

LEGIONELLES
Centre National de Référence
ESGLI ESCMID STUDY GROUP FOR LEGIONELLA INFECTIONS
HCL IAIQ CBPN
44^e RÉUNION INTERDISCIPLINAIRE DE CHIMIOTHÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE
LUNDI 16 & MARDI 17 DÉCEMBRE 2024
palais des congrès de Paris

P-139 Évaluation européenne de 16 tests pour la détection de l'antigène urinaire de *Legionella pneumophila*

B. Joannard^{1,11}, **C. Allam**^{4,11}, **M. Ibranosyan**^{1,11}, **T. Jugla**¹, **C. Pinatel**¹, **L. Del-Valle**¹, **L. Beraud**^{1,11}, **G. Descours**^{1,11}, **C. Ginevra**^{4,11}, **C. Sværke Jørgensen**^{2,11}, **M.L. Ricci**^{3,11}, **M. Scaturro**^{3,11}, **C. Lück**^{4,11}, **S. Euser**^{5,11}, **F. Echahidi**^{6,11}, **C. Michel**^{7,11}, **D. Kese**^{8,11}, **V. Chalker**^{9,11}, **V. Gaia**^{10,11}, **S.A. Uldum**^{2,11}, **S. Jarraud**^{4,11}

¹Hospices Civils de Lyon, Centre, National de Référence des Légionelles, - Lyon (France), ² Statens Serum Institut - Legionella National Reference Center, - Copenhagen (Denmark), ³ Instituto Superiore di Sanità - Legionella Reference Center, - Rome (Italy), ⁴ Reference Laboratory Legionella, Technische Universität, - Dresden (Germany), ⁵ Streeklaboratorium - Regional Public Health Laboratory Kennemerland - Legionella Reference Center Haarlem, - Haarlem (Netherlands), ⁶ National Reference Center for Legionella pneumophila, Department of Microbiology and Infection Control, Universitair Ziekenhuis Brussel (UZ Brussel), Vrije Universiteit Brussel (VUB) - Brussels (Belgium), ⁷ National Reference Center for Legionella pneumophila, Department of Microbiology, Université Libre de Bruxelles (ULB), Laboratoire Hospitalier Universitaire de Bruxelles (LHUB-ULB), - Brussels (Belgium), ⁸ University of Ljubljana, Faculty of Medicine Institute of microbiology and immunology - Ljubljana (Slovenia), ⁹ Respiratory & Vaccine Preventable Bacteria Reference Unit - Legionella Reference Center PHE Microbiology Reference Services - London (United Kingdom), ¹⁰ Legionella Reference Center Servizio di microbiologia EOLAB - Bellinzona (Switzerland), ¹¹ ESCMID Study Group for Legionella Infections (ESGLI). Contact = sophie.jarraud@chu-lyon.fr

Introduction

La légionellose, causée par la bactérie *Legionella pneumophila* représente entre 5 et 10% des pneumopathies aigües communautaires (PAC) de l'adulte (1). En France et en Europe, le diagnostic repose à plus de 90% sur des tests d'antigènes urinaires (Urinary Antigen Tests, UAT) détectant le lipopolysaccharide (LPS) de *Legionella pneumophila* sérotype 1 (Lp1) (2). De nombreux tests sont commercialisés, avec une sensibilité globale de 70 à 90% et une spécificité supérieure à 95%. Aucune étude n'a été réalisée pour comparer un large éventail de tests d'antigènes urinaires sur les mêmes échantillons. C'est une étude de l'ESCMID Study Group for Legionella (ESGLI).

Objectifs

Comparer les performances de 16 UAT pour la détection qualitative de l'antigène de *Legionella pneumophila* dans les échantillons d'urines de 9 centres nationaux de référence de *Legionella* européens. Les objectifs spécifiques étaient d'évaluer :

- Sensibilité des tests pour Lp1 et Lp non 1
- Spécificité des tests et taux de faux positifs
- Contribution du chauffage pour éliminer les résultats faux positifs
- Contribution du lecteur automatisé dans les performances des tests
- Concordance inter-laboratoire

Méthodes

Même protocole : tous les résultats positifs restés après chauffage (2mL, 5min bain sec à 100°C, centrifugation 10 000G 5min), lecture visuelle ± avec lecteur

12 tests immunochromatographiques (ICT)

- BinaxNOW™ Legionella Urinary Antigen Card (Abbott)*
- Legionella K-Set (Coris BioConcept)
- TRU Legionella® (Meridian Bioscience)
- ImmuView® Urinary Antigen Test (SSI Diagnostica)*
- Biosynex Legionella (Biosynex)
- CerTest Legionella (CerTest Biotec)
- UriSign Legionella color (Servbio)
- Immunocatch™ Legionella (EIKEN CHEMICAL CO., LTD)
- Nadal® Legionella test cassette (nal von minden)
- Legionella MonlabTest® (Monlab)
- Operon, Simple/Stick Lp ou Simple/Stick Strep pneumo-Legio®
- Vitassay Legionella (Vitassay)
- Binax™ Legionella Urinary Antigen EIA (Abbott)
- RIDASCREEN® Legionella ELISA (R-biopharm)
- Standard F Legionella Ag FIA* (SD Biosensor)*
- Sofia™ Legionella FIA (QuidelOrtho)*

*Avec lecteur

22 urines : Urines négatives surchargées en LPS extrait (9 Lp1 0.5-30 ng/mL, 13 Lp1 16.9-3000 ng/mL) + CNR trompeuse

10 urines contrôles : 1 urine non équivoque (6 positives, 1 négative) / 3 urines de détection difficile

46 urines de patients diagnostiqués : Dig par culture ou PCR sur pré-pulvérisation

478 urines : 388 urines de routine (enquête clinique) + 35 urines d'infection urinaire (sélectionnées et testées par 7 CNR)

Sensibilité Lp1/Lp non 1, performances des lecteurs automatisés, Sensibilité, Spécificité, concordance inter-laboratoire, Spécificité, performances du chauffage

Résultats

1/ Urines négatives surchargées en LPS extrait
4 LPS de Lp2-14 détectés à des concentrations ≥ 100 supérieures à celles des Lp1 par 1 à 10 kits → Non représentatif des échantillons cliniques
Lecture automatisée : gain de sensibilité (ICT), pas de gain de sensibilité avec les EIA vs ICT avec lecteur

2/ 10 urines contrôles
Résultats attendus rapportés par tous les CNR pour les 7 urines non équivoques : 6/16 kits (BinaxNOW, SD Biosensor, Ridascreen, ImmuView, Operon, Binax EIA)
Résultats attendus rapportés par tous les CNR pour les 10 urines : 3/16 kits (BinaxNOW, SD Biosensor, Ridascreen)

3/ 46 urines de patients diagnostiqués

Assay (UAT)	Number of samples (n)	Number of invalid/conclusive samples (%)	Reading
NuAc trompeuse	0	0 (0%)	Visual + Reader
Binax NOW	45 (97.8%)	1 (1.8%)	Reader
Sofia	41 (89.1%)	5 (10.9%)	Visual
K-Set Coris	35 (76.1%)	6 (13.0%)	Visual
TRU Leg	23 (51.1%)	0 (0%)	Visual + Reader
ImmuView	45 (97.8%)	3 (6.5%)	Visual
Biosynex	3 (6.5%)	0 (0%)	Reader
SD Biosensor	44 (95.7%)	2 (4.3%)	Visual
CerTest	41 (89.1%)	1 (1.8%)	Visual
Leg. Color Ser	45 (97.8%)	5 (10.9%)	Visual
Immunocatch	35 (76.1%)	1 (1.8%)	Visual
Nadal	34 (73.9%)	1 (1.8%)	Visual
Monlab	45 (97.8%)	0 (0%)	Visual + Reader
Operon	41 (89.1%)	1 (1.8%)	Visual
Vitassay	45 (97.8%)	0 (0%)	Reader
Binax EIA	41 (89.1%)	2 (4.3%)	Reader
Ridascreen	41 (89.1%)	2 (4.3%)	Reader

Sensibilité variable : entre 51,1% et 97,8%

4/ 388 urines de routine → 15 diagnostics de légionellose

Assay (UAT)	True POS n=15	False NEG n=373	True NEG n=373	False POS n=373	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Binax NOW	14	1	0	373	93.3%	100%	1	0.9973
Sofia	11	4	29	371	73.3%	99.5%	0.8442	0.9893
K-Set Coris	10	5	0	373	67.7%	100%	1	0.9868
TRU Leg	10/7a	5/8a	0	373	66.7/66.7%	98.9%	0.7895	1
ImmuView	15	0	49	349	100%	100%	1	0.9920
Biosynex	12	3	373	85.7%	99.7%	0.9286	0.9947	1
SD Biosensor	13	2	18	372	86.6%	99.7%	0.6522	1
CerTest	15	0	88	365	100%	97.3%	0.6	1
Leg. Color Ser	15	0	108	363	100%	97.3%	0.6	1
Immunocatch	11	4	0	373	86.6%	100%	1	0.9947
Nadal	15	0	79	366	100%	98.7%	0.6818	1
Monlab	14	1	0	373	93.3%	100%	1	0.9973
Operon	14	1	68	373	93.3%	98.4%	0.7	0.9973
Vitassay	14	1	0	373	93.3%	100%	1	0.9973
Binax EIA	14	1	0	373	93.3%	100%	1	0.9973
Ridascreen	14	1	0	373	93.3%	100%	1	0.9973

5/ 35 urines d'infection urinaire

Lab./Kit	CNR 1	CNR 2	CNR 3	CNR 4	CNR 5	CNR 6	CNR 7	N° de pos. après chauffage	Prop. de pos. après chauffage
Binax Now	0	1	0	0	0	1	0	2	0.5
Sofia	1	1	0	3	2	2	1	10	2.6
K-Set Coris	0	0	0	0	1	0	0	1	0.3
TRU Leg	1	0	0	0	0	1	0	2	0.5
ImmuView	2	3	0	0	2	5	0	13	10.1
Biosynex	0	1	0	0	0	1	0	2	0.5
St F SD biosensor	0	1	0	0	0	0	0	1	0.3
CerTest	0	3	3	0	0	0	0	6	1.5
Leg. Color Ser	0	16	17	0	0	0	0	33	8.5
Servio	0	1	0	0	0	0	0	1	0.3
Immunocatch	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
Nadal	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
Monlab	1	22	11	0	0	0	0	34	8.8
Operon	0	4	1	0	0	2	0	7	1.8
Vitassay	0	6	11	0	0	0	0	17	4.4
Binax EIA	0	3	2	0	1	0	0	6	1.5
Ridascreen	0	1	2	0	0	0	0	3	0.8

Résultats négatifs : 100% des tests après chauffage
Proportion de faux pos variable entre les laboratoires
Nécessité du chauffage pour tous les tests

Conclusion

Cette étude ESGLI confirme :

- La variabilité en termes de sensibilité et de spécificité entre les kits et entre les laboratoires
- Les lecteurs automatisés contribuent à améliorer la performance des tests :
 - augmentation de la sensibilité
 - résultats objectifs, contrairement à la lecture visuelle subjective, qui peut poser problème en cas de bandes faibles pour certains tests
- Le traitement thermique est essentiel
- La spécificité réduite de certains tests antigéniques rapides peut avoir un impact significatif sur la surveillance épidémiologique.

Remerciements : Fabricants d'UAT ayant accepté de participer à l'étude européenne ESGLI
[1] Carugati M et al. Microbiological testing of adults hospitalized with community-acquired pneumonia: an international study. *EU Open Res* 2018, 4: 00096-2018
[2] Beaudin L on behalf of the European Legionnaires' Disease Surveillance Network. Legionnaires' disease in Europe, 2013 to 2015. *Euro Surveill* 2017;22(27):pii=30566.