

UNIVERSITE D'ALGER- FACULTE DE MEDECINE

Aspergillus - Aspergilloses

Cours de parasitologie-mycologie médicales
3ème Année Médecine

2022-2023

Dr D.Arrache
Maitre assistante en parasitologie- mycologie médicales
CHU Mustapha, Alger

❖ Définition

Les aspergilloses sont des pathologies dues à des champignons filamenteux du genre *Aspergillus*. Ce sont des champignons saprophytes, ubiquitaires, cosmopolites, opportunistes, responsables le plus souvent d'infections respiratoires nosocomiales.

❖ Agent pathogène

Classification

-Selon la reproduction **asexuée** :

Règne : Fungi
Phylum (Division) : Deuteromycotina
Classe : Hyphomycètes
Ordre : Moniliales
Famille : Aspergillaceae
Genre : *Aspergillus*

-Selon la Reproduction **sexuée** :

Règne : Fungi
Division : Ascomycotina
Classe : Ascomycètes
Ordre : Eurotiales

Le genre *Aspergillus* est actuellement divisé en 6 sous-genres, 27 sections et 87 séries. Il contient plus de 400 espèces, seule une vingtaine est impliquée en pathologie humaine. L'espèce *A.fumigatus* est la plus pathogène et responsable de la majorité des cas (80%). Les autres espèces les plus retrouvées en pathologie humaine sont: *A.flavus*, *A.terreus*, *A.nidulans*, *A.niger*, *A.versicolor*

Morphologie

-La multiplication asexuée : Le thalle est de type filamenteux, les filaments mycéliens sont hyalins (non colorés), septés (cloisonnés), de diamètre fin et régulier (2 à 4µm), se ramifient en mode dichotomique à angles aigus de 45°. Les filaments portent un stipe non septé perpendiculaire à l'axe filamenteux et porte une vésicule terminale. L'ensemble stipe + vésicule forme le conidiophore.

La conidiogenèse se fait par le mode blastique phialidique, les phialides sont portées soit directement par les vésicules aspergillaires (tête unisériée) soit insérées par l'intermédiaire de métules (tête bisériée). Les phialides produisent les phialospores=conidies très volatiles de 2à5µm de diamètre, résultant de la reproduction asexuée (éléments de propagation dans la nature).

L'ensemble vésicule+ phialides+ phialospores constitue la tête aspergillaire (morphologie de base). La taille, l'aspect, et la forme de ces constituants diffèrent selon les espèces.

-La reproduction sexuée : pour certaines espèces (ex: *A.nidulans* : *Emericella nidulans*), apparaissent des formations sexuées (stade téléomorphe). Ce sont des cléistothèces contenant des asques sphériques renfermant chacun 8 ascospores 3- 4 / 2- 3 µm et représentent 2 crêtes équatoriales. Les « *Hülle cells* », ou cellules en noisette, sont des formations arrondies, réfringentes à paroi épaisse accompagnent souvent les formes sexuées.

Biotope (réservoir) : Champignon omniprésent (ubiquitaire). On le trouve dans l'air, le sol, l'eau, le compost, le foin moisi, la paille, les silos à grain, les matières organiques en décomposition, la poussière, le système de climatisation, certains aliments (poivre, kiwi, thé), les céréales, les plantes, les fleurs.

En milieu hospitalier, en cas de travaux (démolition, terrassement, construction, rénovation), les spores sont remises en suspension et véhiculées par les systèmes de ventilation ce qui fait augmenter la concentration des spores dans l'air (nuages aspergillaires).

Modes de contamination :

- Inhalation des spores aspergillaires.
- Inoculation directe des spores : cutanée sur une peau lésée (brûlés), ou par un objet contaminé par les spores aspergillaires ou suite à un traumatisme par un objet souillé exemple traumatisme cornéen par un corps végétal, ou inoculation peropératoire
- Contamination par voie hématogène (dissémination d'une forme localisée).
- Contamination par les aliments : controversée.
- Pas de contaminations interhumaines.

Facteurs de virulence :

- Facteurs environnementaux : L'abondance des spores dans l'air.
- Hydrophobicité des spores facilite leur mise en suspension dans l'air
- Petite taille des spores (2 à 3 μm de diamètre pour *A. fumigatus*) : possibilité d'atteindre les alvéoles pulmonaires.
- Thermotolérance et la thermorésistance.
- Filamentation : L'aptitude des spores à filamento.
- Faible exigence nutritive.
- Osmophilie, xérophilie et microaérophilie.
- Molécules d'adhésion aux protéines des membranes basales de l'hôte.
- Production de toxines: aflatoxine sécrétée par *A. flavus* serait responsable du cancer primitif du foie et des mycotoxines impliquées dans la sensibilisation et les manifestations allergiques
- Tropisme vasculaire et capacité d'induire des microlésions vasculaires.
- Sécrétion d'enzymes en particulier des protéases.

❖ Mécanismes immunitaires de défense :

- Le revêtement cutané : toute rupture de la barrière cutanée (cathétérisme, brûlure, toxicomanie)= porte d'entrée possible.
- La clairance mucociliaire : Les mouvements des cils vibratiles et la sécrétion de mucus éliminent les spores inhalées (dégluties ou recrachées).
- Le surfactant sécrété par le pneumocyte II (protéines A et D) qui forme des complexes avec les conidies qui seront phagocytés par les macrophages alvéolaires.
- Le macrophage alvéolaire : Il phagocyte les spores inhalées ayant échappées à la clairance mucociliaire. Il est inactif sur les spores prégermées et les filaments.
- Le polynucléaire neutrophile+++ : Actif sur les filaments mycéliens et sur les conidies prégermées.
- Le monocyte : peut détruire les filaments aspergillaires.

❖ Les facteurs favorisants :

Facteurs environnementaux : l'exposition aux spores aspergillaires

- L'aérobiococontamination favorise la colonisation des voies aériennes supérieures.
- L'inoculum et la fréquence de l'exposition : des concentrations importantes de spores aspergillaires peuvent être à l'origine de manifestations allergiques, même chez le sujet non atopique.

Facteurs propres à l'hôte :

Facteurs locaux : (aspergilloses chroniques++) anomalie anatomique ou pathologie pulmonaire

- L'altération du revêtement cutané (brûlure, cathétérisme, toxicomanie = porte d'entrée)
- L'altération du tapis mucociliaire par le tabagisme, la mucoviscidose, les antécédents de broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), de bronchite chronique ou de fibrose pulmonaire....

- Les infections pulmonaires (altération des cellules épithéliales ou du tapis mucociliaire).
- La présence d'une cavité résiduelle (préformée) détergée.

Facteurs généraux : immunodépression, prédisposition génétique (voir facteurs de risque de l'aspergillose invasive).

❖ Principales aspergilloses humaines et facteurs de risque associés :

Les aspergilloses des voies respiratoires :

Aspergilloses immunoallergiques : réactions d'hypersensibilité liée à l'exposition aux spores aspergillaires, l'*Aspergillus* se comporte comme un allergène :

- L'inhalation des conidies + terrain atopique : asthme aspergillaire = réaction allergique de type I (hypersensibilité immédiate)
- L'exposition massive et répétée : alvéolite allergique extrinsèque (AAE), maladie le plus souvent professionnelle : manipulation de grain ou de foin moisi (poumon de fermier), c'est une réaction de type III sans terrain atopique.
- La colonisation de l'arbre trachéobronchique (mucoviscidose, asthme,...) : aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) réaction d'hypersensibilité type I et III +/- terrain atopique (parfois sujets sains exposés à des inhalations répétées : prédisposition génétique).
- sinusite allergique aspergillaire.

Aspergilloses pulmonaires chroniques :

- Aspergillome** : masse filamenteuse (truffe aspergillaire) dans une cavité pulmonaire ou pleurale préexistante. Cette cavité résiduelle peut être : caverne tuberculeuse, kyste hydatique, dilatation de bronche (DDB), sarcoïdose fibrokystique, fibrose pulmonaire, abcès pulmonaire, emphysème bulleux, cancer pulmonaire excavé, silicose, infarctus pulmonaire, poumon radique, rarement cavité pleurale enkystée... La masse mycélienne se développe dans une cavité aérée sans invasion tissulaire ni vasculaire avec hypervascularisation périlésionnelle.
- Aspergillose pulmonaire chronique cavitaire APCC** : formation des cavités qui peuvent ou non contenir un aspergillome, si présence d'aspergillome c'est l'aspergillome complexe.
- Aspergillose pulmonaire chronique fibrosante APCF** est une complication de l'APCC qui résulte en une destruction fibrosante sévère.

-Autres formes localisées

- Bronchite aspergillaire favorisée par une altération du tapis mucociliaire, des infections virales ou bactériennes préalables, une corticothérapie, immunodépression.
- Sinusite aspergillaire : balle fongique (**aspergillome sinusien**), fréquemment d'origine dentaire (pâte dentaire, extraction).
- Aspergillose pleurale.

-**Aspergillose pulmonaire chronique nécrosante (aspergillose semi -invasive)** : micro invasion sans atteinte vasculaire, chez les patients présentant une pathologie respiratoire chronique et une immunosuppression partielle (modérée) et chronique, soit du fait de la maladie sous-jacente (éthylisme, diabète, maladies de système, dénutrition, tabac, cirrhose..), soit liée à un traitement immunosuppresseur au long cours (corticothérapie).

-**Aspergillose pulmonaire invasive**: développement mycélien avec invasion intra tissulaire du parenchyme pulmonaire et vasculaire (angioinvasion). Elle survient en cas d'une immunodépression profonde.

-**Neutropénie**: profonde < 500/mm³ et prolongée (plus de 10 jours)

< 100/mm³ quelque soit la durée.

- Corticothérapie** prolongée: (plus de 03 semaines)
- Allogreffe** de CSH: maladie de greffon contre l'hôte, Corticothérapie prolongée.
- Greffe d'organes solides:(poumon, foie, cœur, rein)
- Infections virales (ex : CMV)
- Facteurs locaux: (tabagisme, mucoviscidose, sarcoïdose, fibrose pulmonaire, pneumopathie)
- Environnement: (travaux+++, climatisation)
- Immunodéficiences primaires : (Granulomatose familiale chronique)
- Infection VIH : SIDA en phase terminale quand le taux de CD4<50/mm³, (moins de 5%).
- Des cas ont été rapportés en réanimation (pathologies pulmonaires chroniques).
- Des cas sont également rapportés suite à une infection virale par le virus de la grippe et le SARS-COV-2.

Sinusite aspergillaire invasive : envahissement osseux chez les sujets immunodéprimés.

Les aspergilloses extra- respiratoires :

Aspergilloses profondes : 2 origines

- dans le cadre d'infection pulmonaire invasive après dissémination par voie hématogène.
- atteinte profonde isolée suite à une chirurgie ou un traumatisme : aspergillose cérébrale, osseuse, rénale, de la rate, de la thyroïde, endophtalmie aspergillaire, endocardite, atteinte primitive de la prostate et du foie (rare).

Aspergilloses superficielles :

- Onychomycose à *Aspergillus* est le plus souvent sous unguéales, *A. versicolor* est l'agent le plus incriminé (attention : porte d'entrée pour les neutropéniques).
- Otomycose : otite du conduit auditif externe, *A. niger* est l'agent le plus isolé, favorisée par une lésion préexistante du conduit auditif externe (eczéma, otorrhée chronique, malformation anatomique...) et l'usage des corticoïdes locaux
- Kératite aspergillaire : suite à un traumatisme oculaire par un corps végétal ou autres, port de lentille de contact (provoquent des microtraumatismes de la cornée) en plus un mauvais entretien (solution de lavage contaminée). Cette forme peut évoluer vers une endophtalmie.
- Aspergillose cutanée (brûlure++, toxicomanie, cathétérisme)

NB : *Aspergillus* sp peut donner un mycétome fongique suite à un traumatisme.

❖ Clinique :

Aspergilloses immunoallergiques :

-**Aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA ou maladie de Hinson-Pepys) :** épisodes asthmatiques, expectoration épaisse et émission de moules bronchiques contenant des filaments mycéliens d'*Aspergillus*. Le diagnostic se base sur des critères cliniques, radiologiques et biologiques.

-**Asthme aspergillaire :** suite à une forte exposition aux spores aspergillaires, signes biologiques d'hypersensibilité immédiate (hyperéosinophilie sanguine, tests cutanés vis-à-vis d'*Aspergillus* sont positifs en lecture précoce et augmentation des IgE spécifiques anti-aspergillaires, mais sans précipitines).

-**Alvéolite allergique extrinsèque AAE (Pneumopathie d'hypersensibilité):** toux, dyspnée, fièvre, et râles crépitant pulmonaires à chaque exposition à l'allergène, avec image radiologique et lymphocytose élevée au lavage bronchoalvéolaire. La détection de précipitines anti-*Aspergillus* dans le sérum en l'absence de tout terrain atopique contribue au diagnostic.

-Sinusite aspergillaire allergique : sinusite persistante avec obstruction nasale, polype nasal et hyperéosinophilie sanguine.

Aspergilloses pulmonaires chroniques :

-Aspergillome : souvent asymptomatique, peut être révélé par une radiologie ou par des hémoptysies. Il se manifeste cliniquement par : douleur thoracique, toux, dyspnée, expectoration, fièvre résistante aux antibiotiques, asthénie et amaigrissement.

L'aspergillome peut être **simple** : une cavité avec paroi mince, ou **complexe** : des cavités multiples et épaississement des parois. Généralement, l'aspergillome est unique et siège au niveau des lobes supérieurs.

-Les autres formes localisées :

-Sinusien : aspergillome sinusien, le plus souvent unilatéral et maxillaire. Il peut évoluer en aspergillose invasive pseudo tumorale avec destruction osseuse chez le patient immunodéprimé (ID).

-Bronchique, à l'origine de troubles ventilatoires. L'endoscopie et l'évacuation spontanée du moule bronchique assurent le diagnostic.

-Pleural, à l'origine d'une pleurésie, soit endogène par contiguïté à point de départ pulmonaire soit exogène, secondaire à un drainage ou à un acte chirurgical thoracique.

Le diagnostic est assuré par la mise en évidence de l'agent pathogène dans le liquide de ponction pleurale, et les précipitines sériques spécifiques du champignon.

-Aspergillose pulmonaire chronique nécrosante : APCN (semi- invasive) formation de nouvelles cavités par nécrose parenchymateuse ou extension d'une cavité préexistante. L'évolution est chronique et sans invasion vasculaire, ni dissémination à distance. Elle peut évoluer vers une aspergillose invasive. Le diagnostic de l'APCN associe des signes cliniques locaux (toux, dyspnée, douleur thoracique, hémoptysie) et généraux (fièvre, altération de l'état général), des signes radiologiques, et des arguments biologiques (histologie et autres).

-L'aspergillose invasive API : fièvre, toux, dyspnée, douleurs thoraciques localisées ou diffuses, toux et inspiration profonde. Le diagnostic doit être évoqué chez tout patient ID devant une fièvre résistante depuis plus de 2 jours à une antibiothérapie à large spectre. Le diagnostic se fait par le scanner thoracique et par les recherches mycologiques directes et indirectes (anatomopathologie et l'antigénémie).

Le bilan d'extension à la recherche des localisations métastatiques : cérébrales, osseuses, sinusiennes, hépatiques, rénales, cardiaques, cutanées, ect. L'aspergillose est classée en : prouvée, probable ou possible en fonction des arguments disponibles.

-Aspergilloses superficielles :

Onychomycose à *Aspergillus* sp: atteinte sous-unguéale distale (95%), hyperkératose et onycholyse associée ou de leuconychie. Le diagnostic : Présence répétée au moins 3 fois d'*Aspergillus* sp à l'examen direct et en culture pure en l'absence d'un agent pathogène.

Aspergillose cutanée : deux origines :

- primaire: chez les grands brûlés+++, des zones dermo-épidermiques nécrosées.

-secondaire: la peau peut être le siège de métastase d'aspergillose invasive.

Aspergilloses oculaires : Le plus souvent primaire (post-traumatique : kératite, endophtalmie). Rarement: liée à une extension loco-régionale d'une aspergillose nasosinusienne) ou secondaire à une infection disséminée.

Otomycose : otite aspergillaire du conduit auditif externe (CAE): lésions squameuse avec des démangeaisons, une hypoacousie et un écoulement (otorrhées)

❖ **Diagnostic :**

- Difficile car moisissure omniprésente.
- Orienté par le terrain, les facteurs de risque, les pathologies associées, les signes radiologiques, les signes cliniques et les données biologiques.

Aspergilloses superficielles : le diagnostic est essentiellement mycologique.

Prélèvement : en dehors de toute thérapeutique dans des conditions d'asepsie.

Onychomycose : gratter les squames et récupérer les fragments d'ongle,

Kératite : écouvillonnage ou grattage cornéen sous lampe à fente.

Otomycose : écouvillonnage stérile du CAE, sous otoscopie, en salle stérile.

Cutanée : Ecouvillon ou fragment de peau, au bloc opératoire, après désinfection.

Sinusite : aspiration sinusienne, produit de curetage sinusien.

Examen direct : des filaments mycéliens de 2 à 4µm, ramification dichotomique ramifiés à angle aigu de 45°, exceptionnellement des têtes aspergillaires (si sinusite, otite)

Culture : obligatoire

-Les tubes sont préférables aux boîtes de Pétri pour réduire le risque de contamination.

-Utiliser le milieu Sabouraud chloramphénicol avec et sans actidione (inhibe les moisissures).

-Incuber à deux températures 25°C et 37°C.

-Lecture après 48h à une semaine.

-Identifier les espèces selon la macroscopie et la microscopie.

-Faire des repiquages sur milieux sélectifs : Czapek ou gélose au malt.

-Méthode de drapeau (fragment de ruban adhésif appliqué sur la colonie)

L'interprétation : Pour ces prélèvements superficiels on doit :

-Répéter les prélèvements 3 fois.

-Isoler la même espèce.

-L'examen direct doit être positif.

-La culture doit être positive, en abondance, sur tous les points d'ensemencement.

-En l'absence de pathogène ex : (dermatophyte pour les onyxis).

-Si l'examen direct est négatif et la culture est positive il peut s'agir d'une souillure.

-Pour les ongles l'examen anatomopathologique visualise la pénétration des filaments dans les tissus (preuve de l'invasion).

Aspergilloses respiratoires Orientation par :

-Les facteurs de risque,

-La pathologie sous-jacente,

-La clinique (hémoptysie : aspergillome),

-Les autres données biologiques : pour les aspergilloses immunoallergiques (tests cutanés, IgE totales sériques, IgE spécifique, les éosinophiles...), neutropénie et taux de fibrinogène sérique (API)

Imagerie médicale : un grand intérêt pour certaines formes, exemple :

-L'aspergillome : Image de grelot caractéristique : opacité dense, homogène, ronde, mobile, au sein d'une cavité surmontée d'un croissant gazeux de prédominance apical, unilatéral, parfois aspect nodulaire si comblement complet de la cavité.

-L'ABPA : opacités transitoires ou persistantes.

-L'aspergillose invasive : TDM en coupe fine : Signe du halo, précoce et fugace. Signe de croissant gazeux, tardif.

-Sinusite invasive : envahissement osseux

Diagnostic mycologique des aspergilloses respiratoires :

Prélèvements : expectorations, crachats, aspiration bronchique....

Il peut s'agir d'une contamination ou colonisation, interpréter en fonction des autres données cliniques biologiques et radiologique.

Le LBA est plus sensible, sa sensibilité est de 50% pour les API.

Si manifestations de dissémination : (ponctions d'abcès cutanés, d'abcès osseux, LCR,)

L'hémoculture est le plus souvent négative mais essentielle pour le diagnostic différentiel.

-Les biopsies : APCN et API. Biopsie pulmonaire : deux parties dans (examen mycologique et examen anatomopathologique). Colorations : Acide periodique de Schiff, Gram, Gomori Grocott, imprégnation argentique pour la mise en évidence des filaments mycéliens type *Aspergillus*. Autres organes peuvent faire l'objet d'une biopsie selon les signes d'appel cliniques (cerveau, foie, os, rein...).

Sérodiagnostic

La recherche des anticorps: peu sensible en cas de l'aspergillose invasive (sujet ID).

Différentes techniques : IFI, HAI, ELISA, WB. Les techniques d'immunoprécipitation : IEP, IDD, électrosynérèse restent les techniques les plus spécifiques. Pour l'ABPA : 1 à 5 arcs, Pour l'aspergillome pulmonaire : 3 à 10 arcs, voire plus, Pour APCN (positive), AAE (positive). Les réactions sérologiques se négativent en quelques mois. La remontée du taux des anticorps signe une récurrence.

La recherche des antigènes: en cas d'aspergillose pulmonaire invasive.

-Le galactomannane GM détecté par une technique ELISA.

-B (1,3) D Glucane : C'est un Ag panfongique (sauf *Cryptococcus* sp et *Zygomycètes*), détecté par un dosage colorimétrique (réaction enzymatique).

La spectrométrie de masse pour identification plus précise des espèces.

La biologie moléculaire : PCR en temps réelle.

L'inoculation à l'animal.

L'antifongigramme : basé sur le principe de la diffusion en milieu gélosé.

❖ **Traitement et prévention :**

Aspergilloses immuno-allergiques : Associer traitement anti-inflammatoire + soins locaux (bronchodilatateurs et mucolytiques) plus éviction de l'exposition à l'allergène. Dans le cas d'une AAE : corticothérapie est indiquée, ainsi que la cessation d'activités favorisant la contamination. Dans le cas d'une ABPA, corticothérapie associée à un traitement antifongique oral (itraconazole ou voriconazole).

Aspergillome : La chirurgie++. Si contre-indication, amphotéricine B désoxycholate en intra cavitaire ou itraconazole par voie orale (cure prolongée). Traiter les hémoptysies par embolisation sélective des artères. Traitement préventif : exérèse ou affaissement des cavités résiduelles.

Aspergilloses localisées : Supprimer la masse fongique par chirurgie, curetage ou drainage, en association avec un traitement antifongique par voie orale (itraconazole ou voriconazole).

Aspergilloses invasives :

-**Traitement curatif des aspergilloses prouvées**: voriconazole par voie IV dose de charge de 2 fois 6mg/kg en IV le premier jour, suivi de 2 fois 4 mg/kg/j en IV.

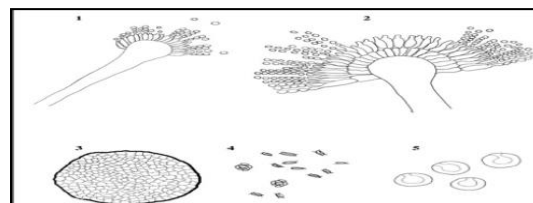
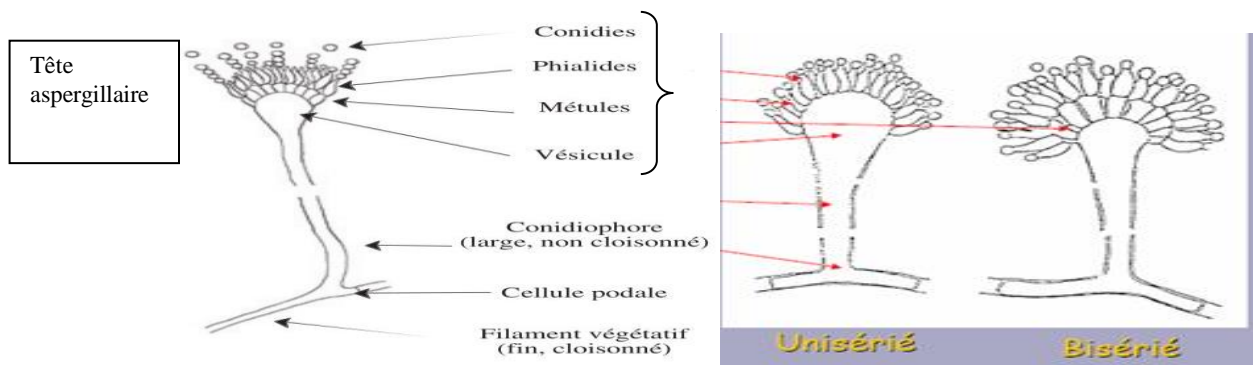
Amphotéricine B en IV, acétate de caspofungine en IV ou posaconazole par voie orale sont indiquées en seconde intention. La chirurgie (prévention de complications hémorragiques).

-Traitement empirique: API possible = suspicions d'API sans preuve mycologique. L'AmBisome (amphotéricine B liposomale) et la caspofungine.

-Prévention : Dans les services à haut risque, il est recommandé d'avoir :

- un système de filtration d'air à haute efficacité (HEPA)
- des protocoles de bio-nettoyage rigoureux,
- un environnement exempt d'*Aspergillus* (pas de plantes, pas de poivre en sachet, etc).
- L'alimentation doit bénéficier de protocoles de décontamination.
- Eviter les travaux de déconstruction et de démolition dans les hôpitaux et les services à risque (hématologie) ou cloisonner les zones de travaux.
- Eviter la circulation des gens (visites strictement limitées).
- Surveillance régulière les patients à haut risque : (scanner, galactomannane)

-Chimioprophylaxie primaire et secondaire : le posaconazole



Organes de fructification des Aspergillus.

1 et 2 : Morphologie des têtes aspergillaires. En fonction des modalités d'implantation des phialides sur la vésicule, on distingue des têtes unisériées (1) ou bisériées (2), et des têtes en colonne (1) ou radiées (2).
3-5 : organes de reproduction sexuée chez *Emmericella nidulans* (téléomorphe d'*Aspergillus nidulans*): cléistothèque (3), asques et ascospores (4) et cellules en noisette (5).