

# Outils diagnostiques des Infections Fongiques Invasives

Marie-Elisabeth Bougnoux  
Unité de Mycologie-Parasitologie  
Service de Microbiologie. Hôpital Necker  
Enfants Malades, Paris

# Neutropénies fébriles

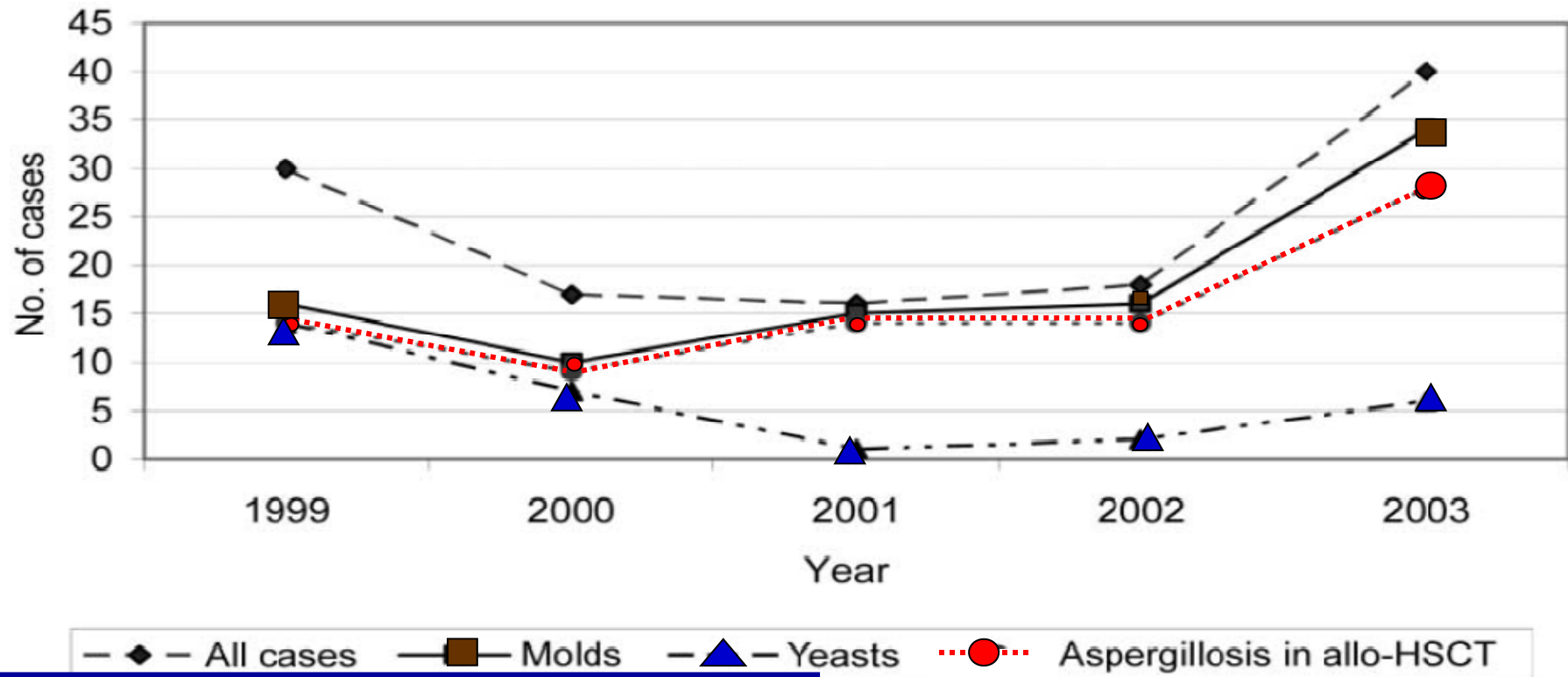
Epidémiologie des Infections fongiques invasives

→ les espèces à documenter

Et

→ les outils qui permettent de les isoler ou de diagnostiquer les IFI (techniques directes/indirectes)

# Infections Fongiques : évolution chez les patients d'hématologie après greffe de moelle



## Etude Italienne

11 centres : 3228 greffes de moelle  
1249 allo et 1979 autogreffes

Pagano L et al., CID 2007

# Etude Nord Américaine

- Analyse cas IFI Patients greffe de moelle (Allo et autogreffe de moelle) sur 3 ans (2004-2007) → 16 centres
- Collectif de 234 patients → 250 IFI (prouvées ou probables)
- Aspergillose invasive : 59.2 % (148 cas)
- Candidose invasive : 24.8% (62 cas)
- Zygomycose : 7.2% (18 cas)
- Autres champignons filamenteux : 6.8% (17 cas)

# Critères diagnostiques

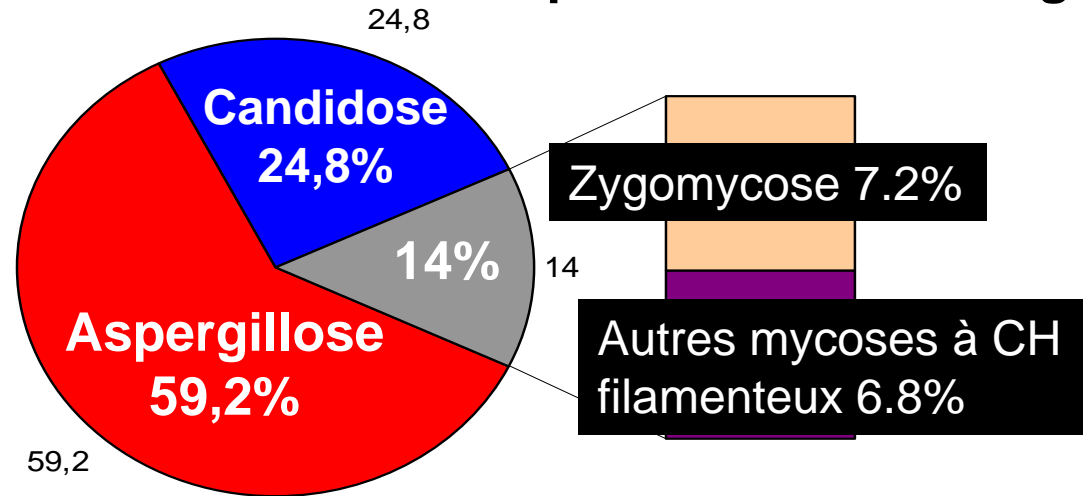
## infection fongique invasive probable

(critères EORTC révisés 2008)

- Facteurs d'hôte
- Critères cliniques (imagerie)
- Critères mycologiques
  - Tests directs : Mise en évidence d'un champignon filamenteux dans les prélèvements respiratoires : cytologie, examen direct et culture
  - Tests indirects :
    - Détection antigène galactomannane : LBA, LCR, sérum  
→ Aspergillose
    - Détection de bêta (1-3) D glucane : sérum → IFI
    - NB : détection ADN fongique ne fait pas partie des critères actuels

# Aspergilloses

## Répartition des étiologies



### Aspergillose :

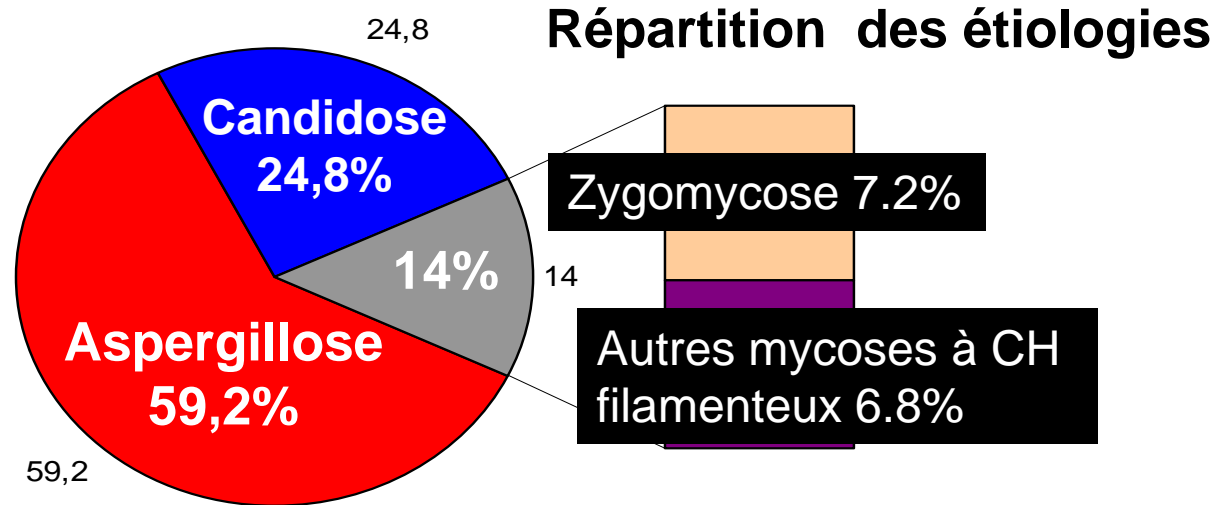
- 52% non documentées par culture
- 48% documentées par culture
  - *Aspergillus fumigatus* : 78 %
  - *Aspergillus flavus* : 9%
  - *Aspergillus niger* : 9%
  - *Aspergillus sp.*: 5%

### 52% de cas d'aspergillose invasive

#### Diagnostic :

Arguments de l'ED ou de l'histologie et/ou marqueurs sériques des aspergilloses

# Candidoses



## Candidose : candidémie

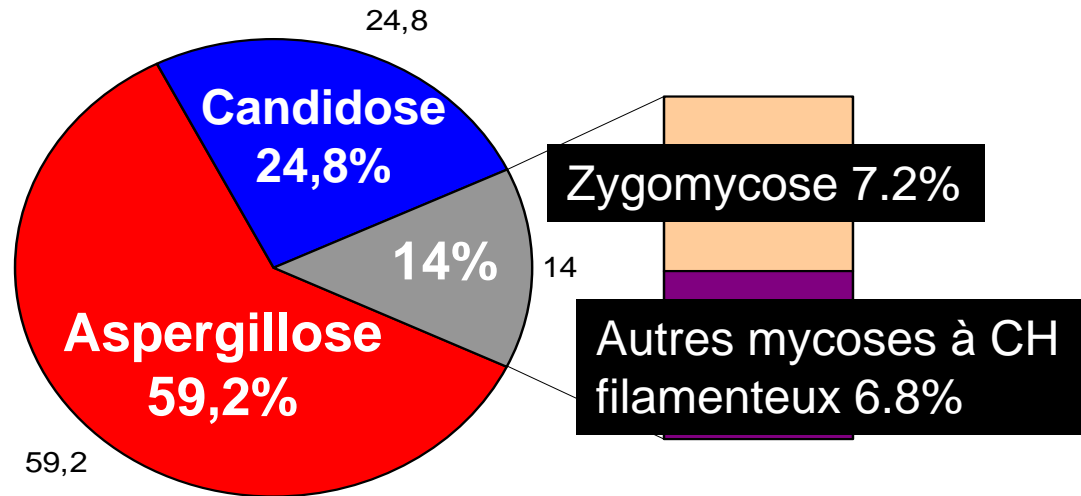
- 100 % documentées par culture
- *Candida albicans* : 25 %
- *Candida non albicans* : 75%
  - *Candida glabrata* : 43%
  - *C. parapsilosis*, *C. krusei*,  
*C. tropicalis* : 27%



100% Hémocultures positives

# Autres infections Champignons filamenteux

Répartition des étiologies



**Autres mycoses Champignons filamenteux**

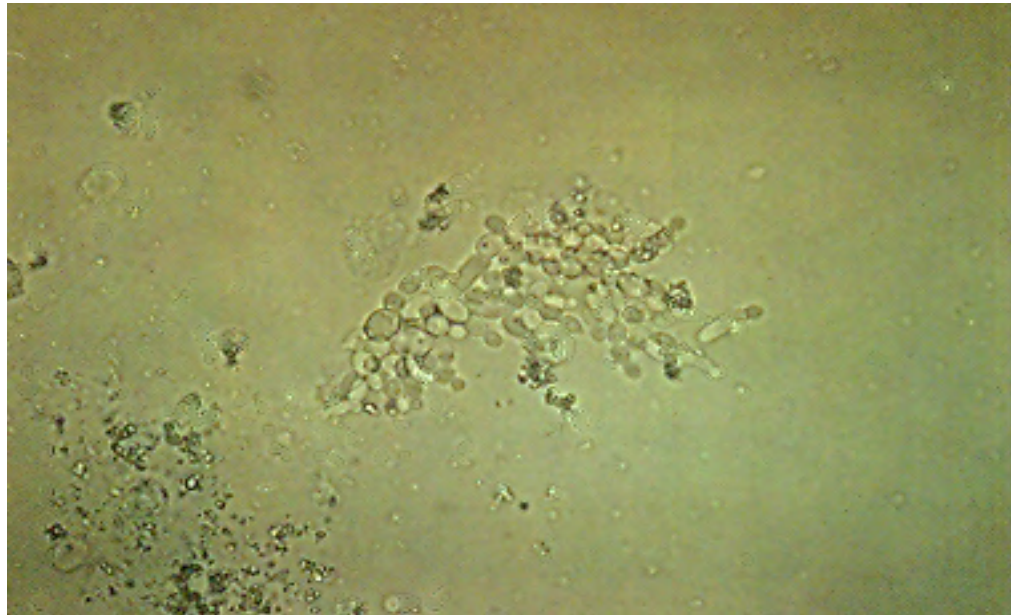
- 100 % documentées par ED/culture
- Zygomycose : 50 %
  - Rhizopus, Mucor, Absidia
- Autres champignons filamenteux : 50%

100% des cas : le diagnostic repose sur ED ou culture

Examens directs **des prélèvements (ECBC, LBA)** ou  
histologie **des biopsies pulmonaires**

<b>Préparation</b>		
État frais	Potasse	
	Colorations non spécifiques	
Apposition ou des frottis	<u>usuelles</u> GIEMSA -Gram	<u>fluorescentes</u> Calcofluore - Uvitex 2B
Cytologie/ histologie	PAS Grocott	

# Etat Frais

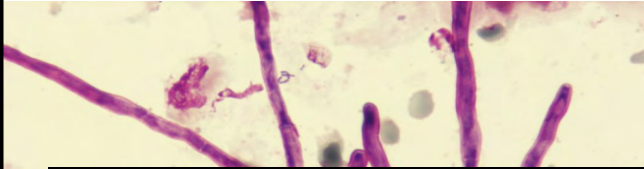


**GIEMSA**

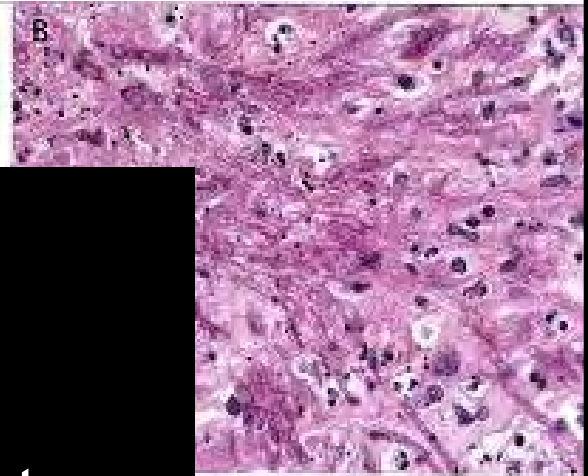
**GROCOTT**

**PAS**

**FROTTIS LBA**



**BIOPSIE PULMONAIRE**

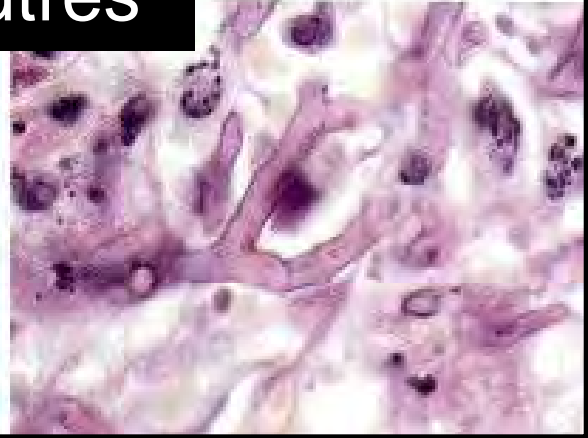
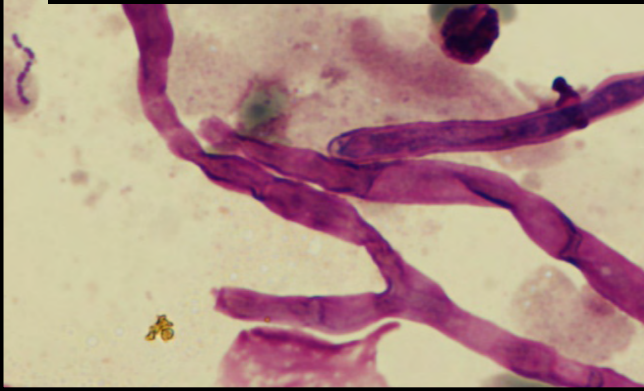


Aspect des filaments

→ type Aspergillus

→ type Mucorale (Zygomycète)

→ type Fusarium, Scedosporium ou autres



# ED et histologie

- Coloration non spécifique des champignons
- Mettre en évidence
  - filaments septés de 2 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre avec branchements à  $45^\circ$  (Type Aspergillus)
    - Ne permet pas de différencier les différentes espèces de Aspergillus
    - Ne permet pas de séparer d'autres champignons filamenteux septés (*Scedosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp.)
  - filaments non septés (type Mucorale)
  - filaments associés à des levures (Candida albicans)



# Valeur de la culture

## OPTIMISER LA MISE EN CULTUE

	Champignons filamenteux	Levures
Durée d'incubation	3 semaines	8 jours
Milieu	Tube et milieu de Sabouraud + antibiotiques	Boites de pétri Milieux chromogènes
Température	30°C	30°-37°C

Selon la nature du prélèvement et du diagnostic évoqué :

- analyses à réaliser
- valeurs diagnostiques

Prélèvements respiratoires non invasifs	ECBC crachat induit	1) ED et <b>culture</b> (Se de l'ordre de 30%) Sp ?
Prélèvements respiratoires semi invasifs	LBA	1) ED + <b>culture</b> (Se de l'ordre de 50%) 2) Ag GM (Galactomannane) 3) PCR ?
Biopsies poumon	- aiguille trans-thoracique - trans bronchique - chirurgicale	1) ED+ <b>culture</b> ?? 2) Histologie vs Hybridation in situ 3 )PCR ?
Biopsies Sinus		ED (Se ?) ED + : <b>culture</b> se : 50%

Prélèvements sanguins	plasma sang total sérum	<b>hémoculture</b> 1) Ag GM 2) b 1-3 glucane 3) PCR ?
-----------------------	-------------------------------	--

# Marqueurs des Infections Fongiques Invasives

- Détection Antigènes
  - Galactomannane
  - $\beta$  glucane
- Détection d'ADN fongique

# Antigène Galactomannane

- Polysaccharide (mannane et galactofurane) libéré par les champignons du genre *Aspergillus* au cours de sa croissance
- Détectable dans le sérum et dans le LBA, LCR  
→ Méthode de détection : ELISA (Platéla, BioRad) seuil de détection < 10 ng ( méthode standardisée)
- Cut off de positivité : **selon échantillon biologique**
  - sérum validé : AG + → Index > 0,5
  - LBA et LCR non validé : Index = 1 -1,5 ?? Étude en cours

# Galactomannane sérique est un marqueur des Aspergilloses Invasives validé que chez les patients d'onco-hématologie !

- 27 études entre 1996 -2005. Méta-analyse
- Performances globales: Se : 71 % et Sp : 89%
- variations importantes par population de patients

Population	Sensitivité	Spécificité
onco-hématologie adulte	70 %	92 %
GMO adulte	82 %	86 %
onco-hématologie et GMO enfant	89 %	85 %
transplantation organe	22 %	84 %

# Galactomannane est un marqueur des Aspergilloses Invasives validé que chez les patients d'onco-hématologie !

- 27 études entre 1996 -2005. Méta-analyse
- Performances globales: Se : 71 % et Sp : 89%
- variations importantes par population de patients

Population	Sensitivité	Spécificité
onco-hématologie adulte	70 %	92 %
GMO adulte	82 %	86 %
onco-hématologie et GMO enfant	89 %	85 %
transplantation organe	22 %	84 %

# GM indicateur de la charge fongique et du pronostic ?

- et charge fongique : valeurs plus élevées
  - Aspergillose angio-invasive
  - Patients neutropéniques
    - données autopsiques : lésions histologiques plus extensives et plus angio-invasives chez les patients neutropéniques que chez les non-neutropéniques
- Suivi thérapeutique : marqueur pronostique
  - diminution et disparition du GM : bon pronostic
  - Persistance associée à un échec thérapeutique

- Cordonnier C et col., CMI 2009 - Chamilos G et coll., Haematologica 2006  
- Hidalgo A et coll., Eur J Radiol (2009) - Woods G et coll., Cancer 2007  
- Miceli MH et coll., CID 2008

# GM : Problème de faux positifs

- Réactions croisées avec d'autres champignons : *Penicillium* sp., *Geotrichum* sp, *Histoplasma* sp.
- Facteurs d'hôte
  - Post allo greffe de MO au cours des GVH digestives
  - Pédiatrie, enfants < 2ans
- Facteurs iatrogènes
  - Antibiotiques semi- synthétiques :
    - Pipéracilline- tazobactam
    - Amoxicilline et Amoxicilline-acide clavulanique
  - Solution de nutrition parentérale NP 2, solutions préparées à l'hôpital (gluconate de calcium)
  - Plasmalyte
  - IgIV NEM

Gangneux JP et coll., Lancet 2002

Aubry A et coll., JCM 2006

Ribaud P et coll., ICAAC 2007

Hayden R et coll. Pediatr Infect Dis J 2008

Asano-Mori, Y. et coll., JAC 2008

Bougnoux M.E et coll., ECCMID 2010

# Evaluation en onco-hématologie pédiatrique

Peu d'études. Disparité des résultats

	Sulahian A 2001	Steinbach W 2007	Castagnola E 2010
Nb patients	347	64	195
Nb AI probable/ prouvée	9	0	5
Nb AI prouvée/probable /possible	-	0	22
Seuil de pos antigène GM	$\geq 1,5$	$\geq 0,5$	$\geq 0,5$
Sensibilité (%)	100	NA	32
Spécificité (%)	89,9	91,5	98

- Sulhahian A et coll. Cancer 2001
- Steinbach W., Pediatric Infect Dis 2007
- Castagnola E et coll., CMI 2010

# GM : Problème de faux positifs

- Réactions croisées avec d'autres champignons : *Penicillium* sp., *Geotrichum* sp, *Histoplasma* sp.
- Facteurs d'hôte
  - Post allo greffe de MO au cours des GVH digestives
  - Pédiatrie, enfants < 2ans
- Facteurs iatrogènes
  - Antibiotiques semi- synthétiques :
    - Pipéracilline- tazobactam
    - Amoxicilline et Amoxicilline-acide clavulanique
  - Solution de nutrition parentérale NP 2, solutions préparées à l'hôpital (gluconate de calcium)
  - Plasmalyte
  - IgIV NEM

Gangneux JP et coll., Lancet 2002

Aubry A et coll., JCM 2006

Ribaud P et coll., ICAAC 2007

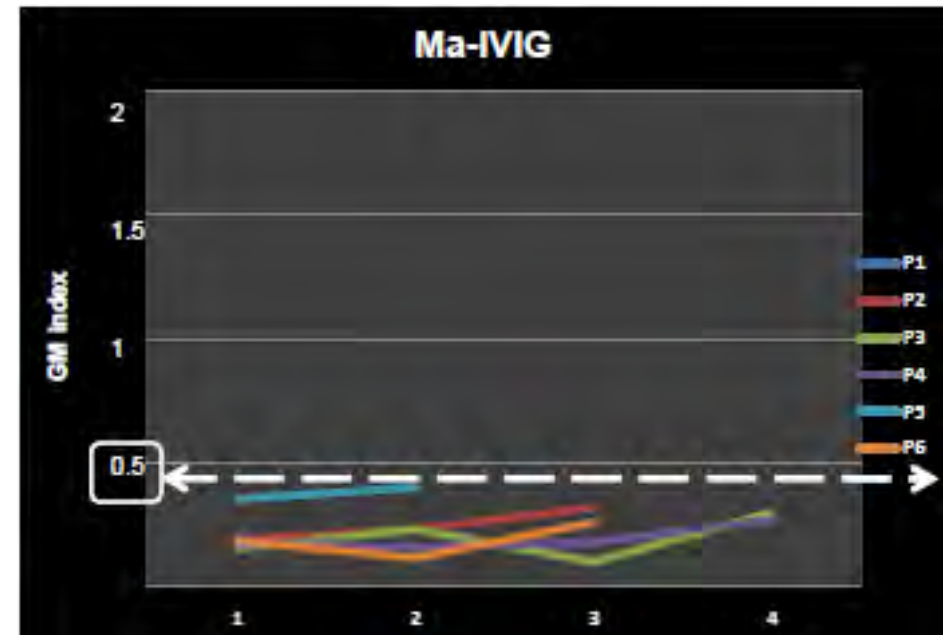
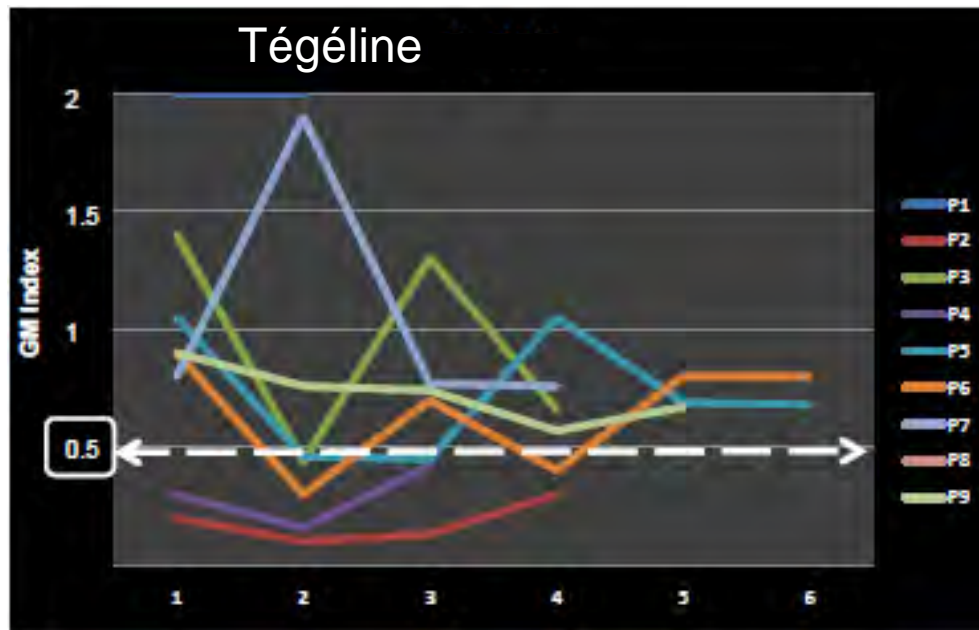
Hayden R et coll. Pediatr Infect Dis J 2008

Asano-Mori, Y. et coll., JAC 2008

Bougnoux M.E et coll., ECCMID 2010

# Rôle de certaines IgIV : Tégéline

Cinétique des antigénémies galactomannane chez des adultes et des enfants sans infection aspergillaire



Bougnoux M.E et coll., ECCMID 2010

# Utilité de la détection du Galactomannane dans le LBA ?

Cut off = 1,5 !!

# pt 160	Sens (%)	Spec (%)	PPV (%)	NPV (%)
Serum	47	93	73	82
BAL	85	100	100	88

# Marqueurs sériques des Infections Fongiques Invasives

- Détection Antigènes
  - Galactomannane
  - $\beta$  glucane (BG)
- Détection d'ADN fongique

# $\beta$ glucane

- Les glucanes : Paroi des champignons
- Constituants majeurs du squelette pariétal
- Longues chaînes de résidus glucose liées en  $\beta$ 1-3 et en  $\beta$ 1-6
- Seuls  $\beta$  1-3-D-glucane : détectés
- détectables chez tous les CH sauf les zygomycètes et exprimés très faiblement chez *Cryptococcus neoformans*
- Présents kystes de *Pneumocystis jirovecii*

# Détection $\beta$ -D-glucane

## 4 Tests commercialisés

	Fungitec G-test	$\beta$ glucane test Walko	B-G star	Fungitell
Développé	Japon	Japon	Japon	USA
Approuvé	1995	1995	2001	2004
Valeur du Cutoff pg/ml	20	11	11	60-80

# Evaluation du Fungitell

- Etude rétrospective (279 pts/ 1 serum/pt)
- 117 patients IFI ( 70 AI + 27 candidémies + 20 pneumocystoses)
- Contrôles : donneurs de sang → 40
- Pts à risque hématologie ss IFI documentée → 122
- **Valeurs intrinsèques du test**
  - Sensibilité : 77, 8% ( 68% AI, 85% candidémie, 100% Pneumocystose)
  - Spécificité : → donneurs sang : 92%  
→ patients à risque : 70.5%

# BG : Suivi de patients atteints de Leucémie aigue

- Prospective monocentrique 2002-2006
- 95 patients Leucémie aigue + chimiothérapie
  - 199 épisodes de neutropénie, 339 épisodes de fièvre inexpiquée
- Screening beta (1-3) D glucane : Résultats : 2 tests consécutifs +
  - bihebdomadaire en absence de fièvre et quotidien aplasie fébrile
- Infections fongiques invasives n=62
  - prouvées ou probables n= 32 (17 AI, 15 candidémies et 2 IF mixtes)
  - Probables n = 30

	Sensitivité	Spécificité	VPP	VPN
IFI vs non IFI	63 %	96 %	84 %	89%
Neutropénie	37 %	96 %	81 %	74 %
Fièvre	60 %	97 %	74 %	91 %

# Performance diagnostique du BG → Fungitell

- Prospective monocentrique 2004-2006
- 871 patients et 1308 prélèvements obtenus au moment de l'épisode
- Infections fongiques : n=116
  - Prouvées n= 80 ( 44 candidoses, 14 AI, 22 autres)
  - Probables n = 36 ( 1 candidose, 18 AI, 1 PCP, 4 autres)
  - Possibles n = 93

	Nb patient	Sensitivité	Spécificité	RV +	RV-
IFI vs non IFI	871	71 %	81%	3,71	0,36
Pts hématologie	497	62 %	84 %	4,55	0,44
Greffe de moelle	251	64 %	91%	7,26	0,39
Neutropénie fébrile	212	50 %	90 %	4,86	0,56
Pneumopathie	304	77 %	81 %	4	0,29

Evaluation du test en fonction du contexte

Koo S et coll. CID 2009

# Aucune évaluation clinique en pédiatrie

- Etude chez des contrôles :
  - 120 enfants ( 7 mois-18 ans), âge moy : 9,2 ans
    - C° moy. BG dans le sang :  $68 \pm 128$  pg/ml
    - versus chez les contrôles adultes : C° moy. BG : 48 pg/ml
  - 18% des enfants : taux  $\geq 80$  pg/ml (seuil de positivité)
- 4 Cas rapportés d'IFI:
  - Prématurés, des enfants ID
  - Candidémie à *C. parapsilosis* et Aspergillose
  - associés à des taux très élevés de

# Problème de spécificité

- **Faux positifs :**
  - patients avec bactériémie ou inf bactérienne (*Pseudomonas aeruginosa*)
  - patients avec colonisation multiple à *Candida* sp.
- **Iatrogène :**
  - hémodialyse : membrane de cellulose
  - Chirurgie : contamination par compresses
  - Immunoglobuline IV

Miyazaki T *et al.* *J Clin Microbiol* 1995; Obayashi T *et al.* *Lancet* 1995; Mitsutake KT *et al.* *J Clin Microbiol* 1996 ; Pazos C *et al.* *J Clin Microbiol* 2005

# Problème de spécificité

- **Faux positifs :**

- patients avec bactériémie ou inf bactérienne

(Bactériémie)

Test BDG inclus dans les critères diagnostiques

EORTC/MSG révisés en 2008

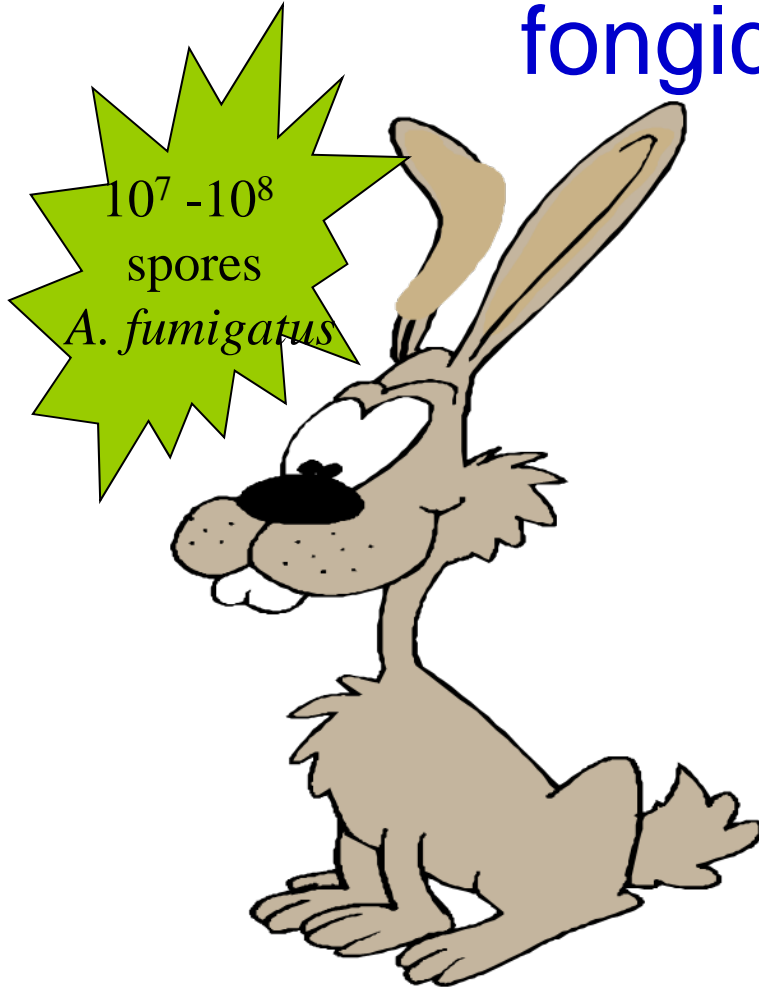
- Chirurgie : contamination par compresses
- Immunoglobuline IV

Miyazaki T *et al.* *J Clin Microbiol* 1995; Obayashi T *et al.* *Lancet* 1995; Mitsutake KT *et al.* *J Clin Microbiol* 1996 ; Pazos C *et al.* *J Clin Microbiol* 2005

# Marqueurs des Infections Fongiques Invasives

- Antigènes polysaccharidiques
  - Galactomannane
  - $\beta$  (1-3) D glucane
- **ADN fongique**

Il existe une corrélation entre charge  
fongique tissus et détection d 'ADN



Modèle Aspergillose Invasive  
lapin immunodéprimé  
inoculum intratrachéal

Walsh T, JID 1994

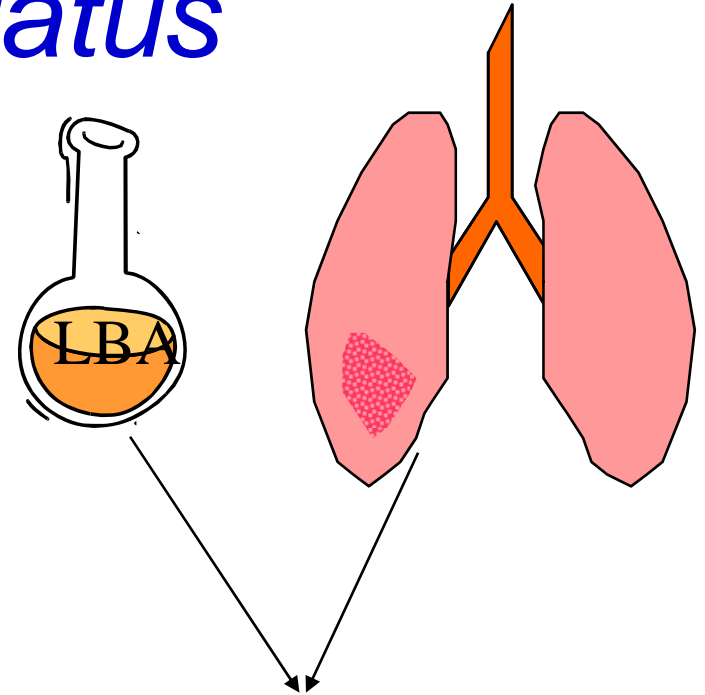
# Charge fongique et détection d'ADN *A. fumigatus*



J14  
post infection



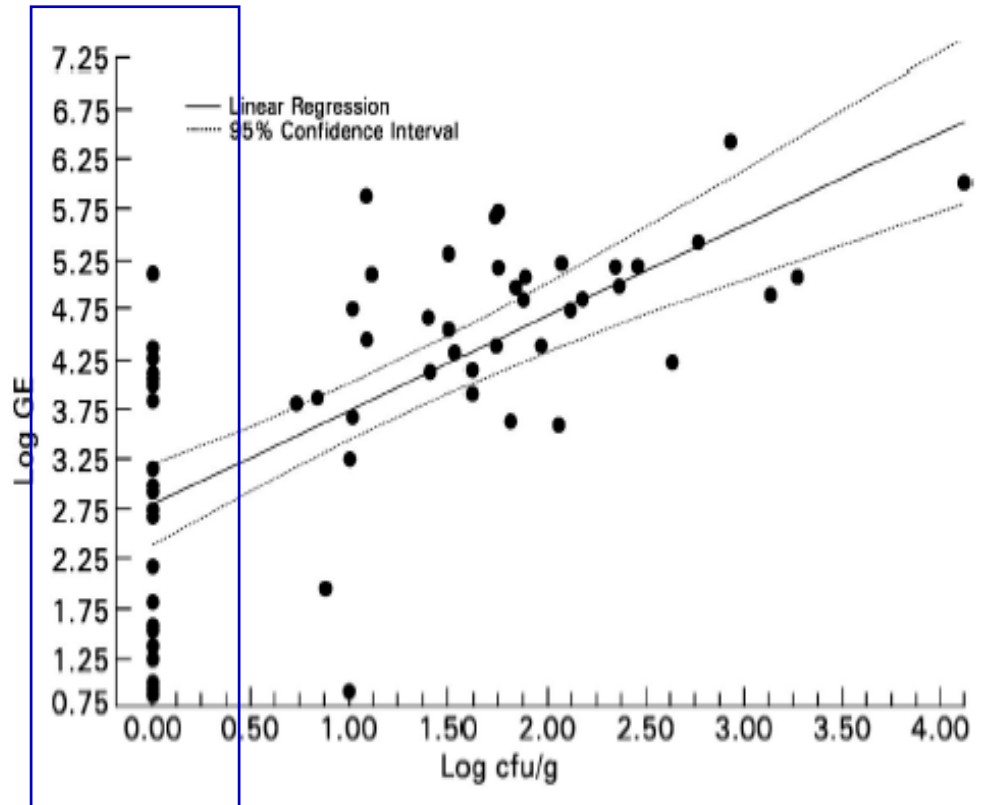
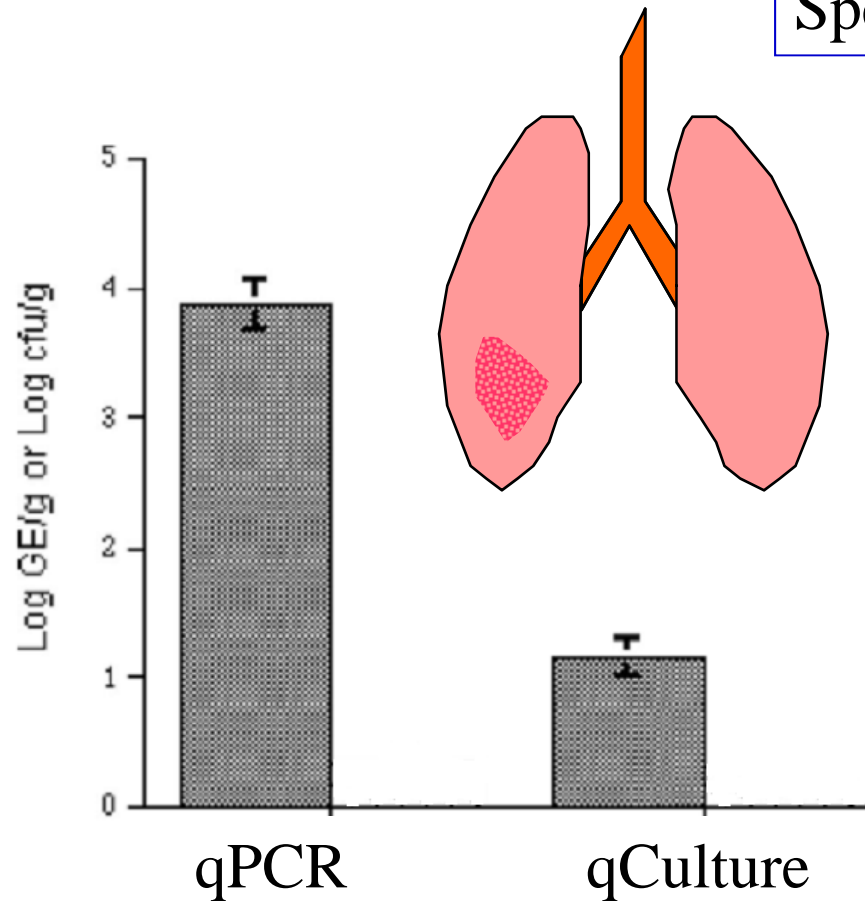
traités AmB  
ou non traités



qPCR vs Culture

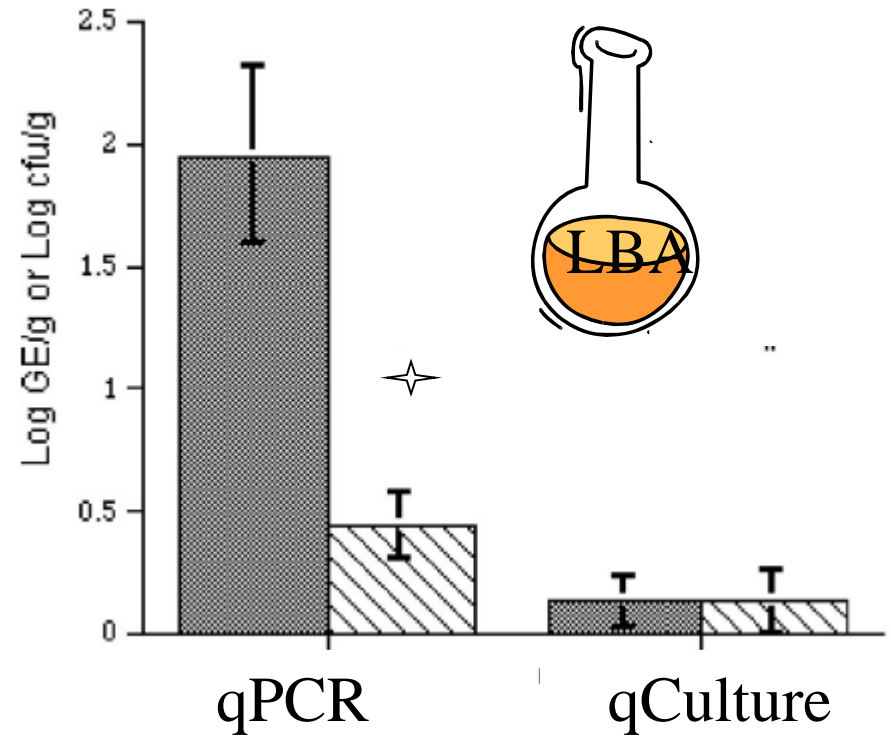
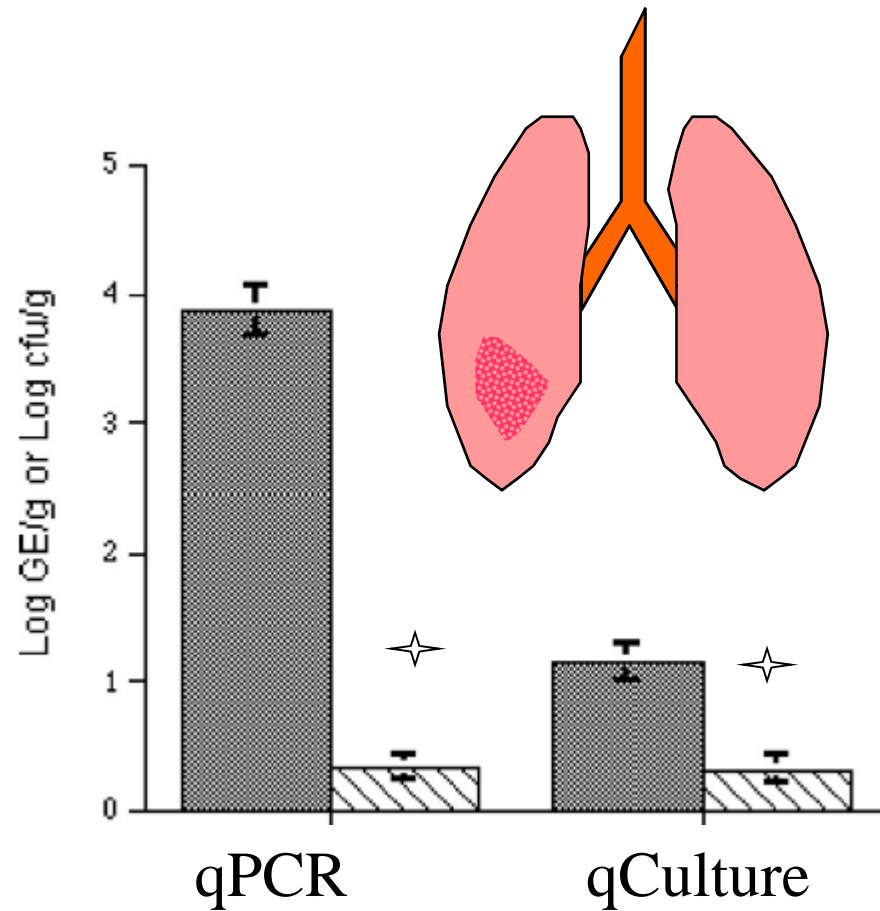
# Charge fongique et détection d 'ADN

Sensibilité : qPCR (100%) > qculture (68%)  
Spécificité : qPCR et qculture 100%



# Charge fongique et détection d'ADN

- Lapins AI non traités
- ▨ Lapins AI traités par AmB



# Charge fongique et détection d 'ADN *A. fumigatus*

- Corrélation entre la charge fongique dans les tissus et/ou le LBA et la quantité d 'ADN détectée par PCR quantitative (qPCR)
- sensibilité qPCR > culture ➡ LBA et tissus
  - Tissus : lésions d'infarctus et lésions hémorragiques
  - ADN libre et ADN champignons non viables
- qPCR marqueur de la diminution de la charge fongique ➡ suivi du traitement AI

# Charge fongique et détection d 'ADN *A. fumigatus*

- Corrélation entre la charge fongique dans les tissus et/ou le LBA et la quantité d 'ADN détectée par PCR

quantité

**Et l'ADN Sérique ??**

- sensibilité
  - Tissus : lésions d'infarctus et lésions hémorragiques
  - ADN libre et ADN champignons non viables
- qPCR marqueur de la diminution de la charge fongique ➡ suivi du traitement AI

# Marqueurs sériques des Aspergilloses Invasives

- Antigène Galactomannane
- $\beta$  glucane
- ADN de *Aspergillus* sp.

Très nombreuses évaluations

Types d'étude clinique et cohortes

Études rétrospectives/ prospectives

→ Résultats parfois contradictoires

Valeurs intrinsèques des techniques PCR

→ Problèmes de standardisation

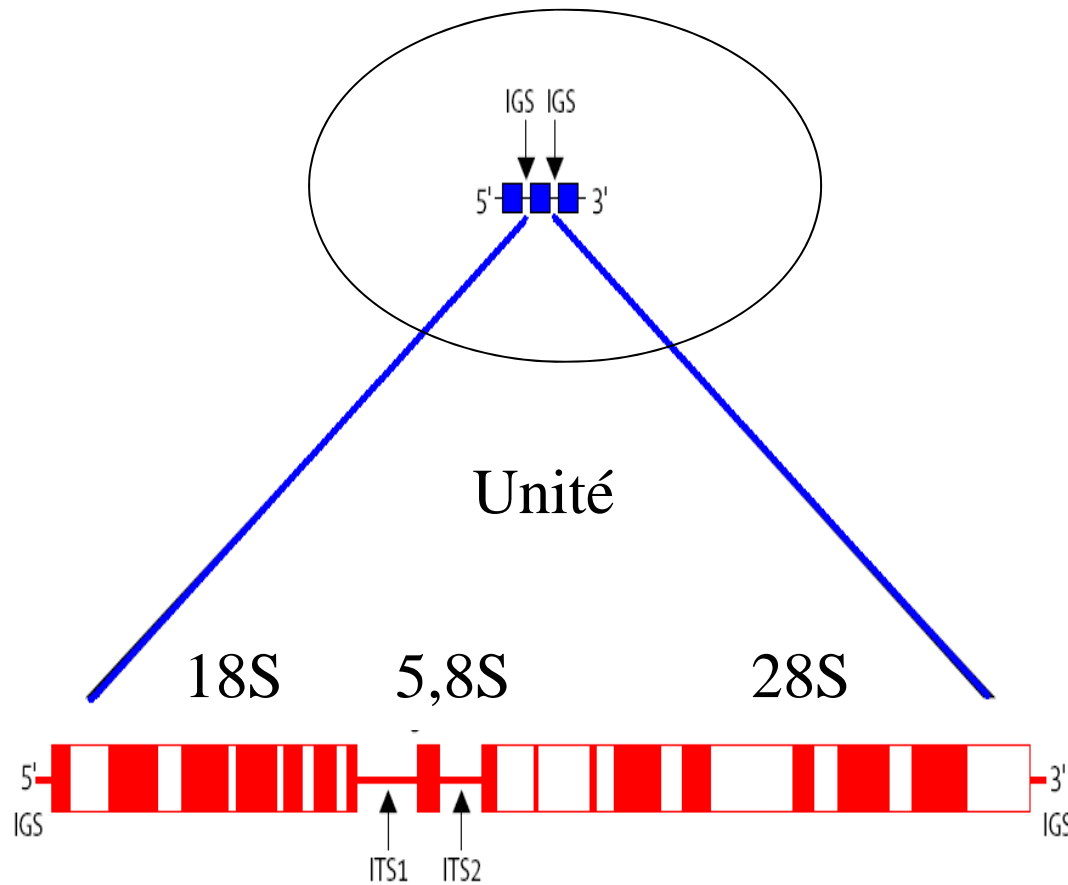
# Standardisation des méthodes PCR pour le diagnostic d'IFI

Questions techniques ??

Certaines sont résolues d'autres non.....

- ➡ Echantillon sanguin à utiliser ?
  - sang total, sérum, plasma
- ➡ Méthode d'extraction - volume sanguin ad'hoc ?
  - Automate et Kit d'extraction - Large volume
- ➡ Cible d'amplification
- ➡ Type de PCR : standard, PCR nichée, PCR multiplex, PCR quantitative

# Les PCRs fongiques ciblent ADN ribosomiques



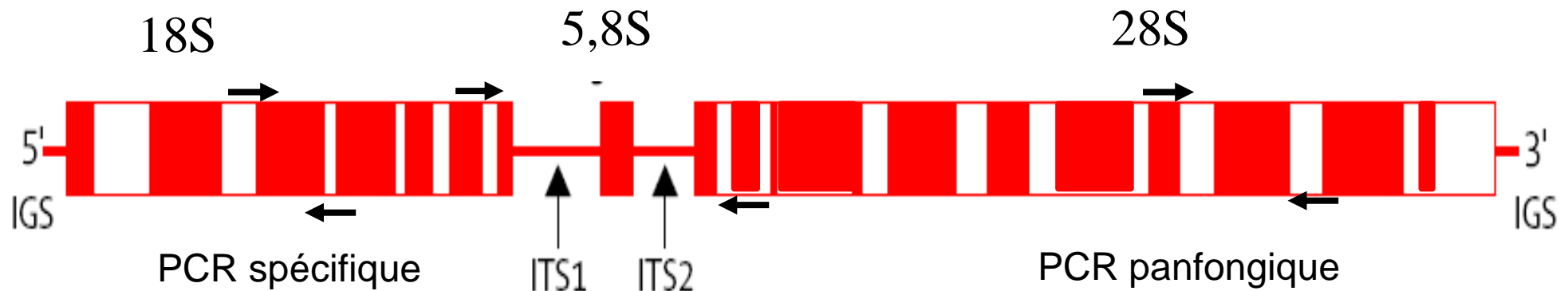
unités répétées

Sous unités  
(18S; 5,8S; 28S)  
régions conservées  
et régions variables  
spécifiques d'espèce

# Plusieurs options

- **PCR panfongique** :  
PCR standard + séquençage
- **PCR plusieurs espèces.**
  - PCR quantitative + séquençage
  - PCR multiplex
- **PCR spécifique d'espèce** :
  - PCR quantitative

→ amorces consensus : régions conservées présentes chez **tous les champignons** PCR ITS et 28S  
→ amorces judicieusement choisies régions conservées entre **plusieurs espèces fongiques**  
→ amorces spécifiques : régions spécifiques d'**une espèce**



# Performances de la PCR pour le diagnostic des Aspergilloses Invasives

- Résultats d'une méta-analyse 16 études : 2000 – 07/2008
- screening ADN sérique de *Aspergillus* chez les patients d'hématologie
- Grande disparité des stratégies de PCR

Variable	nombre
Type d'échantillon	3
Volume testé	100 µl – 3ml
Procédure d'extraction	8
Cible amplifiée	4
Type de PCR	5

	Sensitivité	Spécificité	RV +	RV -
1 PCR +	88%	75%	3,53	0,15

# Performances de la PCR pour le diagnostic des Aspergilloses Invasives

- Résultats d'une méta-analyse 16 études : 2000 – 07/2008
- screening ADN sérique de *Aspergillus* chez les patients d'hématologie
- Grande disparité des stratégies de PCR

Variable	nombre
Type d'échantillon	3
Volume testé	100 µl – 3ml
Procédure d'extraction	8
Cible amplifiée	4
Type de PCR	5

	Sensitivité	Spécificité	RV +	RV -
1 PCR +	88%	75%	3,53	0,15
2 PCR +	75%	87%	6,04	0,28

# Chez les patients d'hématologie adulte → la détection d'ADN d'*A. fumigatus* est un marqueur précoce et spécifique d'AI

- Prospective, Hématologie adulte Necker 2006-2007
- 125 patients inclus (137 épisodes évalués)
  - 17 cas AI (1 prouvé, 14 probables et 2 possibles) → 8 patients allogreffés
  - Incidence AI : 11,3%
- Screening : GM : 2/ sem
- q-PCR *A. fumigatus* (28S): 1/sem /Sérum (1mL et 100 µL)

AI	qPCR		GM
	large volume	faible volume	
Sensitivité	100%	76,5	88,2
Spécificité	96,7	96,7	95,8
VPP	81	81,3	75
VPN	100	95,6	98,3

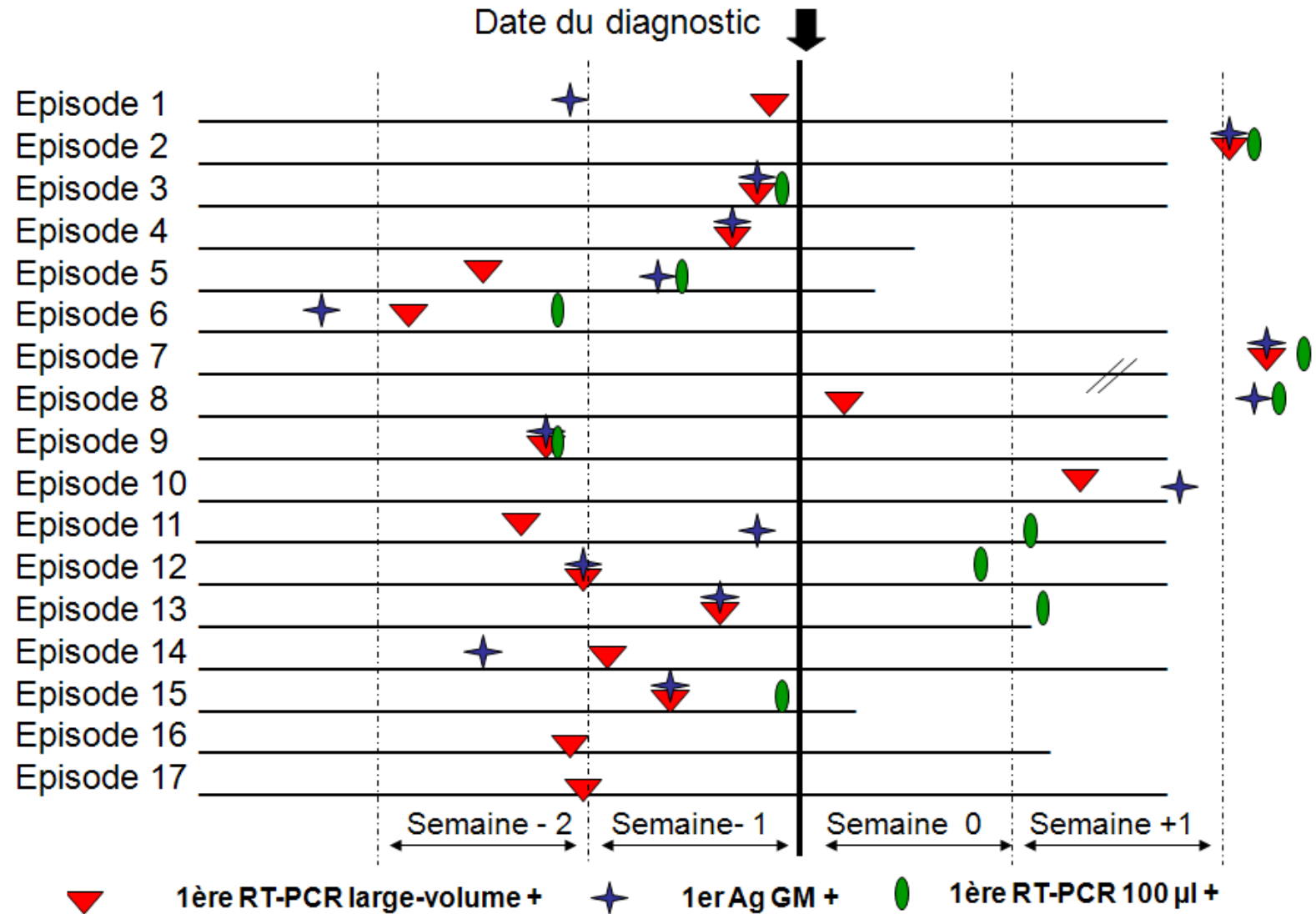
# Chez les patients d'hématologie adulte → la détection d'ADN d'*A. fumigatus* est un marqueur précoce et spécifique d'AI

- Prospective, Hématologie adulte Necker 2006- 2007
- 125 patients inclus (137 épisodes évalués)
  - 17 cas AI (1 prouvé, 14 probables et 2 possibles) → 8 patients allogreffés
  - Incidence AI : 11,3%
- Screening : GM : 2/ sem
- q-PCR *A. fumigatus* (28S): 1/sem /Sérum (1mL et 100 µL)

AI	qPCR		GM
	large volume	faible volume	
Sensitivité	100%	76,5	88,2
Spécificité	96,7	96,7	95,8
VPP	81	81,3	75
VPN	100	95,6	98,3

# Délai de positivité de la q-PCR et du GM en fonction de la date du diagnostic d'AI chez les 17 patients

PCR + :  
 → Précède le diagnostic clinique : 13/ 17 cas AI  
 → Précède la détection GM: 5 cas concomitant : 6 cas  
 → seul marqueur sérique + AI : 2 cas



# Diagnostic indirect des Aspergilloses Invasives

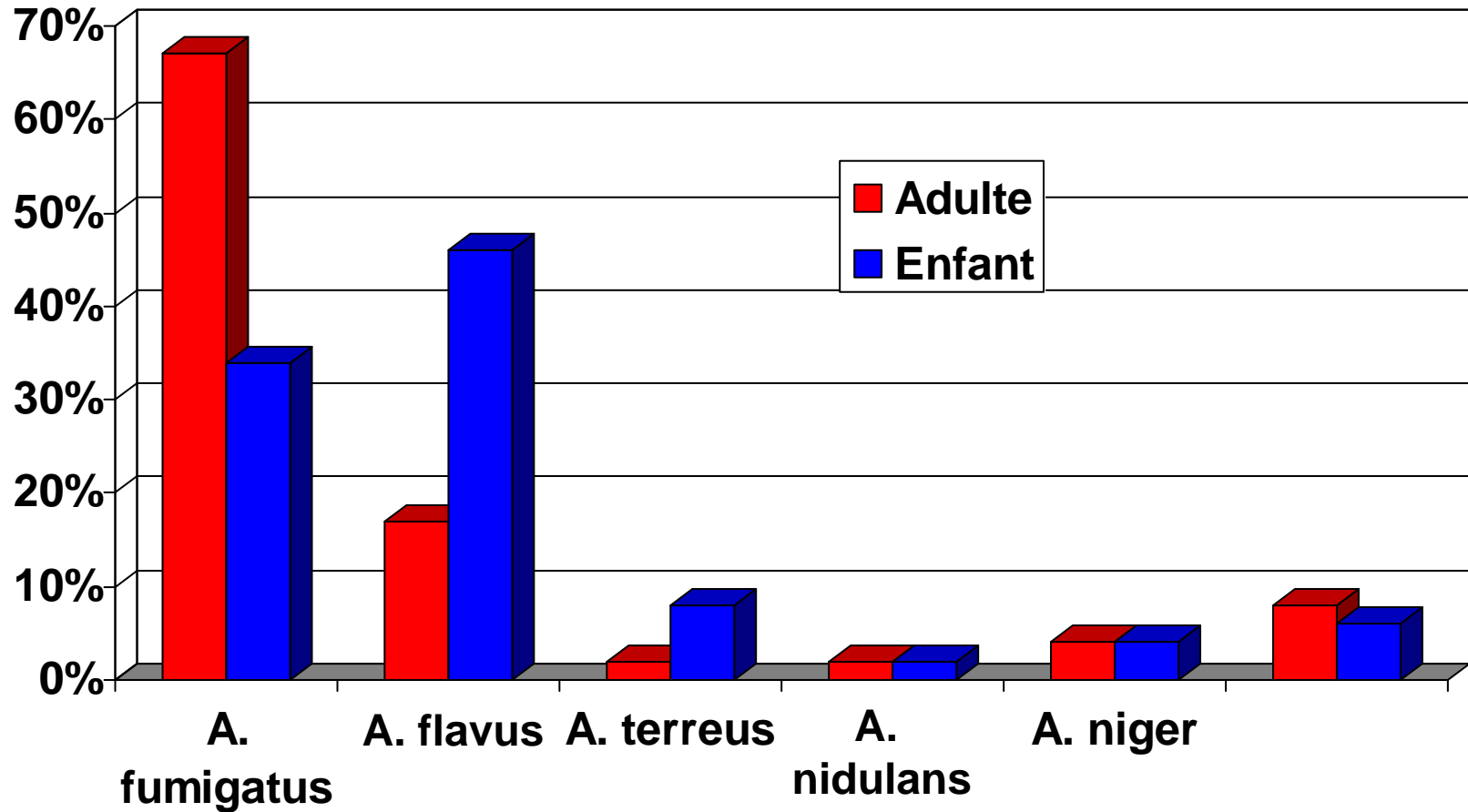
Intérêt d'associer plusieurs tests indirects ?

→ PCR Aspergillus + Antigène GM

et peut-être associer un 3<sup>ème</sup> test b-glucane  
chez certaines populations de patients chez qui  
la spécificité du GM est faible → enfants

- Etudes cliniques non disponibles ?

# Espèces



# Marqueurs des Infections Fongiques Invasives

- Antigènes polysaccharidiques
  - Galactomannane
  - $\beta$  (1-3) D glucane
- **PCR pan fongique**
  - réduire le délai de positivité des HCs
  - augmenter la sensibilité par la détection de levures non viables/non cultivable et / ou ADDN circulant

# PCR panfongique en hématologie pédiatrique (neutropénie fébrile)

- Bénéfice clinique **qPCR panfongique/ hémoculture** au cours **des épisodes de neutropénie fébrile**. Recherche « ADNémie fongique »
- Test PCR : 2 tests séparés ciblant ADNr 28S : 80 espèces amplifiables
  - **PCR 1** : *Aspergillus* (n= 11), *Fusarium* (n=4), *Penicillium* sp., *Scedosporium* (n=2))
  - **PCR 2** : *Candida* (n=23), *Cryptococcus* (n=3), Zygomycètes (n = 14), *Trichosporon* (n=3)

# 150 épisodes : 27 IFI (18%)

	Critères EORTC- IFI <b>POSITIFS</b>						Critères EORTC- IFI <b>NEGATIFS</b>		
	Prouvée		Probable		Possible		ATF		Pas d'ATF
IFI	Asp	Can	Asp	Can	Asp	Can	empirique	prophylaxie	
Episode (n=150)	4	1	5		15	2	53	25	45
PCR 1 + (n=39)	2		4		10		15	3	5
PCR 2+ (n=8)		1				1	2	1	3
PCRs 1& 2 + (n= 23)	2		1		4	1	11	2	2
PCR - (n=80)					1		25	19	35

# 27 épisodes avec IFI : qPCR + 96%

	Critères EORTC- IFI <b>POSITIFS</b>					
	Prouvée		Probable		Possible	
	Asp	Can	Asp	Can	Asp	Can
IFI						
Episode (n=150)	4	1	5		15	2
PCR 1 + (n=39)	2		4		10	
PCR 2+ (n=8)		1				1
PCRs 1&2 - (n= 23)	2		1		4	1
PCR - (n=80)					1	

- Test PCR + : >2 échantillons sanguins prélevés dans les 24h de épisode
- 27 IFI → 24 aspergilloses invasives
- qPCR + 26/27 (96%) épisodes
- 1 seul faux négatif

# 122 épisodes sans IFI

PCR + : 44/122 (36%)

	Critères EORTC- IFI <b>POSITIFS</b>						Critères EORTC- IFI <b>NEGATIFS</b>		
	Prouvée		Probable		Possible		ATF		Pas d'ATF
IFI	Asp	Can	Asp	Can	Asp	Can	empirique	prophylaxie	
Episode (n=150)	4	1	5		15	2	53	25	45
PCR 1 + (n=39)	2		4		10		15	3	5
PCR 2+ (n=8)		1				1	2	1	3
PCRs 1& 2 + (n= 23)	2		1		4	1	11	2	2
PCR - (n=80)					1		25	19	35

- PCR + chez 52% des patients ayant 1 tt empirique
- PCR + chez 24% des patients avec 1 prophylaxie
- PCR + chez 22% des patients sans ATF

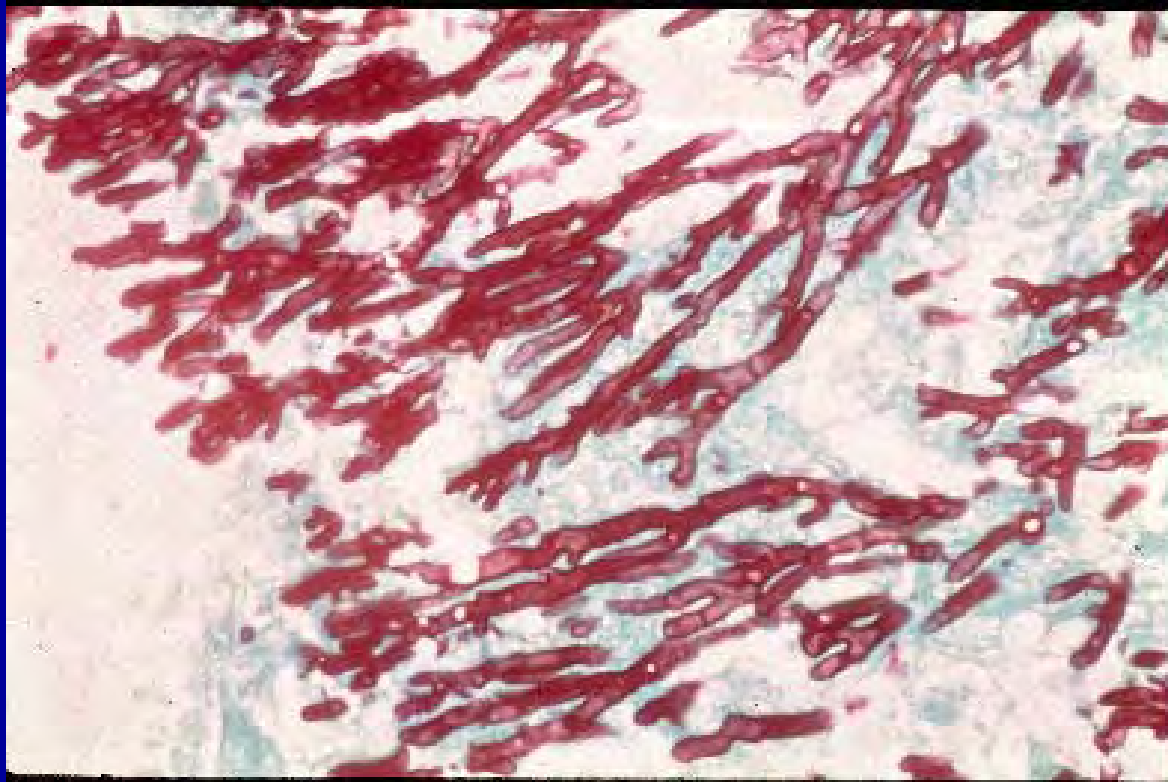
# Comment interpréter la détection d'ADN fongique au cours des neutropénies fébriles

- Situation difficile
- La positivité persistante ou répétée d'une PCR ou la détection d'ADN fongique chez les patients très immunodéprimés traités par antifongiques est difficile à interpréter car cela peut-être le témoin d'une infection à son tout début.
- l'absence de détection d'ADN chez près de 50% des patients recevant un traitement empirique sans critère EORTC d'IFI suggère qu'une proportion importante de patients sont probablement « surtraités » par des antifongiques
- Limite importante : résultats indicatifs d'une IFI sans indication précise de l'espèce fongique en cours

# Conclusions

- Intérêt d'optimiser les méthodes de mise en évidence du champignon → **diagnostic d'espèce**
  - Hybridation In situ
  - Culture
  - PCR sur prélèvement
- Intérêt d'un screening des marqueurs sériques selon un protocole défini pour chaque groupe de pts à risque

# A votre avis ?



- Aspergillus
- Fusarium
- Zygomycètes
- Penicillium
- Candida



Biopsie



Culture

# Conclusions

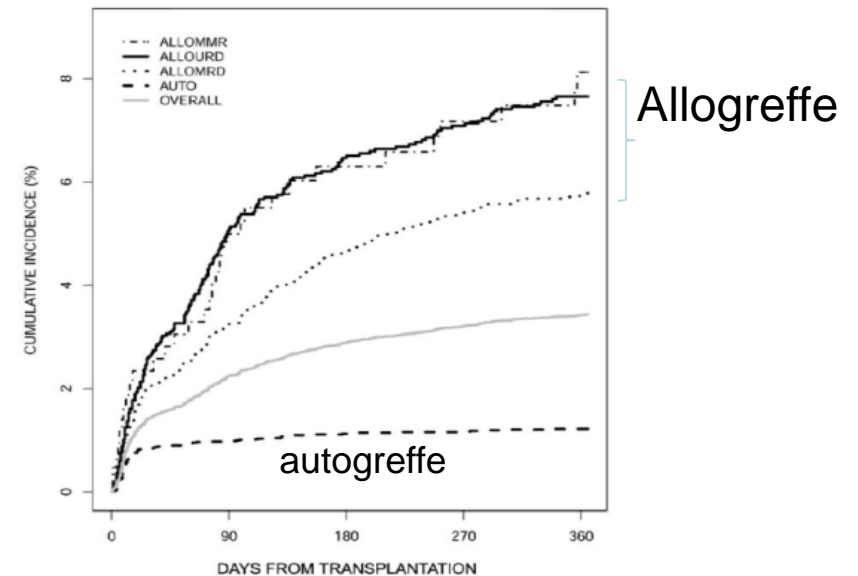
- Intérêt d'optimiser les méthodes de mise en évidence du champignon → diagnostic d'espèce
  - Hybridation In situ
  - Culture
  - PCR sur prélèvement
- Intérêt d'un screening des marqueurs sériques selon un protocole défini pour chaque groupe de pts à risque → Place du b glucane/PCR ?

# Incidence des infections fongiques invasives chez les patients bénéficiant d'une transplantation de cellules hématopoiétiques

- Etude TRANSNET : 5 ans (2001 -2006)
  - 23 centres (20% des greffes de moelle aux USA)
- Incidence globale : 3,4% (0,9% - 13,2%)
- En fonction du type de greffe
  - Allogreffe :
    - Apparentée : 5,8%
    - Non apparentée : 7,7%
    - Misapparentée : 8,1%
  - Autogreffe : 1,2 %

# Incidence des infections fongiques invasives chez les patients bénéficiant d'une transplantation de cellules hématopoiétiques

- Etude TRANSNET : 5 ans (2001 -2006)
  - 23 centres (20% des greffes de moelle aux USA)
- Incidence globale : 3,4% (0,9% - 13,2%)
- En fonction du type de greffe
  - Allogreffe :
    - Apparentée : 5,8%
    - Non apparentée : 7,7%
    - Misapparentée : 8,1%
  - Autogreffe : 1,2 %

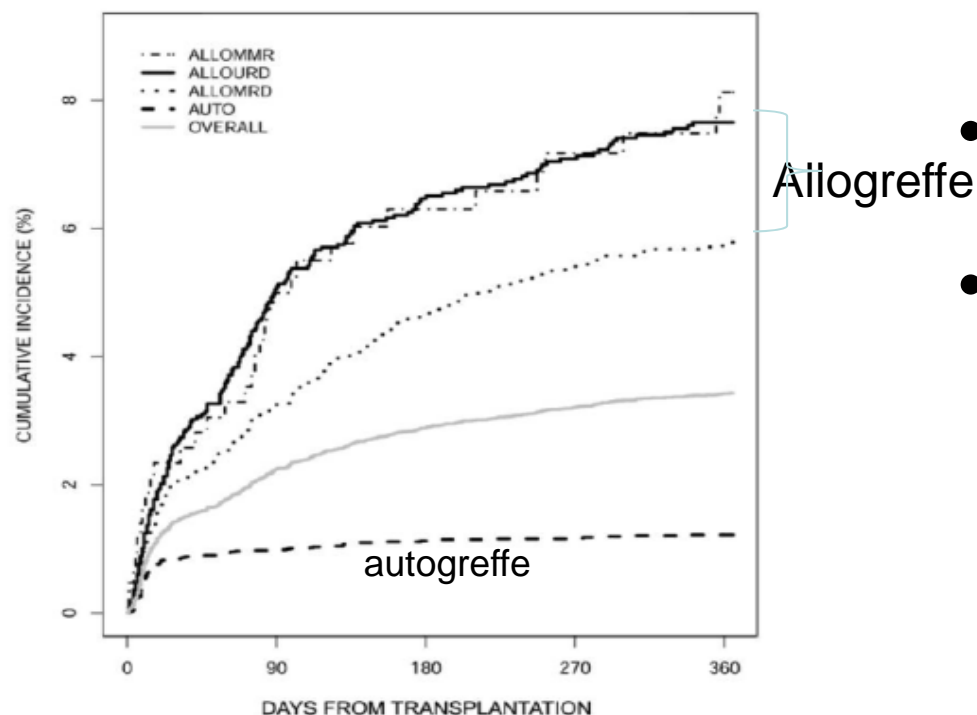


# Incidence des infections fongiques invasives chez les patients bénéficiant d'une transplantation de cellules hématopoïétiques

## En fonction du type de greffe

## Etude TRANSNET

- 5 ans (2001 -2006)
  - 23 centres (20% des greffes de moelle aux USA)
- Incidence globale : 3,4% (0,9% - 13,2%)
- En fonction du type de greffe
  - Allogreffe :
    - Apparentée : 5,8%
    - Non apparentée : 7,7%
    - Misapparentée : 8,1%
  - Autogreffe : 1,2 %

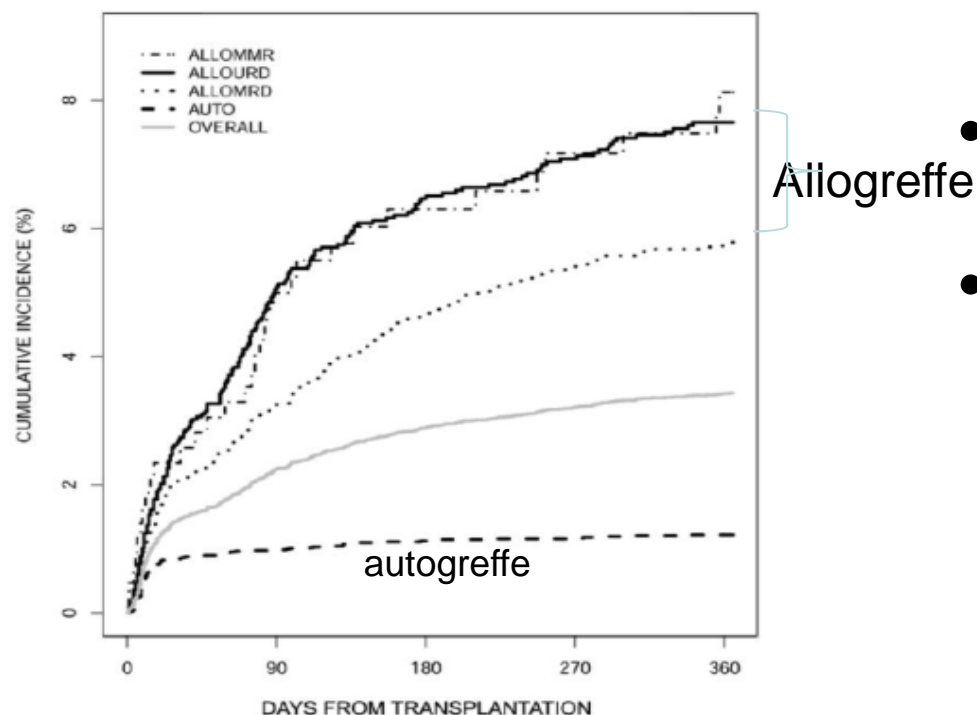


# Incidence des infections fongiques invasives chez les patients bénéficiant d'une transplantation de cellules hématopoïétiques

## En fonction du type de greffe

## Etude TRANSNET

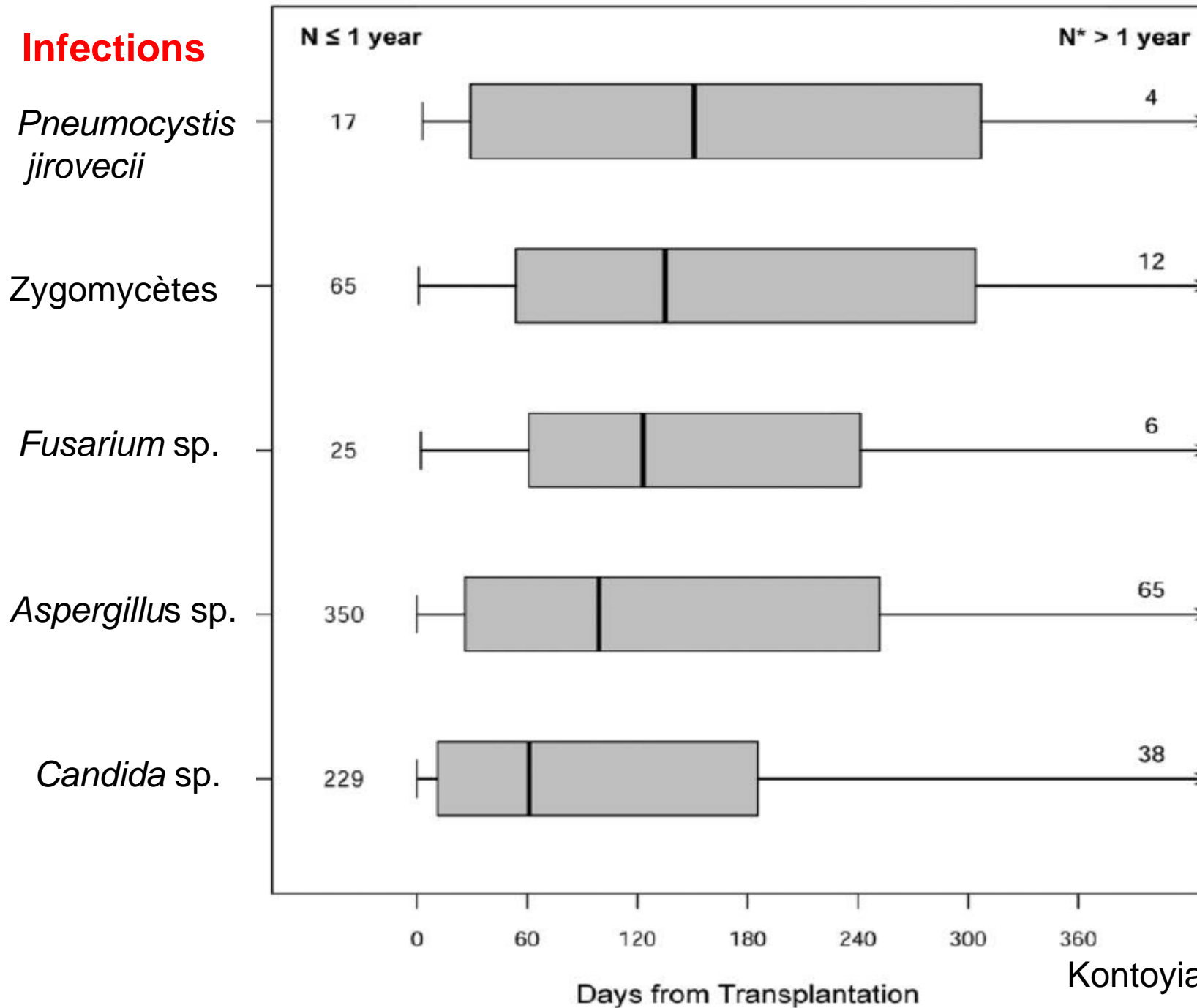
- 5 ans (2001 -2006)
  - 23 centres (20% des greffes de moelle aux USA)
- Incidence globale : 3,4% (0,9% - 13,2%)
- En fonction du type de greffe
  - Allogreffe :
    - Apparentée : 5,8%
    - Non apparentée : 7,7%
    - Misapparentée : 8,1%
  - Autogreffe : 1,2 %



# Type d'IFI et principales espèces

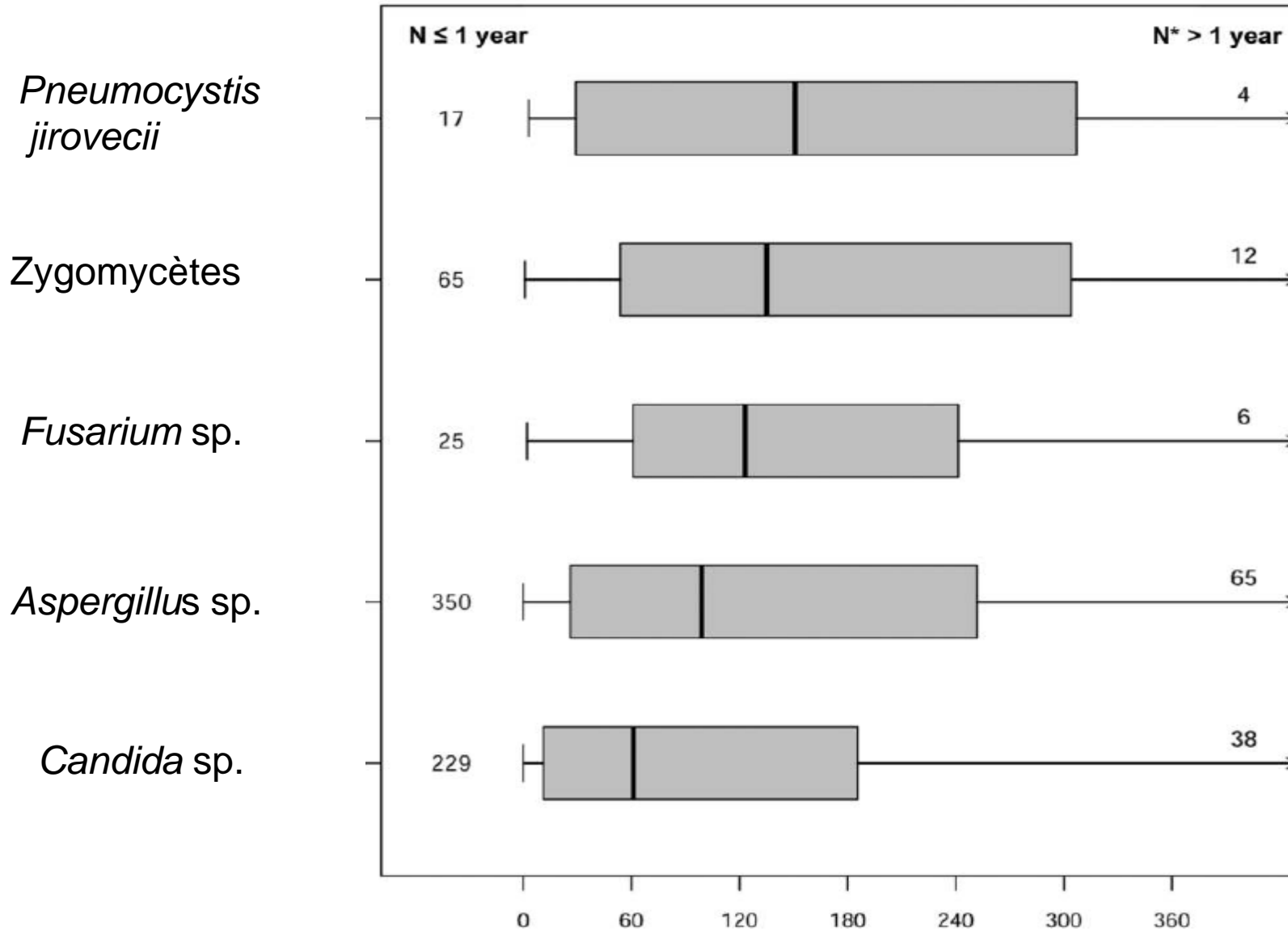
- Aspergilloses : 43%
- Candidoses : 28%
- Zygomycoses : 8%

# Infections



# Distribution des délais médians d'infections selon le type d'infection fongiques

## Infections



Jours après la greffe de moelle

Kontoyiannis D. et al. CID 2010