

Candidoses hépatospléniques

DESC Pathologie Infectieuse et Tropicale

17 mai 2011

Blandine Rammaert

Service des Maladies Infectieuses et Tropicales,

Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP

Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur

Université Paris-Descartes

Plan

- Prérequis
- Epidémiologie
- Physiopathologie
- Diagnostic clinique, microbiologique, radiologique
- Traitement
- Evolution
- Susceptibilité génétique

Prérequis

- Critères EORTC/MSG :
 - Infection prouvée = levures/filamenteux sur biopsie ou sur site stérile avec preuves clinico-radiologiques d' infection
 - Infection probable =
 - critères d' hôte = immunodépression
 - + critères cliniques
 - + critères mycologiques = directs (examen direct, culture) ou indirects (Ag aspergillaire, β Dglucane)

Epidémiologie

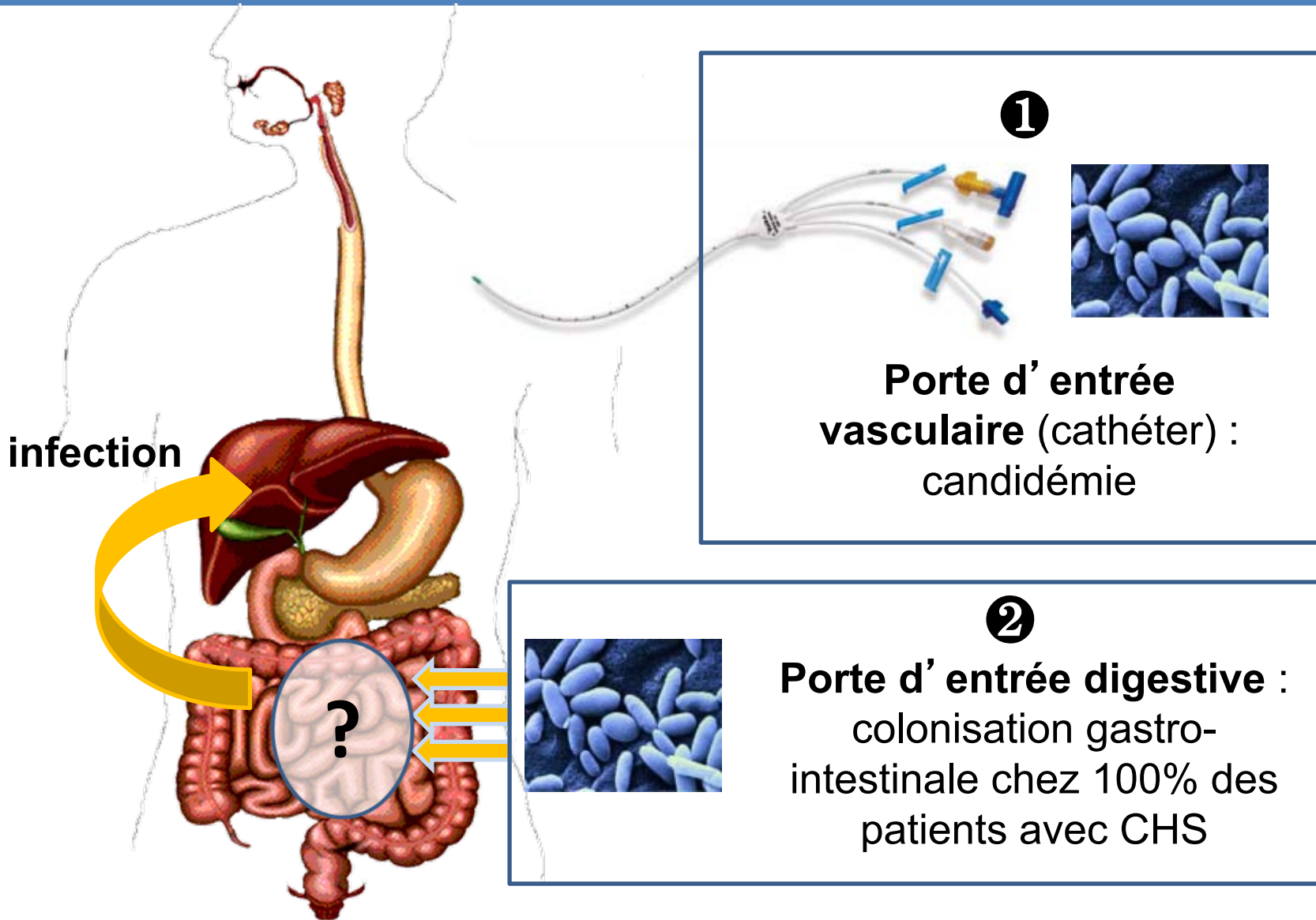
= *chronic disseminated candidiasis, hepatosplenic candidiasis, chronic systemic candidiasis*

- Incidence globale mal évaluée : 3 à 29% selon les études dans la leucémie aiguë
- En France, incidence de l'ordre de 3 à 5%/an selon les centres (données non publiées)
- Patients à risque : **neutropénique** = hémopathie maligne +++, cancer solide (non neutropénique anecdotique)

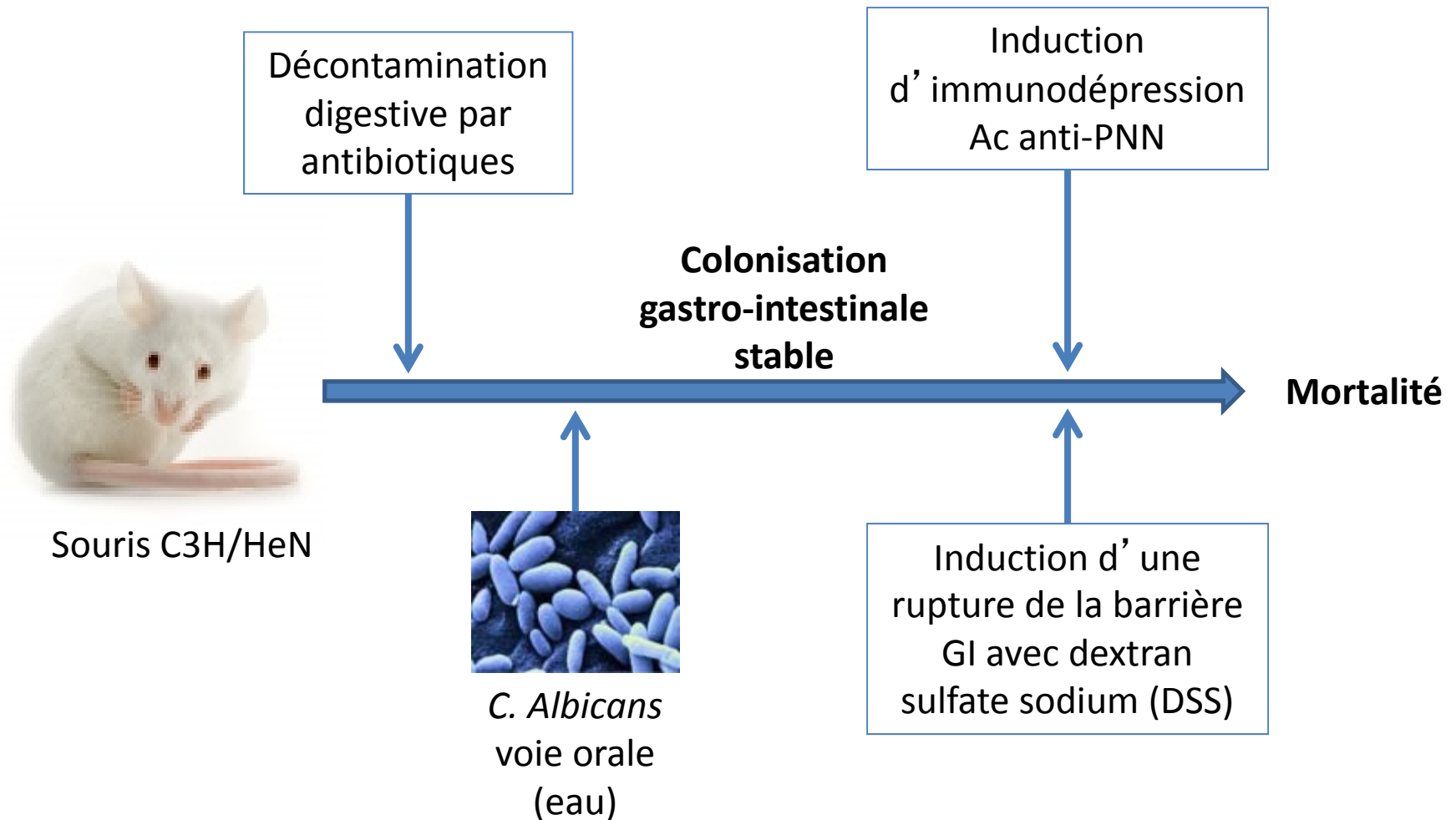
Facteurs de risque de CHS

- Les mêmes que pour les candidoses invasives aiguës
 - leucémie aiguë
 - neutropénie prolongée
 - rupture des barrières cutanées et muqueuses
 - administration d'antibiothérapies à large spectre
 - nutrition parentérale totale
 - colonisation multi-sites par *Candida* spp.
- FdR spécifiques : jeune âge (mediane 37 ans), fluoroquinolones en prophylaxie

Physiopathologie : 2 voies de contamination



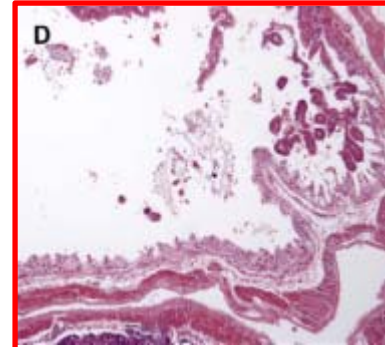
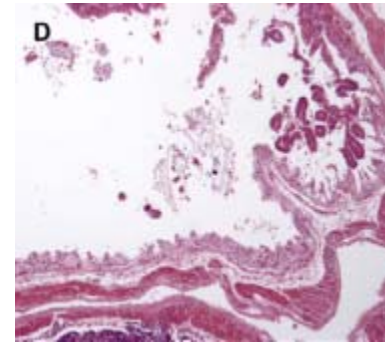
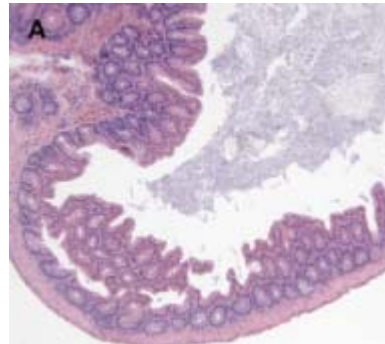
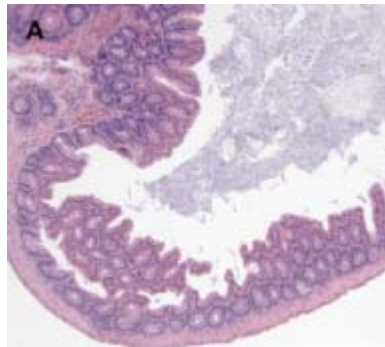
Physiopathologie : modèle de colonisation GI



Physiopathologie : 2 conditions indispensables

Muqueuse intègre

Muqueuse lésée
par DSS



+ Ac anti-
PNN

0

+

0

+

mortalité

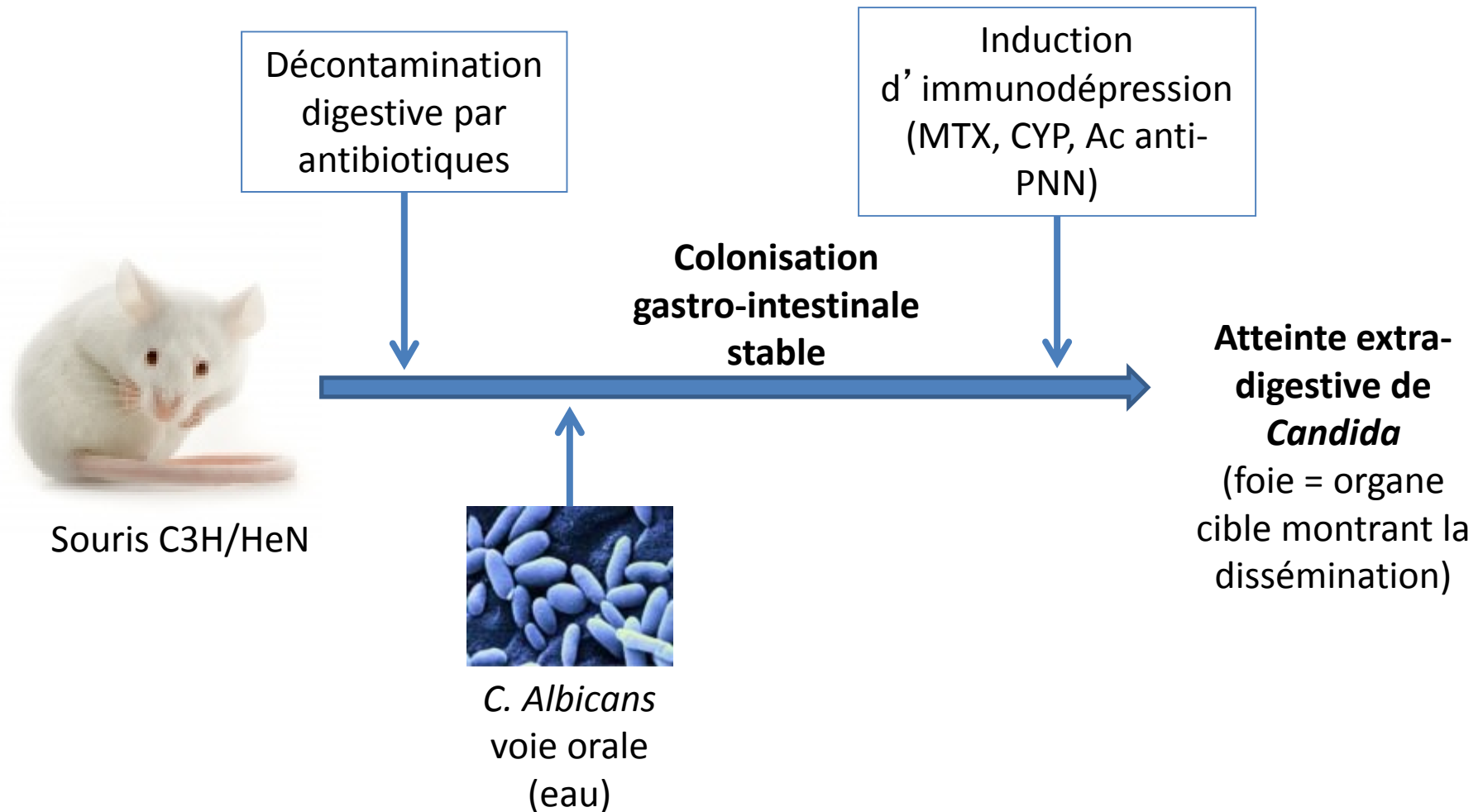
0

0

0

+++

Physiopathologie : translocation digestive



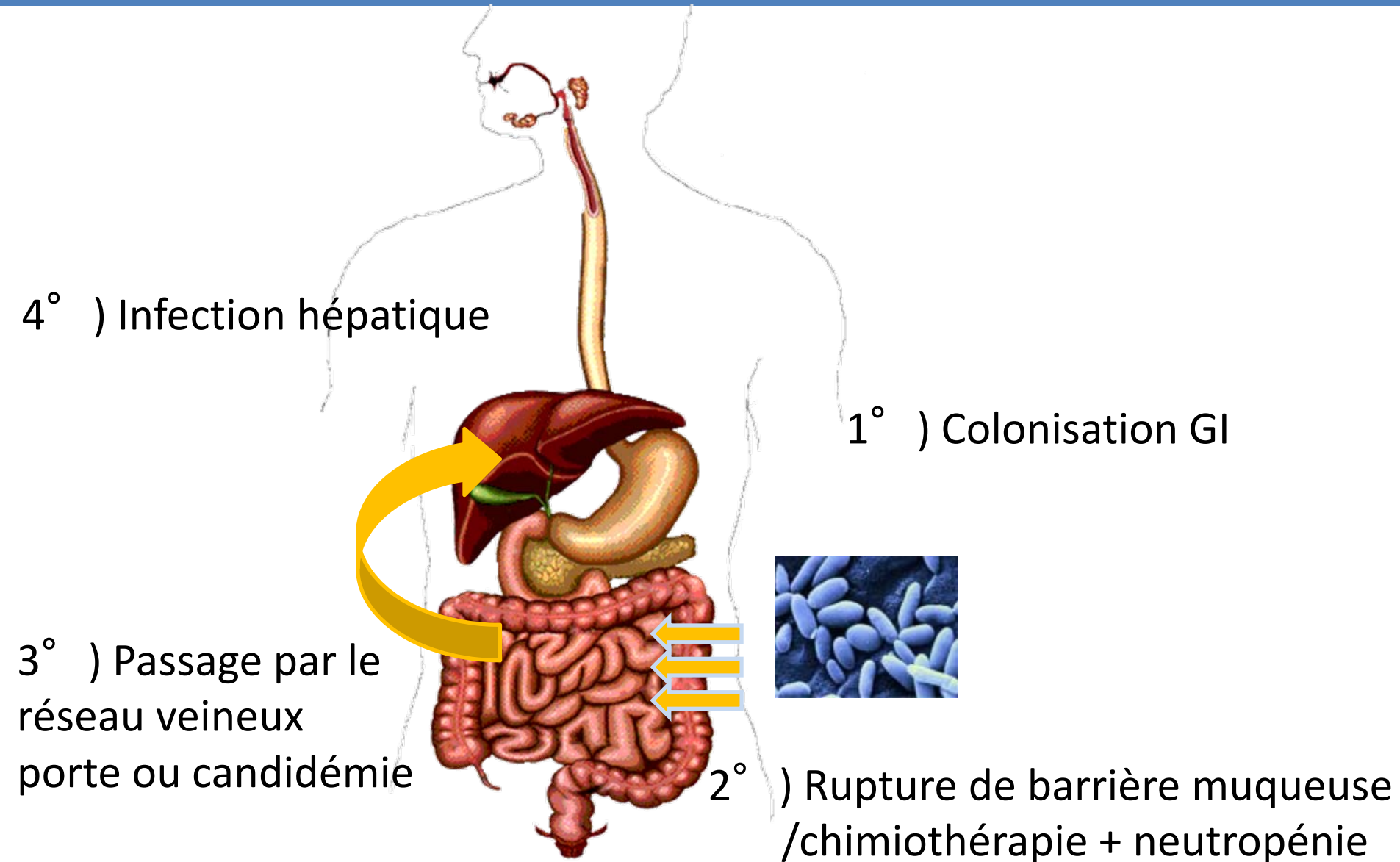
Physiopathologie : translocation digestive

euthanasie de 4 souris/groupe de J0 à J5

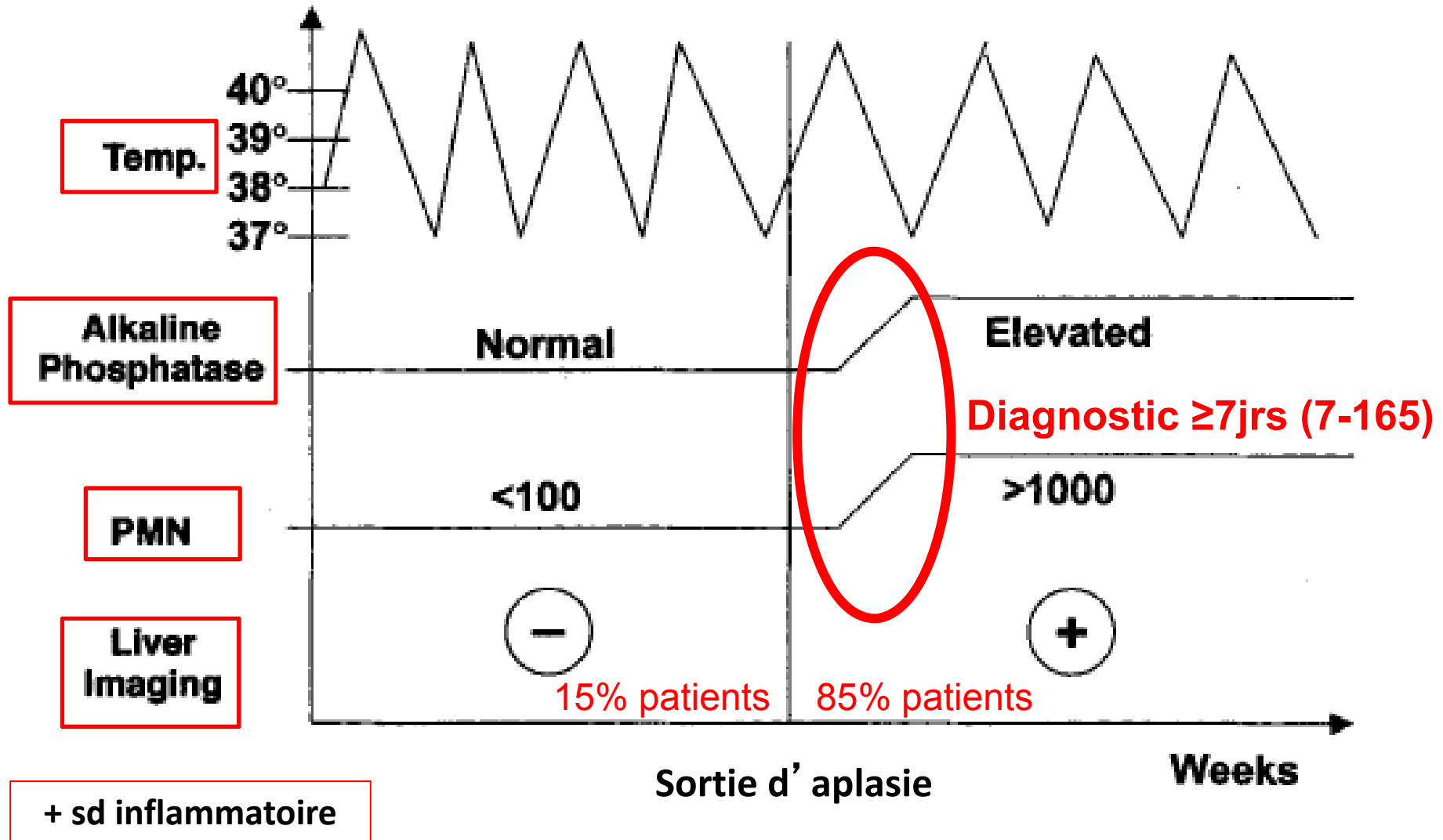
Traitement immunosuppresseur	Souris avec <i>C. albicans</i> dans foie N	charge fongique hépatique (mediane log cfu/g)
Aucun	4/24	2,1
Ac anti-PNN	5/24	3,0
Ac anti-PNN + Methotrexate	24/24	3,9
Cyclophosphamide	24/24	4,9

Mortalité dans les groupes 3 et 4 à J4/J5

Physiopathologie : porte d'entrée digestive

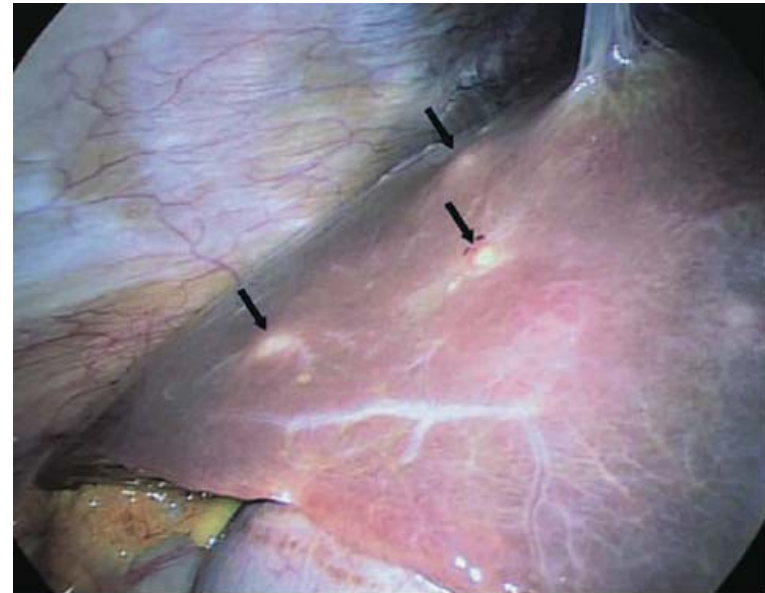


Diagnostic clinique



Diagnostic microbiologique

- Orientation : colonisation multi-sites
- Hémocultures positives dans 20% des cas
- Le mieux : des biopsies
 - ✓ par écho/scannoguidage
 - ✓ voire par coelioscopie ou laparoscopie pour certaines équipes

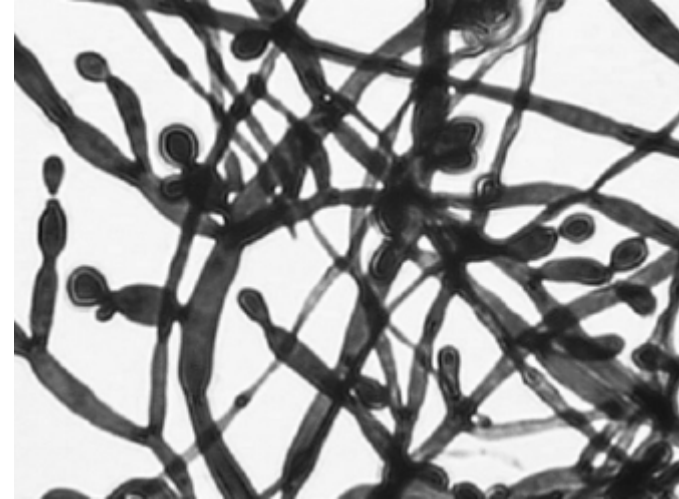


Ascioglu S et al, CID 2002

Antilla VJ et al, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis 1997

Diagnostic microbiologique

- Biopsie :
 - Lames avec colorations minimales (Grocott, PAS, HE, Ziehl) : diagnostics différentiels
 - Culture : positive 10-50% des cas
- *C. albicans* le + fréquemment en cause



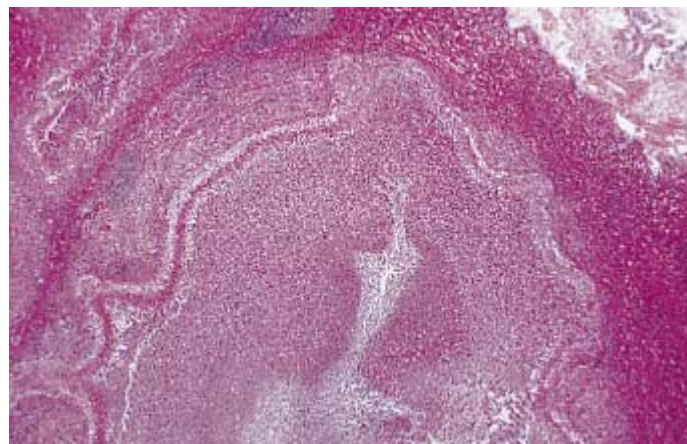
Elouennass M et al, Ann Biol Clin 2005

- Critères EORTC modifiés : la CHS n' a pas besoin de critère microbiologique pour être « probable »

Pappas et al, CID 2009

Diagnostic histologique

- Histopathologie =
 - Granulomes épithélioïdes gigantomacrophagaires contenant des macrophages ou des fibroblastes en palissade
 - Microabcès avec réaction inflammatoire sévère
 - Nécrose avec réaction inflammatoire discrète



Fleece et al, Arch Ped 1998

Kontoyiannis DP, Infect Dis Clin North Am 2000

Diagnostic histologique

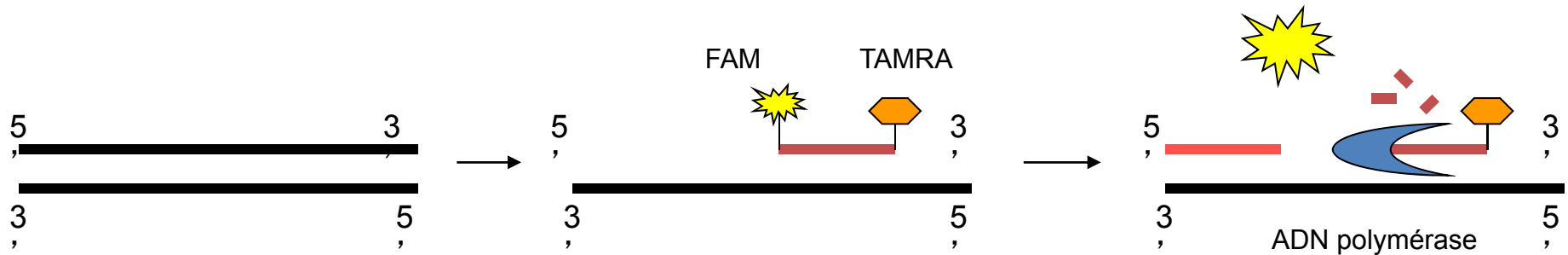
- 28 laparoscopies chez 25 patients atteints de LA en échec de ttt antifongique pour CHS
 - Nodules blanchâtres hépatiques pour 22/28
 - Levures à l' examen direct pour 12/28
 - **Aucune culture positive**

Nouveaux outils de biologie moléculaire

- A visée diagnostique
- Identification de l' espèce en cause
- Rapidité

Nouveaux outils de biologie moléculaire

- PCR quantitative (qPCR avec sonde TaqMan)



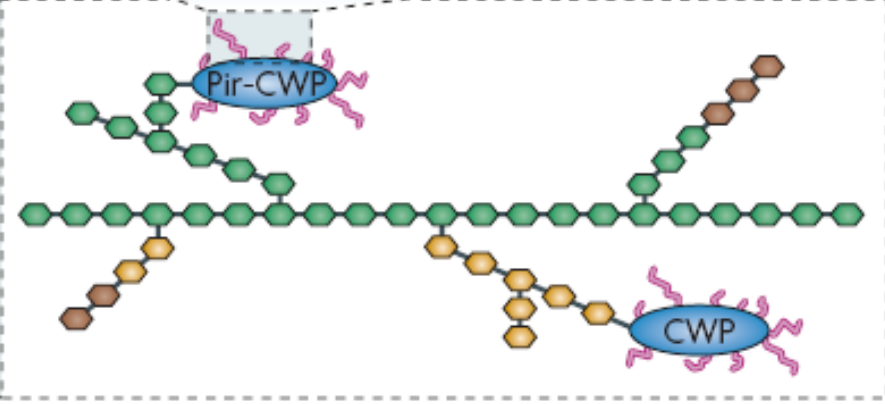
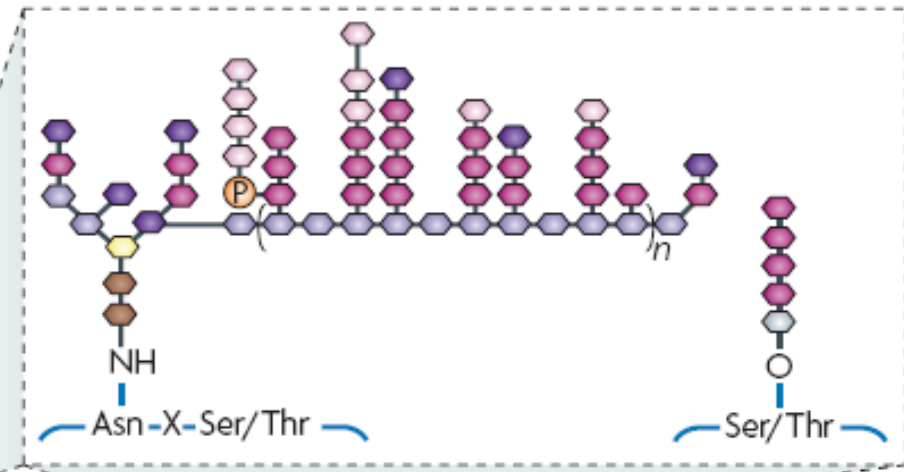
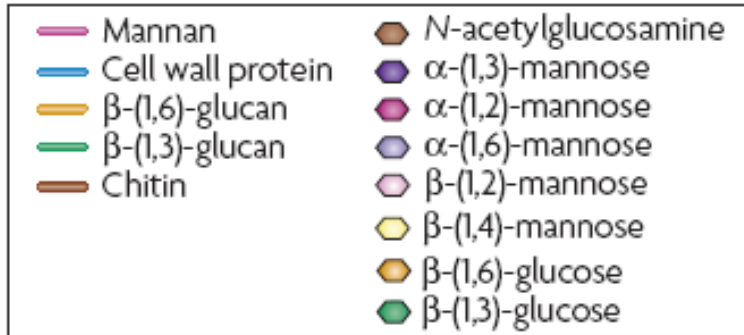
- Amplification ADNr 28S
- Séquençage d'ADN amplifié
- 38 espèces de champignons filamenteux et levures détectées (dont 14 *Candida* spp.)
- grande reproductibilité, bonne Se (1 copie ADNr/PCR) variant en fct de la nature (tissus, urines, sérum...) et méthode extraction des échantillons

Nouveaux outils de biologie moléculaire

- PCR standard : amplification ADN des régions ITS sur tissu hépatique et sérum
 - ITS = *internal transcribed spacer* (plusieurs copies dans tous les génomes fongiques, grande variabilité inter-espèce, faible variabilité intra-espèce)
 - Anecdotique (case report)
Kirby A. et al, J Cin Pathol 2004
- Puces à ADN (microarray) sur tissu hépatique (sur 12 biopsies)
 - Bonne spécificité et sensibilité (10/12 *Candida* détectés, 2 *Candida* détectés par séquençage additionnel)

Intérêt des sérologies

Paroi cellulaire de *Candida* sp.



Intérêt des sérologies : 1,3 β -D-glucane

- très sensible et spécifique des IFI
- non discriminant :
 - positif dans candidose, aspergillose, fusariose, histoplasmosse, pneumocystose
 - négatif dans zygomycose, cryptococcose

Ostrosky-Zeichner L et al, CID 2005
Held J et al, CMI 2010

- Intérêt dans le diagnostic et suivi des IFI du patient neutropénique (30 IFI en hématologie)
 - Cut-off ≥ 7 pg/mL pour suspicion IFI
 - Se positive tôt après le début de la fièvre (médiane 0,5 j)
 - Taux > 50 pg/mL associé à échec de traitement

Senn L, CID 2008

Intérêt des sérologies : mannane/antimannane

- Platelia[®] Candida : détection Ag/Ac par méthode immunoenzymatique (ELISA)

Sendid B, et al. J Med Microbiol 2002

- +sensible et spécifique que 1,3 β -D-glucane
- utile au diagnostic de CHS
 - se positive avant l' apparition des images radiologiques (médiane 16 j)
 - Reste positif sous traitement si évolution défavorable

Prella M. et al, Diagn Microbiol Infect Dis 2005

Sun H. et al, Med Mycol 2006

Intérêt des sérologies : Mannane/antimannane

- Performance du test Ag mannane combinée à Ac anti-mannane > test Ag mannane seul
- Positif si Ag mannane = 0,5 ng/mL et Ac anti-mannane = 10 UA/mL,
- Pour CHS, meilleures performances si Ag=0,25 et Ac=5 avec Se=89%, Sp=84%, VPP=86%, VPN=88%
- Test recommandé pour le diagnostic des CHS (BIII) par l' ECIL

Prella M. et al, Diagn Microbiol Infect Dis 2005

Mikulska M et al (ECIL), Crit Care 2010

Diagnostic radiologique

- 731 autopsies chez greffés de moëlle
 - 9% diagnostic d' infection fongique hépatique à l' autopsie
 - Seulement 18% d' imagerie concordante en pré-mortem (écho/scanner)

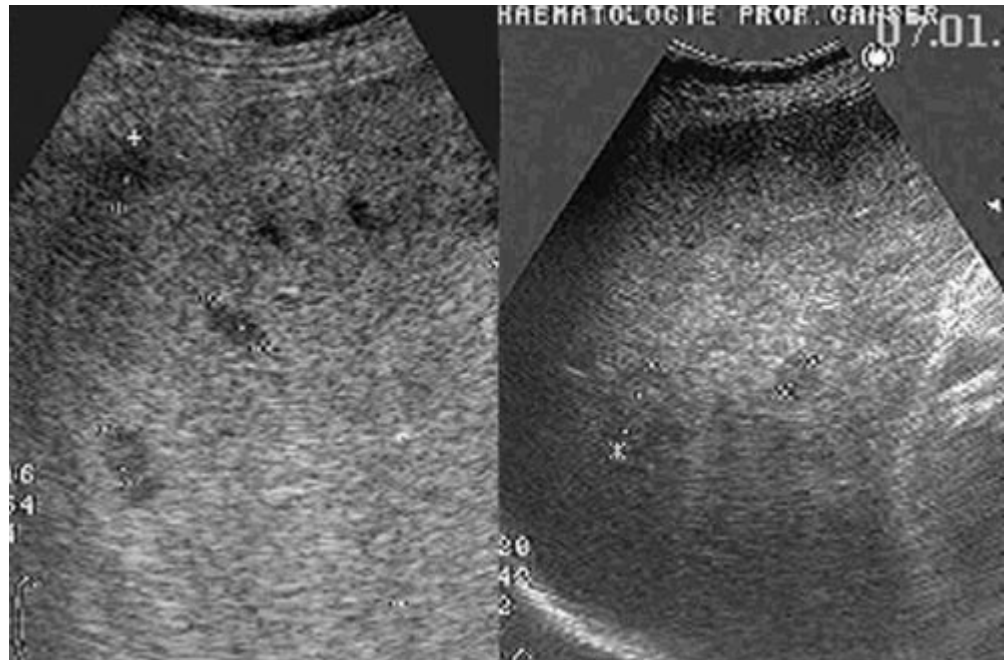
Rossetti F et al, CID 1995

- 28 patients suspect de CHS (LA en sortie d' aplasie)
 - 21/28 imagerie +
 - Lésions hépatiques sur 7 echo < 12 scanners < 20 IRM

Antilla VJ et al, Eur J Haematol 1996

Echographie abdominale

- Facile d'accès, au lit du patient (aplasie)
- Utile au suivi des patients mais moins sensible que TDM



Scanner abdominal

- Hypodensités nodulaires multiples de petite taille, parfois en forme de cible
- Meilleure Se que écho
- Ne pas oublier l' étage thoracique

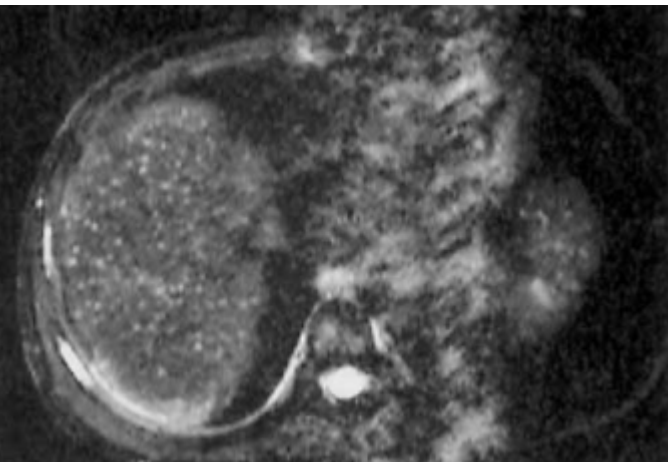


IRM abdominale

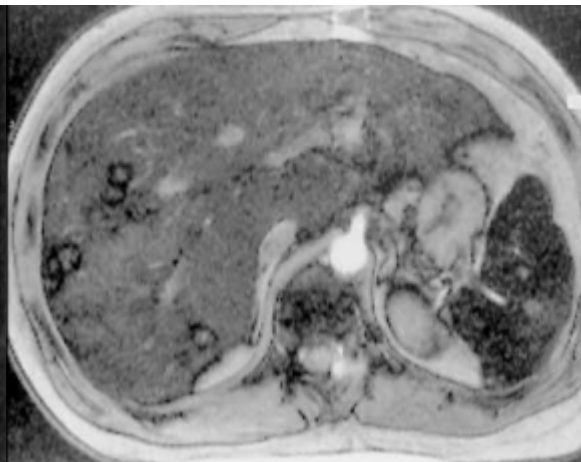
- Utile au diagnostic et au suivi, Se= 95-100%
- rehaussement central par le gadolinium et anneau périphérique, lésions <1cm
- hyperintenses en T2

Semelka RC et al, AJR 1997
Antilla VJ et al, Eur J Haematol 1996

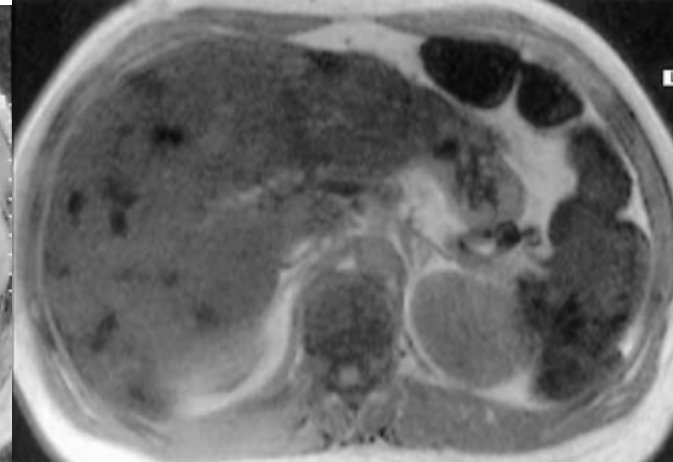
T2, diagnostic



T1, sous AmB



T1, après ttt



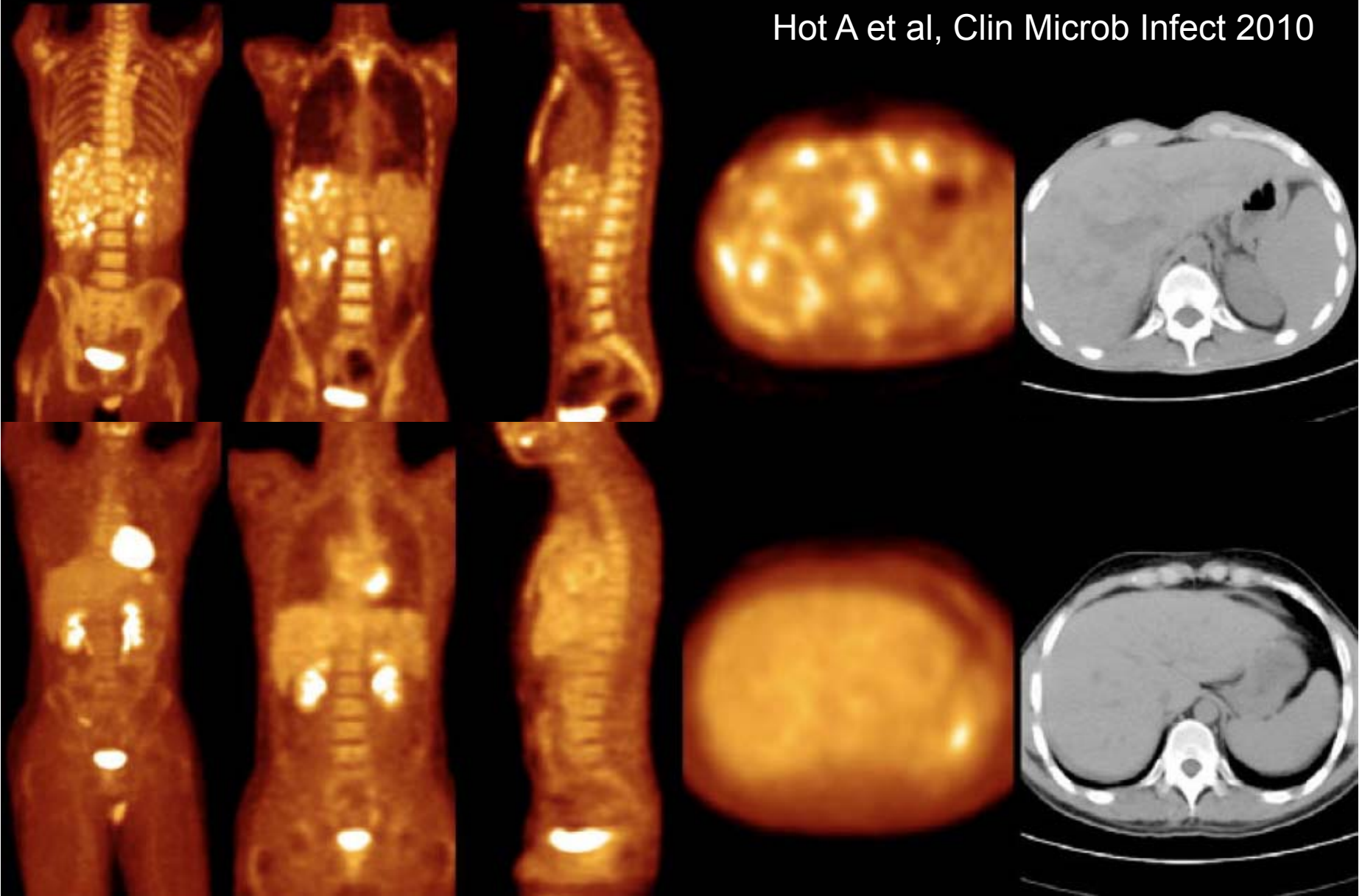
Sallah S et al, Acta hematol 1998

TEP

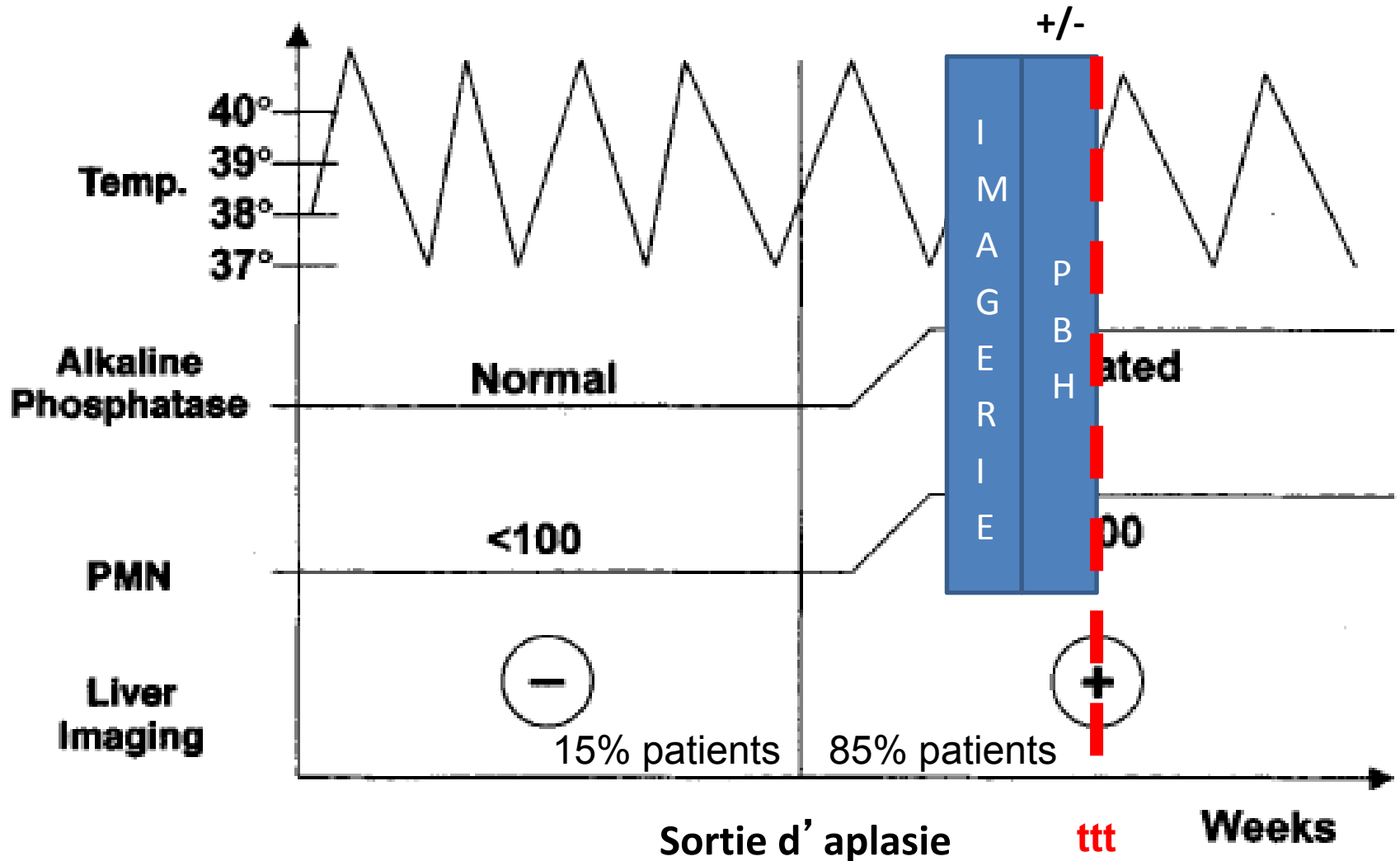
- Détecte plus de lésions que le scanner
- Extinction de fixation après traitement alors que persistance des lésions sur scanner
- Peut guider la stratégie antifongique mais non encore validé sur de grandes séries
- Etude sur 30 IFI dont 10 CHS
 - TEP détecte + de lésions que TDM
 - Extinction de fixation sous ttt antifongique au TEP de contrôle à 6 mois

TEP

Hot A et al, Clin Microb Infect 2010



Traitement



Traitement

- Recommandations :
 - Adaptation à la documentation microbiologique
 - **fluconazole** à la dose de 400 mg/j pour les patients stables ou **amphotéricine B** liposomale (3-5mg/kg/j) ou deoxycholate (0,5-0,7 mg/kg/j) chez les patients sévères
 - traitement d'attaque par **amphotéricine B** pendant 2 semaines suivi d'un relais per os par **fluconazole** (400 mg/j) est également possible
 - Long = 3 à 6 mois en moyenne

Traitement

- Autres antifongiques en traitement de sauvetage

- Caspofungine

- Voriconazole

- Posaconazole

Cornely OA et al, JAC 2007

Vehreschild JJ et al, Mycoses 2006

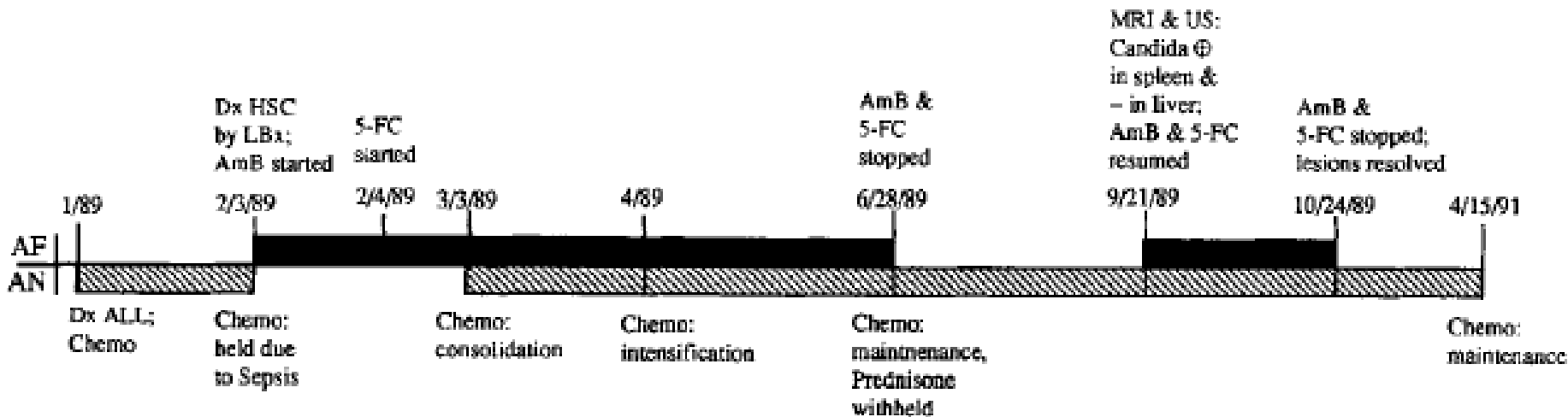
- Modulation de cytokines : interféron- γ

Poynton CH, CID 1998

- Attention à l' utilisation de facteurs de croissance

Chandesris MO et al, J Microbiol Immunol Infect 2010

Evolution : scénario favorable



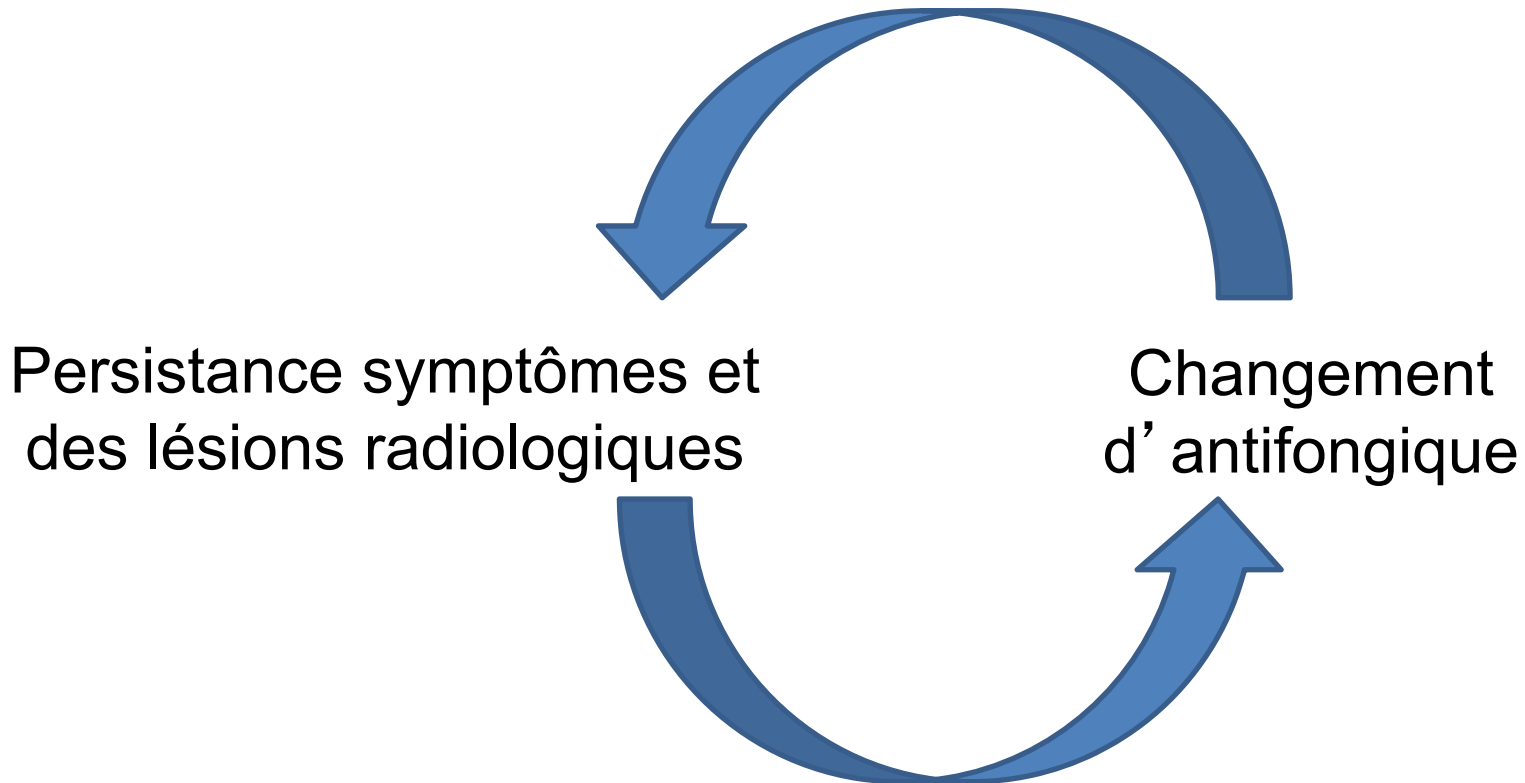
- Amélioration clinique (2-8 sem) > biologique (PAL ↓ lente) > radiologique (plusieurs sem)
- Reprise des chimiothérapies sous traitement antifongique quand CHS stable

Walsh TJ et al, Cancer 1995

- 73 à 82% réponse au ttt antifongique lorsque la chimiothérapie n'est pas interrompue

Bjerke JWt al, Ann Hematol 2003

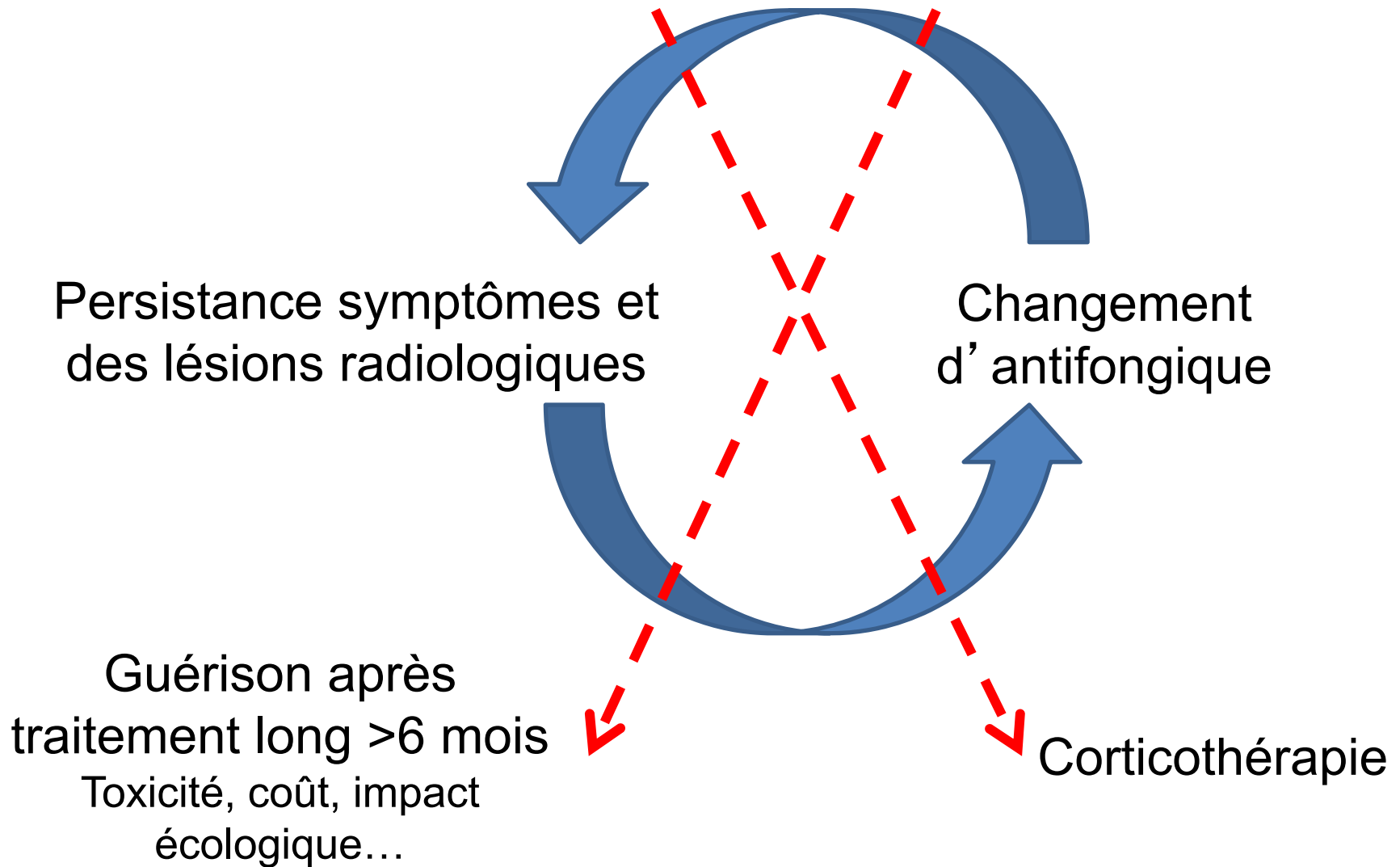
Evolution : scénario défavorable



Evolution : scénario défavorable

- 37 patients atteints de LA avec CHS
- 19 ont reçu la CHT programmée
- 33 décès sur une période de 10 mois de suivi (7 due à la CHS)
- Délai moyen 115 jours (64 jours à 30 mois) entre le diagnostic de CHS et la transplantation de moelle

Evolution : scénario défavorable



Evolution : une place pour la corticothérapie ?

Etude multicentrique rétrospective :

- 10 patients (3 LAL, 6 LAM, 1 LMC)
 - Durée neutropénie médiane = 17,8 jrs (5-31)
 - Délai diagnostique médian de CHS = 5,9 jrs (1-18)
 - Corticoïdes entre 0,5 et 2 mg/kg/j, durée moy.= 21 jrs (10-60)
-
- disparition des signes cliniques (moy. 4,5 j) et syndrome inflammatoire (1-2 sem)
 - persistance des lésions radiologiques
 - Absence d'infections opportunistes ou de rechute de CHS

Evolution : une place pour la corticothérapie ?

- CHS : efficacité de la corticothérapie, granulome, absence de levures retrouvées
⇒ Syndrome inflammatoire de reconstitution immune (IRIS) ?

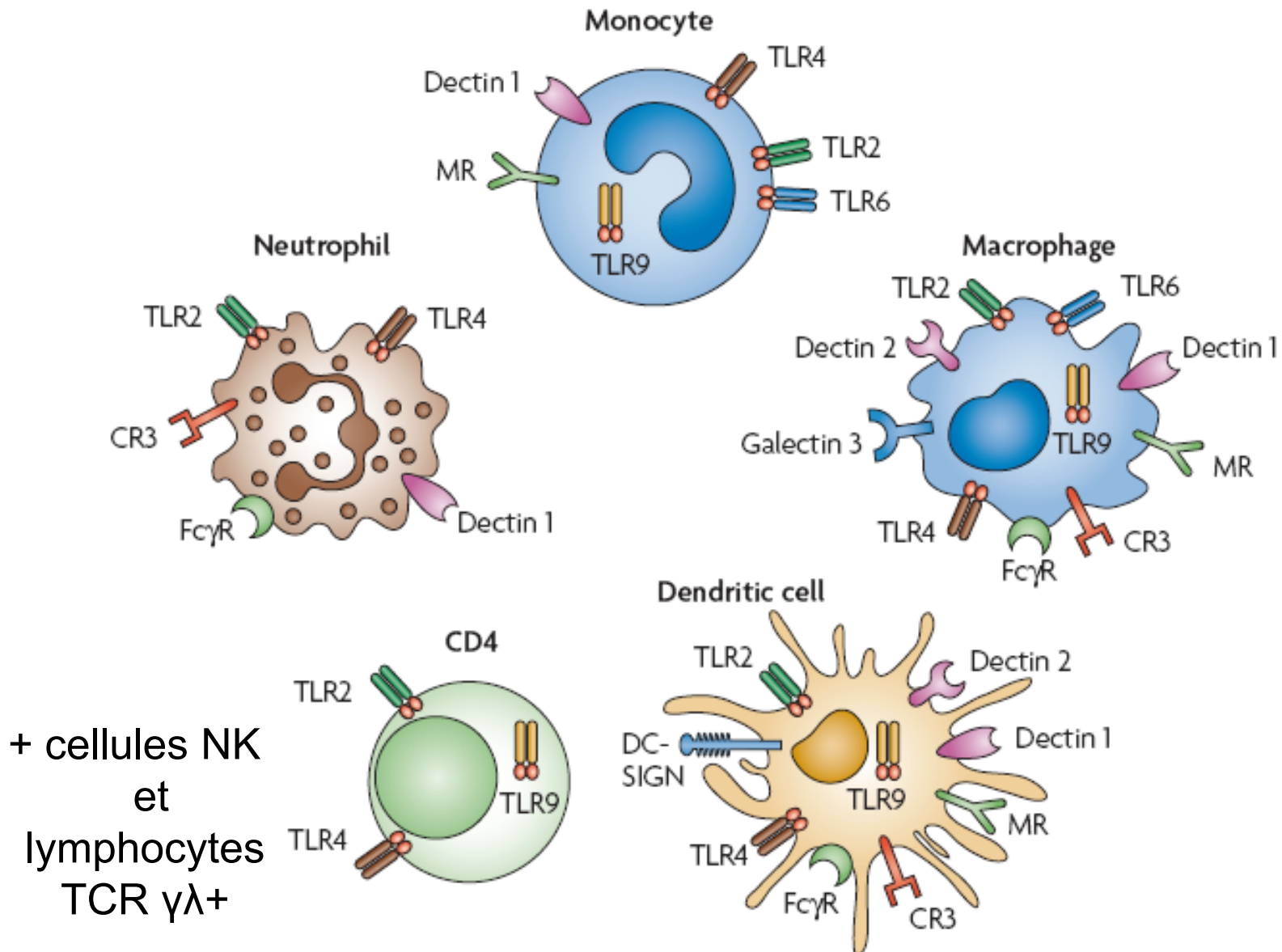
L' IRIS : une réalité dans les IFI

- **Cryptococcose** + VIH, + anti-TNF, + post-partum, + transplantation d' organe
- **Pneumocystose** + VIH
- **Histoplasmosse** + VIH
- **Aspergillose** + VIH, + neutropénie

IRIS et *Candida* : quelques notions d'immunologie

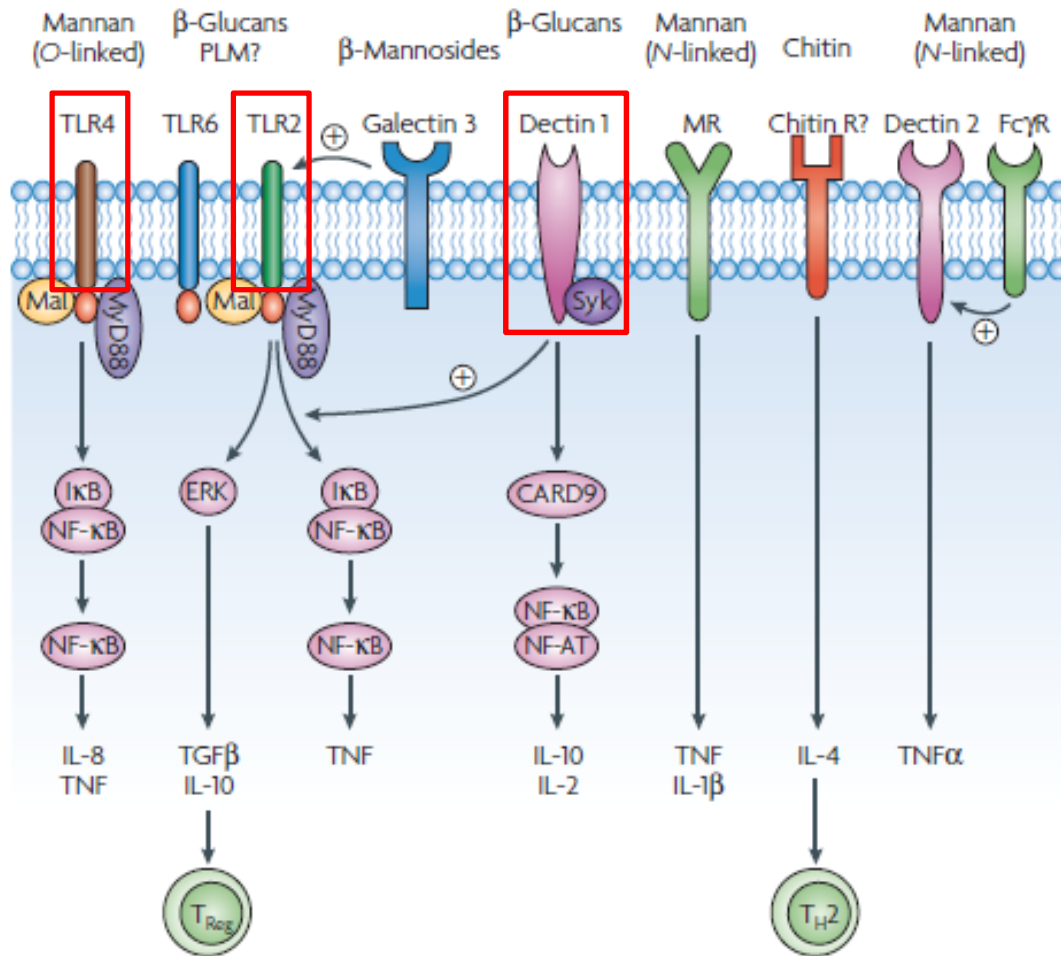
- Déterminants de la réponse anti-*Candida*
 - Immunité innée via la reconnaissance des «pathogen-associated molecular patterns » (PAMPs) par les « pattern-recognition receptors »(PRRs)
 - Déclenchement et régulation de la réponse T adaptative

Reconnaissance cellulaire de *Candida* (PRRs)

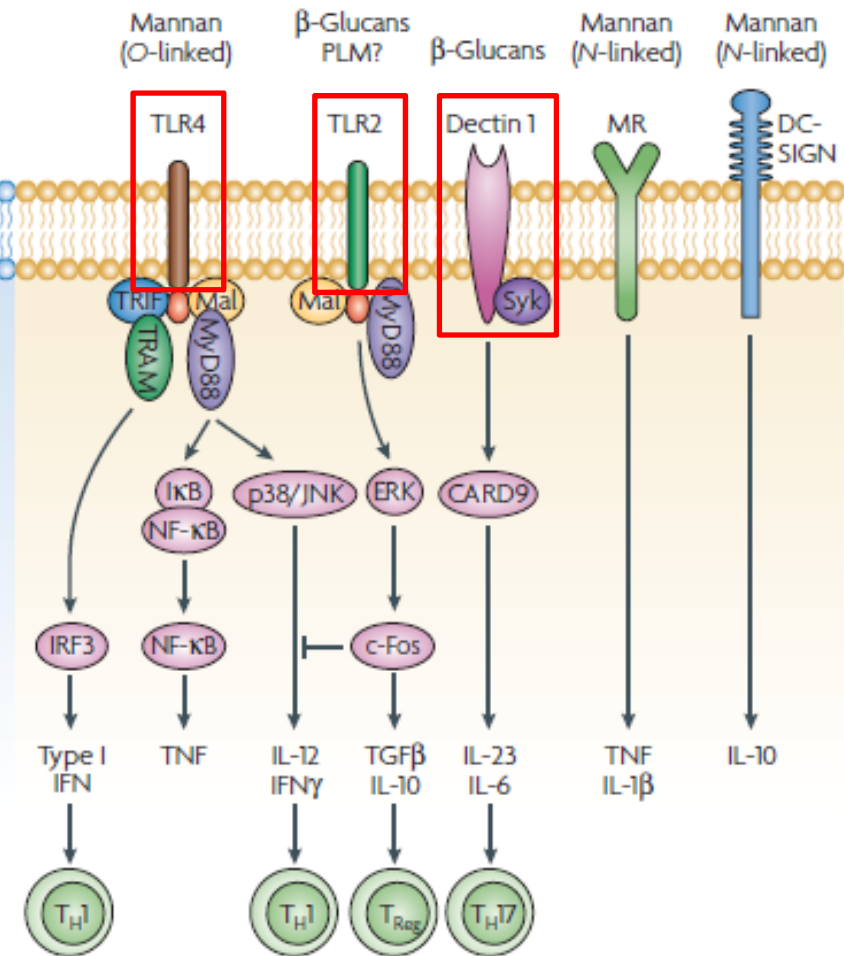


Reconnaissance des PAMPs et voies de signalisation

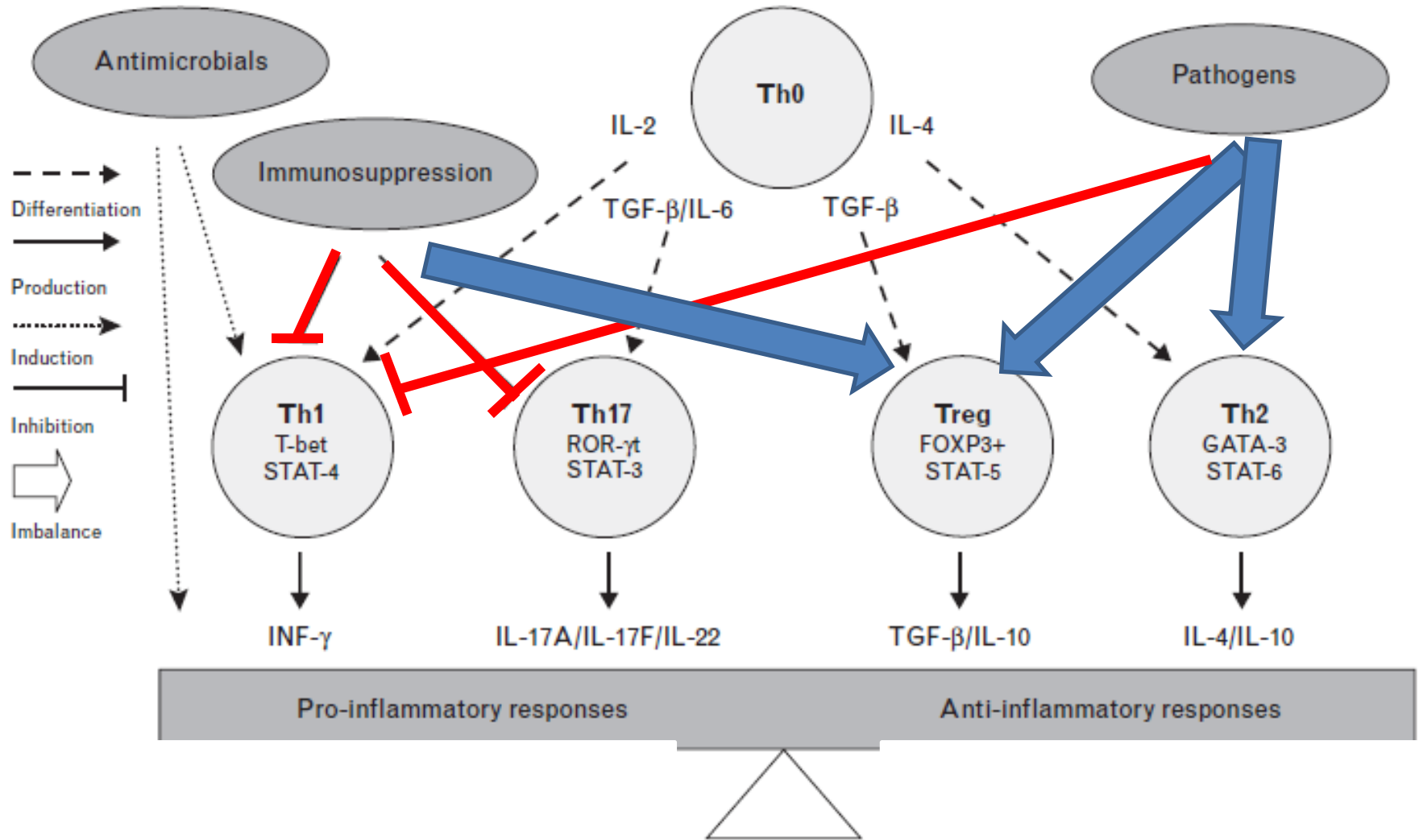
Monocytes/macrophages



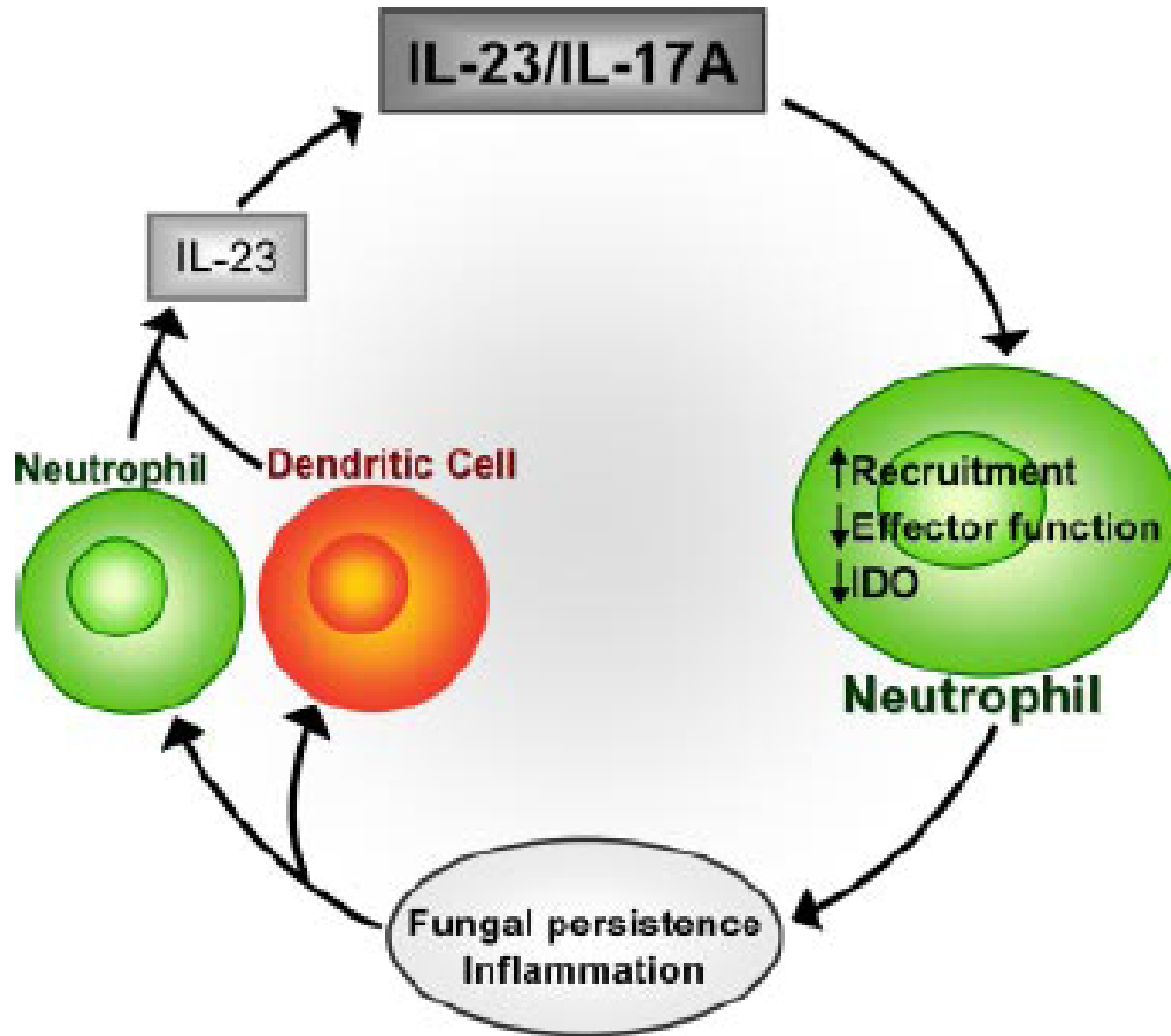
Dendritic cells



Un équilibre de la balance Th1/Th2



Implication de l'IL-17 dans la persistance de l'infection à *Candida*



Principe de l'Elispot

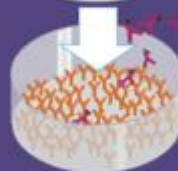
1. Ac anti-cytokine déposés sur support inerte



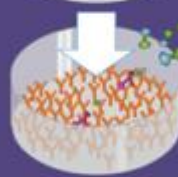
2. Ajout des cellules à tester avec un antigène



3. Incubation des cellules avec antigène



4. Révélation par Ac spécifique



5. Marquage par fluorochrome

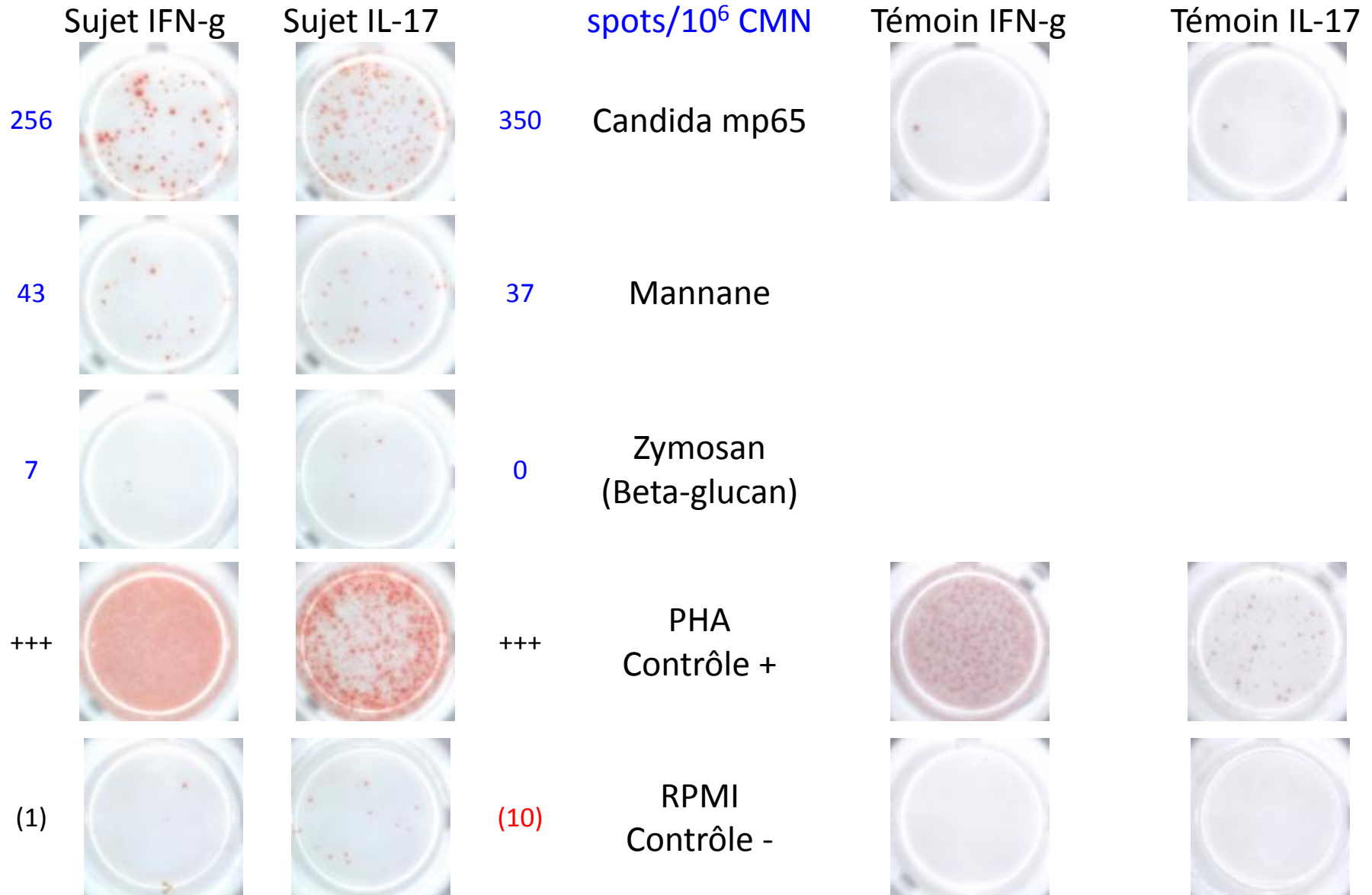


6. Rinçage et révélation

7. Comptage des spots



Réponse anti-*Candida* et IL-17/IFN- γ



CD4+=158/ul et CD8+=145/ul

Données non publiées, S. Candon

Réponse anti-*Candida* et IL-17/IFN- γ

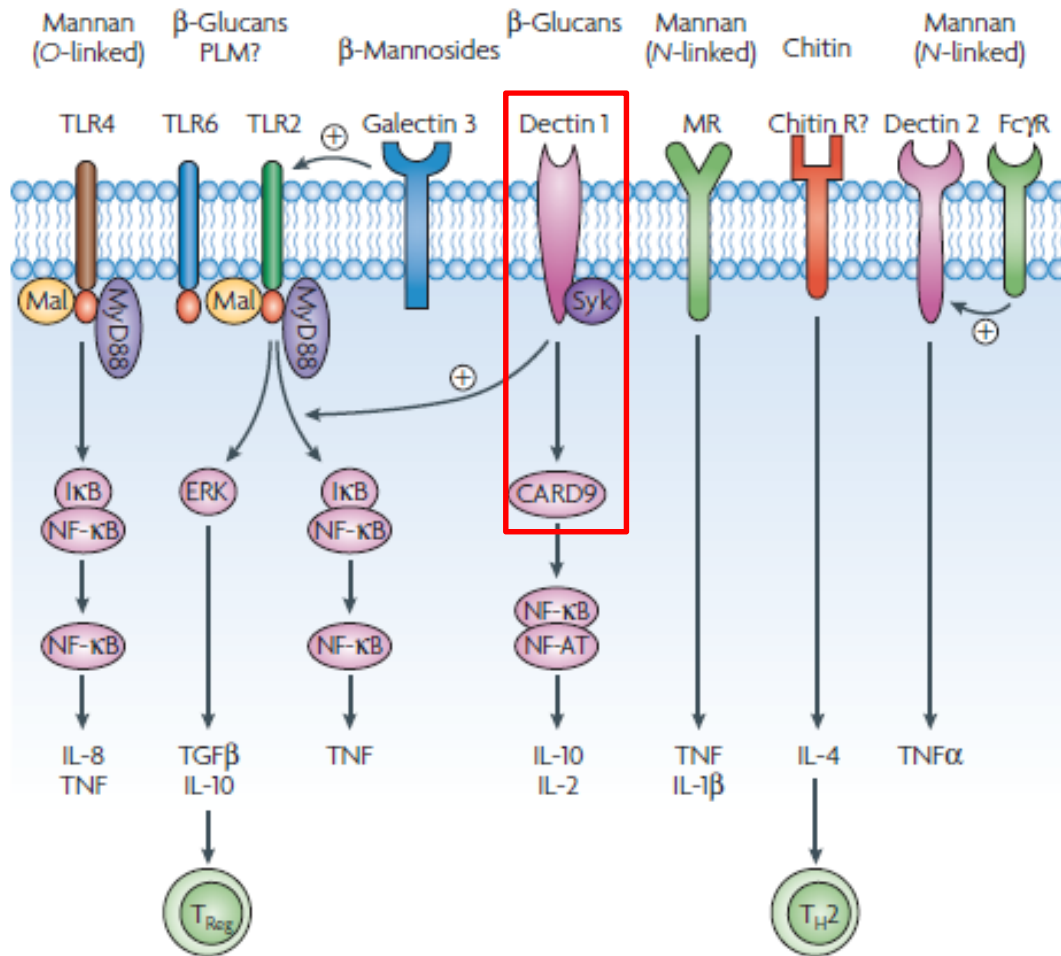
- fréquence très élevée de cellules produisant de l'IL-17 et de l'IFN- γ en réponse à la protéine mp65
- présence de cellules (TCR $\alpha\beta$ ou $\lambda\gamma$) produisant également de l'IFN- γ et de l'IL-17 en réponse au mannane de *Candida*.
- fort bruit de fond IL-17 : cellules produisant de l'IL-17 spontanément.

Questions en suspens...

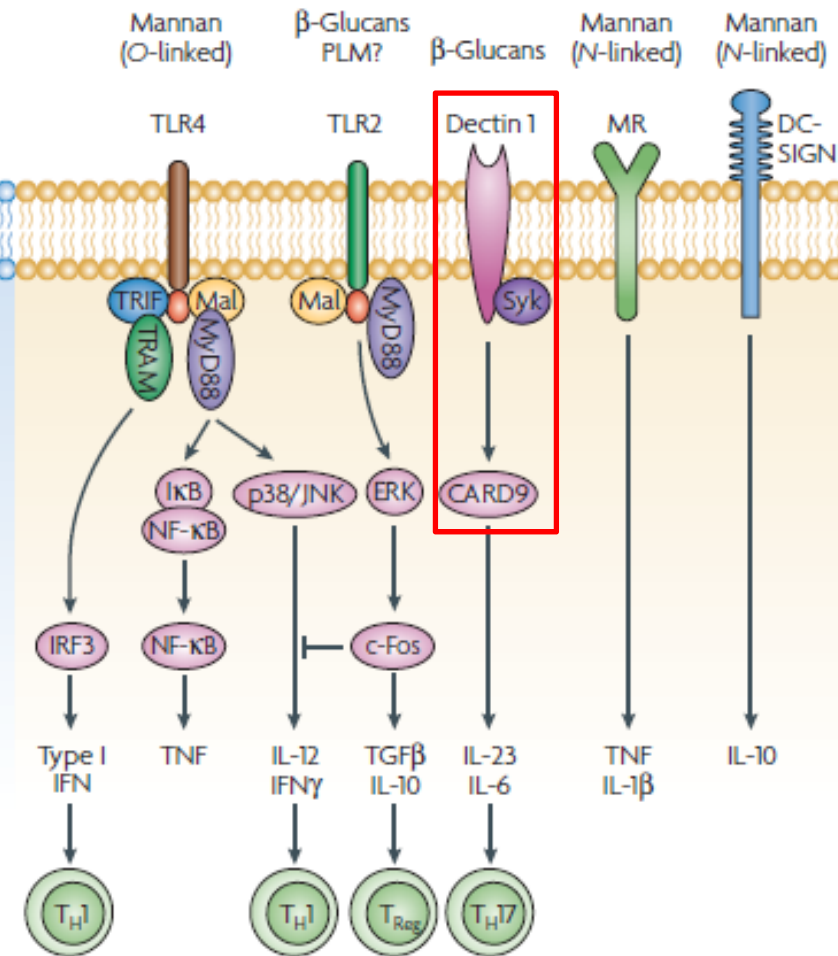
- Profil de réponse le même chez tous les patients ?
- Susceptibilité génétique ?

Susceptibilité génétique

Monocytes/macrophages

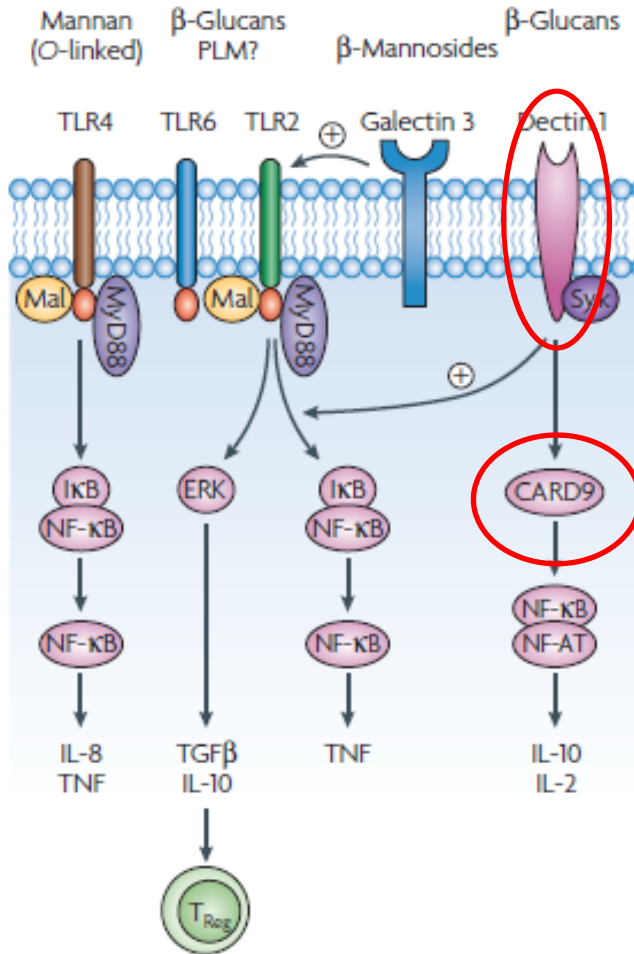


Dendritic cells



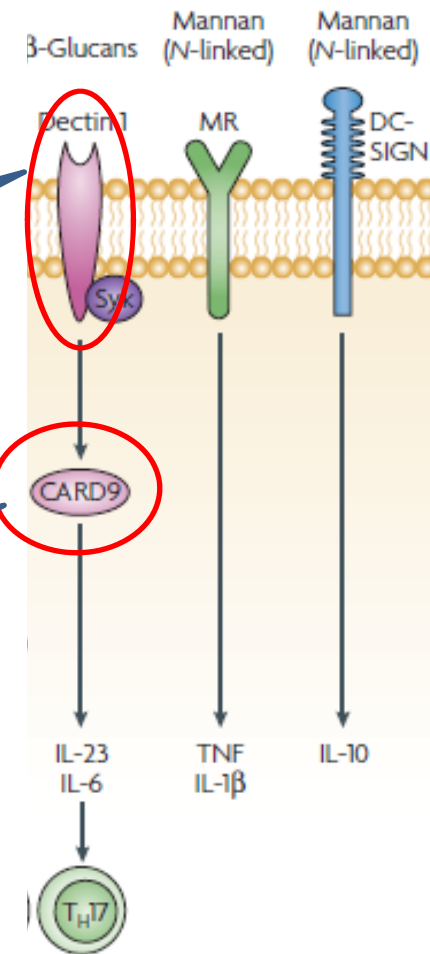
Polymorphismes génétiques associées aux candidoses

Monocytes/macrophages



Colonisations digestives

Candidoses cutanéomuqueuses



Plantinga TS et al, CID 2009

Glocker E et al, NEJM 2009

Polymorphismes génétiques associées aux candidoses

- Candidoses vulvovaginales et mutation de MBL

gène codant pour des protéines circulantes, les mannoses-binding lectines impliquées dans l'activation du complément et l'opsonisation de *Candida*

Polymorphismes génétiques associés aux CHS

- 6 gènes de l'immunité innée chez 40 patients atteints de leucémie (vs 50 témoins) : pas d'association démontrée

Choi EH et al, Med Mycol 2005

- Mutation sur le gène promoteur de l'IL-4 chez 40 patients atteints de leucémie (vs 50 témoins) : OR=2,2 (IC95%=1,2-4 ; p=0,01)

Choi EH et al, JID 2003

Au total

- Neutropénie profonde et prolongée + fièvre sous ATB + cholestase
- IRM>TDM>Echo, place du TEP ?
- Intérêt des sérologies
- Nécessité de développer de nouveaux outils de biologie moléculaire
- Fluconazole, AmB
- IRIS (?), place de la corticothérapie ?
- Polymorphismes génétiques : sûrement

Proposition de traitement

- Antifongique selon les recommandations ou fonction du pathogène si identifié
- Si signes cliniques persistants après 15j, proposer une corticothérapie (non encore validée)
 - 1,5 mg/kg/j durant 2 semaines
 - 0,75 mg/kg/j pendant les 2 semaines suivantes

Perspectives

- Peut-on se servir du TEP pour arrêter le ttt antifongique + tôt ?
- Quelles sont les cellules et médiateurs impliqués dans la réponse inflammatoire systémique et tissulaire au cours des CHS ?
- Quel est l'impact de la CHS sur la maladie hématologique ?
- ...

Merci de votre attention