

Détection d'ADN de *Aspergillus* spp. : évaluation clinique de trois kits commerciaux

Cordier C.¹, Leroy J.¹, Coiteux V.², Aijjou R.¹, Hallaert C.¹, Cornu M.¹,
Loridant S.¹, Sendid B.¹

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Lille, 59000, Lille, France

² Service des Maladies du Sang, Secteur Allogreffe de Cellules Souches Hémopoïétiques, CHU Lille, 59000, Lille, France

Introduction

- Diagnostic des Aspergilloses Invasives (AI) = un défi !
- Paquets d'arguments (EORTC 2008 / ESCMID-ECMM-ERS 2018) :
 - Cliniques
 - Radiologiques
 - Mycologiques
- Outils de diagnostic mycologique manquent de :
 - Sensibilité (culture, galactomannane)
 - Spécificité (β -D-Glucane)
 - Précocité
- Outils de diagnostic moléculaire :
 - Manque de standardisation
 - Manque d'évaluations cliniques larges et prospectives des kits commerciaux actuellement disponibles

Introduction

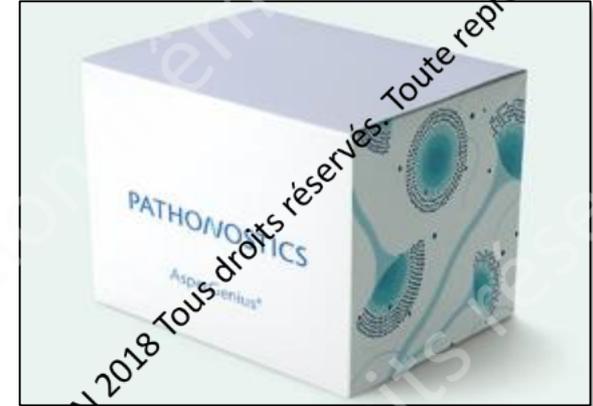
- Mise sur le marché de kits commerciaux, par exemple :

	MycoGENIE (MG) (AdemTech, France)	AsperGenius (AG) (PathoNostics, Pays-Bas)	Fungiplex <i>Aspergillus</i> (FA) (Bruker Daltonik, Allemagne)
Cibles	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. fumigatus</i> <i>A. terreus</i> <i>Aspergillus</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp. <i>A. terreus</i>
Gène		ADNr 28S	

- Évalués précédemment par d'autres équipes :
 - White et coll., JCM, 2015 et 2017 : AsperGenius® sur plasmas et sérums
 - Chong et coll., JAC, 2016 : AsperGenius® sur LBA
 - Dannaoui et coll., JCM, 2017 : MycoGENIE® sur prélèvements respiratoires et sérums

Objectif de l'étude

Évaluer les performances cliniques de 3 kits commerciaux pour la détection d'ADN de *Aspergillus section fumigati* et/ou spp.



Matériel et méthodes

- Étude rétrospective monocentrique au CHU de Lille :
Hématologie, Réanimation, Transplantation
- Classification des patients :
 - Critères EORTC/MSG (De Pauw B, CID, 2008) :
aspergillose prouvée, probable ou possible
 - Ullmann A J. CMI, 2017, ESCMID :
« aspergillose probable »

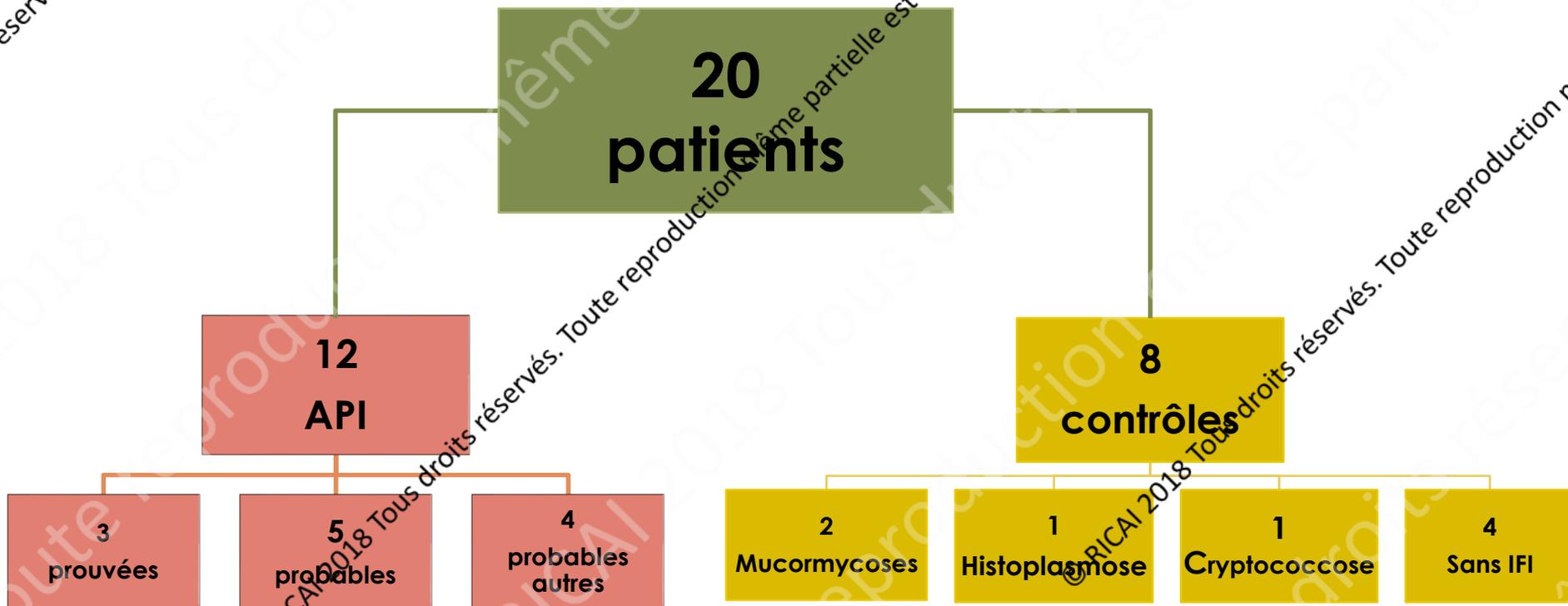
Matériel et méthodes

- Pour chaque patient, analyse en parallèle :
 - Un ou plusieurs sérum(s)
 - Un ou plusieurs échantillon(s) respiratoire(s) ou LCR
- Extraction :
 - Automatisée Automag[®] (AdemTech)
 - À partir de 200 μ L de prélèvement
- Analyse par PCR à l'aide de 3 kits commerciaux :
 - MycoGENIE[®] (AdemTech) et Fungiplex *Aspergillus*[®] (Baker) sur ABI 7500 (Applied Biosystems)
 - AsperGenius[®] (PathoNostics) sur LightCycler 480 (Roche)



Résultats

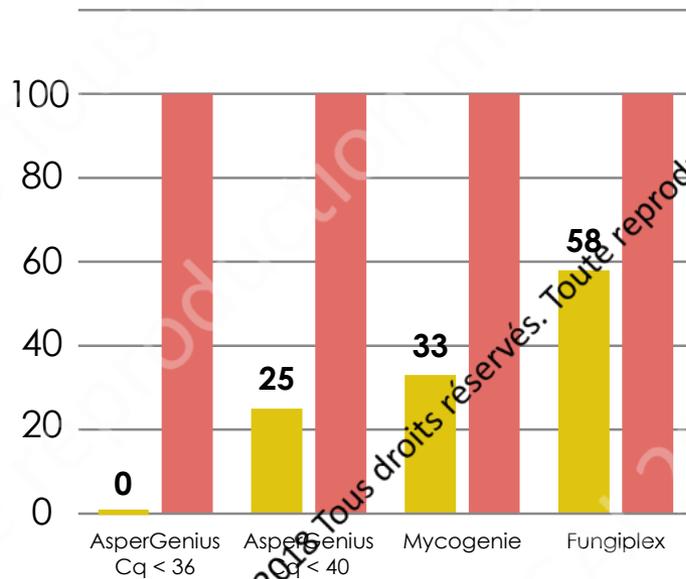
- 57 prélèvements analysés : 37 sérums, 19 prélèvements respiratoires, 1 liquide céphalorachidien



Résultats

Sensibilité et Spécificité

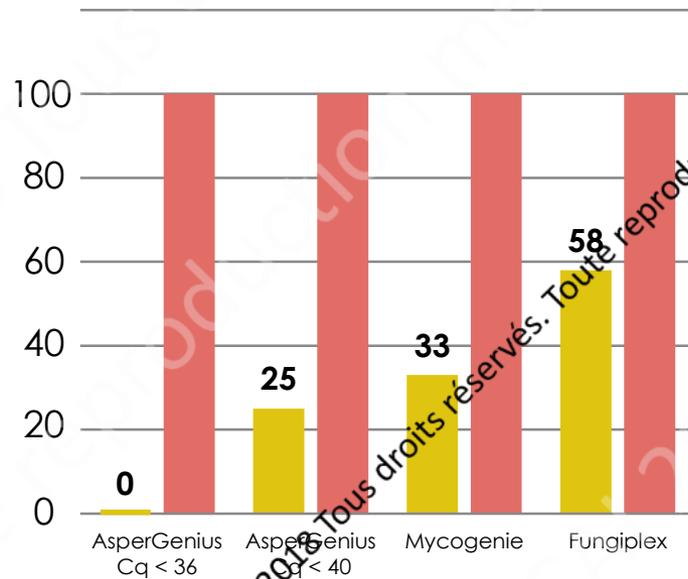
Sérum



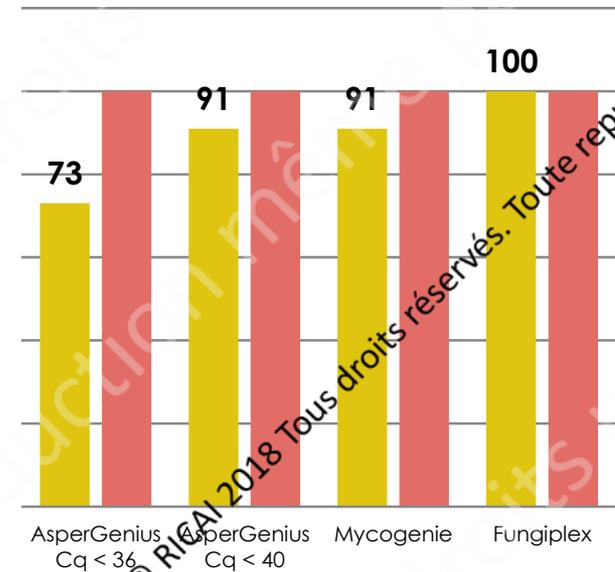
Résultats

Sensibilité et Spécificité

Sérum

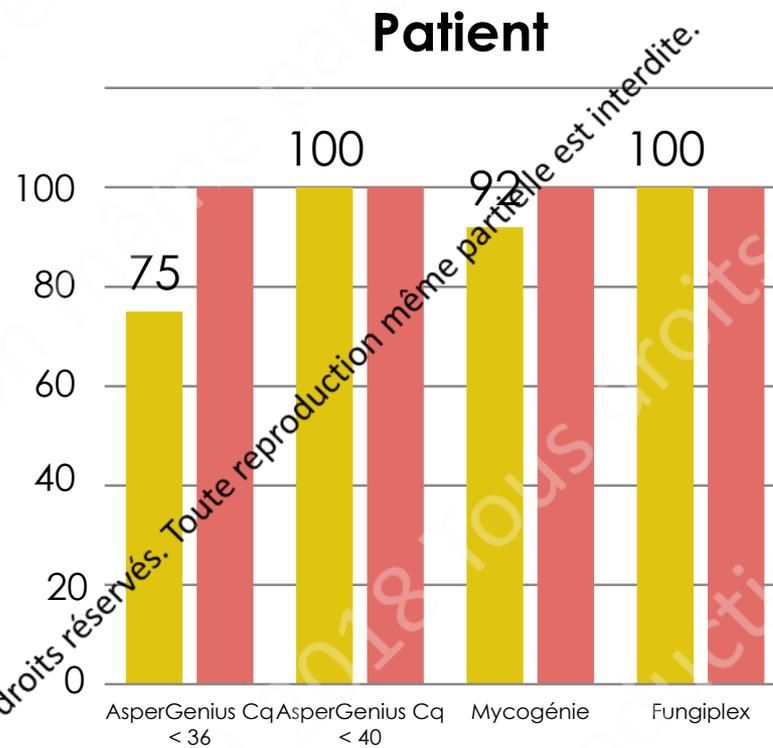


LBA



Résultats

Sensibilité et Spécificité



Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Résultats

Concordance entre la qPCR FA et la mycologie conventionnelle pour les prélèvements respiratoires

Mycologie conventionnelle*	Nombre d'échantillon avec une qPCR		
	Positive	Négative	Total
Positive	9	0	9
Négative	3	8	11
Total	12	8	20

*Inclus une culture et/ou un examen direct positif

Une PCR positive (Cq<40) a été retrouvée avec les kits pour les 9 prélèvements respiratoires avec une culture positive à **A. fumigatus**

Résultats

Concordance entre la qPCR FA et la mycologie conventionnelle pour les prélèvements respiratoires

Mycologie conventionnelle*	Nombre d'échantillon avec une qPCR		
	Positive	Négative	Total
Positive	9	0	9
Négative	3	8	11
Total	12	8	20

*Inclus une culture et/ou un examen direct positif

Une PCR positive (Cq<40) a été retrouvée avec les kits pour les 9 prélèvements respiratoires avec une culture positive à *A. fumigatus*

Concordance entre la qPCR FA et le galactomannane pour les prélèvements respiratoires

Galactomannane	Nombre d'échantillon avec une qPCR		
	Positive	Négative	Total
Positive	9	1	10
Négative	2	5	7
Total	11	6	17

Résultats

Concordance entre la qPCR FA et le galactomannane pour les sérums

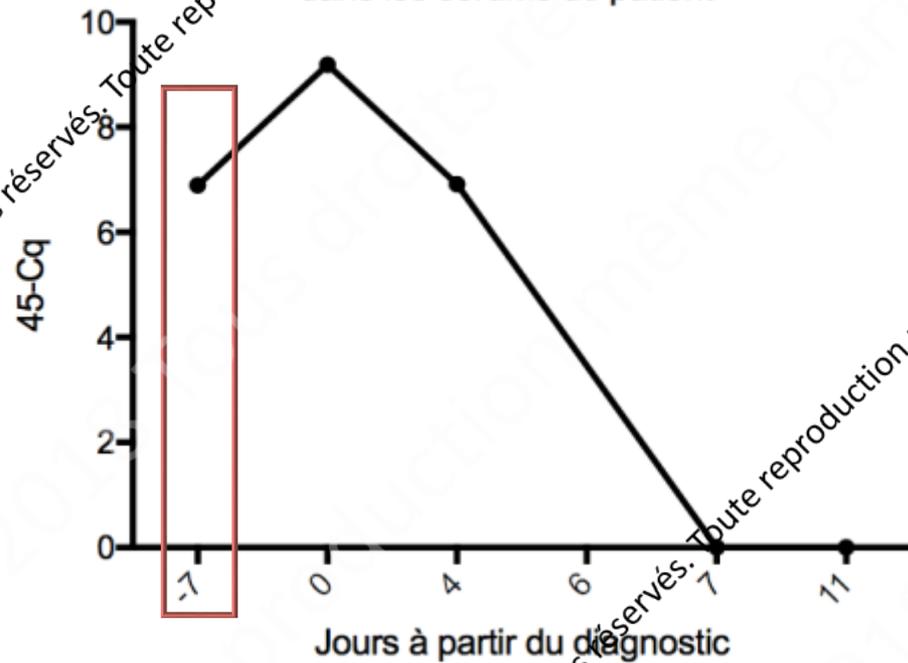
Galactomannane	Nombre d'échantillon avec une qPCR		
	Positive	Négative	Total
Positive	4	1	5
Négative	3	12	15
Total	7	13	20

L'ADN de *Aspergillus* spp. a été détecté

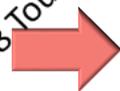
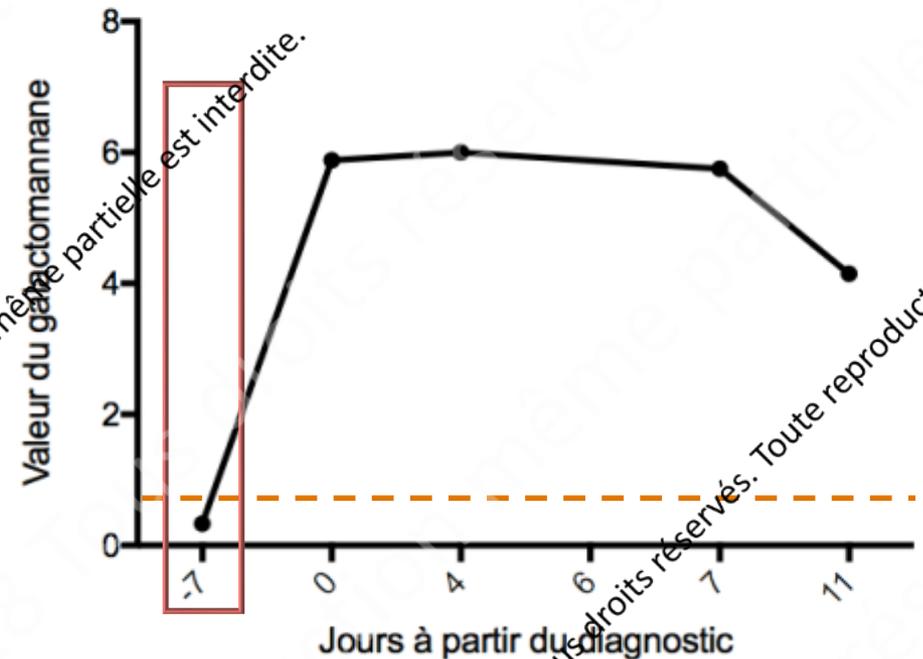
- dans 7 sérums avec le kit FA,
- dans 4 sérums avec le kit MG,
- dans 2 sérums avec le kit AG.

Résultats

Cinétique de la charge fongique dans les sérums de patient



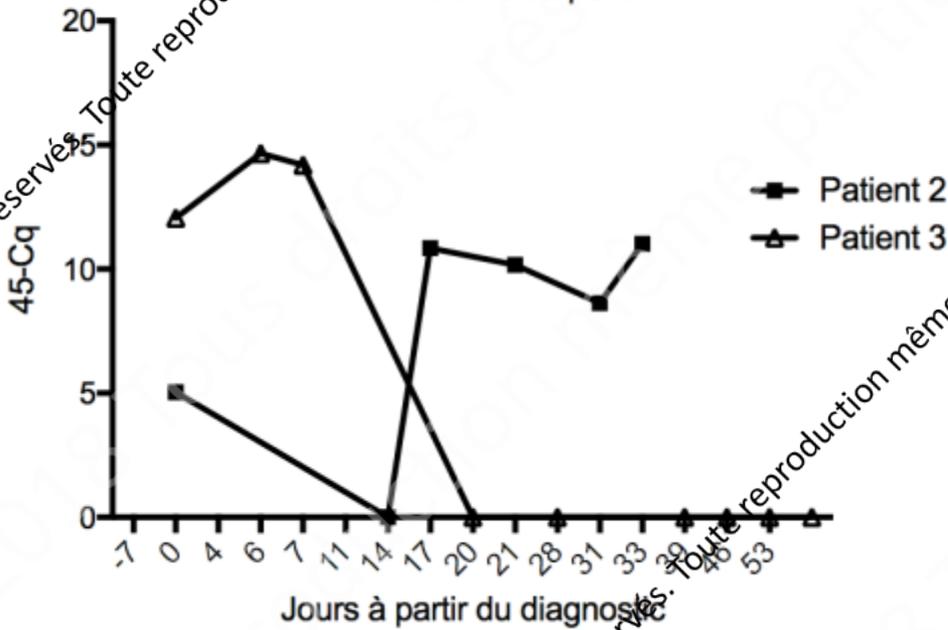
Cinétique de l'antigène galactomannane sérique



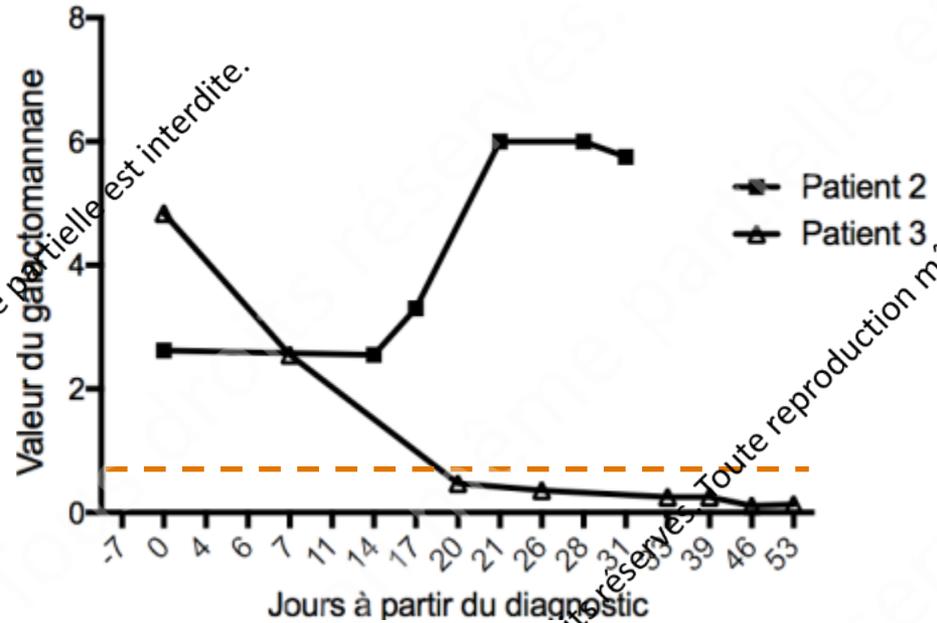
Précocité diagnostique

Résultats

Cinétique de la charge fongique dans les sérums de patient



Cinétique de l'antigène galactomannane sérique



Superposition des cinétiques

Marqueur pronostique

Discussion - Conclusion

- Sensibilité et spécificité des kits commerciaux
 - AsperGenius[®], MycoGENIE[®] et Fungiplex[®] = excellente spécificité
 - Fungiplex[®] = excellente sensibilité
 - Fungiplex[®] et MycoGENIE[®] = couple Se et Sp le plus adapté à un usage diagnostique des aspergilloses à *A. fumigatus*
- PCR Aspergillaire
 - Outil performant pour le diagnostic
 - Complémentaire de la mycologie conventionnelle et de la détection de galactomannane

Discussion - Conclusion

- Détection de l'ADN de *Aspergillus* spp. : un outil diagnostique prometteur

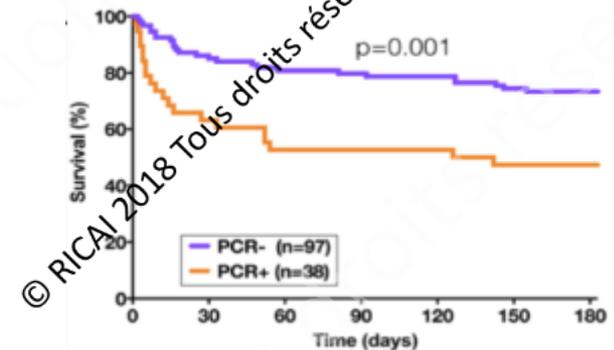
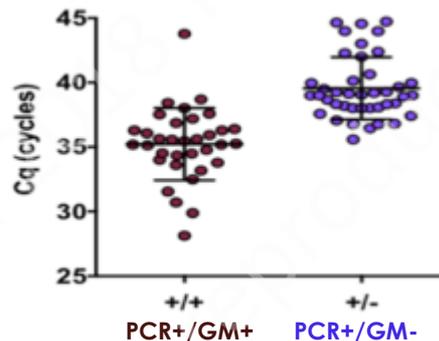
- Gannaoui et al., JCM, 2017
(kit MycoGENIE®)

qPCR	Prélèvements respiratoires	Sérums
Sensibilité (%)	92,9	100
Spécificité (%)	90,1	84,6

- White et al., CID, 2015
(méta-analyse)

	GM-EIA		β-D-Glucane		PCR	
	Sérum	LBA	Sérum	Sérum	LBA	
Sensibilité (%)	79 (79-79)	85 (84-86)	77 (77-77)	86 (84-88)	77 (77-80)	
Spécificité (%)	83 (81-86)	89 (89-89)	83 (81-85)	76 (76-76)	94 (94-94)	

- Alanio et al., Front. Microbiol., 2017
(PCR maison)



Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Perspectives

- Limites de l'étude : faible nombre de patients inclus
 - Etude à réaliser sur une large cohorte de patients
- Utilisation de la PCR dans d'autres pathologies aspergillaires
 - Sinusite aspergillaire
 - Aspergillose cérébrale
 - ...
- Intégration du diagnostic moléculaire aux critères EORTC/MSG ?

Remerciements

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie

Rachid Aijjou
Sandrine Bonaventure
Laurence Dumortier
Nadine François
Dorothee Montvillers

Dr Marjorie Cornu
Dr Jordan Leroy
Dr Séverine Loridant
Pr Boualem Sendid

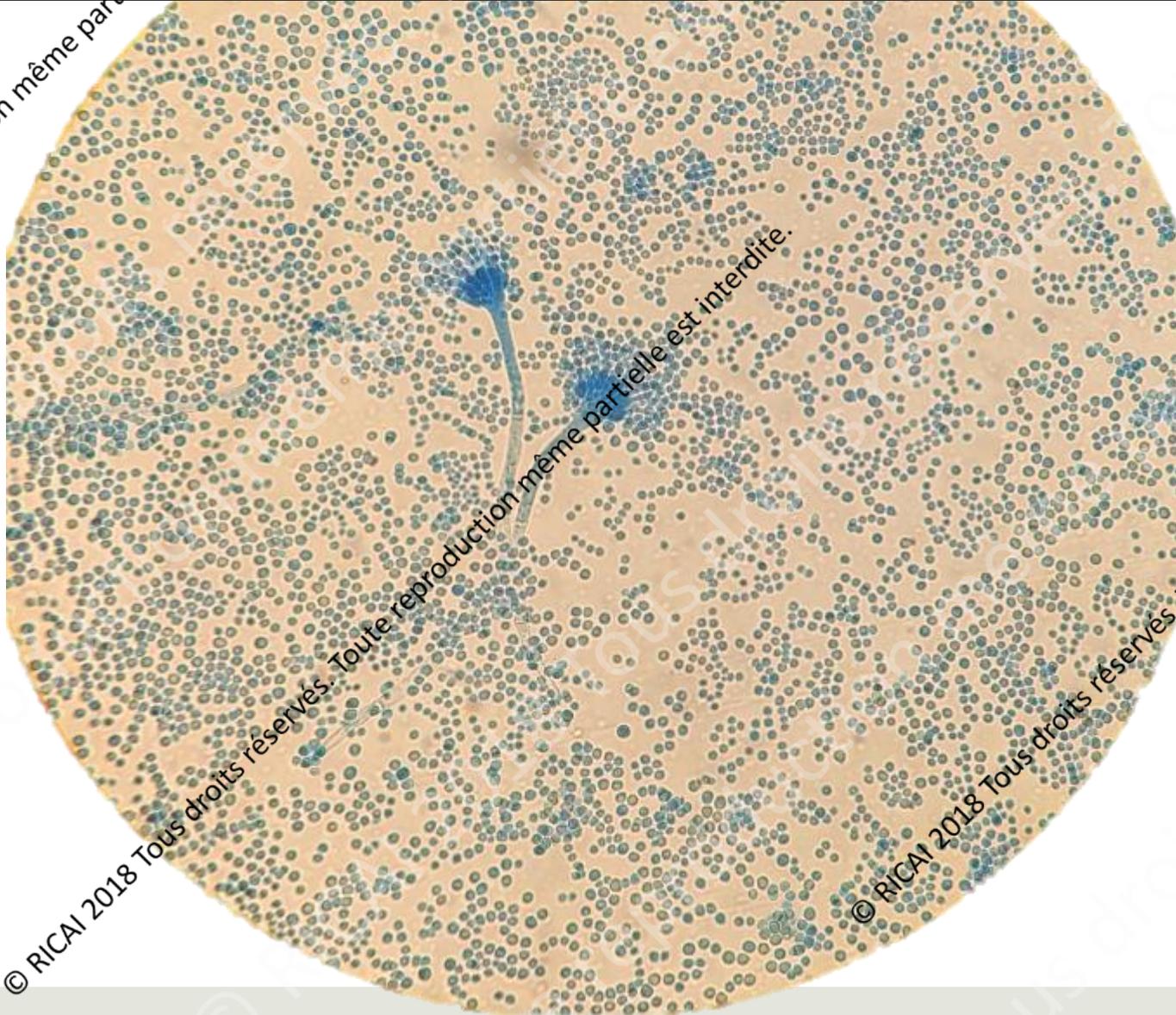
Service des maladies du sang

Dr Valérie Coiteux

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Merci de votre attention



s réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.