



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
RABAT



Année: 2022

Thèse N°: 16

OUTILS DE DIAGNOSTIC DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE INVASIVE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le : / /2022

PAR

Madame Hiba ABDELALI

Née le 30 Mars 1998

Pour l'Obtention du Diplôme de
Docteur en Pharmacie

Mots Clés : Aspergillus; Aspergillose pulmonaire invasive; Galactomannane;
LBA

Membres du Jury :

Monsieur Younes RAHALI

Professeur de Pharmacie Galénique

Monsieur Badreddine LMIMOUNI

Professeur de Parasitologie

Monsieur Meryem IKEN

Professeur de Parasitologie

Monsieur Youssef SEKKACH

Professeur de Médecine Interne

Président

Rapporteur

Juge

Juge

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقُلِ اعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ
وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ إِلَى
عَالِمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُمْ
بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ

بِسْمِ اللَّهِ
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 - 2013: Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ORGANISATION DÉCANALE :

Doyen

Professeur Mohamed ADNAOUI

Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes

Professeur Brahim LEKEHAL

Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Taoufiq DAKKA

Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Younes RAHALI

Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

SERVICES ADMINISTRATIFS :

Chef du Service des Affaires Administratives

Mr. Abdellah KHALED

Chef du Service des Affaires Étudiantes, Statistiques et Suivi des Lauréats

Mr. Azzeddine BOULAAJOU

Chef du Service de la Recherche, Coopération, Partenariat et des Stages

Mr. Najib MOUNIR

Chef du service des Finances

Mr. Rachid BENNIS

*Enseignant militaire

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine interne – Clinique Royale
Anesthésie -Réanimation
Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed

Médecine interne –Doyen de la FMPR

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENSOU DA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZAD Rachid
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. SOULAYMANI Rachida

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique Méd.Chef Mat. Orangers Rabat
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pharmacologie- Dir. du Centre National PV Rabat

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOU DA Adil
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale Doyen FMPT
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Anatomie
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques Doyen FMFA
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale– Dir. du CHIS Rabat
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae

Urologie Inspecteur du SSM
Pédiatrie
Traumatologie – Orthopédie
Ophtalmologie

*Enseignant militaire

Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Néphrologie
Cardiologie *Dir. HMI Mohammed V Rabat*

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Noureddine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Ne Urologie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie *Dir. Hôp.Ar-razi Salé*
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Neurologie *Doyen de la FMP Abulcassis Rabat*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine interne

*Enseignant militaire

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Ne Urologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - [Dir. Hôp. Cheikh Zaid Rabat](#)
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouada
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBABH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Ne Urologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique [Dir. Hôp. Des Enfants Rabat](#)
Chirurgie Générale
Pédiatrie -
Neuro-chirurgie
Chirurgie Générale [Dir. Hôpital Ibn Sina Rabat](#)
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique [V-D. Aff Acad. Est.](#)
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AMEUR Ahmed*
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef*
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. CHOHO Abdelkrim*
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
Pr. FILALI ADIB Abdelhai

Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie [Dir. HMI Moulaya Ismail-Meknès](#)
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Gynécologie Obstétrique

*Enseignant militaire

Pr. HAJJI Zakia
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RAISS Mohamed
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Ophthalmologie
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Générale [Dir. de l' ERPLM](#)

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Ophthalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Ne Urologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophthalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif*
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie réparatrice et plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophthalmologie
Rhumatologie [Dir. Hôp. Al Ayachi Salé](#)
Pédiatrie
Cardiologie
Biophysique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire. [Dir. Hôp. Ibn Sina Marr.](#)
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie

*Enseignant militaire

Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Anesthésie Réanimation
Médecine interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHERKAOUI Naoual*
Pr. EL BEKKALI Youssef*
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-Chimie
Pharmacie Clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie Générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie Médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie
Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Biochimie-Chimie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Traumatologie-Orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGADR Aomar*

Médecine interne
Pédiatrie

*Enseignant militaire

Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
 Pr. AKHADDAR Ali*
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna*
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADÉ Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani*

Chirurgie Générale
 Neuro-chirurgie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie Dir. Hôp. Spécialités Rabat
 Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-Chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie-Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-Phtisiologie

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 Microbiologie
 Médecine Aéronautique
 Biochimie- Chimie
 Chirurgie Pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Plastique et Réparatrice
 Urologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

Decembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Anatomie Pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
 Pr. ABOUELALAA Khalil*
 Pr. BENCHEBBA Driss*

Chirurgie Pédiatrique
 Anesthésie Réanimation
 Traumatologie-Orthopédie

*Enseignant militaire

Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir Chirurgie
Pr. JAHID Ahmed

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Pneumophthisiologie
Pédiatrique
Anatomie Pathologique

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENSNGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANIMohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI NIZARE
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JAOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAICHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERREGUIG Laila
Pr. FIKRI Meryem
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houda
Pr. OUKABLI Mohamed*
Pr. RAHALI Younes
Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia

Pharmacologie *Doyen FP de l'UM6SS*
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie-Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique et Bromatologie
Traumatologie orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologique
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie
Radiologie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine interne
Pharmacologie *Directrice du Méd. Phar.*
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique *Vice-Doyen à la Pharmacie*
Génétique
Ne Urologie

*Enseignant militaire

Pr. REDA Karim*
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua*
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

Ophthalmologie
Ne Urologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

MAI 2013

Pr. BOUSLIMAN Yassir*

Toxicologie

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
Pr. BENCHAKROUN Mohammed*
Pr. BOUCHIKH Mohammed
Pr. EL KABBAJ Driss*
Pr. FILALI Karim*
Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira*
Pr. HARDIZI Houyam
Pr. HASSANI Amale*
Pr. HERRAK Laila
Pr. JEAIDI Anass*
Pr. KOUACH Jaouad*
Pr. MAKRAM Sanaa*
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar
Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Anesthésie-Réanimation *Dir. ERSSM*
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Hématologie Biologique
Gynécologie-Obstétrique
Pharmacologie
CCV
Médecine interne
Généologie-Obstétrique

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham*
Pr. BENZAOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya
Pr. BOUCHRIK Mourad*
Pr. DERRAJI Soufiane*
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
Pr. EL MARJANY Mohammed*
Pr. FEJJAL Nawfal
Pr. JAHIDI Mohamed*
Pr. LAKHAL Zouhair*
Pr. OUDGHIRI NEZHA
Pr. RAMI Mohamed
Pr. SABIR Maria
Pr. SBAI IDRISSE Karim*

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie réparatrice et plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

*Enseignant militaire

AOUT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Nouredine*

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L

JUIN 2017

Pr. ABI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*
Pr. BOUAITI El Arbi*
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. MAJBAR Mohammed Anas
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Pr. SOUADKA Amine
Pr. ZRARA Abdelhamid*

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
Chirurgie Générale
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Chirurgie Générale
Immunologie

PROFESSEURS AGREGES :**JANVIER 2005**

Pr. HAJJI Leila

Cardiologie (*mise en disponibilité*)

MAI 2018

Pr. AMMOURI Wafa
Pr. BENTALHA Aziza
Pr. EL AHMADI Brahim
Pr. EL HARRECH Youness*
Pr. EL KACEMI Hanan
Pr. EL MAJJAOUI Sanaa
Pr. FATIHI Jamal*
Pr. GHANNAM Abdel-Ilah
Pr. JROUNDI Imane
Pr. MOATASSIM BILLAH Nabil
Pr. TADILI Sidi Jawad
Pr. TANZ Rachid*

Médecine interne
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Radiothérapie
Radiothérapie
Médecine interne
Anesthésie-Réanimation
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Oncologie Médicale

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajae

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie--Cytogénétique

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq*
Pr. ACHBOUK Abdelhafid*
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah*
Pr. BASSIR Rida Allah
Pr. BOUATTAR Tarik

Néphrologie
Chirurgie réparatrice et plastique
Radiothérapie
Génycologie-Obstétrique
Anatomie
Néphrologie

*Enseignant militaire

Pr. BOUFETTAL Monsef	Anatomie
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed*	Chirurgie-Générale
Pr. BOUZELMAT Hicham*	Cardiologie
Pr. BOUKHRIS Jalal*	Traumatologie-Orthopédie
Pr. CHAFRY Bouchaib*	Traumatologie-Orthopédie
Pr. CHAHDI Hafsa*	Anatomie pathologique
Pr. CHERIF EL ASRI ABAD*	Neuro-chirurgie
Pr. DAMIRI Amal*	Anatomie Pathologique
Pr. DOGHMI Nawfal*	Anesthésie-Réanimation
Pr. ELALAOUI Sidi-Yassir	Pharmacie-Galénique
Pr. EL ANNAZ Hicham*	Virologie
Pr. EL HASSANI Moulay El Mehdi*	Gynécologie-Obstétrique
Pr. EL HJOUJI Abderrahman*	Chirurgie Générale
Pr. EL KAOUI Hakim*	Chirurgie Générale
Pr. EL WALI Abderrahman*	Anesthésie-Réanimation
Pr. EN-NAFAA Issam*	Radiologie
Pr. HAMAMA Jalal*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Pr. HEMMAOUI Bouchaib*	O.R.L
Pr. HJIRA Naouafal*	Dermatologie
Pr. JIRA Mohamed*	Médecine interne
Pr. JNIE NE Asmaa	Physiologie
Pr. LARAQUI Hicham*	Chirurgie-Générale
Pr. MAHFOUD Tarik*	Oncologie Médicale
Pr. MEZIANE Mohammed*	Anesthésie-Réanimation
Pr. MOUTAKI ALLAH Younes*	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. MOUZARI Yassine*	Ophthalmologie
Pr. NAOUI Hafida*	Parasitologie-Mycologie
Pr. OBTEL MAJDOULINE	Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pr. OURRAI ABDELHAKIM*	Pédiatrie
Pr. SAOUAB RACHIDA*	Radiologie
Pr. SBITTI YASSIR*	Oncologie Médicale
Pr. ZADDOUG OMAR*	Traumatologie-Orthopédie
Pr. ZIDOUH SAAD*	Anesthésie-Réanimation

SEPTEMBRE 2021

Pr. ABABOU Karim*	Chirurgie réparatrice et plastique
Pr. ALAOUI SLIMANI Khaoula*	Oncologie Médicale
Pr. ATOUF OUAFA	Immunologie
Pr. BAKALI Youness	Chirurgie Générale
Pr. BAMOUS Mehdi*	CCV
Pr. BELBACHIR Siham	Psychiatrie
Pr. BELKOUCH Ahmed*	Médecine des Urgences et des Catastrophes
Pr. BENNIS Azzelarab*	Traumatologie-Orthopédie
Pr. CHAFAI ELALAOUI Siham	Génétique
Pr. DOUMIRI Mouhssine	Anesthésie-Réanimation
Pr. EDDERAI Meryem*	Radiologie
Pr. EL KTAIBI Abderrahim*	Anatomie Pathologique
Pr. EL MAAROUI Hicham*	Hématologie Clinique
Pr. EL OMRI Noual*	Médecine interne
Pr. ELQATNI Mohamed*	Médecine interne
Pr. FAHRY Aicha*	Pharmacie Galénique
Pr. IBRAHIM RAGAB MOUNTASSER Dina*	Néphrologie

*Enseignant militaire

Pr. IKEN Maryem
Pr. JAAFARI Abdelhamid*
Pr. KHALFI Lahcen*
Pr. KHEYI Jamal*
Pr. KHBRI Hajar
Pr. LAAMRANI Fatima Zahrae
Pr. LABOUDI Fouad
Pr. LAHKIM Mohamed*
Pr. MEKAOUI Nour
Pr. MOJEMMI Brahim
Pr. OUDRHIRI Mohammed Yassaad
Pr. SATTE AMAL*
Pr. SOUHI Hicham*
Pr. TADLAOUI Yasmina*
Pr. TAGAJDID Mohamed Rida*
Pr. ZAHID Hafid*
Pr. ZAJJARI Yassir*
Pr. ZAKARYA Imane*

Parasitologie
Anesthésie-Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Cardiologie
Médecine interne
Radiologie
Psychiatrie
Radiologie
Pédiatrie
Chimie Analytique
Neurochirurgie
Neurologie
Pneumo-phtisiologie
Pharmacie Clinique
Virologie
Hématologie
Néphrologie
Pharmacognosie

*Enseignant militaire

2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-Chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie <i>Vice-Doyen chargé de la Rech. et de la Coop.</i>
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. RIDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

PROFESSEURS HABILITES :

Pr. AANNIZ Tarik	Microbiologie et Biologie moléculaire
Pr. BENZEID Hanane	Chimie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie-Chimie
Pr. CHERGUI Abdelhak	Botanique, Biologie et physiologie végétales
Pr. DOUKKALI Anass	Chimie Analytique
Pr. EL BAKKALI Mustapha	Physiologie
Pr. EL JASTIMI Jamila	Chimie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Histologie-Embryologie
Pr. LAZRAK Fatima	Chimie
Pr. LYAHYAI Jaber	Génétique
Pr. OUADGHIRI Mouna	Microbiologie et Biologie
Pr. RAMLI Youssef	Chimie Organique Pharmaco-Chimie
Pr. SERRAGUI Samira	Pharmacologie
Pr. TAZI Ahnini	Génétique
Pr. YAGOUBI Maamar	Eau, Environnement

Mise à jour le 21/02/2022

KHALED Abdellah

Chef du Service des Affaires Administratives

FMPR

*Enseignant militaire





À ALLAH,

Le tout puissant, l'Omniscient

**Louange à Dieu qui m'a permis de voir ce jour tant
attendu, de m'avoir aidé et guidé mes pas vers le droit
chemin de la réussite.**

Je vous dois ce que je suis devenue.

**Louanges et remerciements pour votre clémence et
votre miséricorde.**





A ma maman AICHA BELLA

A la plus belle maman,

A ton amour inconditionnel pour moi,

A ton coeur pur et ton inquiétude qui ne cessera jamais,

A la belle vie que tu m'as donné et ta bienveillance éternelle,

A ta présence et ton réconfort constants à mes côtés

A tous tes efforts pour m'élever et m'éduquer.

Ce jour tant attendu est enfin arrivé.

Je te remercie d'être ma maman, je n'aurais pas pu rêver
mieux.

Sans toi, je ne suis rien.

Je t'aime ma maman d'amour.





A mon papa ABDERRAHMAN ABDELALI

Un grand homme d'une grande sagesse.

Tu es mon inspiration, mon repère dans la vie.

Merci pour la vie que tu m'as offert, pour tes sacrifices et
tout le mal que tu te donnes chaque jour.

Merci de m'avoir transmis tant de principes et de valeurs et
d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui

J'espère que je t'ai rendu fier.

Aux yeux du monde, tu es mon père. A mes yeux tu es le
monde.

Je t'aime papa.

A mes petites sœurs MAHA ET ZINEB ABDELALI



**Maha, ma soeur au grand coeur et Zineb, ma petite
soeur gâtée.**

En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs
et les plus agréables moments.

Sachez que l'amour que je porte pour vous est un amour vrai et
inné.

Merci d'être là pour moi dans tous mes moments de faiblesse.

Je suis chanceuse de vous avoir à mes côtés, vous faites partie de
moi.

Je vous protégerai à jamais.





A ma tante HASNA BELLA

Tu as toujours été plus qu'une tante pour moi.

J'ai trouvé en toi une sœur, une amie, une confidente...

Ta présence dans ma vie est aussi essentielle que celle de mes
parents.

Les mots n'exprimeront jamais suffisamment ma gratitude pour tes
sacrifices durant ces longues années.

Grâce à ton soutien, tes encouragements et tes prières j'ai pu être
la meilleure version de moi-même,

Je t'aime ma Tatina.





A ma tante Dr ABDELALI SALIMA et

Son mari Dr BACADI DRISS

Et leurs enfants : SAAD, OMAR et ABDERRAHMAN

BACADI (aka minou)

Sans oublier JAD et ILLY BACADI

Ma deuxième famille sans qui tout ce travail ne serait possible s'ils
n'étaient pas présents.

Vous tenez une place très spéciale dans mon coeur.

Les mots ne sont pas suffisants pour vous remercier de votre
accueil chaleureux au sein de votre famille et l'amour
inconditionnel que vous m'avez témoigné.

J'espère un jour vous rendre ne serait-ce que la moitié de tout ce
que vous avez pu m'offrir.

Votre soutien compte énormément pour moi.

Je vous aime très fort.

A MAMA AICHA



**Ma deuxième maman, qui ne cesse de me combler
d'amour.**

Je ne saurais quoi faire sans toi, sans ton cœur pur et innocent,
sans ton sourire si beau qui réchauffe les cœurs.

Tu es ma source de joie et de tendresse.

Je ne saurais te remercier maman, Je t'aime très fort.

A LA FAMILLE BELLA-FADILI ET

MA CHERE GRAND-MERE MIMA FATIMA ZIANI

Ma famille de cœur, que Dieu le tout puissant vous garde et vous
accorde santé et longue vie.

Merci de me soutenir tout au long de mon parcours.

Vos prières m'ont guidé sur le bon chemin.

J'ai l'immense plaisir de vous dédier ce modeste travail.


Je vous aime.

A TOUTE LA FAMILLE ABDELALI

A ma grande et tendre famille,

Ma source de motivation,





Veillez tous trouver dans ce modeste travail, l'expression de ma gratitude, mon amour et mon profond respect en réponse de votre soutien et votre bienveillance.

Que dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

Je vous aime.

A MA CHERE ET UNIQUE RANIA MERZOUQUI

La personne que je trouve toujours à mes côtés dans les bons moments comme dans les pires.

Ma meilleure amie depuis l'enfance.

Ni le temps, ni la distance n'ont pu nous séparer.

Notre amitié sacrée est gravée dans mon cœur.

Merci est un mot faible pour te décrire ma reconnaissance envers toi, à tout ce que tu as fait pour moi, à tes encouragements, ton soutien, ton amour et ta bienveillance.

Tu as toujours cru en moi.

Et pour cela je te remercie infiniment.

Je t'aime sahbtiiii.

A MES CHERS AMIS

Merci de rendre ma vie meilleure.

J'ai toujours pu compter sur vous, et sur votre aide.

Je suis chanceuse de vous avoir dans ma vie.



En témoignage de l'amitié qui nous unit, je vous dédie cette thèse
et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A MA COUSINE ABIR ZAHIRI

Ma meilleure amie et ma confidente.

J'ai retrouvé en toi tout ce dont j'avais besoin, tu es ma soeur de
coeur.

Tu as toujours été là pour moi, à l'écoute, prête à tout.

Merci de me supporter tous les jours.

You are the Monica to my Rachel.

Je t'aime ma chère.

A MON COUSIN DR MEHDI ABDELALI

Je tiens à te remercier spécialement pour ton aide, ta présence, et
tes précieux conseils.

Merci de supporter quotidiennement ta petite cousine adorée.

A LA MEMOIRE DE MES GRAND-PERES



SIDI OMAR ABDELALI

EL HASSAN BELLA

J'aurais aimé vous connaître et partager ce jour mémorable avec
vous.

Que la clémence de dieu règne sur vous et que sa miséricorde
apaise vos âmes.

A LA MEMOIRE DE MA GRAND-MERE NANA

NAIMA EL ABIAD

Ma chère Nana j'espère que tu veilles toujours sur moi et que tu es
fière de moi là où tu es.

Ton départ a laissé un grand vide dans ma vie.

Tu resteras à jamais dans mon cœur.

Tu me manques atrocement.

Je t'aime nanoucha.





**A LA MEMOIRE DE MA BELLE ET CHERE TANTE
NAJIBA ABDELALI**

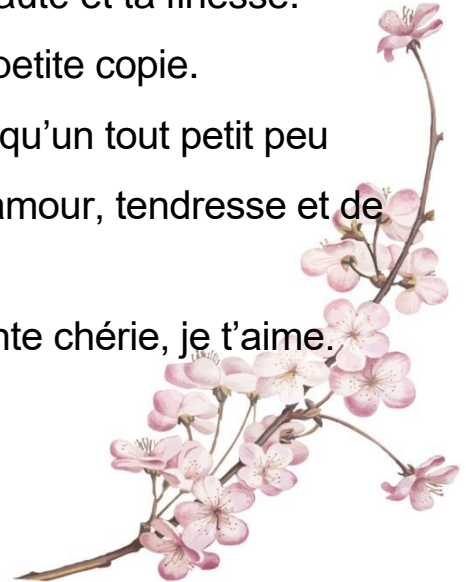
A la plus belle des tantes,
A celle qui m'a appris d'être la femme que je suis aujourd'hui.
A ton cœur si pur, si grand.

A ton élégance, ton charme, ta beauté et ta finesse.

Tu as toujours vu en moi ta petite copie.

J'espère te ressembler ne serait-ce qu'un tout petit peu
Tu étais un ange qui nous a comblé d'amour, tendresse et de
bienveillance.

Je ne t'oublierais jamais ma belle tante chérie, je t'aime.







A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le professeur RAHALI YOUNES

Vice-doyen et professeur P.E.S de

Pharmacie Galénique

Tout d'abord, je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider ce travail.

Veillez accepter, cher Maître, mon profond respect et mes sincères remerciements pour l'intérêt que vous avez porté à ma thèse en dépit de votre charge de travail.

Votre jugement sera d'une grande valeur dans l'appréciation de ce travail.





A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

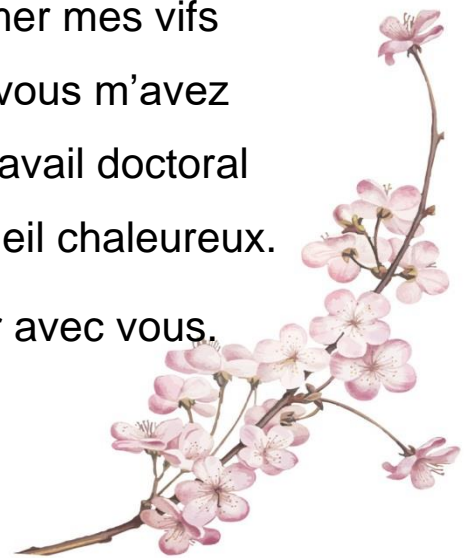
Monsieur le professeur LMIMOUNI BADRE

EDDINE

Professeur de Parasitologie-Mycologie

Avant d'engager mon propos dans le cadre de mon sujet de mémoire et étant arrivée au terme de sa rédaction, il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma reconnaissance et gratitude envers le promoteur de ce mémoire Mr Lmimouni Badre Eddine pour sa disponibilité, sa patience et surtout ses conseils avisés qui ont permis d'alimenter ma réflexion ainsi que mon sujet de thèse. Je tiens aussi à exprimer mes vifs remerciements pour la confiance que vous m'avez accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral ainsi que pour votre écoute et votre accueil chaleureux.

Ce fut un honneur d'avoir pu travailler avec vous.





DE THESE

A NOTRE MAITRE ET JUGE


Monsieur le professeur SEKKACH
YOUSSEF

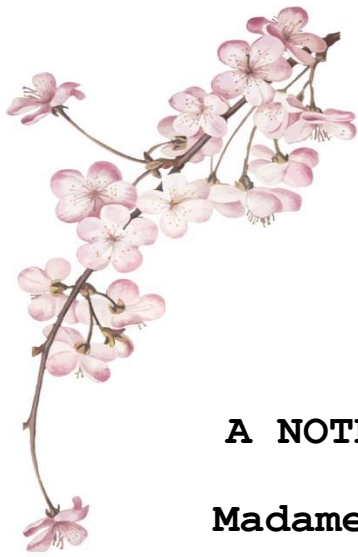
Professeur de médecine interne.

Je vous exprime ma profonde reconnaissance pour
votre présence au sein du jury de thèse.

Cela constitue pour moi un grand honneur.

Qu'il me soit permis de vous présenter à travers ce
travail le témoignage de mon grand respect et
l'expression de ma profonde reconnaissance.





A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Madame le professeur IKEN MARYEM

Professeur agrégé de parasitologie

Nous vous remercions de nous avoir honorés par votre présence et de bien vouloir porter intérêt à ce travail.

Cet honneur nous touche infiniment.

Veillez trouver ici, cher Maître, le témoignage de notre grande estime et de notre sincère reconnaissance.





Liste des abréviations

AI ou IA	: Aspergillose invasive
API	: Aspergillose pulmonaire invasive
AT	: Aspergillose trachéo-pulmonaire
AmB	: Amphotéricine B
AMP	: Peptides antimicrobiens
BG ou BDG	: β -1-3 D Glucane
BLI	: Imagerie par bioluminescence
BPCO	: Bronchopneumopathie chronique obstructive
CAPA	: COVID19 associated pulmonary aspergillosis
CD	: Cellules dendritiques
CGD	: Chronic granulomatous disease
CLR	: Récepteur de lectine de type C
CMV	: Cytomégalovirus
CSH	: Cellule souche hématopoïétique
ECBC	: Examen cyto bactériologique des crachats
EORTC	: L'Organisation européenne pour la recherche et le traitement du cancer
ETP	: Epidithiodioxopiperazine
GAG	: Galactosaminogalactane
GCSH	: Greffe de Cellules souches hématopoïétiques
GM	: Galactomannane
GT	: Gliotoxine
HSCT	: Hematopoietic stem-cell transplantation

IFN	: Interféron
IFI	: Infections fongiques invasive
LAP	: Phagocytose associée aux LC3
LBA	: Lavage broncho alvéolaire
LFD ou LFA	: Lateral flow device; Test flux latéral
MA	: Macrophages
MALDI-TOF	: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
MEA	: Gélose d'extrait de malt
NADPH	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NETosis ou NETs	: Neutrophil extracellular traps
PAMP	: Pathogen Associated Molecular Patterns
PMN	: Cellules polymorphonucléaires
PRR	: Pattern Recognition Receptors
ROS	: Espèces réactives oxygénées
SOT	: Solid organ transplant
SARS-CoV-2	: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
TEMP	: Tomographie par émission monophotonique
TLR	: Toll-like receptors
TNF	: Facteur de nécrose tumorale
USI	: Unité soins intensifs
VPN	: Valeur predictive négative



Liste des figures

Figure 1 : Structure d' <i>Aspergillus fumigatus</i> ^[13]	5
Figure 2 Illustration d'un <i>Aspergillus fumigatus</i> ^[14]	5
Figure 3 Schéma de la paroi d' <i>Aspergillus fumigatus</i> ^[18]	7
Figure 4 Spectre immuno-pathologique d' <i>Aspergillus spp</i> ^[85]	23
Figure 5 Examen direct montrant des têtes aspergillaires d' <i>Aspergillus niger</i> [Photo service parasitologie, HMIM V, Rabat].....	32
Figure 6 Examen direct montrant des filaments mycéliens colorés par imprégnation argentique [Photo service parasitologie, HMIM V, Rabat]	32
Figure 7 Aspect de la culture d' <i>Aspergillus fumigatus</i> sur une boîte de Pétri. (Des fils mycéliens (blancs) sont visibles sur le bord de la croissance circulaire, avec des fructifications contenant des spores au centre (bleu/vert)) [Photo service parasitologie, HMIM V, Rabat]	35
Figure 8 Schéma expliquant l'aspiration endotrachéale/endobronchique	39
Figure 9 Bronchoscopie, Lavage broncho-alvéolaire	40
Figure 10 Dispositif de Wimberley	41
Figure 11 CT scan ponction pulmonaire transthoracique ^[123]	41
Figure 12 Kit de détection <i>Aspergillus</i> -Galactomannan BIO-RAD (disponible au Maroc)	43
Figure 13 Test du 1,3- β-D-glucan. Fugitell STAT	49
Figure 14 Schéma expliquant le fonctionnement de la puce à ADN	55
Figure 15 Test LFD sur sérum humain normal après inoculation avec des champignons et incubation pendant 48 h à 37°C ^[213]	58

Figure 16 Avantages et inconvénients du GM-LFA	61
Figure 17 Sōna LFA Cube Reader ^[221]	62
Figure 18 Principales étapes d'une analyse par MALDI-TOF[229].....	65
Figure 19 Le signe du halo en imagerie thoracique typiquement observé dans l'aspergillose angioinvasive ^[246]	69
Figure 20 Développement de l'aspergillose pulmonaire invasive dans des conditions saines et immunodéprimées ^[254]	72
Figure 21 Taxonomie d' <i>Aspergillus</i> section Fumigati ^[272]	79



Introduction	1
Rappels	4
I. L'agent pathogène <i>Aspergillus</i>	5
1. Morphologie et caractères immunologiques.....	5
1.1. Morphologie de l' <i>Aspergillus fumigatus</i>	5
1.2. Caractères immunologiques :	8
2. Réservoir et mode de contamination :	10
2.1. Réservoir :	10
2.2. Mode de contamination.....	11
3. Moyens de défense.....	12
4. Facteurs favorisant l'infection par <i>Aspergillus</i>	19
II. Infections à <i>Aspergillus</i>	22
1. Classification des Aspergilloses.....	22
2. L'aspergillose pulmonaire invasive	23
III. Diagnostic mycologique conventionnel.....	31
1. Prélèvements	31
2. Examen direct	31
3. Culture	33
4. Obstacles et limites	36
IV. Diagnostic indirect.....	38
1. Prélèvements	38
2. Détection d'Ag spécifique : Galactomannane sérique	42
3. Détection d'Ag panfongique : β 1-3 D Glucane (BDG)	47
4. Détection d'ADN fongique.....	50
5. Test sérologique de l' <i>Aspergillus</i> LFD : tests immunochromatographiques à flux latéral.....	58
6. Nouvelle technique d'identification des champignons filamenteux : Maldi-Tof	65
7. Techniques d'imagerie :	69
7.1. Scanner thoracique :.....	69

7.2. L'imagerie optique avec des biomarqueurs bioluminescents :.....	70
7.3. Technique d'imagerie in vivo guidée par des anticorps d' <i>Aspergillus fumigatus</i>	72
V. Nouvelles tendances épidémiologiques dans le genre <i>Aspergillus</i> et conséquences sur la sensibilité aux antifongiques	77
1. Nouvelles tendances épidémiologiques dans le genre <i>Aspergillus</i> :.....	77
2. Sensibilité de <i>l'Aspergillus</i> spp. aux antifongiques	80
Conclusion.....	82
Résumés	85
Références bibliographiques	89



L'aspergillose pulmonaire invasive (IPA), due à des champignons environnementaux ubiquitaires du genre *Aspergillus*, est l'une des infections fongiques invasives les plus graves et potentiellement mortelles. L'agent pathogène le plus incriminé de l'aspergillose invasive est *Aspergillus*

fumigatus.

Cette mycose opportuniste, entraîne des répercussions majeures sur les taux de morbidité et de mortalité ^[1], en particulier chez les patients immunodéprimés atteints d'hémopathies malignes, recevant une chimiothérapie intensive ou subissant une transplantation allogénique de cellules souches hématopoïétiques (CSH)^[2, 3].

L'incidence de l'IPA a considérablement augmenté ces dernières années dans de nouvelles populations à risque, tels ceux présentant des syndromes lymphoprolifératifs ^[4], les patients en unité de soins intensifs (USI) traités par corticothérapie^[5, 6], et les patients atteints de BPCO et/ou de grippe sévère^[7-9].

Un diagnostic précoce et spécifique est donc vital et essentiel à la survie des malades, car la plupart de ces patients sont traités de manière empirique en l'absence d'arguments concrets^[10].

Cependant, un traitement inapproprié ou tardif de l'IPA, dû à des procédures de diagnostic imprécises, aura un impact négatif sur la morbidité et la mortalité des patients, et contribuera à l'émergence de la résistance aux azoles dans les souches cliniques d'*A. fumigatus*.

Le diagnostic définitif de l'IPA pose un sérieux problème en pratique

clinique, car les outils existants manquent de spécificité ou de sensibilité, voire des deux^[11]. Il repose donc sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et radiologiques^[12].

Les limitations diagnostiques actuelles nécessitent une amélioration de la détection des agents pathogènes fongiques en définissant l'utilisation optimale des biomarqueurs et des échantillons cliniques.

Des progrès récents en matière de diagnostic sont en cours de réalisation permettant ainsi, une meilleure prise en charge de cette infection fongique.

Dans cette revue, on rassemblera les différents outils de diagnostic de l'aspergillose invasive actuellement disponibles, puis on décrira les nouvelles tendances épidémiologiques dans le genre *Aspergillus* et les conséquences sur la sensibilité aux antifongiques.



I. L'agent pathogène *Aspergillus*

1. Morphologie et caractères immunologiques

1.1. Morphologie de l'*Aspergillus fumigatus*

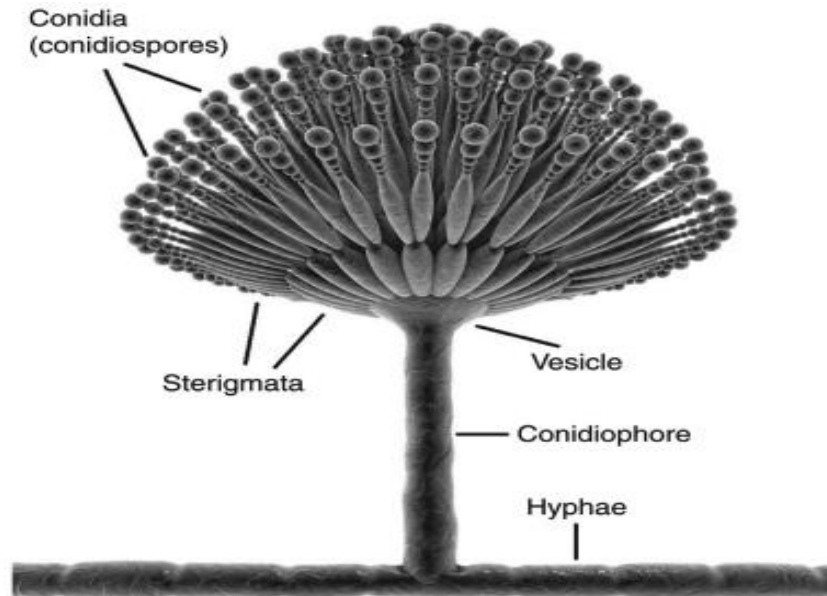


Figure 1 : Structure d'*Aspergillus fumigatus*^[13].

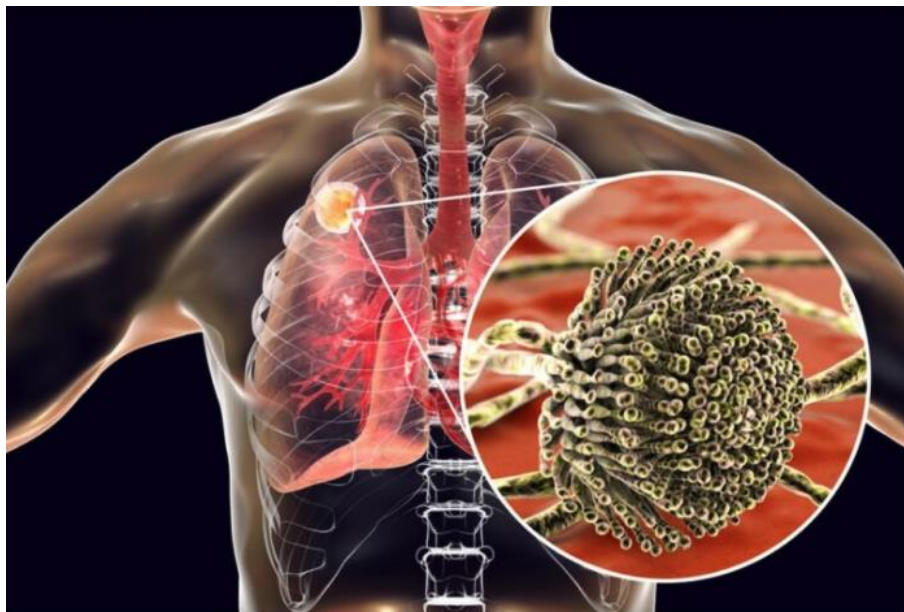


Figure 2 : Illustration d'un *Aspergillus fumigatus*^[14].

Les *Aspergillus* sont des moisissures saprophytes à filaments cloisonnés hyalins. Parmi les nombreuses espèces qui composent ce genre, *Aspergillus fumigatus* est actuellement l'agent pathogène fongique aéroporté le plus important et l'espèce la plus souvent impliquée en pathologie humaine [12, 15] à l'exception de certains pays asiatiques, où *Aspergillus flavus* est plus fréquent, notamment pour les aspergilloses sinusales, oculaires ou cérébrales.

A. fumigatus est caractérisé par des filaments mycéliens séptés et ramifiés (stipes ou conidiophores) perpendiculaires aux hyphes végétatifs qui portent la tête aspergillaire. Cette dernière est composée de vésicules d'aspect spatulé (de 20 à 30 μm) sur lesquels viennent s'insérer des phialides vertes \pm métules^[16].

Les phialides donnent naissance à des phialidospores ou conidies unicellulaires globuleuses à subglobuleuses regroupées en panache, qui caractérisent le mode de reproduction asexuée du champignon^[17].

Les conidies, de diamètre de 2,5 à 3 μm , ont une surface lisse ou pointue (épineuse), et sont produites en chaînes de colonnes basipétales (orientées vers le bas) à partir de phialides vertes.

Certaines souches d'*A. fumigatus* produisent des conidies blanches parce qu'elles manquent de pigment^[17].

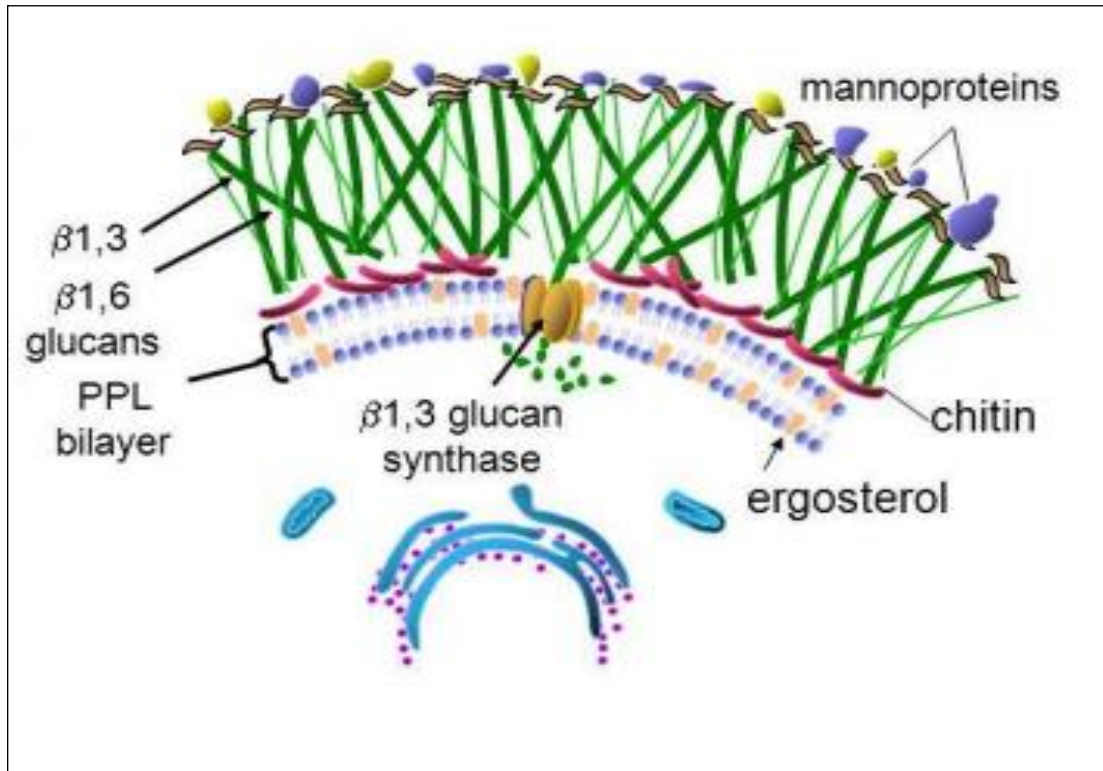


Figure 3 : Schéma de la paroi d'*Aspergillus fumigatus*^[18].

Quant aux composants de la paroi cellulaire d'*Aspergillus fumigatus*, elle se compose par :

Des polysaccharides qui peuvent être divisés en deux groupes en fonction de leur solubilité ^[19].

- La fraction insoluble composée de : La chitine, Galactomannan , β -1,3-glucan ainsi que le Galactosamino-galactane^[20].
- La fraction soluble composée de : α -1,3-glucan et un peu de Galactomannan^[19].

En raison de la différence des composants cellulaires entre ceux du mycélium et ceux des conidies, des travaux ont été consacrés à l'analyse de ces derniers.

La couche externe des conidies est caractérisée par :

-La présence de protéines hydrophobines, conférant des propriétés hydrophobes aux conidies d' *A.fumigatus*, facilitant leur dispersion et les protégeant contre la déshydratation [21].

-Ainsi que la présence de la mélanine^[22] qui joue un rôle majeur dans la protection contre les réactions phagocytaires au sein du phagolysosome.

Des études in vivo et in vitro ont montré que les conidies blanches étaient plus efficacement endommagées par les phagocytes que les conidies vertes, du fait que le pigment confère aux conidies d'*A. fumigatus* une certaine protection contre les ROS (reactive oxygen species), ce qui pourrait expliquer la survie plus élevée des conidies vertes dans les monocytes [19].

Au cours du cycle de vie d' *A.fumigatus*, la composition de la paroi cellulaire change continuellement avec la progression du cycle cellulaire et en réponse aux changements environnementaux.

Ces changements spécifiques à chaque stade posent un défi majeur pour la compréhension de la composition structurale de la paroi cellulaire et de la biosynthèse des molécules qui la composent [21].

1.2. Caractères immunologiques :

Afin de s'adapter à l'environnement de l'hôte humain, *Aspergillus fumigatus* présente des caractères immunologiques qui lui permettront de fuir les cellules immunitaires.

Les conidies de l'*Aspergillus* sont presque toujours protégées de la reconnaissance immunitaire par la couche externe [19,21].

Les protéines hydrophobes (les hydrophobines), et la couche de mélanine qui enveloppent la paroi cellulaire conidienne protègent les conidies du stress environnemental, comme le stress oxydatif et la dessiccation, mais masquent en même temps les motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMPs)^[21]. Ces derniers, sont des structures moléculaires pathogènes qui sont reconnues par les récepteurs de reconnaissance des formes (PRRs) et activent la réponse immunitaire de l'hôte.

Cependant, ce n'est que lorsque les conidies germent et se débarrassent de cette couche superficielle que les PAMPs sont accessibles aux cellules immunitaires innées.

Parmi ces *motifs moléculaires*, on peut citer les suivants :

- **Le β -1,3-glucane (BDG)** : un composant intégral de la paroi cellulaire reconnu par la Dectine 1, le récepteur de reconnaissance de motifs le mieux caractérisé pour *A.fumigatus* (également connu sous le nom de CLEC7A), et est crucial pour les défenses précoces de l'hôte dans les voies respiratoires^[25, 26].
- **Le galactomannane (GM)** : est un polyside produit par *Aspergillus* au cours de sa croissance. Il peut être reconnu par la Dectine 2^[27] et régule ensuite d'importants effecteurs antifongiques^[28] et l'induction de cytokines^[29].
- **Galactosaminogalactane (GAG)** : Polymère glucidique spécifique constitué de galactose, de galactosamine (GalNH₂) et de N-acétylgalactosamine (GalNAc). Les GAG sont exclusivement exprimés par les hyphes et sont également sécrétés dans l'environnement sous forme de polysaccharides extracellulaires^[21].

Les catalases :

Par ailleurs, une étude a démontré la présence de deux catalases mycéliennes Cat1p et Cat2p, ainsi qu'une seule catalase conidienne CatAp chez *Aspergillus fumigatus*.

Alors que CatAp, n'est pas un facteur de virulence, les deux catalases mycéliennes, Cat1p et Cat2p, sont impliquées dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène in vitro et ont protégé transitoirement le champignon contre l'explosion oxydative [30].

2. Réservoir et mode de contamination :

2.1. Réservoir :

Aspergillus fumigatus est un champignon opportuniste omniprésent avec une répartition mondiale. Il joue un rôle essentiel dans le recyclage du carbone et de l'azote de l'environnement^[10]. On le trouve naturellement sur le sol, se développant sur les plantes ou les débris organiques en décomposition, ainsi que dans l'air, les surfaces, l'alimentation (tisanes, épices en poudre...) et parfois aussi dans l'eau^[12].

Ce mycète produit un grand nombre de petites spores en suspension dans l'air qui peuvent survivre à un large éventail de conditions environnementales. Ces spores, de taille moyenne (2 à 3,5µm), se dispersent notamment par remise en suspension en cas de travaux (petits travaux ou gros œuvres) et sont véhiculées par les systèmes de ventilation.

Les sources d'un grand nombre de spores d'*Aspergillus* comprennent les unités de climatisation, le compostage et les projets de construction de logements et d'hôpitaux endommagés par l'humidité ou les inondations.

Le champignon *Aspergillus* est hautement aérobic et donc présent dans la plupart des environnements oxygénés. On le trouve également dans les fientes d'oiseaux, le tabac et les aliments entreposés comme les pommes de terre.

De plus, l'incidence de l'aspergillose invasive continue d'augmenter malgré l'utilisation de systèmes coûteux de filtration de l'air dans les hôpitaux, ce qui suggère que des sources hospitalières autres que l'air peuvent également être une source de contamination. En effet, les espèces *Aspergillus* ont été retrouvées dans les systèmes d'eau des hôpitaux du monde entier^[31].

Aspergillus dans les environnements intérieurs :

Dans les environnements intérieurs, les problèmes fongiques sont généralement associés à des inondations, à des fuites d'eau, à des condensats dans les systèmes de chauffage, de ventilation et de climatisation ou dans les fenêtres, ou à des sous-sols et des salles de bains humides.

L'aspergillose nosocomiale est le plus souvent signalée dans les hôpitaux en cours de rénovation/construction ^[31].

2.2. Mode de contamination

Aspergillus fumigatus sporule abondamment, chaque tête conidienne produisant des milliers de conidies. Ces dernières libérées dans l'atmosphère, ont un diamètre suffisamment petit (2 à 3 µm) pour atteindre les alvéoles pulmonaires. Les enquêtes environnementales indiquent que tous les humains peuvent inhaler au moins plusieurs centaines de conidies d'*A.fumigatus* par jour^[10].

Pour la plupart des patients, la principale porte d'entrée et le principal site d'infection par *A. fumigatus* sont les voies respiratoires.

La maladie se manifeste prédominante dans les poumons, bien que la dissémination puisse se faire dans pratiquement n'importe quel organe chez les personnes les plus gravement prédisposées.

L'un des sites de dissémination les plus fréquents est le système nerveux central (SNC) [34]. D'autres organes impliqués comprenaient le cœur, les reins, le système nerveux central, le tractus gastro-intestinal, la rate, le foie, la glande thyroïde et le pancréas[35].

Il est remarquable que, malgré cette exposition constante, la plupart des humains ne développent aucune maladie attribuable à ces spores.

Chez les hôtes immunocompétents, ces spores ne causent normalement pas de dommages parce qu'elles sont éliminées par les mécanismes de défense pulmonaire[36]. Cependant, chez les individus immunodéprimés, dont les réponses immunitaires sont altérées ou affaiblies, les conidies inhalées sont capables de développer des mycoses pulmonaires appelées aspergilloses.

3. Moyens de défense

Afin d'échapper à l'infection fongique à *Aspergillus*, l'organisme possède deux mécanismes de défenses immunologiques :

L'immunité inée et l'immunité acquise.

- **L'immunité innée :**

C'est une immunité naturelle et non spécifique.

Elle joue un rôle majeur et primaire dans la défense contre *Aspergillus* en le reconnaissant, ensuite en l'éliminant chez l'hôte immunocompétent.

Au premier abord, les barrières anatomiques telles que la clairance ciliaire et les défenses épithéliales éliminent la majorité des conidies d'*A.fumigatus* des poumons^[10]. Cependant, la clairance d'*A.fumigatus* à ce niveau peut être moins efficace qu'avec d'autres microorganismes saprophytes aéroportés, puisque la capacité de ce champignon à endommager les cellules épithéliales en réduisant le battement des cils des cellules ciliées et en altérant ainsi une barrière physique importante qui protège l'hôte contre l'invasion fongique a déjà été démontrée dans un modèle *ex vivo* utilisant des cellules humaines ^[37]. Cet effet néfaste était probablement dû à la production de mycotoxines telles que la gliotoxine, la fumagilline et l'acide helvolique ^[38]. D'autres découvertes ont montré que les cellules respiratoires peuvent être activées par l'ARN double brin des conidies d' *A.fumigatus* et initier une réponse immunitaire via la production d' IFN ^[39].

Après que les conidies d'*A.fumigatus* ont contourné la clairance mucociliaire et les défenses épithéliales, elles atteignent les voies respiratoires inférieures puis les alvéoles et deviennent incapables de résister à l'attaque immunitaire montée par les hôtes normaux et sont efficacement éliminées par les cellules immunitaires innées ^[40] dont les cellules phagocytaires : Les macrophages et les neutrophiles .

⇒ Les macrophages alvéolaires (MA) :

Ils constituent la première ligne de défense phagocytaire de l'hôte contre les conidies inhalées [41].

Les monocytes du sang périphérique et les neutrophiles sont ensuite recrutés sur les sites d'infection. Une fois internalisés par les macrophages, les microbes sont généralement tués par des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Contrairement à *A. fumigatus*, les conidies au repos sont extrêmement résistantes aux ROS. Cette résistance est due à la présence d'hydrophobines, ainsi que la couche sous-jacente de mélanine [42] qui élimine les ROS de l'hôte d'une manière plus efficace [43]. La destruction des conidies commence après un délai de plusieurs heures, avec un taux de destruction étonnamment bas de 90 % en 24 heures [10] et dépend de la phagocytose associée aux LC3 (LAP) [44], qui, à son tour, dépend de la fonction de la NADPH oxydase [21].

Le LC3 (LAP) décrit comme étant un processus dans lequel le mécanisme d'autophagie est utilisé pour insérer des molécules lipidées de la chaîne légère 3 de la protéine 1 associée aux microtubules (LC3) dans la membrane des phagosomes afin de cibler efficacement leur contenu pour le dégrader [21]. En effet, il a été démontré que les souris dépourvues de composants du LAP sont plus sensibles à l'aspergillose invasive [46].

Néanmoins, la LAP dysfonctionnelle dans les cellules de patients atteints de CGD et dans les cellules murines déficientes en activité NADPH oxydase peut être restaurée par l'ajout d'antagoniste du récepteur de l'interleukine-1 (IL-1Ra), ce qui fait de l'IL-1Ra une stratégie potentielle de traitement d'appoint à explorer dans le contexte de l'aspergillose chez les personnes atteintes de CGD [47].

Quant à l'activité du complexe NADPH oxydase, elle est importante pour l'induction de la phagocytose (LAP) ainsi que pour la NETosis (la formation de pièges extracellulaires neutrophiles (NET)), par laquelle les neutrophiles libèrent leur ADN pour former des pièges extracellulaires qui sont recouverts de peptides antimicrobiens (AMP)^[48]. En outre, les neutrophiles endommagent les hyphes par la libération de ROS produits par le complexe NADPH oxydase^[21].

⇒ Les neutrophiles :

Les neutrophiles sont principalement responsables de la destruction des hyphes, mais peuvent également ingérer et tuer des conidies au repos ou gonflées qui n'ont pas été tuées auparavant par les macrophages. Ils adhèrent à la surface des hyphes, car ces derniers sont trop grands pour être engloutis, le contact entre les neutrophiles et les hyphes déclenche une explosion respiratoire, la sécrétion d'intermédiaires réactifs de l'oxygène et la dégranulation. Contrairement à la destruction des conidies par les macrophages, la destruction des hyphes par les PMN a été rapide, 50 % des hyphes ont été tués après une incubation de 2 heures ^[10].

Après la phagocytose, les conidies germent à l'intérieur du phagolysosome ^[49] et perdent leur couche de radicules qui est ensuite dégradée dans le phagolysosome^[43]. La libération des rodlets entraîne l'exposition de polysaccharides et de protéines immunogènes (PAMPs) qui initient une réponse pro-inflammatoire.

⇒ Les PAMPs et les PRRs :

Les récepteurs de reconnaissance d'agents pathogènes (PRR) reconnaissent des motifs de paroi cellulaire fongiques spécifiques (PAMPs) présentés à la surface des cellules dendritiques (CDs) et des phagocytes ^[50].

Par conséquent, la production des cytokines et des chimiokines stimule le recrutement des neutrophiles et l'immunité ultérieure spécifique à l'antigène.

Les récepteurs de reconnaissance des formes (PRR) tels que les TLR (Toll-like receptors), les récepteurs de lectine de type C (CLR) et les protéines de la famille des galectines existent à la surface des cellules hôtes pour identifier les PAMPs des champignons ^[51].

TLR2 et TLR4, sont des acteurs principaux de la reconnaissance des champignons dans le système immunitaire inné. Ils jouent un rôle important dans la reconnaissance des micro-organismes envahissants et le déclenchement de réponses immunitaires. La présence de TLR4 est encouragée à la fois par les conidies et les hyphes d'*Aspergillus*, alors que TLR2 est créé par les conidies ^[52].

La Pentraxine 3 (PTX3), un récepteur soluble de reconnaissance qui est libéré par les cellules phagocytaires^[21] est une molécule cruciale pour la défense de l'hôte contre *A. fumigatus*. Les souris déficientes en PTX3 sont très sensibles à l'aspergillose invasive^[53] et il existe une forte association entre les polymorphismes du gène PTX3 chez l'homme et la susceptibilité à l'aspergillose chez les patients qui subissent une greffe de cellules souches hématologiques en raison d'une maladie hématologique^[54, 55].

PTX3 se lie aux conidies d'*A. fumigatus* in vivo et régule la reconnaissance du champignon^[53]. L'une des observations les plus importantes est que l'administration de PTX3 pouvait restaurer les réponses antifongiques de l'hôte dans des modèles murins de granulomatose chronique (CGD) ^[56] et de transplantation allogénique de moelle osseuse^[57].

Les conidies d'*A. fumigatus* ont développé plusieurs mécanismes pour échapper au système immunitaire inné de l'hôte. La surface des conidies, comme l'hydrophobine [23, 24] et la mélanine^[58, 59], masquent les PAMPs présents dans la paroi cellulaire des conidies d'*A. fumigatus* ...

La mélanine a également une puissante fonction antiphagocytaire: elle bloque l'acidification du phagosome, elle inhibe le complexe NADPH oxydase (qui est responsable de la production de ROS antifongiques) ^[44] et elle s'oppose à la LAP (qui est essentielle pour l'élimination intracellulaire des conidies par les monocytes ou les macrophages) ^[60].

Malgré l'importance des macrophages et des neutrophiles comme première barrière pour contrôler l'infection à *A.fumigatus*, le rôle d'autres cellules immunitaires innées ne peut être écarté ^[37].

⇒ Les monocytes :

La capacité des monocytes à phagocyter et à inhiber la germination des spores a déjà été démontrée à l'aide de cellules humaines.

Au cours d'une infection pulmonaire expérimentale par *A.fumigatus*, les monocytes inflammatoires peuvent se différencier en cellules dendritiques dérivées des monocytes et transporter les spores vers les ganglions lymphatiques drainant les poumons, établissant ainsi un lien avec l'immunité acquise et l'expansion des cellules T spécifiques du CD4 ^[61].

- **L'immunité acquise :**

L'immunité innée est à elle seule capable de contrôler les infections fongiques, surtout à faible dose. Cependant, lorsque les infections des voies respiratoires deviennent fréquentes ou que des charges fongiques élevées surviennent, une immunité acquise est nécessaire pour protéger l'hôte ^[62].

En conséquence, le rôle des réponses des lymphocytes T CD4 (y compris Th1, Th2, Th17 et régulateurs) ou CD8 lors de l'exposition aux spores d'*A.fumigatus* a déjà été démontré chez des sujets expérimentaux (souris) et *in vitro* essais utilisant des cellules humaines.

La réponse Th1/Treg jouant un rôle protecteur/régulateur lors de l'infection à *A.fumigatus*, a été renforcée à la fois chez les patients immunodéprimés [63, 64] et chez les souris neutropéniques en raison de sa capacité à neutraliser les cytokines Th2 [65].

Tandis que Th17 pourrait avoir un rôle protecteur ou nocif selon le composant spécifique fongique avec lequel ce sous-type de cellules T auxiliaires interagit.

Les cellules Th2 semblent jouer un rôle non protecteur lors de l'infection par *A. fumigatus* et sont particulièrement activées après interaction avec des protéines sécrétées par les champignons^[37].

En résumé, le contrôle de l'infection commence tôt au cours de l'invasion des agents pathogènes lorsque le champignon traverse des barrières naturelles physiques ou chimiques qui, si elles sont perturbées, peuvent conduire à la reconnaissance de l'agent pathogène et à l'activation des récepteurs de l'immunité innée et des cellules comme les macrophages et les neutrophiles qui, à leur tour, peuvent initier les événements de l'immunité acquise représentés par les activations des cellules T CD4 ou CD8.

4. Facteurs favorisant l'infection par *Aspergillus*

Il existe de nombreux facteurs de risque de l'Aspergillose invasive qui peuvent être liés à une maladie sous-jacente de l'hôte, des comorbidités, des médicaments, des facteurs de risque environnementaux ou nosocomiaux et ceux qui traitent des interactions hôte/pathogène^[66].

Chez les patients **receveurs de greffes de cellules souches hématopoïétiques (GCSH)**, les facteurs favorisant l'infection comprennent :

- L'âge avancé ^[67]
- Les maladies sous jacentes telles que l'anémie aplasique, myélome multiple, syndrome myélodysplasique...^[68]
- La dose et la durée de prise des corticoïdes ^[70]
- Les infections des voies respiratoires inférieures causées par des virus respiratoires^[72]
- Les facteurs environnementaux (Constructions hospitalières)
- La neutropénie et la lymphopénie.

Chez les patients **transplantés d'organes solides**, l'aspergillose invasive continue d'être une cause majeure de morbidité et de mortalité.

L'incidence de l'AI varie de 2 à 40 % et dépend de l'organe transplanté ^[73-75]. Parmi les facteurs de risque les plus importants pour l'IA, communs à tous les patients SOT sont :

- L'intensité du régime immunosuppresseur
- Les corticostéroïdes prolongés à forte dose
- Le traitement du rejet
- Les virus immunomodulateurs tels que le CMV

Il est donc important de noter que les corticostéroïdes entravent considérablement la destruction des spores par les macrophages et la capacité des neutrophiles et des cellules mononucléaires à tuer les hyphes d'*Aspergillus*.

Parmi les **patients immunocompétents**, il y a eu de plus en plus de descriptions de l'importance de la **BPCO** en tant que facteur de risque ou comorbidité sous-jacente chez les patients atteints d'AI [76].

Par ailleurs, le nombre de **patients recevant des agents immunosuppresseurs** a augmenté au cours de la dernière décennie et devrait augmenter considérablement dans un proche avenir. En effet, le **TNF- α** joue un rôle important dans la régulation de la réponse immunitaire, et l'utilisation d'inhibiteurs du TNF- α est associée à une incidence accrue d'infections graves causées par un large spectre d'agents pathogènes, notamment viraux, bactériens [78, 79].

L'inhibiteur du TNF- α le plus fréquent était l'infliximab, utilisé dans 75 % des cas.

Outre les cas habituels survenant lors d'une immunodépression induite par la chimiothérapie, peut concerner plus rarement des **patients présentant une immunodéficience acquise** (SIDA, diabète, cirrhose, etc.) ou une **maladie génétique** des défenses immunitaires tel que le **déficit en NADPH oxydase** [4].

Un dysfonctionnement de la NADPH oxydase des cellules phagocytaires peut causer une maladie héréditaire : la **granulomatose septique chronique**. Par conséquent, l'augmentation de l'activité de la NADPH oxydase par thérapie génique a permis de restaurer la formation de NETs et d'éliminer l'infection par *A. nidulans* chez un patient atteint de CGD [80].

Les **infections virales respiratoires** qui ont été associées à l'IPA comprennent: l'influenza H7N9, l'influenza A, l'influenza B, le virus respiratoire syncytial et, plus récemment, le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2), entre autres ^[81, 82].

Plus récemment, les patients infectés par le **SRAS-CoV-2** ont développé une IA, vraisemblablement en raison d'une atteinte de l'épithélium, d'un dysfonctionnement du système immunitaire et d'une altération de la clairance ciliaire, ce qui entraîne une invasion tissulaire par *Aspergillus spp*^[83]. Ce syndrome a été appelé aspergillose pulmonaire associée à COVID-19 (CAPA). Son incidence est variable mais est associée à une augmentation de la mortalité chez les patients COVID-19 gravement malades (augmentation de 16 % à 25 % dans certains rapports)^[84].

II. Infections à Aspergillus

1. Classification des Aspergilloses

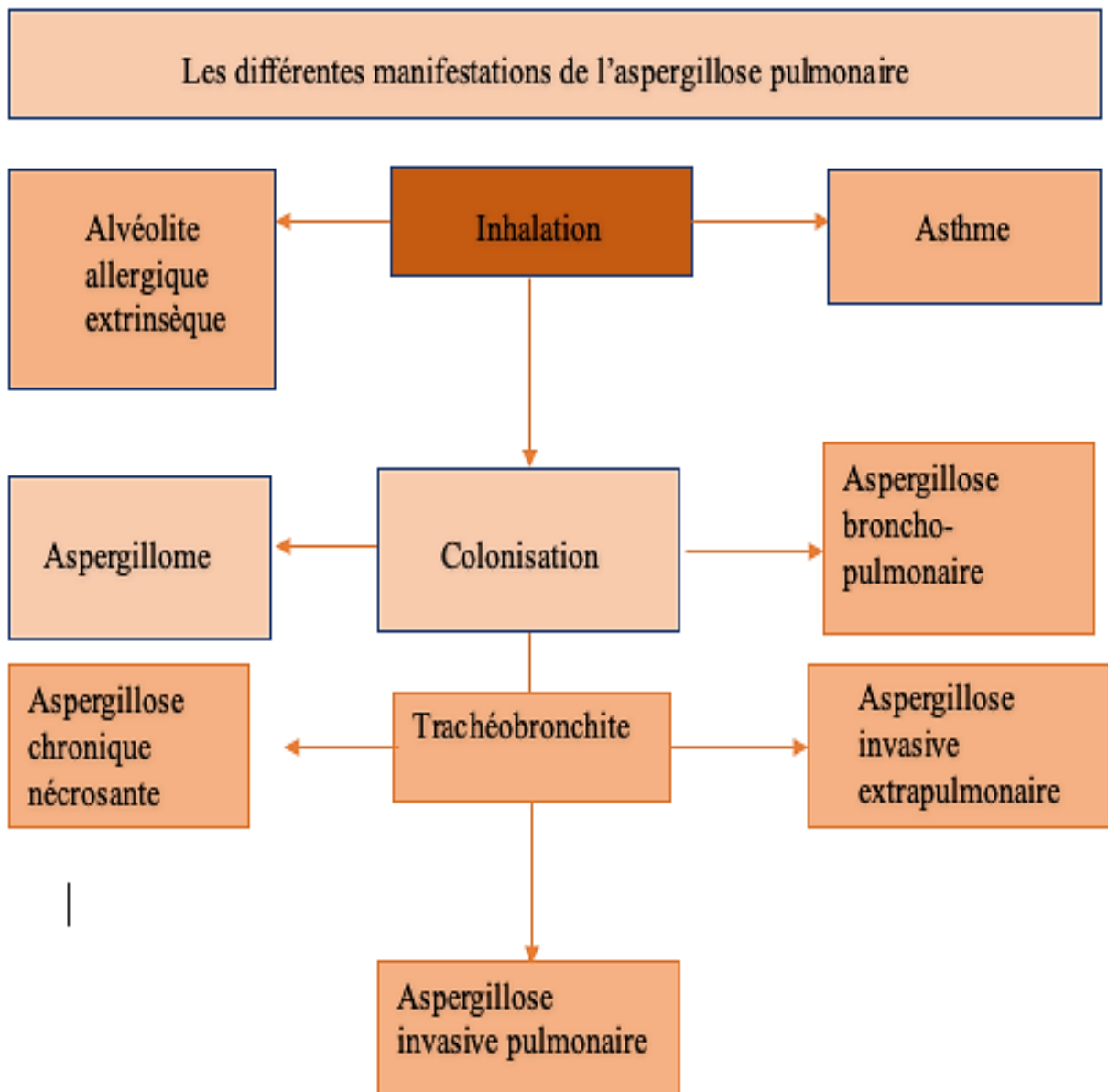


Schéma de la classification des manifestations de l'aspergillose pulmonaire

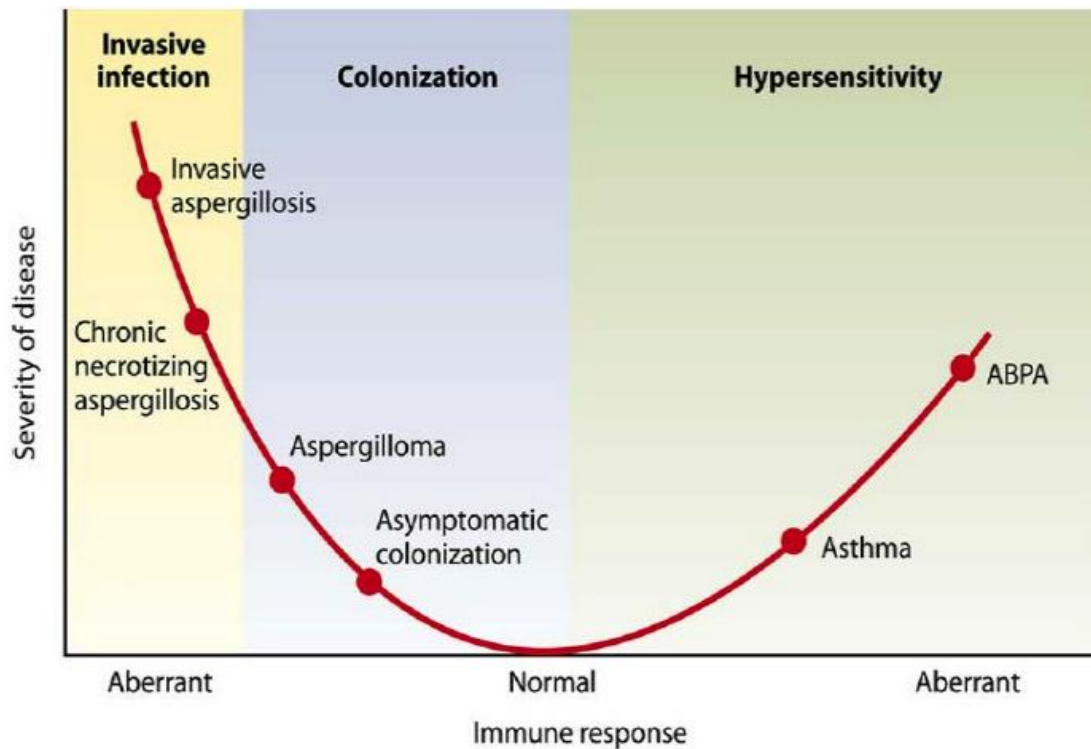


Figure 4 : Spectre immuno-pathologique d'*Aspergillus spp*^[85].

2. L'aspergillose pulmonaire invasive

L'aspergillose invasive ou aspergillose pulmonaire invasive (IA ou IPA) est une infection du parenchyme pulmonaire affectant un large éventail de patients à risque notamment les patients souffrant d'hétopathie maligne , de granulomatose chronique, les receveurs de greffes d'organes solides et de cellules souches^[86], ainsi que les greffes de moelle osseuse allogènes^[87].

Cette mycose sévère est caractérisée par l'envahissement aigu des bronches, puis du parenchyme pulmonaire, par des filaments d'*Aspergillus*.

Elle se présente sous différentes formes cliniques et pathologiques, dont la bronchopneumonie aiguë, l'aspergillose angioinvasive, la trachéobronchite aiguë et l'aspergillose pleurale ^[88].

La stadification clinique de l'IPA comprend une douleur thoracique pleurétique sévère, une toux sèche, de la fièvre et une dyspnée [89].

Les symboles d'imagerie radiologique les plus fréquemment observés de l'IPA sont : des infiltrats nodulaires pulmonaires diffus, des invasions cavitaires et des épanchements pleuraux ainsi que des densités pleurales cunéiformes dans les nodules pulmonaires.

L'un des principaux signes de l'IPA est la faible atténuation autour du nodule pulmonaire qui donne progressivement naissance à des cavités. Sur le plan histopathologique, on observe un grand nombre d'invasions d'hyphes fongiques et une destruction nodulaire discrète le long des vaisseaux sanguins [90].

Un diagnostic précoce est essentiel pour une meilleure survie. Cependant, seuls des résultats de culture positifs provenant de sites stériles, à l'exclusion du lavage broncho-alvéolaire (LBA), et/ou un examen histologique apportent la preuve définitive de l'API. Par conséquent, un diagnostic précoce avéré est rarement atteint. Des efforts diagnostiques modernes visent à détecter les composants de la paroi cellulaire des champignons ou les acides nucléiques.

II.3 Pronostic et mortalité de l'aspergillose pulmonaire invasive

Au cours des dernières décennies, l'augmentation du nombre de patients immunodéprimés a coïncidé avec l'augmentation des infections fongiques invasives (IFI) notamment l'aspergillose pulmonaire invasive avec une morbidité et une mortalité élevées associées, allant de 60% à 90%. Par conséquent, plus d'un milliard de personnes tombent encore malades à cause d'infections fongiques et plus de 1,6 million de décès y sont liés chaque année [91].

Selon une étude, la prévalence mondiale multinationale de l'aspergillose est estimée à 3 000 000 de cas par an d'aspergillose pulmonaire chronique et à 250 000 cas par an d'IPA [92].

En effet, *Aspergillus* est l'une des causes les plus courantes d'infections fongiques mortelles après *Candida*.

La majorité des isolats d'*Aspergillus* causant une aspergillose invasive est souvent attribuée à *Aspergillus fumigatus*, avec des taux d'isolement allant jusqu'à 92 % suivi par *A. flavus*, *A. niger* et *A. terreus*. Une proportion significative d'infections invasives peut également être mixte jusqu'à 36 % [93].

L'incidence et l'impact de l'aspergillose invasive varient en fonction de la maladie sous-jacente, mais d'autres associations incluent l'utilisation de corticostéroïdes, une neutropénie profonde et prolongée, l'utilisation d'antibiotiques à large spectre et la ventilation mécanique.

Les patients transplantés :

Dans une étude aux États-Unis, Neofytos et al. ont démontré que les taux d'incidence globaux étaient de :

- 49 % chez les transplantés pulmonaires,
- 11 % chez les transplantés hépatiques,
- 10 % chez les transplantés cardiaques et
- 2 % chez les transplantés rénaux.

Les patients souffrant d'hémopathies malignes :

L'incidence de l'API est estimée à 0,8-2,3 % dans les hémopathies malignes variant selon les maladies sous jacentes.

Nucci et ses collègues ont montré que l'incidence cumulative sur un an de l'aspergillose invasive était de :

- 13,4 % dans les cas de leucémie myéloïde aiguë/syndrome myélodysplasique,
- 2,3 % dans les cas de HSCT allogénique
- 0 % dans les cas de HSCT autologue

Les patients dans l'USI :

L'incidence de l'aspergillose invasive dans les soins intensifs a été estimée à environ 1,7-6,3 pour 1000 admissions en soins intensifs.

Les patients non neutropéniques :

La mortalité liée à l'aspergillose invasive chez les patients non neutropéniques a été estimée à environ 63-72 %, principalement en raison des retards dans la reconnaissance et le diagnostic.

Malgré des améliorations majeures dans le diagnostic et le traitement de l'aspergillose, les maladies fongiques graves liées à l'hôpital sont toujours difficiles à prévenir et à traiter, et la mortalité reste élevée, en particulier chez les patients immunodéprimés atteints d'infections invasives^[94].

Le problème critique qui se pose est l'identification du champignon responsable et l'initiation d'un traitement approprié.

Les patients COVID-19 :

Aspergillose pulmonaire invasive et le syndrome de détresse respiratoire aigue COVID-19 :

L'aspergillose a pris un nouvel essor avec l'agent pandémique actuel qu'est le coronavirus (COVID-19). Le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) provoqué par une infection grave par le COVID-19 et les lésions de l'épithélium des voies respiratoires permettent l'invasion des *Aspergillus* [95].

Cependant, les facteurs d'hôte classiques de l'aspergillose invasive sont rarement reconnus chez les patients atteints de CAPA (COVID19 associated pulmonary aspergillosis), qui sont principalement immunocompétents et présentent des comorbidités, tandis que le rôle des stéroïdes justifie une étude plus approfondie^[83].

Des lésions épithéliales directes et des micro thrombus pulmonaires diffus, combinés à un dérèglement immunitaire, une réponse hyper inflammatoire et un traitement immunosuppresseur, pourraient être impliqués [83].

Un traitement précoce des CAPA est nécessaire : 71,4 % des patients ont reçu un traitement antifongique, principalement à base de voriconazole, d'isavuconazole et d'amphotéricine B liposomale.

Chapitre 2 : Outils de diagnostic de l'Aspergillose Pulmonaire Invasive

I. Critères diagnostiques

En 2002, suite à l'initiative de l'Organisation européenne pour la recherche et le traitement du cancer (EORTC) et le National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (MSG) des critères pour la classification des cas potentiels ont été élaborés en fonction de la probabilité d'une maladie fongique invasive sous-jacente : possible, probable ou avérée [96].

En 2008, ces critères ont été révisés une nouvelle fois afin de réduire au minimum le nombre de cas précédemment classés comme des maladies fongiques invasives "possibles".

Par conséquent, les données des études utilisant les critères de 2002 et 2008 peuvent être incomparables pour tout ce qui n'est pas des infections avérées.

Les critères EORTC/MSG [97, 98] sont souvent utilisés comme norme de référence diagnostique en raison de la rareté des cas prouvés d'IPA.

Ces critères se sont avérés utiles dans la recherche et la pratique chez les patients gravement immunodéprimés [95,96]. Chez les patients des unités de soins intensifs (USI), cependant, le diagnostic de l'IPA selon cette classification stricte est problématique pour un certain nombre de raisons.

Tout d'abord, une biopsie pulmonaire ouverte peut être contre-indiquée en raison de troubles de la coagulation et/ou d'une insuffisance respiratoire sévère ; le diagnostic d'IPA avéré est donc rare.

Deuxièmement, les définitions actuelles de l'IPA probable ou possible n'ont été validées que chez les patients immunodéprimés. Il s'agit là d'un grave inconvénient, car l'IPA peut se développer chez des patients en soins intensifs ne présentant pas de facteurs d'accueil classiques [101, 102].

Troisièmement, les résultats radiologiques chez les patients sous ventilation mécanique sont non spécifiques dans la majorité des cas, contrairement aux définitions très strictes des lésions radiologiques dans les critères EORTC/MSG [98].

Enfin, la détection de l'antigène galactomannane sur le sérum est peu utile chez les patients non neutropéniques [103].

Les critères EORTC/MSG d'IPA^[98]:

✓ IPA prouvée :

Échantillon obtenu par une technique stérile, comme l'aspiration à l'aiguille, dans lequel on observe des hyphes accompagnés de signes de lésions tissulaires ou la culture d'*Aspergillus* positive.

✓ IPA probable :

• **Facteurs liés à l'hôte**

- Antécédents récents de neutropénie (<500 neutrophiles/mm³ pendant >10 jours)
- Réception d'une greffe de cellules souches allogéniques
- Utilisation prolongée de corticostéroïdes à une dose de 0,3 mg/Kg/jour -d'équivalent Prednisone pendant >3 semaines.
- Traitement par d'autres immunosuppresseurs des cellules T reconnus, tels que les bloqueurs du TNF- α , les anticorps monoclonaux spécifiques, etc. au cours des 90 derniers jours.
- Immunodéficiences sévères héréditaires (telle que la maladie granulomateuse chronique ou l'immunodéficiences combinées sévères).

• **Critères cliniques**

Maladie fongique des voies respiratoires inférieures

Présence d'un des 3 signes suivants sur le scanner :

- Lésion(s) dense(s) et bien circonscrite(s), avec ou sans signe de halo.
- Signe du croissant aérien.
- Cavité.

- **Critères mycologiques (un seul)**

Moisissure dans les expectorations, le liquide de LBA, la brosse bronchique, indiquée par l'un des éléments suivants :

- Présence d'éléments fongiques indiquant une moisissure
- Récupération par culture d'*Aspergillus* ou d'un autre champignon.
- Tests indirects (détection d'antigènes ou de constituants de la paroi cellulaire)
- Antigène galactomannane détecté dans le sérum ou le liquide de LBA.
- Détection de B-D-glucan

La présence d'un facteur lié à l'hôte, d'un critère clinique et d'un critère mycologique est nécessaire pour pouvoir conclure à l'existence d'une maladie infectieuse.

Les cas qui répondent aux critères d'un facteur hôte et d'un critère clinique mais pour lesquels les critères mycologiques sont absents sont considérés comme des IFD possibles.

L'absence de critères spécifiques pour le diagnostic de l'IPA chez les patients gravement malades empêche l'instauration en temps utile d'un traitement antifongique approprié et peut, de ce fait, compromettre les chances de survie^[104].

C'est pourquoi les critères EORTC/MSG ont récemment été remis en question en tant qu'approche permettant de prendre en compte le véritable fardeau de la maladie^[105-107].

III. Diagnostic mycologique conventionnel

1. Prélèvements

Afin d'éviter toute contamination microbienne, les prélèvements doivent se faire dans des conditions d'asepsie, à l'état frais dans un récipient stérile, et conservés à + 4°C en attendant son acheminement rapide au laboratoire.

Les prélèvements peuvent provenir :

- Des produits biologiques issus de sites habituellement stériles : biopsies d'organes à l'aiguille ou chirurgicales, liquide céphalorachidien (LCR), liquide pleural, urines vésicales.
- De sites anatomiques pouvant être colonisés : arbre respiratoire ou sites superficiels).
- Des prélèvements respiratoires protégés : liquide de lavage bronchiolo-alvéolaire (LBA).

2. Examen direct

La première étape et composante indispensable du diagnostic mycologique est l'examen histopathologique et microscopique direct.

En milieu humide entre lame et lamelle et à l'aide d'azurants optiques tels que le FungiFluor (Calcofluor-white, Polysciences, USA) ou Blancophor (Bayer, Allemagne) mélangés à KOH 10 % à 20% ^[108], les parois cellulaires fongiques s'éclaircissent et la détection des champignons s'améliore^[109].

D'autres colorations peuvent être mises en œuvre dans le cadre d'un examen anatomopathologique : hémalun-éosine-safran (HES) ou périodique acide de Schiff (PAS).

Les filaments septés observés sont de 2 à 5 µm de diamètre avec branchements à 30-45° et se présentent typiquement comme des hyphes septés minces, ramifiés de façon dichotomique.

L'aspect morphologique permet une première classification grossière en groupes et une détection rapide relativement facile des hyphes fongiques [110].



Figure 5 : Examen direct montrant des têtes aspergillaires d'*Aspergillus niger* [Photo service parasitologie, HMIM V, Rabat]

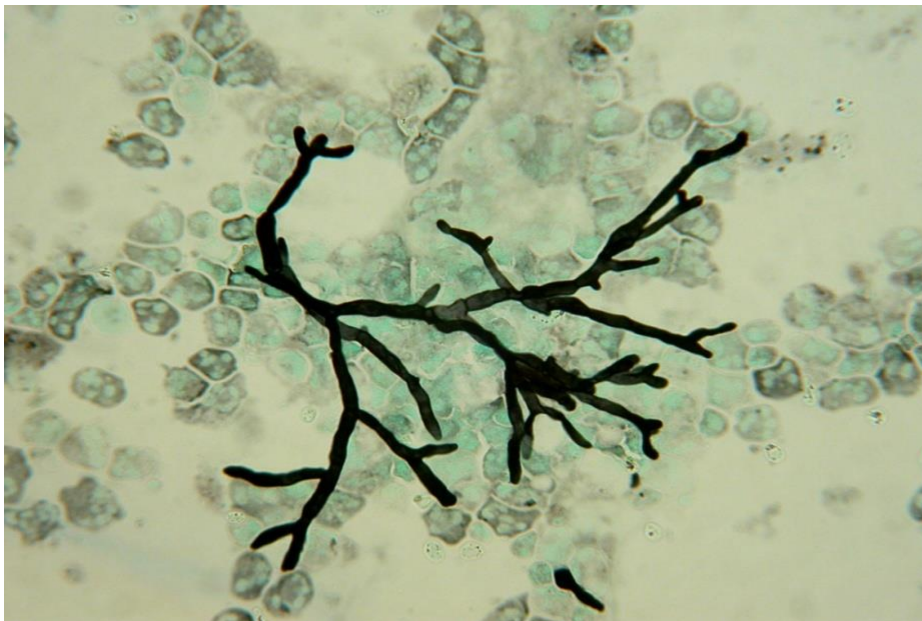


Figure 6 : Examen direct montrant des filaments mycéliens colorés par imprégnation argentique [Photo service parasitologie, HMIM V, Rabat]

3. Culture

Bien que la culture prenne plusieurs jours, elle reste très importante dans le diagnostic fongique, car elle permet d'identifier les espèces et de tester la résistance aux antifongiques.

Contrairement à la microscopie, une culture positive seule peut éventuellement être un cas de contamination car les moisissures sont omniprésentes dans l'environnement. La différenciation entre contamination, colonisation ou infection nécessite une synthèse des résultats mycologiques avec les modifications radiologiques et les symptômes cliniques^[108].

Les prélèvements peuvent être ciblés, en fonction des points d'appel cliniques, ou sanguins pour la mise en évidence d'une dissémination hématogène.

Les milieux à usage général qui sont couramment utilisés pour la culture fongique sont le dextrose de Sabouraud et l'extrait de Malt (MEA).

La MEA permet aux espèces fongiques à croissance rapide comme l'*Aspergillus spp*, de se développer, notamment en raison de sa teneur élevée en sucre et de son activité hydrique.

Il existe d'autres milieux de culture efficaces, comme la DG18 (dichloran-glycérol Agar) qui contient du glycérol à 16% (p/p), abaissant l'activité de l'eau (aW) de 0,999 à 0,95^[111] et le dichlorane qui inhibe la propagation des champignons appartenant à l'ordre des Mucorales.

Ce dernier permet l'identification d'une flore fongique plus diversifiée, mais exclut les champignons qui ont besoin d'une activité hydrique élevée pour se développer^[112].

Afin d'éviter la contamination bactérienne du milieu, l'ajout du chloramphénicol s'avère nécessaire surtout pour les prélèvements potentiellement multi-contaminés.

Quant au cycloheximide (Actidione®), il réduit le rendement de nombreux champignons opportunistes, notamment les isolats d'*Aspergillus spp*, de *Cryptococcus neoformans* et de Mucorales, il est donc à proscrire.

Le pH acide est optimal pour la croissance fongique, tout en limitant la croissance bactérienne.

Les géloses sont placées à l'étuve et incubées à 30 et 37°C, puis sont gardées pendant plusieurs semaines.

L'inspection quotidienne des milieux de culture assure une détection la plus précoce possible.

Les *Aspergillus spp* se développent en moyenne en 2 à 5 jours à 37°C (sauf *A. nidulans* et *A. glaucus*, qui peuvent mettre plus d'une semaine pour pousser, en donnant des petites colonies de 0,5-1 cm de diamètre).

L'aspect macroscopique est ras à poudreux, velouté parfois cotonneux, et de couleur variée en fonction de l'espèce^[86].

Les scientifiques de laboratoire doivent également reconnaître les isolats atypiques d'*Aspergillus spp.* Des souches d'*A. fumigatus* à faible sporulation (blanches) avec une sensibilité réduite à plusieurs médicaments antifongiques ont été signalées récemment^[113].

Avec un scotch rapide ou un montage tease, les têtes conidiennes d'*Aspergillus spp* peuvent généralement être identifiées.

Cependant, une culture sur lame peut être nécessaire lorsque la sporulation est lente ou atypique ^[109].



Figure 7 : Aspect de la culture d'*Aspergillus fumigatus* sur une boîte de Pétri. (Des fils mycéliens (blancs) sont visibles sur le bord de la croissance circulaire, avec des fructifications contenant des spores au centre (bleu/vert)) [Photo service parasitologie, HMIM V, Rabat]

4. Obstacles et limites

La confirmation des résultats microscopiques par l'examen direct et la culture est toujours souhaitable et dans la plupart des cas impliquant des moisissures opportunistes, elle est essentielle pour l'identification définitive de l'agent pathogène.

Cependant, un diagnostic exact et spécifique n'est pas garanti ; l'identification des *Aspergillus* par microscopie seule peut être trompeuse^[109].

En effet, il s'est révélé que la culture n'est positive que dans 50 % des cas d'aspergilloses avérées^[114] et cela avec un décalage considérable ou à un stade plus avancé de l'infection, voire pas du tout.

Il est aussi important à noter que les champignons filamenteux tels que *Fusarium spp*, *Penicillium spp* et *Scedosporium spp* ne peuvent être distingués d'*Aspergillus spp*.

Schell ^[115] rapporte un cas de sinusite à *Aspergillus niger* dans laquelle les conidies d'*A. niger* ont été confondues avec les cellules de levure de *Candida spp* et les coupes transversales des stipes d'*A. niger* ont été confondues avec les larges hyphes d'un zygomycète.

D'où l'intérêt de toujours confronter les résultats des cultures mycologiques avec la clinique et les autres examens pratiqués en parallèle ^[116] car la communication entre le pathologiste clinique et le mycologue de laboratoire, qui identifie régulièrement les champignons filamenteux à partir de la culture, peut améliorer la valeur diagnostique de l'histopathologie.

Par ailleurs, les prélèvements potentiellement pluri-contaminés qui proviennent des sites superficiels et de l'arbre respiratoire comme les crachats, sont d'interprétation délicate et doivent prendre en compte d'autres arguments [117]. Seuls des résultats de culture positifs provenant de sites stériles, à l'exclusion du lavage broncho-alvéolaire (LBA), et/ou un examen histologique apportent la preuve définitive de l'IFD [118].

Il est également nécessaire d'être très prudent en manipulant les champignons au sein d'un laboratoire de mycologie puisque certaines conidies aspergillaires sont très volatiles pouvant contaminer à tout moment les boîtes de Petri. Il est donc hautement recommandé de manipuler tout prélèvement sous hotte en poste de sécurité microbiologique.

En outre, la main-d'œuvre fait partie des limites concernant l'examen direct et la culture des échantillons, car le diagnostic rapide de l'aspergillose dépend non seulement d'une méthodologie améliorée, mais aussi d'une main-d'œuvre adéquate et bien formée.

Les enquêtes sur les pratiques de mycologie recommandent fortement plus de formation [119-121]. Un accent particulier doit être mis sur l'identification précise, l'examen direct, l'utilisation appropriée des médias, la pertinence clinique et la rentabilité.

Cependant, un personnel inadéquat peut compromettre à la fois la formation et la mise en œuvre de procédures plus pertinentes sur le plan clinique [109].

IV. Diagnostic indirect

Le pronostic de l'IA est essentiellement lié au retard du diagnostic, ainsi qu'aux conditions de comorbidité des patients, à la sensibilisation insuffisante de plusieurs spécialités médicales et à la réalisation de tests microbiologiques de routine ^[94]. La plupart des laboratoires cliniques, en particulier dans les pays en développement, utilisent des outils conventionnels basés sur les caractères morphologiques tels que l'examen microscopique direct, l'analyse histopathologique et les cultures microbiologiques standard pour la détection de l'aspergillose.

Cependant, l'aspergillose ne peut être prouvée que par histologie ou par culture à partir d'une source physiologiquement stérile.

En théorie, il pourrait s'agir d'une hémoculture, mais en pratique clinique, la croissance fongique d'*Aspergillus* à partir du sang est extraordinairement rare, en raison de la thrombocytopénie, les deux voies diagnostiques peuvent rarement être suivies dans les populations où l'incidence de l'IA est la plus élevée, à savoir les patients atteints de leucémie et les transplantés allogènes^[122].

Le diagnostic doit donc reposer sur des méthodes non invasives et donc indirectes. Les méthodes de diagnostic modernes visant à détecter les composants de la paroi cellulaire des champignons ou les acides nucléiques ont été introduites dans la pratique clinique.

1. Prélèvements

- **Prélèvement sanguin :**

Les hémocultures n'étant que rarement positives pour *Aspergillus*, le prélèvement permettra de rechercher la présence du champignon de façon indirecte à travers les composants pariétaux antigéniques ou d'ADN.

- **Prélèvement de tissus, de liquides biologiques et sécrétions broncho-pulmonaire :**

Expectoration ou crachat pour examen cyto bactériologique (ECBC) :

- Geste non invasif
- Facile à réaliser
- Recueil de l'expectoration au réveil matinal (chargée en agents pathogènes) dans un récipient stérile lors d'un effort de toux.
- Risque de contamination par la flore oropharyngée

Aspiration endotrachéale (ART) et endobronchique (AEB)

- Recueillir des sécrétions broncho-pulmonaires à l'aide d'une sonde d'intubation.
- Adaptée pour un patient en réanimation
- Alternative lorsque les méthodes invasives sont contre-indiquées à cause d'une profonde thrombocytopénie ou impossibles à réaliser.

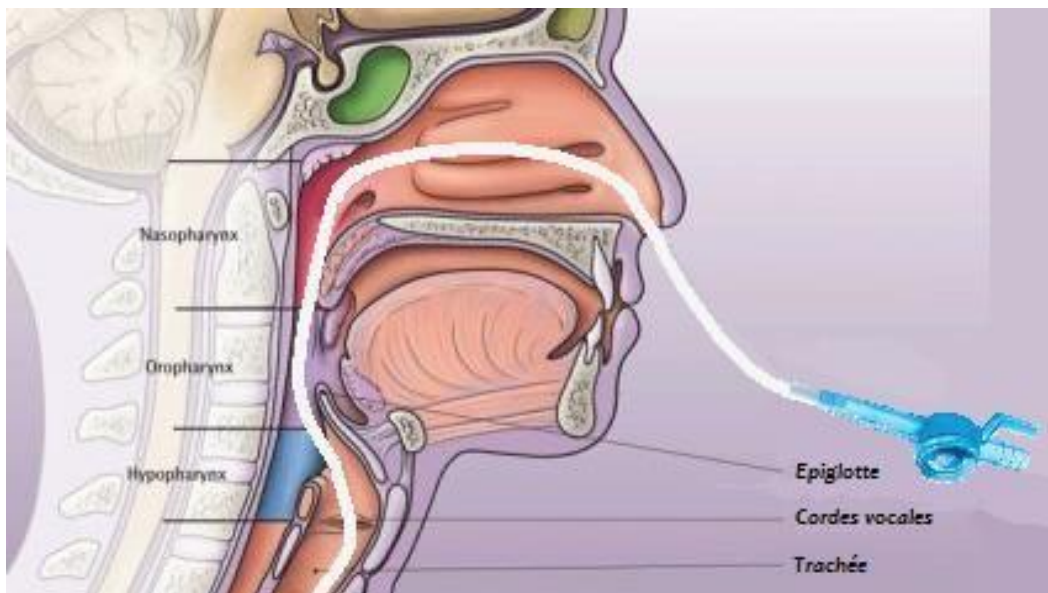


Figure 8 : Schéma expliquant l'aspiration endotrachéale/endobronchique

Lavage broncho-alvéolaire (LBA)

Par fibroscopie : recueil d'une fraction bronchique et d'une fraction alvéolaire en prélèvement protégé.

- Absence de contamination par la flore oropharyngée et l'environnement.
- Récupération d'une plus grande quantité de sécrétions.

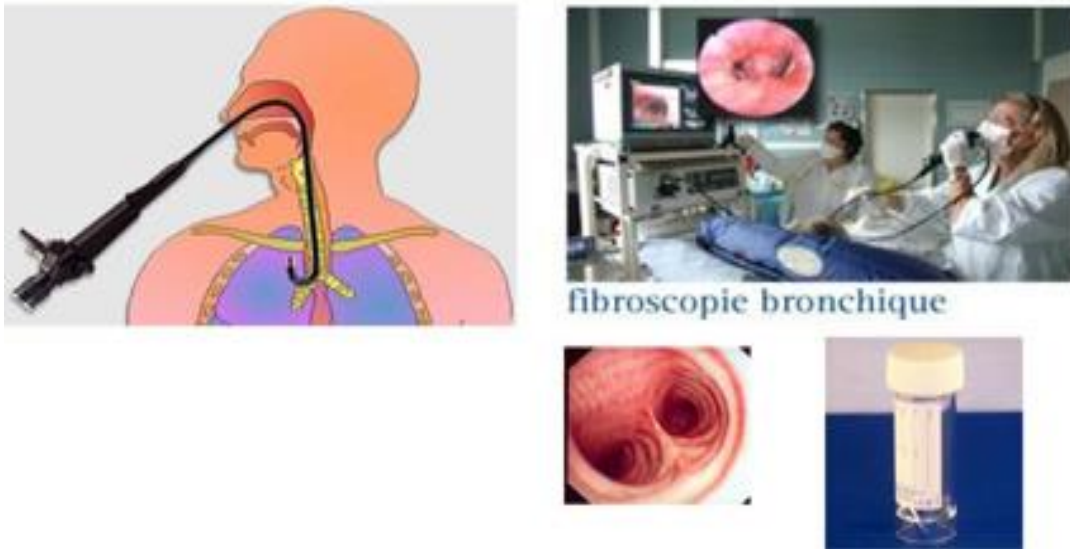


Figure 9 : Bronchoscopie, Lavage broncho-alvéolaire

Prélèvement distal protégé (PDP) ou brossage bronchique protégé

- Réalisé lors d'une fibroscopie bronchique,
- Le prélèvement dirigé au niveau du foyer infectieux et protégé,
- Risque de contamination par la flore oropharyngée limité.

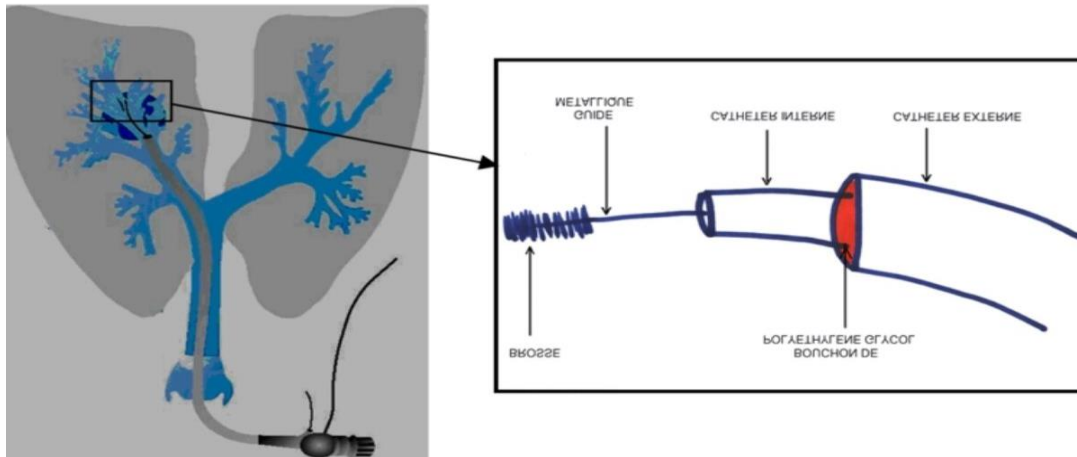


Figure 10 : Dispositif de Wimberley

Ponction-biopsie pulmonaire transthoracique ou endobronchique

- Effectuée si masse pulmonaire suspecte (Aspergillome)
- Passage d'une aiguille fine pour biopsie à travers deux côtes sous guidage échographique ou scannographique.
- Utilisation limitée chez les patients neutropéniques car risque hémorragique !

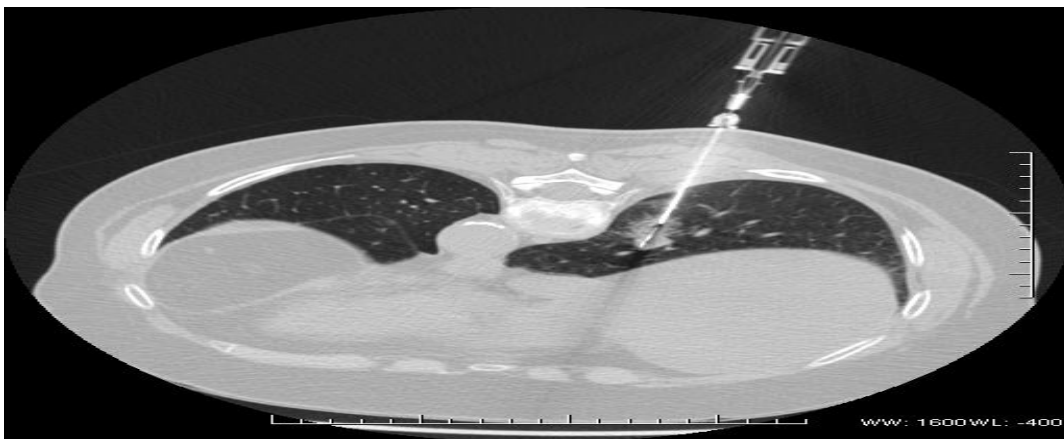


Figure 11 : CT scan ponction pulmonaire transthoracique^[123].

2. Détection d'Ag spécifique : Galactomannane sérique

Le galactomannane est un polymère hétéropolysaccharide linéaire, possédant une chaîne de mannose non immunogène sur laquelle sont greffés des résidus latéraux de -1,5-galacto-furanose, qui constituent la paroi cellulaire spécifique de l'embranchement des champignons, représentant 5 % de leur masse sèche [122].

Il est libéré dans la circulation sanguine par les hyphes en croissance et les spores/conidies en germination avec des concentrations élevées en particulier dans les phases terminales de la maladie [10].

Les organismes qui sont connus pour libérer des GM sont *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Scedosporium spp.*, *Alternaria spp.*, *Histoplasma spp.* et *Penicillium spp.* [124].

Chez les patients atteints d'AI, le GM est mesurable dans le sang périphérique (sérum et plasma), le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), l'urine, le liquide céphalo-rachidien ou le liquide pleural [129].

Il a été utilisé avec succès pour aider au diagnostic de l'aspergillose invasive, permettant une reconnaissance plus précoce de la maladie par rapport aux méthodes conventionnelles.

La mesure du GM est réalisée à l'aide d'un test immuno-enzymatique (ELISA) en sandwich, qui détecte l'antigène du galactomannane en se liant à un anticorps monoclonal et en formant une liaison complexe anticorps monoclonal-galactomannane-anticorps monoclonal/péroxydase.

Dans la pratique quotidienne, un dépistage positif dans le sang est devenu un argument majeur pour le diagnostic d'une maladie probable pour le diagnostic de l'IPA probable, selon les critères émis par l'EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) et le MSG (Mycosis Study

Group), révisés en 2008 [1]. La spécificité des résultats obtenus par le sérum et le plasma est de 55-95% à 75-96%, pour le sérum et le plasma, respectivement.

Un autre test appelé platelia GM assay similaire au test immunoenzymatique a été récemment commercialisé par la société BioRad™. Ce test relativement rapide, peut être utilisé en série :

-L'opération technique nécessite un prétraitement thermique de l'échantillon afin de dissocier les complexes antigène-anticorps potentiels par sédimentation, et ainsi permettre l'accès des anticorps IgM EB-A2 à l'épitope galactofurane.

La Food and Drug Administration (FDA) a approuvé l'utilisation de ce test GM platelia dans l'évaluation clinique de l'aspergillose invasive dans le sérum et le LBA des patients^[128].

Actuellement, des auteurs américains recommandent un seuil de positivité du kit Platelia Aspergillus EIA® fixé à 0,5 ng/mL^[132].



Figure 12 : Kit de détection *Aspergillus*-Galactomannan BIO-RAD (disponible au Maroc)

○ Le GM dans le sérum ou le plasma :

Un grand nombre de preuves soutiennent l'utilisation de la détection du galactomannane sérique ou plasmatique pour le diagnostic de l'IA, y compris plusieurs méta-analyses.

D'après une comparaison directe, une étude a révélé que la performance dans le plasma était égale ou supérieure à celle dans le sérum ^[133].

Cependant, les caractéristiques de diagnostic sont fortement influencées par le seuil utilisé. L'augmentation du seuil peut induire un biais en recrutant des patients présentant une charge de morbidité fongique plus élevée et donc limiter considérablement le nombre de patients jugés admissibles au recrutement.

Un seuil ODI sérique ou plasmatique de 1,0 a donc été choisi comme le meilleur compromis entre la probabilité de diagnostic et l'éligibilité des patients pour les études futures ^[134].

Une deuxième cause d'hétérogénéité entre les différentes études, outre le seuil utilisé, est la population de patients étudiée.

La plupart des études ont été réalisées chez des patients en hématologie, car ils présentent le risque le plus élevé d'IA, notamment ceux qui subissent une greffe de cellules souches allogéniques ou une chimiothérapie d'induction pour une leucémie myéloïde aiguë ^[135].

Dans cette population, la sensibilité du test est la plus élevée, surtout lorsque ces patients sont neutropéniques ^[136].

En revanche, la sensibilité est nettement plus faible dans d'autres populations qui ne sont généralement pas neutropéniques, comme les transplantés d'organes solides et les patients en unité de soins intensifs et

également faible chez les patients atteints de maladie granulomateuse chronique ou du syndrome d'hyperimmunoglobuline E (hyper-IgE) (anciennement syndrome de Job), malgré leur risque accru d'IA [137, 138].

○ Le GM dans le LBA :

Dans l'ensemble, le test du galactomannane dans le BALF présente une sensibilité combinée de 0,61 à 0,92 et une spécificité combinée de 0,89 à 0,98 dans plusieurs méta-analyses.

Contrairement au galactomannane sérique, la sensibilité est similaire chez les patients hématologiques et non hématologiques et chez les patients neutropéniques et non neutropéniques^[139].

Le galactomannane du liquide de lavage broncho-alvéolaire était systématiquement plus sensible que le galactomannane sérique, tant chez les patients hématologiques que chez les patients non neutropéniques^[142, 143].

○ Le Galactomannane Dans Le Liquide Céphalo-Rachidien :

En comparant le gradient albumine du LCR/albumine du sérum avec le galactomannane du LCR/galactomannane du sérum, Viscoli et al^[144] ont montré que plus de 99 % du galactomannane présent dans le LCR des patients était produit par voie intrathécale, ce qui indique que des taux élevés de galactomannane dans le LCR sont effectivement révélateurs d'une infection localisée et ne sont pas seulement le résultat d'une translocation depuis la circulation.

○ Les limites de la détection de GM :

Cependant, l'utilité générale de l'exploitation de la valeur pronostique de la GM était initialement limitée par le nombre relativement élevé de résultats faussement positifs.

-Malgré une bonne sensibilité (61-89%) et une bonne spécificité (84-95%) revendiquées par le fabricant et certains auteurs, les limites de ce test sont ses performances^[145, 146].

-Plusieurs rapports ont été publiés sur des résultats de tests faussement positifs lors de l'utilisation concomitante de certains hémi-synthétiques β -lactames :

Pipéracilline-Tazobactam^[147], Amoxicilline-Acide clavulanique^[148] et l'Ampicilline/Sulbactam^[149]. Ces rapports ont conduit à une modification des approches de la neutropénie fébrile et des essais cliniques.

-Récemment, on a découvert qu'une solution (PlasmalyteTM) à base de gluconate de calcium utilisée pour le lavage broncho-alvéolaire contenait du galactomannane a donné lieu à une série de tests faussement positifs. Les solutions salines normales devraient être préférées dans ce contexte, car elles ont donné des résultats négatifs ^[150].

-La présence de Bifidobacterium sp. et la translocation de fragments de galactomannane de 45 kDa d'origine alimentaire (céréales, riz, pâtes, pain, lait, thé, etc.) sont également des sources de fausses positivités, en particulier chez les enfants (15-50% de résultats faussement positifs)^[151].

-Le terme "faux positif" ne fait pas nécessairement référence au fait que le matériel exempt de galactomannane est testé positivement ; il peut désigner plutôt la détection de galactomannane dans des maladies autres que l'aspergillose. En effet, certaines mycoses graves rares (histoplasmosse disséminée, blastomycose, pénicillose à *Penicillium marneffe*, paecilomycose) libèrent des antigènes de leur paroi fongique dans la circulation sanguine, et que ceux-ci sont liés au galactomannane d'*Aspergillus*^[152].

-Outre le coût relativement élevé et la grande variabilité inhérente, l'évolution du GM chez un patient peut être affectée par l'exposition aux antifongiques, la CMI du champignon pathogène envahissant, le statut immunitaire de l'hôte et la charge fongique élevée sous-jacente.

○ Utilités du Galactomannane :

Le GM est un outil expérimental et de suivi important dans la prise en charge des patients atteints d'IA. Les étapes critiques pour établir l'utilité clinique de ce biomarqueur continuent d'être franchies.

Le GM est de plus en plus utilisé dans les modèles pharmacodynamiques de l'AI pour estimer les relations dose-exposition-réponse et peut potentiellement être utilisé pour guider le traitement antifongique au niveau individuel.

Cependant, des travaux supplémentaires sont nécessaires chez les patients pour mieux définir les moyens d'utiliser le test au GM au début du traitement afin de faciliter les décisions thérapeutiques qui peuvent être bénéfiques pour un patient individuel ^[153].

3. Détection d'Ag panfongique : β 1-3 D Glucane (BDG)

D'autres biomarqueurs fongiques, tels que le test du 1,3-b-D-glucan (BDG) (Fungitell™), est utilisé conjointement avec le GM en clinique.

Le BDG est également un composant polysaccharidique de la paroi cellulaire, présent en quantité significative chez la plupart des champignons pathogènes (y compris *Pneumocystis jiroveci*) avec quelques exceptions notables comme *Cryptococcus neoformans* et les Zygomycètes^[154].

Sa présence dans le sang et les fluides corporels normalement stériles peut être un marqueur d'infection fongique invasive (IFI), y compris une infection par les agents pathogènes les plus courants tels que *Aspergillus* et *Candida*^[155].

Le test au 1,3-b-D-glucan (BDG) est considéré comme une méthode de diagnostic quasi panfongique et a été inclus non seulement dans les critères de diagnostic des infections fongiques invasives de l'EORTC/MSG (European Organization for Research pour la recherche et le traitement du cancer/Groupe d'étude sur les mycoses) en 2008, mais aussi dans les lignes directrices internationales pour la prise en charge de la septicémie grave et du choc septique depuis 2012 ^[156, 157].

Le facteur G, un facteur de coagulation du limule, est un détecteur naturel très sensible du ((1,3)-b-D-glucan). Le "test G", qui détecte le (1,3) -b-D-glucan par le biais d'un test modifié de l'endotoxine de Limulus, est utile pour la détection de champignons tels que *Aspergillus*, *Candida*. Cependant, elle ne permet pas d'identifier le genre des champignons^[158].

Deux kits de test sont disponibles dans le commerce, le Fungitell™ (anciennement GlucateLL™) et le Fungitec-G™.

Les caractéristiques du test de BDG peuvent être utilisées, par exemple, pour exclure l'IA dans certains scénarios cliniques, pour augmenter la certitude de l'IA en présence d'un résultat positif isolé de galactomannane ou lorsque le test suit l'initiation d'un traitement antifongique^[154].



Figure 13 : Test du 1,3- β-D-glucan. Fugitell STAT

-Les limites du test BDG :

Le BDG n'est pas spécifique d'un agent fongique donné.

Les infections à levures ou la pneumonie à *Pneumocystis carinii* (PcP) sont des causes possibles d'élévation de la BDG.

Le test BDG dans le LBA était généralement plus sensible que le test GM (LBA) ou la PCR (LBA), mais la spécificité relativement faible d'environ 50 % limite sa valeur diagnostique et diminue la DOR car elle ne détecte pas un champignon spécifique mais des champignons en général^[159].

Cela nécessitera l'intégration de données cliniques, radiologiques et microbiologiques pour une interprétation correcte.

-Les faux positifs :

Le BDG peut être faussement élevé dans le sérum chez les patients subissant une hémodialyse avec des membranes en cellulose, chez les patients traités avec de l'immunoglobuline, de l'albumine ^[159] ou d'autres produits sanguins filtrés par des filtres en cellulose contenant du BDG, et chez les patients ayant une exposition sérologique à des gaz contenant du glucane ou à certains antimicrobiens intraveineux^[160].

Des tests in vitro de la colistine, de l'ertapénème, de la céfazoline, du triméthoprime-sulfaméthoxazole, du céfotaxime, du céfépime, et l'ampicilline-sulbactam ont donné des résultats positifs pour la BDG aux concentrations des flacons reconstitués, mais pas lorsqu'ils étaient dilués aux concentrations plasmatiques maximales habituelles ^[164].

En conclusion, la détection BG et GM sont des tests utiles pour le diagnostic de l'IA chez les patients hématologiques à haut risque, mais une combinaison des deux tests était très utile pour identifier les réactions faussement positives par chaque test.

4. Détection d'ADN fongique

Outre la détection d'antigènes dans le sang et d'autres échantillons cliniques, la détection de séquences spécifiques du génome fongique est une autre méthode prometteuse pour un diagnostic précoce.

Cette méthode permet de détecter l'ADN de l'agent pathogène et de l'identifier au niveau de l'espèce dans une variété d'échantillons cliniques tels que le sang^[141], les tissus biopsiés ^[169] et le liquide de LBA^[170-172].

Des études antérieures ont indiqué que le test PCR présente une sensibilité et une spécificité raisonnables lorsqu'il est utilisé pour tester des échantillons provenant de patients présentant un risque élevé d'IPA.

Des directives récentes pour le diagnostic et la gestion de la maladie d'*Aspergillus* recommandent modérément la PCR sur des échantillons de sang pour le diagnostic de l'IA, avec une qualité de preuve (QoE) de niveau II^[173], et très récemment la PCR a également été incluse comme critère mycologique dans les définitions consensuelles de l'IA^[174].

Un certain nombre de tests PCR sont désormais disponibles pour détecter *Aspergillus spp.* dans divers échantillons cliniques et ont un rendement diagnostique élevé in vitro, mais leurs performances cliniques sont débattues en raison de rapports contradictoires issus d'essais cliniques.

L'un des principaux atouts de la PCR sur *Aspergillus* sanguin est sa sensibilité et sa valeur prédictive négative (VPN) élevées chez les patients gravement immunodéprimés présentant des hémopathies malignes sous-jacentes dans des contextes où la prophylaxie antifongique n'est pas utilisée^[175].

Une revue systématique publiée en 2019 a mis en évidence une sensibilité et une spécificité moyennes de 79,2 % et 79,6 % pour un seul résultat positif et de 59,6 % et 95,1 % pour deux résultats positifs consécutifs lors de la réalisation de la PCR sur des échantillons de sang (sérum ou sang total). La majorité des cohortes étudiées étaient des patients atteints de malignité hématologique présentant le risque le plus élevé d'IA (c'est-à-dire des patients cancéreux neutropéniques, des receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH))^[176].

• La comparaison entre PCR et GM :

Un autre avantage de la PCR sanguine est son potentiel plus élevé de diagnostic précoce de l'IA par rapport à la GM.

Plusieurs études ont montré que l'ADN d'*Aspergillus* dans la circulation sanguine précède la libération de GM et donc que la positivité de la PCR indique une exposition à *Aspergillus* avant que d'autres biomarqueurs ne deviennent détectables ou que les signes cliniques ou les symptômes de la maladie ne soient perceptibles^[177, 178].

Par conséquent, lorsque le test PCR est associé à d'autres tests de diagnostic moléculaire tels que le GM (augmentation de la spécificité), des résultats positifs peuvent être utilisés pour initier un bilan diagnostique supplémentaire. Ce dernier comprend une bronchoscopie avec biopsie ou BALF, et éventuellement l'initiation d'un traitement antifongique^[179, 180].

Les stratégies de dépistage par GM sérique et PCR sanguine pourraient représenter une alternative chez les patients à haut risque qui n'utilisent pas de prophylaxie antifongique contre les moisissures, réduisant ainsi l'utilisation et le coût des agents antifongiques.

De plus, l'exposition à des médicaments potentiellement inutiles et leur toxicité, associée à des effets secondaires graves, pourraient être évitées^[181, 182].

À ce jour, l'*Aspergillus* PCR est le seul test non basé sur la culture capable de différencier les *Aspergillus spp.* jusqu'au niveau de l'espèce. Cependant, en raison d'une détection inférieure des espèces d'*Aspergillus* autres que *A. fumigatus*, les recommandations actuelles préfèrent l'utilisation de tests PCR spécifiques au genre plutôt qu'à l'espèce^[183].

•Le rôle du PCR dans la résistance aux antifongiques :

Un atout important de certains tests PCR d'*Aspergillus* sanguin est leur capacité à détecter les principaux polymorphismes nucléotidiques simples, ce qui implique une résistance acquise par l'environnement [184]. L'augmentation de la résistance d'*Aspergillus* aux antifongiques est un problème émergent dans la pratique clinique dans certaines parties du monde^[185-187].

Deux kits PCR disponibles dans le commerce sont capables de détecter les mutations ponctuelles les plus importantes dans ce gène et donc la résistance aux azoles, à savoir **AsperGenius®** et **MycoGENIE®**, avec des performances diagnostiques similaires [188].

Cependant, les données actuelles sont insuffisantes et une évaluation plus approfondie des tests ciblant les gènes de résistance est nécessaire.

•La comparaison entre le PCR dans le sang et dans le sérum :

Alors que les sensibilités rapportées dans les études utilisant des échantillons de sérum étaient comparables à celles utilisant des échantillons de sang total [189-191], certaines études indiquent une tendance à une sensibilité plus élevée des échantillons de sang total/plasma par rapport aux échantillons de sérum^[192].

Néanmoins, le test PCR à partir du sérum présente l'avantage de pouvoir mesurer d'autres biomarqueurs de l'IA, comme le galactomannane, dans le même échantillon, ce qui réduit la quantité de sang prélevé.

En résumé, il est prouvé que pour le diagnostic de l'IA chez les patients neutropéniques, la PCR d'*Aspergillus* dans le sang est aussi bonne que le GM sérique et supérieure au 1,3-bêta-d-glucan, qui réagit avec *Candida spp.* et peut

être élevé dans diverses conditions associées à une translocation fongique depuis l'intestin^[193]. Un autre avantage de la PCR est la détection potentielle de la résistance acquise aux azoles.

Par conséquent, la PCR a récemment été incluse dans les nouvelles définitions de consensus de l'IA de l'Organisation européenne pour la recherche et le traitement du cancer (EORTC)/Mycoses Study Group (MSG) ^[174].

• **La puce à ADN :**

Une puce à ADN a été établie, afin de détecter et identifier l'ADN de 14 pathogènes fongiques cliniquement pertinents et émergents à l'origine des infections fongiques invasives, notamment *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* dans le sang, le lavage broncho-alvéolaire et les échantillons de tissus de patients à haut risque.

La biopuce d'ADN multifongique combine la PCR multiplex et l'hybridation consécutive de microréseaux d'ADN.

Cette nouvelle approche diagnostique répond à des besoins cliniques urgents ce qui indique une grande importance pour l'amélioration du diagnostic de l'IFI.

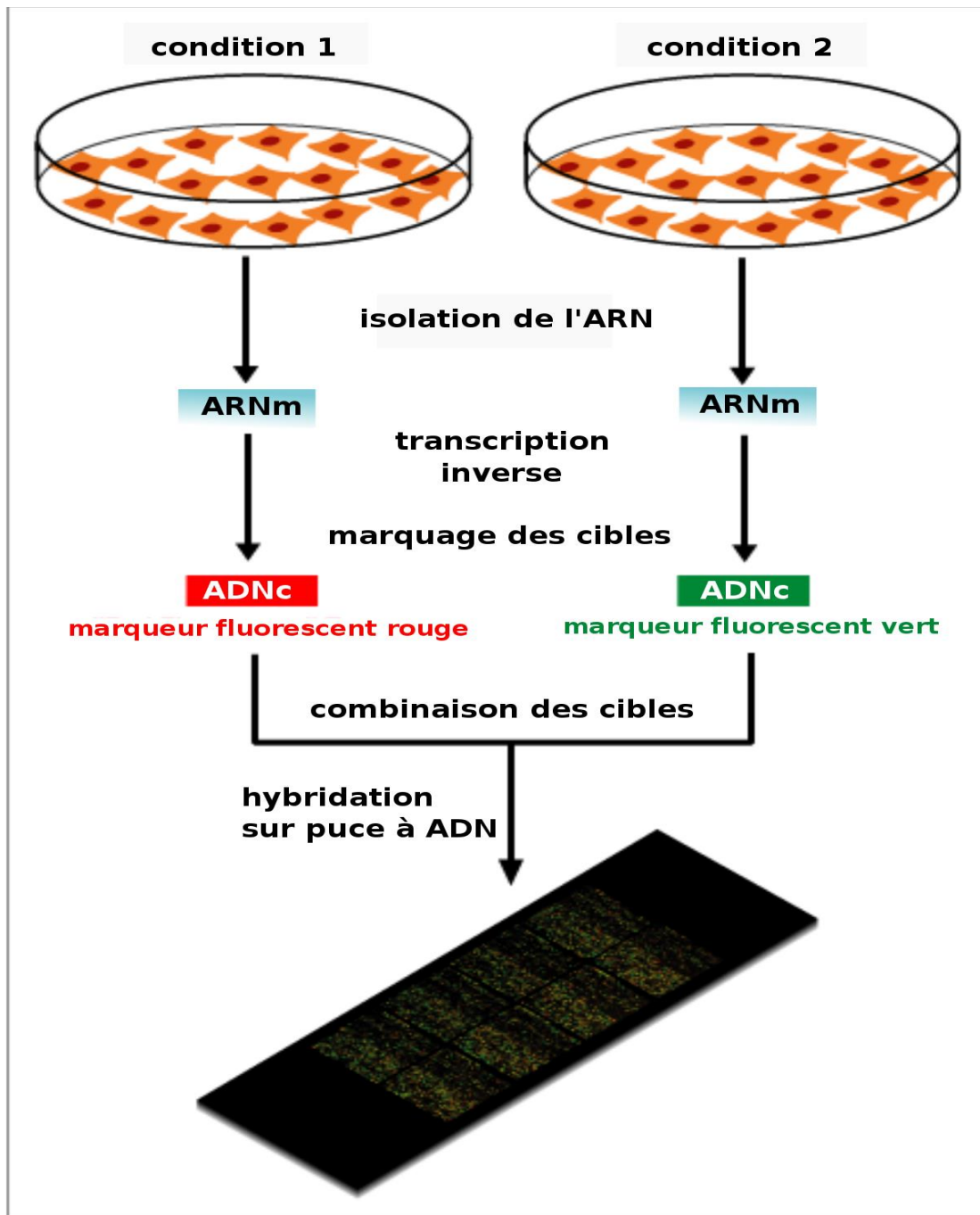


Figure 14 : Schéma expliquant le fonctionnement de la puce à ADN

- **Limites du PCR :**

⇒ *La normalisation du test PCR :*

Bien que la PCR sanguine soit utilisée comme aide au diagnostic de l'IA depuis près de trente ans, la normalisation de la PCR sanguine reste un défi délicat et complique la comparaison et la généralisation des résultats des études [194]. Sa mise en œuvre à grande échelle a donc été limitée [195]. Par conséquent, les études antérieures n'ont pas réussi à convaincre les organismes qui émettent des recommandations d'intégrer ce test dans leurs algorithmes [196, 197].

-La contamination de l'échantillon obtenu lors du prélèvement ou lors du traitement au laboratoire peut également être à l'origine d'un résultat PCR faussement positif.

-Bien qu'un grand nombre de tests PCR disponibles dans le commerce soient actuellement utilisés, seuls quelques-uns ont été étudiés dans le cadre de grandes études de cohorte (par exemple, AsperGenius®, MycAssay Aspergillus®, MycoGENIE®) [188].

⇒ *Le test PCR dans les différents échantillons :*

-Le test PCR des échantillons sanguins semble avoir une capacité diagnostique limitée chez les patients non neutropéniques, avec des sensibilités aussi faibles que 11 % chez les patients des unités de soins intensifs (USI) [198], alors que la sensibilité et la performance diagnostique globale du test PCR du BALF se sont avérées bien meilleures, atteignant des sensibilités de 44 % à 100% [199-201].

-L'utilité limitée de la PCR à partir d'échantillons sanguins chez les patients non neutropéniques est une limite très pertinente étant donné que la prévalence de l'IA continue d'augmenter chez les patients non neutropéniques atteints d'autres maladies sous-jacentes graves.

Cela inclut les patients des unités de soins intensifs, où les taux de prévalence varient entre 0,33 % et 19 % [202-204], les transplantés d'organes solides [205], les patients recevant des glucocorticoïdes systémiques [206], les patients souffrant d'affections respiratoires sous-jacentes [204, 207], les patients atteints de cancers solides [208] et d'autres groupes de patients [209].

-Une PCR positive d'*Aspergillus* dans les échantillons de BALF doit également être interprétée avec prudence et ne peut être utilisée comme seul marqueur de la présence d'IA. Cela est dû au fait que différentes cohortes de patients présentant une maladie pulmonaire structurelle ou fonctionnelle sont susceptibles d'être colonisées par *Aspergillus* dans les voies respiratoires inférieures mais de ne pas nécessairement développer une maladie invasive tant qu'aucune autre maladie ou traitement immunosuppresseur n'est présent^[211].

-Le plus grand obstacle à une large application de la PCR *Aspergillus* à partir d'échantillons sanguins est cependant sa faible performance diagnostique en présence d'une prophylaxie active contre les moisissures, qui est maintenant la norme de soins dans la plupart des centres dans le monde et dans plusieurs contextes de patients.

Cependant, il reste des domaines où le test peut être utile, en particulier chez les patients neutropéniques à risque modéré d'IA pour lesquels une prophylaxie antifongique n'est pas (encore) recommandée, notamment les patients qui développent une neutropénie prolongée au cours d'une chimiothérapie d'induction pour une leucémie lymphoïde aiguë, ou d'une chimiothérapie pour d'autres hémopathies malignes.

Une combinaison de GM et de PCR est préférable en raison de l'amélioration de la précision du diagnostic et de la possibilité d'un diagnostic plus rapide.

5. Test sérologique de *Aspergillus* LFD : Tests immunochromatographiques à flux latéral

Malgré ces avancées significatives, la disponibilité de ces tests de diagnostic non culturels et le délai d'obtention des résultats varient souvent en fonction de la taille, de la spécialisation et des ressources de l'établissement médical.

Des tests de flux latéral pour la détection des antigènes d'*Aspergillus* sont actuellement en cours de développement et peuvent surmonter ces limitations.

Le test de flux latéral, également connu sous le nom d'essai immunochromatographique à flux latéral, est un simple dispositif à base de papier, destiné à détecter la présence ou l'absence d'un analyte cible dans un échantillon liquide (matrice) sans nécessiter d'équipement spécialisé et coûteux.



Figure 15 : Test LFD sur sérum humain normal après inoculation avec des champignons et incubation pendant 48 h à 37°C^[213].

- **Test LFD 1** : Les réactions négatives (ligne de contrôle unique uniquement) présentées par *Candida albicans*
- **Test LFD 2** : *Pseudallescheria boydii*
- **Test LFD 3** : *Rhizopus oryzae*
- **Test LFD 4** : *Fusarium solani*
- **Test LFD 5** : Une réaction positive (deux lignes) présentée par *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus - Test de dispositif d'écoulement latéral spécifique

Le test de dispositif à flux latéral (LFD) spécifique à *Aspergillus* au point de service utilise un anticorps monoclonal de souris, JF5, qui se lie à un antigène glycoprotéique extracellulaire sécrété par *Aspergillus* spp. uniquement pendant la croissance active^[213].

Le LFD peut être utilisé pour tester des échantillons de sérum et de BALF et montre une réaction croisée avec *Penicillium* spp. seulement^[214].

Alors que les échantillons de sérum nécessitent un chauffage, une centrifugation et l'ajout d'une solution tampon avant le test, les échantillons BALF peuvent être testés sans aucun prétraitement ^[215].

Après 15 min d'incubation, les résultats sont lus à l'œil nu et sont interprétés en fonction de l'intensité de la ligne de test comme négatifs (-) ou faiblement (+) à fort (+++) positifs et se sont avérés reproductibles entre laboratoires et études ^[216, 217].

✓ **Le GM-LFA :**

Le GM-LFA est un test immunochromatographique autonome de type sandwich pour la détection qualitative et quantitative d'*Aspergillus* dans des échantillons de sérum et de LBA.

Il fonctionne de la même manière que le test de grossesse à domicile largement utilisé, éliminant le besoin d'un équipement de laboratoire avancé.

Il est basé sur le principe du flux latéral :

Les anticorps spécifiques de GM conjugués à de l'or nanométrique colloïdal se lient à GM (l'antigène), s'il est présent dans l'échantillon, lorsqu'il s'écoule sur la bandelette de test à travers deux zones de test.

Si la liaison se produit, le complexe anticorps-antigène va migrer le long de la bandelette par flux capillaire jusqu'à ce qu'il soit capturé par les anticorps spécifiques du GM dans la ligne de test, ce qui entraîne la formation d'une ligne de test visible. En même temps, des anticorps de contrôle conjugués à l'or sont présents, ils migrent avec l'échantillon et sont capturés par les anticorps de contrôle présents sur la ligne de contrôle. Ainsi, les résultats positifs créent deux lignes (lignes de test et de contrôle) et les résultats négatifs ne forment qu'une seule ligne (la ligne de contrôle) [218]. Si la ligne de contrôle ne se développe pas, le test est considéré comme invalide.

Récemment, un lecteur de tube numérique a été développé et fournit un nombre quantitatif qui correspond au titre de GM détecté [219].

Le test GM-LFA est marqué CE et est actuellement en cours d'approbation par la FDA.

Pour les patients souffrants de maladies hématologiques, le GM-LFA avec une lecture visuelle est une alternative prometteuse au test ELISA-GM, car aucun équipement technique spécifique n'est nécessaire, ni de personnel de laboratoire spécialement formé.

Actuellement, les données cliniques évaluant la performance diagnostique du GM-LFA avec lecture visuelle chez les patients atteints de malignité hématologique sont limitées, mais les résultats publiés à ce jour sont encourageants.



Figure 16 : Avantages et inconvénients du GM-LFA

✓ **Le GM-LFA utilisant un lecteur de cubes :**

De multiples études ont évalué les performances du GM-LFA à l'aide d'un lecteur automatique sur le BALF et le sérum de patients atteints d'hémopathies malignes.

Une étude a étudié la performance du GM LFA en utilisant un lecteur automatisé sur échantillons de sérum de 239 patients atteints de cancer hématologique, dont 41 cas d'IPA prouvés/probables et 188 contrôles.

Le sérum GM-LFA avait une sensibilité de 49% et une spécificité de 95%, avec une valeur prédictive négative de 90 % pour les cas probables/prouvés d'IPA par rapport aux témoins.

En outre, la concordance entre le test LFA et le test ELISA GM était de 89 %, la discordance la plus fréquente étant due à des valeurs de GM ELISA faussement négatives qui étaient positives avec le GM-LFA [220].



Figure 17 : Sōna LFA Cube Reader^[221]

✓ **Le dispositif d'écoulement latéral pour les antigènes de type galactomannane dans l'urine :**

Les tests antigéniques sur les échantillons d'urine peuvent offrir des avantages importants, notamment un prélèvement d'échantillons non invasif et facile qui permet un examen plus fréquent de grands volumes, ce qui peut augmenter la sensibilité du test et a également un grand potentiel pour les tests à domicile^[220].

Des études récentes ont indiqué que les tests GM peuvent être prometteurs dans les échantillons d'urine ^[221], tandis que les résultats des tests urinaires BDG étaient moins convaincants ^[226].

Fisher et ses collègues ont rapporté une spécificité inférieure des tests GM des échantillons d'urine par rapport au sérum (80 % contre 95 %) chez les patients pédiatriques atteints d'une hémopathie maligne ; cependant, les tests d'urine GM ont identifié avec succès le seul cas d'AI probable ^[225].

De nouvelles études sur l'utilisation de la LFA dans le cadre de la CAPA sont nécessaires ; il est remarquable que cette méthode soit pratique et fiable, en particulier dans des conditions de pandémie où il est très difficile d'obtenir des échantillons par des procédures invasives, et le processus de test est assez sûr en termes de contamination^[95].

Une étude récente soulignant l'importance des tests au chevet du patient révèle également la validité des méthodes basées sur le flux latéral dans le diagnostic de l'aspergillose chez tous les patients, y compris le COVID-19^[196].

Lors de l'analyse du lavage non-bronchoscopique ou du lavage broncho-alvéolaire de 23 patients atteints d'aspergillose pulmonaire associée au COVID-19 (CAPA) par l'utilisation de la LFA, la concordance avec le dosage immunoenzymatique du galactomannane était excellente ($\kappa = 0,702$).

Bien qu'un seuil de 1,0 ait fourni une performance combinée optimale (sensibilité : 83 %, spécificité : 87 %), l'utilisation de seuils supérieurs à 1,5 a généré des spécificités supérieures à 90 % et des rapports de vraisemblance positifs suffisants pour confirmer la CAPA^[227].

• **Les limites du GM-LFA :**

-Un inconvénient potentiel du GM-LFA avec lecture visuelle est que l'interprétation peut être influencée par la personne qui interprète les lignes de test, en particulier pour les résultats faiblement positifs.

Cela a également été mentionné dans l'étude ci-dessus, où une discordance (positif versus négatif) de deux investigateurs indépendants a été observée dans 11% des échantillons ^[225].

Ce décalage peut justifier une enquête dans les études futures, comme avec d'autres tests de flux latéral, la reproductibilité globale était bonne ^[217], bien qu'une lecture automatisée soit maintenant disponible, ce qui contournerait cet inconvénient.

-Les données suggèrent qu'un traitement antifongique empirique réduit significativement la sensibilité de la LFA dans le BALF, ce qui peut potentiellement refléter la performance de la LFA chez les patients sous prophylaxie active contre les moisissures.

En raison du fait qu'il existe de nombreuses méthodes utilisées pour le diagnostic précoce de l'IA et de nombreuses différences d'application et de standardisation entre elles, il est recommandé de combiner les méthodes utilisées dans de nombreuses études afin d'obtenir un meilleur diagnostic précoce de l'IA.

6. Nouvelle technique d'identification des champignons filamenteux : Maldi-Tof

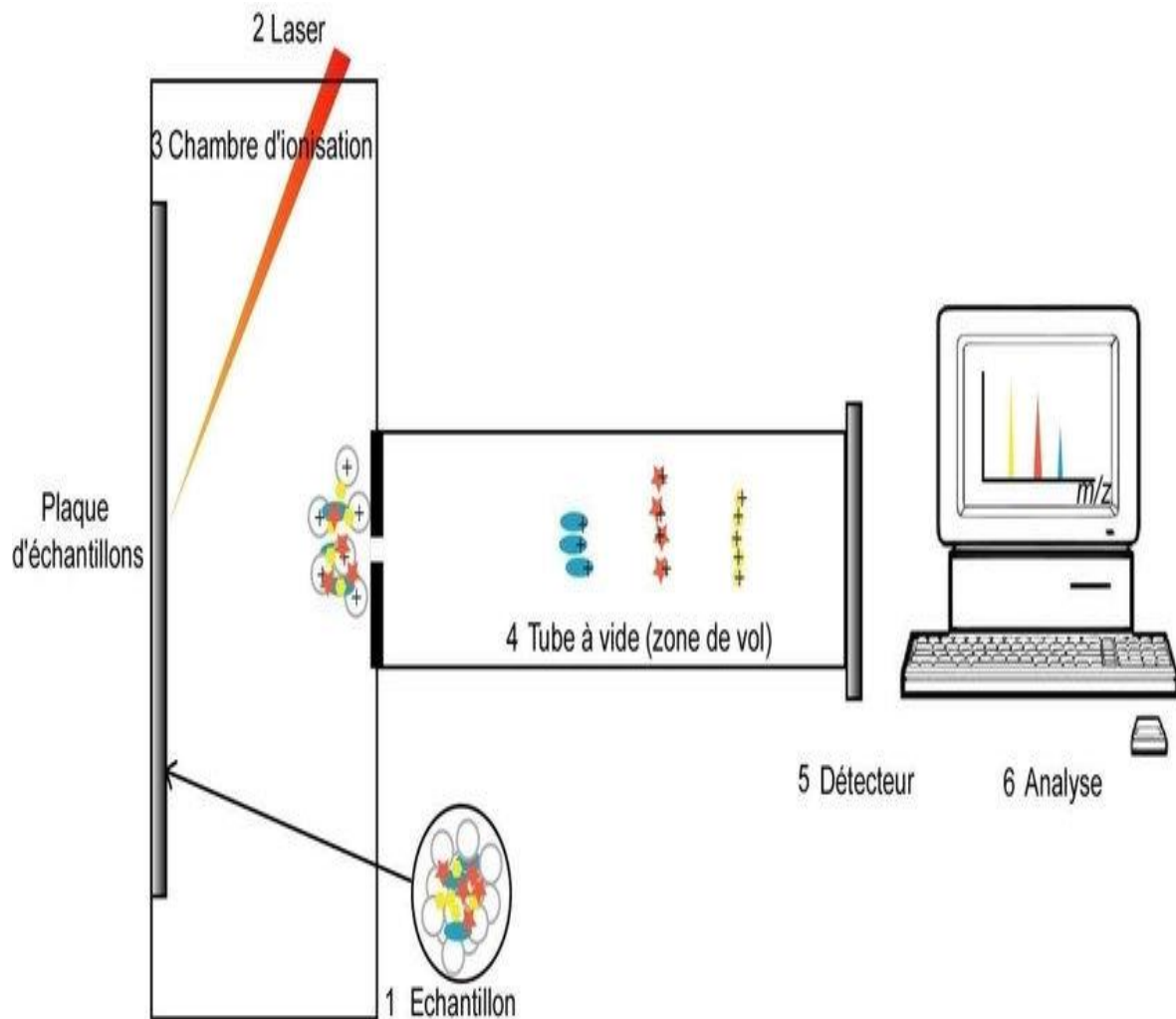


Figure 18 : Principales étapes d'une analyse par MALDI-TOF[229]

La spectrométrie de masse MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) génère un spectre basé sur les protéines détectées directement à partir de microorganismes intacts, ce qui permet une identification rapide^[230].

Dans le domaine de la microbiologie médicale, une grande attention a été accordée récemment à cette technique de spectrométrie de masse à temps de vol par désorption laser assistée par matrice (MALDI-TOF MS) en tant qu'outil pour l'identification rapide des isolats fongiques [231].

Cette méthode est un type d'empreintes spectrales de masse, pour lesquelles des bases de données sont disponibles dans le commerce auprès de plusieurs sociétés de spectromètre de masse.

L'identification et la discrimination rapides des isolats cliniques d'*A. fumigatus* ont été rapportées à l'aide de cette méthode [230].

- **Les avantages de la spectrométrie de masse MALDI-TOF :**

MALDI-TOF MS présente des avantages cliniques majeurs, car il nécessite des échantillons beaucoup plus petits et le processus total de la préparation des échantillons à l'analyse des données est très rapide [234].

Une partie de la colonie issue d'une culture positive est mélangée à un réactif spécialisé et directement analysée dans le spectromètre de masse.

Non seulement les levures peuvent être identifiées à partir de plaques de culture, mais aussi directement à partir d'hémocultures.

Le temps d'obtention du résultat est d'environ 1 minute.

Des calibrateurs et des contrôles sont utilisés régulièrement pour garantir des performances de haute qualité du MALDI-TOF.

Le spectre d'ionisation est utilisé par une base de données intégrée pour fournir une identification.

Il existe 2 systèmes commerciaux disponibles pour les laboratoires de microbiologie clinique : [Bruker \(Autoflex\)](#) et [BioMérieux \(VITEK MS\)](#). Ils diffèrent par les bases de données, les algorithmes utilisés pour identifier les organismes et l'instrumentation [235].

A ce jour, l'analyse MALDI-TOF MS est adaptée aux isolats microbiens cultivés à partir d'échantillons primaires ^[236] ou d'hémocultures positives ^[237], ce qui réduit considérablement le délai d'exécution par rapport aux techniques biochimiques ^[238] ou basées sur les acides nucléiques, telles que le séquençage de l'ADN ^[239].

Par rapport aux méthodes standards, MALDI-TOF MS améliore le temps d'exécution pour l'identification des bactéries et des levures de 1,5 jour en moyenne et ne nécessite pas de sous-culture.

- **Les limites de la spectrométrie de masse MALDI-TOF :**

- Les performances élevées de la spectrométrie de masse MALDI-TOF, en particulier pour les espèces cryptiques au sein des complexes d'espèces *Candida* et *Aspergillus*, ne peuvent être obtenues qu'avec les bases de données appropriées fournies par certains systèmes de spectrométrie de masse MALDI-TOF commercialisés ^[237].
- Chaque base de données est propriétaire et n'est pas en accès libre.
- La spectrométrie MALDI-TOF offre la possibilité d'identifier presque tous les genres et espèces microbiens avec une fiabilité, une rapidité et une rentabilité sans précédent ^[241]. Cependant, cela s'est produit rapidement pour les bactéries ^[242] mais pas aussi rapidement pour les champignons ^[229].
- Peu de champignons filamenteux sont inclus dans les bases de données commerciales actuelles, alors que les levures, en particulier *Candida spp.* sont bien représentées.
- L'un des défis est que les champignons filamenteux sont souvent assez variables dans leur modèle de croissance et donc les spectres de protéines peuvent varier avec le milieu, le temps de croissance et la température, par exemple.

- MALDI-TOF fonctionne moins bien lorsque le sang contient des espèces mixtes de *Candida* ou des cultures bactériennes/fongiques mixtes.
- Les difficultés liées à la complexité de la cellule fongique ont empêché l'optimisation précoce des procédures d'analyse des échantillons et, par conséquent, l'adoption à grande échelle de la spectrométrie de masse MALDI-TOF en mycologie médicale^[229].

• **L'application d'identification par spectrométrie de masse (MSI) :**

Les bases de données commerciales dédiées aux champignons ne permettent souvent pas une identification pertinente des moisissures car elles ne comprennent généralement que très peu d'espèces cryptiques^[243].

L'application d'identification par spectrométrie de masse (MSI) est une base de données en ligne indépendante et librement accessible

(<https://msi.happy-dev.fr>), dédiée à l'identification de divers agents pathogènes parasites et fongiques, à partir de leurs spectres de masse acquis par Bruker® MALDI-TOF Microflex^[244].

La base de données fongiques a été construite en collaboration avec le BCCM/IHEM (Belgian Coordinated Collections of Micro-organisms/Institute of Hygiene and Epidemiology Mycology) et est, à notre connaissance, la plus étendue pour les champignons filamenteux.

Il a récemment été démontré que cette application MSI était un outil puissant pour la détection et l'identification d'espèces cryptiques d'*Aspergillus*^[245].

7. Techniques d'imagerie :

Il existe actuellement plusieurs techniques d'imagerie moléculaire disponibles permettant une précocité de diagnostic extrêmement précieuse.

7.1. Scanner thoracique :

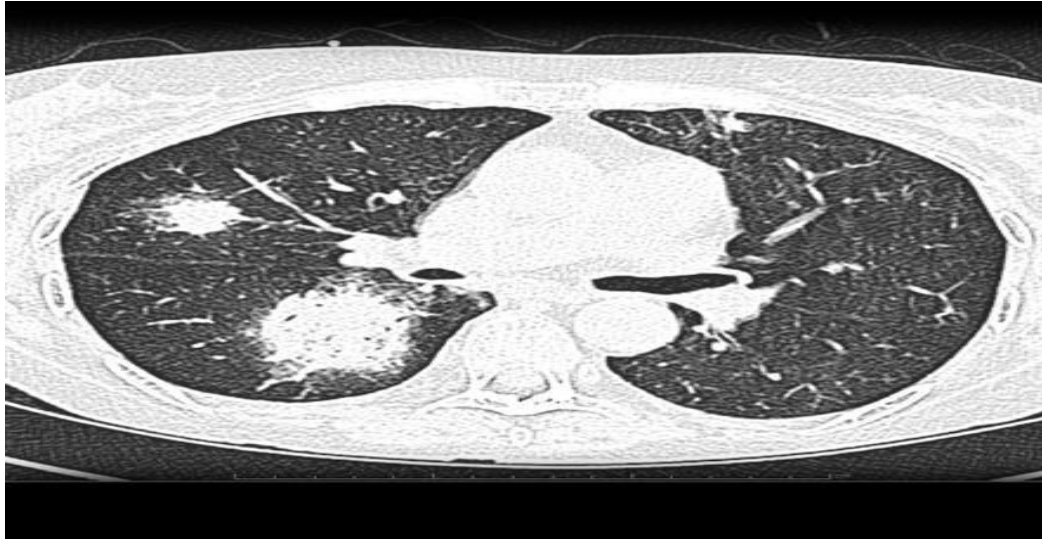


Figure 19 : Le signe du halo en imagerie thoracique typiquement observé dans l'aspergillose angioinvasive^[246].

En cas de suspicion d'IPA, le scanner thoracique s'est révélé très contributif et nécessite un œil exercé pour orienter efficacement le diagnostic lors de la constatation d'un halo péri-lésionnel en verre dépoli^[247].

Ce signe apparaît précoce et très évocateur pour le diagnostic, dans un contexte épidémiologique et clinique prédisposant, notamment en cas de leucémie aiguë avec une numération leucocytaire inférieure à 100/mm³ ^[248, 249].

Dans une fenêtre parenchymateuse, le signe du halo apparaît flou, comme une zone de densité progressivement diminuée.

Cette dernière reflète l'hémorragie et la réaction œdémateuse entourant le nœud aspergillaire nécrotique ^[250].

Outre le signe du halo, d'autres résultats radiologiques ont été rapportés avec des fréquences diverses, en particulier patients qui ne présentent pas de leucémie aiguë^[249]: macronodules (>1 cm) et micronodules (<1 cm) pulmonaires, zones d'inflammation alvéolaire, etc. consolidation avec ou sans infarctus, lésions cavitaires, épanchement pleural, etc.^[250].

Certaines, telles que les lésions nodulaires denses ou les cavités, sont maintenant inclus dans les critères EORTC actualisés^[156].

Néanmoins, même si les techniques d'imagerie sont devenues très efficaces, aucune image tomodensitométrique n'est sensible ou spécifique de l'IPA.

7.2. L'imagerie optique avec des biomarqueurs bioluminescents :

Ces dernières années, l'imagerie par bioluminescence (BLI) non invasive est devenue une technique puissante pour étudier l'établissement et la manifestation d'une infection par des agents pathogènes et a permis de mieux comprendre l'apparition et la dissémination des infections^[251, 252].

L'imagerie optique avec des biomarqueurs bioluminescents ou fluorescents est largement utilisée et présente une excellente sensibilité.

Son principal avantage est que la surveillance en temps réel de l'évolution temporelle et spatiale de l'infection peut être réalisée sur des animaux individuels simples, sans la nécessité de sacrifier les animaux, à un certain point dans le temps.

Afin d'adapter la technique BLI aux champignons filamenteux et confirmer que l'infection systémique peut être surveillée, une souche bioluminescente de *A. fumigatus* a été générée par intégration génomique du gène de la luciférase de luciole sous le contrôle du promoteur de la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase constitutivement active. Cette souche s'est avérée être un excellent outil pour suivre la manifestation de l'infection après l'application de conidies par voie intraveineuse ou intranasale, comme le montre le suivi en temps réel de la progression de la maladie dans des modèles d'infection murins^[253].

La détection de la bioluminescence a permis de visualiser non seulement les infections pulmonaires, mais aussi les infections sur des sites extrapulmonaires, tels que les sinus ou la trachée, ainsi que la cinétique de la progression de la maladie chez chaque animal.

L'étude actuelle sur *A.fumigatus* dans le cadre d'une aspergillose invasive montre que :

- La distribution des médicaments à différents sites d'infection est possible même si les médicaments sont administrés par voie intrapéritonéale ;
- En fonction de leur biodisponibilité, certains médicaments ne semblent pouvoir contrôler que des charges fongiques modérées dans des conditions in vivo ;
- La dose infectieuse utilisée dans les systèmes modèles peut fortement influencer les résultats.

Les données impliquent également que l'efficacité du traitement dépend du système de modèle expérimental appliqué. Différents organes sont ciblés en fonction de la voie d'infection, par exemple l'infection systémique, l'injection intracérébrale ou l'infection intranasale. L'imagerie par bioluminescence peut fournir une analyse plus détaillée de l'efficacité du médicament dans les différents organes cibles et devrait donc être prise en compte dans les futurs tests antifongiques.

Les inconvénients de cette méthode sont la longue préparation des échantillons et la sélection d'organes d'animaux moribonds ou sacrifiés à un moment prédéfini, ce qui ne fournit qu'un instantané du processus d'infection plutôt que de donner un aperçu de la progression de la maladie.

En résumé, l'imagerie par bioluminescence affine fortement les modèles animaux en fournissant des informations spatiales et temporelles détaillées sur la progression de la maladie à partir de divers sites corporels.

7.3. Technique d'imagerie in vivo guidée par des anticorps d'*Aspergillus fumigatus*.

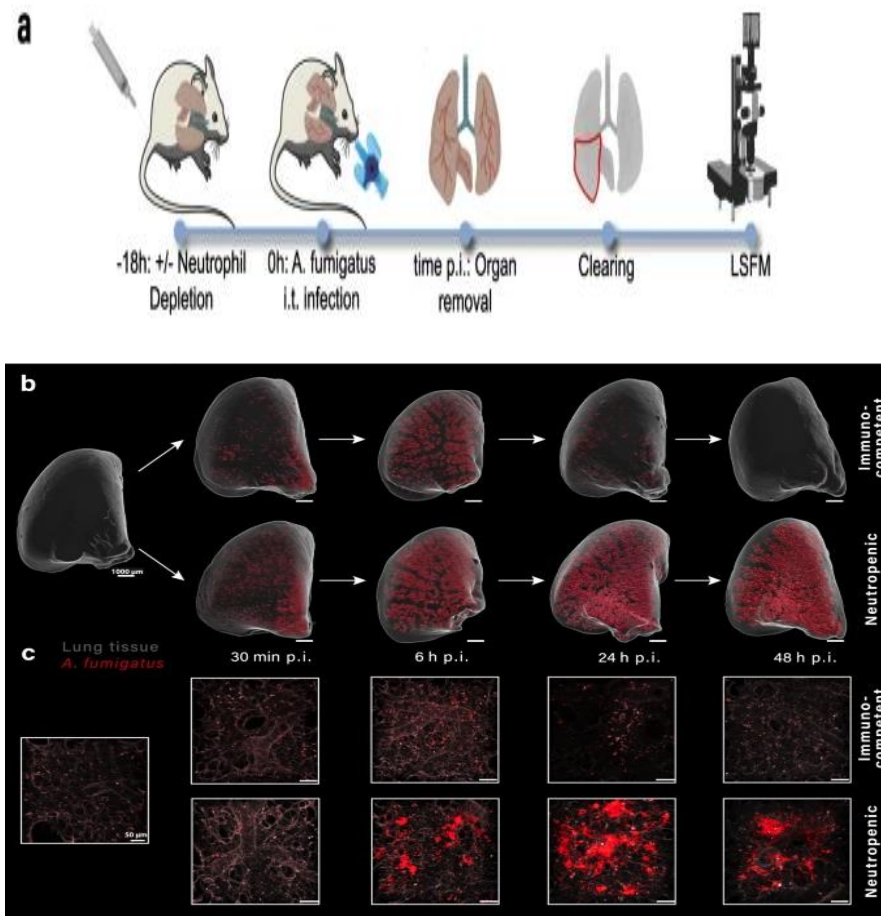


Figure 20 : Développement de l'aspergillose pulmonaire invasive dans des conditions saines et immunodéprimées^[254].

A : Schéma du déroulement de l'expérience : Les groupes neutropéniques ont été déplétés avec l'anticorps Gr-1 18 heures avant l'inoculation intratrachéale (i.t.) de conidies d'*Aspergillus fumigatus* Tomato. Les poumons ont ensuite été prélevés à différents moments après l'infection (p.i.), nettoyés et imagés à l'aide d'un microscope à fluorescence à feuille de lumière (LSFM).

B : Le tissu pulmonaire (gris) et la biomasse fongique (rouge) sont représentés aux points de temps 0, 0,5, 6, 24 et 48 heures pendant la progression de la maladie.

C : Images agrandies par microscopie à deux photons des mêmes poumons que dans b, avec le tissu pulmonaire (gris) et la biomasse fongique (rouge)

L'introduction récente d'un nouveau dispositif à flux latéral marqué-CE [255, 256] et d'un test ELISA marqué-CE[257], qui utilisent tous deux l'anticorps monoclonal JF5 pour détecter un biomarqueur de l'infection à *Aspergillus*, a amélioré la rapidité et la précision du diagnostic de l'IPA, en complément du test prédictif galactomannane-ELISA.

Malgré l'amélioration de la disponibilité des tests de biomarqueurs au cours des dernières années et les efforts considérables déployés par la communauté des chercheurs pour développer des tests urinaires non invasifs[255], le diagnostic de l'IPA peut être retardé de plusieurs jours.

Des tentatives ont été faites pour améliorer le diagnostic non invasif en utilisant la tomographie par ordinateur (CT)[246] ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM)[260] du thorax, mais les indicateurs radiologiques de l'infection ne sont pas pathognomoniques pour l'IPA.

Malgré cela, une anomalie radiologique lors d'une tomographie thoracique est utilisée dans de nombreux centres comme déclencheur pour initier un traitement antifongique chez un patient fébrile ne répondant pas aux antibiotiques[261].

Par conséquent, il est nécessaire d'améliorer le diagnostic de l'IPA pour permettre la détection non invasive de l'infection pulmonaire in vivo et le suivi de la réactivité de la maladie aux traitements antifongiques.

L'utilisation d'agents de contraste ciblés dans les procédures d'imagerie moléculaire telles que la tomographie par émission de positrons (TEP) ou la tomographie par émission monophotonique (TEMP) est très prometteuse pour répondre à ce besoin non satisfait[260].

Pour les mycoses invasives, des médicaments antifongiques radiomarqués^[264] ou des sidérophores fongiques ^[262] ont été tentés, avec un succès préclinique mitigé, mais leur transposition en clinique semble problématique en raison de leur manque de spécificité.

Cette limitation est surmontée par l'utilisation d'anticorps monoclonaux radiomarqués, dont la spécificité permet la détection ciblée d'agents pathogènes individuels lorsqu'ils sont appliqués à l'immunoPET.

Récemment, une étude s'est concentrée sur un anticorps monoclonal spécifique d'*Aspergillus*, le JF5, qui se lie à un antigène exprimé à la surface des hyphes en croissance active d'*A.fumigatus*^[254].

Alors que les premières études utilisant le JF5 murin radiomarqué au ⁶⁴Cu ont donné des résultats prometteurs pour l'imagerie in vivo de l'IPA dans un modèle murin de la maladie ^[267], d'autres améliorations de l'imagerie PET/MR guidée par le JF5 ont été obtenues grâce à son humanisation^[268], ce qui a permis de transposer cette technologie en milieu clinique.

Bien que des tentatives aient été faites pour utiliser des biomarqueurs circulants afin de surveiller la réactivité de l'IPA au traitement antifongique^[153], il est bien documenté que la sensibilité des tests de biomarqueurs diagnostiques de la maladie, tels que l'*Aspergillus* galactomannan (GM) ELISA et le dosage du β -D-glucan fongique, est nettement influencée par les azoles actifs sur les moisissures tels que le voriconazole (VCZ), à la fois dans des systèmes modèles et chez l'homme^[217, 269].

Afin de montrer que l'immunoPET/IRM peut être utilisée pour surveiller la progression de la maladie pendant le traitement avec un antifongique azole, une variante de hJF5 à double marquage portant à la fois un radionucléide et un fluorophore, le [⁶⁴Cu]CuNODAGA-hJF5-DyLight650 a été développée, nous permettant ainsi de co-localiser et de co-quantifier l'agent pathogène et le traceur

dans le poumon à la fois in vivo en utilisant l'immunoPET/IRM à large résolution, et ex vivo en utilisant la microscopie à fluorescence 3D à haute résolution^[254].

Les résultats de l'étude sont les suivants :

- Une distribution inégale de l'agent pathogène 30 minutes après l'administration de l'inoculum de spores chez les animaux immunodéprimés (neutropéniques) et immunocompétents.
- L'infestation des poumons des souris neutropéniques s'est produite vers 6 h p.i., et la prolifération de l'agent pathogène s'est poursuivie jusqu'à la fin de l'expérience.
- -En comparaison, les animaux sains recevant le même inoculum de spores ont montré une prolifération nettement réduite de l'agent pathogène pendant les 6 premières heures suivant l'infection, et un arrêt complet à 48 heures.
- La microscopie multiphotonique à haute résolution des mêmes échantillons a montré que l'épuisement des neutrophiles a permis une croissance hyphale substantielle à 24 heures, qui a encore augmenté à 48 heures.
- En revanche, la présence de neutrophiles a complètement bloqué le développement hyphale et a conduit à une récupération totale des tissus pulmonaires précédemment infectés, de sorte qu'à 48 heures, ils étaient morphologiquement indiscernables des poumons non infectés.
- Par conséquent, une réponse fonctionnelle des neutrophiles contrôle la propagation du champignon dans les premières heures de l'infection et supprime efficacement le développement des hyphes.

Pour traiter l'IPA avec succès, il est essentiel de découvrir l'infection pulmonaire le plus tôt possible au cours de la progression de la maladie, afin de permettre un traitement en temps voulu avec des médicaments actifs sur les moisissures.

Afin de comparer l'efficacité des traitements précoces et tardifs sur la progression de la maladie, des animaux ont été traités par VCZ à 3 et 24 heures après l'infection en utilisant l'immunoPET/ MR.

• ***Aucun traitement :***

Les poumons des animaux infectés par *A. fumigatus* présentaient une infiltration bronchique centrale massive, de multiples granulomes de grande taille contenant des hyphes et des spores, des cavitations, une nécrose et une destruction de l'épithélium respiratoire.

• ***Traitement tardif :***

Les poumons traités tardivement présentaient des lésions graves, avec de multiples et grands granulomes d'*Aspergillus* contenant de nombreux hyphes. Des spores d'*Aspergillus* ont été détectées dans tout le parenchyme respiratoire.

• ***Traitement précoce :***

Les poumons des souris présentaient de multiples petits infiltrats inflammatoires bronchio-centriques sans dommage significatif de l'épithélium respiratoire. Des granulomes d'*Aspergillus*, petits et peu nombreux, qui contenaient exclusivement des spores. Aucun hyphe n'a été détecté.

L'intervention précoce avec des médicaments antifongiques est critique pour la rémission complète de la maladie et est essentielle pour contrôler l'IPA.

V. Nouvelles tendances épidémiologiques dans le genre *Aspergillus* et conséquences sur la sensibilité aux antifongiques

L'émergence des infections fongiques opportunistes, à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité croissantes, a introduit des défis diagnostiques et thérapeutiques notables dans les soins de santé, entraînant une attention épidémiologique accrue sur les maladies fongiques^[270].

1. Nouvelles tendances épidémiologiques dans le genre *Aspergillus* :

La prévalence des isolats résistants aux azoles est très importante afin de guider les décisions cliniques et de santé publique.

Récemment, l'évolution de la taxonomie des *Aspergillus* rencontrée en mycologie médicale a permis de mieux comprendre la physiopathologie et les tendances épidémiologiques. En effet, la classification a été totalement révisée et de nouvelles espèces ont été décrites grâce aux outils de biologie moléculaire.

Le genre *Aspergillus* est composé de plusieurs centaines d'espèces, dont certaines sont considérées comme potentiellement pathogènes, provoquant des infections graves avec un taux de létalité très élevé.

Les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment isolées dans le contexte clinique sont *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* et *A. terreus*.

La section Fumigati, composée d'*A. fumigatus sensu stricto* et de ses espèces cryptiques, est la plus fréquemment isolée des échantillons cliniques et des sources environnementales.

Concernant tous les isolats de Fumigati récupérés entre 2012 et 2019, la fréquence des espèces cryptiques était de 5,3 % (18/337), avec l'identification d'*A. felis* (complexe), *A. lentulus*, *A. udagawae*, *A. hiratsukae* et *A. oerlinghauensis*^[271].

Une analyse phylogénétique basée sur le séquençage de séquences partielles des gènes β -tubuline et rodlet A a été utilisée pour classer les 28 souches en six clades différents (*Neosartorya hiratsukae*, *Neosartorya pseudofischeri*, *Aspergillus viridinutans*, *Aspergillus lentulus*, *Aspergillus fumigatiaffinis* et *Aspergillus fumisynnematus*).

Les différences moléculaires reflètent également une différence de sensibilité aux antifongiques : les espèces cryptiques sont en général moins sensibles.

La prévalence des isolats cliniques de la section Fumigati ayant une résistance aux azoles est en augmentation. Ceci est peut-être dû à différentes raisons telles que :

Le développement de la résistance par une prophylaxie ou un traitement antifongique prolongé.

L'inhalation de souches environnementales résistantes aux antifongiques.

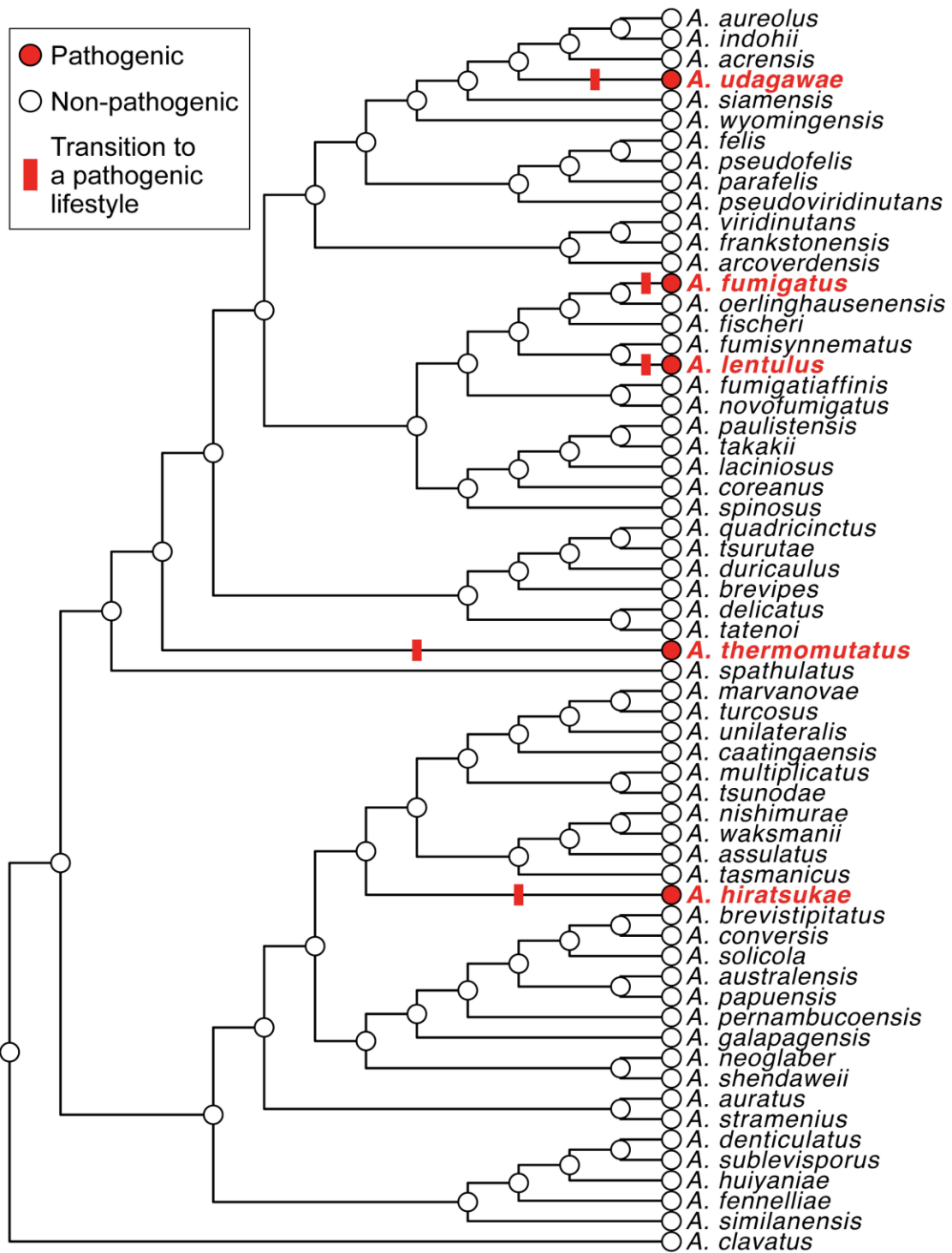


Figure 21 : Taxonomie d'*Aspergillus* section Fumigati^[272]

La reconstruction de la capacité à causer des maladies humaines sur la phylogénie de la section Fumigati d'*Aspergillus* suggère que la pathogénicité a évolué plusieurs fois indépendamment dans la lignée^[272].

2. Sensibilité de l'*Aspergillus* spp. aux antifongiques

Les infections fongiques invasives causées par *Aspergillus*, continuent d'augmenter en fréquence de façon alarmante. Elles sont associées à une résistance aux antifongiques, ce qui rend la prise en charge des patients atteints de telles infections particulièrement difficile ^[273, 274].

Le traitement primaire de l'aspergillose invasive comprend généralement un triazole, mais au cours de la dernière décennie, l'identification de souches d'*Aspergillus fumigatus* résistantes aux azoles a augmenté chez les personnes atteintes d'aspergillose pulmonaire chronique ou chez les personnes à risque d'infection et exposées à un environnement fortement exposé à des fongicides azolés agricoles^[275, 276].

Seul un nombre limité de résistances claires in vitro et in vivo ont été démontrées, en particulier pour :

- La résistance d'*A. terreus* à l'amphotéricine B ^[277].
- La résistance des *Aspergillus* à l'itraconazole, (confirmée dans un modèle animal) bien que la fréquence de cette résistance soit probablement faible^[278].
- Plus récemment de multiples isolats d'*A.fumigatus* résistants aux triazoles ont été décrits.
- Une étude clinique a démontré que *A. fumigatus* est hautement résistant au voriconazole.

- Une résistance croisée a été observée entre l'itraconazole et le posaconazole.
- Les patients traités par l'itraconazole ont également montré une résistance croisée au voriconazole et au posaconazole.

Chez *A.fumigatus*, la résistance aux azoles est due à une mutation des gènes qui entraîne une modification de la protéine cible.

Le phénotype de résistance est associé à des mutations clés du gène *cyp51A*, notamment TR34/L98H, TR53 et les mécanismes de résistance TR46/Y121F/T289A.

• **Causes de la résistance aux azolés :**

-L'acquisition de la résistance en raison d'une exposition prolongée aux antifongiques azoles, en particulier chez les patients souffrant d'IPA, d'aspergillome, d'aspergillose chronique nécrosante, ABPA, aspergillose trachéobronchique.

-L'acquisition d'une résistance aux azoles par l'environnement, en effet, des rapports ont confirmé que résistance pouvait se développer à la suite d'une exposition à des fongicides azolés utilisés à des fins agricoles.

En outre, la similitude de la structure des molécules entre les fongicides azolés et les médicaments antifongiques entraîne une résistance croisée d'*A.fumigatus* aux médicaments.

En résumé, la détection précoce de la résistance est d'une importance primordiale et, si elle est démontrée, soit par un test de sensibilité, soit par une analyse moléculaire, la monothérapie par azolé doit être évitée.

L'amphotéricine B liposomale ou une association de voriconazole et d'une échinocandine sont recommandées pour les aspergilloses résistantes aux azolés.



Cette revue a pour objectif, avant tout, de montrer la gravité et la mortalité élevées de l'aspergillose invasive et l'ampleur que cette maladie a pris au cours de ces dernières années.

Les différents outils de diagnostic actuellement disponibles notamment les méthodes directes (Examen direct, Culture) et les méthodes indirectes (PCR, l'Imagerie, la Bioluminescence, LFA, Puce à ADN et le Maldi-Tof) montrent plusieurs limites notamment :

- Pour le diagnostic direct : Le délai d'identification est assez long (3 à 7 jours) ne permettant pas un diagnostic précoce, et on note aussi un problème d'identification de l'espèce.
- Le test au BDG est non spécifique, il ne permet pas la différenciation des infections à levures et ceux des champignons filamenteux.
- Le test PCR possède une sensibilité et une spécificité variables selon le terrain sous-jacent empêchant sa standardisation.
- Le test LFA n'est toujours pas standardisé, du fait des différentes interprétations et la sensibilité réduite due à l'administration empirique des antifongiques.
- Malgré son importance dans le diagnostic de l'API, l'imagerie par scanner ne présente pas une sensibilité et une spécificité satisfaisantes.
- Quant au MALDI-TOF, les espèces fongiques ne sont pas toutes incluses dans les bases de données, compliquant ainsi leurs identifications.

De ce fait, ces méthodes nécessiteront plus d'efforts et de recherches afin de mieux comprendre cette pathologie et les mécanismes de résistance impliqués, tout en ciblant un taux élevé de survie chez les patients infectés.

Entretemps, les auteurs de plusieurs études recommandent d'utiliser les nouvelles méthodes de façon concomitante afin d'augmenter la sensibilité et la spécificité des résultats, permettant ainsi une prise en charge correcte, sans avoir recours aux antifongiques sans preuve avérée.

Cela limitera leurs effets indésirables graves et leurs interactions médicamenteuses qui pourront aggraver l'état des patients déjà immunodéprimés.



Résumé :

Titre : Outils de diagnostic de l'aspergillose pulmonaire invasive

Auteur : Mme ABDELALI Hiba

Encadrant : Pr LMIMOUNI Badre Eddine

Mots clés : *Aspergillus*, Aspergillose pulmonaire invasive, Galactomannane, LBA.

Parmi les différentes formes de l'aspergillose, l'aspergillose pulmonaire invasive reste l'entité la plus grave de ce spectre avec un taux de mortalité élevé malgré un traitement optimal. **(30 à 50 % dans la population mondiale pouvant atteindre les 90% chez les patients à risque).**

Survenant chez les patients souffrant d'une immunosuppression sévère et causée principalement par *Aspergillus fumigatus*, son incidence a augmenté de façon spectaculaire ces dernières années principalement en raison de l'utilisation accrue de thérapies immunosuppressives plus radicales.

Bien que des essais cliniques impliquant des antifongiques, des médicaments immunomodulateurs et des thérapies combinées soient en cours, les causes de cette mortalité élevée sont en grande partie dues à la difficulté de poser un diagnostic précis et fiable.

En effet, les procédures de diagnostic actuelles tels que le diagnostic mycologique (Examen direct, Culture) et le diagnostic indirect basé sur la biologie moléculaire PCR, la détection des antigènes fongiques (BDG et GM), les tests LFA et l'Imagerie présentent des insuffisances et des limites qui imposent leur utilisation de façon concomitante afin d'optimiser la prise en charge du patient.

Par conséquent, le diagnostic précoce de la maladie, essentiel à la survie des patients, reste un défi clinique majeur et conduit à l'utilisation empirique de médicaments antifongiques et à l'émergence d'une résistance aux azolés.

En résumé, le but étant de réduire la mortalité due à cette maladie dévastatrice, il est clair que des travaux supplémentaires doivent être réalisés afin de mieux identifier l'infection à *Aspergillus* chez les nouvelles populations à risque y compris les patients non immunodéprimés tels ceux atteints de bronchopneumopathie chronique obstructive, de la grippe sévère et le syndrome de détresse respiratoire aigu provoqué par le COVID-19.

SUMMARY:

Title: Diagnostic tools for invasive pulmonary aspergillosis

Author: Mme ABDELALI Hiba

Supervisor: Pr LMIMOUNI Badre Eddine

Key words: Aspergillus, Invasive pulmonary aspergillosis, Galactomannan, BAL.

Among the different forms of aspergillosis, invasive pulmonary aspergillosis remains the most serious entity of this spectrum with a high mortality rate despite optimal treatment. **(30 to 50% in the world population and up to 90% in patients at risk).**

Occurring in patients with severe immunosuppression and caused mainly by *Aspergillus fumigatus*, its incidence has increased dramatically in recent years mainly due to the increased use of more radical immunosuppressive therapies.

Although clinical trials involving antifungals, immunomodulatory drugs, and combination therapies are underway, the causes of this high mortality are largely due to the difficulty of making an accurate and reliable diagnosis.

Indeed, current diagnostic procedures such as mycological diagnosis (direct examination, culture) and indirect diagnosis based on molecular biology PCR, detection of fungal antigens (BDG and GM), LFA tests and Imaging have shortcomings and limitations that impose their use in a concomitant manner in order to optimize the patient's care.

Therefore, early diagnosis of the disease, essential for patient survival, remains a major clinical challenge and leads to the empirical use of antifungal drugs and the emergence of azole resistance.

In summary, with the goal of reducing mortality from this devastating disease, it is clear that further work needs to be done to better identify *Aspergillus* infection in new at-risk populations including non-immunocompromised patients such as those with chronic obstructive pulmonary disease, severe influenza, and COVID-19-induced acute respiratory distress syndrome.

ملخص:

العنوان: أدوات تشخيص داء الرشاشيات الرئوي الغازي

المؤلف: الأنسة عبد العالي هبة

المشرف: الأستاذ لميموني بدر الدين

الكلمات الأساسية: الرشاشيات(الاسبرجيليس)، داء الرشاشيات الرئوي الغازي، غسل القصبات والأسناخ، لثلكطومنان.

من بين الأشكال المختلفة لداء الرشاشيات، يظل داء الرشاشيات الرئوي الغازي هو الكيان الأكثر خطورة في هذا الطيف مع معدل وفيات مرتفع على الرغم من العلاج الأمثل. (نسبة الإصابة تتراوح ما بين 30 إلى 50٪ من سكان العالم ويمكن أن تصل إلى 90٪ من المرضى المعرضين للخطر).

هذا الداء يخص المرضى الذين يعانون من كبت المناعة الشديد ويعتبر رشاشية دخناء «فيميجاتيس أسبرجيليس» من أكثر الرشاشيات تسببا لهذا المرض، وقد زاد حالات تفشي هذا الداء بشكل كبير في السنوات الأخيرة بسبب زيادة استخدام علاجات مثبطة للمناعة أكثر شدة.

على الرغم من التجارب السريرية التي تشمل مضادات الفطريات، الأدوية المعدلة للمناعة والعلاجات المركبة الجارية، فإن أسباب هذه الوفيات المرتفعة ترجع إلى حد كبير إلى صعوبة إجراء تشخيص دقيق وموثوق.

في الواقع، فإن إجراءات التشخيص الحالية مثل التشخيص المباشر الفطري (الفحص المباشر، الزرع) والتشخيص الغير المباشر كالبولوجيا الجزيئية: تفاعل البوليمراز المتسلسل إختصاراً PCR، اكتشاف المستضدات الفطرية: لثلكطومنان وBDG، اختبارات LFA والتصوير التشخيص الطبي، تواجه قصور وقيود تفرض استخدامها بطريقة متزامنة من أجل تحسين رعاية المريض.

رغم كون التشخيص المبكر للمرض أمر ضروري لبقاء المريض على قيد الحياة، لا يزال يمثل تحديًا سريريًا كبيرًا وهذا يؤدي إلى الاستخدام التجريبي للأدوية المضادة للفطريات وظهور مقاومة الأرولات.

باختصار، من أجل تقليل الوفيات الذي يسببها هذا المرض المدمر، من الواضح أنه يجب القيام بعمل إضافي بهدف التعرف بشكل أفضل على عدوى الرشاشيات في المجموعات السكانية الجديدة المعرضة للخطر، بما في ذلك المرضى الذين لا يعانون من نقص المناعة مثل ذوي الانسداد الرئوي المزمن، مرض الإنفلونزا الحادة ومرض فيروس كورونا أو كوفيد-19.



- [1] REINWALD, M., SPIESS, B., HEINZ, W.J., et al., Aspergillus PCR-Based Investigation of Fresh Tissue and Effusion Samples in Patients with Suspected Invasive Aspergillosis Enhances Diagnostic Capabilities, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 12, pp. 4178–4185, Dec. 2013.
- [2] LORTHOLARY, O., GANGNEUX, J.-P., SITBON, K., et al., Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: the SAIF network (2005–2007), *Clinical Microbiology and Infection*, v. 17, n. 12, pp. 1882–1889, Dec. 2011.
- [3] BOCH, T., SPIESS, B., CORNELLY, O.A., et al., Diagnosis of invasive fungal infections in haematological patients by combined use of galactomannan, 1,3-β-D-glucan, Aspergillus PCR, multifungal DNA-microarray, and Aspergillus azole resistance PCRs in blood and bronchoalveolar lavage samples: results of a prospective multicentre study, *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Oct. 2016 v. 22, n. 10, pp. 862–868.
- [4] LORTHOLARY, O., GANGNEUX, J.-P., SITBON, K., et al., Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: the SAIF network (2005–2007), *Clinical Microbiology and Infection*, Dec. 2011, v. 17, n. 12, pp. 1882–1889.
- [5] GANGNEUX, J.-P., CAMUS, C., PHILIPPE, B., Epidemiology of invasive aspergillosis and risk factors in non neutropaenic patients, *Revue des Maladies Respiratoires*, Oct. 2010 v. 27, n. 8, pp. e34–e46,.
- [6] DIMOPOULOS, G., FRANTZESKAKI, F., POULAKOU, G., et al., Invasive aspergillosis in the intensive care unit, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2012, v. 1272, n. 1, pp. 31–39.
- [7] MEIS, J.F., CHOWDHARY, A., RHODES, J.L., et al., Clinical implications of globally emerging azole resistance in *Aspergillus fumigatus*, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, Dec. 2016, v. 371, n. 1709, p. 20150460.

- [8] WAUTERS, J., BAAR, I., MEERSSEMAN, P., et al., Invasive pulmonary aspergillosis is a frequent complication of critically ill H1N1 patients: a retrospective study, *Intensive Care Medicine*, **Nov. 2012** v. 38, n. 11, pp. 1761–1768.
- [9] TACCONE, F.S., VAN DEN ABEELE, A.-M., BULPA, P., et al., Epidemiology of invasive aspergillosis in critically ill patients: clinical presentation, underlying conditions, and outcomes, *Critical Care (London, England)*, **Jan. 2015** v. 19, p. 7.
- [10] LATGÉ, J.P., *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis, *Clinical Microbiology Reviews*, **Apr. 1999** v. 12, n. 2, pp. 310–350.
- [11] REINWALD, M., SPIESS, B., HEINZ, W.J., et al., *Aspergillus* PCR-Based Investigation of Fresh Tissue and Effusion Samples in Patients with Suspected Invasive Aspergillosis Enhances Diagnostic Capabilities, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 12, pp. 4178–4185, Dec. 2013.
- [12] “Cours,” <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/aspergillose/site/html/1.html#1>. Accessed in **October 2021**.
- [13] THEMES, U.F.O., “Pulmonary aspergillosis: diagnosis and treatment,” *Basicmedical Key*, **14-Dec-2017**.
- [14] “Aspergillose pulmonaire associée au COVID-19 causée par *Aspergillus fumigatus*,” *Ma Clinique : L’information médicale par des professionnels de la santé*, **11-Nov-2020** <https://ma-clinique.fr/aspergillose-pulmonaire-associee-au-covid-19-causee-par-aspergillus-fumigatus>. Accessed in **December 2021**.
- [15] MCCORMICK, A., LOEFFLER, J., EBEL, F., *Aspergillus fumigatus*: contours of an opportunistic human pathogen, *Cellular Microbiology*, **Nov. 2010** v. 12, n. 11, pp. 1535–1543.
- [16] “*Aspergillus fumigatus*,” INSPQ <https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/aspergillus-fumigatus>. Accessed in **October 2021**.

- [17] “Aspergillus fumigatus- An Overview - Mycology,” Microbe Notes, 26-Apr-2021 <https://microbenotes.com/aspergillus-fumigatus/>. Accessed in October 2021.
- [18] **BENJAMIN, M.V.**, MEMOIRE POUR LE DIPLOME D’ETUDES SPECIALISEES DE PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES COLLECTIVITES.
- [19] **BERNARD, M., LATGÉ, J.-P.**, Aspergillus fumigatus cell wall: composition and biosynthesis, *Medical Mycology*, **Jan. 2001** v. 39, n. 1, pp. 9–17.
- [20] **FONTAINE, T., SIMENEL, C., DUBREUCQ, G., et al.**, Molecular organization of the alkali-insoluble fraction of Aspergillus fumigatus cell wall, *The Journal of Biological Chemistry*, **Sep. 2000**, v. 275, n. 36, pp. 27594–27607.
- [21] **VAN DE VEERDONK, F.L., GRESNIGT, M.S., ROMANI, L., et al.**, Aspergillus fumigatus morphology and dynamic host interactions, *Nature Reviews. Microbiology*, **Nov. 2017** v. 15, n. 11, pp. 661–674.
- [22] **TSAI, H.F., WHEELER, M.H., CHANG, Y.C., et al.**, A developmentally regulated gene cluster involved in conidial pigment biosynthesis in Aspergillus fumigatus, *Journal of Bacteriology*, **Oct. 1999**, v. 181, n. 20, pp. 6469–6477.
- [23] **CARRION, S. de J., LEAL, S.M., GHANNOUM, M.A., et al.**, The RodA hydrophobin on Aspergillus fumigatus spores masks dectin-1- and dectin-2-dependent responses and enhances fungal survival in vivo, *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), **Sep. 2013**, v. 191, n. 5, pp. 2581–2588.
- [24] **AIMANIANDA, V., BAYRY, J., BOZZA, S., et al.**, Surface hydrophobin prevents immune recognition of airborne fungal spores, *Nature*, v. 460, n. 7259, pp. 1117–1121, Aug. 2009.
- [25] **GESSNER, M.A., WERNER, J.L., LILLY, L.M., et al.**, Dectin-1-dependent interleukin-22 contributes to early innate lung defense against *Aspergillus fumigatus*, *Infection and Immunity*, **Jan. 2012** v. 80, n. 1, pp. 410–417,.
- [26] **WERNER, J.L., METZ, A.E., HORN, D., et al.**, Requisite role for the dectin-1 beta-glucan receptor in pulmonary defense against Aspergillus fumigatus, *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), **Apr. 2009**, v. 182, n. 8, pp. 4938–4946.

- [27] FONTAINE, T., LATGÉ, J.-P., Galactomannan Produced by *Aspergillus fumigatus*: An Update on the Structure, Biosynthesis and Biological Functions of an Emblematic Fungal Biomarker, *Journal of Fungi*, **Nov. 2020**, v. 6, n. 4, p. 283.
- [28] LOURES, F.V., RÖHM, M., LEE, C.K., et al., Recognition of *Aspergillus fumigatus* hyphae by human plasmacytoid dendritic cells is mediated by dectin-2 and results in formation of extracellular traps, *PLoS pathogens*, **Feb. 2015** v. 11, n. 2, p. e1004643.
- [29] TAYLOR, P.R., ROY, S., LEAL, S.M., et al., Activation of neutrophils by autocrine IL-17A-IL-17RC interactions during fungal infection is regulated by IL-6, IL-23, ROR γ t and dectin-2, *Nature Immunology*, **Feb. 2014** v. 15, n. 2, pp. 143–151.
- [30] PARIS, S., WYSONG, D., DEBEAUPUIS, J.-P., et al., Catalases of *Aspergillus fumigatus*, *Infection and Immunity*, **Jun. 2003**, v. 71, n. 6, pp. 3551–3562,
- [31] ANAISSIE, E.J., COSTA, S.F., Nosocomial aspergillosis is waterborne, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, **Nov. 2001** v. 33, n. 9, pp. 1546–1548.
- [32] KLICH, M.A., Health effects of *Aspergillus* in food and air, *Toxicology and Industrial Health*, v. 25, n. 9–10, pp. 657–667, Nov. 2009.
- [33] VONBERG, R.-P., GASTMEIER, P., Nosocomial aspergillosis in outbreak settings, *The Journal of Hospital Infection*, v. 63, n. 3, pp. 246–254, **Jul. 2006**.
- [34] GROLL, A.H., SHAH, P.M., MENTZEL, C., et al., Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a University Hospital, *Journal of Infection*, v. 33, n. 1, pp. 23–32, **Jul. 1996**.
- [35] HORI, A., KAMI, M., KISHI, Y., et al., Clinical significance of extra-pulmonary involvement of invasive aspergillosis: a retrospective autopsy-based study of 107 patients, *The Journal of Hospital Infection*, **Mar. 2002** v. 50, n. 3, pp. 175–182.
- [36] ABAD, A., FERNÁNDEZ-MOLINA, J.V., BIKANDI, J., et al., What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved in invasive aspergillosis, *Revista Iberoamericana De Micología*, v. 27, n. 4, pp. 155–182, **Dec. 2010**.

- [37] SALES-CAMPOS, H., TONANI, L., CARDOSO, C.R.B., et al., The Immune Interplay between the Host and the Pathogen in *Aspergillus fumigatus* Lung Infection, *BioMed Research International*, **Jul. 2013** v. 2013, p. e693023.
- [38] AMITANI, R., TAYLOR, G., ELEZIS, E.N., et al., Purification and characterization of factors produced by *Aspergillus fumigatus* which affect human ciliated respiratory epithelium, *Infection and Immunity*, **Sep. 1995** v. 63, n. 9, pp. 3266–3271.
- [39] “*Aspergillus fumigatus* conidia induce interferon- β signalling in respiratory epithelial cells | European Respiratory Society,” <https://erj.ersjournals.com/content/39/2/411.short>.
- [40] TEKAIA, F., LATGÉ, J.-P., *Aspergillus fumigatus*: saprophyte or pathogen?, *Current Opinion in Microbiology*, **Aug. 2005** v. 8, n. 4, pp. 385–392.
- [41] SEGAL, B.H., Role of Macrophages in Host Defense Against Aspergillosis and Strategies for Immune Augmentation, *The Oncologist*, v. 12, n. S2, pp. 7–13, **2007**.
- [42] HEINEKAMP, T., THYWISSEN, A., MACHELEIDT, J., et al., *Aspergillus fumigatus* melanins: Interference with the host endocytosis pathway and impact on virulence, *Frontiers in microbiology*, v. 3, p. 440, **Jan. 2012**.
- [43] SUGUI, J.A., KWON-CHUNG, K.J., JUVVADI, P.R., et al., *Aspergillus fumigatus* and related species, *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, v. 5, n. 2, p. a019786, **2015**.
- [44] AKOUMIANAKI, T., KYRMIZI, I., VALSECCHI, I., et al., *Aspergillus* Cell Wall Melanin Blocks LC3-Associated Phagocytosis to Promote Pathogenicity, *Cell Host & Microbe*, v. 19, n. 1, pp. 79–90, **Jan. 2016**.
- [45] KYRMIZI, I., GRESNIGT, M.S., AKOUMIANAKI, T., et al., Corticosteroids Block Autophagy Protein Recruitment in *Aspergillus fumigatus* Phagosomes via Targeting Dectin-1/Syk Kinase Signaling, *The Journal of Immunology*, v. 191, n. 3, pp. 1287–1299, **Aug. 2013**.

- [46] **MARTINEZ, J., MALIREDDI, R.K.S., LU, Q., et al.**, Molecular characterization of LC3-associated phagocytosis reveals distinct roles for Rubicon, NOX2 and autophagy proteins, *Nature Cell Biology*, v. 17, n. 7, pp. 893–906, Jul. 2015.
- [47] “IL-1 receptor blockade restores autophagy and reduces inflammation in chronic granulomatous disease in mice and in humans - PubMed,” <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24550444/>.
- [48] **MCCORMICK, A., HEESEMANN, L., WAGENER, J., et al.**, NETs formed by human neutrophils inhibit growth of the pathogenic mold *Aspergillus fumigatus*, *Microbes and Infection*, v. 12, n. 12–13, pp. 928–936, **Nov. 2010**.
- [49] “Phagocytosis and intracellular fate of *Aspergillus fumigatus* conidia in alveolar macrophages - PubMed,” <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12540571/>.
- [50] “The role of dendritic cells in the innate recognition of pathogenic fungi (*A. fumigatus*, *C. neoformans* and *C. albicans*),” <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3545945/>.
- [51] **ROMANI, L.**, Immunity to fungal infections, *Nature Reviews. Immunology*, v. 11, n. 4, pp. 275–288, **Apr. 2011**.
- [52] “Role of pathogen-associated molecular patterns (PAMPS) in immune responses to fungal infections - ScienceDirect,” <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299916307063>.
- [53] **GARLANDA, C., HIRSCH, E., BOZZA, S., et al.**, Non-redundant role of the long pentraxin PTX3 in anti-fungal innate immune response, *Nature*, v. 420, n. 6912, pp. 182–186, **Nov. 2002**.
- [54] **CUNHA, C., AVERSA, F., LACERDA, J.F., et al.**, Genetic PTX3 Deficiency and Aspergillosis in Stem-Cell Transplantation, *New England Journal of Medicine*, v. 370, n. 5, pp. 421–432, **Jan. 2014**.

- [55] WÓJTOWICZ, A., LECOMPTE, T.D., BIBERT, S., et al., PTX3 Polymorphisms and Invasive Mold Infections After Solid Organ Transplant, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 61, n. 4, pp. 619–622, **Aug. 2015**.
- [56] D'ANGELO, C., LUCA, A.D., ZELANTE, T., et al., Exogenous Pentraxin 3 Restores Antifungal Resistance and Restrains Inflammation in Murine Chronic Granulomatous Disease, *The Journal of Immunology*, v. 183, n. 7, pp. 4609–4618, **Oct. 2009**.
- [57] GAZIANO, R., BOZZA, S., BELLOCCHIO, S., et al., Anti-Aspergillus fumigatus Efficacy of Pentraxin 3 Alone and in Combination with Antifungals, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 48, n. 11, pp. 4414–4421, **Nov. 2004**.
- [58] CHAI, L.Y.A., NETEA, M.G., SUGUI, J., et al., Aspergillus fumigatus conidial melanin modulates host cytokine response, *Immunobiology*, v. 215, n. 11, pp. 915–920, **Nov. 2010**.
- [59] LUTHER, K., TOROSANTUCCI, A., BRAKHAGE, A.A., et al., Phagocytosis of Aspergillus fumigatus conidia by murine macrophages involves recognition by the dectin-1 beta-glucan receptor and Toll-like receptor 2, *Cellular Microbiology*, v. 9, n. 2, pp. 368–381, **2007**.
- [60] “Melanin targets LC3-associated phagocytosis (LAP): A novel pathogenetic mechanism in fungal disease,” <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4854543/>.
- [61] Inflammatory Monocytes Facilitate Adaptive CD4 T Cell Responses during Respiratory Fungal Infection, *Cell Host & Microbe*, v. 6, n. 5, pp. 470–481, **Nov. 2009**.
- [62] PORTER, P.C., ROBERTS, L., FIELDS, A., et al., Necessary and Sufficient Role for T Helper Cells To Prevent Fungal Dissemination in Allergic Lung Disease, *Infection and Immunity*, v. 79, n. 11, pp. 4459–4471, **Nov. 2011**.
- [63] CENCI, E., PERITO, S., ENSSLE, K.H., et al., Th1 and Th2 cytokines in mice with invasive aspergillosis, *Infection and Immunity*, v. 65, n. 2, pp. 564–570, **Feb. 1997**.

- [64] **BECK, O., TOPP, M.S., KOEHL, U., et al.**, Generation of highly purified and functionally active human TH1 cells against *Aspergillus fumigatus*, *Blood*, v. 107, n. 6, pp. 2562–2569, **Mar. 2006**.
- [65] **PERRUCCIO, K., TOSTI, A., BURCHIELLI, E., et al.**, Transferring functional immune responses to pathogens after haploidentical hematopoietic transplantation, *Blood*, v. 106, n. 13, pp. 4397–4406, **Dec. 2005**.
- [66] **BADDLEY, J.W.**, Clinical risk factors for invasive aspergillosis, *Medical Mycology*, v. 49, n. Supplement_1, pp. S7–S12, **Apr. 2011**.
- [67] **GIRMENIA, C., BAROSI, G., AVERSA, F., et al.**, Prophylaxis and treatment of invasive fungal diseases in allogeneic stem cell transplantation: results of a consensus process by Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO), *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 49, n. 8, pp. 1226–1236, **Oct. 2009**.
- [68] **BARNES, P.D., MARR, K.A.**, Risks, diagnosis and outcomes of invasive fungal infections in haematopoietic stem cell transplant recipients, *British Journal of Haematology*, v. 139, n. 4, pp. 519–531, **Nov. 2007**.
- [69] **MARR, K.A., CARTER, R.A., BOECKH, M., et al.**, Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors, *Blood*, v. 100, n. 13, pp. 4358–4366, **Dec. 2002**.
- [70] **MARR, K.A., CARTER, R.A., CRIPPA, F., et al.**, Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 34, n. 7, pp. 909–917, **Apr. 2002**.
- [71] **MARTINO, R., SUBIRÁ, M., ROVIRA, M., et al.**, Invasive fungal infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: incidence and risk factors in 395 patients, *British Journal of Haematology*, v. 116, n. 2, pp. 475–482, **2002**.

- [72] MARTINO, R., PIÑANA, J.L., PARODY, R., et al., Lower respiratory tract respiratory virus infections increase the risk of invasive aspergillosis after a reduced-intensity allogeneic hematopoietic SCT, *Bone Marrow Transplantation*, v. 44, n. 11, pp. 749–756, **Dec. 2009**.
- [73] SILVEIRA, F.P., HUSAIN, S., Fungal infections in solid organ transplantation, *Medical Mycology*, v. 45, n. 4, pp. 305–320, **Jun. 2007**.
- [74] SINGH, N., HUSAIN, S., **AST INFECTIOUS DISEASES COMMUNITY OF PRACTICE**, Invasive aspergillosis in solid organ transplant recipients, *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, v. 9 Suppl 4, pp. S180-191, **Dec. 2009**.
- [75] SINGH, N., AVERY, R.K., MUNOZ, P., et al., Trends in risk profiles for and mortality associated with invasive aspergillosis among liver transplant recipients, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 36, n. 1, pp. 46–52, **Jan. 2003**.
- [76] BULPA, P., DIVE, A., SIBILLE, Y., Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease, *European Respiratory Journal*, v. 30, n. 4, pp. 782–800, **Oct. 2007**.
- [77] “Pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: incidence, risk factors, and outcome - ScienceDirect,” <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14617432>.
- [78] FILLER, S.G., YEAMAN, M.R., SHEPPARD, D.C., Tumor necrosis factor inhibition and invasive fungal infections, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 41 Suppl 3, pp. S208-212, **Aug. 2005**.
- [79] TSIODRAS, S., SAMONIS, G., BOUMPAS, D.T., et al., Fungal infections complicating tumor necrosis factor alpha blockade therapy, *Mayo Clinic Proceedings*, v. 83, n. 2, pp. 181–194, **Feb. 2008**.

- [80] **VAN DE VEERDONK, F.L., GRESNIGT, M.S., ROMANI, L., et al.**, *Aspergillus fumigatus* morphology and dynamic host interactions, *Nature Reviews. Microbiology*, v. 15, n. 11, pp. 661–674, **Nov. 2017**.
- [81] “Invasive Pulmonary Aspergillosis in Adults With Avian Influenza A (H7N9) Pneumonia in China: A Retrospective Study | The Journal of Infectious Diseases | Oxford Academic,” https://academic.oup.com/jid/article/221/Supplement_2/S193/5807685.
- [82] **III, G.R.T., CORNELLY, O.A., PAPPAS, P.G., et al.**, Invasive Aspergillosis as an Under-recognized Superinfection in COVID-19, *Open Forum Infectious Diseases*, v. 7, n. 7, **Jul. 2020**.
- [83] **DIMOPOULOS, G., ALMYROUDI, M.-P., MYRIANTHEFS, P., et al.**, COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis (CAPA), *Journal of Intensive Medicine*, **Aug. 2021**.
- [84] **CADENA, J., THOMPSON, G.R., PATTERSON, T.F.**, Aspergillosis: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment, *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 35, n. 2, pp. 415–434, **Jun. 2021**.
- [85] **PARK, S.J., MEHRAD, B.**, Innate immunity to *Aspergillus* species, **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n. 4, pp. 535–551, **Oct. 2009**.
- [86] **HOPE, W., WALSH, T., DENNING, D.**, Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis, *The Lancet Infectious Diseases*, v. 5, n. 10, pp. 609–622, **Oct. 2005**.
- [87] **A, C., SS, C., A, D., et al.**, Invasive aspergillosis in developing countries, **Medical mycology**, v. 49 Suppl 1, **Apr. 2011**.
- [88] “Pulmonary aspergillosis: a clinical review | European Respiratory Society,” <https://err.ersjournals.com/content/20/121/156>.
- [89] **THOMPSON, G.R., PATTERSON, T.F.**, Pulmonary aspergillosis, *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, v. 29, n. 2, pp. 103–110, **Apr. 2008**.

- [90] QUERESHI, S., PARALIKAR, P., PANDIT, R., et al., “Chapter 12 - Pulmonary aspergillosis: diagnosis and treatment,” In: Kon, K., and Rai, M. (eds), *The Microbiology of Respiratory System Infections*, v. 1, Academic Press, pp. 167–183, **2016**.
- [91] COLE, D.C., GOVENDER, N.P., CHAKRABARTI, A., et al., Improvement of fungal disease identification and management: combined health systems and public health approaches, *The Lancet Infectious Diseases*, v. 17, n. 12, pp. e412–e419, **Dec. 2017**.
- [92] BONGOMIN, F., GAGO, S., OLADELE, R.O., et al., Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision, *Journal of Fungi* (Basel, Switzerland), v. 3, n. 4, p. E57, **Oct. 2017**.
- [93] ENOCH, D.A., YANG, H., ALIYU, S.H., et al., The Changing Epidemiology of Invasive Fungal Infections, *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), v. 1508, pp. 17–65, **2017**.
- [94] CHOWDHARY, A., SHARMA, C., MEIS, J.F., Azole-Resistant Aspergillosis: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment, *The Journal of Infectious Diseases*, v. 216, n. suppl_3, pp. S436–S444, **Aug. 2017**.
- [95] SERIN, I., DOGU, M.H., Serum Aspergillus galactomannan lateral flow assay for the diagnosis of invasive aspergillosis: A single-centre study, *Mycoses*, v. 64, n. 6, pp. 678–683, **2021**.
- [96] ASCIOGLU, S., REX, J.H., DE PAUW, B., et al., Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 34, n. 1, pp. 7–14, **Jan. 2002**.
- [97] S Ascioğlu, J H Rex, B de Pauw, J E Bennett and al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 34, n. 1, pp. 7–14, **Jan. 2002**.

- [98] **DE PAUW, B., WALSH, T.J., DONNELLY, J.P., 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, *Clinical Infectious Diseases*, v. 46, n. 12, pp. 1813–1821, **Jun. 2008**.
- [99] **KONTOYIANNIS, D.P., MARR, K.A., PARK, B.J., et al.**, Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database, *Clinical Infectious Diseases*, v. 50, n. 8, pp. 1091–1100, **Apr. 2010**.
- [100] **NIVOIX, Y., VELTEN, M., LETSCHER-BRU, V., et al.**, Factors Associated with Overall and Attributable Mortality in Invasive Aspergillosis, *Clinical Infectious Diseases*, v. 47, n. 9, pp. 1176–1184, **Nov. 2008**.
- [101] **MEERSSEMAN, W., VANDECASTEELE, S.J., WILMER, A., et al.**, Invasive Aspergillosis in Critically Ill Patients without Malignancy, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, v. 170, n. 6, pp. 621–625, **Sep. 2004**.
- [102] **VANDEWOUDE, K.H., BLOT, S.I., DEPUYDT, P., et al.**, Clinical relevance of Aspergillus isolation from respiratory tract samples in critically ill patients, *Critical Care*, v. 10, n. 1, p. R31, Feb. 2006.
- [103] “Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid | A Tool for Diagnosing Aspergillosis in Intensive Care Unit Patients | American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine,” <https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.200704-606OC>.
- [104] **EIFF, M. von, ROOS, N., SCHULTEN, R., et al.**, Pulmonary Aspergillosis: Early Diagnosis Improves Survival, *Respiration*, v. 62, n. 6, pp. 341–347, **1995**.
- [105] **GIRMENIA, C., GUERRISI, P., FRUSTACI, A.M., et al.**, New category of probable invasive pulmonary aspergillosis in haematological patients, *Clinical Microbiology and Infection*, v. 18, n. 10, pp. 990–996, **2012**.

- [106] TSITSIKAS, D.A., MORIN, A., ARAF, S., et al., Impact of the revised (2008) EORTC/MSG definitions for invasive fungal disease on the rates of diagnosis of invasive aspergillosis, *Medical Mycology*, v. 50, n. 5, pp. 538–542, **Jul. 2012**.
- [107] NUCCI, M., NOUÉR, S.A., GRAZZIUTTI, M., et al., Probable Invasive Aspergillosis without Prespecified Radiologic Findings: Proposal for Inclusion of a New Category of Aspergillosis and Implications for Studying Novel Therapies, *Clinical Infectious Diseases*, v. 51, n. 11, pp. 1273–1280, **Dec. 2010**.
- [108] AIGNER, M., MUTSCHLECHNER, W., LASS-FLÖRL, C., [Diagnosis of Aspergillus infections in hematology and oncology], *Mycoses*, v. 55 Suppl 2, pp. 3–9, **Jul. 2012**.
- [109] MCCLENNY, N., Laboratory detection and identification of Aspergillus species by microscopic observation and culture: the traditional approach, *Medical Mycology*, v. 43, n. Supplement_1, pp. S125–S128, **Jan. 2005**.
- [110] LASS-FLÖRL, C., MAYR, A., PERKHOFER, S., et al., Activities of antifungal agents against yeasts and filamentous fungi: assessment according to the methodology of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 52, n. 10, pp. 3637–3641, **Oct. 2008**.
- [111] WU, P.-C., SU, H.-J.J., HO, H.-M., A Comparison of Sampling Media for Environmental Viable Fungi Collected in a Hospital Environment, *Environmental Research*, v. 82, n. 3, pp. 253–257, **Mar. 2000**.
- [112] VIEGAS, C., DIAS, M., CAROLINO, E., et al., Culture Media and Sampling Collection Method for Aspergillus spp. Assessment: Tackling the Gap between Recommendations and the Scientific Evidence, *Atmosphere*, v. 12, n. 1, p. 23, **Jan. 2021**.
- [113] BALAJEE, S.A., WEAVER, M., IMHOF, A., et al., Aspergillus fumigatus variant with decreased susceptibility to multiple antifungals, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 48, n. 4, pp. 1197–1203, **Apr. 2004**.

- [114] **DESOUBEAUX, G., CHANDENIER, J.**, Aspergillus and aspergillus diseases, *Feuillets de Biologie*, v. 51, pp. 53–63, **Mar. 2010**.
- [115] **SCHELL, W.A.**, Histopathology of fungal rhinosinusitis, *Otolaryngologic Clinics of North America*, v. 33, n. 2, pp. 251–276, **Apr. 2000**.
- [116] **NALESNIK, M.A., MYEROWITZ, R.L., JENKINS, R., et al.**, Significance of Aspergillus species isolated from respiratory secretions in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 11, n. 4, pp. 370–376, **Apr. 1980**.
- [117] **YU, V.L., MUDER, R.R., POORSATTAR, A.**, Significance of isolation of Aspergillus from the respiratory tract in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. Results from a three-year prospective study, *The American Journal of Medicine*, v. 81, n. 2, pp. 249–254, **Aug. 1986**.
- [118] **BOCH, T., SPIESS, B., CORNELLY, O.A., et al.**, Diagnosis of invasive fungal infections in haematological patients by combined use of galactomannan, 1,3- β -D-glucan, Aspergillus PCR, multifungal DNA-microarray, and Aspergillus azole resistance PCRs in blood and bronchoalveolar lavage samples: results of a prospective multicentre study, *Clinical Microbiology and Infection*, v. 22, n. 10, pp. 862–868, **Oct. 2016**.
- [119] **SALKIN, I.F., MCGINNIS, M.R., COOPER, C.R., et al.**, Current priorities for the clinical mycology laboratory, *Journal of Medical and Veterinary Mycology: Bi-Monthly Publication of the International Society for Human and Animal Mycology*, v. 32 Suppl 1, pp. 309–319, **1994**.
- [120] **STEINBACH, W.J., MITCHELL, T.G., SCHELL, W.A., et al.**, Status of medical mycology education, *Medical Mycology*, v. 41, n. 6, pp. 457–467, **Dec. 2003**.
- [121] **ROSNER, E.R., REISS, E., WARREN, N.G., et al.**, Evaluation of the status of laboratory practices and the need for continuing education in medical mycology, *American Journal of Clinical Pathology*, v. 118, n. 2, pp. 278–286, **Aug. 2002**.

- [122] MASCHMEYER, G., HAAS, A., CORNELLY, O.A., Invasive aspergillosis: epidemiology, diagnosis and management in immunocompromised patients, *Drugs*, v. 67, n. 11, pp. 1567–1601, **2007**.
- [123] DESOUBEAUX, G., CHANDENIER, J., Aspergillus and aspergillus diseases, *Feuillets de Biologie*, v. 51, pp. 53–63, **Mar. 2010**.
- [124] BARDALAYE, P.C., NORDIN, J.H., Chemical structure of the galactomannan from the cell wall of *Aspergillus niger*., *Journal of Biological Chemistry*, v. 252, n. 8, pp. 2584–2591, **Apr. 1977**.
- [125] KOVANDA, L.L., DESAI, A.V., HOPE, W.W., Prognostic value of galactomannan: current evidence for monitoring response to antifungal therapy in patients with invasive aspergillosis, *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, v. 44, n. 2, pp. 143–151, **Apr. 2017**.
- [126] HOENIGL, M., PRATTES, J., SPIESS, B., et al., Performance of Galactomannan, Beta-d-Glucan, Aspergillus Lateral-Flow Device, Conventional Culture, and PCR Tests with Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 52, n. 6, pp. 2039–2045, **Jun. 2014**.
- [127] TORTORANO, A.M., ESPOSTO, M.C., PRIGITANO, A., et al., Cross-Reactivity of *Fusarium* spp. in the Aspergillus Galactomannan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 50, n. 3, pp. 1051–1053, **Mar. 2012**.
- [128] KAUFFMANN-LACROIX, C., RODIER, M.-H., JACQUEMIN, J.-L., et al., Detection of Galactomannan for Diagnosis of Fungal Rhinosinusitis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, n. 12, pp. 4593–4594, **Dec. 2001**.
- [129] EIGL, S., HOENIGL, M., SPIESS, B., et al., Galactomannan testing and Aspergillus PCR in same-day bronchoalveolar lavage and blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis, *Medical Mycology*, v. 55, n. 5, pp. 528–534, **Jul. 2017**.
- [130] ARVANITIS, M., MYLONAKIS, E., Diagnosis of invasive aspergillosis: recent developments and ongoing challenges, *European Journal of Clinical Investigation*, v. 45, n. 6, pp. 646–652, **Jun. 2015**.

- [131] **WHITE, P.L., PARR, C., THORNTON, C., et al.**, Evaluation of Real-Time PCR, Galactomannan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), and a Novel Lateral-Flow Device for Diagnosis of Invasive Aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 5, pp. 1510–1516, **May 2013**.
- [132] “Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection - Wheat - 2003 - Transplant Infectious Disease - Wiley Online Library,” <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3062.2003.00031.x>.
- [133] **WHITE, P.L., JONES, T., WHITTLE, K., et al.**, Comparison of galactomannan enzyme immunoassay performance levels when testing serum and plasma samples, *Clinical and vaccine immunology: CVI*, v. 20, n. 4, pp. 636–638, **Apr. 2013**.
- [134] **MERCIER, T., CASTAGNOLA, E., MARR, K.A., et al.**, Defining Galactomannan Positivity in the Updated EORTC/MSGERC Consensus Definitions of Invasive Fungal Diseases, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 72, n. Suppl 2, pp. S89–S94, **Mar. 2021**.
- [135] **HERBRECHT, R., BORIES, P., MOULIN, J.-C., et al.**, Risk stratification for invasive aspergillosis in immunocompromised patients, *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1272, pp. 23–30, **Dec. 2012**.
- [136] **PFEIFFER, C.D., FINE, J.P., SAFDAR, N.**, Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 42, n. 10, pp. 1417–1427, **May 2006**.
- [137] **VERWEIJ, P.E., WEEMAES, C.M., CURFS, J.H., et al.**, Failure to detect circulating *Aspergillus* markers in a patient with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 10, pp. 3900–3901, **Oct. 2000**.
- [138] **BLUMENTAL, S., MOUY, R., MAHLAOUI, N., et al.**, Invasive mold infections in chronic granulomatous disease: a 25-year retrospective survey, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 53, n. 12, pp. e159-169, **Dec. 2011**.

- [139] ZOU, M., TANG, L., ZHAO, S., et al., Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis, *PloS One*, v. 7, n. 8, p. e43347, **2012**.
- [140] GUO, Y.-L., CHEN, Y.-Q., WANG, K., et al., Accuracy of BAL galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review, *Chest*, v. 138, n. 4, pp. 817–824, Oct. 2010.
- [141] HENG, S.C., MORRISSEY, O., CHEN, S.C.-A., et al., Utility of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan alone or in combination with PCR for the diagnosis of invasive aspergillosis in adult hematology patients: a systematic review and meta-analysis, *Critical Reviews in Microbiology*, v. 41, n. 1, pp. 124–134, **Feb. 2015**.
- [142] ZHOU, W., LI, H., ZHANG, Y., et al., Diagnostic Value of Galactomannan Antigen Test in Serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid Samples from Patients with Nonneutropenic Invasive Pulmonary Aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 55, n. 7, pp. 2153–2161, **Jul. 2017**.
- [143] ACOSTA, J., CATALAN, M., DEL PALACIO-PERÉZ-MEDEL, A., et al., A prospective comparison of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of pulmonary invasive aspergillosis in medical patients under intensive care: comparison with the diagnostic performance of galactomannan and of (1→3)-β-d-glucan chromogenic assay in serum samples, *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 17, n. 7, pp. 1053–1060, **Jul. 2011**.
- [144] VISCOLI, C., MACHETTI, M., GAZZOLA, P., et al., Aspergillus Galactomannan Antigen in the Cerebrospinal Fluid of Bone Marrow Transplant Recipients with Probable Cerebral Aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 4, pp. 1496–1499, Apr. 2002.
- [145] “Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients - PubMed,” <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26716951/>.

- [146] **MARR, K.A., LEISENRING, W.**, Design Issues in Studies Evaluating Diagnostic Tests for Aspergillosis, *Clinical Infectious Diseases*, v. 41, n. Supplement_6, pp. S381–S386, **Sep. 2005**.
- [147] **PENACK, O., REMPF, P., GRAF, B., et al.**, False-positive Aspergillus antigen testing due to application of piperacillin/tazobactam--is it still an issue?, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 60, n. 1, pp. 117–120, **Jan. 2008**.
- [148] **MAERTENS, J., THEUNISSEN, K., VERHOEF, G., et al.**, False-positive Aspergillus galactomannan antigen test results, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 39, n. 2, pp. 289–290, Jul. 2004.
- [149] **METAN, G., DURUSU, M., UZUN, O.**, False positivity for Aspergillus antigenemia with amoxicillin-clavulonic acid, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 43, n. 5, pp. 2548; author reply 2548-2549, **May 2005**.
- [150] **HAGE, C.A., REYNOLDS, J.M., DURKIN, M., et al.**, Plasmalyte as a cause of false-positive results for Aspergillus galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 45, n. 2, pp. 676–677, **Feb. 2007**.
- [151] “Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromized patients - Leeflang, MM - 2008 | Cochrane Library,” <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD007394/full>.
- [152] “Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay | SpringerLink,” <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-007-0437-7>.
- [153] **KOVANDA, L.L., DESAI, A.V., HOPE, W.W.**, Prognostic value of galactomannan: current evidence for monitoring response to antifungal therapy in patients with invasive aspergillosis, *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, v. 44, n. 2, pp. 143–151, **Apr. 2017**.
- [154] **MARTY, F.M., KOO, S.**, Role of (1→3)-β-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis, *Medical Mycology*, v. 47, n. Supplement_1, pp. S233–S240, **Jan. 2009**.

- [155] PAZOS, C., PONTÓN, J., PALACIO, A.D., Contribution of (1→3)-β-d-Glucan Chromogenic Assay to Diagnosis and Therapeutic Monitoring of Invasive Aspergillosis in Neutropenic Adult Patients: a Comparison with Serial Screening for Circulating Galactomannan, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 43, n. 1, pp. 299–305, **Jan. 2005**.
- [156] DE PAUW, B., WALSH, T.J., DONNELLY, J.P., 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, *Clinical Infectious Diseases*, v. 46, n. 12, pp. 1813–1821, **Jun. 2008**.
- [157] DELLINGER, R.P., LEVY, M.M., RHODES, A., et al., Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012, *Intensive Care Medicine*, v. 39, n. 2, pp. 165–228, **2013**.
- [158] OBAYASHI, T., YOSHIDA, M., MORI, T., et al., Plasma (1→3)-beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes, *Lancet* (London, England), v. 345, n. 8941, pp. 17–20, **Jan. 1995**.
- [159] BOCH, T., SPIESS, B., CORNELLY, O.A., et al., Diagnosis of invasive fungal infections in haematological patients by combined use of galactomannan, 1,3-β-D-glucan, Aspergillus PCR, multifungal DNA-microarray, and Aspergillus azole resistance PCRs in blood and bronchoalveolar lavage samples: results of a prospective multicentre study, *Clinical Microbiology and Infection*, v. 22, n. 10, pp. 862–868, Oct. 2016.
- [160] IKEMURA, K., IKEGAMI, K., SHIMAZU, T., et al., False-positive result in Limulus test caused by Limulus amoebocyte lysate-reactive material in immunoglobulin products, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 27, n. 9, pp. 1965–1968, **Sep. 1989**.
- [161] OGAWA, M., HORI, H., NIIGUCHI, S., et al., False-positive plasma (1→3)-beta-D-glucan test following immunoglobulin product replacement in an adult bone marrow recipient, *International Journal of Hematology*, v. 80, n. 1, pp. 97–98, **Jul. 2004**.

- [162] **KATO, A., TAKITA, T., FURUHASHI, M., et al.**, Elevation of blood (1-->3)-beta-D-glucan concentrations in hemodialysis patients, *Nephron*, v. 89, n. 1, pp. 15–19, **Sep. 2001**.
- [163] “Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1-->3)-beta-D-glucan level - PubMed,” <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11422767/>. Accessed in November 2021.
- [164] **MARTY, F.M., LOWRY, C.M., LEMPITSKI, S.J., et al.**, Reactivity of (1-->3)-beta-d-glucan assay with commonly used intravenous antimicrobials, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 50, n. 10, pp. 3450–3453, **Oct. 2006**.
- [165] **COSTA, C., COSTA, J.-M., DESTERKE, C., et al.**, Real-time PCR coupled with automated DNA extraction and detection of galactomannan antigen in serum by enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 6, pp. 2224–2227, **Jun. 2002**.
- [166] **JENKS, J.D., SALZER, H.J.F., HOENIGL, M.**, Improving the rates of Aspergillus detection: an update on current diagnostic strategies, *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, v. 17, n. 1, pp. 39–50, Jan. 2019.
- [167] **RAAD, I., HANNA, H., HUARINGA, A., et al.**, Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis using polymerase chain reaction-based detection of aspergillus in BAL, *Chest*, v. 121, n. 4, pp. 1171–1176, **Apr. 2002**.
- [168] **RAAD, I., HANNA, H., SUMOZA, D., et al.**, Polymerase chain reaction on blood for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in cancer patients, *Cancer*, v. 94, n. 4, pp. 1032–1036, **Feb. 2002**.
- [169] **HENDOLIN, P.H., PAULIN, L., KOUKILA-KÄHKÖLÄ, P., et al.**, Panfungal PCR and multiplex liquid hybridization for detection of fungi in tissue specimens, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 11, pp. 4186–4192, **Nov. 2000**.
- [170] **KAWAZU, M., KANDA, Y., GOYAMA, S., et al.**, Rapid diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis by quantitative polymerase chain reaction using bronchial lavage fluid, *American Journal of Hematology*, v. 72, n. 1, pp. 27–30, **Jan. 2003**.

- [171] SANGUINETTI, M., POSTERARO, B., PAGANO, L., et al., Comparison of real-time PCR, conventional PCR, and galactomannan antigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay using bronchoalveolar lavage fluid samples from hematology patients for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 8, pp. 3922–3925, **Aug. 2003**.
- [172] SPIESS, B., BUCHHEIDT, D., BAUST, C., et al., Development of a LightCycler PCR assay for detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* DNA in clinical samples from neutropenic patients, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 5, pp. 1811–1818, **May 2003**.
- [173] ULLMANN, A.J., AGUADO, J.M., ARIKAN-AKDAGLI, S., et al., Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline, *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 24 Suppl 1, pp. e1–e38, **May 2018**.
- [174] DONNELLY, J.P., CHEN, S.C., KAUFFMAN, C.A., et al., Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium, *Clinical Infectious Diseases*, v. 71, n. 6, pp. 1367–1376, **Sep. 2020**.
- [175] EGGER, M., JENKS, J.D., HOENIGL, M., et al., Blood *Aspergillus* PCR: The Good, the Bad, and the Ugly, *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, v. 6, n. 1, p. E18, Jan. 2020.
- [176] “Polymerase chain reaction blood tests for the diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised people - Cruciani, M - 2019 | Cochrane Library,” <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD009551.pub4/abstract>.
- [177] “Value of Serial Quantification of Fungal DNA by a Real-Time PCR-Based Technique for Early Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Patients with Febrile Neutropenia | *Journal of Clinical Microbiology*,” <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.01716-08>.

- [178] **MEIJE, Y., AGUADO, J.M., CUENCA-ESTRELLA, M.**, Silent and prolonged Aspergillus DNAemia in oncohematological patients receiving antifungal prophylaxis: a new phenomenon with clinical implications, *Bone Marrow Transplantation*, v. 46, n. 7, pp. 1016–1017, **Jul. 2011**.
- [179] “Serum Galactomannan Versus a Combination of Galactomannan and Polymerase Chain Reaction–Based Aspergillus DNA Detection for Early Therapy of Invasive Aspergillosis in High-Risk Hematological Patients: A Randomized Controlled Trial | Clinical Infectious Diseases | Oxford Academic,” <https://academic.oup.com/cid/article/60/3/405/312315?login=true>.
- [180] **ROGERS, T.R., MORTON, C.O., SPRINGER, J., et al.**, Combined real-time PCR and galactomannan surveillance improves diagnosis of invasive aspergillosis in high risk patients with haematological malignancies, *British Journal of Haematology*, v. 161, n. 4, pp. 517–524, **May 2013**.
- [181] **MORRISSEY, C.O., GILROY, N.M., MACESIC, N., et al.**, Consensus guidelines for the use of empiric and diagnostic-driven antifungal treatment strategies in haematological malignancy, 2014, *Internal Medicine Journal*, v. 44, n. 12b, pp. 1298–1314, **Dec. 2014**.
- [182] **MORRISSEY, C.O., CHEN, S.C.-A., SORRELL, T.C., et al.**, Galactomannan and PCR versus culture and histology for directing use of antifungal treatment for invasive aspergillosis in high-risk haematology patients: a randomised controlled trial, *The Lancet. Infectious Diseases*, v. 13, n. 6, pp. 519–528, **Jun. 2013**.
- [183] **MORTON, C.O., WHITE, P.L., BARNES, R.A., et al.**, Determining the analytical specificity of PCR-based assays for the diagnosis of IA: What is Aspergillus?, *Medical Mycology*, v. 55, n. 4, pp. 402–413, **Jun. 2017**.
- [184] **WHITE, P.L., POSSO, R.B., BARNES, R.A.**, Analytical and Clinical Evaluation of the PathoNostics AsperGenius Assay for Detection of Invasive Aspergillosis and Resistance to Azole Antifungal Drugs Directly from Plasma Samples, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 55, n. 8, pp. 2356–2366, **Aug. 2017**.

- [185] **CHOWDHARY, A., MEIS, J.F.**, Emergence of azole resistant *Aspergillus fumigatus* and One Health: time to implement environmental stewardship, *Environmental Microbiology*, v. 20, n. 4, pp. 1299–1301, **Apr. 2018**.
- [186] **VAN DER LINDEN, J.W.M., ARENDRUP, M.C., WARRIS, A., et al.**, Prospective Multicenter International Surveillance of Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus*, *Emerging Infectious Diseases*, v. 21, n. 6, pp. 1041–1044, **Jun. 2015**.
- [187] **VERMEULEN, E., LAGROU, K., VERWEIJ, P.E.**, Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a growing public health concern, *Current Opinion in Infectious Diseases*, v. 26, n. 6, pp. 493–500, **Dec. 2013**.
- [188] **RATH, P.-M., STEINMANN, J.**, Overview of Commercially Available PCR Assays for the Detection of *Aspergillus* spp. DNA in Patient Samples, *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 740, 2018.
- [189] **SPRINGER, J., WHITE, P.L., HAMILTON, S., et al.**, Comparison of Performance Characteristics of *Aspergillus* PCR in Testing a Range of Blood-Based Samples in Accordance with International Methodological Recommendations, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 54, n. 3, pp. 705–711, **Mar. 2016**.
- [190] “Comparison of Nonculture Blood-Based Tests for Diagnosing Invasive Aspergillosis in an Animal Model | Journal of Clinical Microbiology,” <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.03233-15>.
- [191] **SPRINGER, J., MORTON, C.O., PERRY, M., et al.**, Multicenter comparison of serum and whole-blood specimens for detection of *Aspergillus* DNA in high-risk hematological patients, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 5, pp. 1445–1450, **May 2013**.
- [192] “Clinical Performance of *Aspergillus* PCR for Testing Serum and Plasma: a Study by the European *Aspergillus* PCR Initiative | Journal of Clinical Microbiology,” <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.00905-15>.

- [193] HOENIGL, M., PÉREZ-SANTIAGO, J., NAKAZAWA, M., et al., (1→3)-β-d-Glucan: A Biomarker for Microbial Translocation in Individuals with Acute or Early HIV Infection?, *Frontiers in Immunology*, v. 7, p. 404, **2016**.
- [194] WHITE, P.L., BRETAGNE, S., KLINGSPOR, L., et al., Aspergillus PCR: one step closer to standardization, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 48, n. 4, pp. 1231–1240, **Apr. 2010**.
- [195] WHITE, P.L., WINGARD, J.R., BRETAGNE, S., et al., Aspergillus Polymerase Chain Reaction: Systematic Review of Evidence for Clinical Use in Comparison With Antigen Testing, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 61, n. 8, pp. 1293–1303, **Oct. 2015**.
- [196] JENKS, J.D., HOENIGL, M., Point-of-care diagnostics for invasive aspergillosis: nearing the finish line, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, v. 20, n. 10, pp. 1009–1017, **Oct. 2020**.
- [197] JENKS, J.D., MEHTA, S.R., TAPLITZ, R., et al., Bronchoalveolar lavage Aspergillus Galactomannan lateral flow assay versus Aspergillus-specific lateral flow device test for diagnosis of invasive pulmonary Aspergillosis in patients with hematological malignancies, *Journal of Infection*, v. 78, n. 3, pp. 249–259, **Mar. 2019**.
- [198] BOCH, T., REINWALD, M., SPIESS, B., et al., Detection of invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients by combined use of conventional culture, galactomannan, 1-3-beta-D-glucan and Aspergillus specific nested polymerase chain reaction in a prospective pilot study, *Journal of Critical Care*, v. 47, pp. 198–203, **Oct. 2018**.
- [199] GUINEA, J., PADILLA, C., ESCRIBANO, P., et al., Evaluation of MycAssay™ Aspergillus for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in patients without hematological cancer, *PLoS One*, v. 8, n. 4, p. e61545, **2013**.
- [200] BOCH, T., SPIESS, B., HEINZ, W., et al., Aspergillus specific nested PCR from the site of infection is superior to testing concurrent blood samples in immunocompromised patients with suspected invasive aspergillosis, *Mycoses*, v. 62, n. 11, pp. 1035–1042, **Nov. 2019**.

- [201] LUONG, M.-L., CLANCY, C.J., VADNERKAR, A., et al., Comparison of an Aspergillus real-time polymerase chain reaction assay with galactomannan testing of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in lung transplant recipients, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 52, n. 10, pp. 1218–1226, **May 2011**.
- [202] SCHAUWVLIEGHE, A.F.A.D., RIJNDERS, B.J.A., PHILIPS, N., et al., Invasive aspergillosis in patients admitted to the intensive care unit with severe influenza: a retrospective cohort study, *The Lancet Respiratory Medicine*, v. 6, n. 10, pp. 782–792, **Oct. 2018**.
- [203] BASSETTI, M., PEGHIN, M., VENA, A., Challenges and Solution of Invasive Aspergillosis in Non-neutropenic Patients: A Review, *Infectious Diseases and Therapy*, v. 7, n. 1, pp. 17–27, **Mar. 2018**.
- [204] CORNILLET, A., CAMUS, C., NIMUBONA, S., et al., Comparison of Epidemiological, Clinical, and Biological Features of Invasive Aspergillosis in Neutropenic and Nonneutropenic Patients: A 6-Year Survey, *Clinical Infectious Diseases*, v. 43, n. 5, pp. 577–584, **Sep. 2006**.
- [205] PAPPAS, P.G., ALEXANDER, B.D., ANDES, D.R., et al., Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET), *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 50, n. 8, pp. 1101–1111, **Apr. 2010**.
- [206] “Invasive aspergillosis in glucocorticoid-treated patients | Medical Mycology | Oxford Academic,”
https://academic.oup.com/mmy/article/47/Supplement_1/S271/1074610?login=true.
- [207] GUINEA, J., TORRES-NARBONA, M., GIJÓN, P., et al., Pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: incidence, risk factors, and outcome, *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 16, n. 7, pp. 870–877, **Jul. 2010**.

- [208] YAN, X., LI, M., JIANG, M., et al., Clinical characteristics of 45 patients with invasive pulmonary aspergillosis: retrospective analysis of 1711 lung cancer cases, *Cancer*, v. 115, n. 21, pp. 5018–5025, Nov. 2009.
- [209] GHEZ, D., CALLEJA, A., PROTIN, C., et al., Early-onset invasive aspergillosis and other fungal infections in patients treated with ibrutinib, *Blood*, v. 131, n. 17, pp. 1955–1959, **Apr. 2018**.
- [210] SHAHI, M., AYATOLLAHI MOUSAVI, S., NABILI, M., et al., Aspergillus colonization in patients with chronic obstructive pulmonary disease, *Current Medical Mycology*, v. 1, n. 3, pp. 45–51, **Sep. 2015**.
- [211] WARRIS, A., BERCUSSON, A., ARMSTRONG-JAMES, D., Aspergillus colonization and antifungal immunity in cystic fibrosis patients, *Medical Mycology*, v. 57, n. Supplement_2, pp. S118–S126, **Apr. 2019**.
- [212] MEERSSEMAN, W., VANDECASTEELE, S.J., WILMER, A., et al., Invasive Aspergillosis in Critically Ill Patients without Malignancy, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, v. 170, n. 6, pp. 621–625, **Sep. 2004**.
- [213] THORNTON, C.R., Development of an immunochromatographic lateral-flow device for rapid serodiagnosis of invasive aspergillosis, *Clinical and vaccine immunology: CVI*, v. 15, n. 7, pp. 1095–1105, **Jul. 2008**.
- [214] HELDT, S., HOENIGL, M., Lateral Flow Assays for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis: Current Status, *Current Fungal Infection Reports*, v. 11, n. 2, pp. 45–51, **2017**.
- [215] THORNTON, C., JOHNSON, G., AGRAWAL, S., Detection of invasive pulmonary aspergillosis in haematological malignancy patients by using lateral-flow technology, *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, n. 61, p. 3721, **Mar. 2012**.
- [216] PRATTES, J., HELDT, S., EIGL, S., et al., Point of Care Testing for the Diagnosis of Fungal Infections: Are We There Yet?, *Current Fungal Infection Reports*, v. 10, pp. 43–50, **2016**.

- [217] **WIEDERHOLD, N.P., NAJVAR, L.K., BOCANEGRA, R., et al.**, Interlaboratory and interstudy reproducibility of a novel lateral-flow device and influence of antifungal therapy on detection of invasive pulmonary aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 51, n. 2, pp. 459–465, **Feb. 2013**.
- [218] **JENKS, J.D., MICELI, M.H., PRATTES, J., et al.**, The Aspergillus Lateral Flow Assay for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis: an Update, *Current Fungal Infection Reports*, pp. 1–6, **Dec. 2020**.
- [219] **MERCIER, T., GULDENTOPS, E., LAGROU, K., et al.**, Prospective Evaluation of the Turbidimetric β -D-Glucan Assay and 2 Lateral Flow Assays on Serum in Invasive Aspergillosis, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 72, n. 9, pp. 1577–1584, **May 2021**.
- [220] **WHITE, P.L., PRICE, J.S., POSSO, R., et al.**, Evaluation of the Performance of the IMMY sona Aspergillus Galactomannan Lateral Flow Assay When Testing Serum To Aid in Diagnosis of Invasive Aspergillosis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 58, n. 6, pp. e00053-20, **May 2020**.
- [221] “IMMY -SonaLFACubeReader,” .
- [222] **REISCHIES, F.M.J., RAGGAM, R.B., PRATTES, J., et al.**, Urine Galactomannan-to-Creatinine Ratio for Detection of Invasive Aspergillosis in Patients with Hematological Malignancies, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 54, n. 3, pp. 771–774, **Mar. 2016**.
- [223] **DUFRESNE, S.F., DATTA, K., LI, X., et al.**, Detection of urinary excreted fungal galactomannan-like antigens for diagnosis of invasive aspergillosis, *PloS One*, v. 7, n. 8, p. e42736, **2012**.
- [224] **DUETTMANN, W., KOIDL, C., KRAUSE, R., et al.**, Specificity of mannan antigen and anti-mannan antibody screening in patients with haematological malignancies at risk for fungal infection, *Mycoses*, v. 59, n. 6, pp. 374–378, **Jun. 2016**.

- [225] FISHER, B.T., ZAOUTIS, T.E., PARK, J.R., et al., Galactomannan Antigen Testing for Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Pediatric Hematology Patients, *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, v. 1, n. 2, pp. 103–111, **Jun. 2012**.
- [226] RAGGAM, R.B., FISCHBACH, L.M.L., PRATTES, J., et al., Detection of (1→3)- β -D-glucan in same-day urine and serum samples obtained from patients with haematological malignancies, *Mycoses*, v. 58, n. 7, pp. 394–398, **Jul. 2015**.
- [227] PASQUIER, G., BOUNHIOL, A., ROBERT GANGNEUX, F., et al., A review of significance of Aspergillus detection in airways of ICU COVID-19 patients, *Mycoses*, v. 64, n. 9, pp. 980–988, **Sep. 2021**.
- [228] MERCIER, T., DUNBAR, A., DE KORT, E., et al., Lateral flow assays for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in adult hematology patients: A comparative multicenter study, *Medical Mycology*, v. 58, n. 4, pp. 444–452, **Jun. 2020**.
- [229] POSTERARO, B., DE CAROLIS, E., VELLA, A., et al., MALDI-TOF mass spectrometry in the clinical mycology laboratory: identification of fungi and beyond, *Expert Review of Proteomics*, v. 10, n. 2, pp. 151–164, **Apr. 2013**.
- [230] BILLE, E., DAUPHIN, B., LETO, J., et al., MALDI-TOF MS Andromas strategy for the routine identification of bacteria, mycobacteria, yeasts, Aspergillus spp. and positive blood cultures, *Clinical Microbiology and Infection*, v. 18, n. 11, pp. 1117–1125, **Nov. 2012**.
- [231] CHALUPOVÁ, J., RAUS, M., SEDLÁŘOVÁ, M., et al., Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry, *Biotechnology Advances*, v. 32, n. 1, pp. 230–241, **Feb. 2014**.
- [232] DE CAROLIS, E., POSTERARO, B., LASS-FLÖRL, C., et al., Species identification of Aspergillus, Fusarium and Mucorales with direct surface analysis by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, v. 18, n. 5, pp. 475–484, **May 2012**.

- [233] IRIART, X., LAVERGNE, R.-A., FILLAUX, J., et al., Routine identification of medical fungi by the new Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight system with a new time-effective strategy, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 50, n. 6, pp. 2107–2110, **Jun. 2012**.
- [234] NAKAMURA, S., SATO, H., TANAKA, R., et al., Ribosomal subunit protein typing using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for the identification and discrimination of *Aspergillus* species, *BMC Microbiology*, v. 17, n. 1, p. 100, **Apr. 2017**.
- [235] “Fungal culture,” *Aspergillus* and *Aspergillosis*.
- [236] SANGUINETTI, M., POSTERARO, B., Susceptibility Testing of Fungi to Antifungal Drugs, *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, v. 4, n. 3, p. E110, **Sep. 2018**.
- [237] FIORI, B., D’INZEO, T., GIAQUINTO, A., et al., Optimized Use of the MALDI BioTyper System and the FilmArray BCID Panel for Direct Identification of Microbial Pathogens from Positive Blood Cultures, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 54, n. 3, pp. 576–584, **Mar. 2016**.
- [238] POSTERARO, B., EFREMOV, L., LEONCINI, E., et al., Are the Conventional Commercial Yeast Identification Methods Still Helpful in the Era of New Clinical Microbiology Diagnostics? A Meta-Analysis of Their Accuracy, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 53, n. 8, pp. 2439–2450, **Aug. 2015**.
- [239] ARVANITIS, M., ANAGNOSTOU, T., FUCHS, B.B., et al., Molecular and nonmolecular diagnostic methods for invasive fungal infections, *Clinical Microbiology Reviews*, v. 27, n. 3, pp. 490–526, **Jul. 2014**.
- [240] SANGUINETTI, M., POSTERARO, B., Identification of Molds by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 55, n. 2, pp. 369–379, **Feb. 2017**.
- [241] Mass spectrometry applications in microbiology beyond microbe identification: progress and potential, *Expert Review of Proteomics*, v. 13, n. 10, pp. 965–977, **Oct. 2016**.

- [242] **SENG, P., DRANCOURT, M., GOURIET, F., et al.**, Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 49, n. 4, pp. 543–551, **Aug. 2009**.
- [243] “Decision criteria for MALDI-TOF MS-based identification of filamentous fungi using commercial and in-house reference databases | BMC Microbiology | Full Text,” <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-017-0937-2>.
- [244] **CHONG, G.-L.M., VAN DE SANDE, W.W.J., DINGEMANS, G.J.H., et al.**, Validation of a New Aspergillus Real-Time PCR Assay for Direct Detection of Aspergillus and Azole Resistance of Aspergillus fumigatus on Bronchoalveolar Lavage Fluid, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 53, n. 3, pp. 868–874, **Mar. 2015**.
- [245] **IMBERT, S., CASSAING, S., BONNAL, C., et al.**, Invasive aspergillosis due to Aspergillus cryptic species: A prospective multicentre study, *Mycoses*, v. 64, n. 11, pp. 1346–1353, **2021**.
- [246] **SEGAL, B.H.**, Aspergillosis, *The New England Journal of Medicine*, v. 360, n. 18, pp. 1870–1884, **Apr. 2009**.
- [247] **CAILLOT, D., COUAILLIER, J.F., BERNARD, A., et al.**, Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia, *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, v. 19, n. 1, pp. 253–259, **Jan. 2001**.
- [248] **CAILLOT, D., LATRABE, V., THIÉBAUT, A., et al.**, Computer tomography in pulmonary invasive aspergillosis in hematological patients with neutropenia: An useful tool for diagnosis and assessment of outcome in clinical trials, *European Journal of Radiology*, v. 74, n. 3, pp. e172–e175, **Jun. 2010**.

- [249] BERGERON, A., PORCHER, R., SULAHIAN, A., et al., The strategy for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis should depend on both the underlying condition and the leukocyte count of patients with hematologic malignancies, *Blood*, v. 119, n. 8, pp. 1831–1837, **Feb. 2012.**
- [250] GREENE, R.E., SCHLAMM, H.T., OESTMANN, J.-W., et al., Imaging Findings in Acute Invasive Pulmonary Aspergillosis: Clinical Significance of the Halo Sign, *Clinical Infectious Diseases*, v. 44, n. 3, pp. 373–379, **Feb. 2007.**
- [251] ANDREU, N., ZELMER, A., WILES, S., Noninvasive biophotonic imaging for studies of infectious disease, *FEMS microbiology reviews*, v. 35, n. 2, pp. 360–394, **Mar. 2011.**
- [252] BROCK, M., Application of bioluminescence imaging for in vivo monitoring of fungal infections, *International Journal of Microbiology*, v. 2012, p. 956794, **2012.**
- [253] GALIGER, C., BROCK, M., JOUVION, G., et al., Assessment of Efficacy of Antifungals against *Aspergillus fumigatus*: Value of Real-Time Bioluminescence Imaging, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 57, n. 7, pp. 3046–3059, **Jul. 2013.**
- [254] HENNEBERG, S., HASENBERG, A., MAURER, A., et al., Antibody-guided in vivo imaging of *Aspergillus fumigatus* lung infections during antifungal azole treatment, *Nature Communications*, v. 12, n. 1, p. 1707, **Mar. 2021.**
- [255] MERCIER, T., DUNBAR, A., DE KORT, E., et al., Lateral flow assays for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in adult hematology patients: A comparative multicenter study, *Medical Mycology*, v. 58, n. 4, pp. 444–452, **Jun. 2020.**
- [256] MERCIER, T., SCHAUWVLIEGHE, A., DE KORT, E., et al., Diagnosing Invasive Pulmonary Aspergillosis in Hematology Patients: a Retrospective Multicenter Evaluation of a Novel Lateral Flow Device, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 57, n. 4, pp. e01913-18, **Apr. 2019.**

- [257] DICHTL, K., SEYBOLD, U., ORMANN, S., et al., Evaluation of a Novel Aspergillus Antigen Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 57, n. 7, pp. e00136-19, **Jun. 2019**.
- [258] SKRIBA, A., PLUHACEK, T., PALYZOVA, A., et al., Early and Non-invasive Diagnosis of Aspergillosis Revealed by Infection Kinetics Monitored in a Rat Model, *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 2356, **Oct. 2018**.
- [259] MARR, K.A., DATTA, K., MEHTA, S., et al., Urine Antigen Detection as an Aid to Diagnose Invasive Aspergillosis, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 67, n. 11, pp. 1705–1711, **Nov. 2018**.
- [260] GARG, M.K., GUPTA, P., AGARWAL, R., et al., MRI: a new paradigm in imaging evaluation of allergic bronchopulmonary aspergillosis?, *Chest*, v. 147, n. 2, pp. e58–e59, **Feb. 2015**.
- [261] LOIZIDOU, A., AOUN, M., KLASTERSKY, J., Fever of unknown origin in cancer patients, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, v. 101, pp. 125–130, **May 2016**.
- [262] GORDON, O., RUIZ-BEDOYA, C.A., ORDONEZ, A.A., et al., Molecular Imaging: a Novel Tool To Visualize Pathogenesis of Infections In Situ, *mBio*, v. 10, n. 5, pp. e00317-19, **Oct. 2019**.
- [263] THORNTON, C.R., Molecular Imaging of Invasive Pulmonary Aspergillosis Using ImmunoPET/MRI: The Future Looks Bright, *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 691, **2018**.
- [264] LUPETTI, A., WELLING, M.M., MAZZI, U., et al., Technetium-99m labelled fluconazole and antimicrobial peptides for imaging of *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* infections, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, v. 29, n. 5, pp. 674–679, **May 2002**.
- [265] PETRIK, M., HAAS, H., DOBROZEMSKY, G., et al., ⁶⁸Ga-Siderophores for PET Imaging of Invasive Pulmonary Aspergillosis: Proof of Principle, *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, v. 51, n. 4, pp. 639–645, **Apr. 2010**.

- [266] PETRIK, M., ZHAI, C., NOVY, Z., et al., In Vitro and In Vivo Comparison of Selected Ga-68 and Zr-89 Labelled Siderophores, *Molecular Imaging and Biology*, v. 18, pp. 344–352, **2016**.
- [267] ROLLE, A.-M., HASENBERG, M., THORNTON, C.R., et al., ImmunoPET/MR imaging allows specific detection of *Aspergillus fumigatus* lung infection in vivo, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 113, n. 8, pp. E1026–E1033, **Feb. 2016**.
- [268] DAVIES, G., ROLLE, A.-M., MAURER, A., et al., Towards Translational ImmunoPET/MR Imaging of Invasive Pulmonary Aspergillosis: The Humanised Monoclonal Antibody JF5 Detects *Aspergillus* Lung Infections In Vivo, *Theranostics*, v. 7, n. 14, pp. 3398–3414, **2017**.
- [269] MARR, K.A., LAVERDIERE, M., GUGEL, A., et al., Antifungal therapy decreases sensitivity of the *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 40, n. 12, pp. 1762–1769, **Jun. 2005**.
- [270] PFALLER, M.A., PAPPAS, P.G., WINGARD, J.R., Invasive Fungal Pathogens: Current Epidemiological Trends, *Clinical Infectious Diseases*, v. 43, n. Supplement_1, pp. S3–S14, **Aug. 2006**.
- [271] SABINO, R., GONÇALVES, P., MARTINS MELO, A., et al., Trends on *Aspergillus* Epidemiology-Perspectives from a National Reference Laboratory Surveillance Program, *Journal of Fungi (Basel, Switzerland)*, v. 7, n. 1, p. 28, **Jan. 2021**.
- [272] ROKAS, A., MEAD, M.E., STEENWYK, J.L., et al., Evolving moldy murderers: *Aspergillus section Fumigati* as a model for studying the repeated evolution of fungal pathogenicity, *PLOS Pathogens*, v. 16, n. 2, p. e1008315, **Feb. 2020**.
- [273] FISHER, M.C., HAWKINS, N.J., SANGLARD, D., et al., Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security, *Science (New York, N.Y.)*, v. 360, n. 6390, pp. 739–742, **May 2018**.

- [274] CHOWDHARY, A., SHARMA, C., MEIS, J.F., Azole-Resistant Aspergillosis: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment, *The Journal of Infectious Diseases*, v. 216, n. suppl_3, pp. S436–S444, **Aug. 2017**.
- [275] VERWEIJ, P.E., SNELDERS, E., KEMA, G.H.J., et al., Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use?, *The Lancet. Infectious Diseases*, v. 9, n. 12, pp. 789–795, **Dec. 2009**.
- [276] VAN DER LINDEN, J.W.M., CAMPS, S.M.T., KAMPINGA, G.A., et al., Aspergillosis due to voriconazole highly resistant *Aspergillus fumigatus* and recovery of genetically related resistant isolates from domiciles, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 57, n. 4, pp. 513–520, **Aug. 2013**.
- [277] STEINBACH, W.J., BENJAMIN, D.K., KONTOYIANNIS, D.P., et al., Infections due to *Aspergillus terreus*: a multicenter retrospective analysis of 83 cases, *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, v. 39, n. 2, pp. 192–198, **Jul. 2004**.
- [278] DENNING, D.W., VENKATESWARLU, K., OAKLEY, K.L., et al., Itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 41, n. 6, pp. 1364–1368, **Jun. 1997**.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.
- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.
- D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si
- je manquais à mes engagements.



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي

- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالالتزاماتي.



المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



جامعة محمد الخامس بالرباط
Université Mohammed V de Rabat

أطروحة رقم: 16

سنة : 2022

أدوات تشخيص داء الرشاشيات الرئوي الغازي

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : / / 2022

من طرف

السيدة هبة عبد العالي
المزداة في 30 مارس 1998

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية : الرشاشيات (الاسبرجيليس)؛ داء الرشاشيات الرئوي الغازي؛
غسل القصبات والأسناخ؛ كلكتومانان

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس

السيد يونس رحالي

مشرف

أستاذ في الصيدلة الغالينية

عضوة

السيد بدر الدين لميموني

عضو

أستاذ في علم الطفيليات

السيدة مريم إيكن

أستاذة في علم الطفيليات

السيد يوسف سكاش

أستاذ في الطب الباطني