

# Les (nouveaux) outils diagnostiques des aspergilloses

Pr Christophe Hennequin

Parasitologie-Mycologie, Hôpital St Antoine, Paris



# Liens d'intérêt



- Frais d'inscription et de déplacement pour congrès
- Subvention pour travaux de recherche
- Consultant
- ... et quelques cafés

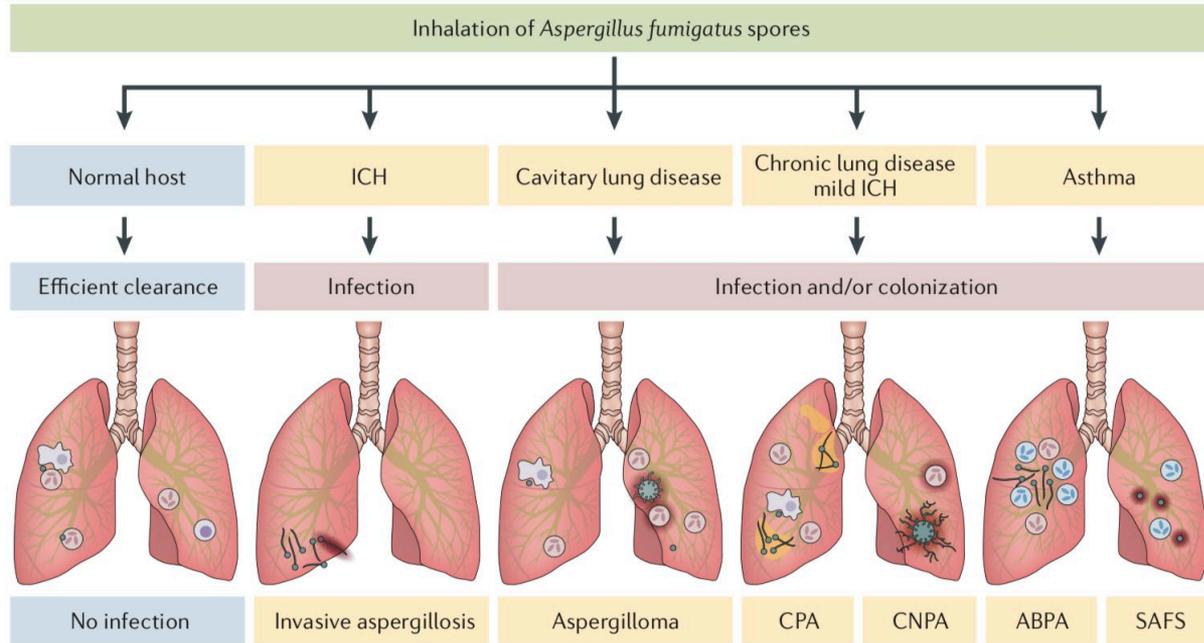
# Les Aspergilloses en France

**Table 1** Burden of serious fungal infections in France.  
*Poids épidémiologique des infections fongiques graves en France.*

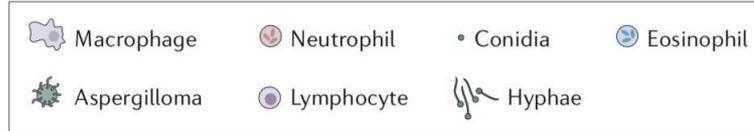
Infection	Number of infections per underlying disorder per year					Rate/100K	Total burden
	None/other	HIV/AIDS	Respiratory	Cancer/Tx	ICU		
ABPA	—	—	95,331	—	—	145	95,331
SAFS	—	—	124,678	—	—	189	124,678
Chronic pulmonary aspergillosis	—	—	3450	—	—	5.24	3450
Invasive aspergillosis	151	17	97	800	120	1.8	1185
Mucormycosis	10	—	—	69	—	0.12	79
<i>Pneumocystis</i> pneumonia	61	449	4	144	—	1	658
Candidaemia	533	28	85	1134	590	3.6	2370
Candida peritonitis	249	—	—	—	237	0.74	486
Oesophageal candidiasis	—	9075	—	?	—	13.8	9075
Recurrent vaginal candidiasis (4 ×/year +)	730,690	—	—	—	—	2220 <sup>a</sup>	730,690
Cryptococcosis	32	76	2	21	—	0.2	131
Total burden estimated	731,726	9645	223,647	2168	947		968,143

<sup>a</sup> Rate for adult females only.

# Un *Aspergillus*-Des Aspergilloses



ICH, immunocompromised host.



# La colonisation aspergillaire

---

- Définition variable
- *Primum-movens* des formes infectieuses

Proposed definitions for *Aspergillus* spp. colonisation and infection.

<i>Aspergillus</i> spp. colonisation	<i>Aspergillus</i> spp. infection
<ul style="list-style-type: none"><li>• Isolation of <i>Aspergillus</i> spp. from 50% or more sputum samples over six months to one year</li><li>• No deterioration in lung function</li><li>• No increase in respiratory symptoms like cough</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Isolation of <i>Aspergillus</i> spp. from 50% or more sputum samples over six months to one year</li><li>• Decline in lung function parameters</li><li>• Respiratory exacerbation with (increased) cough</li><li>• <i>Aspergillus</i> spp. the only organism isolated from repeated sputum samples</li><li>• No, or incomplete response to a two to four week course of appropriate broad spectrum antibiotics</li></ul>

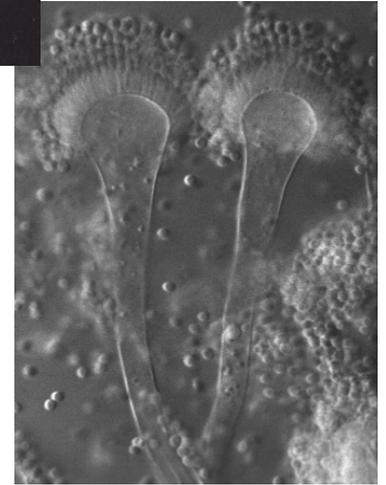
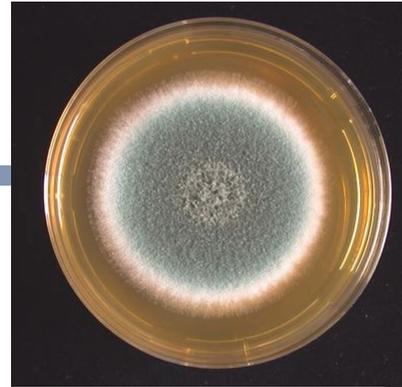
# Aspergillus

## ✓ Champignons filamenteux hyalins

- production de conidies (spores)
- reproduction sexuée (ascomycètes) et parasexuée
- **aerocontaminant** 1 - 20 spores/m<sup>3</sup>

## ✓ Environ 200 espèces : une trentaine impliquées en pathologie humaine

- *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*



# Les outils diagnostiques

---

- Diagnostic direct
  - Culture
  - Identification
  - Tests de sensibilité *in vitro*
- Biomarqueurs
  - Composants de la paroi fongique
    - Galactomanne
    - $\beta$ -D-Glucan
  - ADN
  - Anticorps

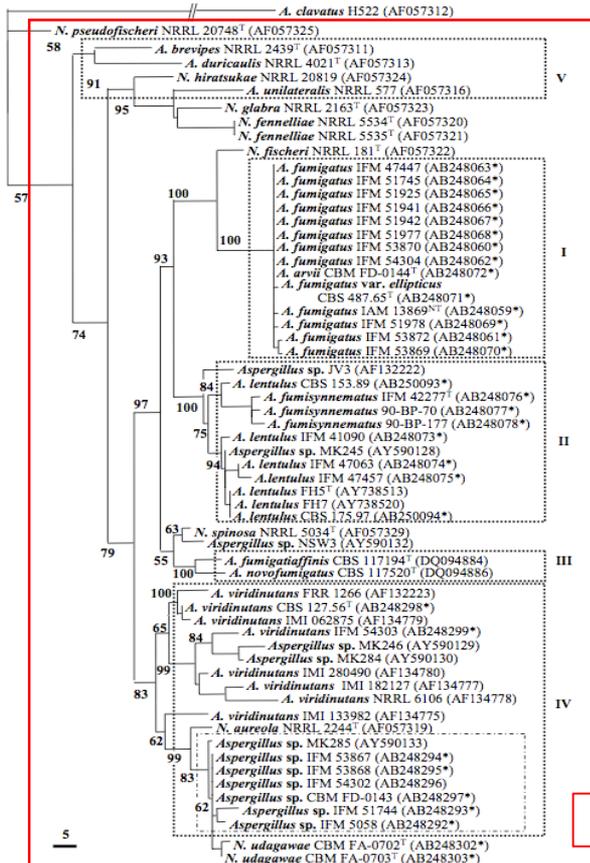
# Diagnostic direct

---

- Prélèvements broncho-pulmonaires
- Examen direct
  - Fluorescence
  - Lecture difficile → sensibilité ?
- Cultures
  - Contamination ? Colonisation ? Infection ?
  - Sensibilité médiocre (variable selon contexte) mais VPP si terrain
  - Pour rappel : *Pseudomonas* peut inhiber la croissance d'*Aspergillus*
    - → milieux fongiques additionnés d'antibiotiques
- Identification
  - Spectrométrie de masse : identification au niveau de l'espèce cryptique



# Cryptic species



## MICs

AMB ITZ VRZ RVZ

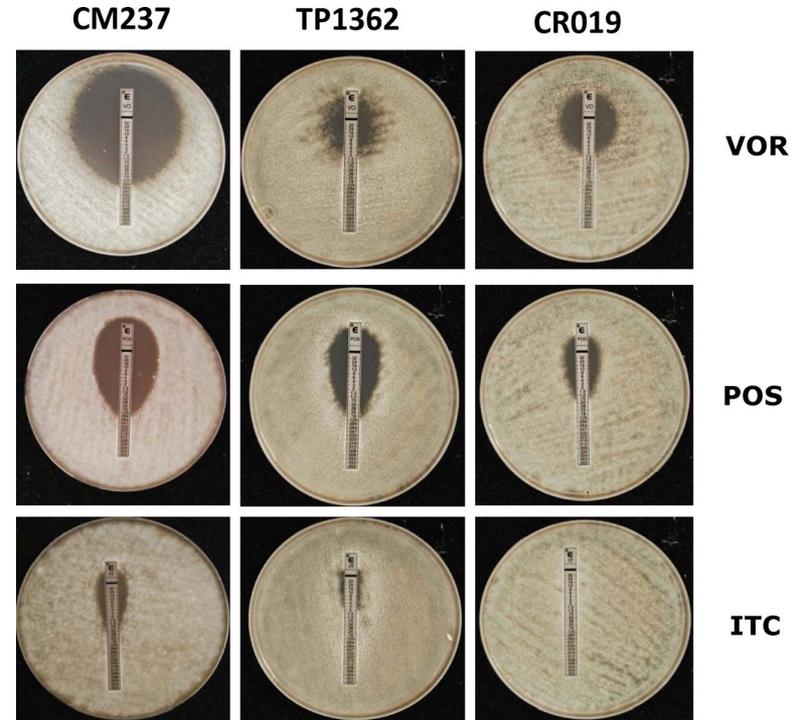
Species	AMB	ITZ	VRZ	RVZ
<i>N. pseudofischeri</i>	→	↑	↑	↑
<i>N. hirsutiae</i>	→	→	→	→
<i>A. fumigatus</i>	→	→	→	→
<i>A. fumisynnematus</i>	→	→	→	→
<i>A. lentulus</i>	↑	↑	↑	↑
<i>A. fumigatiaffinis</i>	↑	↑	↑	↑
<i>A. viridinutans</i>	→	↑	↑	↑

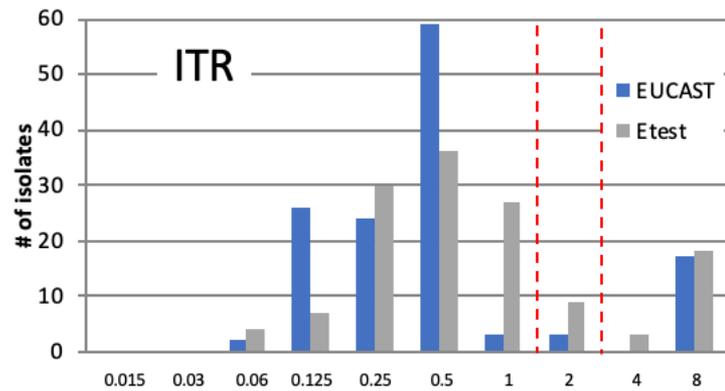
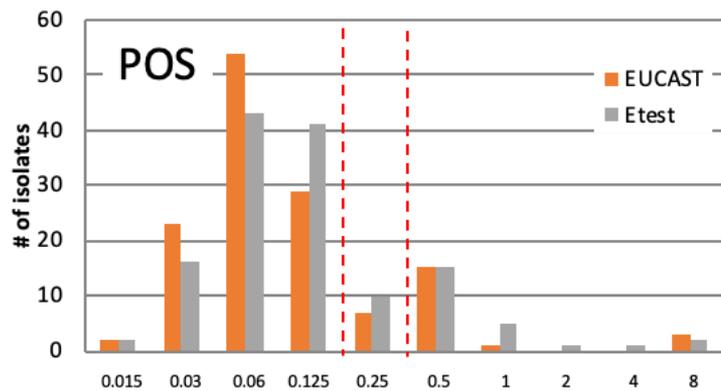
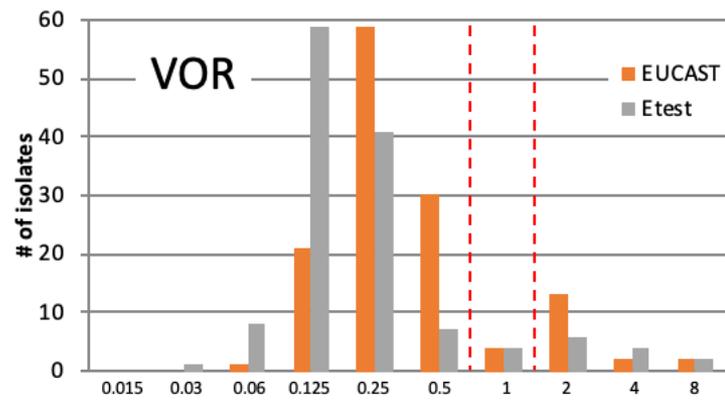
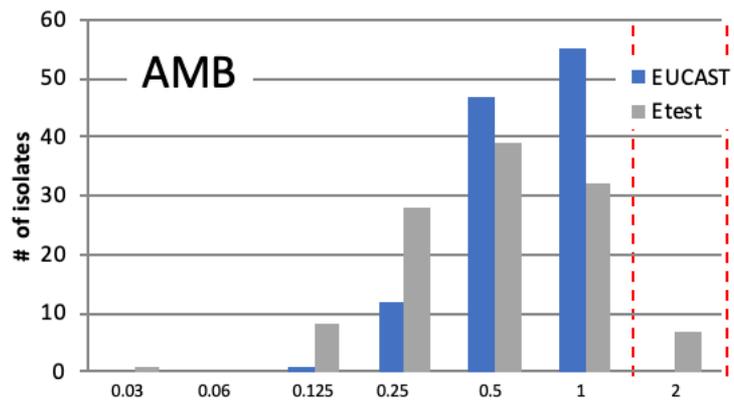
*A. fumigatus* species complex

Alcazar-Fuoli et al 2008

# Resistance in the *Aspergillus* genus

- Résistance primaire
  - *Aspergillus terreus* vs Amphotericine B
  - *Aspergillus ustus* vs Azoles
  - *Aspergillus* spp vs Flucytosine
- Résistance acquise chez *A. fumigatus*
  - Amphotericine B : non rapportée
  - Candines : très rare
  - Azoles : un sujet d'actualité



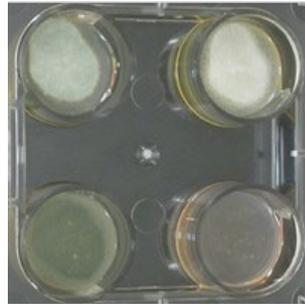


# Resistance screening

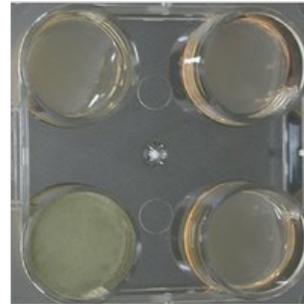
---



**VIPcheck™**



Resistant

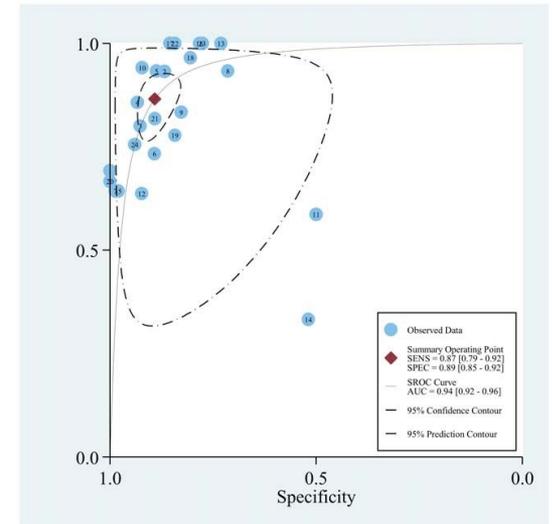


Susceptible

Biomarqueurs

# Galactomannane

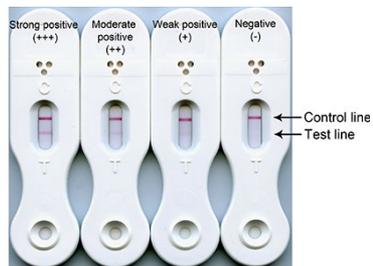
- Polysaccharide de la paroi, expression en phase filamenteuse, témoin de l'invasion
- Dans le serum
  - Multiples études de performances dans l'API
    - Sensibilité : 80-30%
      - Non neutropénique, traitement antifongique en cours
    - Spécificité : 85-90%
      - Autres champignons, TPN, calcium gluconate
  - Screening ou diagnostic ciblé ?
- Dans le LBA
  - Cut-off non défini
  - Sensibilité/spécificité 83-87/89% API prouvée/probable



# Des alternatives ?

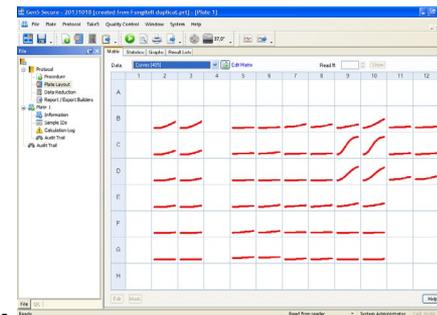
- Mannoprotéine

- Format unitaire rapide
- Applicable serum/LBA
- Données encore limitées



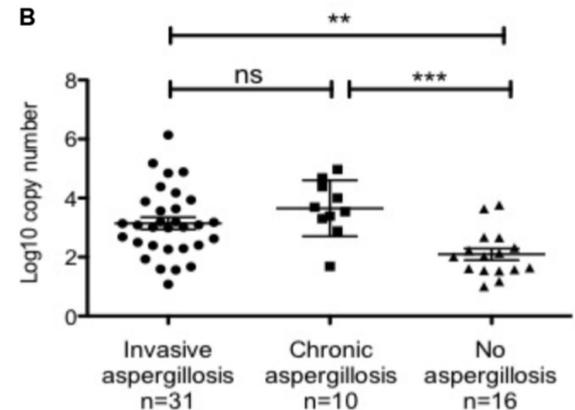
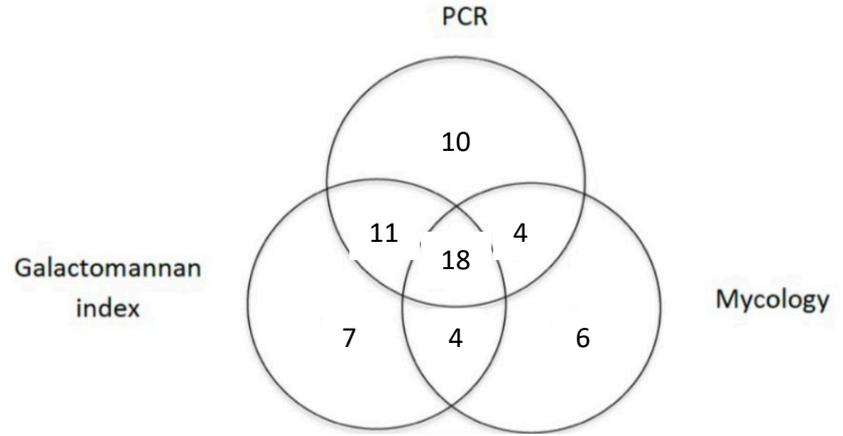
- $\beta$ -D-glucan

- « Pan-fongique »
- Des méta-analyses flatteuses
- Une interprétation toujours délicate
  - Faux + : immunoglobulines IV, dialyse, compresses chirurgicales, TPN
  - Faux - : Traitement préemptif/empirique : échinocandines
- Place dans le diagnostic des aspergilloses ?
  - API : Sensibilité/Spécificité : 75,9/77,9 %
  - VPN : 96,3%



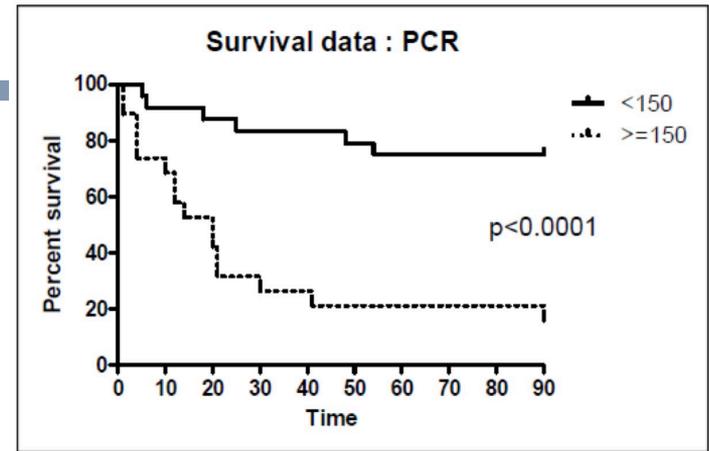
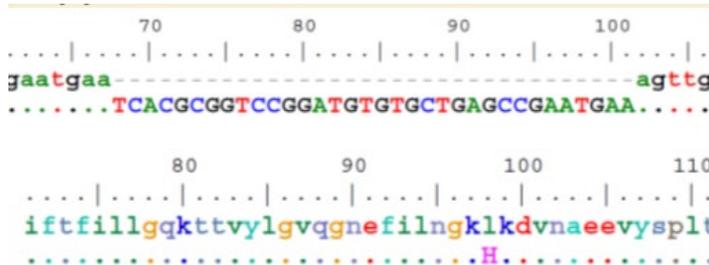
# Détection d'ADN

- Optimisation/standardisation
  - Méthodes quantitatives
  - Large volume, plasma > serum
  - Cible ITS, controle interne
  - *Aspergillus* spp vs *Aspergillus fumigatus*
- Performances selon les formes cliniques
  - Sensibilité/spécificité : 67-90/75-95%
  - Dans le LBA
    - Sensibilité/spécificité : 75-80%/90-95%



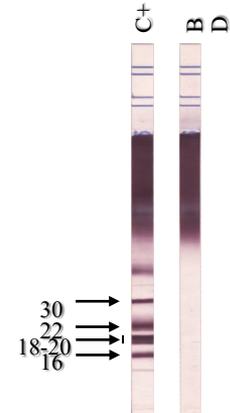
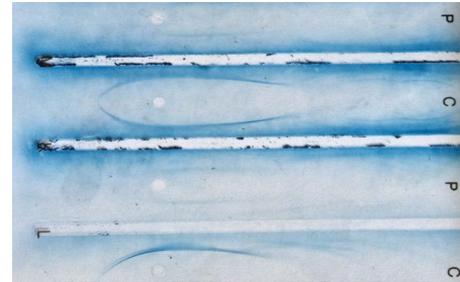
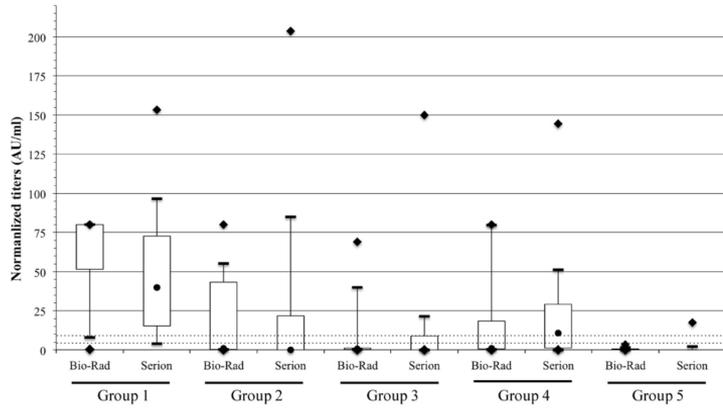
# Détection d'ADN

- Facteur pronostique
  - Décision thérapeutique ?
- Détection de mutation associée à la résistance aux azolés
  - Mutation(s) CYP51A



# Sérologie

- Détection d'anticorps  
→ Aspergillose chronique
- Screening (ELISA, HAI) vs Confirmation (Western Blot, Précipitation)



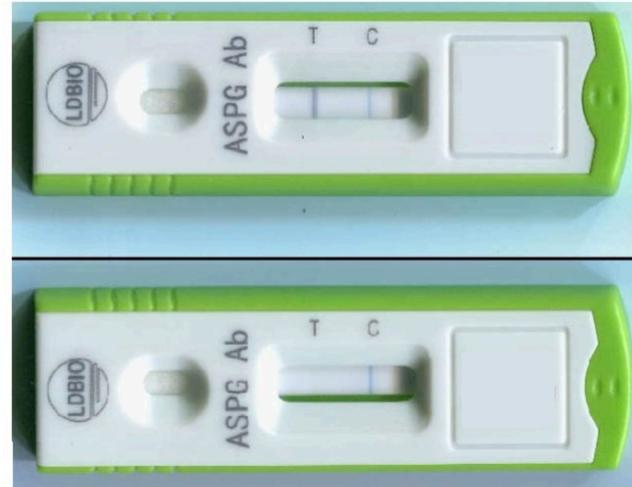
# Western blot *Aspergillus*

299 sera (s) from 144 patients (p)		WB	IPD
Aspergillosis p=116, s= 258	Chronic Aspergillosis, n= 190	87,9% - 94,7%**	87,4%
	Aspergilloma, n= 12	91,7% - 100%**	100%
	ABPA, n= 56	92,9% - 100%**	85,7%
Colonization p=28, s= 41	Colonization in CF patients, n= 18	100% - 100%**	72,2%
	Colonization in non CF patients, n=23	47,8% - 60,9%**	39,1%

# TDR

---

- Facile, rapide
- Aucun appareil
- Sensibilité  $\pm$  90%
- Spécificité 96%
- A tester sur le terrain



# Take Home Messages

---

Des progrès essentiellement « moléculaires »

Besoin de validation et positionnement dans les algorithmes diagnostiques des différentes formes cliniques d'aspergillose