



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

ARGUMENTAIRE

# Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic des infections à *Aspergillus*

Mai 2017

Cet argumentaire, réalisé en vue d'une prise en charge par l'assurance maladie obligatoire, est téléchargeable sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)

**Haute Autorité de santé**

Service communication - information

5, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex

Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

# Sommaire

Abréviations et acronymes .....	4
Résumé .....	5
Introduction .....	7
<b>1. Les pathologies aspergillaires .....</b>	<b>8</b>
1.1 Source d'information.....	8
1.2 Les aspergilloses.....	8
1.3 Prévention et traitement des aspergilloses .....	13
1.4 Diagnostic des aspergilloses.....	14
1.5 Paramètres biologiques non spécifiques .....	23
1.6 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie .....	23
1.7 Contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale .....	24
<b>2. Méthode d'évaluation .....</b>	<b>25</b>
2.1 Champ et méthode d'évaluation.....	25
2.2 Recherche documentaire, sélection et analyse .....	26
2.3 Consultation des organismes professionnels .....	28
<b>3. Résultats de l'évaluation .....</b>	<b>30</b>
3.1 Analyse de la littérature .....	30
3.2 Synthèse des réponses des organismes professionnels.....	53
<b>4. Discussion et conclusions .....</b>	<b>58</b>
Annexe 1. Recherche documentaire.....	60
Annexe 2. Liste des tableaux et figures .....	65
Annexe 3. Grille d'évaluation AGREE II-GRS* (45).....	66
Annexe 4. Analyse sur critères méthodologiques des recommandations de bonne pratique portant sur les tests diagnostiques d'infection par <i>Aspergillus</i> .....	67
Annexe 5. Classification EORTC-MSG (2008) des infections fongiques invasives (IFI).....	79
Annexe 6. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponse du Conseil national professionnel d'allergologie et immunologie (CNPAI) .....	81
Annexe 7. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponse du Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNPBAIHH) .....	88
Annexe 8. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponse du Conseil national professionnel d'hématologie (CNPH) .....	95
Annexe 9. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponse du Conseil national professionnel de pneumologie (CNPP) .....	106
Annexe 10. Compte-rendu de l'audition du Centre national de référence Maladies fongiques et Antifongiques .....	114
Références .....	118
Fiche descriptive .....	122

## Abréviations et acronymes

ABPA .....	aspergillose broncho-pulmonaire allergique
Ac.....	anticorps
Ag.....	antigène
AGREE .....	<i>Appraisal of Guidelines for Research and Evaluation</i>
APC.....	aspergillose pulmonaire chronique
BG.....	$\beta$ -(1-3)- D - glucane
COES.....	coélectrosynérèse
CNAMTS.....	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés
CNP .....	Conseils nationaux professionnels
CNRMA.....	Centre national de référence mycoses invasives et antifongiques
CSH .....	cellules souches hématopoïétiques
DO.....	densité optique
EIA .....	<i>enzyme immunoassay</i> (méthode immunoenzymatique)
ELISA.....	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ELS .....	électrosynérèse
EORTC .....	<i>European Organization for Research and Treatment of Cancer</i>
DDB .....	dilatation des bronches/bronchiectasie
GM .....	galactomannane
HAS.....	Haute Autorité de santé
HAI .....	hémagglutination
IC .....	immun-complexe
IDD.....	immunodiffusion double
IE.....	immunoempreinte (Western Blot)
IELP .....	immunoélectrophorèse
IF.....	immunofluorescence
IFI.....	infection fongique invasive
IgA, IgE, IgG, IgM .....	immunoglobuline d'isotype ou classe A, E, G, M
InVS .....	Institut de veille sanitaire (intégré dans l'Agence nationale de santé publique)
LBA .....	lavage broncho-alvéolaire
NABM.....	nomenclature des actes de biologie médicale
PCR .....	de l'anglais : <i>Polymerase Chain Reaction</i> ; amplification génique par polymérisation en chaîne
RBP.....	Recommandations de bonne pratique
RIHN .....	Référentiel des actes innovants hors nomenclature
SNC .....	système nerveux central
VIH.....	virus de l'immunodéficience humaine
VPP.....	valeur prédictive positive
VPN.....	valeur prédictive négative

## Résumé

### Objectif

L'objectif de ce travail est d'évaluer la pertinence des propositions de modification (inscription, modification d'inscription, suppression) des actes de diagnostic biologique des aspergilloses sur la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), pris en charge par le système national d'assurance maladie en France et de formuler un avis concernant ces propositions. Cette demande prévoyait d'examiner la recherche sérique des anticorps spécifiques et des antigènes solubles.

### Méthode

La méthode retenue est une procédure d'évaluation courte qui comprend :

- une analyse critique de la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, revues systématiques et générales) identifiée par une recherche documentaire systématique puis sélectionnée sur des critères de qualité ;
- le recueil de la position argumentée des organismes des professionnels concernés (allergologie/immunologie, infectiologie, hématologie, pneumologie, transplantation) et du Centre national de référence (CNR) mycoses invasives et antifongiques ;
- ces éléments étant synthétisés dans un argumentaire, soumis directement au Collège de la HAS pour validation.

### Conclusion

Les données ainsi recueillies (dix-sept recommandations de bonne pratique et position de six organismes professionnels) permettent de conclure qu'il existe une homogénéité entre les modifications proposées par le demandeur et les préconisations des recommandations ainsi que les positions des organismes professionnels. Le projet d'actualisation de la liste des actes de diagnostic biologique, remboursés par l'Assurance maladie, apparaît donc pertinent et approprié sous les formulations suivantes, qui tiennent également compte des précisions supplémentaires à la demande issues de l'évaluation :

- Pour la recherche des antigènes (Ag) solubles spécifiques :
  - cet acte est indiqué dans les situations de suspicion d'aspergillose invasive,
    - a) en dépistage sous forme itérative, deux fois par semaine, chez des patients immunodéprimés présentant un fort risque d'aspergillose invasive (au moins 5 %) afin de détecter précocement sa survenue et permettre le cas échéant une prise en charge thérapeutique ;
    - b) comme diagnostic confirmatoire en complément des examens clinico-radiologiques qui ont conclu à ce diagnostic ;
    - c) cette mesure d'antigène soluble si positive a une utilité sous forme itérative après l'initiation d'un traitement antifongique pour suivre la réponse à ce traitement ;
  - deux Ag solubles peuvent être recherchés : le galactomannane (GM) ou le  $\beta$ -(1-3)-D-glucane (BG) ; devant un tableau clinico-radiologique évocateur d'aspergillose, la recherche du GM est à privilégier ; devant un tableau moins précis, le BG est aussi intéressant car un résultat négatif permet d'exclure une pathologie fongique invasive ;
  - la recherche d'antigènes solubles spécifiques n'est plus réalisée par la technique d'agglutination au latex sensibilisé (AGG) (technique obsolète). Actuellement, le GM est recherché par technique immunoenzymatique (EIA) et le BG par technique colorimétrique (test basé sur une modification du mécanisme du lysat d'amœbocyte de limule).
- Un acte de confirmation de la présence d'antigènes solubles spécifiques est nécessaire, à réaliser sous 48h, ou au maximum 72h, par la même technique que celle appliquée pour la recherche initiale sur un deuxième prélèvement, avec reprise du premier prélèvement.

- Pour la recherche des anticorps (Ac) sériques anti-*Aspergillus* :
  - la recherche des Ac spécifiques doit comprendre deux techniques différentes : une pour la recherche initiale, et une autre lorsqu'il s'agit de confirmer la présence de l'affection aspergillaire ;
  - pour la recherche initiale, les techniques de recherche d'Ac doivent être standardisées, reproductibles, fournissant des valeurs quantitatives (titrage) pour les Ac. Il s'agit notamment de l'EIA ;
  - les techniques de confirmation actuelles (par technique COES, IELP ou IE) n'appellent pas de commentaires et sont maintenues.
- Pour le suivi des patients par des tests itératifs du sérum (titrage d'Ac), la technique utilisée doit permettre d'apprécier quantitativement la cinétique des titres d'Ac, et ce depuis la détection initiale.

Enfin, le suivi de la pathologie aspergillaire, en particulier les mesures itératives de suivi biologique (recherche d'Ac ou d'Ag), doit être réalisé systématiquement par la même technique et dans le même laboratoire de biologie médicale, afin de diminuer les facteurs de variabilité des résultats.

## Introduction

Dans le cadre de l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale, la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) a sollicité l'avis de la Haute Autorité de santé (HAS) en septembre 2015, sur la révision de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) concernant le diagnostic biologique de plus de vingt infections en parasitologie et en mycologie. Cet argumentaire traite des actes relatifs au diagnostic biologique des infections fongiques à *Aspergillus*.

Comme décrit dans la feuille de route (1), l'objectif de ce travail est d'évaluer les diverses méthodes biologiques proposées pour ce diagnostic en réalisant une analyse de cohérence entre d'une part, la demande, et d'autre part, les données issues de l'analyse critique de la littérature synthétique disponible, ajustées par la position argumentée des organismes des professionnels de santé concernés par les diverses formes cliniques des pathologies à *Aspergillus*.

La principale motivation de la demande est l'augmentation des aspergilloses invasives, en particulier dans les services d'oncohématologie, qui touchent les patients en situation d'immuno-dépression, neutropéniques et qui sont en général de très mauvais pronostic. La demande porte principalement sur l'utilisation dans le diagnostic de cette forme invasive de la détection d'antigènes (Ag) spécifiques solubles sécrétés lors de la croissance fongique, mais veut également actualiser les techniques de recherche des anticorps sériques spécifiques qui signent la présence de formes chroniques, subaiguës et immuno-allergiques d'aspergillose des patients immunocompétents.

Ainsi, le demandeur souhaite apporter les modifications suivantes à la NABM :

- restreindre l'indication de la recherche d'antigènes (Ag) solubles spécifiques dans le sang (acte 4311) à la « suspicion d'aspergilloses invasives » et supprimer la mention de la technique de réalisation actuellement inscrite : le latex sensibilisé (AGG) ;
- créer un acte de confirmation de la présence de ces Ag (révélée par l'acte précédent), sur un deuxième prélèvement (sous 48 h), avec reprise du 1<sup>er</sup> prélèvement ;
- pour ce qui concerne la recherche des anticorps (Ac) sériques spécifiques (recherche initiale, confirmation, suivi), la demande consiste à préciser que la technique à utiliser pour le suivi (acte 6307) devra être quantitative, et à modifier la liste des techniques remboursées pour la recherche initiale (acte 4307), avec l'introduction de l'HAI et de l'IF indirecte<sup>1</sup>, et la suppression de l'HAGG et de l'IDD (les techniques d'ELS et EIA sont maintenues) ; la confirmation ne fait pas l'objet de modification.

Il est à noter que la demande ne comporte pas l'introduction d'un libellé d'amplification génique (de type PCR) et qu'elle ne propose ni la modification des actes de recherche et d'identification mycologique, ni ceux de dosage des IgE totales.

---

<sup>1</sup>; HAI : hémagglutination ; IF : immunofluorescence ; HAGG : hémagglutination sensibilisée ; IDD : immunodiffusion double, ELS : électrosynérèse ; EIA : méthode immunoenzymatique.

# 1. Les pathologies aspergillaires

## 1.1 Source d'information

Ce chapitre a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus des revues générales, des articles originaux, des documents de préconisation et des bilans épidémiologiques réalisés en France notamment par l'Institut de veille sanitaire (InVS) et avec les données de remboursement de l'Assurance maladie sur les actes de la CCAM et de la NABM en lien avec la prise en charge des aspergilloses.

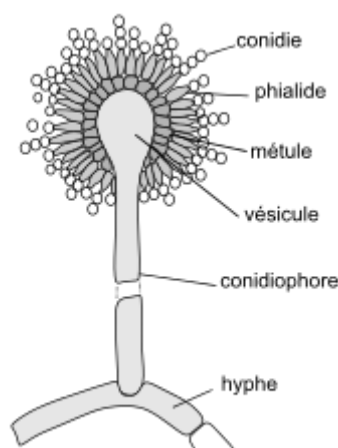
## 1.2 Les aspergilloses

### 1.2.1 Données générales

Parmi le règne des champignons, il existe des millions d'espèces de moisissures dont le rôle majeur est le recyclage de la matière organique. Parmi ces moisissures saprophytes<sup>2</sup>, le genre *Aspergillus* représente environ 250 espèces connues de champignons filamenteux, omniprésents dans la terre et les végétaux, l'eau ainsi que l'air ambiant, se développant également dans les aliments : fruits, pains, céréales, épices (2).

Dans la classification des eucaryotes, le genre *Aspergillus* appartient au règne des champignons ascomycètes (*Ascomycota*, spores formées à l'intérieur d'asque). L'observation de la forme asexuée met en évidence un thalle végétatif sous forme de filaments ou hyphes qui, en se ramifiant, constituent le mycélium. Ces filaments sont septés par des cloisons transversales, avec une paroi cellulaire claire hyaline. Pour *Aspergillus*, ils se présentent avec un thalle supportant une tête aspergillaire dont les différents éléments sont : à la base le stipe ou conidiophore terminé par une vésicule renflée sur laquelle sont insérées les métules, cellules qui supportent les cellules conidio-gènes produisant la conidie ou spore asexuée (Figure 1). L'ensemble a un aspect d'aspersoir qui a donné le nom au genre (goupillon en latin : *Aspergillum*). Lorsque les conditions sont favorables en température et hygrométrie (pour *A. fumigatus*, la croissance est possible à 37°C), la spore se détache, est dispersée facilement grâce à sa petite taille de quelques microns puis gonfle avec formation d'un tube germinatif sur un côté qui en s'allongeant, se transforme en filament.

Figure 1. Structure de la forme asexuée d'un champignon du genre *Aspergillus*<sup>3</sup>.



<sup>2</sup> Un organisme est dit saprophyte s'il est capable de se nourrir de matière organique non vivante par l'intermédiaire d'une membrane, à la suite d'une réaction enzymatique libérant les nutriments présents dans la matière à ingérer.

<sup>3</sup> [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8a/Conidiophore\\_AspERGILLUS\\_niger.svg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8a/Conidiophore_AspERGILLUS_niger.svg), auteur : Pancrat, 2014.



Les progrès de la taxonomie moléculaire font évoluer les terminologies et la nomenclature des nombreuses espèces classées dans le genre *Aspergillus* (3, 4) avec une grande diversité de ces espèces sur le plan génomique (5).

### ► Physiopathologie des aspergilloses chez l'homme

Ces moisissures présentes dans l'air, l'eau et la terre sont responsables de mycoses opportunistes chez l'homme. Les spores d'*Aspergillus*, facilement inhalées, se retrouvent dans l'appareil respiratoire (sinus, bronches, alvéoles pulmonaires), localisation principale des pathologies à *Aspergillus*. Parmi les espèces du genre *Aspergillus*, une dizaine sont rapportées comme pathogènes pour l'homme avec une espèce dominante, *Aspergillus fumigatus*, responsable de plus de 80 % des expressions pathologiques humaines (2). Les autres espèces pathogènes les plus fréquentes sont : *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. versicolor*, *A. glaucus* et *A. terreus* (6). L'organisme humain serait en moyenne confronté à l'inhalation de 2 000 à 3 000 spores d'*A. fumigatus* par mois (2). Dans l'organisme, la spore du champignon est normalement expectorée ou détruite par les défenses immunitaires, avant l'envahissement des tissus (7).

Plusieurs modalités de défense immunitaire sont normalement impliquées contre cette moisissure : l'action de la barrière muco-ciliaire des cellules épithéliales, la défense innée qui implique les macrophages des alvéoles pulmonaires, les polynucléaires et les cellules mononucléées circulants, ainsi que la défense cellulaire par les lymphocytes T. Le système de régulation de la réponse inflammatoire permettrait dans un fonctionnement normal de calibrer le mécanisme de réponse aux stimuli quasi-constants par les spores d'*Aspergillus* (5). Des anticorps (Ac) spécifiques sont synthétisés dès l'enfance avec un taux sérique qui augmente avec l'âge.

Lorsque le système immunitaire n'a pas les capacités de le détruire, *Aspergillus* peut coloniser l'organisme, aussi bien les voies aériennes supérieures que les bronches, le plus souvent sous forme de portage asymptomatique. Cette **colonisation** pourrait, selon certains auteurs, constituer un stade préclinique dont le risque de passage à une forme cliniquement pathogène n'est pas cerné (7). Cette colonisation pourrait par ailleurs jouer un rôle crucial dans les réactions d'hypersensibilité (4, 6).

Le spectre clinique des **pathologies aspergillaires** est très large selon l'état immunitaire de la personne qui détermine le type et la forme d'aspergillose, avec cependant un tropisme à dominante pulmonaire. Ces pathologies sont actuellement regroupées en quatre catégories : aspergillose immuno-allergique, localisée, semi-invasive (ou nécrosante) et invasive (AI) (2), mais elles sont également classées selon les modalités de leur croissance, avec les aspergilloses aiguës se développant en moins d'un mois, les formes nécrosantes entre un et trois mois et les aspergilloses chroniques de développement plus lent, supérieur à trois mois (8). La nosologie des manifestations aspergillaires - surtout chroniques ou de type allergique - n'est pas encore parfaitement connue et leurs définitions non totalement stabilisées, alors qu'en prévalence ce sont les pathologies aspergillaires les plus nombreuses (9). Cependant, les principales pathologies liées à ce champignon sont retrouvées sous les formes suivantes :

A) Des pathologies **immuno-allergiques**, dont la forme d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) est rencontrée en particulier chez les asthmatiques ou dès l'enfance chez les personnes souffrant de mucoviscidose<sup>4, 5</sup> (7, 10). Déclenchée par une hypersensibilité aux antigènes d'*Aspergillus*, l'ABPA est une pathologie inflammatoire, identifiable notamment par l'augmentation des immunoglobulines (Ig)E spécifiques anti-*Aspergillus* (11). Une classification en

---

<sup>4</sup> Pour l'ABPA dans la mucoviscidose, une conférence de consensus avait statué en 2003 sur l'état de l'art en termes de diagnostic, suivi et thérapeutique. Aucune mise à jour n'a été identifiée par la recherche documentaire à la date de validation de cet argumentaire.

<sup>5</sup> Un projet de recherche PHRC a été réalisé en France : Évaluation et prise en charge du risque fongique chez les patients atteints de mucoviscidose en France PHRC n°1902 MUCOFONG : CHU d' Angers, Bordeaux, Lille (coordonnateur L Delhaes), Grenoble, Rouen, CH de Dunkerque selon <http://www.sp2a.fr/pdf/2010/aspergillus-poumon/pathogenies-methodes-diagnostiques.pdf>

etsix stades de sévérité a été proposée récemment avec des critères cliniques, biologiques et radiologiques (9). En l'absence d'identification de l'ABPA et de traitement, l'aggravation par exacerbations récurrentes peut engendrer un infiltrat au niveau pulmonaire visible sur imagerie, surtout la tomodensitométrie à haute résolution, visualisant une bronchiectasie (dilatation des bronches ou DDP) (7, 12). Une augmentation des IgE anti-*Aspergillus* n'est pas réservée à l'ABPA et se retrouve dans d'autres manifestations allergiques chroniques, à type de rhinites, sinusites ou dermatites allergiques.

Les sources de poussières, en particulier les travaux dans le bâti ou certaines activités agricoles, sont responsables de pathologies respiratoires collectives ou professionnelles, dont pour *Aspergillus*, l'alvéolite allergique extrinsèque qui atteint le poumon profond et provoque des essoufflements puis une insuffisance respiratoires (4, 13).

B) Chez les personnes immunocompétentes ou sans immunodépression majeure, fréquemment l'adulte d'âge mur, l'aspergillose revêt une forme **chronique**, d'aspergillose pulmonaire chronique (APC) souvent méconnue du fait de symptômes non spécifiques : fatigue, toux productive, perte de poids. L'APC s'installe souvent à la suite d'une autre pathologie, comme le diabète, la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), l'asthme ou une pathologie ayant laissé une cavité résiduelle comme la tuberculose, une infection à mycobactéries atypiques, une chirurgie thoracique ou un cancer du poumon (14). L'apparition d'hémoptysies, parfois massives, signe la sévérité de l'infection parmi lesquelles se distinguent :

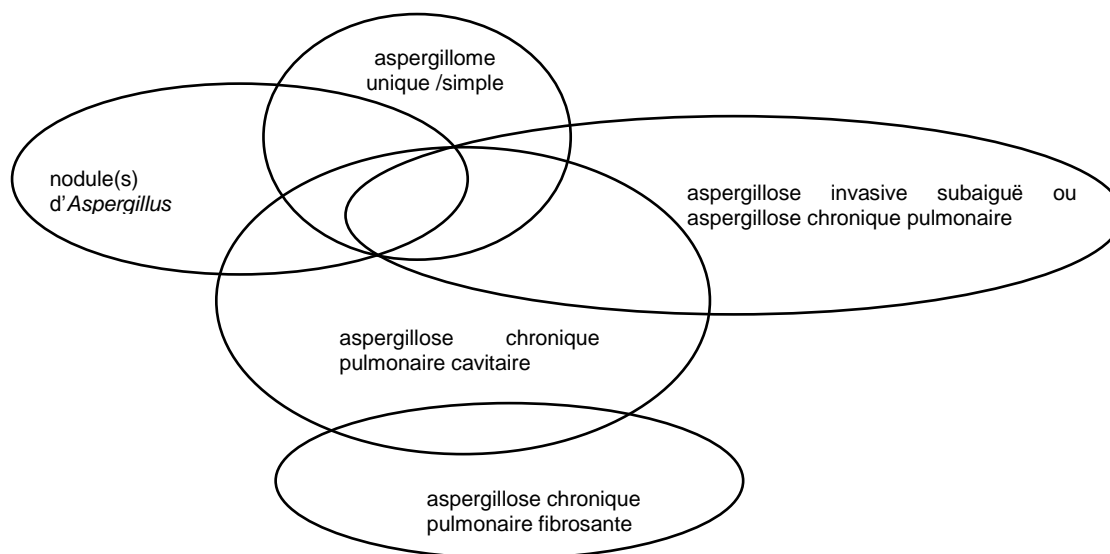
- l'aspergillome ou « truffe aspergillaire » localisé dans une cavité préformée (poumon, sinus ...), fréquemment secondaire à une affection bactérienne (tuberculose) ou inflammatoire (asthme, polyarthrite rhumatoïde, sarcoïdose) ou une intervention dentaire pour les sinusites chroniques unilatérales. Il présente au plan radiologique un aspect de grelot (6) ;
- l'aspergillose pulmonaire cavitaire constituée de plusieurs mycétoles ou nodules, avec apparition d'un état inflammatoire puis de fibrose pulmonaire, pouvant conduire à la mort par hémoptysies massives (85 % de mortalité à cinq ans). L'imagerie peut être contributive montrant des zones de consolidation uni ou bilatérales avec des cavités et de la fibrose ;
- l'aspergillose à type de bronchite, assez rare avec fièvre et douleurs thoraciques, qui peut être retrouvée dans la mucoviscidose ou la BPCO. On peut identifier des filaments mycéliens dans les expectorations bronchiques (6).

D'autres atteintes extra-respiratoires chroniques touchent le cœur, le conduit auditif, l'os et/ou l'articulation, les ongles, l'œil, le péritoine chez les dialysés. Ces infections affectent la peau chez les grands brûlés ou les viscères après chirurgie.

C) Une autre manifestation symptomatologique est dénommée depuis peu **aspergillose pulmonaire subaiguë invasive** (*sub-acute invasive pulmonary aspergillosis*) (7) ou **chronique nécrosante, semi-invasive** (13), avec atteinte et destruction progressive du parenchyme pulmonaire par les filaments mycéliens, avec nécrose et réaction inflammatoire. Cette affection pulmonaire survient chez des personnes ayant une immunité imparfaite ou une immunosuppression modérée du fait de diabète, tuberculose ou infection à mycobactéries atypiques, broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), alcoolisme, traitement par corticoïdes au long cours avec altération de l'état général (6). Des localisations sinusales (rhinosinusite fongique chronique invasive), sont aussi décrites (4). Le diagnostic souvent tardif de ce type d'infections repose d'abord sur les données anatomopathologiques et mycologiques (6) ainsi que sur des recherches d'Ac (7).

Selon l'*European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, il existe des chevauchements entre les diverses formes pulmonaires d'aspergilloses comme illustré ci-dessous :

Figure 2. Diverses formes de l'aspergilliose pulmonaire chronique (APC) d'après Denning et al. pour l'European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (15).



D) Les avancées en thérapie anticancéreuse (oncologie, hématologie), en transplantation d'organes ou en greffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) entraînant des neutropénies profondes et prolongées (polynucléaires neutrophiles (PNN) <0,5 G/L pendant plus de dix jours), ainsi que l'augmentation du recours aux immunosuppresseurs comme les anti-TNF $\alpha$  et à la corticothérapie haute dose au long cours, ont induit de nouveaux types d'**infections fongiques invasives**, parmi lesquelles des **aspergilloses invasives (AI)**, suspectées lors de pneumopathies fébriles résistantes aux antibiotiques (4, 16). Le risque est similaire dans la population pédiatrique se trouvant dans des contextes de même type (17). La survenue d'infections disséminées à *Aspergillus* (y compris l'infection du système nerveux central) est possible, par trajet vasculaire et *via* les tissus adjacents comme le sinus, la mastoïde ou l'orbite oculaire. Le diagnostic est difficile et repose généralement sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques, qui diffèrent selon le profil du patient. Des définitions de ces formes invasives comprenant des critères multiples ont été établies chez les patients ayant une immunité compromise et les receveurs de greffe de CSH par l'*European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) en 2002 en collaboration avec le *Invasive Fungal Infections Cooperative Group* (18) (dernière actualisation en 2008, cf. Annexe 5 (19)). La surveillance biologique et radiographique est primordiale pour initier un traitement efficace et diminuer la mortalité dans ces populations de patients. Ainsi, la tomographie (scanner thoracique) fournit des images de nodules ou présentant le signe (précoce) du halo en verre dépoli témoin de la nécrose tissulaire (20), une condensation ou le signe du croissant gazeux (plus tardif) (12).

Une AI peut survenir dans d'autres situations d'immunodépression et notamment :

- chez les personnes atteintes d'un déficit immunitaire acquis (infection à VIH) (13) ;
- dans la granulomatose septique chronique, maladie héréditaire récessive rare (1/ 500 000 personnes<sup>6</sup>), due à une anomalie enzymatique (d'une oxydase) empêchant la destruction des champignons et des bactéries par la phagocytose effectuée normalement par les macrophages et les polynucléaires neutrophiles.

<sup>6</sup> Source site orphanet : [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Lng=FR&Expert=379](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=379)

## ► Données épidémiologiques

La prévalence des diverses formes d'aspergilloses varie dans le monde, particulièrement selon le niveau socio-économique et la prévalence de pathologies chroniques comme la tuberculose qui constituent un terrain propice à l'envahissement aspergillaire, mais le chiffre de trois millions de personnes souffrant d'aspergilloses chroniques et allergiques au niveau mondial a été avancé (7). Les pathologies pulmonaires chroniques aspergillaires affecteraient environ 240 000 personnes en Europe, selon des données de 2015 (15).

Une estimation du poids épidémiologique des infections fongiques graves en France publiée en décembre 2016 (21) indique que 1,5 % de la population souffrirait annuellement d'une maladie fongique grave. De façon plus précise, pour les pathologies à *Aspergillus*, les auteurs fournissent les estimations suivantes :

- 145 épisodes d'ABPA / 100 000 habitants, soit un nombre total pour la France de 95 361 ;
- 5,2 cas d'APC / 100 000 habitants, soit un nombre total pour la France de 3 450 ;
- 1,8 cas d'AI / 100 000 habitants, soit un nombre total pour la France de 1 185.

Des chevauchements avec d'autres maladies pulmonaires obstructives sont probables, étant donné qu'*Aspergillus* se développe fréquemment sur des atteintes pulmonaires préexistantes (asthme, tuberculose, sarcoïdose,...), y compris sous forme invasive. Le rapport de l'Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail (ANSES), publié en août 2016, conclut à une association entre l'exposition aux moisissures (champignons filamenteux dont le genre *Aspergillus*) et la survenue d'un asthme chez les enfants vivant dans un habitat humide excédentaire en moisissures (22).

Une étude conjointe de l'InVS et du Centre national de référence « Mycoses Invasives et Antifongiques (CNRMA) » a étudié l'épidémiologie des infections fongiques invasives (IFI) dans les données du PMSI<sup>7</sup> de 2001 à 2010 (23). L'AI concernait 23,9 % des 35 876 cas d'IFI identifiés en France métropolitaine, soit près de 850 patients hospitalisés atteints chaque année sur cette période, dont 91,7 % de cas pulmonaires et 8,3 % de cas disséminés. L'incidence globale était de 1,4/100 000 patients années et le taux de mortalité de 28,6 %. Une évolution a été constatée au cours du temps avec 4,4 % d'augmentation de l'incidence/an, mais 1,4 % de baisse de la mortalité (24). Les éléments recensés<sup>8</sup> par le CNRMA en 2014 sur les IFI indiquaient 16,4 % d'aspergilloses avec quinze espèces incriminées, survenant chez des patients avec lymphome (25 %), allogreffe (20,3 %), leucémie aiguë avec ou sans autogreffe (13 %), autre hémopathie (11,5 %), transplantation d'organes (11,3 %) ou cancer (5,7 %). Le risque d'IFI, principalement à *Candida* ou *Aspergillus*, est plus important dans les 6 premiers mois post-greffe mais persiste sur 12 mois, représentant la cause principale de mortalité des personnes greffées. Pour l'AI, la mortalité est la plus grande pendant la phase initiale de neutropénie profonde, mais aussi plus tardivement, en fonction de l'évolution, surtout si une réaction aiguë du greffon contre l'hôte exige de renforcer le traitement immunodépresseur. Ainsi, dans plus de 50 % des cas, il s'agit d'une infection tardive, survenant de 60 à plus de 100 jours après la greffe chez des patients non neutropéniques. Les facteurs de risque identifiés sont au nombre de trois :

- la réaction du greffon contre l'hôte ;
- une allogreffe de moelle phéno-identique (donneur et receveur appariés mais non apparentés) ou une greffe partiellement incompatible ;
- l'arrêt des mesures de protection (chambre à air traité).

D'autres facteurs individuels comme un antécédent d'AI, exposent préférentiellement à une AI (25).

<sup>7</sup> PMSI : programme de médicalisation des systèmes d'information.

<sup>8</sup> Via le ReSSIF, RESeau de surveillance des Infections Fongiques invasives en France : réseau de 24 laboratoires qui déclarent tous les cas d'infections fongiques prouvées et probables diagnostiqués dans leur centre.

Si les formes pulmonaires représentent la quasi-totalité des AI (93 %) selon les données collectées par le réseau de surveillance des aspergilloses invasives en France (SAIF), coordonné par le CNRMA (16), d'autres localisations sont retrouvées (oculaire, cutanée, ...) (13). Une enquête a été menée sur les formes cutanées, concluant à une prévalence de 1,1 % de lésions cutanées parmi les aspergilloses recensées, soit primaires, avec porte d'entrée locale (gros orteil, cicatrice, ...), soit secondaires, sous formes de papules ou nodules infiltrés dans une aspergillose invasive/disséminée. Le pronostic vital en est différent et il est suggéré que toute lésion cutanée chez un patient immunodéprimé soit rapidement biopsiée pour accélérer le diagnostic (26).

L'Agence de biomédecine (ABM) a observé une diminution de la morbidité de l'aspergillose invasive dans les suites des transplantations, notamment d'organes, au cours des dernières décennies, grâce à l'optimisation des indications et des techniques chirurgicales, des modalités de l'immunodépression, des tests diagnostiques et des mesures préventives, alors même que les volumes d'activité de greffe et de prélèvement<sup>9</sup> sont en augmentation tous types confondus pour des receveurs adultes (5 746 greffes d'organes et 38 312 de tissus en 2015). Chez l'enfant, le nombre total de greffes d'organes est stable avec 220 cas en 2015. Les greffes allogéniques de CSH (moelle osseuse, sang périphérique ou sang placentaire), environ 2 000 actes par an, sont effectuées dans la leucémie aiguë myéloblastique (LAM) (34,1 %), lymphoblastique (LAL) (13,4 %), les myélodysplasies (en forte progression : 15,4 %) puis les aplasies constitutionnelles ou acquises et les autres hémopathies myéloïdes et lymphoïdes. Pour les greffes, le risque de survenue d'AI concerne principalement les re-transplantations précoces, les patients soumis à des traitements par corticoïdes à posologie forte et prolongée pour éviter les rejets, les suites post-transplantation compliquées (ré-interventions, infections bactériennes et virales multiples, insuffisance rénale aiguë) (25).

### 1.3 Prévention et traitement des aspergilloses

Les aspergilloses nécessitent le plus souvent des traitements antifongiques longs pour obtenir une guérison complète, notamment des formes chroniques et semi-invasives (14).

#### 1.3.1 Traitement curatif des aspergilloses

Parmi les quatre classes d'antifongiques, les agents actifs sur les champignons filamenteux, et en particulier les *Aspergillus*, ayant une autorisation de mise sur le marché (AMM) en France sont les suivants<sup>10</sup> :

- polyènes :
  - amphotéricine B (FUNGIZONE) ;
  - dérivés lipidiques de l'amphotéricine B :
    - amphotéricine B liposomale (AMBISOME) :
      - dans l'aspergillose invasive (AI), chez l'enfant ou l'adulte, si l'administration du voriconazole n'est pas possible, notamment en cas d'insuffisance rénale ;
      - en traitement empirique chez un patient neutropénique ;
    - amphotéricine B complexe phospholipidique (ABELCET).
- triazolés :
  - itraconazole (SPORANOX) par voie orale dans le traitement des kératites aspergillaires, les formes nécrosantes ou systémiques<sup>11</sup> ;

<sup>9</sup> <https://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2015/donnees/cellules/04-national/telechargement/TCSHG1.gif>

<sup>10</sup> Avis de la Commission de Transparence du 9 juin 2016 : [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14963\\_VFEND\\_PIC\\_REEV\\_Avis2\\_CT14963.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14963_VFEND_PIC_REEV_Avis2_CT14963.pdf)

<sup>11</sup> Avis de la Commission de Transparence du 11 avril 2012 : [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-05/sporanox\\_11042012\\_avis\\_ct\\_12068.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-05/sporanox_11042012_avis_ct_12068.pdf)



- ▶ voriconazole (VFEND) : c'est le traitement de référence de l'AI de l'adulte, utilisable chez l'enfant de plus de 2 ans avec une adaptation de dose ;
  - ▶ posaconazole (NOXAFIL) par voie orale en deuxième intention dans l'AI, en cas d'infection réfractaire ou de patient intolérant aux médicaments de première intention ;
  - ▶ isavuconazole (CRESEMBA) nouvellement utilisable chez l'adulte, en IV, et disponible<sup>12</sup> en première ligne pour les AI notamment chez l'insuffisant rénal.
- echinocandines :
    - ▶ la caspofungine (CANCIDAS) est utilisée par voie intraveineuse (IV) après échec du traitement de première intention d'AI ou en traitement empirique chez le patient neutropénique.
  - la flucytosine (ANCOTIL) et son métabolite, le 5-fluorouracil (5-FU), n'ont pas d'action sur les *Aspergillus*.

Les aspergilloses pulmonaires chroniques sont traitées par ces antifongiques pendant quatre à six mois, si possible par voie orale, sinon en IV avec suivi pharmacologique pour, si nécessaire, adaptation posologique. Les arrêts de traitement sont fréquents, souvent motivés par une intolérance digestive, cutanée (dont des réactions d'hypersensibilité sévère), oculaire, hépatique, cardiovasculaire (raccourcissement QT) ou une pyrexie. Des résistances aux antifongiques sont décrites.

Les aspergillomes et autres formes cavitaires sont traités en premier lieu par chirurgie si l'accès est possible, puis antifongiques si la résection n'a pas été complète (15).

Les associations médicamenteuses peuvent être utilisées dans les cas d'aspergillose invasive réfractaire ou en progression (27).

Les formes allergiques dont l'ABPA sont traitées par corticoïdes *per os* par des traitements courant sur plusieurs mois.

### 1.3.2 Traitement préventif des aspergilloses

Certains de ces antifongiques sont utilisés en traitement prophylactique, tels le posaconazole en première intention en France chez l'adulte ou le voriconazole chez l'adulte et l'enfant de plus de deux ans, dans les conditions suivantes<sup>13</sup> : « *Prophylaxie des infections fongiques invasives chez les receveurs d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) à haut risque. La prophylaxie doit être instaurée le jour de la greffe et peut être administrée jusqu'à 100 jours après celle-ci* ». Cette prophylaxie est indiquée également dans le cas de<sup>14</sup> : « *Patients recevant une chimiothérapie d'induction de la rémission pour une leucémie myéloïde aiguë (LMA) ou un syndrome myélodysplasique (SMD) connus pour induire une neutropénie prolongée* ».

## 1.4 Diagnostic des aspergilloses

Le diagnostic biologique de ces pathologies est décrit comme difficile notamment du fait de très grand risque de contamination lors du prélèvement et de la difficulté à discriminer dans certaines circonstances une colonisation d'une infection (4-7).

Étant donné que les pathologies dues au genre *Aspergillus* se subdivisent en plusieurs grands types, les modalités du diagnostic biologique sont largement déterminées par le contexte clinique et le statut immunitaire de la personne concernée. De plus, les symptômes sont souvent non spécifiques d'une atteinte fongique, provoquant un retard de diagnostic préjudiciable aux patients (5).

---

<sup>12</sup> Avis de la Commission de Transparence du 16 mars 2016 ; [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14849\\_CRESEMBA\\_PIC\\_INS\\_Avis2\\_CT14849.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14849_CRESEMBA_PIC_INS_Avis2_CT14849.pdf)

<sup>13</sup> Avis de la Commission de Transparence du 22 juillet 2015 ; [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14287\\_VFEND\\_PIC\\_EIT\\_Avis2\\_CT14287.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14287_VFEND_PIC_EIT_Avis2_CT14287.pdf)

<sup>14</sup> Avis de la Commission de Transparence du 11 mai 2016 ; [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15054\\_NOXAFIL\\_PIC\\_INS\\_Avis2\\_CT15054.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15054_NOXAFIL_PIC_INS_Avis2_CT15054.pdf)

Classiquement, les ouvrages généraux décrivent quatre catégories de tests biologiques utilisables pour la recherche d'une aspergillose en précisant les outils diagnostiques à mettre en route, orientés par le contexte physiopathologique de la suspicion :

- la recherche directe et l'identification des champignons (mycologie, histologie, biologie moléculaire) n'est pas détaillée, mais est utilisée pour diagnostiquer l'aspergillome, l'aspergillose localisée ou la forme invasive et est possiblement utile dans l'ABPA ; cet acte mycologique est effectué sur un prélèvement superficiel (conduit auditif, sinus, expectoration, peau) ou profond et protégé (bronchique, alvéolaire) : l'identification est immédiate ou après culture avec identification d'espèce si pertinente ;
- la détection d'antigènes (Ag) circulants (ou Ag solubles), réalisable sur le sérum ou le plasma et les autres liquides biologiques, est utilisée pour détecter les formes invasives ;
- la recherche d'une allergie aux *Aspergillus* en cas de suspicion d'aspergilloses à type d'asthme, d'alvéolite allergique extrinsèque ou d'ABPA se fait par le dosage des IgE spécifiques anti-*Aspergillus* ; l'hyperéosinophilie constitue un marqueur non spécifique tout comme l'évaluation du titre des IgE totales ;
- la détection d'anticorps (Ac) circulants spécifiques est préconisée dans les formes chroniques, en particulier les formes localisées (aspergillome, nodules). Certaines techniques font intervenir des Ac précipitants (IEP) - retrouvés aussi dans l'alvéolite extrinsèque - alors que les techniques immunoenzymatiques de type ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) permettent la recherche de différentes classes d'immunoglobulines solubles, les IgG et IgE étant majoritairement recherchées (8).

#### 1.4.1 Recherche directe des champignons dans le sang, les tissus et les liquides biologiques

Plusieurs types de prélèvements sont utilisés dans la recherche d'*Aspergillus*, mais il convient de limiter au maximum le risque de contaminations externes (milieu ambiant, salive, sécrétions oropharyngées,...) par le respect de protocoles rigoureux.

##### ► Prélèvements

##### Prélèvement de sang

Les hémocultures n'étant qu'exceptionnellement positives s'agissant d'un *Aspergillus* (28), le prélèvement va permettre de rechercher la présence du champignon de façon indirecte à travers le relargage de composants pariétaux antigéniques ou d'ADN.

##### Prélèvement de tissus, de liquides biologiques et sécrétions broncho-pulmonaires

- Expectoration ou crachat pour examen cyto bactériologique (ECBC) (29)

L'intérêt de tels prélèvements est qu'il s'agit d'actes non invasifs, faciles à réaliser, mais associés à un risque de contamination par la flore oropharyngée, de plus de 50 %, même si un protocole rigoureux est respecté (recueil de l'expectoration au réveil matinal, la plus chargée en agents pathogènes dans un récipient stérile après rinçage bucco-dentaire à l'eau distillée stérile et lors d'un effort de toux).

- Aspiration endotrachéale (AET) et endobronchique (AEB)

L'utilisation d'une sonde d'intubation pour recueillir des sécrétions broncho-pulmonaires est la méthode la plus adaptée pour un patient en réanimation, ou alternative lorsque les méthodes invasives sont contre-indiquées à cause d'une trop profonde thrombocytopénie ou impossibles à réaliser (5).

- Prélèvement distal protégé (PDP) ou brossage bronchique protégé

Il est réalisé lors d'une fibroscopie bronchique et permet un prélèvement dirigé au niveau du foyer infectieux et protégé, limitant le risque de contamination par la flore oropharyngée. La brosse pro-

tégée par un double cathéter n'est sortie qu'au niveau du site infectieux puis après application, son extrémité est coupée aseptiquement et placée dans 1 ml de liquide stérile.

- Lavage broncho-alvéolaire (LBA) et mini lavage (mini-LBA)

La fibroscopie permet aussi le lavage broncho-alvéolaire (LBA) qui se fait en deux étapes : recueil d'une fraction bronchique et d'une fraction alvéolaire en prélèvement protégé. Le bronchofibroscope est bloqué dans une bronche sous-segmentaire (choix orienté selon les images radiologiques anormales le cas échéant), et quatre à six échantillons successifs de 50 ml de sérum physiologique à 37°C sont instillés, puis le liquide de lavage est recueilli par aspiration douce. Une proportion variable de la quantité injectée, de 20 à 70 %, est ainsi collectée (28, 30). Le mini-LBA consiste à instiller 20 à 50 ml, mais ne permet de recueillir que 2 à 3 ml d'échantillon. Dans les deux cas, le temps écoulé entre le prélèvement et la préparation des examens d'identification doit être idéalement inférieur à une à deux heures (28, 30).

Le LBA a plusieurs avantages : absence de contamination par la flore oropharyngée et l'environnement, échantillonnage alvéolaire d'un territoire pulmonaire plus important que le PDP et récupération d'une plus grande quantité de sécrétions, réparties en fractions alvéolaires et bronchiques.

- Ponction-biopsie pulmonaire transthoracique ou endobronchique

Dans les cas de masse pulmonaire suspecte, notamment en cas de suspicion d'un aspergillome, la ponction-biopsie transthoracique ou transpariétale peut être utilisée (31). Elle consiste à réaliser le passage d'une aiguille fine pour biopsie à travers deux côtes sous guidage échographique ou scannographique ; plusieurs prélèvements sont possibles par mouvements internes de l'aiguille. La biopsie endobronchique est réalisée avec une pince glissée dans un bronchoscope pour prélever du parenchyme pulmonaire ou pratiquée par chirurgie guidée par vidéo-scopie, voire si nécessaire à thorax ouvert. Toutefois, chez le patient neutropénique, le risque hémorragique est élevé, limitant la possibilité de ces procédures invasives (5).

## ► Examens

### Examen histopathologique

Le prélèvement tissulaire obtenu par une des méthodes décrites ci-dessus est fixé (formol) et coloré. La mise en évidence dans les tissus prélevés de filaments caractéristiques du genre est révélatrice d'une aspergilliose pathogène (2, 6).

### Examen mycologique au microscope

Il a pour but de visualiser le champignon ou du moins une de ses formes asexuées, sur produit frais sans fixation, ou après coloration adéquate (May-Grumwald-Giemsa ou coloration argentique de Gomori-Grocott). La forme asexuée, le mycélium, est la plus caractéristique ou la seule connue pour certaines espèces. Le caractère cloisonné et hyalin des filaments (taille mesurée entre 2-4 µm) est visible (2). Cet examen morphologique est une composante essentielle du diagnostic de certitude, en particulier si les têtes aspergillaires sont retrouvées.

### Culture sur milieu spécifique

Elle est faite en complément de l'examen direct au microscope, sur des milieux spécifiques de mycologie comme le milieu de Sabouraud avec antibiotiques (28). Trois à cinq jours entre 25 et 37°C sont nécessaires aux colonies d'*Aspergillus* pour la pousse des têtes aspergillaires caractéristiques. Chaque espèce d'*Aspergillus* a une coloration propre qui peut se repérer de façon macroscopique et/ou microscopique et va du blanc pour *A. candidus*, au noir avec *A. niger*, aux diverses nuances de bleu et vert (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, ...) ou de brun-jaune (*A. terreus*). Le Remic précise que le rendement n'est pas optimum, constaté uniquement dans 60 % des cas (28).



L'identification du champignon à partir d'échantillon, directe ou après mise en culture, constitue pour l'EORTC-MSG le critère déterminant de diagnostic d'une « aspergillose prouvée » dans les AI (19).

Ces techniques sont inscrites à la NABM (cf. Tableau 1, chapitre 1.6).

#### 1.4.2 Recherche d'antigènes fongiques

Les *Aspergillus* contiennent dans leurs constituants beaucoup de composants reconnus par le système immunitaire comme des antigènes (Ag). Certains sont des constituants polysaccharidiques de la paroi cellulaire, libérés lors de la croissance fongique et détectables sous forme libre dans le sang et les liquides biologiques : le galactomannane (GM) et le  $\beta$ -(1-3)-D-glucane (BG). Leur passage dans le sang est rendu possible par l'angio-invasion de l'infection qui survient chez l'immunodéprimé (2), alors que chez l'immunocompétent, l'inflammation réactionnelle bloquerait ce processus d'angio-invasion (32). Leur intérêt comme facteur précoce de détection d'une IFI, sur un prélèvement peu invasif s'agissant du test réalisé sur le sang, a été avancé et des tests diagnostiques pour leur détection ont été mis au point.

La recherche d'Ag solubles est inscrite à la NABM, par la technique du latex sensibilisé (AGG).

##### ► Le galactomannane (GM)

Les galactomannanes (GM) sont des glycoprotéines de grosse taille (20 KDalton) constituées d'un polymère linéaire de mannose comportant des chaînes latérales de galactose dont la composition exacte varie en fonction du genre. Le GM présent dans la paroi d'*Aspergillus* est commun au genre. La technique de détection du GM utilisée actuellement pour *Aspergillus* est immunoenzymatique (33). La littérature ne semble faire état en France que d'un seul test commercial dont le nom est Platelia™ *Aspergillus* Ag (Bio-rad Lab. Marnes-la-Coquette, France), disponible en Europe depuis le milieu des années 1990. Il utilise une technique ELISA double sandwich avec un anticorps monoclonal de rat EBA-2, dirigé contre le GM d'*Aspergillus fumigatus*, qui reconnaît les résidus galactofuranose des chaînes latérales de la protéine produite par les *Aspergillus*. L'Ac est d'abord fixé sur une microplaque avant ajout des échantillons à tester, préalablement traités par la chaleur pour éliminer les protéines sériques, puis de l'Ac monoclonal conjugué à une enzyme (la peroxydase) est ajouté. La formation d'un complexe Ac fixé - GM - Ac conjugué, est révélée après ajout du substrat, par colorimétrie au spectrophotomètre à 450-620 nm. La valeur d'absorbance est donnée en index de densité optique (DO), soit le rapport de la DO d'un échantillon dosé à 1 ng/ml (valeur seuil) sur la DO de l'échantillon testé (34), avec courbe d'étalonnage et contrôles internes positifs et négatifs. Le seuil de positivité instauré dans le sang (plasma ou sérum) par le fabricant depuis l'évaluation et l'autorisation de l'administration américaine FDA en 2003 est un index de 0,5. Ainsi, seuls les sérums avec un index  $\geq 0,5$  sont considérés comme positifs pour la présence de GM<sup>15</sup>. Ce test a été validé pour une utilisation dans le sérum et le liquide de LBA (notice d'utilisation datée 10/2013). Le fabricant indique que si un sérum est négatif dans un contexte de forte suspicion d'AI, il convient de doser un nouveau prélèvement. Pour les aliquots positifs, il recommande de tester un nouvel aliquot du même échantillon.

La littérature est abondante sur la place de ce test dans la stratégie diagnostique : par exemple, dans une étude française prospective, ce test sanguin s'est avéré plus sensible que les recherches mycologiques directes au moment du diagnostic établi selon les critères de l'EORTC-MSG, et la cinétique du taux de GM après la mise en route d'un traitement antifongique serait un indicateur de la réponse au traitement (35).

##### ► Le $\beta$ -(1-3)-D-glucane (BG)

Le  $\beta$ -(1-3)-D-glucane (BG) est un des polysaccharides multimères de glucose de la paroi fongique. La molécule, non spécifique du genre *Aspergillus*, est exprimée en quantité mesurable par plu-

<sup>15</sup> [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/62794\\_881115\\_FR.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/62794_881115_FR.pdf).

sieurs genres de champignons et de levures *Fusarium*, *Exserohilum*, *Pneumocystis* et *Candida* notamment (36), alors que d'autres genres (*Cryptococcus*, *Rhizopus*...) en produisent des quantités très faibles, habituellement non détectées par les tests existants.

Plusieurs trousse de détection ont été mises au point par des industriels. La plus retrouvée dans la littérature, commercialisée en France sous la dénomination Fungitell® (Cape Cod Inc. USA), est basée sur le principe modifié du test au Limulus<sup>16</sup> : le BG active un facteur zymogène de la protéase serine, le facteur G (alors que les endotoxines recherchées dans le test au limulus activent la voie par le facteur C, éliminé dans le kit Fungitell®) avec activation en cascade des facteurs de coagulation du lysat d'amœbocyte de limule qui est révélée par la création d'un chromophore absorbant la lumière à 405 nm. L'augmentation du taux de densité optique (DO) induite est mesurée par colorimétrie au regard d'une courbe standard qui permet d'estimer la concentration de BG dans l'échantillon testé<sup>17</sup>. Le fabricant indique dans sa notice d'utilisation que chaque échantillon doit être analysé en double réplique dans une manipulation et que dans un échantillon de sérum :

- des valeurs de BG < 60 pg/ml sont interprétées comme négatives ;
- des valeurs contenues entre 60 et 79 pg/ml suggèrent une possible infection fongique ;
- des valeurs ≥ 80 pg/ml sont interprétées comme positives.

Il préconise aussi que « pour les résultats négatifs, la répétition du test sur un nouvel échantillon du même patient doit être envisagée en cas de suspicion clinique d'aspergillose invasive ou lorsqu'une erreur est survenue au cours de la procédure » (37).

### ► Limites des tests antigéniques

En ce qui concerne la recherche de GM, plusieurs problèmes sont signalés. Des résultats positifs peuvent provenir d'autres types de mycoses plus rarement présentes, à *Penicillium*, *Fusarium* ou *Histoplasma*, susceptibles d'entraîner des erreurs d'identification et des traitements non optimisés (38). Des faux positifs au test ont été décrits par interférence de composés contenant du GM :

- certaines matières plastiques (de ce fait, les tubes plastiques utilisés pour réaliser le test au GM doivent être certifiés exempts de GM) ;
- de nombreux aliments (riz, pâtes) (13) ;
- des médicaments issus des pénicillines (β-lactamines semi-synthétiques particulièrement, la piperacilline associée ou non au tazobactam) ;
- des dérivés sanguins comme les immunoglobulines du fait des modalités de préparation (39) ou des liquides de remplissage (Plasma-Lyte A®).

Concernant l'aspect technique, une étude française menée avec le CNRMA et le fabricant du test EIA GM a montré que la reproductibilité de la positivité d'un échantillon était imparfaite (à 33 %) pour le test, sans que des causes de mauvaises pratiques soient identifiées, ce qui rend nécessaire un contrôle par une réplique du test pour tout échantillon positif (40).

Pour le BG, les éventualités de faux positifs au test par l'amœbocyte sont réelles en présence de bactéries, de matériel médical (dont les gazes chirurgicales et le coton) et les membranes de cellulose d'hémodialyse, tous libérant ou contenant des lipopolysaccharides (LPS) (41). Des faux négatifs surviendraient chez des patients ayant des titres élevés d'Ac anti-*Aspergillus*, lorsque le relargage des Ag est faible ou empêché par des médicaments, en cas de localisation sinusienne (42).

<sup>16</sup> Le lysat d'amœbocytes de limule est un extrait aqueux de cellules sanguines (amœbocytes) de la limule *Limulus polyphemus*, petit arthropode marin des eaux chaudes en forme de fer à cheval. Dans le test dit test au limulus, cet extrait permet de détecter l'éventuelle présence d'endotoxines (LPS) pyrogènes dans des médicaments ou dispositifs à usage humain.

<sup>17</sup> D'autres kits commerciaux sont disponibles, notamment au Japon, dont l'évaluation est retrouvée dans les revues systématiques et les méta-analyses : le test Wako®, le Fungitec G test MK® et le test Muraka®. Ils présentent des caractéristiques techniques variées dont la mesure par turbidimétrie (variations du taux de densité optique).

Des alertes ont été faites en France par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) de contamination de produits commerciaux (dispositifs médicaux *in vitro*) de détection d'Ag par des agents exogènes au test<sup>18</sup>.

Par ailleurs, le choix du seuil de positivité des tests antigéniques constitue une problématique importante dans l'interprétation des résultats d'études cliniques et le classement des patients vis-à-vis de la maladie aspergillaire, limitant les possibilités de comparaison des performances diagnostiques des tests entre études ; ce point sera repris dans la partie « Résultats de l'évaluation » de cet argumentaire.

### 1.4.3 Recherche indirecte de la présence du champignon : tests de détection d'anticorps sériques spécifiques

La présence de cellules d'*Aspergillus* dans l'organisme entraîne une réaction du système immunitaire, et en particulier la réaction humorale, avec synthèse d'anticorps spécifiques que l'on peut détecter par des techniques appropriées chez les personnes dont le système immunitaire n'est pas déficient.

Diverses techniques existent pour mettre en évidence les Ac spécifiques développés contre *Aspergillus* et utilisent généralement des Ag d'*A. fumigatus* (42). Certaines techniques de détection vont mettre en évidence de façon visuelle la réaction avec les Ac précipitants ou précipitines<sup>19</sup> [immunodiffusion double (IDD), immunoélectrophorèse (IEP)], alors que d'autres font appel à l'hémagglutination sensibilisée (HAGG) ou à l'immunoenzymologie (EIA acronyme de *enzyme immunoassay* en anglais), essentiellement de type ELISA, techniques plus rapides et automatisables, permettant la recherche des différentes classes d'immunoglobulines (Ig) (8).

#### ► Techniques par précipitation

Ce sont des techniques anciennes, utilisées pour *Aspergillus* depuis les années 1960 (8). Elles sont souvent non automatisées, issues de techniques « maison » (42).

Le genre *Aspergillus* produit de nombreuses enzymes identifiées (2), parmi lesquelles des catalases et des chymotrypsines. Les catalases sont présentes dans la paroi et dans le cytoplasme de plusieurs espèces dont *A. fumigatus* et sont sécrétées dans le milieu environnant afin de permettre au champignon d'échapper en partie à la phagocytose de la défense innée de l'hôte ; les chymotrypsines d'*A. fumigatus* sont des sérines protéases permettant de lyser les protéines de l'hôte pour avoir une source d'acides aminés facilitant la croissance et la dissémination mycélienne (8). Ces éléments fongiques constituent par ailleurs des Ag engendrant une réponse humorale (Ac) dans les formes chroniques (aspergillome) et/ou allergiques d'aspergillose. Certaines précipitines sont porteuses d'activité enzymatique que l'on peut révéler dans les arcs d'immunoprécipitation en gel, lorsque l'Ag utilisé dans le test, issu de broyat (Ag somatique) ou de filtrat de culture de souche (Ag métabolique) fongique contient l'une ou plusieurs de ces enzymes : la réaction Ag-Ac se produit alors au contact du sérum d'une personne malade ayant produit des Ac. Cette activité est prise en compte dans le diagnostic de formes chroniques et/ou allergiques d'aspergillose (7).

#### Immunodiffusion double (technique d'Ouchterlony)

Les Ag spécifiques et le sérum à tester sont placés dans les puits d'un gel neutre et par migration radiale passive des immuns complexes (IC) Ag-Ac se forment au point de contact et précipitent sous forme d'arcs lorsque le poids moléculaire devient trop important. Cinq jours sont nécessaires à l'obtention des résultats dont l'interprétation est opérateur-dépendant.

Cette technique est inscrite à la NABM pour la détection (test initial) d'*Aspergillus*.

<sup>18</sup> [http://ansm.sante.fr/searchengine/general\\_search?SearchText=Aspergillus](http://ansm.sante.fr/searchengine/general_search?SearchText=Aspergillus)

<sup>19</sup> Anticorps capable de donner avec son antigène homologue un précipité visible selon le CNRTL <http://www.cnrtl.fr/definition/pr%C3%A9cipitine>

### Électrosynérèse (ELS) ou contre-immunoelectrophorèse (IEP)

C'est une technique utilisant la migration par un champ électrique en milieu tamponné, les Ag allant vers l'anode et les Ac vers la cathode. C'est une méthode rapide (quelques heures) et qualitative, inscrite à la NABM comme test de détection des Ig anti-*Aspergillus*.

### Immunoélectrophorèse (IEP)

Il s'agit de la mise en évidence d'Ac précipitants sous forme d'arcs dont la formation est accélérée par un courant électrique. Une séparation électrophorétique des protéines est d'abord mise en jeu sur le sérum, suivie d'une diffusion double de façon perpendiculaire à l'axe de migration. Pour *Aspergillus*, l'utilisation d'antigènes natifs permet la recherche sur les IC formés des activités catalasiques et chymotrypsiques. La lecture des lames est faite *de visu* par le biologiste qui note la présence et le nombre ou l'absence d'arcs de précipitation, ainsi que la présence d'une activité enzymatique au niveau de ces arcs. Chaque arc de précipitation représente un IC différent. Par convention, la positivité est établie lorsqu'au moins trois arcs sont visibles pour l'opérateur. L'IEP est considérée comme une méthode de choix pour détecter les Ac anti-*Aspergillus*, mais elle est de réalisation longue.

Cette technique est inscrite à la NABM pour la confirmation de la présence d'Ig anti-*Aspergillus*.

### Coélectrosynérèse (COES)

Il s'agit d'une technique d'IEP bidimensionnelle avec sérum de référence positif (lecture au regard de la continuité d'arcs dans le témoin positif).

Cette technique est actuellement inscrite à la NABM pour la confirmation de la présence d'Ig anti-*Aspergillus*.

### ► Autres techniques de recherche d'anticorps circulants

#### Techniques immunoenzymatiques (EIA) de type ELISA ou FEIA

Les techniques EIA ou ELISA sont des techniques de détection immunochimique de la liaison entre Ag et Ac circulants grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à un Ac antihumain et lecture au spectrophotomètre. Elles sont dites directes lorsque le sérum est fixé sur la microplaque ou indirectes (ou sandwich) selon le nombre d'étapes de réalisation et permettent la recherche d'Ac de façon quantitative. Certaines sont automatisées avec des résultats fournis en 2 heures. Il existe plusieurs kits commerciaux sur le marché français pour la détection des Ig anti-*Aspergillus* de plusieurs isotypes.

Cette technique est inscrite à la NABM comme test de détection des Ac anti-*Aspergillus*.

Il existe également une méthode automatisée avec révélation par fluorescence (FEIA) utilisée pour doser les IgG anti-*Aspergillus* (8).

### Hémagglutination (HAI)

Dans cette technique, des hématies sont recouvertes d'Ag aspergillaires. En présence d'un sérum contenant des Ac spécifiques, des rosettes d'agglutination se forment. Différentes dilutions du sérum à tester sont introduites dans les cupules en U d'une microplaque, selon un plan opératoire : la réaction est positive lorsque les rosettes forment un voile au fond de la cupule, alors que la sédimentation des seules hématies au fond forme un point rouge, (réaction négative) ; le résultat est visible à l'œil nu et rendu en semi-quantitatif (taux de dilution du sérum). C'est une technique rapide (2 h), sensible mais dépendante du manipulateur-lecteur (réalisation adéquate des témoins et des dilutions) (7). Cette technique fait l'objet de DMDIV commercialisés en France.

Cette technique est proposée à la NABM pour la détection des Ig anti-*Aspergillus*.



### Immunofluorescence (IF) indirecte

Un Ag du champignon est mis au contact du sérum à tester puis la réaction Ag-Ac est révélée par l'ajout d'un anticorps anti-Ig couplé à un fluochrome<sup>20</sup>. La lecture visuelle est réalisée au microscope à fluorescence et le résultat est semi-quantitatif.

Cette technique est proposée à la NABM pour la détection des Ig anti-*Aspergillus*.

### Immunoempreinte (IE) (ou Western Blot)

L'immunoempreinte (IE) aussi appelé *Western Blot*, immunoblot ou immunotransfert est une technique employée pour identifier dans un milieu complexe des protéines, en associant deux principes : migration de protéines sur gel d'électrophorèse (le plus souvent de polyacrylamide) selon le poids moléculaire puis détection par révélation immunochimique.

Plusieurs antigènes aspergillaires séparés par électrophorèse sont fixés par électro-transfert sur une membrane de nitrocellulose, ensuite découpée en bandelettes et mise en contact avec le sérum à tester. Si celui-ci contient des Ac, ces derniers, selon leurs épitopes, forment des IC précipitants avec les Ag des bandelettes et la réaction est révélée par l'ajout d'Ac anti-Ig G humaines, conjugués à un réactif coloré (phosphatase alcaline) sous forme de bandes transversales colorées plus ou moins intensément. La lecture visuelle identifie le profil et le nombre de bandes sur les échantillons au regard du profil-type et des bandes des sérums témoins (technique qualitative). C'est une technique contraignante, de réalisation lourde si elle n'est pas semi-automatisée. Un kit de bandelettes prédécoupées avec Ag d'*A. fumigatus* a été récemment mis sur le marché (7, 43).

Dans l'aspergillose, cette méthode est inscrite à la NABM comme test de confirmation pour la détection des Ig spécifiques.

### ► État des lieux d'utilisation des méthodes de détection d'Ac anti-*Aspergillus* en France

Une enquête a été publiée récemment : réalisée en 2015 par la Société française de mycologie médicale (SPFMM) (43), dans le but de recenser en France les méthodes utilisées pour la recherche des Ac IgG spécifiques d'*Aspergillus*, dont les précipitines, aux fins de diagnostic de l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique et des formes chroniques.

La première étape de l'enquête a porté sur vingt centres universitaires en soin tertiaire interrogés sur leur pratique : l'ELISA (81 %) pour la détection initiale et l'IELP (70 %) (par technique maison) pour la confirmation, étaient les techniques dominantes et constituaient une activité numériquement importante (40 000 tests/an) dans ces centres. Sur la base des réponses obtenues, un questionnaire de 37 questions a été élaboré et adressé en ligne à 40 biologistes identifiés comme experts du domaine, avec un taux de réponses de 90 % (36/40). L'examen des résultats a été effectué en aveugle. Le sondage proposait pour chaque question une gradation de 1 à 9 de l'opinion individuelle et une opinion était considérée comme confirmée par l'ensemble des sondés avec un score de 7 (médiane) et un coefficient de variation (cv = déviation standard/moyenne) < 25 %.

Bien que les auteurs aient constaté que la méthode d'évaluation utilisée n'était pas très discriminante avec présence d'une grande hétérogénéité dans les réponses (l'objectif de cv < 25 % n'a pas été atteint pour la plupart des résultats présentés), les informations suivantes ont pu être retenues :

- Diagnostic initial

La stratégie de diagnostic en deux étapes établie dans la NABM est avalisée par la majorité des experts interrogés (M = 7 cv = 44 %). Pour la détection initiale, l'ELISA est la technique dominante (M = 7 cv = 27,7 %) en pratique de laboratoire. À l'inverse, la technique d'hémagglutination (HAI) n'est jugée opportune ni en dépistage (M = 3, cv = 58,5 %) ni en confirmation (M = 1 cv = 78 %).

<sup>20</sup> [http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p270/TD1\\_InteractionAgAc\\_2012.pdf](http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p270/TD1_InteractionAgAc_2012.pdf).

Tous les experts ne réalisent pas les deux étapes prévues à la NABM mais certains utilisent plutôt deux tests de recherche initiale (M = 7 cv = 50 %). Les biologistes médicaux indiquent cependant trois situations pour lesquelles ils pratiquent les deux étapes, pour confirmation :

- ▶ en cas de positivité de la recherche initiale d'Ac (M = 9 cv = 14,3 %) ;
- ▶ lorsque le résultat initial négatif est en divergence avec la clinique (mucoviscidose) (M = 8 cv = 31,4 %) ;
- ▶ lors du suivi d'un patient précédemment positif (M = 8 cv = 33,1 %).

Comme tests de confirmation, l'IEP (M = 8 cv = 15 %) et le Western Blot/immunoempreinte (IE) (M = 8 cv = 28,5 %) sont considérés comme les techniques les plus fiables. En cas de discordance entre tests de dépistage et de confirmation, la pratique est de demander un second prélèvement dans les 15 jours ou d'interpréter les résultats obtenus dans le contexte clinique en privilégiant les données du test de confirmation.

- Suivi des patients : le dosage des Ac dans la surveillance sous traitement est préconisé majoritairement par technique d'IEP (M = 7 cv = 31,8 %).

Lors de cette enquête, un débat a émergé sur la standardisation des techniques de précipitation : la présence de trois arcs au minimum était la référence jusqu'alors pour la positivité, mais la fiabilité et la reproductibilité de cette approche ont été contestées, comme l'indiquent les résultats : M = 5 et cv = 48,7 % pour la fiabilité, M = 5,5 et cv = 31,6 % pour la reproductibilité. À l'opposé, la prise en compte de l'activité enzymatique (catalase et chymotrypsine) était considérée comme pertinente (M = 7 cv = 38,4 %). Un nouveau kit utilisant la technique d'IE était apprécié par les professionnels, mais non considéré comme technique de référence à ce stade de son utilisation (en attente de validation dans les conditions des laboratoires).

Les auteurs de cette enquête de la SFMM concluent qu'une harmonisation des pratiques associée à une standardisation des méthodes de détection des Ac anti-*Aspergillus* est indispensable pour améliorer le diagnostic des aspergilloses avec réponse humorale de l'hôte.

### ▶ Limites des techniques de recherche d'Ac

Il existe de fait un débat autour des performances des techniques de recherche d'Ac tant en France (cf. ci-dessus) qu'à l'international qui porte notamment :

- sur la standardisation des Ag utilisés pour la fabrication des tests de détection des Ac ;
- sur les isotypes (ou classes) d'Ac à rechercher, car les diverses formes pathologiques induiraient des réponses humorales d'isotypes différents (8).

La production d'Ag pour les tests sérologiques se faisait traditionnellement par extraction à partir de culture, ce qui pose le problème de grande variabilité de ces mélanges antigéniques entre souches puis entre lots (7). De plus, le nombre élevé d'Ag pour une même espèce, avec des variations selon les conditions de cultures, pose beaucoup de questionnement sur la validité des techniques « maison ». Il existe des produits commerciaux de divers éléments aspergillaires (le plus souvent des Ag d'*A. fumigatus*) qui peuvent être des Ag pour détecter les précipitines (7), des fractions lyophilisées, des sérums humains de contrôles des dosages des kits IgG, des panels d'échantillons pour les contrôles de tests. Pour contrer les problèmes liés à l'hétérogénéité des mélanges extraits de cultures ou de broyats, des Ag recombinants ont été commercialisés (42), mais il peut y avoir des faux négatifs chez des patients n'ayant pas synthétisé d'Ac pour l'Ag présent dans le test diagnostique (7).

Des auteurs dénoncent le manque d'études de la part des fabricants sur les variations inter-laboratoires pour leurs produits commercialisés, estimant que la reproductibilité des résultats et les performances diagnostiques (sensibilité et spécificité) des kits sont mal évaluées. Pour ces auteurs (7), la qualité de la recherche des pathologies aspergillaires chroniques ou semi invasives en est affectée. Ils pointent entre autres constatations que l'individu bien portant produit des anticorps contre *Aspergillus* au contact des spores avec un taux croissant au cours de la vie. De ce fait, la recherche des Ac est assez systématiquement positive dans les méthodes sensibles comme

l'ELISA : il convient donc de bien déterminer le seuil d'une positivité pathogène au regard de cette réponse physiologique. Un autre point délicat est que les seuils des kits sont définis avec des sujets sains : la colonisation chez des personnes asymptomatiques peut être interprétée comme un faux positif, alors qu'elle pourrait constituer un stade préclinique de pathologie aspergillaire à surveiller. Dans une optique similaire, des auteurs prônent qu'une mesure des IgG sériques spécifiques anti-*Aspergillus* soit faite avant un traitement neutropéniant d'hémopathies malignes afin de guider ensuite la prise en charge des patients lors de la période neutropénique (7, 8).

## 1.5 Paramètres biologiques non spécifiques

L'hyperéosinophilie est un marqueur non spécifique des formes immuno-allergiques d'aspergillose, en association à des titres élevés d'IgE totales.

Des biomarqueurs autres que les immunoglobulines font l'objet de recherche pour faciliter le diagnostic des formes immuno-allergiques notamment l'ABPA dans la mucoviscidose, comme les chemokines [*thymus- and activation-regulated chemokine (TARC)* et *macrophage-derived chemokine (MDC)*] (10).

## 1.6 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie

Les volumes des actes inscrits à la NABM concernant la recherche des aspergilloses et remboursés sur les deux dernières années disponibles sur le site internet de la CNAMTS<sup>21</sup> (2014-2015) sont présentés dans le Tableau 1. Toutefois, les actes des rubriques « mycologie » et « allergie » ne sont pas spécifiques de la recherche d'*Aspergillus* et les nombres présentés à ce niveau ne donnent pas une information précise sur les actes strictement attribuables à cette recherche.

**Tableau 1. Actes de diagnostic d'une aspergillose remboursés par les caisses d'assurance maladie.**

Type d'examen diagnostique d'aspergillose à la NABM	Code des examens inscrits	Nombre de cotations en 2014	Nombre de cotations en 2015
<b>SC 6-04 Mycologie</b>			
Isolement et/ou identification d'une levure autre que <i>Candida albicans</i> ou d'une espèce filamenteuse (dans le cadre de l'examen mycologique associé à un examen bactériologique). Cette cotation s'applique également pour l'identification d'une souche de champignon autre que <i>Candida albicans</i> reçue d'un autre laboratoire. Non cumulable avec celle de l'examen 0280.	0252	66 923	62 208
Examen mycologique d'un produit pathologique, non associé à un examen bactériologique. (En cas d'hémoculture, les cotations 5219 ou 5221 s'appliquent) Recherche des agents de mycoses habituellement rencontrés en pathologie courante, levures et champignons filamenteux... Cet examen comprend : <ul style="list-style-type: none"> <li>• un examen microscopique d'orientation, après préparation et colorations adaptées ;</li> <li>• culture d'isolement sur milieux spéciaux ;</li> <li>• identification éventuelle : <ul style="list-style-type: none"> <li>▸ de <i>Candida albicans</i>,</li> <li>▸ du genre des autres champignons tels qu'<i>Aspergillus</i>, etc.</li> </ul> </li> </ul>	0253	238 412	243 552

<sup>21</sup> Site Ameli Actes de biologie médicale. Juin 2016. <http://www.ameli.fr/l-assurance-maladie/statistiques-et-publications/donnees-statistiques/actes-de-biologie-medicale/biolam-2013-2015.php>

Type d'examen diagnostique d'aspergillose à la NABM	Code des examens inscrits	Nombre de cotations en 2014	Nombre de cotations en 2015
Si l'examen de ces champignons (0253) autres que <i>Candida albicans</i> est poussé jusqu'à l'identification de l'espèce (exemples : <i>Aspergillus nidulans</i> , etc.) dans ce cas, cette cotation s'ajoute à la cotation 0253.	0280	43 848	45 268
<b>C 7 Immunologie</b> <b>SC 7-02 Allergie</b>			
Dosage des IgE totales sériques exclusivement, à l'exception des techniques utilisant des supports bandelettes (dipsticks) ou pipettes. Il ne s'agit pas d'un test de dépistage de l'allergie. Les indications médicales du dosage des IgE totales sont limitées à la confirmation d'un diagnostic ou d'un suivi thérapeutique de : <ul style="list-style-type: none"> <li>aspergillose broncho-pulmonaire ; etc.</li> </ul>	1200	216 0132	203 225
IgE spécifiques : identification avec dosage quantitatif des IgE spécifiques vis-à-vis d'allergènes nommément prescrits à l'exception des techniques utilisant des supports bandelettes ou pipettes.	1203	131 913	124 385
<b>C 7 Immunologie</b> <b>SC 7-05 Sérologie parasitaire (et fongique)</b>			
La cotation comprend la recherche et le titrage éventuel des différents isotypes spécifiques (IgG, IgA, IgE, IgM) : <ul style="list-style-type: none"> <li>aspergillose : dépistage au moyen d'un ou plusieurs antigènes quelle que soit la technique parmi les suivantes : ELS - HAGG - EIA - IDD. Cotations limitées à deux antigènes.</li> </ul>	4307	28 007	30 563
Test de confirmation en utilisant une des techniques suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>COES : coélectrosynérèse avec sérum de référence positif ;</li> <li>IELP : immunoélectrophorèse ;</li> <li>IE : immunoempreinte (Western Blot).</li> </ul>	4308 4309 4310	5 12 642 7	8 11 765 15
Recherche d'antigènes solubles par AGG (latex).	4311	2 121	2 397
Suivi avec examen itératif du sérum ayant servi au sérodiagnostic de dépistage par une des techniques mises en œuvre pour le dépistage.	6307	1 831	816 (-55 %)

De plus, un acte portant sur les infections fongiques invasives (IFI) est inscrit au « Référentiel des actes innovants hors nomenclature » (RIHN), ce qui permet sa prise en charge en établissement de santé. Le code et le libellé de ce test y figure dans la section 07-06 - Sérologie parasitaire ou fongique comme suit :

G215 : Infections Fongiques Invasives (IFI) : recherche de bêta-glucanes circulants (BHN 100).

À titre d'information, le nombre d'actes G215 remboursés en 2015 s'élève à 11 977.

## 1.7 Contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Des opérations du contrôle national de qualité (CNQ) des analyses de biologie médicale organisé par l'ANSM auprès des laboratoires d'analyse médicale (LBM) portent régulièrement sur l'identification d'un *Aspergillus* (3) par technique mycologique directe. Aucune opération de CNQ relative au dosage des Ag ou des Ac spécifiques d'*Aspergillus* n'a été retrouvée sur le site de l'ANSM à la date de ce rapport.



## 2. Méthode d'évaluation

### 2.1 Champ et méthode d'évaluation

Conformément à la feuille de route adoptée par le collège de la HAS en janvier 2017 (1), le champ de cette évaluation porte sur les actes de diagnostic biologique des aspergilloses pour lesquels des propositions d'inscription ou de modification d'inscription à la NABM ont été formulées.

Plus exactement, les objectifs recherchés sont de préciser :

- pour la détection des Ag solubles spécifiques :
  - la ou les indications de ce test, au regard de la demande de modification du libellé de la NABM ;
  - la nature des Ag à rechercher, les prélèvements et les milieux biologiques pour leur recherche ;
  - les techniques utilisables pour chaque Ag identifié ;
  - la nécessité éventuelle de confirmer un test positif et, le cas échéant, les modalités de réalisation de ce test de confirmation ;
- pour la recherche et le titrage des Ac sériques spécifiques :
  - la ou les indications de ce test ;
  - les isotypes recherchés dans ces diverses indications ;
  - les techniques de recherche et de titrage des Ac ;
  - la nécessité éventuelle de confirmer un test positif et le cas échéant, les modalités et les techniques utilisables pour ce test de confirmation ;
  - les modalités d'un suivi thérapeutique par les Ac sériques spécifiques et les techniques de titrage des Ac utilisables pour ce suivi.

Il est à noter que comme indiqué dans la feuille de route, la demande ne comporte pas l'introduction d'un libellé d'amplification génique (de type PCR), et la littérature identifiée à ce stade, en particulier les RBP, ne positionnait pas l'amplification génique dans les examens à réaliser en routine pour la prise en charge : ce point a été considéré hors champ de l'évaluation.

La procédure d'évaluation consiste à :

- réaliser une recherche documentaire systématique suivie d'une analyse critique des données de la littérature synthétique (recommandations de bonne pratique, rapports d'évaluation technologique, méta-analyses, revues systématiques et générales), faisant état des méthodes de diagnostic biologique des infections à *Aspergillus* (dosage des anticorps et des antigènes spécifiques) ;
- recueillir la position argumentée des organismes de professionnels de santé concernés par cette maladie fongique opportuniste grâce à un questionnaire envoyé aux Conseil nationaux professionnels (ou à défaut sociétés savantes) et une audition du CNRMA, interrogés en tant que parties prenantes au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013<sup>22</sup> sur les examens diagnostiques à réaliser, notamment sur les aspects qui ne seraient pas précisés dans la littérature synthétique analysée ;
- effectuer une **approche de type analyse de cohérence**, pour chacun des examens de biologie médicale pour lequel une demande d'inscription ou de modification de libellé est faite, entre d'une part, les propositions de la CNAMTS et d'autre part, les données ainsi recueillies ;
- en compilant ces éléments dans un argumentaire, soumis directement au Collège pour validation.

<sup>22</sup> Le quatrième alinéa de ce décret dispose que : « La décision peut s'appuyer, si l'objet de l'expertise le justifie, sur la prise en compte des points de vue des « parties prenantes » (ou « parties intéressées »), c'est-à-dire des personnes ou groupes concernés ou susceptibles de l'être, directement ou indirectement, par les conséquences de cette décision, notamment des milieux associatifs et des acteurs économiques ou professionnels, ou qui représentent l'intérêt général de groupes concernés par ces conséquences ».

## 2.2 Recherche documentaire, sélection et analyse

### 2.2.1 Stratégie d'interrogation des bases et résultats

Conformément à la méthode d'évaluation retenue, seule la littérature synthétique a été recherchée : recommandations de bonne pratique (RBP), rapports d'évaluation technologique (ou *Health Technology Assessment*, HTA), méta-analyses et revues générales et systématiques. La recherche documentaire a été conduite de la manière suivante (Tableau 2) :

**Tableau 2. Stratégie d'interrogation documentaire dans les bases et résultats.**

<b>Bases de données interrogées</b>	<i>Medline</i> , <i>Embase</i>
<b>Recherches complémentaires</b>	Sites internet d'agences d'évaluation de technologies de santé, de structures gouvernementales ou internationales et de sociétés savantes compétentes dans le domaine étudié (françaises et étrangères) Références bibliographiques des publications lues <i>in extenso</i>
<b>Période de recherche</b>	Recherche initiale sur la période de janvier 2006 à février 2017 puis veille réalisée jusqu'à la validation du document par le Collège de la HAS
<b>Langues</b>	Français ou anglais

Les équations de recherche, les mots clés utilisés et la liste des sites internet consultés figurent en Annexe 1 (Tableau 7).

La recherche bibliographique présentée ci-dessus, a permis d'identifier 608 documents (592 provenant des bases de données et 16 des recherches complémentaires).

### 2.2.2 Sélection et méthode d'analyse de la littérature

#### ► Critères et résultats de la sélection

Une analyse des titres et résumés a permis la réalisation d'une première sélection qui a consisté à exclure les documents sur les critères suivants :

- publications sans lien avec le sujet ;
- doublons, version(s) antérieure(s) devenue(s) obsolète(s) de recommandations lorsqu'il existait une version plus récente ;
- publications relatant les résultats d'une étude originale ne faisant pas partie de la littérature synthétique ;
- publications non disponibles en français ou anglais ;
- publications portant ou utilisant des comparaisons avec des techniques diagnostiques qui ne sont pas l'objet de l'évaluation, notamment les techniques d'amplification génique pour *Aspergillus*.

Ont ainsi été écartés 552 documents.

Une deuxième sélection a été faite sur lecture *in extenso* des 56 publications restantes, qui ont fait l'objet d'une critique méthodologique. La qualité méthodologique a été analysée en s'appuyant sur les items du « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations » en ligne sur le site de la HAS<sup>23</sup>, avec pour les recommandations de bonne pratique (RBP) la grille globale GRS (limitée à 4 items) pour les évaluations rapides développée par le consortium international AGREE<sup>24</sup> (« grille AGREE II – GRS ») (44) traduite librement en français. La grille AGREE II-GRS et ses items (45) sont présentés en Annexe 2.

<sup>23</sup> <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/analiterat.pdf>

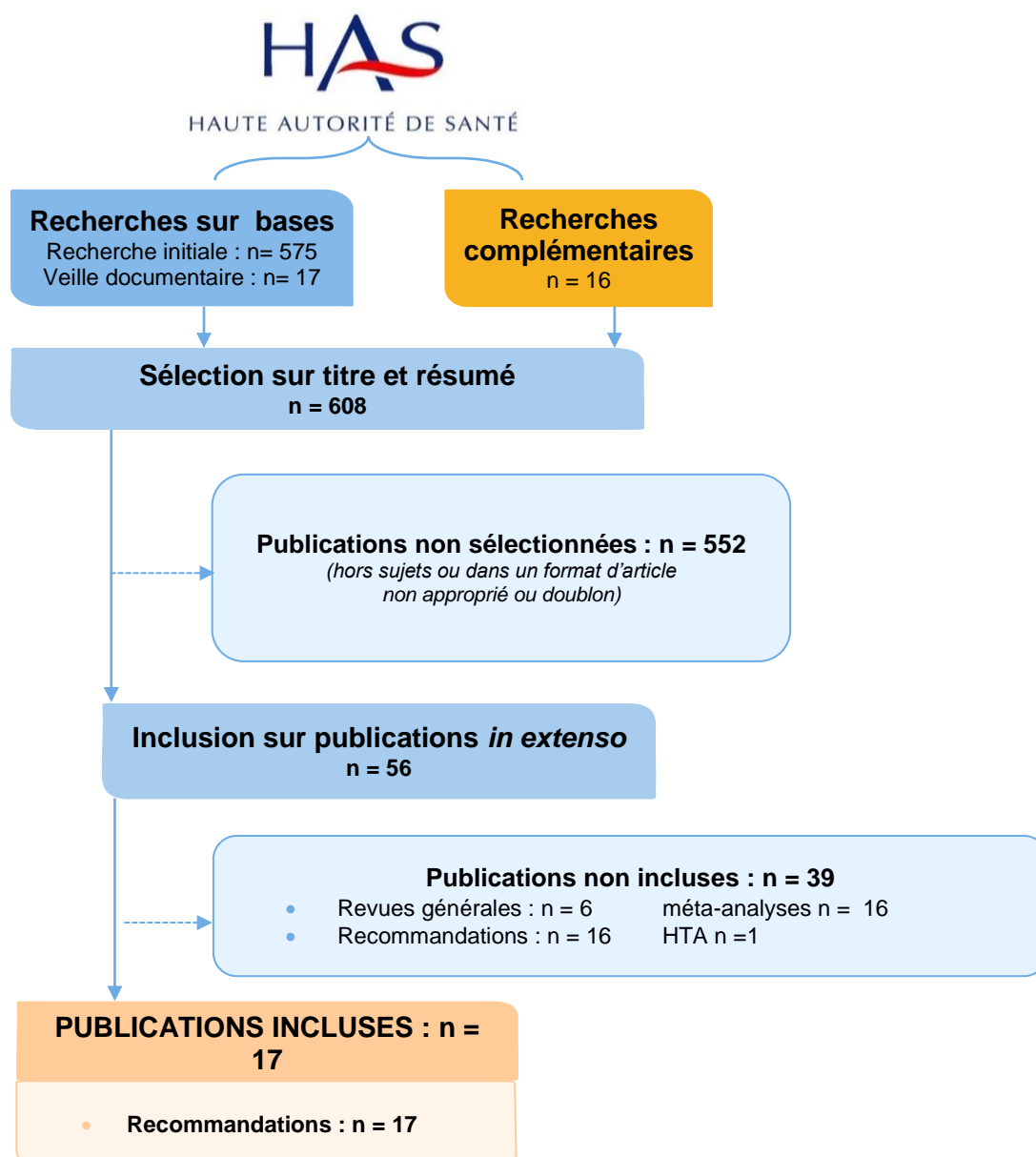
<sup>24</sup> <http://www.agreertrust.org/wp-content/uploads/2013/12/AGREE-II-GRS-Instument.pdf>

Cette analyse n'a pas retenu 39 documents (RBP, méta-analyses, HTA, revues générales) pour les raisons suivantes :

- objectif se situant hors des sujets de l'évaluation (46, 47) ;
- diagnostic d'aspergillose ne faisant *in fine* pas partie de la publication ou RBP non gradée pour les aspects relatifs au diagnostic fongique. (48-52) ;
- document sans qualité méthodologique minimale : sans information sur les modalités d'élaboration et/ou sur les critères de jugement, sans garantie sur l'exhaustivité de la recherche bibliographique et pour les RBP, sans système de gradation de la force de la recommandation/niveau de preuve ;
- adoption, sans modification, de recommandations déjà existantes d'autres sociétés savantes et sélectionnées par ailleurs [cas de [la RBP de l'*American Society of Clinical Oncology* (ASCO) de 2013 (53) reprenant la recommandation d'un panel d'experts (54)] ;
- document étiqueté comme un rapport HTA, mais se relevant être un avis d'inscription pour la mise à jour du répertoire (québécois) des actes pris en charge financièrement par un système d'assurance santé (55) ;
- méta-analyses traitant des performances diagnostiques des dosages des antigènes fongiques GM et/ou BG dans le sérum ou le LBA, de bonne qualité méthodologique d'élaboration mais présentant des limites pour l'interprétation de leurs résultats. Les seize méta-analyses conservées à l'issue de la première étape de sélection ont été ainsi exclues. Les auteurs pointaient les difficultés dans l'analyse du fait du faible niveau de preuve des études sélectionnées, des multiples comparateurs de référence utilisés dans ces études (qui sont divers à cause de la difficulté des investigations diagnostiques, avec un biais d'incorporation suspecté dans plusieurs cas). Ils rapportent systématiquement une grande hétérogénéité dans les résultats de ces méta-analyses avec des coefficients d'hétérogénéité  $I^2$  supérieurs à 70 %, attribués, lorsqu'une analyse de sensibilité a été effectuée, aux choix de populations non homogènes, aux seuils de positivité variables pour les mêmes tests entre les études, etc. Il est à noter que les données de ces méta-analyses font partie du corpus de l'argumentaire de nombreuses RBP parmi celles sélectionnées. À titre d'exemples, les RBP de l'ECIL-3 (32) et d'un panel international d'experts (56) se sont basées sur la méta-analyse réalisée par des membres de l'organisation (57, 58). Ces RBP ont pris en compte l'hétérogénéité mesurée par ces méta-analyses dans la gradation du niveau de preuve de leurs préconisations, rarement classées de haut niveau. Finalement, l'analyse critique détaillée des méta-analyses est apparue non pertinente dans le contexte d'une évaluation courte de recherche de cohérence des données d'actes de biologie médicale avec une demande de la CNAMTS.

Cette seconde sélection a abouti *in fine* à retenir 17 documents, tous des RBP. L'ensemble du processus de sélection est résumé dans le schéma (Figure 3) ci-dessous.

Figure 3. Diagramme de sélection des références bibliographiques analysées.



## 2.3 Consultation des organismes professionnels

### 2.3.1 Constitution

S'agissant de l'aspergillose, le point de vue de professionnels recherché a été celui du Centre national de référence mycoses invasives et antifongiques (CNRMA) et des organismes professionnels (OP) des spécialités confrontés aux pathologies fongiques. Il s'agit de groupes ou personnes concernés en pratique, ou susceptibles de l'être, par les conséquences de ce rapport, c'est-à-dire par la réalisation ou la prescription des actes évalués.

Cette sollicitation, menée conformément à la procédure de consultation des parties prenantes (PP) mise en place par la HAS<sup>25</sup>, a été faite auprès de la responsable du CNRMA et des organismes

<sup>25</sup> Procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014. [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-09/c\\_2014\\_0115\\_adoption\\_procedure\\_parties\\_prenantes.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-09/c_2014_0115_adoption_procedure_parties_prenantes.pdf)

professionnels présentés dans le Tableau 3. Ils devaient au titre de PP représenter et exprimer l'intérêt général de leurs membres.

**Tableau 3. Organismes professionnels contactés pour les consultations de parties prenantes.**

Disciplines	Organismes
Allergologie	Conseil national professionnel d'allergologie et immunologie (CNPAI)
Biologie médicale (parasitologie-mycologie)	Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNPBAIHH)
Hématologie/greffe de CSH	Conseil national professionnel d'hématologie (CNPH)
Pneumologie	Conseil national professionnel - Fédération française de pneumologie (CNPP)
Transplantation d'organes	Société francophone de transplantation (SFT)
	Centre national de référence des mycoses invasives et antifongiques (CNRMA)

### 2.3.2 Modalités de consultation des parties prenantes

En pratique, la présidence de chacun des organismes concernés a été directement sollicitée afin que le groupe professionnel exprime son point de vue argumenté. À cette fin, ont été rédigés et adressés un questionnaire ouvert standardisé, ainsi qu'un exemplaire de travail d'argumentaire (provisoire) contenant une présentation du contexte et l'analyse bibliographique, réalisés conformément à la méthode décrite au chapitre 2.2. Suite à cet envoi le 3 mars 2017, la HAS a reçu les réponses des cinq OP interrogées, entre le 24 mars et le 3 avril 2017. La Société francophone de transplantation n'a finalement pas répondu aux questions détaillées de la HAS, les quatre autres OP ont fourni des réponses argumentées à ce questionnaire. Le même questionnaire étant envoyé à tous les OP, ces derniers ont apporté des réponses uniquement aux questions les concernant.

Le CNRMA a également été interrogé et ses responsables ont été destinataires de ces documents, avant audition orale de deux d'entre eux dans les locaux de la HAS le 5 avril 2017. L'audition a fait l'objet d'un compte rendu rédigé par le Service évaluation des actes professionnels de la HAS, validé ensuite par les deux participants. Le compte rendu *in extenso* de l'audition du CNRMA et les réponses écrites au questionnaire des autres OP sont disponibles en Annexe 6 à Annexe 10 de l'argumentaire. Une synthèse des éléments de réponse apportés par les OP, réalisée par la HAS, est intégrée au chapitre suivant de l'argumentaire (cf. chapitre 3.2).

## 3. Résultats de l'évaluation

### 3.1 Analyse de la littérature

Suite à la recherche bibliographique et après la sélection opérée selon les critères exposés ci-dessus, (chapitre 2.2.2), les dix-sept RBP sélectionnées ont été analysées. L'analyse de la qualité méthodologique de ces dix-sept RBP, détaillée selon la grille AGREE II GRS, est présentée en Annexe 4.

#### 3.1.1 Présentation des publications sélectionnées

Parmi les dix-sept RBP retenues :

- treize traitent des tests de détection des Ag aspergillaires solubles et sont énumérées dans le Tableau 4 pour la recherche du GM et dans le Tableau 5 pour la recherche du BG ;
- sept portent sur les tests de recherche des anticorps sériques anti-*Aspergillus* (et le dosage des IgE totales) et sont listées dans le Tableau 6 ;
- sachant que trois parmi elles traitent des deux modalités de diagnostic (15, 59, 60).

#### 3.1.2 Qualité méthodologique de la littérature retenue

En règle générale, la qualité des dix-sept RBP, évaluée avec la grille AGREE II - GRS, est assez satisfaisante, liée notamment à une présentation des modalités d'élaboration dans la majorité de ces publications comme suit :

- les modalités d'élaboration des préconisations, sont présentées de façon détaillée, fondées sur avis de groupe de travail d'experts argumenté par des résultats d'études cliniques et de méta-analyses. Néanmoins pour les RBP issues d'un processus de consensus, la quantification du consensus est rarement chiffrée, en dehors des votes à la majorité (19) ou lorsque le consensus est défini comme supérieur à 85 % des opinions (61) ;
- les méthodes de recherche bibliographique garantissant l'exhaustivité des données collectées lors de l'élaboration de la RBP sont abordées et les auteurs relatent se baser sur une revue systématique de la littérature de preuve pour actualisation les données, mais tous ne précisent pas les bases de données interrogées (62) et/ou la période de recherche (63) ;
- un système de gradations de niveau de preuve et/ou de force de recommandation est exposé dans ces RBP, sauf dans trois d'entre elles (9, 19, 64). À noter que pour une, il s'agit d'un guide résultant d'une évaluation par consensus d'instances expertes, focalisée sur la fixation des fréquences de réalisation d'actes biologiques dans un objectif réglementaire national (64). Les deux autres publications ont comme objectif principal d'établir par consensus des classifications pathologiques (9, 19). Il est également à noter que les trois recommandations (65-67) publiées par la « *German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO)* indiquent que pour les points relatifs au diagnostic « le grade du niveau de preuve n'a pas été établi en l'absence de données issues d'essais cliniques prospectifs randomisés ».

#### 3.1.3 Principes généraux issus de l'analyse des recommandations sur le diagnostic biologique de l'aspergillose

La littérature synthétique apparaît consensuelle sur les grands principes suivants :

- les techniques microscopiques de mise en évidence et d'identification des champignons du genre *Aspergillus* sur prélèvement d'un site stérile par examen histopathologique ou mycologique et coloration, direct et/ou par culture sur milieu approprié sont **les techniques de référence de diagnostic biologique d'aspergillose et permettent le diagnostic de certitude d'aspergillose**. La réserve énoncée est que soit les prélèvements ne peuvent être stériles par nature (expectorations, crachats, sécrétions sinusales), soit ils sont discutables car invasifs et possiblement délétères, notamment les biopsies contre-indiquées chez le patient neutropé-



nique/thrombopénique. Les prélèvements profonds protégés obtenus à partir du liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) couplé à la bronchoscopie nécessitent un protocole standardisé minutieux pour être fructueux tout en étant exempts de contamination (60). Les résultats obtenus sont dépendants des contaminations pré-analytiques, ainsi que de l'expérience du biologiste pour un diagnostic discriminant entre genres, voire espèces fongiques ;

- dans ce contexte de diagnostic mycologique direct difficile à établir, les techniques immunologiques de recherche d'Ag solubles et d'Ac sériques font partie de l'arsenal diagnostique des diverses formes pathologiques dues à un *Aspergillus* ;
- à noter que l'hémoculture a été considérée comme inappropriée en 2008 par l'EORTC-MSG dans l'aspergilliose invasive, trop soumise à un fort risque de contaminations (19).

La présentation de ce chapitre est structurée selon les éléments de la demande de la CNAMTS afin de répondre sur les indications respectives et les techniques à utiliser pour :

- la recherche d'Ag aspergillaires solubles ;
- la recherche d'Ac anti-aspergillaires sériques.

### 3.1.4 Recherche d'Ag aspergillaires solubles

Treize des dix-sept RBP sélectionnées traitent de la recherche d'une aspergilliose par des techniques de détection d'Ag aspergillaire(s). Les informations d'intérêt pour cette évaluation, collectées pour les méthodes de recherche d'Ag sont les suivantes :

- deux Ag libérés sous forme libre dans le sang et les liquides biologiques sont reconnus pour la recherche d'*Aspergillus* : le galactomannane (GM) et le  $\beta$ -(1-3)-D-glucane (BG) qui est un Ag pan-fongique ;
- les techniques utilisées comme test de détection d'Ag aspergillaires, dans les sept publications qui le précisent (19, 32, 60, 63-65, 68), sont :
  - un test immunoenzymatique pour la recherche du GM<sup>26</sup>, alors que le test au latex, dit AGG, (inscrit à la NABM et dont le demandeur propose la suppression) n'est jamais cité,
  - des tests utilisant une modification du mécanisme de coagulation de l'amœbocyte du limule pour la recherche du BG ;
- les liquides biologiques dans lesquels ces deux Ag fongiques sont recherchés sont le sang (sérum ou plasma), le LBA et le liquide cébrospinal (LCS) ;
- sur ces 13 RBP, deux précisent que la population considérée est adulte, trois qu'elle est pédiatrique, une RBP englobe l'adulte et l'enfant, enfin sept ne fournissent pas de précision (mais considèrent la population adulte au vu des références bibliographiques indexées) ;
- les recommandations spécifient les situations pathologiques / éléments sémiologiques de recours à la recherche d'Ag aspergillaires. Sur ces treize RBP, il s'agit :
  - de suspicion d'aspergilliose invasive (AI) lors de pneumopathie fébrile sévère en oncohématologie pour onze d'entre elles,
  - d'infections du système nerveux central lors de désordres hématologiques intégrant l'étiologie d'atteinte angio-invasive pour une d'entre elles (67),
  - de pathologies pulmonaires chroniques pour une d'entre elles (15).

<sup>26</sup> Pour mémoire, la recherche d'Ag aspergillaire par technique immunoenzymatique était inscrite dans le RIHN jusqu'en 2015 « Aspergilliose : recherche Ag, diagnostic par une technique EIA » et « Aspergilliose : recherche Ag, diagnostic par une technique EIA + suivi itératif » mais ces deux actes ont ensuite été supprimés de ce référentiel et n'ont pas été inscrits par ailleurs.

## ► Détection du GM

### Détection dans le sang

#### *Indications*

Dix des onze RBP (cf. Tableau 4) préconisent la mesure du GM dans le sang (sérum ou plasma) en cas de suspicion d'IFI, en proposant plusieurs modalités comme suit :

- en stratégie de dépistage d'une AI (neuf RBP) par des dosages itératifs ayant pour objectif de détecter une AI avant les signes cliniques pour instaurer précocement un traitement curatif, afin d'en diminuer le risque létal.  
Dans cette indication, le test est recommandé à la fréquence de deux dosages par semaine en surveillance dans une population définie à haut risque d'aspergillose invasive, adulte ou pédiatrique. Les facteurs déterminant ce haut niveau de risque - ce que l'EORTC-MSG (19) a dénommé dans sa classification des IFI, les « critères liés à l'hôte » - sont détaillés comme suit dans les RBP :
  - dans la population adulte, une neutropénie (PNN < 0,50 G/L) persistante pendant plus de 10 jours associée à une leucémie myéloblastique aiguë ou un syndrome myélodysplasique ou à une chimiothérapie intensive (60), notamment en situation de rechute (59) en particulier chez un patient ayant connu un épisode d'IFI (65), au décours d'une greffe allogénique de CSH (32, 59, 64), avec présence conjointe d'un infiltrat pulmonaire en imagerie (66, 68),
  - dans la population pédiatrique, une leucémie myéloblastique aiguë ou en rechute de leucémie, ou après une chimiothérapie intensive myélosuppressive pour traiter d'autres cancers (63), associées à une neutropénie (PNN < 0,50 G/L) persistante pendant plus de 10 jours, et/ou une neutropénie profonde (PNN < 0,10 G/L) selon la recommandation française de pédiatrie (69) ;
- en stratégie de diagnostic, lorsque les données issues de la clinique et de l'imagerie (tomodensitométrie) dans cette population d'oncohématologie ont été réunies (trois RBP), la recherche du GM est préconisée comme outil de diagnostic confirmatoire, lorsque les signes cliniques ou tomodensitométriques convergent fortement pour conclure à une AI (27, 68, 69) ;
- pour le suivi thérapeutique, bien que cette troisième indication soit relatée dans un nombre plus limité de RBP (4 RBP), mais qui la considèrent favorablement (32, 65), en particulier, précise la RBP américaine, chez un patient à taux initial de GM élevé (27). Une diminution de la DO sur les premiers jours de traitement serait pronostique de bonne réponse, alors qu'une persistance soutenue, voire une augmentation, indiqueraient un échec thérapeutique (64) nécessitant un changement de stratégie (32).

La force de recommandation d'une utilisation du test de détection dans le sang est forte pour la majorité de ces RBP mais les auteurs indiquent que le niveau de preuve des données cliniques est modéré ou faible :

- chez l'adulte, des RBP (32), s'appuient sur les valeurs obtenues dans des méta-analyses, montrant des variations dans les analyses de sous-groupes de patients immunodéprimés (70) selon le contexte clinique (59, 64) ou sur la base d'une méta-analyse de méthodologie Cochrane (71) donnant à partir de 50 études une sensibilité de 78 % [IC95 % : 70-85] et une spécificité de 85 % [IC95 % : 78-91] obtenues avec un seuil de positivité de 0,5 (DO) dans une population de prévalence médiane d'AI de 11 % (59). La valeur prédictive positive du test, pour un dépistage précoce, est selon ces auteurs fortement liée à la prévalence de l'AI dans la population dans laquelle se classe le patient, cette prévalence étant plus forte chez les patients en hématologie considérés à haut risque. Une prévalence minimale d'AI de 7 % est proposée dans cette dernière RBP pour considérer la pertinence clinique du test de dépistage ;
- chez l'enfant, sur la base de données de cinq essais cliniques, le groupe en pédiatrie de l'ECIL-4 (63) rapportait en 2014 des valeurs de sensibilité combinée de 76 % [IC95 % : 62-87] et de spécificité combinée de 86 % [IC95 % 68-95] dans une utilisation en stratégie de dépistage ;



- d'autres RBP soulignent la bonne valeur prédictive négative (> 90 %) chez les immunodéprimés d'oncohématologie (65) et les recommandations anglaises préconisent qu'un résultat négatif, même unique, soit utilisé pour exclure le diagnostic d'AI (59, 64) ;
- le risque de faux positifs est soulevé, il abaisse la sensibilité du test dans plusieurs contextes qui devraient être maîtrisés (32). Il est de surcroît plus élevé en pédiatrie (estimé entre 10 et 15 %) (56, 69).

Sur la base de ces éléments, plusieurs RBP écartent les situations suivantes de leur recommandation :

- la recherche du GM dans le sang n'est pas proposée pour le dépistage (screening) de routine :
  - chez les patients adultes neutropéniques en hématologie ou avec greffe de CSH, asymptomatiques pour une IFI, en l'absence de données de preuve d'utilité clinique (68),
  - chez les patients sous prophylaxie ou traitement empirique antifongiques, tant adultes (27, 59, 64, 65) qu'enfants (69). Selon ces publications, les antifongiques comme le posaconazole et le voriconazole bloqueraient la circulation du GM (32),
  - chez les patients affectés de granulomatose chronique ou transplantés d'organe (27), ainsi que chez les personnes vivant avec le VIH, en l'absence de données dans cette population, peu touchée par l'aspergillose depuis l'avènement de traitements antirétroviraux hautement actifs (27) [pour rappel, aucune recommandation récente retrouvée dans la recherche bibliographique n'a proposé l'aspergillose dans les affections opportunistes à contrôler pour les personnes vivant avec le VIH] ;
- la recherche du GM dans le sang n'est plus proposée dans la stratégie diagnostique chez l'enfant dans la RBP la plus récente, actualisée en mai 2017 (56), avec l'argumentaire suivant : en utilisation diagnostique, une méta-analyse datant de 2016 (58) a fourni une sensibilité combinée de 89 % [IC95 % : 79-95], une spécificité combinée de 85 % [IC95 % : 51-97], ainsi qu'une VPP de 41 % et une VPN de 97 % chez des enfants d'oncohématologie avec fièvre neutropénisante de plus de 96 heures, à haut risque d'IFI. Pour ces auteurs, le taux de faux positifs est trop élevé (14 %) et bien que la VPN soit bonne, elle ne présente pas d'utilité clinique pour décider de la mise en œuvre d'un traitement antifongique empirique car, le test du GM ne couvre pas toutes les IFI, en dehors de celles à *Aspergillus*.

### Techniques

- Les RBP apportent des précisions sur les modalités de définition d'une positivité du test Platelia™ *Aspergillus Ag* pour le dosage du GM :
  - parmi les onze RBP, trois soulignent que le seuil de positivité défini en DO doit être fixé à 0,5 dans le sérum (valeur actuellement fixée par le fabricant) (32, 59, 65). Le choix de seuils de positivité différents dans les études serait une des explications des performances variables du test publiées dans les études et/ou les méta-analyses (68) ;
  - pour quatre RBP, la positivité d'un test individuel est également soumise à l'obtention de deux résultats de DO  $\geq 0,5$ , soit par la réalisation de deux tests sur deux prélèvements consécutifs (32, 65), soit deux tests différents sur un prélèvement (18) ou indifféremment l'une ou l'autre des méthodes (64).
- La technique au latex (AGG) n'est pas retrouvée dans les RBP : elle a été jugée obsolète, trop peu sensible au regard du test ELISA et rejetée d'une méta-analyse ayant étayé les RBP (71).

### Détection dans le LBA

Dix des treize RBP sélectionnées - sept chez l'adulte, deux chez l'enfant et une chez les deux (cf. Tableau 4) - abordent l'utilisation du test du GM dans les sécrétions issues d'un LBA.

### Indications

Prenant les mêmes critères de contexte nosologique - c'est-à-dire les populations décrites comme à haut risque d'IFI - les RBP ne concluent pas avec la même force de recommandation sur son utilisation dans le LBA :

- en oncohématologie (neuf RBP), six RBP recommandent fortement ce dosage : quatre chez l'adulte (19, 32, 66, 68), une chez l'enfant (69) et une chez les deux (60) ; trois autres le préconisent modérément [(59, 65), dont une en pédiatrie (63). Cette RBP en pédiatrie (63) explique que le niveau de preuve est faible à cause de la paucité de données chez l'enfant et que le dosage ne peut être qu'un complément pour supporter le diagnostic d'AI réalisé par d'autres approches.

Dans ces situations, ce dosage est considéré comme utile au diagnostic d'AI car plus sensible que le test sérique (65), en particulier par les RBP les plus récentes (60, 68), y compris en dépistage en cas de prophylaxie ou de traitement antifongique (27) selon les performances diagnostiques d'une méta-analyse donnant une sensibilité globale de 86 % [IC95 % : 76-92] et une spécificité globale de 95 % [IC95 % : 91-97] à une DO de 1,0, résultats supérieurs à ceux obtenus à 0,5 de DO (72). Or, dans les sécrétions bronchiques issues du LBA, la sensibilité des cultures et de l'examen microscopique pour *Aspergillus* n'atteint que 50 % chez les patients d'hémo-oncologie à risque élevé (59, 68). De plus, à cause du caractère invasif des biopsies d'organes chez les patients en état critique, fébriles, thrombocytopéniques, avec infiltrat pulmonaire, les recherches directes du champignon sont aussi limitées (66). Par ailleurs, chez l'enfant, les LBA s'avèrent moins faciles à obtenir (69) et sont contre-indiqués notamment en cas de risque de saignement (60), d'hypoxémie chez des patients présentant déjà un infiltrat pulmonaire (66) ;

- ce test est proposé également dans une de ces RBP pour le diagnostic chez d'autres patients à haut risque d'IFI, tels les transplantés de poumon ou les patients en soins intensifs (59) ;
- par ailleurs, la recommandation européenne récente de l'ESCMID/ERS (2016) relative au diagnostic des aspergilloses pulmonaires chroniques propose de mesurer le GM dans le LBA pour les formes avec infiltrat pulmonaire et nodules ou cavités, car le test présente une bonne sensibilité (85,7 % dans une étude en fixant le seuil à une DO > 0,5) et contribuerait au diagnostic complexe des APC (force de la recommandation modérée et niveau de preuve modérée) (15). À l'inverse, elle préconise de ne pas réaliser le dosage du GM dans le sang dans cette pathologie touchant ces patients, immunocompétents. La recommandation américaine de l'IDSA a la même ligne de conduite en indiquant un manque de sensibilité du dosage sanguin dans les formes chroniques (aspergillome, APC, formes obstructives), alors que le dosage du GM associé à la PCR sur les sécrétions bronchiques, est envisagé dans les bronchites (recommandation faible, de faible niveau d'évidence) (60).

### Technique

Les conditions de réalisation du LBA puis du traitement des prélèvements doivent impérativement être standardisées et contrôlées, afin de limiter les contaminations (60, 66). Quatre recommandations indiquent que sur le LBA, l'index de positivité (DO) du test ELISA Platelia doit être adapté à ce prélèvement et fixé à 1,0 sur la base des données des études rapportées dans la littérature, essentiellement les méta-analyses (32, 59, 63, 66). Un seul prélèvement semble utilisé pour le diagnostic, étant donné l'aspect contraignant des prélèvements et ce test, à l'inverse de celui réalisé sur les prélèvements sanguins, n'est pas fait en dosages itératifs de surveillance. Globalement la préconisation est de l'utiliser si nécessaire comme outil confirmatoire après l'établissement des autres critères de risque par la clinique, la tomodensitométrie et/ou les techniques mycologiques directes.

### Détection dans le LCS

Des infections à *Aspergillus* peuvent être localisées dans le système nerveux central (SNC), le plus souvent par angio-invasion à partir du premier site d'infection, pulmonaire en général, ou par voie directe (sinus, mastoïde).

L'utilisation du test du GM dans le LCS en vue de la détection des aspergilloses est discutée dans quatre des treize recommandations sélectionnées, trois chez l'adulte (19, 32, 67) et une en pédiatrie (63).

Pour ces quatre RBP, la pertinence du test dans le LCS ne concerne que la sous-population la plus à risque, c'est-à-dire les patients en oncohématologie neutropéniques présentant les critères de risque élevé d'IFI détaillés précédemment.

Ces RBP attribuent respectivement la même force de recommandation pour ce test que lorsqu'il est utilisé sur les sécrétions de LBA, les niveaux de preuve étant du même ordre, modéré chez l'adulte et faible chez l'enfant.

Bien que la recommandation allemande spécifique soit de force modérée (67), elle argue d'une sensibilité supérieure à 90 % dans les méningites dues à *Aspergillus*, alors que la culture n'a une sensibilité que d'environ 30 % et qu'elle est généralement négative dans les autres pathologies cérébrales aspergillaires. Seule la biopsie stéréotaxique cérébrale, invasive, fournit un diagnostic totalement fiable.

Les modalités d'interprétation des résultats suivent des préconisations similaires à celles évoquées précédemment pour le sang et le LBA : l'utilisation comme test confirmatoire à un diagnostic d'aspergillose (probable) construit avec les autres éléments nosologiques des critères de l'EORTC, mais avec une DO de seuil de positivité qui devrait être supérieure à 0,5 chez l'enfant (63) et égale à 1,0 chez l'adulte (32).

### ► Détection du BG

Parmi les treize RBP sélectionnées traitant des tests de détection d'Ag fongiques solubles dans l'aspergillose, onze fournissent des préconisations sur l'utilisation du test de détection du BG dans le sang et une dans le LCS (cf. Tableau 5).

### Détection dans le sang

#### *Indications*

D'une manière générale, les recommandations sélectionnées sont peu consensuelles sur la place d'un test de détection du BG pour les suspicions d'IFI chez des patients en oncohématologie, tout particulièrement pour l'aspergillose invasive, car l'antigène BG n'est pas spécifique du genre, contrairement au GM (27) :

- des RBP la recommandent dans la stratégie de dépistage chez l'adulte (cinq RBP) à haut risque d'IFI (27, 32, 59, 64, 65) et chez l'enfant (une RBP) à très haut risque (69), mais dans tous les cas avec une force et/ou un niveau de preuve modérés ;
- par contre, trois RBP recommandent de ne pas recourir à ce test, chez les patients avec infiltrat pulmonaire (66) ou chez l'enfant en l'absence de données suffisantes et probantes dans cette population pour justifier son utilité clinique (56, 63) ;
- comme pour l'autre antigène pariétal (GM), la valeur prédictive négative du dépistage précoce du BG est mise en avant pour exclure une IFI chez les patients les plus à risque de la contracter (prévalence élevée d'IFI dans cette population) (59, 64, 68) ;
- une RBP (32) sur la base de données d'une méta-analyse du même groupe de sociétés savantes (57) souligne l'absence d'éléments validés relatifs à la valeur du seuil de positivité et à l'intervalle entre deux tests nécessaires pour établir la positivité du BG et pointe que la population cible restant aussi à déterminer, l'utilité clinique n'est pas démontrée. Cette RBP souligne néanmoins que la fixation d'une positivité à deux tests consécutifs permet d'atteindre une spécificité proche de 100 %, avec une VPP de 94,6 %, au détriment de la sensibilité estimée alors entre 45 et 65 % ;
- avec la constatation bien étayée de faux positifs possibles par de multiples causes intercurrentes (gazes chirurgicales, dialyses, bactéries,...) (68), deux de ces RBP conseillent de confirmer systématiquement la positivité d'un test du BG par d'autres outils diagnostiques (32, 59) ou bien de le réaliser, plusieurs fois, comme élément confirmatoire d'une forte présomption clinique/radiologique (64) ;

- une RBP pédiatrique propose une stratégie d'utilisation conjointe sur le sang des deux Ag afin d'augmenter la spécificité du diagnostic, en débutant par un test du GM, suivi en cas de positivité par un test du BG (69).

### Autres liquides biologiques (LBA, LCS)

Aucune RBP n'aborde l'utilité du BG dans le LBA et une seule traite de son utilisation dans le LCS (67). Cette recommandation du DGHO préconise le dosage du BG dans le LCS en cas de suspicion d'aspergillose, mais avec moins de force que pour le dosage du GM dans la même indication (force de recommandation faible) et conclut qu'il ne peut s'agir d'un examen de routine.

### ► Données générales issues de la littérature synthétique sur les tests de recherche d'Ag solubles

Il apparaît à travers cette analyse que le niveau de preuve des éléments colligés dans la littérature quant aux performances des tests de recherche des antigènes pariétaux d'*Aspergillus* - GM et BG - n'est pas très élevé et que de nombreux facteurs biologiques et épidémiologiques, pas tous identifiés à ce jour, ainsi qu'une prophylaxie ou un traitement empirique antifongiques, influeraient sur leur détection par les tests actuellement disponibles. Au vu des performances diagnostiques des études réalisées, les RBP soulignent la nécessité d'études prospectives bien construites sur l'utilité clinique des Ag et leur place dans le diagnostic précoce des IFI. Nonobstant, la littérature synthétique est consensuelle pour **proposer la recherche d'Ag dans la stratégie diagnostique lors de suspicion d'aspergillose sous forme invasive**. Toutefois, son utilité clinique est différente selon le niveau supputé du risque d'infection fongique invasive, c'est-à-dire la prévalence de la pathologie dans la population cible. La RBP la plus récente (68) conclut que chez l'adulte immunodéprimé à risque, les tests de recherche d'Ag (GM, BG) ont une valeur prédictive négative élevée, permettant d'exclure la maladie, mais qu'il n'y a pas de preuve pour recommander leur utilisation en dépistage itératif, pour un diagnostic précoce et une décision thérapeutique chez les patients neutropéniques uniquement fébriles ou les patients immunodéprimés asymptomatiques sans prophylaxie antifongique.

Les données confortant l'utilisation de l'Ag GM dans le diagnostic d'une infection invasive à *Aspergillus* chez l'adulte sont plus étoffées que celles portant sur l'utilisation du BG, pour ce qui concerne ce genre fongique, et ce, quel que soit le liquide biologique utilisé.

L'utilisation de ces tests chez l'enfant souffre d'un manque de données et les RBP divergent sur l'utilité clinique d'un dosage du GM dans le sérum chez les enfants en oncologie à très et haut risque d'AI, la RBP la plus récente (mai 2017) préconisant plutôt d'initier sur la base des données clinico-radiologiques un traitement antifongique empirique au plus tôt.

Les RBP recommandent de ne pas s'appuyer uniquement sur les tests de recherche d'Ag pour établir le diagnostic d'aspergillose invasive et la stratégie thérapeutique mais d'associer leurs résultats aux données cliniques, radiologiques ainsi qu'histologiques (lorsque disponibles) dans un contexte de risque d'IFI. A la date de cette évaluation, les critères de définition d'IFI sont ceux établis par EORTC-MSG en 2008 (cf. Annexe 5). Les tests indirects de recherche d'Ag pariétaux solubles ont été inclus dans les critères mycologiques définis par ces organisations, en plus des tests directs d'identification : ainsi, en cas de détection positive d'un Ag, le niveau d'incertitude sur la présence d'une IFI est diminué - passant d'une IFI possible à une IFI probable - car un seul critère mycologique, direct ou indirect (Ag), suffit en plus des critères des autres types (cf. Annexe 5). De ce fait, cet examen non ou peu invasif, rapide, peut permettre d'éviter un examen plus invasif (biopsie), moins rapide (histologie) ou compléter un examen moins sensible (culture). Les RBP soulignent une augmentation de la spécificité du test antigénique par la réalisation de deux mesures successives. Les seuils de positivité utilisés pour annoncer les résultats doivent avoir été validés.

Tableau 4. Recommandations de bonne pratique (RBP) traitant de l'utilisation d'un test du galactomannane (GM)

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
<b>Dosage du galactomannane (GM) dans le sang</b>				
<i>EORTC/MSG<sup>27</sup> Consensus Group</i> (19), Europe, 2008	Patients neutropéniques souffrant de cancer ou traités par greffe allogénique de CSH ou corticothérapie prolongée ou immunosuppresseurs ou avec immunodéficiência génétique	Aspergillose invasive (AI)	La détection dans le sérum ou le plasma (au moins sur deux échantillons) par test ELISA Platelia est un des critères d'AI probable, en association avec les critères liés à l'hôte, cliniques, mycologiques et radiologiques.	Recommandation de consensus
<i>German Society for Haematology and Oncology</i> (DGHO), (65) Allemagne, 2012	Patients souffrant d'hémopathie maligne avec neutropénie, Chimiothérapie neutropéniante	AI	Test ELISA de dépistage conseillé deux fois par semaine ou plus, positivité définie au seuil de 0,5 après deux dosages consécutifs, peut être positif avant les signes cliniques, peut permettre le suivi thérapeutique, valeur prédictive négative >90 % dans cette population	Recommandation forte*
<i>Third European Conference on Infections in Leukaemia</i> (ECIL-3) (32) Europe, 2012	Patients neutropéniques adultes en oncohématologie	AI	- Dépistage par un test ELISA du GM tous les trois-quatre jours. - Ce suivi est à combiner avec les données cliniques microbiologiques et de tomodensitométrie (1 test $\geq$ 0,7 ou 2 consécutif $\geq$ 0,5 sont à considérer dans le diagnostic.	Recommandation forte, niveau de preuve modéré
<i>British Society for Medical Mycology</i> (BSMM) (59) UK, 2015	Patients de haut risque : allogreffe de CSH, leucémie aiguë myéloblastique, chimiothérapie intensive pour rechute	AI	Le dépistage par dosage du GM doit être réservé aux patients de haut risque sans prophylaxie antifongique, par tests itératifs deux fois par semaine (seuil de 0,5 en DO avec bonne valeur prédictive négative).	Niveau de preuve modéré

<sup>27</sup> European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group.



Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
<i>Royal College of Pathologists (RCP), Association of Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine (64) UK, 2015</i>	Patients adultes d'hématologie à haut risque : neutropéniques et patients au décours d'une greffe de CSH, sans prophylaxie antifongique	AI	Effectuer un dépistage itératif par un test sanguin deux fois par semaine (test ELISA <i>Platelia Aspergillus</i> ). Un résultat unique négatif peut être utilisé à exclure une AI. Deux tests consécutifs sur deux prélèvements (ou un analysé sur deux tests). La réduction de l'index au cours des deux premières semaines de traitement antifongique est prédictive d'une réponse au traitement.	Recommandation du consensus d'experts (basé sur la littérature)
<i>German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO), (66) Allemagne, 2015</i>	Patients neutropéniques fébriles avec infiltrat pulmonaire (hémopathie/ chimiothérapie, hormis après greffe allogénique de CSH)	AI	La surveillance par recherche itérative de GM dans le sang est préconisée en dépistage, si LMA ou SMD et risque de neutropénie $\geq 10$ jours. Pour le diagnostic, le dosage du GM par méthode ELISA sandwich (seuil de 0,5) est recommandé.	Recommandation modérée, niveau de preuve modéré Recommandation forte
NCCN (68) USA, 2017	Patients en cancérologie : patients à risque élevé en neutropénie prolongée ou après greffe allogénique de CSH	AI	Un test de GM positif associé à un signe clinique (fièvre) et radiologique [infiltrat pulmonaire, nouveau nodule $\geq 1$ cm] est susceptible de détecter une AI (probable/critères EORTC).	Consensus général, faible niveau de preuve
<i>Infectious Diseases Society of America (IDSA) (60), USA, 2016</i>	Adultes et enfants à risque souffrant de cancer hématologique ou receveur d'une greffe de CSH	AI	- Le dépistage par dosage deux fois par semaine chez les patients neutropéniques les plus à risque, associé à la clinique/radiologie ; la recherche de GM dans le sérum (ELISA <i>Platelia</i> ) est un marqueur précis du diagnostic d'AI chez les patients avec cancer hématologique ou après greffe de CSH, sans prophylaxie antifongique. - Le suivi par dosage itératif d'un traitement chez un patient à taux initial de GM élevé peut être utilisé pour suivre la réponse et prédire l'évolution.	Recommandation forte, niveau de preuve élevé Recommandation forte, niveau de preuve modéré
<i>Infectious Diseases Society of America (IDSA) (60), USA, 2016</i>	Patients affectés de granulomatose chronique ou transplantés d'organe	AI	- La recherche du GM dans le sang n'est pas recommandée pour le dépistage (screening) de routine de patients sous prophylaxie ou traitement antifongiques. - Le dépistage par le GM n'est pas recommandé chez les patients affectés de granulomatose chronique ou transplantés d'organe.	Recommandation forte, niveau de preuve élevé Recommandation forte, niveau de preuve élevé

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
<i>International Paediatric Fever and Neutropenia Guideline (IPFNG) Panel</i> (Lehrnbecher) (56), International, 2017	Enfants avec maladie cancéreuse ou après greffe allogénique de CSH, neutropéniques et avec fièvre persistante, classés à haut risque <sup>28</sup> d'IFI	IFI	Chez les <u>patients à haut risque d'IFI</u> (fièvre neutropénique ≥ 96 h) <u>afin de guider la mise en route d'un traitement antifongique empirique</u> : considérer de ne pas faire de dépistage avec le GM	Recommandation faible, niveau de preuve modéré
<i>Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4)</i> (63), Europe, 2014	Patients neutropéniques en pédiatrie en oncohématologie à haut risque : leucémie myéloblastique aiguë ou syndrome myélodysplasique sous chimiothérapie intensive	AI	Dépistage prospectif par un test ELISA Platelia deux fois par semaine. Le seuil de positivité du test = 0,5 (DO). L'administration d'une prophylaxie antifongique pourrait diminuer les performances du test dans le sérum.	Recommandation forte, niveau de preuve modéré Recommandation modérée, niveau de preuve faible
Société française de pédiatrie et Société pédiatrique de pneumologie et d'allergologie (SP2A) (69), France, 2014	Enfants de plus de trois mois classés en très haut et haut risque aspergillaire <sup>29</sup>	Infections respiratoires basses	<u>Dépistage d'une AI</u> par test GM recommandé chez un enfant à très haut risque : effectuer la détection deux fois par semaine, en répétant les mesures si nécessaire. <u>Diagnostic d'une AI</u> : chez enfants à haut et très haut risques, réaliser la détection de GM en plus de la clinique et l'imagerie.	Recommandation forte Recommandation forte
<b>GM dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA)</b>				
EORTC/MSG <i>Consensus Group</i> (19), Europe, 2008	Patients neutropéniques souffrant de cancer ou traités par greffe allogénique de CSH ou corticothérapie prolongée ou immunosuppresseurs ou avec immunodéficiences génétiques	Aspergillose invasive (AI)	La détection dans le LBA (sur un échantillon) par test ELISA Platelia est un des critères d'AI probable en association avec les critères liés à l'hôte, cliniques, mycologiques et radiologiques.	Recommandation de consensus
DGHO, (65) Allemagne, 2012	Hémopathie maligne avec neutropénie, chimiothérapie neutropénisante	AI	Le GM peut être détecté dans le LBA chez les patients à haut risque avec une sensibilité qui semble supérieure à la culture ou à des techniques de PCR.	Recommandation modérée*

<sup>28</sup> Cf. définitions dans tableau détaillé en Annexe 5.<sup>29</sup> Cf. définitions dans tableau détaillé en Annexe 5.

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
ECIL-3 (32), Europe, 2012	Patients adultes neutropéniques en oncohématologie : leucémie myéloblastique aigue ou syndrome myélodysplasique sous chimiothérapie intensive	AI	La recherche du GM peut se faire dans le LBA avec un seuil de positivité fixé à 1,0.	Recommandation forte, niveau de preuve modéré
<i>European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) et ERS (15) Europe, 2015</i>	Patients immunocompétents avec infiltrat pulmonaire nodulaire ou cavitare	Aspergillose chronique pulmonaire (APC)	La recherche de la présence de GM dans le LBA est préconisée (seuil non indiqué).	Recommandation modérée, niveau de preuve modéré
BSMM (59) UK, 2015	Patients adultes transplantés de poumon ou en soins intensifs	AI	Le test dans le LBA (seuil > 1,0) a un intérêt pour le diagnostic d'AI.	Recommandation modérée
DGHO, (66) Allemagne, 2015	Patients neutropéniques fébriles avec infiltrat pulmonaire (hémopathie/chimiothérapie, hormis après greffe allogénique de CSH)	AI	La bronchoscopie et le LBA sont à effectuer selon un protocole standardisé, chez des patients sans hypoxémie critique. Dosage ELISA du GM à visée diagnostique dans le LBA (un seuil de positivité à 1,0 DO pourrait être plus approprié que 0,5).	Recommandation forte, niveau de preuve modéré Recommandation forte
NCCN (68) USA, 2017	Patient à risque élevé (neutropénie prolongée ou greffe allogénique de CSH) avec signe clinique (fièvre) et radiologique (infiltrat pulmonaire)	AI	Un test de détection dans le LBA positif, plus sensible que le test sérique, peut être utilisé chez un patient à risque élevé pour confirmer le diagnostic d'AI probable (critères EORTC).	Recommandation forte (consensus général), faible niveau de preuve
IDSA (60), USA, 2016	Adultes et enfants atteints de cancer hématologique ou receveur d'une greffe de CSH	AI	La recherche du GM dans le LBA est un marqueur précis du diagnostic d'AI, même chez les patients sous traitement antifongique ou présomptif.	Recommandation forte, niveau de preuve élevé
ECIL-4 (63), Europe, 2014	Patients neutropéniques en pédiatrie en oncohématologie à haut risque	AI	Un test ELISA Platelia positif à un seuil de 1,0 (DO) est une méthode complémentaire dans le diagnostic d'AI.	Recommandation modérée, niveau de preuve faible



Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
SP2A (69), France, 2014	Enfant à haut risque et très haut risque	AI	Pour le diagnostic d'une AI en plus de la clinique et de l'imagerie, il est recommandé de réaliser la détection de GM dans le LBA quand il est disponible. Cette recherche devra être associée aux autres techniques de diagnostic mycologique classique (microscopie directe et culture).	Recommandation forte Recommandation forte
<b>GM dans le liquide cérébro-spinal (LCS)</b>				
EORTC/MSG <i>Consensus Group</i> (19), Europe, 2008	Patients neutropéniques atteints de cancer ou traités par greffe allogénique de CSH ou sous corticothérapie prolongée, immunosuppresseurs ou avec immunodéficience génétique	AI	La détection dans le LCS (sur un échantillon) par test ELISA Platelia est un des critères d'AI probable en association avec les critères liés à l'hôte, cliniques, mycologiques et radiologiques.	Recommandation de consensus
ECIL-3 (32), Europe, 2012	Patients adultes neutropéniques en oncohématologie	AI	La recherche du GM peut se faire dans le LCS avec un seuil de positivité fixé à 1,0.	Recommandation forte, niveau de preuve modéré
DGHO (67), Allemagne, 2016	Patients adultes avec désordres hématologiques (hémopathies malignes, y compris greffe de SCH)	Infections du système nerveux central	La détection du GM peut être utile au diagnostic d'aspergillose du SNC.	Recommandation modérée*
ECIL-4 (63), Europe, 2014	Patients neutropéniques en pédiatrie en oncohématologie à haut risque	AI	Un test ELISA Platelia positif à un seuil $\geq 0,5$ (DO) est une méthode complémentaire dans le diagnostic d'AI avec atteinte du SNC.	Recommandation modérée, niveau de preuve faible

\* niveau de preuve non établi par les auteurs en absence d'essais cliniques prospectifs randomisés.

Tableau 5. Recommandations de bonne pratique traitant de l'utilisation d'un test du  $\beta$ -(1-3)-D-Glucane (BG).

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
<b><math>\beta</math>-(1-3)-D-Glucane (BG) dans le sang</b>				
EORTC/MSG <i>Consensus Group</i> (19), Europe, 2008	Patients neutropéniques souffrant de cancer ou traités par greffe allogène de CSH ou corticothérapie prolongée ou immunosuppresseurs ou avec immunodéficience génétique	Infection fongique invasive (IFI)	La détection dans le sérum par test Fungitell est un des critères d'IFI probable en association avec les critères liés à l'hôte, cliniques, mycologiques et radiologiques.	Recommandation de consensus
DGHO,(65) Allemagne, 2012	Patients d'hématologie à haut risque (avec agranulocytose < 500 neutrophiles pendant >7 jours)	IFI	Le dépistage (screening) du BG dans le plasma au moins deux fois par semaine peut être recommandé dans cette population pour le diagnostic d'IFI.	Recommandation modérée*
ECIL-3 (32) Europe, 2012	Patients neutropéniques adultes en oncologie à haut risque (leucémie aiguë avec neutropénie prolongée ou greffe allogène de CSH)	AI	Utilité d'un test de BG dans le diagnostic d'AI à déterminer (inconnues sur seuil de positivité, fréquence des tests ainsi que population cible). deux tests consécutifs donnent de très bonnes spécificité et VPP. À cause d'une sensibilité faible, ce test est à combiner avec les données cliniques microbiologiques et radiologiques.	Recommandation modérée, niveau de preuve modéré
BSMM (59) UK, 2015	Patients à haut risque d'infection fongique invasive	IFI	Le BG peut être utilisé pour le dépistage. Un test positif nécessite d'autres explorations à cause de possibles faux positifs. Le BG a une bonne valeur prédictive négative permettant d'exclure l'éventualité d'IFI en cas de test négatif dans cette sous population très à risque.	Niveau de preuve modéré Niveau de preuve élevé
RCP (64) UK, 2015	Patients adultes, gravement malades en soins intensifs ou avec hémopathie maligne ou patients au décours d'une greffe de CSH	IFI	Dépistage sanguin par BG (test Fungitell As. Cape Cod) : - un résultat unique négatif peut être utilisé pour exclure une infection fongique invasive (IFI) ; - des tests consécutifs positifs peuvent être utilisés comme preuve à l'appui de la présence d'une IFI.	Recommandation de consensus d'experts

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
DGHO, (66) Allemagne, 2015	Patients neutropéniques fébriles avec infiltrat pulmonaire, à l'exception de ceux ayant reçu une greffe de CSH	IFI	La place du BG n'est pas clairement définie dans le dépistage d'IFI dans cette population	Aucun
NCCN (68) USA, 2017	Patients en cancérologie : patient à risque élevé en neutropénie prolongée ou après greffe allogénique de CSH	AI	Les tests de recherche d'Ag (GM, BG) ont une valeur prédictive négative élevée en l'absence d'un traitement antifongique chez le patient neutropénique uniquement fébrile et pour un diagnostic précoce chez un patient asymptomatique, mais il n'y a pas de preuve pour recommander leur utilisation comme outil de surveillance chez ces patients.	Consensus général
IDSA (60), USA, 2016	Adultes et enfants à haut risque souffrant de cancer hématologique ou receveur d'une greffe de CSH	AI	Le dosage sérique du BG est recommandé pour le diagnostic d'AI chez des patients à haut risque bien que non spécifique d' <i>Aspergillus</i> . Le BG n'a pas été assez étudié pour prédire la réponse au traitement.	Recommandation forte, niveau de preuve modéré Recommandation faible, niveau de preuve faible
IPFGN Panel (56), International, 2017	Enfants avec maladie cancéreuse ou après greffe allogénique de CSH, neutropéniques et avec fièvre persistante, classés à haut risque <sup>30</sup> d'IFI	IFI	Chez l'enfant, ne pas utiliser le test du BG pour prendre des décisions thérapeutiques (mise en route d'un traitement empirique).	Recommandation forte, niveau de preuve faible
ECIL-4 (63), Europe, 2014	Patients neutropéniques en pédiatrie en oncohématologie à haut risque	IFI	Les données sur le test Fungitel <sup>®</sup> BG chez l'enfant sont très rares et le seuil de positivité inconnu.	Pas de recommandation et pas de gradation
SP2A (69), France, 2014	Enfants de plus de trois mois classés à très haut risque aspergillaire	Infections respiratoires basses	Pour le dépistage d'une AI chez un enfant à très haut risque en complément d'une détection de GM positive, compte tenu des taux élevés de faux positifs, l'utilisation complémentaire de BG dans le sang est recommandée pour augmenter la spécificité du diagnostic.	Recommandation modérée

<sup>30</sup> Cf. définitions dans tableau détaillé en Annexe 5.

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
<b>BG dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) : aucune recommandation retrouvée</b>				
<b>BG dans le liquide cérébro-spinal (LCS)</b>				
DGHO, (67) Allemagne, 2016	Patients avec désordres hématologiques (hémopathies malignes et neutropénie, chimiothérapie neutropéniante y compris greffe/CSH)	Infections du système nerveux central	La détection du BG dans le LCS pourrait être utile dans le diagnostic d'aspergillose du SNC.	Recommandation faible*

### ► La recherche d'Ac sériques spécifiques anti-*Aspergillus*

Parmi les dix-sept RBP sélectionnées, sept abordent l'apport de la recherche d'Ac sériques spécifiques en cas de suspicion d'une affection aspergillaire (9, 15, 59-62, 73). Il s'agit dans tous les cas de patients immunocompétents ou avec une altération modérée de leurs défenses immunitaires. Les diverses formes pathologiques de la sphère ORL et de l'appareil respiratoire, répertoriées dans ces RBP qui suscitent une recherche d'Ac anti aspergillaires sont les suivantes :

- manifestations allergiques, dans le cadre d'un asthme ou d'une mucoviscidose le cas échéant ;
- dilatation des bronches (DDB), sans mucoviscidose ;
- bronchite, pathologie pulmonaire chronique, avec opacité pulmonaire sur image radiologique, infiltrat cavitairé ou nodulaire ;
- rhinosinusites chroniques.

À l'opposé, concernant les patients neutropéniques en oncologie, une RBP du DGHO (65) recommande de ne pas procéder en routine aux dosages des IgG chez ces patients immunodéprimés, et la recherche d'Ac ne fait pas partie des critères de définition d'une aspergillose invasive de l'EORTC-MSG révisés en 2008 (19).

Globalement, les RBP ne dissocient pas les pathologies infantiles des pathologies chez l'adulte et les principales préconisations de la recherche d'Ac dans ces pathologies sont reportées dans le Tableau 6 ci-après. Il est remarqué - bien que le niveau de preuve attribué aux données étudiées ne soit que modéré ou faible en l'absence de données fiables issues d'études de haut niveau de preuve - que les préconisations des consensus d'experts pour ces dosages d'Ac spécifiques au genre *Aspergillus* sont d'une force forte ou modérée. Ces RBP permettent la synthèse qui suit.

### Les IgG anti-*Aspergillus*

- L'utilité du dosage des IgG anti-*Aspergillus* est décrite dans les six RBP qui abordent son utilisation dans le diagnostic initial d'aspergilloses :
  - pour établir le **diagnostic des formes chroniques d'aspergillose**, notamment avec cavités ou nodules pulmonaires (59) et des **formes subaiguës** (15). La recommandation américaine de l'IDSA le considère comme le test microbiologique le plus sensible dans cette indication (60) et la recommandation européenne de l'ESCMID/ERS avance une valeur prédictive positive de 100 % dans les APC et une sensibilité de plus de 90 % dans l'**aspergillome** pour la recherche des IgG spécifiques et des précipitines (15). Trois recommandations précisent que l'obtention de multiples précipitines suggère plutôt la présence d'un aspergillome (15, 59, 62), mais selon une, il n'existerait pas de données sur ses performances à détecter des nodules aspergillaires (15). La recommandation de l'IDSA précise que cet examen participe au diagnostic des **bronchites aspergillaires chroniques** chez des patients sans greffe pulmonaire (27) ;
    - cet examen contribue également, selon deux RBP (9, 73), à la stratégie diagnostique de l'**ABPA** et selon deux autres RBP de bronchites **allergiques** venant notamment compliquer un asthme avec DDB (62) ou une mucoviscidose (59).
- Selon deux RBP, les mesures quantitatives d'Ac permettent de suivre l'efficacité d'une résection chirurgicale de nodules ou de tissus pulmonaires (aspergillome) (27) et d'instaurer si nécessaire un traitement antifongique (15) ; ces dosages quantitatifs d'IgG par ELISA ou de précipitines par techniques d'immunoprécipitation sont proposés tous les trois à six mois (15) pendant trois ans (27).

### Les IgE anti-*Aspergillus*

- La recherche avec quantification des IgE spécifiques (titrage) est recommandée par cinq RBP dans le diagnostic des **formes allergiques d'aspergillose**, en tout premier lieu en cas de **suspicion d'ABPA** (9, 60, 73) avec asthme et DDB (62) ou mucoviscidose (15). Dans l'asthme avec ABPA, une de ces RBP (9) avance que ce test serait plus sensible que les tests cutanés, et notant que le seuil requis pour la positivité n'est pas défini, recommande une valeur



seuil (de 0,35 kUA/l) pour la caractérisation de l'ABPA. Dans ces cinq RBP, le dosage d'IgE spécifiques est aussi associé au dosage des IgG anti-*Aspergillus* dans les **formes chroniques d'aspergillose** : il est ainsi prôné notamment dans les **rhinosinusites** chroniques pour conforter l'étiologie allergique (27).

- Le dépistage régulier annuel par IgE spécifiques est proposée par deux des cinq RBP dans l'arsenal de surveillance de certaines pathologies pulmonaires : chez les patients atteints de mucoviscidose (27) et chez les asthmatiques (9).
- Le suivi par tests itératifs des IgE spécifiques permettrait d'identifier un risque de rechute d'ABPA selon une sixième RBP traitant de l'asthme avec manifestation allergique (61).

### Autres isotypes d'Ig anti-*Aspergillus*

Les recherches d'autres classes d'Ig ne sont pas citées dans six des sept RBP. Dans la recommandation européenne de l'ESCMID/ERS, le recours aux recherches d'IgM et IgA spécifiques n'est pas recommandé pour identifier les formes chroniques ou semi-invasives d'aspergillose, du fait de la paucité de données validant leur utilité clinique (15).

### Techniques préconisées pour le dosage des Ig anti-*Aspergillus*

Les techniques citées par les RBP pour doser les IgG et les IgE spécifiques d'un allergène aspergillaire sont majoritairement des techniques immunoenzymatiques ELISA en technique commerciale ou « maison » (9, 15, 59, 73), automatisables (61), pour les IgG de FEAI (9) ou d'IF indirecte semi-automatisée (59), et d'autre part pour les IgG des techniques d'immunodiffusion double (9, 59, 73) et d'immunoprécipitation dosant les précipitines (62) dont l'électrosynérèse (ELS) (9, 15, 59, 73).

À noter que deux RBP retenant les techniques d'immunoprécipitation dont l'ELS jugent dans le même temps le manque de standardisation (15) et de sensibilité (9) de ces méthodes. Citant les méthodes immunoenzymatiques, ces RBP soulignent que le titrage des IgE spécifiques doit être réalisé avec une méthode validée, rendant des résultats en unités de valeurs normalisées et dans ce contexte, des sensibilités et spécificités de 85-95 % sont avancées dans l'asthme allergique (61). Une RBP déplore qu'aucune étude n'ait validé les performances inter-laboratoires des dosages d'IgG spécifiques (73). L'arrivée sur le marché d'Ag d'*A. fumigatus* recombinants augmenterait la reproductibilité et la fiabilité des dosages quantitatifs d'Ac dirigés contre cet Ag ; ils auraient été validés dans le diagnostic d'ABPA et de sensibilisation à *Aspergillus* (9).

Il est noté que ces recommandations ne font pas allusion à la nécessité de procéder à la confirmation de la positivité du premier test réalisé, telle que prévue en France dans la NABM (actuelle et proposée). De ce fait, les techniques de coélectrosynérèse avec sérum de référence positif (COES) inscrits à la NABM en test de confirmation, ne sont pas reportées dans les documents synthétiques analysés.

### ► Le dosage quantitatif des IgE totales (dosage non spécifique à *Aspergillus*)

- Les six RBP traitant des pathologies allergiques générées ou aggravées par les *Aspergillus* recommandent unanimement le titrage des IgE totales sériques en cas de suspicion d'ABPA, (60-62, 73), deux fixant le seuil de diagnostic à un titre de 1000 UI/ml (59) car les valeurs sériques retrouvées dans la population générale ou atopique est très large (9). Seule, la recommandation européenne ne fait qu'évoquer le titrage des IgE totales (15) (sans gradation), mais elle est centrée avant tout sur les formes chroniques et nécrosantes des aspergilloses.
- Ces six RBP stipulent d'effectuer un suivi de l'adéquation de la stratégie thérapeutique notamment par un titrage itératif des IgE totales dans les formes allergiques, surtout pour l'ABPA (9, 59, 61, 62, 73) : une décroissance des titres de l'ordre de 25-50 % devrait être obtenue en huit semaines environ et une remontée faire craindre une exacerbation de la pathologie (9, 61). Une RBP (27) recommande par ailleurs d'effectuer un dépistage annuel chez les sujets asthmatiques ou atteints de mucoviscidose à risque élevé d'infection fongique.

► **Données générales issues de la littérature synthétique sur les tests de recherche d'Ac sériques spécifiques**

Au total, en ce qui concerne les Ac anti-aspergillaires, les recherches avec titrage des Ac sériques (IgG) tant sous forme soluble que de précipitines sont recommandées pour la recherche d'aspergilloses chroniques, subaiguës et allergiques (avec les IgE dans ce cas) dans des tableaux pathologiques pluri-symptomatiques. Toutefois, plusieurs de ces RBP mettent en avant l'absence de standardisation des méthodes de titrage et de définition des seuils de positivité. Pour le diagnostic difficile d'ABPA, notamment chez les asthmatiques (61), les dosages sériques des Ac spécifiques (IgE et IgG) sont complétés par le titrage des IgE totales, la numération des éosinophiles et par des tests cutanés utilisant des extraits d'allergènes aspergillaires (prick tests, injection intradermique) (9, 60), des examens radiologiques (9). Ils sont associés aux signes cliniques comme la DDB dans le cadre d'une stratégie diagnostique construite au sein d'un dialogue clinico-biologique actif.

Tableau 6. Recherche des anticorps anti-*Aspergillus* dans les pathologies allergiques et/ou chroniques.

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
<b>Dosage des Immunoglobulines (Ig)</b>				
Société de pneumologie de langue française (SPLF) (61) France, 2007	Patient souffrant d'asthme avec manifestation allergique	Suspicion d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dosage des IgE totales sériques (techniques immunoenzymatiques) pour établir le diagnostic d'ABPA (avant mise en place d'un traitement par anti-IgE).</li> <li>- Le dosage répété des IgE totales est recommandé dans le suivi après diagnostic (élévation prédictive de rechute).</li> <li>- Suivi par tests itératif IgE spécifiques contributif dans l'ABPA : l'ascension des IgE anti-<i>Aspergillus</i> (par technique validée, titres exprimés en KIU/L) peut précéder une rechute.</li> </ul>	Recommandation forte, niveau de preuve faible Recommandation de faible niveau de preuve R. non gradée
<i>American Academy of Allergy</i> (73) USA, 2008	Patient souffrant d'asthme sévère avec manifestations inflammatoires	Suspicion d'ABPA	<p>Diagnostic d'ABPA :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- taux élevés d'IgE totales sériques ; la réponse thérapeutique est suivie par des dosages sériels d'IgE afin de prévenir des rechutes (1 UI = 2,44 ng/ml) ;</li> <li>- présence d'IgE et IgG spécifiques anti-<i>Aspergillus</i> ; leurs titres tendent à s'abaisser si l'activité de la maladie diminue.</li> </ul>	Recommandation modérée Pas de gradation
<i>British Thoracic Society</i> (62) UK, 2010	Patients adulte ou enfant avec DDB, sans mucoviscidose	Suspicion d'ABPA	<p>Diagnostic d'ABPA comme étiologie de la DDB basé sur (les signes cliniques) et les tests sériques :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- dosages d'IgE totales et IgE spécifiques d'<i>A. fumigatus</i> ;</li> <li>- recherche d'IgG anti-<i>Aspergillus</i> (précipitines) ;</li> <li>- l'obtention de multiples précipitines suggère la présence d'un aspergillome.</li> </ul>	Recommandation faible Niveau de preuve faible
<i>British Society for Medical Mycology</i> (59) UK, 2015	Patient immunocompétent avec suspicion d'infection fongique grave	Suspicion d'APC, aspergillome	Le dosage des IgG et les précipitines sont utiles pour confirmer un diagnostic d'aspergillome ou d'APC.	Recommandation modérée
		Asthme, ou mucoviscidose	Dosage des IgG anti- <i>Aspergillus</i> sériques participe - si titre élevé - au diagnostic d'ABPA ou de bronchite aspergillaire.	Recommandation modérée
		Suspicion d'ABPA	Un titre sérique d'IgE total >1000 UI/ml, un titre augmenté d'IgE anti- <i>A. fumigatus</i> ou les 2, sont des critères essentiels pour le diagnostic.	Recommandation forte

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
<i>International Society for Human and Animal Mycology working group (9), 2013</i>	Patients souffrant d'asthme bronchique ou de mucoviscidose	Suspicion d'ABPA	<p>Critères biologiques du diagnostic d'ABPA :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- réactivité cutanée immédiate à un prick test ou intradermo réaction (avec Ag aspergillaire) et présence d'IgE spécifiques d'A. fumigatus ;</li> <li>- concentration sérique d'IgE totale élevée &gt; 1000 ng/ml ;</li> <li>- la positivité des IgE spécifiques d'A. fumigatus (seuil de &gt;0,35 kUA/l) est importante pour la caractérisation de l'ABPA.</li> </ul> <p>Présence de précipitines spécifiques d'A. fumigatus ou d'Ig G spécifiques d'A. fumigatus.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- taux total d'éosinophiles &gt;500 cellules / µl.</li> </ul> <p>Dans le suivi thérapeutique, le dosage des IgE totales sériques est utile : il doit s'abaisser de 25-50 % en huit semaines ; une élévation du taux peut signifier une exacerbation de l'asthme.</p>	Pas de gradation de la recommandation consensuelle
ESCMID/ERS (15) Europe, 2015	Patient sans immunodépression avec infiltrat pulmonaire cavitaires ou nodulaire	Suspicion d'aspergillose chronique ou subaiguë	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recherche d'IgG (<i>A. fumigatus</i>) ou de précipitines.</li> <li>- Recherche d'IgE (<i>A. fumigatus</i>).</li> <li>- d'un IgG alternatif.</li> </ul> <p>- La recherche d'IgA et IgM n'est pas recommandée.</p>	<p>Recommandation forte, niveau de preuve modéré</p> <p>Recommandation forte, niveau de preuve faible</p>
	Allergie, bronchite dans asthme et la mucoviscidose	Suspicion élevée d'ABPA	Diagnostic : le dosage d'Ig E spécifique anti- <i>Aspergillus</i> participe au diagnostic	Recommandation modérée, niveau de preuve modérée
	Patient avec APC	Suivi thérapeutique	<p>Après résection de nodules :</p> <p>Le suivi par un dosage quantitatif des IgG/précipitines avec imagerie et marqueurs de l'inflammation est nécessaire à trois-six mois pour savoir si un traitement pharmacologique est nécessaire.</p> <p>Après résection de lobules ou poumon, sans traitement antifongiques :</p> <p>Le dosage quantitatif des IgG/précipitines avec marqueurs de l'inflammation est nécessaire à trois-six mois puis tous les six mois.</p>	<p>Recommandation forte, niveau de preuve faible</p> <p>Recommandation forte, niveau de preuve faible</p>

Références de la recommandation	Population concernée	Indication de l'acte évalué	Modalités de l'acte	Niveau de gradation
IDSA (60), USA 2016	Patients adultes et enfants, sans immunodépression ou minime souffrant : - d'aspergillose pulmonaire cavitaire chronique	Suivi d'un aspergillome après chirurgie	Diagnostic à réaliser après trois mois de symptômes cliniques : Le dosage des IgG spécifique anti- <i>Aspergillus</i> est l'examen microbiologique le plus sensible. Titration des IgG spécifiques tous les quatre à six mois pendant trois ans.	Recommandation forte, P. de qualité modérée Recommandation non gradée
	- d'allergie broncho-pulmonaire à <i>Aspergillus</i> dans l'asthme et la mucoviscidose	Dépistage d'ABDA Diagnostic	Le dosage d'IgE spécifique anti- <i>Aspergillus</i> et des Ig E totales avec des titres élevés : - recommandé pour établir le diagnostic ; - utile dans le dépistage. Dépistage recommandé tous les ans chez les patients à risque (exacerbations d'asthme).	Recommandation forte, P. de qualité élevée
	- de rhinosinusites chroniques allergiques avec polypes nasaux et mucus éosinophile	Diagnostic d'aspergillose	Des IgE spécifiques anti- <i>Aspergillus</i> sériques positives ou un test cutané positif (prick test) confirment le diagnostic mycologique d'hypersensibilité.	Recommandation forte, P. de qualité modérée



## ► Synthèse de l'évaluation des données de la littérature synthétique

Les conclusions de la littérature présentées dans cet argumentaire sont fondées sur dix-sept RBP de qualité méthodologique assez satisfaisante issues de spécialités médicales variées, reflet du large spectre clinique des pathologies dont est responsable le champignon filamenteux du genre *Aspergillus*.

Les principales conclusions et préconisations de ces recommandations sont :

### **Concernant la recherche des antigènes (Ag) sériques solubles**

Les conclusions de ces recommandations (13 RBP) rejoignent la demande sur le fait que :

- la recherche antigénique doit être réservée à la suspicion d'aspergillose invasive dans une population définie comme à risque élevé pour cette pathologie ;
- la réalisation d'un test confirmatoire après un premier test de détection positif augmente la spécificité du test, donc les performances, ce qui est cohérent avec la proposition d'inscription à la NABM d'un test de confirmation lors de la détection d'un Ag aspergillaire dans le sang. Les interprétations des tests (seuils de positivité) doivent suivre les préconisations correspondantes au milieu biologique testé.

La recherche de deux Ag présents dans la paroi des champignons *Aspergillus*, le galactomannane (GM) et le  $\beta$ -(1-3)-D-glucane (BG) relargués dans les liquides biologiques lors de leur croissance a été retenue comme élément de diagnostic d'aspergillose dans les RBP évoquant cette recherche :

- chez des **patients adultes en oncohématologie**, en situation de forte immunodépression à haut risque d'infection fongique (dans laquelle la prévalence de ces pathologies est élevée), la recherche des Ag dans le sang fait partie de l'arsenal diagnostique chez les patients adultes ;
- pour la **forme invasive d'aspergillose**.

Une seule des RBP suggère par ailleurs le dosage du GM à partir de LBA dans les formes chroniques d'aspergillose pulmonaire.

Ces RBP indiquent également que l'utilisation du test du GM est préconisée pour détecter une aspergillose invasive préférentiellement à celui du test du BG, Ag pan-fongique.

La recherche de ces Ag est préconisée dans plusieurs approches :

- pour le GM, de façon sérielle, dans le sang, deux fois par semaine, à visée de dépistage précoce chez les patients à très haut risque d'aspergillose invasive selon des critères hématologiques et cliniques, en l'absence de prophylaxie antifongique. Cette démarche est justifiée, en combinaison avec une surveillance clinique et par imagerie, afin d'initier rapidement un traitement antifongique approprié ;
- la recherche du GM peut être utilisée comme outil de diagnostic confirmatoire lorsque les signes cliniques et/ou tomodensitométriques convergent fortement pour conclure à une AI ;
- la poursuite du dosage du GM de façon itérative après l'initiation du traitement entre dans le suivi thérapeutique par la valeur pronostique de sa cinétique ;
- la recherche du GM dans le liquide de LBA apparaît plus sensible que le test sérique et la culture à partir du même prélèvement, dans les populations de moindre risque fongique en réanimation et/ou après transplantation, dans le respect des modalités d'interprétation (DO) appropriées ;
- des données rendant possiblement utile le dosage du GM dans le LCS sont avancées dans quelques RBP (sensibilité supérieure aux recherches directes) ;
- l'Ag BG, pan-fongique présente une bonne valeur prédictive négative pour exclure précocement une infection fongique invasive. Il n'existe pas assez de données pour permettre d'établir une recommandation pour sa détection dans le sang, le LBA et les autres liquides biologiques en cas de suspicion d'AI ;

- en indication pédiatrique, chez les enfants en oncohématologie à très et haut risque d'AI, le niveau de preuve de l'apport diagnostique de ces Ag pour une décision thérapeutique est faible et le dépistage dans le sang par le GM reste débattu. Le dosage du GM dans le LBA pourrait conforter un diagnostic établi par d'autres types d'examen. Il n'existe pas de données probantes pour l'utilisation du BG en pédiatrie ;
- le niveau de preuve alloué par ces RBP aux données relatives aux tests de ces Ag solubles n'est pas majeur, en l'absence d'essais de méthodologie robuste étayant la force de recommandation en pratique médicale. Aussi, les recommandations insistent sur l'inclusion de ces tests dans une stratégie diagnostique d'ensemble, comprenant les critères liés à l'hôte (« terrain ») et les critères diagnostiques obtenus par la clinique, l'imagerie et la mycologie.

Par ailleurs, s'agissant des techniques :

- un seul type de techniques est cité par Ag dans cette littérature : un test ELISA pour le GM et des tests colorimétriques pour le BG ;
- l'utilisation de la technique du latex sensibilisé (AGG) pour la recherche du GM n'est pas mentionnée, ce qui va dans le sens de la demande, qui propose de supprimer cette technique de la NABM, pour obsolescence.

#### **Concernant la recherche des anticorps (Ac) sériques anti-*Aspergillus***

Sept RBP ont examiné l'utilité de la recherche d'Ac sériques anti-*Aspergillus* dans les formes chroniques, subaiguës et allergiques de la sphère ORL et de l'appareil respiratoire chez l'enfant et l'adulte.

Elles reconnaissent le rôle important de la recherche de ces Ac sériques des isotypes IgG et/ou IgE dans l'établissement du diagnostic de **plusieurs types d'aspergilloses chroniques, subaiguës ou immuno-allergiques** notamment bronchiques, pulmonaires et sinusales, dont l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique.

Les RBP sélectionnées sont homogènes avec la demande, en ce qui concerne les indications.

S'agissant des techniques utilisées pour ces tests sériques de recherche d'Ig, les RBP préconisent les techniques quantitatives immunoenzymatiques (EIA et FEIA), d'IF indirecte, d'EI ou d'immunoprécipitation (IELP, ELS), pour dosage des précipitines, y compris celles porteuses d'activités enzymatiques (catalase et chymotrypsine).

Les RBP examinées n'évoquent pas la nécessité d'un examen de confirmation par une autre technique après la détection par un test d'Ac spécifiques (confirmation prévue à la NABM) et la coélectrosynérèse avec sérum de référence positif (COES), inscrite pour le test de confirmation, n'est pas citée dans les documents analysés.

À titre d'information complémentaire, les RBP recommandent en association, avec la recherche des IgE spécifiques, le dosage des IgE sériques totales pour le diagnostic et dans le suivi thérapeutique des formes allergiques d'aspergillose.

## 3.2 Synthèse des réponses des organismes professionnels

Quatre des cinq organisations sollicitées par écrit ont répondu au questionnaire de la HAS : le Conseil national professionnel d'allergologie et immunologie (CNPAI), le CNP de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNPBAIHH) *via* la Société française de mycologie médicale (SFMM), le CNP d'hématologie (CNPH) *via* la Société française d'hématologie (SFH) et le CNP de pneumologie-fédération française de pneumologie (CNPP). La Société francophone de transplantation (SFT) n'a fourni qu'un avis global sur l'argumentaire provisoire qui indiquait son accord sur les éléments concernant sa spécialité. Le Centre national de référence mycoses invasives et antifongiques (CNRMA) a fait part de ses positions lors d'une audition.

Il est précisé que l'argumentaire de la HAS daté du 3 mars 2017 n'a pas fait l'objet de remarques engendrant des modifications de son contenu quant à l'analyse de la littérature synthétique qui est considérée comme complète et cohérente par les organismes professionnels (OP). Certaines parties prenantes ont cité des publications dans leur réponse mais qui correspondent à des études originales non analysées dans ce travail d'évaluation court. Les éléments argumentés apportés par les cinq organismes professionnels ayant fait part de leur position sur les problématiques du diagnostic biologique des aspergilloses sont synthétisés ci-dessous. Les questionnaires complétés par les organismes professionnels sont reproduits *in extenso* en Annexe 6 à Annexe 9 et le compte-rendu de l'audition du CNRMA en Annexe 10.

### 3.2.1 Présentation des pathologies à *Aspergillus* et stratégie diagnostique

Le CNRMA a confirmé que le spectre physiopathologique des aspergilloses était très large et qu'il convenait de différencier la situation des infections invasives touchant les sujets immunodéprimés neutropéniques en oncohématologie et celle des autres affections, chroniques ou allergiques des sujets immunocompétents, essentiellement en pneumologie, qui sont numériquement les plus fréquentes. La problématique liée à la colonisation (portage asymptomatique) par *Aspergillus* et aux modalités de la distinction avec une forme cliniquement pathologique est complexe, en particulier chez l'immunocompétent : aucune technique microbiologique ne permet à ce jour cette distinction, la présence du champignon pouvant être retrouvée par sérologie (Ac) ou amplification génique (CNPP). Les prélèvements à considérer sont ceux des tissus profonds, mais la biopsie pulmonaire invasive est rarement réalisée en pneumologie (CNPP). Il est probable que la colonisation puisse engendrer des manifestations cliniques allergiques par exemple dans la mucoviscidose (CNPAI). La question est aussi d'importance pour les patients de réanimation (CNPH) et avant greffe d'organes du fait de la période d'immunosuppression post-greffe (CNRMA).

En matière de stratégie diagnostique chez les patients immunodéprimés d'hématologie, le scanner thoracique est le premier examen à effectuer (CNPH) (la recherche du signe du halo et la présence de nodules étant les éléments d'imagerie les plus pertinents de diagnostic d'une aspergillose pour le CNRMA) associé aux examens sanguins (Ag et PCR), puis, si nécessaire, à ceux sur le LBA (directs et indirects) qui permettent d'identifier d'éventuelles co-infections fréquentes pour ce type de patients. Cette stratégie n'est que peu modifiée chez l'enfant, tout en sachant que le taux de faux positifs au test du galactomannane (GM) est plus élevé (CNRMA) et que la recherche dans le LBA est plus difficile chez l'enfant et nécessite une sédation (CNPH). Il n'est pas possible pour elles de réfuter avec certitude une aspergillose par la recherche biologique seule, mais toujours par un ensemble d'éléments cliniques, radiologiques, histologiques et microbiologiques dans une démarche diagnostique reposant sur les critères préconisés par l'EORTC-MSG en 2008.

Les OP attestent qu'il n'y a pas lieu de faire à l'heure actuelle un dépistage de routine d'aspergillose, notamment par les Ag solubles, chez les personnes vivant avec le VIH.

### 3.2.2 Recherche des antigènes solubles

#### ► Indications

Les OP confirment que les Ag à rechercher dans la suspicion d'une infection fongique invasive (IFI) sont le GM et le  $\beta$ -(1-3)-D-glucane (BG). Le CNRMA affirme que dans la stratégie de détection d'aspergillose invasive (AI), ces 2 Ag n'ont pas la même place, liée au niveau de preuve dans la littérature, et que le GM est à privilégier. Selon lui, le test du GM peut être utilisé dans deux stratégies différentes : en screening (dépistage) pendant les périodes à risque d'AI (neutropénie profonde ou corticothérapie à fortes doses), ou dans un bilan diagnostique en cas de suspicion d'AI sur signes clinico-radiologiques. Lorsque la recherche directe microscopique est négative malgré une forte suspicion, ce test est intéressant pour les OP dans le sérum (CNPH) « car la positivité signale une invasion » (CNPBAIHH) et « ils sont la seule confirmation biologique de l'aspergillose dans 75 % des cas en hématologie » (CNPH). La stratégie de dépistage en cas de prophylaxie antifongique est actuellement débattue selon les OP consultés, la prévalence de l'AI devenant alors faible, ce qui ne justifie plus un dépistage sanguin itératif - deux fois par semaine - par GM (CNR). En effet, la prévalence d'AI doit être au moins de 5°% pour initiation d'un dépistage itératif par GM selon l'*European Conference on Infections in Leukemia* (ECIL), rappelé par le CNRMA et le CNPH.

L'intérêt du suivi d'un traitement antifongique par le GM (détecté auparavant positif) est confirmé par les OP au niveau sérique (CNPH, CNRMA) : une décroissance du taux sanguin de GM (ou son absence) dans les premiers jours est un facteur pronostique de réponse au traitement qui peut orienter les décisions thérapeutiques.

Si l'utilité clinique d'une recherche de GM dans le LBA paraît importante car la sensibilité est plus élevée que celle des autres examens issus d'une bronchoscopie (CNPBAIHH), il n'est pas souhaitable de le répéter (CNPH). Le CNPH estime que la recherche de GM dans le LBA est pertinente pour les patients de réanimation/ intubés, y présentant moins de contraintes, plus sensible dans cette population que le test sérique, en considérant un seuil de positivité de DO > 1 établi par les consensus internationaux. Le CNRMA souligne néanmoins que les évaluations à partir du LBA se heurtent à l'absence de standardisation dans les volumes utilisés pour le lavage et au facteur de dilution très variable des échantillons récupérés qui en résulte, non pris en compte, rendant les résultats non comparables entre études. Selon le CNPP et le CNPBAIHH, la détection du GM devrait être évaluée au cours des pathologies pulmonaires chroniques (et la mucoviscidose) par des études bien conduites : le CNPP signale que selon la recommandation de 2015 de la société européenne ESCMID (*European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases*), « la recherche du GM est aussi utile au diagnostic d'aspergillose chronique » et le CNPBAIHH pointe que : « des travaux internationaux récents montrent que la détection d'antigènes solubles dans les expectorations au cours de la mucoviscidose permet un classement affiné du stade de la maladie aspergillaire ».

S'il existe une suspicion d'atteinte cérébrale, la recherche du GM dans le LCS est moins invasive que la biopsie, et possède une très bonne VPN. Cet acte représente un nombre limité de cas par an en France (CNRMA).

Pour la population pédiatrique, chez qui le taux de faux positifs au GM est plus important que chez l'adulte, le CNRMA indique que les cliniciens n'hésitent toutefois pas à débiter empiriquement les antifongiques dès suspicion d'IFI, sans diagnostic confirmatoire, pour éviter tout retard dans la prise en charge (risque vital).

Selon les OP, le BG présente un intérêt en détection précoce dans le sang par son aspect pan-fongique s'il n'existe pas de signes plus évocateurs d'AI que d'une autre IFI chez un patient immunodéprimé, fébrile, mais nécessite en cas de positivité, des investigations ultérieures pour confirmer le genre incriminé par d'autres examens (CNPH, CNPBAIHH). Il est intéressant pour sa bonne valeur prédictive négative, notamment en association avec le GM (CNPH), mais le CNRMA



conteste son utilité clinique dans les suspicions d'AI. Le CNPP confirme « *qu'il n'y a aucune indication pour ce test dans les APC* ».

Le test au BG est également fait chez l'enfant, avec le risque d'interactions nombreuses par d'autres substances (immunoglobulines, pénicillines,...). La place de la recherche des Ag solubles chez l'enfant a été investiguée par l'ECIL-4 (Groll A *et al.*, 2014) qui a publié des recommandations pédiatriques d'onco-pédiatrie, et par un autre groupe d'experts internationaux (Lehrnbecher *et al.*) en 2017 : comme indiqué dans l'argumentaire, le BG ne fait pas l'objet de recommandations en oncohématologie pédiatrique pour recherche d'IFI en absence de données suffisantes.

Le terme de « suspicion d'aspergilloses invasives », souhaité dans le libellé de l'acte sanguin à la NABM par la CNAMTS comme seule indication remboursable, est acceptée par les OP si elle n'est pas limitée aux patients d'oncohématologie. Le CNRMA explique que cette indication est plus fréquente chez les patients immunodéprimés mais elle ne doit pas se réduire à ces seuls patients. Il existe en effet un risque d'aggravation de formes chroniques vers des formes plus invasives qui légitiment la recherche des Ag solubles dans les liquides biologiques hors indication hématologique.

## ► Techniques

### Détection/dépistage

Les OP confirment que le test d'agglutination au latex pour la détection du GM a été abandonné, trop peu sensible, au profit d'un test EIA, validé dans le sang et le LBA, mais utilisé également dans le LCS ou le liquide pleural. Les seuils de positivité du dosage des Ag solubles par ce test ont été définis par les utilisateurs pour chaque liquide biologique : concernant le GM [dans le sang une DO (densité optique)  $\geq 0,5$  sur 2 dosages successifs ou  $\geq 0,7$  sur un dosage et dans le LBA et le LCS une DO  $\geq 1$ ] et selon les indications du fabricant du seul kit disponible sur le marché français pour doser le BG. Plusieurs kits de détection du GM par techniques EIA seraient en cours de développement/validation à l'international, ainsi qu'une nouvelle technique de détection rapide sous la dénomination de « *lateral flow device* » (CNPH, CNPBAIHH) mais en France, pour le GM et le BG, seules les méthodes présentées dans l'argumentaire sont validées.

### Confirmation

S'agissant de la confirmation de la positivité du test sur Ag soluble (acte à créer à la NABM), il ressort de la consultation des OP que la positivité d'un test au GM ou au BG doit être confirmée à cause du nombre élevé de faux positifs - y compris le risque d'erreur inhérent à chaque manipulation ou de réactions croisées - dont le pourcentage diminue après deux dosages, ce qui évite de fournir aux cliniciens des résultats erronés entraînant des traitements antifongiques ou des prophylaxies secondaires, infondés et onéreux. La modalité précise de confirmation dépend de l'organisation du LBM, du jour de prescription (vendredi) et du nombre de prélèvements de patients à tester par semaine. L'idéal pour le GM est de tester un échantillon d'un second prélèvement avec reprise du premier échantillon positif (CNPH, CNPBAIHH, CNRMA) et pour ce faire, un délai de 48 heures (cité dans la demande) est réalisable, hormis pour la fin de semaine – 72 heures du vendredi au lundi (CNPH) - et pour des patients en ambulatoire (CNRMA), ce qui permet plus de souplesse.

## 3.2.3 Recherche des anticorps spécifiques sériques

### ► Indications

Les OP indiquent que cette recherche permet de diagnostiquer chez les patients non immunodéprimés, les aspergilloses chroniques et subaiguës (recherche des IgG spécifiques) le plus fréquemment bronchiques, pulmonaires et rhinosinusiennes, ainsi que les affections immuno-allergiques (recherche des IgE et dans une moindre mesure des IgG/précipitines), comme l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA). Le CNRMA rappelle qu'il s'agit de l'acte de



recherche d'aspergillose le plus fréquent en matière de prescription à l'heure actuelle et que dans ce contexte, les analyses sont souvent effectuées en LBM de ville. La complexité diagnostique est pointée par les OP : elle est liée à l'état de colonisation et aux situations infectieuses variées pour un genre provoquant chez l'homme la production d'Ac divers dont la détection par une seule technique n'est pas certaine. Un OP (CNPBAIHH) ajoute que la mesure des Ac précipitants participe, chez les patients pluri-infectés, à la recherche qualitative d'identification par l'activité enzymatique, un autre OP précisant que ces Ac signalent habituellement une infection tissulaire (CNPP). Le CNRMA souligne que de façon générale, les pneumologues - les plus concernés par ces pathologies aspergillaires complexes - doivent clairement édicter leur stratégie diagnostique à l'intention des biologistes, qui suivent alors leur demande, puis analyser et interpréter les données dans le contexte clinique de chaque patient. Il n'y a pas lieu de se poser en biologie de routine la question de l'utilité des autres isotypes (IgA et IgM). Il précise également qu'il n'y a pas d'indication de recherche d'Ac en hématologie chez l'immunodéprimé.

## ► Techniques

### Détection initiale (dépistage)

Parmi les techniques de dosage des Ac inscrites à la NABM, celles à privilégier pour les PP doivent être reproductibles grâce à une standardisation/automatisation et permettre une quantification : les techniques immunoenzymatiques (ELISA) apparaissent comme les plus simples à mettre en œuvre (CNPAI, CNRMA). Les techniques d'IDD et d'HAGG ne sont que semi-quantitatives et non reproductibles et pourraient laisser la place à d'autres techniques plus standardisées comme l'HAI (CNPBAIHH). Pour les pathologies pulmonaires chroniques, les techniques d'immunoprécipitation mettant en évidence la présence d'enzymes aspergillaires (catalase et chymotrypsine) via la formation d'arcs de précipitation auraient actuellement une meilleure spécificité que l'ELISA, avec la réserve du choix de l'Ag utilisé (CNPP, CNPAI). Le CNRMA explique la difficulté à utiliser des tests avec Ag monoclonaux à cause du nombre très élevé d'épitopes aspergillaires, et le risque plus important de faux négatifs puisque tous les patients ne développent pas d'Ac contre l'épitope ciblé dans le test. Les préparations polyclonales demeurent de ce fait pertinentes malgré des défauts de standardisation inhérents à leur mode de production. Les préparations à base d'*A. fumigatus* suffisent à la détection de la majorité des cas pathologiques en France où cette espèce est majoritaire (CNRMA).

Le CNRMA relate que les ELISA commercialisées se développent, plusieurs sont apparues sur le marché, mais il conviendra de vérifier les performances des plus récentes. Par ailleurs, les techniques ELISA « maison » devront passer le niveau d'exigence de l'accréditation. Dans ce cadre, les LBM ont à choisir des techniques les plus reproductibles et le CNRMA pense que cette rationalisation va éliminer de fait les techniques anciennes non automatisables car les contraintes de formations du personnel sont très lourdes pour les techniques à lecture visuelle. Parmi les techniques de dépistage possibles, l'hémagglutination (HAI) est considérée standardisée et reproductible (CNPBAIHH).

### Confirmation

La confirmation d'un test positif avec une technique utilisée en première intention par un second test, de technicité différente, est nécessaire pour augmenter la spécificité selon les OP. Les techniques de confirmation actuellement à la NABM (IELP, COES et IE) leur paraissent adéquates sachant qu'un kit de Western Blot (ou immunoempreinte IE) a été commercialisé en 2015, engendrant une augmentation de la fréquence d'utilisation de cette technique devenue plus standardisée et plus rapide (CNPBAIHH).

## ► Suivi

Le suivi par les Ac avec dosage itératif du sérum ayant servi au dépistage est inscrit à la NABM, mais la CNAMTS propose de préciser le caractère quantitatif de la technique à utiliser. Le suivi des formes chroniques et/ou allergiques est réalisé selon un rythme trimestriel ou annuel par Ac spéci-

fiques - IgG pour les formes chroniques, IgG et IgE pour les formes allergiques (CNPBAIHH). Il peut se justifier, selon le CNRMA, lorsqu'un risque de repousse aspergillaire est craint après une résection difficile - mais le CNPP déclare que des études prospectives sont à mettre en place pour valider l'intérêt du suivi thérapeutique (pharmacologique ou chirurgical) des aspergilloses chroniques par la sérologie des Ac, qui ne repose pas sur des études de bon niveau de preuve. Certaines techniques de recherche de précipitines avec dosage qualitatif et quantitatif de l'activité enzymatique ont un intérêt dans le diagnostic différentiel de patients poly-infectés puis dans leur suivi, à la condition que les techniques soient standardisées. Par conséquent, deux OP dont le CNRMA considère que les dosages itératifs par techniques quantitatives de facteurs (Ac ou Ag) de suivi de la maladie aspergillaire doivent être réalisées systématiquement par la même technique et préférentiellement dans le même LBM afin de diminuer les facteurs de variabilité des résultats et souhaiteraient que soit demandé aux cliniciens, à travers l'avis rendu par la HAS, de transmettre cette préconisation aux patients.

## 4. Discussion et conclusions

Dans le cadre de l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale, la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) a sollicité, en septembre 2015, l'avis de la HAS sur la révision de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) concernant les actes de diagnostic biologique de l'aspergilliose dont les agents infectieux sont des champignons filamenteux du genre *Aspergillus* (nombreuses espèces pathogènes pour l'homme dont majoritairement *A. fumigatus* en France).

L'évaluation réalisée par la HAS consiste en une analyse critique de la littérature synthétique identifiée suite à une recherche systématique, puis sélectionnée sur des critères explicites, ainsi qu'au recueil de la position argumentée des organismes professionnels, interrogés en tant que parties prenantes. En l'espèce, la littérature retenue a consisté en dix-sept RBP de qualité méthodologique assez satisfaisante, et la position professionnelle est celle d'organismes de biologie médicale, d'hématologie, d'allergologie et de pneumologie ainsi que celle du CNRMA.

Au total, l'évaluation de la HAS ainsi conduite permet d'énoncer les points conclusifs suivants sur le diagnostic biologique d'aspergilliose :

Pour rappel, les voies aériennes constituent la porte d'entrée habituelle des spores d'*Aspergillus* expliquant les localisations pathologiques principalement dans l'appareil respiratoire et les pathologies aspergillaires recouvrent de multiples formes, catégorisées en aspergilloses aiguës, subaiguës, chroniques et/ou immuno-allergiques selon le statut immunitaire de la personne atteinte, avec des pronostics variables pouvant être rapidement péjoratifs dans les formes invasives. Selon le tableau clinique et le niveau d'immunocompétence du sujet, le diagnostic peut s'avérer complexe et la stratégie diagnostique ne fait pas appel aux mêmes types d'examen biologiques. Ceci étant, le diagnostic doit être posé et la décision de traitement prise sur l'ensemble des données cliniques, radiologiques, histologiques et mycologiques à la disposition du clinicien, au cours d'un dialogue clinico-biologique.

**L'évaluation est en faveur de la modification du libellé de recherche des antigènes solubles spécifiques dans le sang (et les autres liquides biologiques)** portant sur deux points :

- limiter la recherche d'antigènes solubles spécifiques aux situations de **suspicion d'aspergilliose invasive (AI)**. Ces situations concernent en premier lieu le diagnostic initial en oncohématologie chez des patients adultes immunodéprimés avec neutropénie sans prophylaxie antifongique, mais possiblement chez des patients atteints de formes chroniques ou subaiguës graves d'aspergilliose lorsque l'invasivité est redoutée. Cette entité inclut également la recherche itérative d'antigènes solubles deux fois par semaine chez des patients immunodéprimés à très haut risque d'infection fongique, population dans laquelle la prévalence de l'aspergilliose invasive est au moins de 5 % (leucémies aiguës et après allogreffe de CSH notamment). Ce test sanguin peut être répété, en cas de positivité, après l'initiation d'un traitement antifongique car la cinétique des taux mesurés sur les premiers jours est un facteur pronostique de réponse au traitement.

Chez l'enfant en oncohématologie à risque élevé, les avis divergent sur l'utilité clinique des Ag solubles, au regard de la mise en œuvre d'un traitement antifongique empirique. Dans les autres situations nosologiques, la pertinence clinique de cet examen n'a pas été prouvée.

L'analyse a mis en évidence que parmi les Ag solubles dont le dosage est disponible, le galactomannane (GM), spécifique du genre *Aspergillus*, présente de meilleures performances pour le diagnostic d'AI dans le sang et dans d'autres liquides biologiques (LBA et LCS) que le  $\beta$ -(1-3)-D-glucane (BG), Ag commun à plusieurs genres de champignons pathogènes. Dans le sang, le dosage itératif du GM - tant que le risque aspergillaire est élevé - a l'avantage d'être non invasif chez des patients fragilisés et de permettre, si positif, d'initier précocement une prise en charge thérapeutique.

Le BG est intéressant par sa bonne valeur prédictive négative pour exclure une pathologie fongique invasive dans un tableau clinico-radiologique peu précis. Lorsque le tableau est plus spécifiquement évocateur d'une aspergillose invasive, le GM est à préconiser.

- supprimer pour cet acte la mention de la technique d'agglutination au latex sensibilisé (AGG) qui est obsolète. Actuellement, le GM est recherché par technique EIA, et le BG, par technique colorimétrique (test basé sur une modification du mécanisme du lysat d'amœbocyte de limule).

**L'évaluation est aussi en faveur de la création à la NABM d'un acte de confirmation de la présence d'Ag solubles spécifiques.**

Une recherche positive d'Ag soluble spécifique nécessite au plan technique une confirmation avec la même technique par un deuxième dosage sur un nouveau prélèvement, avec reprise d'un échantillon du premier prélèvement avant de rendre des résultats aux cliniciens. La réalisation de cette confirmation est généralement possible sous 48 heures comme précisé dans la demande, mais un délai de 72 heures peut être nécessaire pour des laboratoires moins sollicités ou du vendredi au lundi.

En ce qui concerne **la mise en évidence d'Ac sériques anti-Aspergillus**, cette recherche fait partie des critères de diagnostic des formes chroniques, subaiguës ou immuno-allergiques d'aspergillose : cette recherche se focalise sur les isotypes IgG pour toutes les formes aspergillaires à l'exclusion des formes invasives, IgE pour caractériser les formes allergiques, dont l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA). Les autres isotypes ne participent pas aux examens de routine.

**La recherche des Ac spécifiques doit comprendre deux techniques différentes : une pour la recherche initiale, et une autre lorsqu'il s'agit de confirmer la présence de l'affection aspergillaire.**

Pour la recherche initiale, les techniques de recherche d'Ac doivent être standardisées, reproductibles, fournissant des valeurs quantitatives (titrage) pour les Ac. Il s'agit notamment de l'EIA.

Les techniques de confirmation actuelles (par techniques COES, IELP ou IE) n'appellent pas de commentaires et sont maintenues.

Pour le suivi des patients par des tests itératifs (titrage d'Ac), la technique utilisée doit permettre d'apprécier quantitativement la cinétique des titres d'Ac, et ce depuis la détection initiale.

Enfin, le suivi de la pathologie aspergillaire, en particulier les mesures itératives de suivi biologique (recherche d'Ac ou d'Ag), doit être réalisé systématiquement par la même technique et dans le même laboratoire de biologie médicale, afin de diminuer les facteurs de variabilité des résultats.

## Annexe 1. Recherche documentaire

### Bases de données bibliographiques

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et/ou types d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche.

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française.

Les Tableau 7 et Tableau 8 présentent de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans les bases de données *Medline* et *Embase*.

Le nombre total de références obtenues par interrogation des bases de données bibliographiques est 592.

**Tableau 7. Stratégie de recherche dans la base de données *Medline*.**

Type d'étude/sujet Termes utilisés		Période
<b>Diagnostic de l'aspergillose</b>		
<b>Recommandations, méta-analyses, revues systématiques</b>		Pas de limite – 01/2017
Étape 1	(Aspergillosis/diagnosis OR Aspergillosis, Allergic Bronchopulmonary/diagnosis OR Neuroaspergillosis/diagnosis OR Pulmonary Aspergillosis/diagnosis OR Invasive Pulmonary Aspergillosis/diagnosis)/de OR (Aspergillus/immunology OR Aspergillus/isolation and purification)/de OR ((aspergill* OR neuroaspergill*)/ti,ab AND (diagnosis OR detection*)/ti,ab)	
OU		
Tape 2	((Invasive Fungal Infections! OR Mycoses!)/de OR (fungal OR fungus OR mycos*)/ti) AND (Mannans OR beta-Glucans!)/de OR galactomannan/Supplementary Concept OR (galactomannan* OR beta glucan* OR $\beta$ glucan* OR $\beta$ -d-glucan* OR $\beta$ -1-3-d-glucan* OR 1,3- $\beta$ -D-glucan* OR (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Glucan* OR beta-D-Glucan*)/ti,ab	
ET		
Etape 3	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR (Health Planning Guidelines OR Meta-Analysis as Topic)/de OR (Practice Guideline OR Guideline OR Consensus Development Conference OR Consensus Development Conference, NIH OR Meta-Analysis)/pt OR (metaanalys* OR meta-analys* OR meta analysis OR systematic review* OR systematic overview* OR systematic literature review* OR systematical review* OR systematical overview* OR systematical literature review* OR systematic literature search)/ti,ab OR cochrane database syst rev/ta	
<b>Revues générales</b>		01/2011 -01/2017
Etape 4	(Aspergillosis/diagnosis OR Aspergillosis, Allergic Bronchopulmonary/diagnosis OR Neuroaspergillosis/diagnosis OR Pulmonary Aspergillosis/diagnosis OR Invasive Pulmonary Aspergillosis/diagnosis)/de maj OR (Aspergillus/immunology OR Aspergillus/isolation and purification)/de maj OR ((aspergillos* OR neuroaspergillos*)/ti AND (diagnosis OR detection*)/ti)	
ET		
Etape 5	Review/ti OR Review/pt	

Type d'étude/sujet		Période
Termes utilisés		
<b>Diagnostic des infections fongiques invasives</b>		
<b>Recommandations</b>		01/2006 – 01/2017
Etape 6	Invasive Fungal Infections!/analysis] OR Invasive Fungal Infections!/anatomy and histology OR Invasive Fungal Infections!/diagnosis OR Invasive Fungal Infections!/diagnostic imaging OR Invasive Fungal Infections!/microbiology OR Mycoses!/anatomy and histology OR Mycoses!diagnosis OR Mycoses!/diagnostic imaging OR Mycoses!/isolation and purification OR Mycoses!/microbiology)/de OR (fungal OR fungus OR mycos* OR antifungal* OR anti-fungal*)/ti,ab	
ET		
Etape 7	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR Health Planning Guidelines/de OR (Practice Guideline OR Guideline OR Consensus Development Conference OR Consensus Development Conference, NIH)/pt	
<b>Aspergillose dans l'asthme ou la mucoviscidose</b>		
<b>Recommandations, méta-analyses, revues systématiques</b>		01/2006 – 01/2017
Etape 8	(Aspergillosis OR Aspergillosis, Allergic Bronchopulmonary OR Neuroaspergillosis OR Pulmonary Aspergillosis OR OR Invasive Pulmonary Aspergillosis)/de OR (aspergill* OR neuroaspergill*)/ti,ab	
ET		
Etape 9	(Asthma! OR Cystic Fibrosis)/de OR (asthma*OR cystic fibros*[TIAB] OR mucoviscidos*)/ti,ab	
ET	Etape 3	
<b>Infections fongiques invasives dans l'asthme ou la mucoviscidose</b>		
<b>Recommandations, méta-analyses, revues systématiques</b>		01/2006 – 01/2017
Etape 6 ET Etape 9 ET Etape 3		
<b>Neutropénie et fièvre</b>		
<b>Recommandations, méta-analyses, revues systématiques</b>		01/2006 – 01/2017
Etape 10	Neutropenia!/de OR neutropenia/ti,ab	
ET		
Etape 11	Fever!/de OR (fever* OR hyperthermia* OR pyrexia*)/ti,ab	
ET	Etape 3	

de : descriptor ; de maj : major topic ; ti : title ; ab : abstract ; ta : journal title ; pt : publication type ; ! : explosion du terme générique



Tableau 8. Stratégie de recherche dans la base de données Embase

Type d'étude/sujet		Période
Termes utilisés		
<b>Diagnostic de l'aspergillose</b>		
<b>Recommandations, méta-analyses, revues systématiques</b>		01/2006 – 02/2017
Etape 1	(Aspergillosis/diagnosis OR Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis/diagnosis OR Aspergilloma/diagnosis OR Central Nervous System Aspergillosis/diagnosis OR Invasive Aspergillosis/diagnosis OR Lung Aspergillosis/diagnosis OR Aspergillosis, Allergic Bronchopulmonary/diagnosis OR Neuroaspergillosis/diagnosis OR Pulmonary Aspergillosis/diagnosis OR OR Invasive Pulmonary Aspergillosis/diagnosis OR Aspergillus!/diagnosis OR Aspergillus!/immunology OR Aspergillus!/isolation & purification)/de OR ((aspergill* OR neuroaspergill*)/ti AND (diagnosis OR detection*)/ti)	
ET		
Etape 2	(consensus OR guideline* OR position paper* OR recommendation* OR statement*)/ti OR Health Planning Guidelines OR Consensus Development OR Practice Guideline)/de OR (Consensus Development Conference OR Consensus Development Conference, NIH OR Guideline OR Practice Guideline)/pt OR (meta analys* OR metaanalys* OR systematic literature search OR systematic* literature review* OR systematic* overview* OR systematic* review*)/ti OR (Meta-Analysis OR Systematic Review)/de OR Meta-Analysis/pt OR (cochrane database syst rev*)/pub	

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract ; pub : publication title ; pt : publication type ; ! : explosion du terme générique

## Sites consultés

Dernière consultation : janvier 2017

- Bibliothèque médicale Lemanissier
- Catalogue et index des sites médicaux francophones - CISMéF
- Comité d'évaluation et de diffusion des innovations technologiques - CEDIT
- Évaluation des technologies de santé pour l'aide à la décision (Fédération hospitalière de France) - ETSAD
- Expertise collective INSERM
- Infectiologie.com
- Société française d'hématologie
- Société française de médecine générale - SFMG
- Société française de microbiologie - SFM
- Société française de mycologie médicale - SFMM
- Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire
- Société francophone de transplantation
- Société de pneumologie de langue française - SPLF
  
- *Adelaide Health Technology Assessment - AHTA*
- *Agency for Healthcare Research and Quality - AHRQ*
- *Alberta Heritage Foundation for Medical Research - AHFMR*
- *Alberta Medical Association*
- *Allied Health Evidence*
- *American College of Physicians - ACP*
- *American Society for Blood and Marrow Transplantation*
- *American Society for Microbiology - ASM*
- *American Society of Hematology*

- *Aspergillus Website*
- *Australia and New Zealand Horizon Scanning Network*
- *Australasian Society for Infectious Diseases - ASID*
- *Australian Safety and Efficacy Register of New Interventional Procedures - Surgical*
- *Blue Cross Blue Shield Association - BCBS - Technology Evaluation Center*
- *BMJ Clinical Evidence*
- *British Columbia Guidelines*
- *British Committee for Standards in Haematology*
- *British Society for Medical Mycology*
- *British Thoracic Society*
- *California Technology Assessment Forum - CTAF*
- *Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health - CADTH*
- *Canadian Task Force on Preventive Health Care*
- *Centers for Disease Control and Prevention - CDC*
- *Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE*
- *Centre for Clinical Effectiveness - CCE*
- *Centre for Effective Practice*
- *Centre for Reviews and Dissemination databases*
- *Clinical Practice Guidelines Portal*
- *CMA Infobase*
- *Cochrane Library*
- *College of Physicians and Surgeons of Alberta - CPSA*
- *European Aspergillus PCR Initiative*
- *European Confederation Of Medical Mycology - ECMM*
- *European Hematology Association*
- *European Respiratory Society*
- *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases - ESCMID*
- *European Society for Blood and Marrow Transplantation*
- *Euroscan*
- *Guidelines International Network - GIN*
- *Health Services Technology Assessment Text - HSTAT*
- *Horizon Scanning Research & Intelligence Centre*
- *Infectious Diseases Society of America - IDSA*
- *Institute for Clinical Evaluative Sciences - ICES*
- *Institute for Clinical Systems Improvement - ICSI*
- *Institut national d'excellence en santé et en services sociaux - INESSS*
- *Institute for Health Economics Alberta - IHE*
- *International Network of Agencies for Health Technology Assessment - INAHTA*
- *International Pediatric Fungal Network*
- *International Society for Human and Animal Mycology - ISHAM*
- *Malaysian Health Technology Assessment Section - MaHTAS*
- *McGill University Health Centre*
- *Medical Mycological Society of the Americas*
- *Medical Services Advisory Committee - MSAC*
- *National Coordinating Centre for Health Technology Assessment - NCCHTA*
- *National Guideline Clearinghouse - NGC*
- *National Health and Medical Research Council - NHMRC*
- *National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE*
- *New Zealand Guidelines Group - NZGG*
- *NHS Evidence*
- *Ontario Health Technology Advisory Committee - OHTAC*
- *Prospero*

- *Public Health Agency of Canada - Diseases Prevention and Control Guidelines*
- *Scottish Intercollegiate Guidelines Network - SIGN*
- *Singapore Ministry of Health*
- *Society for Applied Microbiology*
- *Swiss Society for Infectious Diseases*
- *Tripdatabase*
- *U.S. Preventive Services Task Force*
- *Veterans affairs, Dep. Of Defense Clinical practice guidelines*
- *Veterans Affairs Evidence-based Synthesis Program*
- *West Midlands Health Technology Assessment Collaboration - WMHTA*

## **Veille**

En complément, une veille a été réalisée jusqu'à fin avril 2017 sur les sites internet énumérés ci-dessus et sur *Medline* à partir des équations du Tableau 7.

## Annexe 2. Liste des tableaux et figures

Tableau 1. Actes de diagnostic d'une aspergillose remboursés par les caisses d'assurance maladie. ....	23
Tableau 2. Stratégie d'interrogation documentaire dans les bases et résultats.....	26
Tableau 3. Organismes professionnels contactés pour les consultations de parties prenantes. ....	29
Tableau 4. Recommandations de bonne pratique (RBP) traitant de l'utilisation d'un test du galactomannane (GM) .....	37
Tableau 5. Recommandations de bonne pratique traitant de l'utilisation d'un test du $\beta$ -(1-3)-D-Glucane (BG). ....	42
Tableau 6. Recherche des anticorps anti- <i>Aspergillus</i> dans les pathologies allergiques et/ou chroniques. ....	48
Tableau 7. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Medline</i> . ....	60
Tableau 8. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Embase</i> .....	62
Figure 1. Structure de la forme asexuée d'un champignon du genre <i>Aspergillus</i> .....	8
Figure 2. Diverses formes de l'aspergillose pulmonaire chronique (APC) d'après Denning <i>et al.</i> pour l' <i>European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases</i> (15).....	11
Figure 3. Diagramme de sélection des références bibliographiques analysées. ....	28

### Annexe 3. Grille d'évaluation AGREE II-GRS\* (45)

<b>Méthode d'élaboration des recommandations*</b>
Domaines de spécialité des auteurs et compétence en méthodologie ? Recherche bibliographique systématique et exhaustive bien décrite ? Pertinence des grilles d'évaluation utilisées pour estimer le corpus d'évidences scientifiques du document (niveau de preuve formulé par question clinique et non par étude originale) ? Adéquation du corpus d'évidences avec le grade de recommandation retenu ? Exhaustivité des critères de jugement retenus ?
<b>Clarté de présentation des recommandations</b>
Compréhension rapide du lecteur concernant l'information utile du document ? Hiérarchisation évidente des stratégies pour le lecteur ?
<b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b>
Transparence et reproductibilité du travail et de ses conclusions ? Prise en compte de la position de l'ensemble des parties prenantes concernées ?
<b>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique</b>
Démonstration évidente de son utilité en vie réelle ? La population cible est-elle pertinente ?

\* traduction libre de l'anglais

## Annexe 4. Analyse sur critères méthodologiques des recommandations de bonne pratique portant sur les tests diagnostiques d'infection par *Aspergillus*

Concernant les abréviations utilisées, se reporter à la partie « abréviation et acronymes » en début d'argumentaire.

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p><i>Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group (19), Europe, 2008</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration des recommandations :</b> Processus d'élaboration détaillé : basé sur un groupe d'experts après une recherche exhaustive de la littérature puis processus de consensus entre experts En l'absence de consensus sur un sujet il est procédé à un vote et décision à la majorité. Financements et liens d'intérêt indiqués.</p> <p><b>Clarté de présentation des recommandations :</b> tableaux de synthèse précis et clairs. Pas de gradation car considérées comme des définitions.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique :</b> bonne sauf pour l'utilisation du test de détection du <math>\beta</math>-(1-3)-D-glucane (BG) antigène fongique qui n'est pas argumenté sur les données de la littérature.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique :</b> les auteurs entourent leurs définitions de précautions sur leur usage, réservé à la recherche et non à la pratique clinique.</p>	<p>Travail visant à définir - dans la <u>population ciblée</u> des patients atteints de cancer ou traités par greffe allogénique de CSH - le diagnostic <b>d'infection fongique invasive (IFI)</b> par une classification de niveau de risque comprenant les critères liés à l'hôte, microbiologiques et cliniques. Quatre classes de probabilité de survenue d'IFI ont été définies sur cette base : prouvée, probable, possible, absente.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>IFI prouvée :</b> critères microbiologiques Une IFI prouvée repose sur l'<u>identification directe</u> après aspiration d'un liquide (expectorations, LBA, sinusal, bronchique) ou biopsie tissulaire comme suit : <ul style="list-style-type: none"> <li>- soit histopathologique, cytopathologique ou directe permettant de visualiser l'hyphe,</li> <li>- soit une culture positive réalisée dans des conditions stériles.</li> </ul> </li> </ul> <p><u>L'hémoculture n'est pas prise en considération</u> pour <i>Aspergillus</i>. Cette définition s'applique à tous les patients.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>IFI probable (2008) :</b> critères <u>microbiologiques</u> <u>Test de détection indirecte</u> : par recherche d'antigène(s) ou constituant pariénaire : <ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>pour <i>Aspergillus</i></u> : détection de l'Ag GM dans le sérum, plasma (au moins deux échantillons 2002), LBA, LCS,</li> <li>- pour les pathologies fongiques invasives (sans spécificité de genre) : <math>\beta</math>-(1-3)-D-glucane (BG) détecté dans le sérum.</li> </ul> </li> </ul>	<p>Consensus établi par deux sociétés savantes : - <i>European Organization for Research and Treatment of Cancer (invasive Fungal Infection Cooperative Group)</i>, - <i>National Institute of Allergy and Infectious Diseases (Mycoses Study Group)</i>.</p> <p>Publication révisant le document de 2002, "<i>Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus</i>" (18)</p> <p>Pour aider au diagnostic et standardiser les critères de recherche clinique et épidémiologique des maladies fongiques invasives (nouvelle terminologie de 2008).</p> <p>La définition d'IFI possible a évolué de 2002 à 2008 : prend en compte les facteurs liés à l'hôte et des facteurs cliniques évidents (sans alternative diagnostique).</p> <p>Il est considéré qu'une hémoculture positive pour <i>Aspergillus</i> représente systématiquement une contamination.</p> <p>Les recommandations ne concernent pas les patients en unité de soins intensifs par impossibilité de définir des critères liés à l'hôte dans cette situation.</p>



Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p><i>ECIL recommendations for the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic SCT recipient. European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-3) (32), Europe, 2012</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : principes et processus fournis : groupes de travail issus de quatre sociétés savantes dédiés par question, consensus par assemblée plénière.</p> <p>Gradation de la force des recommandations (A-C) et la qualité des preuves (I-III).</p> <p>Recherche bibliographique indiquée (2 bases, 2010).</p> <p>Modalités de financement indiquées et information sur les liens d'intérêts.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : bonne pour la recommandation principale, moyenne pour l'ensemble narratif.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : bonne, basée sur les résultats de la littérature de preuve (méta- analyses).</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : elle n'est pas évidente du fait de la présentation compacte, l'absence d'arbre décisionnel.</p>	<p>Chez les patients neutropéniques adultes en oncologie à haut risque : leucémie myéloblastique aigue avec neutropénie prolongée ou syndrome myélodysplasique sous chimiothérapie intensive ou greffe allogénique de CSH :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dépistage par un test de GM tous les trois-quatre jours (A-II)</li> </ul> <p>- Ce test est à combiner avec un examen clinique et microbiologique et une tomographie (A-II).</p> <p>Sous traitement, le dosage du GM peut être poursuivi, indicateur de succès ou à l'inverse de mauvais pronostic.</p> <p>- La recherche du GM peut se faire dans le LCS et LBA avec un seuil de positivité fixé à 1,0 (non confirmé par fabricant).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La recherche du BG n'est que moyennement recommandée chez ces patients, du fait de performances diagnostiques variables (B-II). Deux tests consécutifs sont recommandés pour obtenir de très bonnes spécificité et VPP.</li> </ul>	<p>Le document indique que pour le GM, deux tests positifs consécutifs au seuil de 0,5 ou 1 positif au seuil de 0,7 doivent accélérer la recherche d'un diagnostic d'AI.</p> <p>Les auteurs pointent les facteurs intercurrents risquant de conduire à de faux positifs ou négatifs.</p> <p>Pour le BG, il convient de définir le seuil de positivité et la fréquence des tests nécessaire à l'établissement d'une surveillance.</p> <p>Les auteurs considèrent qu'il manque des données issues d'essais cliniques randomisés pour évaluer l'utilité clinique de ces tests et donner un meilleur niveau de preuve (A-I).</p>
<p><i>Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology-guidelines from the Infectious Diseases Working Party in Haematology and Oncology of the German Society for Haematology and Oncology (AGIHO), (65) Allemagne, 2012</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration des recommandations</b> : panel de spécialistes, recherche bibliographique systématique, étapes successives d'élaboration et conférence plénière avec consensus.</p> <p>Méthode de gradation de la force de recommandation (A à E) de plus forte (A) à faible (C) et de ne pas recommander (D, E).</p> <p><b>Clarté de présentation des recommandations</b> : moyenne, des recommandations sont gradées dans un tableau et d'autres dans le texte.</p>	<p>Hématologie maligne avec neutropénie et chimiothérapie neutropénisante.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Recommandation générale</li> </ul> <p>Le niveau de preuve le plus élevé de la présence d'une IFI doit être obtenu avant la mise en place d'un traitement antifongique systémique (A).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Détection d'Ag et Ac</li> </ul> <p>- La recherche de GM dans le sang par test ELISA <i>Aspergillus</i> est conseillée deux fois par semaine ou plus (A) (la positivité est définie au seuil de 0,5 après deux dosages consécutifs). Bonne valeur prédictive négative (&gt;90 %). Le GM peut être positif avant les signes cliniques, il peut permettre aussi le suivi thérapeutique (A).</p>	<p>Modalités de financement et liens d'intérêts industriels indiqués.</p> <p>Les auteurs expliquent que le niveau de preuve n'est pas gradé en absence d'essais cliniques randomisés dans la discipline.</p> <p>Population large : patients avec cancer et en hématologie.</p> <p>Les auteurs indiquent que les méthodes d'amplification génique n'étant pas standardisées, ne peuvent être recommandées de façon formelle.</p>

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : argumentaire synthétique basé sur la littérature de preuve.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique</b> : bonne, arbre décisionnels indiqués à l'usage des médecins.</p>	<p>- Le GM est détectable dans le LBA ainsi que dans le LCS où il semble supérieur à la culture et certaines méthodes PCR pour identifier les IFI <b>(B)</b>.</p> <p>- La recherche des Ac anti-aspergillaires n'est pas recommandée en routine <b>(E)</b>.</p> <p>- Le dépistage (screening) du BG dans le plasma pour le diagnostic d'IFI peut être recommandé chez les patients d'hématologie à haut risque (avec agranulocytose &lt; 500 neutrophiles pendant &gt;7 jours) <b>(B)</b>.</p>	
<p><i>Diagnosis and antimicrobial therapy of lung infiltrates in febrile neutropenic patients (allogeneic SCT excluded) : updated guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (BGHO), (66) Allemagne, 2015</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration des recommandations</b> : panel de spécialistes, étapes successives et conférence plénière avec consensus (si consensus non trouvé, vote à la majorité). Pas de date indiquée pour la recherche bibliographique. Méthode de gradation avec force de recommandation (I-III) et niveau de preuve (A-D). Modalités de financement internes et liens d'intérêts (industriel) indiqués.</p> <p><b>Clarté de présentation des recommandations</b> : moyenne, recommandations gradées avec deux items.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : objectif déclaré de pragmatisme dans la prise en charge des patients, argumentaire mis en annexe de la publication.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique</b> : schéma de stratégie diagnostique. Fourni.</p>	<p>Population de patients neutropéniques fébriles avec infiltrat pulmonaire, à l'exception de ceux ayant reçu une greffe de cellules souches allogéniques.</p> <p>- Chez les patients souffrant de LMA ou SMD avec risque de neutropénie ≥ 10 jours, la <u>surveillance par recherche itérative de GM dans le sang (dépistage) est préconisée (B-II)</u>.</p> <p>- La place du BG n'est pas clairement définie dans ce dépistage.</p> <p>La bronchoscopie et le LBA sont à effectuer selon un protocole standardisé <b>(A-II)</b>.</p> <p>Ils devraient être disponibles dans les 24 h après le constat d'infiltrat <b>(B-III)</b>.</p> <p>Les biopsies transbronchiques ne sont pas recommandées chez les patients thrombopéniques et neutropéniques fébriles <b>(D-II)</b>.</p> <p><u>Schéma de diagnostic recommandé</u> :</p> <p>- Dosage de l'Ag aspergillaire GM par méthode ELISA sandwich dans le sang et le LBA <b>(A)</b>.</p> <p><u>Faits indiquant un lien de causalité avec des infiltrats pulmonaires</u> :</p> <p>Test GM positif à un seuil de DO = 0,5 dans le sang, ou le LBA (un seuil ≥ 1,0 pourrait être plus approprié dans le LBA) (non gradé).</p>	<p>Les auteurs indiquent ne pas avoir gradé la force de la recommandation pour les aspects microbiologiques en l'absence d'essais cliniques randomisés.</p> <p>La population concernée est très précise : patients neutropéniques avec infiltrat pulmonaire, mais sont exclus les patients ayant reçu une greffe de cellules souches allogéniques.</p> <p>Relatent les risques de faux positifs avec des médicaments pour chacun des Ag des champignons pathogènes et méta-analyses sur GM et BG prises en compte.</p> <p>Ils relèvent que les pathogènes isolés des hémocultures, de LBA ou de sécrétions bronchiques ne sont pas toujours pertinents avec l'étiologie de l'infiltrat bronchique.</p>
<p><i>British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases (59) UK, 2015</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : fondée sur les conclusions d'un groupe de travail basé sur recherche bibliographique exhaustive mais peu de précisions sur la méthode de consensus entre experts et les critères de jugement. Population non précisément définie : immunodéprimée.</p>	<p><u>Patient avec suspicion d'IFI</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Le dépistage par recherche du GM doit être réservé aux patients de haut risque (niveau de preuve modéré) :</li> </ul>	<p>Résultats positifs de recherche de GM à fournir aux cliniciens dans les deux heures.</p> <p>L'absence d'essais comparatifs restreint les recommandations sur l'utilisation des Ig contre <i>Aspergillus</i> (Ag de <i>A. fumigatus</i>).</p>

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p>Gradation des preuves : qualité élevée, modérée ou faible. Informations sur les liens d'intérêts fournies.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : moyennement bonne, gradation de chaque élément de recommandation non explicite.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : moyennement étoffé.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : chaque ligne de recommandation est identifiable pour la pratique médicale mais pas d'algorithme de stratégie diagnostique.</p>	<p>- patients avec allogreffe de CSH, leucémie aiguë myéloblastique, chimiothérapie intensive de rechute : dépistage itératif dans le sang de ces patients (seuil=0,5) : chez ces patients sans prophylaxie, la recherche du GM dans le sang est à effectuer deux fois par semaine ;</p> <p>- patients transplantés de poumon ou en soins intensifs : dépistage itératif dans le LBA (seuil &gt; 1,0).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Le BG sanguin a une bonne valeur prédictive négative.</li> </ul> <p><u>Patient immunocompétent avec suspicion d'infection fongique grave :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Le dosage des IgG anti-<i>Aspergillus</i> est utile pour confirmer une aspergillose pulmonaire chronique ou un aspergillome.</li> <li>Les patients atteints d'asthme ou de mucoviscidose ou avec une bronchite aspergillaire peuvent avoir des titres élevés d'IgG spécifiques anti-<i>Aspergillus</i>.</li> <li>Un titre sérique d'IgE total &gt;1 000 UI/ml, un titre augmenté d'IgE à <i>A. fumigatus</i> ou les deux, sont des critères essentiels pour le diagnostic d'ABPA.</li> </ul>	<p>Le traitement antifongique met des années à faire baisser le titre d'IgG et IgE et des jours ou des semaines pour réduire le BG circulant.</p>
<p><i>National minimum retesting intervals in pathology. A final report detailing consensus recommendations for minimum retesting intervals for use in pathology, Royal College of Pathologists, Association for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine, Institute of Biomedical Science, (64) UK, 2015</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : groupes de travail issus de trois sociétés savantes, préconisations basées sur la littérature, consultation publique, expertise externe des recommandations, discussions finale et consensus. validation finale par processus interne. Pas d'information sur modalités de financement et les liens d'intérêts.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : bonne.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : texte peu développé car le document est volontairement très synthétique, reprend pour partie les recommandations de la <i>British Society for Medical Mycology</i> (BSMM). Bibliographie principale fournie, avec méta-analyses.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : bonne car objectif principal du document.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Détection du GM dans le sang (test ELISA Platelia™ Asp.)</li> </ul> <p>Patients adultes d'hématologie à haut risque (neutropéniques et patients au décours d'une greffe de CSH) sans prophylaxie ou traitement antifongique : Effectuer un dépistage itératif par GM deux fois par semaine,</p> <p>- un résultat unique négatif peut être utilisé pour exclure une AI,</p> <p>- deux tests consécutifs positifs sur deux prélèvements (ou un analysé sur deux tests) ont une bonne valeur prédictive d'une AI.</p> <p>La réduction de l'index du GM au cours des deux premières semaines de traitement est prédictive d'une réponse au traitement.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Détection du BG dans le sang (test Fungitell® As. Cape Cod) :</li> </ul> <p>Patients adultes, gravement malades en soins intensifs ou avec hémopathie maligne ou au décours d'une greffe de CSH :</p> <p>- un résultat unique négatif de dépistage peut être utilisé pour exclure une infection fongique invasive (IFI),</p> <p>- des tests consécutifs positifs peuvent être utilisés comme preuve complémentaire (de soutien) de la présence d'une IFI.</p>	<p>Document publié sous l'égide du NHS (<i>National Health Service</i>) sur une problématique focalisée sur les délais (minimum) à préconiser pour répéter les examens biologiques en pathologie humaine (à valeur incitative pour la pratique et la gestion en laboratoire).</p>

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p><i>CNS infections in patients with hematological disorders (including allogeneic stem-cell transplantation) -Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (BGHO), (67) Allemagne, 2016</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration des recommandations</b> : panel multidisciplinaire de spécialistes, recherche bibliographique systématique, étapes successives d'élaboration et conférence plénière de la société pour validation.</p> <p>Méthode de gradation de la force de recommandation (A à D) de plus forte (A) à faible (C) et de ne pas recommander (D) (le niveau de preuve n'est pas gradé pour le diagnostic en l'absence de données d'essais cliniques).</p> <p><b>Clarté de présentation des recommandations</b> : moyenne, des recommandations sont gradées dans un tableau général, certaines le sont aussi dans le texte.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : argumentaire synthétique basé sur la littérature.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique</b> : intérêt car présente aux cliniciens un champ peu étudié de ces pathologies.</p>	<p>Patients avec désordres hématologiques (hémopathies malignes, y compris greffe de SCH) et infections du système nerveux central :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- la détection du GM dans le liquide cérébro-spinal (LCS) peut être utile au diagnostic d'aspergillose du SNC : Recommandation modérée (<b>B</b>).</li> <li>- la détection du BG dans le liquide cérébro-spinal (LCS) pourrait être utile au diagnostic d'aspergillose du SNC : Recommandation faible (<b>C</b>).</li> </ul>	<p>Recommandations plus axées sur la thérapeutique et l'imagerie que sur le diagnostic biologique.</p> <p>Le seuil de positivité de l'ELISA Platelia n'est pas validé dans le LCS et la sensibilité du test est diminuée en cas de traitement antifongique.</p>
<p><i>Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) (27), 2016, USA</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : établie selon la méthode GRADE, gradation de chaque élément de recommandation par la force de la recommandation (forte ou faible) et le niveau de preuve (haut, modéré, faible, très faible).</p> <p>Panel de 17 spécialistes pluridisciplinaires (cliniciens, biologistes) d'Aspergillus méthode de consensus d'experts. Validation interne de l'IDSA.</p> <p>Revue externe par deux spécialistes.</p> <p>Financement de l'élaboration des recommandations indiquée.</p> <p>Liens d'intérêt évalués par un processus comprenant un comité ad hoc et déclarés.</p>	<p>Le diagnostic d'AI doit se faire simultanément en histopathologie, cytologie et culture (R. forte, Preuve de qualité élevée).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- La bronchoscopie est recommandée afin d'effectuer un LBA en cas de suspicion d'AI pulmonaire. Le LBA doit suivre un protocole standardisé. Ses prélèvements doivent mis en culture, soumis à l'examen cytologique et dosage d'Ag GM (R. forte, P. de qualité modérée).</li> <li>- La recherche de l'antigène galactomannane (GM) dans le sérum et le LBA est un marqueur précis du diagnostic d'AI chez l'adulte et l'enfant atteints de cancer hématologique ou receveur d'une greffe de CSH ; le dépistage par dosage deux fois par semaine chez les patients neutropéniques les plus à risque est pertinent, associé à la clinique/radiologie (R. forte, P. de qualité élevée).</li> </ul>	<p>Ces recommandations ont évalué trois grands types d'aspergilloses : l'AI, l'A. allergique et les A. chroniques chez l'adulte et l'enfant (<i>via la Pediatric Infectious Diseases Society PIDS</i>).</p> <p>Désaccord indiqué sur la place des techniques de PCR pour ce diagnostic.</p>

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p><b>Clarté de présentation</b> : très bonne. Structuration par question avec argumentaire associé. Bibliographie disponible (655 références).</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : bonne. Algorithme de stratégie diagnostique présenté.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : très bonne.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Le dosage sérique itératif chez un patient ayant une DO initiale élevée peut être utilisé pour suivre la réponse et prédire l'évolution (R. forte, P. de qualité modérée).</li> <li>- La recherche du GM dans le sang n'est pas recommandée pour le dépistage (screening) de routine de <i>patients sous prophylaxie ou traitement antifongiques</i>, mais elle est recommandée sur le prélèvement obtenu par bronchoscopie (R. forte, P. de qualité élevée).</li> <li>- Le dosage du GM n'est pas recommandé chez les patients affectés de granulomatose chronique ou transplantés d'organe (R. forte, P. qualité élevée).</li> <li>- Le dosage sérique du BG est recommandé pour le diagnostic d'AI chez des patients à haut risque (cancer hématologie, greffe allogénique de CSH) bien que non spécifique d'<i>Aspergillus</i> (R. forte, P. de qualité modérée).</li> <li>- Le BG n'a pas été assez étudié pour prédire la réponse au traitement (R. faible, P. qualité faible).</li> <li>- Le diagnostic d'aspergillose pulmonaire cavitaire chronique se fait sur des critères cliniques datant d'au moins trois mois, radiologiques et microbiologiques parmi lesquels le dosage des IgG spécifiques est le plus sensible (R. forte, P. de qualité modérée).</li> <li>- Le diagnostic de l'allergie broncho-pulmonaire à <i>Aspergillus</i> dans l'asthme et la mucoviscidose : des titres élevés d'IgE anti-aspergillaires et IgE totales sont recommandés pour établir le diagnostic et sont utiles dans le dépistage (R. forte, P. de qualité élevée).</li> <li>- Dans les rhinosinusites chroniques avec polypes nasaux et mucus éosinophile, le diagnostic fongique allergique sera basé sur la visualisation d'hyphes et appuyé par un dosage positif des IgE anti-aspergillaires sériques ou un test cutané (skin prick T) (R. forte, P. de qualité modérée).</li> </ul> <p>La PCR n'est pas utilisable encore en routine, réservée aux cas complexes.</p>	
<p><i>Prevention and treatment of cancer-related infections. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) Clinical practice guidelines in Oncology, USA (68) USA, 2017</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration des recommandations</b> : panel multidisciplinaire de spécialistes, recherche bibliographique systématique, étapes successives d'élaboration avec consensus. Méthode de gradation du niveau de preuve (1-3) associé au niveau de consensus du groupe d'experts.</p>	<p>Patients en cancérologie :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Un patient à risque élevé d'aspergillose (neutropénie prolongée ou greffe allogénique de CSH) avec signe (fièvre) et radiologique - infiltrat pulmonaire, nouveau nodule <math>\geq 1</math>cm - et un test sérique de GM positif est susceptible d'avoir une AI (consensus général, faible niveau de preuve).</li> </ul>	<p>L'objectif est de catégoriser les risques infectieux pour les cliniciens par situation clinique/symptômes et optimiser les traitements.</p>



Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p><b>Clarté de présentation des recommandations</b> : médiocre, les recommandations sont présentées par indications cliniques mais absence de tableaux schématiques/ récapitulatifs.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : argumentaire axé sur les traitements, moins détaillé pour les techniques diagnostiques, basé sur la littérature de preuve.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité des recommandations pour la pratique</b> : assez bonnes.</p>	<p>- Un test de détection du GM dans le LBA positif, plus sensible que le test sérique, peut être utilisé chez un patient à risque élevé pour confirmer le diagnostic d'AI probable (consensus général, faible niveau de preuve).</p> <p>- Les tests de recherche d'Ag (GM, BG) ont une valeur prédictive négative élevée en l'absence d'un traitement antifongique chez le patient neutropénique uniquement fébrile et pour un diagnostic précoce chez un patient asymptomatique, mais il n'y a pas de preuve pour recommander leur utilisation comme outil de surveillance chez ces patients.</p>	
<p><i>Guideline for the Management of Fever and Neutropenia in Children With Cancer and/or Hematopoietic Stem-Cell Transplantation Recipients : 2017 update. International Paediatric Fever and Neutropenia Guideline Panel (Lehrnbecher, 2017) (56) International, 2017</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : fournie, groupe d'experts multidisciplinaire : oncologues, infectiologues, pharmaciens, infirmiers, et représentant de patients (de dix pays). Sous-groupes par thématique à évaluer avec recherche bibliographique systématique, sélection avec grille AGREE. Réunion plénière en octobre 2016 avec revue par les pairs. Classification utilisation de la méthode GRADE du niveau de preuve (élevé, modéré, faible, très faible) et gradation des recommandations (forte ou faible). Critères d'éligibilité fournis. Modalités de financement (publics, canadien) indiquées et information sur les liens d'intérêts.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : bonne, organisation en questions /réponses et argumentaire correspondant, tableau d'aide à la décision très détaillé et précis.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : bonne car position explicitée et basé sur la littérature.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : réelles pour la prise en charge des patients par les cliniciens.</p>	<p>La population identifiée est pédiatrique, en cancérologie, avec fièvre et neutropénie persistante.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Établissement d'une stratification du risque d'infection fongique invasive (IFI) pour la prise en charge en routine (recommandation forte, niveau de preuve faible).</li> </ul> <p>- Le haut risque d'IFI concerne les enfants avec leucémie myéloïde aiguë, leucémie lymphoblastique aiguë à haut risque (LLA) ou en rechute de leucémie aiguë et receveur de greffe allogénique de CSH. Les enfants avec neutropénie prolongée, fièvre persistante (≥ 96 heures) malgré une antibiothérapie à large spectre et ceux recevant une corticothérapie à forte dose (basée sur 22 études).</p> <p>- Dans les autres circonstances, classement en bas risque d'IFI (recommandation forte, niveau de preuve faible).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Chez les patients à haut risque d'IFI fièvre persistante (≥ 96 heures) malgré une antibiothérapie à large spectre, envisager de ne pas faire de dépistage avec le GM : (recommandation faible, niveau de preuve modéré)</li> <li>Chez l'enfant ne pas utiliser le test du BG pour prendre des décisions cliniques tant qu'il n'existe pas données validées en pédiatrie : (recommandation forte, niveau de preuve modéré)</li> <li>Chez les patients à haut risque, avec fièvre (≥ 96 heures) : initier un traitement antifongique empirique (recommandation forte, niveau de preuve élevé).</li> </ul>	<p>L'actualisation des recommandations a recentré le sujet sur la thérapeutique et a exclu la question du suivi d'un traitement, qui était traitée en 2012.</p> <p>Le groupe d'experts est indépendant des sociétés savantes. Il a obtenu un financement du <i>Canadian Institutes of Health Research</i> (public).</p> <p>Les auteurs précisent que :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>le groupe des patients LLA est hétérogène mais le risque élevé peut s'expliquer par la neutropénie prolongée et les corticoïdes ;</li> <li>l'évaluation du GM repose sur une revue systématique avec 8 études fournissant des valeurs prédictives : 7 avec VPP ≤ 75 % dont 4 &lt; 50 %. Ainsi, sur 100 patients à haut risque d'IFI, 1 serait un faux négatif alors que 14 seraient des faux positifs (il existe un risque de faux positif en cas de traitement antibiotique par β-lactamines ; De plus, un test de GM négatif ne permet pas d'exclure la présence d'une IFI autre qu'une AI ;</li> </ul> <p>Ces données conduisent au constat d'une utilité clinique faible du GM en pédiatrie.</p>



Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chez les patients à faible risque, avec fièvre (≥ 96 heures) : ne pas débiter un traitement antifongique empirique (recommandation faible, niveau de preuve faible).</li> </ul>	<p>- pour le BG, il n'existe que très peu de données chez l'enfant neutropénique avec une VPP faible (49 %) ;</p> <p>Les cliniciens doivent adapter ces recommandations selon le contexte local.</p>
<p><i>Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4): guidelines for diagnosis, prevention, and treatment of invasive fungal diseases in paediatric patients with cancer or allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation (63) Europe, 2014</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : précisions sur la méthode, basée sur la littérature de preuve (recherche dans trois bases de données) et les résumés de congrès. Groupe de travail pédiatrique de l'ECIL (10 experts). Revue systématique de la littérature et conférence de consensus en 2011 (54 experts). Le guide a été fait conjointement avec EORTC et trois autres sociétés savantes. gradation de la force des recommandations (A-C) et la qualité des preuves (I-III). Modalités de financement indiquées et information sur les liens d'intérêts.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : bonne, tableaux récapitulatifs des recommandations Bibliographie disponible.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : bonne qualité méthodologique.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : bonne, tableaux d'aide à la décision, de facteurs pronostiques.</p>	<p>Chez les patients neutropéniques en pédiatrie en oncohématologie à haut risque : leucémie myéloblastique aiguë ou syndrome myélodysplasique sous chimiothérapie intensive :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Dépistage par un test du GM 2 fois par semaine (A-II). - GM dans le sérum, seuil de positivité DO = 0,5 (B-III). - L'administration d'une prophylaxie antifongique diminue les performances du test GM dans le sérum (en bloquant la circulation du GM) (B-III). - Dans le BAL, seuil de positivité test GM = 1,0, constitue une méthode complémentaire à l'imagerie et la microbiologie (B-III). * Dans le LCS, GM utile, avec seuil = 0,5 (B-III).</li> <li>Le dépistage par le BG n'est ni recommandé ni gradé (en l'absence de données chez l'enfant de de l'établissement d'un seuil de positivité).</li> </ul>	<p>Les auteurs indiquent :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>qu'il existe une spécificité pédiatrique et que les critères de l'EORTC-MSG établies en 2008 sont à valider chez l'enfant ;</li> <li>que les techniques PCR ne sont pas validées et standardisées ;</li> <li>que le dosage du GM (positif) est un critère avec le scanner pulmonaire pour débiter un traitement préemptif, qui est une alternative au traitement empirique (recommandation non gradée).</li> </ul>
<p>Recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques étiologiques des infections respiratoires basses de l'enfant de plus de trois mois. Groupe de recherche sur les avancées en pneumo-pédiatrie (GRAPP), Société Française de Pédiatrie et Société pédiatrique de pneumologie et d'allergologie (SP2A) (69), France, 2014</p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : Méthode du consensus formalisé (HAS) Revue systématique de la littérature par un groupe de pilotage.</p>	<p>Pour les infections fongiques invasives à champignons filamenteux responsables d'infections respiratoires basses de l'enfant de plus de 3 mois, <u>définitions des patients à risque proposées à partir de l'analyse de la littérature</u> :</p>	<p>Seule la force de la recommandation est gradée pour les recommandations de diagnostic.</p>

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p>Cotation par un groupe de cotation indépendant : les recommandations sont cotée (A-C) et le niveau de preuve est gradé (1-4). Financement non indiqué, absence de conflits d'intérêt indiqué.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : bonne, définition précise des populations ciblées par les recommandations. Bibliographie disponible.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : assez bonne mais les positions ne sont pas toujours étoffées par des résultats précis et chiffrés (version longue des recommandations)</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : bonne car présentation claire en questions/ réponses (version courte des recommandations)</p>	<p>- <b>Patients à très haut risque aspergillaire</b> : neutropénie profonde post-chimiothérapie (PNN &lt;500/mm<sup>3</sup> (0,5 G/L) plus de 14 jours ou &lt;100/mm<sup>3</sup> (0,1 G/L) quelle que soit la durée), greffe de cellules souches hématopoïétiques, déficits immunitaires combinés sévères, aplasie médullaire sévère (Grade A).</p> <p>- <b>Patients à haut risque</b> : corticothérapie haute dose dans le cadre du traitement d'une leucémie aiguë lymphoblastique, leucémie aiguë myéloblastique en rechute ou réfractaire, neutropénie post-chimiothérapie d'une durée inférieure à 14 jours, transplantation d'organe solide, granulomatose septique chronique, nouveau-nés en réanimation néonatale (Grade A).</p> <p><u>Dépistage d'une aspergillose invasive</u> :</p> <p>- Le dépistage d'une aspergillose invasive est recommandé chez un enfant à très haut risque (Grade A).</p> <p>- Il est recommandé d'effectuer la détection d'antigène GM d'<i>Aspergillus</i> dans le sérum, deux fois par semaine, en répétant les mesures si nécessaire (Grade A).</p> <p>- Pour le dépistage d'une aspergillose invasive chez un enfant à très haut risque (hémopathie), en complément d'une détection GM positive, compte tenu des taux élevés de faux positifs, l'utilisation complémentaire de BG dans le sang est recommandée pour augmenter la spécificité de diagnostic d'aspergillose invasive (Grade B).</p> <p><u>Diagnostic d'une aspergillose invasive</u> :</p> <p>- La recherche d'une aspergillose invasive est justifiée chez un enfant à haut risque et très haut risque (Grade A).</p> <p>- Pour le diagnostic d'une aspergillose invasive chez un enfant à haut risque et très haut risque, en plus de la clinique et de l'imagerie, il est recommandé de réaliser la détection d'antigène GM d'<i>Aspergillus</i> dans le sérum et le LBA quand il est disponible (Grade A).</p> <p>- La recherche de GM dans le LBA devra alors être associée aux autres techniques de diagnostic mycologique classique (ED et culture) (Grade A).</p>	<p>Les recommandations dissocient la situation de dépistage sans signes cliniques (systématiques selon les critères établis) de celle du diagnostic lorsque des prodromes sont présents.</p> <p>Pour le dosage du BG, les auteurs précisent que « la pratique actuelle est de donner plus d'importance à la valeur prédictive négative qu'à la sensibilité de ce test ».</p>
<p><i>Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases ESCMID and European Respiratory Society (ERS) (15), Europe, 2015</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : groupe de travail d'experts issus de trois sociétés savantes, avec consultation ouverte puis consensus final selon un processus standardisé.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Utilisation du galactomannane dans le diagnostic de <u>l'aspergillose chronique pulmonaire (APC)</u> :</li> </ul>	<p>Les trois sociétés savantes sont :</p> <p>- l'<i>European Society for Clinical Microbiology and Infectious Disease</i> ;</p>

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p>Basée sur la recherche systématique de la littérature de médecine de preuve.</p> <p>Structuration en utilisant GRADE et AGREE.</p> <p>Gradation de la force de la recommandation (A-D) et du niveau de preuve (I-III).</p> <p>Financement par sociétés savantes, et liens d'intérêt avec industriels indiqués.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : moyenne, différences trouvées dans la gradation entre les tableaux de synthèse et l'argumentaire narratif.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : bonne.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : document didactique à destination des cliniciens, associant les divers aspects diagnostiques (biologiques, radiologiques et cliniques) et thérapeutiques.</p>	<p>- présence du GM dans le LBA (B-II) ;</p> <p>- présence du GM dans le sérum (C-III).</p> <p>Ainsi, seul le dosage dans le LBA est préconisé (seuil de positivité non défini) chez le <u>patient immunocompétent avec infiltrat pulmonaire cavitaires ou nodulaire.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tout patient avec suspicion d'une <u>aspergillose chronique ou subaiguë</u> :                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- recherche d'IgG (<i>A. fumigatus</i>) ou de précipitines (A-II) ;</li> <li>- recherche d'un IgG alternatif à <i>A. fumigatus</i> (A-II) ;</li> <li>- la recherche d'IgA et IgM spécifiques n'est pas recommandée (D-III).</li> </ul> </li> <li>• Chez patient avec <u>suspicion élevée d'asthme, ABPA ou mucoviscidose</u> :                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- recherche d'IgE spécifiques (<i>A. fumigatus</i>) (B-II) ;</li> <li>- d'un IgG alternatif à <i>A. fumigatus</i> (A-II).</li> </ul> </li> <li>• Après résection de nodules, non traités par antifongiques :                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- le suivi par un dosage quantitatif des IgG/précipitines avec imagerie et marqueurs de l'inflammation est nécessaire à 3-6 mois pour savoir si un traitement pharmacologique est nécessaire (A-III).</li> </ul> </li> <li>• Après résection pulmonaire/lobulaire :                     <ul style="list-style-type: none"> <li>- le dosage quantitatif des IgG/précipitines avec marqueurs de l'inflammation est nécessaire à 3-6 mois puis tous les 6 mois pendant 3 ans (A-III).</li> </ul> </li> </ul>	<p>- l'<i>ECMM European confederation of medical mycology</i> ;</p> <p>- l'<i>ERS European respiratory society</i>.</p> <p>Le document établit des définitions de chaque type nosologique d'aspergillose chronique, tout en schématisant les recouvrements existant entre ces formes.</p> <p>Les auteurs indiquent que la standardisation des tests d'IgG ou précipitines (immunodiffusion et contre-électrophorèse) est incomplète, qu'il existe des faux négatifs que le titre des Ac a peu de lien avec la sévérité, sauf pour un aspergillome dans lesquels ils sont généralement très élevés.</p> <p>Il existe des CPA dues à des espèces d'A. non-fumigatus.</p> <p>La présence d'Ac spécifiques permet de distinguer une colonisation d'une infection dans les formes chroniques pulmonaires.</p> <p>Le titre d'Ac décroît avec l'efficacité de la thérapie mais ne se négative pas.</p> <p>Une croissance brutale du titre d'IgG est généralement le signe d'un échec thérapeutique ou d'une rechute mais cela doit être contrôlé en répétant le test (erreur de laboratoire écartée).</p>
<p><i>British Thoracic Society guideline for non-CF bronchiectasis, British Thoracic Society, (62) UK, 2010</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : groupes de travail multidisciplinaires d'experts et comité de direction de trois membres : consensus et relecture par experts externes.</p> <p>Recherche systématique de littérature de preuve.</p> <p>Gradation de la force de la recommandation (A-D) et du niveau de preuve (1-4).</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : moyenne, argumentaire narratif assez touffu.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : bonne.</p>	<p>Tous les patients atteints de bronchiectasie (ou DDB), en l'absence de mucoviscidose devraient être évalués pour la détection de l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) par un diagnostic clinique basé sur les tests immunologiques (IgG et IgE spécifiques d'<i>Aspergillus</i>) (recommandation D, niveau de preuve faible).</p> <p>Tous les patients devraient avoir un dosage sérique des IgE totales, un prick test ou un dosage des IgE spécifiques d'<i>Aspergillus fumigatus</i> et des précipitines aspergillaires (recommandation C niveau de preuve faible).</p>	<p>Financement par sociétés savantes et liens d'intérêt avec industriels non formellement indiqués (standards de qualité adoptés postérieurement en 2011 par la BTS).</p> <p>De plus, la recommandation de 2010 n'a pas été actualisée, à la date de ce rapport, contrairement à la méthodologie décrite.</p>

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : document didactique à destination des cliniciens, associant les divers aspects diagnostiques (biologiques, radiologiques et cliniques) et thérapeutiques.</p>		
<p><i>Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology and American College of Allergy (73), USA, 2008</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : groupe de travail d'experts et comité de direction, relecture par experts externes de trois sociétés américaines et via sites internet finalisation aboutissant à un consensus. Basée sur la recherche de la littérature de preuve. Gradation de la force de la recommandation (A-F) et du niveau de preuve (1-4). Éventuel financement et liens d'intérêts non indiqués.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : bonne, structuration à plusieurs niveaux avec questions et argumentaire narratif associé.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : bonne.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : document didactique à destination des cliniciens, associant les aspects diagnostiques (biologiques, radiologiques et cliniques) et thérapeutiques.</p>	<p>Des IgE et IgG spécifiques anti-<i>Aspergillus</i> sériques sont présents en cas d'ABPA (pas de gradation).</p> <p>Des titres élevés d'IgE sont habituellement retrouvés dans l'ABPA et la réponse thérapeutique est suivie par des dosages sériels d'IgE afin de prévenir des rechutes (grade B).</p>	<p>L'aspect systématique de la recherche bibliographique et les dates de recherche ne sont pas précisées.</p> <p>Les auteurs relatent que sans traitement l'aggravation de l'ABPA se fait vers la bronchiectasie, la fibrose pulmonaire pouvant conduire au décès. Le traitement se fait par corticoïde.</p> <p>Le dosage des IgE se fait par des techniques ELISA Sandwich.</p>
<p>Recommandations de la société de pneumologie de langue française (SPLF) sur asthme et allergie. Quand et comment faire une enquête allergologique. (61) France, 2007.</p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : fournie, recherche bibliographique systématique, consensus d'experts (&gt; 85 %). Classification du niveau de preuve (NP 1 à 4) et gradation des recommandations (A à C).</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : bonne, encadrées, gradées.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : basée sur la littérature.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Le dosage des IgE sériques totales est recommandé en pratique chez l'asthmatique, dans deux situations cliniques : <ul style="list-style-type: none"> <li>- <u>lorsqu'une aspergillose bronchopulmonaire allergique est suspectée pour conforter le diagnostic (recommandation de grade B niveau de preuve 3)</u> et avant mise en place d'un traitement par anti-IgE ;</li> <li>- la répétition des dosages d'IgE totales n'est pas recommandée dans le suivi d'un asthme allergique (recommandation de grade A), <u>sauf lorsqu'un diagnostic d'ABPA est posé</u> (reco.de grade C).</li> </ul> </li> <li>Suivi par tests itératif IgE spécifiques contributif dans l'ABPA : l'ascension des IgE anti-<i>Aspergillus</i> peut précéder une rechute (non gradée) :</li> </ul>	<p>Pas d'information sur les liens d'intérêt et le financement de la conférence de consensus.</p> <p>L'aspergillose apparaît comme une situation clinique assez spécifique dans le cadre d'un asthme dit allergique : la suspicion d'ABPA doit être recherchée au niveau sérique afin d'en étayer le diagnostic...</p> <p>Le dosage des IgE spécifique doit être effectué par une technique validée exprimés en KIU/L).</p>

Qualité méthodologique du document (recommandations)	Préconisations et conclusions des auteurs	Commentaires
<p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : bonne, indications détaillées pour cliniciens.</p> <p>Mais cette recommandation est générale et n'étudie pas la recherche de l'aspergillose par Ac spécifiques.</p>	<p>- dans l'ABPA, l'hyperéosinophilie est un critère du diagnostic mais n'est pas essentiel (grade B).</p>	
<p><i>Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. International Society for Human and Animal Mycology "complicating asthma" working group (9), international, 2013.</i></p>		
<p><b>Méthode d'élaboration</b> : groupe de travail de la société savante ISHAM d'experts sur « ABPA chez les asthmatiques » avec recherche bibliographique exhaustive suivi d'un workshop international de rédaction d'une recommandation par consensus.</p> <p>Le processus de consensus est indiqué mais non détaillé. Liens d'intérêt indiqués.</p> <p><b>Clarté de présentation</b> : moyenne car pas de gradation des préconisations consensuelles.</p> <p><b>Qualité de l'argumentaire scientifique</b> : bonne, discussion détaillée sur la base de la bibliographie.</p> <p><b>Pertinence et applicabilité pour la pratique</b> : définitions de nouveaux critères de classification des ABPA en six classes avec algorithme décisionnel discriminant proposé. Volonté d'un diagnostic avancé, pour traitement avant stade de DDB.</p>	<p>Diagnostic d'ABPA établi par la conférence de consensus : patients souffrant d'asthme bronchique ou de mucoviscidose</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Critères biologiques de diagnostic</u> : <ul style="list-style-type: none"> <li>- réactivité cutanée immédiate à un prick test ou intradermo réaction (avec Ag aspergillaire) et présence d'IgE spécifiques d'<i>A. fumigatus</i> ;</li> <li>- concentration sérique d'IgE totale élevée &gt; 1 000 ng/ml, sauf si patient sous corticothérapie systémique ; si le titre est de 500 UI/ml, colonisation par <i>Aspergillus</i> probable ;</li> <li>- présence de précipitines spécifiques d'<i>A. fumigatus</i> ou d'Ig G spécifiques d'<i>A. fumigatus</i> ;</li> <li>- la positivité des IgE spécifiques d'<i>A. fumigatus</i> (seuil de &gt;0,35 kUA/l) est importante pour la caractérisation de l'ABPA ;</li> <li>- taux total d'éosinophiles &gt;500 cellules/µl.</li> </ul> </li> </ul> <p><i>Ou anomalies radiographiques (opacités) sur radio du thorax récentes.</i></p> <p>Dans le <u>suivi thérapeutique</u> le dosage des IgE totales sériques est utile : il doit s'abaisser de 25-50 % en huit semaines et une élévation du titre peut signifier une exacerbation probable de l'asthme.</p>	<p>Concerne une sous population définie : les patients souffrant d'asthme, ou de mucoviscidose (également envisagée car la surinfection aspergillaire y est aussi fréquente). La recommandation est non gradée.</p> <p>La sensibilisation à <i>Aspergillus</i> est définie par une hypersensibilité cutanée immédiate et IgE anti-<i>Aspergillus</i> élevées.</p> <p>Les auteurs indiquent que l'utilisation de glucocorticoïdes affecte le taux d'IgE totales. Ils soulignent l'absence de standardisation des tests de dosage quantitatif IgE notamment le seuil de positivité des extraits d'<i>A. fumigatus</i> qui impacte les performances des tests (le seuil préconisé est à valider).</p> <p>Pour les IgG les méthodes sont : les méthodes d'immunodiffusion double, ELISA, IEFA, contre-immunoelectrophorèse.</p> <p>Ils recommandent d'effectuer une surveillance diagnostique régulière d'une ABPA chez les asthmatiques.</p>

\*Traduction libre.



## Annexe 5. Classification EORTC-MSG (2008) des infections fongiques invasives (IFI)

D'après *European Organization for Research and Treatment of Cancer*, 2008 (19).

La définition d'infection fongique invasive chez des patients atteints de cancer ou receveurs d'une greffe allogénique de CSH comporte une classification avec trois catégories de probabilité de survenue (prouvée, probable, possible) et une 4<sup>e</sup> catégorie de probabilité nulle

Classification	Examens (pour les champignons filamenteux)	Critères de classification
Infection fongique <u>prouvée</u> (tout patient)	<u>Analyse microscopique de matériel stérile</u> : Histopathologie, cytopathologie ou examen direct d'un spécimen obtenu par aspiration à l'aiguille ou par biopsie. <u>Culture d'un échantillon obtenu par une procédure stérile</u> provenant d'un site normalement stérile avec des signes cliniques et radiologiques anormaux, compatibles avec une infection [à l'exclusion des prélèvements urinaires, issus de cavité sinusienne crânienne et des sécrétions du liquide broncho-alvéolaire (LBA)].	Critères mycologiques seuls : (existence d'un critère histo- <u>ou</u> cytopathologique <u>direct</u> ) hyphe (de champignon filamenteux) ou formes de levures visibles, associés à des signes d'atteinte tissulaire ou culture positive d'un champignon filamenteux identification
Infection fongique <u>probable</u> * (patient immunodéprimé)	Analyse microscopique de matériel stérile : Histopathologie, cytopathologie ou examen direct d'un spécimen obtenu par aspiration à l'aiguille ou par biopsie dans lequel d'hyphe ou des formes de levures sont visibles, associés à des signes d'atteinte tissulaire.	Un critère lié à l'hôte <u>et</u> un critère microbiologique <u>et</u> un critère clinique/radiologique (scanner).
Infection fongique <u>possible</u> (patient immunodéprimé)	Pas de prélèvement.	Un facteur lié à l'hôte** <u>et</u> un critère clinique/radiologique ** (pas de critère de preuve mycologique/microbiologique).

\* Critères (détaillés) d'une infection fongique probable :

Facteurs liés à l'hôte (patient) :

- Neutropénie récente (< 500 neutrophiles/mm<sup>3</sup> (0,5 G/L) pendant > 10 jours) reliée temporellement à la survenue de la pathologie fongique
- Allogreffe de CSH
- Utilisation prolongée > 3 semaines de corticostéroïdes à la dose moyenne minimale de 0,3 mg/kg/j en équivalent prednisonne durant les 60 derniers jours
- Autres immunosuppresseurs cellulaires T dans les 90 j avant (ciclosporine, anti TNF $\alpha$ , Ac monoclonal, analogues de nucléoside)
- Déficit immunitaire constitutionnel (granulomatose ou déficit immunitaire combiné sévère)

Critères cliniques (et radiologiques) :

Infection pulmonaire : 1 des 3 signes suivants au scanner :

- Lésion dense, bien limitée, avec ou sans halo
- Croissant gazeux
- Cavité

Trachéobronchite : (un des signes suivants vu en bronchoscopie)

Ulcération trachéobronchique, nodule, pseudomembrane, plaque, ou escarre

Infection naso-sinusienne :

Imagerie visualisant une sinusite plus un des trois signes suivants :

- Douleur aigue localisée
- Ulcère nasal avec zone de nécrose
- Extension osseuse à partir de sinus paranasal, y compris orbitaire

Infection du SNC : un des deux signes suivants :

- lésions focales à l'imagerie
- prise de contraste méningée en scan ou IRM



Critères microbiologiques :

- Tests directs (cytologie, microscopie directe ou culture)

Moisissures dans l'expectoration, le liquide de lavage broncho-alvéolaire, le brossage bronchique ou l'échantillon d'aspiration sinusale identifié de la manière suivante :

- présence d'éléments fongiques de moisissure ;
- identification d'une moisissure par culture.

- Tests indirects (détection d'antigène ou de constituants de la paroi cellulaire)

Aspergillose : galactomannane (GM) détecté dans le plasma, le sérum, le LBA ou le LCS

Infection fongique invasive (hors zygomycoses et cryptocoques) : Béta-(1-3)-D -glucane (BG) dans le sérum.

\*\* critères cliniques et de l'hôte identiques à ceux de l'infection probable décrits ci-dessus.

## Annexe 6. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponse du Conseil national professionnel d'allergologie et immunologie (CNPAI)

### A – Questions générales de contexte : stratégie diagnostique d'infections à *Aspergillus*

**Existe-t-il pour *Aspergillus* une définition et des critères précis permettant de distinguer une colonisation d'une infection ? Cette éventuelle distinction peut-elle être mise en évidence par les méthodes biologiques de diagnostic ?**

*Réponse argumentée :*

Il est difficile de faire la différence entre une colonisation et une infection. Plusieurs critères entrent en jeu : symptomatologie, épidémiologie du patient, contexte du patient (immuno-déprimé ou non) et plusieurs tests biologiques sont proposés : recherche d'Ag, Ac.

**A1**

La distinction entre colonisation et infection n'est pas clairement définie, notamment chez les patients non immunodéprimés. L'isolement d'*Aspergillus* à partir de prélèvements respiratoires des voies inférieures est associé, avec un pourcentage élevé, à une colonisation. Mais la signification de cette colonisation est peu claire car elle peut représenter un passage temporaire, un portage bénin à long terme ou un signe précédant une maladie invasive dont la période d'incubation est inconnue. En effet, le pourcentage élevé de cas évoluant vers l'aspergillose chez des patients non-transplantés, non neutropéniques et notamment chez les BPCO souligne l'importance de la colonisation comme facteur de risque d'une infection invasive (Barberán et al. BMC Infectious Diseases, 2017). De plus chez les patients atteints de mucoviscidose, la colonisation par *Aspergillus* est associée à des exacerbations pulmonaires, et au développement d'aspergilloses allergiques (Luong ML et al, Transplantation. 2014).

Pour les patients à risque élevé (transplantation de moelle osseuse ou d'organe solide, neutropénie ou hémopathies malignes), l'isolement d'*Aspergillus* à partir de prélèvements respiratoires des voies inférieures est à considérer.

Dans tous les cas, l'isolement d'*Aspergillus* à partir de prélèvements respiratoires des voies inférieures doit être confronté aux données cliniques, radiologiques et biologiques. La recherche d'antigènes fongiques (galactomanannes ou beta-d-glucanes) sur sérum et/ou lavage bronchoalvéolaire peut être une aide au diagnostic.

**Quelle est la stratégie diagnostique actuellement mise en œuvre en France pour détecter une aspergillose invasive (AI) ?**

**A2**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**La stratégie diagnostique et les tests utilisés sont-ils différents en cas de suspicion d'AI chez un enfant ?**

**A3**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**La stratégie diagnostique est-elle la même avec ou sans traitement antifongique prophylactique ?**

- A4** *Réponse argumentée :*  
Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**Quels sont les résultats qui permettent de réfuter avec certitude une aspergillose invasive (AI) ?**

- A5** *Réponse argumentée :*  
Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

## **B – Recherche d'antigènes solubles**

**En ce qui concerne les indications de cette recherche :**

**Quelle est, selon votre organisme, l'indication validée (ou les indications validées) de cette recherche d'Ag solubles ? La CNAMTS dans sa demande propose de restreindre la recherche d'Ag à la seule « suspicion d'aspergillose invasive ». Votre organisme est-il d'accord avec cette position ?**

- B1** *Réponse argumentée :*  
Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**La réalisation d'une recherche d'Ag présente-elle un intérêt lorsque les examens microscopiques sont négatifs pour *Aspergillus* ?**

- B2** *Réponse argumentée :*  
Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**En ce qui concerne les Ag à rechercher :**

**Quel est ou quels sont le ou les Ag à rechercher dans ce cadre ? Ces Ag sont-ils différents en fonction de l'indication ?**

- B3** *Réponse argumentée :*  
Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**Quels sont les liquides biologiques dans lesquels des Ag sont recherchés (sang, LBA, LCS, ...) ? Sont-ils différents selon l'Ag recherché et/ou l'indication ?**

**B4**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**Quelle(s) est/sont la ou les techniques validée(s) actuellement pour cette recherche ?**

**B5**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**La technique de recherche d'antigènes solubles inscrite actuellement à la NABM est l'AGG (test d'agglutination au latex). Doit-on la supprimer ?**

**B6**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**Si le résultat obtenu avec une technique est positif pour un Ag, une confirmation est-elle nécessaire ? Si oui, avec quelle (autre) technique et dans quel délai ? La proposition de la CNAMTS prévoit d'inscrire une confirmation sur un deuxième prélèvement sanguin sous 48 heures, avec reprise du 1<sup>er</sup> prélèvement. Votre organisme est-il d'accord avec cette proposition et ses modalités ?**

**B7**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**La littérature récente analysée reconnaît l'EIA comme technique de référence pour la recherche du galactomannane (GM) et ne l'évoque que sous un nom de marque. Avez-vous des remarques au sujet du kit commercialisé de cette technique (seuil de positivité, avantages, inconvénients, risque de faux négatifs ou positifs, ...) ?**

**B8**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**Selon la littérature analysée, la recherche du GM par EIA dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire aurait un intérêt diagnostique important. Quel est le point de vue de votre organisation ? Quel est le seuil de positivité à adopter ? Une fréquence peut-elle être préconisée pour cet examen ?**

**B9**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**B10** La technique EIA de détection du GM est utilisée selon la littérature dans le liquide cébrospinal. L'utilisation de ce test est-elle validée dans le LCS ? si oui, quelles en sont les indications ? Quel est le seuil de positivité à adopter ?

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**B11** En plus du test EIA, d'autres techniques validées de recherche du GM aspergillaire sont-elles disponibles en France ? si oui, lesquelles ?

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**B12** La recherche du  $\beta$ -(1-3)-D - glucane (BG) a-t-elle la même place que celle du GM dans la stratégie diagnostique d'une AI ? dans le sang, le LBA, le LCS ?

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**B13** La réalisation d'une recherche d'Ag présente-t-elle un intérêt lorsque les examens microscopiques sont négatifs pour *Aspergillus* ?

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**B14** Les recommandations examinées ne proposent pas la recherche d'aspergillose invasive chez les patients porteurs de VIH. Pensez-vous que cette pathologie soit une indication de dépistage ? si oui, selon quelles modalités ?

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

### **En ce qui concerne le suivi par la recherche des Ag**

**B15** La réalisation de test(s) de détection d'Ag présente-t-elle un intérêt après la mise en place d'un traitement antifongique ? si oui, quel Ag, à quelle fréquence et pendant combien de temps ?

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

## C – Techniques de recherche d'anticorps sériques

**Quelles sont les indications actuelles de la recherche d'anticorps spécifiques anti-*Aspergillus* ?**

*Réponse argumentée :*

**C1**

Uniquement en dehors d'une immunodépression sévère, pour le diagnostic des aspergilloses pulmonaires chroniques : aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA), alvéolite allergique extrinsèque, aspergillome et pour le diagnostic de formes pulmonaires subaiguës : aspergillose pulmonaire invasive.

Chez les patients en maladie du sang avant une greffe afin de connaître leur statut immunitaire vis-à-vis d'*Aspergillus*.

**En ce qui concerne le premier examen de recherche des anticorps sériques anti-*Aspergillus***

**Parmi les techniques inscrites à la NABM (ELS, HAGG, EIA, IDD<sup>31</sup>), certaines sont-elles obsolètes aujourd'hui selon votre organisme ? si oui, précisez lesquelles.**

**C2**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**Quelle(s) technique(s) non inscrite(s) à la NABM serai(en)t à inscrire, selon votre organisme ? (notamment l'HAI et l'IFI<sup>32</sup> que le demandeur propose d'inscrire).**

**C3**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif de l'examen précédent**

**Votre organisme pense-t-il qu'un test de confirmation tel que prévu à la NABM est actuellement nécessaire lors de détection d'Ac spécifiques avec les techniques existantes ?**

**C4**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.

Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

<sup>31</sup> ELS : électrosynérèse, HAGG : hémagglutination sensibilisée, EIA : méthode immunoenzymatique, IDD : immunodiffusion double.

<sup>32</sup> HAI : hémagglutination, IFI : immunofluorescence.



**Si oui, parmi les techniques inscrites à la NABM (COES, IELP, IE<sup>33</sup>), certaines sont-elles obsolètes aujourd'hui selon vous ? Précisez lesquelles.**

**C5**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**Les données de codage montrent que la technique IELP représente la quasi-totalité des examens de confirmation réalisés jusqu'en 2015. Comment interprétez-vous cette prédominance ? Est-elle susceptible d'évoluer ?**

**C6**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**Quelle(s) technique(s) non inscrites à la NABM serai(en)t à inscrire selon vous ?**

**C7**

*Réponse argumentée :*

Non applicable au laboratoire d'Immunologie.  
Concerne le laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

### **En ce qui concerne le suivi après instauration d'un traitement**

**C8**

**Le dosage des Ac spécifiques a-t-il une place dans le suivi de l'efficacité d'un traitement chirurgical (aspergillome) ? Si oui, quels isotopes et à quelle fréquence ?**

*Réponse argumentée :*

Au laboratoire d'Immunologie : dosage des IgE Totales et des IgE spécifiques dans le cadre du diagnostic et du suivi (annuel) des aspergilloses allergiques (asthme, ABPA ou fibrose pulmonaire) (D. DENNING et al .Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management ESCMID/ERS Guidelines 2015).

**C9**

**Le demandeur souhaite que la technique de suivi itératif soit quantitative. Êtes-vous d'accord ? Pour ce faire, quelles techniques sont à préconiser, selon votre organisme ?**

*Réponse argumentée :*

La technique ELISA est la technique quantitative automatisable la plus simple à mettre en œuvre par rapport aux autres techniques citées (IELP, HAI, IFI, IE).

**C10**

**Dans cette optique, quelle est la place de la recherche d'anticorps précipitants anti-*Aspergillus* ?**

*Réponse argumentée :*

Les techniques mettant en œuvre la visualisation d'arcs de précipitation permettent la mise en évidence d'activités enzymatiques (arc chymotrypsique, catalase). Ces techniques possèdent une meilleure spécificité par rapport à l'ELISA mais sont dépendante de l'Ag testé.

<sup>33</sup> COES : coélectrosynérèse, IELP : immunoélectrophorèse, IE : immunoempreinte (Western Blot).

## **D – Questions portant sur l'argumentaire de la HAS**

**D1** **Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?**  
*Veillez préciser les publications non prises en compte et répondant aux critères de sélection énoncés page 28 de l'argumentaire provisoire.*

*Réponse :*

Non.

**D2** **Avez-vous des observations sur la version intermédiaire (contexte et analyse de la littérature) de l'argumentaire de la HAS fourni avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur ou approximation, points à ajouter, autre...) ?**  
*Veillez préciser le cas échéant les éléments à clarifier.*

*Réponse :*

Non.

**D3** **Souhaitez-vous émettre des commentaires complémentaires sur les examens de biologie médicale relatifs aux aspergilloses ?**

*Réponse :*

Voir les publications nouvelles que le congrès de L'ECCMID en avril 2017 risque d'apporter.

## Annexe 7. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponse du Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNPBAIHH)

### A – Questions générales de contexte : stratégie diagnostique d'infections à *Aspergillus*

**Existe-t-il pour *Aspergillus* une définition et des critères précis permettant de distinguer une colonisation d'une infection ? Cette éventuelle distinction peut-elle être mise en évidence par les méthodes biologiques de diagnostic ?**

*Réponse argumentée :*

La distinction entre colonisation et infection repose comme pour tout microorganisme environnemental sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques.

- A1**
- La biologie peut mettre en évidence *Aspergillus* dans les bronches et sinus sans distinguer une infection d'une colonisation : culture et PCR.
  - Elle peut être le marqueur d'une infection-colonisation chronique récente ou plus ancienne : sérologie anticorps.
  - En cas de mise en évidence d'*Aspergillus* dans un tissu profond (culture et PCR) ou de détection d'antigènes et/ou d'ADN sériques (indicateur d'angio-invasion et de dissémination), les arguments sont en faveur d'une infection.

**Quelle est la stratégie diagnostique actuellement mise en œuvre en France pour détecter une aspergillose invasive (AI) ?**

*Réponse argumentée :*

Le diagnostic repose sur les arguments :

- A2**
- Présence d'un facteur de risque défini par l'EORTC/MSG
  - signes cliniques évocateurs dont une imagerie par scanner reposant sur les critères EORTC/MSG.
  - Détection d'antigènes galactomannanes ou B-1-3-D-glucanes dans le sang ou le LBA et/ou détection d'ADN circulant par biologie moléculaire.
  - Détection d'*Aspergillus* dans le LBA ou un prélèvement profond par culture ou biologie moléculaire.

**La stratégie diagnostique et les tests utilisés sont-ils différents en cas de suspicion d'AI chez un enfant ?**

**A3** *Réponse argumentée :*

Non, mais les performances sont différentes, notamment la spécificité des antigènes galactomannanes.

**La stratégie diagnostique est-elle la même avec ou sans traitement antifongique prophylactique ?**

**A4** *Réponse argumentée :*

Cette question est actuellement débattue par les experts internationaux car les traitements antifongiques prophylactiques peuvent baisser la sensibilité du dépistage précoce.

En revanche, les outils déployés pour le diagnostic quand il y a suspicion d'infection restent les mêmes. Le suivi des antigènes galactomannanes a même été rapporté comme un marqueur pronostique de l'évolution.

**Quels sont les résultats qui permettent de réfuter avec certitude une aspergillose invasive (AI) ?**

**A5**

*Réponse argumentée :*

Aucune certitude possible. Cependant, des travaux montrent que l'association de détections négatives par PCR et antigènes galactomannanes ou B-1-3-D-glucanes associées à un scanner normal a une très bonne valeur prédictive négative (et permet donc d'arrêter les traitements antifongiques très coûteux).

## **B – Recherche d'antigènes solubles**

**En ce qui concerne les indications de cette recherche :**

**Quelle est, selon votre organisme, l'indication validée (ou les indications validées) de cette recherche d'Ag solubles ? La CNAMTS dans sa demande propose de restreindre la recherche d'Ag à la seule « suspicion d'aspergillose invasive ». Votre organisme est-il d'accord avec cette position ?**

**B1**

*Réponse argumentée :*

- En cas de suspicion d'aspergillose invasive, la détection d'Ag solubles est pertinente dans le serum, le LBA et le LCS.
- Des travaux internationaux récents montrent que la détection d'antigènes solubles dans les expectorations au cours de la mucoviscidose permet un classement affiné du stade de la maladie aspergillaire.

**La réalisation d'une recherche d'Ag présente-elle un intérêt lorsque les examens microscopiques sont négatifs pour *Aspergillus* ?**

**B2**

*Réponse argumentée :*

Oui, bien sûr. D'une part, quand on est dans le sang où cela signifie une invasion. D'autre part dans le LBA où les expectorations dans la mucoviscidose, car ce test augmente la sensibilité et est plus robuste en cas de traitement antifongique.

**En ce qui concerne les Ag à rechercher :**

**Quel est ou quels sont le ou les Ag à rechercher dans ce cadre ? Ces Ag sont-ils différents en fonction de l'indication ?**

**B3**

*Réponse argumentée :*

Deux types d'antigènes sont possibles dans le contexte d'une aspergillose invasive :

- Ag galactomannanes (GM) : spécifiques d'*Aspergillus*, test de référence pour le diagnostic de l'aspergillose invasive.
- Ag B-1-3-D-glucanes (BG) : panfongique, signant une infection fongique invasive (AI mais aussi une possible candidose invasive ou pneumocystose).

**Quels sont les liquides biologiques dans lesquels des Ag sont recherchés (sang, LBA, LCS, ...) ? Sont-ils différents selon l'Ag recherché et/ou l'indication ?**

**B4**

*Réponse argumentée :*

- En cas d'aspergillose invasive : Ag GM et BG dans le sang et le LBA. LCR possible en cas de suspicion d'attente cérébrale.
- Expectoration au cours de la mucoviscidose (uniquement Ag GM)

**Quelle(s) est/sont la ou les techniques validée(s) actuellement pour cette recherche ?**

**B5**

*Réponse argumentée :*

- Technique EIA pour GM et test à la limule pour BG

**La technique de recherche d'antigènes solubles inscrite actuellement à la NABM est l'AGG (test d'agglutination au latex). Doit-on la supprimer ?**

**B6**

*Réponse argumentée :*

Oui, elle manque de sensibilité et il n'y a plus de kit commercialisé.

**Si le résultat obtenu avec une technique est positif pour un Ag, une confirmation est-elle nécessaire ? Si oui, avec quelle (autre) technique et dans quel délai ? La proposition de la CNAMTS prévoit d'inscrire une confirmation sur un deuxième prélèvement sanguin sous 48 heures, avec reprise du 1<sup>er</sup> prélèvement. Votre organisme est-il d'accord avec cette proposition et ses modalités ?**

**B7**

*Réponse argumentée :*

Oui, la confirmation est nécessaire même si les critères EORTC/MSG tiennent compte de l'argument dès la première détermination positive pour classer le patient comme malade. En effet, des faux-positifs techniques existent toujours, ainsi que des réactions croisées, que l'on analyse mieux sur 2 déterminations successives avec reprise de l'antérieur.

Il s'agit d'augmenter la VPP et de minimiser les faux-positifs qui peuvent engendrer : une prescription d'antifongiques très coûteux, un retard de prise en charge de la maladie de fond qui peut être fatal (par exemple greffe de CSH ou chimiothérapie), et la prescription d'une chimioprophylaxie secondaire lors des prochains épisodes d'immunosuppression

**La littérature récente analysée reconnaît l'EIA comme technique de référence pour la recherche du galactomannane (GM) et ne l'évoque que sous un nom de marque. Avez-vous des remarques au sujet du kit commercialisé de cette technique (seuil de positivité, avantages, inconvénients, risque de faux négatifs ou positifs, ...) ?**

**B8**

*Réponse argumentée :*

L'ensemble des travaux établissant les performances de la détection de GM et repris dans les recommandations internationales repose sur un seul kit, le kit EIA initialement commercialisé (Platelia Ag Asp). Ses seuils de positivité (>0,5 dans le serum) sont établis dans les consensus internationaux et sont appliqués en France. Les équipes connaissent bien ce kit désormais, y compris ses limites en termes de faux-négatifs et faux-positifs (jusqu'à 10 %-15 % en oncologie pédiatrique), et tiennent à la confirmation de tout résultat positif sur un 2<sup>ème</sup> échantillon avec reprise de l'antérieur pour éviter de rendre des résultats erronés.

**Selon la littérature analysée, la recherche du GM par EIA dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire aurait un intérêt diagnostique important. Quel est le point de vue de votre organisation ? Quel est le seuil de positivité à adopter ? Une fréquence peut-elle être préconisée pour cet examen ?**

*Réponse argumentée :*

**B9**

Cette indication est pertinente, particulièrement pour les patients de réanimation où la sensibilité du GM sérique est moins bonne qu'en hématologie. Les meilleurs consensus internationaux considèrent désormais la positivité du GM dans le LBA comme argument classant en AI. Il est difficile de proposer une fréquence de pratique d'un LBA (dépend de l'état clinique du patient) mais dès qu'un LBA est prélevé chez un patient à risque aspergillaire élevé, alors il faut faire la détection de GM systématiquement. Les recommandations européennes proposent un seuil >1 en cas de détection isolée ou >0,8 si associé à une détection sérique >0,5.

**La technique EIA de détection du GM est utilisée selon la littérature dans le liquide cébrospinal. L'utilisation de ce test est-elle validée dans le LCS ? si oui, quelles en sont les indications ? Quel est le seuil de positivité à adopter ?**

**B10**

*Réponse argumentée :*

Le fournisseur n'a pas validé la méthode pour le LCS mais les laboratoires de biologie médicale spécialisés en mycologie peuvent accréditer cette méthode en portée B. L'indication est la suspicion d'une IA cérébrale. Le seuil de positivité proposé par les consensus internationaux est >1.

**En plus du test EIA, d'autres techniques validées de recherche du GM aspergillaire sont-elles disponibles en France ? si oui, lesquelles ?**

**B11**

*Réponse argumentée :*

Pas d'autres techniques actuellement mais arrivée sur le marché international d'autres fournisseurs de kit EIA que le kit Platelia Ag Asp.

**La recherche du  $\beta$ -(1-3)-D - glucane (BG) a-t-elle la même place que celle du GM dans la stratégie diagnostique d'une AI ? dans le sang, le LBA, le LCS ?**

**B12**

*Réponse argumentée :*

La détection de BG est non spécifique des *Aspergillus*. Cela présente un inconvénient qui est de confirmer une AI *via* un autre test, mais un avantage qui est d'élargir le spectre diagnostique chez un patient neutropénique fébrile à d'autres infections fongiques. Elle se fait essentiellement dans le sang et le LCS pour le diagnostic de l'AI. Des premiers travaux montrent l'intérêt de sa détection dans le LBA au cours des pneumocystoses mais peu de données encore sur *Aspergillus*.

**La réalisation d'une recherche d'Ag présente-t-elle un intérêt lorsque les examens microscopiques sont négatifs pour *Aspergillus* ?**

**B13**

*Réponse argumentée :*

Cf. réponse à la question B2.



**Les recommandations examinées ne proposent pas la recherche d'aspergillose invasive chez les patients porteurs de VIH. Pensez-vous que cette pathologie soit une indication de dépistage ? si oui, selon quelles modalités ?**

**B14** *Réponse argumentée :*

L'incidence d'AI est très faible dans cette population. Le dépistage n'a pas d'intérêt. Mais l'utilisation des tests diagnostiques est pertinente en cas de suspicion, notamment chez des patients avec plusieurs morbidités.

### **En ce qui concerne le suivi par la recherche des Ag**

**La réalisation de test(s) de détection d'Ag présente-t-elle un intérêt après la mise en place d'un traitement antifongique ? si oui, quel Ag, à quelle fréquence et pendant combien de temps ?**

**B15** *Réponse argumentée :*

Plusieurs travaux ont clairement montré que l'absence de décroissance des Ag GM après mise sous traitement était associée à un mauvais pronostic. Il est très important que nous ayons des indicateurs de suivi chez ces patients pour guider éventuellement un changement de thérapie.

## **C – Techniques de recherche d'anticorps sériques**

**Quelles sont les indications actuelles de la recherche d'anticorps spécifiques anti-Aspergillus ?**

**C1** *Réponse argumentée :*

- Diagnostic des aspergilloses chroniques pulmonaires et rhinosinusiennes (aspergillome, bronchite aspergillaire, aspergilloses pulmonaires chroniques et subaiguës).
- Diagnostic des aspergilloses broncho-pulmonaires allergiques.

### **En ce qui concerne le premier examen de recherche des anticorps sériques anti-Aspergillus**

**Parmi les techniques inscrites à la NABM (ELS, HAGG, EIA, IDD<sup>34</sup>), certaines sont-elles obsolètes aujourd'hui selon votre organisme ? si oui, précisez lesquelles.**

**C2** *Réponse argumentée :*

- Les techniques IDD et HAAG sont semi-quantitatives, non reproductibles et ne font pas l'objet de trousse commercialisées. Elles apparaissent donc moins pertinentes, voire obsolètes.

**Quelle(s) technique(s) non inscrite(s) à la NABM serai(en)t à inscrire, selon votre organisme ? (notamment l'HAI et l'IFI<sup>35</sup> que le demandeur propose d'inscrire).**

**C3** *Réponse argumentée :*

Oui pour l'HAI, incontestablement car standardisée et reproductible. L'IFI est moins perti-

<sup>34</sup> ELS : électrosynérèse, HAGG : hémagglutination sensibilisée, EIA : méthode immunoenzymatique, IDD : immunodiffusion double.

<sup>35</sup> HAI : hémagglutination, IFI : immunofluorescence.

nente : semi-quantitative, lecture plus difficile et moins standardisée.

**En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif de l'examen précédent**

**Votre organisme pense-t-il qu'un test de confirmation tel que prévu à la NABM est actuellement nécessaire lors de détection d'Ac spécifiques avec les techniques existantes ?**

**C4** Réponse argumentée :

Oui, car les techniques de dépistage peuvent manquer de spécificité, notamment dans un contexte de maladie immuno-allergique (réactions croisées, activation polyclonale) avec risque de poser un résultat erroné et donc sa prise en charge.

**Si oui, parmi les techniques inscrites à la NABM (COES, IELP, IE<sup>36</sup>), certaines sont-elles obsolètes aujourd'hui selon vous ? Précisez lesquelles.**

**C5** Réponse argumentée :

IELP, COES et IE sont les techniques privilégiées pour la confirmation selon un groupe d'experts de la Société Française de mycologie Médicale (Ref 36 - Persat F, Hennequin C, Gangneux JP, Medical Mycology 2016).

**Les données de codage montrent que la technique IELP représente la quasi-totalité des examens de confirmation réalisés jusqu'en 2015. Comment interprétez-vous cette prédominance ? Est-elle susceptible d'évoluer ?**

**C6** Réponse argumentée :

Technique historique considérée de référence par les biologistes et cliniciens. Depuis 2015, un kit commercialisé d'IE (Western Blot LD Bio) fait évoluer les choses avec environ la moitié des centres qui continuent à faire l'IELP (diminution du nombre de kits d'Ag commercialisés pour faire des IELP) et 50 % à faire l'IE.

**Quelle(s) technique(s) non inscrites à la NABM serai(en)t à inscrire selon vous ?**

**C7** Réponse argumentée :

Pas à notre connaissance.

**En ce qui concerne le suivi après instauration d'un traitement**

**C8** **Le dosage des Ac spécifiques a-t-il une place dans le suivi de l'efficacité d'un traitement chirurgical (aspergillome) ? Si oui, quels isotopes et à quelle fréquence ?**

Réponse argumentée :

- Le suivi des aspergillomes/aspergilloses chroniques se conçoit à un rythme semestriel ou annuel (ou selon évolution clinique) par les IgG.

- Le suivi des aspergilloses allergiques se conçoit à un rythme semestriel ou annuel (ou selon évolution clinique) par les IgG et les IgE.

**C9** **Le demandeur souhaite que la technique de suivi itératif soit quantitative. Êtes-vous d'accord ? Pour ce faire, quelles techniques sont à préconiser, selon votre organisme ?**

<sup>36</sup> COES : coélectrosynérèse, IELP : immunoelectrophorèse, IE : immunoempreinte (Western Blot).

*Réponse argumentée :*

Le suivi des formes chroniques et allergique doit être à la fois quantitatif et qualitatif, au moins dans certaines situations cliniques telles que la mucoviscidose ou la BPCO. En effet, les réactions croisées ou activation polyclonale chez ces patients multi-infectés doivent inciter à analyser la nature qualitative des précipitines, par exemple leur activité enzymatique.

**Dans cette optique, quelle est la place de la recherche d'anticorps précipitants anti-*Aspergillus* ?**

*Réponse argumentée :*

C10

Elle reste un support majeur pour le jugement de l'évolution de la maladie aspergillaire, par exemple au cours de la mucoviscidose, à la fois pour les biologistes et pour les cliniciens. Cette recherche doit faire l'objet d'une standardisation pour comparer les résultats d'un laboratoire à l'autre au niveau national, mais avec la même technique au sein d'un laboratoire, il est possible d'analyser la cinétique des Ac précipitants pour un même patient.

## D – Questions portant sur l'argumentaire de la HAS

**Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?**

*Veillez préciser les publications non prises en compte et répondant aux critères de sélection énoncés page 28 de l'argumentaire provisoire.*

D1

*Réponse :*

Non.

**Avez-vous des observations sur la version intermédiaire (contexte et analyse de la littérature) de l'argumentaire de la HAS fourni avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur ou approximation, points à ajouter, autre...) ?**

D2

*Veillez préciser le cas échéant les éléments à clarifier.*

*Réponse :*

- copié-collé malheureux dans l'introduction sur le diagnostic du paludisme.
- Sinon OK.

**Souhaitez-vous émettre des commentaires complémentaires sur les examens de biologie médicale relatifs aux aspergilloses ?**

D3

*Réponse :*

La nomenclature ne doit pas empêcher l'évolution des indications et des techniques du fait d'un libellé trop restrictif. En effet, il s'agit ici de paramètres avec un volume de prescription modeste comparé à la biochimie ou l'hématologie, et ce sont les études nouvelles sur une population bien ciblée qui feront peut-être évoluer les pratiques (par exemple usage du BG dans le LBA ou dans le LCS etc...).

## Annexe 8. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponse du Conseil national professionnel d'hématologie (CNPH)

### A – Questions générales de contexte : stratégie diagnostique d'infections à *Aspergillus*

**Existe-t-il pour *Aspergillus* une définition et des critères précis permettant de distinguer une colonisation d'une infection ? Cette éventuelle distinction peut-elle être mise en évidence par les méthodes biologiques de diagnostic ?**

Réponse argumentée :

La question se pose principalement s'il n'existe pas de signes patents d'infection ou si d'autres pathogènes ont été isolés et peuvent expliquer les signes infectieux, en gardant à l'esprit que les infections à germes multiples sont fréquentes chez les patients immunodéprimés ou fragilisés.

La première démarche est d'exclure une contamination au moment du prélèvement ou lors de la mise en culture de celui-ci. Ces contaminations sont rares et une contamination n'est en général évoquée que si l'espèce isolée n'est pas connue comme pathogène pour l'homme ou si une source de contamination a été identifiée face à des cas multiples.

La colonisation peut exister sous 2 formes :

- colonisation des voies respiratoires hautes ou basses sans aucune manifestation clinique. La colonisation est fréquente sur certains terrains, notamment respiratoire chronique : BPCO, mucoviscidose, transplantation pulmonaire, bronchiolite chronique... La frontière entre invasion et colonisation est quelquefois ténue.

- colonisation responsable d'une pathologie sans invasion tissulaire par *Aspergillus* : aspergillome pulmonaire ou sinusien ou aspergillose broncho-pulmonaire allergique par exemple.

A1

En pratique, la distinction entre colonisation et aspergillose invasive ou aspergillose chronique nécrosante se pose particulièrement pour les patients de réanimation (notamment en cas de maladie respiratoire chronique), les greffés pulmonaires et les greffés de cellules souches hématopoïétiques allogéniques. Aucun test biologique ne permet de discriminer colonisation et infection de façon formelle. La probabilité d'infection, en réanimation, est plus forte si l'examen direct est positif montrant des filaments compatibles avec un *Aspergillus* (qui sera identifié si la culture est positive) comparativement à une culture positive mais avec un examen direct négatif. Des critères incluant la positivité de l'examen direct ont été proposés pour qualifier des aspergilloses chez des patients peu ou non immunodéprimés (Blot SI et al, Am J Respir Crit Care Med, 2012, 186: 56-64). Cette règle ne peut s'appliquer aux patients sévèrement immunodéprimés (greffés d'organe ou de cellules souches hématopoïétiques, neutropénie profonde, immunosuppresseurs T, corticoïdes, déficit immunitaire congénital...)

La PCR, le test de détection du galactomannane aspergillaire ou de détection du bêta-D-glucane ne permettent pas de discriminer colonisation et infection.

Le critère principal est la présence ou non de signes cliniques et radiologiques compatibles avec une infection aspergillaire invasive ou chronique nécrosante. En l'absence de tout signe infectieux au niveau des voies respiratoires inférieures et supérieures, la colonisation peut être affirmée. Cependant si certains aspects radiologiques feront évoquer une infection à champignons filamenteux aucun des signes

cliniques et radiologiques n'est suffisamment spécifique pour affirmer avec certitude qu'il s'agit d'une aspergillose invasive ou chronique nécrosante.

À ce jour, le diagnostic repose sur un ensemble d'arguments cliniques, radiologiques et mycologiques.

Les tests directs (examen direct et culture des crachats, d'une aspiration trachéale chez un malade intubé ou du liquide de lavage alvéolaire) ou indirects (antigène galactomannane, bêta-d-glucane ou PCR dans le sang ou le liquide de lavage alvéolaire) manquent isolément de sensibilité et de spécificité. Leur utilisation dans la démarche diagnostique permet de passer du diagnostic d'aspergillose possible (patient immunodéprimé avec un scanner thoracique évocateur selon la classification consensuelle EORTC/MSG : de Pauw B et al., Clin. Infect. Dis 2008, 46: 1813-1821) au diagnostic d'aspergillose probable dans plus de la moitié des cas.

### **Quelle est la stratégie diagnostique actuellement mise en œuvre en France pour détecter une aspergillose invasive (AI) ?**

*Réponse argumentée :*

Dans le contexte d'une immunodépression sévère, la suspicion vient d'une fièvre persistante sous antibactériens à large spectre. Dès lors, l'hypothèse d'une infection fongique devient forte.

Avec ou sans signe d'appel pulmonaire, le scanner thoracique est le premier examen à effectuer. Parallèlement les examens mycologiques indirects (PCR, galactomannane et/ou bêta-d-glucane selon disponibilité) sont prélevés en sanguin.

**A2**

Si le scanner montre des images compatibles avec une aspergillose invasive (nodule(s) avec ou sans signe du halo, avec ou sans excavation ou une condensation) des investigations respiratoires sont nécessaires (examen des crachats mais ils sont rares en début d'infection) et selon les recommandations internationales (Patterson et al, Clin Infect Dis, 2016, 63: e1-e60), le lavage broncho-alvéolaire (LBA) s'impose.

Le liquide lavage sera analysé en mycologie pour recherche de champignons en examen direct et culture. La détection de galactomannane aspergillaire et la PCR ont un intérêt avec une positivité possible même si les tests sanguins sont négatifs. Le deuxième intérêt du lavage alvéolaire est d'identifier, chez ces patients très immunodéprimés, une éventuelle infection associée (due à des bactéries, des virus, d'autres champignons filamenteux, des levures dont *Pneumocystis jirovecii*, voire des parasites comme *Toxoplasma*).

### **La stratégie diagnostique et les tests utilisés sont-ils différents en cas de suspicion d'AI chez un enfant ?**

*Réponse argumentée :*

Deux écueils chez l'enfant :

**A3**

- davantage de faux positifs pour le test de détection du galactomannane sanguin
- la bronchoscopie avec lavage broncho-alvéolaire est plus difficile chez l'enfant avec notamment nécessité d'une sédation.

Le scanner garde toute sa place pour détecter des images compatibles. Les traitements seront plus fréquemment que chez l'adulte basés sur des suspicions que sur des confirmations mycologiques.

**La stratégie diagnostique est-elle la même avec ou sans traitement antifongique prophylactique ?**

*Réponse argumentée :*

Globalement oui.

**A4**

Cependant le test de détection du galactomannane perd en sensibilité et très souvent ces épisodes ne sont pas documentés sur le plan mycologique. Le scanner garde une place centrale et le LBA reste indiqué dans ces situations d'échec de prophylaxie. L'indication est d'autant plus forte qu'il peut s'agir d'une souche résistante aux nouveaux azolés (rare en France mais néanmoins en lente augmentation) ou de champignons filamenteux autres qu'*Aspergillus*, au premier plan desquels se situent les champignons de l'ordre des Mucorales (responsables des mucormycoses).

**Quels sont les résultats qui permettent de réfuter avec certitude une aspergillose invasive (AI) ?**

*Réponse argumentée :*

**A5**

Face à une image scannographique compatible avec une aspergillose chez un patient à haut risque, aucun examen n'est suffisamment sensible pour que sa négativité puisse exclure une aspergillose (ou une autre infection à champignon filamenteux). Cependant **la négativité concomitante** des examens mycologiques directs, du test de détection du galactomannane dans le sang et le LBA et de la PCR (ou du bêta-d-glucane) a une valeur prédictive négative élevée mais pas absolue. En l'absence d'hypothèse alternative la négativité de tous ces tests ne dispense pas de la mise en route du traitement antifongique si l'image radiologique est compatible.

## **B – Recherche d'antigènes solubles**

**En ce qui concerne les indications de cette recherche :**

**Quelle est, selon votre organisme, l'indication validée (ou les indications validées) de cette recherche d'Ag solubles ? La CNAMTS dans sa demande propose de restreindre la recherche d'Ag à la seule « suspicion d'aspergillose invasive ». Votre organisme est-il d'accord avec cette position ?**

*Réponse argumentée :*

Sur le principe la réponse est oui. Il faut cependant la nuancer car tout est dans le mot « suspicion ».

**B1**

L'antigène galactomannane n'est que rarement positif avant les signes cliniques et radiologiques. Il existe une exception notable à cette règle : les patients traités par corticoïdes qui ne sont pas forcément fébriles précocement dans l'évolution d'une aspergillose. Dans ce groupe de patients se trouvent les allogreffés de cellules souches hématopoïétiques et les greffés d'organe qui ont le risque de mortalité le plus élevé en particulier si le diagnostic est fait tardivement.

En pratique, **la suspicion chez un patient à haut risque** (greffés d'organe ou de cellules souches hématopoïétiques, neutropénie profonde, immunosuppresseurs T, corticoïdes, déficit immunitaire congénitaux...) existe :

- en cas de fièvre persistante sous traitement antibactérien ;



- en cas de syndrome inflammatoire biologique non expliqué ou s'aggravant malgré une antibiothérapie ;
- en cas de signes infectieux respiratoires ou sinusiens ;
- en cas de troubles digestifs non expliqués ;
- en cas de lésions nécrotiques cutanées ou digestives ;
- face à des lésions inflammatoires, ulcérées ou nécrotiques trachéales ou bronchiques ;
- face à une imagerie thoracique compatible :
  - nodule(s) pulmonaire(s) avec ou sans halo, avec ou sans excavation au scanner thoracique ;
  - micronodules pulmonaires qui peuvent traduire une aspergillose aéro-invasive en particulier si le patient n'est pas neutropénique (exemple allogreffé avec maladie du greffon contre l'hôte) ;
  - foyer de condensation pulmonaire ;
  - zone de verre dépoli ;
- face à une imagerie des sinus, du cerveau, de toute autre zone évoquant une cause infectieuse.

**Chez le patient moins sévèrement immunodéprimé** dont l'exemple type est le patient de réanimation avec l'une des comorbidités suivantes (liste non exhaustive) : insuffisance hépato-cellulaire, diabète, traitement corticoïde à faible dose ou de courte durée, tumeur solide, maladie respiratoire chronique décompensée, choc septique...), la situation est plus complexe. La suspicion viendra principalement de prélèvements d'aspiration trachéale positifs à *Aspergillus* ou d'images infectieuses pulmonaires non expliquées par une autre cause ou s'aggravant sous antibactériens. Le test de détection du galactomannane est moins souvent positif sur ce terrain (faible sensibilité) mais il peut néanmoins, en cas de positivité, renforcer la conviction qu'il s'agit d'une infection invasive. Il faut également noter que l'ECIL (European Conference on Infections in Leukemia) a recommandé le screening systématique (2 fois par semaine) chez les patients à très haut risque (leucémies aiguës et syndromes myélodysplasiques en chimiothérapie d'induction et greffés de cellules souches hématopoïétiques allogéniques en phase de neutropénie avant prise de greffe) (Marchetti *et al.*, Bone Marrow Transplantation, 2012, 47 : 846-54). Ces recommandations sont très largement appliquées essentiellement du fait qu'un traitement très précoce est le meilleur garant de la survie à l'infection.

### **La réalisation d'une recherche d'Ag présente-elle un intérêt lorsque les examens microscopiques sont négatifs pour *Aspergillus* ?**

*Réponse argumentée :*

**B2**

Clairement oui, car ils sont la seule confirmation biologique de l'aspergillose dans plus de 75 % des cas en hématologie (Marr *et al.*, Ann Intern Med, 2015, 162: 81-89 supplemental material).

On pourrait même ajouter qu'ils ont moins d'intérêt si le champignon est déjà isolé à partir d'un prélèvement significatif (crachats, liquide de LBA, prélèvements de sinus, biopsie tissulaire). Cependant, nous pensons qu'il faut malgré tout les faire, car le suivi après mise en route du traitement est souhaitable (valeur pronostique favorable si négativation rapide).

**En ce qui concerne les Ag à rechercher :**

**Quel est ou quels sont le ou les Ag à rechercher dans ce cadre ? Ces Ag sont-ils différents en fonction de l'indication ?**

*Réponse argumentée :*

Le test le plus utilisé est la détection de **galactomannane aspergillaire** (*Platelia aspergillus*). Il s'agit d'un test EIA. Sa sensibilité est de l'ordre de 70 % (plus élevée chez les patients neutropéniques que chez les patients non neutropéniques). Quelques faux positifs (dus à d'autres champignons par exemple *Alternaria* sp. et *Fusarium* sp.) mais qui signifient néanmoins qu'il y a infection par un champignon filamenteux. Les champignons de l'ordre des Mucorales ne semblent pas responsables de faux positifs (sujet controversé). De rares faux positifs ont été attribués à des antibiotiques (notamment des dérivés semi-synthétiques de la pénicilline). Ils sont devenus très rares et ne représentent plus une préoccupation.

**B3**

La détection du **bêta-d-glucane** est de plus en plus utilisée. Elle reconnaît plusieurs genres de champignons ; levures du genre *Candida* et c'est probablement là son intérêt dominant mais aussi des champignons filamenteux dont *Aspergillus*. Les autres pathogènes reconnus sont (liste non exhaustive) des levures (*Trichosporon* sp, *Saccharomyces* sp.), des champignons filamenteux (*Fusarium* sp, *Acremonium* sp.), des champignons dimorphiques (*Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Sporothrix schenckii*) et *Pneumocystis jirovecii*. Sa recherche est négative dans les infections à cryptocoques et à Mucorales. L'intérêt est son aspect (partiellement) pan-fongique qui permet d'affirmer l'existence précoce d'une infection fongique dont il conviendra ultérieurement d'affirmer la nature exacte. Dans l'aspergilliose invasive, la complémentarité diagnostique avec la détection du galactomannane peut être intéressante par sa valeur prédictive négative élevée si les deux tests sont négatifs.

La **PCR** (recherche non pas d'antigène mais d'acides nucléiques fongiques) est intéressante mais souffre encore de l'absence de tests vraiment standardisés. Elle est pour l'instant réservée à des laboratoires hospitaliers spécialisés.

La recherche de galactomannane aspergillaire dans le liquide de LBA par un système appelé « lateral flow device » semble intéressant avec une sensibilité supérieure au test EIA. Il est peu (ou pas) utilisé en France pour l'instant.

**Quels sont les liquides biologiques dans lesquels des Ag sont recherchés (sang, LBA, LCS, ...) ? Sont-ils différents selon l'Ag recherché et/ou l'indication ?**

*Réponse argumentée :*

**B4**

Sang.

LBA.

LCR.

Liquide pleural (test non validé dans ce liquide).

Le test peut être fait dans les crachats et sur biopsie tissulaire mais ces techniques ne sont absolument pas validées et ne peuvent être conseillées.

**Quelle(s) est/sont la ou les techniques validée(s) actuellement pour cette recherche ?**

**B5**

*Réponse argumentée :*

Test EIA pour recherche de galactomannane dans le sang, le liquide de LBA et le LCR.

Bêta-d-glucane dans le sang. Il est souvent utilisé dans le liquide de LBA mais n'est

probablement pas validé pour ce milieu.

PCR (recherche d'acides nucléiques) prometteuse (mais déjà depuis de nombreuses années).

**B6**

**La technique de recherche d'antigènes solubles inscrite actuellement à la NABM est l'AGG (test d'agglutination au latex). Doit-on la supprimer ?**

*Réponse argumentée :*

Oui. Elle ne doit plus être utilisée du fait d'une sensibilité insuffisante.

**B7**

**Si le résultat obtenu avec une technique est positif pour un Ag, une confirmation est-elle nécessaire ? Si oui, avec quelle (autre) technique et dans quel délai ? La proposition de la CNAMTS prévoit d'inscrire une confirmation sur un deuxième prélèvement sanguin sous 48 heures, avec reprise du 1<sup>er</sup> prélèvement. Votre organisme est-il d'accord avec cette proposition et ses modalités ?**

*Réponse argumentée :*

Oui avec une extension du délai à 72 heures si le premier est fait le vendredi.

Les recommandations de l'ECIL sont d'accepter le diagnostic si une valeur est > 0,700 ou si deux valeurs sont >0,500. Un délai de 72 heures peut être nécessaire pour un contrôle (premier le vendredi et second le lundi).

En pratique il est souhaitable de faire un deuxième prélèvement sans forcément attendre le résultat du premier (tout dépend du délai de rendu du test qui est fait tous les jours ou non selon les labos). Il peut également (rarement) y avoir de faux positifs de laboratoire qui seront infirmés lors d'une reprise du même sérum.

Par ailleurs l'aspect cinétique de l'évolution est important et un suivi est souhaitable après l'initiation du traitement. Une augmentation du taux signifie souvent une aggravation et peut justifier une modification du traitement. De même, la non normalisation de la valeur à 5 jours de traitement a été associée à une mortalité plus élevée.

**B8**

**La littérature récente analysée reconnaît l'EIA comme technique de référence pour la recherche du galactomannane (GM) et ne l'évoque que sous un nom de marque. Avez-vous des remarques au sujet du kit commercialisé de cette technique (seuil de positivité, avantages, inconvénients, risque de faux négatifs ou positifs, ...) ?**

*Réponse argumentée :*

Pas de remarque.

Le seuil de positivité à 0,500 est adapté pour le sang. La nécessité de deux valeurs si elles sont comprises entre 0,500 et 0,700 ne semble pas indispensable, bien qu'il s'agisse d'une recommandation de l'ECIL, si le contexte radio-clinique est typique. Il vaut alors mieux débiter rapidement le traitement sans attendre une deuxième valeur, le pronostic étant directement lié à la précocité du traitement.

Le seuil de 0,500 est possiblement un peu bas dans le LBA mais le seuil à 1,000 suggéré par les recommandations de l'ECIL (Marchetti et al., Bone Marrow Transplantation, 2012, 47 : 846-54) est probablement trop élevé.

**Selon la littérature analysée, la recherche du GM par EIA dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire aurait un intérêt diagnostique important. Quel est le point de vue de votre organisation ? Quel est le seuil de positivité à adopter ? Une fréquence peut-elle être préconisée pour cet examen ?**

*Réponse argumentée :*

Le LBA est une procédure invasive pénible pour les patients avec quelquefois un risque d'aggravation transitoire sur le plan respiratoire. Il s'agit donc d'une procédure unique qui n'est pas répétable sauf en cas de progression de l'infection. Le risque lié à l'examen est moindre si le patient est intubé et en réanimation.

**B9**

Dans une récente étude clinique consacrée au traitement de première ligne des aspergilloses chez des patients atteints d'hémopathies malignes ou greffés de cellules souches hématopoïétiques, beaucoup (30 % dans un bras et 24 % dans l'autre bras) de cas étaient diagnostiqués sur la seule positivité du galactomannane dans le LBA (Marr et al, Ann Intern Med, 2015, 162: 81-89 supplemental material).

Ces taux sont confirmés dans la vraie vie lorsque le LBA est fait en routine. Ce test est donc essentiel pour arriver au diagnostic dans une proportion importante des cas d'aspergilloses en hématologie.

Dans l'état actuel des connaissances le seuil à adopter pour le liquide de LBA est le même que pour le sang (0,500). Voir commentaire dans la réponse B8.

**La technique EIA de détection du GM est utilisée selon la littérature dans le liquide cébrospinal. L'utilisation de ce test est-elle validée dans le LCS ? si oui, quelles en sont les indications ? Quel est le seuil de positivité à adopter ?**

*Réponse argumentée :*

Les aspergilloses cérébrales sont devenues rares avec l'amélioration des tests diagnostiques et des stratégies de traitement précoce, avec de surcroît des antifongiques mieux tolérés et plus efficaces.

**B10**

Néanmoins le diagnostic d'aspergillose cérébrale reste difficile et la positivité du galactomannane est un élément majeur du diagnostic, pouvant dispenser d'une biopsie cérébrale (qui au demeurant n'est pas toujours faisable sur une lésion mal placée).

Le seuil peut-être de 0,500 comme pour le sang (l'ECIL recommande un seuil à 1,000) (Marchetti et al., Bone Marrow Transplantation, 2012, 47 : 846-54). Il y a très peu de faux positifs dans le LCR.

L'analyse du LCR est donc utile dans les suspicions d'aspergillose cérébrale (qui est une pathologie du patient immunodéprimé), au même titre que les tests bactériologiques, virologiques et parasitaires et que les autres tests mycologiques (antigène cryptocoque, examen direct, culture).

**En plus du test EIA, d'autres techniques validées de recherche du GM aspergillaire sont-elles disponibles en France ? si oui, lesquelles ?**

*Réponse argumentée :*

**B11**

Le « lateral flow device » est utilisé dans certains pays pour la détection de galactomannane aspergillaire dans le LBA. Il est peu (ou pas) utilisé en France pour l'instant. Sa sensibilité est meilleure que celle du test EIA. J'ignore si ce test a été approuvé au niveau européen. L'obtention du résultat est rapide (15 minutes).

**La recherche du  $\beta$ -(1-3)-D - glucane (BG) a-t-elle la même place que celle du GM dans la stratégie diagnostique d'une AI ? dans le sang, le LBA, le LCS ?**

**B12** *Réponse argumentée :*

Non. Le test peut être utile en association avec la détection du galactomannane en raison de la forte valeur prédictive négative de l'association de ces deux tests.

**La réalisation d'une recherche d'Ag présente-t-elle un intérêt lorsque les examens microscopiques sont négatifs pour *Aspergillus* ?**

*Réponse argumentée :*

Même réponse que pour la question B 2.

**B13** Clairement oui, car ils sont la seule confirmation biologique de l'aspergillose dans plus de 75 % des cas en hématologie (Marr et al., Ann Intern Med, 2015, 162: 81-89 supplemental material).

On pourrait même ajouter qu'ils ont moins d'intérêt si le champignon est déjà isolé à partir d'un prélèvement significatif (crachats, liquide de LBA, prélèvements de sinus, biopsie tissulaire). Cependant, nous pensons qu'il faut malgré tout les faire car le suivi après mise en route du traitement est souhaitable (valeur pronostique favorable si négativation rapide).

**Les recommandations examinées ne proposent pas la recherche d'aspergillose invasive chez les patients porteurs de VIH. Pensez-vous que cette pathologie soit une indication de dépistage ? si oui, selon quelles modalités ?**

*Réponse argumentée :*

**B14** Les aspergilloses existent chez les patients VIH positifs. Elles sont habituellement associées à un mauvais contrôle de l'infection par le VIH ou à la coexistence d'une neutropénie ou d'une pathologie maligne.

Il n'y a pas d'indication à une surveillance de routine mais si un patient VIH positif est suspect d'aspergillose le test doit être utilisable.

Ceci est en fait vrai quel que soit le terrain. Dès lors qu'il y a suspicion d'aspergillose chez un patient, le test doit être disponible. Certes la sensibilité est inférieure chez les patients non neutropéniques, mais aucun autre test n'a une sensibilité suffisante pour se passer de la recherche de galactomannane en particulier dans le LBA.

### **En ce qui concerne le suivi par la recherche des Ag**

**La réalisation de test(s) de détection d'Ag présente-t-elle un intérêt après la mise en place d'un traitement antifongique ? si oui, quel Ag, à quelle fréquence et pendant combien de temps ?**

*Réponse argumentée :*

**B15** Les antifongiques anti-aspergillaires peuvent négativer rapidement le dosage du galactomannane dans le sang. Pour le LBA la démonstration n'est pas nette.

Il est donc toujours préférable de réaliser les tests avant la mise en route du traitement. Cependant la précocité de mise en route du traitement est un élément majeur pour réduire la mortalité. Les circonstances peuvent donc faire prescrire un traitement immédiatement sur des arguments cliniques et radiologiques alors que le LBA ne peut être obtenu qu'avec un délai de 1 à plusieurs jours.

Par ailleurs le suivi du galactomannane, par exemple 2 fois par semaine jusqu'à

négativation, est utile. Une augmentation ou une persistance de positivité au-delà du 5<sup>ème</sup> jour est associée à une mortalité plus élevée et peut faire discuter la nécessité d'un changement de traitement. Dans la majorité des cas, ce suivi n'a de sens que durant la première semaine (sauf persistance de la positivité).

## C – Techniques de recherche d'anticorps sériques

**Quelles sont les indications actuelles de la recherche d'anticorps spécifiques anti-*Aspergillus* ?**

*Réponse argumentée :*

Cette recherche est d'un intérêt faible en hématologie. Les patients étant immunodéprimés, ils n'auront souvent qu'une réponse anticorps faible (voire nulle).

**C1**

Cependant, beaucoup de patients (36 %) d'hématologie ont des anticorps anti-aspergillaires (du fait du contact permanent avec *Aspergillus* dans l'environnement et ceci en l'absence de toute maladie aspergillaire (Herbrecht *et al.*, J Clin Oncol, 2002, 20: 1898-906). Il a été montré que les patients positifs en anticorps ont plus souvent des faux-négatifs pour le test de détection du galactomannane. Ceci peut s'expliquer par la formation de complexes immuns entre anticorps et antigènes, complexes immuns qui sont rapidement éliminés. Il peut s'agir là d'une explication partielle de la faible sensibilité du test de détection du galactomannane dans le sang et ce, d'autant plus que le patient est moins immunodéprimé.

Malgré cette notion, il n'y a pas d'indication à une recherche d'anticorps anti-aspergillaires en hématologie.

**En ce qui concerne le premier examen de recherche des anticorps sériques anti-*Aspergillus***

**Parmi les techniques inscrites à la NABM (ELS, HAGG, EIA, IDD<sup>37</sup>), certaines sont-elles obsolètes aujourd'hui selon votre organisme ? si oui, précisez lesquelles.**

**C2**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

**Quelle(s) technique(s) non inscrite(s) à la NABM serai(en)t à inscrire, selon votre organisme ? (notamment l'HAI et l'IFI<sup>38</sup> que le demandeur propose d'inscrire).**

**C3**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

<sup>37</sup> ELS : électrosynérèse, HAGG : hémagglutination sensibilisée, EIA : méthode immunoenzymatique, IDD : immunodiffusion double.

<sup>38</sup> HAI : hémagglutination, IFI : immunofluorescence.



**En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif de l'examen précédent**

**C4**

**Votre organisme pense-t-il qu'un test de confirmation tel que prévu à la NABM est actuellement nécessaire lors de détection d'Ac spécifiques avec les techniques existantes ?**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

**C5**

**Si oui, parmi les techniques inscrites à la NABM (COES, IELP, IE<sup>39</sup>), certaines sont-elles obsolètes aujourd'hui selon vous ? Précisez lesquelles.**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

**C6**

**Les données de codage montrent que la technique IELP représente la quasi-totalité des examens de confirmation réalisés jusqu'en 2015. Comment interprétez-vous cette prédominance ? Est-elle susceptible d'évoluer ?**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

**C7**

**Quelle(s) technique(s) non inscrites à la NABM serai(en)t à inscrire selon vous ?**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

**En ce qui concerne le suivi après instauration d'un traitement**

**C8**

**Le dosage des Ac spécifiques a-t-il une place dans le suivi de l'efficacité d'un traitement chirurgical (aspergillome) ? Si oui, quels isotopes et à quelle fréquence ?**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

**C9**

**Le demandeur souhaite que la technique de suivi itératif soit quantitative. Êtes-vous d'accord ? Pour ce faire, quelles techniques sont à préconiser, selon votre organisme ?**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

**C10**

**Dans cette optique, quelle est la place de la recherche d'anticorps précipitants anti-*Aspergillus* ?**

*Réponse argumentée :*

Nous n'avons pas d'expertise dans ce domaine.

<sup>39</sup> COES : coélectrosynérèse, IELP : immunoélectrophorèse, IE : immunoempreinte (Western Blot).

## **D – Questions portant sur l'argumentaire de la HAS**

**D1** **Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?**  
*Veillez préciser les publications non prises en compte et répondant aux critères de sélection énoncés page 28 de l'argumentaire provisoire.*

*Réponse :*

Non.

**D2** **Avez-vous des observations sur la version intermédiaire (contexte et analyse de la littérature) de l'argumentaire de la HAS fourni avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur ou approximation, points à ajouter, autre...) ?**

*Veillez préciser le cas échéant les éléments à clarifier.*

*Réponse :*

Non.

**D3** **Souhaitez-vous émettre des commentaires complémentaires sur les examens de biologie médicale relatifs aux aspergilloses ?**

*Réponse :*

Remarquable travail de synthèse des données disponibles.

## Annexe 9. Consultation à distance à l'aide d'un questionnaire : réponse du Conseil national professionnel de pneumologie (CNPP)

### A – Questions générales de contexte : stratégie diagnostique d'infections à *Aspergillus*

**Existe-t-il pour *Aspergillus* une définition et des critères précis permettant de distinguer une colonisation d'une infection ? Cette éventuelle distinction peut-elle être mise en évidence par les méthodes biologiques de diagnostic ?**

*Réponse argumentée :*

Il paraît important de distinguer : contamination, colonisation, infection (et probablement maladie). La présence d'une sérologie aspergillaire positive permet d'éliminer d'une contamination. Néanmoins, environ 20 % des malades avec une aspergillose pulmonaire chronique (APC) ont une sérologie négative. En revanche, il n'y a pas de test biologique qui permette de formellement distinguer colonisation et infection aspergillaire.

Il n'y a aucune étude méthodologiquement satisfaisante ayant répondu à cette question. Parmi les arguments plaidant en faveur d'une aspergillose pulmonaire chronique (APC) plutôt que d'une colonisation on peut retenir :

**A1**

- sur le plan clinique : la présence sur une TDM thoracique d'anomalies en faveur d'une aspergillose pulmonaire chronique (cf. ref. Denning D et al Eur Respir J 2016) ;
- sur le plan microbiologique : l'absence d'autres pathogènes identifiés pouvant rendre compte des anomalies radiologiques, en particulier infection à mycobactérie non tuberculeuse ou tuberculeuse (mais ces infections peuvent être associées à une APC). La présence de filaments aspergillaires à l'examen direct d'un prélèvement de sécrétion respiratoire ou d'une biopsie ; la présence d'une antigénémie aspergillaire positive dans un prélèvement de sécrétion respiratoire ; la culture rapidement positive d'une biopsie et répétée positive d'un prélèvement de sécrétion respiratoire ;
- la présence d'une sérologie aspergillaire positive, si possible confirmée par une technique détectant les anticorps précipitants.

L'étude ayant essayé au mieux de répondre à cette question est : Uffredi ML et al. Significance of aspergillus fumigatus isolation from respiratory specimens of non granulocytopenic patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2003, 22:457.

**Quelle est la stratégie diagnostique actuellement mise en œuvre en France pour détecter une aspergillose invasive (AI) ?**

*Réponse argumentée :*

**A2**

Le diagnostic d'AI repose sur des critères liés à l'hôte (terrain favorisant), des critères scanographiques et des critères microbiologiques incluant l'examen mycologique de la lésion ou du LBA ou autre fluide concerné, l'antigène galactomannane (GM) (sang, LBA, LCR), le BD glucan (De Pauw, Clin Infect Dis, 2008) et il a été récemment discuté que la PCR *Aspergillus* soit ajoutée dans le prochain consensus bien que sa performance soit clairement discutée (TIMM 2016 ; Patterson, Clin Infect Dis 2016). Un patient à risque clairement identifié d'AI bénéficiera de ces examens. La performance de ces différents examens varie en fonction du terrain sous-jacent (patients d'hématologie vs patients

autres).

L'examen histologique de la lésion mettant en évidence de l'*Aspergillus* est le seul examen permettant d'obtenir un diagnostic de certitude. 90 % des AI impliquent le poumon, la biopsie pulmonaire étant invasive, elle est rarement réalisée. Il faut le plus souvent se contenter d'examens indirects.

**A3**

**La stratégie diagnostique et les tests utilisés sont-ils différents en cas de suspicion d'AI chez un enfant ?**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**A4**

**La stratégie diagnostique est-elle la même avec ou sans traitement antifongique prophylactique ?**

*Réponse argumentée :*

L'adaptation de cette stratégie chez des patients traités par prophylaxie antifongique est en cours d'étude. La performance de l'antigène GM dans le sérum est moindre chez les patients ayant un traitement prophylactique ; le screening systématique de cet antigène qui était indiqué chez certains patients (leucémie aigüe, greffé de moelle), ne l'est plus en cas de prophylaxie (Patterson, Clin Infect Dis, 2016). Néanmoins, à l'heure actuelle, l'épidémiologie, la présentation clinique/radiologique/biologique des infections fongiques survenant sous prophylaxie n'est pas parfaitement définie et nécessite des investigations complémentaires. La stratégie diagnostique reste pour l'instant identique.

**A5**

**Quels sont les résultats qui permettent de réfuter avec certitude une aspergillose invasive (AI) ?**

*Réponse argumentée :*

L'absence de champignon sur un prélèvement histologique.

Aucun test biologique ne permet de réfuter formellement le diagnostic qui est très difficile à faire/éliminer.

La combinaison des résultats des différents examens permet de retenir/réfuter le diagnostic et orienter la prise en charge thérapeutique (Boch, Clin microbiol Infect, 2016).

## **B – Recherche d'antigènes solubles**

**En ce qui concerne les indications de cette recherche :**

**B1**

**Quelle est, selon votre organisme, l'indication validée (ou les indications validées) de cette recherche d'Ag solubles ? La CNAMTS dans sa demande propose de restreindre la recherche d'Ag à la seule « suspicion d'aspergillose invasive ». Votre organisme est-il d'accord avec cette position ?**

*Réponse argumentée :*

L'Ag galactomane est aussi utile au diagnostic d'aspergillose chronique (Denning, ERJ, 2016). De plus, si le screening systématique des patients à risque d'hématologie est discutable chez les patients sous prophylaxie, un certain nombre de ces patients à risque

ne reçoivent pas de prophylaxie pour différentes raisons (intolérance, absence d'AMM, interactions médicamenteuses ....). Pour ces patients, le monitoring de l'Ag galactomannan reste indiqué.

Le BD glucan n'a de place aujourd'hui que dans la suspicion d'aspergillose invasive (hors pneumocystis !)

**B2**

**La réalisation d'une recherche d'Ag présente-elle un intérêt lorsque les examens microscopiques sont négatifs pour *Aspergillus* ?**

*Réponse argumentée :*

Cf. B4, B9 et autres.

**En ce qui concerne les Ag à rechercher :**

**B3**

**Quel est ou quels sont le ou les Ag à rechercher dans ce cadre ? Ces Ag sont-ils différents en fonction de l'indication ?**

*Réponse argumentée :*

Antigène galactomannan et B-D glucan.

Cf. réponse B1.

**B4**

**Quels sont les liquides biologiques dans lesquels des Ag sont recherchés (sang, LBA, LCS, ...) ? Sont-ils différents selon l'Ag recherché et/ou l'indication ?**

*Réponse argumentée :*

Dans le cadre des aspergilloses pulmonaires chroniques (APC) la détection de l'ag aspergillaire dans les sécrétions respiratoires devraient être évaluée par des études bien conduites. Sa positivité pourrait s'avérer plus sensible et plus spécifique que l'examen direct et la culture.

Pour l'AI, l'Ag GM est recherché dans le sang, le LBA, LCR ou le cas échéant mais rarement présent dans l'AI d'autres fluides comme le liquide pleural.

Le BD glucan n'est recherché que dans le sang bien qu'étant évalué dans le LBA.

**B5**

**Quelle(s) est/sont la ou les techniques validée(s) actuellement pour cette recherche ?**

*Réponse argumentée :*

Il n'y aucune technique validée dans le cadre des APC.

**B6**

**La technique de recherche d'antigènes solubles inscrite actuellement à la NABM est l'AGG (test d'agglutination au latex). Doit-on la supprimer ?**

*Réponse argumentée :*

Il n'y a pas d'indication à faire une recherche d'antigènes solubles par le test d'agglutination au latex qui peut être supprimé, dès lors que les autres techniques sont disponibles.

**B7**

**Si le résultat obtenu avec une technique est positif pour un Ag, une confirmation est-elle nécessaire ? Si oui, avec quelle (autre) technique et dans quel délai ? La proposition de la CNAMTS prévoit d'inscrire une confirmation sur un deuxième**

**prélèvement sanguin sous 48 heures, avec reprise du 1<sup>er</sup> prélèvement. Votre organisme est-il d'accord avec cette proposition et ses modalités ?**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**B8**

**La littérature récente analysée reconnaît l'EIA comme technique de référence pour la recherche du galactomannane (GM) et ne l'évoque que sous un nom de marque. Avez-vous des remarques au sujet du kit commercialisé de cette technique (seuil de positivité, avantages, inconvénients, risque de faux négatifs ou positifs, ...) ?**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**B9**

**Selon la littérature analysée, la recherche du GM par EIA dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire aurait un intérêt diagnostique important. Quel est le point de vue de votre organisation ? Quel est le seuil de positivité à adopter ? Une fréquence peut-elle être préconisée pour cet examen ?**

*Réponse argumentée :*

Dans le domaine des aspergilloses chroniques, la recherche du GM par EIA a été évaluée sur le liquide de LBA et les aspirations bronchiques en comparaison (ou non) du sang. Le seuil de détection était celui utilisé dans le sang. Il s'agit d'études non satisfaisantes sur le plan méthodologique. Néanmoins, cette technique pourrait s'avérer plus sensible que l'examen mycologique direct et plus spécifique que la culture pour séparer infection/colonisation vs contamination.

Pour l'AI de nombreuses études et meta analyses ont évalué ce test qui a très certainement un intérêt diagnostique. Les résultats sont très variables en utilisant des seuils de positivité variables. Nous retenons le seuil de 0,5.

Le LBA n'étant pas pratiqué de façon séquentielle, il est difficile de proposer une fréquence de réalisation...

**B10**

**La technique EIA de détection du GM est utilisée selon la littérature dans le liquide cérebrospinal. L'utilisation de ce test est-elle validée dans le LCS ? si oui, quelles en sont les indications ? Quel est le seuil de positivité à adopter ?**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**B11**

**En plus du test EIA, d'autres techniques validées de recherche du GM aspergillaire sont-elles disponibles en France ? si oui, lesquelles ?**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**B12**

**La recherche du  $\beta$ -(1-3)-D - glucane (BG) a-t-elle la même place que celle du GM dans la stratégie diagnostique d'une AI ? dans le sang, le LBA, le LCS ?**

*Réponse argumentée :*

Il n'y aucune indication pour ce test dans le cadre des APC.

Pour l'AI, ce test est recommandé à visée diagnostique de la même manière que le ga-



lactomannan. Néanmoins sa spécificité est assez faible. Plusieurs études suggèrent que le GM et le BD glucan serait complémentaires pour le diagnostic d'IA. Actuellement, le BD glucan n'est validé que dans le sang, bien qu'évalué dans d'autres fluides comme le LBA.

**La réalisation d'une recherche d'Ag présente-t-elle un intérêt lorsque les examens microscopiques sont négatifs pour *Aspergillus* ?**

**B13** Réponse argumentée :

Cf. B4, B9 et autres.

Indiscutablement oui par l'AI en particulier dans les formes angioinvasives où l'examen microbiologique est le plus souvent négatif (Bergeron, Blood, 2012).

**B14** Les recommandations examinées ne proposent pas la recherche d'aspergillose invasive chez les patients porteurs de VIH. Pensez-vous que cette pathologie soit une indication de dépistage ? si oui, selon quelles modalités ?

Réponse argumentée :

Hors champs de compétence de l'auteur.

### **En ce qui concerne le suivi par la recherche des Ag**

**La réalisation de test(s) de détection d'Ag présente-t-elle un intérêt après la mise en place d'un traitement antifongique ? si oui, quel Ag, à quelle fréquence et pendant combien de temps ?**

**B15** Réponse argumentée :

Il a été démontré que la cinétique de négativation de l'Ag GM après instauration du traitement était un facteur pronostique important dans l'AI. Donc oui. Difficile de préciser la fréquence.

## **C – Techniques de recherche d'anticorps sériques**

**Quelles sont les indications actuelles de la recherche d'anticorps spécifiques anti-*Aspergillus* ?**

Réponse argumentée :

**C1** Pour ce qui est des IgE spécifiques (totales ?) cette recherche est indispensable pour porter le diagnostic d'aspergillose bronchopulmonaire allergique (ABPA) puisque leur présence est indispensable à la définition de cette maladie.

Pour ce qui est des IgG spécifiques cette recherche est indispensable pour porter le diagnostic d'aspergillose pulmonaire chronique (APC) puisque leur présence fait partie de la définition de cette maladie.

**En ce qui concerne le premier examen de recherche des anticorps sériques anti-Aspergillus**

**C2**

**Parmi les techniques inscrites à la NABM (ELS, HAGG, EIA, IDD<sup>40</sup>), certaines sont-elles obsolètes aujourd'hui selon votre organisme ? si oui, précisez lesquelles.**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**C3**

**Quelle(s) technique(s) non inscrite(s) à la NABM serai(en)t à inscrire, selon votre organisme ? (notamment l'HAI et l'IFI<sup>41</sup> que le demandeur propose d'inscrire).**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**En ce qui concerne l'examen de confirmation d'un résultat positif de l'examen précédent**

**C4**

**Votre organisme pense-t-il qu'un test de confirmation tel que prévu à la NABM est actuellement nécessaire lors de détection d'Ac spécifiques avec les techniques existantes ?**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**C5**

**Si oui, parmi les techniques inscrites à la NABM (COES, IELP, IE<sup>42</sup>), certaines sont-elles obsolètes aujourd'hui selon vous ? Précisez lesquelles.**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**C6**

**Les données de codage montrent que la technique IELP représente la quasi-totalité des examens de confirmation réalisés jusqu'en 2015. Comment interprétez-vous cette prédominance ? Est-elle susceptible d'évoluer ?**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

**C7**

**Quelle(s) technique(s) non inscrites à la NABM serai(en)t à inscrire selon vous ?**

*Réponse argumentée :*

Hors champs de compétence de l'auteur.

---

<sup>40</sup> ELS : électrosynérèse, HAGG : hémagglutination sensibilisée, **EIA** : *méthode immunoenzymatique*, IDD : immunodiffusion double.

<sup>41</sup> HAI : hémagglutination, IFI : immunofluorescence.

<sup>42</sup> COES : coélectrosynérèse, IELP : immunoélectrophorèse, IE : immunoempreinte (Western Blot).

### **En ce qui concerne le suivi après instauration d'un traitement**

- C8** Le dosage des Ac spécifiques a-t-il une place dans le suivi de l'efficacité d'un traitement chirurgical (aspergillome) ? Si oui, quels isotypes et à quelle fréquence ?

*Réponse argumentée :*

Il n'y a pas d'indication à surveiller par le dosage des Ac spécifiques l'efficacité du traitement chirurgical d'un aspergillome. Il y a très peu d'études évaluant la cinétique de disparition des Ac et ces études sont méthodologiquement critiquables.

- C9** Le demandeur souhaite que la technique de suivi itératif soit quantitative. Êtes-vous d'accord ? Pour ce faire, quelles techniques sont à préconiser, selon votre organisme ?

*Réponse argumentée :*

Cette question doit faire l'objet d'études spécifiques dans le cadre d'essais thérapeutiques bien conduits.

- C10** Dans cette optique, quelle est la place de la recherche d'anticorps précipitants anti-*Aspergillus* ?

*Réponse argumentée :*

La place de la recherche d'Ac précipitants est plutôt indiquée dans le cadre du diagnostic initial d'APC, comme technique de confirmation. Leur présence serait plus spécifique d'une infection tissulaire.

## **D – Questions portant sur l'argumentaire de la HAS**

- D1** Auriez-vous connaissance de publications pertinentes non prises en compte ?  
*Veillez préciser les publications non prises en compte et répondant aux critères de sélection énoncés page 28 de l'argumentaire provisoire.*

*Réponse :*

Uffredi ML et al. Significance of aspergillus fumigatus isolation from respiratory specimens of non granulocytopenic patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2003, 22:457.

- D2** Avez-vous des observations sur la version intermédiaire (contexte et analyse de la littérature) de l'argumentaire de la HAS fourni avec ce questionnaire (lisibilité, omissions, erreur ou approximation, points à ajouter, autre...) ?

*Veillez préciser le cas échéant les éléments à clarifier.*

*Réponse :*

Attention à l'analyse de la littérature des APC dans laquelle les différentes formes d'APC sont mélangées (aspergillome simple, aspergillome chronique cavitair, aspergillome nécrosant/semi-invasif) avec des pronostics et des traitements différents.

Souhaitez-vous émettre des commentaires complémentaires sur les examens de biologie médicale relatifs aux aspergilloses ?

**D3**

*Réponse :*

Limitation du suivi sérologique pour les APC. Nécessité d'envisager des études prospectives sur les caractéristiques des différents biologiques dans le cadre des APC. Très faible niveau de preuve, tant pour le diagnostic que pour le suivi après chirurgie ou traitement antifongique.

## Annexe 10. Compte-rendu de l'audition du Centre national de référence Maladies fongiques et Antifongiques

---

**Type de réunion :** audition de partie prenante

**Titre :** *Actualisation des actes de diagnostic biologique des infections à Aspergillus*

**Date :** 5 avril 2017

**Centre National de Référence des Mycoses invasives et Antifongiques (CNRMA) représenté par :**

Professeur Stéphane BRETAGNE, directeur adjoint du Centre National de Référence des Mycoses invasives et Antifongiques (CNRMA- Institut Pasteur) et chef de service de Parasitologie-Mycologie, GH Paris Nord - hôpital Saint Louis (AP-HP), 75010 Paris,

Professeur Olivier LORTHOLARY, directeur adjoint du CNRMA et chef de service des maladies infectieuses et tropicales, Hôpital Necker - Enfants malades, (AP-HP), 75015 Paris.

---

Les représentants du CNRMA ont dans un premier temps expliqué les éléments clés des problématiques spécifiques des pathologies aspergillaires.

### Diagnostic des aspergilloses

Les pathologies aspergillaires sont très diverses et les profils pathologiques sont dichotomiques entre ceux des patients immunodéprimés retrouvés principalement en hématologie et ceux des sujets immunocompétents, retrouvés en pneumologie notamment.

Chez les patients immunodéprimés, les techniques de référence pour le diagnostic sont l'examen microscopique et la culture. L'interprétation de la positivité de la culture de prélèvements respiratoires chez ces patients est difficile entre vraie infection, colonisation de l'arbre trachéobronchique sans invasion, ou simple présence de spores fongiques provenant de l'environnement. Pour homogénéiser les définitions chez les patients d'hématologie, B. de Pauw *et al* ont proposé de classer les infections fongiques invasives (IFI) en fonction de leur probabilité (prouvée, probable, possible) sur des arguments cliniques, d'imagerie et de microbiologie. Cette standardisation a permis d'améliorer la qualité des données des essais cliniques.

Parmi les critères microbiologiques, ceux affirmant le diagnostic basé sur des actes invasifs comme les bronchoscopies ou les biopsies ne sont pas souvent possibles chez les patients fragilisés d'hématologie. Pour l'instant, seul l'antigène galactomannane (GM) est validé comme critère microbiologique pour l'aspergillose probable, dans le sérum/plasma ou dans le liquide de LBA. Sa principale limite est le fort taux de faux positifs ce qui nécessite des règles de réalisation à respecter (tester le même sérum deux fois et tester également un deuxième échantillon) et la recherche de molécules pouvant donner des réactions croisées (immunoglobulines, pénicillines,...). Les cliniciens peuvent toutefois débiter les antifongiques dès suspicion d'IFI sur positivité du GM, sans diagnostic confirmatoire, pour éviter tout retard dans la prise en charge. La recherche d'ADN aspergillaire circulant par les techniques d'amplification génique (PCR) est en cours de validation. De nouveaux antigènes sont régulièrement proposés et certains ont été évalués comme le  $\beta$  -(1-3)-D-glucane (BG) qui n'est pas spécifique de l'aspergillose et est positif lors d'infections à levures.

Parmi les critères d'imagerie, la présence de nodules et le signe du halo sont les éléments diagnostiques les plus pertinents. Des études<sup>43</sup> sont menées à l'hôpital sur l'apport de l'imagerie (PET-Scan au 18-FDG) couplée à la cinétique des Ag sériques dans ce domaine. À noter que pour les patients maintenus en secteur stérile, très neutropéniques, la réalisation de scanner nécessite de lever la protection, ce qui doit être pesé dans la stratégie de prise en charge.

---

<sup>43</sup> Essai clinique financé par le PHRC 2015 national, n°15-585 -Optifil :« Stewardship antifongique dans l'aspergillose pulmonaire invasive à l'aide du PET/TDM » coordonné par le Dr Fanny Lanternier.

Chez les patients immunocompétents, le diagnostic est dominé par l'imagerie et par la recherche d'anticorps. L'examen microscopique et la culture sont également demandés chez des patients avec anomalies bronchiques (comme les patients avec mucoviscidose). Le but est alors de savoir si ces patients sont chroniquement colonisés en particulier si une transplantation d'organe est programmée. La connaissance d'une telle colonisation peut justifier la mise en place d'une prophylaxie antifongique lors de la phase d'immunosuppression post greffe.

### Stratégie de recherche des Ag dans le sang et les autres liquides biologiques

Le galactomannane (GM) peut être utilisé dans deux stratégies différentes : en screening (dépistage) pendant les périodes à risque d'aspergillose invasive (neutropénie profonde ou corticothérapie à fortes doses), ou dans un bilan diagnostique en cas de suspicion d'aspergillose invasive (AI) sur signes clinico-radiologiques. Le screening ne se justifie que lorsque la prévalence attendue de l'aspergillose invasive est au moins de 5 % (leucémie aiguë, allogreffe de CSH). La prophylaxie antifongique, en abaissant le taux de survenue d'aspergillose invasive, questionne donc la politique de screening en hématologie et celui-ci n'est plus proposé par certains (cf. recommandations américaines de l'IDSA 2016 : Patterson *et al.*). De même, après transplantation d'organes solides, la fréquence de l'aspergillose est telle que cette stratégie de screening est discutable. Par contre, la recherche de GM lors de toute suspicion diagnostique n'est pas discutée. De même, une fois le test positif, la réalisation de tests sanguins itératifs après l'initiation d'un traitement antifongique est à retenir car la cinétique des taux mesurés sur les premiers jours est un facteur pronostique de réponse au traitement.

Le CNRMA explique que l'intérêt du BG n'a été prouvé que pour les situations de suspicion d'infection à *Pneumocystis jirovecii* pour lesquelles son excellente valeur prédictive négative (VPN) permet d'arrêter le cotrimoxazole. L'équipe du Pr Lortholary a effectué récemment avec plusieurs autres services une étude rétrospective de cohorte dans une population pédiatrique et adulte à l'hôpital Necker (Angebault C. *et al.* : Open Forum Infect Dis, 3 (3), 2016) qui ne conclut pas à l'intérêt du BG en screening ou en suivi thérapeutique des pathologies fongiques. De plus, dire comme certaines publications que ce biomarqueur (BG) est positif bien avant les signes cliniques est plus aisé sur la base d'une étude rétrospective sur aliquots qu'en pratique clinique quotidienne.

Chez les enfants, le taux de faux positifs au GM est plus important que chez l'adulte. Le test au BG est également fait en pédiatrie avec de fréquents faux positifs. Lehrnbecher *et al.* ont publié des recommandations pour l'onco-pédiatrie en 2012 et une méta-analyse qui fait le point en 2016 notamment sur l'utilisation des deux Ag. La place de la recherche des Ag chez l'enfant a aussi été investiguée par l'ECIL-4 (Groll A *et al.*, 2014) et comme indiqué dans l'argumentaire, le BG ne fait pas l'objet de recommandations en oncohématologie pédiatrique en absence de données suffisantes. Comme pour l'adulte, le CNRMA confirme que dans la stratégie de détection d'AI, ces deux Ag n'ont pas la même place, liée au niveau de preuve dans la littérature, et que le GM est à privilégier.

Le CNRMA pointe que les évaluations réalisées à partir du LBA se heurtent à l'absence de standardisation dans la réalisation du lavage puis dans le traitement des échantillons. Peu d'auteurs prennent en compte les volumes récupérés et le facteur de dilution très variable qui en résulte, rendant les résultats non comparables entre études. Dans le liquide cébrospinal, on retrouve une très bonne VPN de la recherche du GM, même si cette situation ne concerne que très peu de malades au total.

Le CNRMA souligne qu'il faut être attentif dans l'argumentaire à la formulation des conditions nécessaires à l'utilisation des Ag dans la stratégie diagnostique de l'AI et prendre comme référence les préconisations publiées par le consensus européen (ECIL) en la matière.

Concernant les kits commerciaux disponibles en France, le CNRMA confirme que les seuls présentement validés en France sont ceux décrits dans l'argumentaire de la HAS, tant pour le GM que le BG. Le CNRMA confirme la problématique du choix du seuil pointée par la HAS dans la littérature et atteste que ces taux ne sont pas identiques entre les préconisations du fabricant dans sa notice d'utilisation (seuil de positivité :  $DO \geq 0,5$  pour le sang et le LBA), de la FDA (0,5 sur deux échantillons sanguins) et le choix de certains cliniciens avec, dans le sang une  $DO \geq 0,5$  sur deux dosages successifs ou  $\geq 0,7$  sur un dosage et dans le LBA et le LCS une  $DO \geq 1$ .



S'agissant de la confirmation de la positivité du test sur Ag soluble (acte à créer à la NABM) : concernant le GM, pour tous les patients positifs sur la base d'un aliquot, le fabricant du test disponible sur le marché français (BioRad) recommande de tester un nouvel aliquot du même échantillon au cours d'une autre manipulation (dans le sérum et/ ou le LBA). Pour expliquer cette prudence, le CNRMA rappelle qu'il existe un risque de faux positifs inhérent à chaque manipulation, et que dans les pathologies très sévères qui mobilisent beaucoup de moyens dans la stratégie diagnostique et thérapeutique, il convient particulièrement d'écartier ces faux positifs après vérification du premier résultat : une étude de l'équipe du Pr Bretagne a montré que la reproductibilité de la positivité était imparfaite (à 33 %) pour le test EIA GM (Guigue N. *et al* Plos One 10(4), 2015). En conséquence, un échantillon positif doit être testé une seconde fois, lors d'une nouvelle manipulation, en évaluant en parallèle, dans la mesure du possible, un échantillon du malade issu d'un second prélèvement. Néanmoins, il faut savoir que les modalités de réplique d'une manipulation dépendent des possibilités organisationnelles de chaque laboratoire de biologie médicale (LBM) et de la fréquence de réalisation du kit EIA GM sur une semaine, ce qui fait dire qu'un délai de 48 heures (proposé pour le libellé dans la demande) est un peu restrictif si l'on veut considérer l'ensemble des LBM. De ce fait, autoriser un délai jusqu'à 72 heures pour obtenir la confirmation sur un second prélèvement laisserait plus de souplesse aux LBM, en particulier dans le cas des patients en ambulatoire. Néanmoins, le risque de l'aspergillose invasive est tel que la confirmation ne doit pas retarder une prise en charge probabiliste, même si le diagnostic est secondairement écarté.

Le CNRMA indique que le terme de « suspicion d'AI » souhaité dans le libellé de l'acte sanguin à la NABM comme seule indication remboursable par la CNAMTS convient à l'ensemble de la communauté médicale. Cette indication est donc plus fréquente chez les patients immunodéprimés mais elle ne doit pas se réduire à ces seuls patients. Il existe en effet un risque d'aggravation de formes chroniques vers des formes plus invasives qui légitiment la recherche des Ag solubles dans les liquides biologiques hors indication hématologique. Le CNRMA confirme que la méthode du latex sensibilisé pour la recherche de GM n'est plus utilisée en pratique courante car cette technique est peu sensible (et le maintien de sa commercialisation n'est pas certain).

### **Recherche d'anticorps sériques spécifiques anti-Aspergillus**

La recherche d'Ac émane de plusieurs spécialités médicales mais la pneumologie est prépondérante. Dans ce contexte d'aspergillose chez des patients immunocompétents, les analyses sont souvent réalisées en LBM de ville. Le titrage des IgE totales dont un taux seuil entre dans la définition de plusieurs cadres nosologiques, et celui des IgE spécifiques anti-aspergillaires rentrent dans le cadre des aspergillose immuno-allergiques comme l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA). Les IgG anti-aspergillaires sont par contre demandés pour le diagnostic et le suivi des aspergillose chroniques du patient immunocompétent. De façon générale, les pneumologues les plus concernés par ces pathologies aspergillaires complexes doivent clairement édicter leur stratégie diagnostique à l'intention des biologistes, qui suivent alors leur demande. Il est également précisé qu'il n'y a pas d'indication de recherche d'Ac en hématologie lors de la suspicion d'aspergillose invasive.

La HAS indique que la littérature et le retour des questionnaires aux PP ne répondent pas totalement à la question du choix des techniques et des modalités de réalisation telles que présentes dans la demande de la CNAMTS. Le CNRMA répond que les techniques immunoenzymatiques (ELISA) commercialisées en kit se développent, plusieurs sont apparues sur le marché mais il conviendra de vérifier les performances analytiques des plus récentes. Par ailleurs les techniques ELISA « maison » devront passer le niveau d'exigence de l'accréditation. Pour l'accréditation, les LBM devront choisir des techniques les plus reproductibles, les contraintes de formations des techniciens étant très lourdes pour les techniques à lecture visuelle (exigence d'accréditation tous les 6 mois) et le CNRMA pense que cette rationalisation va éliminer de fait les techniques anciennes non automatisables. Il ajoute qu'historiquement la recherche des précipitines avec activité enzymatique (catalase et chymotrypsine) a été adoptée pour les pathologies aspergillaires en pneumologie et que cette référence perdure dans le suivi des

patients chroniques : la décroissance du nombre d'arcs de précipitation à activité enzymatique est un indice d'efficacité thérapeutique pour les pneumologues, qui continuent à prescrire les techniques d'immunoprécipitation plutôt que les techniques EIA. La HAS souligne que ces deux types de techniques sont inclus dans les recommandations européennes de l'ESCMID 2015 (Denning DW *et al.*) sur les pathologies pulmonaires aspergillaires chroniques, et comme relaté dans ces dernières, il n'y a pas lieu de se poser la question en biologie de routine de l'utilité des autres isotypes (IgA et IgM). Par ailleurs, le CNRMA explique que développer des tests avec un nombre restreint d'antigènes n'est pas une garantie d'une meilleure sensibilité. En effet, l'usage d'antigènes complexes permet de détecter une réponse globale à de nombreux antigènes alors que l'utilisation d'un nombre restreint d'antigènes pourrait conduire à des résultats faussement négatifs si le patient testé ne développe pas d'Ac contre l'Ag ciblé mais contre un autre épitope. Les préparations polyclonales demeurent donc pertinentes malgré des défauts de standardisation inhérents à leur mode de production. Les préparations à base d'*A. fumigatus* sont suffisantes dans la majorité des cas en France, où cette espèce est majoritaire.

La HAS rappelle que la demande souhaite imposer de fait pour le dépistage par recherche d'Ac des techniques dont les résultats soient quantitatifs, permettant de les conserver pour le suivi thérapeutique, [libellé proposé : suivi avec examen itératif du sérum ayant servi au dépistage par une technique quantitative] ce qui induit une sélection entre les techniques actuellement pratiquées. Ainsi sont proposées à la NABM, l'HAI et l'IF alors que l'IDD et la HAGG seraient supprimées et l'EIA et ELS maintenues. La HAS a noté une forte baisse du nombre d'actes de suivi remboursés entre 2014 et 2015. Le CRNMA indique qu'après chirurgie de résection (aspergillome), le suivi par un dosage quantitatif itératif (6 à 12 mois) des IgG est à préconiser, par crainte de repousse fongique si la résection a été incomplète. Le CNRMA relève qu'il serait pertinent dans le travail de la HAS de conseiller que la recommandation soit donnée à chaque patient de s'adresser toujours au même LBM pour les dosages successifs d'Ac (et d'Ag le cas échéant) limitant ainsi un des facteurs de variabilité des résultats, ou du moins que le clinicien s'assure que les tests ont été réalisés avec les mêmes techniques.

### Autres points

Le CNRMA est surpris de l'absence d'anticipation de proposition sur les techniques de biologie moléculaire (PCR diagnostique). La HAS indique qu'elles ne font pas partie de la demande de la CNAMTS pour *Aspergillus*, raison pour laquelle ces techniques ne sont pas détaillées dans l'argumentaire. Cette demande d'inscription pourra faire l'objet d'une requête ultérieure par exemple *via* l'appel d'offres ouvert tous les ans aux sociétés savantes.

L'actualisation des critères EORTC-MGS qui intègrent les techniques de PCR dans la stratégie diagnostique devrait être publiée avant la fin de l'année 2017 et sera alors un apport dans l'évaluation.

## Références

1. Haute Autorité de Santé. Modification de la nomenclature des actes de biologie médicale pour les actes de diagnostic biologique des infections à *Aspergillus* (champignons filamenteux). Saint-Denis La Plaine: HAS ; 2017.  
[http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017-01/dir1/fdr\\_aspergillus.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017-01/dir1/fdr_aspergillus.pdf)
2. Gangneux JP, Bouchara JP, Chabasse D. Biologie et diagnostic des infections à *Aspergillus*. *Encyclop Méd Chir maladies infectieuses* 2013;8-600-A-10.
3. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale. Parasitologie. Saint-Denis: ANSM; 2014.  
[http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/5afb1866fe4e0bb9a24796e636c1da06.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/5afb1866fe4e0bb9a24796e636c1da06.pdf)
4. Gangneux JP, Bouchara JP. Aspergilloses et résistance aux antifongiques. *Biologie Médicale* 2016;11(4):1-8.
5. Segal BH. Aspergillosis. *N Engl J Med* 2009;360(18):1870-84.
6. Germaud P, Boutoille D, Gay-Andrieu F. Mycoses bronchopulmonaires (aspects immunoallergiques exclus). *Encyclop Med Chir Pneumologie* 2010;6-003-J-10.
7. Page ID, Richardson M, Denning DW. Antibody testing in aspergillosis--quo vadis? *Med Mycol* 2015;53(5):417-39.
8. Persat F. Sérologie aspergillaire, d'hier à aujourd'hui pour demain. *J Mycol Med* 2012;22(1):72-82.
9. Agarwal R, Chakrabarti A, Shah A, Gupta D, Meis JF, Guleria R, *et al.* Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin Exp Allergy* 2013;43(8):850-73.
10. Delhaes L, Frealle E, Pinel C. Serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis: State of the art and further challenges. *Med Mycol* 2010;48 Suppl 1:S77-87.
11. Haute Autorité de Santé. Mucoviscidose. Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2010.  
[http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c\\_464719/fr/ald-n18-mucoviscidose](http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_464719/fr/ald-n18-mucoviscidose)
12. Chabi ML, Goracci A, Roche N, Paugam A, Lupo A, Revel MP. Pulmonary aspergillosis. *Diagn Interv Imaging* 2015;96(5):435-42.
13. Association française des enseignants de parasitologie et mycologie. Aspergilloses et autres champignons filamenteux opportunistes. Paris: ANOFEL; 2014.  
<http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/aspergilliose/site/html/cours.pdf>
14. Godet C, Philippe B, Laurent F, Cadranel J. Chronic pulmonary aspergillosis: an update on diagnosis and treatment. *Respiration* 2014;88(2):162-74.
15. European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, European Respiratory Society, Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, *et al.* Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. *Eur Respir J* 2016;47(1):45-68.
16. Lortholary O, Gangneux JP, Sitbon K, Lebeau B, Thiébaud A, Le strat Y, *et al.* Epidémiologie de l'aspergillose invasive en France : résultat du réseau SAIF (2005-2007). *BEH* 2013;12-13:121-4.
17. Frange P, Bougnoux ME, Lanternier F, Neven B, Moshous D, Angebault C, *et al.* An update on pediatric invasive aspergillosis. *Med Mal Infect* 2015;45(6):189-98.
18. European Organization for Research and Treatment of Cancer, Invasive Fungal Infections Cooperative Group, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, *et al.* Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002;34(1):7-14.
19. European Organization for Research and Treatment of Cancer, Invasive Fungal Infections Cooperative Group, National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group Consensus Group, de Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, *et al.* Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008;46(12):1813-21.
20. Desoubreaux G, Bailly E, Chandener J. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: updates and recommendations. *Med Mal Infect* 2014;44(3):89-101.
21. Gangneux JP, Bougnoux ME, Hennequin C, Godet C, Chandener J, Denning DW, *et al.* An estimation of burden of serious fungal infections in France. *J Mycol Med* 2016;26(4):385-90.
22. Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail. Moisissures dans le bâti. Maisons-Alfort : ANSES; 2016.  
<https://www.anses.fr/fr/system/files/AIR2014SA0016Ra.pdf>
23. Bitar D, Lortholary O, Dromer F, Coignard B, Che D. Mycoses invasives en France métropolitaine, PMSI 2001-2010 : incidence, létalité et tendances. *BEH* 2013;12-13:109-14.
24. Centre national de référence mycoses invasives et antifongiques. Rapport annuel d'activité 2014. Paris: Institut Pasteur; 2015.  
[https://www.pasteur.fr/sites/www.pasteur.fr/files/dromer\\_f\\_rap\\_act\\_2014\\_cnрма.pdf](https://www.pasteur.fr/sites/www.pasteur.fr/files/dromer_f_rap_act_2014_cnрма.pdf)
25. Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé, Société française d'hygiène hospitalière. Prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés

- (hématologie, transplantation). Conférence de consensus - 21 mars 2000 Institut Pasteur - Paris. Paris: ANAES; 2000. <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/asplong.pdf>
26. Bernardeschi C, Foulet F, Ingen-Housz-Oro S, Ortonne N, Sitbon K, Quereux G, *et al.* Cutaneous Invasive Aspergillosis: Retrospective Multicenter Study of the French Invasive-Aspergillosis Registry and Literature Review. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(26):e1018.
27. Infectious Diseases Society of America, Patterson TF, Thompson GR, 3rd, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, *et al.* Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016;63(4):e1-e60.
28. Botterel F, Lachaud L, Pozzetto B, Toro A, Wallet F. Infections broncho-pulmonaires (hors tuberculose et mucoviscidose). Dans: Société française de microbiologie, ed. Remic 2015. Paris: SFM; 2015.
29. Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales. *E Pilly trop. Maladies infectieuses tropicales.* Paris: CMIT; Alinéa Plus; 2016. <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/epilly-trop/epillytrop2016.pdf>
30. Dorfmüller P, Ghigna MR. Lavage bronchioalvéolaire. *Encyclop Med Chir Pneumologie* 2011;6-000-M-50.
31. Public Health England, National Health Services. UK standards for microbiology investigations. Investigation of bronchoalveolar lavage, sputum and associated specimens. London: NHS; 2015. [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/483833/B\\_57i3.1.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/483833/B_57i3.1.pdf)
32. Marchetti O, Lamoth F, Mikulska M, Viscoli C, Verweij P, Bretagne S. ECIL recommendations for the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic SCT recipients. *Bone Marrow Transplant* 2012;47(6):846-54.
33. Kauffmann-Lacroix C, Arvier M, Charron M, Rodier MH, Vassault A. Validation d'une méthode Elisa pour la recherche de l'antigène aspergillaire galactomannane en vue de l'accréditation. *J Mycol Med* 2013;23(1):33-9.
34. de Heer K, Gerritsen MG, Visser CE, Leeflang MMG. Galactomannan detection in broncho-alveolar lavage fluid for invasive aspergillosis in immunocompromised patients (Protocol). *Cochrane Database Syst Rev* 2016;10(CD012399).
35. Bergeron A, Porcher R, Menotti J, Poirot JL, Chagnon K, Vekhoff A, *et al.* Prospective evaluation of clinical and biological markers to predict the outcome of invasive pulmonary aspergillosis in hematological patients. *J Clin Microbiol* 2012;50(3):823-30.
36. McCarthy M, Rosengart A, Schuetz AN, Kontoyiannis DP, Walsh TJ. Mold infections of the central nervous system. *N Engl J Med* 2014;371(2):150-60.
37. Associates of Cape Cod incorporated. Fungitell® mode d'emploi. Dosage de (1→ 3)-β-D-glucane sérique [En ligne] 2011. [http://www.acciusa.com/pdfs/accProduct/Fungitell\\_multi\\_lang\\_pisheets/Fungitell%20Insert%20FR.pdf](http://www.acciusa.com/pdfs/accProduct/Fungitell_multi_lang_pisheets/Fungitell%20Insert%20FR.pdf)
38. Lamoth F. Galactomannan and 1,3-β-D-glucan testing for the diagnosis of invasive aspergillosis. *J Fungi* 2016;2(22).
39. Martin-Rabadan P, Gijón P, Alonso Fernandez R, Ballesteros M, Anguita J, Bouza E. False-positive *Aspergillus* antigenemia due to blood product conditioning fluids. *Clin Infect Dis* 2012;55(4):e22-7.
40. Guigue N, Lardeux S, Alanio A, Hamane S, Tabouret M, Bretagne S. Importance of operational factors in the reproducibility of aspergillus galactomannan enzyme immune assay. *PLoS One* 2015;10(4).
41. Decool V. Place du dosage des béta-(1,3) -D-glucanes dans le diagnostic des maladies fongiques invasives. [Thèse en vue du diplôme d'état de Docteur en pharmacie]. Lille: Faculté des Sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille; 2012.
42. Persat F, Ranque S. Intérêts et limites du sérodiagnostic fongique. *La Lettre de L'infectiologue* 2009;24(1):8-18.
43. Persat F, Hennequin C, Gangneux JP. *Aspergillus* antibody detection: diagnostic strategy and technical considerations from the Société Française de Mycologie Médicale (French Society for Medical Mycology) expert committee. *Med Mycol* 2016.
44. Brouwers MC, Kho ME, Browman GP, Burgers JS, Cluzeau F, Feder G, *et al.* The Global Rating Scale complements the AGREE II in advancing the quality of practice guidelines. *J Clin Epidemiol* 2012;65(5):526-34.
45. AGREE Research Trust. AGREE II-Global rating scale (AGREE II-GRS) Instrument [En ligne] 2013. <http://www.agreetrust.org/wp-content/uploads/2013/12/AGREE-II-GRS-Instument.pdf>
46. Agarwal R, Aggarwal AN, Gupta D, Jindal SK. *Aspergillus* hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with bronchial asthma: systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009;13(8):936-44.
47. Infectious Diseases Society of America, American Society for Microbiology, Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, *et al.* A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a). *Clin Infect Dis* 2013;57(4):e22-e121.
48. Panel on Opportunistic Infections in HIV-Exposed and HIV-Exposed and HIV-Infected Children, Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Centers for Disease Control and Prevention, HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America, Pediatric Infectious Diseases Society, *et al.* Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-exposed and HIV-infected children ; 2013. [https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/oi\\_guidelines\\_pediatrics.pdf](https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/oi_guidelines_pediatrics.pdf)
49. British HIV Association, British Infection Association, Nelson M, Dockrell D, Edwards S, Angus B, *et al.* British HIV Association and British Infection Association guidelines for the treatment of opportunistic infection in



- HIV-seropositive individuals 2011. *HIV Med* 2011;12(Suppl 2):1-140.
50. Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents. *Morb Mortal Weekly Report* 2009;58(RR4).
51. American Association for the Study of Liver Diseases, Lucey MR, Terrault N, Ojo L, Hay JE, Neuberger J, *et al.* Long-term management of the successful adult liver transplant : 2012 practice guideline by AASLD and the American Society of Transplantation. Alexandria: AASLD; 2012.  
[https://www.aasld.org/sites/default/files/guideline\\_documents/managementadultlitenhanced.pdf](https://www.aasld.org/sites/default/files/guideline_documents/managementadultlitenhanced.pdf)
52. European Association for the Study of the liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. *J Hepatol* 2016;64(2):433-85.
53. American Society of Clinical Oncology, Flowers CR, Bow EJ, Flynn PM, Goldberg JM, Marr KA, *et al.* American Society of Clinical Oncology endorsement : Guideline for the management of fever and neutropenia in children with cancer and/or undergoing hematopoietic stem cell transplantation. Alexandria: ASCO; 2013.  
[http://www.instituteforquality.org/sites/instituteforquality.org/files/ped\\_fn\\_endorsement\\_final\\_12.7.12.pdf](http://www.instituteforquality.org/sites/instituteforquality.org/files/ped_fn_endorsement_final_12.7.12.pdf)
54. Lehrnbecher T, Phillips R, Alexander S, Alvaro F, Carlesse F, Fisher B, *et al.* Guideline for the management of fever and neutropenia in children with cancer and/or undergoing hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2012;30(35):4427-38.
55. Institut national d'excellence en santé et en services sociaux. Evaluation de neuf analyses pour la mise à jour du Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale Québec : INESSS; 2016.  
[https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Analyse\\_biomedicale/Fevrier\\_2016/INESSS-Avis\\_analyses\\_biologie\\_medicale-fevrier2016.pdf](https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Analyse_biomedicale/Fevrier_2016/INESSS-Avis_analyses_biologie_medicale-fevrier2016.pdf)
56. Lehrnbecher T, Robinson P, Fisher B, Alexander S, Ammann RA, Beauchemin M, *et al.* Guideline for the management of fever and neutropenia in children with cancer and hematopoietic stem-cell Transplantation recipients: 2017 Update. *J Clin Oncol* 2017;JCO2016717017.
57. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, *et al.* beta-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). *Clin Infect Dis* 2012;54(5):633-43.
58. Lehrnbecher T, Robinson PD, Fisher BT, Castagnola E, Groll AH, Steinbach WJ, *et al.* Galactomannan, beta-D-glucan, and polymerase chain reaction-based assays for the diagnosis of invasive fungal disease in pediatric cancer and hematopoietic stem cell transplantation: A systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2016;63(10):1340-8.
59. British Society for Medical Mycology, Schelenz S, Barnes RA, Barton RC, Cleverley JR, Lucas SB, *et al.* British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases. *Lancet Infect Dis* 2015;15(4):461-74.
60. Infectious Diseases Society of America, Patterson TF, Thompson GR, 3rd, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, *et al.* Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016;63(4):433-42.
61. Société de Pneumologie de langue française. Recommandations de la Société de Pneumologie de langue française sur "Asthme et allergie". *Rev Mal Respir* 2007;24(8).
62. British Thoracic Society, Pasteur MC, Bilton D, Hill AT. British Thoracic Society guideline for non-CF bronchiectasis. *Thorax* 2010;65 Suppl 1:i1-58.
63. European Group for Blood and Marrow Transplantation, Infectious Diseases Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer, International Immunocompromised Host Society, European Leukaemia Net, Groll AH, Castagnola E, *et al.* Fourth european conference on infections in leukaemia (ECIL-4): guidelines for diagnosis, prevention, and treatment of invasive fungal diseases in paediatric patients with cancer or allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation. *Lancet Oncol* 2014;15(8):e327-40.
64. Royal College of Pathologists, Association for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine, Institute of Biomedical Science. National minimum retesting intervals in pathology. A final report detailing consensus recommendations for minimum retesting intervals for use in pathology. London: RCP; 2015.  
<https://www.rcpath.org/asset/253E8950-3721-4AA2-8DDD4BD94F73040E/>
65. German Society for Haematology and Oncology, Ruhnke M, Bohme A, Buchheidt D, Cornely O, Donhuijsen K, *et al.* Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology--guidelines from the Infectious Diseases Working Party in Haematology and Oncology of the German Society for Haematology and Oncology (AGIHO). *Ann Oncol* 2012;23(4):823-33.
66. German Society of Hematology and Medical Oncology, Maschmeyer G, Carratala J, Buchheidt D, Hamprecht A, Heussel CP, *et al.* Diagnosis and antimicrobial therapy of lung infiltrates in febrile neutropenic patients (allogeneic SCT excluded): updated guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO). *Ann Oncol* 2015;26(1):21-33.
67. German Society of Hematology and Medical Oncology, Schmidt-Hieber M, Silling G, Schalk E, Heinz W, Panse J, *et al.* CNS infections in patients with hematological disorders (including allogeneic stem-cell transplantation)-Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO). *Ann Oncol* 2016;27(7):1207-25.
68. National Comprehensive Cancer Network. Prevention and treatment of cancer-related infections. NCCN Clinical practice guidelines in oncology Fort Washington: NCCN; 2016.

69. Société pédiatrique de pneumologie et allergologie, Houdouin V, Pouessel G, Angoulvant F, Brouard J, Derelle J, *et al.* Recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques étiologiques des infections respiratoires basses de l'enfant de plus de trois mois. Arch Pediatr 2014;21(4):418-23.

70. Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. Clin Infect Dis 2006;42(10):1417-27.

71. Leeflang MM, Debets-Ossenkopp YJ, Wang J, Visser CE, Scholten RJ, Hooft L, *et al.* Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. Cochrane Database Syst Rev 2015;(12):CD007394.

72. Zou M, Tang L, Zhao S, Zhao Z, Chen L, Chen P, *et al.* Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis. PLoS One 2012;7(8):e43347.

73. American Academy of Allergy Asthma and Immunology, Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, Hamilton R, Spector SL, *et al.* Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. Ann Allergy Asthma Immunol 2008;100(3 Suppl 3):S1-148.



## Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Évaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Juin 2017
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>
Objectif(s)	L'objectif est d'évaluer si les données issues de l'analyse critique de la littérature synthétique et la position des professionnels de santé concernés sont cohérentes avec le contenu de la demande de modifications de la NABM émanant de la CNAMTS et de proposer un avis concernant ces propositions.
Professionnel(s) concerné(s)	Cf. chapitre 2.3 Biologistes médicaux, hématologues, transplantateurs, pneumologues, allergologues, infectiologues.
Demandeur	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS)
Promoteur	Haute Autorité de santé (HAS), service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Véronique DAURAT, chef de projet, SEAP, adjoint au chef de service : Denis Jean DAVID. Secrétariat : Louise TUIL, assistante, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS (Cf. Chapitre 2.3) : Conseil national professionnel d'allergologie et immunologie (CNPAI) ; Conseil national professionnel de biologie des agents infectieux-hygiène hospitalière (CNPBAIHH) ; Conseil national professionnel d'hématologie (CNPHE) ; Conseil national professionnel - Fédération française de pneumologie (CNPP) ; Centre national de référence mycoses invasives et antifongiques (CNRMA).
Recherche documentaire	De janvier 2006 à avril 2017 (stratégie de recherche documentaire décrite en annexe 1) Réalisée par Sophie DESPEYROUX, documentaliste, avec l'aide de Maud LEFEVRE assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - veille, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Véronique DAURAT, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Collège de la HAS : mai 2017
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>
Documents d'accompagnement	Avis HAS (mai 2017), disponible sur <a href="http://www.has-sante.fr">www.has-sante.fr</a>



Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)