

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD  
FACULTE DE MEDECINE  
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEN



وزارة التعليم العالي  
والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد  
كلية الطب  
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE MEDECINE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR  
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN MEDECINE

THÈME :

***PROPHYLAXIE DES INFECTIONS  
FONGIQUES CHEZ LES LAM EN PHASE  
D'INDUCTION***

***Présenté par :***

***GUERBOUZ Faiza  
MEBARKI Zineb  
AGUIAR Rabiaa  
ATTALLAH Soumia***

***Encadré par :***

***DR. BELHADEF.H***

Année universitaire :2018/2019.



---

# Remerciement

*A mon Dieu, le tout puissant qui nous a donné la force, le courage et la Possibilité de réaliser ce travail et la chance d'arriver à ce stade d'étude.*

## *A nos enseignants*

*, Depuis ceux qui nous ont appris à écrire notre nom en signe de vive  
Gratitude et reconnaissance.*

*A notre Professeur Mesli Naïma, chef service d'Hématologie CHU Tlemcen*

*A notre Encadreur docteur Belhadef, assistante en service d'Hématologie  
CHU Tlemcen*

*Nous vous remercions Pour avoir accepté de diriger ce travail, pour vos précieux conseils et orientations et pour tous les encouragements que nous avons reçus de votre part.*

*A tout le personnel du service d'hématologie clinique du CHU Tlemcen*

*Pour l'aide qu'on nous a apporté pour la réalisation de cette étude.*

*A tous les étudiants de médecine de la promotion 2012.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce  
Projet de fin d'études. Merci.*



---

## Résumé

Les infections fongiques sont des complications fréquentes chez les patients d'hématologie et en particulier les LAM ayant reçu des cures des chimiothérapies d'induction car l'utilisation de traitement cytotoxique augmente le risque de neutropénie.

L'objectif de ce travail était d'étudier la prévalence de ces infections chez ce type de patients en fonction de (l'âge ; sexe, la classification FAB, les modalités thérapeutiques, le traitement prophylactique donné) et donc créer un référentiel local de traitement antifongique prophylactique adapté à l'écologie de service d'hématologie de CHU TLEMCEM.

De manière rétrospective sur une durée de 5 ans allant de janvier 2014 au décembre 2018, 90 patients de LAM ont été recensés.

Dans cette cohorte de 90 patients, 39(43,3%) patients ont développés des infections fongiques en phase d'induction dont 23.3% sont atteints de LAM type 4 et 71.8% étaient sous schéma 3+7.

Les infections fongiques ont été présentes chez 53,6% des hommes versus 46,4%.

64 patients sous fluconazole dont 36(56.3%) sont atteints et 26 patients sous noxafil dont 3 ont présenté une infection fongique. 9(23.1%) patients ont développé un choc septique et décéder par la suite.

Le diagnostic précoce et l'instauration d'une stratégie thérapeutique prophylactique antifongique permettant de limiter la survenue de ces complications infectieuses, et la chimio prophylaxie par le posaconazole diminue de façon considérable l'incidence des IFI avec en plus une mortalité attribuable moindre.

<b>Avant-propos</b> .....	<b>1</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>4</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>10</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>11</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>13</b>
<b>Partie théorique</b> .....	<b>14</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>15</b>
<b>1. Chapitre 1 : les leucémies aiguës myéloïdes</b> .....	<b>16</b>
1.1 Définition.....	17
1.2 Epidémiologie.....	17
1.3 Hématopoïèse et myélopoïèse normale.....	18
1.4 Physiopathologie.....	22
1.5 Facteurs étiologiques.....	23
1.5.1. Leucémie aigue de novo.....	23
1.5.2 Leucémie secondaires.....	24
1.6 Diagnostic des leucémies aiguës myéloïdes.....	25
1.6.1 Aspects cliniques.....	25
1.6.2 Biologie.....	26
1.6.2.1 Hémogramme.....	26
1.6.2.2 Myélogramme.....	29

---

## Table des matières

1.6.2.3 Cytochimie.....	33
1.6.2.4 Cytométrie en flux.....	36
1.6.2.5 Cytogénétique moléculaire.....	47
1.7 Classification des leucémies aiguës myéloïdes.....	48
1.7.1 Classification FAB.....	49
1.7.2 Classification OMS.....	53
1.8 Diagnostic différentiel.....	58
1.9 Complications.....	59
1.10 Traitement.....	60
<b>2. Chapitre 2 : les infections fongiques.....</b>	<b>62</b>
<b>2.1 Aspergillose.....</b>	<b>63</b>
2.1.1 Définition.....	63
2.1.2 Agent pathogène.....	63
2.1.3 Facteurs favorisants.....	67
2.1.4 Mode de contamination.....	68
2.1.5 Physiopathologie.....	69
2.1.6 Stratégie diagnostic.....	71
2.1.6.1 Aspergillome.....	72
2.1.6.2 Les aspergilloses immuno-allergiques.....	75
2.1.6.2.1 Aspergillose broncho pulmonaire allergique.....	76
2.1.6.2.2 Asthme Aspergillaires.....	76

---

## Table des matières

2.1.6.2.3 L'alvéolite allergique extrinsèque.....	77
2.1.6.3 Aspergillose pulmonaire invasive.....	78.
2.1.6.3.1 Diagnostic clinique.....	78
2.1.6.3.2 Diagnostic radiologique.....	79
2.1.6.3.3 Diagnostic biologique.....	81
2.1.6.3.3.1 Les prélèvements.....	81
2.1.6.3.3.2 Examen mycologique.....	82
2.1.6.3.3.2.1 Examen direct.....	82
2.1.6.3.3.2.2 Culture.....	83
2.1.6.3.3.3 Examen histologique.....	84
2.1.6.3.3.4 Biologie moléculaire.....	85
2.1.6.3.3.5 Diagnostic immunologique.....	86
2.1.6.3.3.5.1 Détection des anticorps.....	87
2.1.6.3.3.5.2 Détections des antigènes.....	88
2.1.6.3.3.5.2.1 Les galactomannanes.....	88
2.1.6.3.3.5.2.2 L (1-3) b-d glucanes.....	89
2.1.6.3.4 Classification des infections fongiques invasives.....	90
<b>2.2 Candidose.....</b>	<b>93</b>
2.2.1 Définition –généralités.....	93
2.2.2 Les agents pathogènes.....	93
2.2.3 Facteurs favorisants.....	94
2.2.4 Physiopathologie.....	95

---

## Tables des matières

2.2.5 Clinique.....	96
2.2.5.1 Candidoses superficielles.....	96
2.2.5.1.1 Candidoses des muqueuses.....	96
2.2.5.1.1.1 Oropharyngée.....	96
2.2.5.1.1.2 Digestive .....	99
2.2.5.1.1.3 Génitale.....	99
2.2.5.1.2 Candidoses cutanés et unguéales.....	100
2.2.5.1.2.1 Intertrigo.....	100
2.2.5.1.2.2 Onyxis et périonyxis.....	102
2.2.5.1.2.3 Granulome candidosique.....	102
2.2.5.2 Candidoses profonde.....	103
2.2.5.2.1 Systémique.....	103
2.2.5.2.2 Hépto splénique.....	104
2.2.6 Diagnostic biologique.....	104
2.2.6.1 Candidose superficielle.....	105
2.2.6.1.1 Les prélèvements.....	105
2.2.6.1.2. Examen direct.....	105
2.2.6.1.3 Culture.....	106
2.2.6.2 Candidose systémique.....	108
2.2.6.2.1 Hémocultures.....	108
2.2.6.2.2 Prélèvements périphériques.....	108



---

## *Table des matières*

2.2.6.2.3 Recherche d'antigènes circulants.....	108
2.2.6.2.4 Examen indirect.....	108
2.2.6.2.5 Examen anatomopathologique.....	109
2.2.6.2.6 Antifongigramme.....	109
2.2.7 Traitement et prévention.....	109
2.2.7.1 Candidoses superficielles.....	109
2.2.7.2 Candidoses systémiques.....	
<b>3. Chapitre 3 : prophylaxie des infections fongiques.....</b>	<b>113</b>
<b>3.1. Les mesures d'hygiènes hospitalières.....</b>	<b>114</b>
3.1.1 Lavage et désinfection des mains.....	115
3.1.2 Tenu du personnel.....	116
3.1.3 Environnement protégé.....	117
3.1.4 Matériels et alimentations.....	119
3.1.5 Isolement septique.....	120
3.1.6 Le malade.....	120
3.1.7 Le personnel.....	120
3.1.7 Les visiteurs.....	121
3.1.8 Surveillance épidémiologique.....	121
<b>3.2 Chimio prophylaxie antifongique.....</b>	<b>121</b>
3.2.1 Prophylaxie primaire.....	121
3.2.1.1 Les polyènes.....	122
3.2.1.1.1 Amphotéricine B.....	122

---

## Table des matières

3.2.1.1.2 Nystatine.....	125
3.2.1.2 Les dérivés azolés.....	126
3.2.1.2.1 Fluconazole.....	126
3.2.1.2.2 Voriconazole.....	127
3.2.1.2.3 Posaconazole.....	128
3.2.1.3 Les échinocandines.....	129
3.2.1.3.1 Caspofungine.....	130
3.2.1.3.2 Micafungine.....	131
3.2.2 Prophylaxie primaire locale par inhalation.....	132
3.2.3 Prophylaxie secondaire.....	132
<b>Partie pratique.....</b>	<b>134</b>
<b>1. les objectifs.....</b>	<b>135</b>
1.1 Objectifs principales.....	135
1.2 Objectifs secondaires.....	135
<b>2. Matériels et méthodes.....</b>	<b>136</b>
2.1 Type et durée de l'étude.....	137
2.2 Cadre de l'étude.....	137
2.3 Population étudiée.....	137
2.4 Critères d'inclusion.....	137
2.5 Critères d'exclusion.....	137
2.6 Mode et collecte des données.....	137
2.6.1 Recueil des données.....	138
2.6.2 Exploitation des données.....	138

---

## *Table des matières*

2.7 Déroulement de l'étude.....	138
<b>3. Résultats.....</b>	<b>139</b>
3.1 Taille de population.....	141
3.2 Prévalence des infections fongiques en phase d'induction.....	141
3.3 Prévalence des infections fongiques en fonction des années .....	141
3.4 Prévalence des infections fongiques en fonction de type de LAM .....	142
3.5 Prévalence des infections fongiques en fonction de l'âge et du sexe.....	143
3.6 Prévalence des infections en fonction de l'image radiologique.....	144
3.7 Prévalence des infections fongiques en fonction de de modalités thérapeutique.....	145
3.8 Prévalence de choc septique .....	146
3.9Prévalence des infections fongiques en fonction de type de prophylaxie .....	146
3.10Prévalence des infections en fonction de la disponibilité de NOXAFIL 2017.....	147
<b>4. Discussion.....</b>	<b>149</b>
4.1 Etude de la population générale.....	150
4.2 prévalence des infections fongique en fonctions des années.....	150
4.3 Caractéristiques sociodémographiques.....	150
4.4 type de LAM.....	151
4.5 Modalités thérapeutique .....	151
4.6 Choc septique .....	152
4.7 Les images radiologiques.....	152
4.8 type de prophylaxie .....	153
PRISE EN CHARGE DE NEUTOPENIQUE FEBRILE CHEZ LES LAM DANS LE SERVICE D'HEMATOLOGIE CHU TLEMEN .....	154
<b>5. CONCLUSION.....</b>	<b>151</b>
<b>6. BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>153</b>
<b>7. Annexes.....</b>	<b>.....</b>

---

*Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Mutations de classe 1 et de classe 2 dans les LAM .....	24
<b>Tableau 2</b> : Marqueurs spécifiques de lignée .....	42
<b>Tableau 3</b> :Score diagnostic EGIL.....	45
<b>Tableau 4</b> : Principaux marqueurs exprimés dans les sous types de LAM selon la classification FAB.....	46
<b>Tableau 5</b> : Critères diagnostic des infections fongiques invasives selon EORTC .....	92
<b>Tableau 6</b> :Infections fongiques en France Métropolitaine 2002-2010.....	146
<b>Tableau 7</b> : Comparaison du taux de mortalité dans les différentes études.....	148
<b>Tableau 8</b> : L'efficacité de posaconazole dans les différentes études.....	148

---

Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Hématopoïèse humaine.....	21
<b>Figure 2</b> : Les myéloblastes.....	31
<b>Figure 3</b> :Corp. d'auer.....	32
<b>Figure 4</b> :Myéloblastes montrant corps d'auer organisés en fagots.....	32
<b>Figure 5</b> :Monoblastes et promonocytes.....	33
<b>Figures 6</b> :Myéloblastes et promonocytes.....	33
<b>Figure 7</b> :Mégacaryoblastes .....	34
<b>Figure 8</b> : Blastes évocateurs des proérythroblastes.....	34
<b>Figure 9</b> : Cytochimie de la myélopéroxydase.....	36
<b>Figure 10</b> : Cytochimie du butyrate estérase.....	36
<b>Figure 11</b> : Histogramme CD45/SSC.....	39
<b>Figure 12</b> :L'aspect morphologique de <i>l'aspergillus</i> .....	66
<b>Figure 13</b> : <i>Aspergillus Fumigatus</i> .....	67
<b>Figure 14</b> : <i>Aspergillus Nidulans</i> .....	67
<b>Figure 15</b> : Tête cnidienne en MO avec une rangée de phialides, sur laquelle se projettent les spores.....	67
<b>Figure 16</b> : <i>Aspergillus Fumigatus</i> .....	68
<b>Figure 17</b> :Aspect macroscopique d'une truffe Aspergillaires.....	75
<b>Figure 18</b> :Aspergillome au sein d'une large cavité.....	75
<b>Figure 19</b> :Aspergillome dans une pièce de lobectomie en coupe.....	75
<b>Figure 20</b> :Image en grelot.....	76
<b>Figure 21</b> :Examen direct de crachat chez un patient ayant une ABPA.....	77

---

*Liste des figures*

<b>Figure 22</b> :Image radiologique des micronodules.....	81
<b>Figure 23</b> :Condensation bilatérales.....	81
<b>Figure 24</b> : Le signe de halo et le signe de croissant gazeux.....	81
<b>Figure 25</b> :Culture de 8 jours de <i>aspergillus fumigatus</i> .....	85
<b>Figure 26</b> : Aspect macroscopique des candidas en culture.....	95
<b>Figure 27</b> : Perlèche.....	99
<b>Figure 28</b> : Leucorrhée et vulvite à candida.....	101
<b>Figure 29</b> :Intertrigo candidosique inter-digito-palmaire.....	102
<b>Figure 30</b> :Onychomycose avec périonyxis des mains.....	103
<b>Figure 31</b> :Levures ou blastospores.....	107
<b>Figure 32</b> :Levures et filaments.....	107
<b>Figure 33</b> :Aspect macroscopique en culture.....	108
<b>Figure 34</b> :Mode d'action des antifongiques.....	145
<b>Figure 35</b> :Prévalence des infections fongiques en phase d'induction.....	141
<b>Figure 36</b> :Prévalence des infections fongiques en fonction de des années.....	142
<b>Figure 37</b> : Prévalence des infections fongiques en fonction de type LAM .....	142
<b>Figure 38</b> : Prévalence des infections fongiques en fonction de l'age et de sexe.....	143
<b>Figure 39</b> :Prévalence des infections fongiques en fonction des images radiologique	144
<b>Figure 40</b> :Prévalence des infections en fonctions des modalités thérapeutique .....	145
<b>Figure 41</b> : prévalence des chocs septique.....	146
<b>Figure 42</b> : prévalence des infections fongique selon le type de prophylaxie.....	147

---

**Figure 43** : prévalence des infections selon la disponibilité de noxafil en 2017 .....147

*Liste des abréviations*

**IFI** : Infections fongiques invasives

**LAM** : Leucémie aigue myéloïde

**CFU** : Colony Forming unit

**CIVD** : Coagulation intra vasculaire disséminé

**MPO** : Myélopéroxydase

**EGIL** : Européen groupe for immuno logical caractérisation of leukemias

**FAB** : French American British

**FISH** : Hybridation avec des sondes fluorescentes

**PCR** : Polymérase Chain réaction

**MRC** : Medical Research concil

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**RC** : Rémission complète

**CSH** : cellules souches hématopoïétiques

**GABA** : Acide aminobutyrique

**ABPA** : Alvéolite broncho pulmonaire allergique

**LBA** : Lavage broncho alvéolaire

**PAS** : Periodic acide Schiff

**HES** : Hémalun éosine safran

**ITS** : Inter Transcribed séquence

**ELISA** : Enzyme linked immuno sorbent assay

**EORTC** :Européenorganisation for Research and treatment of cancer

**IST** : Infections sexuellementtransmissibles

**HEPA** : high effencyParticulare air

**IDSA** : Infections Diseases society of America

---

# *La partie théorique*



## ***INTRODUCTION :***

Les infections fongiques sont en augmentation depuis plusieurs années. Cette augmentation s'explique par accroissement des patients immunodéprimés et l'évolution des stratégies thérapeutiques, les patients d'onco-hématologie, notamment ceux atteints de leucémie aigue myéloïde et d'un syndrome myélodysplasique ainsi que les patients allo et Autogreffés sont particulièrement à risque de développer une infection fongique, de plus ces infections sont responsables d'une importance morbi-mortalité. Malgré une amélioration des techniques diagnostiques et un plus large arsenal thérapeutique mis à disposition, la prise en charge de ces infections reste complexe.

Plusieurs attitudes thérapeutiques sont possibles pour la prise en charge des infections fongiques, avec un continuum entre un traitement prophylactique, pour les patients à risque, et un traitement dirigé pour une infection manifeste et prouvée. Dans ce dernier cas cependant, l'initiation du traitement est souvent trop tardive, et s'accompagne inévitablement d'une mortalité importante. Nombre des infections fongiques sont peu symptomatiques dans leur phase initiale ; elles sont largement sous-diagnostiquées, comparativement aux constatations réalisées post-mortem lors d'autopsies chez ces patients. L'enjeu de la prise en charge des IFI réside donc soit dans une prévention efficace, soit dans une stratégie permettant de les traiter de façon précoce, d'où l'intérêt de notre étude.

*Chapitre 01 :*  
*Les leucémies aiguës*  
*myéloïdes*

## **1.1 DÉFINITION**

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont des maladies hématopoïétiques clonales caractérisées par la prolifération d'un précurseur myéloïde qui s'accumule dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes et par une altération de l'hématopoïèse normale.

Les leucémies aiguës constituent une urgence à la fois diagnostique et thérapeutique. Elles nécessitent d'effectuer, en parallèle et très rapidement, la recherche et la prise en charge de complications ainsi que l'identification de la maladie en vue d'adapter le traitement au patient et au type de leucémie. Ce sont des maladies qui peuvent rapidement engager le pronostic vital si elles ne sont pas traitées.

## **1.2 ÉPIDÉMIOLOGIE :**

En France, les leucémies aiguës représentaient 1% de l'ensemble des cancers en 2012. Les LAM peuvent se déclarer à n'importe quel âge, mais on observe une augmentation de l'incidence totale et une augmentation de la proportion de LAM Parmi les LA avec l'âge. L'âge médian de survenue se situe autour de 65 ans. Dans les LAM de l'enfant, le pic d'incidence apparaît dans les premières années de vie puis diminue jusqu'à l'âge de 4 ans et l'incidence reste ensuite relativement Constante jusqu'à l'âge adulte . On observe ensuite une augmentation au cours de l'âge adulte, période au cours de laquelle 70%-80% des leucémies aiguës diagnostiquées sont des LAM, avec un pic marqué chez les personnes âgées. Cette Augmentation d'incidence est expliquée par l'augmentation des LAM secondaires à Une myélodysplasie alors que l'incidence des LAM de novo reste approximativement Constante pour tous les groupes d'âge.

### **1.3 HEMATOPOÏÈSE ET MYÉLOPOÏÈSE NORMALES**

L'hématopoïèse est l'ensemble des mécanismes permettant un remplacement continu et contrôlé des cellules sanguines à partir d'une cellule souche Hématopoïétique. L'hématopoïèse comprend deux branches : la lymphopoïèse qui Intéresse les cellules dites lymphoïdes ou lymphocytes et la myélopoïèse qui aboutit à la production des cellules myéloïdes, c'est à dire les globules rouges, les Polynucléaires, les monocytes et les plaquettes. Chaque jour sont générés environ  $200 \times 10^9$  globules rouges avec une demi-vie de 120 jours,  $125 \times 10^9$  plaquettes avec une demi-vie de 8 jours et  $50 \times 10^9$  leucocytes avec une demi-vie allant de 8 heures pour les polynucléaires neutrophiles à des mois ou des années pour certaines sous-populations lymphocytaires .

L'hématopoïèse s'effectue essentiellement dans la moelle osseuse. Jusqu'à l'âge de 5 ans, tous les os ont une activité hématopoïétique. Par la suite l'hématopoïèse se Limite aux os plats : sternum, côtes, vertèbres, bassin et crâne.

La moelle osseuse hématopoïétique se compose de trois compartiments :

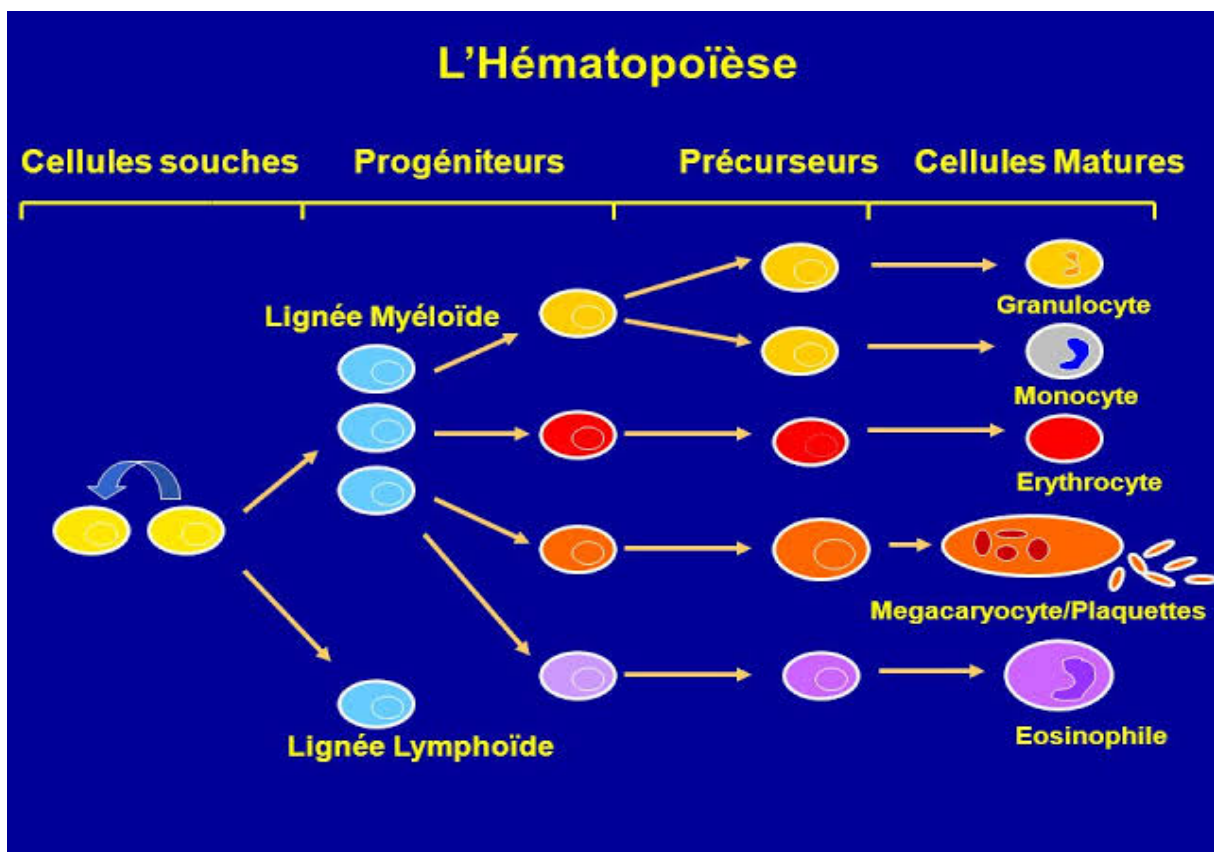
- Le compartiment de différenciation : il est occupé par  $10^6$  à  $10^7$  cellules Souches dites totipotentes capables d'auto-renouvellement qui sont à l'origine des cellules souches primitives ou CFU (Colony Forming Unit) c'est à dire capables de s'auto renouveler et de se différencier vers toutes les lignées Hématopoïétiques.
- Le compartiment des progéniteurs contenant des cellules progénitrices Déterminées pour une lignée, capables de proliférer en se différenciant sous L'effet de facteurs de croissance. Ces cellules vont perdre progressivement

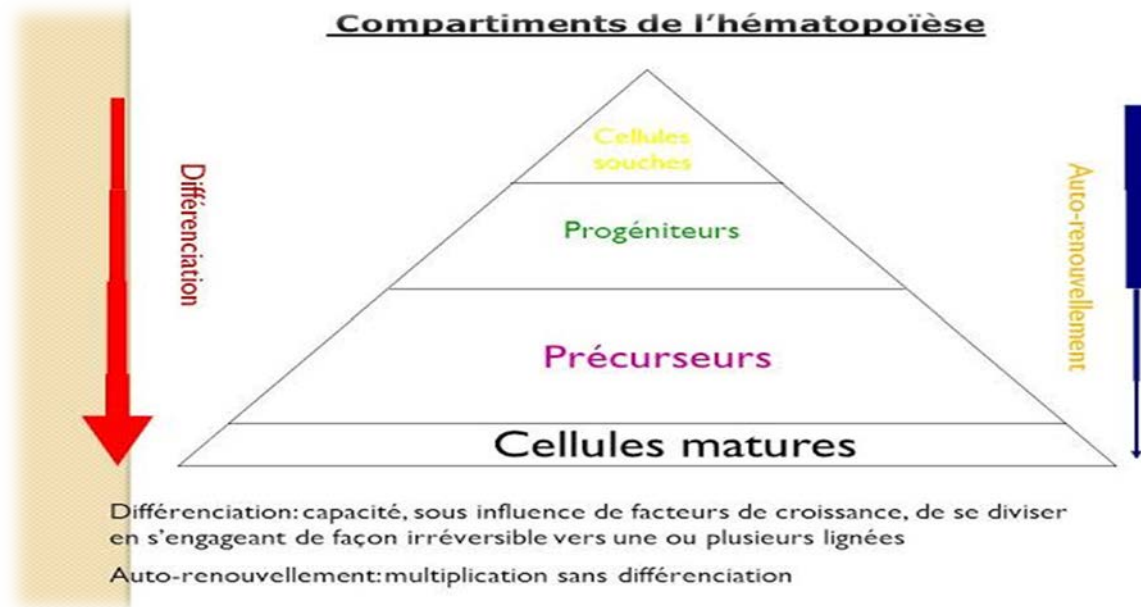
## Les leucémies aiguës myéloïdes

leur capacité d'auto renouvellement au fur et à mesure qu'elles se différencient.

- Le compartiment de maturation dans lequel se trouvent les précurseurs, premières cellules morphologiquement reconnaissables au sein de chaque lignée. Ces cellules en voie de maturation subissent une différenciation structurale aboutissant à un type cellulaire unique et sont incapables de se diviser. A la fin de ce processus, les cellules traversent la barrière médullaire et se retrouvent dans la circulation sanguine

(Voir figure 1).





**Figure1 :L'HEMATOPOISE HUMAINE**

L'hématopoïèse est soumise à un contrôle et une régulation à tous les niveaux.

Les éléments régulateurs sont au nombre de trois :

- Le « microenvironnement » médullaire : Il procure aux cellules souches les Conditions anatomiques et intercellulaires satisfaisantes pour assurer L'hématopoïèse. Le tissu de soutien sécrète des matrices extracellulaires et des facteurs de croissance. Les matrices extracellulaires permettent L'adhésion des cellules souches, en particulier grâce au collagène.
- Les vitamines et oligo-éléments : certaines vitamines, comme la vitamine B12 et l'acide folique, sont nécessaires à la synthèse de l'ADN et donc à la division Cellulaire. D'autres, comme le fer, sont nécessaires à la fabrication des Protéines spécifiques de lignées, comme la synthèse de l'hémoglobine.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

- Les facteurs de croissance médullaires : Les facteurs de croissance Hématopoïétiques sont des substances (glycoprotéines) agissant comme des Hormones. Certaines font partie de la famille des cytokines et des Interleukines (IL).

Ces molécules reconnaissent leurs cellules cibles par l'intermédiaire de récepteurs membranaires spécifiques. Selon le lieu

d'application au cours de l'hématopoïèse, il existe trois grands types de Facteurs de croissance :

- Les facteurs de promotion : ce sont principalement des cytokines comme l'interleukine 1 (IL-1), l'IL-4, l'IL-6 et le facteur de croissance Médullaire SCF. Les facteurs de promotion augmentent le nombre de Cellules souches en cycle cellulaire et sensibilisent les cellules souches « Totipotentes » à l'action des autres facteurs de croissance.
- Les facteurs multipotents : ce sont principalement l'interleukine 3 (IL-3) et le facteur de croissance des cellules Granuleuses et des Macrophages : le GM-CSF. Ces facteurs agissent sur les cellules souches les plus immatures après sensibilisation par les facteurs de Promotion. Ils permettent la survie et la différenciation des cellules Souches.
- Les facteurs restreints : Ils agissent sur les cellules souches engagées Ou progéniteurs et favorisent la multiplication cellulaire et la maturation Des précurseurs.
  - Le G-CSF permet la maturation des polynucléaires neutrophiles,
  - Le M-CSF permet la maturation des monocytes,
  - L'interleukine 5 (IL-5) permet la maturation des polynucléaires éosinophiles,
  - L'interleukine 4 (IL-4) permet la maturation des polynucléaires basophiles,
  - L'interleukine 6 (IL-6) et la thrombopoïétine (TPO) permettent la maturation des mégacaryocytes en plaquettes,
  - L'érythropoïétine (EPO) stimule la production de globules rouges.

#### **1.4 PHYSIOPATHOLOGIE**

La LMA se déclare à la suite de modifications (mutations) de l'ADN (le matériel Génétique) d'une cellule en croissance de la moelle. Après avoir subi la modification Leucémique, la cellule de la moelle se multiplie en plusieurs exemplaires. Ces cellules Croissent et survivent mieux que les cellules normales et même viennent à dépasser En nombre les cellules saines. Cette croissance incontrôlée entraîne une accumulation de cellules appelées « blastes leucémiques » qui ne peuvent fonctionner comme des cellules sanguines normales et inhibent la production de cellules normales de la moelle, entraînant ainsi un déficit de globules rouges (anémie), de plaquettes (Thrombopénie) et de globules blancs normaux, particulièrement de neutrophiles (Neutropénie) dans le sang.

Les cellules leucémiques ressemblent un peu à des globules blancs immatures. Toutefois, leur processus de croissance est incomplet.

Schématiquement les principales modifications moléculaires :

- L'activation transcriptionnelle d'un gène. Exemple : activation de AML1 dans les LAM avec t(8 ; 21). AML1 code pour une sous-unité du facteur de transcription AML1-CBF $\beta$  impliqué dans la différenciation de la lignée Myéloïde et en particulier dans l'activation des promoteurs de l'IL 3 et du GMCSF.
- La création d'un gène de fusion avec expression d'un ARN et d'une protéine de fusion ayant des propriétés leucémogènes. Exemple : translocation t(15 ; 17) des LAM3 créant un gène de fusion entre le gène RAR, localisé en 17q24, codant pour un des récepteurs de l'acide rétinoïque, et le gène PML, situé en 15q24, entraînant ainsi la synthèse d'une protéine de fusion Responsable du blocage de différenciation caractéristique des LAM3 .
- La double mutation ou délétion d'un gène suppresseur de tumeur. Exemple : altération des deux copies du gène RB dans 15 à 30% des LA, Essentiellement dans les LAM4 et 5.



---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Ces anomalies moléculaires sont à l'origine de l'accumulation de cellules leucémiques grâce à une capacité de prolifération accrue et au blocage de la capacité de différenciation conférant aux cellules tumorales un avantage de survie (Échappement à l'apoptose). (Voir tableau 1)

**Tableau 1 : Mutations de Classe 1 et de Classe 2 dans les LAM (8,11)**

<b>Mutations Classe 1 (Prolifération)</b>	<b>Mutations Classe 2 (Blocage de différenciation)</b>
<b>FLT3 KIT RAS PTPN11 JAK2</b>	<b>PML-RARA RUNX1-RUNX1T1 CBFB-MYH11 MLL fusions CEBPA</b>

Les cellules leucémiques vont également inhiber la différenciation des cellules Blastique normales en cellules matures par la sécrétion de différentes chimokines. L'accumulation des cellules blastique au niveau de la moelle et des organes Explique les manifestations cliniques d'insuffisance médullaire et le syndrome Tumoral.

### **1. 5 FACTEURS ÉTIOLOGIQUES :**

Dans la majorité des cas, les leucémies aiguës n'ont pas de cause connue et surviennent chez des sujets jusque-là en bonne santé. Il est important de souligner que le terme de LAM regroupe un ensemble hétérogène de maladies qui diffèrent par la cause, l'âge de survenue, la clinique et le pronostic. Certains facteurs de risque Sont néanmoins identifiés :

#### **1. 5.1 Leucémies aiguës de novo**

Plusieurs facteurs étiologiques sont identifiés pour les leucémies aiguës de novo, avec des niveaux de preuve variables : les radiations ionisantes, les solvants benzéniques sont

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

des causes reconnues, y compris comme responsables de maladies professionnelles. Les pesticides et herbicides, le tabac, les teintures de cheveux, les rayonnements électromagnétiques ont été impliqués dans plusieurs études épidémiologiques, mais le rôle de ces facteurs demande à être précisé.

### **1.5.2 Leucémies secondaires**

Elles regroupent trois cadres différents :

#### **■ les leucémies aiguës secondaires aux radiothérapies et/ou chimiothérapies des cancers :**

- ✓ –soit agents alkylants : ces leucémies sont caractérisées par une monosomie ou une délétion des bras longs des chromosomes 5 ou 7 ;
- ✓ soit inhibiteurs de la topo-isomérase II, tels que les dérivés des podophyllotoxines.

Ces leucémies sont caractérisées par une délétion ou une translocation touchant les bras longs des chromosomes 11 ou 21. Survenant dans les 5 à 7 ans qui suivent le traitement par agents alkylants, ces leucémies secondaires apparaissent d'autant plus fréquemment que le patient a été splénectomisé ;

#### **■ les leucémies aiguës survenant dans l'évolution d'une myélodysplasie :**

Elles s'observent dans un tiers des cas. À la différence quantitative qui caractérise la leucémie (30 % ou plus de myéloblastes dans la moelle) s'ajoute une différence qualitative : l'aspect myélodysplasique. Il peut être observé au cours d'une leucémie aiguë de novo et est de pronostic défavorable ;

#### **■ les leucémies aiguës secondaires à un syndrome myéloprolifératif :**

Mode d'évolution habituel des leucémies myéloïdes chroniques, la transformation aiguë se voit aussi dans environ 15 % des polyglobulies de Vaquez, 10 % des myélofibrose primitives et moins de 5 % des thrombocytémie essentielles.

---

## *Les leucémies aigues myéloïdes*

Le pronostic d'une telle transformation est très sombre, avec une médiane de survie de 3 mois, quel que soit le traitement.

Les leucémies ne sont pas transmissibles à la descendance et les formes familiales sont exceptionnelles.

### **1. 6 DIAGNOSTIC DES LEUCÉMIES AIGUËS MYÉLOÏDES :**

#### **1.6.1 ASPECTS CLINIQUES :**

Il n'existe pas de signe spécifique de leucémie aiguë. En effet les signes cliniques sont très variables en fonction du degré d'envahissement médullaire par les cellules Blastiques, de leur nombre et de leurs caractéristiques chimiques et moléculaires. De fait, le mode de révélation initial est représenté par un spectre pouvant aller du bilan d'une asthénie à un tableau beaucoup plus grave d'insuffisance médullaire profonde (infections, anémie, hémorragies) et d'infiltrats tissulaires (hyperleucocytoses) .

Les manifestations cliniques comprennent des signes d'insuffisance médullaire, des signes de prolifération tumorale, des complications métaboliques et le syndrome de Leucostase.

#### ***a) Signes d'insuffisance médullaire :***

Ils sont le résultat de l'insuffisance de production d'éléments sanguins normaux par

La moelle. On décrit :

- Un syndrome anémique dans 90 à 95% des cas, avec asthénie, pâleur, Dyspnée, tachycardie; ces signes sont d'autant plus importants que l'anémie est profonde.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

- Un syndrome infectieux avec notamment des infections bactériennes Traînantes ou des infections fongiques, dont la gravité est liée au taux bas des Polynucléaires neutrophiles.
- Un syndrome hémorragique présent dans 90% des leucémies aiguës ; il se Manifeste par des hémorragies cutanées (pétéchies, hématomes, purpura), Muqueuses (gingivorragies, épistaxis) particulières par leur caractère Spontané ou déclenché par un traumatisme minime. La présence de grands hématomes ou de saignements prolongés aux points de ponction doit faire Évoquer une CIVD qui est une urgence thérapeutique.

### ***b) Signes de prolifération tumorale***

Les manifestations tumorales sont moins fréquentes que dans les leucémies aiguës

Lympho blastiques. Elles résultent des localisations leucémiques. Elles regroupent :

- Une hypertrophie des organes hématopoïétiques avec des adénopathies Surtout superficielles, une hépatomégalie, une splénomégalie.
- Des manifestations bucco-pharyngées, notamment l'infiltration gingivale par les blastes, saignant au contact, très évocatrice de leucémie monoblastique.
- Une atteinte cutanée, spécifique, fréquente dans les LAM notamment dans la Forme monoblastique M5. Il s'agit de nodules violacés ou placards fermes Enchâssés dans le derme, indolores.
- Une tumeur localisée (chlorome ou sarcome granulocyttaire) pouvant virtuellement intéresser tous les organes extra-hématopoïétiques.
- Des manifestations neurologiques, rares, plutôt lors des phases évolutives (Rechute) ou tardives de la maladie.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Les localisations du système nerveux Central sont responsables de céphalées, de rachialgies, de paralysie des nerfs Crâniens (nerfs facial ou oculomoteurs), d'une hypoesthésie de la houppe du Menton (atteinte du V3, du noyau), un flou visuel (nerf ophtalmique) ou une Atteinte du nerf sciatique.

### **1.6.2 BIOLOGIE**

#### **1. 6.2.1 HÉMOGRAMME :**

Il est anormal dans la très grande majorité des cas et permet souvent à lui seul D'évoquer le diagnostic.

La numération sanguine met en évidence :

- Une anémie quasi constante. De modérée à très sévère (5-13 g/dl), elle est Aregenérative (réticulocytes bas), normo chrome normocytaire, sans anomalie Morphologique des hématies le plus souvent.
- Une numération leucocytaire très variable. On peut observer tous les cas de figure, de la leucopénie franche (< 1G/L) sans blastes circulants, jusqu'à L'hyperleucocytose majeure (100-500 G/L), constituée essentiellement de cellules tumorales et imposant une prise en charge diagnostique et Thérapeutique en urgence. L'hyperleucocytose est présente dans 50% des cas Mais est supérieure à 100 G/L dans seulement 20% des cas et le plus souvent Dans un contexte de LAM M4 ou M5.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

- Une thrombopénie très fréquente, parfois majeure (< 10 G/L). Elle peut être

Liée à une insuffisance de production et/ou à une consommation excessive par un mécanisme de coagulation intra vasculaire disséminée, imposant la réalisation d'un bilan d'hémostase. Dans quelques cas, le nombre de plaquettes est normal voire augmenté mais le syndrome hémorragique reste possible (thrombopathie).

La formule leucocytaire est une étape clé dans la démarche diagnostique :

- Un pourcentage de blaste circulant > 20% évoque d'emblée une leucémie

Aiguë.

- Il existe souvent une neutropénie liée à un défaut de production, avec parfois agranulocytose (< 0.5 G/L) nécessitant une prise en charge en urgence.

Parfois le nombre de polynucléaires neutrophiles est normal ou augmenté,

Grâce à la persistance d'une maturation résiduelle du clone tumoral.

- Il faut toujours rechercher une dysgranulopoïèse morphologique, avec

Anomalies superposables à celles des syndromes myélodysplasiques

(Hypo segmentation nucléaire, hypo granulation).

- Un excès de granulocytes basophiles ou une hyper éosinophilie sont

possibles, dans le cadre des variants morphologiques.

- Une hypermonocytose est observée dans les LAM à composante

monocytaire.

- Les lymphocytes sont en nombre habituellement normal pour l'âge.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

### **1.6.2.2 MYÉLOGRAMME :**

Il est systématiquement demandé, que ce soit pour confirmer un diagnostic évoqué devant l'hémogramme et préciser le type cytologique ou pour y parvenir devant une pan cytopénie sans cellules leucémiques circulantes.

L'examen microscopique de frottis médullaires colorés au May-Grünwald-Giemsa pose le diagnostic de LAM en montrant une infiltration médullaire avec un pourcentage de blaste supérieur ou égal à 20%.

Le myélogramme montre habituellement une moelle richement cellulaire. La moelle est pauvre dans < 10% des cas, et une **biopsie ostéo-médullaire** est alors nécessaire. Les mégacaryocytes sont en général absents ou très rares, en parallèle de la thrombopénie.

Il faut ensuite définir le pourcentage de blastes. Pour le diagnostic de LAM, les blastes incluent les **myéloblastes, monoblastes et mégacaryoblastes**. La définition des sous-types FAB dépend ainsi de la reconnaissance des cellules et de leur classification au microscope, ce qui est subjectif et est source de discordance entre les **promonocytes** sont des équivalents de blastes dans tous les types de LAM et les

**promyélocytes** sont des équivalents de blastes uniquement dans les leucémies aiguës promyélocytaire. Les **érythroblastes** sont inclus dans le pourcentage de blastes seulement dans les leucémies aiguës érythroblastiques « pures ».

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Il existe de nombreux atlas de cytologie très détaillés Pour la reconnaissance des différents types cellulaires.

La morphologie du noyau cellulaire est le point le plus critique dans l'identification des cellules blastiques: les blastes montrent une chromatine finement dispersée Plutôt que condensée. D'autres caractéristiques nucléaires sont utiles à l'évaluation des blastes comme la taille, les nucléoles et la configuration nucléaire. Les Caractéristiques cytoplasmiques sont très utiles dans la détermination de la lignée :

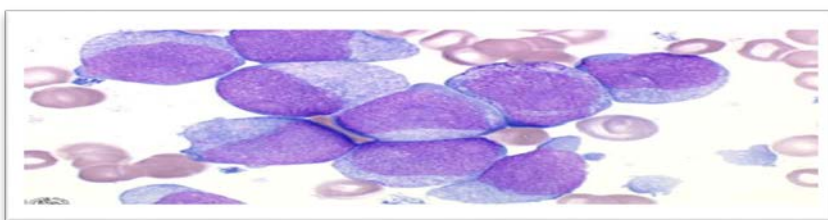
Les myéloblastes présentent de fines granulations cytoplasmiques peu abondantes

ou la présence de corps d'Auer, les mégacaryoblastes des bourgeonnements

Cytoplasmiques, les érythroblastes une basophilie profonde et des vacuoles cytoplasmiques.

On observe donc différents aspects cytologiques :

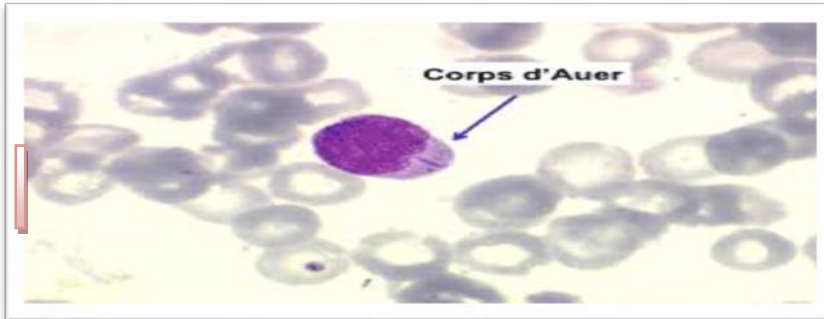
- Les myéloblastes sont classiquement des cellules de taille moyenne à Grande, à faible rapport nucléo-cytoplasmique. Elles présentent un noyau excentré à chromatine lâche et peut montrer un ou plusieurs nucléoles Proéminents. Leur cytoplasme est basophile et peut contenir des granulations Azurophiles et/ou des corps d'Auer (figure 2 et 3). On observe par ailleurs des Dysplasies sur les cellules matures granulocytaires avec absence de Granulations secondaires cytoplasmiques et anomalies de segmentation des Noyaux qui apparaissent uni ou bilobés (pseudo Pelger-Huet).



**Figure 2 : Myéloblastes**

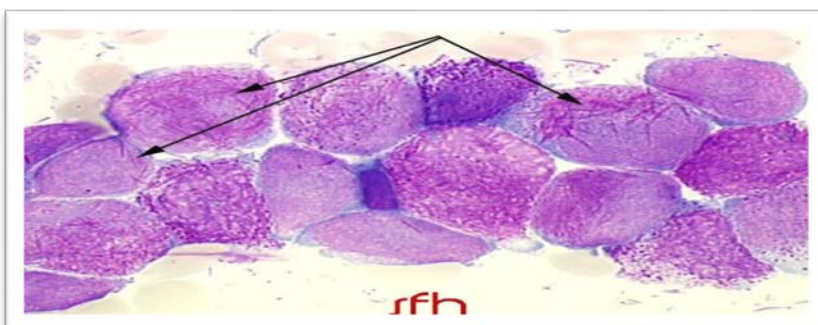


## Les leucémies aiguës myéloïdes



**Figure3 : Myéloblaste  
Avec un corps d'Auer**

• Dans la leucémie aiguë promyélocytaire classique, les blastes présentent souvent un noyau caractéristique bilobé ou réniforme. Le cytoplasme est rempli de granules azurophiles, parfois coalescentes, allant jusqu'à masquer la visibilité du noyau. Dans quelques cellules les granulations sont plus fines et certaines contiennent un corps d'Auer, ressemblant à des myéloblastes. La caractéristique est que quelques cellules contiennent de très nombreux corps d'Auer, jusqu'à 50, organisés en fagots (figure 4). Dans la forme micro granulaire ou hypo granulaire, les granulations cytoplasmiques sont rares ou absentes. En pratique plus la leucocytose est importante plus les cellules sont hypo granuleuses.



**Figure 4: Myéloblastes montrant  
Des corps d'Auer organisés en  
fagots**

---

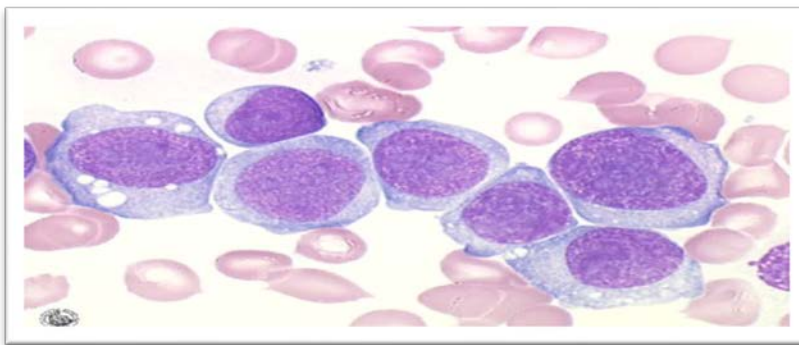
## *Les leucémies aigues myéloïdes*

Les monoblastes sont des cellules de grande taille avec un noyau central rond

Ou oblong et un cytoplasme abondant. Il peut exister un nucléole proéminent.

Le cytoplasme est basophile ou gris-bleu et peut présenter des

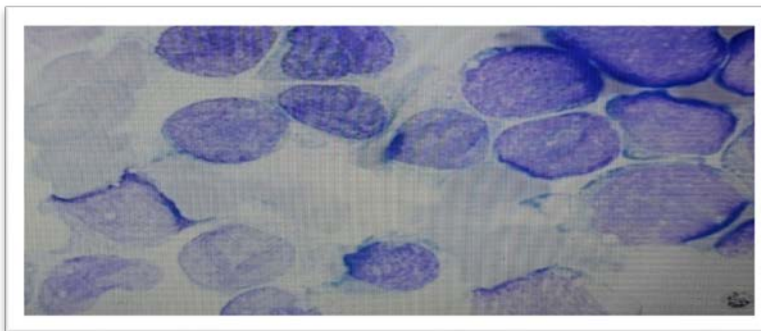
Bourgeonnements. Il existe de fines granulations cytoplasmiques (figure 5).



**Figure 5 : Monoblastes et  
Promonocytes**

Les promonocytes eux montrent un début de lobulation nucléaire et une perte

De la basophilie du cytoplasme (figure 5 et 6).



**Figure 6 : Myéloblastes et  
Promonocytes**

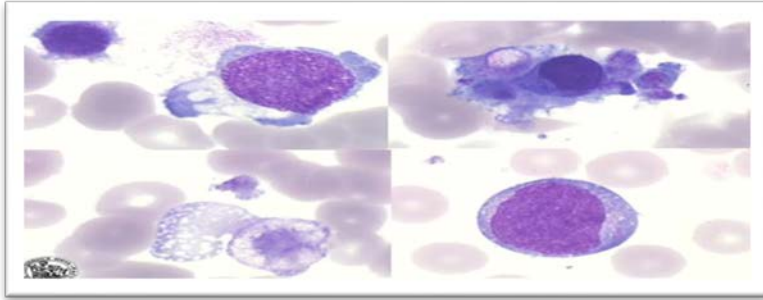
Les mégacaryoblastes sont des cellules de taille réduite ou moyenne, avec

Rapport nucléo-cytoplasmique élevé.

---

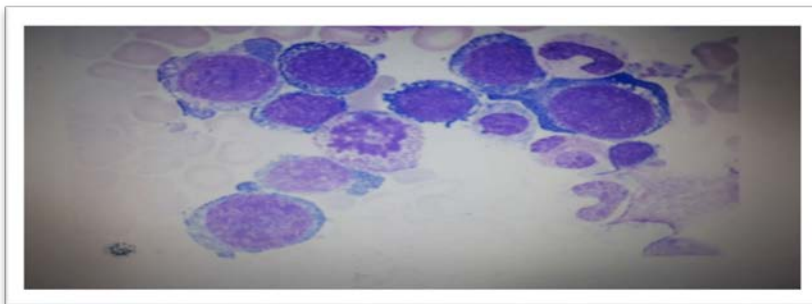
## *Les leucémies aigues myéloïdes*

Le cytoplasme est basophile, souvent dépourvu de granulations, et peut montrer des bourgeons ou pseudopodes qui ressemblent à des plaquettes (figure 7).



**Figure7 : Mégacaryoblastes**

Les proérythroblastes sont parfois morphologiquement proches de leur contrepartie normale, parfois totalement indifférenciés (figure 8), et seules les techniques immunophénotypiques ou ultrastructurales précisent le caractère proérythroïde.



**Figure 8 : Blastes évocateurs de  
Proérythroblastes**

### **1.6.2.3 CYTOCHIMIE**

Les colorations de cytochimie donnent des informations sur la nature de la lignée impliquée et sur le degré de maturation.

---

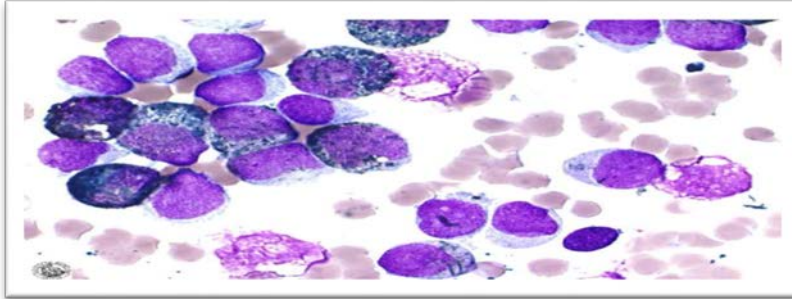
## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

### **a) Cytochimie de la myéloperoxydase (MPO) :**

Cette coloration permet de confirmer la nature myéloïde granulocytaire des blastes qui ne présentent pas de granulations ou de corps d'Auer au MGG. La peroxydase est une enzyme qui dégrade le perhydrol et oxyde la benzidine qui précipite sous forme de granulations marron-vert (figure 9). Cette coloration est spécifique des lignées granulocytaires, éosinophiles et monocytaires.

Les myéloblastes montrent plutôt une positivité focale avec des granulations regroupées à un pôle du cytoplasme. Les monoblastes, quand ils sont positifs, montrent de fines granulations dispersées. Les granulations éosinophiles sont uniformément et fortement positives à la MPO. Les promyélocytes normaux et leucémiques montrent quant à eux un cytoplasme rempli de granulations trapues. Au niveau des cellules matures, neutrophiles et métamyélocytes, les granulations sont moins épaisses.

Cette coloration est donc particulièrement utile pour distinguer rapidement une leucémie myéloblastique sans maturation ou avec maturation minimale d'une leucémie aiguë lymphoblastique. Elle permet également de rechercher une dysgranulopoïèse avec déficit en MPO au niveau des neutrophiles matures.



**Figure 9 : Cytochimie de la Myéloperoxydase**

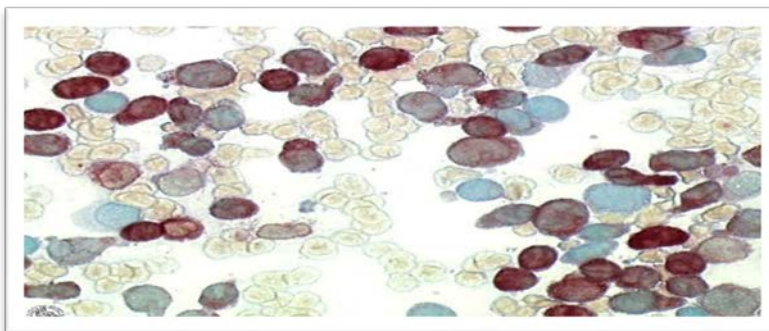
### **b) Cytochimie des butyrates estérases**

Cette coloration permet de reconnaître les cellules de la lignée monocytaire.

L'enzyme butyrate estérase hydrolyse l'alpha naphthyle butyrate, ce qui produit une coloration rouge brun (figure 10).

La positivité est nette dans les cellules de la lignée monocytaire, alors que les Myéloblastes et lymphoblastes sont négatifs. L'estérase spécifique (butyrate Estérase) est d'autant plus positive que la différenciation monocytaire est évidente.

Cette technique permet ainsi de faire la différence entre les LAM 4 et les LAM 5.



**Figure 10 : Cytochimie du butyrate Estérase**

Il existe de nombreux modes de colorations différents. Il s'agit de techniques Manuelles, rapides et peu chères, depuis longtemps utilisées dans le diagnostic des LA mais qui présentent comme principaux inconvénients l'absence de contrôle,

---

## *LES leucémies aiguës myéloïdes*

La dégradation des réactifs, la variabilité inter-opérateurs.

### **1.6.2.4 CYTOMÉTRIE EN FLUX**

La cytométrie en flux est une étape majeure de la stratégie diagnostic des LAM, en complément de l'analyse cytologique, notamment grâce à sa rapidité et son Accessibilité.

L'immunophénotypage par cytométrie en flux permet en effet de déterminer l'appartenance à une lignée cellulaire, et de préciser le niveau de différenciation pour identifier et/ou préciser le diagnostic des diverses formes de LA. Il permet également de détecter les leucémies aiguës bi phénotypiques ; il peut avoir un rôle pronostique par la mise en évidence d'un phénotype corrélé à des anomalies Cytogénétiques et/ou moléculaires; il permet d'identifier la présence de Certains marqueurs au sein des blastes en vue d'une utilisation d'une thérapeutique Ciblée par anticorps monoclonaux ; il permet de détecter le profil antigénique aberrant Des blastes pouvant se révéler utile pour suivre la maladie résiduelle.

#### **a) Principe de l'immunophénotypage en cytométrie en flux**

La cytométrie en flux consiste en l'analyse d'une suspension cellulaire concentrée en un flux unique qui passe à travers une source lumineuse. La lumière diffusée et Émise est ensuite mesurée par plusieurs détecteurs. Les paramètres obtenus correspondent aux caractéristiques physiques des cellules : la dimension et la granularité des cellules sont déterminées en fonction de la dispersion lumineuse Frontale et latérale (respectivement FSC et SSC). La caractérisation des cellules est

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Rendue encore plus précise par l'utilisation d'anticorps marqués par un fluorochrome qui permet l'identification de composants cellulaires. Les marqueurs fluorescents absorbent l'énergie lumineuse à une longueur d'onde donnée et émettent à une longueur d'onde plus élevée. La lumière fluorescente émise est ensuite canalisée par des filtres adaptés et les signaux sont récoltés par un assortiment de détecteurs.

Au cours du processus de différenciation et de maturation des cellules hématopoïétiques se produisent des mécanismes de régulation génique qui résultent en l'expression de différentes protéines en fonction du stade de maturation.

L'utilisation d'anticorps monoclonaux couplés à des molécules fluorescentes va permettre d'étudier les modifications de l'expression de ces glycoprotéines par les cellules médullaires au cours de leur développement à l'aide de la cytométrie en flux.

Il est ainsi possible d'étudier la maturation des cellules d'une lignée en partant des marqueurs exprimés par les cellules les plus matures pour aller vers la cellule la plus jeune. L'analyse de la coexpression de ces antigènes et de leurs niveaux d'expression va ainsi permettre d'obtenir un schéma corrélé au processus de maturation cellulaire

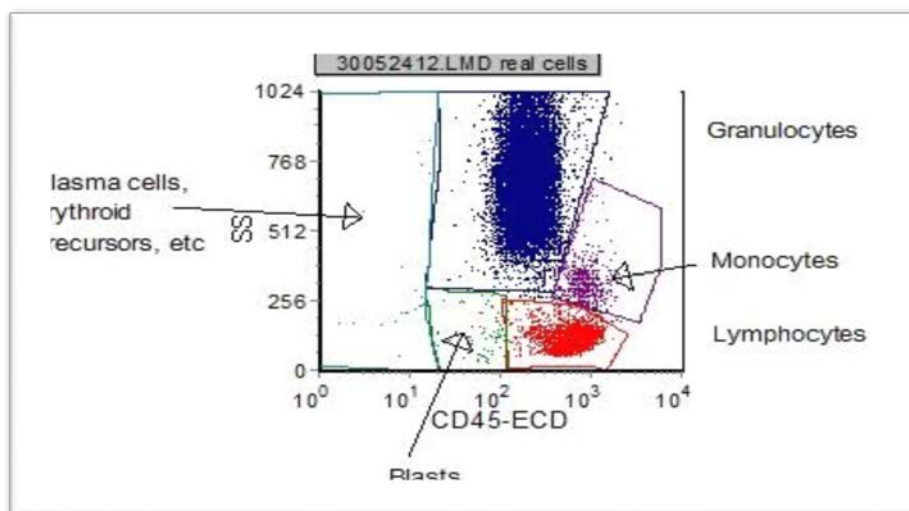
### **b) Identification des différentes lignées cellulaires**

Toutes les cellules hématopoïétiques expriment le CD45 au cours de leur développement. L'expression du CD45 va persister sur les leucocytes tout au long de leur vie à l'exception des plasmocytes tandis que les érythrocytes et les plaquettes perdent l'expression de ce marqueur au cours de leur différenciation.

## *Les leucémies aigues myéloïdes*

En regardant le niveau d'expression du CD45 en association avec le SSC, on peut Identifier les différentes lignées cellulaires (figure 11).

- Les lymphocytes sont caractérisés par l'intensité la plus forte du CD45 et le Signal le plus faible en SSC.
- La lignée érythrocytaire est caractérisée par la négativité du CD45 et un faible Signal en SSC.
- Les monocytes montrent une expression du CD45 un peu plus faible que celle Des lymphocytes et des caractéristiques intermédiaires en SSC entre les Lymphocytes et les cellules myéloïdes.
- Les blastes montrent une expression faible du CD45 avec des caractéristiques De SSC variables, proche de celles des lymphocytes ou des monocytes.
- Enfin, les cellules granuleuses sont caractérisées par les signaux les plus Intenses en SSC et une expression faible du CD45.



**Figure 11 : Histogramme CD45/SSC**



---

## *LES leucémies aiguës myéloïdes*

Comme les cellules blastiques ont une plus faible expression de CD45 que les Cellules hématopoïétiques normales, l'identification des blastes peut se faire grâce à L'histogramme CD45/SSC .Toutefois, on note parfois une localisation plus Atypique des blastes sur l'histogramme CD45/SSC, en particulier dans les LAM3, où Les blastes peuvent se retrouver dans la zone des polynucléaires, et dans les LAM5, où les monoblastes et promonocytes peuvent chevaucher la zone des monocytes. En cas de dé granulation importante de la lignée granulocytaire, on peut aussi observer une baisse de l'intensité du SSC sur les polynucléaires. Ces atypies Peuvent rendre difficile la distinction des blastes des autres populations leucocytaires Sur l'histogramme CD45/SSC.

### **c) Identification des blastes leucémiques :**

L'analyse des données fournies par la cytométrie en flux a permis de montrer que les Cellules leucémiques montrent un profil différent d'une cellule normale en cours de Maturation. Il persiste des analogies avec le profil de maturation d'une cellule Normale, permettant de définir le stade de maturation auquel la cellule s'est arrêtée, mais on peut observer différents types d'anomalies permettant de distinguer une Cellule blastique normale d'une cellule leucémique.

On peut observer trois types d'anomalies :

- Absence d'expression de marqueurs présents normalement à un stade de Maturation donné pour la lignée dont est issue la cellule leucémique ;
- Niveau d'expression anormal d'un marqueur présent pour un stade de

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Maturation donnée ;

- Expression de marqueurs d'autres lignées non exprimés normalement par les cellules de la lignée dont sont issues les cellules leucémiques.

Marqueurs d'immaturité ou de différenciation :

Deux marqueurs dits marqueurs d'immaturité sont utiles pour repérer les cellules

Souches hématopoïétiques :

- Le CD34 est une molécule d'adhésion cellulaire exprimée par de nombreuses cellules progénitrices dont les cellules souches lymphoïdes et hématopoïétiques. Il est exprimé dans la plupart des cas de LAM (42%) (46).
- HLA-DR est une protéine exprimée à la surface des cellules présentatrices d'antigènes, c'est à dire les monocytes, macrophages, cellules dendritiques et cellules T activées. HLA-DR est une protéine hétérodimérique transmembranaire composée de deux sous-unités, alpha et beta. Elle joue un rôle important dans la présentation des peptides antigéniques aux lymphocytes T CD4.

### **d) Détermination de la lignée des blastes**

Il existe peu de marqueurs spécifiques d'une lignée. Selon l'EGIL (Européen Group for Immunological characterization of Leukemias), la mise en évidence de certains marqueurs par les cellules leucémiques va permettre de les assigner à la lignée dont elles sont issues.

## Les leucémies aiguës myéloïdes

On utilise pour ce faire un panel d'anticorps constitué des marqueurs les plus spécifiques de chaque lignée hématopoïétique et de marqueurs D'immaturité ou de maturation. (Voir tableau 2).

**Tableau 2 : Marqueurs spécifiques de lignée**

cytCD79a*, cytCD22*, CD19*, CD10, CD20	Lignée lymphocytaire B
cytCD3*, CD2, CD5, CD7, CD8, CD1, sCD3, CD4, TCR	<b>Lignée lymphocytaire T</b>
CyMPO*, cytCD13* ou CD13*, CD33*, CD117*, CD14, CD15, CD65, CD11b, CD64	<b>Lignée myéloïde</b>
CD41*, CD42*, CD61*	<b>Lignée plaquettaire</b>
Glycophorines A*, CD36*	<b>Lignée érythroïde</b>
* Marqueurs les plus spécifiques de chaque lignée	

Ainsi une cellule leucémique appartient à la lignée myéloïde si :

- Elle exprime au moins deux marqueurs myéloïdes : CD13 / CD33 / CD117 /

CyMPO

- Elle n'exprime pas plus de deux marqueurs lymphoïdes B ou T :
  - Marqueurs lymphoïdes B : CD19 / CD22 / CyCD79a
  - Marqueurs lymphoïdes T : CyCD3 / CD2 / CD5 / CD7 / CD8

Les cellules leucémiques des LAM expriment généralement des antigènes caractéristiques de la différenciation neutrophile et monocyttaire comme le CD13, CD15, CD33, CD64, CD117 et la MPO.

---

## *Les leucémies aigues myéloïdes*

- La molécule la plus précoce attestant de l'engagement d'une cellule souche

CD34+HLA-DR+ dans la lignée myéloïde est l'enzyme MPO

Intra cytoplasmique. La myéloperoxydase (MPO) est une enzyme exprimée à

Différents degrés dans quasiment toutes les cellules myéloïdes. Elle est

Intra cytoplasmique, localisée à l'intérieur des phagosomes et est impliquée

Dans la génération de peroxyde d'hydrogène (49). C'est le marqueur précoce

Le plus sensible et spécifique pour l'identification des myéloblastes.

- Trois autres antigènes peuvent aussi être considérés comme des marqueurs Précoces : le CD13, CD33 et CD117, souvent observés ensemble à la surface Des blastes myéloïdes.

- Le CD13 est une metalloprotéase qui est exprimée par les progéniteurs Granulocytaires et monocytaires précoces ainsi que par les cellules Matures de ces lignées. Ce marqueur est exprimé par la majorité des Cas de LAM (95%)
- Le CD33 est une molécule d'adhésion impliquée dans les interactions Entre cellules. Elle est exprimée par les myéloblastes, promyélocytes, myélocytes et monocytes et par les cellules blastiques de la majorité des LAM (91%) .
- CD117, récepteur tyrosine kinase, est le récepteur du facteur de cellule Souche (CSF). Il est codé par l'oncogène c-kit. Il est exprimé jusqu'à 4% par les cellules mononuclées de la moelle osseuse normale, Incluant les myéloblastes, cellules érythrocytaires primitives, quelques Mégacaryoblastes et par les cellules mastocytaires. Il est également exprimé par les cellules blastiques dans 30 à 100% des cas de LAM(52,53).Comme mentionné ci-dessus, les cellules leucémiques peuvent exprimer des marqueurs aberrants appartenant à une autre lignée. Les antigènes lymphoïdes souvent exprimés dans les LAM sont le CD7, CD2 et CD19.Les cellules engagées dans une différenciation myéloïde, en fonction du signal émis par les facteurs de

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Croissance hématoïétiques de leur microenvironnement, vont ensuite se différencier en monocytes ou granulocytes puis, en cas de différenciation granulocytaire, en polynucléaires neutrophiles, basophiles ou éosinophiles. Ces Cellules bien différenciées morphologiquement, peuvent toute exprimer la majorité des marqueurs décrits ci-dessus.

Les marqueurs les plus caractéristiques des neutrophiles sont CD15 et CD65.

CD14 serait plus spécifiquement exprimé par les monocytes (54).

Deux autres types cellulaires, bien que très rarement à l'origine de leucémie, font également parti du groupe myéloïde dans la classification FAB : les érythroblastes et les mégacaryocytes.

- Ces cellules n'expriment pas la MPO et acquièrent des antigènes de différenciation spécifiques très tôt.
- Les antigènes les plus caractéristiques des érythroblastes sont le CD36 et les Glycophorines.
- Les mégacaryocytes expriment les chaînes d'intégrines CD41 et CD61 d'abord en intra cytoplasmique puis à la surface cellulaire.

Dans le cas des LA indifférenciées, aucun marqueur spécifique de lignée lymphoïde ou myéloïde n'est exprimé mais les cellules leucémiques sont CD34+/CD45low.

### **e)Classification de l'EGIL**

L'EGIL a défini un score immun phénotypique en attribuant des points à certains marqueurs jugés utiles pour le diagnostic des hémopathies malignes. Ces valeurs vont de 2 points pour les marqueurs les plus spécifiques d'une lignée à 0.5 points pour les marqueurs les moins spécifiques.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Ce travail a été réalisé pour mieux définir la notion de leucémie bi phénotypique. On peut parler de leucémie bi phénotypique si l'analyse des marqueurs exprimés par les cellules blastiques permet d'obtenir un score supérieur à 2 pour plusieurs lignées.

En dessous de ce score, on devra parler de variant lymphoïdes en cas d'expression de marqueurs de la lignée lymphoïde par les cellules d'une LAM.

Le tableau ci-dessous (tableau 3) reprend les points accordés aux différents marqueurs par L'EGIL pour définir l'appartenance d'une cellule leucémique à une lignée.

**Tableau 3 : Score diagnostic EGIL**

Score	Lignée lymphoïde B	Lignée lymphoïde T	Lignée myéloïde
2	<b>cytCD79a, cytCD22, cytIgM</b>	<b>CD3, TCR</b>	<b>MPO</b>
1	<b>CD19, CD10, CD20</b>	<b>CD2, CD5, CD8, CD10</b>	<b>CD13, CD33, CD65, CD117</b>
0.5	<b>TdT, CD24</b>	<b>TdT, CD7, CD1a</b>	<b>CD14, CD15, CD64</b>

### **f) Immunophénotypage et classification FAB:**

Du fait des nombreux aspects morphologiques de la lignée myéloïde, la mise en place d'une classification immuno phénotypique est très difficile. Il y a eu plusieurs tentatives pour établir une corrélation entre la classification FAB et des sous-groupes immunologiques mais aucun phénotypique spécifique de chaque groupe FAB n'a pu être identifié. On observe toutefois des associations fréquentes (Tableau 4).

## Les leucémies aiguës myéloïdes

Tableau 4 : Principaux marqueurs exprimés dans les sous-types de LAM selon la classification FAB

	M0	M1, M2	M3	M4	M5	M6	M7
<b>MPO</b>	-	+	+	+	+/-	+	-
<b>CD2</b>	+/-	+/-	+/-	+/- (E <sub>o</sub> )	+/-	+/-	+/-
<b>CD4</b>	-	-	-	+/-	+/-	-	-
<b>CD7</b>	+/-	+/-	-	+/-	+/-	+/-	+/-
<b>CD11c</b>	-	+/-	+/-	+/-	+	-	-
<b>CD13</b>	+/-	+	+	+	+/-	+/-	+/-
<b>CD14</b>	-	-	-	+/-	+/-	-	-
<b>CD15</b>	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-
<b>CD19</b>	-	+/-	-	+/-	+/-	-	-
<b>CD33</b>	+/-	+	+	+	+	+/-	+/-
<b>CD34</b>	+	+/-	-	+/-	+/-	+/-	+/-
<b>CD36</b>	-	-	-	+	+	+	+
<b>CD56</b>	+/-	+/-	-	+/-	+/-	-	-
<b>CD41</b>	-	-	-	-	-	-	+
<b>CD42a</b>	-	-	-	-	-	-	+
<b>CD61</b>	-	-	-	-	-	-	+
<b>CD64</b>	-	-	+/-	+	+	-	-
<b>CD65</b>	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-

<b>CD71</b>	+	+	+	+	+	+/-	+/-
<b>CD117</b>	+	+	+/-	+/-	+/-	+	+/-
<b>Glyco-A</b>	-	-	-	-	-	+	-
<b>HLA-DR</b>	++	+	-	+	+	+/-	+/-

### 1.6.2.5 CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE :

Les techniques cytogénétiques conventionnelles et moléculaires sont maintenant intégrées dans le panel des analyses indispensables au diagnostic des leucémies Aiguës.

La cytogénétique inclut le caryotype conventionnel qui examine l'ensemble des Chromosomes obtenus à partir de cellules leucémiques en métaphase (64).

- Le prélèvement est mis en culture 24 à 48h en présence d'un facteur mitogène. La culture est ensuite bloquée en métaphase à l'aide d'un poison du fuseau. Après un choc hypotonique, les chromosomes sont colorés, Classés et analysés.
- L'établissement du caryotype correspond à une classification standard des chromosomes humains par paires, en fonction de leurs tailles et de la position

Du centromère.

Le caryotype est complété par des techniques d'hybridation avec des sondes fluorescentes (FISH). Cette technique utilise des sondes spontanément fluorescentes permettant une recherche plus ciblée et ne dépend pas de la division cellulaire.

Enfin, l'analyse par PCR recherche des marqueurs chromosomiques spécifiques au Niveau moléculaire.

Les anomalies chromosomiques contribuent à définir le type de leucémie et présentent aussi l'intérêt d'être des facteurs pronostiques indépendants, essentiels pour les choix thérapeutiques. Il s'agit d'anomalies de nombre ou de structure (délétions, translocations).



---

## *Les leucémies aigues myéloïdes*

Des mutations sont connues pour induire un avantage prolifératif, alors que d'autres bloquent la mort programmée des cellules (apoptose) ou la différenciation cellulaire.

En effet les mutations observées concernent des gènes importants pour l'hématopoïèse normale, comme des récepteurs à activité tyrosine kinase gouvernant la prolifération et la survie cellulaires (FLT3, KIT), des facteurs de transcription régulant les processus de différenciation cellulaire (CEBPA, AML1) ou l'auto renouvellement (MLL, NPM1). D'autres mutations impliquent des gènes de la prolifération (NPM1, RAS), du remodelage chromatinien (TET2, DNMT3A) ou du métabolisme cellulaire (IDH1/2).

### **Classification pronostic du MRC (Medical Research Council)**

#### Anomalies chromosomiques de pronostic favorable

- Translocation t (15;17) (q25;q21) pathognomonique des LAM3
- LAM avec remaniements du CBF
- Translocation t (8 ; 21) des LAM2
- Inversion du chromosome 16 inv. (16)(p13q22) ou translocation t (16 ; 16) (p13 ; q22) des LAM 4Eo

#### Anomalies chromosomiques de pronostic intermédiaire

- Anomalies non classées comme favorables ou défavorables
- Anomalies chromosomiques de pronostic défavorable
- Monosomie ou délétion du chromosome 5 Del(5q) ou du chromosome 7 Del(7q)
- Anomalie du 3q ABN (3q) sauf t(3;5)(q21~25;q31~35)
- Inversion du chromosome 3 inv.(3)(q21q26) ou translocation t(3;3)(q21;q26)
- add(5q), del (5q), -5
- add (7q)/del(7q), -7
- Translocation t (6;11) (q27;q23)
- Translocation t (10 ; 11) (p11~13 ; q23)

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

- Translocation t (11q23) sauf t(9;11)(p21~22;q23) et t(11;19)(q23;p13)
- Translocation t (9;22) (q34;q11),
- Monosomie du chromosome 17 ou anomalie du 17p ABN (17p)
- Caryotypes complexes ( $\geq 4$  anomalies non reliées)

### **1.7 CLASSIFICATIONS DES LEUCÉMIES AIGUËS MYÉLOÏDES :**

Les LAM regroupent un ensemble d'entités très hétérogènes nécessitant la mise en place d'une classification consensus. Deux classifications sont utilisées pour définir le sous type de LAM : la classification FAB (French-American-British) et la plus récente classification de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).

#### **1.7.1 CLASSIFICATION FAB :**

Dans les années 1970, un groupe d'experts Français, Américains et Anglais a divisé les LAM en sous types, M0 à M7, en se basant d'une part sur la nature de la cellule à partir de laquelle s'est développée la leucémie et d'autre part sur le degré de maturation cellulaire.

Cette classification se base donc sur l'observation de frottis médullaire au microscope après coloration au May-Grünwald-Giemsa.

Cette analyse cytologique est couplée à une analyse cytochimique qui permet soit de confirmer l'origine myéloïde des cellules leucémiques en cas d'activité myéloperoxydase  $> 3\%$ , et/ou de distinguer une origine monocyttaire des blastes dans les LAM 4 et LAM 5 grâce à la réaction des estérases .

#### **LAM 0 ou LAM avec différenciation minimale :**

Les blastes sont agranulaires avec une morphologie très indifférenciée ressemblant à de petits lymphoblastes avec souvent un aspect de « miroir à main ». Ils ne présentent pas de différenciation en cytochimie : myéloperoxydase et estérase sont négatives. L'origine myéloïde des blastes est affirmée par l'immunophénotypage(16,17) (positivité des marqueurs CD13, CD33 ou CD117). Elles sont souvent associées à la mutation du gène AML1/RUNX1.

---

## *Les leucémies aigues myéloïdes*

### ***LAM 1 ou LAM sans maturation :***

Le pourcentage de blastes excède 90% et il n'y a pas de maturation significative. Les Blastes n'ont pas ou peu (<10 % des cellules) de maturation granuleuse (quelques Granulations et/ou corps d'Auer). L'appartenance à la lignée myéloïde est confirmée en cytochimie par la réaction des myélopéroxydase qui est positive dans  $\geq 3$  % des Blastes. Elles n'ont pas de caractéristiques caryotypiques ou moléculaires associées.

### ***✚ LAM 2 ou LAM avec maturation :***

Il existe une maturation granuleuse avec  $\geq 10$  % de cellules matures granulocytaires (Promyélocytes, myélocytes, métamyélocytes ou neutrophiles) mais < 20% de Cellules monocytaires. Les blastes présentent habituellement des corps d'Auer Cytoplasmiques. La présence de dysplasie associée est fréquente. Il existe un soustype cytologique particulier souvent associé à la translocation  $t(8;21)(q22;q22)$ , avec des myéloblastes de plus grande taille et comportant de nombreuses

Granulations azurophiles et parfois un bâtonnet d'Auer isolé et de grande taille.

. Ces Blastes peuvent exprimer les antigènes CD19 et CD56.

### ***✚ LAM 3 ou leucémie aiguë promyélocytaire :***

Les blastes de LAM 3 ont une morphologie caractéristique avec un cytoplasme souvent riche en granulations et donc une morphologie proche des promyélocytes. Il existe toutefois deux formes de LAM 3 : la forme classique LAM3-FAB qui a une Présentation leucopénique ou normo leucocytaire et qui présente des blastes hyper granulaires ayant comme particularité de contenir de très nombreux corps D'Auer qui s'organisent en fagots dans le cytoplasme ; la forme variante LAM3v-FAB est à l'inverse souvent hyperleucocytaires avec des blastes pauvres ou dépourvus de

Granulations. En pratique plus la leucocytose est importante plus les cellules sont hypo granuleuses. Quel que soit l'aspect cytologique, la cytochimie de la myélopéroxydase est fortement positive dans tous les blastes.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Ce sous-type de LAM a pour autre caractéristique d'être presque constamment associé à un syndrome de défibrination et constitue de ce fait une urgence diagnostic.

Ce type de LAM est caractérisée par la présence d'une translocation t(15;17)(q22;q12) qui doit être recherché par cytogénétique ou par hybridation in situ en fluorescence (FISH) pour confirmer le diagnostic.

### **LAM 4 ou leucémie aiguë myélomonocytaire :**

LAM caractérisée par la prolifération de précurseurs neutrophiles et de précurseurs monocytaires. Les critères sont d'une part un pourcentage de blastes dans lequel on inclut les promonocytes  $\geq 20\%$  dans le sang ou dans la moelle, d'autre part un pourcentage de neutrophiles et précurseurs neutrophiles  $\geq 20\%$  et un pourcentage de monocytes et précurseurs monocytes  $\geq 20\%$  dans la moelle. La cytochimie et l'immunophénotypage par cryométrie en flux sont utiles pour confirmer l'implication Des deux lignées. La cytochimie retrouve d'une part le composant myélocytaire avec Une réaction de myéloperoxydase positive et d'autre part elle permet d'identifier les éléments à différenciation monocytaire (monocytes et promonocytes) grâce à une réaction butyrate-estérase positive. Les leucémies aiguës myélomonocytaire sont Souvent hyperleucocytaires. Il existe une forme particulière de LAM 4 qui se Caractérise par la présence d'éosinophiles morphologiquement anormaux dans la Moelle (absent ou très rares dans le sang). Ces LAM 4 avec éosinophiles anormaux (LAM 4Eo) sont associées à une anomalie chromosomique typique, l'inversion du chromosome 16 (p13;q22)(p13;q22) ou son équivalent, la translocation t(16;16)(p13;q22). Les formes hyperleucocytaires de LAM 4Eo sont particulièrement à risque d'atteinte méningée.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

### ***LAM 5 ou leucémie aiguë monoblastique / monocyttaire :***

Dans les deux cas il existe une prolifération monocyttaire avec > 80 % de cellules Leucémiques appartenant à la lignée monocyttaire : monoblastes, promonocytes, Monocytes.

On distingue toutefois deux sous-groupes morphologiques :

Les leucémies aiguës monoblastiques ou LAM 5a peu différenciées dans laquelle il existe > 80 % de monoblastes parmi les cellules d'origine monocyttaire et les Leucémies aiguës monocytaires ou LAM 5b avec différenciation dans laquelle la majorité des cellules sont des promonocytes ou des monocytes (<80% de Monoblastes). La distinction est morphologique et ne présente pas d'importance Majeure sur le plan clinique. En cytochimie la réaction de butyrate-estérase est

Positive alors que la myéloperoxydase est négative. Le tableau clinique typiquement associé est marqué par une hyperleucocytose, un syndrome tumoral avec Hypertrophie gingivale et atteinte cutanée notamment, des troubles métaboliques Avec hypokaliémie et insuffisance rénale. L'atteinte méningée n'est pas rare à la Rechute. Ce tableau peut être également celui des LAM 4 et peut se compléter dans les cas les plus sévères d'un syndrome de leucostase, d'une coagulation

Intra vasculaire disséminée (CIVD) et d'un syndrome de lyse tumorale.

### ***🚩 LAM 6 ou LAM à composante érythroblastiques prédominante :***

Il en existe deux types : l'érythroleucémie ou LAM érythroïde/myéloïde dans laquelle il existe un composant érythrocytaire avec  $\geq 50\%$  de précurseurs érythroblastiques parmi l'ensemble de la population nucléée et un composant myéloblastique avec  $\geq 20\%$  de myéloblastes parmi la population non érythroblastiques ; la leucémie érythroïde pure, elle, correspond à une prolifération tumorale composée de  $\geq 80\%$  D'érythroblastiques dans la moelle osseuse sans composant myéloblastique significatif.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

En règle générale, elles sont souvent associées à des cytopénies sanguines, des signes de dysmyélopoïèse et des anomalies chromosomiques complexes.

Le diagnostic de leucémie érythrocytaire pure est difficile car les érythroblastes peuvent ressembler fortement à des cellules de leucémie de Burkitt, de leucémie mégacaryocytaire, ou à d'autres néoplasies. L'immunophénotypage est essentiel à la description de la lignée.

### **LAM 7 ou LAM mégacaryoblastique :**

Elles sont définies par un pourcentage de blastes  $\geq 20\%$  parmi lesquels  $>50\%$  appartiennent à la lignée mégacaryocytaire. Les blastes sont peu différenciés et négatifs pour la myéloperoxydase, ils peuvent facilement être confondus avec des lymphoblastes. L'immunophénotypage a un apport important dans le diagnostic par la positivité des marqueurs comme les glycoprotéines IIb/IIIa (CD41, CD41b, CD61).

Cette leucémie est souvent associée à une fibrose médullaire, ce qui peut empêcher l'aspiration médullaire et donc l'étude morphologique et l'immunophénotypage rendant le diagnostic encore plus difficile.

Cette classification basée sur la lignée cellulaire est toujours utilisée en routine pour le diagnostic initial lorsque les données sur le sous-type biologique spécifique ne sont pas disponibles, notamment dans les cas des LAM 3 promyélocytaire. La LAM 3 possède la particularité de présenter un tableau clinique typique, avec un syndrome hémorragique cutanéomuqueux franc parfois dramatique (hémorragie intracrânienne) liée à une coagulation intra vasculaire disséminée (CIVD) et une activation aberrante de la fibrinolyse. Il s'agit donc d'une urgence thérapeutique imposant un diagnostic en urgence (dans les heures suivant l'admission) afin de débiter un traitement spécifique et d'éviter un risque de décès rapide.

La classification FAB est également toujours utilisée dans les cas de LAM sans spécificité particulière de la classification OMS, c'est à dire les cas de LAM :

a) sans anomalie cytogénétique ou moléculaire récurrente,

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

- b) sans antécédent de chimiothérapie,
- c) sans dysplasie multi lignée impliquant la majorité des cellules,
- d) sans anomalie cytogénétique de type myélodysplasie, et e) sans association avec un syndrome de Down.

### **1.7.2 CLASSIFICATION OMS :**

Le développement des méthodes de cytogénétiques, de l'immunophénotypage puis de la biologie moléculaire a mis en évidence l'existence d'anomalies récurrentes d'importance pronostique majeure (20). L'OMS a souhaité intégrer ces anomalies récurrentes dans une nouvelle classification en 2001, révisée en 2008.

Cette classification basée sur le regroupement de maladies comportant les mêmes anomalies cytogénétiques et/ou moléculaires permet la détermination des traitements de consolidation de la rémission et la détermination du pronostic à long terme.

#### **Classification OMS 2008 :**

- ❖ LAM avec anomalies génétiques récurrentes :
  - LAM avec translocation t (8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1
    - LAM avec inversion du chromosome 16 (inv.(16)(p13.1q22)) ou translocation(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11
  - LAM promyélocytaire avec t (15;17)(q22;q12); PML-RARα
  - LAM avec translocation t (9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL
  - LAM avec translocation t (6;9)(p23;q34); DEK-NUP214
    - LAM avec inversion du chromosome 3 (inv.(3)(q21q26.2)) ou translocation t (3;3) (q21;q26.2); RPN1-EVI1

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

- LAM (mégacaryoblastique) avec translocation t (1;22) (p13;q13); RBM15-MKL1
  - Entité provisoire : LAM avec mutation de NPM1
  - Entité provisoire : LAM avec mutation de CEBPA
- ❖ LAM associées à des anomalies de type myélodysplasie :
  - LAM thérapies-induites
  - LAM sans spécificité particulière
  - LAM avec différenciation minimale
  - LAM sans maturation
  - LAM avec maturation
  - Leucémie aiguë myélomonocytaire
  - Leucémie aiguë monoblastique/monocytaire
  - Leucémie aiguë érythroïde
    - leucémie aiguë érythroïde pure
    - érythroleucémie, érythroïde et myéloïde
      - Leucémie aiguë mégacaryoblastique
      - Leucémie aiguë basophile
      - Pan myélose aiguë avec myélofibrose
      - Sarcome myéloïde
- ❖ Proliférations myéloïdes liées au syndrome de Down (trisomie 21)
  - Myélopoïèse anormale transitoire
  - Leucémie myéloïde associée au syndrome de Down
  - Néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes

**Classification OMS 2016 :**



<p>LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes</p>	<p><b>LAM avec t(8;21) (q22;q22) ; RUNX1 - RUNX1T1</b>  - LA promyélocytaire avec PML - RARA  - LAM avec inv. (16) (p13.1q22) ou t(16 ;16) (p13.1q22) ;  <b>CBFB - MYH11</b>  - LAM avec t (9;11) (p22;q23) ; <b>MLLT3 - KMT2A (MLL)</b>  - LAM avec t(6;9) (p23;q34) ; <b>DEK - NUP214</b>  - LAM avec inv.(3) (q21q26.2) ou t(3;3) (q21;q26.2) ; <b>GATA2, MECOM</b>  - LAM (mégacaryoblastique) avec t(1;22) (p13;q13) ;  <b>RBM15 - MKL1</b>  - LAM avec mutation <b>NPM1</b>  - LAM avec mutation bi allélique <b>CEBPA</b>  - <b>Entités provisoires : LAM avec BCR-ABL1</b>  <b>LAM avec mutation RUNX1</b></p>
<p>LAM avec anomalies associées aux myélodysplasie</p>	<p>- Soit faisant suite à un syndrome myélodysplasique ou un syndrome myéloprolifératif/dysplasique  - Soit avec anomalie(s) cytogénétique(s) de syndrome myélodysplasique : voir tableau plus bas</p>
<p>Néoplasie myéloïdes post chimiothérapie</p>	<p>Correspondent soit à une LAM-t soit à un SMD-t</p>
<p>Sarcome granulocytaire</p>	<p>On classe ici uniquement les sarcomes myéloïdes de novo sans évidence de maladie médullaire [les sarcomes myéloïdes s'observent soit de novo (présentation inaugurale unique de n'importe quelle LAM), soit accompagnant une LAM avec envahissement myélosanguin, soit comme signe de rechute d'une LAM, soit comme la progression d'un SMP ou d'un SMD/SMP]</p>
<p>Prolifération myéloïde associées à la trisomie 21 constitutionnelle</p>	<p>Réaction leucémoïde transitoire  - LAM associée à la trisomie 21 constitutionnelle</p>

<b>LAM sans spécification par ailleurs (NOS)</b>	LA Myéloblastique avec différenciation minimale - LA Myéloblastique sans maturation - LA Myéloblastique avec maturation - LA myélomonocytaire - LA monoblastique / monocytaire - LA érythroïde pure [l'érythroleucémie (= ancienne LAM6) disparaît en 2016] - LA mégacaryoblastique - LA Myéloblastique à composante basophile - LA avec myélofibrose (pan myélose aiguë)
--	---

## Modification par rapport à la classification OMS 2008

### ➤ LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes.

- LAM avec t(15 ;17) : s'appelle maintenant : leucémie aiguë

Promyélocytaire avec PML-RARA.

- inv.(3)(q21.3q26.2) ou t(3;3)(q21.3;q26.2) : ne correspond pas à un gène de Fusion, mais à un repositionnement distal de l'enhancer de GATA2 pour activer l'expression de MECOM et simultanément entraîner l'haploinsuffisance de GATA2.

- Entité provisoire LAM avec mutation RUNX1 : n'est pas associée à des anomalies liées aux myélodysplasie ; semble associée à un mauvais pronostic.

- Entité provisoire LAM avec BCR-ABL1 : parce qu'il est parfois difficile, sans anamnèse ou renseignements cliniques, de séparer crise blastique de LMC Et LAM de novo avec BCR-ABL1. La délétion de gènes de récepteurs d'antigènes (IGH, TCR), de IKZF1 et/ou de CDKN2A peut permettre le diagnostic différentiel entre la LAM de novo et la phase blastique de LMC.

### ➤ LAM avec dysplasie multi lignées.

- La présence d'une dysplasie multi lignées ne suffit plus pour le classement dans ce groupe (pas de caractère pronostique isolé, mais seulement s'il existe des anomalies cytogénétiques de myélodysplasie)
- Si une mutation de NPM1 ou biallélique de CEBPA est retrouvée : Classement dans les nouvelles entités correspondantes.

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

Tableau des anomalies cytogénétiques suffisantes pour diagnostiquer une LAM avec modifications liées aux myélodysplasie quand il y a > 20% de Blastes dans le sang ou la moelle et qu'une thérapeutique préalable a été exclue :

➤ **Néoplasies myéloïdes post traitement cytotoxique**

Il existe parfois une mutation germinale dans des gènes de susceptibilité au Cancer. Une étude familiale attentive recherchant une telle susceptibilité est Soulignée.

➤ **LAM non caractérisées par ailleurs**

Un seul changement : la LAérythroïde. Les myéloblastes sont maintenant Toujours comptés pour 100 cellules médullaires, et les cas avec  $\geq 50\%$  D'érythroblastes et  $\geq 20\%$  de blastes sont inclus parmi les LAM et les cas avec  $< 20\%$  de blastes parmi les SMD. La majorité de ces LAM se reclasse parmi les LAM avec anomalies de myélodysplasie, et les autres parmi les LAM – NOS. Seule persiste la LAérythroïde pure, définie par :  $> 80\%$  de précurseurs Érythroïdes immatures avec  $\geq 30\%$  proérythroblastes.

➤ **Définition de la nature « myéloïde » des hémopathies.**

Toutes les cellules appartenant aux lignées granulocytaire (neutrophile, Éosinophile, basophile), monocytaire/macrophage, érythroblastiques (érythroïde), Mégacaryocytaire et mastocytaires.

➤ **Remarques concernant les "blastés".**

Myéloblastes, monoblastes, promonocytes et mégacaryoblastes (mais pas les Mégacaryocytes dysplasiques) sont comptés ensemble en « blastés » et ce % Utilisé pour le diagnostic de la LAM en cause  
Proérythroblastes : ne sont pas comptés en « blastés », sauf dans le cas de LA Proérythroïde pure.

## **1.8 DIAGNOSTICS DIFFÉRENTIELS :**

### **8.1 Devant une blastose sanguine :**

Il faut faire la différence avec :

- Les syndromes myélodysplasiques (Anomalies de maturation des cellules souches aboutissant à une hématopoïèse inefficace, avec risque de transformation en LAM), mais ces derniers ont le plus souvent 0-5% de blastes circulants, parfois 5 -19%.
  - Les leucémies aiguës lympho blastiques: morphologie, cytochimie et immunophénotypage permettent le diagnostic différentiel.
  - Les syndromes myéloprolifératif
  - Leucémie myéloïde chronique en phase d'accélération ou en phase blastique
- Myélofibrose primitive au cours de laquelle on observe une érythromyélie et parfois une petite blastose sanguine ;
- Phase de dissémination des lymphomes diffus à grandes cellules (parfois aspect se rapprochant de celui de grands monoblastes) : clinique et histoire de la maladie aident à la différenciation

### **8.2 Devant une blastose médullaire :**

On peut évoquer :

- Une phase de réparation d'agranulocytose ou d'aplasie médullaire : un excès de myéloblastes et de promyélocytes est possible transitoirement. L'histoire de la maladie, l'évolution en quelques jours et l'absence de corps d'Auer sont utiles pour avancer.
- Une partie des syndromes myélodysplasiques : c'est l'aspect de la moelle osseuse qui permet la classification. Le pourcentage de blaste est par définition inférieur à 20%.
- Quelques tumeurs solides : rhabdomyosarcome, cancer du poumon à petites cellules.

### **1.9 Complications :**

Plusieurs cas de figure imposent une prise en charge diagnostique et thérapeutique en urgence :

- ✓ Signes de complications métaboliques : Les cellules tumorales sont capables d'induire spontanément des complications métaboliques liées à la libération massive de produits de lyse cellulaire (syndrome de lyse tumorale) ;
- ✓ Un syndrome de défibrination lié à la libération de facteurs cellulaires à activité pro coagulante. On observe cliniquement un syndrome hémorragique sévère (vastes hématomes, hémorragies viscérales) témoin d'une CIVD ou d'une fibrinolyse ;
- ✓ Un syndrome d'hyperviscosité ou de leucostase : la présence de blastes sanguins peut être massive dépassant 100 Giga/l. Un tel envahissement sanguin blastique engendre des troubles de la microcirculation et de la perfusion tissulaire. Ceci est particulièrement redouté dans les LAM à composante monocytaire (22) ou dans les LAM CD56+ (23).

On peut alors observer:

- Une défaillance respiratoire aiguë avec œdème pulmonaire lésionnel. La leucostase pulmonaire est accompagnée d'une détresse respiratoire, d'hypoxie, et d'un aspect de pneumopathie alvéolo-interstitielle à la radiographie pulmonaire.
- Une leucostase cérébrale génératrice d'anoxie cérébrale, de trouble de la conscience, convulsions, ataxie, nystagmus et troubles sensoriels. La complication la plus redoutable est l'hémorragie intracérébrale.

### **1.10 TRAITEMENT :**

Le schéma thérapeutique des LAM comporte deux grandes phases : l'induction est la consolidation.

- Le traitement d'induction est une phase de réduction tumorale qui a pour objectif d'induire une rémission complète (RC), c'est à dire la disparition apparente de tous les signes cliniques, le rétablissement d'une activité Hématopoïétique normale, la réduction du nombre des cellules leucémiques en dessous du seuil de détection dans le sang, la moelle et les sites extra médullaires. Le schéma le plus classique consiste en une association anthracyclines et cytarabine selon le schéma « 3+7 » (68). Cette chimiothérapie intensive va entraîner une aplasie médullaire, d'une durée de trois semaines en moyenne, nécessitant l'hospitalisation du patient avec Isolement en milieu protégé.

- Les critères de rémission complète sont (69) :
  - ✓ Un pourcentage de blastes médullaires inférieur à 5%,
  - ✓ un taux de polynucléaires neutrophiles dans le sang supérieur à 1 Giga/L,
  - ✓ un taux de plaquettes supérieur à 100 Giga/L,
  - ✓ l'absence de blastes avec corps d'Auer,
  - ✓ la présence de moins de 5 % de blastes dans la moelle osseuse,
  - ✓ l'indépendance aux transfusions de globules rouges,
  - ✓ et la disparition de toutes les atteintes extra-médullaires présentes au diagnostic.
- En cas d'échec, une deuxième cure identique à la première ou utilisant de la cytarabine à fortes doses peut permettre d'obtenir la rémission complète
- La deuxième phase du traitement, la phase de consolidation, a pour objectif l'éradication de la maladie résiduelle. Après trois ans de rémission complète laprobabilité de rechute diminue nettement pour devenir inférieur à 10% (70).

---

## *Les leucémies aiguës myéloïdes*

plusieurs schémas de traitement de consolidation existent : des cures répétées de cytarabine à haute dose, une cure de cytarabine suivie d'une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) ou l'allogreffe.

L'allogreffe de CSH permet de remplacer les cellules leucémiques résiduelles par la moelle osseuse normale d'un donneur HLA compatible.

L'autogreffe de CSH consiste en l'administration d'un traitement supraléthal suivi de la réinjection des CSH du patient prélevées auparavant en rémission complète et cryo préservées. L'avantage par rapport à l'allogreffe est l'absence de réaction immunologique entre le greffon et l'hôte. Par contre il y a absence de réaction immunologique post-greffe et il existe un risque de réinjection de cellules leucémiques résiduelles.

Le choix du protocole thérapeutique va ensuite dépendre les facteurs pronostics spécifiques de chaque patient à savoir l'âge, la présence de comorbidités et les anomalies cytogénétiques et moléculaires.

Dans le cas des leucémies aiguës promyélocytaire LAM3, la prise en charge thérapeutique présente plusieurs particularités (21). D'une part le traitement des LAM3 est une urgence (71) du fait du risque important de CIVD avec activation aberrante de la fibrinolyse. D'autre part la LAM3 est la seule LAM à bénéficier d'un traitement ciblé ; l'acide tout-transrétinoïque (ATRA), qui induit la différenciation des blastes vers le stade de polynucléaires (72). Le traitement des LAM3 consiste donc en la mise sous ATRA per os le plus rapidement possible après l'établissement du

diagnostic puis l'association à une chimiothérapie dans les 3 à 5 jours suivant le diagnostic. L'ATRA est maintenu jusqu'à l'obtention de la rémission. Le traitement de consolidation fait appel à deux ou trois cures d'ATRA associé à de l'anthracyclines dans la majorité des cas. Il existe ensuite un traitement d'entretien par chimiothérapie orale à faible dose et par ATRA sur une période de deux ans.

*Chapitre 02 :*  
*LES INFECTIONS*  
*FONGIQUES*



---

## *Les infections fongiques*

Les levures et les champignons filamenteux sont les deux principaux types de champignons rencontrés en pathologie humaine, parmi ces deux catégories les champignons des genres *Aspergillus* et *Candida* représente la majorité des agents isolés chez l'humain.

### **2.1 ASPERGILLOSE :**

#### **2.1.1 DEFINITION :**

C'est une infection provoquée par des champignons appartenant au genre *Aspergillus* opportunistes pathogènes puisqu'ils profitent d'une défaillance naturelle et iatrogène des systèmes de défense de l'hôte pour l'infecter.

#### **2.1.2 AGENT PATHOGENE :**

Les champignons de genre *Aspergillus* sont des champignons saprophytes cosmopolites, ubiquitaires à filaments hyalins, cloisonnés et ils sont haploïdes. Ils font partie de groupe phylogénétique des Ascomycètes à l'ordre des *Eurotiales* et à la famille des *Trichomaccés* OU *Aspergillacés*

Le genre *Aspergillus* comprend aujourd'hui près de 300 espèces dont une vingtaine est retrouvée en pathologie humaine parmi lesquelles *Aspergillus fumigatus* est l'espèce la plus souvent impliquée (voir figure 13 et 16). *A. FLAVUS*, *A. NIDULANS* (figure 14), *A. NIGER*, *A. VERSICOLOR*, *A. TERREUS* ou d'autres espèces sont moins fréquemment rencontrés

En effet, les *Aspergillus* sont très fréquents dans la nature, ils vivent en saprophyte dans le sol, sur les végétaux, ils sont présents dans l'air, sur les matières organiques en décomposition, ils sont également présents dans l'alimentation et on peut les isoler sur les vêtements, les climatiseurs et les humidificateurs d'air. Cette présence dans l'air leur permet la dissémination des spores dans l'atmosphère.

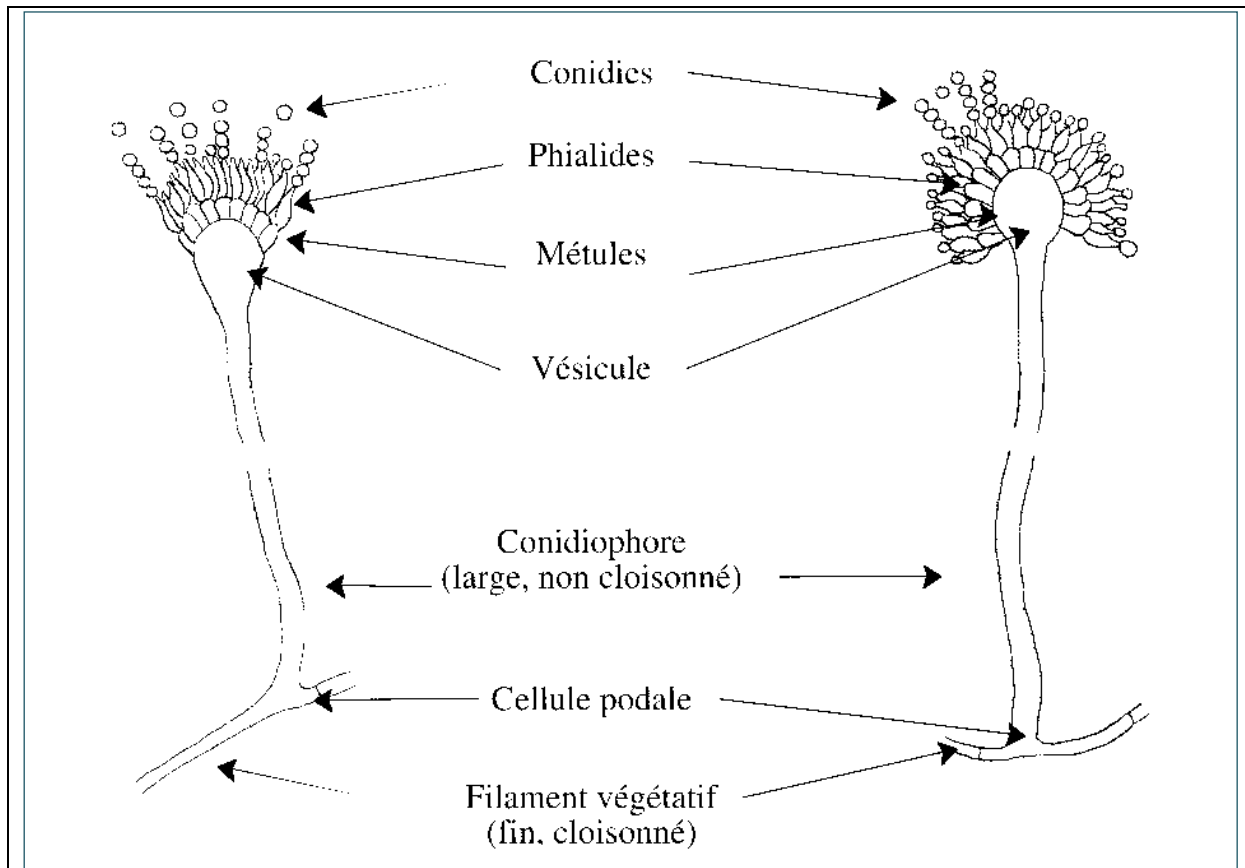
Ces champignons ont un métabolisme aérobie, de plus ils participent au recyclage du carbone et de l'azote de l'environnement, ils sont thermophiles et ne requièrent pas de nutriments spécifiques.

---

## *Les infections fongiques*

Leur survie dans le milieu extérieur elle est quasiment illimitée car ces champignons sont essentiellement saprophytes. Leur résistance aux agents extérieurs est également importante, en effet parmi les agents physiques, seules la dessiccation et la chaleur à 100°C peuvent tuer les spores, de plus le froid ne les affecte pas.

Les *Aspergillus* sont caractérisés par un thalle végétatif formé de filaments mycéliens hyalins, ces filaments sont de diamètre fin et régulier, ils sont septés et ramifiés. L'identification du genre *Aspergillus* repose sur la mise en évidence des têtes *Aspergillaires* à l'examen microscopique. en effet sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés non cloisonnés appelés conidiophores. ces conidiophores se terminent par une vésicule de taille variable sur laquelle sont disposés les cellules conidiogènes ou phialides. La conidiogénèse s'effectue sur le mode blastique phialidique par bourgeonnement à l'apex des phialides. La d'une série de spores ou conidies qui restent collés les une au autres en chaînes non ramifiées. les spores unicellulaires sont de formes variables globuleuse ou elliptiques et sont de pigmentations diverses. les phialides. La sont soit directement insérées sur la vésicule (tête unisériées), soit portées par des petits articles insérées sur la vésicule : les métules (têtes bisériées). ensemble vésicule/phialides./conidies constituent la tête *Aspergillaires* caractéristique du genre *Aspergillus* (voir figure 12 et 15). la germination des spores se fait en 2 étape Dans des conditions adéquates, les conidies gonflent. Cette Phase de croissance iso-diamétrale dure 3 à 4h à 37°C. Après cette phase de gonflement, la croissance devient polarisée. En effet, On observe l'apparition d'un tube germinatif qui va s'allonger progressivement et Produire un filament ramifié qui formera la colonie typique de tous les champignons filamenteux.



**Figure12: Aspect morphologique de l'*Aspergillus*.**

Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur milieu de Sabouraud additionné d'antibiotiques. Ils sont cependant en majorité inhibés par l'actidione. Après 24 à 48h de culture, on peut observer des colonies plates, formées de courts filaments aériens blancs. C'est suite à la maturation des structures conidiogènes (48 à 96h) que les colonies présentent leur teinte caractéristique : brune, verte, jaune, ou même noire selon les espèces. La couleur de la culture permet une orientation rapide du diagnostic d'espèce. Les *Aspergillus* se développent bien sur les milieux classiques de mycologie comme celui de Sabouraud. Mais si nécessaire, leur fructification peut être stimulée par repiquage de la colonie sur une gélose au malt, ou sur milieu de Czapek qui constituent leurs milieux de référence. Enfin, les *Aspergillus* poussent à 22-25°C et à 37°C pour les espèces qui sont thermophiles.

---

*Les infections fongiques*



Figure13:*A.fumigatus*

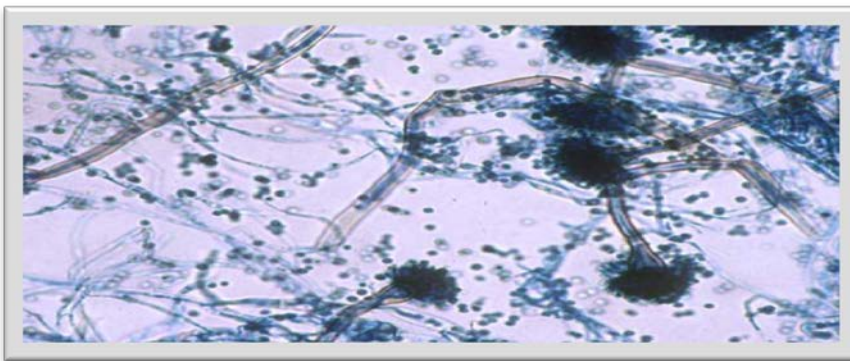


Figure14:A .*nidulans*

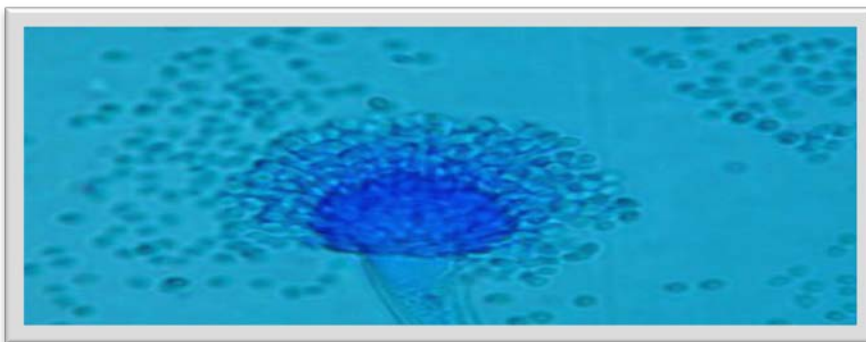


Figure 15:tête cnidienne en microscopie optique, avec une rangée de phialides sur laquelle se projettent les spores; qui se dispersent en périphérie

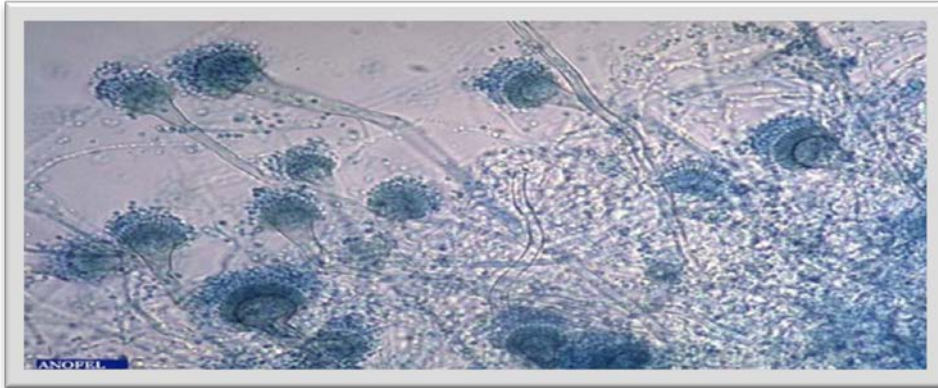


Figure16:*A.fumigatus*

### **2.1.3 FACTEURS FAVORISANTS :**

#### **2.1.3.1 Facteurs liés à l'hôte :**

Ce sont les conditions locales et/ou générales qui contribuent le plus au développement du champignon Chez son hôte. Parmi les principaux facteurs favorisants, on retrouve :

- Des facteurs locaux : perte d'intégrité des épithéliums cutanés ou muqueux, notamment l'altération du Tapis muco-ciliaire, cavités préformées, etc....
- Des facteurs généraux : neutropénie et/ou diminution de la capacité de phagocytose des macrophages Alvéolaires et des polynucléaires neutrophiles, primitives ou résultant d'immunosuppressions
- Iatrogènes (greffe de moelle osseuse, greffe d'organes solides, immunosuppresseurs, corticoïdes, Cytolytiques, antibiotiques, etc....) ou plus rarement, viro-induites.
- Des facteurs environnementaux: toute source de poussières dissémine les spores. Les travaux intra Hospitaliers ou proches des services à risque non protégés peuvent être à l'origine de cas Groupés d'aspergilloses graves.

#### **2.1.3.2 Facteurs liés à l'agent pathogène :**

Parmi les principaux éléments qui participent au pouvoir pathogène de ces champignons, on retrouve :

---

## Les infections fongiques

- La petite taille des spores (2 à 3  $\mu\text{m}$  de diamètre pour *A. fumigatus*) leur donnant la possibilité d'atteindre les alvéoles pulmonaires
- la thermo tolérance jusqu'à 55°C pour *A. fumigatus*) permettant leur développement chez leur hôte à 37°C
- la capacité d'adhérence à la membrane basale (via le fibrinogène, la laminine, la fibronectine, etc...) et la capacité d'induire des microlésions et des ulcérations vasculaires par le biais de toxines nécrosantes,
- Le tropisme vasculaire (en particulier pour les *Aspergillus*; les *Fusarium* et les mucorales),
- La production de mycotoxines impliquées dans des processus de sensibilisation responsables de Manifestations allergiques.

### 2.1.4 MODE DE CONTAMINATION :

Les spores d'*Aspergillus* étant en suspension dans l'air, leur inhalation est obligatoire et quotidienne. La voie principale de pénétration dans l'organisme est respiratoire, c'est donc l'appareil broncho-pulmonaire qui est le plus fréquemment concerné par la maladie Aspergillaires. Dans certaines circonstances, comme lors de la manipulation de grains ou de foin moisissus, l'inhalation des spores peut être massive. Dans ce cas, le champignon est retrouvé dans l'expectoration pendant plusieurs jours après la contamination, que le sujet soit malade ou non. La voie aérienne est aussi responsable des localisations sinusiennes. Plus rarement, une contamination directe est possible par dépôt de spores sur des plaies ou brûlures, ou un site opératoire, et peut aboutir à des infections locales à risque de dissémination en fonction du contexte clinique. On peut alors observer des infections cutanées comme les otomycoses du conduit auditif, ou des surinfections chez les brûlés, voire des atteintes oculaires chez les personnes portant des verres de contact. De façon exceptionnelle, le champignon peut contaminer des Solutés injectables (soluté de perfusion, liquide de dialyse).

### **2.1.5 PHYSIOPATHOLOGIE :**

La contamination se fait par inhalation des spores ; ce qui explique la grande fréquence des atteintes pulmonaires et des voies aériennes supérieures .à partir des vois aériennes Supérieures l'invasion locale et systémique se fait par voie hématogène, la sphère pulmonaire est donc le siège privilégié des infections à *Aspergillus*

Le pouvoir pathogène des *Aspergillus* s'exerce de deux façons : pouvoir infectieux et pouvoir allergisant.

➤ **Le pouvoir infectieux :**

L'atteinte respiratoire résulte de 3 paramètres:

- Le type et la quantité d'agents inhalés
- L'état anatomique des poumons
- Les défenses immunitaires de l'hôte

En effet la colonisation de l'arbre trachéo-bronchique par un champignon passe par une Inhalation de spores fongiques. Cette inhalation est une condition nécessaire, mais Généralement non suffisante à l'infection, sauf lors d'une exposition massive qui peut Aboutir à une infection aiguë. Mais souvent la mycose pulmonaire ne peut se développer Qu'en cas d'environnement favorable chez l'hôte. De plus, on note que l'état anatomique duPoumon modifie la réponse locale de l'hôte, La perte d'intégrité des épithéliums, Notamment l'altération du tapis muco-ciliaire et les cavités préformées sont des facteurs Favorisant les atteintes par *Aspergillus*.

La diminution des défenses immunitaires générales de l'hôte (que ce soit les polynucléaires Neutrophiles ou les composants de l'immunité cellulaire) fait également partie des facteurs Qui majorent la sensibilité au champignon et par conséquent la gravité de l'infection.

Une fois ingérées les spores vont germer dans le parenchyme pulmonaire, un mycélium se Forme, favorisé par le caractère thermophile d'*Aspergillus* qui peut se cultiver jusqu'à 45°C. De plus ces espèces présentent un tropisme vasculaire important, ce qui leur permet D'atteindre la circulation générale et donc d'autres organes.

---

## Les infections fongiques

Ceci est possible grâce à la Capacité de synthèse de protéinases et de toxines nécrosantes provoquant ainsi des Phénomènes hémorragiques.

➤ **Le pouvoir allergisant :**

Est dû au caractère pneumo allergique de Spores, qui secrètent des mycotoxines provoquant ainsi différents types de réactions d'hypersensibilité.

. Plusieurs types de substances toxiques ont été mis en évidence chez les *Aspergillus*.

Tout d'abord des endotoxines, par exemple :

☐☐ La fumigatoxine, de poids moléculaire élevé est une endotoxine isolée des filaments mycéliens des souches très pathogènes d'*A. Fumigatus*. Cette toxine Paraît agir en inhibant les récepteurs du GABA de la contraction musculaire ; De plus elle est très antigénique.

☐☐ Une autre endotoxine, l'acide phtioïque, isolée aussi d'*A. Fumigatus* est Identique à l'acide phtioïque du bacille tuberculeux. C'est un acide gras à Longue chaîne dont la toxicité aiguë est faible. Elle provoque une Inflammation de la rate et la formation de granulomes, notamment dans les Poumons.

L'ensemble des endotoxines des *Aspergillus* parasites détermine aussi des accidents Nécrotiques locaux, et des phénomènes hémolytiques.

Les *Aspergillus* élaborent également des toxines diffusibles, produits de leur métabolisme, et des enzymes protéolytiques, notamment :

☐☐ Une glycoprotéine résistant à la protéase.

☐☐ La gliotoxine qui inhibe la phagocytose et la formation des lymphocytes T Cytotoxiques.

☐☐ Il en est de même d'une hémolysine.

☐☐ Une protéinase élastinolytique (élastase) qui lyse l'élastine (protéine du tissu Conjonctif et de la paroi artérielle). Une exo protéase fibrinogénolytique qui dégrade les tissus et permet la Dispersion du parasite.



---

## *Les infections fongiques*

□□ Enfin, même s'il ne s'agit pas d'une toxine, on observe l'élaboration au cours du métabolisme des *Aspergillus*, d'acide oxalique. Il en résulte le dépôt de Cristaux d'oxalate de calcium en diverses lésions d'aspergillose et des Phénomènes de nécrose dus à l'acide oxalique lui-même. Cette oxalose Semble être propre à l'infection par *Aspergillus Niger*. Tous ces effets liés à l'élaboration de toxines Aspergillaires expliquent l'existence de divers syndromes, notamment de syndromes nerveux sans colonisation de L'encéphale par les parasites, de la formation *in situ* de cavernes consécutives à la nécrose tissulaire, des syndromes d'immunodépression d'autant plus graves que les Parasites se sont déjà installés sur un terrain immunodéprimé En règle générale les toxine Aspergillaires sont thermolabiles et détruites en 15 minutes à 60°C.

### **2.1.6 STRATEGIE DIAGNOSTIC :**

Les atteintes pulmonaires dues à l'*Aspergillus* sont nombreuses et variées, Leur type est fonction de l'état anatomique local, de l'état Immunologique général et la réaction entre le champignon et l'hôte.

Sur un terrain atopique, une allergie de type I sera responsable d'un asthme Aspergillaires.

Une allergie de type III sera responsable d'une aspergillose broncho-pulmonaire allergique.

Après une inhalation massive, une allergie de type IV sera responsable d'une alvéolite Allergique extrinsèque ou pneumopathie d'hypersensibilité pouvant évoluer vers la fibrose.

Une immunodépression locale (ex : diminution des macrophages due à une caverne Détergée ou à des bronchectasies) sera responsable d'une colonisation Aspergillaires avec Formation d'un aspergillome. Si le champignon devient plus invasif localement, on pourra Observer une trachéobronchite micro-invasive.

---

## *Les infections fongiques*

Un déficit de l'immunité globale (Corticothérapie prolongée, aplasie, greffe de moelle osseuse, SIDA, hémopathie maligne, Neutropénie, traitement immunosuppresseur...) sera responsable d'une dissémination de *L'Aspergillus* au niveau du parenchyme pulmonaire mais aussi dans l'ensemble de L'organisme. On parle alors d'aspergillose pulmonaire invasive. Elle se caractérise par la Pénétration intra-tissulaire, et notamment intra-vasculaire pulmonaire du champignon qui Sera responsable de nécroses aiguës ou extensives chroniques : aspergillose chronique Nécrosante. La possible dissémination dans l'organisme provoquera des aspergilloses Invasives extra-pulmonaires

### **2.1.6.1 ASPERGILLOME :**

Il s'agit d'une entité Aspergillaires complètement différente, l'aspergillome consiste en un développement local, contrôlé par l'immunité anti-infectieuse de l'hôte. (Figure 18 et 19).

Parmi l'ensemble des atteintes broncho-pulmonaires par *Aspergillus*, L'aspergillome bronchectasiant se caractérise par la localisation unique, d'une masse de filaments mycéliens d'*Aspergillus* dans une cavité pulmonaire généralement préformée. Cette truffe Aspergillaires incluse dans une cavité tapissée de muqueuse bronchique se développe Lentement sur place et n'a aucune tendance à perforer la muqueuse et à se disséminer. En effet, le développement d'une colonie d'*Aspergillus* dans une cavité préformée qui communique avec l'arbre aérien par une ou plusieurs bronches, permet l'arrivée des spores et l'aération de la cavité. Les spores vont alors germer d'autant plus facilement que les conditions d'humidité et d'oxygénation sont très favorables.

L'absence ou l'insuffisance des défenses locales, notamment macrophagiques, liée à l'aspect pathologique du revêtement interne de la cavité, permet la germination des spores et le développement d'une masse mycélienne : la truffe Aspergillaires (figure 17). Cette boule fongique comble progressivement la cavité. La sphère Aspergillaires, de 1 à 4 cm de diamètre ou plus, a effectivement un aspect bosselé et la consistance d'une truffe.

---

## Les infections fongiques

Sa teinte est variable, brune, pourpre ou mastic. Elle est donc formée de filaments mycéliens enchevêtrés de diamètres irréguliers, dilatés en périphérie. La masse fongique est libre dans la cavité.

La cavité peut être d'origine variable :

- Cavité résiduelle d'une tuberculose
- Abscesses à pyogènes
- Carcinome pulmonaire
- Poumon radique
- Bronchectasie
- Bulle d'emphysème
- Dilatation des bronches
- Dystrophie poly kystique congénitale.

Au départ le champignon est vivant et les seules manifestations de sa présence sont des hémoptysies. Elles peuvent se renouveler longtemps sans qu'apparaissent aucuns autres signes. Ces saignements sont provoqués par la production locale d'une toxine nécrosante. L'action pathogène est double : d'abord mécanique par dilatation, compression ou obstruction, le développement se révélant par des hémoptysies. Il faut souligner le tropisme particulier des *Aspergillus* pour les vaisseaux qui apportent les éléments indispensables. Ensuite l'action pathogène est *toxique* par la production de toxines nécrosantes. Responsables de l'ulcération des parois vasculaires, d'où le caractère récidivant des hémoptysies.

Les hémoptysies peuvent se répéter à intervalle de quelques mois pendant des années sans entraîner d'inconvénients majeurs. Cependant d'autres symptômes peuvent être observés : fièvre, toux, expectorations purulentes, asthénie et amaigrissement.

A la radio l'image caractéristique est dite « en grelot » (figure 20). On observe alors la partie de la cavité non encore obstruée qui forme un croissant aérien clair au-dessus et sur les côtés de la boule fongique, qui apparaît opaque.

---

## *Les infections fongiques*

Même si l'aspect radiologique de l'aspergillome est caractéristique, et que la présence d'*Aspergillus* dans les expectorations est fréquente, le sérodiagnostic reste l'examen clé. Concernant le traitement de l'aspergillome est l'exérèse chirurgicale.



Figure 17: aspect macroscopique d'une truffe Aspergillaires

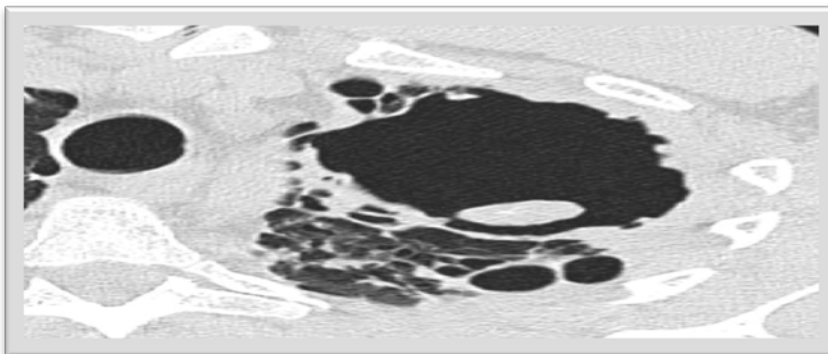


Figure 18: Aspergillome au sein d'une large cavité

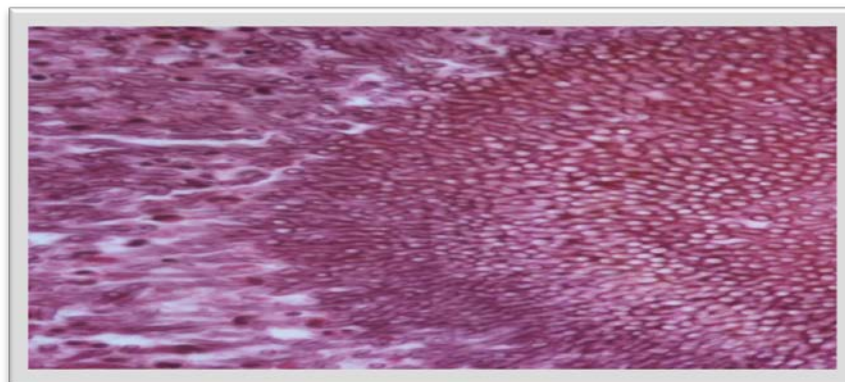


Figure 19: Aspergillome dans une pièce de lobectomie en coupe, tous les filaments ont la même orientation



Figure 20:Image en grelot

## **2.1.6.2 LES ASPERGILLOSES IMMUNO-ALLERGIQUES :**

### **2.1.6.2.1 ASPERGILLOSE BRONCHO PULMONAIRE ALLERGIQUE :**

Elle s'inscrit dans le groupe des affections secondaires à des réactions d'hypersensibilité envers l'*Aspergillus*. Elle est aussi appelée maladie de Hinson-Pepys.

Différents facteurs contribuent au développement d'une ABPA, notamment un terrain atopique, auquel s'associe une colonisation bronchique par *Aspergillus*

L'ABPA provoque initialement un malaise, une toux, des sibilances, une dyspnée puis des bronchospasmes et des œdèmes pulmonaires. Le syndrome inflammatoire évolue vers une atteinte de la paroi des bronches, une bronchectasie et la fibrose pulmonaire, avec une possible évolution vers l'insuffisance respiratoire.

En effet, le diagnostic est difficile et souvent tardif, Toutefois il se révèle être plus aisé en phase d'exacerbation, où il repose sur l'association d'une dyspnée fébrile avec infiltrats pulmonaires et de signes biologiques de réaction d'hypersensibilité immédiate

(Hyper éosinophilie sanguine, augmentation des IgE totales) et semi retardée

(Synthèse d'anticorps précipitant antiaspergillaires, augmentation des titres des anticorps réaginique spécifiques IgE, IgA et IgG).

---

## Les infections fongiques

Les caractéristiques radiologiques de l'ABPA incluent des opacités fugaces des alvéoles pulmonaires, des bronchectasies plutôt proximales souvent dans le lobe supérieur, un épaississement des parois bronchiques

Au total Le diagnostic est fondé sur plusieurs critères

- ❖ Notamment des critères majeurs :
  - ✓ Asthme
  - ✓ Infiltrats pulmonaires
  - ✓ Eosinophilie sanguine supérieure à 500/mm<sup>3</sup>
  - ✓ IgE totales supérieures à 2000 UI/ml
  - ✓ Tests cutanés positifs envers *Aspergillus* en lecture immédiate
  - ✓ Présence d'anticorps précipitant envers *Aspergillus* : IgG
  - ✓ Présence de bronchectasies proximales
- ❖ Mais également sur des critères mineurs :
  - ✓ Présence d'*Aspergillus* dans l'expectoration (figure 21).
  - ✓ Présence de moules bronchiques dans l'expectoration
  - ✓ Tests cutanés positifs envers *Aspergillus* en lecture retardée



Figure21:Examen direct de crachat chez un patient ayant une ABPA

### 2.1.6.2.2 ASTHME ASPERGILLAIRE :

Il se traduit par un asthme sans colonisation, contrairement à l'ABPA, qui survient et s'aggrave dans des conditions de forte exposition aux spores Aspergillaires.

---

## *Les infections fongiques*

Il s'inscrit dans un contexte atopique et est accompagné de signes biologiques d'hypersensibilité immédiate.

Le matériel fongique se comporte comme tout autre allergène, les sujets Produisant des anticorps réaginique IgE. Il s'agit donc d'un asthme de type I avec réaction cutanée immédiate positive pour les extraits antigéniques d'*Aspergillus*. Les réactions sont souvent croisées entre les différentes espèces. Les tests de provocation par inhalation donnent une Réponse immédiate. Cet asthme Aspergillaires est alors accompagné d'une hyper éosinophilie sanguine et d'une augmentation des IgE spécifiques anti-aspergillaires, mais sans précipitines.

### **2.1.6.2.3 L'ALVEOLITE ALLERGIQUE EXTRINCEQUE :**

Il s'agit d'une alvéolite lymphocytaire provoquée par une inhalation massive et répétée de spores fongiques. Contrairement à l'asthme Aspergillaires, elle survient essentiellement chez des sujets non atopiques .Les circonstances d'exposition sont surtout liées à des risques Professionnels ; quelques heures après l'exposition, le sujet présente un épisode de broncho-pneumopathie d'allure grippale avec une toux, une dyspnée, de la fièvre, des frissons, des râles crépitants pulmonaires bilatéraux, mais sans signe d'asthme, ni éosinophilie sanguine. L'expectoration est mucopurulente ou hémoptoïque. Un épisode de ce type peut durer entre 24 et 48 heures. Il s'agit d'une hypersensibilité de type IV avec une Réaction semi-retardée 6 à 8 heures après l'inhalation. La répétition des accès peut conduire à la chronicité avec un tableau d'asthénie, d'insuffisance respiratoire chronique par fibrose interstitielle, ou de bronchite chronique. Les examens radiologiques montrent des images réticulo-nodulaires ou miliaires. Le lavage-broncho-alvéolaire permet souvent de mettre en évidence une hyper lymphocytose à lymphocyte CD8+. Les biopsies pulmonaires peuvent montrer des infiltrats lympho-plasmocytaires interstitiels et des granulomes. L'enquête allergologique est habituellement négative, c'est pourquoi la détection de précipitines en l'absence de tout terrain atopique contribue au diagnostic.

### **2.1.6.3 ASPERGILLOSE PULMONAIRE INVASIVE(API) :**

C'est la forme clinique la plus grave et elle peut être de très mauvais pronostic. Elle touche les patients immunodéprimés présentant une aplasie et une neutropénie profondes.

C'est une pathologie fréquente dans les services d'hémo-oncologie et dont le diagnostic est difficile à poser, Cette infection constitue une complication très grave chez les patients atteints d'hémopathies malignes car le taux de mortalité peut atteindre jusqu'à 50% au cours des neutropénies chimio induites. Après la population des patients allogreffes, la population de patients atteints de LAM est la plus touchée avec un taux d'infection de 10% en post induction ou au cours du traitement de consolidation

La sévérité de l'infection repose à la fois sur la pathologie sous-jacente du patient, ainsi que sur la précocité du diagnostic qui permettra de choisir le bon traitement parmi tout l'arsenal antifongique.

#### **❖ STRATEGIE DIAGNOSTIC DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE INVASIVE :**

##### **2.1.6.3.1 Diagnostic clinique :**

Les filaments mycéliens prolifèrent d'abord à la surface et dans la lumière d'une bronche, puis la traversent et envahissent les tissus avoisinants, colonisant plus particulièrement les petits vaisseaux qu'ils thromboses. Il en résulte un infarctus local. Quand le processus touche des vaisseaux de plus grande taille, c'est tout un segment pulmonaire qui est touché. De plus, l'invasion des capillaires peut permettre une diffusion hématogène de l'infection .Les manifestations cliniques ne sont pas spécifiques : une fièvre résistante aux antibiotiques à large spectre accompagnée avec des frissons, toux, hémoptysie ;dyspnée, douleur thoracique. Elles ressemblent à celles d'une pneumopathie bactérienne, virale, parasitaire ou néoplasique, mais ne réagissent pas aux traitements spécifiques de ces maladies.



### **2.1.6.3.2 Diagnostic radiologique :**

Face à la non spécificités des signes cliniques ; l'imagerie médicale est une aide précieuse au diagnostic notamment l'aspergillose .La radiographie pulmonaire peut être tout à fait normale au départ ou bien présenter des anomalies aspécifiques d'une API (des nodules uniques ou multiples(figure 22), des masses ou infiltrats flous et non systématisés, une condensation alvéolaire triangulaire à base pleurale correspondant à un infarctus pulmonaire)(figure 23) d'où le recours à des techniques d'imagerie par scanner qui permettent d'avoir un diagnostic précoce de l'API. Deux signes visibles au scanner sont particulièrement évocateurs d'une aspergillose invasive :

- Le premier est le signe du Halo situé à la périphérie d'une lésion. C'est une image en verre dépoli qui correspond à une zone hémorragique. Cette image apparaît très tôt chez le patient neutropénique atteint d'une aspergillose invasive (au cours de la première semaine)
- Le signe du croissant gazeux correspond à une cavité formée, il est plus tardif et moins spécifique.

Le signe de halo qui présente un signe précoce est visible quelques jours en phase d'aplasie, c'est une opacité en verre dépoli en couronne autour de la lésion parenchymateuse et correspondant au liseré hémorragique périphérique de l'infarctus. Ce halo est hautement évocateur d'aspergillose mais peut être aussi évocateur d'une autre infection bactérienne, d'une tumeur. (Figure 24).

Lors de la phase de la restauration de la neutropénie peut apparaître une image en croissant gazeux.

Les lésions évoluant vers l'apparition de cavitation au sein des opacités, la cavitation est liée à la détersion de la lésion par les polynucléaires, à cette période le risque de l'hémoptysie est maximal.

---

*Les infections fongiques*

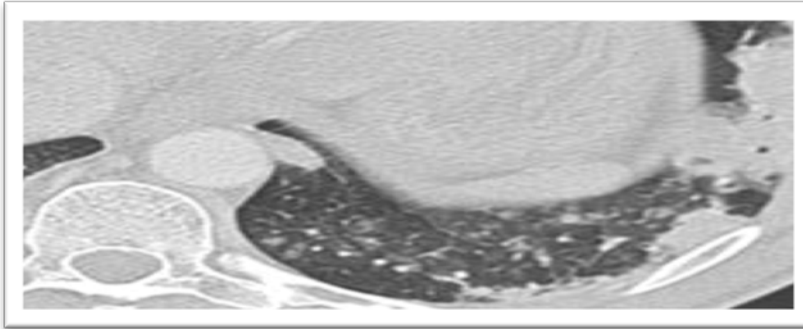


Figure22:image radiologiques des micronodules

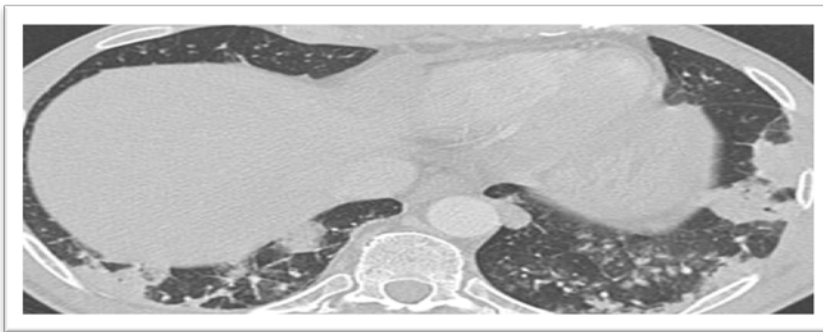


Figure23:condensations bilatérales

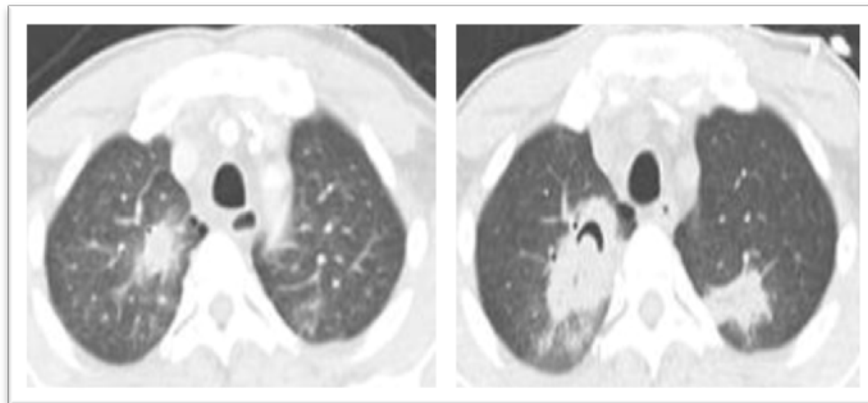


Figure24:signe de halo et le signe de croissant gazeux

---

## *Les infections fongiques*

### **2.1.6.3.3 Diagnostic biologique :**

Le diagnostic des infections Aspergillaires est très difficile car il se heurte à plusieurs difficultés :

- ✓ Ces champignons sont présents dans l'environnement d'où une éventuelle contamination du prélèvement.
- ✓ Les prélèvements histologiques sont difficiles à réaliser chez les patients immunodéprimés.
- ✓ La plupart des patients notamment en hématologie reçoivent des traitements antifongiques à titre prophylactique ou empirique ce qui interfère avec la positivité des cultures.
- ✓ La présence d'un champignon opportuniste ne signe pas forcément une infection invasive mais une possible colonisation.

Ce qui nécessite une grande prudence dans l'interprétation des résultats de l'investigation biologique. Cette investigation comprend plusieurs catégories d'examen : mycologique (isolement et caractérisation du champignon), anatomopathologique, et sérologique (dont les résultats doivent être confrontés avec la clinique).

#### **2.1.6.3.3.1 Les prélèvements :**

Ils peuvent être ciblés, en fonction des différents points d'appel cliniques, ou sanguin pour la mise en évidence d'une dissémination hématogène. Chaque prélèvement doit se faire dans des conditions strictes d'asepsie, dans un récipient stérile, et doit être conservé à +4°C en attendant son acheminement rapide au laboratoire.

La porte d'entrée étant la voie pulmonaire, les prélèvements se feront donc dans la Sphère broncho-pulmonaire :

- Secrétions bronchiques recueillies par fibro-aspiration.
- Liquide de lavage broncho-alvéolaire.
- Expectorations.
- Liquide pleural.
- Biopsie

---

## *Les infections fongiques*

D'autres prélèvements peuvent également être mis en culture notamment le liquide Céphalorachidien et les ponctions des sinus.

### **2.1.6.3.3.2 Examen mycologique :**

Cet examen doit être réalisé par un laboratoire expérimenté, et doit systématiquement être associé à un examen direct et une mise en culture sur milieu spécifique approprié. La valeur supérieure d'un examen positif sur un échantillon provenant d'un site stérile, par rapport à un échantillon provenant d'un site potentiellement colonisé.

S'applique à toutes les moisissures mais tout particulièrement aux *Aspergillus* du fait de leur caractère ubiquitaire.

#### **2.1.6.3.3.2.1 EXAMEN DIRECT:**

L'examen direct s'effectue à l'état frais puis cette première lecture est complétée par diverses colorations. Cet examen permet une orientation rapide du diagnostic mais ne permet en aucun cas un diagnostic de genre ou d'espèce.

Cet examen s'effectue en milieu humide entre lame et lamelle avec éventuellement ajout d'un agent dissociant comme la potasse à 10%, qui permet d'éclaircir le milieu, ou le bleu lactique. Ces derniers mesurent entre 2 et 4 µm de diamètre, ils apparaissent hyalins, septés et parfois ramifiés. L'observation des têtes Aspergillaires est beaucoup plus rare

(Prélèvement au cours de sinusite, otite ou aspergillome) mais offre une forte spécificité. Certaines méthodes de marquage ou de coloration (imprégnation argentique, coloration de Giemsa) peuvent être utilisées car elles ont l'avantage d'être assez sensibles et rapides à mettre en œuvre.

Il est important de rappeler :

- ✓ Que les filaments mycéliens et les têtes Aspergillaires ne sont décelables qu'au niveau des localisations en des points humides et aérés, et, d'un point de vue pratique, dans les prélèvements ayant la coloration jaune vert-brun que leur confère l'appareil sporifère des *Aspergillus*.
- ✓ qu'au sein des tissus ces filaments peuvent être très modifiés.

---

## *Les infections fongiques*

Que les filaments Aspergillaires sont à différencier des filaments des *Mucorales*, qui peuvent intéresser les mêmes organes que les aspergilloses. Les filaments des *Mucorales* sont de diamètre supérieur (10 à 12  $\mu\text{m}$ ), ils ne sont pas septés et leurs ramifications sont irrégulières.

### **2.1.6.3.3.2 CULTURE :**

Elle permet l'identification précise du genre et de l'espèce du champignon.

Elle est réalisée sur milieu fongique spécifique coulé dans une boîte de Pétri ou en tube. Les milieux que l'on utilise classiquement sont ceux de Sabouraud Dextrose Agar. On peut y ajouter des antibiotiques comme le chloramphénicol ou la gentamycine, ce qui permet de limiter les proliférations bactériennes, surtout pour les prélèvements potentiellement

multi-contaminés. Par contre, il faut éviter l'utilisation d'actidione dans le milieu de Sabouraud car elle inhibe la croissance des *Aspergillus*). Le milieu de Czapek est également utilisé, en deuxième intention, car il permet d'étudier la macroscopie et la vitesse de croissance. Enfin le milieu à l'extrait de malt peut aussi être utile, notamment car il permet un examen microscopique optimal grâce à l'apparition de fructifications abondantes les géloses sont ensuite placées à l'étuve et incubées à 37°C.

Les *Aspergillus* se développent en moyenne en 2 à 5 jours à cette température.

L'aspect macroscopique (observation de l'aspect des colonies recto/verso à l'œil nu)

Met en évidence des colonies duveteuses au départ, plates, veloutées qui deviennent poudreuses et colorées suite à la fructification au bout de 72 heures (libération des spores). On aura ainsi des colonies poudreuses de couleur vert foncé s'il s'agit d'*Aspergillus Fumigatus*, (figure 25) ou bien des colonies de couleur noire s'il s'agit d'*Aspergillus Niger*.

L'aspect microscopique met en évidence la structure de l'espèce. On observera alors la forme des filaments septés, et l'aspect des têtes Aspergillaires.

---

## Les infections fongiques

Dans le cas de *Aspergillus fumigatus*, ces têtes Aspergillaires sont unies, striées, en colonnes avec des vésicules hémisphériques, des conidiophores courts et lisses et des phialides directement portées par la vésicule. Ces colonies au départ vert foncé deviennent rapidement gris noirâtre.

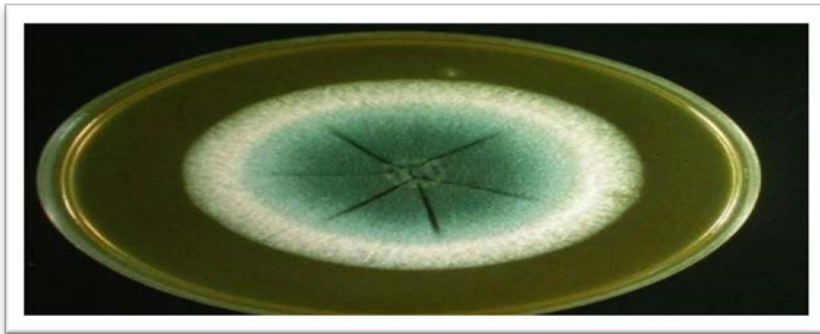


Figure 25: culture de 8j d'*Aspergillus fumigatus*

### 2.1.6.3.3 Examen histologique :

L'histopathologie permet de mettre en évidence un agent fongique dans un liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), une biopsie ou une pièce opératoire. Dans l'aspergillose invasive du sujet neutropénique, la sensibilité de l'examen cytologique du LBA est faible (30 à 50%). En ce qui concerne les biopsies, elles ont des indications restreintes liées à l'état du patient, au risque hémorragique et à la localisation des lésions

Voici les différents prélèvements et techniques utilisés lors du diagnostic histologique

Des aspergilloses :

- Le LBA : Cette méthode est la plus simple et la moins traumatisante. De plus elle permet une mise en évidence de nombreux agents pathogènes par les colorations usuelles.
- Le brossage bronchique protégé : Il est considéré comme moins sensible que le LBA dans l'aspergillose
- La fibroscopie et biopsies trans-bronchiques : Ce sont des techniques lourdes, Aggressives, et difficiles à mettre en œuvre à cause du risque majeur.

---

## Les infections fongiques

- Les biopsies pulmonaires chirurgicales : C'est également une technique extrêmement lourde et rarement mise en œuvre.

L'histologie reste cependant l'un des outils majeurs du diagnostic mycologique, c'est un examen précieux dont la positivité permet à elle seule d'affirmer le diagnostic d'infection fongique invasive. La découverte de filaments mycéliens permet d'affirmer le diagnostic de mycose, mais elle ne permet pas de distinguer l'aspergillose des autres mycoses présentant le même aspect histologique. C'est pourquoi cet examen doit toujours être associé à une étude mycologique.

L'histologie classique utilise des techniques de coloration non spécifiques (comme HES = hémalum éosine safran) ou spécifiques (comme PAS = periodic acide Schiff, ou Des techniques d'imprégnation argentique = GomoriGrocott, Musto). L'HES est une Technique rapide, peu onéreuse et qui permet la visualisation de la réponse tissulaire De l'hôte. Le PAS permet une meilleure visualisation des éléments osidiques et Fongiques, qui sont souvent difficile à discerner à l'HES, tout en conservant la Possibilité d'observer la réponse tissulaire. Enfin, les techniques d'imprégnation Argentique qui colorent la paroi fongique en sombre, permettent de mettre en Évidence l'ensemble des éléments mycéliens, mais ne permettent pas d'analyser la Réponse tissulaire de l'hôte.

Dans le cas des aspergilloses, l'examen histologique montre des filaments mycéliens Septés de type Aspergillaires et peut objectiver un processus d'invasion tissulaire, Notamment vasculaire. On observe souvent une inflammation nécrosante et Purulente. Parfois on distingue des têtes Aspergillaires.

### 2.1.6.3.3.4 BIOLOGIE MOLECULAIRE :

L'apport de la biologie moléculaire a permis une grande avancée dans le diagnostic des API. Elle repose sur la détection de séquences du génome de l'espèce *Aspergillus*. Cette détection est réalisée par les techniques de PCR nichée ou quantitative offrant toutes deux une grande sensibilité et spécificité, Cependant deux aspects limitent encore leur utilisation en routine :

---

## *LES infections fongiques*

Ces méthodes sont très rapides, mais elles nécessitent un équipement et une Organisation spécifiques.

Ces méthodes sont très sensibles et permettent la détection de quantités Infimes d'ADN Aspergillaires, mais elles rendent délicate la distinction entre la Colonisation (portage asymptomatique) et l'infection réelle.

Il existe des PCR pan fongiques et des PCR spécifiques d'espèce. Les PCR pan fongiques Ciblent des séquences ribosomales ou mitochondriales communes à plusieurs genres De champignons. Les PCR spécifiques d'espèces ciblent des séquences plus Spécifiques telles que les ITS (Inter Transcribed Séquence de l'ARNr). La sensibilité de Ces méthodes varie en fonction du nombre d'échantillons testés et en fonction de L'évolution de la maladie. Cependant, il est important de signaler que la contamination des tubes par des spores au moment des prélèvements est possible et peut engendrer de fausses positivités.

En effet la PCR en temps réel diminue le risque de contamination, elle permet Également d'éviter les manipulations post-amplification, et surtout elle a une Sensibilité et une spécificité accrues (sondes marquées fluorescentes). Elle permet Alors une approche quantitative de la charge fongique, ce qui est très intéressant Pour le suivi des traitements.

Pour l'instant, à cause du manque de standardisation et d'une disponibilité limitée, la Biologie moléculaire reste dans le domaine de l'expérimental. Cependant, l'optimisation des techniques d'amplification (notamment la PCR en temps réel) et des méthodes de typage moléculaire, laissent présager un bel avenir à ces méthodes.

### **2.1.6.3.3.5 DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE:**

Le diagnostic immunologique occupe dans la pratique médicale une place importante Dans le diagnostic des API. La rapidité des résultats obtenus est importante pour la mise en place du traitement et pour améliorer le pronostic des patients.



#### **2.1.6.3.3.5.1 DETECTION DES ANTICORPS :**

Les *Aspergillus* par leur constitution chimique, leur métabolisme, leurs produits de dégradation sont immunogènes. Des anticorps anti-aspergillaires sont alors décelables dans le sérum des malades. Les anticorps le plus souvent recherchés sont surtout les IgG, les IgM que l'on retrouve souvent dans la pathologie d'installation, et les IgE que l'on retrouve lors des aspergilloses immuno-allergiques

De nombreuses techniques sont utilisées pour mettre en évidence ces anticorps.

- La technique de référence reste la mise en évidence d'anticorps précipitants IgG et IgM, appelés précipitines, par immunoélectrophorèse. Ces méthodes sont peu sensibles et nécessitent une concentration préalable du sérum. En contrepartie, ce sont des méthodes simples et peu coûteuses. La positivité des techniques de précipitation est généralement définie par la présence d'un arc à activité enzymatique (catalasique ou chymotrypsique) ou de 3 à 4 arcs sans activités enzymatiques. Le principal défaut de ces méthodes réside dans leur incapacité à quantifier de façon précise les anticorps.
- L'électrosynérèse sur acétate de cellulose correspond à une amélioration des techniques précédentes. Cette méthode est plus rapide, plus sensible, et elle utilise moins d'antigènes
- Il existe également des techniques de dépistage rapide comme l'hémagglutination indirecte qui est une méthode plus sensible, mais moins spécifique. Cette technique est réalisée à l'aide d'hématies sensibilisées par l'antigène aspergillaires, et permet la mise en évidence des anticorps agglutinants. Elle donne à la fois une appréciation qualitative et quantitative des anticorps sériques.
- les techniques d'immunofluorescence indirecte, ou d'ELISA. Elles sont spécifiques du genre *Aspergillus*, mais ne permettent pas l'identification de l'espèce rencontrée. En cas de positivité, les filaments mycéliens fixés sur les lames présentent une fluorescence pariétale verte en lumière ultra violette.

---

## *Les infections fongiques*

La recherche d'anticorps est principalement utilisée pour le diagnostic de maladies Aspergillaires chroniques. Dans l'aspergillose invasive, la détection d'anticorps antiaspergillaires a un intérêt diagnostique très limité, du fait de l'immunodépression souvent très profonde des patients qui développent cette pathologie. En revanche, Les anticorps antiaspergillaires sont de bons marqueurs pronostiques.

En effet l'augmentation des titres d'anticorps à la fin d'un protocole d'immunosuppression est un signe de rémission de l'aspergillose invasive, alors que leur diminution ou l'absence d'anticorps détectables est de mauvais pronostic.

Cette détection d'anticorps n'est donc pas réalisée en première intention dans le diagnostic des API. Elle peut avoir une meilleure contribution dans le diagnostic des aspergilloses Allergiques avec la recherche des anticorps de type IgE spécifiques des réactions allergiques.

### **2.1.6.3.3.5.2 DETECTION DES ANTIGENS :**

#### **2.1.6.3.3.5.2.1 Les galactomannanes :**

Ce sont des constituants hétéro polysaccharidiques thermostables de la paroi fongique. Ils sont libérés par les hyphes en phase de croissance : il s'agit d'une chaîne linéaire de mannoses non immunogénique sur laquelle sont greffés des groupements de résidus polymérisés de  $\beta$ -1,5-galacto-furanose.

La structure antigénique généralement détectée par les tests actuels est composée par ces polymères de galacto-furanose. Souvent une recherche qui se révèle positive dans le sang, est un argument biologique majeur pour le diagnostic de l'aspergillose invasive, en particulier chez le patient neutropénique. La technique la plus couramment utilisée pour détecter les antigènes galactomannanes est la technique ELISA en sandwich.

C'est une technique rapide et surtout plus sensible que le test d'agglutination au latex ; Toutefois il existe des limites pour cette technique en terme de sensibilité et de spécificité. Le risque des faux positifs existe car des réactions croisées sont possibles notamment *Penicillium sp* qui partage avec *Aspergillus* une structure identique du galactomannanes.

---

## *Les infections fongiques*

Ces réactions avec résultats faussement positives s'opèrent également par l'ingestion de galactomannanes exogène présent dans la nourriture et dans divers antibiotiques dont l'association pipéracilline-tazobactam.

L'évolution des concentrations de galactomannanes peut également être utile dans le suivi de la réponse au traitement antifongique, car les taux relatifs sont liés à la charge fongique individuelle. La persistance de taux élevés de galactomannanes *Aspergillaires* au-delà du cinquième jour de traitement semble associée à une évolution péjorative de la maladie.

### **2.1.6.3.3.5.2 Les (1-3) $\beta$ -D-glucanes :**

Les  $\beta$ -D-glucanes sont présents dans la paroi cellulaire de la plupart des agents fongiques pathogènes à des taux significatifs, notamment chez les *Aspergillus*. Leur mesure dans le sérum représente une aide au diagnostic des pathologies fongiques et mycoses profondes, comme l'aspergillose invasive.

Cette recherche se fait grâce à une méthode colorimétrique ou cinétique. La détection des  $\beta$ -D-glucanes semble être plus sensible que celle des galactomannanes dans les aspergilloses invasives, donc avec des seuils de détection plus faibles. Ces faibles quantités peuvent s'expliquer par le fait que les  $\beta$ -D-glucanes sont normalement des constituants faisant partie intégrante de la paroi fongique et qui, contrairement aux galactomannanes, ne sont pas relargués dans la circulation sanguine par la cellule *Aspergillaires*.

Cette méthode est donc dotée d'une bonne sensibilité, mais le manque de spécificité intrinsèque des  $\beta$ -D-glucanes nécessite d'intégrer les résultats dans un contexte global : clinique, radiologique et microbiologique. Enfin, la recherche de  $\beta$ -D-glucanes peut être utilisée dans le suivi des patients sous traitement antifongique.

#### **2.1.6.3.4 CLASSIFICATION DES INFECTION FONGIQUES INVASIVES :**

Les critères de diagnostic des infections fongiques invasives chez l'immunodéprimé sont difficiles à évaluer, L'EORTC et MSG ont établi un consensus international permettant de classer les infections fongiques invasives en trois catégories : « prouvé » ; « probable » ; « possible ».

Cette classification concerne uniquement les patients immunodéprimés et spécifiquement ceux atteints du cancer et les receveurs des cellules souches hématopoïétiques

##### **infection fongique invasive prouvée :**

Ce niveau de la preuve correspond à une localisation profonde documentée histologiquement ou microbiologiquement à partir du sang ; de prélèvement tissulaire ou des sites ou microbiologiquement normalement stériles.

##### LES CRITERES :

- ✓ soit mise en évidence sur un examen histologique ou un examen direct microscopique d'un prélèvement stérile obtenu par ponction ou biopsie de filaments avec des signes des lésions tissulaires
  
- ✓ soit culture positive d'un site normalement stérile avec des signes cliniques et radiologiques compatibles avec une infection

##### **infection fongique invasive probable :**

Cette définition repose sur la présence d'un critère d'hôte ; d'un critère clinique et d'un critère mycologique

---

## *Les infections fongiques*

### **infection fongique invasive possible :**

Cette catégorie est définie par la présence d'un facteur lié à l'hôte et l'existence de preuves cliniques évocatrices d'infection fongique invasive

CRITERES DIAGNOSTIC DES INFECTIONS FONGIQUES INVASIVES SELON EORTC :(voir tableau 5).

<b>CRITERES LIES A L'HOTE</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ <b>Neutropénie &lt;500 PNN/mm<sup>3</sup> pendant plus de 10 jours</b></li><li>✓ <b>Allogreffe de CSH</b></li><li>✓ <b>Corticothérapie &gt;0.3mg /kg/J pendant plus de 3 semaines</b></li><li>✓ <b>Traitement immunosuppresseurs dans les 90 derniers jours : la ciclosporine ; les anti TNF alpha, les anticorps monoclonaux ; les analogues nucléotidiques</b></li><li>✓ <b>Déficit immunitaire constitutionnel</b></li></ul>
<b>Critères mycologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ <b>Détection direct : présence à l'examen direct ou en culture d'un champignon filamenteux dans un crachat, un LBA ; une aspiration sinusienne ou un brossage bronchique</b></li><li>✓ <b>Détection indirect : Aspergillus : galactomannanes (sérum ; LBA ; LCR)</b></li></ul>

## Critères cliniques

- ✓ **Atteinte respiratoire basse : au moins un signe au scanner thoracique :**
  - **Nodule avec ou sans signe du halo**
  - **Signe du croissant gazeux**
  - **Cavite**
- ✓ **Atteinte trachéo – bronchique : présence d’une lésion trachéo-bronchique à la fibroscopie bronchique : ulcération, nodule, pseudo membrane.**
- ✓ **Atteinte sinusienne : au moins un des 3 critères suivants :**
  - **Douleur aigue localisée**
  - **Ulcération nasale avec lésion nécrotique noir**
  - **Lyse osseuse avec extension vers l’ethmoïde et ou/l’orbite**
- ✓ **Atteinte du système nerveux central avec au moins un signe parmi :**
  - **Lésion focale cérébrale**
  - **prise de contraste méningé à l’IRM ou au scanner**
- ✓ **Candidose disséminée : au moins une des deux entités survenant après un épisode de candidemie :**
  - **abcès hépatiques ou spléniques**
  - **lésion rétinienne**

### 2.2 CANDIDOSE:

#### 2.2.1 DEFINITION-GENERALITES:

Les *Candida* sont des levures, micro-organismes endogènes ou exogènes, dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence de facteurs favorisants locaux ou généraux. Les candidoses peuvent donc être des infections opportunistes dont les causes sont très variées. Le spectre clinique s'étend des formes localisées (cutanées et/ou muqueuses), d'une grande fréquence en médecine générale, aux atteintes invasives rencontrées chez les patients hospitalisés cumulant de nombreux facteurs de risque et dont le pronostic est souvent réservé. La seule présence de ces levures n'est pas synonyme de maladie, car l'isolat responsable de l'infection est le plus souvent celui que le malade héberge spontanément. Les atteintes invasives sont un exemple d'infections nosocomiales, résultant des traitements médico-chirurgicaux de plus en plus spécialisés chez des patients de plus en plus fragiles. Le diagnostic de ces mycoses est difficile et repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques. L'émergence du sida a entraîné une augmentation de candidoses oro pharyngées et œsophagiennes, dont le nombre a ensuite considérablement chuté avec la généralisation des trithérapies antivirales.

#### 2.2.2 Les agents pathogènes:

##### Morphologie et biologie

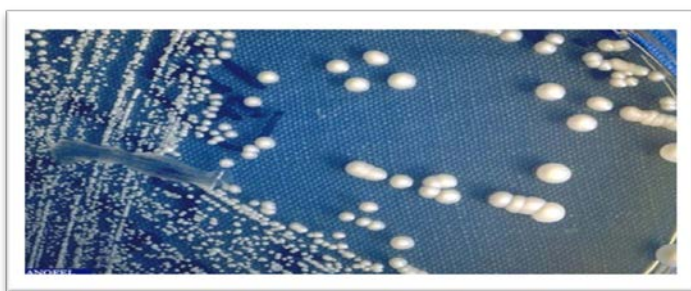
Le genre *Candida* compte un peu moins de 200 espèces et regroupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, produisant sauf *C.glabrata* des filaments. La culture boîte de pétri des *candidas* donne des colonies qui sont grandes, rondes, de couleur blanche ou crème «d'où le choix par Christine Marie Berkhout du terme latin *candidus* qui signifie <blanc brillant>".Ainsi, *C. albicans*, principale levure impliquée en pathologie humaine, est un commensal des muqueuses digestives et génitales, et ne se retrouve que rarement sur peau saine. Cette variété représente plus de 70% des isolats et est impliquée dans plus de 50% des épisodes de candidémie.

---

## Les infections fongiques

A l'inverse, *C. parapsilosis* est une levure fréquente de la peau mais pas du tube digestif, et expose au risque de contaminations manu portées. *Candida glabrata* a une écologie proche de *C. albicans*. De nombreuses espèces vivent dans le milieu extérieur et peuvent se retrouver accidentellement dans le tube digestif suite à leur ingestion (*C. krusei*) et être exceptionnellement responsable d'une infection, le plus souvent chez des patients immunodéprimés ou ayant bénéficié d'un geste avec effraction des muqueuses.

<b>Classification</b>	
<b>Règne</b>	<b>Fungi</b>
<b>Division</b>	<b>Ascomycota</b>
<b>Classe</b>	<b>Saccharomycetes</b>
<b>Ordre</b>	<b>Saccharomycetales</b>
<b>Famille</b>	<b>Saccharomycetaceae</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Candida</i></b>
<b>Espèces de rang inférieur</b>	<i>Candida albicans</i> <i>Candida dubliniensis</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida guilliermondii</i> <i>Candida kefyr</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida lusitaniae</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i>



**Figure 26: aspect macroscopique des *candidas* en culture**

### 2.2.3 Facteurs favorisant des candidoses:

Les facteurs favorisant peuvent être décomposés en facteurs intrinsèques ou extrinsèques. Pour les candidoses cutané muqueuses, les facteurs locaux sont prédominants.



---

## *Les infections fongiques*

Pour les infections invasives, les facteurs de risque sont plus nombreux et varient selon le terrain (immunodéprimés, chirurgie abdominale lourde, patients de réanimation...).

### **FACTEURS INTRINSEQUES (LIES A L'HOTE):**

Les facteurs liés à l'hôte sont multiples. Ils peuvent être physiologiques (Nouveau-né, vieillard, surcharge pondérale, grossesse), locaux (transpiration, macération, irritations...) ou liés au terrain du patient (diabète, immunodépression en particulier au cours de l'infection à VIH, d'une hémopathie maligne ou d'un cancer...).

### **FACTEURS EXTRINSEQUES (IATROGENES):**

Les facteurs iatrogènes sont également très divers et comprennent l'usage de corticoïdes, immunosuppresseurs, l'antibiothérapie à large spectre et les antiseptiques, la toxicomanie intraveineuse, les gestes chirurgicaux (chirurgie digestive, cardiaque) ; la transplantation d'organes ou bien encore la pose de dispositifs intra vasculaires (cathéters veineux centraux notamment).

## **2.2.4 Physiopathologie :**

### **CANDIDOSE SUPERFICIELLE :**

L'adhérence aux cellules épithéliales, la multiplication des levures et leur capacité de filamentation sont à l'origine de lésions cutanéomuqueuses inflammatoires.

### **CANDIDOSE PROFONDE :**

La présence de levures dans le tube digestif, en particulier *C. albicans*, est un phénomène physiologique. Les levures y sont en concurrence avec les bactéries habituelles du tube digestif. Les étapes conduisant à l'infection passent par une phase de colonisation. Celle-ci est la conséquence de modifications écologiques qui entraînent la multiplication des *Candida*. Cette multiplication s'accompagne également de la formation de bios films, sur le matériel étranger ou sur les muqueuses, rendant la levure moins accessible aux antifongiques. Les traitements anticancéreux (cytolytiques) et les interventions sur le tube digestif altèrent la muqueuse, favorisant le passage des levures.

---

## *Les infections fongiques*

Les levures pénètrent également par voie exogène, soit à partir de solutés injectables, de cathéters, de sondes ou de matériels implantables, soit à partir des mains du personnel. Les levures disséminent par voie sanguine, adhèrent aux tissus et filamentent, à l'origine de lésions (choriorétinite, végétations dans l'endocarde, folliculite, ...). Dans la grande majorité des cas, la souche colonisante est la souche infectante.

### **2.2.5 Clinique:**

#### **2.2.5.1 Candidoses superficielles:**

##### **2.2.5.1.1 Candidoses des muqueuses**

###### **2.2.5.1.1.1. Oropharyngées :**

Des levures du genre *Candida* sont isolées des muqueuses buccales chez les individus sains. Les pics de prévalence sont observés chez l'enfant de moins de 18 mois et le sujet âgé – dans le premier cas interviendrait une immaturité du système immunitaire, dans le second la fréquence du port de prothèses dentaires. De nombreux facteurs favorisent la survenue d'une candidose oropharyngée. Ainsi, toute altération de la muqueuse buccale peut constituer le lit d'une candidose : traumatisme consécutif au port d'une prothèse, cancer de la sphère ORL, ulcérations dues à des cytotoxiques, irradiations... Les facteurs iatrogènes peuvent être locaux (corticoïdes inhalés) ou généraux (antibiotiques à large spectre, immunosuppresseurs, corticoïdes, neuroleptiques). L'hyposialie représente l'une des principales causes du développement des candidoses buccales. Parmi les autres terrains favorisants, il faut citer le VIH, les tumeurs solides, les hémopathies malignes, le diabète ou d'autres endocrinopathies ainsi que la malnutrition. Ce sont la perlèche, la chéilite et la stomatite.

- ✚ **La perlèche** : C'est une inflammation aiguë ou chronique des commissures labiales due, le plus souvent, au *C. albicans*. Elle débute par une fissure douloureuse du fond de la commissure labiale recouverte d'un enduit blanchâtre avec érythème triangulaire du côté cutané et reflet opalin du côté muqueux. Elle peut être unilatérale ou bilatérale. Elle est contagieuse. Elle est à différencier des autres perlèches infectieuses (streptococcique, staphylococcique), de l'herpès

---

## *Les infections fongiques*

Labial, de la syphilis secondaire, de la perlèche sénile et des dermites de contact. (Figure 27).

- ✚ **La chéilite** : C'est un état inflammatoire subaigu ou chronique du vermillon des lèvres avec desquamation et parfois fissures. Certains aspects évoquent un état pseudo-épithéliomateux.
  
- ✚ **La stomatite candidosique** : C'est une inflammation aiguë ou chronique de la muqueuse buccale, diffuse ou localisée et se présentant sous 3 formes cliniques : érythémateuse, pseudomembraneuse ou « muguet » et hyperplasique qui s'accompagnent de sensation de soif, de goût métallique et de sécheresse dans la bouche. Elles provoquent des sensations de cuisson, de brûlure lors de l'ingestion d'aliments acides. Le nourrisson refuse la tétée. Quand elles sont intenses, les lésions provoquent des troubles de l'élocution.
  
- Le muguet : Il débute sur la partie postérieure de la muqueuse jugale par des taches érythémateuses recouvertes d'un enduit blanchâtre qui s'arrache facilement à la curette faisant saigner la muqueuse sous-jacente fragilisée. La langue et le palais sont concernés par l'infection sous forme d'une glossite dépapillante et d'une ouranite érythémateuse.
  
- La forme érythémateuse : est plus rare, montrant une muqueuse rouge luisante et dépapillée.
  
- La forme hyperplasique : se manifeste par des plaques et des nodules. Elle est très rare et accompagne les cancers oro-pharyngés.

---

## *Les infections fongiques*

La langue noire et vilieuse : est une hypertrophie des papilles en avant du V lingual avec exagération de leur coiffe kératinisée qui devient noire par imprégnation des substances foncées de l'alimentation, des boissons et du tabac. Son origine fongique est contestée.

Ces stomatites candidosiques sont parfois difficiles à différencier : du lichen plan, du lupus érythémateux, de la leucoplasie orale chevelue, de l'aphtose, du pemphigus ou de la langue saburrale.

### **Evolution :**

Ces lésions oro-pharyngées peuvent s'étendre vers le tube digestif et provoquer des candidoses œsophagiennes, gastriques, intestinales voire biliaires ou pancréatiques. Elles surviennent habituellement après une candidose oropharyngée. La symptomatologie n'est guère différente de celle d'une œsophagite (dysphagie et pyrosis), d'une gastrite (brûlures gastriques et vomissements), de troubles du transit pour les atteintes intestinales, d'une cholécystite, d'une cholangite et d'une pancréatite. Le diagnostic repose sur l'examen mycologique des prélèvements endoscopiques et des selles.

L'évolution chronique de ces candidoses oro-pharyngées peut être le prélude à l'apparition d'un granulome candidosique qui peut aussi débiter par des lésions cutanées ou du cuir chevelu. Après quelques semaines ou années d'évolution, ces lésions prennent un aspect variable : érythémato-squameux, végétant, verruqueux, parfois corné.

Ces lésions siègent sur le cuir chevelu, le visage, et peuvent s'étendre à tout le corps. L'atteinte du tube digestif est quasi-constante.



**Figure 27 : Perlèche**

---

## *Les infections fongiques*

### **.2.2.5.1.1.2 Candidose digestive :**

L'œsophage est la localisation la plus commune des candidoses digestives, mais celles-ci peuvent intéresser tout le tube digestif de l'estomac jusqu'au colon. La présence de levures dans les selles ne signe pas obligatoirement une candidose digestive.

Les *Candida* représentent la première cause d'œsophagite et *C. albicans*, là encore, est la principale espèce incriminée. Les facteurs de risque sont pratiquement les mêmes que ceux retrouvés dans les localisations Oropharyngées. L'œsophagite à *Candida* est un marqueur de l'infection à VIH. Elle survient lorsque les CD4 sont inférieurs à 150 / mm<sup>3</sup>. Elle est souvent associée à une candidose orale et peut être la première manifestation clinique du SIDA. Les manifestations cliniques de cette localisation sont dominées par la dysphagie et les douleurs rétrosternales. Le diagnostic repose sur l'endoscopie dont l'aspect le plus évocateur est celui de plaques blanc jaunâtre reposant sur une muqueuse érythémateuse plus ou moins ulcérée.

### **2.2.5.1.1.3 Candidose génitale :**

La candidose Vulvo vaginale est l'une de plus fréquentes infections gynécologiques de la femme en période d'activité génitale. Elle est le plus souvent due à *C. albicans* (80 %) et à *C. glabrata* (20 %). Les candidoses vulvo-vaginales sont hormonodépendantes et surviennent dans la seconde partie du cycle menstruel et pendant la grossesse (troisième trimestre). Après la ménopause, la prévalence décroît. La prise d'antibiotiques à large spectre et le diabète mal contrôlé sont des facteurs favorisants. Les candidoses vulvo-vaginales ne sont pas considérées comme des IST. (Figure 28).

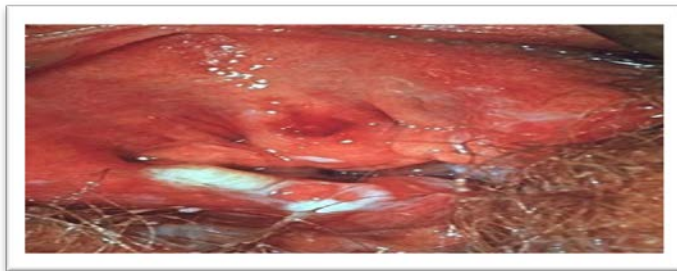
Les symptômes majeurs sont un prurit et des brûlures vulvaires intenses. Les leucorrhées sont d'abondance variable, classiquement blanchâtres, grumeleuses « en lait caillé ». L'examen gynécologique peut retrouver un érythème et un œdème de la vulve, parfois des fissures ou des excoriations. La diffusion de l'érythème à l'aîne et aux plis inter fessiers est en faveur de l'origine candidosique. Une dyspareunie et une dysurie sont souvent signalées.

---

## *Les infections fongiques*

Dans 90% des cas, la candidose vulvo-vaginale est simple et d'évolution favorable. Dans 10% des cas, elle est compliquée, sévère et récidivante, définie par quatre épisodes à cultures positives sur une période de 12 mois. La candidose vaginale récidivante peut être la première manifestation clinique de l'infection à VIH chez une femme séropositive.

### **Figure28 : Leucorrhée et vulvite à Candidas**



Chez l'homme, la candidose génitale se manifeste par une balanite. Le début se fait dans le sillon balanopréputial par un érythème qui intéresse le gland et le prépuce. De petites vésicules sont présentes à sa surface, ainsi que des papules, avec, souvent, des plaques blanchâtres. L'éruption peut s'étendre au pénis, au scrotum et à l'aîne chez l'obèse. Les formes sévères doivent faire rechercher un diabète.

#### **2.2.5.1.2 .Candidoses cutanées et unguéales (onychomycoses):**

##### **2.2.5.1.2.1 Intertrigo**

Les candidoses cutanées sont très fréquentes.

Certaines professions (cuisinier et autres métiers de la restauration, travaux de ménage) exposent à des lésions aux mains : un intertrigo et/ou une onychomycose à *Candida* spp. L'intertrigo à *Candida* est plus rare aux pieds, favorisé par un climat chaud, le port de chaussures en caoutchouc ou en plastique. Ces affections inflammatoires candidosiques des plis cutanés touchent tous les âges et les 2 sexes.

Les femmes semblent plus souvent atteintes.

Ces intertrigos siègent sur les grands plis (inguino-cruraux, inter fessiers, axillaires et sous-mammaires) et les petits plis (premier espace inter orteils, troisième espace interdigital et l'ombilic). (Figure 29).

---

## *Les infections fongiques*

Ils s'accompagnent d'un prurit d'intensité variable. Leur aspect clinique est relativement stéréotypé et comporte 4 signes constants :

- Le fond du pli est fissuré ;
- L'infection s'étend symétriquement en miroir sur les deux berges du pli réalisant des nappes rouges, homogènes et vernissées ;
- La bordure de l'érythème est : siège d'un décollement épidermique en collerette, parfois pustuleuse ;
- La présence de vésiculo-pustules satellites est rare mais évocatrice de la maladie ;
- Un cas particulier se présente sous forme du granulome glutéal infantile qui comporte des nodules de 1 à 3cm de diamètre, ronds ou ovalaires, de couleur violacée et plus ou moins saillants. Leur surface est légèrement squameuse. Ils siègent sur les faces internes des cuisses et les organes génitaux externes. Son rattachement aux candidoses reste discuté. Certains auteurs le considèrent comme une halogénide, d'autres comme une authentique candidose.

Ces intertrigos font discuter des intertrigos dermatophytiques, microbiens, l'eczéma et le psoriasis.



**Figure 29 : Intertrigo candidosique inter-digito-palmaire.**

---

## Les infections fongiques

### 2.2.5.1.2.2 Onyxis et périonyxis

Les onychomycoses à *Candida* sont beaucoup plus fréquentes aux mains qu'aux pieds. Les femmes sont plus fréquemment atteintes car plus souvent exposées aux principaux facteurs de risque locaux que sont les contacts prolongés et répétés avec l'eau et les produits d'entretien, le port de gants de protection, les microtraumatismes et les abus de soins de manucure. La contamination résulte le plus souvent d'une auto-inoculation à partir d'un foyer digestif ou génital et *C. albicans* est l'espèce la plus souvent incriminée. Classiquement, l'onychomycose à *Candida* débute par une atteinte des tissus péri-unguéaux (périonyxis). Elle se traduit par une tuméfaction tendue, érythémateuse parfois, douloureuse, entourant la tablette unguéale. La pression de l'œdème fait sourdre une sérosité, voire du pus. (Figure 30).

L'atteinte de l'ongle est secondaire, par invasion de l'ongle sur le bord proximal qui gagne ensuite le bord libre avec un décollement de la tablette unguéale pouvant intéresser toute l'épaisseur de l'ongle. L'évolution peut aboutir à une onycholyse totale.



Figure 30: onychomycose avec périonyxis des mains

### 2.2.5.1.2.3 Candidose cutanéomuqueuse chronique (granulome candidosique):

La candidose cutanéomuqueuse chronique est une affection rare qui touche le plus souvent les jeunes enfants avec une atteinte à *C. albicans* préexistante ou récidivante de la peau, des ongles et des muqueuses. Les lésions unguéales et cutanées peuvent prendre un aspect crouteux, hyperkératosique. Il existe un trouble de l'immunité cellulaire préexistant. Elle nécessite des traitements antifongiques de façon itérative



## **2.2.5.2. Candidoses profondes:**

### **2.2. 5.2.1. Candidoses systémiques**

La candidémie définit une condition où un *Candida* a été identifié par au moins une hémoculture. Une candidose systémique correspond à une situation où une levure a été identifiée dans plusieurs sites non contigus, impliquant une dissémination hématogène, bien que les hémocultures soient parfois restées négatives. Leur traitement est identique, mais peut être modulé en fonction des sites anatomiques infectés. Il n'existe pas de symptomatologie spécifique des fongémies et des infections systémiques à *Candida spp.* Une fièvre irrégulière résistante aux antibiotiques et accompagnée d'une altération de l'état général est observée dans environ 80 % des cas et une leucocytose dans 50 %. Les candidémies rapidement dépistées peuvent répondre aux antifongiques et au retrait d'un cathéter. Lorsque le dépistage de la candidémie a été tardif ou que l'épisode initial est passé inaperçu, il existe un risque important de localisations uni- ou multiviscérales, qui peuvent apparaître au premier plan des semaines après le premier épisode. Malgré une meilleure prise en charge des candidémies et des candidoses systémiques et l'apparition de nouveaux antifongiques, la mortalité reste élevée (plus de 40 %). *C. albicans* reste la levure prédominante dans environ 50 % des cas. Les candidoses systémiques se manifestent aussi par des manifestations cutanées considérées comme des métastases, prenant l'aspect de papulopustules uniques ou multiples et siégeant préférentiellement au tronc et aux extrémités. De même, des manifestations oculaires sont à rechercher systématiquement en cas de candidémie. L'aspect typique réalisé au fond d'œil est celui de nodules rétinien blanchâtres ou jaunâtres et duveteux. Chez les héroïnomanes, on décrit des folliculites douloureuses de la barbe et du cuir chevelu. Enfin, d'autres localisations de candidoses disséminées, plus rares, peuvent exister, comme des localisations cardiaques (endocardites avec végétations, visibles à l'échographie), ostéoarticulaires (spondylodiscites) ou neurologiques.

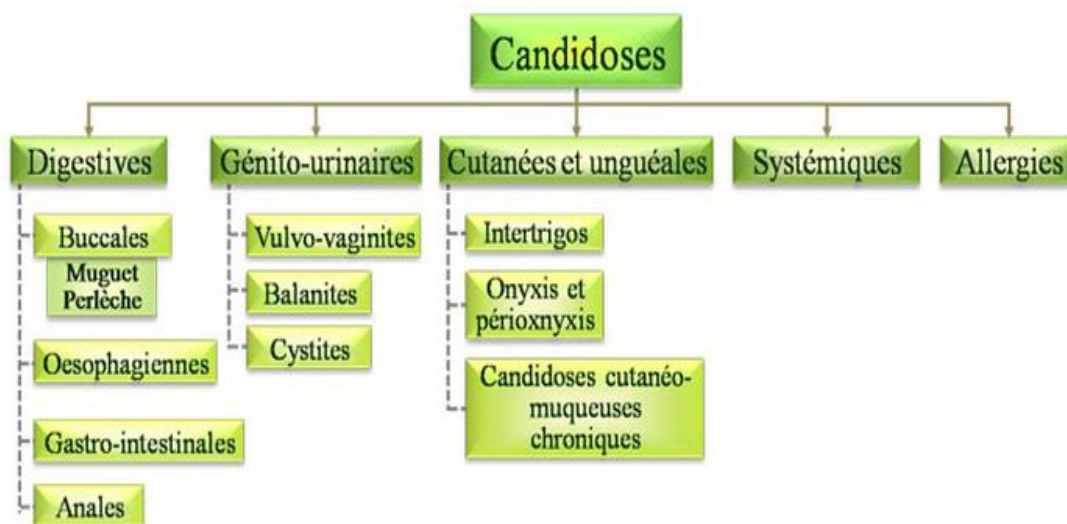
---

## Les infections fongiques

La candidose systémique peut être d'origine nosocomiale ; dans ce cas, le plus souvent, le point de départ est exogène (cathétérisme central, ...) et plus rarement endogène (à partir d'un foyer intestinal).

### 2.2.5.2 Candidose hépatosplénique (Candidose disséminée chronique):

La candidose hépatosplénique est une forme particulière de candidose systémique évoluant sur le mode chronique. Elle s'observe chez des patients ayant une leucémie aiguë dont la maladie est en rémission après une chimiothérapie. Les données récentes attribuent ce tableau à un syndrome de restitution immunitaire. Il associe fièvre rebelle aux antibiotiques et aux antifongiques, hépato- et/ou spléno-mégalie et douleurs abdominales, qui doivent conduire à pratiquer une échographie, un scanner et, surtout, une IRM qui montre des micronodules intra parenchymateux (figure 8). Le diagnostic repose essentiellement sur l'imagerie, la biopsie, étant peu contributive et les hémocultures souvent négatives.



### 2.2.6 Diagnostic biologique:

Il repose sur l'examen direct, la culture et l'étude des réactions immunologiques de l'hôte (à l'exception des atteintes superficielles pour lesquelles les sérologies n'ont pas d'intérêt).

---

## *Les infections fongiques*

Tous les échantillons biologiques doivent être prélevés dans des récipients stériles et acheminés rapidement au laboratoire. Le prélèvement doit être accompagné d'un minimum de renseignements clinique.

### **2.2.6.1 Candidoses superficielles:**

#### **2.2.6.1.1. Prélèvement:**

- . Muqueuses - Frotter les lésions avec 2 écouvillons stériles humidifiés à l'eau distillée stérile (un pour l'examen direct l'autre pour la culture) - Lésions membraneuses de la muqueuse buccale : détacher les membranes avec une curette.
- Peau et ongle - Gratter les lésions avec une curette tranchante ou un vaccinostyle. Pour les ongles, couper des fragments d'ongle pour la culture, puis prélever de la poudre au niveau du lit de l'ongle pour l'examen direct. - Périonyxis : presser le bourrelet érythémateux, et prélever les sérosités à l'écouvillon.

#### **2.2.6.1.2. Examen direct:**

Il peut être réalisé à l'état frais dans du sérum physiologique (visualise aussi *Trichomonas vaginalis* dans les sécrétions vaginales, en plus des levures). L'utilisation d'un éclaircissant additionné ou non d'un colorant (solution de potasse 10 à 30%, solution de noir *chlorazole E* ou d'un fluorochrome), donne de meilleurs résultats. L'examen direct permet une orientation rapide du diagnostic. Les levures apparaissent sous forme arrondie ou ovale, de 4 µm à 8 µm, éventuellement bourgeonnantes (figure 31). La présence de filaments oriente vers les espèces capables d'en produire (*C. albicans*) et élimine ainsi *C. glabrata*, incapable de filamenter (figure 32). Les levures sont également visibles sur des frottis colorés au MGG ou au Gram (les levures sont à Gram positif.)

Figure 31 : Levures ou blastospores

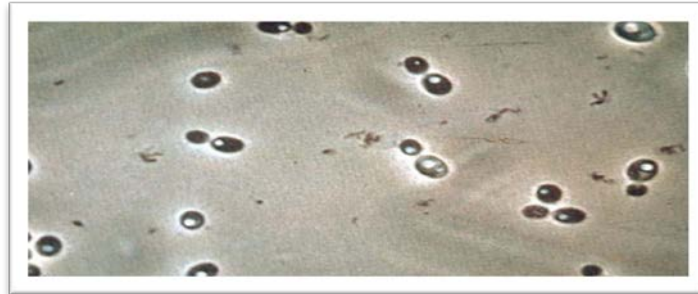


Figure 32: Levures et filaments (mycélium)



#### **2.2.6.1.3. Culture :**

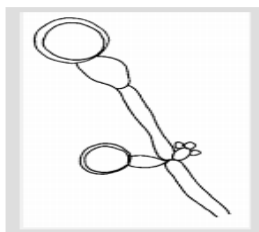
Les levures du genre *Candida* croissent sur de nombreux milieux. L'inhibition de la pousse des bactéries est nécessaire pour individualiser les levures. Les cultures sont donc réalisées sur milieu de Sabouraud additionné de chloramphénicol ou de gentamicine. Les colonies de levures sont blanc crème (figure 33). Les champignons de type *Candida* poussent à 37 °C en 48 heures environ.

Figure 33 : Aspect macroscopique en culture

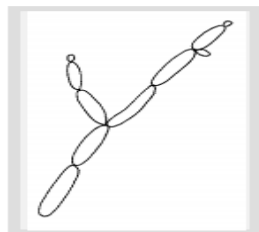


**Identification de la levure:**

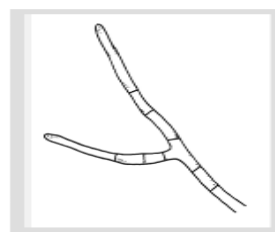
L'identification traditionnelle des levures s'effectue à l'aide de critères phénotypiques, comme la formation d'un pseudomycélium sur milieu pauvre, et donc s'appellent des pseudophytes comme le cas des majorités des candida ;ou la formation des pseudo et vraies mycélium tels que le *candidalipolytica*.ou la formation de chlamydo-spores avec les deux formes précédentes comme le cas des *candida albicans* et *candida dubliniensis*; et l'assimilation ou la fermentation de certains sucres à l'aide de galeries d'identifications commerciales.



Chlamydo-spores



Pseudohyphes



Hyphes

Il existe des milieux chromogènes qui permettent une discrimination des espèces selon leur couleur mais surtout de déceler d'éventuelles associations (plusieurs espèces de levures dans un même prélèvement biologique). Il existe également des tests d'identification simples et rapides (anticorps monoclonaux)

A l'heure actuelle, ces techniques traditionnelle sont progressivement supplantées par la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF qui connaît un essor important en microbiologie et permet une identification plus rapide et fiable.

### **2.2.6.2 Candidoses systémiques:**

#### **2.2.6.2.1. Hémocultures:**

Le diagnostic d'infection systémique à levures repose sur les hémocultures sur milieux standards ou spécifiques pour levures. En cas de suspicion de candidose systémique, les hémocultures doivent être répétées. Chez l'agranulocytaire, la positivité des hémocultures positives ne dépasse pas 50 % des cas.

#### **2.2.6.2.2 Prélèvements périphériques:**

La réalisation de prélèvements périphériques peut s'avérer utile chez le patient à risque. Elle est effectuée au niveau de plusieurs sites (bouche, expectoration, selles, urines par exemple). La quantité de colonies de levures isolées est proportionnelle au risque d'infection (index de Pittet), elle traduit la colonisation. La présence d'une colonisation à *Candida spp*, peut ainsi justifier l'introduction précoce d'un traitement antifongique empirique chez un patient à risque.

#### **2.2.6.2.3. Recherche d'antigènes circulants:**

Elle est réservée au dépistage des candidoses systémiques par la recherche de mannanes ou de b(1,3) - D-glucane, constituants de la paroi des *Candida* .

#### **2.2.6.2.4 Diagnostic indirect:**

La détection isolée d'anticorps a été utilisée dans l'étude de la colonisation pour évaluer le risque fongique. Son interprétation est délicate car il est difficile de distinguer les patients infectés des patients colonisés et les patients immunodéprimés ont souvent une faible réponse anticorps.

Les meilleurs résultats ont été obtenus par couplage de la recherche de mannanes (*Platelia Candida*®), et d'anticorps circulants anti-*Candida* (immunoélectrophorèse, électrosynérèse, immunofluorescence et ELISA). Ces recherches doivent être faites 2 fois par semaine pour pouvoir évaluer le risque et traiter le patient sans attendre les signes cliniques.

#### **2.2.6.2.5. Examen anatomopathologique :**

Toutes les lésions accessibles à la ponction ou à la biopsie avec culture et examen anatomopathologique seront prélevées. Les colorations pour rechercher les champignons sont le PAS l'imprégnation argentique (Gomori-Grocott).

#### **2.2. 6.2.6. Test de sensibilité in vitro aux antifongiques (antifongigramme) :**

Il ne devrait être réalisé que lors d'infections profondes, récidivantes, ou lors d'échecs thérapeutiques dans les candidoses muqueuses.

#### **2.2.7. Traitement et prévention :**

Le traitement antifongique, quelle que soit la gravité des candidoses, ne se conçoit qu'en prenant en compte les facteurs favorisants et en maîtrisant la maladie sous-jacente. Pour le traitement des candidoses systémiques, l'arsenal antifongique s'est considérablement diversifié ces dernières années avec la commercialisation de nouvelles formulations lipidiques de l'amphotéricine B, le développement de nouvelles molécules dans des classes d'antifongiques connues et l'apparition de nouveaux antifongiques. L'ablation de matériel étranger est souvent un pré requis pour la stérilisation des foyers lors des candidoses profondes. L'intérêt de la chirurgie doit être discuté dans certaines localisations. Les antifongiques utilisés sont : les polyènes (Amphotéricine B), les triazolés (fluconazole, itraconazole, voriconazole et posaconazole) et les échinocandines (caspofungine et micafungine) pour les mycoses systémiques. Les candidoses superficielles sont traitées par des imidazolés topiques.

#### **2.2. 7.1. Candidoses superficielles**

##### **Candidoses cutanées**

Traitement par topique antifongique : imidazolés, polyènes, cyclopiroxolamine pendant 2 à 4 semaines. La forme galénique est choisie en fonction des localisations, du caractère humide ou sec des lésions.

---

## *Les infections fongiques*

Dans certains cas, sur des terrains fragilisés et devant des lésions étendues, un traitement systémique peut se justifier. Les éventuels foyers digestifs et vaginaux à *Candida* sont traités.

Sur le plan prophylactique, des précautions doivent impérativement être prises afin de minimiser les risques de récurrences et pour éliminer les causes locales favorisant, notamment la macération.

### **Onyxis candidosiques**

Le traitement d'une candidose unguéale consiste en l'application de topiques antifongiques ou de solutions filmogènes (imidazolé, cyclopiroxolamine, amorolfine) (jusqu'à la repousse saine de l'ongle. L'exérèse des zones atteintes favorise la guérison. En cas de périonyxis, il faut associer un antiseptique. Il faut simultanément supprimer les facteurs de risque (séchage des mains, limiter les contacts avec le sucre, les acides, les corticoïdes, les soins de manucure intempestifs). En cas d'échec thérapeutique (2 mois) ou d'atteinte de plusieurs ongles avec périonyxis important, un traitement par voie orale est associé. Le fluconazole pourrait être utilisé dans cette indication.

### **Candidoses génitales**

Un premier épisode de candidose Vulvo vaginale relève d'un traitement local par des azolés (ovule, capsule ou gel vaginal). Il existe plusieurs produits disponibles : butoconazole, éconazole, miconazole, fenticonazole, isoconazole... La dose est généralement d'un ovule ou capsule le soir au fond du vagin pendant 3 jours. On peut leur préférer les formes mono dose à élimination retardée.

Le traitement de la vulvite associée comporte une toilette par savon alcalin et un azolé sous forme de crème, émulsion fluide ou lait pendant 2 à 4 semaines. En cas de candidose vaginale récidivante, on traite l'épisode aigu comme précédemment avec un ovule par jour pendant 3 jours à partir du 19<sup>e</sup> ou 20<sup>e</sup> jour du cycle, et ceci sur 4 à 6 mois. On peut préférer un traitement per os par fluconazole 150 à 300 mg (contre-indiqué chez la femme enceinte), en une prise hebdomadaire pendant six mois. La balanoposthite est traitée par imidazolés locaux- ..



---

## *Les infections fongiques*

### **Candidoses Oropharyngées :**

Les premiers épisodes de candidoses Oropharyngées doivent être traités par des antifongiques locaux (nystatine, amphotéricine B, miconazole). La durée du traitement est de 10 à 15 jours dans les formes aiguës et de 3 semaines dans les formes chroniques. Les traitements adjuvants associent les bains de bouche avec un antiseptique (chlorhexidine) ou du bicarbonate de soude, une désinfection régulière de la prothèse dentaire et un traitement de l'hyposialie. Une perlèche est traitée par désinfection du versant cutané et gel antifongique appliqué sur les deux versants pendant 15 jours.

Chez l'immunodéprimé, un traitement local est d'abord tenté : par exemple, le miconazole 50 mg (Loramyc), 1 comprimé gingival mucoadhésif une fois par jour pendant une semaine, le matin après le brossage des dents. En cas de mauvaise observance, d'échec du traitement local, de forme étendue, on utilise le fluconazole à la posologie de 100 à 200 mg par jour. En cas de candidoses réfractaires au fluconazole, l'itraconazole (Sporanox) en solution buvable (200 à 400 mg par jour) ou la micafungine (Mycamine) par voie intraveineuse (150 mg par jour) peuvent être proposés.

### **2.2. 7.2. Candidoses systémiques :**

Le consensus international est de traiter toute candidémie, même isolée. La deuxième recommandation est d'enlever ou de changer si possible les cathéters vasculaires. Le traitement est de 15 jours après la dernière hémoculture positive et/ou la disparition des symptômes. Il est poursuivi plusieurs semaines en cas de localisations secondaires. En France, la stratégie retenue par la conférence de consensus, 2004, est fondée sur la présence ou non d'une insuffisance rénale, d'une neutropénie et d'un traitement antérieur par fluconazole ou amphotéricine B.

Dans le traitement initial (avant l'identification de l'espèce), l'amphotéricinedéoxycholate laisse aujourd'hui sa place au fluconazole ou aux échinocandines : caspofungine (Cancidas®), micafungine (Mycamine®).

---

### *Les infections fongiques*

Dès que la levure responsable est identifiée, le traitement doit être adapté, essentiellement sur les notions de sensibilité habituelle aux antifongiques : l'amphotéricine B, le voriconazole et le posaconazole peuvent retrouver leur indication. Dans le syndrome de restauration immunitaire de la candidose hépatosplénique, la corticothérapie est indiquée.

*Chapitre 03 :  
prophylaxie des  
infections fongiques*

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

En raison des difficultés de diagnostic précoce, de nombreux essais thérapeutiques ont tenté d'évaluer l'intérêt d'un traitement prophylactique. Un certain nombre d'essais n'ont pas été suffisamment démonstratifs en raison d'effectifs insuffisants, d'une méthodologie inappropriée, en particulier dans le choix de populations insuffisamment exposées au risque fongique, et enfin de toxicité excessive des antifongiques utilisés limitant de ce fait leur utilisation sur une période de risque prolongée. Ce fut particulièrement le cas de l'amphotéricine B désoxycholate. Dans le cadre de la prophylaxie antifongique, deux pistes sont exploitables et doivent être envisagées afin d'optimiser les chances de succès.

### **1 - les mesures d'hygiène hospitalière**

**2- l'utilisation d'une chimio prophylaxie antifongique**, c'est-à-dire de traitements antifongiques.

#### **3.1 Les mesures d'hygiène hospitalière:**

##### ***Techniques et méthodes***

Ces règles générales s'appliquent à l'ensemble des malades immunodéprimés et sont à adapter au niveau

D'immunodépression, à sa durée et à sa rapidité d'installation. La présence d'une neutropénie courte nécessite des mesures et recommandations particulières au malade ; chaque fois que cela est possible, il est recommandé de maintenir le patient à domicile. En cas de neutropénie longue, des mesures spécifiques d'isolement protecteur s'imposent. Pour ces patients des mesures de traitement d'air sont envisagées en fonction de l'évaluation du risque Aspergillaires mais les modalités et indications de cet isolement ne font pas l'objet d'un consensus réel.

Le but de l'isolement protecteur est de protéger au mieux les patients des phénomènes de contamination exogène. Il consiste à mettre en œuvre un ensemble de mesures supplémentaires à celles constituant l'hygiène hospitalière de base. Ces mesures sont actuellement mal codifiées et laissées à l'initiative des équipes soignantes.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

L'isolement protecteur repose donc sur 2 grands axes :

- les précautions « standard », qui sont bien codifiées, applicables à tous les patients,
- des précautions supplémentaires qui sont adaptées au niveau de risques encourus par les patients immunodéprimés.

### **3.1.1 LAVAGE ET/OU DESINFECTION DES MAINS**

Leur efficacité dans la prévention des infections nosocomiales est bien établie.

Le choix de la procédure de lavage ou de désinfection des mains tient compte de l'importance de la contamination antérieure des mains, du niveau d'asepsie lié au geste à effectuer et de l'état immunitaire du patient. Une cotation du risque permet de choisir une procédure de désinfection adaptée.

Le lavage des mains des visiteurs doit être enseigné et contrôlé.

### **3.1.2. TENUE DU PERSONNEL**

#### **❖ Gants**

Ils ne sont pas nécessaires en l'absence de contact direct avec le patient. Ils sont complémentaires du lavage de mains. Le choix du gant est fonction du niveau de risque encouru par le patient et du niveau d'asepsie requis : gants stériles pour des gestes nécessitant une asepsie de type chirurgicale, gants non stériles pour protéger les mains du personnel d'une contamination par du matériel infectant ou des liquides biologiques.

1 paire de gant = 1 geste

Les gants doivent être évacués dans la chambre avant de sortir et une désinfection des mains est indispensable après leur retrait.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

### **Masque**

Outre son utilisation habituelle dans le cadre de la prévention des Accidents d.Exposition au Sang et liquides biologiques ou des gestes nécessitant une asepsie de type chirurgicale, il contribue à lamise en place de l'isolement protecteur.

Le port du masque (type chirurgical) est systématique avant d'entrer dans une chambre sous flux et son retrait se fait à la sortie de la chambre. Il est changé après chaque usage.

#### ❖ **Sur blouse**

Elle est systématique dans les chambres équipées d'un flux laminaire, et stérile pour les soins des patients bénéficiant d'un isolement protecteur maximum ou pour les gestes nécessitant une asepsie de type chirurgicale.

#### ❖ **Charlotte**

Le port d'une charlotte n'est justifié qu'au cours d'un geste où une asepsie chirurgicale est nécessaire. Il n'existe aucune démonstration de son efficacité dans la prévention de la transmission croisée. Dans une chambre sous flux, elle est mise avant d'entrer dans la chambre.

#### ❖ **Lunettes**

Leur utilisation s'inscrit uniquement dans le cadre de la protection du personnel lors de la prévention :

- des AES (accidents d'exposition au sang),
- des projections lors de manipulations d'urines contenant des cytotoxiques.

### **6) Sur chaussures**

Elles n'interviennent en rien dans la prévention des infections et leur intérêt ne repose sur aucune étude scientifique.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

### **3.1.3 ENVIRONNEMENT PROTEGE :**

L'environnement du malade à l'hôpital est lié à la survenue d'infections et doit être adapté au niveau de risques que l'on veut prévenir.

La maîtrise des risques liés à l'environnement s'inscrit dans le concept de stratégie globale de prévention des infections nosocomiales mais n'intervient qu'en complément de la maîtrise des contaminations chez le patient, les personnels et les dispositifs médicaux.

#### **Architecture**

Elle a un rôle prédominant dans l'organisation du travail. Dans certains cas, ces chambres peuvent disposer

D'équipements spécifiques (sas, surpression, flux laminaire).. La chambre individuelle facilite l'isolement géographique et la présence de matériel de soins (brassard à tension, stéthoscope.) dans la chambre optimisera cet isolement. La porte de la chambre est maintenue fermée. La présence d'un sas permet un meilleur contrôle des entrées dans la chambre

La chambre d'un patient en isolement protecteur doit être signalée afin que toute personne respecte les conditions d'accès ; ceci est fait en respectant la confidentialité du patient.

#### **Air**

Des controverses existent dans la littérature concernant l'efficacité de certaines mesures préventives telles

Que l'utilisation d'un isolement protecteur par flux laminaire ou filtres HEPA et surpression. Ces installations doivent être réservées aux neutropénies sévères de plus de 2 semaines où elles ont fait preuve de leur efficacité dans la prévention du risque Aspergillaires lorsqu'elles sont associées à la décontamination des surfaces, aux mesures d'isolement, et à une chimio prophylaxie efficace.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

Trois procédés sont recommandés :

- une filtration HEPA (High Efficiency Particulate Air),
- une surpression d'au moins 15 Pa,
- un taux de renouvellement d'au moins 20 volumes/heure.

L'efficacité des équipements mobiles dans la prévention du risque Aspergillaires reste à démontrer.

Lors de travaux dans l'établissement, des procédures de confinement des chantiers doivent être mises en place pour diminuer l'exposition des patients à risques aux sources d'*Aspergillus*.

### **Eau**

Dans les secteurs protégés, l'eau doit être bactériologiquement maîtrisée. L'utilisation d'une microfiltration terminale à 0.22 micron est la solution de choix. L'entretien des micros filtres et les contrôles microbiologiques de l'eau font l'objet de procédures.

La qualité recommandée est de « niveau 2 » ou « ultra propre » soit <10 UFC/100ml après 24 h à 37°C et 72h à 22°C et absence de *Pseudomonas aeruginosa*.

La désinfection des lavabos est au minimum quotidienne.

Une circulaire précise les modalités de surveillance et les mesures à suivre pour gérer au mieux une contamination du réseau d'eau par des Légionnelles.

La glace, source de contamination Aspergillaires, est évitée chez les patients sévèrement immunodéprimés.

### **Surfaces**

Le bio nettoyage des surfaces est réalisé conformément aux protocoles écrits et validés du service, par une personne qui respecte les conditions d'accès au service et à la chambre. Sa fréquence est quotidienne.



---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

Un bio nettoyage complet y compris du plafond et des grilles de conduites d'air est fait à la sortie du patient.

Les détergents désinfectants utilisés sont capables de détruire les spores d'*Aspergillus*.

La qualité de l'entretien peut être contrôlée périodiquement par des prélèvements selon une technique standardisée et reproductible. L'interprétation des résultats est faite en fonction des objectifs fixés.

### **3.1.4 MATERIEL ET ALIMENTATION**

#### **Désinfection et stérilisation des dispositifs médicaux**

Elles ne sont pas différentes de celles utilisées dans les autres secteurs d'hospitalisation. Seules les modalités d'entrée de matériels dans les chambres peuvent être contrôlées en fonction du type de patient hospitalisé.

#### **Alimentation**

L'absence de consensus sur l'alimentation de ces malades nécessite un travail en collaboration des médecins, de l'équipe soignante et des diététiciens pour définir des niveaux de qualité microbiologique acceptables en fonction de l'état des patients tout en préservant une certaine diversité et les qualités organoleptiques des aliments .

Cette alimentation est non contaminante et sa qualité microbiologique régulièrement contrôlée.

Dans les immunodépressions sévères, les aliments hautement contaminés sont à proscrire : salades, carottes râpées, crudités, épices en poudre, cacahuètes. D'autres denrées alimentaires ont été impliquées dans la survenue d'infections Aspergillaires chez les patients neutropénique : maïs, noix de cajou, noix de coco, grains de café, céréales, lait en poudre, thé, chocolat, sauce soja, poivre.

On pourra conseiller les fruits pelables après les avoir javellisés.

La vaisselle est lavée au lave vaisselle (température > 60°C) ou stérilisée.

### **3.1.5 ISOLEMENT SEPTIQUE**

Les mesures de prévention de la transmission croisée sont bien définies et codifiées mais pas spécifiques pour ce type de patients.

### **3.1.6 LE MALADE**

Tous les objets personnels du malade rentrant dans une chambre sous flux peuvent être décontaminés en surface.

Le linge personnel (pyjamas et linge de toilette) est changé très régulièrement et entretenu par la famille.

Sinon, il est lavé par l'hôpital selon les exigences hospitalières habituelles et peut être protégé par un film plastique. Il en est de même pour le linge hospitalier.

L'utilité d'employer du linge stérile, de stériliser ou décontaminer les objets placés dans l'environnement immédiat des patients n'a pas été étudiée. Il en est de même pour la vaisselle et les ustensiles.

Les soins d'hygiène des malades sont fait de façon aseptique, selon des règles établies par un consensus écrit. Les soins de bouche et les traitements préventifs de la colonisation de l'oropharynx doivent faire l'objet d'une attention particulière.

Les plantes vertes, en raison du risque de contamination Aspergillaires, et les fleurs coupées, en raison de la multiplication microbienne dans l'eau des vases, sont à proscrire.

### **3.1.7 LE PERSONNEL**

Le personnel est formé à la spécialité afin de comprendre et d'accepter les contraintes d'asepsie nécessaires. Il veille à son hygiène personnelle et respecte les procédures du service.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

### **3.1.7 LES VISITES**

Les visites des patients en aplasie doivent faire l'objet d'une limitation, à définir dans le service. Les règles d'hygiène de base, la durée des visites, l'habillement et le lavage des mains doivent être enseignés aux familles et régulièrement surveillés.

### **3.1.8 SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE**

L'organisation d'une surveillance des infections notamment des aspergilloses pulmonaires nosocomiales en continue dans ce type de service a prouvé son efficacité.

#### ***Responsables***

- Le chef de service
- Le médecin responsable du patient
- Toute l'équipe paramédicale

## **3.2 chimio prophylaxie antifongique :**

Un essai clinique randomisé a prouvé une réduction significative de la mortalité liée aux infections fongiques post-chimiothérapie ou invasives après une prophylaxie par des anti- fongiques.

### **3.2.1 Prophylaxie primaire:**

Les antifongiques utilisés pour la prophylaxie primaire agissent principalement selon quatre mécanismes d'action différents. Nous notons, tout d'abord, les antifongiques qui agissent par altération du fonctionnement de la membrane cellulaire (amphotéricine B); par inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN (flucytosine); par inhibition de la synthèse de l'ergostérol nécessaire à la formation de la membrane de la cellule fongique (dérivés azolés); et, finalement, par inhibition de la synthèse des glucanes de la paroi cellulaire (échinocandines). (Figure 34).

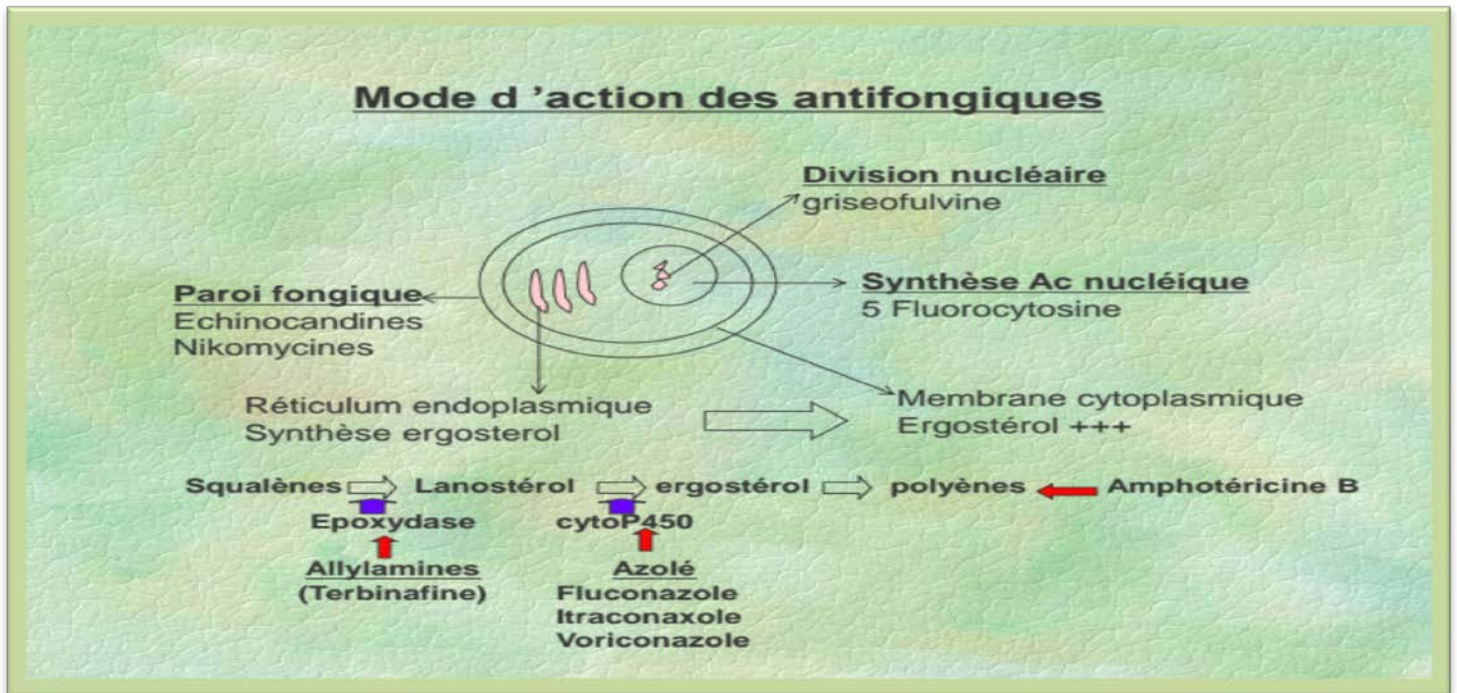


FIGURE 34

### 3.2.1.1 Les polyènes:

#### 3.2.1.1.1 Amphotéricine B

L'amphotéricine B est fongicide. Issue de la culture d'un champignon (*Streptomyces nodosus*), elle fut découverte en 1957 et représente le premier antifongique d'administration intraveineuse.

Son mécanisme d'action principal est la liaison avec l'ergostérol nécessaire à l'intégrité de la membrane cellulaire, puis la formation de pores ou de canaux causant une dépolarisation de la membrane et une augmentation de la perméabilité cellulaire avec perte du contenu cytoplasmique. La fuite des ions  $K^+$ ,  $Na^+$  et  $H^+$  et des molécules intracellulaires altère la viabilité cellulaire, entraînant la mort de la cellule fongique.

Cet agent possède un spectre d'activité très large couvrant la plupart des champignons opportunistes et endémiques, sauf le *Candida lusitanae*, l'*Aspergillus terreus* et quelques autres espèces plus rares. En dépit de plus de 45 ans d'utilisation, le taux de résistance à cet agent est relativement faible. Il possède une excellente activité contre les souches de *Candida*, le *Cryptococcus neoformans*, l'*Histoplasma capsulatum*, le *Blastomyces dermatidis* et le *Coccidio desimmitis*.

## **Amphotéricine B désoxycholate:**

Présentement, l'amphotéricine B sous forme désoxycholate (Fungizone) ou amphotéricine B conventionnelle demeure un traitement de premier recours dans le traitement des infections fongiques disséminées. Grâce à son effet fongicide, son coût abordable et son faible taux de résistance, cet agent représente le traitement de première ligne des infections fongiques très graves chez les patients avec une fonction rénale adéquate. Sa distribution est excellente et atteint des concentrations élevées au niveau des liquides péritonéal et pleural correspondant à 60 % des concentrations sériques. Sa distribution au niveau du SNC est cependant plus faible (environ 2,5 % des concentrations plasmatiques). L'amphotéricine B est métabolisée, et seulement une faible quantité se retrouve au niveau urinaire. Sa demi-vie d'élimination est d'environ 15 jours, suggérant une libération provenant d'un compartiment périphérique. L'amphotéricine B est un antifongique dépendant de la concentration avec un effet post-antifongique

### Les effets indésirables:

Malheureusement, ce médicament présente un profil d'innocuité et de tolérance très faible. En effet, l'incidence des réactions indésirables qui lui sont associées est relativement élevée et limite son utilisation. Notons tout d'abord les réactions liées à la perfusion comme les frissons, la fièvre, les myalgies, les arthralgies, les nausées et les vomissements ainsi que l'hypoxie pouvant parfois même causer un bronchospasme. Environ 28 % à 51 % des patients présenteront de la fièvre et des frissons en cours de perfusion et la plupart de ces réactions peuvent être prévenues ou atténuées par l'administration d'une prémédication, habituellement constituée de diphenhydramine, d'acétaminophène et de mépéridine<sup>16</sup>. Les patients peuvent également développer une tolérance à ces effets et il est recommandé de réévaluer la prémédication après 7 jours. Les déséquilibres électrolytiques et en particulier l'hypokaliémie et l'hypomagnésémie se produisent dans 10 % à 25 % et 26 % à 48 % des cas respectivement, d'où la nécessité de prescrire une thérapie de remplacement. Des thrombophlébites sont également possibles et liées au pH acide, surtout si le médicament est administré par voie périphérique.

Le développement de toxicité rénale, en cours de traitement, est le facteur le plus limitant à la poursuite de la thérapie avec l'amphotéricine B. On rapporte que 34 % des patients développeront de la néphrotoxicité, généralement définie comme une augmentation de la créatinine sérique à deux fois la valeur de base.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

De plus, la sévérité de l'atteinte rénale s'accroît avec la dose cumulative administrée et peut conduire jusqu'à la dialyse. La fonction rénale peut prendre plusieurs mois avant de revenir à la normale. Les dommages permanents sont rares et souvent associés à des doses cumulatives supérieures à 4 g. L'utilisation concomitante d'autres médicaments néphrologiques devrait être évitée le plus possible, en particulier les aminosides et la cyclosporine<sup>17</sup>. Le mécanisme de la néphrotoxicité n'a pas été clairement élucidé. Une des explications probables fait appel à un mécanisme de rétroaction au niveau du système tubulo glomérulaire responsable de la libération et de la réabsorption des ions de chlorure au niveau du tubule distal. Ce mécanisme est amplifié en présence de déplétion sodique. Quelques études ont démontré que l'administration d'un bolus de chlorure de sodium avant la dose avait un effet bénéfique sur la fonction rénale. Plusieurs cliniciens s'entendent donc pour dire qu'un bolus de 500 ml à 1 L de chlorure de sodium administré sur une période de 30 à 60 minutes avant la dose serait souhaitable si le statut liquidien du patient le permet .

Par le passé, une dose test de 1 mg était administrée afin d'évaluer la tolérance du patient au médicament. Il est maintenant pratique courante d'administrer la dose totale la première journée sur une période de 4 à 6 heures avec surveillance étroite du patient. Cette pratique évite le délai dans le traitement à dose thérapeutique.

### **Les doses habituellement recommandées** par l'Infectious Diseases Society of America (IDSA)

Lorsqu'on l'utilise en traitement empirique lors de la neutropénie fébrile chez un patient atteint d'un cancer, se situent autour de 3 mg/kg/jour.

Pendant plusieurs années, l'amphotéricine B était le seul agent efficace et, lorsqu'un patient développait de la toxicité sévère, la dose d'amphotéricine B était réduite ou l'intervalle posologique était augmenté aux 48 heures. De nos jours, plusieurs choix sont maintenant disponibles et, en présence de toxicité sévère ou d'intolérance, il est conseillé de remplacer la thérapie par une préparation phospholipidique, un dérivé azolé ou une échinocandine.

### **Préparations phospholipidiques d'amphotéricine B:**

Afin de contrer les effets secondaires de l'ampho- téricine B, de nouvelles formulations phospholipidiques et liposomiques ont été commercialisées au cours des dernières années.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

Deux préparations sont disponibles au Canada, soit le complexe lipidique d'amphotéricine B (Abelcet) et l'amphotéricine B liposomiques (Ambisome). Plusieurs études comparatives entre l'amphotéricine B conventionnelle et les nouvelles formulations ont démontré une efficacité similaire mais une toxicité réduite au niveau des réactions en cours de perfusion et de la néphrotoxicité pour les préparations lipidiques. L'étude de Walsh a démontré une toxicité moindre au niveau des réactions en cours de perfusion avec la formulation liposomique versus l'amphotéricine B conventionnelle. Le taux de néphrotoxicité comparative, définie comme une hausse du double de la valeur de créatinine sérique de base, était aussi réduit de façon statistiquement significative. En effet, on a noté un taux de toxicité rénale de 33,7 % chez les patients recevant de l'amphotéricine B conventionnelle versus 18,7 % chez les patients recevant la formulation liposomique ( $p < 0,001$ ).

Par contre, le coût des formulations liposomiques est très élevé et il est nécessaire de contrôler leur utilisation au moyen de critères d'indications spécifiques, par exemple une intolérance ou une non-réponse à un autre agent ou la présence d'une insuffisance rénale. De plus, il faut garder à l'esprit que ces nouveaux ajouts à notre arsenal thérapeutique ne sont pas dépourvus de réactions indésirables et peuvent tout de même produire les mêmes effets que l'amphotéricine B.

### **3.2.1.1.2 Nystatine:**

La nystatine tire son nom du lieu de sa découverte (New York STATE). Il s'agit d'un tétraène-diène et du premier antifongique polyènes avec une activité semblable à celle de l'amphotéricine B. Son utilisation topique est présentement limitée à des infections légères à modérées.

La nystatine sous forme liposomique d'administration intraveineuse est en investigation clinique et serait principalement utilisée pour les infections fongiques invasives. Contrairement aux préparations phospholipidiques d'amphotéricine B, le médicament serait rapidement éliminé du plasma, présentant une demi-vie d'élimination de 6 heures. Cette formulation présente plusieurs effets toxiques et il est possible que les études ne soient pas poursuivies.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

### **3.2.1.2 Les dérivés azolés:**

Les dérivés azolés sont des agents fongostatiques qui exercent leur activité antifongique par inhibition de l'isoenzyme lanostérol 14--déméthylase du cytochrome P450 de la cellule fongique. Cette inhibition prévient la conversion du lanostérol en ergostérol, élément essentiel au maintien de l'intégrité de la membrane cellulaire fongique. La déplétion en ergostérol et l'accumulation de stérols toxiques qui en résultent endommagent la membrane cytoplasmique, entraînant un effet fongostatique. À cause de cet effet sur le cytochrome P450, tous les agents de cette classe sont associés à des interactions médicamenteuses importantes, en particulier avec l'isoenzyme 3A4. Les molécules disponibles au Canada sont les dérivés imidazoles comme le kétoconazole et les dérivés triazolés comme le fluconazole et l'itraconazole. Le kétoconazole ne sera pas abordé dans le présent document, puisqu'il ne joue aucun rôle dans le traitement des infections fongiques invasives. Le voriconazole est présentement commercialisé aux États-Unis. D'autres azolés actifs contre l'*Aspergillus*, soient le posaconazole et le ravuconazole. Au niveau de la pharmacodynamie, les dérivés azolés sont des agents indépendants de la concentration.

#### **3.2.1.2.1 Fluconazole :**

Le fluconazole (Diflucan) possède plusieurs propriétés pharmacocinétiques attrayantes. Il présente une excellente biodisponibilité (90 %) favorisant l'administration orale, une distribution adéquate dans la plupart des tissus (sang, LCR, liquide péritonéal, salive et expectorations), une longue demi-vie (de 22 à 37 h) permettant une administration une fois quotidienne et un profil d'innocuité très intéressant. Les effets secondaires les plus importants sont les nausées (4 %), les céphalées (2 %) et le rash (1,8 %). Des élévations transitoires des enzymes hépatiques ont été rapportées. Son coût est abordable. Il est disponible sous formulation orale et injectable. Son efficacité a été démontrée chez les patients allogreffes de CSH (Service d'hématologie, CHU de Grenoble) dans deux études versus placebo. Slavin et al. Démonstreront que le fluconazole permet de diminuer le nombre d'infections fongiques superficielles et profondes, la mortalité globale et la mortalité imputable aux infections fongiques. Marr et al. Ont confirmé ensuite que la diminution de la mortalité à long terme de cet essai était corrélée à une diminution des candidémies. Chez les patients neutropénique, deux études ont comparé le fluconazole à un placebo. Les infections fongiques superficielles et profondes diminuent



significativement dans le groupe fluconazole mais sans différence significative en termes de mortalité globale et de mortalité imputable aux infections fongiques.

---

### *La prophylaxie des infections fongiques*

#### **3.2.1.2.2 Voriconazole :**

Le voriconazole (Vfend) représente le premier d'une nouvelle génération de dérivés azolés avec une activité accrue contre les souches d'*Aspergillus*. Il est commercialisé aux États-Unis.

Le voriconazole est intrinsèquement plus actif que le fluconazole contre les souches de *Candida*, avec des CMI de 4 à 16 fois plus faibles que celles du fluconazole. De plus, le voriconazole est actif contre le *C. glabrata*, le *C. krusei* et l'*Aspergillus*.

Le voriconazole est disponible sous forme orale et injectable. Il présente une excellente biodisponibilité. Il possède une cinétique non linéaire avec des élévations substantielles des concentrations sériques avec une augmentation légère des doses. Le voriconazole est extensivement métabolisé au foie, et moins de 2 % de la dose se retrouvent sous forme inchangée dans l'urine. Des études *in vitro* ont démontré que le voriconazole est un substrat et un inhibiteur des isoenzymes du CYP2C9 et du CYP2C19. Le CYP2C19, en grande partie, et le CYP3A4, en plus faible partie, seraient responsables de son métabolisme. Le CYP2C19 présente un polymorphisme génétique, et de 3 % à 5 % de la population caucasienne ainsi que 20 % de la population asiatique sont de faibles métaboliseurs, donc ces derniers produiront des concentrations plus élevées de voriconazole. Sa demi-vie d'élimination est d'environ 6 heures et nécessite une administration biquotidienne. Plusieurs interactions médicamenteuses ont été rapportées et l'usage de certains médicaments est contre-indiqué avec le voriconazole. Les effets secondaires sont semblables à ceux de sa classe. Une réaction indésirable particulière consiste en des troubles visuels réversibles rapportés chez 8 % à 24 % des patients dans les études cliniques. Ces troubles se manifestent par une vision brouillée, des changements de coloration, une sensibilité accrue à la lumière et des hallucinations. En présence d'insuffisance hépatique légère à modérée (classes A et B de Child-Pugh), il faudra réduire la dose de moitié et, puisque le médicament n'a pas été étudié en insuffisance hépatique sévère (classe C de Child-Pugh), il n'est pas recommandé de l'utiliser. En présence d'insuffisance rénale, il n'est pas nécessaire d'ajuster les doses administrées par voie orale.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

Cependant, la formulation intraveineuse n'est pas indiquée lorsque la clairance à la créatinine est inférieure à 50 ml/min (0,83 ml/sec), puisqu'elle renferme un véhicule toxique, la cyclodextrine, qui risque de s'accumuler.

Une étude internationale randomisée et multicentrique a comparé le voriconazole à l'amphotéricine B liposomique dans le traitement empirique chez les patients fébriles neutropénique. Huit cent trente sept (837) patients ont participé à l'étude, 415 patients ont reçu le voriconazole et 422 l'amphotéricine B liposomique. Le succès global de l'étude fut 23,7 % pour le groupe voriconazole versus 30,1 % pour le groupe amphotéricine B liposomique. À la suite de cette étude, le voriconazole n'a pas reçu l'indication officielle de la FDA pour l'utilisation en traitement empirique aux États-Unis.

### **3.2.1.2.3 Le posaconazole :**

Le posaconazole "Noxafil" est le dernier azolé commercialisé, il n'existe que sous forme per os. Deux essais ont été conduits simultanément, l'un dans une population de patients neutropénique traités pour une leucémie aiguë ou un syndrome myélodysplasique, l'autre chez des patients allogreffes présentant une maladie du greffon contre l'hôte. Cornely et al. Rapportent les résultats de l'étude randomisée chez des patients traités par chimiothérapie intensive pour une leucémie aiguë myéloïde ou une myélodysplasie. Le groupe posaconazole reçoit le posaconazole à 3 x 200 mg/j (n = 304) et le groupe « azolé » (n = 298) reçoit du fluconazole à 400 mg/j ou de l'itraconazole à 2 x 200 mg/j. Le nombre d'infections fongiques probables ou prouvées diagnostiquées est significativement moins important dans le groupe posaconazole (5 % vs 11 %, p = 0,0031) à J100 ; le nombre d'aspergilloses pendant la prophylaxie est moindre également dans le groupe posaconazole (1 % vs 7 %, p = 0,0001). La diminution du recours au traitement empirique est moindre également dans le groupe posaconazole (27 % versus 38 %, p = 0,004). La mortalité globale et la mortalité imputée à l'infection fongique sont significativement moindres dans le groupe posaconazole. Cette étude méthodologiquement satisfaisante avec un effectif suffisant démontre, pour la première fois, qu'un antifongique prescrit en prophylaxie permet un gain significatif sur la mortalité globale dans une population de patients neutropénique. La deuxième étude multicentrique en double aveugle évalue l'efficacité du posaconazole versus le fluconazole chez des patients allogreffes de CSH présentant une maladie du greffon aiguë grade 2 à 4 (GVHD) ou chronique extensive, ou chez des patients recevant un traitement immunosuppresseur.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

200mg (5 ml) trois fois par jour. Chaque dose de NOXAFIL doit être administrée avec un repas, ou avec un complément nutritionnel chez les patients qui ne peuvent tolérer la nourriture de manière à augmenter l'absorption orale et permettre une exposition satisfaisante. La durée de traitement est déterminée en fonction de l'état de récupération de la neutropénie ou de la dépression immunitaire. Pour les patients avec une leucémie myéloïde aiguë ou un syndrome myélodysplasique, la prophylaxie par NOXAFIL doit démarrer plusieurs jours avant le début estimé de la neutropénie et doit être poursuivie 7 jours après la remontée du taux des polynucléaires neutrophiles au dessus de 500 cellules par mm<sup>3</sup> .

### **3.2.1.3 Les échinocandines:**

#### **3.2.1.3.1 Caspofungine**

Substance issue d'un produit de fermentation de *Glarealozoyensis*, la caspofungine est le premier D-glucanes, composant 3 d'une nouvelle classe d'antifongiques : les inhibiteurs de la synthèse du 1; .essentiel à la paroi cellulaire de plusieurs champignons pathogènes

En brisant l'intégrité structurale de la paroi cellulaire, la caspofungine entraîne un déséquilibre osmotique, puis finalement la lyse de la cellule fongique. Contrairement à l'amphotéricine B et aux dérivés azolés, la caspofungine agit sur la paroi cellulaire plutôt que sur la membrane cellulaire .

La caspofungine "Cancidas" est une échinocandine avec une activité fongicide contre une grande variété de pathogènes, incluant les souches de *Candida*, d'*Aspergillus* et d'*Histoplasma*. Elle est active contre les espèces de *Candida albicans* sensibles ou résistantes au fluconazole, l'*Histoplasma capsulatum*, les souches de *Blastomyces* et le *Pneumocystiscarinii*. Elle est cependant moins active que l'amphotéricine B contre les souches de *C. parapsilosis*.

Une dose de charge de 70 mg doit être administrée au jour 1, suivie d'une dose quotidienne de 50 mg. L'acétate de caspofungine doit être administré en perfusion d'une heure. Il n'est pas nécessaire d'ajuster les doses en insuffisance rénale. Toutefois, il est recommandé de réduire la dose de maintien à 35 mg par jour pour les patients souffrant d'insuffisance hépatique modérée (Child-Pugh 7-9). Puisqu'il n'y a pas d'expérience clinique avec ce médicament en insuffisance hépatique sévère (Child-Pugh > 9), il faudra éviter son utilisation.

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

Les effets secondaires les plus fréquents sont d'origine gastro-intestinale (nausées et vomissements). Des cas de thrombophlébite en cours de perfusion, ainsi que des élévations d'enzymes hépatiques, ont été rapportés. La caspofungine entraîne un déséquilibre osmotique, puis finalement la lyse de la cellule fongique. Contrairement à l'amphotéricine B et aux dérivés azolés, la caspofungine agit sur la paroi cellulaire plutôt que sur la membrane cellulaire .

L'étude de Villanueva portait sur 128 patients et comparait des doses de caspofungine de 50 ou de 70 mg/jour à l'amphotéricine B 0,5 mg/kg/jour. Le taux de succès a été de 74 % pour la caspofungine 50 mg, de 89 % pour la caspofungine 70 mg et de 63 % pour le groupe amphotéricine B. La thérapie a dû être cessée par suite d'une réaction indésirable chez 24 % des patients sous amphotéricine B et chez 4 % et 7 % des patients sous caspofungine. L'étude d'Arathoon et ses collaborateurs a comparé trois doses de caspofungine (35 mg/jour, 50 mg/jour et 70 mg/jour) à l'amphotéricine B 0,5 mg/kg/jour<sup>40</sup>. Dans les deux études, la caspofungine à toutes les doses semble aussi efficace que l'amphotéricine B et mieux tolérée que cette dernière.

### **3.2.1.3.2 La micafungine:**

La micafungine a fait l'objet d'un essai en prophylaxie : essai de phase III, multicentrique, randomisé, double aveugle, de non-infériorité, chez des patients en aplasie post-greffe de CSH. Le critère de succès est l'absence de survenue d'une infection fongique invasive sous traitement et pendant les quatre semaines suivantes. L'étude compare la micafungine à 50 mg/j (n = 425) versus le fluconazole, 400 mg/j (n = 457) chez des patients dont presque la moitié est autogreffe de CSH ou a reçu une greffe syngénique. Les résultats en termes de succès global sont équivalents dans les deux groupes : 80 % (micafungine) versus 73 % (fluconazole-) (IC95 % : 0.9-12 % ; p = 0,3). Les résultats sont reproductibles dans les différents sous-groupes étudiés. Le recours à la prescription d'un antifongique à titre empirique est significativement plus faible dans le groupe micafungine (n = 64/425) contre 98/457 dans le groupe fluconazole (p = 0,024). Les interruptions thérapeutiques sont moins fréquentes chez les patients traités par micafungine (4,2 % versus 7,2 %, p = 0,058).

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

Cet essai rapporte certes des résultats de non-infériorité de la micafungine par rapport au fluconazole, mais il est important de noter que la population étudiée ne présente pas un risque élevé d'infection fongique puisqu'il s'agit pour la moitié d'autogreffes et de greffes syngénique et que globalement 22 % de GVHD ont été observées dans cette cohorte. De plus, la période observée ne concerne que la phase de neutropénie et non pas la phase d'immunosuppression post-allogreffe.

### **3.2.2 La prophylaxie primaire locale par inhalation:**

La colonisation des sinus et des voies aériennes supérieures peut être à l'origine des infections fongiques pulmonaires. Plusieurs études avec contrôle historique ont évalué l'efficacité de l'amphotéricine B locale par nébulisation, sprays ou aérosols. Les résultats sont discordants, la méthodologie appliquée étant souvent déficiente, d'où l'absence de preuves tangibles d'efficacité. Un article récent rapporte les résultats d'une étude qui a évalué l'intérêt des aérosols d'amphotéricine B liposomal en prophylaxie de l'aspergillose pulmonaire pendant la phase de neutropénie. L'essai est multicentrique, randomisé, versus placebo et concerne 271 patients avec une neutropénie prolongée (> 10 jours) pendant 407 épisodes de neutropénie. Les aérosols sont administrés deux jours consécutifs par semaine pendant 30 minutes avec 2,5 mL d'amphotéricine B liposomal. Le diagnostic d'aspergillose pulmonaire invasive est porté chez 18 patients sur 132 dans le groupe placebo versus 6 sur 139 dans le groupe amphotéricine B liposomal (odds ratio : 0,26 ; IC 95 % : 0,09-0,72 ; p = 0,005). Les effets indésirables les plus fréquents sont la toux dans le groupe amphotéricine B liposomal. Cette étude ne permet pas de juger l'efficacité en termes de survie : l'effectif est trop faible et la période d'observation trop courte. C'est néanmoins jusqu'à présent l'étude la plus solide en faveur des aérosols d'amphotéricine B liposomal à titre prophylactique.

### **3.2.3 Prophylaxie secondaire:**

La prophylaxie secondaire La prophylaxie secondaire est la prophylaxie prescrite à un patient qui a développé dans ses antécédents une infection fongique et qui est réexposé au risque fongique lors d'une nouvelle aplasie ou d'un nouveau traitement immunosuppresseur. Bien qu'il n'existe dans la littérature aucun essai thérapeutique contrôlé sur la chimio prophylaxie secondaire, elle est recommandée : « La molécule choisie doit être active vis-à-vis du champignon précédemment isolé ou suspecté, pendant la période d'immunodépression ».

---

## *La prophylaxie des infections fongiques*

Les recommandations:

Nous résumons ici les recommandations publiées par l'Infectious Diseases Society of America (IDSA) et par l'Européen Conférence on Infecte in Leukemia (ECIL) en matière de prophylaxie anti Aspergillaires.

### **IDSA :**

Le posaconazole est recommandé en prophylaxie chez les patients allogreffes avec une GVHD et chez les patients traités pour une leucémie aiguë myéloïde ou une myélodysplasie.

L'itraconazole peut être efficace mais son utilisation est limitée par sa toxicité.

**ECIL:** Le groupe de l'ECIL propose des recommandations différentes selon le risque des patients : Chez les patients allogreffes :

- posaconazoleperos3 x 200 mg/j
- itraconazole IV 2 x 200 mg/j suivi de la solution orale 2 x 200 mg/j
- micafungineIV50 mg/j
- polyènes incluant les formulations lipidiques et les faibles doses d'amphotéricine B conventionnelle.

Chez les patients leucémiques :

- posaconazoleperos3 x 200 mg/j
- itraconazolesolutionorale2 x 2,5 mg/kg/j
- échonocandines:données insuffisantes
- polyènes.



# *Partie pratique*



## **1-Objectifs :**

### **1-1 objectif principal :**

Prévenir les infections fongiques chez les LAM et créer un référentiel local de traitement antifongique adapté à l'écologie de service d'hématologie de CHU TLEMEN et à la typologie des patients.

### **1-2 objectifs secondaires :**

Étudier la prévalence des infections fongiques chez les LAM en fonction de :

- l'âge
- sexe
- classification FAB
- modalités thérapeutiques de chimiothérapie
- type de chimioprophylaxie
- l'image radiologique

# *Matériels et méthodes*

### **2-1. Type et durée de l'étude :**

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective sur une durée de 5 ans allant du 1<sup>er</sup> janvier 2014 au 31 décembre 2018.

### **2-2. Cadre de l'étude :**

L'étude a été effectuée dans le service d'hématologie – CHU TLEMCEM-

### **2-3 .Population étudiée :**

90 patients atteints de leucémie aigüe myéloïde (tout type confondus)

### **2-4.Critères d'inclusion :**

Nous avons retenu tous les patients admis au niveau du service d'hématologie CHU Tlemcen pour le motif leucémie aigüe myéloïde sur une période de 05 ans s'étalant du 01/01/2014 au 31/12/2018 dont le diagnostic était confirmé et bénéficiant d'une chimiothérapie en phase d'induction .

### **2-5.Critères d'exclusion :**

Nous avons exclus de l'étude :

Les patients ayant développé des infections fongiques en phase de consolidation.

Les patients dont les données ne sont pas disponibles.

### **2-6.Mode et collecte des données :**

Collecte rétrospective à l'aide d'un questionnaire basé sur les dossiers médicaux des malades colligés au service d'hématologie qui comportent une observation d'entrée avec les antécédents, le contexte social, le mode de vie, l'histoire de la maladie, l'examen clinique d'entrée, les examens complémentaires biologiques et radiologiques (de diagnostic et de complications), type de LAM, l'évolution du malade pendant la phase

D'induction (syndrome tumorale, signes hémorragiques et d'infection) et les traitements pris que ce soit à titre prophylactique ou curatif.

### **2-6-1. recueil des données :**

- ✓ les critères sociodémographiques (le sexe, l'âge, la profession)
- ✓ type de LAM (classification FAB)
- ✓ type de protocole de chimiothérapie d'induction
- ✓ type de traitement prophylactique des infections fongiques
- ✓ les épisodes d'infections fongiques développés en phase d'induction
- ✓ ajustement thérapeutique de traitement antifongique.

### **2-6-2. Exploitation des données :**

Les données colligées ont été saisies à l'aide d'un tableur informatique (Microsoft® Excel®) dans un tableau ayant pour ordonnée la liste des patients et pour abscisse la liste des données étudiés. Le tableur a permis de calculer la prévalence, la proportion et la distribution des patients pour chaque item. L'analyse statistique de ces données a été réalisée par le même logiciel

### **2-7.déroulement de l'étude :**

L'étude réalisée était une étude descriptive rétrospective mono-centrique (centre hospitalier universitaire de Tlemcen) sur dossiers des patients hospitalisés au service d'hématologie, les patients qui avaient présenté une leucémie myéloïde aigue, dans la durée allant de janvier 2014 au décembre 2019.

# *Résultats*

### 3-1.La taille de population :

90 patients atteints de LAM de la période allant de janvier 2014 au 31 décembre 2019 au niveau de service d'hématologie de CHU Tlemcen.

### 3-2.La prévalence des infections fongiques en phase d'induction :

Parmi les patients inclus 39 patients ont développés des infections fongiques en phase d'induction cela correspond à 43.3% (voir figure 35).

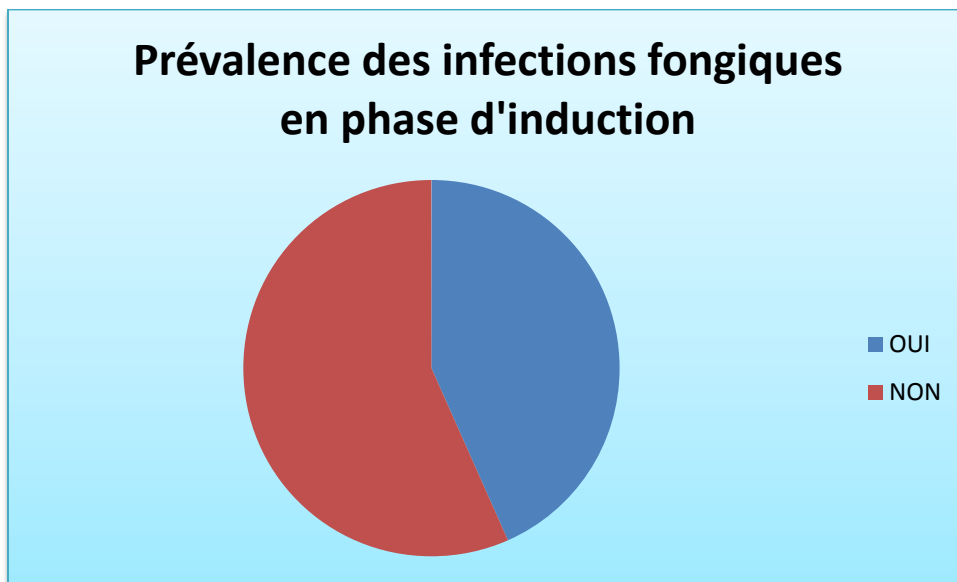


FIGURE 35

### 3-3) Prévalence des infections fongiques en fonction des années :

- On a constaté que depuis l'année 2014 jusqu'à l'année 2018 la prévalence des infections fongiques étaient fluctuantes entre augmentation et diminution, elle atteint les 31% comme valeur maximale dans les années 2015 et 2017 alors que dans l'année 2018 une chute considérable a été marquée (3%) (figure 36).

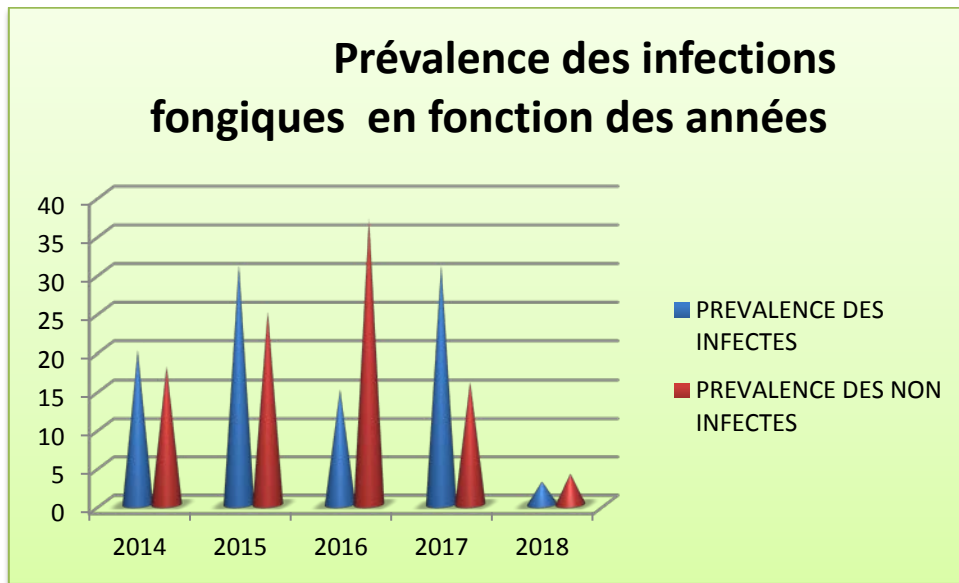


FIGURE 36

### 3-4.Prévalence des infections fongiques en fonction de type de LAM :

Parmi les 39 patients développant des infections fongiques en phase d'induction, les patients atteints de LAM type 4 et 5 ont présenté plus de infections fongiques cela correspond à 23.3%, le type 2 est classé en deuxième rang (voir figure 37).

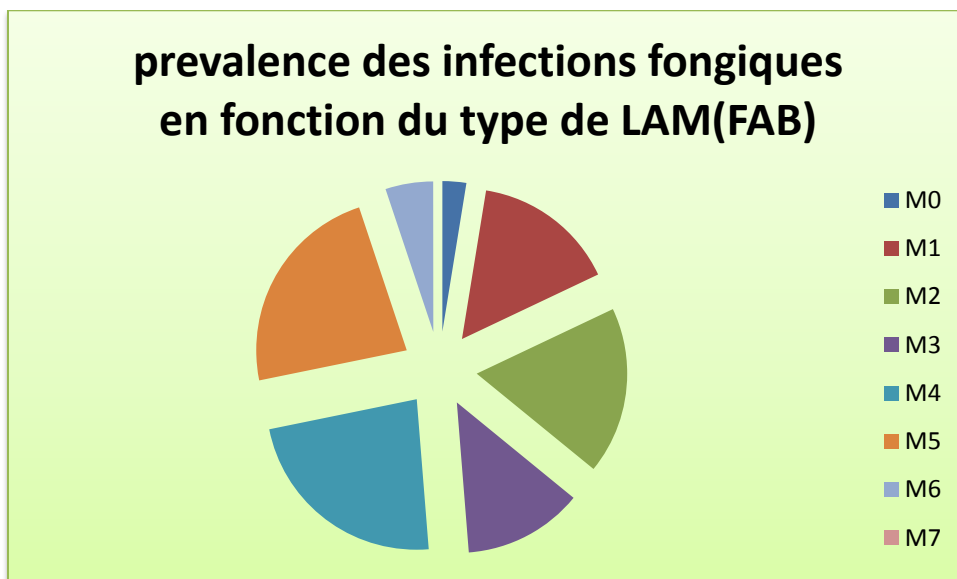


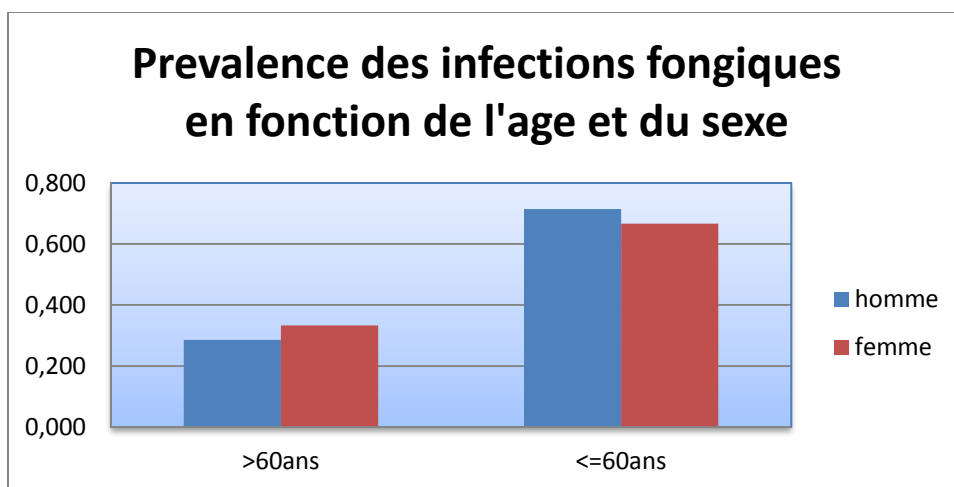
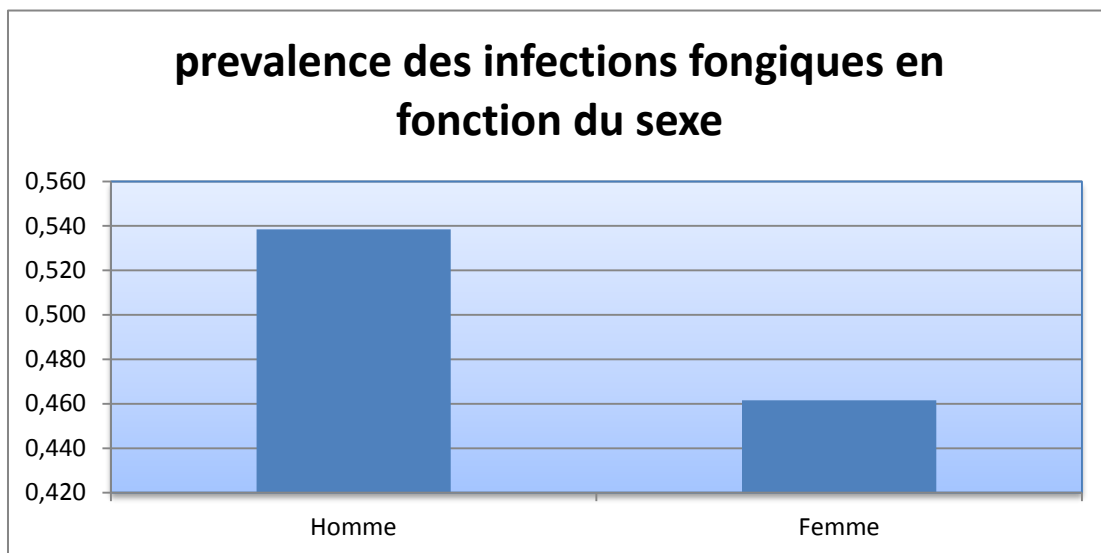
FIGURE 37

## Résultats

### 3-5.Prévalence des infections fongiques en fonction de l'âge et de sexe :

Les infections fongiques ont été présentes chez 53,6% (21) des hommes et 46,4% (18) des femmes. (Voir figure 38).

Alors que la prévalence des infections fongiques est plus élevée chez les sujets de moins de 60 ans dont 71,4% sont de sexe masculin versus 66,7% de sexe féminin, cependant chez les sujets plus de 60 ans les femmes représentent la catégorie la plus atteinte (33,5%). (Voir figure 38).



**FIGURE 38**



### 3-6) Prévalence des infectés en fonction de type de l'image radiologique :

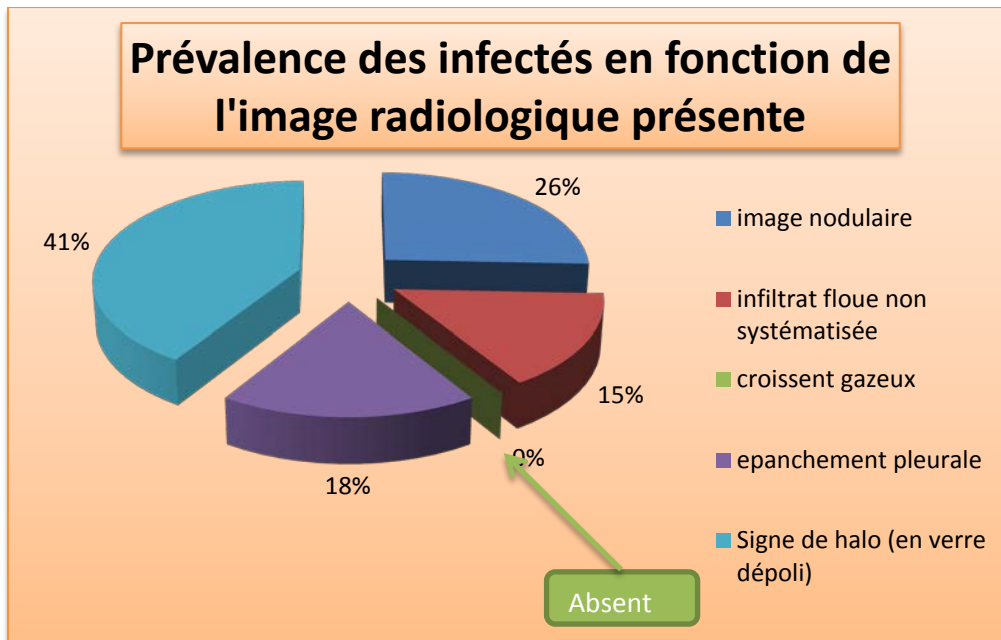


FIGURE 39

Dans notre étude on a noté que le diagnostic d'atteinte Aspergillaire chez les patients infectés est porté essentiellement sur la présence des images radiologiques (infection fongique probable): en verre dépoli (signe de halo) qui est identifiable chez 41%, l'image nodulaire était en 2eme rang présente chez 26% suivi par les autres types radiologiques non spécifiques alors que le signe de croissant gazeux qui est un signe tardif est absent chez l'ensemble des patients (voir figure 39) .

### 3-7.Prévalence des infections fongiques en fonction de modalités thérapeutiques :

Les 39 patients ayant développés des infections fongiques durant la phase d'induction sont répartis comme si :

- 28 cas sous 3+7 soit 71,8%
- 8 cas sous ARAC FD soit 20,5%
- 3 cas sous VIDAZA soit 7,7% (voir figure 40).

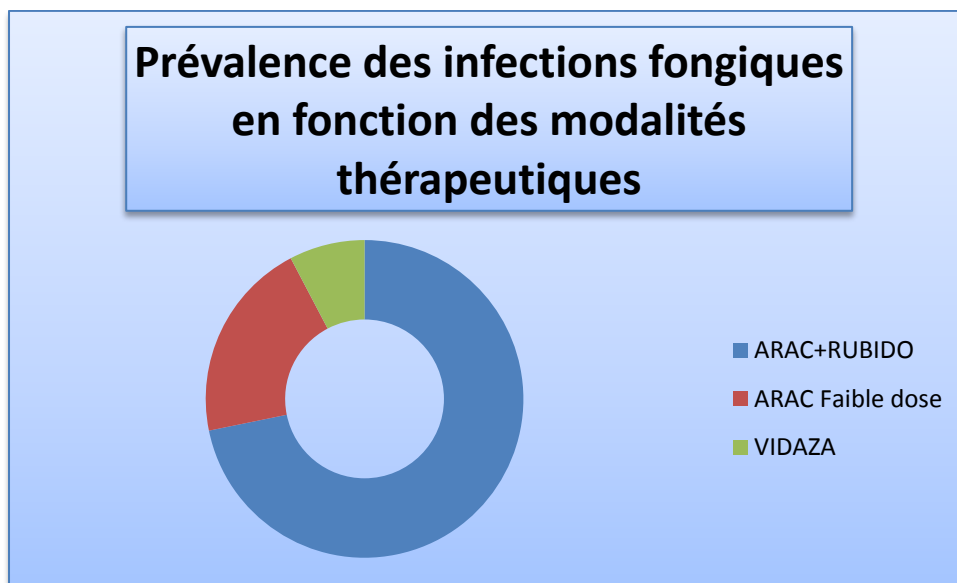


FIGURE 40

## Résultats

### 3-8.Prévalence du choc septique :

9 patients ont développé un choc septique et sont décédés par la suite cela correspond à 23.07%. (Voir figure41).

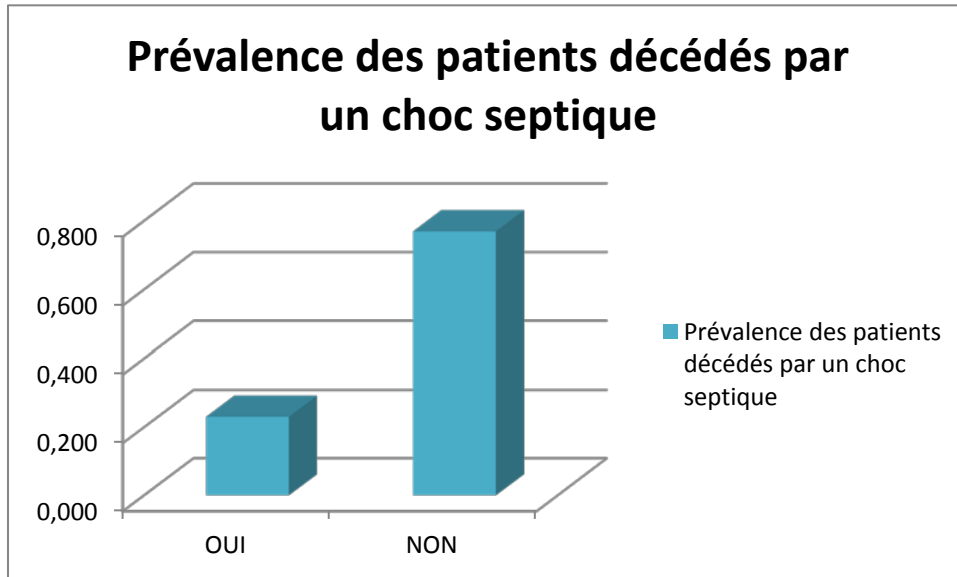


Figure 41

### 3-9.Prévalence des infections fongiques en fonction du type de la prophylaxie :

Les 39 patients infectés ont été sous des schémas prophylactiques différents :

- 26 patients sous NOXAFIL dont 3 ont présenté une infection fongique soit 11.5%.
- 64 patients sous FLUCONAZOLE dont 36 ont développé une infection fongique soit 56.3% (voir figure 42).

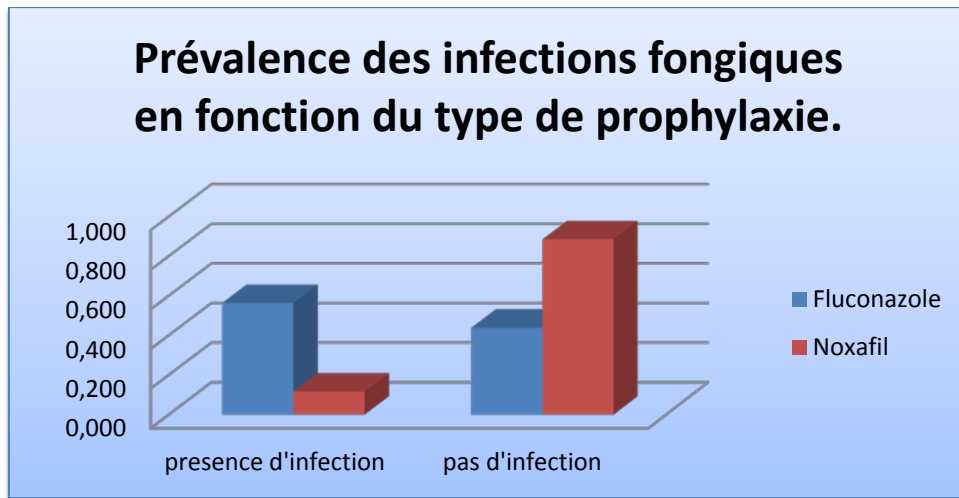


FIGURE 42

**3-10)prévalence des infections fongiques en fonction de la disponibilité de la Noxafil en 2017 :**

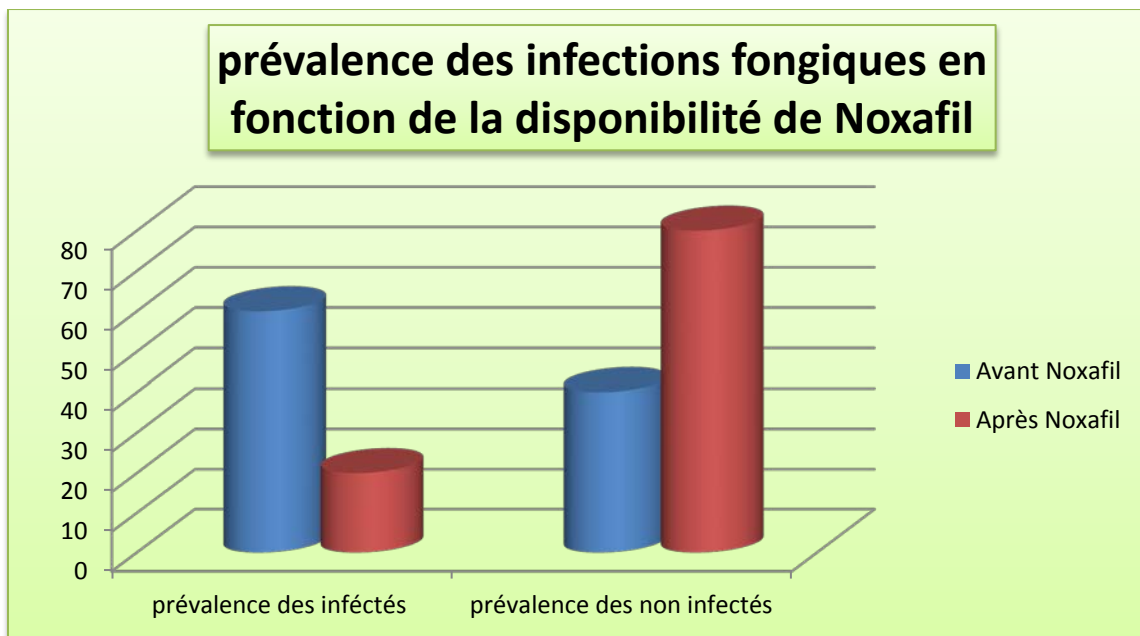


FIGURE 43

---

## *Résultats*

Vu qu'en 2017 le noxafil est devenu disponible dans le service d'hématologie CHU TLEMCEM la prévalence des infections fongiques a spectaculairement diminué (20%) le comparant avec celui du fluconazole qui était nettement élevé (60%). (Voir figure 43).

# *DISCUSSION*

#### **4-1. Etude de la population générale :**

Notre étude a été portée sur 90 patients atteints de LAM de la période allant de janvier 2014 au décembre 2019 au niveau de service d'hématologie de CHU Tlemcen.

#### **4-2 La prévalence des infections fongiques en fonction des années :**

La prévalence des infections fongiques depuis l'année 2014 jusqu'à l'année 2018 était fluctuante entre augmentation et diminution cela peut être expliqué par l'écologie du service d'hématologie et sa structure, le non respects des mesures d'hygiènes hospitalières de base correctement par l'équipe soignante , de prévention et de l'isolement protecteur, le manque des contrôle répétés aux sein de ce type de service pour évaluer la qualité et l'efficacité de prophylaxie, l'existence des travaux anarchiques dans l'hôpital qui constituent un facteur de risque et parfois la mauvaise observance aux traitements prophylactiques.

#### **4-3. Caractéristiques socio démographiques :**

On remarque dans notre étude que les infections fongiques ont touché autant des hommes que des femmes avec 21 hommes et 18 femmes (sexe ratio de 1,16) dont l'âge des hommes est <60 ans dans la plus part des cas contrairement aux femmes ce qui concorde avec celui rapporté dans les données du PMSI en France métropolitaine entre 2001 ET 2010 dont l'âge moyen des cas atteints était de 54,7 ans et les hommes représentent 63,9%, les mêmes résultats sont obtenus dans l'étude réalisée par SAIF (réseau de surveillance spécifique des aspergilloses invasive en France) qui a inclus 393 cas avec prédominance masculine 62% et un âge médian de 56 ans, et l'ODL (observation des levures) réalisée en France entre 2002 ET 2010 sur 2829 cas avec prédominance masculine 60% d'âge moyen de 60 ans. (voir tableau 6).

## Discussion

Tableau 6 : Infections fongiques en France Métropolitaine : 2001-2010

	<b>N</b>	<b>Hommes(%)</b>	<b>Age (ans), médiane, IQ</b>	<b>Incidence</b>
<b>Candidemie</b>	15559	58,8	64 (51-75)	2,5
<b>Pneumonie à pneumocystis</b>	9365	71 ,3	44(37-55)	1,5
<b>Aspergillose invasive</b>	8563	63,9	58(45-68)	1,4
<b>Cryptococcoses</b>	1859	72 ,3	43(36-55)	0,3
<b>Mucor mycoses</b>	530	57,7	58(43-71)	0,1
<b>Total</b>	35876	63,9	56(42-70)	5,9

### 4-4.Le type de LAM :

Dans notre étude on a trouvé que :

Les LAM type 4 et 5 sont classés en premier lieu en termes de fréquence des infections fongiques (23,1%) suivi par les LAM type 2 en deuxième rang 17,9%.

Aucune étude au paravent n'a établis la relation entre le risque fongique et la classe de LAM.

### 4-5.Les modalités thérapeutiques :

Sur l'ensemble de la population étudiée, on a constaté que 71 ,8% soit 28 patients qui ont bénéficié d'une chimiothérapie d'induction type ARAC+RUBIDO ont développé des infections fongiques par rapport aux autres schémas de chimiothérapie.

Dans la littérature n'est pas mentionnée que le type de la chimiothérapie utilisée dans le traitement de LAM a un effet sur la fréquence de survenu des infections fongiques, par contre il est décrit que le développement des infections est corrélé à la durée (>10 jours)



---

## Discussion

et à la profondeur de la neutropénie : <500mm<sup>3</sup> ; risque multiplié par 2,5 ; <100mm<sup>3</sup>, risque multiplié par 10 et que la chimiothérapie anticancéreuse prédispose aux infections par diminution de la bactéricidie, de la phagocytose et du chimiotactisme des polynucléaires, associé à d'autres facteurs de risques : l'âge, la préexistence d'une bronchopathie, certaines caractéristiques intrinsèques de la leucémie.

Dans notre étude on n'a pas pu trancher le Protocole qui présente moins d'infections fongiques vu que le nombre des cas pour chaque schéma thérapeutique n'est pas équitable (le 3+7 c'est le plus utilisé).

### 4-6. Le choc septique :

Nous avons enregistré 24 décès soit 61,53 % parmi eux 9 (23,07%) ont décédé par choc septique.

Dans la littérature, la mortalité varie de 0 à 40% (100). Ainsi, dans l'étude faite par l'institut Bergonié, le pourcentage de mortalité était de 10,7%, soit 6 décès survenue suite à un choc septique. (voir tableau 7).

Tableau 7 : Comparaison du taux de mortalité dans des différentes études

	CHU FH Tunisie	Institut Bergonié France	CHU Ibn rochd Casablanca	COHP Rabat	CHU TLEMEN
<b>Taux de mortalité</b>	<b>22%</b>	<b>10,7%</b>	<b>35%</b>	<b>11,1%</b>	<b>61,53%(23,07% par choc septique)</b>

### 4.7 LE TYPE D'IMAGE RADIOLOGIQUE :

Dans le service d'hématologie Tlemcen la stratégie diagnostique des infections fongiques restent toujours restreinte à cause du manque de moyens diagnostiques nécessaires, donc le diagnostic reste toujours probable basé sur la clinique et la radiologie (le scanner).

Les images radiologiques pulmonaires varient entre des images aspécifiques (des infiltrats flous non systématisés, des images nodulaires, épanchement pleural) dont la prévalence dans notre étude est presque équivalente, varie entre 15 et 26% et des images spécifiques comme le verre dépoli (signe de halo) qui est un signe précoce et qui

## Discussion

L'image la majoritairement retrouvés chez les patients infectés (41%), le croissant gazeux le signe tardif dans l'aspergillose pulmonaire est totalement absent.

### 4-8.Le type de prophylaxie :

Nous avons trouvé que les patients avec traitement prophylactique type posaconazole (noxafil) sont mieux protégés contre le risque fongique que les patients ayant été mis sous fluconazole; ces résultats sont compatibles avec celle de 1899 où le posaconazole (N= 304) a été comparé au fluconazole (N= 240) à l'itraconazole en solution orale (N=58) utilisés comme un seul groupe contrôle (n=298) chez des patients neutropénique recevant une chimiothérapie cytotoxique pour la leucémie aiguë myéloïde (LAM) ou les syndromes myélodysplasiques dont l'incidence des infections fongiques invasives dans la période de Traitement a été de 2% (7/304) dans le groupe posaconazole *versus* 8% (25/298) dans le groupe contrôle, les mêmes résultats sont confirmés par l'étude 316 et l'étude de CORNELLY et ALL.(voir tableau 8).

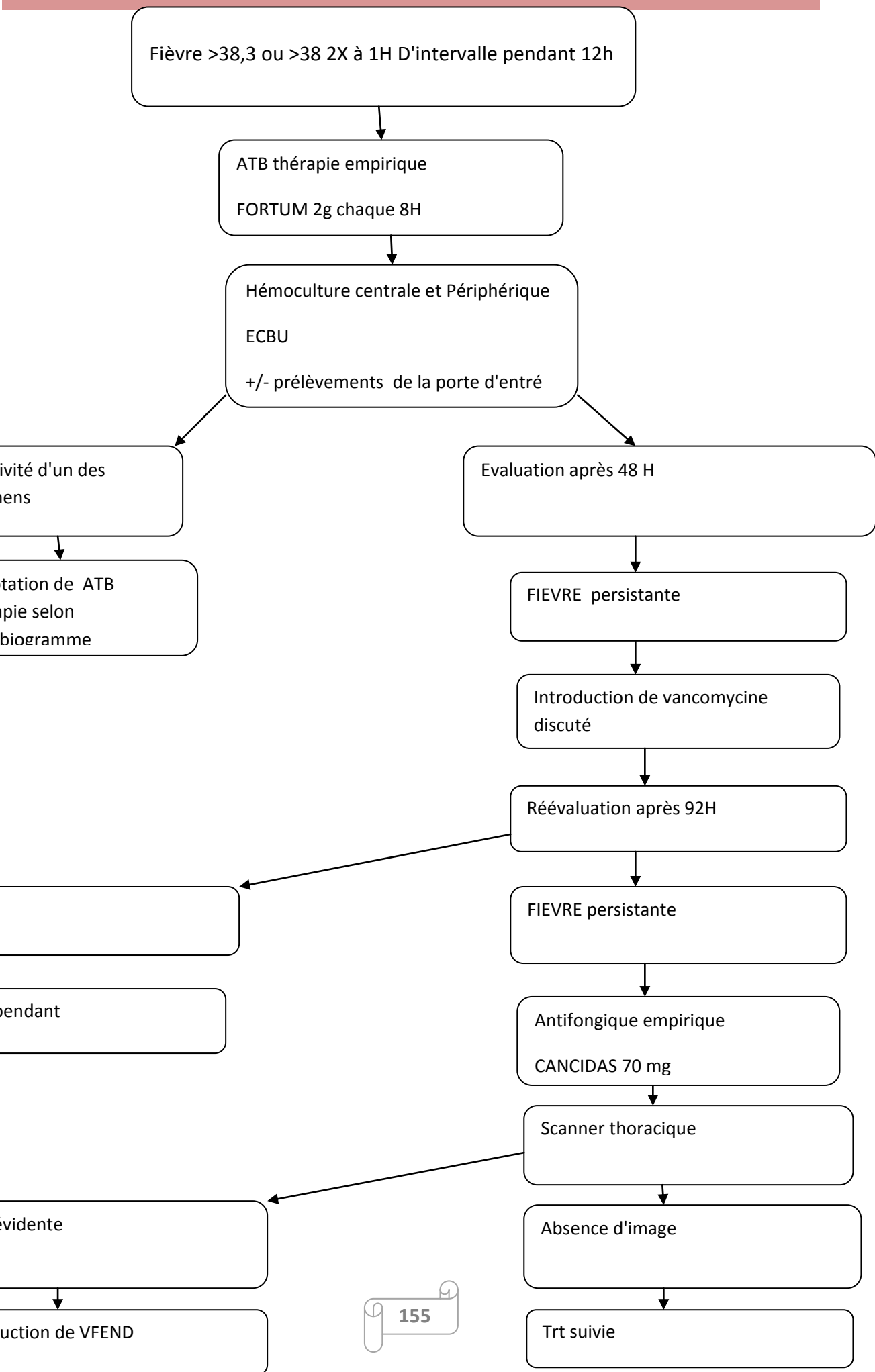
Tableau8 :L'efficacité de posaconazole dans les différentes études

	posaconazole	Incidence des IFI	fluconazole	Incidence des IFI
<b>Etude 1899</b>	304	2%	240	8%
<b>Etude 316</b>	301	6%	299	10%
<b>CORNELY ET AL</b>	304	7%	289	11%
<b>NOTRE ETUDE</b>	<b>26</b>	<b>11.5%</b>	<b>64</b>	<b>56.3%</b>

Donc ces études méthodologiquement satisfaisante avec un effectif suffisant démontre, pour la première fois, qu'un antifongique prescrit en prophylaxie permet un gain significatif sur la mortalité globale dans une population de patients neutropénique et que la chimio prophylaxie par le posaconazole diminue de façon considérable l'incidence des IFI avec en plus une mortalité attribuable moindre ,c'est pour cela il est recommandé en première intention chez les patients atteints de LAM ou SMD traité par chimiothérapie d'induction .

---

**PRISE EN CHARGE DE NEUTOPENIE  
FEBRILE CHEZ LES LAM EN  
SERVICE D'HEMATOLOGIE  
TLEMCEN**



# *Conclusion*

---

## Conclusion

Les infections fongiques invasives restent une cause principale de morbidité et de mortalité chez les patients traités pour hémopathie. Les patients neutropénique au long cours et les patients allogreffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont les plus exposés mais la population de patients à risque ne cesse de s'accroître avec l'utilisation de nouveaux traitements immunosuppresseurs et d'anticorps monoclonaux.

L'aspergillose invasive pulmonaire est l'infection à champignons filamenteux la plus fréquente. Le diagnostic repose sur un faisceau d'arguments selon le contexte, la clinique, les aspects radiologiques, les résultats mycologiques et sérologiques. Le diagnostic de probabilité est plus souvent retenu que celui de certitude, et la précocité du diagnostic, et donc du traitement curatif, est corrélée à la survie des patients. En raison des difficultés de diagnostic précoce, de nombreux essais thérapeutiques ont tenté d'évaluer l'intérêt d'un traitement prophylactique. Un certain nombre d'essais n'ont pas été suffisamment démonstratifs en raison d'effectifs insuffisants, d'une méthodologie inappropriée, en particulier dans le choix de populations insuffisamment exposées au risque fongique, et enfin de toxicité excessive des antifongiques utilisés limitant de ce fait leur utilisation sur une période de risque prolongée.

Dans le cadre de la prophylaxie antifongique, trois pistes sont exploitables et doivent être envisagées afin d'optimiser les chances de succès :

- les mesures d'hygiène hospitalière qui ont pour objectif de réduire l'exposition aux spores infectantes ;
- le déficit immunitaire du patient doit être maîtrisé autant que faire se peut ;
- l'utilisation d'une chimio prophylaxie antifongique, c'est-à-dire de traitements antifongiques.

# *Bibliographie*

---

## Bibliographie

1. Vardiman JW, Thiele J, Aber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 révision of the World Health Organisation (WHO) classification of myéloïdenéoplasmes and acute Leukemias: rational and important changes. *Blood*. 2009 July 30;114(5):937–51.
2. Fey MF, Dreyling M, On behalf of the ESMO Guidelines Working Group. Acute MyéloblastiqueLeukemias andmyéلودysplasique syndromes in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncle*. 2010 May 1;21(Supplement 5):v158–61.
3. Club de réflexion en hématologie, Dombret H. Utilisation des facteurs de Croissance hématopoïétiques: guide pratique. Paris: J. LibbeyEurotext; 1996.
4. Stevens A, Lowe JS. Human histology. 2. ed. London: Mosby; 1997. 408 p.
5. Kierszenbaum AL. Histologie et biologie cellulaire: une introduction à L'anatomie pathologique. Bruxelles: De Boeck; 2006.
6. Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robison LL. Incidence of cancer in Children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic Type. *Cancer*. 1995 Apr 15;75(8):2186–95.
7. Deschler B, Lübbert M. Acute myeloid leukemia: Epidemiology and etiology. *Cancer*. 2006 Nov. 1;107(9):2099–107.
8. Foucar K, Reichard K, Czuchlewski D. Bone marrow pathology. Chicago: ASCP Press; 2010.
9. Löwenberg B, Griffin JD, Tallman MS. Acute myeloid leukemia and acute Promyelocytic leukemia. *HematolEduc Program Am SocHematol Am SocHematol Educ Program*. 2003;82–101.
10. Rousselot P, Hardas B, Patel A, Guidez F, Gäken J, Castaigne S, et al. ThePML-RAR alpha gene product of the t(15;17) translocation inhibitsretinoic acidinduced



---

## *Bibliographie*

Granulocytic differentiation and mediated transactivation in human myeloid Cells. *Oncogene*. 1994 Feb;9(2):545–51.

11. Grimwade D, Walker H, Oliver F, Wheatley K, Harrison C, Harrison G, et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 Patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*. 1998 Oct. 1;92(7):2322–33.
12. Youn BS, Mantel C, Broxmeyer HE. Chemokines, chemokine receptors and Hematopoiesis. *Immunol Rev*. 2000 Oct;177:150–74.
13. Angelescu S, Berbec NM, Colita A, Barbu D, Lupu AR. Value of multifaced Approach diagnosis and classification of acute leukemias. *Mædica*. 2012 Sep;7(3):254–60.
14. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976 Aug;33(4):451–8.
15. Konoplev S, Bueso-Ramos CE. Advances in the pathologic diagnosis and Biology of acute myeloid leukemia. *Ann Diagn Pathol*. 2006 Feb;10(1):39–65.
16. Béné MC, Bernier M, Casasnovas RO, Castoldi G, Doekharan D, van der Holt B, et al. Acute myeloid leukaemia M0: haematological, immunophenotypic and cytogenetic characteristics and their prognostic significance: an analysis in 241 Patients. *Br J Haematol*. 2001 Jun;113(3):737–45.
17. Mufti GJ, editor. An atlas of malignant haematology: cytology, histology and Cytogenetics. London: Martin Dunitz; 1996. 424 p
18. Bradstock K, Matthews J, Benson E, Page F, Bishop J. Prognostic value of Immunophenotyping in acute myeloid leukemia. Australian Leukaemia Study Group. *Blood*. 1994 Aug 15;84(4):1220–5.

---

## *Bibliographie*

19. British Committee for Standards in Haematology, Milligan DW, Grimwade D, Cullis JO, Bond L, Swirsky D, et al. Guidelines on the management of acute myeloid leukaemia in adults. *Br J Haematol.* 2006 Nov;135(4):450-74.
20. Neofytos D, Hom D, Anaissie E et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipient analysis of multicenter prospective antifungal therapy (PATH) Alliance registry. 2009 265-273.
21. Pagano L, Caira M, Nosari A, et al. Fungal infection in recipients of hematopoietic stem cell transplant : result of the SEIFEM B-2004 Study sorveglianza epidemiologica infezioni fungine nelle emopatie maligne 2007 1161-1170.
22. Perloth J, Choi B, Spelberg B, Nosocomial fungal infections 1996 499-511.
23. Pfaller MA, Diekma DJ epidemiology of invasive candidiasis a persistent public health problem 2016 133-163.
24. Walsh TJ, Groll AH, Emerging fungal pathogens evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty first century 1999. 247-261.
25. Bouza E, Munoz P, Epidemiology of candidemia in intensive care units 2008.
26. Rupp MJ, Groll AH, Vohreschild G, Corneley OA patients at high risk of invasive fungal infections when and how to treat 2008 1941-1962.
27. Albert C, Bouaklin A, Ribaud P et al relationship between environmental contamination and the incidence of invasive aspergilosis in hematology patients 2001 198-206.
28. Jerson SL, Talbot JH, Hurwitz S, et al prolonged granulocytopenia : the major risk factor for invasive pulmonary aspergilosis in patients with acute leukemia 1984 .345-351.
29. Pangano L, Caira M, Picardi M et al Invasive aspergilosis in patients with acute leukemia update on morbidity and mortality 2007 1524-1525.
30. Cornet M, Fleury L, Maslo C, Bernard J Epidemiology of invasive aspergilosis in France 2002 288-296
31. Kuhlmann JE, Fishman EK, Burch PA et al , Invasive pulmonary aspergilosis in acute leukemia the contribution of CT to early diagnosis and aggressive management 1987 95-99.
32. Bretagne S, nouveau antifongique et nouvelle stratégie thérapeutique dans les aspergilloses et candidose invasive 2005 7 ; 15.
33. Conférence de consensus commune SFAR SPILF SRLF Prise en charge des Aspergillose et candidose invasive de l'adulte 13 mai 2004.

---

## Bibliographie

34. Résumé des caractéristiques des produits Fungizone, BMS.
35. Résumés des caractéristiques de produit VFEND, PFIZER
36. Résumés des caractéristiques de produit NOXAFIL, SCHERING PLOUGH.
37. Morris MI posaconazole : A new oral antifungal agent with an expanded spectrum of activity 2009 225-236.
38. Résumés des caractéristiques de produits CANCIDAS MSD.
39. Etancelin P, Silly S, Merly V et al efficacy of multidisciplinary team for preventing hospital acquired invasive aspergilosis 2009 71-75.
40. Cornely OA, Mertens J, Wanston DJ et al Posaconazol VS Fluconazol or Itraconazol prophylaxis in patient with neutropenia 2007 348-359.
41. Mattiuzzi GN, Alvarado G, Giles FJ, et al. Open-label, randomized comparison of itraconazole versus caspofungine for prophylaxis in patients with hematologic malignancies. AAC2006 : 143-7.
42. Rijnders AJ, Cornelissen JJ, Slobbe L, et al. Aerosolized liposomal amphotericin B for the prevention of invasive pulmonary aspergilosis during prolonged neutropenia : a randomized, placebo-controlled trial. Clin Infect Dis2008 ; 46 : 1401-8.
43. Prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte. Conférence de Consensus commune de la Société Française d'Anesthésie Réanimation, de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française et de la Société de Réanimation de Langue Française. Ann FrAnesthReanim2004 : 5-13.
44. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, et al. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis2008 ; 46 :327-60.
45. Maertens JA, Frère P, Lass-Flörl C, Heinz W, Cornely OA, et al. Primary antifungal prophylaxis in leukaemia patients. EUR J Cancer2007 : 43-8
46. Wolff SN, Fay J, Stevens D, et al. Fluconazole vs low-dose amphotericin B for the prevention of fungal infections in patients undergoing bone marrow transplantation : a study of the North American Marrow Transplant Group. Bone Marrow Transplant 2000 ; 25 : 835-59.
47. Tollemar J, Ringden O, Anderson S, et al. Randomized double-blind study of liposomal amphotericin B (AmBisome) prophylaxis of invasive fungal infections in bone marrow transplant recipients. Bone Marrow Transplant1993 ; 12 : 577-82.

---

## *Bibliographie*

48. Kelsey S, Goldman J, McCann S et al. Liposomal amphotericin B (AmBisome) in the prophylaxis of fungal infections in neutropenic patients : a randomised, double-blind, placebo controlled study. *Bone Marrow Transplant* 1999 ; 23 : 163-8.
49. Falagas ME, Vardakas KZ, et al. Liposomal amphotericin B as antifungal prophylaxis in bone marrow transplant patients. *Am J Hematol* 2006 ; 81 : 299-300.
50. Mattiuzzi GN, Estey E, Raad I, et al. Liposomal amphotericin B versus the combination of fluconazole and itraconazole as prophylaxis for invasive fungal infections during induction chemotherapy for patients with acute myelogenous leukaemia and myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2003 ; 97 : 450-6.
51. Cordonnier C, Mohty M, Faucher C, et al. Safety of a weekly high dose of liposomal amphotericin B for prophylaxis of invasive fungal infection in immunocompromised patients : PROPHYSOME Study. *Int J Antimicrob Agents* 2008 ; 31 : 135-41.

# ANNEXES

