippe A H1N1/pdm09 - Virus de la grippe A/H3 - Virus de la grippe B - Virus parainfluenza 1 - Virus parainfluenza 2 - Virus parainfluenza 3 - Virus parainfluenza 4 - VRS	

Nom du panel	Prélèvements acceptés	Bactéries ciblées	Virus ciblés	Gènes de résistances ciblés
Eplex Respiratory Pathogen (RP2)	- Écouvillon nasopharyngé - Aspiration nasopharyngée - Expectoration - Aspiration bronchique ou trachéale - LBA	- *M. pneumoniae* - *C. pneumoniae*	- Adénovirus - Coronavirus 229E - Coronavirus HKU1 - Coronavirus NL63 - Coronavirus OC43 - SARS-CoV2 - Métapneumovirus - Rhino/entérovirus - Virus de la grippe A - Virus de la grippe A/H1 - Virus de la grippe A H1N1/pdm09 - Virus de la grippe A/H3 - Virus de la grippe B - Virus parainfluenza 1 - Virus parainfluenza 2 - Virus parainfluenza 3 - Virus parainfluenza 4 - VRS	

Nom du panel	Prélèvements acceptés	Bactéries ciblées	Virus ciblés	Gènes de résistances ciblés
Respiratory Bacterial ELITe MGB	- Écouvillon nasopharyngé - Aspiration nasopharyngée - Aspiration bronchique - LBA	*- C. pneumoniae* *- L. pneumophila* *- M. pneumoniae*		
Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB	- Écouvillon nasopharyngé - Aspiration nasopharyngée - Aspiration bronchique - LBA	*- C. pneumoniae* *- C. psittaci* *- L. pneumophila* *- L. non pneumophila* *- M. pneumoniae*		

Selon les fabricants, le panel Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB n'est validé que sur aspiration bronchique et LBA. Cependant, le kit d'extraction associé est validé sur plus de 20 matrices différentes dont les écouvillons respiratoires avec milieu de conservation/transport.

Le panel BIOFIRE FILMARRAY Pneumonia Plus se distingue par un mode de fonctionnement particulier. Après extraction des acides nucléiques à partir du prélèvement, une première étape de PCR permet l'amplification simultanée de toutes les cibles du kit. Ce produit d'amplification est ensuite dilué avant d'être réparti dans différents puits où auront lieu les PCR spécifiques de chaque cible. Un résultat semi-quantitatif est obtenu en copies de génome/mL pour les bactéries (sauf les bactéries atypiques *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae* et *L. pneumophila*) grâce à des contrôles quantitatifs internes. Selon les informations fournies par le fabriquant Biomérieux, le panel BIOFIRE FILMARRAY Pneumonia plus a une sensibilité de 96,2 % et une spécificité de 98,3 % sur les prélèvements LBA. Sur les expectorations, ce panel a une sensibilité de 96,3 % et une spécificité de 97,2 % (132).
Pour le Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2, une étude sur les performances diagnostiques de ce kit a trouvé une sensibilité de 85-100% et une spécificité de 97-100 % en fonction des cibles (134).

Le nombre de diagnostics de légionellose posés grâce à l'utilisation de la PCR est en cours d'augmentation, passant de 6,8 % entre 2011 et 2015, à 10-15 % en 2019. Ce pourcentage est toujours en augmentation, dépassant 25 % en 2024. En raison de leurs mauvaises performances diagnostiques sur écouvillons nasopharyngés avec une sensibilité de moins de 50 %, les PCR pour la recherche de *L. pneumophila* ne doivent être utilisées que sur prélèvements respiratoires profonds (81,83,96).

II.5.1.5 Sérologie

La sérologie est surtout utile pour un diagnostic rétrospectif. Son objectif est de mettre en évidence une séroconversion ou l'augmentation du titre d'anticorps spécifiques à l'encontre du pathogène. Une séroconversion est le passage chez un patient d'une sérologie négative à une sérologie positive pour un agent infectieux. Dans un premier temps, les anticorps de type IgM vont apparaître avec des IgG négatifs. Dans un

second temps, les anticorps de type IgG vont se positiver témoignant d'une infection récente ou une primo-infection en cours par ce pathogène

D'après l'édition 2022 du Rémic, pour *M. pneumoniae*, au moins deux sérums sont nécessaires pour confirmer l'infection. Le premier doit être prélevé dès le début des signes cliniques et le second 2 à 3 semaines après le début de la maladie afin de mettre en évidence une séroconversion ou une augmentation du titre des anticorps.

D'après l'édition 2022 du Rémic pour la légionellose, deux sérums sont également nécessaires pour confirmer le cas. Comme pour *M. pneumoniae*, le premier doit être prélevé dès le début des signes cliniques et le second 2 à 3 semaines après le début de la maladie. Les IgM anti-*M. pneumoniae* vont apparaître rapidement au bout d'une semaine et persister pour des mois après l'infection. Les IgG anti-*M. pneumoniae* apparaissent au bout de 2 à 3 semaines et c'est cette séroconversion qui va être utile au diagnostic. L'élévation du titre des IgG entre le premier et le deuxième sérum permet également de poser le diagnostic sérologique de réinfection chez un patient ayant déjà eu une infection par *M. pneumoniae* auparavant (135).

D'après l'édition 2022 du Rémic pour *C. pneumoniae*, la sérologie est difficilement interprétable sachant la forte séroprévalence dans la population adulte, et doit être limitée aux enfants de moins de 15 ans.

L'utilisation de la sérologie comme outil diagnostic est très restreinte et souvent en dernière intention. Elle peut se révéler utilise dans les cas où les prélèvements respiratoires sont impossibles avec une forte suspicion clinique de PAC. Elle peut aussi être utile en tant qu'outil épidémiologique lors d'enquête afin de déterminer le sérogroupe de *L. pneumophila* (83).

II.5.1.6 Autres marqueurs biologiques

Pour les PAC ambulatoires ou hospitalières, le dosage de la CRP et de la PCT (procalcitonine) ne sont pas recommandés pour le diagnostic ou le suivi des PAC (7).

II.5.2 Prise en charge thérapeutique des PAC

II.5.2.1 Traitements et nouvelles recommandations de 2025

L'antibiothérapie de première intention, que le patient soit pris en charge en ambulatoire ou à l'hôpital doit être instaurée le plus rapidement possible et sera influencée par différents facteurs : la gravité de la pneumonie, un contexte évocateur de bactéries atypiques, les antécédents et les comorbidités du patient. La liste des comorbidités entraînant une modification de l'antibiothérapie probabiliste est dans le tableau ci-dessous (Tableau 8).

Tableau 8 : Liste des comorbidités modifiant l'antibiothérapie probabiliste d'une PAC d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7)

Comorbidités modifiant le choix d'antibiothérapie probabiliste pour une PAC
Hospitalisation dans les trois mois précédents
Antibiothérapie dans le mois précédent*
Éthylisme chronique
Troubles de la déglutition
Maladie neurologique sévère avec risque de fausses routes**
Néoplasie active
Immunodépression***
BPCO sévère (VEMS < 50 % de la théorique) ou insuffisance respiratoire chronique (OLD ou VNI)
Insuffisance cardiaque congestive
Insuffisance hépatique
Insuffisance rénale chronique (DFG < 30 mL/min)

* sauf nitrofurantoïne, fosfomycine orale, pivmecillinam.
** (AVC, Parkinson, Démence, SEP, etc.).
*** (corticoïdes systémiques ≥ 10 mg/j, autres traitements immunosuppresseurs, asplénie, agranulocytose, infection par le VIH avec une numération lymphocytaire T CD4 ≤ 200/mm^3, déficit immunitaire primitif, etc.).
NB 1 : La présence d'une seule des comorbidités listées ci-dessus suffit à modifier le choix de l'amoxicilline comme antibiothérapie probabiliste d'une PAC.
NB 2 : L'asthme en soi n'est pas une comorbidité justifiant de choisir une antibiothérapie différente de l'amoxicilline en première intention. Toutefois, il est important de considérer d'autres paramètres telle que la prescription récente d'antibiotiques dans le choix de cette dernière.
NB 3 : L'âge sans comorbidité n'est pas un critère à prendre en compte.

Les antibiothérapies probabilistes pour prendre en charge les cas de PAC non graves sont des monothérapies soit d'amoxicilline ou d'un macrolide. La recherche d''éléments évocateurs de bactérie atypique doit orienter le clinicien vers un macrolide, antibiotique de référence pour prendre en charge une PAC à germes atypiques (Tableau 9).

Tableau 9 : Antibiothérapies probabilistes des PAC non graves d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7)

Tableau 5 Antibiothérapie probabiliste des PAC chez l'adulte en ambulatoire.

	1er choix	Alternative
Sans comorbidité	Amoxicilline	Pristinamycine
Au moins une comorbidité*	Amoxicilline-acide clavulanique	C3G parentérale
Suspicion de co/surinfection bactérienne d'une infection virale (grippe)	Amoxicilline-acide clavulanique	C3G parentérale ou pristinamycine
Tableau évocateur d'infection ou mise en évidence de bactérie atypique	Macrolide	Pristinamycine ou doxycycline
	Réévaluation à 72 h	

* *cf.* Tableau 3.
NB : La lévofloxacine est indiquée uniquement si allergie grave aux bêtalactamines et pas d'autre possibilité thérapeutique.

Tableau 6 Antibiothérapie probabiliste des PAC non graves chez l'adulte hospitalisé.

	1er choix	Alternative
Sans comorbidités	Amoxicilline	C3G parentérale
Avec comorbidités	Amoxicilline-acide clavulanique	
Suspicion de co/surinfection bactérienne d'une infection virale (grippe)	Amoxicilline-acide clavulanique	
Tableau évocateur d'infection à bactérie atypique	Macrolide	Lévofloxacine*
	Réévaluation à 72 h	

Réévaluation à 72 h et désescalade en fonction de l'évolution clinique et des examens microbiologiques.
* Lévofloxacine : uniquement si allergie grave aux bêtalactamines ou si contre-indication aux macrolides en cas de suspicion de bactérie atypique.

Tableau 7 Antibiothérapie probabiliste et dirigée des PAC en cas de bactérie atypique suspectée ou diagnostiquée chez l'adulte.

Antibiothérapie en cas de bactérie atypique		
	Molécule	Allergie/alternative
Légionellose	Macrolide*	Si forme grave ou contre-indication aux macrolides : lévofloxacine
Mycoplasma pneumoniae	Macrolide*	Cycline Si contre-indication aux macrolides et aux cyclines : lévofloxacine
Chlamydophila pneumoniae	Macrolide*	Cycline Si contre-indication aux macrolides et aux cyclines : lévofloxacine

* Macrolides : azithromycine, clarithromycine, roxithromycine, spiramycine.

Une antibiothérapie probabiliste par amoxicilline permet de cibler *S. pneumoniae*, dont les niveaux de résistance sont très faibles pour l'amoxicilline et l'ensemble des bêtalactamines. Selon le rapport 2025 du CNR pneumocoques, 87,6 % des souches de *S. pneumoniae* isolées d'infections invasives étaient sensibles à l'amoxicilline avec une CMI ≤ 0,5 mg/L (136). L'association amoxicilline-acide clavulanique permet d'élargir le spectre pour couvrir le *H. influenzae*, *M. catarrhalis* ou *S. aureus*. D'après le rapport 2024 du CNR *Haemophilus*, 23 % souches invasives d'*H. influenzae* étaient résistantes à l'amoxicilline, contre 60 % pour les souches non-invasives (137). *M. catarrhalis* et *S. aureus* sont eux résistants à l'amoxicilline dans respectivement 95 % et 90 % des cas (138,139). Concernant *M. pneumoniae* et *C. pneumoniae*, en seconde intention, la doxycycline ou pristinamycine peuvent être prescrites. Il est important de réévaluer toute antibiothérapie à 48-72h et de la modifier en cas d'échec

thérapeutique. Une bithérapie probabiliste n'est pas recommandée chez les formes de PAC non graves (7).

La durée de l'antibiothérapie est conditionnée par le délai nécessaire à l'obtention de l'ensemble des critères de stabilité clinique. Deux essais randomisés ont montré chez les patients atteignant l'ensemble des critères de stabilité clinique à J3, la non-infériorité d'un traitement antibiotique de 3 jours versus un traitement de 8 jours (140,141). Il est maintenant recommandé pour les PAC non graves ambulatoires ou hospitalisées de traiter 3 jours si les critères de stabilité sont obtenus à J3, 5 jours s'ils sont obtenus à J5 et 7 jours pour les autres PAC hospitalisés non compliquées sans abcès ou épanchement pleural. Pour la légionellose, la durée du traitement est classiquement de 8 à 14 jours pour les formes non graves (5 jours pour l'azithromycine) (7).

Concernant les PAC graves, l'antibiothérapie probabiliste est une bithérapie dont l'objectif est de couvrir le *S. pneumoniae* et les bactéries atypiques dont *Legionella* (Tableau 10).

Tableau 10 : Antibiothérapies probabilistes des PAC graves d'après les recommandations SPLF et SPILF de 2025 (7)

SASM = S. aureus sensible à la méticilline ; SARM = S. aureus résistant à la méticilline.

Tableau 8 Antibiothérapie probabiliste des PAC graves chez l'adulte hospitalisé.

	Molécule(s)	Allergie/alternative
Initiale	C3G parentérale + macrolide	Lévofloxacine (uniquement si allergie contre-indiquant l'utilisation de bêtalactamine)
Désescalade	La plus précoce possible selon l'évolution clinique et la documentation microbiologique	

Tableau 9 Antibiothérapie probabiliste et dirigée de la PAC grave suspectée* ou confirmée à *Staphylococcus aureus* secréteur de toxine de leucocidine de Panton-Valentine (LPV) chez l'adulte.

	Molécule(s)	Allergie/alternative
Initiale (probabiliste)	C3G parentérale (céfotaxime ou ceftriaxone) + macrolide + linézolide	C3G parentérale (céfotaxime ou ceftriaxone) + vancomycine + clindamycine** En cas d'allergie aux bêta-lactamines : lévofloxacine + linézolide
Désescalade lors de la documentation		
SASM LPV+	Pénicilline M (IV) ou céfazoline + Clindamycine ou rifampicine	1) Vancomycine + clindamycine ou rifampicine ou 2) Linézolide
SARM LPV+	Linézolide	Vancomycine + clindamycine ou rifampicine

* Contexte post-grippal, gravité, présentation évocatrice : hémoptysie, leucopénie, rash cutané et pneumonie nécrosante (nodules multiples, images excavées).

** La clindamycine est active sur la plupart des bactéries atypiques, mais non active sur toutes les souches de légionelle.

Pour la légionellose dans les formes graves et/ou chez la personne immunodéprimée, la durée du traitement est allongée à 21 jours (10 jours pour l'azithromycine). Dans les cas où une documentation microbiologique est obtenue, il n'est pas recommandé de bithérapie ciblée pour prendre en charge une PAC grave sauf dans les cas d'infections à *S. aureus* producteur de la toxine PVL. De plus, chez les patients en soins critiques, l'administration de glucocorticoïde est associée à une réduction de près de 50 % de la mortalité (7).

II.5.2.2 Antibiorésistance et bactéries atypiques

Comme mentionné plus tôt, les molécules de première intention pour traiter une PAC à bactéries atypiques sont les macrolides. Certaines mutations dans la sous-unité 23S de l'ARN ribosomique sont associées à une résistance in-vivo et in-vitro aux macrolides (142). Le niveau de résistance de *M. pneumoniae* aux macrolides est inégale selon les continents et les pays. En Europe, le pourcentage de résistance aux macrolides est faible. Sur les 92 souches de *M. pneumoniae* envoyées au CNR pour le dépistage des résistances aux macrolides par le CH de Valenciennes, 2 recherches de résistance sont revenues positives. En France, 10 % des souches de *M. pneumoniae* sont résistantes aux macrolides. Les Pays-Bas, l'Allemagne et la Suisse ont respectivement des pourcentages de résistance aux macrolides de 0, 1 et 2 %. Le continent asiatique a le plus haut niveau de résistance. La Corée du Sud, le Japon et la Chine ont respectivement des pourcentages de résistances aux macrolides chez *M. pneumoniae* de 63, 87 et 97 % (46,143).

Peu d'études ont évalué la résistance aux macrolides chez *C. pneumoniae*. Une étude de génotypage n'a identifié aucune mutation de la sous-unité 23S associée à une résistance, contrairement à *C. psittaci* où des mutations ont été identifiées (144).

L'étude systématique de la sensibilité aux antibiotiques des souches de légionelles n'est pas recommandée. Le CNR *Legionella* dans ses différentes publications a montré l'absence de résistance aux macrolides chez les différentes espèces. Celui-ci recommande l'envoi des souches de légionelles en cas d'infection persistante prolongée avec évolution défavorable, et évaluera la sensibilité de la souche par

mesure des CMI en milieu liquide. Concernant la résistance aux fluoroquinolones, le CNR *Legionella* mentionne deux cases reports de *L. pneumophila* avec une mutation conférant une résistance à ces antibiotiques (83).

III. Matériel et méthode

III.1 Présentation du Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB Kit

Le panel développé par ELITech faisant l'objet de cette thèse, Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB Kit, est un outil diagnostic in vitro de PCR qualitative en temps réel multiplexe. Ce kit permet la détection de l'ADN des bactéries atypiques précédemment abordées dans cette thèse : *L. pneumophila*, l'espèce *Legionella*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci* et *M. pneumoniae* à partir d'échantillons respiratoires cliniques. Ce panel a été développé afin d'être utilisé en laboratoire de biologie médicale sur les automates ELITe InGenius et ELITe BeGenius. L'utilisation de ce panel est validée sur 2 échantillons respiratoires d'après la fiche fournisseur : le LBA et l'aspiration bronchique, deux prélèvements respiratoires profonds.
L'extraction des acides nucléiques préalable aux cycles de PCR se fait après transfert de 200 µL de prélèvements, dans un tube d'extraction (pour le ELITe InGenius) et dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'ELITe BeGenius).

Les substrats nécessaires à la réalisation de ce kit PCR sont compris dans le réactif RB PLUS PCR Mix. Il est fourni avec le panel et contient des acides nucléiques triphosphates, du tampon, du chlorure de magnésium, l'enzyme ADN polymérase, les amorces et les sondes spécifiques pour chaque cible. Le réactif RB PLUS PCR Mix contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- Le gène MIP de *L. pneumophila* détecté dans le canal Leg. La sonde est marquée par le colorant FAM.
- Le gène ssrA de *Legionella* spp détecté dans le canal Leg. La sonde est marquée par le colorant FAM.
- Le gène ompA de *C. pneumoniae* détecté dans le canal Chla. La sonde est marquée par le colorant AquaPhluor 639 (AP639).
- Le gène ompA de *C. psittaci* détecté dans le canal Chla. La sonde est marquée par le colorant AquaPhluor 639 (AP639).
- Le gène P1 de *M. pneumoniae* détecté dans le canal Mpne. La sonde est marquée par le colorant AquaPhluor 593 (AP593).

- Le contrôle interne, basé sur la séquence de la bêta-globine humaine détecté dans le canal IC. La sonde est marquée par le colorant AquaPhluor 525 (AP525).

Les sondes spécifiques du réactif s'activent après hybridation au brin d'ADN et après le début de polymérisation par l'ADN polymérase par écartement du fluorophore avec son inhibiteur. L'automate va ensuite capter et mesurer la fluorescence due aux fluorophores, et établir le cycle seuil (Ct).

Au sein du canal Chla, les séquences d'ADN amplifiées de *C. pneumoniae* et *C. psittaci* sont toutes les deux détectées par le même fluorophore AP639. Elles sont différenciées à l'aide de leur température de fusion (Tm) différente. La température de fusion est la température à laquelle la moitié des doubles brins d'ADN se séparent en simples brins. Cette température de fusion va varier en fonction de la longueur du fragment d'ADN mais aussi de son pourcentage en base Guanine-Cytosine. Les paires G-C forment 3 liaisons hydrogène, contre 2 pour les paires Adénine-Thymine, rendant le double brin d'ADN plus stable. Plus le pourcentage en G-C d'une séquence d'ADN est élevé, plus son Tm va augmenter. Cela permet de mesurer une température de fusion (Tm) spécifique pour chaque séquence d'ADN amplifiée. La séquence ompA va varier dans sa composition entre *C. pneumoniae* et *C. psittaci* entraînant une différence de la température de fusion captée par l'automate permettant d'interpréter le résultat. Il en va de même pour différencier à l'aide de la température de fusion les séquences d'ADN amplifiées de *L. pneumophila* et de *Legionella* non *pneumophila* détectées par le fluorophore FAM au sein du canal Leg.

III.2 Dossier de validation de méthode et accréditation COFRAC

Le Comité Français d'Accréditions (COFRAC) est l'organisme national qui évalue et accrédite les laboratoires de biologie médicale selon certaines normes de qualité. C'est la norme NF EN ISO 15189 qui encadre l'accréditation. Son objectif est de garantir la fiabilité et la qualité des analyses faites dans les laboratoires. Il vérifie notamment la compétence du personnel, la maitrise des méthodes et la conformité des équipements. L'accréditation COFRAC d'un laboratoire permet d'assurer des résultats fiables et justes contribuant à la sécurité du patient (145,146).

Afin de satisfaire les normes du COFRAC, un groupe de travail de la Société Française de Microbiologie (SFM) a élaboré le QUAMIC (QUAlité en MICrobiologie). Cet ouvrage créé en 2011 est un référentiel d'accréditation pour la qualité en microbiologie médicale. Le QUAMIC traduit les exigences générales COFRAC en recommandations pratiques pour les laboratoires. Il précise les bonnes pratiques de qualité et les compétences nécessaires aux différentes activités de microbiologie. Il aide ainsi le laboratoire à mettre en œuvre, documenter et démontrer sa conformité lors de l'accréditation. Il ne remplace pas le référentiel COFRAC, il permet de s'y conformiser. Le QUAMIC permet de mettre en place de nouvelles méthodes en microbiologie en énumérant les essais devant être effectués pour le dossier de validation de méthode (DVM) (147).

En portée A, le dossier de validation de méthode est nécessaire lorsque le laboratoire utilise une méthode reconnue. Le but est de vérifier que dans les conditions du laboratoire les performances annoncées sont atteintes**.** La portée A selon le COFRAC correspond aux méthodes pour lesquelles les performances sont déjà établies par le fournisseur du réactif ou de l'automate et utilisées dans leur domaine d'application défini. Le laboratoire vérifie alors que les performances de la méthode sont maîtrisées dans ses propres conditions de fonctionnement (145).

En portée B, le dossier de validation de méthode quant à lui s'utilise pour une méthode développée ou adaptée par le laboratoire. La portée B selon le COFRAC concerne ainsi les méthodes modifiées par le laboratoire ou utilisées sur des matrices non prévues par le fabriquant, pour lesquelles une validation complète de leurs performances est nécessaire (145).

Ce sont ces dossiers qui pourront être consultés lors d'audits du COFRAC.

Selon l'édition 2019 du QUAMIC, le dossier de validation de méthode pour une PCR qualitative doit comprendre un test de fidélité intermédiaire, d'exactitude, de comparaison de méthodes, et de contamination. Il est nécessaire de rédiger une partie consacrée à la maîtrise des risques dans chaque dossier. Il faut également établir la sensibilité et la spécificité de la méthode, l'étendue de mesure, la limite de détection, rechercher des interférences et d'évaluer la robustesse et fiabilité des réactifs. Il est indispensable de fournir dans ce dossier une partie consacrée à la maîtrise des risques au sein du laboratoire pour cette nouvelle méthode.

Notre panel Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB est une PCR qualitative multiplexe qui devra répondre à l'ensemble de ces tests. L'utilisation de ce panel PCR a débuté le 03/11/2025 à Valenciennes et a remplacé le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB en place depuis 2023. Ce changement de kit est un changement de réactif mais pas de méthode PCR, avec l'utilisation du même automate l'ELITe InGenius.

III.2.1 Maîtrise des risques

Pour chaque dossier de validation de méthode, une partie de ce dossier doit être consacrée à la maîtrise des risques. Cette maîtrise des risques consiste à identifier les caractéristiques de la méthode et des étapes critiques des phases pré-analytiques, analytique et post-analytiques. La méthodologie retenue pour la maîtrise des risques est une analyse selon les 5M (145) :

- Matière : l'échantillon utilisé
- Milieu : l'environnement
- Main d'œuvre : le personnel
- Matériel : l'équipement et le réactif
- Méthode : la méthode utilisée.

Pour chaque risque identifié, il est important de hiérarchiser ce risque selon sa probabilité ou fréquence, sa gravité et la capacité à détecter ce risque afin de définir sa criticité. Après cette hiérarchisation des risques, il faut associer des mesures de maîtrise de chaque risque (contrôles positifs/négatifs, contrôle d'inhibition, maintenance, formation du personnel, …).

C'est en partie grâce à cette analyse des risques qu'un laboratoire peut justifier la nature et le nombre de tests complémentaires à réaliser lors des essais de validation de méthode grâce au QUAMIC. Pour une PCR qualitative, la partie réservée à la maîtrise des risques doit inclure des vérifications sur les incertitudes de mesure, des vérifications sur l'étendue de mesure et les limites de détection, les interférences potentielles de la méthode ainsi qu'une partie évaluant la robustesse et la fiabilité des réactifs. La robustesse est la capacité d'une méthode à garder des résultats fiables et stables malgré des variations faibles volontaires des paramètres de la méthode. La maîtrise des risques comprend également une partie sur la surveillance après mise en routine de la méthode pour continuer de garantir des résultats justes.

III.2.2 Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire, ou reproductibilité intra-laboratoire, correspond à la variabilité de la méthode au sein d'un laboratoire avec la même procédure lorsqu'on fait varier certaines conditions comme l'opérateur, l'équipement, ou le jour de l'analyse.
Selon l'édition 2019 du QUAMIC pour le DVM d'une PCR qualitative, cela permet de démontrer la concordance des résultats lorsque le même échantillon est testé plusieurs fois dans des conditions différentes. On détermine cette fidélité intermédiaire en passant un échantillon positif sur au moins 5 jours. Ces différents passages du même échantillon permettent de calculer l'écart-type sur les Ct (145).

III.2.3 Exactitude

Une méthode en laboratoire peut être très fidèle, mais donner systématiquement un faux résultat, d'où l'importance des tests d'exactitude. Les laboratoires évaluent l'exactitude d'une méthode grâce à l'utilisation des Évaluateurs Externes de Qualité (EEQ) ou l'échange inter-laboratoires d'échantillons (145).
Selon l'édition 2019 du QUAMIC pour le DVM d'une PCR qualitative, l'étude d'exactitude correspond à la comparaison d'un seul dosage d'un échantillon inconnu, réalisé à aveugle. Cet échantillon est fourni par ces organismes externes de qualité afin de comparer le résultat à une valeur cible préalablement établie. L'écart observé correspond à l'inexactitude. Cette inexactitude est calculée grâce à la valeur obtenue (x) et la valeur cible (v) selon le calcul suivant :

$$Inexactitude\ (\%) = \frac{(x - v) \times 100}{v}$$

III.2.4 Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité sont deux indicateurs essentiels pour évaluer les performances d'un test diagnostique. L'analyse de ces deux indicateurs permet d'apprécier la pertinence du test dans la discrimination entre les sujets malades et non malades.

La sensibilité se définit comme la proportion de résultats positifs parmi les personnes effectivement atteintes de la maladie. La spécificité correspond à la proportion des résultats négatifs parmi les personnes n'étant pas atteints de la maladie. Les formules pour calculer la sensibilité et la spécificité sont dans le tableau ci-dessous (Tableau 11) (145).

Tableau 11 : Formules de la sensibilité et de la spécificité (145)

VP = Vrais Positifs, VN = Vrais Négatifs, FP = Faux Positifs, FN = Faux Négatifs

Sensibilité	Spécificité
$Sensibilité = \frac{VP}{VP + FN} \times 100$	$Spécificité = \frac{VN}{VN + FP} \times 100$

Selon l'édition 2019 du QUAMIC pour le DVM, la sensibilité et la spécificité des PCR qualitatives et autres méthodes sont issues des données fournisseurs. Elles peuvent être également déterminées par des essais aux laboratoires dans certains cas.

III.2.5 Comparaison de méthodes

Cet essai permet d'évaluer les résultats issus de la nouvelle méthode avec une ancienne méthode de référence déjà validée au laboratoire. Un nombre minimum de 10 échantillons doivent être comparés entre l'ancienne et la nouvelle méthode. Les échantillons d'ADN ou d'ARN choisis pour la comparaison doivent avoir des résultats connus avec l'ancienne méthode, et doivent inclure des échantillons positifs et négatifs. Ces résultats issus des deux méthodes sont ensuite comparés dans une étude de concordance (145).

III.2.6 Essais de contamination

Les objectifs de ces essais de contamination sont d'évaluer et de maîtriser les cas de contamination inter-échantillons et/ou inter-réactifs. Des contaminations sont possibles lors de l'utilisation de systèmes analytiques, notamment au niveau des systèmes de pipetage des échantillons (contamination inter-échantillons) et de distribution des réactifs (contamination inter-réactifs).

Pour les PCR qualitatives, une vérification de la contamination se fait dès l'étape d'extraction, à l'exception des automates utilisant des cartouches unitaires incluant toutes les étapes de PCR de l'extraction au résultat. Ces essais sont donc nécessaires pour le panel Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB sur les automates ELITe InGenius et ELITe BeGenius.

Les études de contamination inter-échantillons sont obligatoires pour tous les systèmes automatisés. Le niveau de contamination doit être proche de zéro ou entraîner des règles de « repassage » argumentées dans le dossier de validation. Une étude des contaminations inter-échantillons peut être effectuée de la façon suivante :

Après rinçage de l'appareil, un échantillon à valeur élevée (ou positif fort) est analysé 3 fois de suite (H1, H2, H3, de moyenne mH) suivi d'un échantillon à valeur basse également analysé 3 fois (B1, B2, B3). Les séquences (H1, H2, H3, B1, B2, B3) peuvent être répétées plusieurs fois (5 fois) afin d'établir la moyenne des B1 (mB1) et la moyenne des B3 (mB3). L'objectif de ces différents passages est d'observer une contamination des échantillons à valeur basse B1 par les positifs forts H1, H2 et H3. Cette contamination se manifestera par une différence de valeur entre les valeurs B1 (et mB1) passant juste après les forts positifs et les valeurs de B3 (et mB3) passant après B1 et B2. La différence statistiquement significative entre les 2 moyennes pourra être établie à l'aide d'un test « t » de Student avant de procéder au calcul du pourcentage de contamination inter-échantillons (145). Ce calcul se fait grâce à la formule suivante :

$$Contamination\ (\%) = \frac{(mB1 - mB3)}{(mH - mB3)} \times 100$$

Sachant que notre PCR est qualitative, cet essai de contamination consiste à vérifier que les résultats positifs n'interfèrent pas sur le passage ultérieur des échantillons négatifs, entraînant des faux positifs.

Une contamination inter-réactif peut avoir lieu quand le système de distribution d'un analyseur est commun à tous les réactifs.

IV. Résultats

Les tests réalisés lors du DVM pour le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB se trouvent dans l'annexe 3. Ce sont les tests n'ayant pas été refait pour le DVM du nouveau kit. Nous avons joint à ce travail une partie de ce DVM pour plus de clarté.

IV.1 Fidélité intermédiaire

Concernant la fidélité intermédiaire, les performances du kit ont été testées pour les 5 cibles du kit 5 jours différents au laboratoire (Tableau 12). Pour *M. pneumoniae*, 3 passages avaient une quantité d'ADN sous la LOD du kit entraînant des faux négatifs. Un passage pour *L. pneumophila* a rendu un résultat faussement négatif. Pour *C. psittaci*, les échantillons ont malheureusement été trop dilués. L'ADN de *C. psittaci* avait été obtenu grâce au LNR de Maisons-Alfort et n'ayant pas d'ADN supplémentaire disponible, les performances seront suivies par l'évaluation inter-laboratoire du LNR.

Tableau 12 : Tests de fidélité intermédiaire pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB

ET = Ecart-type ; CV = Coefficient de variation

	Nombre de valeurs	Moyenne	ET	CV (%)	Conclusion
Legionella spp	5	23,47	0,09	0,37	Conforme
L. pneumophila	4	38,51	0,29	0,74	Conforme
C. psittaci	5	Non détecté	/	/	/
C. pneumoniae	5	34,62	0,42	1,22	Conforme
M. pneumoniae	7	29,71	0,29	0,97	Conforme

IV.2 Exactitude

Dans un premier temps pour les essais d'exactitude, des EEQ utilisés sur le kit PCR Respiratory Bacterial ELITe MGB ont été employés pour comparer les résultats obtenus avec le nouveau kit. Des EEQ de de *L. anisa*, *L. micdadei*, *L. longbeachae*, *L. dumoffi*, *L. bozemanae*, *L. maceachernii*, *L. pneumophila*, *L. micdadei*, *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae* ont été utilisés pour ces tests d'exactitude (Tableaux 13-14).

Ces EEQ utilisés avec l'ancien kit ont permis de faire des tests d'exactitude et de comparaison de méthode.

Pour *C. psittaci*, un extrait d'ADN envoyé par le LNR ainsi que 2 évaluations inter-laboratoires (un positif et un négatif) ont été utilisés pour cette cible. Les résultats ont montré une concordance de 100 %. Ces tests permettent aussi de juger quant à la justesse des résultats rendus par le kit pour la cible *C. psittaci* sachant qu'aucun test n'avait été fait auparavant vu que cette cible n'était pas incluse dans le panel Respiratory Bacterial ELITe MGB.

Les tests d'exactitude ont montré de très bonnes performances du kit pour les cibles testées (Tableaux 13-14).

Tableau 13 : Tests d'exactitude pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB

RB = Respiratory Bacterial ELITe MGB ; RB PLUS = Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB

Identifiant	Espèces	Résultat kit RB	Résultat kit RB PLUS	Concordance
LANIVII54	*L. anisa*	Détecté	*Legionella* spp	Oui
LAN00110	*L. anisa*	Détecté	*Legionella* spp	Oui
LMICVIIA5	*L. micdadei*	Non détecté	Non détecté	Oui
LMICVIIA6	*L. micdadei*	Non testé	Non détecté	Oui
LDUMVII13	*L. dumoffi*	Non détecté	*Legionella* spp	Oui
LDUMVII14	*L. dumoffi*	Non détecté	*Legionella* spp	Oui
LLONGVIF8	*L. longbeachae*	Détecté	*Legionella* spp	Oui
LLONGVIG1	*L. longbeachae*	Détecté	*Legionella* spp	Oui
LBOZVIB7	*L. bozemanae*	Détecté	*Legionella* spp	Oui
LBOZ0013	*L. bozemanae*	Détecté	*Legionella* spp	Oui
LMACEVG1	*L. maceachernii*	Détecté	Non détecté	Oui

Tableau 14 : Autres tests d'exactitude pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB

RB = Respiratory Bacterial ELITe MGB ; RB PLUS = Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB

Identifiant EEQ	Date passage kit RB	Résultat kit RB	Résultat attendu	Date passage kit RB PLUS	Résultat kit RB PLUS	Concordance
LPDNA 25S01	06/03/2025	*L. pneumophila*	*L. bozemanii*	11/09/2025	*Legionella* spp	Oui
LPDNA 25S02	06/03/2025	Négatif	*L. micdadei*	11/09/2025	Négatif	Oui
LPDNA 25S03	06/03/2025	*L. pneumophila*	*L. pneumophila*	11/09/2025	*L. pneumophila*	Oui
LPDNA 25S10	06/03/2025	Négatif	*L. micdadei*	11/09/2025	Négatif	Oui
CP 25S01	16/05/2025	Négatif	Négatif	18/09/2025	Négatif	Oui
CP 25S02	16/05/2025	*C. pneumoniae*	*C. pneumoniae*	18/09/2025	*C. pneumoniae*	Oui
CP 25S03	16/05/2025	*C. pneumoniae*	*C. pneumoniae*	18/09/2025	*C. pneumoniae*	Oui
MP 25S01	16/05/2025	*M. pneumoniae*	*M. pneumoniae*	18/09/2025	*M. pneumoniae*	Oui
MP 25S02	16/05/2025	Négatif	Négatif	18/09/2025	Négatif	Oui
MP 25S04	16/05/2025	*M. pneumoniae*	*M. pneumoniae*	18/09/2025	*M. pneumoniae*	Oui

Les limites de détection du test ont été calculées grâce à des échantillons de LBA et d'aspirations bronchiques négatifs, dopés avec des isolats contenant *L. pneumophila*, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci* et *L. longbeachae* comme espèce de *L.* non *pneumophila*. Ces LOD ont été déterminées sur ELITe BeGenius (Tableau 15).

Tableau 15 : LoD de chaque cible selon la fiche fournisseur ELITECH exprimée en org/mL (organismes/mL)

Agent pathogène	LoD	Limites de l'intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
Legionella pneumophila	69 org/mL	47 org/mL	126 org/mL
Mycoplasma pneumoniae	7 org/mL	5 org/mL	17 org/mL
Chlamydia pneumoniae	48 org/mL	30 org/mL	96 org/mL
Legionella longbeachae	27 org/mL	18 org/mL	48 org/mL
Chlamydia psittaci	94 org/mL	64 org/mL	169 org/mL

IV.3 Sensibilité et spécificité

D'après les informations de la fiche fournisseur, *L. micdadei, L. feeleii, L. jordanis et L. oakridgensis* ne sont pas détectées par la cible *Legionella* spp du kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB. Ces informations issues de la fiche fournisseur sont dans l'annexe 1.

Pour les tests de sensibilité et de spécificité de *Legionella* spp, des souches d'EEQ de *L.* non *pneumophila* ont été remises en culture et identifiées par MALDI-TOF avant de procéder à ces tests. Des souches de *L. anisa*, *L. micdadei*, *L. longbeachae*, *L. dumoffi*, *L. bozemanae* et *L. maceachernii* ont été testées. Une suspension bactérienne de 0,5 McFarland a été faite à partir de ces souches pour réaliser les tests PCR du kit. Toutes les cibles ont été détectées avec un résultat PCR rendu positif par le kit à l'exception de *L. micdadei* et *L. maceachernii*.

D'après la fiche fournisseur, leurs tests d'inclusivité n'ont détecté aucune réaction croisée pour ses cibles *L. pneumophila*, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *L.* non *pneumophila*. Cependant pour la cible *C. psittaci*, le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB a des réactions croisées et des risques de faux positifs avec *C. abortus,*

C. felis et *C. caviae*. Ces 3 bactéries sont détectées dans le canal Chla en tant que *C. psittaci*. Les informations des tests de réactivité croisée sont issues de la fiche fournisseur et se trouvent dans l'annexe 2.

IV.4 Comparaison de méthode

Comme dit précédemment, les résultats des EEQ obtenus avec le kit PCR Respiratory Bacterial ELITe MGB ont été comparés aux résultats obtenus avec le nouveau kit.

Les essais de comparaison de méthode de PCR *L. pneumophila* et *Legionella* spp du kit ont été comparés à la culture et si besoin aux retours CNR. Pour *L.* non *pneumophila*, ces tests impliquaient des souches de *L. anisa*, *L. micdadei*, *L. longbeachae*, *L. dumoffi*, *L. bozemanae* et *L. maceachernii* (Tableaux 13-14). Ces tests ont montré une concordance de 100 % avec les résultats attendus, rendant un résultat positif à *Legionella* spp pour toutes ces espèces sauf *L. micdadei*, connue comme non détectée par le kit, et *L. maceachernii*.
Des EEQ de *L. pneumophila*, *L. micdadei*, *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae* ont été utilisés montrant une concordance de 100 % entre les résultats issus des deux panels (Tableau 14).
Ces résultats de comparaison ont montré une excellente sensibilité. Les tests de spécificité ont été faits pour le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB pour son DVM et n'ont pas été refaits à postériori.

IV.5 Essais de contamination

Notre PCR est une méthode qualitative. L'objectif de ces essais de contamination est de vérifier, par passage successifs d'échantillons positifs et négatifs de résultats connus, que les échantillons positifs ne contaminent pas les échantillons négatifs entraînant une fausse positivité. Cette alternance d'échantillons a été fait pour le précédent panel le Respiratory Bacterial ELITe MGB pour son DVM et n'a montré aucune contamination inter-échantillon. Pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, ces tests n'ont pas été refaits car c'est un simple changement de réactif et non de technique.

V. Discussions

Pour les discussions de cette thèse dans un premier temps, nous avons voulu présenter l'épidémiologie infections respiratoires à bactéries atypiques au CH de Valenciennes.

V.I Épidémiologie des PAC à bactéries atypiques au CH de Valenciennes

En 2017, l'activité de microbiologie du CH de Valenciennes, qui comptait l'activité des CH de Denain et Le Quesnoy, a augmenté suite au transfert d'activité de la microbiologie du CH de Maubeuge

En 2022, le Le Groupement de Coopération Sanitaire (GCS) Sambre-Hainaut-Artois-Biologie (SHAB) a été créé dans le but de mutualiser l'activité de biologie médicale des laboratoires de biologie médicale de Filiéris, du CH de Maubeuge et du CH de Valenciennes et Denain afin de massifier l'activité et de réduire les coûts de production par la mutualisation des dépenses (automates, réactifs, système informatique de laboratoire) et des ressources humaines. Le GCS regroupe alors la biologie médicale de cinq établissements de l'AHNAC (Association Hospitalière Nord Artois Clinique), 6 centres hospitaliers (Valenciennes, Maubeuge, Denain, Le Quesnoy, Hautmont et Jeumont) ainsi que les EHPAD et établissements psychiatriques associés, et une activité ambulatoire notamment avec Filiéris. Le CH de Felleries-Liessies a rejoint le GCS et le CH de Fourmies a contractualisé la réalisation de la microbiologie en juillet 2025. Plus récemment en 2026, la polyclinique du Ternois (AHNAC) a rejoint le GCS. . Ces regroupements ont entraîné une augmentation de l'activité de microbiologie au CH de Valenciennes, illustrée dans le tableau ci-dessous (Tableau 16).

Tableau 16 : Chiffres d'activité du laboratoire de microbiologie du GCS SHAB

	2021	2022	2023	2024	2025
n+1 par rapport à n		35 %	7 %	9 %	4 %
n par rapport à 2021		35 %	39 %	45 %	47 %

L'épidémie de *M. pneumoniae* de septembre 2023 à février 2024 a pu avoir un impact potentiel sur le nombre de prescriptions d'antigénuries et de PCR sur prélèvements respiratoires lors de ces 2 années.
Afin de réaliser l'épidémiologie des infections respiratoires à bactéries atypiques au CH de Valenciennes, les données patients sont issues d'extractions à partir des systèmes d'information de laboratoire (SIL) utilisés au CH de Valenciennes : DxLab utilisé entre 2017 et 2021 ; et Glims utilisé de 2021 à aujourd'hui.
Afin d'avoir une épidémiologie complète sur les infections respiratoires à bactéries atypiques, ces extractions concernent les panels FILMARRAY Pneumonia Plus, Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2, le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB, le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, l'Eplex Respiratory Pathogen (RP2) et les antigénuries *L. pneumophila* de SG1. Cette épidémiologie est présentée sous forme de tableaux juste après (Tableaux 17 à 22).

Le panel FILMARRAY Pneumonia Plus recherche parmi ces cibles *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *L. pneumophila* comme bactéries atypiques (132). Ce panel est utilisé depuis 2023 à Valenciennes. Les extractions à partir du SIL Glims pour ce panel incluent les patients testés du 01/01/2023 au 06/08/2026.

Parmi ses cibles, le panel Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2 recherche les bactéries atypiques *M. pneumoniae* et *C. pneumoniae* et *L. pneumophila*. Ce panel est utilisé depuis fin 2020 à Valenciennes. L'extraction au CH de Valenciennes inclut des patients dont le test a été fait entre le 01/01/2021 et le 06/08/2026 pour ce panel. Comme mentionné dans la partie diagnostic, *C. pneumoniae* a été ajoutée dans la seconde version du panel utilisée à partir d'août 2022 (130).

Le panel Eplex Respiratory Pathogen (RP2) cible *M. pneumoniae* et *C. pneumoniae* (131). Il a été utilisé de 2018 à 2021 au CH de Valenciennes. Les extractions faites ne comprennent que l'utilisation de ce panel lors de l'année 2021. Lors des extractions réalisées sur DxLab, le codage informatique ne nous a pas permis de différencier les résultats issus des panels Eplex Respiratory Pathogen (RP2) et Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2. Les données sont donc regroupées pour l'année 2021 dans l'épidémiologie issue du Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2, pour *M. pneumoniae* et *C. pneumoniae*.

Le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB cible *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *L. pneumophila* (148). Ce kit a été mis en place en 2023 avant d'être remplacé entièrement par le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB. Les extractions pour ce panel incluent des résultats patients du 01/04/2023 au 03/11/2025 pour cette première méthode. L'épidémiologie de l'année 2023 n'inclut donc pas les mois de janvier à mars 2023.

Le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB est disponible à Valenciennes depuis le 03/11/2025 en remplacement du kit Respiratory Bacterial ELITe MGB. Ce nouveau kit cible *C. psittaci* et *Legionella* non *pneumophila* en plus des cibles déjà recherchées par le kit précédent (133). Les données épidémiologiques incluent des patients testés jusqu'au 06/08/2026 pour ce kit. En 2025, les données extraites ne concernent que les mois de novembre et décembre.

Les extractions faites à partir de DxLab et Glims pour les antigénuries *L. pneumophila* portent sur des patients testés du 01/01/2017 au 25/08/2026. Cependant, les antigénuries du CH de Maubeuge étaient faites sur place de 2017 à 2021 et ne font pas partie des données présentées ici. Les antigénuries de Maubeuge après 2021 ont pu être inclues.

Pour les 5 panels PCR inclus dans l'épidémiologie, l'ensemble de leurs cibles sont détaillées dans la partie diagnostic de cette thèse (Tableau 7). L'épidémiologie du CH de Valenciennes se trouve dans les tableaux ci-dessous (Tableaux 17 à 22). Ces données ont été séparées par bactéries atypiques pour plus de clarté. Nous avons repris certaines données des tableaux afin d'en faire des diagrammes pour les PCR positives au GCS de *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila* et les antigénuries *L. pneumophila* SG1 (Figures 23-24).

Tableau 17 : Épidémiologie de *M. pneumoniae* au CH de Valenciennes issue des extractions DxLab et Glims entre 2021 et août 2026

Pour le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB, les données épidémiologiques 2023 n'incluent que les mois d'avril à décembre. Pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, les données épidémiologiques 2025 n'incluent que les mois de novembre et décembre. Pour l'année 2021, les données issues du kit Eplex Respiratory Pathogen (RP2) sont inclues dans les résultats du Qiastat-Dx Respiratory.

	Kits PCR utilisés	2021	2022	2023	2024	2025	2026	Total
M. pneumoniae	Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2	0/741	0/1977	46/1735	50/2088	1/1644	0/1183	222
	FILMARRAY Pneumonia Plus	Panel non disponible		1/63	0/89	0/77	0/46	
	Respiratory Bacterial ELITe MGB	Panel non disponible		33/250	89/1178	2/549	Plus utilisé	
	Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB	Panel non disponible au CH de Valenciennes				0/83	0/251	
Total		0	0	80	139	3	0	222

Tableau 18 : Épidémiologie de *C. pneumoniae* au CH de Valenciennes issue des extractions DxLab et Glims entre 2021 et août 2026

Pour le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB, les données épidémiologiques 2023 n'incluent que les mois d'avril à décembre. Pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, les données épidémiologiques 2025 n'incluent que les mois de novembre et décembre. Pour l'année 2021, les données issues du kit Eplex Respiratory Pathogen (RP2) sont inclues dans les résultats du Qiastat-Dx Respiratory. Concernant le kit Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2, les données 2022 pour C. pneumoniae incluent les mois d'août à décembre après le lancement de la seconde version du kit.

	Kits PCR utilisés	2021	2022	2023	2024	2025	2026	Total
C. pneumoniae	Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2	Non ciblé	0/1977	1/1735	5/2088	4/1644	0/1183	20*
	FILMARRAY Pneumonia Plus	Panel non disponible		0/63	0/89	0/77	0/46	
	Respiratory Bacterial ELITe MGB	Panel non disponible		3/134	3/412	2/265	Plus utilisé	
	Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB	Panel non disponible au CH de Valenciennes				1/40	1*/184	
Total		0	0	4	8	7	1*	20*

Tableau 19 : Épidémiologie de *C. psittaci* au CH de Valenciennes issue des extractions Glims entre 2025 et août 2026

Pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, les données épidémiologiques 2025 n'incluent que les mois de novembre et décembre.

	Kits PCR utilisés	2025	2026	Total
C. psittaci	Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB	0/40	1*/184	1*
Total		0	1*	1*

Tableau 20 : Épidémiologie de *L. pneumophila* au CH de Valenciennes issue des extractions DxLab et Glims entre 2021 et août 2026

Pour le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB, les données épidémiologiques 2023 n'incluent que les mois d'avril à décembre. Pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, les données épidémiologiques 2025 n'incluent que les mois de novembre et décembre.

	Kits PCR utilisés	2021	2022	2023	2024	2025	2026	Total
L. pneumophila	Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2	0/741	2/1977	1/1735	0/2088	0/1644	3/1183	30
	FILMARRAY Pneumonia Plus	Panel non disponible		0/63	2/89	0/77	0/46	
	Respiratory Bacterial ELITe MGB	Panel non disponible		9/56	2/61	6/57	Plus utilisé	
	Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB	Panel non disponible au CH de Valenciennes				0/11	5/28	
Total		0	2	10	4	6	8	30

Tableau 21 : Épidémiologie de *Legionella* spp au CH de Valenciennes issue des extractions Glims entre 2025 et août 2026

Pour le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, les données épidémiologiques 2025 n'incluent que les mois de novembre et décembre.

	Kits PCR utilisés	2025	2026	Total
Legionella spp	Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB	0/9	0/23	0
Total		0	0	0

Tableau 22 : Antigénuries *L. pneumophila* de sérogroupe 1 positives au CH de Valenciennes entre 2017 et août 2026

De 2017 à 2021, les antigénuries du CH de Maubeuge étaient réalisées sur place et non à Valenciennes. Elles ne sont pas inclues dans cette épidémiologie.

	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	Total
Antigénurie *L. pneumophila* SG1	14/1954	14/2281	5/2422	7/3520	15/2356	19/4610	27/5409	23/6266	15/5620	39/2716	178

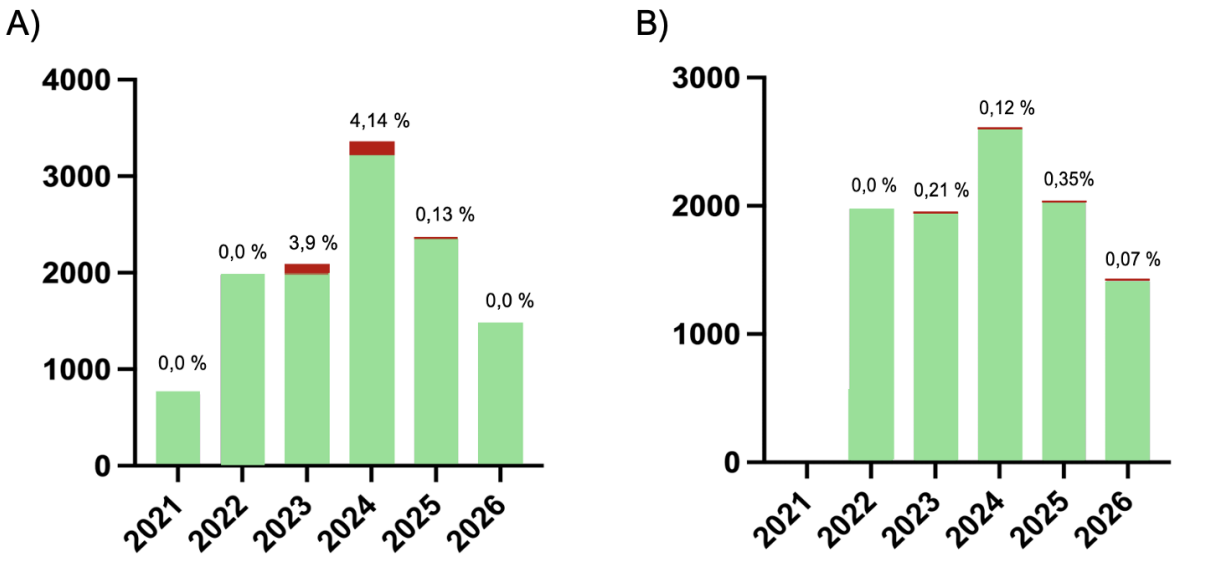


Figure 23 : Diagramme du nombre de PCR *M. pneumoniae* (A) et *C. pneumoniae* (B) positives au GCS de 2021 à 2026

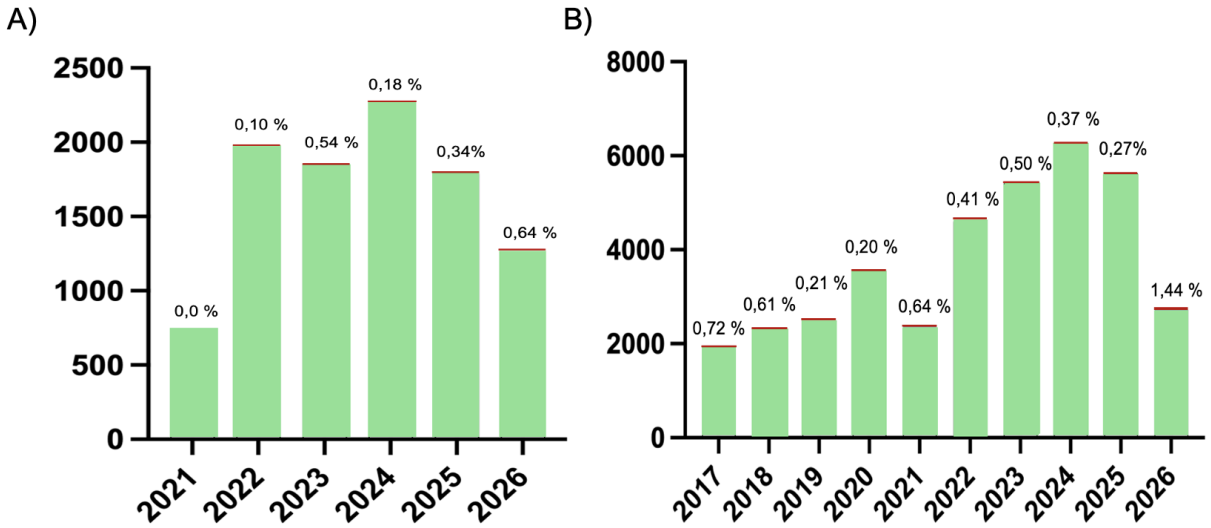


Figure 24 : Diagramme du nombre de PCR *L. pneumophila* positives au GCS de 2021 à 2026 (A) et nombre d'antigénuries *L. pneumophila* SG1 positives au GCS de 2017 à 2026 (B)

Pendant l'année 2026, le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB a détecté chez un patient de l'ADN de *Chlamydia* mais en trop faible quantité pour faire la distinction entre *C. pneumoniae* et *C. psittaci*. Le résultat « De l'ADN de *C. pneumoniae* ou l'ADN de *C. psittaci* a été détecté dans l'échantillon. La concentration est trop faible pour permettre une identification » a été rendu au clinicien sur le prélèvement d'où la présence dans les tableaux d'une étoile en 2026 pour *C. pneumoniae* et *C. psittaci*.

Au CH de Valenciennes lors de l'épidémie importante de *M. pneumoniae* entre septembre 2023 et février 2024, 80 patients ont eu une PCR *M. pneumoniae* positive sur cette période grâce aux kits Respiratory Bacterial ELITe MGB. Pendant cette période d'épidémie, 65 patients ont été testés positifs à *M. pneumoniae* par l'utilisation du panel Qiastat-Dx Respiratory SARS-CoV2 et 1 patient testé positif grâce au panel FILMARRAY Pneumonia Plus. Grâce à ces 4 méthodes PCR, 146 patients ont eu un prélèvement respiratoire avec une PCR positive à *M. pneumoniae* pendant la période épidémique de septembre 2023 à février 2024.

En 2026, de nombreux antigénuries *L. pneumophila* de SG1 ont été rendues positives au CH de Maubeuge. Ces antigénuries positives ont été confirmées par le CNR. Maubeuge est le seul centre du GCS touché par cette augmentation d'antigénuries positives, sans explication pour cette augmentation de détection localisée. Cette augmentation a été constatée par le CNR dans d'autres centres hospitaliers. Actuellement au CH de Maubeuge, il n'y a plus de nouvelle antigénurie positive.

Au CH de Valenciennes entre 2017 et août 2026, 35 patients ont eu une culture *Legionella* positive sur des prélèvements respiratoires profonds. Pour 22 patients, cette culture était positive entre 2021 et août 2026.
Parmi ces 22 patients, 18 patients ont eu une antigénurie *L. pneumophila* de SG1 positive au même moment. Pour les 4 autres patients dont la culture est positive, 2 patients ont eu une antigénurie négative et 2 les autres n'ont pas eu d'antigénurie prescrite au laboratoire.
Ces 22 patients avec une culture *Legionella* positive ont tous eu une PCR sur prélèvements respiratoires. Pour 15 d'entre eux les PCR ont été négatives : 13 PCR négatives *L. pneumophila* avec le Respiratory Bacterial ELITe MGB et 2 PCR négatives *L. pneumophila* et *Legionella* spp avec le Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB. Pour les 7 patients restants, 4 ont été testés positifs par le kit RB Bacterial ELITe MGB, 2 patients par FILMARRAY Pneumonia Plus et un patient par Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB. Chez un patient de réanimation atteint de légionellose, la culture *L. pneumophila* était positive, la PCR *L. pneumophila* était positive grâce au panel FILMARRAY Pneumonia Plus et l'antigénurie était négative. Après envoi au CNR, cette *L. pneumophila* était de sérogroupe 3.

V.II Discussions

Le premier objectif de ce travail était d'évaluer l'impact sur l'épidémiologie des PAC des bactéries atypiques responsables en se focalisant sur celles ciblées par le nouveau kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB.

La PAC est une des principales causes infectieuses de morbidité et de mortalité dans le monde avec environ 2,5 millions de décès en 2023 (1). Les taux les plus élevés sont observés dans les pays à revenu faible ou intermédiaire en raison des disparités d'accès aux soins et à la vaccination. Les populations les plus vulnérables sont les jeunes enfants, les personnes de plus de 70 ans et les individus avec des comorbidités chroniques. Sur le plan bactérien, *S. pneumoniae* reste le pathogène le plus fréquemment identifié à l'échelle mondiale, bien que sa prévalence ait diminué dans certaines régions du monde grâce à la généralisation des vaccins pneumococciques.

Contrairement au *S. pneumoniae* pouvant être diagnostiqué grâce à des prélèvements d'hémocultures, une antigénurie ou par culture sur prélèvements respiratoires, les bactéries atypiques comme *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *C. psittaci* sont identifiées par PCR. Ces méthodes PCR, simplexes ou multiplexes, sont ma méthode de référence pour poser le diagnostic d'infections respiratoires pour ces germes atypiques. La documentation de ces infections est un enjeu majeur pour une meilleure prise en charge des patients atteints de PAC. Elle peut se faire sur écouvillons nasopharyngés ou prélèvements respiratoires profonds en fonction de la gravité de l'infection respiratoire.

La PAC est la forme la plus grave des infections respiratoires provoquées par ces trois bactéries atypiques mais pas la plus fréquente. En effet, elles sont responsables majoritairement d'infections respiratoires supérieures et inférieures bénignes dans la majorité des cas. Les PAC dues à *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *C. psittaci* nécessitent rarement une prise en charge hospitalière en raison de leur faible sévérité. Cette prise en charge ambulatoire explique le biais par rapport à l'épidémiologie des PAC et l'implication de ces trois bactéries atypiques. Comme expliqué dans la partie diagnostic, d'après les recommandations de 2025 de la SPILF et de la SPLF, seules les PAC hospitalisées sont documentées par la prescription de prélèvements respiratoires, d'hémocultures ou d'antigénuries. En raison de l'absence de documentation microbiologique pour les cas ambulatoires de PAC, l'implication de ces

bactéries atypiques est sous-estimée. Comme montré dans la partie épidémiologie, *C. pneumoniae* et surtout *M. pneumoniae* sont des agents infectieux capitaux au sein de l'épidémiologie des PAC. Les études de séroprévalence en population générale ont permis d'évaluer l'exposition de la population à ces bactéries atypiques. Les enfants et adolescents entrent en contact avec *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae* au moment de leur scolarisation et le début de leur vie en communauté. Les études de séroprévalence montrent une forte exposition de ces classes d'âge à ces deux pathogènes. Ces deux bactéries faiblement contagieuses sont responsables d'épidémies en collectivités. Ce contexte d'épidémies est un signe évocateur pour le clinicien d'infection à bactérie atypique.

M. pneumoniae est responsable d'épidémie cyclique tous les 3 à 7 ans. Cette bactérie est source de manifestations extra-pulmonaires fréquentes dont les principales sont cutanées avec l'érythème polymorphe, neurologiques et hématologiques avec l'anémie hémolytique.

C. psittaci provoque majoritairement des infections bénignes mais peut être responsables de pneumonies sévères couplées à des symptômes neurologiques comme la confusion. Cette bactérie est responsable d'infections zoonotiques avec une exposition aviaire retrouvée chez presque tous les cas de psittacose ou d'ornithose. Le réservoir environnemental de *C. psittaci* ainsi que son implication dans l'épidémiologie des PAC sont difficilement quantifiables. Son impact au sein de l'épidémiologie des PAC est dure à estimer. Aucun cas de *C. psittaci* n'a été détecté bien que le territoire couvert par le GCS comprenne une forte zone agricole avec des éleveurs aviaires ainsi qu'une forte concentration de colombophiles. La fédération colombophile du Nord-Pas-de-Calais est la première de France en nombre de représentants. Cependant en 2024, de nombreux pays d'Europe déclaraient une augmentation du nombre de cas d'infections à *C. psittaci* sur leur territoire entre 2023 et début 2024. Son implication clinique est sûrement sous-estimée comme *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae* sachant que la majorité des tableaux cliniques provoqués par ces bactéries sont bénins et spontanément résolutifs.

Contrairement aux 3 précédents bactéries évoquées, *Legionella* provoque une pneumonie aigüe modérée à sévère qui provoque l'hospitalisation chez 98 % des patients atteints. L'augmentation du nombre de cas de légionellose déclarés chaque année en France est multifactorielle. Elle est due à une augmentation du nombre de

tests PCR prescrits, au réchauffement climatique selon certains auteurs et au vieillissement de la population avec l'augmentation de l'utilisation des immunosuppresseurs. La transmission environnementale de ces bactéries se fait par inhalation de microgouttelettes d'eau contenant *Legionella* sauf pour *L. longbeachae* où la transmission se fait à partir de terreaux ou de compost. *L. pneumophila* est la plus virulente de l'espèce *Legionella*. Elle est responsable de la grande majorité des cas déclarés de légionellose. Ce diagnostic de légionellose est posé dans plus de 90 % des cas grâce à l'antigénurie visant exclusivement *L. pneumophila* SG1. L'épidémiologie de la légionellose comporte donc un biais lié aux outils diagnostiques employés. Cependant ces dernières années, le nombre de diagnostics de légionellose posés grâce à l'utilisation de méthode PCR est en augmentation (81,110).

Ces méthodes PCR vont être source d'un potentiel changement dans l'épidémiologie de la légionellose. Elles permettent une augmentation des performances diagnostiques pour *L. pneumophila* d'autres sérogroupes (SG2 à SG16) et les espèces *L.* non *pneumophila*. Ces espèces *L.* non *pneumophila* sont sources d'infections surtout chez les personnes immunodéprimées en raison de leur plus faible virulence, mais également en population générale. En Australie et en Nouvelle-Zélande, *L. longbeachae* est fortement présente dans l'épidémiologie locale de la légionellose. Il n'existe pas de différence clinique entre un cas de légionellose à *L. pneumophila* et *L.* non *pneumophila* (99).

D'après les chiffres du CNR, la sensibilité des PCR *Legionella* n'est pas la même selon la nature du prélèvement respiratoire. La quantité d'ADN (et donc la sensibilité de ces PCR) est plus importante dans les LBA, puis dans les aspirations bronchiques et enfin les expectorations. La meilleure sensibilité dans les prélèvements LBA et aspirations bronchiques est liée à la sévérité de la maladie avec des quantités d'ADN plus fortes dans les cas sévères. Ce sont chez ces patients graves que les prélèvements invasifs sont réalisés ce qui contribue à augmenter leur sensibilité contrairement aux expectorations. La meilleure sensibilité des prélèvements profonds s'explique aussi par le fait que les macrophages alvéolaires sont le lieu de réplication de *Legionella*. Les expectorations ne sont pas forcément réalisées car les patients ont des toux fréquemment non productives.

Sous réserve de prélèvements respiratoires de qualité, ces infections à *L. pneumophila* d'autres sérogroupes (SG2 à SG16) et *L.* non *pneumophila* peuvent être documentées par PCR ou par culture chez les patients hospitalisés. La culture *Legionella* est plus

sensible sur les aspirations bronchiques, puis sur les LBA et enfin les expectorations. Elle est réalisée grâce à des milieux spécifiques (BCYE, BMPA, …) et peut être positive malgré la mise en place d'une antibiothérapie ciblant les bactéries atypiques, avec une positivité jusqu'à 30 jours après dans les cas sévères afin d'envoyer les souches cliniques au CNR. Le CNR *Legionella* peut également documenter l'infection directement à partir des prélèvements respiratoires envoyés grâce à ses techniques de séquençage.
D'après les recommandations du CNR, associer un prélèvement respiratoire profond à une antigénurie *Legionella* semble la méthode la plus adaptée pour diagnostiquer la légionellose en 1ère intention (81).

Le deuxième objectif de ce travail était d'évaluer l'impact de l'épidémie de SARS-Cov2 sur ces bactéries atypiques responsables de PAC. Comme montré dans la partie épidémiologie de cette thèse, la pandémie Covid-19 a eu un fort impact sur l'épidémiologie des PAC. Les périodes de confinement ainsi que les mesures comme le port du masque, la distanciation sociale ou l'hygiène renforcée des mains ont entraîné la disparation des bactéries atypiques de *M. pneumoniae* et *C. pneumoniae* de l'épidémiologie des PAC en 2021 et 2022. En 2023, de nouveaux cas d'infections respiratoires pour ces 2 bactéries ont été diagnostiquées. De septembre 2023 à février 2024, une grosse épidémie d'infections à *M. pneumoniae* a eu lieu en France et dans d'autres différents pays du monde avec de nombreux cas graves chez les adultes. L'étude MYCADO faite dans 74 hôpitaux français documente 1309 cas d'infections à *M. pneumoniae* lors de cette période épidémique, avec une gravité importante des infections respiratoires. Au cours de cette épidémie, 31,7 % des patients ont été admis en unité de soins intensifs (32).
Nos extractions de données faites à Valenciennes confirment bien la disparition en 2021 et 2022 de *M. pneumoniae* et *C. pneumoniae* de l'épidémiologie des PAC, ainsi qu'une forte détection de *M. pneumoniae* lors de l'épidémie fin 2023 – début 2024.

Le troisième objectif de ce travail était d'évaluer les performances de ce kit afin de réaliser son DVM. Ce kit a été mis en place au CH de Valenciennes depuis le 03/11/2025 sur automate ELITe InGenius. Il remplace le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB permettant d'ajouter les cibles *C. psittaci* et *Legionella* spp. De nombreux tests ont déjà été faits pour le DVM du premier kit et n'ont pas été refaits vu qu'il

correspond à un changement de réactif et non un changement de méthode. Le panel Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB est utilisé en routine depuis début novembre 2025 et a montré des résultats concordants avec le précédent kit lors de la première comparaison de méthode. Un certain nombre de tests reste à réaliser comme la fidélité intermédiaire pour la cible *C. psittaci*, dû à la fiable quantité de matériel génétique de *C. psittaci* à disposition.

A Valenciennes, le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB est utilisé comme le précédent kit sur l'automate ELITe InGenius. Le kit Respiratory Bacterial ELITe MGB avait été utilisé tous les jours lors de l'épidémie de *M. pneumoniae*, y compris le week-end. En cas de demande, le nouveau kit est utilisé plusieurs fois par semaine.

Très peu de panels PCR disponibles sur le marché ciblent toutes les espèces *Legionella*. C'est un réel intérêt du kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB.

Le gène ssrA chez *Legionella* est la cible moléculaire utilisée pour détecter la présence de l'espèce *Legionella* spp dans le kit. Il code pour un ARN messager-transfert (tmRNA) indispensable à la survie de la bactérie. Il est présent chez toutes les espèces Legionella. D'après la fiche fournisseur fournie par ELITech, en raison de mésappariements nucléotidiques dans les zones de fixation des amorces, la PCR ne parvient pas à amplifier ni à détecter le gène chez des espèces plus distantes phylogénétiquement comme *L. micdadei, L. feeleii, L. jordanis et L. oakridgensis*. Ces dernières sont très peu présentes dans l'épidémiologie de la légionellose et des données issues du CNR *Legionella* sauf quelques infections chez l'immunodéprimé (81,83,110). En plus de ces 4 espèces, *L. macaechernii* n'est pas détectée d'après les données du CNR.

Au laboratoire de Valenciennes, le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB est utilisé sur les expectorations, aspirations bronchiques, les LBA et les écouvillons nasopharyngés. Les demandes de recherches PCR *Legionella* sur écouvillon nasopharyngé ne sont pas enregistrées au laboratoire en raison du manque de sensibilité sur ce prélèvement.

Les co-infections *L. pneumophila* et *L.* non *pneumophila* ne peuvent être documentées par le kit PCR dans le canal Leg. Bien que les deux espèces soient positives, leur distinction n'est pas possible. Le gène ssrA de *L. pneumophila* présente deux pics de température de fusion, tandis que le gène ssrA de *Legionella* spp n'en présente qu'un seul et celui-ci se superpose à l'un des deux pics de Tm de *L. pneumophila*. Le résultat

sera rendu positif à *L. pneumophila*, espèce la mieux connue en clinique et la plus virulente sachant que cela n'aura aucun impact sur la prise en charge thérapeutique.

Le kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB est un des rares kit sur le marché à cibler *C. psittaci*. Concernant cette cible *C. psittaci*, celle-ci peut avoir des réactions croisées avec *C. abortus, C. felis* et *C. caviae*. Très peu de zoonoses et d'infections respiratoires basses sont dues à *C. abortus, C. felis* et *C. caviae* (50,51). Les présentations cliniques des infections respiratoires dues à *C. psittaci* et à ces 3 autres bactéries sont similaires et le traitement antibiotique est identique. Tout prélèvement respiratoire avec un résultat positif pour *C. psittaci* à Valenciennes doit être envoyé au laboratoire national de référence des zoonoses bactériennes appartenant à l'ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, environnement et travail) à Maisons-Alfort. Cet envoi permettra de différencier *C. psittaci* des 3 autres espèces de *Chlamydia* sources de faux positifs (149).

En France comme à l'international, le recours aux méthodes PCR pour les PAC prises en charge en ambulatoire n'est pas recommandé. Cette cohérence reflète une stratégie visant à éviter les tests inutiles ou coûteux dans les cas moins sévères. Pour les PAC hospitalisées non graves, il est recommandé de réaliser un test PCR « quadriplex » en première intention ciblant le VRS, le SARS-Cov2, le virus de la grippe A et le virus de la grippe B. En cas de PAC grave, il est recommandé de prescrire le test « quadriplex » et si celui-ci est négatif, de faire le panel FILMARRAY Respiratory 2.1 *plus* de Biofire. Ce dernier, cible des bactéries atypiques dont *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae*. Dans les cas de PAC en réanimation, il est recommandé d'emblée de faire la PCR « quadriplex » et le panel FILMARRAY Pneumonia Plus (150,151).

En cas de contextes évocateurs d'infections à bactéries atypiques (manifestations extra-pulmonaires, périodes épidémiques, cas dans l'entourage, échec à 48h d'un traitement bien conduit aux bêtalactamines…), il est possible de rechercher ces bactéries atypiques Indépendamment de la gravité de ces PAC hospitalisées. La mise en évidence par PCR sur prélèvement respiratoire de *M. pneumoniae* ou *C. pneumoniae* grâce au kit ne permet pas de faire la distinction entre portage asymptomatique et infection. Ces deux bactéries peuvent coloniser de manière

chronique les voies respiratoires rendant difficile l'interprétation d'un résultat PCR sans signes cliniques associés. La distinction entre l'infection et portage asymptomatique se fera grâce à la clinique et à l'imagerie.

Tout résultat de PCR positive *Legionella* doit être confronté à la clinique et à la cohérence du dossier. Une PCR positive sur prélèvement respiratoire profond suffit à poser le diagnostic de légionellose en raison de son excellente spécificité. Un résultat faiblement positif de PCR peut être dû à une amplification non spécifique avec des cas déjà décrits par le CNR *Legionella*.

VI. Conclusion

Ce travail a permis de dresser un état des lieux de l'épidémiologie des infections respiratoires et PAC à bactéries atypiques au CH de Valenciennes. Cette épidémiologie a été bouleversée par la pandémie de COVID-19 puis par l'épidémie de *M. pneumoniae* de septembre 2023 à février 2024. Ce travail souligne le rôle croissant de la PCR dans le diagnostic des PAC et de la légionellose. Cet outil diagnostic en complément de l'antigénurie va permettre un gain de sensibilité pour le diagnostic d'infections à *L. pneumophila* de sérogroupes non-SG1 et les espèces *L.* non *pneumophila*. L'évaluation du kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB montre des performances satisfaisantes et concordantes avec la méthode précédente. L'ajout des cibles *C. psittaci* et *Legionella* spp élargit le spectre diagnostique pour les infections respiratoires au laboratoire. Ces résultats confortent l'intérêt d'une diversification des outils moléculaires pour mieux documenter ces infections respiratoires à bactéries atypiques sous-diagnostiquées.

VI. Bibliographie

1. Sirota SB, Bender RG, Dominguez RMV, Movo A, Swetschinski LR, Araki DT, et al. Global burden of lower respiratory infections and aetiologies, 1990–2023: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2023. The Lancet Infectious Diseases. 15 déc 2025. doi:10.1016/S1473-3099(25)00689-9

2. item_154_INFECTIONS RESPIRATOIRES [Internet]. [cité 13 déc 2025]. Disponible sur: https://cep.splf.fr/wp-content/uploads/2023/07/ITEM_154_INFECTIONS_RESPIRATOIRES_2023.pdf

3. Wang B, Zhang T, Yi L, Wu Y, Yu H, Liu X, et al. Incidence of community-acquired pneumonia among adults between 2016 and 2023: an observational cohort study. Epidemiol Infect. 6 janv 2026;154:e15. doi:10.1017/S0950268825100897 PubMed PMID: 41491926; PubMed Central PMCID: PMC12835933.

4. Reyes LF, Conway Morris A, Serrano-Mayorga C, Derde LPG, Dickson RP, Martin-Loeches I. Community-acquired pneumonia. The Lancet. 15 nov 2025;406(10517):2371-88. doi:10.1016/S0140-6736(25)01493-X

5. Montpellier CHU de. CHU de Montpellier : Site Internet [Internet]. [cité 29 juin 2026]. Le pneumocoque. Disponible sur: https://www.chu-montpellier.fr/fr/vaccination/histoire-des-epidemes-et-de-la-vaccination/le-pneumocoque

6. Watson DA, Musher DM, Jacobson JW, Verhoef J. A brief history of the pneumococcus in biomedical research: a panoply of scientific discovery. Clin Infect Dis. nov 1993;17(5):913-24. doi:10.1093/clinids/17.5.913 PubMed PMID: 8286641.

7. Actualisation des recommandations de prise en charge des pneumonies aiguës communautaires chez l'adulte – Société de Pneumologie de Langue Française [Internet]. [cité 14 mars 2026]. Disponible sur: https://splf.fr/actualisation-des-recommandations-de-prise-en-charge-des-pneumonies-aigues-communautaires-chez-ladulte/

8. CHAPITRE 59 - Item 154 – Pneumonies aiguës communautaires | Collège National des Pédiatres Universitaires (CNPU) [Internet]. [cité 3 juill 2026]. Disponible sur: https://www.pedia-univ.fr/deuxieme-cycle/referentiel/pneumologie-cardiologie/pneumonies-aigues-communautaires

9. Vaccins d'hier à aujourd'hui [Internet]. 2023 [cité 29 juin 2026]. Disponible sur: https://vaccination-info-service.fr/Generalites-sur-les-vaccinations/Histoire-de-la-vaccination/Vaccins-d-hier-a-aujourd-hui

10. Georgakopoulou VE, Lempesis IG, Tarantinos K, Sklapani P, Trakas N, Spandidos DA. Atypical pneumonia (Review). Exp Ther Med. nov 2024;28(5):424. doi:10.3892/etm.2024.12713 PubMed PMID: 39301259; PubMed Central PMCID: PMC11412103.

11. Garin N, Marti C, Skali Lami A, Prendki V. Atypical Pathogens in Adult Community-Acquired Pneumonia and Implications for Empiric Antibiotic Treatment: A Narrative Review. Microorganisms. 24 nov 2022;10(12):2326. doi:10.3390/microorganisms10122326 PubMed PMID: 36557579; PubMed Central PMCID: PMC9783917.

12. Georgakopoulou VE, Lempesis IG, Tarantinos K, Sklapani P, Trakas N, Spandidos DA. Atypical pneumonia (Review). Exp Ther Med. nov 2024;28(5):424. doi:10.3892/etm.2024.12713 PubMed PMID: 39301259; PubMed Central PMCID: PMC11412103.

13. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, et al. Legionnaires' Disease. New England Journal of Medicine. 1 déc 1977;297(22):1189-97. doi:10.1056/NEJM197712012972201

14. Microsoft PowerPoint - anat respi MKI 01 - Mode de compatibilité [Internet]. [cité 17 mars 2026]. Disponible sur: https://www.delplanque-formation.com/Files/anat_respi_mki_01__mode_de_compatibilite_.pdf

15. Marcello E, Chiono V. Biomaterials-Enhanced Intranasal Delivery of Drugs as a Direct Route for Brain Targeting. International Journal of Molecular Sciences. 8 févr 2023;24:3390. doi:10.3390/ijms24043390

16. Universalis E. Encyclopædia Universalis [Internet]. 2025 [cité 4 mars 2026]. RESPIRATOIRE (APPAREIL) - Anatomie : L'épithélium des voies respiratoires | Sciences de la vie. Disponible sur: https://www.universalis.fr/encyclopedie/respiratoire-appareil-anatomie/4-l-epithelium-des-voies-respiratoires/

17. Bals R, Weiner DJ, Wilson JM. The innate immune system in cystic fibrosis lung disease [Internet]. American Society for Clinical Investigation; 1999 [cité 17 mars 2026]. Disponible sur: https://www.jci.org/articles/view/6277/figure/1 doi:10.1172/JCI6277

18. Morris DE, Cleary DW, Clarke SC. Secondary Bacterial Infections Associated with Influenza Pandemics. Front Microbiol. 23 juin 2017;8:1041. doi:10.3389/fmicb.2017.01041 PubMed PMID: 28690590; PubMed Central PMCID: PMC5481322.

19. HS - Voies aériennes profondes [Internet]. [cité 4 août 2026]. Disponible sur: https://www.histology.be/atlas/HSH/general/right/HS-ARS-VAerProf.htm

20. Institut Pasteur [Internet]. 2015 [cité 17 mars 2026]. Mucoviscidose. Disponible sur: https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/mucoviscidose

21. Kenhub [Internet]. [cité 17 mars 2026]. Alvéoles pulmonaires. Disponible sur: https://www.kenhub.com/fr/library/anatomie/alveoles-pulmonaires

22. Roux AL, Paré HA. Infec&ons broncho-pulmonaires : Du prélèvement au diagnos&c au laboratoire.

23. Dahyot S, Lemee L, Pestel-Caron M. Description et place des techniques bactériologiques dans la prise en charge des infections pulmonaires. Rev Mal

Respir. déc 2017;34(10):1098-113. doi:10.1016/j.rmr.2016.07.007 PubMed PMID: 28688757; PubMed Central PMCID: PMC7134997.

24. Bouiller K, Zeggay A, Gbaguidi-Haore H, Hocquet D, Chirouze C, Bertrand X. Epidemiology and risk factors of nasal carriage of Staphylococcus aureus CC398 in two distinct cohorts in France. Front Microbiol. 20 déc 2022;13. doi:10.3389/fmicb.2022.1068420

25. Cavallo JD, Koeck JL, Marsan P, Lucas D, Verret C, Roman O, et al. Portage nasal de Staphylococcusaureus chez des jeunes incorporés de la marine nationale.

26. Christensen H, May M, Bowen L, Hickman M, Trotter CL. Meningococcal carriage by age: a systematic review and meta-analysis. The Lancet Infectious Diseases. 1 déc 2010;10(12):853-61. doi:10.1016/S1473-3099(10)70251-6

27. Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A, Bossley C, et al. Disordered Microbial Communities in Asthmatic Airways. PLoS One. 5 janv 2010;5(1):e8578. doi:10.1371/journal.pone.0008578 PubMed PMID: 20052417; PubMed Central PMCID: PMC2798952.

28. Vong O. Le microbiote pulmonaire, un enjeu récent en microbiologie médicale. Société Française de Microbiologie [Internet]. 10 juin 2020 [cité 30 juin 2026]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/2020/06/10/9870/

29. Lecuit M, Eloit M. The human virome: new tools and concepts. Trends Microbiol. oct 2013;21(10):510-5. doi:10.1016/j.tim.2013.07.001 PubMed PMID: 23906500; PubMed Central PMCID: PMC7172527.

30. Girija ASS, Ganesh PS. Functional biomes beyond the bacteriome in the oral ecosystem. Jpn Dent Sci Rev. nov 2022;58:217-26. doi:10.1016/j.jdsr.2022.05.002 PubMed PMID: 35814739; PubMed Central PMCID: PMC9260289.

31. pilly-2023-item-154.pdf [Internet]. [cité 13 déc 2025]. Disponible sur: https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/pilly-etudiant/items-edition-2023/pilly-2023-item-154.pdf

32. Gavaud A, Holub M, Asquier-Khati A, Faure K, Leautez-Nainville S, Le Moal G, et al. *Mycoplasma pneumoniae* infection in adult inpatients during the 2023–24 outbreak in France (MYCADO): a national, retrospective, observational study. The Lancet Infectious Diseases. 1 juill 2025;25(7):801-12. doi:10.1016/S1473-3099(24)00805-3

33. Pereyre S, Tardy F. Integrating the Human and Animal Sides of Mycoplasmas Resistance to Antimicrobials. Antibiotics (Basel). 7 oct 2021;10(10):1216. doi:10.3390/antibiotics10101216 PubMed PMID: 34680797; PubMed Central PMCID: PMC8532757.

34. Dumke R. Infektionen mit den humanpathogenen Mykoplasmenspezies M. genitalium und M. pneumoniae. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2025;68(8):932-9.

doi:10.1007/s00103-025-04052-2 PubMed PMID: 40355732; PubMed Central PMCID: PMC12287123.

35. Traitement curatif des personnes infectées par Mycoplasma genitalium.

36. Horner P, Donders G, Cusini M, Gomberg M, Jensen JS, Unemo M. Should we be testing for urogenital Mycoplasma hominis, Ureaplasma parvum and Ureaplasma urealyticum in men and women? - a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. J Eur Acad Dermatol Venereol. nov 2018;32(11):1845-51. doi:10.1111/jdv.15146 PubMed PMID: 29924422.

37. Su CJ, Baseman JB. Genome size of Mycoplasma genitalium. J Bacteriol. août 1990;172(8):4705-7. doi:10.1128/jb.172.8.4705-4707.1990 PubMed PMID: 2115876; PubMed Central PMCID: PMC213309.

38. Waites KB, Talkington DF. Mycoplasma pneumoniae and Its Role as a Human Pathogen. Clin Microbiol Rev. oct 2004;17(4):697-728. doi:10.1128/CMR.17.4.697-728.2004 PubMed PMID: 15489344; PubMed Central PMCID: PMC523564.

39. Xiu F, Li X, Liu L, Xi Y, Yi X, Li Y, et al. Mycoplasma invasion into host cells: An integrated model of infection strategy. Molecular Microbiology. 2024;121(4):814-30. doi:10.1111/mmi.15232

40. Dallo SF, Su CJ, Horton JR, Baseman JB. Identification of P1 gene domain containing epitope(s) mediating Mycoplasma pneumoniae cytoadherence. J Exp Med. 1 févr 1988;167(2):718-23. doi:10.1084/jem.167.2.718 PubMed PMID: 2450165; PubMed Central PMCID: PMC2188860.

41. Microsoft Word - BACTERIE_Mycoplasma_pneumoniae.docx [Internet]. [cité 31 mars 2026]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Mycoplasma_pneumoniae.pdf

42. Atkinson TP, Balish MF, Waites KB. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of Mycoplasma pneumoniae infections. FEMS Microbiol Rev. 1 nov 2008;32(6):956-73. doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00129.x

43. Dumke R, Jacobs E. Antibody Response to Mycoplasma pneumoniae: Protection of Host and Influence on Outbreaks? Front Microbiol. 26 janv 2016;7. doi:10.3389/fmicb.2016.00039

44. Esposito S, Cavagna R, Bosis S, Droghetti R, Faelli N, Principi N. Emerging role of Mycoplasma pneumoniae in children with acute pharyngitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. août 2002;21(8):607-10. doi:10.1007/s10096-002-0780-7 PubMed PMID: 12226692.

45. Liu Y, Wang Y, Zhang C, Luo X, Zhang Z, Hu X, et al. Seroepidemiological survey of Mycoplasma pneumoniae in children aged 0–6 years in Huzhou city (October–December 2023): a seasonal cross-sectional study. Front Pediatr. 13:1607910. doi:10.3389/fped.2025.1607910 PubMed PMID: 41425882; PubMed Central PMCID: PMC12711775.

46. Meyer Sauteur PM, Unger WWJ, Nadal D, Berger C, Vink C, van Rossum AMC. Infection with and Carriage of Mycoplasma pneumoniae in Children. Front Microbiol. 23 mars 2016;7:329. doi:10.3389/fmicb.2016.00329 PubMed PMID: 27047456; PubMed Central PMCID: PMC4803743.

47. Jain S, Self WH, Wunderink RG, Fakhran S, Balk R, Bramley AM, et al. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults. New England Journal of Medicine. 30 juill 2015;373(5):415-27. doi:10.1056/NEJMoa1500245

48. Nguyen AD, Stamm DR, Stankewicz HA. Atypical Bacterial Pneumonia. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [cité 19 févr 2026]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532239/ PubMed PMID: 30335272.

49. Larquey M, Mahé E. Érythème polymorphe postinfectieux de l'enfant. Archives de Pédiatrie. 1 nov 2016;23(11):1184-90. doi:10.1016/j.arcped.2016.08.004

50. Hughes L, Visser S, Heddema E, de Smet N, Linssen T, Wijdh RJ, et al. Zoonotic transmission of Chlamydia felis from domestic cats; A case series of chronic follicular conjunctivitis in humans. New Microbes New Infect. juin 2024;59:101412. doi:10.1016/j.nmni.2024.101412 PubMed PMID: 38660577; PubMed Central PMCID: PMC11040131.

51. Ramakers BP, Heijne M, Lie N, Le TN, Vliet M van, Claessen VPJ, et al. Zoonotic Chlamydia caviae Presenting as Community-Acquired Pneumonia. New England Journal of Medicine. 7 sept 2017;377(10):992-4. doi:10.1056/NEJMc1702983

52. Murthy AK, Li W, Ramsey KH. Immunopathogenesis of Chlamydial Infections. Curr Top Microbiol Immunol. 2018;412:183-215. doi:10.1007/82_2016_18 PubMed PMID: 27370346; PubMed Central PMCID: PMC6086136.

53. Hygiène, prévention et contrôle de l'infection [Internet]. 2026 [cité 28 juin 2026]. Pneumonie à Chlamydia pneumoniae. Disponible sur: https://www.hpci.ch/microorganisme/pneumonie-a-chlamydia-pneumoniae/chuv-psychiatrie

54. Psittacosis – European region [Internet]. [cité 23 juill 2026]. Disponible sur: https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON509

55. Généralités sur les Chlamydia - [Internet]. [cité 19 févr 2026]. Disponible sur: https://microbiologiemedicale.fr/chlamydia/

56. Elwell C, Mirrashidi K, Engel J. Chlamydia cell biology and pathogenesis. Nat Rev Microbiol. juin 2016;14(6):385-400. doi:10.1038/nrmicro.2016.30 PubMed PMID: 27108705; PubMed Central PMCID: PMC4886739.

57. Bastidas RJ, Elwell CA, Engel JN, Valdivia RH. Chlamydial Intracellular Survival Strategies. Cold Spring Harb Perspect Med. mai 2013;3(5):a010256. doi:10.1101/cshperspect.a010256 PubMed PMID: 23637308; PubMed Central PMCID: PMC3633179.

58. Yang S, Zeng J, Yu J, Sun R, Tuo Y, Bai H. Insights into Chlamydia Development and Host Cells Response. Microorganisms. 26 juin 2024;12(7). doi:10.3390/microorganisms12071302

59. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston JT. Chlamydia pneumoniae (TWAR). Clinical Microbiology Reviews. oct 1995;8(4):451-61. doi:10.1128/cmr.8.4.451

60. Marrie TJ. Community-Acquired Pneumonia. Clin Infect Dis. 1 avr 1994;18(4):501-15. doi:10.1093/clinids/18.4.501

61. Grayston JT. Infections caused by Chlamydia pneumoniae strain TWAR. Clin Infect Dis. nov 1992;15(5):757-61. doi:10.1093/clind/15.5.757 PubMed PMID: 1445972.

62. Canada A de la santé publique du. Chlamydophila pneumoniae : Fiche technique santé sécurité : agents pathogènes [ensembles de données] [Internet]. 2025 [cité 28 juin 2026]. Disponible sur: https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/chlamydophila-pneumoniae.html

63. Miyashita N, Niki Y, Nakajima M, Fukano H, Matsushima T. Prevalence of asymptomatic infection with Chlamydia pneumoniae in subjectively healthy adults. Chest. mai 2001;119(5):1416-9. doi:10.1378/chest.119.5.1416 PubMed PMID: 11348947.

64. Keše D, Čižman M, Marin J. CHLAMYDIA PNEUMONIAE – THE PREVALENCE OF ANTIBODIES IN HEALTHY POPULATION AND IN PATIENTS WITH COMMUNITY ACQUIRED PNEUMONIA. Slovenian Medical Journal [Internet]. 2001 [cité 28 juin 2026];70(6). Disponible sur: https://vestnik.szd.si/index.php/ZdravVest/article/view/2567

65. Cui J, Yan W, Xie H, Xu S, Wang Q, Zhang W, et al. A retrospective seroepidemiologic survey of Chlamydia pneumoniae infection in patients in Beijing between 2008 and 2017. PLoS One. 2018;13(11):e0206995. doi:10.1371/journal.pone.0206995 PubMed PMID: 30403740; PubMed Central PMCID: PMC6221324.

66. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston JT. Chlamydia pneumoniae (TWAR). Clinical Microbiology Reviews. oct 1995;8(4):451-61. doi:10.1128/cmr.8.4.451

67. Kalayoglu MV, Libby P, Byrne GI. Chlamydia pneumoniae as an Emerging Risk Factor in Cardiovascular Disease. JAMA. 4 déc 2002;288(21):2724-31. doi:10.1001/jama.288.21.2724

68. Tagini F, Uldum SA, Berengua C, Ivan B, Capaul R, Edouard S, et al. Epidemiological changes in Chlamydia pneumoniae molecular detections before, during and after the COVID-19 pandemic in 27 European sites and Taiwan, 2018 to 2023. Euro Surveill. 12 juin 2025;30(23):2400682. doi:10.2807/1560-7917.ES.2025.30.23.2400682 PubMed PMID: 40511472; PubMed Central PMCID: PMC12164279.

69. Megran D, Peeling RW, Marrie TJ. Chlamydia pneumoniae pneumonia: An evolving clinical spectrum. Can J Infect Dis. 1995;6(4):191-5.

doi:10.1155/1995/574107 PubMed PMID: 22514396; PubMed Central PMCID: PMC3327926.

70. Weston KM, Polkinghorne A, Branley JM. Psittacosis contagion in 1930: an old story in a new era of zoonotic disease. Microbes Infect. mai 2023;25(4):105076. doi:10.1016/j.micinf.2022.105076 PubMed PMID: 36372317; PubMed Central PMCID: PMC9650517.

71. Ornithose - Psittacose - Fiche - INRS [Internet]. [cité 23 juill 2026]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/media.html?refINRS=ZO%2023

72. Kasimov V, Dong Y, Shao R, Brunton A, Anstey SI, Hall C, et al. Emerging and well-characterized chlamydial infections detected in a wide range of wild Australian birds. Transboundary and Emerging Diseases. 2022;69(5):e3154-70. doi:10.1111/tbed.14457

73. Kowalczyk K, Wójcik-Fatla A. Chlamydia psittaci in Faecal Samples of Feral Pigeons (Columba livia forma urbana) in Urban Areas of Lublin city, Poland. Curr Microbiol. 17 oct 2022;79(12):367. doi:10.1007/s00284-022-03072-4

74. Wang J, Wang B, Xiao J, Chen Y, Wang C. Chlamydia psittaci: A zoonotic pathogen causing avian chlamydiosis and psittacosis. Virulence. 15(1):2428411. doi:10.1080/21505594.2024.2428411 PubMed PMID: 39541409; PubMed Central PMCID: PMC11622591.

75. Outbreak of psittacosis in a group of women exposed to chlamydia psittaci-infected chickens | Santé publique France [Internet]. 2015 [cité 23 juill 2026]. Disponible sur: https://www.santepubliquefrance.fr/docs/article/outbreak-psittacosis-a-group-women-exposed-chlamydia-psittaci-infected-chickens

76. Wallensten A, Fredlund H, Runehagen A. Multiple human-to-human transmission from a severe case of psittacosis, Sweden, January–February 2013. Eurosurveillance. 23 oct 2014;19(42):20937. doi:10.2807/1560-7917.ES2014.19.42.20937

77. Dembek Z, Mothershead J, Owens A, Chekol T, Wu A. Psittacosis: An Underappreciated and Often Undiagnosed Disease. Pathogens. 15 sept 2023;12:1165. doi:10.3390/pathogens12091165

78. Carrer M, Favarel-Garrigues M, Mehlen M, Nicol T, Schramm F, Guillouzouic A, et al. Neuro-pneumopathies sévères : quand penser à.

79. Zhu C, Ye T, Ye C, Xu M, He Y, Wang D, et al. Clinical characteristics of Chlamydia psittaci pneumonia: a single-center, retrospective study over 5 years. BMC Infect Dis. 16 août 2025;25:1027. doi:10.1186/s12879-025-11450-z PubMed PMID: 40819069; PubMed Central PMCID: PMC12358061.

80. Knittler MR, Sachse K. Chlamydia psittaci: update on an underestimated zoonotic agent. Pathog Dis. 1 févr 2015;73(1):1-15. doi:10.1093/femspd/ftu007

81. Jarraud S. Actualités sur la maladie des légionnaires.

82. Cattan S, Thizy G, Michon A, Arlet JB, Lanternier F, Lebeaux D, et al. Actualités sur les infections à *Legionella*. La Revue de Médecine Interne. 1 déc 2019;40(12):791-8. doi:10.1016/j.revmed.2019.08.007

83. REPLAY - Le Remic's - Legionella. Société Française de Microbiologie [Internet]. [cité 25 juin 2026]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/replay-le-remics-legionella/

84. Taylor M, Ross K, Bentham R. Legionella, Protozoa, and Biofilms: Interactions Within Complex Microbial Systems. Microb Ecol. 1 oct 2009;58(3):538-47. doi:10.1007/s00248-009-9514-z

85. Philippe C, Blech MF, Hartemann P. Multiplication intra-amibienne de *Legionella pneumophila* et rôle potentiel des amibes dans la transmission de la légionellose. Médecine et Maladies Infectieuses. 1 avr 2006;36(4):196-200. doi:10.1016/j.medmal.2005.10.010

86. Jamilloux Y, Jarraud S, Lina G, Etienne J, Ader F. Legionella, légionellose. Med Sci (Paris). 1 juin 2012;28(6-7):639-45. doi:10.1051/medsci/2012286018

87. Newton HJ, Ang DKY, van Driel IR, Hartland EL. Molecular Pathogenesis of Infections Caused by Legionella pneumophila. Clin Microbiol Rev. avr 2010;23(2):274-98. doi:10.1128/CMR.00052-09 PubMed PMID: 20375353; PubMed Central PMCID: PMC2863363.

88. Rowbotham TJ. Preliminary report on the pathogenicity of Legionella pneumophila for freshwater and soil amoebae. J Clin Pathol. déc 1980;33(12):1179-83. doi:10.1136/jcp.33.12.1179 PubMed PMID: 7451664; PubMed Central PMCID: PMC1146371.

89. Barbaree JM, Fields BS, Feeley JC, Gorman GW, Martin WT. Isolation of protozoa from water associated with a legionellosis outbreak and demonstration of intracellular multiplication of Legionella pneumophila. Applied and Environmental Microbiology. févr 1986;51(2):422-4. doi:10.1128/aem.51.2.422-424.1986

90. Breiman RF, Fields BS, Sanden GN, Volmer L, Meier A, Spika JS. Association of Shower Use With Legionnaires' Disease: Possible Role of Amoebae. JAMA. 6 juin 1990;263(21):2924-6. doi:10.1001/jama.1990.03440210074036

91. Microsoft Word - BACTERIE_Legionellose.docx [Internet]. [cité 27 févr 2026]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Legionellose.pdf

92. Légionellose (Maladie du légionnaire) | Direction régionale de santé publique de Montréal [Internet]. [cité 29 juin 2026]. Disponible sur: https://santepubliquemontreal.ca/professionnels-et-partenaires/thematiques-de-sante-publique/legionellose-maladie-du-legionnaire

93. Królicka AL, Kruczkowska A, Krajewska M, Kusztal MA. Hyponatremia in Infectious Diseases—A Literature Review. Int J Environ Res Public Health. août 2020;17(15):5320. doi:10.3390/ijerph17155320 PubMed PMID: 32718076; PubMed Central PMCID: PMC7432506.

94. Legionella_Rapport activites 2024_VF.pdf [Internet]. [cité 30 mars 2026]. Disponible sur: https://www.chu-lyon.fr/sites/default/files/Legionella_Rapport%20activites%202024_VF.pdf

95. Nucleotide sequence analysis of the Legionella micdadei mip gene, encoding a 30-kilodalton analog of the Legionella pneumophila Mip protein | Infection and Immunity [Internet]. [cité 23 juill 2026]. Disponible sur: https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.59.10.3836-3840.1991

96. Cianciotto N, Bangsborg J, Eisenstein B, Engleberg C. Identification of mip-like genes in the genus Legionella. Infection and immunity. 1 oct 1990;58:2912-8. doi:10.1128/IAI.58.9.2912-2918.1990

97. Chauhan D, Shames SR. Pathogenicity and Virulence of Legionella: Intracellular replication and host response. Virulence. 12(1):1122-44. doi:10.1080/21505594.2021.1903199 PubMed PMID: 33843434; PubMed Central PMCID: PMC8043192.

98. Chambers ST, Slow S, Scott-Thomas A, Murdoch DR. Legionellosis Caused by Non-Legionella pneumophila Species, with a Focus on Legionella longbeachae. Microorganisms. 31 janv 2021;9(2):291. doi:10.3390/microorganisms9020291 PubMed PMID: 33572638; PubMed Central PMCID: PMC7910863.

99. Priest PC, Slow S, Chambers ST, Cameron CM, Balm MN, Beale MW, et al. The burden of Legionnaires' disease in New Zealand (LegiNZ): a national surveillance study. Lancet Infect Dis. juill 2019;19(7):770-7. doi:10.1016/S1473-3099(19)30113-6 PubMed PMID: 31196812.

100. Neuville DM, Rondinaud DE, Bernard HBC. Infections respiratoires – ECBC & PCR multiplex : comprendre, choisir, interpréter. Streptococcus pneumoniae.

101. Shoar S, Musher DM. Etiology of community-acquired pneumonia in adults: a systematic review. Pneumonia (Nathan). 5 oct 2020;12:11. doi:10.1186/s41479-020-00074-3 PubMed PMID: 33024653; PubMed Central PMCID: PMC7533148.

102. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 3 juill 2026]. Choix et durées d'antibiothérapies : Pneumonie Aiguë Communautaire de l'adulte en ambulatoire. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3575597/fr/choix-et-durees-d-antibiotherapies-pneumonie-aigue-communautaire-de-l-adulte-en-ambulatoire

103. Infections à pneumocoques [Internet]. 2026 [cité 29 juin 2026]. Disponible sur: https://vaccination-info-service.fr/Les-maladies-et-leurs-vaccins/Infections-a-pneumocoques

104. Meyer Sauteur PM, Beeton ML, Uldum SA, Bossuyt N, Vermeulen M, Loens K, et al. Mycoplasma pneumoniae detections before and during the COVID-19 pandemic: results of a global survey, 2017 to 2021. Euro Surveill. 12 mai 2022;27(19):2100746. doi:10.2807/1560-7917.ES.2022.27.19.2100746 PubMed PMID: 35551702; PubMed Central PMCID: PMC9101966.

105. HOGERWERF L, DE GIER B, BAAN B, VAN DER HOEK W. Chlamydia psittaci (psittacosis) as a cause of community-acquired pneumonia: a systematic review

and meta-analysis. Epidemiol Infect. nov 2017;145(15):3096-105. doi:10.1017/S0950268817002060 PubMed PMID: 28946931; PubMed Central PMCID: PMC9148753.

106. Laroucau K. L'ornithose-psittacose en milieu professionnel avicole.

107. Samuelsson J, Hallström LP, Marrone G, Dias JG. Legionnaires' disease in the EU/EEA*: increasing trend from 2017 to 2019. Eurosurveillance. 16 mars 2023;28(11):2200114. doi:10.2807/1560-7917.ES.2023.28.11.2200114

108. Surveillance Atlas of Infectious Diseases [Internet]. [cité 25 juin 2026]. Disponible sur: https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx

109. Moffa MA, Rock C, Galiatsatos P, Gamage SD, Schwab KJ, Exum NG. Legionellosis on the rise: A scoping review of sporadic, community-acquired incidence in the United States. Epidemiology & Infection. janv 2023;151:e133. doi:10.1017/S0950268823001206

110. SPF. Légionellose en France. Bilan des cas notifiés en 2024. [Internet]. [cité 19 févr 2026]. Disponible sur: https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/legionellose/documents/bulletin-national/legionellose-en-france.-bilan-des-cas-notifies-en-2024

111. Institut Pasteur [Internet]. 2015 [cité 30 mars 2026]. Légionellose. Disponible sur: https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/legionellose

112. Cas de légionellose identifiés dans le secteur d'Albertville – Point de situation [Internet]. 2025 [cité 25 juin 2026]. Disponible sur: https://www.auvergne-rhone-alpes.ars.sante.fr/cas-de-legionellose-identifies-dans-le-secteur-dalbertville-point-de-situation

113. Données | Santé publique France [Internet]. [cité 23 juill 2026]. Disponible sur: https://www.santepubliquefrance.fr/legionellose/donnees

114. Chambers ST, Slow S, Scott-Thomas A, Murdoch DR. Legionellosis Caused by Non-Legionella pneumophila Species, with a Focus on Legionella longbeachae. Microorganisms. 31 janv 2021;9(2):291. doi:10.3390/microorganisms9020291 PubMed PMID: 33572638; PubMed Central PMCID: PMC7910863.

115. Yu VL, Plouffe JF, Pastoris MC, Stout JE, Schousboe M, Widmer A, et al. Distribution of Legionella Species and Serogroups Isolated by Culture in Patients with Sporadic Community-Acquired Legionellosis: An International Collaborative Survey. J Infect Dis. 1 juill 2002;186(1):127-8. doi:10.1086/341087

116. Bulletin_250926 [Internet]. [cité 5 mars 2026]. Disponible sur: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/rubrique_pro_sante_publique/les_cnr/virus_des_infections_respiratoires_dont_grippe/bnhvir_france_2025_s38.pdf

117. Institut Pasteur [Internet]. 2016 [cité 5 mars 2026]. Virus des infections respiratoires (dont la grippe et le SARS-CoV-2). Disponible sur: https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/tous-cnr/virus-infections-respiratoires-dont-grippe-sars-cov-2

118. G V, B V, J C, Lb N, M N, C M, et al. Viral-bacterial coinfection affects the presentation and alters the prognosis of severe community-acquired pneumonia. Critical care (London, England). 25 oct 2016;20(1). doi:10.1186/s13054-016-1517-9 PubMed PMID: 27852281.

119. Rapid risk assessment: Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – seventh update [Internet]. 2020 [cité 11 juill 2026]. Disponible sur: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-coronavirus-disease-2019-covid-19-pandemic

120. Rapid Risk Assessment: Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK– ninth update [Internet]. 2020 [cité 11 juill 2026]. Disponible sur: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-coronavirus-disease-2019-covid-19-pandemic-ninth-update

121. La Désescalade antibiotique en réanimation [Internet]. [cité 23 févr 2026]. Disponible sur: https://www.gilar.org/UserFiles/File/diaporamas/2024/2024-duacai-pn-am.pdf

122. Wielandner A, Agarwal P, Toelly A, Bardach C. Nichtinfektiöse Differenzialdiagnosen von Pneumonien. Radiologe. 2017;57(1):35-42. doi:10.1007/s00117-016-0196-5 PubMed PMID: 27995287; PubMed Central PMCID: PMC7095929.

123. Chidiac C. Antibiothérapie par voie générale dans les infections respiratoires basses de l'adulte. Pneumonie aiguë communautaire. Exacerbations de bronchopneumopathie chronique obstructive. Médecine et Maladies Infectieuses. mai 2011;41(5):221-8. doi:10.1016/j.medmal.2010.10.001

124. Thermo Scientific Tube de 3 ml M4RT MicroTest , rouge 72 tubes/sachet | Buy Online | Thermo Scientific™ | Fisher Scientific [Internet]. [cité 17 août 2026]. Disponible sur: https://www.fishersci.fr/shop/products/microtest-tubes-m4rt-w-glass-beads-3ml-tube-1/17174175

125. Aslanzadeh J, Jones M. Comparison of M4 and M4RT Media for Transporting Cervical Swab Samples for PCR Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. Ann Clin Lab Sci. 1 janv 2002;32(1):61-4. PubMed PMID: 11848620.

126. Neuville DM, Rondinaud DE, Bernard HBC. Infections respiratoires – ECBC & PCR multiplex : comprendre, choisir, interpréter. Streptococcus pneumoniae.

127. Dahyot S, Lemee L, Pestel-Caron M. Description et place des techniques bactériologiques dans la prise en charge des infections pulmonaires. Rev Mal Respir. déc 2017;34(10):1098-113. doi:10.1016/j.rmr.2016.07.007 PubMed PMID: 28688757; PubMed Central PMCID: PMC7134997.

128. FH. Legionella pneumophila [Internet]. 27 sept 2022 [cité 24 juill 2026]. Disponible sur: https://aemip.fr/espace-etudiants/preparation-a-linternat/legionella-pneumophila/

129. Milieu BCYE pour Legionella Milieu BCYEa pour Legionella | Request for Quote [Internet]. [cité 24 juill 2026]. Disponible sur: https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/fr/fr/PO5072A

130. QIAstat-Dx SARS-CoV-2 [Internet]. [cité 31 août 2026]. Disponible sur: https://www.qiagen.com/ca/products/diagnostics-and-clinical-research/infectious-disease/qiastat-dx-syndromic-testing/qiastat-dx-ca

131. Diagnostics [Internet]. [cité 31 août 2026]. cobas® eplex respiratory pathogen panel 2. Disponible sur: https://diagnostics.roche.com/global/en/products/lab/cobas-eplex-rp-panel-2-pid00000004.html

132. bioMérieux Website [Internet]. [cité 11 août 2026]. BIOFIRE® FILMARRAY® Pneumonia & Pneumonia plus Panels. Disponible sur: https://www.biomerieux.com/fr/fr/notre-offre/produits-clinique/biofire-filmarray-pneumonia-panels.html

133. Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB® Kit - ELITechGroup Molecular Diagnostics International [Internet]. [cité 12 août 2026]. Disponible sur: https://www.elitechgroup.com/molecular-diagnostics-intl/product/respiratory-bacterial-plus-elite-mgb-kit/

134. ResearchGate [Internet]. [cité 8 sept 2026]. Performance summary of the QIAstat-Dx Respiratory Panel for... Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/Performance-summary-of-the-QIAstat-Dx-Respiratory-Panel-for-retrospective-specimensa_tbl3_339688797

135. Busson L, Van den Wijngaert S, Dahma H, Decolvenaer M, Di Cesare L, Martin A, et al. Evaluation of 10 serological assays for diagnosing Mycoplasma pneumoniae infection. Diagn Microbiol Infect Dis. juin 2013;76(2):133-7. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.02.027 PubMed PMID: 23537789; PubMed Central PMCID: PMC7127255.

136. Alexandra T. Rapport ANNUEL D'ACTIVITE 2026.

137. Institut Pasteur [Internet]. 2016 [cité 16 juill 2026]. Rapports d'activité du CNR des Méningocoques et Haemophilus influenzae. Disponible sur: https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/meningocoques-haemophilus-influenzae/rapports-d-activite?language=fr

138. Khemiri H, Smaoui H, Kechrid A. Étude de la sensibilité aux antibiotiques de 80 souches de *moraxella catarrhalis* isolées à l'hôpital d'enfants de Tunis. Pathologie Biologie. 1 mai 2008;Numéro Méditerranée56(3):158-61. doi:10.1016/j.patbio.2007.09.021

139. Dumitrescu O, Dauwalder O, Boisset S, Reverdy MÉ, Tristan A, Vandenesch F. Résistance aux antibiotiques chez Staphylococcus aureus - Les points-clés en 2010. Med Sci (Paris). 1 nov 2010;26(11):943-9. doi:10.1051/medsci/20102611943

140. Scopus - Document Details [Internet]. [cité 16 juill 2026]. Disponible sur: https://www.scopus.com/pages/publications/33745008356

141. Dinh A, Ropers J, Duran C, Davido B, Deconinck L, Matt M, et al. Discontinuing β-lactam treatment after 3 days for patients with community-acquired pneumonia in non-critical care wards (PTC): a double-blind, randomised, placebo-controlled, non-inferiority trial. The Lancet. 27 mars 2021;397(10280):1195-203. doi:10.1016/S0140-6736(21)00313-5

142. Peuchant O, Ménard A, Renaudin H, Morozumi M, Ubukata K, Bébéar CM, et al. Increased macrolide resistance of Mycoplasma pneumoniae in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis. J Antimicrob Chemother. 1 juill 2009;64(1):52-8. doi:10.1093/jac/dkp160

143. Spuesens EBM, Fraaij PLA, Visser EG, Hoogenboezem T, Hop WCJ, Adrichem LNA van, et al. Carriage of Mycoplasma pneumoniae in the Upper Respiratory Tract of Symptomatic and Asymptomatic Children: An Observational Study. PLOS Medicine. 14 mai 2013;10(5):e1001444. doi:10.1371/journal.pmed.1001444

144. Benamri I, Azzouzi M, Sanak K, Moussa A, Radouani F. An overview of genes and mutations associated with Chlamydiae species' resistance to antibiotics. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 3 sept 2021;20:59. doi:10.1186/s12941-021-00465-4 PubMed PMID: 34479551; PubMed Central PMCID: PMC8414684.

145. Gta S. Guide Technique d'Accréditation de vérification (portée A) /validation (portée B) des méthodes de Biologie médicale.

146. Ideta [Internet]. [cité 17 août 2026]. Ideta Nuki. Disponible sur: https://app.ideta.io

147. Groupe QUAMIC. Société Française de Microbiologie [Internet]. [cité 17 août 2026]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/presentation-de-la-sfm/sections-et-groupes-de-travail/quamic/

148. CE-IVD marking of the Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel for the detection of M.pneumoniae, C.pneumoniae and L.pneumophila - ELITechGroup News [Internet]. 13 févr 2018 [cité 31 août 2026]. Disponible sur: https://www.elitechgroup.com/news/ce-ivd-marking-of-the-respiratory-bacterial-elite-mgb-panel-for-the-detection-of-m-pneumoniae-c-pneumoniae-and-l-pneumophila/

149. Huan P. Unité des zoonoses bactériennes [Internet]. [cité 2 sept 2026]. Disponible sur: https://www.saps-paris-saclay.fr/qui-sommes-nous/laboratoires-et-unites-membres/unite-des-zoonoses-bacteriennes

150. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 10 sept 2026]. Intérêt des techniques d'amplification des acides nucléiques (TAAN) multiplex dans la prise en charge médicale des infections des voies respiratoires supérieures - Rapport d'évaluation. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3845939/fr/interet-des-techniques-d-amplification-des-acides-nucleiques-taan-multiplex-dans-la-prise-en-charge-medicale-des-infections-des-voies-respiratoires-superieures-rapport-d-evaluation

151. bioMérieux Website [Internet]. [cité 11 août 2026]. BIOFIRE® Respiratory 2.1 et 2.1plus Panels. Disponible sur: https://www.biomerieux.com/fr/fr/notre-offre/produits-clinique/biofire-respiratory-2-1-panels.html

Annexes

Annexe 1 : Test d'inclusivité

Dans cette annexe, ces tests issus de la fiche fournisseur ont été réalisés par ELITech Group avec des souches différentes afin d'évaluer les performances du kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB. Ces tests montrent l'absence de détection de *L. micdadei, L. feeleii, L. jordanis et L. oakridgensis* par le kit.

Échantillon	Souche	Pos./Rép.	Résultat
L. pneumophila SG1	Philadelphia-1	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG1	OLDA	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG2	Togus	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG3	Bloomington-2	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila fraseri SG4	Los Angeles-1	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila pascullei	U8W	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG5	Berlin	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG6	Chicago 2	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG7	Berlin	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG8	Chicago 3	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG9	R9	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG10	LE1	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)

Échantillon	Souche	Pos./Rép.	Résultat
L. pneumophila SG11	797-PA-H	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG12	570-CO-H	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG13	82A3105	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. pneumophila SG14	1169-MN-H	6/6	Leg:DNA detected L. pneumophila (Leg:ADN de L. pneumophila détecté)
L. longbeachae	Long Beach 4	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. longbeachae	R21 Tucker 1	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. longbeachae	R20	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. anisa	WA-316-C3	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. bozemanae	WIGA	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. bozemanae	Toronto-3	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. dumoffii	NY23	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. dumoffii	Wadsworth 81-782A	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. gormanii	LS-13	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. sainthelensi	MSH-4	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. cherrii	ORW	6/6	Leg:DNA detected Legionella spp. (Leg:ADN de l'espèce Legionella détecté)
L. micdadei	Tatlok	0/6	Leg:DNA not detected (Leg: ADN non détecté)

Échantillon	Souche	Pos./Rép.	Résultat
L. feeleii	WO-44C	0/6	Leg:DNA not detected (Leg: ADN non détecté)
L. jordanis	BL-540	0/6	Leg:DNA not detected (Leg: ADN non détecté)
L. oakridgensis	Oak Ridge 10	0/6	Leg:DNA not detected (Leg: ADN non détecté)
C. pneumoniae	AR-39	6/6	Chla:DNA detected C. pneumoniae (Chla:ADN de C. pneumoniae détecté)
C. pneumoniae	TWAR-18	6/6	Chla:DNA detected C. pneumoniae (Chla:ADN de C. pneumoniae détecté)
C. psittaci	08DC60	6/6	Chla:DNA detected C. psittaci (Chla:ADN de C. psittaci détecté)
C. psittaci	02DC15	6/6	Chla:DNA detected C. psittaci (Chla:ADN de C. psittaci détecté)
M. pneumoniae	M129-B7	6/6	Mpne:DNA detected M. pneumoniae (Mpne:ADN de M. pneumoniae détecté)
M. pneumoniae	FH Eaton Agent	6/6	Mpne:DNA detected M. pneumoniae (Mpne:ADN de M. pneumoniae détecté)

Annexe 2 : Test de réactivité croisée

Dans cette annexe, ces tests issus de la fiche fournisseur ont été réalisés par ELITech Group avec des agents infectieux d'origines et de natures différentes afin d'évaluer les performances du kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB. Selon les données de la fiche fournisseur, la cible *C. psittaci* peut avoir des réactions croisées avec *C. abortus, C. felis* et *C. caviae*.

Organisme	Positifs/Réplicats			Résultat
	Leg	Mpne	Chla	
Aspergillus fumigatus	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Bordetella parapertussis	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Bordetella pertussis	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Virus de la grippe A	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Virus de la grippe B	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
SARS-CoV-2	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Escherichia coli	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Candida albicans	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Klebsiella pneumoniae	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Haemophilus influenzae	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Pseudomonas aeruginosa	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Staphylococcus aureus	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Adénovirus humain de type 2	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Streptococcus pneumoniae	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Mycoplasma salivarium	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Cytomégalovirus	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Entérovirus	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Virus respiratoire syncytial	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Candida glabrata	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Candida krusei	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Pneumocystis jirovecii	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
C. abortus	0/6	0/6	6/6	Réactivité croisée : *C. psittaci*
C. felis	0/6	0/6	6/6	Réactivité croisée : *C. psittaci*
C. caviae	0/6	0/6	5/6	Réactivité croisée : *C. psittaci*

Annexe 3 : Dossier de validation de méthode du kit Respiratory Bacterial ELITe MGB

Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Note : le laboratoire se réfèrera au tableau du § 9 du document Cofrac SH GTA 04 rev 01 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera ***une fiche par examen de biologie médicale***

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) : Recherche d'ADN d'agents bactériens responsables de pneumonie atypique (*L pneumophila, C pneumoniae, C psittaci* et *M pneumoniae*) par PCR
Processus simple ☒ ; Processus complexe ☐ (nombre de sous-processus : ...) 1

DESCRIPTION DU PROCESSUS		
Sous-processus 1	Éléments à vérifier (argumentation)	Modalités de vérification/validation[1] : ☒ 1. Répétabilité ☒ 2. Fidélité intermédiaire ☐ 3. Variabilité inter-opérateurs ☐ 4. Justesse ☒ 5. Exactitude ☒ 6. Sensibilité et spécificité analytique ☒ 7. Incertitudes ☒ 8. Etendue de mesure ☒ 9. Comparaison de méthodes ☒ 10. Interférences ☒ 11. Contamination ☒ 12. Robustesse et fiabilité des réactifs ☐ 13. Intervalle de référence

Pour chaque étape, le laboratoire procèdera à la vérification / validation des items attendus, et dupliquera autant que de besoin les pages 2 à 8 (évaluation des performances de la méthode) du présent document. Si un autre élément du processus lui semble critique, il devra vérifier / valider cette étape et le préciser dans la conclusion argumentée. C'est cette vérification qui lui permettra de maitriser ce point critique.

[1] *Note : Pour la vérification/validation de méthodes quantitatives, le renseignement des items 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu a minima. Pour la vérification/validation de méthodes qualitatives, le renseignement des items 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, a minima.*
Le types de vérification (bibliographique ou essais) est à indiquer.
L'absence d'applicabilité de certains items (NA) doit être justifiée dans le corps du document.

Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

SOUS-PROCESSUS 1 :
Portée A ☒ ; Portée B ☐ (à justifier)

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte / Mesurande :	Microorganismes spécifiques : *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *C psittaci*
Principe de la Méthode :	PCR multiplex en temps réel qui permet l'amplification, la détection simultanée des acides nucléiques après extraction et purification
Type d'échantillon primaire :	Secrétions bronchiques (expectoration, fibroscopie bronchique, LBA) écouvillons avec milieu de transport
Type de récipient, additifs :	Ecouvillon avec milieu de transport (VCM, AMIES, M4RT) Flacon stérile (secrétions bronchiques)
Prétraitement de l'échantillon :	Vortex et décantation dans des aliquots adaptés à l'automate.
Unités :	N/A (qualitatif) : *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *C psittaci*
Critères d'interprétation[2] :	*1. Legionella pneumophila* – Seuil de référence : absence *2. Legionella* spp – Seuil de référence : absence *3. Mycoplasma pneumoniae* – Seuil de référence : absence *4. Chlamydia pneumoniae* – Seuil de référence : absence *5. Chlamydia psittaci* – Seuil de référence : absence
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui Kit Respiratory Bacterial-ELITe MGB® panel – arrêté le 31/10/25 kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB® panel – au 3/11/2025 Déclaration de conformité CE / Ingenius ELITechGroup 29/06/2021
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	N/A
Equipement (instrument, analyseur, etc.) :	1 automate : IngGenius ELITechGroup n° série 2071809B034
Référence du réactif :	RTS190ING (x100) V2
Matériau d'étalonnage (références) :	N/A
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	N/A
MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	BOUTTAHAR Stéphanie V2
Procédure de validation/mode opératoire :	MUL-ANACO-PRO003 « Vérification / Validation des méthodes »
Procédure de gestion de la portée flexible :	MUL-ANACO-PRO001 « Gestion des portées d'accréditation »
Période d'étude :	Du 08/12/2022 au 04/08/2021 V1 Du 11/09/2025 au en cours V2
Date de 1ère utilisation :	03/04/2023 V1 03/11/2025 V2

[2] Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge…

Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	**Points critiques**	**Echelle de criticité[3]**	**Eléments à maîtriser**	**Moyens de maitrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire**
Matière (échantillons)	Identité		Formation du personnel : - Laboratoire - Service de soins	**MUL-PRECO-PRO001** Maitrise du processus Pré-analytique
	Préparation du patient		Information des patients et préleveurs	Manuel de prélèvement
	Type de contenants		Formation des préleveurs	Manuel de prélèvement Formation du personnel pré-analytique **MUL-PRECO-PRO001** Maitrise du processus Pré-analytique **CHV-DIS-INS002 «** Liste des analyses arrivant en garde et non traitées immédiatement au CH de Valenciennes » Critères d'acceptation/de refus : **MUL-QUA-PRO005 v01** « Non conformités, réclamations, dérogations et actions préventives » **MUL-QUA-PRO005** « Gestion des non-conformités, et actions d'améliorations
	Nature et volume de l'échantillon		Contrôle à réception (vérification type de tube/ analyse demandée)	
	Délai et température avant traitement analytique		Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	
	Prétraitement : centrifugation, ...		N/A	N/A
	Interférences		Formation des préleveurs Contrôle à réception	Manuel de prélèvement Fiche technique fournisseur **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel

[3] A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	**Points critiques**	**Echelle de criticité[3]**	**Eléments à maîtriser**	**Moyens de maitrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire**
Milieu	Conditions de conservation des échantillons (T° ambiante)		Suivi métrologique des enceintes concernées	Respect des exigences du fournisseur : fiche technique fournisseur (1), manuel utilisateur (2) manuel d'utilisation **CHV-BMI-BMCO-MO001** –Appareil ELITE INGENIUS Fiche technique fournisseur **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel **MUL-MET-CI001**-Carte d'identité – Processus « métrologie » Surveillance centralisée des températures : **MUL-NET-INS001** « Utilisation de la centrale de surveillance de température JRI mySirius » **CHV-DIS-INS002** « Liste des analyses arrivant en garde et non traitées immédiatement au CH de Valenciennes » **MUL-POST-INS001** Entreposage, conservation et élimination des échantillons biologiques
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs de PCR (≤-20°C), des réactifs extractions (18-25°C), CIQ (-20°C)			
	Exigences environnementales pour le matériel ou l'opérateur		Température de fonctionnement : 15-35°C	Respect des exigences du fournisseur : Fiche technique fournisseur **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel manuel d'utilisation **CHV-BMI-BMCO-MO001** –Appareil ELITE INGENIUS Surveillance centralisée des températures : **MUL-NET-INS001** « Utilisation de la centrale de surveillance de température JRI mySirius »

Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	**Points critiques**	**Echelle de criticité[3]**	**Eléments à maîtriser**	**Moyens de maitrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, …) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, …) avec les références du SMQ du laboratoire**
	Surveillance des dérives		Gestion des CIQ Gestion des EEQ Périodicité des maintenances Maîtrise des équipements (suivi métrologique, raccordement, …)	Fiche technique fournisseur **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel Passage de CIQ à chaque nouvelle livraison et/ou nouveau lot **MUL-ANACO-PRO002** « Gestion générale des EEQ » **CHV-BMCO-INS002** « Traitement des contrôles de qualité externe en biologie moléculaire (Hors CQN ANSM) » Enregistrements des maintenances - Hebdomadaire - Mensuelle, - Trimestrielle - Annuelle Sont consignés dans le module Matériel Kalilab **MUL-NET-INS001** « Utilisation de la centrale de surveillance de température JRI mySirius »
	Contamination		Respect des conditions opératoires du fournisseur	Fiche technique fournisseur **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel manuel d'utilisation **CHV-BMI-BMCO-MO001** –Appareil ELITE INGENIUS Changement de gants tous les 10 échantillons. Consommables à usage unique. Système clos, changement des cônes entre chaque patient. Appareil nettoyé et passage UV tous les jours.
	Informatique embarquée		Paramétrage, étalonnage, connexions, archivage des données, …	Archivage des tests à la fin de chaque série sur le réseau. TRA_344 « Contrôle périodique de la justesse des données en biologie moléculaire »

Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	**Points critiques**	**Echelle de criticité[3]**	**Eléments à maîtriser**	**Moyens de maitrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, …) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, …) avec les références du SMQ du laboratoire**
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation		Métrologie des enceintes (cartographie et suivi des températures)	Fiche technique fournisseur **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel **CHV-BMCO-EXT028**-SP200 Elite Traçabilité métrologique **MUL-MET-CI001**-Carte d'identité – Processus « métrologie » **MUL-NET-INS001** « Utilisation de la centrale de surveillance de température JRI mySirius »
	Gestion des stocks		Acceptation à réception des réactifs. Gestion des stocks	Procédure de gestion des stocks : **MUL-STO-INS001** « Utilisation de Sage » **MUL-ANACO-TRA007** Fiche de création d'un nouvel automate sur KaliLab et gestion des conditions environnementales Fiche technique fournisseur **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel Pour chaque nouveau lot ou chaque réception de réactif (étiquette repère), passage d'un CIQ indépendant : **CHV-BMCO-TRA004** «Feuilles de travail en biologie moléculaire»
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles		Respect des préconisations fournisseurs	Les réactifs et contrôles sont prêts à l'emploi. Fiche technique **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel manuel d'utilisation **CHV-BMI-BMCO-MO001** –Appareil ELITE INGENIUS
Méthode	Limites de la méthode (détection, quantification, linéarité, interférences, …)		Limite de détection, limite de quantification, linéarité, interférences … Sensibilité, spécificité	Fiche fournisseur **CHV-BMI-EXT048** Respiratory Bacterial plus Elite MGB Panel **MUL-ANACO-PRO003** « Vérification/validation des méthodes »

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	**Points critiques**	**Echelle de criticité[3]**	**Eléments à maîtriser**	**Moyens de maitrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire**
	Causes d'incertitude de mesure		Calcul des incertitudes de mesure (non quantifiable pour les méthodes qualitatives)	
Main d' œuvre (Personnel)	Compétence et maintien de compétence du personnel		Formation et évaluation des compétences du personnel technique et médical	**MUL-RHCO-PRO001**-Gestion du personnel **CHV-PER-INS032** Fiche de Poste - Bio Mol - ingenius Enregistrements des compétences du personnel : **CHV-COM-TRA024** Formeval - Bio mol - Technicien Ingenius

L'échelle de criticité a été évaluée en prenant en considération la fréquence d'apparition, la gravité et la détectabilité selon les critères définis dans la procédure de gestion des risques en vigueur au moment de la réalisation du dossier de vérification.
En l'absence d'indice de criticité définit, chaque risque identifié est maîtrisé (sera à maîtriser) selon le même niveau de criticité.

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE
V1 : kit Kit Respiratory Bacterial-ELITe MGB® panel RTS553ING (avant 3/11/25)

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, …) : échantillons patients préalablement testés sur méthode de référence au laboratoire puis conservés congelés -20°C

REPETABILITE
Applicable ☒ ; non applicable (à justifier) ☐

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (cf. source[4])	Conclusion[5]
Type de matrice (plasma, sérum, CIQ, niveaux…)				NA	NA	NA	Rendu qualitatif, comparaison des valeurs de Ct pour vérifier l'absence de variation de détection

Pour la cible LP et MP, présentation des données en fidélité intermédiaire, pas assez de quantité d'échantillons pour réaliser une répétabilité correcte. Absence d'échantillon positif disponible pour tester la cible CP.
Les données fournisseurs sont présentées ci-dessous.

Argumentaire de la conclusion : conforme aux besoins du laboratoire

Données fournisseurs :

Répétabilité de Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel					
Échantillon	**Concentration**	**Ct moyen**	**SD**	**CV%**	**% positifs**
Legio_sample1	10xLoD	30,5	0,2	0,5	100
Legio_sample1	3xLoD	32,5	0,3	0,8	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,6	0,3	0,9	100
Mpneu_sample4	3xLoD	32,6	0,5	1,4	100
Cpneu_sample1	10xLoD	31,1	0,6	1,9	100
Cpneu_sample1	3xLoD	33,7	1,3	3,7	100

FIDELITE INTERMEDIAIRE
Applicable ☒ ; non applicable (à justifier) ☐

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	Ratio de limite acceptable CV fixé à 10%	Conclusion[5]
221886040704	5	29.87	0.31	1.03		0.10	Conforme
230152519601	4	30.43	2,52	8,27		0,83	Conforme

Pour l'étude de fidélité intermédiaire d'amplification, le nombre de valeur est restreint en raison des quantités d'échantillons.
Echantillon 221886040704 = *L pneumophila*
Echantillon 230152519601 = *M pneumoniae*

Il n'y a pas d'évaluation pour la cible *C pneumoniae* en l'absence d'échantillon positif.

[4] Sociétés savantes, publications (SFBC, GEHT, RICOS, QUALAB, CLIA…). Préciser la référence utilisée.
[5] Conforme/non conforme

En l'absence de CV fournisseur, un CV arbitraire de 10% a été fixé pour déterminer le RLA. Toutes les cibles ont un RLA en condition souhaitable.

Argumentaire de la conclusion : conforme aux besoins du laboratoire

VARIABILITE INTER-OPERATEURS Applicable ☐ ; non applicable ☒

Argumentaire de la conclusion : non adapté

Extraction et amplification entièrement automatisées. Rendu de résultat qualitatif pour les trois cibles.

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés) Applicable ☐ ; non applicable (à justifier) ☒								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Biais (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) / moyenne générale	Biais (%) Limite[4]	Conclusion[5]

Argumentaire de la conclusion : Non adaptée

EXACTITUDE Contrôles quantitatifs ☐ ; Contrôles qualitatifs ☒				
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Conclusion[5]

	LPDNA24				MP23				CP23			
Ech	Labo	QCMD	Conformité	% exact	Labo	QCMD	Conformité	% exact	Labo	QCMD	Conformité	% exact
S01	Positif	Positif	Conforme	100	Positif	Positif	Conforme	99,34	Négatif	Négatif	Conforme	98,31
S02	Positif	*L longbeachae*	Conforme	exclu	Négatif	Négatif	Conforme	98,03	Positif	Positif	Conforme	94,35
S03	Positif	Positif	Conforme	87,8	Positif	Positif	Conforme	97,37	Négatif	Positif	Dérogation	46,33
S04	Négatif	Négatif	Conforme	99,3	Positif	Positif	Conforme	98,68	Positif	Positif	Conforme	88,70
S05	Positif	Positif	Conforme	100	Positif	Positif	Conforme	86,18	Positif	Positif	Conforme	94,35
S06	Positif	Positif	Conforme	97,1								
S07	Positif	Positif	Conforme	97,1								
S08	Positif	Positif	Conforme	96,4								
S09	Positif	Positif	Conforme	100								
S10	Positif	Positif	Conforme	99,3								

EEQ CP23-S04 : contrôle éducationnel (non « core »), 177 participants, 82 exacts soit 46,33% d'exactitude pour les participants. 6 participants utilisaient le kit RP MGB Elite, seuls 3 participants ont détecté l'ADN de cet échantillon (50%). Echantillon inferieur à la LoD responsable d'une détection aléatoire suivant les passages.
Ce résultat est similaire au résultat observé dans la notice concernant le QCMD CP.MP16-06

Pour l'EEQ LPDNA24, 100% de bonne réponse, la souche de *L longbeachae* a été détectée comme attendue.

Argumentaire de la conclusion : conforme aux besoins du LBM

Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE
Applicable ☒ ; non applicable (à justifier) ☐

Le kit d'extraction SP200 est validé pour les matrices incluant le LCS ainsi que des biopsies et des prélèvements d'aboès.

Concernant les formes neurologiques d'infection à M pneumoniae sont dues à la réaction immunologique liée au mimétisme moléculaire de l'adhésine P1 de Mp.
La détection dans le LCS est acceptée mais discutée au cas par cas avec réclamation d'une autre matrice en parallèle (écouvillon muqueux ou prélèvement respiratoire – site d'infection)

En l'absence d'informations dans la notice du kit, des analyses supplémentaires ont été réalisées concernant la spécificité.

Pour la cible MP, une suspension de culture pure à Mycoplasma hominis a été utilisée. La réaction n'a pas provoqué de détection croisée, le test n'a pas été répété pour des raisons financières.
Pour la cible LP, la notice précise que la cible peut détecter *Legionella longbeachae*, première légionelle non-pneumophila responsable de légionellose (notamment en Océanie).
Le laboratoire de microbiologie est accrédité pour la détection des légionelles dans les eaux propres pour laquelle nous disposons d'une souchothèque.
Nous avons remis en culture les légionelles non pneumophila conservées au laboratoire dont quelques EEQ aux résultats connus.
Toutes les souches qui ont permis d'obtenir une subculture ont été identifiés par MALDI-TOF avant réalisation d'une suspension bactérienne titrée à 0,5 McF pour analyse par le kit.

Espèce	Résultat Lp/Llb	Ct	IC	Commentaire
Legionella anisa	**détecté**	24,23	28,3	non décrit, pathogène chez l'humain
Legionella anisa	**détecté**	24,51	28,85	non décrit, pathogène chez l'humain
Legionella micdadei	non détecté		28,76	concordant, pathogène chez l'humain
Legionella longbeachae	détecté	<15	28,01	décrit, pathogène chez l'humain
Legionella longbeachae	détecté	<15	27,35	décrit, pathogène chez l'humain
Legionella dumoffi	non détecté		28,22	concordant, pathogène chez l'humain
Legionella dumoffi	non détecté		27,57	concordant, pathogène chez l'humain
Legionella longbeachae	détecté	<15	27,79	décrit, pathogène chez l'humain
Legionella longbeachae	détecté	<15	27,23	décrit, pathogène chez l'humain
Legionella bozemanae	détecté	24,97	28,85	non décrit, pathogène chez l'humain
Legionella bozemanae	détecté	19,05	27,54	non décrit, pathogène chez l'humain
Legionella maceachernii	détecté	30,4	27,57	non décrit, pathogène chez l'humain

Le kit est capable de détecter *L longbeachae* comme décrit dans la notice (EEQ QCMD LPDNA15-05). S'ajoute à cette détection, celle de *L anisa* (contrairement à la notice), *L bozemanae* et *L maceachernii*, non décrit dans la notice. Ces bactéries sont pathogènes pour l'humain.
Cependant, certaines espèces pathogènes pour l'humain échappent à la détection par le kit.
Ce manque de spécificité présente l'avantage de détecter potentiellement plus de cas de légionelloses, non détectées par les antigénuries (restreintes à Lp sg1) mais elle ne peut pas se substituer à une PCR non spécifique d'espèce pour éliminer totalement la présence de légionelle non *pneumophila* (analyse sous-traitée).
Le fournisseur ainsi que le CNR ont été avertis avec proposition d'une étude multicentrique de spécificité de ce kit en date du 25/01/23.

Argumentaire de la conclusion : conforme aux besoins du LBM

Données fournisseurs :

Pathogènes (virus)	Résultat
Adénovirus	négatif
Astrovirus	négatif
Coronavirus 229	négatif
Coronavirus 43	négatif
Coronavirus 63	négatif
Cytomegalovirus	négatif
Enterovirus	négatif
Epstein-Barr virus	négatif
Herpes simplex virus 1	négatif
Herpes simplex virus 2	négatif
Human herpes virus 6	négatif
Human herpes virus 7	négatif
Human metapneumovirus	négatif
Influenza A virus	négatif
Influenza B virus	négatif
Measles virus	négatif
Mumps virus	négatif
Norovirus G1	négatif
Norovirus G2	négatif
Parainfluenzavirus 1	négatif
Parainfluenzavirus 2	négatif
Parainfluenzavirus 3	négatif
Parainfluenzavirus 4	négatif
Parvovirus B19	négatif
Polyomavirus 1 (BKV)	négatif
Respiratory syncytial virus A	négatif
Respiratory syncytial virus B	négatif
Rhinovirus	négatif
Rotavirus	négatif
Sapovirus	négatif
Varicella-zoster virus	négatif

Pathogènes (bactéries et parasites)	Résultats	Pathogènes (bactéries et parasites)	Résultats
Aeromonas hydrophilia	négatif	*Legionella pneumophila*	**positif**
Bacillus ssp.	négatif	*Legionella ansia*	négatif
Bifidobacterium	négatif	*Listeria monocytogenes*	négatif
Bordetella pertussis	négatif	*Moraxella catarrhalis*	négatif
Campylobacter jejuni	négatif	*Morganella morganii*	négatif
Campylobacter coli	négatif	*Mycoplasma genitalium*	négatif
Chlamydia trachomatis	négatif	*Mycoplasma pneumoniae*	**positif**
Citrobacter freundii	négatif	*Neisseria gonorrhoeae*	négatif
Clostridium difficile	négatif	*Proteus mirabilis*	négatif
Clostridium perfringens	négatif	*Proteus vulgaris*	négatif
EHEC vtx+	négatif	*Rhodococcus equi*	négatif
EIEC	négatif	*Salmonella typhimurium*	négatif
Enterococcus faecalis	négatif	*Shigella boydii*	négatif
EPEC	négatif	*Staphylococcus aureus*	négatif
ETEC	négatif	*Streptococcus pneumoniae*	négatif
Haemophilus influenzae	négatif	*Treponema pallidum*	négatif
Hafnia alvei	négatif	*Vibrio cholerae*	négatif
Klebsiella oxytoca	négatif	*Yersinia enterocolitica*	négatif
Klebsiella pneumoniae	négatif		

INCERTITUDE DE MESURE : Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) ☒ ; calcul ☐		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances

Argumentaire de la conclusion (impact sur la zone décisionnelle ?) : Méthode qualitative, Incertitude réalisée dans l'analyse de risque

LIMITE DE DETECTION Applicable ☒ ; non applicable ☐

Argumentaire de la conclusion : conforme aux besoins du LBM

Données fournisseur :

Seuil de détection pour échantillons respiratoires et ELITe InGenius (copies/ml)	
Cible	**LoD (copies/ml)**
Mycoplasma pneumoniae (Mpneu)	625
Chlamydophila pneumoniae (Cpneu)	1,250
Legionella pneumophila (Lpneu)	5,000

De plus, la sensibilité analytique a été analysée par régression linéaire. La régression linéaire a été calculée sur des dilutions en série de plasmides, pour calculer le coefficient de régression R^2 et la pente. Les valeurs de R^2 pour les quatre pathogènes ont été supérieures à 0,98,: ce qui démontre la bonne linéarité à l'intérieur de cet intervalle de dilution.

COMPARAISON DE METHODES : Applicable ☒ ; non applicable (à justifier) ☐	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications…) :	Données fournisseurs ci-dessous
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Pour Lp, résultats de culture conventionnelle et retours du CNR Legionella (PCR) PCR multiplexes respiratoires (ePlex Genmark Qiastat Qiagen ou Pneumonia Plus bioFire)
Nombre de mesures :	
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	NA : rendu qualitatif.
Méthode d'exploitation des résultats :	Evaluation de la cohérence

Pour la comparaison de méthode, les résultats de PCR Lp ont été comparés à la culture et si besoin aux retours CNR.
En raison d'un nombre insuffisant de prélèvements positifs à Cp et Mp pendant la phase de test, les performances n'ont pu être évaluées correctement. L'évaluation sera réalisée par le suivi des EEQ.

***Tableau 1 : Résumé des résultats de détection de* L pneumophila**

LP	Techniques de référence	
RB MGB panel	**Positif**	**Négatif**
Positif	6	0
Négatif	0	10
Performances	**Se = 1** **Sp = 1**	**VPP = 1** **VPN = 1**

Argumentaire de la conclusion :Conforme aux besoins du LBM

Données fournisseurs :

Échantillon	N	Positifs	Négatifs	Non valides
Échantillons respiratoires négatifs pour *Legionella pneumophila*	34	0	34	0
Échantillons respiratoires négatifs pour *Mycoplasma pneumoniae*	34	0	34	0
Échantillons respiratoires négatifs pour *Chlamydophila pneumoniae*	34	0	34	0

Au cours de ce test, la spécificité de l'analyse a été de 100% pour *Legionella pneumophila*, 100% pour *Mycoplasma pneumoniae*, 100% pour *Chlamydophila pneumoniae*.

ETENDUE DE MESURE
Applicable ☒ ; non applicable (à justifier) ☐

Basée sur documentation fournisseur.

Argumentaire de la conclusion :Conforme aux besoins du LBM

Données fournisseurs :

Reproductibilité de Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel					
Échantillon	**Concentration**	**Ct moyen**	**SD**	**CV%**	**% positifs**
Legio_sample1	10xLoD	30,4	0,6	2,0	100
Legio_sample1	3xLoD	32,7	0,3	1,0	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,8	0,5	1,7	100
Mpneu_sample4	3xLoD	33,2	1,0	3,0	100
Cpneu_sample1	10xLoD	30,4	0,8	2,7	100
Cpneu_sample1	3xLoD	32,3	0,5	1,6	100

INTERFERENCES
Applicable ☒ ; non applicable (à justifier) ☐

Basé sur la documentation fournisseur du kit d'extraction.
En pratique, il n'est pas possible de tester les différentes possibilités d'interférences (mucus, antibiotiques, antifongiques, présence de sang)
Cependant, nous n'avons observé aucun résultat invalide que ce soit pour les prélèvements respiratoires positifs ou négatifs à légionelle (donc certains sanglants, un échantillon présentait une nappe d'Aspergillus spp en surface)
Le kit d'extraction a été également très utilisé entre 2020 et la phase test avec extraction de nombreux écouvillons nasopharyngés sans présenter un nombre anormal d'analyse invalide.
En cas d'échec, un passage avec dilution préalable est possible afin de diluer la potentielle substance interférente.

Argumentaire de la conclusion : Conforme aux besoins du LBM

Données fournisseurs :

ELITe InGenius® SP 200
Réactifs d'extraction d'acides nucléiques

REF **INT032SP200**

Substances interférentes

Les échantillons de sang total et de plasma **ne doivent pas contenir d'héparine** car ce puissant inhibiteur des enzymes ADN polymérase (comme l'ADN polymérase thermostable et la transcriptase inverse) génère des résultats invalides ou erronés lors des tests menés en aval sur l'ADN/ARN extrait.

L'effet inhibiteur provoqué par la présence éventuelle de substances médicamenteuses dans l'échantillon de départ devra être évalué au cas par cas par l'opérateur, en fonction des tests menés ensuite sur l'ADN/ARN extrait.

CONTAMINATION
Applicable ☒ ; non applicable (à justifier) ☐

Inter échantillon pour les paramètres sensibles :	Passage des échantillons positifs en alternance, vérification de l'absence d'amplification des résultats connus négatifs positionnés de part et d'autre des échantillons positifs.

Argumentaire de la conclusion : Conforme aux besoins du LBM

Résultats conformes, aucune contamination inter-échantillon n'a été observée lors des essais.

Passage de 16 échantillons en alternance (positif/négatif).

Résultats bruts conservés dans le DVM informatique du laboratoire.

ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS Applicable ☒ ; non applicable (à justifier) ☐

Suivi des préconisations fournisseurs concernant le stockage des réactifs. Evaluation périodique d'éventuelles dérivés par suivi des EEQ.

Argumentaire de la conclusion : utilisation conforme aux recommandations du fabricant

INTERVALLES de REFERENCE) Applicable ☐ ; non applicable ☒

Argumentaire de la conclusion : NA rendu qualitatif.

DECLARATION d'APTITUDE
Conclusion : méthode conforme utilisée à partir du 15/01/2024 Autorisée par : Maxime Paluch Signature : MP

Université de Lille
UFR3S-Pharmacie
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2025/2026

Nom : GIRARD
Prénom : Maximilien

Titre de la thèse : DIAGNOSTIC DES PNEUMONIES À BACTÉRIES ATYPIQUES POST-COVID : ÉVALUATION D'UN NOUVEAU RÉACTIF DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE AU CENTRE HOSPITALIER DE VALENCIENNES

Mots-clés : Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB, PCR multiplexe, Bactéries atypiques, Pneumonies aigües communautaires, Épidémiologie

---

Résumé : Les PAC sont l'une des principales causes infectieuses de morbidité et de mortalité dans le monde avec environ 2,5 millions de décès en 2023. Les bactéries atypiques sont des agents fréquents d'infections respiratoires. *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *C. psittaci*, sont le plus souvent responsables d'infections respiratoires bénignes ce qui rend difficile l'évaluation de leur impact au sein de l'épidémiologie des PAC. *L. pneumophila* et *L.* non *pneumophila* sont responsables de la légionellose : une pneumonie modérée à sévère avec une mortalité proche de 10 %. L'utilisation des techniques PCR sur prélèvements respiratoires est la méthode de référence pour le diagnostic des PAC à *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* et *C. psittaci*. Ces méthodes PCR jouent un rôle de plus en plus important dans le diagnostic de la légionellose, utilisées en première intention ou en complément de l'antigénurie. Elles vont probablement entraîner un changement dans l'épidémiologie de la légionellose grâce à leur meilleure performance pour *L. pneumophila* d'autres sérogroupes et *L.* non *pneumophila*. L'évaluation du nouveau kit Respiratory Bacterial PLUS ELITe MGB à Valenciennes a montré des performances satisfaisantes et concordantes avec la méthode précédemment utilisée, tout en élargissant le spectre diagnostic disponible grâce à l'ajout des cibles *C. psittaci* et *Legionella* spp.

Membres du jury :
Président :
Monsieur le Professeur FOLIGNÉ Benoit, Professeur des universités

Directeur de thèse :
Monsieur le Docteur PALUCH Maxime, Praticien hospitalier, CH Valenciennes

Assesseur(s) :
Madame le Docteur MAZARS Edith, Praticien hospitalier, CH Valenciennes
Madame le Docteur TETART Macha, Praticien hospitalier, CH Tourcoing
Madame le Docteur GIGANDON Anne, Praticien hospitalier, CH de Paris Saint-Joseph