

JEUDI 16 NOVEMBRE 2017  
UFR Médecine Paris 7 Diderot,  
site Xavier-Bichat - Paris 18<sup>ème</sup>

60<sup>ème</sup> journée  
de l'hôpital  
Claude-Bernard



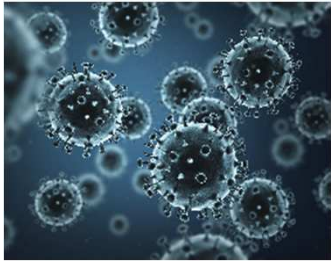
# Interactions entre virus respiratoires et *Aspergillus* sp. Grippe sévère, un terrain favorable pour les infections aspergillaires ?

Françoise Botterel

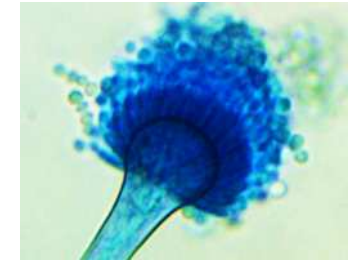
Parasitologie-Mycologie, département de Microbiologie

CHU Henri Mondor, Créteil

EA 7380, UPEC, EnvA



# Aspergillose post-grippe : une nouvelle entité clinique?



- ≈75 cas rapportés de 1952 à 2017
  - 2/3 durant pandémie 2009
- Associée à :
  - Dégradation respiratoire rapide et sévère
  - Mortalité +++

Abbott. Brt Med. J. 1952; Fisher. JAMA 1979; Lewis. Chest 1985; Lat. EID 2010; Garcia-Vidal. CID. 2011; Crum-Cianflone. OFID. 2016;



Intensive Care Med (2012) 38:1761–1768  
DOI 10.1007/s00134-012-2673-2

**ORIGINAL**

**Invasive pulmonary aspergillosis is a frequent complication of critically ill H1N1 patients: a retrospective study** 9 cas

Joost Wauters  
Ingrid Baar  
Philippe Meersseman  
Wouter Meersseman  
Karolien Dams  
Rudi De Paep  
Katrien Lagrou  
Alexander Wilmer  
Philippe Jorens  
Greet Hermans

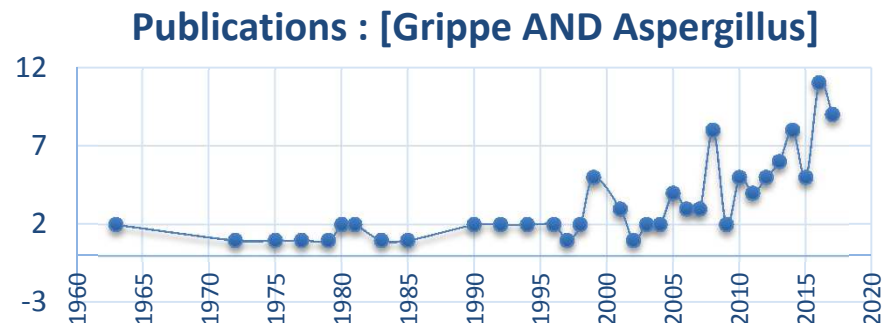
**Invasive Aspergillosis Complicating Pandemic Influenza A (H1N1) Infection in Severely Immunocompromised Patients** 5 cas

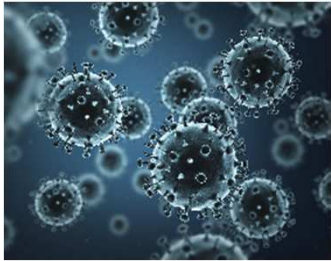
Carolina Garcia-Vidal,<sup>1,2</sup> Pere Barba,<sup>3</sup> Montse Aman,<sup>4</sup> Asunción Moreno,<sup>5</sup> Isabel Ruiz-Camps,<sup>6,2</sup> Carlota Gudiol,<sup>1,2</sup> Josefina Ayats,<sup>7,8</sup> Guillermo Orti,<sup>4</sup> and Jordi Carratalà<sup>1,2</sup>

Expert Review of Respiratory Medicine

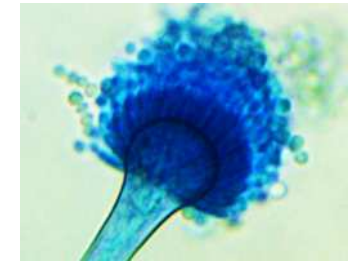
**Invasive pulmonary aspergillosis in patients with influenza infection: report of two cases and systematic review of the literature** 68 cas


Khaled Alshabani, Athar Haq, Ryo Miyakawa, Mohan Palla & Ayman O Soubani



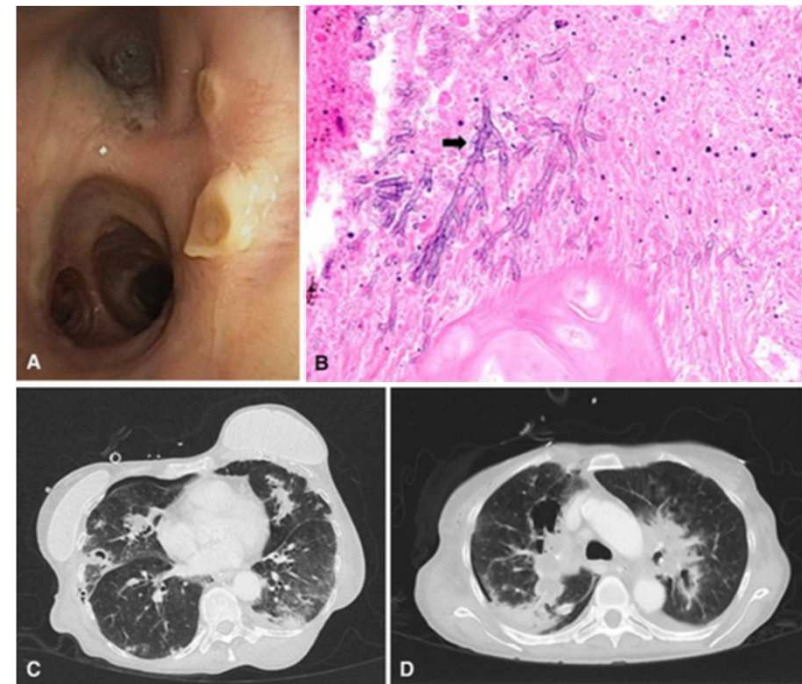


# Cas clinique



- Femme 63 ans
- ATCD: Kc sein en RC, Tabac 37PA
-  Urgences Fièvre, dyspnée, douleurs abdominales depuis 6 j  
Aggravation → SDRA => USI
- Bilan diagnostic

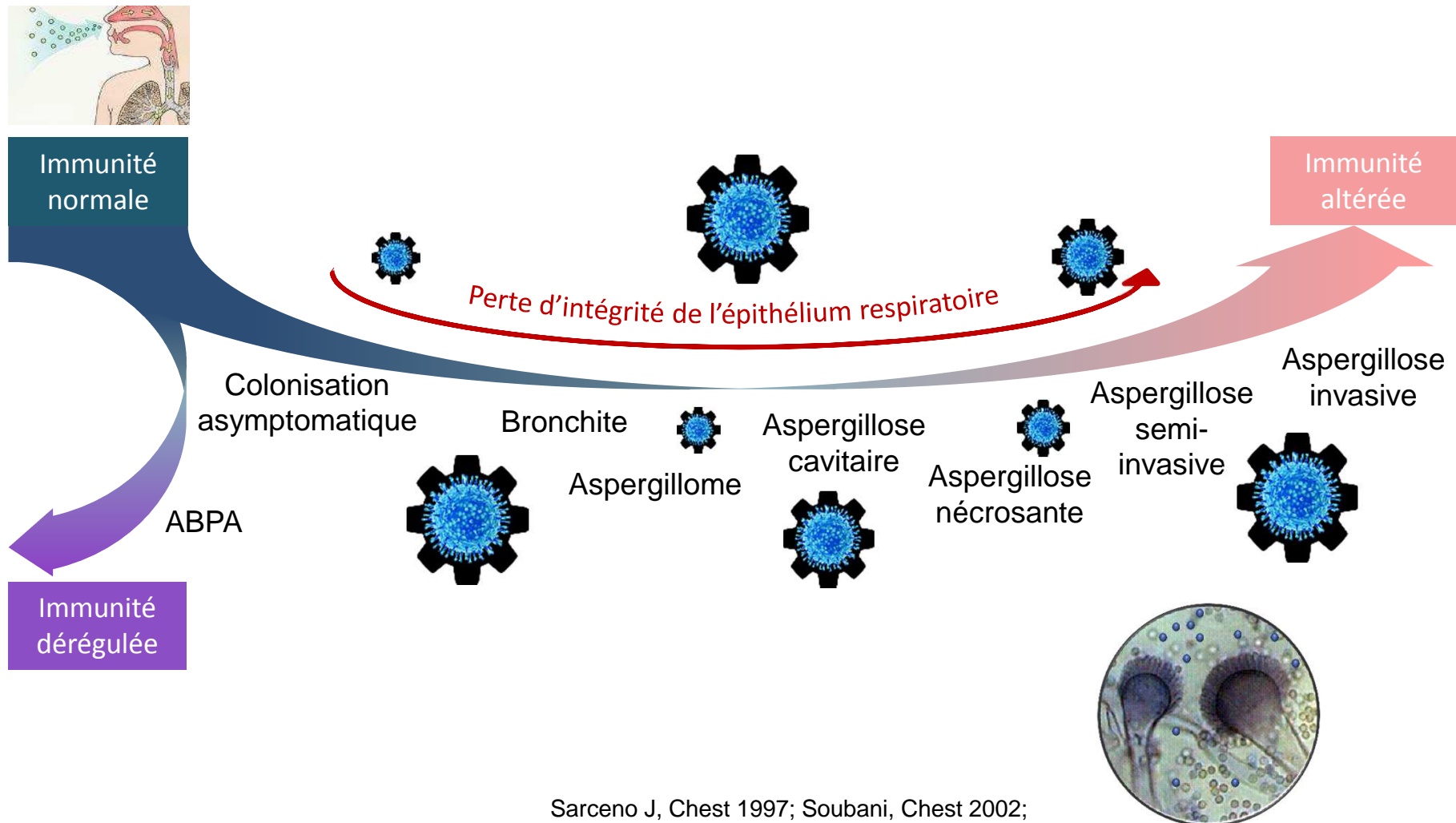
Fibroskopie bronchique	Ulcérations
Biopsie transbronchique, culture et PCR sur LBA,	<i>Influenza A, Parainfluenza 4, Aspergillus fumigatus</i>
Sérum	Antigènes GM 1,5
Scanner thoracique	Lésions bilatérales alvéolaires et péribronchiques → excavation progressive



**Fig. 1** a Multiple tracheal ulcerations on day 3. b Histology of lung parenchyma with invasive pulmonary aspergillosis (arrow). c CT scan of the lungs on day 4 showing bilateral alveolar and peribronchial lesions compatible with invasive aspergillosis. d CT scan of the lungs on day 11 showing progressive bilateral cavities

- Prise en charge SI + antiviraux + antifongiques
- Décès

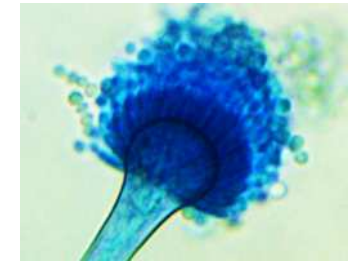
# La grippe, un facteur favorisant d'aspergillose ?



Sarceno J, Chest 1997; Soubani, Chest 2002;  
Denning D, CID 2003; Kosmidis C, Thorax 2015



# Les enseignements de la littérature



- Revue Alshabani *et al*, 68 cas, 2015 :

↗ des cas depuis 2010

Âge moyen : 51 ans (23-86), 67% H

ID 34% : cancer (n=12), leucémie (n= 8), neutropénie (n =9), transplantation (n= 8)

Maladies sous jacentes 81% :

28% pathologie pulmonaire : BPCO, asthme, tabac,

Autres : HTA, alcool, cirrhose, obésité, maladie ♥, VIH, PR, diabète, myasthénie, IR, PTIs

93% *Influenza A* (⇒ H1N1pdm09 +++)

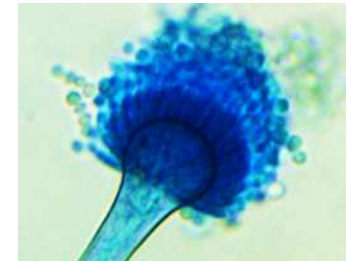
35% API prouvée, 65% probable, 47% de mortalité : FDR corticoïdes (OR 13,5)

	Wauters <i>et al.</i> Int Care Med, 2012	Kim <i>et al.</i> Am J Respir Crit, 2011	Martin-Loeches <i>et al.</i> Int Care Med, 2011
Etude	Rétrospective	Prospective	Prospective
Population	40 Patients de réanimation	245 - Grippe H1N1pdm09	220
API	23% (9)	1,6% (4)	1,8% (4)
FDR d'API		Corticoïdes	



# Les enseignements de la littérature

Revue de 57 cas + 5 cas « personnels » saison 2015-2016



- Facteurs de risque à l'admission

Corticoïdes entre Dg de grippe et isolement d'*Aspergillus* 32%

Corticoïdes avant admission 20%

Pas de facteur de risque classique : 66%

- La grippe

90 % d'*Influenza A* (H1N1++)

Lymphopénie = 86% (<1000/ $\mu$ L)

Traitement antiviral dans > 50 % cas pendant 12 jours (5-21):

oseltamivir > oseltamivir + peramivir > oseltamivir + zanamivir

#### Inhibiteurs de neuraminidase

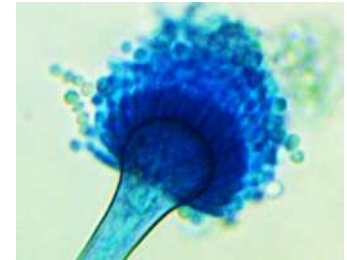
- Oseltamivir (Tamiflu®)
- Zanamivir (Relenza®)
- Peramivir
- Lanonamivir



# Les enseignements de la littérature

## Revue de 57 cas + 5 cas « personnels »

### saison 2015-2016



- **L'aspergillose**

Délai entre *Influenza* et *Aspergillus*: 6 jours (0-32)

Atteinte pulmonaire dont 9 trachéobronchites et 7 avec atteinte systémique

Diagnostic par culture *A. fumigatus* (70%), (2 doubles espèces), anatomopathologie, GM positif

Classification des aspergilloses (EORTC/MSG) : 2/3 prouvée ou probables

- **Les coinfections bactériennes (n = 12) :**

*S. aureus* > *S. pneumoniae* >, *H. influenzae* >, *K. pneumoniae*>, *Acinetobacter* sp

Mortalité 46%

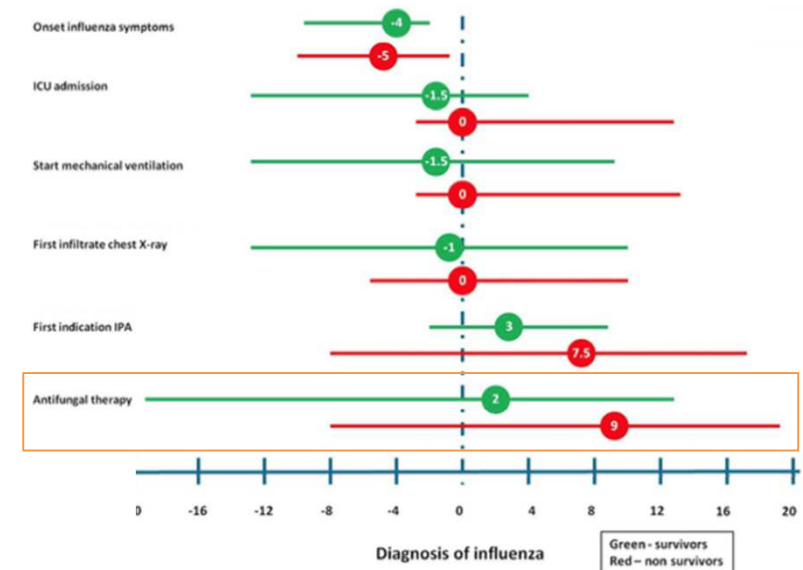


# Les enseignements de la littérature

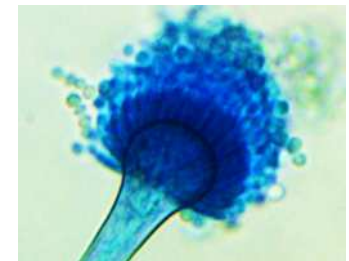
## Une étude rétrospective multicentrique hollandaise



- 144 gripes sévères, 8 réanimations, 2015-16
- 23 AI associées, 16%
  - 21 virus A et 2 virus B (23 TTT antiviral)
  - 20 API (86%)
  - 7 patients sans co-morbidités
- Diagnostic :
  - 18 LBA : GM+, n=17 (94%), culture +, n= 14 (78%)
  - 14 sérum : GM+, n=10 (71%)
- 14 antifongogrammes : R aux azolés 29%
- Traitement ATF
  - J9 post-diagnostic grippe (non survivants) vs. J2 (survivants)
- Mortalité globale 61% (n = 23) (P<0.001)
  - ↗ chez patient sain 71% (n = 5/7)
  - Pathologie sous jacente 56% (n = 9/16)
  - Autopsie : nécrose et érosion de l'épithélium de la trachée et bronches (anapath +)



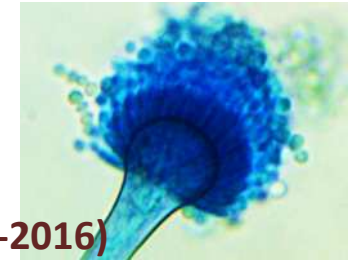
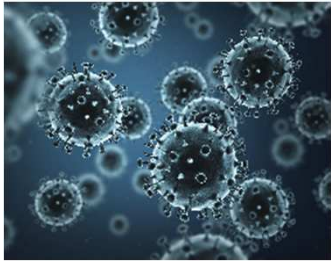




## Une étude de cas à l'hôpital Henri Mondor



Angebault C *et al.* ECCMID 2017

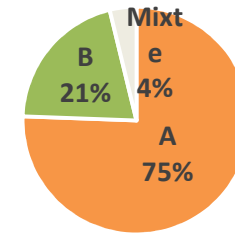


# Etude rétrospective monocentrique

**Screening 5 périodes hivernales (2011-2016)**

- Grippe A/B (Influenza A/B r-gene®)
- Patients hospitalisés (≥2j)

475 épisodes de grippe



**Critères mycologiques concomitants [J-7; J+15]**

- Culture + sur prélèvement respiratoire/sinus
- Ag galactomannane + (sérum, LBA)

26 cas (5,5%)

- Recueil de données clinico-biologiques
- Classification des cas selon les critères EORTC<sup>1</sup>

14 colonisations aspergillaires

12 (2,5%) infections aspergillaires

<sup>1</sup>de Pauw B et al. Clin. Infect. Dis. 2008.

- 4 SOT
- 2 HM
- 2 AI sous MTX

- 2 SOT
- 7 HM

# Comparaison des colonisations vs. Aspergilloses

Données démographiques  
- Sexe

Antécédents médicaux  
- Température  
- Prise de médicaments (durée)  
- Antécédents d'aspergillose  
- FR colonisation fongique

Épisode de grippe  
- Virus influenza A/B  
- Séjour en hospitalisation  
- Colonisation fongique  
- Décès à 1 mois

**≥ 2 critères mycologiques +**

Culture mycologique + Ag GM sérique

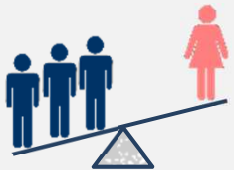
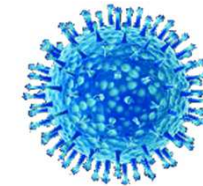
Cultures mycologiques répétées

Ag GM sériques répétés

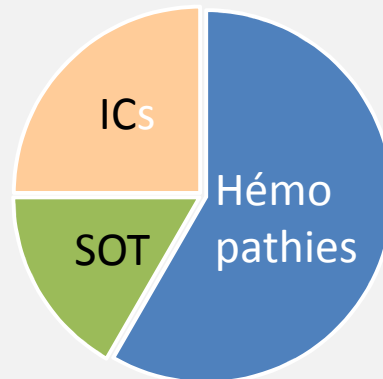
⇒ 67% Aspergillose

$P_{univ} = 0,02$ , OR=8,2

# Profil des co-infectés grippe-*Aspergillus*, N=12

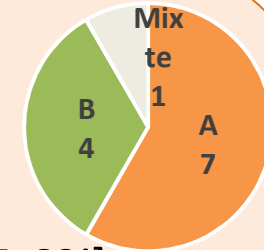


Age moyen : 59  
ans



- 4 CTC >1mois
- 10 FDR colonisation aspergillaire
- 2 ATCD API
- 1 ATCD colonisation

- 10 Oseltamivir [2-20j]
- 9 gripes sévères
  - 9 séjours réanimation [5-63j]
  - 8 SDRA, 4 défaillances multiviscérales

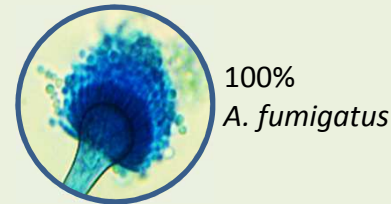


- 7 co-infections  
3 VRS, 2 Entérobactéries, 1 *P. aeruginosa*, 1 *A. baumannii*, 1 *S. pneumoniae*

# Profil des co-infectés grippe-*Aspergillus*, N=12

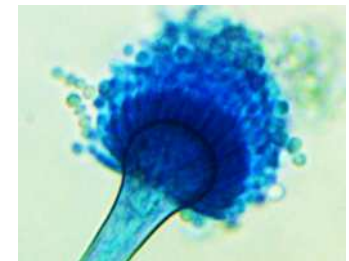


- Médiane diagnostic aspergillose/grippe : +4 jours [-4;14j]
- 10 critères mycologiques multiples
  - 3 cultures multiples
  - 5 cultures + marqueurs antigéniques
  - 2 marqueurs antigéniques multiples
- Type d'aspergillose
  - Aspergillome
  - Sinusite aspergillaire
  - API
- 12 voriconazole : durée<sub>moy</sub>=120j [2-390]
- 3 décès précoces (<20j) et 1 décès à 2 mois post-diagnostic





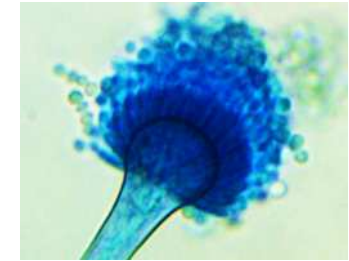
# Pourquoi cette augmentation de cas depuis 2010?



- Souches plus virulentes?
  - Pandémie H1N1
  - Altérations plus sévères et plus diffuses de la muqueuse respiratoire permettant une invasion fongique? (Guarner J *et al.* Arch Med Res 2009; Bautista E *et al.* NEJM 2010)
- Plus de stéroïdes pour traiter des pneumonies sévères?
  - Effets immunosuppresseurs favorisant l'infection fongique
- Meilleur diagnostic

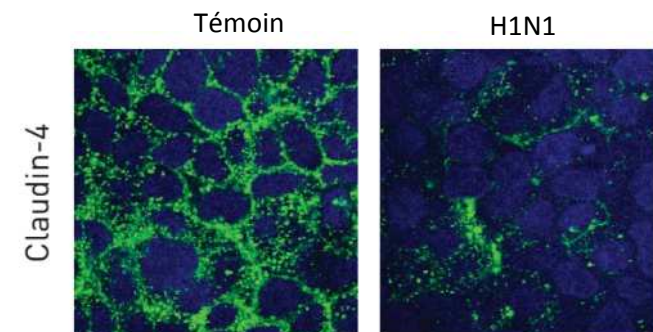
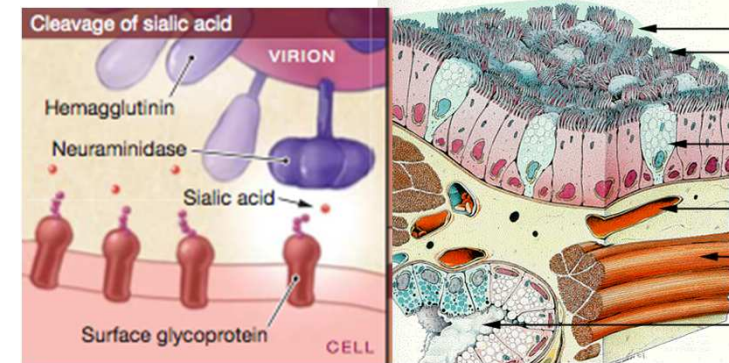


# Pathogénèse de la grippe faisant le lit de l'aspergillose



## Effet locaux du virus

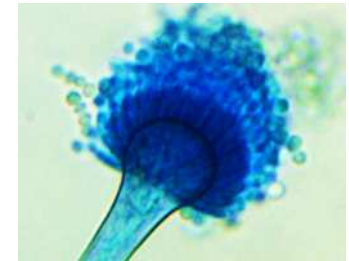
- Liaison aux acides sialiques  $\alpha$ -2,6 des VAS => clivage des acides sialiques =>
- Altération de l'épithélium trachéo-bronchique et défaut de clairance muco-ciliaire
- Perturbation des cellules ciliées → altération jonctions serrées
- Régénération > 5 jours → fenêtre de fragilité → lit des infections bactériennes et fongiques



Cellules épithéliales bronchiques cultivées sur membranes après 24h d'incubation en présence de témoin ou H1N1.  
Short. Eur. Resp. J. 2016



# Pathogénèse de la grippe faisant le lit de l'aspergillose



- Effets systémiques

Dysrégulation de la phagocytose et de la balance Th1-Th2 :

H1N1pdm09  $\nearrow$  IL10

Réduction de la fonctionnalité des cellules NK

Diminution de la phagocytose par macrophages alvéolaires

Affecte la réponse immunitaire adaptative médiée Th2

Altération de la réponse Th1/Th2 => lymphopénie => FdeR  
aspergillose

- Antibiotiques à large spectre prescrit chez les patients avec grippe

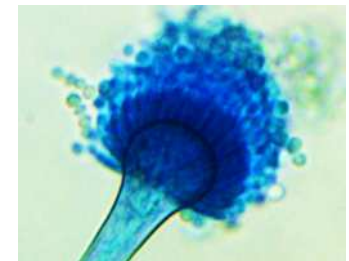
- Perte du microbiote « normal »

- Niche pour l'*Aspergillus*?

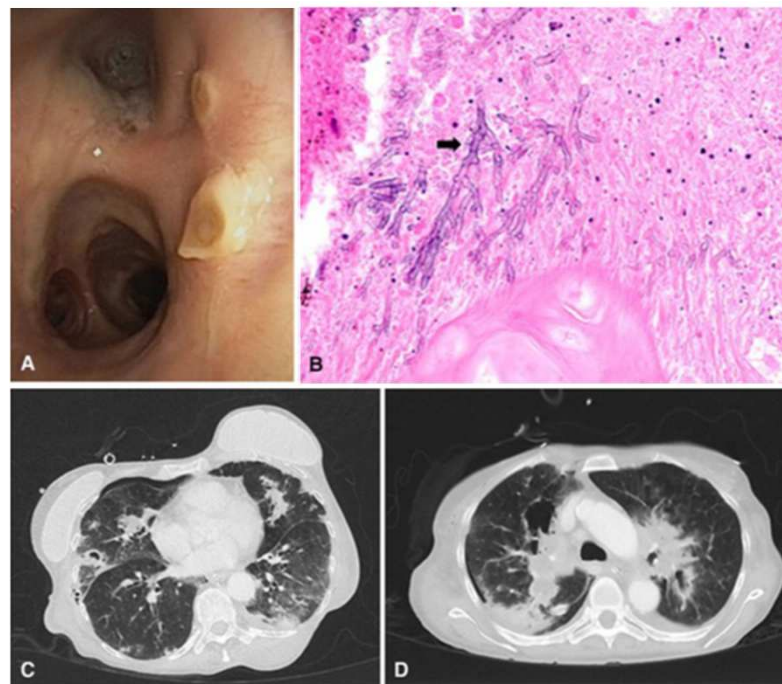
Wilson R et al; Eur J Respir Dis 1987

Lee N et al. Plos One 2011

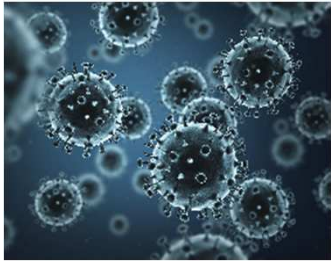




## Faire le diagnostic

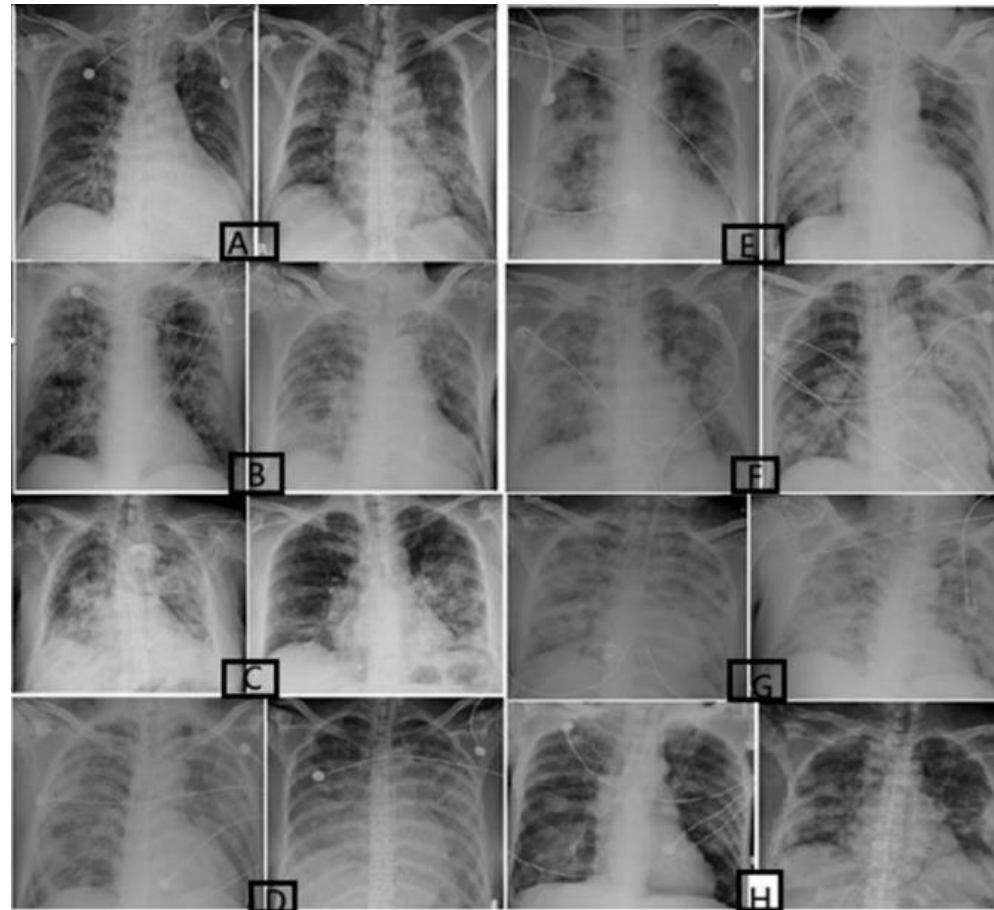
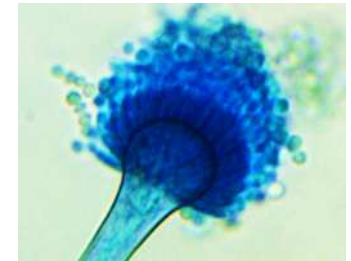


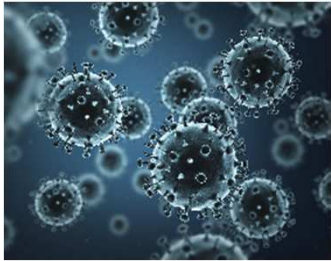
**Fig. 1** **a** Multiple tracheal ulcerations on day 3. **b** Histology of lung parenchyma with invasive pulmonary aspergillosis (arrow). **c** CT scan of the lungs on day 4 showing bilateral alveolar and peribronchial lesions compatible with invasive aspergillosis. **d** CT scan of the lungs on day 11 showing progressive bilateral cavities



# Comment faire rapidement le diagnostic?

## Lésions non typiques...





# Trachéobronchite suggérée par bronchoscopie...

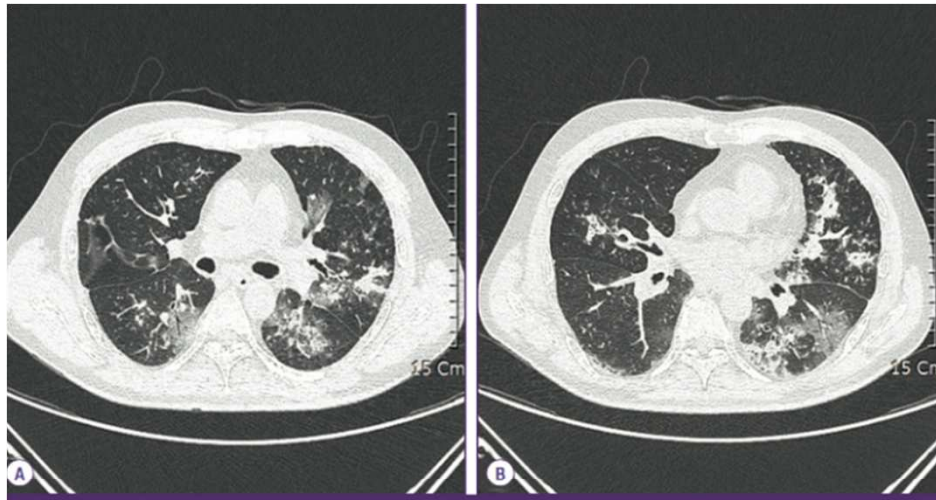
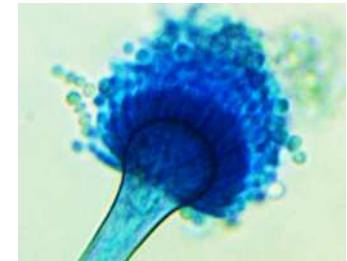


Figure 1. Chest CT of the patient on hospital day 13 shows numerous small centrilobular nodules and peribronchovascular consolidations on both lungs.

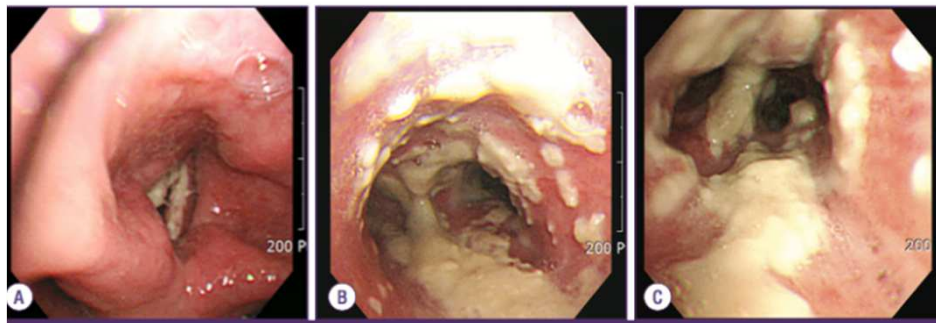


Figure 2. Bronchoscopic findings of the patient. Cream-colored thick pseudomembrane were found from vocal cord (A), carina (B), bronchus intermedius (C) to whole bronchi.

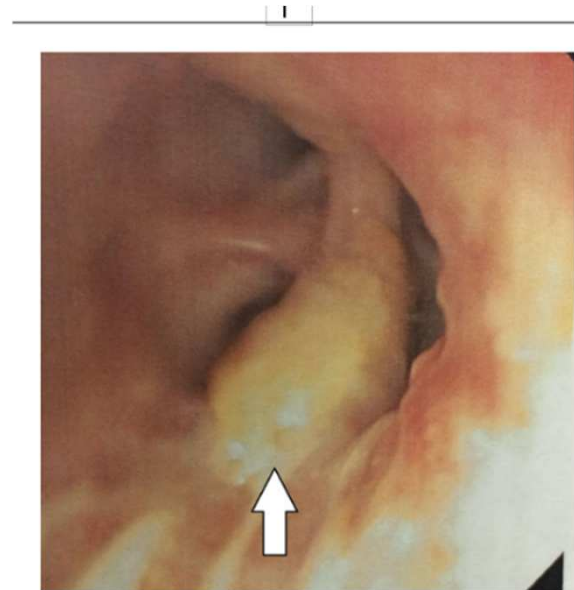
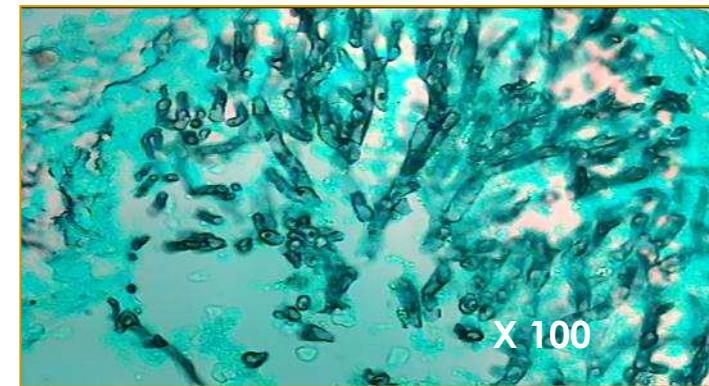
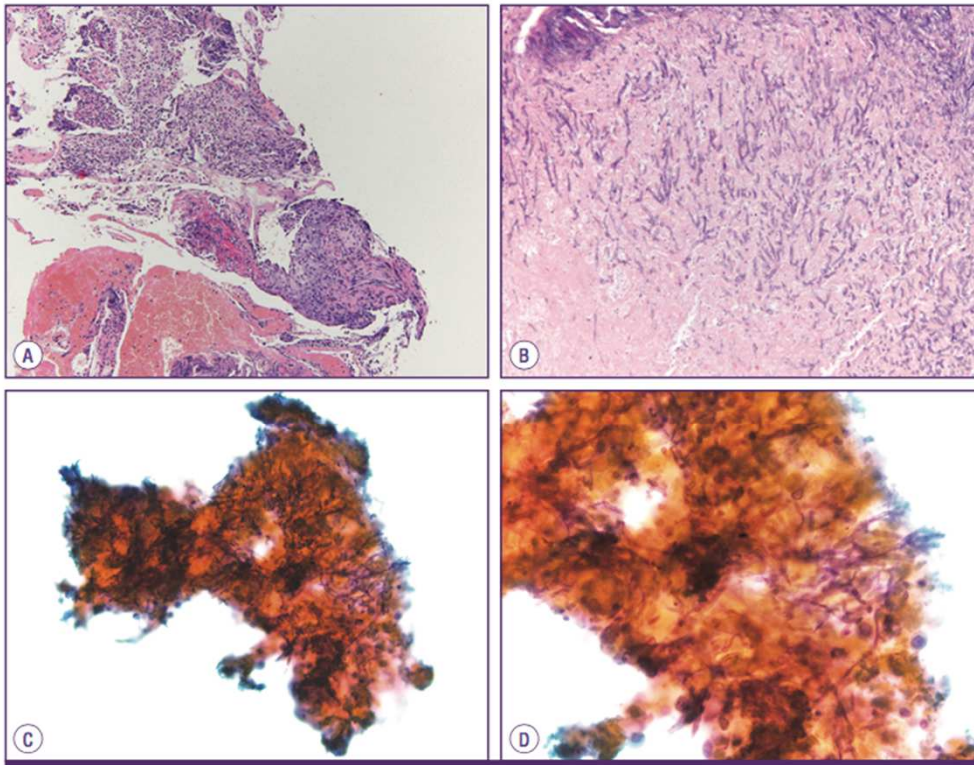
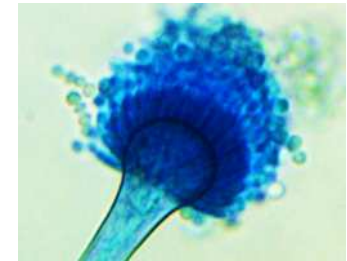


Figure 1. Fungal tracheobronchitis consistent with invasive aspergillosis.

Prédominance de l'*Aspergillus* au niveau de l'arbre trachéobronchique.  
Aspergillose pseudomembraneuse, ulcérate et obstructive



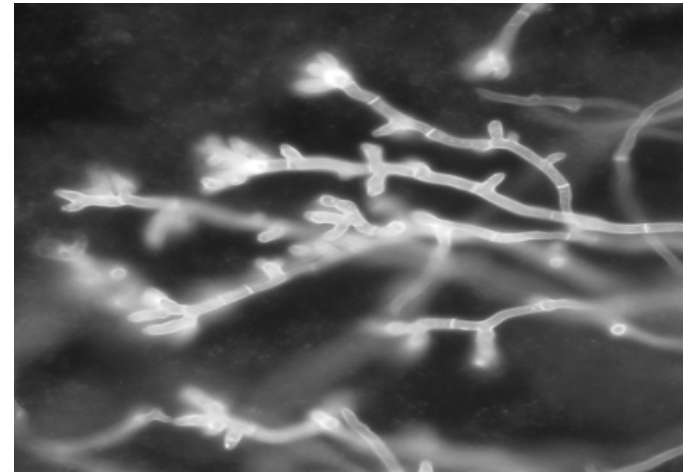
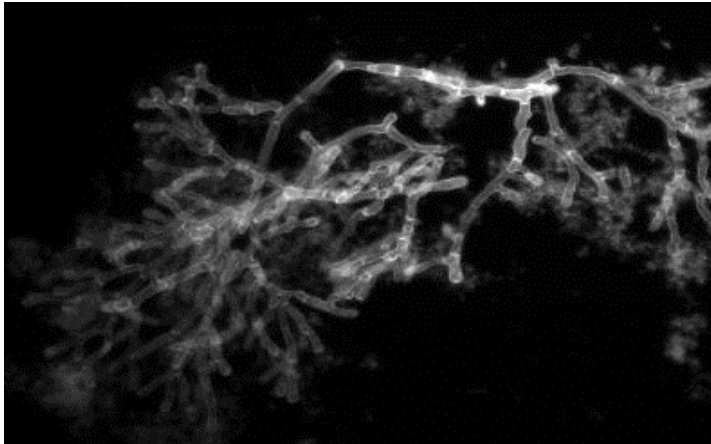
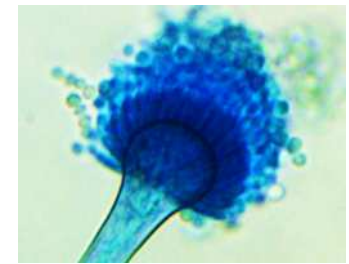
...et confirmée par  
l'anatomopathologie...



**Figure 3.** Microscopical findings of the specimen obtained from bronchoscopic biopsy and lavage show the numerous fungal hyphae invading the necrotic mucosa & submucosal layer, not the tracheal cartilage (A) (hematoxylin & eosin stain  $\times 100$ ) and tangled septate branching hyphae of *Aspergillus* species (B) ( $\times 400$ ), (C) ( $\times 200$ ), (D) ( $\times 400$ ).

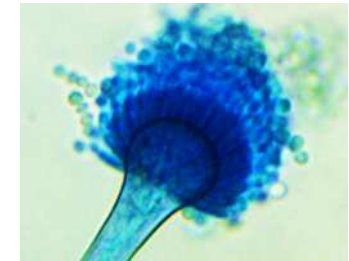


## ...l'examen direct et la culture





# Valeur du Galactomannane



**Table 2** Overview of all individual cases of invasive pulmonary aspergillosis (IPA)

Patient	GM BAL	GM blood	Fungi BAL	Bronchoscopic lesion	Fungi biopsy	Infiltrates	EORTC definition	Day of first indication of IPA after ICU admission	Predisposing condition
1	Y	Y	N	Y	NA	Y	Probable <sup>a</sup>	3	CS before IPA
2	Y	N	Y	N	NA	Y	Probable <sup>a</sup>	5	CS before IPA
3	Y	Y	Y	N	Y	Y	Proven	-5	Kidney transplant
4	Y	N	Y	N	N	Y	Probable <sup>a</sup>	10	COPD
5	Y	Y	Y	N	Y	Y	Proven	0	Kidney transplant
6	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Proven	-3	Lung transplant
7	Y	Y	Y	Y	NA	Y	Probable <sup>a</sup>	0	TTP
8	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Proven	8	CS before IPA
9 <sup>b</sup>	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Proven	5	CS before IPA

*Fungi BAL* *Aspergillus* spp. cultured from BAL, *Bronchoscopic lesion* bronchoscopically visualized tracheal or bronchial white lesions, *Fungi biopsy* microscopic evidence of dichotomous branching hyphae, *CS* corticosteroid use before onset of IPA. The first diagnostic test was a positive BAL or serum galactomannan or microscopic evidence of *Aspergillus* spp. relative to day of ICU admission (day 0). Proven cases are irrespectively according to [20].

Y yes, N no, NA not available, GM galactomannan (*Aspergillus* spp. pulmonary disease, TTP thrombotic thrombocytopenic purpura

<sup>a</sup> Host factor present

<sup>b</sup> IPA case hospitalized and diagnosed in Antwerp University Hospital

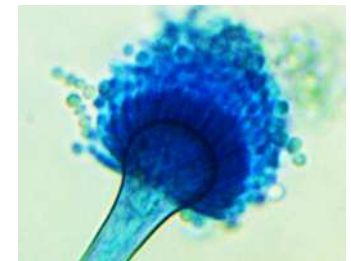
Intensive Care Med (2012) 38:1761–1768  
DOI 10.1007/s00134-012-2673-2

ORIGINAL

Joost Wauters  
Ingrid Baar  
Philippe Meersseman  
Wouter Meersseman  
Karolien Dams  
Rudi De Paep  
Katrien Lagrou  
Alexander Wilmer  
Philippe Jorens  
Greet Hermans

**Invasive pulmonary aspergillosis is a frequent complication of critically ill H1N1 patients: a retrospective study**

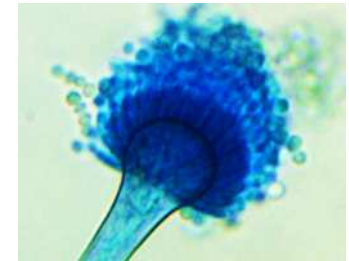
Patients souvent non neutropéniques



Autres co-infections virales respiratoires  
associées à l'*Aspergillus*?



# Autres virus respiratoires? Facteurs de risque de l'IA?



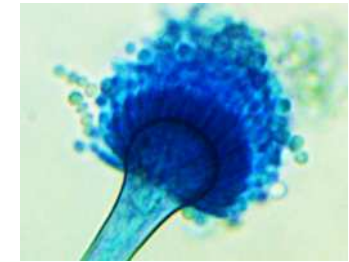
- Infection respiratoires à rhinovirus/entérovirus en hématologie
  - 31 patients : 18 entérovirus; 15 rhinovirus
  - 13% de co-infections bactériennes, virales (CMV) ou aspergillaires
  - Diagnostic d'aspergillose chez 20% des patients avec un rhinovirus

Parody R *et al.* Am J Hematol 2007





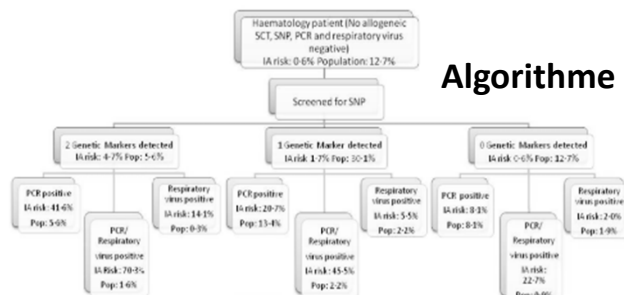
# Autres virus respiratoires? Facteurs de risque d'IA?



- Infection respiratoires à rhinovirus/entérovirus en hématologie
  - 31 patients : 18 entérovirus; 15 rhinovirus
  - 13% de co-infections bactériennes, virales (CMV) ou aspergillaires
  - Diagnostic d'aspergillose chez 20% des patients avec un rhinovirus

- Facteurs prédictifs d'AI en hématologie

- Modèle multivarié
- Marqueurs cliniques et biomarqueurs
- Marqueurs génétiques associées AI
  - Dectin-1 (rs7309123)
  - DC-SIGN (rs11465384 and rs7248637)



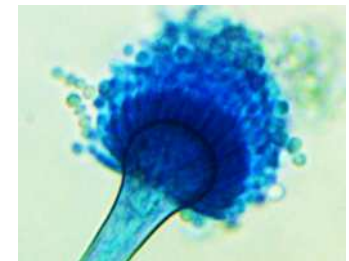
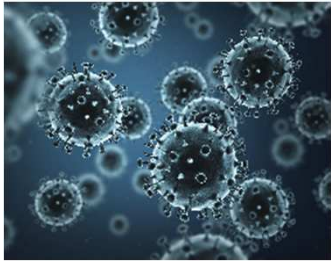
White PL et al. J Clin Microbiol. Nov 2017.

Parameter	Disease classification				Significance <sup>f</sup> (proven/probable vs NEF)
	Proven (n=6)	Probable (N=48)	Possible (N=20)	NEF (N=268)	
Ratio male/female	2:1	1.7:1	1.9:1	1.5:1	P: 0.7667
Median Age (years)	58	52	64	61	P: 0.31 <sup>e</sup>
Underlying disease (n)					
Acute leukaemia/MDS	3	25	15	91	P: 0.011
Lymphoma	1	13	3	90	P: 0.3389
Myeloma	1	4	0	50	P: 0.1134
Chronic Leukaemia	1	4	2	18	P: 0.5605
Other <sup>a</sup>	0	2	0	19	P: 0.5521
Mortality (%)	66.7	54.2	60.0	45.5	P: 0.1302
Transplant rate (%)					
Combined	50.0	58.3	20.0	33.6	P: 0.0018
Allogeneic	50.0	45.8	20.0	9.3	P: <0.0001 <sup>b</sup>
Autologous	0.0	12.5	0.0	24.3	P: 0.00321
No transplant	50.0	41.7	80.0	66.4	P: 0.0018
GVHD (n)	2	12	2	9	P: 0.2757 <sup>f</sup>
PCR positivity (n)					
1 positive threshold <sup>b</sup>	6	44	15	93	P: <0.0001
≥2 positive threshold <sup>c</sup>	6	36	10	39	P: <0.0001
Additional infections					
CMV (n)	4	11	3	22	P: 0.3494 <sup>f</sup>
Respiratory Virus (n)	1	34	4	38	P: 0.0025 <sup>e</sup>
Influenza A or B	0	9	1	11	P: 0.2113 <sup>e</sup>
Parainfluenza	1	7	1	8	P: 0.0988 <sup>e</sup>
Rhinovirus	0	5	0	10	P: 0.4879 <sup>e</sup>
RSV	0	12	2	9	P: 0.0046 <sup>e</sup>
Adenovirus	0	1	0	0	P: 0.2996 <sup>e</sup>
Patients with multiple respiratory virus infections	0	8 <sup>d</sup>	0	8 <sup>d</sup>	P: 0.1483 <sup>e</sup>

Allo-HCST

PCR  
Aspergillus

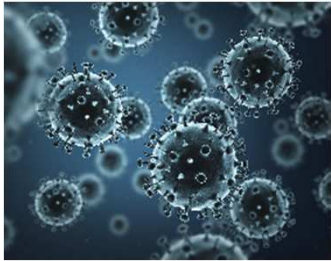
Virus  
respiratoires  
VRS +++



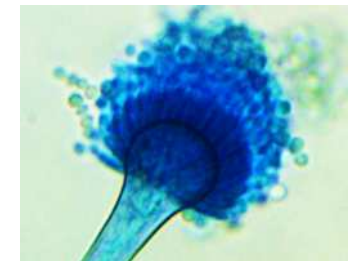
## Autres co-infections associées à la grippe

Virus de la grippe  
cherche partenaire  
pour passer l'hiver

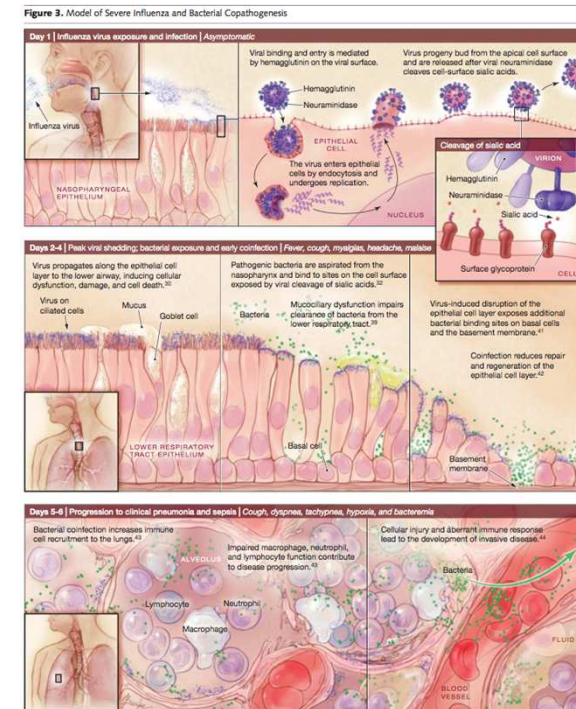




# Autres co-infections du virus Influenza dans le tractus respiratoire

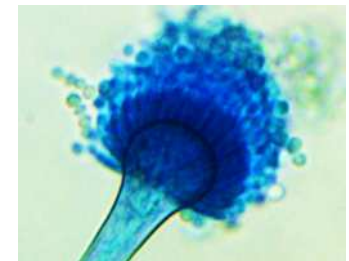


- Etude rétrospective 2015-2016 :  
124 patients avec grippe  
17 patients (21%) avec *Aspergillus* (plus fréquent dans BPCO)  
38 patients (31%) avec co-infections autres qu'*Aspergillus*  
*K. pneumoniae* (36.8%), *P.aeruginosa* (31.6%), *S. aureus* (31.6%)  
Mortalité *Aspergillus* (66.7%) vs autres infections (15,4%)  $p < 0,001$  (ajustement variables)  
Tendance à l'émergence des co-infections à *P. aeruginosa* et *Aspergillus*





## En pratique, les épidémies saisonnnières de grippe font-elles le lit de l'aspergillose ?



- Infection aspergillaire en cas de grippe chez un patient hospitalisé

Rare : 2,5% cas  
≥ 2 critères mycologiques → risque aspergillose +++

- Profil type

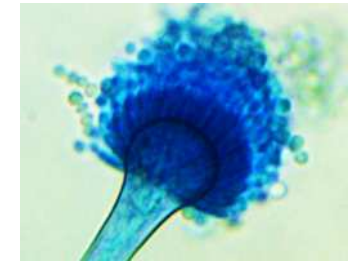
Patient immunodéprimé, comorbidités mais pas toujours  
Prise de corticoïdes, grippe sévère en USI  
>50% co-infections bactériennes/virales  
Pronostic sévère

- Rôle des autres infections virales ? Du microbiote respiratoire ?  
Immunité de l'hôte ?

Sous-évaluation des cas → renforcer le dépistage ?  
Marqueurs de la lésion de l'épithélium respiratoire ?



# Conduite à tenir en cas d'IIA



Admission en USI avec insuffisance respiratoire



Test PCR *Influenza*



Détérioration respiratoire et/ou culture + *Aspergillus sp.* (prélèvement respiratoire)

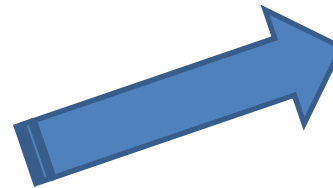


Wait and see

Bronchoscopie : présence de trachéobronchite (*Aspergillus?*)  
LBA : GM et culture  
GM sérique



Si négatif



Si au moins 1 positif

Débuter un traitement antifongique (VCZ)



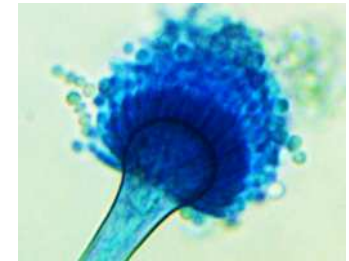
Après 2 semaines d'amélioration clinique, arrêt VCZ et TDM de contrôle

Attention interaction VCZ /flucloxacillin => VCZ sub-optimal chez 50 % des patients  
Muilwijk EW. AAC 2017

Verweij P. TIMM 2017



# Remerciements à mes collègues de l'hôpital Henri Mondor



- Laboratoire de Parasitologie – Mycologie
  - Cecile Angebault
  - Christine Bonnal
  - Les autres
- Laboratoire de Virologie
  - Christophe Rodriguez
  - Slim Fourati
- Les pneumologues
  - Bernard Maitre
  - Frédéric Schlemmer
- La réanimation médicale
  - Nicolas de Prost



Département  
Hospitalo-Universitaire



VIRUS-IMMUNITÉ-CANCERS