HAL
open science

Traitement des infections fongiques dans le service d'oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy : évaluation des pratiques sur une période de trois ans

Ahmed-Yacine Mazouz

To cite this version:

Ahmed-Yacine Mazouz. Traitement des infections fongiques dans le service d'oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy : évaluation des pratiques sur une période de trois ans. Sciences pharmaceutiques. 2014. hal-01734468

HAL Id: hal-01734468

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01734468v1

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE
2014

FACULTE DE PHARMACIE

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

Le 16 juin 2014, sur un sujet dédié à :

TRAITEMENT DES INFECTIONS FONGIQUES DANS LE SERVICE D'ONCOHEMATOLOGIE PÉDIATRIQUE DU CHU DE NANCY : ÉVALUATION DES PRATIQUES SUR UNE PÉRIODE DE TROIS ANS.

pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Ahmed-Yacine MAZOUZ

Né le 30 octobre 1984

Membres du Jury

Président : Professeur Jean-Louis MERLIN, PU-PH, Faculté de Pharmacie de Nancy, Institut de Cancérologie de Lorraine
Directeur de thèse : Professeur Pascal CHASTAGNER, Chef du Service d'Oncohématologie pédiatrique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy

Juges : Sophie HENN-MENETRE, Pharmacien, Praticien Hospitalier, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy
Béatrice DEMORE, MCU-PH de Pharmacie Clinique, Faculté de Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2013-2014

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Francine KEDZIEREWICZ
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Président du Conseil de la Pédagogie
Bertrand RIHN
Président de la Commission de la Recherche
Christophe GANTZER
Président de la Commission Prospective Facultaire
Jean-Yves JOUZEAU
Responsable de la Cellule de Formations Continue et Individuelle
Béatrice FAIVRE

Responsable ERASMUS :	Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la filière Officine :	Francine PAULUS
Responsables de la filière Industrie :	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable du Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier :	Jean-Michel SIMON
Responsable Pharma Plus E.N.S.I.C. :	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus E.N.S.A.I.A. :	Raphaël DUVAL

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Max HENRY
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Blandine MOREAU
Dominique NOTTER
Christine PERDICAKIS

Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

Faculté de Pharmacie **Présentation**

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	*82*	*Thérapie cellulaire*
Chantal FINANCE	*82*	*Virologie, Immunologie*
Jean-Yves JOUZEAU	*80*	*Bioanalyse du médicament*
Jean-Louis MERLIN	*82*	*Biologie cellulaire*
Alain NICOLAS	*80*	*Chimie analytique et Bromatologie*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES		
Jean-Claude BLOCK	*87*	*Santé publique*
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie clinique*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Biologie cellulaire, Hématologie*
Luc FERRARI [3]	*86*	*Toxicologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Frédéric JORAND [3]	*87*	*Environnement et Santé*
Pierre LABRUDE (retraite 01-11-13)	*86*	*Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Alain MARSURA	*32*	*Chimie organique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*
MAITRES DE CONFÉRENCES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Julien PERRIN	*82*	*Hématologie biologique*
Marie SOCHA	*81*	*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique*
MAITRES DE CONFÉRENCES		

Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Mariette BEAUD	*87*	*Biologie cellulaire*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et Santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie galénique*
Natacha DREUMONT	*87*	*Biochimie générale, Biochimie clinique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique*

ENSEIGNANTS (suite)	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Caroline GAUCHER	*85/86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie*
Francine KEDZIEREWICZ	*85*	*Pharmacie galénique*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Faten MERHI-SOUSSI	*87*	*Hématologie*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Christine PERDICAKIS	*86*	*Chimie organique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

[3] *En attente de nomination*

**Disciplines du Conseil National des Universités :*
80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé
82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques
85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé
87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32 : Personnel enseignant-chercheur de sciences en chimie organique, minérale, industrielle

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

> **D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**
>
> **D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**
>
> **De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

A notre président du Jury,

M. Le Professeur Jean Louis Merlin

Professeur à l'Institut de Cancérologie de Lorraine

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury et de juger notre travail. Nous vous remercions également pour les connaissances du domaine de l'oncologie que vous nous avez transmis tout au long de notre cursus.

Nous vous exprimons notre gratitude et notre respect.

A notre Directeur de thèse,

Monsieur le professeur Pascal Chastagner,

Professeur en Pédiatrie

Vous nous avez témoigné votre confiance en nous proposant ce travail, et c'est avec fierté et grand bonheur que nous l'avons réalisé.

Monsieur Le Professeur, nous vous sommes reconnaissant de nous avoir ouvert les portes de l'oncohématologie pédiatrique. Merci de nous avoir fait découvrir, d'abord au cours de notre stage d'externat, puis à vos côtés durant notre travail, ce fabuleux domaine médical. Nous sommes très fier d'avoir réalisé ce travail sous votre direction. Nous espérons avoir été digne de votre confiance et à la hauteur de vos attentes. Nous souhaitons continuer à travailler dans cette voie, et développer nos connaissances dans le domaine de la pédiatrie. Nous avons pris un immense plaisir à réaliser ce travail à vos côtés.

Nous vous exprimons notre estime et notre profond respect.

A notre Juge,

Madame, le Docteur Menetre-Henn Sophie,

Praticien Hospitalier en Pharmacie de l'hôpital d'enfant du CHU de Nancy

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail. Nous vous remercions également pour votre écoute, vos conseils, votre disponibilité tout au long de ce travail. Nous vous remercions pour le temps que nous avez consacré, votre accompagnement et votre soutient dans la réalisation de ce travail.

Nous vous témoignons notre immense gratitude et notre profonde reconnaissance.

A notre Juge,

Madame le Docteur Demoré Béatrice

Praticien hospitalier en Pharmacie de l'hôpital adulte du CHU de Nancy

Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail. Nous vous remercions également pour vos conseils, et les nombreuses connaissances que vous nous avez transmises tout le long de notre cursus. Nous tenons à vous remercier également pour votre confiance.

Nous vous témoignons notre immense respect et notre profonde reconnaissance.

Remerciements

A toutes les personnes qui m'ont accompagné jusqu'ici :

Mes professeurs depuis le primaire jusqu'à l'université. Merci à Madame Bel Ghanem mon institutrice de primaire en Algérie, Madame Di Betta mon institutrice de CM2.

Mes professeurs du Collège Haut de Penoy (Monsieur Lambotte, Monsieur Gérard, Monsieur Laurent, Madame Grosdidier, Madame Wargnier), et du Lycée Jacques Callot (Madame Della Valle).

Merci de m'avoir transmis vos connaissances et surtout la soif d'apprendre. Que cette soif ne s'étanche jamais. Merci de m'avoir véhiculé la capacité de voir toujours plus loin.

Merci au Docteur Unvois Rémi pour son formidable geste et son accompagnement.

Merci aux secrétaires du service d'Oncohématologie pour leur aide précieuse dans la recherche dossiers patients du service.

Merci tous mes Professeurs ainsi qu'au personnel de la Faculté de pharmacie de Nancy.

A mes amis,

Houssam, Hicham, Selim, Mohammed, Nasser, les 2 fred, Houcine, Julien, Adnan, Yacine Vous faites partie de ma famille.

A mes amis de la faculté de Pharmacie de Nancy, merci pour ces six années d'études pleines de joie et de bons souvenirs.

Merci à mon ami le Docteur François Dubois pour tes conseils, ta joie de vivre et ta présence. Tu as été une de mes plus belles rencontres.

A ma belle famille,

Merci de m'avoir encouragé et supporté pendant toutes ces années.

Merci à Michel et Fadi, tout d'abord pour votre fille, puis pour votre accueil, votre sympathie. Merci à Michel pour ses blagues et à Fadi pour toutes ses questions sur l'iPhone.

Merci à Laetitia et Philippe, Christelle et Laurent, Cécile et Olivier, Violaine et Nico, et Mickaël pour leur soutien sans failles, leurs encouragements et leur bonne humeur.

Merci à Violaine d'être venu jusqu'à Bouira pour participer à notre fête.

Mamie Bernadette, Papi Yves, Philippe, merci pour votre extrême gentillesse et votre grande bienveillance.

A ma famille,

A toute ma famille présente en Algérie, merci pour votre soutien.

A Rayan, Anna, Alban, Lino, les plus beaux neveux du monde.

A mes frères et sœurs : merci d'avoir été présents jusque là et pour votre présence dans le futur. Merci de m'avoir fait confiance. J'espère avoir été un bon exemple pour vous. En tout cas vous l'êtes pour moi. Je vous aime.

A mon épouse, merci d'avoir été là depuis le début. Merci pour ton total dévouement envers toute ma famille. Merci pour ta gentillesse, ta bienveillance, et tes conseils. Je ne sais pas ce que je ferai sans toi. Je t'aime.

A mes grands parents disparus, j'espère que vous êtes fiers de moi. Je pense à vous.

A ma mère, merci pour ton éducation, ton soutien et ton sourire. Merci pour ton réconfort et ta grande douceur. Merci pour tes plats parfois très diététiques (euh….caloriques) et tes coupes de cheveux. Maman je t'aime.

A mon père, merci de m'avoir offert cette enfance exceptionnelle. Merci d'avoir illuminé chaque jour ma vie, puisses-tu le faire encore de nombreuses années. Merci de nous avoir inculqué le goût de l'excellence. Merci de nous avoir mené jusqu'ici, sans toi rien de cela n'aurait été possible. Tu as toujours été pour moi un exemple et un héros. Nous sommes très fiers d'être tes enfants. Papa je t'aime.

A tous ceux que je n'ai pas cité et qui comptent pour moi, merci de m'avoir accompagné jusqu'ici et d'être là pour la suite.

A mon papa,

Liste des tableaux :

TABLEAU I : EPIDEMIOLOGIE PEDIATRIQUE DES ESPECES DE *CANDIDA (10)* 10
TABLEAU II : SPECTRE D'ACTIVITE DES TRAITEMENTS ANTI FONGIQUES (48) 55
TABLEAU III : AMM ET POSOLOGIES PEDIATRIQUES DES ANTIFONGIQUES (52,53) 58
TABLEAU IV : COUT HOSPITALIER DES TRAITEMENTS ANTIFONGIQUES POUR UN PATIENT DE POIDS MOYEN DE 20KG 61
TABLEAU V : INDICATIONS DES ANTIFONGIQUES ET AMM PEDIATRIQUES SELON LES RECOMMANDATIONS FRANÇAISES (48) 64
TABLEAU VI : SYSTEMES D'EVALUATIONS DES RECOMMANDATIONS IDSA 67
TABLEAU VII : SYSTEME D'EVALUATION DES RECOMMANDATIONS ECIL 3 ET 4 (56) 69
TABLEAU VIII : REPARTITION DE NOTRE POPULATION EN FONCTION DE LA NATURE DU TRAITEMENT ET DU TYPE D'INFECTION. 78
TABLEAU IX : TRAITEMENT PROBABILISTE DES INFECTIONS FONGIQUES DANS LE SERVICE D'HEMATO-ONCOLOGIE PEDIATRIQUE DU CHU DE NANCY. 84
TABLEAU X : TRAITEMENT CURATIF DES INFECTIONS FONGIQUES DANS LE SERVICE D'HEMATO-ONCOLOGIE PEDIATRIQUE DU CHU DE NANCY. 88
TABLEAU XI : STRATEGIE THERAPEUTIQUE ANTIFONGIQUE CHEZ LES PATIENTS GREFFES DU SERVICE. 97

Liste des figures :

FIGURE 1 : STRUCTURE MICROBIOLOGIQUE DE L'ESPECE *ASPERGILLUS* 23
FIGURE 2: PRISE EN CHARGE D'UNE CANDIDOSE INVASIVE AVANT IDENTIFICATION DE L'ESPECE (48) 66
FIGURE 3 : TRAITEMENT DE LA CANDIDOSE APRES IDENTIFICATION DE L'ESPECE (48) 66
FIGURE 4: REPARTITION DE LA POPULATION ETUDIEE 77
FIGURE 5 : NOMBRE DE CAS ET DIVERSITE DES INFECTIONS FONGIQUES TRAITES DE FAÇON CURATIVE DANS NOTRE POPULATION 80
FIGURE 6 : PATHOLOGIE SOUS-JACENTE DANS LE CADRE D'UN TRAITEMENT CURATIF. 81
FIGURE 7 : PATHOLOGIE SOUS-JACENTE DANS LE CADRE D'UN TRAITEMENT PROBABILISTE. 82
FIGURE 8 : EVOLUTION DES PRESCRIPTIONS D'ANTIFONGIQUES (1ERE ET 2EME INTENTION) DANS LE TRAITEMENT CURATIF DES ASPERGILLOSES. 93
FIGURE 9 : EVOLUTION DES PRESCRIPTIONS D'ANTIFONGIQUES (1ERE ET 2EME INTENTION) DANS LE TRAITEMENT CURATIF DES CANDIDOSES BUCCALES ET INVASIVES. 94

Liste des abréviations :

AmB-D : amphotéricine B deoxycholate

AmB-LC : amphotéricine B lipide complexe

AmB-L : amphotéricine B liposomale

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de Santé

API : aspergillose pulmonaire invasive

ATF : anti fongique

CRP : Protéine C réactive (valeur usuelle < 5 mg/L)

ECCM : European Confederation of Medical Mycology

ECIL : European Conference on Infections in Leukemia

EORTC : organisation européenne pour la recherche et le traitement des cancers

GSH : greffe de cellules souches hématopoïétiques

GVHD : Graft versus host disease (maladie du greffon contre l'hôte)

IDSA : Infectious Diseases Society of America

IFI : infection fongique invasive

IV : intraveineux

LCR : liquide céphalo rachidien

LAL B : leucémie aigue lymphoblastique

LAL M : leucémie aigue myéloïde

LBA : lavage broncho alvéolaire

PCR : Polymérase Chain Reaction

PCT : pro calcitonine (valeur usuelle < 0,05 ng/ml)

PNN : polynucléaire neutrophiles

PO : per os

TDM : tomodensitométrie (scanner)

Table des matières

Introduction 4

PARTIE I : LES INFECTIONS FONGIQUES EN ONCOHÉMATOLOGIE PÉDIATRIQUE

1. Les facteurs de risques d'infections fongiques 6
1.1. L'hôte, l'âge et les antécédents 6
1.2. Neutropénie 6
1.3. Néoplasie sous-jacente 6
1.4. Chimiothérapie anticancéreuse 7
1.5. Greffe de cellules souches hématopoïétiques (GSH) 7
1.6. Corticothérapie 8

2. Microbiologie habituellement retrouvée 8
2.1. Les infections à levures 8
2.2. Les candidoses 8
2.2.1. Épidémiologie *9*
2.2.2. Principaux signes cliniques *10*
2.2.3. Diagnostic mycologique *11*
2.2.3.1. Les prélèvements 11
2.2.3.2. Examen direct 12
2.2.3.3. Culture 13
2.2.3.4. Identification : *Candida Albicans* 14
a) Tests morphologiques 15
b) Les milieux chromogènes et fluorogènes (milieux de primo isolement) 15
c) Etude de l'assimilation des sucres sur galeries 15
d) Tests enzymatiques 16
e) Test d'agglutination 16
2.2.3.5. Identification des autres espèces 16
2.2.4. Diagnostic immunologique *17*
2.2.4.1. Détection d'anticorps 17
2.2.4.2. Détection d'antigènes 18
a) Les mannanes 19
b) β (1,3)-D glucanes 19
c) D-arabinitol 20
2.2.5. Diagnostic moléculaire *20*
2.3. Les infections à *Aspergillus* 22
2.3.1. Agents pathogènes et physiopathologie *22*
2.3.2. Les signes cliniques des aspergilloses « infections » *24*
2.3.2.1. Aspergillose pulmonaire invasive 24
2.3.2.2. Aspergillome 25
2.3.2.3. Bronchite aspergillaire 25
2.3.2.4. Aspergillose de la sphère ORL 25
2.3.2.5. Aspergillose cutanée 26
2.3.3. Les aspergilloses allergiques *26*
2.3.4. Diagnostic mycologique *26*
2.3.4.1. Les prélèvements 26
2.3.4.2. Examen direct 26
2.3.4.3. Mise en culture 27
2.3.4.4. Identification 27
2.3.5. Diagnostic immunologique *27*
2.3.5.1. Détection d'antigènes 28
2.3.5.2. Détection des anticorps 28

2.3.6. Diagnostic moléculaire *29*
2.3.7. Observations *29*
2.4. Les infections à Mucor : généralités 31
2.4.1.1. Diagnostic 32
2.4.1.2. Traitement 32
a) Observation 33
b) Discussion 34

3. Prise en charge thérapeutique 35
3.1. Amphotéricine B et ses formulations lipidiques 36
3.1.1. Amphotéricine B deoxycholate (AmB-D, Fungizone®) *36*
3.1.1.1. Mécanisme d'action 36
3.1.1.2. Spectre d'action 36
3.1.1.3. Pharmacocinétique 37
3.1.1.4. Posologie et modes d'administration 37
3.1.1.5. Interactions médicamenteuses 38
3.1.1.6. Les effets indésirables 38
a) Réactions locales 38
b) Réactions générales 38
c) Néphrotoxicité 39
d) Toxicité hématologique 39
e) Autres types de toxicités 39
3.1.2. Amphotéricine B liposomale : Ambisome® (AmB-L) *40*
3.1.2.1. Pharmacocinétique 40
3.1.2.2. Spectre d'action 40
3.1.2.3. Efficacité et effets indésirables de l'AmB-L vs AmB-D 41
3.1.3. Amphotéricine B complexe lipidique : Abelcet ® (AmB-LC) *41*
3.1.3.1. Pharmacocinétique 41
3.1.3.2. Spectre d'action et efficacité de l'Abelcet® 42
3.2. Les azolés 42
3.2.1. Fluconazole (Triflucan®) *42*
3.2.1.1. Mécanisme et spectre d'action 43
3.2.1.2. Pharmacocinétique 43
3.2.1.3. Interactions médicamenteuses et effets indésirables 43
3.2.1.4. Indication et posologie 44
3.2.2. Itraconazole (Sporanox®) *44*
3.2.2.1. Spectre d'action 44
3.2.2.2. Pharmacocinétique 44
3.2.2.3. Effets indésirables (40) 45
3.2.2.4. Indications thérapeutiques et posologies 45
3.2.2.5. Interactions médicamenteuses 45
3.2.3. Voriconazole, (V-fend®) *46*
3.2.3.1. Pharmacocinétique 46
3.2.3.2. Interactions médicamenteuses et effets indésirables 47
3.2.3.3. Indications thérapeutiques 48
3.2.4. Posaconazole (Noxafil®) *48*
3.2.4.1. Pharmacocinétique 48
3.2.4.2. Interactions médicamenteuses et effets indésirables 49
3.2.4.3. Indications thérapeutiques et posologies 49
3.2.5. Les molécules en cours de développement *49*
3.3. Les echinocandines 50
3.3.1. Caspofungine (Cancidas®) *50*
3.3.1.1. Pharmacocinétique 50
3.3.1.2. Interactions médicamenteuses et effets indésirables 51
3.3.1.3. Indications thérapeutiques 51
3.3.1.4. Les nouvelles echinocandines 52
a) L'Anidulafungine 52
b) La Micafungine 52

3.4. Flucytosine= 5-fluorocytosine (5FC), (Ancotil®) 53
3.4.1.1. Spectre d'action 53
3.4.1.2. Pharmacocinétique 53
3.4.1.3. Effets indésirables 54
3.4.1.4. Indications 54
3.5. Spectre d'activité des molécules antifongiques : 55
3.6. Les associations d'antifongiques 55
3.7. Antifongiques à disposition en pédiatrie 57
3.8. Recommandations et stratégies thérapeutiques : 63
3.8.1. Recommandations Françaises 63
3.8.2. Recommandation Américaines IDSA : Infectious Diseases Society of America (55) 67
3.8.3. Recommandations ECIL 4 68
3.8.3.1. Prophylaxie antifongique primaire des patients atteints de leucémie 69
3.8.3.2. Prophylaxie antifongique secondaire 70
3.8.3.3. Prophylaxie dans les greffes de cellules souches hématopoïétiques 70
3.8.3.4. Traitement probabiliste 71
3.8.3.5. Traitement curatif 71

Partie II : ÉVALUATION DES PRATIQUES DANS LE SERVICE D'ONCOHÉMATOLOGIE PÉDIATRIQUE DU CHU DE NANCY

1. Évaluation des pratiques dans le service d'hémato-oncologie au CHU Brabois 75
1.1. Contexte 75
1.2. Objectif 75
1.3. Matériels et méthodes 75
1.4. résultats: 76
1.4.1. Répartition de notre population en fonction des infections fongiques 78
1.4.2. Répartition suivant le contexte pathologique dans les infections documentées 80
1.4.3. Répartition suivant le contexte pathologique dans les infections probabilistes 82

2. Analyse des stratégies thérapeutiques dans le services et état de la littérature : 82
2.1. Traitement préventif des patients sous chimiothérapie : 83
2.2. Traitement probabiliste (préemptif et empirique) : analyse de la littérature 83
2.3. Traitement probabiliste : stratégie dans le service 84
2.4. Traitement curatif en pédiatrie : analyse de la littérature 87
2.5. Traitement curatif : stratégie thérapeutique dans le service 88
2.6. Prophylaxie des patients greffés : analyse de la littérature 94
2.6.1. Prophylaxie primaire 94
2.6.2. Prophylaxie secondaire 95
2.7. Analyse de la prophylaxie primaire et secondaire des patients greffés dans le service 96
2.8. Analyse de la tolérance des traitements dans le service 99
2.8.1. Effets indésirables sous voriconazole (Vfend®) 100
2.8.2. Effets indésirables sous caspofungine (Cancidas®) 100
2.8.3. Effets indésirables sous amphotéricine B liposomale (Ambisome®) 100
2.8.4. Autres effets indésirables 101
2.9. Discussion et comparaisons des pratiques du service aux recommandations ECIL 4 102
2.9.1. Traitement prophylactique chez le patient neutropénique 102
2.9.2. Traitement probabiliste 103
2.9.3. Prophylaxie primaire et secondaire des patients greffés : 104
2.9.4. Prophylaxie secondaire chez les patients neutropéniques 105
2.9.5. Traitement curatif 106

Conclusion : 109

Bibliographie 111

Introduction

Le service d'oncohématologie pédiatrique de l'hôpital du CHU de Nancy, centre de référence d'oncologie pédiatrique de Lorraine, et centre de recours interrégional, accueille et traite les pathologies cancéreuses chez l'enfant.

Les hémopathies malignes et les différentes cures de chimiothérapies sont à l'origine d'une immunodépression qui favorise le développement d'agents infectieux fongiques notamment du genre Candida ou Aspergillus nécessitant l'utilisation de différentes classes d'antifongiques. Ces infections fongiques peuvent constituer une cause d'aggravation importante de l'état du patient. La prise en charge de ces infections peut être préventive, probabiliste ou bien curative selon le diagnostic et la documentation de l'espèce.

Les infections fongiques ont vu leur incidence évoluer et leurs localisations se sont diversifiées. Nous allons ainsi distinguer les infections à levures (du genre candidose et cryptococcose), les infections à *Aspergillus* pulmonaire ou systémiques. D'autres infections rencontrées dans le service d'oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy sont à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité élevée, c'est le cas des fusarioses et des mucormycoses.

Les recommandations de traitement préventif, probabiliste et curatif de ces infections fongiques élaborées depuis quelques années ne sont pas toujours adaptées à la population pédiatrique et à toutes les situations infectieuses. Le but de ce travail est de vérifier dans quelles mesures ces recommandations sont appliquées à travers notre étude menée une période de trois ans. Les pratiques de prescription du service d'oncohématologie ainsi que l'efficacité des traitements sur l'incidence des infections et leur toxicité seront comparées aux résultats de la littérature.

La première étape du travail a consisté en une analyse rétrospective de toutes les prescriptions du service de juin 2010 jusqu'à mars 2013 ; afin de déterminer les cas de prescriptions d'antifongiques ainsi que les molécules et les dosages utilisés.

Dans une seconde étape a été réalisée une analyse des dossiers patients, afin de relever les infections fongiques rencontrées, l'efficacité des traitements, l'évolution de l'état des patients et les éventuels effets indésirables. Cette étape a requis une connaissance des recommandations officielles des autorités de santé.

Finalement, après avoir développé les molécules ayant l'AMM en pédiatrie, les pratiques du service seront comparées aux recommandations ECIL4, référence de la prise en charge des infections fongiques dans le service d'oncohématologie pédiatrique.

PARTIE I : LES INFECTIONS FONGIQUES EN ONCOHÉMATOLOGIE PÉDIATRIQUE

1. Les facteurs de risques d'infections fongiques

1.1. L'hôte, l'âge et les antécédents

L'un des facteurs le plus important du développement des infections fongiques est celui lié à l'hôte. Plusieurs facteurs de risques sont responsables d'infections invasives à l'origine de morbidité et ou de mortalité importante chez l'immunodéprimé. L'âge et la fragilité des patients pédiatriques en font une population d'autant plus à risque. La présence d'antécédents d'infections fongiques chez un patient augmente la probabilité d'infection invasive et nécessite une surveillance accrue et l'utilisation d'un traitement prophylactique secondaire approprié.

1.2. Neutropénie

L'un des facteurs de risque le mieux documenté dans le cadre d'une infection invasive est celui de la neutropénie, en particulier lorsque le taux de PNN (polynucléaires neutrophiles) est inférieur à 500/mm^3. La durée de la neutropénie est également un critère important, plus elle est longue et plus le risque d'infection fongique est important.

Il existe une corrélation entre le risque infectieux et la durée et la profondeur de la neutropénie : lorsque le taux de PNN est inférieur à 500/mm^3, le risque d'infection fongique est multiplié par 2,5 ; et lorsque le taux est inférieur à 100/mm^3, ce risque est multiplié par 10 (1).

1.3. Néoplasie sous-jacente

Les hémopathies touchant les lymphocytes B provoquent un déficit de l'immunité humorale. Les leucémies aiguës provoquent par envahissement médullaire une atteinte de la fonction phagocytaire macrophagique et des polynucléaires. Une immunodépression de type cellulaire s'observe au cours des lymphomes hodgkiniens ou non (2).

Par ailleurs le statut de la maladie sous-jacente est important, les infections arrivant d'autant plus facilement que le patient n'est pas encore en rémission de la maladie.

L'aspergillose invasive est l'une des pathologies les plus sévères chez l'immunodéprimé. Son incidence varie selon la pathologie des patients. La porte d'entrée via les voies aériennes supérieures explique la grande fréquence des atteintes pulmonaires. L'incidence de cette pathologie varie en fonction du type d'immunodéficience.

L'incidence est la plus élevée dans les allogreffes de moelle puis dans les leucémies aiguës. Elle est plus faible dans le cas de l'autogreffe de moelle (3).

1.4. Chimiothérapie anticancéreuse

L'arsenal chimio thérapeutique utilisé en hémato-oncologie présente un double facteur de risque de développement d'infections fongiques. Cette chimiothérapie provoque une diminution de la phagocytose et du chimiotactisme des polynucléaires d'une part et peut présenter une toxicité de la molécule elle-même d'autre part.

1.5. Greffe de cellules souches hématopoïétiques (GSH)

Les complications infectieuses sont plus graves et plus fréquentes dans le cas des allogreffes de moelle osseuse que des autogreffes. Ces allogreffes se caractérisent par la succession de trois phases distinctes de complication immunologique spécifique et par conséquent un risque infectieux précis (2).

La première phase est marquée par une aplasie médullaire et les risques infectieux sont liés à une neutropénie profonde (inférieure à 100/mm^3) et prolongée (supérieure à 20 jours) et à l'utilisation quasi constante d'antibiotiques. Le risque infectieux fongique est directement corrélé à la profondeur, à la durée de cette neutropénie et à l'efficacité d'un traitement antifongique préventif. De plus le déficit de la fonction phagocytaire et macrophagique se prolonge au-delà de cette première phase d'aplasie.

La deuxième phase est caractérisée par une immunodépression de type cellulaire, liée à l'utilisation d'immunosuppresseurs à hautes doses (ciclosporine, méthotrexate, et corticoïdes) afin de prévenir et traiter la maladie du greffon contre l'hôte. Sa durée de 2 à 6 mois favorise le développement d'infections notamment respiratoires à Aspergillus.

La dernière phase peut être marquée par la survenue de la maladie du greffon contre l'hôte chronique nécessitant l'utilisation d'immunosuppresseurs au long cours à l'origine d'infections opportunistes.

Les allogreffes non apparentées, se caractérisent également par un risque de rejet qui aggrave le risque infectieux.

Afin de prévenir et de diminuer la survenue de ces pathologies infectieuses opportunistes lors des greffes, un traitement prophylactique antifongique est prescrit à cette population de patients à haut risque. Nous étudierons dans la partie consacrée aux pratiques dans le service, quels sont les traitements utilisés pour cette prévention ainsi que leur adéquation avec les recommandations les plus récentes.

1.6. Corticothérapie

Les corticoïdes font partie intégrante de l'arsenal chimiothérapique en hémato-oncologie. Cependant, ils possèdent des effets indésirables propres qui s'ajoutent à ceux des molécules utilisées dans les protocoles, et augmentent le risque d'infections fongiques invasives.

Les corticoïdes ont pour conséquence une atteinte de la fonction phagocytaire, qui est la première ligne de défense des infections fongiques. Ils contribuent également à une atteinte de l'immunodéficience cellulaire. Donc la corticothérapie, et a fortiori à haute dose, est un facteur favorisant la survenue d'infections opportunistes.

Plusieurs études montrent que même lors d'un syndrome de Cushing ou un syndrome d'hypersécrétion d'hormones adréno-corticotropiques, l'hypercortisolisme est souvent associé à une infection fongique. Une étude réalisée dans différents services d'hémato-oncologie pédiatrique en France, a montré que la survenue d'une infection mucormycose touchait principalement les enfants atteints de leucémie aiguë. L'autre point important à relever est que tous ces enfants traités pour cette infection ont reçu des corticoïdes dans leur protocole de chimiothérapie (4). Les corticoïdes augmentent le risque de survenue de mucormycoses et d'infections fongiques en général. Ils représentent de véritables « engrais à levures » en créant de véritables conditions de déficit immunitaire chez les patients.

2. Microbiologie habituellement retrouvée

Différentes espèces sont à l'origine d'infections fongiques dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique. Ces espèces se distinguent par des morphologies et un mode d'infection différent.

2.1. Les infections à levures

Les levures correspondent à un stade unicellulaire de champignons ascomycètes ou basidiomycètes avec un thalle unicellulaire qui donne naissance à une cellule fille par bourgeonnement à partir d'une cellule mère (le blastopore).

L'examen direct des colonies montre un aspect le plus souvent crémeux, et de coloration caractéristique de chaque espèce.

2.2. Les candidoses

De nombreuses espèces appartiennent au genre Candida, cette définition étant uniquement basée sur l'aspect morphologique que prennent les différentes espèces en milieu

de culture. Cependant l'espèce *Candida albicans* représente plus de 60% des levures isolées chez l'homme.

Les candidoses sont l'une des infections les plus fréquentes en hémato-oncologie. Leur gravité dépend du site d'infection (cathéter) et de sa dissémination hépatique, splénique, rénale, ophtalmique, pulmonaire ou ostéo-articulaire. L'émergence d'espèces nouvelles (*Candida glabrata* et *krusei*) peut aggraver le pronostic. Il est donc nécessaire de diagnostiquer rapidement cette infection du fait de l'inconstance de candidémie et ceci même dans les formes disséminées. La mortalité à un mois des malades candidémiques peut atteindre 40% surtout si certains facteurs de risques sont présents (cathéter veineux central, âge, allogreffe, absence de prophylaxie).

La mortalité globale des candidoses invasives est proche des 60%, dont 15 à 38% est attribuable à l'espèce *Candida* (3).

Ces infections sont soit localisées (candidose buccale par exemple) soit invasives et on parlera de candidoses systémiques (5). Le genre *Candida albicans* est commensal des voies digestives chez l'Homme. Par contre il est pathogène lorsqu'il est présent sur la peau. On parle de « levure opportuniste » car elle peut devenir pathogène en cas de facteurs favorisants liés à l'hôte : immunodépression, hémopathie, tumeur maligne, cathéters, traumatisme, sujet âgé, femme enceinte, ou bien liés aux facteurs externes : antibiothérapie à large spectre, corticothérapie, immunosuppresseurs, chirurgie.

2.2.1. Épidémiologie

Nous avons vu que certains paramètres sont liés à l'apparition et au pronostic des d'infections fongiques (profondeur et durée de la neutropénie, âge, antécédents). D'autres paramètres peuvent aggraver ce pronostic notamment l'agressivité du germe en cause et sa dissémination dans l'organisme.

Les candidoses systémiques se situent au quatrième rang des infections nosocomiales avec un pourcentage de 10 à 15 % de l'ensemble des septicémies nosocomiales (6).

Depuis le début des années 1990, les données des études épidémiologiques montrent que *Candida* sp. se classe entre le 3e et le 5e rang des agents infectieux responsables d'infections nosocomiales dans la population générale hospitalisée en réanimation. (7)

En Europe, l'incidence de la candidose invasive chez les patients admis en réanimation, ayant eu une intervention ou bien traités en hémato-oncologie a été estimée entre 1 et 10 pour 1000 patients. Une étude importante réalisée par la Confédération Européenne de Mycologie Médicale sur 2089 cas documentés en provenance de 106 établissements de pays européens, a rapporté 0,2 à 0,38 candidémie pour 1000 admissions et 3 à 4,4 cas pour 100 000 jours-patients (8).

Il faut cependant relativiser ces données car la candidose invasive reste très rare même dans les services d'hémato-oncologie pédiatrique alors que la colonisation par *Candida* est

quant à elle très fréquente. Une étude réalisée sur 58 patients âgés en moyenne de 5 ans, ayant reçu une greffe de moelle, montre que 5 enfants ont été infectés par une candidose invasive et que 4 d'entre eux (soit 7%) ont été suspectés de développer cette infection (9). Ce tableau reprend les incidences des candidoses en fonction des espèces dans cette population pédiatrique.

Tableau I : épidémiologie pédiatrique des espèces de *Candida (10)*

	enfants
C. albicans	*41%*
C. glabrata	*13%*
C. parapsilosis	*24%*
C. krusei	*7%*
C. tropicalis	*9%*
autres	*6%*

Aujourd'hui *Candida albicans* reste majoritairement responsable de ces infections invasives. Cependant on observe une augmentation de l'isolement des souches non albicans dans le diagnostic des candidoses invasives. *C. glabrata* et *C. krusei* ont vu leur fréquence augmenter. L'hypothèse avancée est attribuée à l'utilisation de certaines familles d'azolés notamment le fluconazole en prophylaxie. Dans l'étude menée par l'ECCM (European Confederation of Medical Mycology) en 2004, des souches de *Candida* non *Albicans* ont été identifiées dans 43% des cas. Ces souches ont été pour la plupart isolées chez les patients atteints d'hémopathies malignes (65%) et l'espèce la plus isolée était le *C.glabrata* (8).

L'apparition d'espèces non albicans peut s'expliquer par l'utilisation de chimiothérapies de plus en plus toxiques et par l'utilisation inadéquate de molécules antifongiques.

2.2.2. Principaux signes cliniques

Les candidoses superficielles peuvent être à l'origine d'une infection systémique chez les patients à haut risque. Nous pouvons distinguer ainsi les candidoses digestives (candidoses buccales, candidose œsophagiennes et candidoses anales), les candidoses génito-urinaires (candidoses urinaires et vulvo-vaginites) et les candidoses cutanées et unguéales.

Les candidoses invasives sont des affections fongiques graves associées à l'altération de l'état clinique du patient. La contamination peut être soit exogène à partir d'une voie veineuse centrale, soit endogène à partir d'une candidose digestive par exemple. La candidémie correspond alors à l'isolement de l'espèce *Candida* à partir d'une hémoculture ce qui implique une dissémination hématogène. Cette dissémination aura pour conséquences des localisations profondes viscérales multiples : cardiaques (endocardites), neurologiques, pulmonaires, rénales, oculaires, ostéo-articulaires et cutanées. La candidose chronique ou

candidose hépato splénique est une manifestation souvent trouvée chez les patients neutropéniques.

2.2.3. Diagnostic mycologique

L'espèce Candida se caractérise par son polymorphisme en fonction des milieux de culture dans lesquels elle est cultivée. Elle se présente ainsi sous forme de blastopore, de pseudo filament ou de filament vrai. Ce sont ces structures qui seront mises en évidence lors d'un examen direct.

Le diagnostic mycologique s'inscrit dans le cadre de la démarche classique d'identification d'un micro organisme.

2.2.3.1. Les prélèvements

Il existe des méthodes de diagnostic systémiques et d'autres méthodes immunologiques. Dans tous les cas le prélèvement doit présenter une qualité et une quantité suffisante pour pouvoir être utilisé.

Les prélèvements doivent être réalisés avant tout traitement antifongique, de façon stérile et transportés le plus rapidement possible au laboratoire pour limiter toute multiplication des levures (6).

- Le prélèvement sanguin est réalisé en première intention, le sang est ensemencé directement sur un milieu de culture (Sabouraud liquide ou autre milieu).

D'autres prélèvements peuvent être réalisés en vue du diagnostic :

- Des prélèvements aux portes d'entrée (cathéters, sondes, valves)
- Des prélèvements de divers liquides biologiques (liquide céphalorachidien, broncho alvéolaire, urines).
- Des fragments de biopsies (cutanée, hépatique, pulmonaire...) qui sont réalisées selon des arguments cliniques et radiologiques. La biopsie doit être partagée en deux fragments : un fragment, fixé dans du liquide de Bouin ou du formol, sera destiné à l'examen histopathologique. L'autre, placé dans du sérum physiologique stérile, permettra l'examen mycologique.

La détermination de *l'index de colonisation* tel que défini par Pittet est le rapport entre le nombre de sites positifs et le nombre total de sites prélevés (11). Cet index constitue une sorte d'alarme et a fait ses preuves chez les patients adultes en réanimation. La détermination de cet index nécessite des prélèvements réguliers d'au moins cinq sites (nasal, auriculaire, buccal, anal, et vulvo-vaginal) et un prélèvement urinaire sur un flacon stérile, par patient et cela deux

fois par semaine. Chaque échantillon sera ensuite ensemencé sur un milieu chromogène et incubé à 37°C, ce qui permettra l'identification des souches et le traitement précoce des patients à haut risque. Les prélèvements à pratiquer sont :

- Écouvillonnage anal ou selles ;
- Écouvillonnage endobuccal ;
- Sécrétions trachéales (aspiration) ;
- Tout liquide de drainage (estomac, cavité péritonéale, voies biliaires...) ;
- Urines.

Le traitement antifongique est mis en place dès que cet *index de colonisation* atteint ou dépasse 0,5.

2.2.3.2. Examen direct

Certains prélèvements doivent subir un traitement avant tout examen direct. Les liquides sont homogénéisés voire centrifugés avant de subir une dilution pour quantification (cas des selles et des urines). Ils peuvent être concentrés par centrifugation (10 min à 1500) ou par filtration sur membrane de porosité 0,45 micron.

Les crachats ou les LBA (lavages broncho-alvéolaires) visqueux sont fluidifiés préalablement. Les biopsies et tissus sont broyés mécaniquement à l'aide du Potter sous hotte. Les prélèvements sont réalisés et ceci avant tout traitement local ou général.

Rapide, cet examen constitue la première étape de diagnostic car il permet d'orienter le diagnostic dans les plus brefs délais et de commencer un traitement. L'examen direct des prélèvements superficiels (squames et fragments unguéaux) est réalisé entre lame et lamelle dans une solution de potasse KOH à 30 ou 40% ou de chloralchloral lactophénol permettant l'éclaircissement préalable de ce prélèvement. Leur paroi fongique est ensuite colorée à l'aide de produits tels que : lugol à 2 %, bleu de toluidine, bleu au lactophénol, noir chlorazole ou rouge Congo (MycetColor®, sr2b). L'utilisation de blanc de calcofluor (Sigma), le Blankophor® (Bayer) à 0,1 % ou encore le MycetFluo® (sr2b) permet une plus grande sensibilité sur un microscope à fluorescence.

Les prélèvements profonds (LBA, liquide pleural, articulaire, biopsies tissulaires) permettent la réalisation d'étalements, des appositions sur lames ainsi que des spots de cyto-centrifugation. Les frottis sont fixés à la chaleur ou à l'alcool, puis colorés par le May-Grünwald-Giemsa (MGG), ou traités par imprégnation argentique (techniques de Gomori-Grocott ou de Musto) (12).

2.2.3.3. Culture

Cette étape du diagnostic mycologique est importante puisqu'elle permet :

- L'augmentation de la sensibilité de l'examen direct ;
- L'identification de la levure à l'origine de l'infection ;
- La numération des levures nécessaire à l'interprétation des résultats ;
- La réalisation de l'antifongigramme.

Le caractère peu exigeant du genre Candida permet l'utilisation de plusieurs milieux de culture tels que la gélose simple, la gélose au sang ou bouillon cœur-cervelle. Le milieu le plus adapté reste cependant le milieu de Sabouraud, car il offre une grande surface d'ensemencement, permet d'isoler des levures et de voir les associations d'espèces.

La culture des levures se fait sur milieu Sabouraud additionné d'antibiotiques (pour éviter la croissance de bactéries du fait de la croissance lente des champignons). Ce milieu est riche en glucose et en peptine et son pH est de 5,6. Il peut également être additionné d'actidione (cycloheximide) qui va inhiber la croissance des champignons filamenteux qui risquent de contaminer cette culture. Toutefois, cette molécule peut inhiber ou freiner la pousse de certaines espèces de Candida telles que *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C. tropicalis* ou *C. famata*.

La température de l'incubation se fait entre 25 et 35°C, la température optimale des espèces de Candida étant de 37°C. Pour les prélèvements superficiels la culture se fait à 37°C, une durée de culture de 24 à 72 heures suffit à isoler la plupart des espèces de *Candida*. Les prélèvements profonds requièrent une durée allant de une à quatre semaines.

Sur le milieu Sabouraud le développement de culture montre des colonies crémeuses, blanchâtres de 1 à 2 mm de diamètre. L'examen microscopique permet la mise en évidence de blastopores sous forme ovoïde de 2 à 4 microns.

D'autres milieux de culture permettent à la fois l'isolement et l'identification des espèces *Candida*. Ce sont les milieux chromogéniques additionnés de chromogènes et permettant l'identification d'une espèce. Cette coloration correspond à une activité enzymatique spécifique d'une espèce. Ainsi *C. albicans* va prendre différentes couleurs selon le milieu chromogénique utilisé :

- Les milieux Candida ID® 2, bioMérieux ; Candichrom®, ELITech Microbio ; ChromID®, bioMérieux

L'hémoculture est la méthode de référence pour le diagnostic de candidoses systémiques. Cependant, elle a une faible sensibilité (40 à 60%) malgré le développement des systèmes récents pour améliorer la sensibilité des hémocultures (système Isolator [lyse-centrifugation], automates). Elle met plusieurs jours pour se positiver retardant ainsi le diagnostic et la mise en route du traitement (6). Or le pronostic de ces infections fongiques est lié à la précocité de

leur diagnostic et de traitement. Ce qui implique qu'une hémoculture négative n'élimine pas le diagnostic d'une candidose systémique. Cependant, une seule hémoculture positive confirme le diagnostic (13,14).

La méthode de lyse-centrifugation comporte une étape de lyse des cellules sanguines puis, une centrifugation pour se débarrasser du surnageant et pour concentrer les agents infectieux. Le culot est ensemencé sur milieu de culture. Cette méthode qui est de réalisation délicate à un intérêt quand les prélèvements sont effectués sous traitement antifongique ou si une infection mixte levures-bactéries est suspectée.

Par ailleurs, la supériorité des automates d'hémoculture sur les systèmes manuels n'est plus à démontrer. On distingue les automates Bactec system (Becton-Dickinson) et BacT/Alert system (BioMérieux). De nombreuses études ont évalué ces automates en utilisant différents milieux : BacT/Alert Fan Aerobic, Plus Aerobic/F, Mycosis IC/F (15). Les résultats montrent une supériorité des milieux BacT/Alert sur les milieux Plus Aerobic/F. Le milieu Mycosis IC/F est un milieu spécifique pour les champignons qui est plus efficace que les deux milieux précédents. En effet, il est plus sensible et plus précoce pour le diagnostic des candidoses systémiques, particulièrement quand il s'agit des espèces *C. albicans* et *C. glabrata* qui représentent 70 % des espèces incriminées et quand il y a présence concomitante des levures et des bactéries. Cette association est commune et représente 18 à 21 % des fongémies. Dans cette situation, l'absence de détection des levures dans les milieux bactériens peut être due à l'inhibition de la croissance des levures par le développement plus rapide des bactéries ou par la production des substances antifongiques par ces dernières. L'association des milieux Mycosis IC/F aux milieux bactériens au cours de syndromes septicémiques chez les patients à haut risque, aura un plus grand intérêt pour augmenter la sensibilité et la rapidité du diagnostic des candidoses systémiques.

2.2.3.4. Identification : *Candida Albicans*

Après l'isolement de l'espèce, l'étape suivante consiste en son identification. De nombreux tests morphologiques, biochimiques sont ainsi réalisés en pratique courante.

Après 24 à 48 heures de culture, l'examen macroscopique montre des colonies crémeuses, blanchâtres, de 1 à 2 mm de diamètre. L'examen microscopique montre des formes ovoïdes de 2 à 4 microns correspondant aux blastopores. L'isolement des cultures sur milieu de Sabouraud peut déjà orienter sur l'espèce bien qu'elles présentent un aspect macroscopique identique sous forme de colonies blanches :

- *C. Albicans* : blanc crémeux, lisses. Certaines espèces sont plus rugueuses.
- *C. Glabrata* : blanc crémeux, brillantes, planes ou lisses.
- *C. Krusei* : blanc mat, planes, très sèches, parfois plissées.
- *C. Tropicalis* : blanc crémeux, souvent plissées.

a) Tests morphologiques

Ces tests reposent sur le caractère morphologique et la spécificité de leur structure :

- Test de filamentation sur sérum : ce test consiste à l'incubation d'une suspension de levures dans du sérum de cheval à 37°C pendant 3 heures. La formation de tubes germinatifs, sans constriction à la base confirme l'espèce Albicans. Ce test présente un sensibilité de 100% et une spécificité de 86,3%. L'inconvénient est qu'une association de plusieurs espèces est difficilement décelable (16).
- Test de chlamydosporulation : l'ensemencement se fait cette fois sur des milieux pauvres en anaérobie, sur milieu RAT (riz, agar-agar, tween) ou milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile) pendant 48 heures à 25°C. L'apparition de spores globuleuses terminales de 10 à 15 microns de diamètre est caractéristique de l'espèce Candida (ce sont les chlamydospores).

b) Les milieux chromogènes et fluorogènes (milieux de primo isolement)

Plusieurs milieux contenant des substrats chromogènes et fluorogènes sont disponibles :

- *Fluoroplate Candida R : (Merck)* : la révélation de l'espèce *C. albicans* se fait par la présence d'un substrat fluorescent après 24 à 48 heures d'incubation (17).
- *Albicans ID : (BioMérieux) :* les colonies formées après 24 à 48 heures d'incubation sont colorées en bleu.
- *Candida ID : (BioMérieux)* : au bout de 24 à 48 heures, les colonies de *C. albicans* se colorent en bleu alors que celles de *C. tropicalis* , *C. guilliermondii, C. kefyr* et de *C.lusitaniae* se colorent en rose.
- *CHROMagar Candida : (Becton-Dickinson) :* le substrat chromogène contenu dans ce milieu permet la coloration de *C. albicans* en vert, *C. tropicalis* en bleu métallique et *C. krusei* en rose pâle. Ce test offre une sensibilité et une spécificité supérieures à 99% (18).

c) Etude de l'assimilation des sucres sur galeries

Plusieurs galeries commercialisées existent, parmi elles :

- *API 20C Aux* (BioMérieux) : galerie contenant 19 sucres différents et permettant d'identifier 43 levures différentes (19).
- *ID 32C* (BioMérieux) : elle comporte une étude de l'assimilation de 29 sucres et de la résistance à l'actidione ainsi qu'un test à l'esculine. Il permet d'identifier 63 levures différentes.

Ces deux galeries donnent un résultat en 48 à 72 heures. La croissance de la levure se traduit par une opacité de la cupule contenant le sucre.

La lecture visuelle n'est pas toujours facile. Pour ID 32 C, il existe un lecteur automatique couplé à un logiciel d'identification qui simplifie la lecture.

- *Auxacolor* (Biorad) : elle permet d'étudier après 24 à 48 heures l'assimilation de 13 sucres, la résistance à l'actidione et la révélation de la phénoloxydase. Elle permet ainsi d'identifier 25 levures grâce à une bonne sensibilité et une facilité de lecture (19).
- *Fungichrom* (International Mycoplasma) : cette galerie est fondée sur l'hydrolyse des substrats chromogènes couplée aux tests d'assimilation colorimétrique des sucres. Elle associe la mise en évidence de l'uréase, de la phénoloxydase, la résistance à l'actidione, et l'assimilation de sept sucres. La lecture se fait en 24 à 48 heures (20).

d) Tests enzymatiques

Le fongiscreen 4H (Biorad) permet d'identifier en quatre heures les quatre levures les plus pathogènes et les plus fréquentes : *C. albicans, C. tropicalis, C. glabrata et Cryptococcus neoformans.* Elle est fondée sur la recherche de cinq enzymes spécifiques, la réduction du tétrazolium et l'assimilation du tréhalosetréhalose. Ce test a une sensibilité de 93,6 % et une spécificité de 98,7 %.

e) Test d'agglutination

Bichrolatex *Albicans* (Fumouze Diagnostics) : c'est un test d'agglutination de levures et de particules de latex sensibilisées par des anticorps monoclonaux spécifiques de *C.Albicans*.

Il est de réalisation facile et rapide. Il a une excellente sensibilité et spécificité de 100%. Cependant, il ne permet pas d'identifier les associations (21,22).

2.2.3.5. Identification des autres espèces

Comme nous l'avons vu concernant *C. albicans*, l'identification des espèces non Albicans va utiliser les mêmes caractéristiques :

- L'étude de l'assimilation des sucres se fera dans les galeries : API 20C Aux, ID 32 C, Auxacolor, Fungichrom (19).
- Certains milieux chromogènes et fluorogènes permettent de séparer des espèces. Le milieu CHROMagar permet d'identifier *C. tropicalis* et *C. krusei* (18).
- Le fongiscreen 4H basé sur une réaction enzymatique permet d'identifier *C. tropicalis* et C. glabrata (23).

- *Glabrata* RTT (Fumouze Diagnostics) : cette galerie peut identifier l'espèce *Glabrata* en 20 minutes grâce à la réaction d'hydrolyse d'un sucre spécifique. En effet l'espèce *Glabrata* hydrolyse le tréhalosetréhalose mais pas le maltose.
- La capacité de réduction du 2, 3, 5-triphényltétrazolium chloride incorporé dans le milieu de culture peut également être utilisé. Ce sel est incorporé dans certains milieux de culture, qui une fois réduit donnera des colorations allant du blanc au rouge selon les espèces.

Cependant il convient toujours de comparer les résultats d'identification des galeries avec les tests d'identification morphologique sur les milieux de culture RAT ou PCB avant de rendre un résultat.

L'interprétation de ces tests dépendra des sites de prélèvement et de l'espèce isolée. Certains sites, bouche, crachat, lavage bronchoalvéolaire, selles, urine, vagin... sont normalement colonisés par les levures. Pour affirmer le caractère pathogène de cette levure il faut :

- Un examen direct positif avec la formation de pseudo filaments et/ou de filaments visibles.
- La culture doit être abondante, il faut pour cela compter le nombre de colonies formées (de + inférieur à 10 colonies ; à ++++ supérieur à 50 colonies).

La colonisation des sites normalement stériles (sang, LCR, biopsie) suffit à confirmer le caractère pathogène de la levure isolée.

Cette identification peut être suivie de la réalisation d'un antifongigramme qui permet de détecter les éventuelles résistances aux traitements et la détermination des CMI (concentrations minimales inhibitrices). La méthode *E test* est la meilleure technique. Elle utilise des bandelettes imprégnées d'un gradient d'antifongique. Elle permet de déterminer en milieu gélosé les CMI du fluconazole, de l'itraconazole et de la flucytosine pour *Candida sp* (24).

2.2.4. Diagnostic immunologique

2.2.4.1. Détection d'anticorps

Chez les patients suspectés de développer une candidose systémique ou profonde, il est parfois difficile de recourir à des méthodes invasives pour avoir des prélèvements profonds. Cette insuffisance de prélèvements a conduit au développement des méthodes immunologiques permettant la mise en évidence de marqueurs d'infection fongique invasive, d'anticorps sériques ou d'antigènes circulants, dont la recherche est souvent complémentaire.

L'interprétation des résultats immunologiques est délicate : chez les patients lymphopéniques fébriles la positivité des anticorps est telle qu'il est parfois difficile de

confirmer s'il s'agit d'une colonisation asymptomatique ou d'une pathogénicité grave. Il convient donc de suivre l'évolution du taux d'anticorps par des dosages proches les uns des autres. Une brutale séroconversion associée à des signes cliniques évocateurs renforce le caractère pathogène de l'infection.

Ces tests immunologiques de recherche d'anticorps spécifiques anti-*candida* utilisent deux techniques :

- Les méthodes utilisant des antigènes totaux figurés ou solubles, riches en mannanes (immunofluorescence indirecte (IFI), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), hémagglutination passive, électrosynérèse). Ces méthodes proposent un seuil discriminant au delà duquel une candidose est probable. Par exemple, le test PLATELIA qui est une méthode ELISA utilise le mannane comme antigène (23).
- Les méthodes utilisant des antigènes exprimés au cours du processus invasif : plusieurs antigènes essentiellement cytoplasmiques ont été décrits. Les mieux caractérisés sont : l'énolase vacuolaire de 48 kDa et la sous-unité 47 kDa de la HSP 90 (*heat schock protein 90*). Les anticorps dirigés contre ces antigènes sont mis en évidence par la méthode western blot ou Elisa. Ils permettent un diagnostic de candidose plus spécifique.
- *Les méthodes en cours d'évaluation*. Récemment, des études ont été faites sur la recherche des anticorps dirigés contre des fragments natifs de la paroi cellulaire (Ac anti-CW) et des anticorps dirigés contre la phosphopeptidomannane qui est une fraction de la paroi cellulaire (Ac anti-PPM). Ces études rapportent que les patients ayant une candidose systémique ont un taux élevé d'immunoglobuline de type G anti-CW et anti-PPM en les comparant à un groupe témoin (6,25).

Cependant, du fait des difficultés d'interprétation chez les patients lymphopéniques, il est recommandé de confirmer un test positif par une autre technique. Le dosage des anticorps doit être réalisé de façon régulière pour pouvoir être utilisé en diagnostic.

2.2.4.2. Détection d'antigènes

La recherche d'antigènes peut venir compléter la recherche d'anticorps et vient pallier leurs éventuelles difficultés d'interprétation. Cette détection d'antigènes consiste en la recherche de fragments ou de métabolites de la levure dans les différents liquides biologiques (urines, LCR, LBA) même si le passage dans ces différents compartiments reste faible et transitoire.

a) Les mannanes

Ce sont des composants de la paroi des espèces Candida. La détection de ces antigènes de nature polysaccharidique est possible après chauffage des échantillons à 110°C en présence d'EDTA ou après traitement par des protéases. Plusieurs tests existent : (12)

- Le test Pastorex® *Candida* (Bio-Rad) consiste en l'agglutination de particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal dirigé contre une séquence oligomannosidique particulière présente sur les mannanes libérés de la paroi de *C. albicans*, *C.tropicalis*, *C. guillermondii*, *C. glabrata, C. kefyr, C. stellatoïda* et de façon inconstante de *C. krusei, C. kefyr* et *C. parapsilosis.* Ce test semi-quantitatif, bien que très spécifique et permettant d'apporter une réponse rapide, est peu utilisé en raison de sa faible sensibilité (seuil de détection de l'ordre de 2,5 ng/mL).
- Le kit Platelia® *Candida* Ag (Bio-Rad) détecte les mannanes par technique ELISA, avec une sensibilité analytique entre 2,5 ng et 0,1 ng/mL, tandis que la sensibilité clinique du test est de l'ordre de 50 %. Ce test automatisable est adapté au suivi régulier des patients à risque. Comme pour le précédent test, les espèces non-*albicans* (notamment *C. krusei, C. kefyr* et *C. parapsilosis*) sont moins bien détectées. Ce test a récemment été modifié (Platelia® *Candida* Ag-Plus) afin d'augmenter sa sensibilité. Toutefois, un certain nombre de faux positifs a été rapporté chez des patients présentant une candidose superficielle.
- Le test Serion ELISA antigen *Candida*® (Virion/Serion) est également basé sur la détection des mannanes circulants par technique ELISA.

Cette recherche de mannanes peut être positive plusieurs jours avant l'isolement de Candida sur un site stérile. Son association avec la détection des anticorps anti-mannanes peut permettre une précocité dans le diagnostic.

b) β (1,3)-D glucanes

Ces polysaccharides sont avec la chitine, l'un des principaux constituants de la paroi des espèces Candida, des levures et des champignons filamenteux, à l'exception des cryptocoques et des zygomycètes. Ils sont libérés très tôt dans la circulation sanguine au cours d'une infection fongique invasive, et leur détection est possible jusqu'à dix jours avant l'apparition des symptômes (12).

Le seul test disponible en France permettant de détecter les D-glucanes est le test Fungitell®. Son seuil de positivité est situé entre 60 et 80 ng/ml.

Cette recherche a été incluse en 2008 dans les nouveaux critères diagnostiques de l'EORTC (European organisation for research and treatment of cancer), mais l'expérience avec ces tests reste pour l'instant limitée. De plus de nombreux cas de faux positifs ont été

rapportés suite à des infections bactériennes et des traitements antibiotiques. Ce qui fait que ce test présente une faible sensibilité.

c) D-arabinitol

Ce sucre est produit par l'ensemble des espèces Candida à l'exception de *C. glabrata* et *C. krusei*. Le dosage (par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse) consiste en la mesure du ratio D-arabinitol fongique/D-arabinitol humain dans les urines. Ce test peut être un très bon marqueur de candidose profonde, mais le test développé pour les laboratoires de routine hospitalière n'est pas disponible en France.

2.2.5. Diagnostic moléculaire

Ces nouvelles techniques s'appuyant sur les acides nucléiques des différentes espèces de levures sont venues compléter l'arsenal pour le diagnostic des candidoses systémiques. Ces techniques consistent en la reconnaissance des séquences d'acides nucléiques qui sont spécifiques à chaque espèce. Cette reconnaissance de ces séquences du génome est permise par la technique PCR (Polymérase Chain Reaction), qui va permettre d'amplifier certaines séquences du génome pour le rendre décelable.

Elle présente plusieurs avantages, car elle est réalisable sur tous les types de prélèvements (sérum, sang, biopsies), le statut immunitaire ne rentre pas en compte contrairement à la recherche d'anticorps. Elle est également réalisable malgré un traitement antifongique antérieur, elle permet un diagnostic rapide et présente une spécificité et sensibilité importante, le risque de contamination est réduit car elle ne nécessite pas de manipulation post-PCR.

La spécificité de cette méthode est liée aux séquences d'ADN précises qui seront sélectionnées puis amplifiées. Sa sensibilité analytique est quant à elle liée aux autres facteurs (12) :

- La nature des échantillons : sérum, sang total ou autre prélèvement biologique frais (LCR, biopsie).
- La méthode d'extraction.
- Nature de la séquence cible : deux types de séquences cibles peuvent être amplifiées. Les gènes mono-copies (actine, chitine synthétase, Δ14 α-lanostérol déméthylase, alcaline protéase,) peuvent baisser la sensibilité. Les gènes multi-copies amplifiés par des amorces universelles (PCR panfongique) ont permis d'accroître la sensibilité.
- Révélations des amplicons : les séquences d'acides nucléiques amplifiées sont soumises à une électrophorèse sur gel d'agarose, suivie d'une révélation par un agent intercalant (bromure d'éthidium). La sensibilité de cette technique a été améliorée en combinant les principes de l'immunoenzymologie et ceux de la

PCR (PCR-EIA, amorces conjuguées à la digoxigénine + sondes biotinylées + plaques de microtitration sensibilisée par de la streptavidine). D'autres techniques comme l'hybridation sur membrane, ou encore les bio-puces, ont également été développées.

De plus la technique de PCR en temps réel va permettre simultanément à partir d'un même échantillon de rechercher plusieurs espèces incriminées. Ceci est possible par l'utilisation d'amorces universelles et de plusieurs couples d'amorces et de sondes spécifiques.

Dans une étude évaluant la PCR en temps réel chez 122 patients ayant une candidose systémique suspectée ou confirmée, la sensibilité était de 100 % et la spécificité de 97 % (26).

Ces techniques vont reconnaître des régions très spécifiques du génome du champignon. Ce sont les séquences hautement conservées du génome qui sont la cible puisqu'elles ne nécessitent l'utilisation que d'un seul couple d'amorce. Ces séquences correspondant aux régions ITS (*Internal Transcribed Spacer*), situées sur les gènes codant pour l'ARN ribosomal 5,8S, 18S et 28S, sont ainsi les plus utilisées. La très haute conservation et spécificité de chacune des espèces permettent notamment de différencier des espèces Candida morphologiquement très proches les unes des autres (comme par exemple *C. albicans* et *C. dubliniensis).*

Une fois amplifiées ces séquences ITS sont suivies soit par un séquençage, soit par l'étude du polymorphisme de longueur des produits d'amplification, soit par hybridation avec des sondes fluorescentes spécifiques d'espèces ou encore une PCR multiplexe ou à des puces à ADN (DNA Array).

Plusieurs systèmes d'amplification sont ainsi disponibles (27) :

- Le kit Yeast Traffic Light PNA FISH™ (AvanDx, distribué par i2a) : utilise des sondes spécifiques de l'ARNr pour réaliser l'hybridation de l'ADN fongique. Il assure une identification de l'espèce en quelques heures à partir d'une hémoculture positive.
- Le système de PCR multiplexe sur Lightcycler® Septi*Fast* Test (Roche) permet une amplification des régions ITS et assure une identification de plusieurs espèces de *Candida* sur un même échantillon, en seulement quelques heures.
- Le système PLEX-ID® (Abbott) permet une analyse des produits d'amplification par une spectrométrie de masse.

Nous pouvons donc conclure que les infections à *Candida* sont une pathologie courante chez les immunodéprimés. Tout l'arsenal de diagnostic permet le plus souvent d'établir le diagnostic dans des délais rapides afin de débuter le traitement adéquat.

Les autres infections à levures notamment la cryptococcose ne seront pas développées dans notre étude car aucun cas n'a été rencontré dans notre population.

2.3. Les infections à *Aspergillus*

L'aspergillose invasive, deuxième infection fongique la plus fréquente en hémato-oncologie, est une cause de mortalité et de morbidité importante chez les patients en hémato-oncologie pédiatrique. Cette pathogénicité de l'espèce *Aspergillus* est due à une diminution de la fonction phagocytaire secondaire aux différentes cures de chimiothérapies, mais également à sa présence cosmopolite dans l'environnement.

L'aspergillose pulmonaire invasive touche plus de 7,5% des infections post-chimiothérapiques pour les patients atteints de leucémies. Elle concerne 5% des greffés de cellules souches hématopoïétiques (2).

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 (28). Après la population des patients allogreffés, 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 (29). Une étude a été réalisée dans un service d'hémato-oncologie incluant 42 enfants (âge moyen dix ans, sex-ratio 1,5) : 20 enfants étaient suivis pour une leucémie aiguë myéloïde, 18 enfants pour une leucémie aiguë lymphoblastique, 2 patients pour un lymphome de Burkitt et 2 patients pour une maladie de Hodgkin. Les 42 patients ont été traités par chimiothérapie protocolaire. Le diagnostic d'API (aspergillose pulmonaire invasive) a été posé dans un cas, soit une prévalence de 2,5% chez une patiente âgée de 13 ans (30).

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.

2.3.1. Agents pathogènes et physiopathologie

Le genre *Aspergillus* est constitué d'un grand nombre d'espèces mais quelques unes seulement sont fréquemment rencontrées en pathologies humaines : *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus*. Cependant, l'espèce responsable de 80 à 90 % des infections humaines est *Aspergillus Fumigatus*.

Ce sont tous des champignons filamenteux qui produisent un mycélium. Ils se définissent par la présence du filament conidiophore (stipes) se terminant à son extrémité par une tête aspergillaire qui portent les cellules conidiogènes. Ces cellules sont des philiades sans collerette dérivant soit directement de la vésicule, soit des métules. Les phialospores sont produites en chaîne, de forme arrondie et unicellulaire.

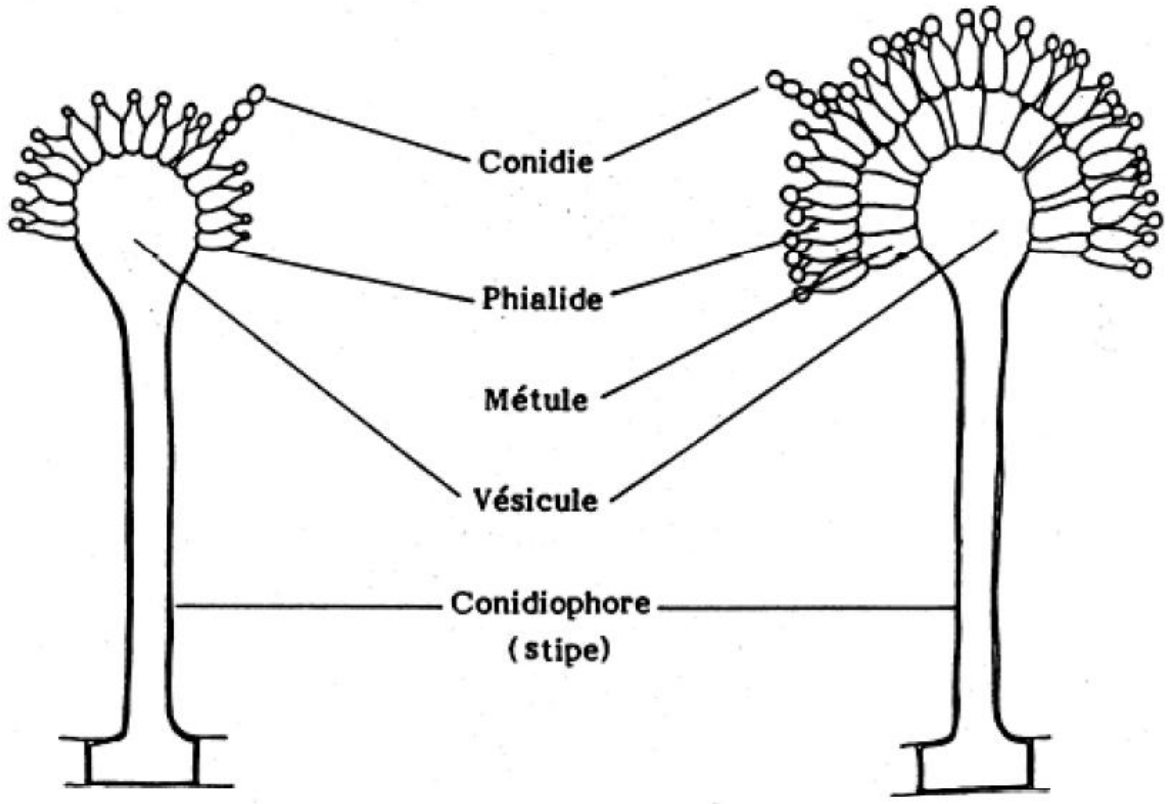


Figure 1 : structure microbiologique de l'espèce *Aspergillus*

La contamination se fait par inhalation de spores, ce qui explique la grande fréquence des atteintes pulmonaires et des voies aériennes supérieures. L'un des facteurs qui contribue à la forte incidence de ce type d'infections est son caractère cosmopolite. En effet, les *Aspergillus* sont très fréquents dans la nature, ils vivent en saprophytes dans le sol mais également sur les végétaux. Ils sont présents dans l'air, sur les matières organiques en décomposition. Ils sont également présents dans l'alimentation (thé, poivre) 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 et leur petite taille de 2 à 3 microns de diamètre leur permet une pénétration bronchoalvéolaire facile. À partir des voies aériennes supérieures, l'invasion locale et systémique se fait par voie hématogène. Le pouvoir pathogène des *Aspergillus* s'exerce de deux façons : pouvoir infectieux et pouvoir allergisant. 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. 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. Nous développerons seulement les aspergilloses invasives et nous ne ferons que citer les autres formes cliniques.

Si les voies respiratoires sont intactes, les conidies et leurs spores seront éliminées par l'action des cils vibratiles de l'épithélium pulmonaire cilié et par l'action de phagocytose des macrophages et de l'activité des polynucléaires alvéolaires qui vont détruire les filaments formés.

Les facteurs favorisant l'infection sont :

- Neutropénie profonde et/ou altération de la fonction des neutrophiles (patients atteints de leucémies et patients greffés).
- Chimiothérapie et corticothérapie au long cours.
- Antibiothérapie.
- Nombre de spores inhalées.
- Cavité pulmonaire préformée (caverne tuberculeuse)
- Altération de l'épithélium cilié pulmonaire, mucoviscidose.

2.3.2. Les signes cliniques des aspergilloses « infections »

Comme nous l'avons signalé précédemment, différentes formes cliniques peuvent être observées :

2.3.2.1. Aspergillose pulmonaire invasive

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'hémato-oncologie et dont le diagnostic est difficile à poser. Les symptômes sont caractéristiques avec une fièvre résistant aux antibiotiques à large spectre, une toux, une hémoptysie, une dyspnée et des douleurs thoraciques. Un syndrome inflammatoire biologique majeur est associé à ces symptômes cliniques. Le diagnostic devient encore plus sombre lorsqu'on observe une dissémination et une atteinte d'autres organes avec une localisation rénale, cérébrale, hépatique et cardiaque. L'imagerie constitue donc un élément essentiel du diagnostic de l'aspergillose pulmonaire invasive.

La porte d'entrée pulmonaire des spores explique que la symptomatologie soit essentiellement pulmonaire. Cette atteinte pulmonaire peut être soit unilatérale soit bilatérale, localisée ou diffuse selon la rapidité du diagnostic. La radiographie pulmonaire peut être tout à fait normale au départ ou bien présenter des anomalies aspécifiques d'une API. 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.

La brièveté du signe du Halo oblige à réaliser le scanner le plus tôt possible afin d'améliorer le pronostic global des patients. Le scanner thoracique réalisé rapidement chez notre première patiente suite à une aplasie fébrile non documentée a permis la mise en évidence de ces multiples nodules pulmonaires irréguliers, permettant ainsi le choix rapide du traitement et l'amélioration de l'état de la patiente au bout de quelques jours de traitement.

Généralement un scanner de contrôle est réalisé chez les patients traités par un antifongique permettant d'évaluer l'efficacité du traitement.

Le tropisme vasculaire de l'espèce Aspergillus explique les localisations extra pulmonaires de l'infection. La localisation cérébrale est trouvée dans 15% des cas d'aspergillose disséminée. Les localisations articulaires, rénales, digestives, hépatospléniques voire thyroïdiennes sont possibles et trouvées dans 10% à 15% des cas d'aspergilloses invasives.

2.3.2.2. Aspergillome

Il s'agit du développement du mycélium aspergillaire dans une cavité pulmonaire préexistante secondaire. L'absence de défenses macrophagiques locales et l'altération du tissu pulmonaire permettent le développement de la « truffe » aspergillaire formée de mycélium pelotonné. Le scanner montre une image caractéristique en « grelot » souvent à l'apex du poumon et surmontée à sa partie supérieure d'un croissant radio transparent. Les signes cliniques sont essentiellement une toux, une hémoptysie et des expectorations. Le patient présente une fièvre résistant aux antibiotiques, une asthénie majeure et un amaigrissement.

2.3.2.3. Bronchite aspergillaire

D'évolution plutôt favorable, elle correspond au développement du champignon sur la paroi des grosses bronches.

2.3.2.4. Aspergillose de la sphère ORL

C'est l'espèce *Aspergillus Niger* qui est responsable de cette infection du conduit auditif externe. Les signes cliniques sont une otite externe suintante ou bien une sinusite chronique au niveau du sinus maxillaire.

2.3.2.5. Aspergillose cutanée

Elle est le plus souvent rencontrée chez les grands brulés avec des lésions peu spécifiques notamment des ulcérations, des nodules ou des nécroses.

2.3.3. Les aspergilloses allergiques

Nous ne ferons que citer les différents types de ces aspergilloses immuno-allergiques :

- Alvéolite allergique extrinsèque.
- Asthme aspergillaire
- Aspergillose broncho-pulmonaire allergique
- Alvéolites allergiques.

2.3.4. Diagnostic mycologique

Comme nous l'avons vu pour le diagnostic des espèces de Candida, nous allons étudier les différentes étapes de diagnostic des espèces Aspergillus.

2.3.4.1. Les prélèvements

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.

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

2.3.4.2. Examen direct

L'examen direct au microscope se fait entre lame et lamelle soit à l'état frais soit après coloration au bleu lactique, soit après éclaircissement à la potasse à 30% ou au chloralactophénol, ou encore après coloration argentique (coloration de Gomori-Crocott), nous observerons alors :

- Des spores peu spécifiques.
- Des têtes aspergillaires.
- Des filaments septés courts, de 3 à 5 microns de large à parois bien délimitées, ramifiées à angle aigu (45°). Ces filaments représentent la forme parasitaire du champignon et permettent donc de conclure quant au caractère pathogène du champignon isolé.

2.3.4.3. Mise en culture

La culture se fait sur milieu Sabouraud sans actidione (car l'actidione inhibe la croissance de l'espèce *Aspergillus*). D'autres milieux existent comme le milieu Czapek qui est spécifique et qui permet l'étude de la morphologie des différentes espèces. L'incubation des cultures se fait à 25°C et à 37°C, et au bout de 2 à 8 jours des colonies seront observées, ce qui permettra l'identification des espèces.

2.3.4.4. Identification

L'identification dans le cadre des champignons filamenteux s'appuie seulement sur les caractères macroscopiques et microscopiques des cultures réalisées sur le milieu Sabouraud.

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

2.3.5. 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. Les critères de définition des infections fongiques fournis par L'EORTC (organisation européenne pour la recherche et le traitement des cancers) ont été révisés en 2008 dans le cadre de l'aspergillose invasive incluant les patients atteints d'une tumeur maligne, bénéficiant d'une allogreffe, ou recevant un traitement par corticoïdes ou immunosuppresseurs. Ainsi la détection dans le sérum des antigènes du type galactomannane, puis celle des glucanes n'est pas spécifique d'une espèce

fongique en particulier. Ces détections ont été intégrées dans ces nouveaux critères microbiologiques de définition des API (31).

Le dosage des galactomannanes dans le sérum des patients neutropéniques recevant une chimiothérapie intensive ou une allogreffe dans le cadre d'une leucémie, a été repris dans la dernière conférence ECIL 3. Cette organisation préconise le suivi de ce dosage tous les 3 ou 4 jours afin d'augmenter la précocité du diagnostic et du traitement. Ce dosage est associé aux imageries par scanner et aux diagnostics mycologiques (32).

2.3.5.1. Détection d'antigènes

Les résultats de la technique de détection des antigènes mannanes dans le sérum des patients neutropéniques sont utilisés dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique de Brabois. Cette recherche se fait par deux méthodes aux laboratoires :

- *Platelia aspergillus* (Elisa sandwitch). C'est le kit Platelia Biorad qui est utilisé au laboratoire au CHU de Brabois.
- *Pastorex aspergillus* (test d'agglutination au latex)

Ces tests ne se positivent qu'après l'apparition des signes cliniques et radiologiques et ils sont à confirmer par un autre prélèvement. Le seuil de positivité du test KIT Platelia Biorad utilisé dans le laboratoire de Brabois est l'index 0,5.

2.3.5.2. Détection des anticorps

Chez les patients en aplasie secondaire aux traitements de chimiothérapie, la détection d'anticorps peut être difficile voire impossible. Cependant, cette sérologie peut être utilisée, en particulier dans le suivi des patients. Les patients en aplasie finissant toujours par en sortir, la synthèse d'anticorps spécifiques des *Aspergillus* pourra de nouveau être mesurée. Ceci permettra de confirmer un diagnostic d'aspergillose invasive.

Plusieurs techniques de mise en évidence de ces anticorps existent :

- L'immunoélectrophorèse permet la mise en évidence d'arcs de précipitation. La révélation de ces arcs repose sur les activités enzymatiques catalasiques et chymotrypsiques spécifiques des *Aspergillus*.
- L'électrosynérèse est une technique plus rapide. Elle ne permet que la mise en évidence d'arcs de précipitation à activités chymotrypsiques.
- La technique immunoenzymatique Elisa permettant la mise en évidence de IgG (immunoglobulines G) anti *Aspergillus*.
- Hémagglutination.
- Immunofluorescence indirecte.

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.

2.3.6. Diagnostic moléculaire

L'apport de la biologie moléculaire a permis une grande avancée dans le diagnostic des API. Comme dans le cadre des candidoses invasives, 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. Cette technique est utilisée dans les laboratoires du CHU. Elle utilise une amplification génique partielle du gène mitochondrial des ARNr et ARNt des espèces *Aspergillus fumigatus* et *Flavus* sur Light cycler (des laboratoires Roche) par technique FRET c'est à dire PCR en temps réel sur des prélèvements LCR.

D'autres techniques de PCR référencées comme par exemple la PCR panfongique sont reconnues par ECIL 3 dans les critères diagnostiques des aspergilloses invasives. Cependant face au manque de spécificité et de standardisation de ces techniques, un résultat positif doit toujours être confirmé par un autre test.

L'aspergillose invasive est donc une complication sévère chez les patients d'hémato-oncologie pédiatrique. Son pronostic redoutable oblige à utiliser des techniques permettant un diagnostic le plus précoce possible. L'essor de la biologie moléculaire permet certes de diminuer les délais mais la détection rapide des premiers signes cliniques et scannerographiques permettent de débuter un traitement probabiliste et ainsi de limiter la dissémination hématogène de l'infection.

2.3.7. Observations

Il s'agit de décrire à travers deux cas de patients hospitalisés en hémato-oncologie l'évolution d'une aspergillose invasive et le diagnostic dans le contexte clinique.

Cas n°1 :

Une patiente de 17 ans hospitalisée pour une leucémie myéloblastique aiguë de type 1 (LAM 1), non hyperleucocytaire avec atteinte du SNC et porteuse d'une translocation (8 ; 21), a été incluse dans le protocole ELAM comprenant des cures d'Aracytine et de mitoxantrone. Comme tous les patients atteints de LAM, un traitement préventif par fluconazole (Triflucan®) lui est administré à raison de 250 mg/j. Nous discuterons du choix de cette molécule en prévention chez les patients atteints de LAM car les différentes espèces *Aspergillus* présentent une résistance à cette molécule d'antifongique. L'intérêt de ce traitement préventif dans le cas de l'aspergillose invasive peut donc être discutable.

Durant sa cure de consolidation n°2, elle présente une neutropénie profonde avec des leucocytes à 180/mm sans syndrome inflammatoire notable. Elle est sous traitement antibiotique par vancomycine, ceftazidime (Fortum®) et antifongique par Triflucan®. Elle présente une première antigénémie aspergillaire positive (index 1,03). Le scanner des sinus et thoracoabdominal est normal, les antigénémies et la PCR aspergillaire reviendront négatives.

Un mois plus tard, elle présente une nouvelle aplasie profonde non documentée traitée par ceftazidime (Fortum®), teicoplanine (Targocid®) puis ajout du linézolide (Zyvoxid®). L'augmentation du syndrome inflammatoire dans un contexte de douleurs thoraciques conduit le prescripteur à prescrire du Cancidas® 70 mg/J. Face à ces nouveaux symptômes, le scanner thoracique montre de multiples nodules à contours irréguliers de tailles différentes dans tous les champs pulmonaires associés à un syndrome de comblement alvéolaire au lobe moyen. L'aspect scannerographique est en faveur d'une pneumopathie nodulaire diffuse compatible avec une atteinte fongique. La PCR aspergillaire sur sang, l'antigénémie et le béta-D glucan restent négatifs.

L'Ambisome® est instaurée en relais du Cancidas® (devant une tubulopathie à l'amphotéricine B liposomale, une supplémentation en potassium est débutée).

L'apyrexie est obtenue au bout de soixante-dix heures de traitement par Ambisome® avec une régression complète du syndrome inflammatoire. Les scanners de contrôle réalisés à 10 jours d'intervalle montrent une nette régression des nodules infectieux des deux champs pulmonaires et du foyer lobaire moyen. L'Ambisome® IV sera poursuivi sur une durée de six semaines et la bi-antibiothérapie sera arrêtée au bout de trente-six jours de traitement. L'Ambisome® sera relayée par le V-fend® 200 mg, 2 fois par jour per os en prophylaxie secondaire. Elle n'a pas reçu de traitement chirurgical.

Elle présentait un excellent état général à la dernière consultation de février 2013.

Cas n°2 :

Le second cas concerne une patiente de 14 ans diagnostiquée pour une LAL B incluse dans le protocole FRALLE 2000 groupe A1 avec une induction par antracyclines. Cette patiente a présenté une rechute de sa leucémie deux ans après la fin du premier protocole. Cette rechute a conduit à une décision de la RCP (réunion de concertation pluridisciplinaire) à modifier le protocole avec une cure de COPADM (méthotrexate haute dose, cyclophosphamide (Endoxan®) sur trois jours, vincristine et adriamycine et deux injections intrathécales) selon le protocole LMB 2001, avec une rémission complète. Le fluconazole (Triflucan®) en préventif est prescrit pendant la durée de son aplasie.

A J11 du COPADM, la patiente se trouve en aplasie avec portage d'*Aspergillus Versicolor* sur prélèvement du nez réalisé dix jours avant. Cependant le prélèvement ultérieur est négatif et l'antigénémie aspergillaire est revenue négative. La fièvre reste persistante, elle est mise sous tazocilline et vancomycine, la PCR à 191 et PCT à 1,16. Le TDM (tomodensitométrie) sinus et pulmonaire montre un épaississement avec une sinusite sphénoïdale bilatérale, un épanchement de la plèvre bilatérale, une image en verre dépoli rétro

cardiaque, ce qui oblige les prescripteurs à ajouter de la ciprofloxacine (Ciflox®)et de l'Ambisome® devant les antécédents du portage aspergillaire.

Cependant aucune documentation infectieuse n'est avérée avec des prélèvements réalisés et les antigénémies aspergillaires sont revenues négatives. Devant une tubulopathie à l'Ambisome®, un relais par Cancidas® a été effectué.

Les scanners de contrôle réalisés huit jours après le premier montre une absence de foyer et une diminution des épanchements.

Elle subit une allogreffe précédée d'une irradiation corporelle totale selon le protocole. Dix jours après cette greffe, elle présente un sepsis sévère avec une CRP à 171 mg/L ; elle est sous tazocilline, vancomycine, Ciflox® et Cancidas®.

Puis son état s'est subitement dégradé avec une insuffisance cardiaque (FEVG 40-45%) sur cardiomyopathie aux antracyclines, HTAP et une insuffisance rénale.

Quatorze jours après la greffe, on a observé altération brutale de la fonction respiratoire avec augmentation des besoins en oxygène, crachats hémoptoïques et décès en service de réanimation.

Discussion

Ces deux cas observés dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique de Brabois nous montrent les difficultés rencontrées par les équipes soignantes quant au diagnostic précis et au traitement efficace de cette infection. L'aspergillose invasive est donc une complication infectieuse majeure chez les patients de pédiatrie atteints de leucémie. Son incidence varie cependant avec la pathologie sous-jacente. Une étude réalisée sur 346 patients a objectivé une incidence de 6,8 % en cas d'hémopathie maligne, avec une incidence de 28 % dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) et de 9 % dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) alors que le risque est absent en cas de tumeurs solides (33).

Comme nous le montre le cas n°2, le pronostic de cette infection reste très négatif dans le cadre d'une allogreffe de cellule souche, (même si dans ce cas le décès n'est pas en totalité imputable à l'infection aspergillaire, ou en tout cas il est difficile de le démontrer), avec une incidence allant de 2,7% à 8% et un taux de mortalité pouvant atteindre 80% des patients ayant reçu une greffe de cellules souches (33,34).

2.4. Les infections à Mucor : généralités

Les mucormycoses sont des infections dues à des champignons de l'environnement appartenant à la classe des Zygomycètes, de l'ordre des mucorales. Ces espèces (*Mucor spp*, *Rhizomucor spp*, *Absidia, Rhizopus*) cosmopolites sont retrouvées dans les sols, les végétaux, les matières en décomposition, et les graines des céréales. Elles sont responsables d'infections opportunistes de très mauvais pronostic. Ces espèces représentent la troisième cause

d'infections fongiques dans la population d'hémato-oncologie derrière les aspergilloses et les candidoses (35).

Les facteurs de risques sont communs aux autres infections fongiques (hémopathies malignes, leucémies, neutropénie, corticothérapie, greffe, traitement de chimiothérapie et traitement antirejet). La contamination se fait par inhalation de spores produites en abondance par le champignon. La contamination digestive (ingestion de produits contaminés) ou cutanée suite à un traumatisme sont possibles. La porte d'entrée du champignon et la pathologie sous-jacente sont à l'origine des manifestations cliniques de cette infection. Les manifestations les plus retrouvées sont pulmonaires et rhino-cérébrales, mais elles peuvent également être locales (pulmonaires, cutanées et gastro intestinales) voire disséminées. La présence d'une fièvre associée à une hémoptysie et une toux est retrouvée lors d'une atteinte pulmonaire. Cette infection provoque une nécrose des tissus environnants par thrombose extensive des vaisseaux (36). Cette physiopathologie explique le pronostic très sévère de ces infections.

2.4.1.1. Diagnostic

Le diagnostic reste très difficile et il est souvent confirmé après le décès du patient. Les prélèvements peuvent être respiratoires (aspiration trachéale, LBA) ou des biopsies cutanées et osseuses.

Au point de vue microscopique, on observe des filaments courts et irréguliers, larges (de 5 à 15 microns) et surtout à angles droits et non cloisonnés ce qui les différencient des Aspergillus. Ils présentent une croissance rapide à 37°C mais leur culture reste très difficile. Dans l'étude réalisée dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique recensant les cas de mucormycoses entre 1991 et 2011, seules deux cultures sur 11 produits de LBA ont été positives (4). Sur le plan macroscopique, on observe des colonies duveteuses avec un mycélium aérien. La couleur passe du blanc au gris foncé suite à la sporulation. Le diagnostic moléculaire présente une sensibilité plus importante que la culture mycologique. Il est réalisé par amplification et séquençage de certaines régions géniques (régions ITS et de L'ARN 28 S) permettant son identification.

Le diagnostic de l'infection est confirmé lorsque la culture des tissus stériles est positive, si des isolements répétés de sites stériles avec un nombre important de colonies ou bien lorsque l'examen direct des prélèvements est positif avec une morphologie caractéristique du champignon et des lésions.

2.4.1.2. Traitement

Le spectre de certaines molécules antifongiques ne s'étend pas aux zygomycètes, c'est le cas pour voriconazole et caspofungine qui sont inactifs. Seule l'amphotéricine B et ses formulations lipidiques présente une bonne sensibilité vis-à-vis de ces espèces mucorales.

Le posaconazole possède une efficacité dose dépendante, variable selon l'espèce étudiée mais inférieure à celle de l'amphotéricine B. Cependant, il est utilisé en traitement de sauvetage (37).

Le traitement chirurgical possède une place importante dans le traitement des mucormycoses. La réussite du traitement dépendra de la précocité du diagnostic, du choix de la molécule antifongique, de la pathologie sous-jacente et de la possibilité du traitement chirurgical.

a) Observation

Une étude rétrospective montre l'émergence d'infections fongiques chez les patients greffés de moelle et traités par voriconazole. Parmi ces patients 4 cas de zygomycoses ont été diagnostiqués chez des patients greffés avec GVH et ayant reçu du voriconazole en prophylactique ou probabiliste pour des nodules pulmonaires (avant diagnostic de la mucormycose) (38).

Parmi l'étude réalisée dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique de Nancy entre 1991 et 2011, un cas se retrouve dans notre population d'étude et nous permet d'illustrer la gravité de cette infection. Il s'agit d'un patient âgé de 11 ans atteint d'une LAM et ayant fait une rechute suite à son premier protocole de chimiothérapie. Dans les suites de son deuxième protocole (en RC2) il a bénéficié d'une allogreffe non apparentée et d'une radiothérapie corporelle totale en juillet 2010.

Il a reçu tout d'abord un traitement par fluconazole (Triflucan®) 200 mg, 2 fois par jour suite à des dépôts blanchâtres sur l'arbre bronchique et sur l'amygdale gauche. Le fluconazole après 12 jours de traitement a été relayé par itraconazole (Sporanox®) rapidement arrêté car les dosages sériques étaient trop faibles. Suite à une antigénémie aspergillaire positive (les suivantes étant négatives) il est mis sous Cancidas®.

En février 2013, le patient présente un tableau de pneumopathie basale gauche avec un syndrome inflammatoire biologique ainsi que des douleurs à l'épaule gauche. La radiographie réalisée confirme la pneumopathie basale gauche et un poumon blanc à gauche. Son état clinique se dégrade rapidement avec une hypotension nécessitant deux expansions volumiques, et des difficultés respiratoires. Un traitement antibiotique est débuté et une association Vfend® et Ambisome® est alors initiée. Le 25 février la documentation du *Rhizomucor* sur LBA impose l'arrêt du Vfend® et l'augmentation de l'Ambisome® à 10mg/kg/j avec surveillance de la fonction rénale. Le posaconazole (Noxafil®) est ajouté à la dose de 200mg per os, 4 fois par jour avec surveillance de sa concentration du fait de son hépatotoxicité.

Le contrôle de la radiographie montre un épanchement pleural gauche, prélèvement dans lequel une documentation de *Rhizomucor* est mise en évidence. Le patient présente une dégradation rénale et respiratoire nécessitant une ventilation mécanique et une hémofiltration. L'atteinte rénale oblige à une diminution de la posologie de l'Ambisome® à 7,5 mg/kg/j, et le

dosage sérique du posaconazole montre une dose non efficace ce qui nécessite un doublement des doses administrées.

Le scanner thoracoabdominal montre une atteinte pulmonaire bilatérale rendant impossible une intervention chirurgicale. Après 11 jours de traitement curatif antifongique, le patient décède suite à une détresse respiratoire croissante.

b) Discussion

Ce cas clinique du service nous montre la démarche thérapeutique face à une rhizomucose. Le voriconazole, n'ayant pas d'activité sur l'espèce *Rhizomucor* a été arrêté dès la documentation mycologique, une association amphotéricine B (Ambisome®) et le posaconazole était donc nécessaire devant la gravité de la situation.

Le nombre réduit de molécules ayant une efficacité sur ce champignon ainsi que la gravité des symptômes et la rapidité de la dégradation clinique expliquent que la prise en charge reste très difficile et que le pronostic soit très sombre devant ce type d'infection fongique.

3. Prise en charge thérapeutique

Il est nécessaire de définir les différents types de traitements des infections fongiques. En 1994 des experts britanniques ont proposé les définitions suivantes (39) :

- Traitement prophylactique : c'est un traitement appliqué à une population afin de prévenir la survenue de toute infection fongique invasive. C'est une prise en charge collective sans tenir compte des facteurs individuels propres à chacun.
- Le traitement préemptif est appliqué à un patient lorsque celui-ci présente des risques élevés de développer une mycose invasive.
- Le traitement empirique est appliqué au patient lorsqu'on suspecte une infection fongique invasive mais sans pour autant en avoir les preuves microbiologiques, histologiques ou sérologiques.
- Le traitement curatif est appliqué à un patient atteint d'une mycose invasive et présentant des critères histologiques, microbiologiques ou sérologiques.

Ces définitions complexes peuvent nous induire en erreur dans la définition d'un traitement appliqué à un patient. Il est donc nécessaire de les simplifier. Nous utiliserons dans la suite de notre étude de :

- Traitement prophylactique : traitement antifongique appliqué à un patient présentant des risques de développer une infection invasive, dans le but d'éviter la survenue de cette infection.
- Traitement probabiliste : appliqué à un patient qui est suspecté de développer une infection fongique mais sans aucune confirmation microbiologique, sérologique ou histologiques. Cette définition concerne la majorité des patients étudiés, et définit une mycose possible.
- Traitement documenté : appliqué à un patient présentant une mycose invasive et ayant développé des arguments cliniques, radiologiques, histologiques et/ou microbiologiques.

La population pédiatrique présente plusieurs particularités tant sur le plan pharmacocinétique que sur le plan pharmacodynamique. Ces patients sont caractérisés par une résorption digestive différente de celles des adultes, une liaison aux protéines plasmatiques diminuée et un plus grand volume de distribution. A ceci se rajoute une immaturité de certaines voies métaboliques qui explique les variations interindividuelles du métabolisme de certaines molécules antifongiques.

Sur le plan pharmacodynamique, ces patients présentent une tolérance en général meilleure mais également quelques effets indésirables bien spécifiques.

Le peu d'études pédiatriques concernant les traitements médicamenteux et notamment les antifongiques jusqu'alors explique l'entrée en vigueur depuis 2007 d'une nouvelle

réglementation pédiatrique européenne avec le développement d'études pédiatriques et la modification d'AMM de certaines molécules.

3.1. Amphotéricine B et ses formulations lipidiques

L'amphotéricine B est la thérapeutique pour laquelle il existe la plus grande expérience. Du fait de sa toxicité rénale et des réactions d'hypersensibilité qu'elle peut entraîner, des formes liposomales ont été développées afin d'améliorer la tolérance pour les patients tout en conservant son efficacité.

3.1.1. Amphotéricine B deoxycholate (AmB-D, Fungizone®)

L'amphotéricine B est un polyène macrolide, de forme moléculaire cyclique et de masse moléculaire élevée. Elle se présente comme une poudre jaune, insoluble en milieux aqueux et dans la plupart des solvants organiques. La préparation des formes parentérales est possible après adjonction de désoxycholate de sodium permettant ainsi sa mise en suspension dans un sérum glucosé à 5% sous forme de micelles mixtes.

3.1.1.1. Mécanisme d'action

L'AmB-D a une action fongicide concentration dépendante. Son activité est faible sur les champignons en phase stationnaire par exemple sur les biofilms qui se forment sur les cathéters et les endoprothèses. Son action se situe au niveau de l'ergostérol de la membrane cytoplasmique du champignon avec laquelle elle se lie pour former des complexes insolubles. Cette liaison entraîne la formation de pores par lesquels fuitent les cations potassium et sodium cytoplasmiques. Ce mécanisme d'action n'est pas le seul qui a été élucidé pour cette famille de polyène. En effet, elle peut exercer une action auto oxydante par la formation de radicaux libres, qui vont dégrader la paroi de la cellule fongique. L'autre action est immunomodulatrice vis-à-vis de l'hôte puisqu'elle permettrait l'augmentation de synthèse de molécules du chimiotactisme entre les différentes cellules de défense immunitaire.

Notons que l'affinité des polyènes pour l'ergostérol des membranes fongiques n'est pas spécifique puisqu'elle interagit avec le cholestérol des cellules des mammifères donc de l'hôte. Ceci pourrait expliquer une partie de leur toxicité.

3.1.1.2. Spectre d'action

Le spectre de l'AmB-D est très large et s'étend sur les espèces de champignons responsables d'infections invasives. Ce qui explique sa place prépondérante dans les stratégies thérapeutiques. Certaines espèces de *Candida* (*C. lusitaniae* et *C. guillermondi*) ainsi que certains filamenteux (*A. terreus*) ont développé une résistance primaire en inhibant

les enzymes de synthèse de l'ergostérol empêchant la liaison du polyène avec sa cible. Des résistances secondaires ou acquises suite à des traitements prolongés ou à faible dose ont été décrites pour certaines espèces de *Candida* (*C. glabrata et krusei*) (40).

3.1.1.3. Pharmacocinétique

L'absorption digestive de l'amphotéricine B est très faible (moins de 5%), son administration per os n'est très efficace que pour traiter les mycoses digestives. Ceci implique une administration par voie intraveineuse (IV) pour traiter les mycoses invasives et systémiques.

Après une administration IV, on observe un passage dans le compartiment vasculaire de 90% de la dose injectée. A partir de là, une distribution du produit a lieu dans deux compartiments : l'un d'équilibration rapide et l'autre d'équilibration lente. Ce qui implique une demi-vie initiale de 24 heures suivie d'une demi vie plasmatique d'environ 15 jours. Son taux de liaison aux protéines plasmatiques et aux lipoprotéines sériques est très élevé. Grâce à son interaction avec le cholestérol des membranes cellulaires, sa pénétration est importante et son stockage dans de nombreux tissus (hépatique, splénique, rénal et pulmonaire) est possible. Le foie reste le tissu où le stockage est le plus important. Sa pénétration dans d'autres tissus est très faible comme dans le LCR.

L'AmB-D ne subit pas de métabolisation et son élimination se fait par voie biliaire pour les deux tiers de la dose et par voie rénale pour le tiers restant. Sa demi-vie d'élimination est très longue ce qui permet des administrations décalées pour éviter toute accumulation toxique.

3.1.1.4. Posologie et modes d'administration

Les perfusions sont préparées avec un soluté glucosé à 5% ce qui évite le risque de précipitation obtenu avec d'autre solutés tels que du NaCl 0,9%. L'administration du produit est réalisée exclusivement en milieu hospitalier en perfusion lente de plus de 6 heures. Les posologies sont débutées à 0,2 mg/kg/j puis augmentées jusqu'à atteindre 0,5 à 1 mg/kg/j en fonction de la tolérance et de l'agent d'infection. Les premières perfusions se font avec un intervalle de 24 heures, les suivantes à 48 heures du fait de l'élimination lente du produit. D'autres voies d'administration sont possibles : intra - rachidienne, pulmonaire, intra - péritonéale, intra-vésicale.

3.1.1.5. Interactions médicamenteuses

Ces interactions médicamenteuses sont liées aux effets indésirables de l'AmB :

- Hypokaliémie : c'est l'un des effets indésirables majeur de l'AmB. Cet effet indésirable a été relevé a plusieurs reprises dans notre population d'étude, ce qui a nécessité une supplémentation en sels de potassium durant le traitement. Cet effet hypokaliémant oblige donc à une surveillance étroite de la kaliémie, car elle peut avoir des retentissements notamment au niveau de la conduction cardiaque.

Cet effet a pour conséquence des interactions médicamenteuses majeures avec certaines classes de médicaments notamment ceux qui peuvent donner des torsades de pointe ou allonger l'espace QT (érythromycine IV), entraîner des troubles du rythme comme les digitaliques, et les médicaments hypokaliémants (diurétiques, laxatifs stimulants, corticoïdes).

- Une toxicité hématologique peut être observée avec certaines associations, d'où surveillance de l'hémogramme pendant le traitement.
- L'utilisation de l'AmB avec d'autres molécules telles que les aminosides, la ciclosporine et le tacrolimus renforce les effets néphrotoxiques.

3.1.1.6. Les effets indésirables

Les effets indésirables de l'AmB-D sont nombreux et varient de la réaction locale simple à une toxicité rénale plus grave. Ils sont surtout observés pour l'administration intraveineuse de la molécule.

a) Réactions locales

Des réactions locales au point d'injection peuvent apparaître suite à la perfusion du produit. L'augmentation de la dilution du produit, la diminution de la vitesse de perfusion, la pose d'un cathéter profond et l'addition d'une faible dose d'héparine, permettent de réduire ces irritations veineuses locales.

b) Réactions générales

Des réactions plus générales peuvent survenir, elles sont doses dépendantes. Elles peuvent être bénignes (fièvre, frisson, céphalées, nausées, flush, myalgies et arthralgies) ou bien plus graves avec une hypotension, un collapsus cardiovasculaire voire un arrêt cardiaque. Certaines précautions sont donc à prendre avant l'injection du produit afin d'évaluer sa tolérance et prévenir les éventuels effets indésirables :

- Dose test de 1 mg.
- Perfusion lente de plus 6 heures
- Administration préventive d'un antipyrétique, un antihistaminique, un antiémétique.
- Maintien du flacon à l'obscurité.

Ces réactions deviennent plus réduites en cours de traitement.

c) Néphrotoxicité

Cette néphrotoxicité dose dépendante est le principal effet indésirable de l'AmB imposant parfois la diminution des posologies voire un changement de la molécule. La diminution de la filtration glomérulaire et l'atteinte du tube distal sont ainsi observées après plusieurs jours de traitement. Ceci provoque une modification des constantes rénales avec une hypercréatinémie, hypokaliémie, hypomagnésémie, acidose tubulaire distale jusqu'avoir une insuffisance rénale permanente. L'ANSM définit cette intolérance rénale sous amphotéricine B lorsqu'on observe une créatininémie au-dessus de 220 micromol/L, ou un abaissement de la clairance de la créatinine au dessous de 25 mL/min.

Ces troubles sont généralement réversibles à l'arrêt du traitement. Cependant afin d'éviter une insuffisance rénale irréversible, la surveillance de la fonction rénale du patient doit être rigoureuse pour avoir recours soit à une diminution des posologies, soit à une autre forme galénique par exemple liposomale ou bien une autre famille d'antifongiques. Une surveillance du ionogramme sanguin, une supplémentation en potassium, une alcalinisation des urines et le maintien d'un bon niveau d'apport hydrique sont donc couramment utilisés en clinique. Nous discuterons de ces effets indésirables.

d) Toxicité hématologique

Cette toxicité hématologique est difficile à mettre en évidence car les patients sont souvent en aplasie à l'initiation du traitement antifongique. Cependant la surveillance de l'hémogramme sanguin durant le traitement et après la sortie d'aplasie permet d'éviter l'apparition d'anémie normochrome normocytaire arégénérative, voire plus rarement une leucopénie et une agranulocytose. Cette toxicité hématologique reste moins fréquente que la toxicité rénale.

e) Autres types de toxicités

D'autres types de toxicité ont été rapportés suite à la perfusion de l'AmB (40) :

- Toxicité neurologique : troubles de l'audition et de la vision, convulsions et neuropathies périphériques.

- Certains symptômes allergiques : rash, prurit voire choc anaphylactique.
- Toxicité respiratoire : apparition d'une insuffisance respiratoire aiguë chez des patients ayant reçu une transfusion de leucocytes auparavant.
- Hépato toxicité possible.

La toxicité observée avec la suspension colloïdale d'amphotéricine B notamment au niveau rénal, a conduit au développement de nouvelles formulations galéniques. Ces nouvelles formulations s'appuient sur le principe de vectorisation de l'amphotéricine B dans des structures liposomales. Cette formulation s'appuie sur le caractère amphiphile de l'amphotéricine B. Les avantages sont nombreux : la molécule reste stable dans le compartiment sanguin et n'est pas dégradée, la toxicité est réduite puisqu'il n'y a plus d'interactions directes de la molécule avec les membranes biologiques. Enfin cette vectorisation permet de contrôler la pharmacocinétique et de cibler la diffusion dans les tissus-cibles.

3.1.2. Amphotéricine B liposomale : Ambisome® (AmB-L)

Cette formulation utilise des liposomes unicellulaires dont le diamètre est compris entre 60 et 80 nm. Ce liposome est constitué de deux types de phospholipides : la diphosphatidylcholine de soja hydrogénée (HSPC) et le distéaroylphosphtidylglycérol (DSPG). Cette structure lui confère une bonne stabilité dans le compartiment sanguin et la vectorisation permet de cibler les tissus infectés sans toucher les tissus sains. Une fois au contact des parois fongiques dans le tissu infecté, les liposomes se désolidarisent et libèrent l'amphotéricine B.

3.1.2.1. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique de l'AmB-L est modifiée par rapport à celle de l'amphotéricine B conventionnelle. Sa stabilité dans le compartiment sanguin lui permet d'avoir un pic plasmatique plus important, et sa vectorisation lui donne un volume de distribution plus faible.

Cependant, la phagocytose des liposomes par les cellules du système réticulo-endothélial explique sa demi-vie plus courte. Ce système reste tout de même saturable. L'amphotéricine B liposomale n'est pas éliminée par filtration rénale en raison de la taille des liposomes, elle n'est donc pas dialysable. Sa demi-vie varie entre 6 et 10 heures environ.

3.1.2.2. Spectre d'action

Le spectre d'action de l'AmB-L est identique à celui de l'amphotéricine conventionnelle. En revanche sa toxicité rénale moins importante autorise des doses plus élevées et sa vectorisation permet une meilleure efficacité au niveau du site d'infection.

L'avantage de cette formulation est son utilisation possible chez des patients intolérants à la molécule conventionnelle ou présentant une insuffisance rénale préexistante.

3.1.2.3. Efficacité et effets indésirables de l'AmB-L vs AmB-D

L'avantage apporté par la formulation liposomale et la vectorisation est une diminution de la toxicité immédiate et rénale observées avec l'amphotéricine B conventionnelle. Des études randomisées ayant comme seul critère la tolérance de ces deux formes ont été réalisées. Les effets indésirables étaient moins fréquents dans le groupe de l'AmB-L (36% et 43 % pour 1 et 3 mg/kg/j) contre 64% pour l'AmB-D à une dose de 1 mg/kg/j, avec une néphrotoxicité réduite de moitié et une réponse au traitement améliorée (3).

Une étude multicentrique randomisée en ouvert menée sur 204 enfants neutropéniques a comparé l'efficacité et la tolérance de l'AmB-L (à la dose de 1 et 3 mg /kg/j) et de l'AmB-D (1 mg/kg/j) utilisées en traitement empirique (41). Le succès clinique évaluait le pourcentage de patients chez lesquels une absence de fièvre a été observée sur 3 jours consécutifs jusqu'à la fin du traitement.

Les résultats montraient une efficacité similaire de l'AmB-L aux deux doses utilisées. Cependant, l'AmB-L était significativement plus efficace que l'AmB-D chez l'enfant. (64% vs 51%). Concernant la tolérance, l'Ambisome® est significativement mieux toléré que l'amphotéricine B conventionnelle avec 2 à 8 fois moins d'effets secondaires.

3.1.3. Amphotéricine B complexe lipidique : Abelcet ® (AmB-LC)

La différence majeure entre ce deuxième type de formulation et l'AmB-L est d'ordre structurel. Contrairement à l'Ambisome®, la structure de l'Abelcet® n'est plus liposomale avec une phase aqueuse, mais sous la forme d'un ruban composé essentiellement de deux phospholipides le dimyristoyl phosphatidylcholine (DMPC) et le dimyristoyl phosphatidylglycerol (DMPG). Cette structure en ruban est obtenue lorsqu'on augmente la proportion de la molécule d'amphotéricine B dans la structure. Cette structure lui permet une capture plus rapide par les cellules à activité macrophagique du système réticulo-endothélial (SRE) et les cellules mononuclées, ce qui lui permet d'être transportée jusqu'au foyer inflammatoire. La dégradation de ces complexes lipidiques permettra la libération de la molécule active et donc son action.

3.1.3.1. Pharmacocinétique

L'intensité de capture par le système réticulo endothélial et sa plus grande diffusion (sauf au niveau rénal) permet une décroissance des concentrations sériques plus importante. De plus seulement 3% de la dose administrée est éliminée par les urines, elle n'est donc pas dialysable.

3.1.3.2. Spectre d'action et efficacité de l'Abelcet®

Le spectre d'action de l'Abelcet® est identique à celui de l'Ambisome®. Cette formulation permet également de traiter des patients intolérants à l'amphotéricine B conventionnelle ou insuffisants rénaux.

Une étude comparant les deux formulations lipidiques dans un traitement probabiliste a été menée. Les critères de jugement étaient la tolérance et l'efficacité des deux produits. Les résultats montraient une néphrotoxicité plus faible pour l'AmB-L à une dose de 3 à 5mg/kg/j (respectivement de 29,4% et 25,9%) comparée à L'AmB-LC à une dose de 5mg/kg/j (62,8%). L'efficacité a été considérée comme similaire (3).

Comparée à l'amphotéricine B conventionnelle, la néphrotoxicité de l'AmB-LC était beaucoup plus faible.

Une autre étude a évalué l'efficacité et la tolérance de l'Abelcet chez l'enfant (étude Clear). Elle inclut 548 enfants de 1996 à 2000 dont 300 transplantés de moelle osseuse et autres. Les infections étaient soit documentées (285 enfants), soit probables (263 enfants). La réponse au traitement était totale dans 71,4% des cas dont 72% sur les infections à Candida et 59% sur les infections à Aspergillus. Concernant la toxicité, une augmentation de la créatinine a été observée surtout chez les 12-20 ans mais sans réelle toxicité rénale sévère (42).

3.2. Les azolés

Pour cette partie nous ne développerons que les azolés ayant une indication dans les infections fongiques invasives. Ce sont les triazolés parmi lesquels le fluconazole, l'itraconazole et le voriconazole. Ils inhibent l'enzyme 14 alpha déméthylase qui permet la transformation du lanostérol des membranes fongiques en ergostérol. Il en résulte un blocage de la croissance fongique. Leur action est fongistatique sur les levures; les triazolés ayant un spectre d'action sur *Aspergillus* sont fongicides.

3.2.1. Fluconazole (Triflucan®)

C'est l'un des premiers triazolés utilisé, il présente l'avantage d'être disponible et actif par voie orale et par voie parentérale. Il a une action très spécifique sur le cytochrome P450 fongique lui conférant ainsi une bonne tolérance. Il présente une hydrosolubilité, une bonne stabilité métabolique ainsi qu'une faible liaison aux protéines plasmatiques.

3.2.1.1. Mécanisme et spectre d'action

Comme tous les triazolés, le fluconazole inhibe la biosynthèse de l'ergostérol et son activité sélective sur les enzymes à cytochrome P450 des cellules fongiques lui confère une hépatotoxicité bien moindre.

Il présente un spectre d'action réduit avec une activité sur *Candida albicans.* Les autres espèces de Candida présentent soit une sensibilité variable dose dépendante (*C. glabrata et C. tropicalis*) ou bien une résistance comme *C. krusei*. Cette molécule n'est pas active sur *Aspergillus sp*.

3.2.1.2. Pharmacocinétique

Par voie orale, il présente une bonne absorption et sa biodisponibilité est élevée (90%) et non influencée par l'alimentation. Les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes en 3O min ou 1 heure que ce soit par voie orale ou parentérale. Il présente une fixation faible aux protéines plasmatiques et sa distribution dans les liquides biologiques est bonne (70% dans le LCR et 100% dans la salive). Sa métabolisation hépatique par l'isoenzyme 2C9 du cytochrome P450 est très faible, seulement 11% de la dose administrée est retrouvée sous forme de métabolites dans les urines. L'adaptation de posologie pour les patients insuffisants hépatiques n'est donc pas nécessaire.

Son élimination essentiellement par voie rénale (80 % de la dose administrée se retrouve dans les urines) impose des adaptations posologiques chez le patient insuffisant rénal. Sa longue demi-vie d'élimination, d'environ 30 heures permet une prise quotidienne. Les posologies orales et intraveineuses sont identiques.

3.2.1.3. Interactions médicamenteuses et effets indésirables

Malgré sa spécificité d'action sur le CYP 450 fongique, son utilisation peut avoir comme conséquence une diminution de l'activité métabolique hépatique et donc une augmentation des concentrations sériques d'autres médicaments. Son utilisation avec certaines molécules doit être prise en compte et nécessite une surveillance accrue.

Le fluconazole présente une très bonne tolérance comparée aux autres triazolés. Les effets indésirables sont d'ordre digestif (nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhées) ou cutané (rashs, toxidermies bulleuses). Son atteinte hépatique se traduit par une augmentation des transaminases hépatiques et reste réversible à l'arrêt du traitement.

3.2.1.4. Indication et posologie

En raison de son spectre d'action étroit, le fluconazole est indiqué dans les candidoses buccales et oropharyngées à la dose de 50mg/j, les candidoses œsophagiennes et urinaires à la dose de 100 mg/j. Les candidoses systémiques et profondes sont traitées par le fluconazole à une posologie de 6-12 mg/kg/j. Il est également prescrit en prévention des candidoses chez les patients bénéficiant d'une chimiothérapie ou d'une greffe.

3.2.2. Itraconazole (Sporanox®)

L'itraconazole possède le mode d'action commun aux triazolés. Sa spécificité identique à celle du fluconazole en ce qui concerne les enzymes à cytochrome P450, explique également sa bonne tolérance clinique. Il possède une activité supplémentaire chez les levures en inhibant la chitine synthétase qui intervient dans la synthèse de la paroi fongique. Contrairement au fluconazole, c'est une molécule fortement lipophile et très peu soluble dans l'eau.

3.2.2.1. Spectre d'action

Son spectre d'action est très large et couvre plusieurs espèces. Outre son efficacité sur les Dermatophytes, il couvre les infections à levures causées par *Cryptococcus neoformans, Candida albicans*. Son activité sur *Candida krusei, glabrata et tropicalis est inconstante.* Il est également actif sur les espèces *Aspergillus* avec une sensibilité variable sur *A. fumigatus*. Certaines espèces comme les zygomycètes et Fusarium sont en revanche résistantes. Il faut également tenir compte que lorsqu'une espèce est résistante à un triazolé, il existe un risque de résistance croisée avec l'itraconazole.

3.2.2.2. Pharmacocinétique

Comme le fluconazole, l'itraconazole est disponible par voie orale et parentérale. La résorption digestive est bonne mais elle est soumise à de fortes variations interindividuelles. La biodisponibilité de la forme orale gélule varie selon l'état de remplissage gastrique, elle est diminuée si elle se fait à jeun et améliorée après la prise d'un repas. Chez les patients neutropéniques, recevant des anticancéreux, subissant une radiothérapie ou atteints de mycoses systémiques par Aspergillus cette biodisponibilité est altérée. Pour la forme suspension buvable, la biodisponibilité est meilleure car moins soumise à des variations. Elle est maximale si l'administration se fait en-dehors des repas.

Le pic plasmatique varie selon la forme orale : il est de 3 ou 4 heures pour la forme gélule et de 2 heures pour la forme solution buvable.

L'itraconazole est métabolisé au niveau hépatique par le cytochrome 3A4 en métabolite actif, l'hydroxyitraconazole, qui possède une activité antifongique semblable à l'itraconazole. Cette métabolisation hépatique est réduite en cas d'insuffisance hépatocellulaire. La liaison aux protéines plasmatiques est très élevée (plus de 99%), donc sa distribution dans certains liquides biologiques pauvres en protéines est faible (LCR, urine, salive, humeur aqueuse). Cependant son très grand volume de distribution et son affinité tissulaire lui permettent d'atteindre une concentration importante dans tous les tissus (pulmonaires, rénaux, hépatiques, spléniques, musculaires et osseux).

La demi-vie d'élimination varie selon la forme orale ou injectable. Elle est de 20 heures après la prise unique pour les formes orales et de 33 heures pour les formes injectables. La voie d'élimination est double : sous forme de métabolites inactifs dans les fèces pour 50% et dans les urines pour 35%. Précisons que son élimination totale à partir des tissus est lente et est proportionnelle à la durée du traitement.

3.2.2.3. Effets indésirables (40)

Les effets indésirables les plus fréquents sont des troubles gastro-intestinaux, des céphalées et des vertiges. Cependant une augmentation des enzymes hépatiques suppose une surveillance étroite de la fonction hépatique durant le traitement.

3.2.2.4. Indications thérapeutiques et posologies

L'itraconazole est essentiellement indiqué dans les infections invasives aspergillaires. Le traitement sous forme gélule est administré en une seule prise, de préférence après un repas. Chez les patients immunodéprimés, des posologies importantes sont administrées en raison de la diminution de la biodisponibilité. Une surveillance des concentrations plasmatiques est recommandée. Une étude comparative de l'itraconazole IV et de l'AmB-D en traitement probabiliste a montré la supériorité de l'itraconazole. De plus, les effets secondaires associés étaient beaucoup moins importants (3). L'itraconazole par voie IV est administré en perfusion sur 1 heure à la dose de 200mg deux fois par jour pendant les premiers jours puis à la dose de 100 mg les jours suivants.

L'itraconazole est également utilisé dans la prophylaxie primaire des patients greffés dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique de Nancy.

3.2.2.5. Interactions médicamenteuses

Une majoration des risques de rhabdomyolyse est à craindre avec les traitements hypocholestérolémiant inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase, ce qui impose soit l'arrêt des statines ou bien une surveillance accrue des valeurs biologiques (40).

D'autres interactions existent avec l'itraconazole, notamment une altération de la fonction rénale en association avec le tacrolimus ce qui impose un dosage des concentrations sériques de l'immunosuppresseur et une éventuelle adaptation des posologies. Une majoration de la neurotoxicité est possible en association avec les vinca-alcaloides cytotoxiques, souvent présents dans les protocoles de chimiothérapies.

3.2.3. Voriconazole, (V-fend®)

Le voriconazole est un triazolé de deuxième génération, de structure proche de celle du fluconazole mais de spectre plus large. Son mécanisme d'action est identique, par inhibition de la 14 alpha-déméthylase enzyme cytochrome p450 dépendante responsable de la transformation du lanostérol en ergostérol. Cependant une modification structurelle par rapport au fluconazole lui permet d'avoir une spécificité plus grande vis-à-vis de l'enzyme cible. De plus, il interagit aussi avec la 24-méthylène dihydrolanostérol déméthylase de certaines lèvres et de certains champignons filamenteux.

Son spectre d'action s'étend à des espèces de *Candida (glabrata* et *krusei*), aux espèces d'Aspergillus y compris *Aspergillus terreus* souvent résistante à l'amphotéricine B. En revanche les espèces zygomycètes sont naturellement résistantes. In vitro certaines espèces résistantes à l'amphotéricine B telles que *Fusarium*, *Alternatia sp*, *Cryptococcus neoformens*, *Scedoporium* sont parfois sensibles au voriconazole. Une résistance croisée avec les autres espèces d'azolés reste tout de même possible.

3.2.3.1. Pharmacocinétique

Deux formulations de voriconazole sont disponibles, l'une par voie orale et l'autre par voie intraveineuse. La posologie recommandée chez l'enfant est de 4 à 6mg/kg toutes les 12 heures. Ces posologies peuvent être plus importantes pour les patients pédiatriques atteints d'une IFI (4 à 8 mg/kg toutes les 12 heures).

La biodisponibilité per os est de 96% mais elle est diminuée à 80% lors de la prise concomitante d'un repas riche en graisse. La prise par voie orale doit donc se faire à jeun une heure avant le repas. La liaison aux protéines plasmatique est moyenne de l'ordre de 60% et sa diffusion dans les liquides biologiques permet une concentration deux fois moins importante dans le LCR que dans le plasma.

La métabolisation hépatique est réalisée par les enzymes du cytochrome 2C9 et 2C19, à moindre degré par le cytochrome 3A4. L'isoenzyme 2C19 étant caractérisée par un polymorphisme génétique, on observe une variabilité interindividuelle concernant le métabolisme du voriconazole. De plus le phénomène de premier passage hépatique est saturable ce qui peut conduire à des variations des concentrations. La mesure des concentrations sériques est donc d'autant plus utile pour évaluer l'efficacité du traitement.

L'élimination du voriconazole est essentiellement urinaire, moins de 2% de la dose sont retrouvés sous forme inchangée dans les urines après métabolisation hépatique. Le principal métabolite actif, le N-oxyde-voriconazole présente une activité antifongique 100 fois plus faible que le voriconazole. La demi-vie d'élimination est variable selon la voie d'administration. Elle est de 6 heures pour une dose de 200mg par voie orale.

La saturation du métabolisme hépatique du voriconazole lui confère un profil pharmacocinétique non linéaire indépendant de la voie orale et IV. Ceci implique que la demi vie d'élimination du voriconazole ne permet pas de prévoir l'accumulation ou l'élimination de la molécule.

L'adaptation des posologies chez l'insuffisant rénal n'est pas recommandée. Cependant pour la forme parentérale, sa composition à base de cyclodextrine peut entraîner une accumulation de ce composé en cas d'insuffisance rénale, la forme orale est donc privilégiée.

Une étude de la pharmacocinétique du voriconazole (à la dose de 4-6 mg/kg et 8 mg/kg) a été menée sur une population d'enfants âgés de 2 à 12 ans. Les conclusions montraient une biodisponibilité diminuée de 50% par rapport à celle de l'adulte ainsi que des taux plasmatiques plus faibles que chez l'adulte. De plus une variabilité interindividuelle des taux résiduels à posologies constantes a été mise en évidence. Ces études ont donc amené à recommander le suivi des taux résiduels du voriconazole chez les patients en pédiatrie (43).

3.2.3.2. Interactions médicamenteuses et effets indésirables

Du fait de son métabolisme par les isoenzymes du cytochrome CYP450, les interactions médicamenteuses du voriconazole sont nombreuses. L'association de ce dernier avec les inducteurs enzymatiques diminue les concentrations de l'antifongique. De plus le voriconazole inhibe les CYP3A4 et CYP2C9, les concentrations plasmatiques du sirolimus, des alcaloïdes de l'ergot de seigle de la quinidine et du cisapride seront nettement majorées. Donc leur association au voriconazole est contre-indiquée.

Un dosage des concentrations sériques de la ciclosporine et du tacrolimus, est réalisé en cas d'association au voriconazole.

Les effets indésirables les plus fréquents sont des troubles de la vision qui peuvent apparaître chez 30% des patients et qui disparaissent à l'arrêt de traitement. Ces troubles consistent en un flou visuel, un changement de la perception des couleurs voire une photophobie. D'autres effets indésirables existent au niveau dermique avec des éruptions cutanées, une érythrodermie bulleuse et une photosensibilisation.

Une augmentation des transaminases hépatiques chez certains patients requiert le suivi des constantes hépatiques lors du traitement.

3.2.3.3. Indications thérapeutiques

Le voriconazole est indiqué en première ligne dans le traitement de l'aspergillose invasive. Une étude comparative à une dose de 6 mg/kg/12h à J1 puis 4 mg/kg/12h, à l'amphotéricine B conventionnelle à une dose de 1 à 1,5 mg/kg/j a montré un meilleur taux de réponse du voriconazole (52,8% contre 31,6%). De plus une meilleure réponse était trouvée dans les sous-groupes des patients allogreffés et chez les patients neutropéniques d'hématologie. Une amélioration de la survie à 12 semaines a été observée avec le voriconazole. (3)

Le voriconazole possède également une indication dans le traitement des candidoses invasives résistants notamment au fluconazole (y compris *C. krusei*, en l'absence de résistance croisée). *Candida glabrata* présente une sensibilité variable au voriconazole.

Une étude évaluant l'efficacité du voriconazole dans le traitement d'une IFI (infection fongique invasive) probable ou prouvée en sauvetage chez 69 patients atteints d'hémopathies malignes, en aplasie médullaire ou en allogreffe, a montré une bonne efficacité du voriconazole (43% dans l'aspergillose et 24% dans la candidose) et une bonne tolérance avec seulement 2 cas de toxicité hépatique ayant nécessité l'arrêt du traitement (44).

3.2.4. Posaconazole (Noxafil®)

Le posaconazole est un nouvel antifongique triazolé qui présente de nombreux avantages : un spectre antifongique large, une administration par voie orale uniquement et des effets secondaires réduits. Son mécanisme d'action est identique aux autres triazolés, il inhibe l'enzyme 14 alpha-déméthylase ou CYP 51A cytochrome P450 dépendante, inhibant ainsi la synthèse de l'ergostérol.

Son activité est similaire sur les champignons opportunistes (Aspergillus, Candida, Fusarium, Zygomycètes) et les champignons endémiques (coccidioidomycose). Son activité est supérieure à celle des autres azolés sur les espèces aspergillaires notamment *A. flavus et A. terreus* peu sensibles à l'amphotéricine.

3.2.4.1. Pharmacocinétique

Son absorption est lente et les pics plasmatiques sont atteints au bout de 5 heures environ. Son absorption est améliorée par la prise concomitante d'un repas riche en graisse.

Il présente une forte liaison aux protéines plasmatiques (supérieure à 98%) et son large volume de distribution lui permet une très grande distribution tissulaire.

Son élimination principalement par les fèces lui procure une demi-vie moyenne lente de 35 heures. La voie d'élimination urinaire reste mineure (14% de la dose).

3.2.4.2. Interactions médicamenteuses et effets indésirables

Le posaconazole est métabolisé par UDP-glucuronidation et est un substrat de la P-glycoprotéine (P-gp) à l'origine de son efflux in vitro. Par conséquent les inhibiteurs (par exemple vérapamil, ciclosporine, quinidine, clarithromycine, erythromycine, cimétidine, etc.) ou les inducteurs (par exemple rifampicine, rifabutine et certains anticonvulsivants, etc.) de ces voies d'élimination peuvent respectivement augmenter ou diminuer les concentrations plasmatique du posaconazole.

Le posaconazole est un inhibiteur puissant du CYP 3A4. Son administration concomitante avec des substrats des CYP 3A4 (vinca-alcaloides, digoxine, tacrolimus, le sirolimus et inhibiteurs calciques) peut induire une augmentation importante d'exposition à ces substrats et peut nécessiter par conséquent une réduction de leurs posologies. Son administration avec d'autres substrats comme la quinidine ou cisapride entraine un allongement de l'espace QT et un risque de torsade de pointe.

Les effets indésirables sont essentiellement digestifs (nausées, vomissements, altération du goût, ballonnements, anorexie) mais également céphalées et allongement de l'espace QT, rashs et prurits. Une augmentation des transaminases peut être observée. Une surveillance des constantes hépatiques (transaminases, phosphatases alcalines et bilirubine), ainsi que des constantes hydro électrolytiques (potassium, magnésium et calcium) sont à réaliser pendant le traitement.

3.2.4.3. Indications thérapeutiques et posologies

Le posaconazole est indiqué dans le traitement d'infections fongiques invasives telles que :

- Aspergillose invasive réfractaire à l'amphotéricine B ou à l'itraconazole, ou bien intolérante à ces médicaments.
- Fusariose chez les patients réfractaires ou intolérants à l'amphotéricine B.
- Candidose invasive sauf à *C.krusei*.

Sa posologie pédiatrique est de 400 mg à 800 mg/j en 2 à 4 prises. Il n' y pas d'adaptation de la posologie en cas d'insuffisance rénale.

3.2.5. Les molécules en cours de développement

D'autres triazolés viendront compléter l'arsenal antifongique. L'isavuconazole offre un spectre d'action très large notamment sur les *Aspergillus sp,* les *Candidas sp*, et les Dermatophytes. Il présente de nombreux avantages avec une bonne tolérance et des interactions médicamenteuses limitées, ainsi qu'une durée d'action longue.

La ravuconazole présente en plus de l'isavuconazole, une activité sur *Cryptococcus spp*, mais semble présenter des résistances croisées avec les autres azolés.

L'albaconazole est identique en terme d'activité avec cependant une meilleure biodisponibilité orale et une bonne pharmacocinétique. Son point faible est la mauvaise distribution dans le LCR et l'existence de résistances croisées avec les autres azolés.

3.3. Les echinocandines

Face à la recrudescence d'infections mycosiques sévères, aux phénomènes de résistance et/ou d'intolérance vis-à-vis des traitements conventionnels, les echinocandines représentent la dernière famille d'antifongiques récemment développés.

Ils inhibent de façon non compétitive la synthèse de la (1,3) béta-D-glucane synthétase, enzyme qui participe à la formation de la paroi fongique. Cette inhibition provoque un déficit en 1,3-béta-D-glucane (polysaccharides essentiels de la paroi fongiques) et donc une rupture de l'intégrité de la paroi cellulaire fongique. Cette classe de molécules possède un très large spectre avec une activité fongicide sur *Candida spp*, essentiellement *C.albicans, C. tropicalis, C. glabrata et C. krusei*. Seuls les genres *Parapsilosis* et *Guilliermondii* présentent une sensibilité moindre aux echinocandines. L'autre activité est de nature fongistatique sur les espèces *Aspergillus*.

Les espèces résistantes sont les zygomycètes et *Fusarium* et elles ne présentent pas d'activité sur *Cryptococcus* et les autres basidiomycètes.

3.3.1. Caspofungine (Cancidas®)

Comme toutes les echinocandines, la caspofungine est disponible uniquement par voie intraveineuse. Son mode d'action spécifique sur la paroi fongique et non sur la membrane comme l'amphotéricine B et les azolés lui confère plusieurs avantages : une absence de résistance croisée avec les autres antifongiques, ce qui permettra une éventuelle association si elle est recommandée, et une meilleure tolérance car l'enzyme cible n'existe pas chez les mammifères.

3.3.1.1. Pharmacocinétique

La caspofungine est administrée à la dose de 50 mg/m^2 chez le patient en pédiatrie. La perfusion de 50 mg permet d'obtenir une concentration sérique supérieure à 1mg/L, cette valeur sera considérée comme concentration cible pour obtenir une activité antifongique efficace.

La liaison aux protéines plasmatiques est très forte (de l'ordre de 97%) ce qui fait de cette molécule, en plus de son poids moléculaire élevé une molécule non dialysable.

Sa diffusion est bonne au niveau pulmonaire avec des concentrations équivalentes aux concentrations sériques mais très faible dans le LCR, et au niveau urinaire.

Après métabolisation hépatique, la caspofungine est éliminée soit par voie urinaire pour 41% de la dose soit par voie biliaire pour 35%. Sa demi-vie plasmatique est de 10 heures. Son élimination sous forme inchangée est minime et de l'ordre de 2% dans les urines. Aucune adaptation chez l'insuffisant rénal n'est recommandée contrairement aux patients ayant une insuffisance hépatique.

Une étude de pharmacocinétique menée avec la caspofungine a été réalisée par Walsh en 2005 chez des patients âgés de 2 à 17 ans neutropéniques et atteints d'hémopathies malignes. Trois doses de caspofungine ont été étudiées : 1 mg/kg/j (max 50 mg), 50 mg/m^2/j (max 70mg) et 70 mg/m^2/j (max 70 mg). Les résultats montrent qu'à la dose de 1mg/kg les concentrations plasmatiques étaient inférieures à celles observées chez l'adulte à 50mg/j, donc le risque de sous-dosage et donc d'inefficacité était possible. Par contre à la dose de 50 mg/m2 la courbe de cinétique était similaire à celle des adultes avec donc moins de risques de sous-dosage de la caspofungine (45). C'est cette posologie de 50 mg/m^2 (avec un maximum de 70 mg/j) qui sera utilisée en pratique dans le service du CHU de Nancy.

3.3.1.2. Interactions médicamenteuses et effets indésirables

L'association de la caspofungine avec les médicaments inducteurs enzymatiques (rifampicine, éfavirenz, dexaméthasone, phénytoïne, carbamazépine) nécessite une augmentation des posologies de la caspofungine à 70 mg/j. En revanche son association avec la ciclosporine, et au tacrolimus est possible avec une surveillance accrue de la fonction hépatique.

La tolérance de la caspofungine est bonne. Les effets indésirables les plus courants sont de nature digestive (nausées et vomissements), une fièvre et des céphalées. Des réactions locales au niveau du site d'injection sont également fréquentes.

3.3.1.3. Indications thérapeutiques

La caspofungine a l'AMM chez les adultes, en pédiatrie et les nouveaux-nés dans le traitement des candidoses et des aspergilloses invasives. Une étude en double aveugle a comparé la caspofungine à l'amphotéricine B deoxycholate en traitement de première intention des candidoses invasives. Les résultats montraient une activité et un taux de réussite similaires. En ce qui concerne les effets indésirables, ils étaient moins importants avec la caspofungine (46).

Une autre étude issue du dossier AMM a utilisé la caspofungine prescrite dans le cadre d'aspergillose prouvée ou probable réfractaire ou intolérante aux traitements. Parmi ces patients 80% étaient en échec d'un traitement préalable, 23% étaient neutropéniques à l'inclusion et 25 % allogreffés. Le taux de réponse globale était de 44,6%. La réponse était de

41,7% pour les hémopathies malignes contre 14,3% chez les allogreffés et de 26,3% chez les neutropéniques (3).

La caspofungine possède une indication dans le traitement probabiliste avec une efficacité similaire à l'amphotéricine B liposomale (46).

3.3.1.4. Les nouvelles echinocandines

Ces nouvelles molécules présentent un profil pharmacocinétique et métabolique différents de la caspofungine.

a) L'Anidulafungine

Elle existe également sous forme IV seulement. Sa posologie est de 100 mg une fois par jour après une dose de charge de 200mg le premier jour. Elle n'interfère pas avec le cytochrome P450 et aucune adaptation posologique n'est nécessaire chez les insuffisants rénaux ou hépatiques. Elle ne présente pas d'interactions médicamenteuses avec le tacrolimus, la ciclosporine, le voriconazole, la rifampicine ou encore l'amphotéricine B.

Elle possède une indication notamment dans les candidoses œsophagiennes et dans les candidoses invasives.

b) La Micafungine

De même que l'anidulafungine, la micafungine ne nécessite pas d'adaptation posologique puisqu'elle n'est pas métabolisée par le cytochrome P450. Son association au sirolimus et à la nifédipine nécessite une diminution des doses de ces deux médicaments. A noter que l'utilisation de la micafungine doit tenir compte du risque potentiel de développement de tumeurs hépatiques notamment chez les patients ayant une altération sévère de la fonction hépatique. Une surveillance des transaminases est nécessaire pendant le traitement.

Elle possède l'indication dans le traitement des candidoses invasives à une posologie de 2 mg/kg avec une efficacité similaire à l'amphotéricine B liposomale à une dose de 3 mg/kg/j et moins d'effets indésirables et moins d'arrêts de traitement pour la micafungine (47).

Une étude a également montré que l'efficacité de la micafungine en traitement prophylactique pré-greffe des patients neutropéniques, était supérieure à celle du fluconazole (46).

3.4. Flucytosine= 5-fluorocytosine (5FC), (Ancotil®)

Sa structure chimique de pyrimidine fluorée lui attribue une solubilité faible dans l'eau. Elle pénètre à l'intérieur des cellules fongiques par l'intermédiaire d'une cytosine perméase. Une fois à l'intérieur de la cellule, elle est désaminée en 5 fluorouracile (5FU) grâce à l'action d'une cytosine désaminase. Ce 5FU agit de deux façons pour inhiber le métabolisme de la cellule fongique : c'est un analogue structural sous sa forme triphosphate qui sera incorporé dans l'ARN à la place de l'uracyle, bloquant ainsi toute synthèse protéique par le champignon. L'autre mode d'action (sous la forme 5-fluorodésoxy-uridine) s'exerce en inhibant le thymidilate synthétase, bloquant ainsi la formation de l'ADN fongique.

La bonne tolérance de la 5FC s'explique par la quasi-absence de la cytosine perméase à la surface des cellules mammifères.

3.4.1.1. Spectre d'action

Le spectre d'action de la 5FC est très étroit comparé à celui de l'amphotéricine B, puisqu'elle n'exerce une activité que sur les levures du genre *Candida* et *Cryptococcus.* Les *Aspergillus* ne possèdent qu'une sensibilité très variable à l'égard de cette 5FC.

Son mode d'action basé essentiellement sur des réactions de transformations enzymatiques, explique les phénomènes de résistance primaire et secondaire de certaines espèces de champignons. De plus l'apparition spontanée de mutants, indépendamment de la présence de 5FC s'élève à 5% pour *Candida albicans* et 25 à 30% pour les genres *Krusei* et *Tropicalis*. En plus de cette résistance primaire, une résistance secondaire, c'est à dire en cours de traitement permet la sélection d'espèces résistantes. Ces résistances secondaires apparaissent surtout si la molécule est utilisée à faibles doses.

Afin de limiter l'apparition de ces souches résistantes il est important de n'utiliser la 5FC qu'après identification du germe et après évaluation de sa sensibilité. L'association de la 5FC à un autre antifongique et son utilisation à des doses suffisantes sont fortement recommandées.

3.4.1.2. Pharmacocinétique

Par voie orale son absorption digestive est très bonne (plus de 90%), le pic plasmatique étant atteint au bout de 30 minutes à 2 heures seulement. Sa demi-vie plasmatique est de 5 heures, ce qui oblige la répétition des prises dans une journée.

Il n' y a pas de liaison aux protéines plasmatiques ce qui la rend dialysable. Sa diffusion tissulaire est bonne avec des concentrations dans le LCR élevées. La diffusion est également bonne dans d'autres tissus sauf au niveau de l'humeur aqueuse de l'œil.

La 5FC ne subit pas de métabolisme hépatique, elle sera essentiellement éliminée sous forme inchangée dans les urines (90% de la dose au bout de 48 heures retrouvée dans les urines). Une adaptation posologique est nécessaire chez l'insuffisant rénal ainsi qu'un dosage sérique.

3.4.1.3. Effets indésirables

La 5FC se caractérise par une excellente tolérance. Des effets indésirables existent dans 15% des cas et ils sont légers et réversibles. Cependant certains effets graves ont été observés chez les patients insuffisants rénaux ou en hématologie. Ils sont dus à la capacité de transformation par la flore gastro-intestinale quelque soit la voie d'administration de 5FC en 5FU. Cette 5FU, une fois réabsorbée, peut exercer une toxicité systémique au niveau de la moelle osseuse, du foie et du tractus digestif. Des troubles hématologiques (leucopénie, thrombopénie) ont pu être observés lorsque des taux sériques de 5FC dépassaient 100 micros grammes par ml. Ces troubles hématologiques peuvent être plus graves et entraîner une agranulocytose voire une aplasie chez les malades déjà soumis à un traitement myélotoxique.

Les troubles hépatiques se distinguent par une augmentation des transaminases ou de rares cas d'hépatites aiguës.

Une surveillance régulière de l'hémogramme, de la fonction rénale et hépatique est donc nécessaire lors du traitement par 5FC.

3.4.1.4. Indications

La 5FC est réservée au traitement des infections fongiques systémiques par des germes sensibles. Son utilisation pour les formes superficielles risquerait de favoriser l'apparition de souches résistantes. Du fait de son spectre étroit, l'indication principale reste la candidose systémique essentiellement urinaire et les cryptococcoses méningées. Son association synergique à l'amphotéricine B est recommandée dans le traitement de certaines candidoses profondes ou de cryptococcoses.

Les deux voies d'administration par voie orale et par voie injectable existent pour la 5FC. La posologie est de 100 à 200 mg/kg/j en 3 à 4 prises ou en perfusion continue. Les posologies par voie orale sont identiques du fait d'une excellente et rapide absorption digestive.

Le développement des nouveaux triazolés et des nouvelles echinocandines a permis une amélioration de la prise en charge des infections fongiques invasives que ce soit à titre préventif, probabiliste ou curatif. Cependant leurs grandes différences au point de vue pharmacologique et pharmacocinétique, les éventuelles interactions médicamenteuses et effets indésirables, obligent les prescripteurs à suivre des recommandations basées sur l'expérience d'utilisation et les études récentes. Celles-là ont pour but d'orienter les

prescriptions afin de prévenir, limiter ou guérir les infections fongiques pour les patients neutropéniques atteints d'hémopathies malignes.

3.5. Spectre d'activité des molécules antifongiques :

Les molécules antifongiques présentent un spectre d'activité spécifique vis à vis des différentes espèces de candida et d'aspergillus. Ce spectre d'activité va conditionner le choix des traitements devant une infection fongique. Certaines espèces présentent une sensibilité totale par rapport à une molécule, d'autres une sensibilité dose dépendante ou intermédiaire. Cette variabilité de sensibilité ou de résistance des espèces explique le recours aux antifongramme devant une identification ou une résistance d'une espèce fongique.

Ce tableau regroupe les différents spectres d'activité des molécules antifongiques.

Tableau II : spectre d'activité des traitements antifongiques (48)

	Fungizone®	Ancotil®	Triflucan®	Sporanox®	Vfend®	Cancidas®
Candida sp.						
albicans	S	S/R	S	S	S	S
glabrata	S/I	S	SDD/R	SDD/R	S/ ??	S
parapsilosis	S	S	S	S	S	S/ ??
tropicalis	S	S	S/SDD	S	S	S
krusei	S/I	I/R	R	SDD/R	S	S
lusitaniae	S/R	S	S	S	S	S
Aspergillus sp.						
fumigatus	S	R	R	S/R	S	S/R
flavus	S	R	R	S	S	S
terreus	S	R	R	S	S	S

S : sensible - SDD : sensibilité dose-dépendante - I : intermédiaire - R : résistant

3.6. Les associations d'antifongiques

Il n'existe pas d'études randomisées en pédiatrie démontrant l'intérêt et l'efficacité d'association de molécules antifongiques, seulement des séries rapportées en sauvetage. Nous développerons par la suite les recommandations concernant les associations d'antifongiques.

Cependant plusieurs études ouvertes suggèrent l'intérêt d'une association entre echinocandines et azolés. Cette association s'appuie sur le fait que ces deux molécules n'ont pas la même cible, la paroi fongique pour les echinocandines et la membrane cellulaire pour les azolés. Des travaux expérimentaux suggèrent une synergie entre la caspofungine et

l'AmB-D, un effet additif entre la caspofungine et le voriconazole et une absence d'antagonisme entre nouveaux triazolés et polyènes (3).

L'association de la caspofungine à l'amphotéricine B liposomale en traitement de sauvetage a été étudiée sur une population pédiatrique. Ces 17 patients âgés de 0,5 à 17 ans atteints d'une IFI ont reçu de l'amphotéricine B liposomale en monothérapie en traitement probabiliste pendant une durée moyenne de 12 jours. Ces patients étaient tous réfractaires à l'amphotéricine B liposomale ce qui a nécessité l'ajout de la caspofungine dans 11 cas. Pour les autres patients, l'amphotéricine B liposomale a été interrompue et un traitement associant la caspofungine et le voriconazole a été débuté. Parmi les 11 patients ayant reçu la première association, quatre d'entre eux ne répondaient pas au traitement et pour lesquels l'association de la caspofungine et du voriconazole a été instaurée. Finalement, un taux de réponses favorables de 68,4% dans 16 épisodes prouvés ou probables d'IFI a été observé. Cette étude rapporte donc l'intérêt possible de l'association d'antifongiques en traitement de sauvetage en oncohématologie pédiatrique (49).

L'autre étude réalisée en 2001 s'est intéressée à l'association de la caspofungine et du voriconazole chez 16 patients ayant eu un échec ou une intolérance à l'AmB-D ou AmB-L. Ce groupe de patients recevant cette association a été comparé à un groupe de 31 patients n'ayant reçu que du voriconazole. La survie à 3 mois chez les patients ayant reçu l'association était améliorée (50).

Des études en pédiatrie ont montré l'efficacité de l'association de la caspofungine au voriconazole ou à l'amphotéricine B en traitement de sauvetage avec un taux de réponses de 85% dans le cadre d'aspergilloses et de 67% dans les candidoses (51).

Observation dans le service :

Il s'agit d'une patiente âgée de 7 ans suivie pour une LAL B et incluse dans le protocole FRALLE BT groupe B1. Devant un syndrome inflammatoire majeur, des douleurs thoraciques et une fièvre résistante aux antibiotiques, un scanner est réalisé et montre de volumineux foyers de pneumopathie du lobe supérieur droit avec contiguïté cardiaque et pleurale. Une aspergillose pulmonaire survenue à J27 du traitement d'induction a été diagnostiquée, compliquée d'une péricardite et d'une tamponnade lors de cette induction. L'aspergillose a été documentée par PCR *Aspergillus* sur un prélèvement de liquide péricardique. Les espèces *A.Niger* et *A.Flavus* ont été trouvées sur une biopsie pulmonaire. L'antifongigramme réalisé montre une résistance vis-à-vis du fluconazole (Triflucan®) et de l'itraconazole (Sporanox®). Les espèces isolées sont sensibles à l'amphotéricine B (Fungizone®), caspofungine (Cancidas®), posaconazole (Noxafil®), voriconazole (V-fend®), et micafungine (Mycamine®).

L'infection a été traitée d'abord par Ambisome® 50 mg/j IV puis Cancidas® IV 40 mg/J. Devant l'amélioration clinique et la cicatrisation de l'aspergillose pulmonaire, une prophylaxie par Vfend® a été instaurée à la dose de 200 mg, 2 fois par jour. Le Vfend® a été poursuivi en prophylaxie secondaire au long cours. Une segmentectomie lobaire supérieure droite des lésions encapsulées a également été réalisée.

Après 20 jours de traitement sous association de Vfend® et du Cancidas®, de nouveaux symptômes sont apparus, avec des douleurs nocturnes irradiant dans le bras droit, une hyperthermie et un syndrome inflammatoire majeur (CRP=197). Le scanner de contrôle montre une augmentation de l'excavation et de la taille de la pneumopathie avec une lésion hyperdense au sein de l'excavation faisant évoquer un anévrisme de l'artère mammaire interne qui nécessite une intervention chirurgicale. L'aspergillose semble en voie de contrôle car l'antigénémie reste négative. Augmentation de la dose du Vfend® à 10 mg/kg /12h car indécelable au niveau sérique avec maintien du Cancidas®. Le taux résiduel du Vfend® était toujours bas (0,4 au lieu de 1).

En résumé, l'Ambisome® a été utilisé seul du 3 au 8/06/2010. L'association Vfend®-Cancidas® du 08/06 au 02/08/2010. Devant l'amélioration de l'imagerie au scanner, L'Ambisome® est repris en monothérapie avec une supplémentation en KCL du 02/08 au 14/09, mais arrêté à cause de l'interaction avec la cure de méthotrexate pour son élimination. L'Ambisome® est remplacé par le Cancidas® depuis le 14/09/10. Le scanner de contrôle montrait une stabilité des lésions séquellaires parenchymateuses du lobe moyen.

Cet exemple nous montre la complexité que peut représenter chaque cas dans le service. Devant l'absence d'amélioration des signes cliniques sous Ambisome® et la gravité de l'infection fongique, l'association Vfend® et Cancidas® a permis une certaine stabilité des lésions et des signes cliniques. L'efficacité de cette association est difficile à mettre en valeur, car les taux résiduels de voriconazole ont suscité une augmentation des doses à 200mg, 2 fois par jour. La seule observation que l'on peut rapporter, est la réponse de l'infection à cette association. La patiente a suivi son protocole et a été vue en service en janvier 2013 pour un suivi systématique dans la deuxième année du traitement d'entretien.

3.7. Antifongiques à disposition en pédiatrie

Après avoir étudié les différentes molécules, leurs modes d'actions, leurs pharmacocinétiques, et les études réalisées en pédiatrie, il est nécessaire de préciser les différentes AMM pédiatriques et leurs posologies (10). Le tableau suivant s'appuie sur les **référentiels du bon usage des médicaments antifongiques de l'ANSM (52,53)**.

Tableau III : AMM et posologies pédiatriques des antifongiques (52,53)

Molécule et formulation	AMM pédiatrique	Situation Temporaire Acceptable : Protocole Thérapeutique Temporaires	Situations hors AMM pédiatrique	Posologies pédiatriques
Amphotéricine B lipidique (Abelcet®) poudre pour solution à diluer pour perfusion iv à diluer (5 mg/ml)	-**Pas d'AMM en pédiatrie** -**Aspergilloses et candidoses systémiques** chez les sujets ayant développé une **insuffisance rénale** sous amphotéricine B ou en cas d'altération préexistente et persistante de la fonction rénale.	-Prophylaxie secondaire en hématologie en cas de contre indication ou d'échec à un traitement azolé antérieur. (fluconazole si candidose antérieure, voriconazole en cas d'aspergillose antérieure). -Zygomycose-Mucormycose en cas d'intolérance rénale à l'amphotéricine B.	-Aspergillose invasive en première intention sans insuffisance rénale. -Association d'antifongiques en cas d'aspergillose probable ou documentée avec signes majeurs de gravité. -Prophylaxie primaire des infections fongiques en onco-hématologie.	-5 mg/kg/j.
Amphotéricine B liposomale (Ambisome®) Poudre pour perfusion iv (50mg) flacon unidose de 15ml	-**Aspergilloses invasives** en **alternative** thérapeutique ou echec au voriconazole. -**Candidoses invasives** chez les patients ayant développés une insuffisance rénale sous amphotéricine B ou en cas d'altération préexistante de la fonction rénale. -**Traitement empirique des infections fongiques** présumées chez les patients neutropéniques fébriles	-**Prophylaxie secondaire** en hématologie en cas de contre indication ou d'échec à un traitement azolé antérieur. (fluconazole si candidose antérieure, voriconazole en cas d'aspergillose antérieure). - Infections fongiques invasives en cas d'insuffisance rénale ou avec un traitement néphrotoxique chez le neutropénique ou l'allogreffé, si les antifongiques azolés ne sont pas utilisables. -Zygomycose-Mucormycose en cas d'intolérance rénale à l'amphotéricine B.	-Aspergillose invasive en première intention sans insuffisance rénale. -Prophylaxie primaire des infections fongiques en onco-hématologie. -Association d'antifongiques en cas d'aspergillose probable ou documentée avec signes majeurs de gravité. -Doses supérieures à celles de l'AMM.	-1 à 5 mg/kg/j.

Fluconazole (Triflucan®) gélule (100 ou 200mg), poudre pour suspension buvable (50 ou 200 mg/5ml), solution pour perfusion (2mg/ml).	-**Candidoses invasives** (en première intention dans le cadre d'une candidose oesophagienne). -**Candidoses invasives en alternative à l'Ampho B**. -**Prévention d'une candidose invasive** dans le cadre d'une **greffe de moelle.**			-6 à 12 mg/kg/j. -en Néonatalogie (1 à 2 semaines) : 6 à 12 mg/kg tous les trois jours). -en Néonatalogie (2 à 4 semaines) : même dose tous les deux jours.
Itraconazole (Sporanox®) gélule 100 mg, suspension buvable 10 mg/ml (flacon de 150 ml).	-**Aspergilloses et candidoses invasives (forme gélule).** - **Prévention d'infection fongiques invasives** chez les patients neutropéniques -Candidoses orales et/ou oesophagiennes pour la forme solution.	**Les données cliniques chez l'enfant étant limitées, l'itraconazole sera utilisé en pédiatrie que si le bénéfice attendu l'emporte sur le risque potentiel. Nous considérons que son indication dans le domaine pédiatrique possède l'AMM.**		-2,5 à 5 mg/kg deux fois/j.
Voriconazole (Vfend®) Comprimés (50 ou 200mg) , poudre pour suspension buvable (40mg/ml) et pour pour perfusion iv. (200mg flacon de 30 ml)	-**AMM en pédiatrie** chez les enfants de **plus de 2 ans**. -**Aspergilloses invasives**. -**Candidoses invasives** resistantes au fluconazole. -**Infections graves à Fusarium**.	-**Prophylaxie secondaire** des infections fongiques chez les patients en hématologie (chimiothérapie d'induction, de réinduction de leucémie aiguë, greffe de cellule souche)	-Association d'antifongiques en cas d'aspergillose probable ou documentée avec des signes majeurs de gravité. -Aspergillose invasive chez des patients présentant une atteinte cérébrale en association avec la caspofungine ou les formulations lipidiques d'Amphotéricine B. -Prophylaxie primaire des infections fongiques invasives en onco-hématologie. -Traitement empirique des infections fongiques chez les patients neutropéniques fébriles.	-6 mg/kg deux fois par jour puis 4 mg/kg deux fois par jour.

Posaconazole (Noxafil®) Poudre pour suspension buvable (40mg/ml)	-**Pas d'AMM en pédiatrie.** -Aspergilloses invasives chez les patients réfractaires ou intolérants à l'amphotéricine B ou itraconazole. -Fusariose chez les patients intolérants ou réfractaires à l'Amphotéricine B. -Candidoses oropharyngées si contre indication ou intolérance au fluconazole.	-**Enfants >13 ans** (car les seules études ont été réalisées entre 8 et 17 ans). -**Prophylaxie secondaire** des infections fongiques en hémato-oncologie lourde (chimiothérapie d'induction ou de réinduction, greffe)		-400 à 800 mg/j en deux à quatre prises.
Caspofungine (Cancidas®) Poudre pour solution pour perfusion. (50 ou 70 mg)	-Traitement des **candidoses invasives** chez les patients adultes et pédiatriques. -Traitement des **aspergilloses invasives** chez les patients adultes et pédiatriques réfractaires ou intolérants à l'amphotrécine B, à ses formulations lipidiques et/ou à l'itraconazole. -**Traitement empirique des infections fongiques** présumées chez les patients adultes et pédiatriques neutropéniques fébriles.	-Traitement **préemptif** des candidoses invasives résistantes au fluconazole et facteurs de risque de candidose invasive. -Aspergillose invasive en cas d'échec d'intolérance ou de contre-indication au voriconazole, en alternative au posaconazole. -**Prophylaxie secondaire** des infections fongiques en hématologie en cas de contre-indication ou d'échec d'un traitement azolé antérieur	-Prophylaxie primaire des infections fongiques invasives en onco-hématologie. -Association d'antifongiques en cas d'aspergillose probable ou documentée avec des signes majeurs de gravité. -Aspergillose invasive chez des patients présentant une atteinte cérébrale en association avec le voriconazole ou les formulations lipidiques d'amphotéricine B.	-Chez le nouveau né et nourrisson< 3 mois : 25 mg/m^2/J. -Nourisson de 3 mois à 12 mois : 50 mg/m^2/j. -de 12 mois à 17 ans : dose de charge 70 mg/m^2 (avec un maximum de 70 mg/j) et dose d'entretien de 50 mg/m^2/j (avec un maximum de 70 mg/j).

Micafungine (Mycamine®) poudre pour solution de perfusion 50 et 100mg	-Enfant (y compris nouveau-né) et adolescent <16 ans : Traitement des **candidoses invasives**. -**Prévention** des infections à ***Candida*** chez les patients bénéficiant d'une allogreffe de cellules souches hématopoëtiques ou chez les patients pour qui une neutropénie >10 jours est attendue.	- sans objet		-de 12 mois à 17 ans : 2 mg/kg/j. Si la dose est bien tolérée mais n'apporte pas de réponse clinique, elle peut être augmentée à 4 mg/kg/j. - idem de 0 à 12 mois.
Anidulafungine (Ecalta®) poudre solution à diluer pour perfusion 100mg	-**Pas d'AMM en pédiatrie**. (seulement chez les patients adultes neutropéniques)			-1,5 à 3 mg/kg en dose de charge puis 0,75 à 1,5 mg/kg/j.

Le coût hospitalier de ces différents traitements antifongiques diffère selon la molécule et la forme utilisée. Le tableau suivant regroupe les différentes formulations pour chaque molécule ainsi que les coûts journaliers pour un patient présent dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique ayant un poids moyen de 20 kg.

Tableau IV : coût hospitalier des traitements antifongiques pour un patient de poids moyen de 20kg

Molécule et formulations	Coût unitaire HT (euros)	Posologie pédiatrique recommandée	Coût moyen journalier pour un patient de 20 kg
Amphotéricine B liposomale (Ambisome) - 50 mg poudre pour injection	- 152,00	1 à 5 mg/kg/j	182,4 €/j
Caspofungine (Cancidas) - 50 mg poudre pour solution à diluer pour perfusion - 70 mg poudre pour solution à diluer pour perfusion	- 439,76 -559,36	50 mg/m^2 (dose de charge 70 mg/m^2)	359,14 €/j
Micafungine (Mycamine) - 50 mg poudre pour solution pour perfusion - 100 mg poudre pour solution pour perfusion	- 266,00 - 430,00	1 à 4 mg/kg/j	240,50 €/j

Fluconazole (Triflucan) - 100 mg (50ml) solution pour perfusion. - 200 mg (200ml) solution pour perfusion - 400 mg (200ml) solution pour perfusion - 50 mg gélule - 100 mg gélule - 200 mg gélule - 200mg/5ml (35ml) poudre pour solution buvable - 50 mg/5ml (35 ml) poudre pour solution buvable	- 1,20 - 1,30 - 1,40 - 0,18 - 0,26 - 0,38 - 25,00 - 5,00	6 à 12 mg/kg/j	- forme iv : 1,30 €/j -forme gélule : 0,47 €/j - solution buvable : 2,88 €/j
Itraconazole - 10mg/ml (150 ml) solution buvable -100 mg gélule	-70,92 -0,29	2,5 à 5 mg/kg deux fois par jour.	- solution buvable : 3,54 €/j - forme gélule : 0,22 €/j
Voriconazole - 200 mg poudre pour solution pour perfusion - 40mg/ml poudre pour suspension buvable - 50 mg comprimés pelliculés - 200 mg comprimés pelliculés	- 133,32 - 528,77 -10,33 -37,80	6 mg/kg deux fois par jour puis 4 mg/kg deux fois par jour	- forme IV : 133,32 €/j - suspension buvable : 37,76 €/j - forme comprimés : 39,70 € /j
Posaconazole (Noxafil) - 40 mg/ml (105 ml) suspension buvable	-635,00	400 à 800 mg en 2 à 4 prises.	90,71 €/j

3.8. Recommandations et stratégies thérapeutiques :

Avant d'étudier les différentes recommandations nous allons définir les trois types d'infections fongiques que l'on peut rencontrer dans le service. Ces définitions reprennent la classification du CHRU de Lille (54) et s'appuie sur les critères suivants : (tableau annexe P.110)

- Critères liés à l'hôte : neutropénie < 500/mm^3 pendant plus de 10 jours, fièvre persistante à une antibiothérapie large spectre de plus de 96 heures, greffe de moelle allogénique, traitement prolongé par corticoïdes, traitements immunosuppresseurs depuis 90 jours.

- Critères cliniques : présence au niveau du poumon d'un des trois signes caractéristiques (nodule et halo, croissant gazeux, excavation) ; micro-abcès hépatiques et/ou spléniques et exsudats rétiniens dans le cadre d'une candidose disséminée.
- Critères mycologiques : soit directs avec la présence de filaments mycéliens ou de levures confirmée par une culture d'un site stérile et anomalies cliniques et radiologiques évoquant une infection ; soit critères indirects avec une détection de l'Ag galactomannane pour Aspergillus et Béta D-glucan pour la candidose (à partir de plasma, LBA ou LCR) et ou par technique PCR.

Ainsi les définitions qui reprennent ces critères sont :

1. Infection prouvée : 1 facteur hôte + 1 critère clinique + 1 critère mycologique.
2. Infection probable ou possible : 1 facteur hôte + 1 critère clinique sans critère mycologique.
3. Prophylaxie d'infection : seulement critères liés à l'hôte.

Les recommandations nationales et internationales dans le domaine des traitements antifongiques sont au nombre de trois :

- Recommandations Françaises (Conférence de Consensus 2004)
- Recommandations Américaines IDSA 2009
- Recommandations ECIL 4 2011.

3.8.1. Recommandations Françaises

Ces recommandations issues de la Conférence de Consensus de 2004 (48) (Société Française d'Hématologie, Société Française de Mycologie Médicale, et Société Française de Greffe de Moelle) définissent les différentes stratégies thérapeutiques que ce soit la chimio prophylaxie pour les patients d'hématologie, le traitement probabiliste ou le traitement curatif

des aspergilloses et des candidoses invasives chez l'adulte. Les AMM précisées entre parenthèses pour chaque molécule concernent le domaine pédiatrique (52).

Tableau V : indications des antifongiques et AMM pédiatriques selon les recommandations françaises (48)

	Prophylaxie des patients allogreffés	Prophylaxie de LAM ou syndrome myélodysplasique	Traitement probabiliste de Candida ou Aspergillus	Traitement curatif aspergillose	Traitement curatif candidose
Amphotéricine B liposomale	Pas d'indication	Pas d'indication	Oui en première intention (AMM)	Oui en alternative (AMM)	Oui en alternative (AMM)
Fluconazole	Oui (AMM)	Pas d'indication	Pas d'indication	Pas d'indication	Oui en 1ère intention (AMM)
Voriconazole	Pas d'indication	Pas d'indication	Oui en dernier recours (hors AMM)	Oui en 1ère intention (AMM)	Oui en alternative (AMM)
Posaconazole	Pas d'indication	Oui (mais hors AMM)	Pas d'indication	Oui en dernier recours (hors AMM)	Pas d'indication
Itraconazole	Oui (AMM)	Pas d'indication	Pas d'indication	Oui en relais oral (AMM)	Pas recommandé (indication hors AMM)
Caspofungine	Pas d'indication	Pas d'indication	Oui en alternative (AMM)	Oui en 2ème intention (AMM)	Oui en alternative (AMM)
Micafungine	Oui (AMM) (en dernier recours car risque de tumeurs hépatiques)	Oui (AMM)	Pas d'indication	Pas d'indication	Oui en alternative (AMM)

L'objectif de la prophylaxie primaire est de diminuer le taux d'infections fongiques invasives et donc de diminuer les traitements probabilistes. Ceci a pour but d'améliorer la survie globale des patients. Par contre cette prophylaxie a quelques inconvénients notamment le développement de résistance acquise de certaines espèces, et un retard possible au diagnostic. Cette prophylaxie sera donc réservée aux patients fortement à risque de développer une infection disséminée :

- Les patients bénéficiant d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques :
  - Fluconazole **(AMM)**
  - Itraconazole réservé à une post greffe avec corticothérapie prolongée **(AMM)**
  - Micafungine en dernier recours car risque potentiel de développement de tumeurs hépatiques **(AMM).**

- Les patients atteints de leucémie myéloïde aiguë ou d'un syndrome myélodysplasique :
    - Posaconazole **(hors AMM)**
    - Micafungine **(AMM).**

Traitement probabiliste d'une infection *Candida* ou Aspergillus :

- En première intention : Amphotéricine B liposomale. **(AMM)**
- Caspofungine en alternative **(AMM)**
- En cas d'impossibilité : Voriconazole **(hors AMM).**

Traitement documenté pour une aspergillose :

- 1ère intention : voriconazole IV (contre indiqué en cas d'insuffisance rénale, insuffisance hépatique) **(AMM).**
- Si insuffisance rénale ou aspergillose réfractaire : amphotéricine B liposomale ou complexe lipidique surtout si une prophylaxie primaire avec un azolé a été prescrite **(AMM).**
- Si l'infection est contrôlée : relais oral par voriconazole ou itraconazole. **(AMM).**
- Si échec de l'amphotéricine B ou de l'itraconazole ou si intolérance : posaconazole **(hors AMM).**

Traitement d'une fusariose due à Fusarium spp :

- 1ère intention : amphotéricine B **(protocole thérapeutique temporaire).**
- Si échec ou intolérance : voriconazole, posaconazole **(AMM).**

Traitement pour une candidose systémique :

Dans le cadre de la candidose, un tableau reprend les différentes stratégies. Ces tableaux tiennent compte de la fonction rénale du patient, de sa neutropénie et du type de l'espèce *Candida* identifiée : fluconazole et caspofungine possèdent **l'AMM** en première intention dans le traitement de la candidose. Les traitements de deuxième ligne possédant également l'AMM sont : AmB-L et micafungine.

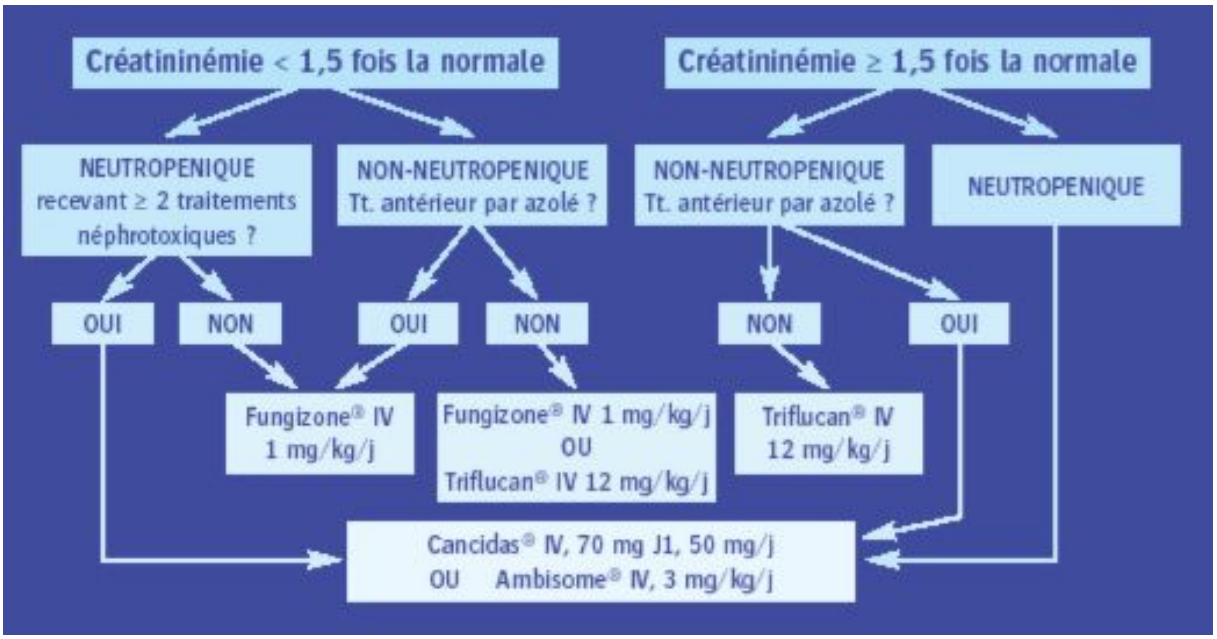


Figure 2 : prise en charge d'une candidose invasive avant identification de l'espèce (48)

Après identification de l'espèce *candida sp*.

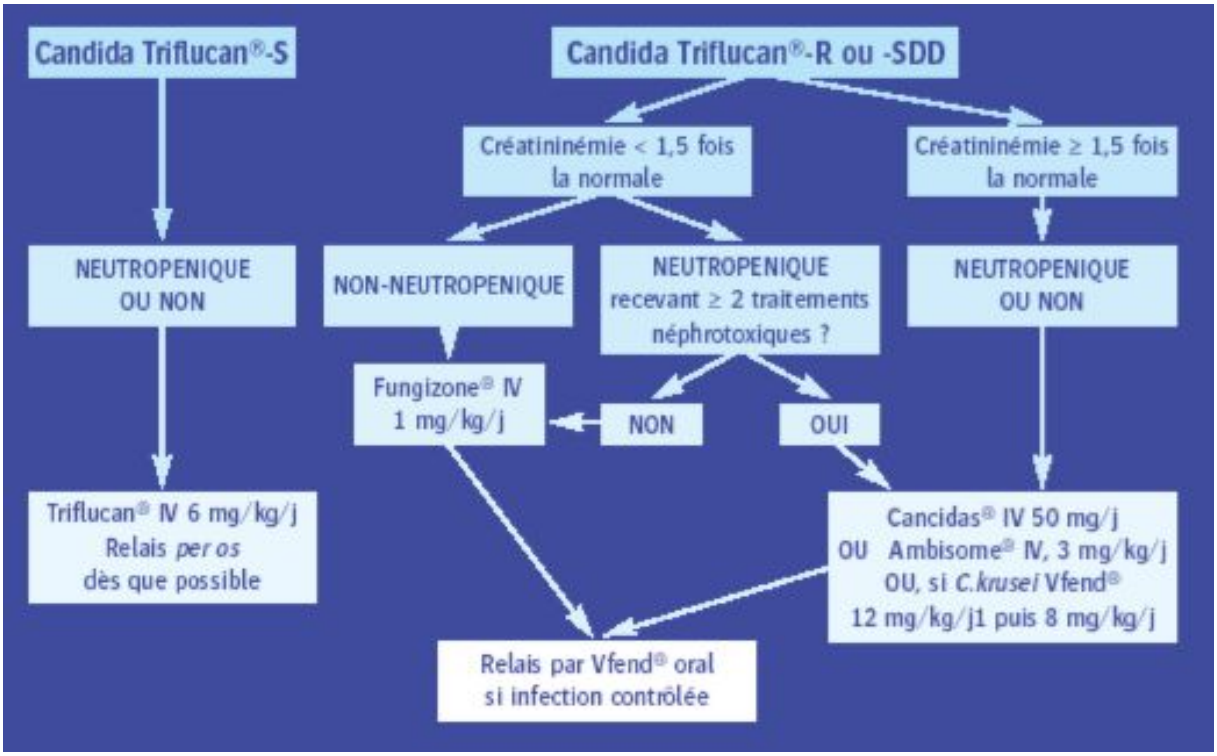


Figure 3 : traitement de la candidose après identification de l'espèce (48)

3.8.2. Recommandation Américaines IDSA : Infectious Diseases Society of America (55)

Les recommandations américaines ont été publiées en février 2008 (55). Cette dernière version utilise un système de gradations des recommandations dérivé du Canadian Task Force partagé avec United States Public Health Service. Ce système de gradations, diffère très peu de celui utilisé par ECIL 4 et grade la qualité des preuves de I à III.

Tableau VI : systèmes d'évaluations des recommandations IDSA

Qualité de l'étude réalisée	Niveau de recommandation
I : au moins une étude randomisée, ou essai contrôlé	A : fortement recommandé
II : au moins une étude clinique sans randomisation bien conduite, cohortes ou cas témoins, ou séries chronologiques.	B : modérément recommandé
III : opinions d'experts basées sur l'expérience clinique, études descriptives, comités d'experts	C : faiblement recommandé

Traitement prophylactique chez les patients recevant une greffe de cellules souches, traités pour une LAM ou un syndrome myélodysplasique :

- Posaconazole (AI) : 200 mg, 3 fois par jour **(hors AMM)**
- Fluconazole (AI) : 400 mg/j soit 6 mg/kg **(AMM)**
- Caspofungine (BII) pour les patients en induction de chimiothérapie 50 mg/j **(hors AMM)**
- Micafungine 50 mg/j pour les patients neutropéniques en post-greffe **(AMM).**

Traitement des aspergilloses invasives :

- 1 ère intention : voriconazole (AI) en IV à la dose de 6 mg/kg/12h au premier jour, puis 4 mg/kg/12H. Si la voie orale est privilégiée, la dose est de 200 mg/12h. **(AMM)**
- Alternatives : (BII)
  - AmB-L à la dose de 3-5 mg/kg/j en IV **(AMM)**
  - AmB-LC en IV à 5 mg/kg/j **(hors AMM)**
  - Itraconazole à 2,5-5 mg/kg/j **(AMM)**
  - Caspofungine en IV à 70 mg/j pour J1, puis 50 mg/j **(AMM en traitement alternatif)**
  - Micafungine en IV à 100-150 mg/j **(hors AMM)**
  - Posaconazole **(hors AMM).**

Le traitement des autres formes d'aspergilloses (Aspergillose invasive des sinus, endocardite, ostéomyélite, trachéobronchite, aspergillose du SNC) suit les mêmes recommandations. Seul le traitement de l'aspergillose oculaire aura comme indication l'AmB-L. L'utilisation d'associations d'antifongiques dans le cas de l'aspergillose invasive n'est pas recommandée en première intention face au manque de données actuelles.

Traitements des candidoses invasives chez le sujet neutropénique : (55)

- 1ère intention : caspofungine (AII) 70 mg/j à J1 puis 50 mg/j **(AMM)** ou micafungine 100 mg/j (AII) en alternative **(AMM)**
- AmB-L (AII) 3-5 mg/kg/j **(AMM)**
- Alternative : si pas de traitement azolé en prophylaxie et si état clinique non critique : fluconazole (BIII) 800 mg à j1 puis 400 mg/j soit 6-12 mg/kg/j. **(AMM)**
- Dernier recours anidulafungine 200 mg à j1 puis 100 mg/j **(hors AMM)**

La durée de ce traitement est de deux semaines si les hémocultures reviennent négatives et s'il n'y a pas de localisations secondaires.

Pour les candidémies à *C.glabrata,* les echinocandines sont préférées (BIII) à l'amphotéricine B qui reste en traitement alternatif (BIII). Si *C.Parapsilosis* est isolé, fluconazole ou l'AmB-L seront initiés (BIII). Si le patient est stable sous echinocandines et que les hémocultures sont négatives, le traitement peut être poursuivi.

Si *C. krusei* est à l'origine de la candidémie, le traitement par echinocandines, AmB-L et voriconazole est recommandé (BIII).

3.8.3. Recommandations ECIL 4

Avant d'analyser les stratégies adoptées par le service, il est nécessaire de faire un point sur les dernières recommandations. Les recommandations suivies par le service d'oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy sont celles d'ECIL 4. Ce sont des recommandations élaborées par plusieurs organisations Européennes qui travaillent sur la recherche et les traitements dans le domaine de l'hématologie et de l'oncologie. Ces différentes organisations ont créé ECIL (European Conference on Infections in Leukemia) qui se base, depuis 2005, sur les différentes études publiées dans le domaine de l'hémato-oncologie. Les premières recommandations ECIL1 ont été publiées en 2006. Les recommandations ECIL 3 ont apporté des évolutions concernant notamment la prophylaxie des patients greffés.

Les nouvelles recommandations ECIL 4 publiées en 2011 s'intéressent plus précisément à la population pédiatrique en s'appuyant notamment sur des études récentes réalisées dans le domaine pédiatrique. Ces recommandations peuvent varier de celles émises en 2009 par ECIL 3 qui s'appuient essentiellement sur des études publiées dans le domaine adulte. Lorsque ces études pédiatriques ne sont pas disponibles les recommandations émises dépendent seulement des données de pharmacocinétique et de sécurité disponibles.

L'ensemble des recommandations formulées par le groupe ECIL4 s'appuie sur les gradations des preuves apportées par la société américaine des maladies infectieuses. Ce tableau permet de classer la pertinence des recommandations émises.

Tableau VII : Système d'évaluation des recommandations ECIL 3 et 4 (56)

Qualité d'étude réalisée	Niveau de recommandation
I. Etudes prospectives, randomisées, contrôlées.	A. Recommandation forte : efficacité prouvée.
II. Etudes non randomisées, comparaison simultanées ou historiques de cohorte.	B. Généralement recommandé : preuves d'efficacité moyennes.
III. Publications d'opinions publiées dans des journaux ou livres sans comité de lecture.	C. Recommandation optionnelle: preuve d'efficacité insuffisante
	D. Généralement non recommandé.
	E. Jamais recommandé : preuves de non efficacité voire d'effets secondaires

Les AMM précisées entre parenthèses concernent le domaine pédiatrique pour chacune des indications.

3.8.3.1. Prophylaxie antifongique primaire des patients atteints de leucémie

Selon ECIL4 la prophylaxie antifongique est recommandée chez les patients atteints de leucémie et présentant des risques élevés d'atteintes par une infection fongique invasive (LAM, rechutes de leucémies et patients allogreffés). Cette recommandation de prophylaxie est gradée BII (57).

- Chimiothérapie d'induction d'une leucémie :

  - Posaconazole pour les patients âgés de plus de 13 ans, avec suivi sérique des concentrations: BI **(hors AMM)**
  - Amphotéricine B liposomale recommandée au grade BII **(hors AMM)**
  - Fluconazole recommandé au grade CI **(hors AMM)**
  - Itraconazole recommandé au grade BI avec un suivi sérique des concentrations **(AMM)**
  - Les options thérapeutiques incluant le voriconazole **(hors AMM)**, la micafungine **(AMM)** and l'amphotéricine B liposomale aérosol **(hors AMM)** n'ont pas été gradées.

ECIL 4 recommande de tenir compte de l'utilisation de l'itraconazole, posaconazole et voriconazole avec la vincristine. L'utilisation des antifongiques azolés en traitement préventif

chez les patients neutropéniques atteints de leucémie doit être prise en considération si un traitement probabiliste est nécessaire par la suite.

3.8.3.2. Prophylaxie antifongique secondaire

Cette prophylaxie secondaire est recommandée avec un niveau AII sous plusieurs conditions (56) :

- Une infection fongique documentée et résolutive a été précédemment diagnostiquée chez le patient.
- Le patient est atteint d'un autre épisode de neutropénie durant son traitement de chimiothérapie ou bien d'une immunodépression pendant la greffe.

Aucune molécule n'a bénéficié d'une recommandation spécifique dans l'indication de cette prophylaxie secondaire.

3.8.3.3. Prophylaxie dans les greffes de cellules souches hématopoïétiques

ECIL 4 différencie les phases post-greffe allogénique : la phase initiale de neutropénie profonde et la phase de la maladie du greffon contre l'hôte.

Durant la première phase de neutropénie :

- Fluconazole en première intention AI **(AMM)**
- Itraconazole en seconde intention, avec monitorage des concentrations BI **(AMM)**
- Le voriconazole est une alternative à l'itraconazole. Pour cette indication le voriconazole est gradé provisoirement en BI avec monitorage des concentrations. **(hors AMM mais utilisation temporaire acceptable en prophylaxie secondaire)**
- Micafungine recommandé au grade CI **(AMM).**
- Amphotéricine B liposomale recommandé au grade CIII. **(hors AMM)**
- Les autres options incluant le posaconazole ne sont pas recommandées. **(hors AMM)**

En cas d'absence de réaction du greffon contre l'hôte ECIL 4 recommande le maintien de la prophylaxie primaire jusqu'à la fin de la phase de l'immunodépression.

Durant la phase de la maladie contre l'hôte : pendant cette deuxième phase le patient est en immunodépression profonde. La prophylaxie durant cette phase est gradée en AII par ECIL 4 (57).

- Posaconazole en première intention chez les patients de plus de 12 ans avec monitorage des doses (gradé en BI) **(hors AMM)**
- Le voriconazole également bénéficie du grade BI avec suivi sérique des doses administrées **(hors AMM mais utilisation temporaire acceptable en prophylaxie secondaire)**
- L'itraconazole gradé en CII avec suivi sérique des concentrations **(AMM)**
- Les autres options thérapeutiques incluant l'amphotéricine B liposomale **(hors AMM)** et la micafungine **(AMM)** n'ont pas été gradées.

3.8.3.4. Traitement probabiliste

Les recommandations émises par ECIL 4 dans le cadre d'un traitement probabiliste concernent les patients pédiatriques atteints de graves leucémies ou bénéficiant d'une greffe qui se trouvent dans un état de neutropénie fébrile. Ce traitement doit débuter après 96 heures de fièvre sans documentation. Cette recommandation a été gradée BII par ECIL 4 (57) : deux molécules ont été recommandées au grade AI pour cette indication : la caspofungine et l'amphotéricine B liposomale.

- Amphotéricine B liposomale 1-3 mg/kg/j (Ambisome® possède **l'AMM en pédiatrie**)
- Caspofungine 50 mg/m^2/j (avec un maximum de 70 mg /j) après une dose de charge de 70 mg/m^2 à j1 (Cancidas® possède également **l'AMM dans cette indication**)
- Pour les patients recevant déjà une prophylaxie primaire, le switch par caspofungine ou amphotéricine B liposomale est conseillé devant l'apparition d'une hyperthermie non documentée.

Ce traitement probabiliste doit se poursuivre jusqu'à résolution de la fièvre.

3.8.3.5. Traitement curatif

Les recommandations formulées par ECIL 4 dans le traitement curatif des infections fongiques documentées (aspergilloses invasives, candidoses invasives, mucormycoses, fusarioses), s'appuient sur les recommandations émises par ECIL 3 (56,57) :

- **<u>Traitement de l'aspergillose invasive en première ligne:</u>**
  - 1 ère intention (AI): Voriconazole IV **(AMM)**
  - Alternative : Amphotéricine B liposomale 3-5 mg/kg/j **(AMM)**
  - Amphotéricine B lipide complexe recommandée en BII (**hors AMM**)
  - Les associations d'antifongiques en première ligne de traitement bénéficient d'une recommandation CIII **(hors AMM).**
- **<u>Traitement de l'aspergillose invasive en deuxième ligne :</u>**
  - Voriconazole (chez les patients n'ayant pas reçu de voriconazole en prophylaxie ou en probabiliste) avec dosage sérique des concentrations, recommandé en AI **(AMM)**

- Caspofungine recommandée en AII **(AMM)**
- Amphotéricine B liposomale (chez les patients n'ayant pas reçu l'amphotéricine B liposomale en prophylaxie ou en probabiliste) classée au grade BI **(AMM)**
- Amphotéricine B lipide complexe recommandé en BII **(hors AMM)**
- Les associations d'antifongiques sont gradées en CII en deuxième ligne **(hors AMM)**
- les autres options thérapeutiques incluant l'itraconazole, le posaconazole (>12 ans) et la micafungine, ne bénéficient pas de grade de recommandations formulé par ECIL 4.

- **Traitement de la candidose invasive :**
  - Fluconazole, caspofungine, amphotéricine B liposomale, micafungine et voriconazole sont recommandés en BII. Toutes ces molécules possédant l'AMM dans le traitement de la candidose invasive.
  - Amphotéricine lipide complexe recommandée en CII **(hors AMM)**

Certaines espèces de Candida présentent une résistance : c'est le cas de *C. krusei* ou une sensibilité variable au fluconazole comme *C. glabrata*. Devant cette identification de l'espèce, un changement de traitement est alors conseillé.

- **Traitement des mucormycoses en première ligne (56):**

Ces recommandations s'appuient sur 157 cas en pédiatrie relevés dans la littérature.

  - Amphotéricine B liposomale (utilisation temporaire acceptable) et lipide complexe recommandée en BII. La forme liposomale doit être privilégiée en cas d'insuffisance rénale.
  - Posaconazole en alternative (hors AMM pédiatrique) recommandé en CIII lorsque l'amphotéricine B est contre indiquée.
  - Les associations d'antifongiques sont recommandées en CIII.

- **Traitement des mucormycoses en deuxième ligne (56) :**
  - Posaconazole recommandé en BII avec dosage des concentrations sériques.
  - Association de l'amphotéricine B liposomale et caspofungine ou amphotéricine B liposomale et posaconazole sont recommandées en CIII.

- **Recommandations pour le traitement des fusarioses :**
  - Voriconazole en première intention, recommandé en BII **(AMM)**
  - Posaconazole et formulations lipidiques de l'amphotéricine B restent une alternative mais recommandation non gradée pour insuffisance de données.

Parmi ces trois différentes recommandations développées dans cette partie, celles du groupe ECIL 4 sont les seules qui s'appuient sur les dernières études réalisées en pédiatrie. Le service d'oncohématologie du CHU de Nancy utilise ces recommandations publiées par ECIL

4. Nous allons donc étudier dans la partie suivante les pratiques de prescription du service d'oncohématologie du CHU de Nancy et les comparer aux recommandations pédiatriques émises par ECIL 4.

PARTIE II : EVALUATION DES PRATIQUES DANS LE SERVICE D'ONCOHÉMATOLOGIE PÉDIATRIQUE DU CHU DE NANCY

1. Évaluation des pratiques dans le service d'hémato-oncologie au CHU Brabois

Le service d'oncohématologie pédiatrique de l'hôpital de Brabois, se divise en trois secteurs : conventionnel, soins intensifs et hôpital de jour. Le service traite 100 nouveaux cas par an, avec environ 25 leucémies aiguës 10 allogreffes et 10 autogreffes.

1.1. Contexte

L'incidence accrue des infections fongiques chez les sujets neutropéniques, le manque de molécules ayant l'indication dans le domaine pédiatrique nous a amené à réaliser cette étude. De plus l'émergence de nouveaux germes à résistance accrue aux traitements et l'arrivée sur le marché de nouvelles molécules antifongiques expliquent le recours à des recommandations internationales afin d'orienter la stratégie thérapeutique. Le service d'hémato-oncologie pédiatrique du CHU de Nancy utilise les recommandations ECIL 4 dans le traitement et le suivi des infections fongiques des patients hospitalisés.

1.2. Objectif

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer les pratiques de prescription de traitements antifongiques dans le service d'oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy et d'évaluer l'adhésion de ces pratiques aux référentiels Européens ECIL 4.

1.3. Matériels et méthodes

Cette étude rétrospective a porté sur les patients hospitalisés dans le service d'oncohématologie pédiatrique du CHU de NANCY entre juin 2010 et mars 2013. Les prescriptions de 259 patients au total, dont 25 autogreffes et 35 allogreffes ont pu être analysées au cours de cette étude. Les prescriptions manuscrites du service ont pu être étudiées dans les locaux de la pharmacie de l'hôpital d'enfants, ce qui a permis d'élaborer une liste de patients suivis dans les différents secteurs du service pour lesquels des traitements antifongiques avaient été prescrits durant cette période. Ainsi 26 patients, soit 10% de l'effectif total hospitalisé entre juin 2010 et mars 2013, ont développé une infection fongique possible ou probable dans un contexte de pathologie cancéreuse et de neutropénie profonde, ayant justifié l'utilisation d'un traitement antifongique. Parmi eux certaines pathologies ont justifié le recours à un traitement prophylactique.

La deuxième étape du travail a consisté en l'étude des dossiers cliniques de cette liste de patients. Cette étude des dossiers cliniques de chaque patient réalisée dans les locaux des

différents secteurs du service a permis de collecter les informations cliniques de chaque patient :

- Âge au moment du traitement
- Poids
- Pathologie sous-jacente
- Antécédents d'infections fongiques
- Infection fongique possible ou probable
- Traitements antifongiques utilisés et posologie
- Durée du traitement et sa tolérance

Les données ont été relevées pour chaque patient à partir du dossier médical dans le service. D'autres informations ont également été collectées car elles permettent de comprendre dans quelles conditions ces patients ont été traités, et ce qui a amené les prescripteurs à choisir ce traitement en particulier. En effet, les antécédents d'infections fongiques, la posologie des molécules, les diagnostics cliniques, radiographiques et immunologiques et les associations d'antifongiques, nous ont permis de regrouper ces patients dans deux catégories : les infections possibles et les infections probables, et donc de définir le traitement comme étant préventif, probable ou documenté.

Les éléments du diagnostic ont été relevés à partir des prescriptions médicales et de l'analyse des dossiers médicaux des patients. Ils ont comporté :

- Les données cliniques
- Le diagnostic mycologique
- Les données radiologiques : image caractéristique en radiographie et tomodensitométrie (lésion en cocarde, image en grelots)

1.4. Résultats:

Notre étude a été réalisée sur un effectif de 26 patients âgés de 2 à 21 ans et composé de 17 garçons et de 9 filles.

La population de notre étude est hétérogène de part les pathologies rencontrées (leucémie lymphoïde aigue B ou T, leucémie myéloïde aigue et les patients greffés ainsi que les autres types de tumeurs traités dans le service). Nous avons donc séparé notre population en quatre sous-groupes :

- LAL B et/ou T
- LAM
- Greffés
- Autre pathologie (rhabdomyosarcome, neuroblastome)

Cette photographie de la population est démontrée par la figure suivante :

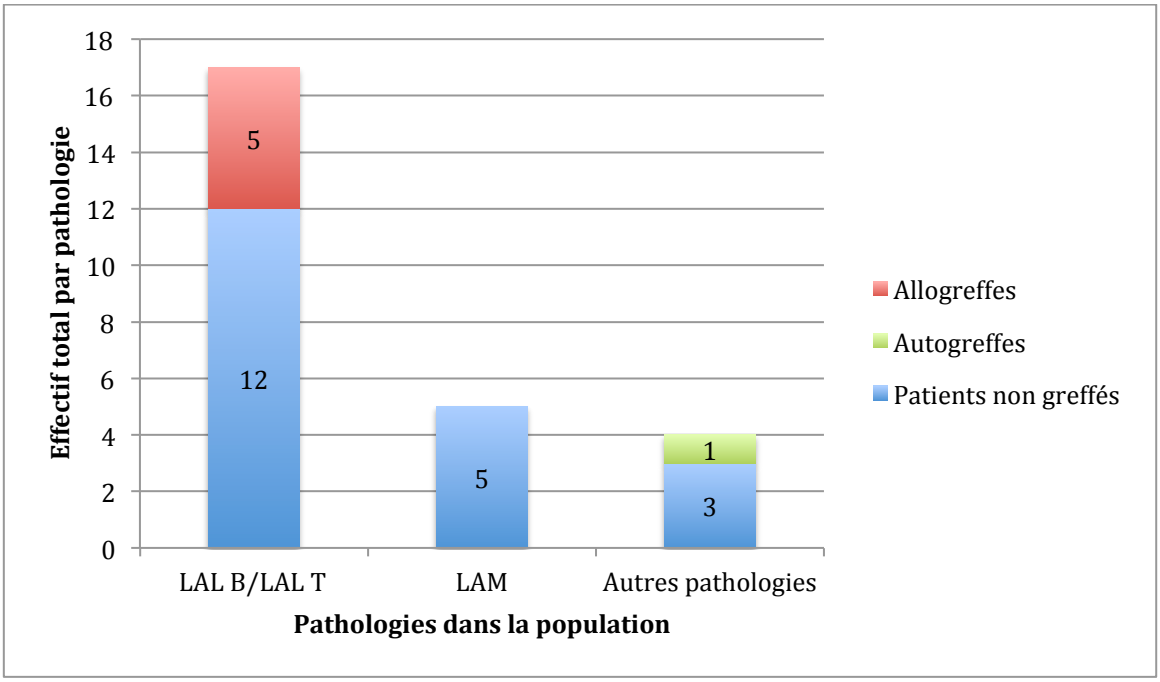


Figure 4 : répartition de la population étudiée

Parmi notre population d'étude 17 patients présentent une leucémie lymphoïde aiguë de type B ou T soit 65% de la population. Parmi ces patients 5 d'entre eux ont bénéficié d'une allogreffe dans le cadre de leur protocole de traitement de la leucémie. La population de patients greffés est particulière du fait de la fragilité du statut immunitaire de ces patients et de leur forte prévalence à développer des infections fongiques notamment. Elle sera donc étudiée de façon détaillée dans le but de vérifier si les prescriptions d'antifongiques en préventif et en curatif sont conformes aux recommandations.

Cinq patients présentent une leucémie myéloïde aiguë.

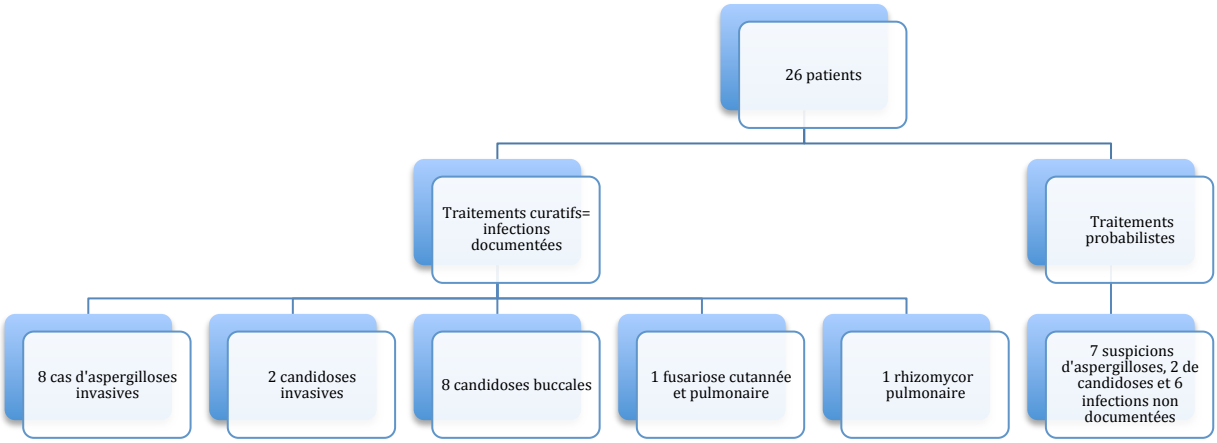
Enfin, 4 patients traités par protocole de chimiothérapie présentaient soit un rhabdomyosarcome alvéolaire de la fosse nasale, soit un lymphome abdominal B, soit une leucémie de Burkitt et un neuroblastome surrénalien. Parmi ces patients, un seul d'entre eux a bénéficié d'une autogreffe.

Pour chacun de ces sous-groupes nous allons étudier les pratiques de prescription du service.

1.4.1. Répartition de notre population en fonction des infections fongiques

L'analyse des prescriptions du service d'hémato-oncologie a permis de construire ce diagramme.

Tableau VIII : répartition de notre population en fonction de la nature du traitement et du type d'infection.



Ce tableau regroupe les traitements curatifs et probabilistes qui ont été prescrits durant la periode d'étude. Il démontre également la diversité du nombre ainsi que du type d'infections fongiques rencontrées durant notre population d'étude.

Les traitements probabilistes ont été prescrits devant des signes cliniques évoquant une suspicion d'infection fongique chez le patient. Ces traitements sont débutés lorsque le patient présente une neutropénie associée à une fièvre après 48 heures d'antibiothérapie à large spectre et à un syndrome inflammatoire élevé. Ainsi 7 cas d'aspergilloses ont été suspectés chez 7 patients du service. Chez deux patients une suspicion de candidose a nécessité la mise en place d'un traitement antifongique. Enfin, 6 cas d'infections fongiques non documentées ont été suspectés, ayant requis le début d'un traitement probabiliste. Nous étudierons dans la suite les différentes stratégies thérapeutiques probalilistes utilisées par le service et surtout leur conformité par rapport aux recommandations ECIL 4.

Le traitement curatif est initié lorsque l'infection est documentée, c'est-à-dire qu'en plus des signes cliniques de l'hôte (neutropénie, syndrome inflammatoire majeur, fièvre réfractaire aux antibiotiques), et des imageries évocatrices de l'infection et il y a présence d'une documentation mycologique. Devant une symptomatologie spécifique et une documentation mycologique 8 cas d'aspergilloses ont été diagnostiqués et ont nécessité le recours à un traitement curatif pour les patients atteints.

Les candidoses buccales sont fréquentes pour les patients traités par des molécules anticancéreuses et 8 cas ont été traités de façon curative dans le service. Par contre les candidoses invasives plus graves et moins fréquentes ont été diagnostiquées à deux reprises.

Enfin deux infections fongiques rarissime et gravissime ont pu être documentées durant notre période d'étude. Il s'agit d'une fusariose cutanée et pulmonaire et d'une mucormycose. Ces deux infections présentent une résistance à de nombreuses molécules, ce qui explique qu'elles soient particulièrement redoutées chez les patients d'hémato-oncologie pédiatrique.

L'initiation d'un traitement curatif fait suite à l'échec d'une thérapeutique préventive ou probabiliste. Elle requiert donc une documentation mycologique ou moléculaire de l'espèce concernée couplée à une symptomatologie caractéristique chez le patient infecté. Ce traitement curatif doit être débuté le plus tôt possible afin de freiner la dissémination hématogène de l'agent pathogène et augmenter les chances de guérison. Les doses et les posologies doivent être adaptées aux recommandations pour ne pas favoriser l'émergence d'espèces résistantes en cas d'emploi de doses inférieures aux doses efficaces.

Certains patients ont bénéficié à la fois d'un traitement probabiliste, et d'un ou plusieurs traitements curatifs au cours de leurs chimiothérapies protocolaires. En effet un traitement curatif initié chez un patient peut être arrêté suite à une intolérance, une toxicité, une inefficacité voire même un échec thérapeutique devant des signes cliniques évocateurs d'une aggravation de l'état du patient. Un deuxième traitement constituera donc une alternative en cas d'échec du traitement de première intention. Dans certains cas une association de plusieurs molécules peut être privilégiée en traitement de sauvetage devant la résistance de l'agent fongique aux traitements précédents. D'autres patients ont tout simplement développé deux infections fongiques différentes (par exemple une candidose et une aspergillose) à deux moments différents de leur protocole de chimiothérapie, ayant nécessité deux traitements curatifs. Nous développerons dans la suite les cas des patients ayant nécessité un changement de traitement curatif et les raisons ayant requis la modification de ces traitements.

Le graphique ci dessous regroupe les infections fongiques traitées de façon curative dans la population d'étude.

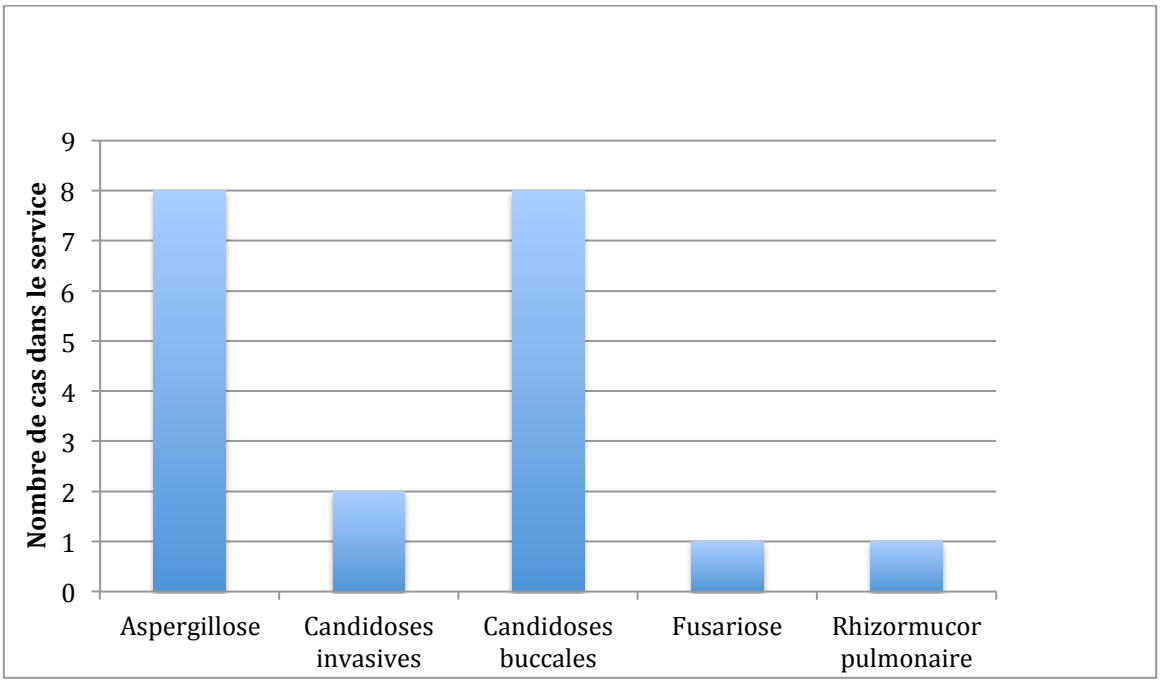


Figure 5 : nombre de cas et diversité des infections fongiques traités de façon curative dans notre population

Comme pour les traitements probabilistes, nous étudierons les stratégies thérapeutiques adoptées par le service et leur conformité au référentiel ECIL 4 dans le cadre des prises en charges des infections fongiques prouvées.

1.4.2. Répartition suivant le contexte pathologique dans les infections documentées

Nous allons mettre en évidence l'incidence de la pathologie sous jacente des patients en rapport avec l'infection fongique documentée. Ce contexte pathologique de survenue d'une infection fongique représente un facteur important à prendre en compte dans la mise en place d'une stratégie thérapeutique. En effet, certaines pathologies sous-jacentes représentent un terrain plus favorable au développement d'une infection fongique en cas d'atteinte de l'immunité humorale ou cellulaire.

Dans le service, parmi les patients atteints de LAL B, 4 ont reçu un traitement curatif pour une aspergillose pulmonaire, 1 patient a reçu un traitement curatif à la fois pour une candidose documentée et pour une fusariose pulmonaire. Un autre patient a reçu également deux traitements curatifs dont un traitement pour une candidose invasive durant son traitement d'induction puis pour une aspergillose pulmonaire dans les suites de son allogreffe. Enfin pour 6 patients atteints de LAL B un traitement curatif pour une candidose buccale a été instauré.

Chez 3 patients atteints de LAM, 2 patients ont reçu un traitement curatif pour une aspergillose invasive, et un autre patient a été traité à la fois pour une candidose buccale et pour une rhizormycose pulmonaire.

Enfin parmi les deux patients atteints de LAL T dans notre population, un seul a été traité pour une aspergillose invasive durant son traitement d'induction.

Un patient atteint de neuroblastome surrénalien a reçu un traitement curatif pour une candidose invasive.

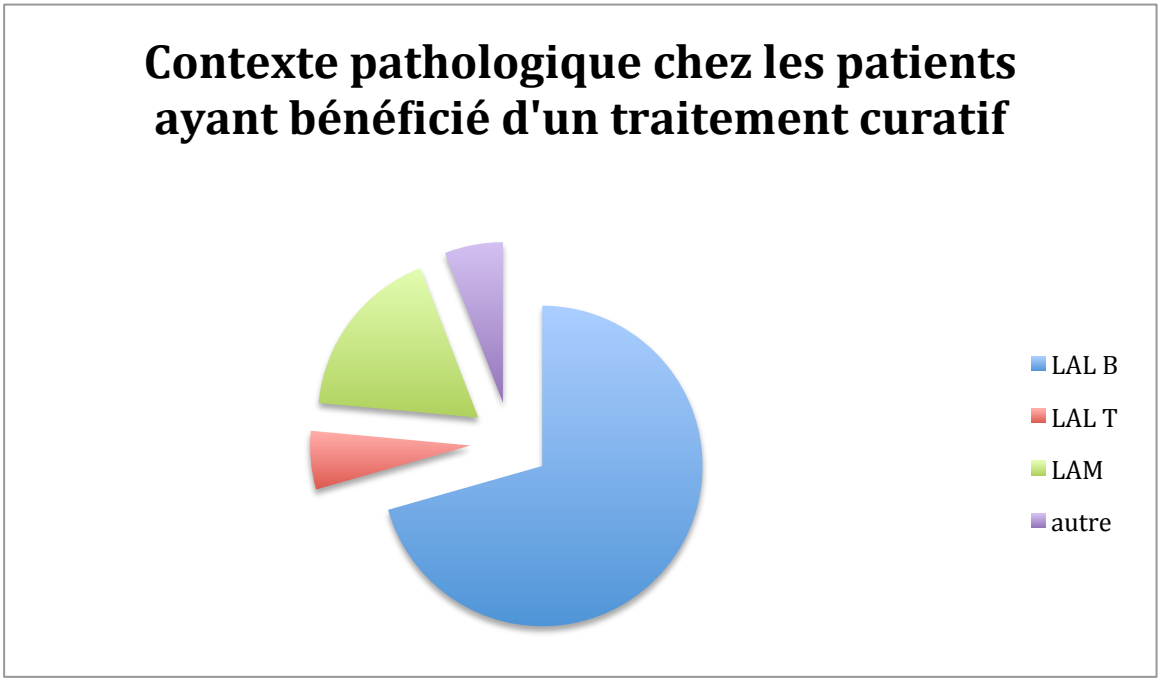


Figure 6 : pathologie sous-jacente dans le cadre d'un traitement curatif.

Nous pouvons comparer le résultat de la mise en place d'un traitement curatif en fonction de la maladie sous-jacente avec d'autres études effectuées dans d'autres services d'hémato-oncologie pédiatrique. Une étude a été réalisée dans un service d'hémato-oncologie incluant 42 enfants (âge moyen dix ans, sex-ratio 1,5). La moitié des enfants était suivie pour une leucémie aiguë myéloïde (20 cas). Les autres hémopathies malignes étaient : la leucémie aiguë lymphoblastique (18 cas), le lymphome de Burkitt (deux cas) et la maladie de Hodgkin (deux cas). Les 40 enfants ont été traités par chimiothérapie protocolaire. Le diagnostic d'API a été posé chez un cas soit une prévalence de 2,5 %. Il s'agit d'une patiente âgée de 13 ans atteinte de leucémie aiguë myéloïde qui a présenté un syndrome hémorragique, infectieux et anémique après deux semaines de chimiothérapie (30). Dans notre population d'étude, le diagnostic d'aspergillose a été posé chez 8 patients (dont 5 patients atteints de LAL B, un patient atteint de LAL T et 2 patients atteints de LAM). La prévalence de l'aspergillose invasive dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique du CHU de Nancy est de 3% (rapporté à l'effectif total de 259 patients pendant la période d'étude).

En ce qui concerne la candidose invasive, une étude réalisée sur 58 patients âgés en moyenne de 5 ans, ayant reçu une greffe de moelle, montre que 5 enfants ont été infectés par une candidose invasive et que 4 d'entre eux (soit 7%) ont été suspectés de développer cette infection (9). Dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique de Nancy, 2 patients ont été diagnostiqués pour une candidose invasive (un patient atteint de LAL B et un autre patient atteint de neuroblastome surrénalien).

1.4.3. Répartition suivant le contexte pathologique dans les infections probabilistes

Dans le cadre des infections probables, le traitement a été initié suite à une persistance de fièvre sous antibiothérapie à large spectre. Dans 7 cas une aspergillose a été suspectée alors que dans 2 cas une suspicion de candidose a nécessité le début du traitement antifongique. Pour les autres patients (6 cas) une aplasie fébrile non documentée résistante à l'antibiothérapie ou bien une imagerie (lésions sus et sous tentorielles) ont été à l'origine du début d'un traitement probabiliste.

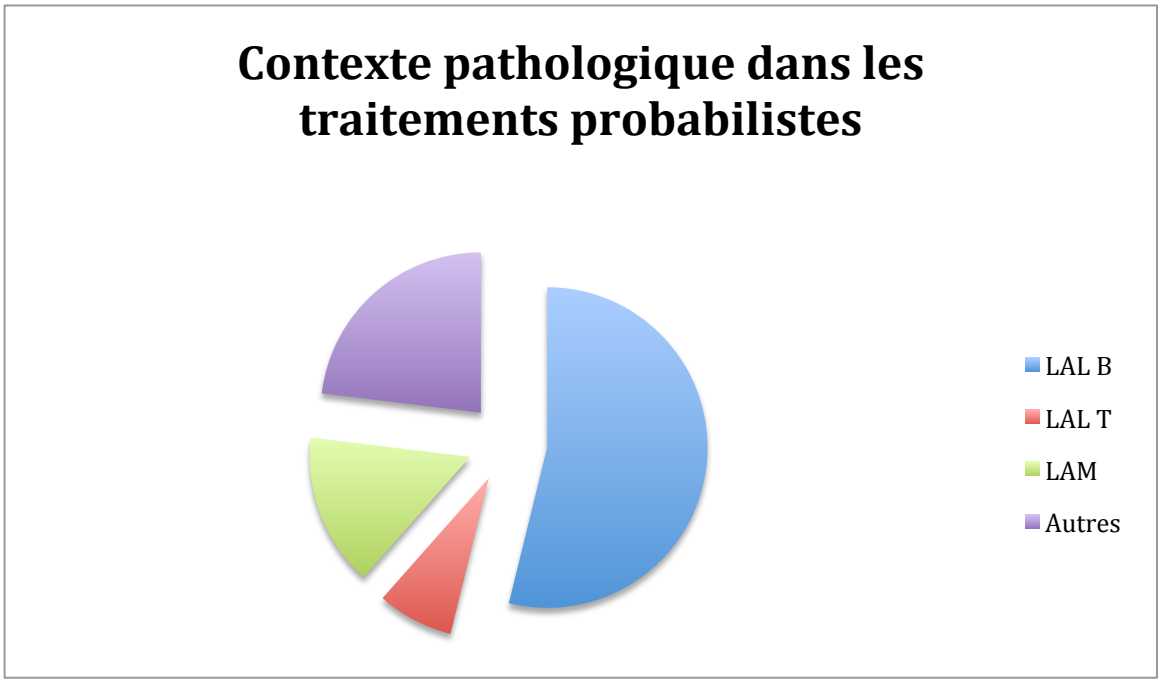


Figure 7 : pathologie sous-jacente dans le cadre d'un traitement probabiliste.

2. Analyse des stratégies thérapeutiques dans le services et état de la littérature :

Les stratégies thérapeutiques adoptées par le service d'hémato-oncologie pédiatrique doivent suivre les recommandations européennes ECIL 4. Le but est d'étudier la conformité des pratiques du service avec ces recommandations.

2.1. Traitement préventif des patients sous chimiothérapie :

ECIL 4 recommande une prévention primaire des infections fongiques pour les patients pédiatriques atteints de leucémies à haut risque (patients atteints de LAM, patients allogreffés et patients en rechute de leucémies) avec le grade BII. Nous avons vu dans l'étude de ces recommandations que l'itraconazole et le posaconazole (>12 ans) étaient recommandés en première intention, l'amphotéricine B liposomale étant une alternative (BII). Le fluconazole gradé en CI est recommandé en dernier recours.

Dans le service, le traitement préventif de tous les patients consiste en une décontamination digestive par amphotéricine B (Fungizone® 40 mg/ml) suspension buvable à la dose de 10 ml, 3 fois par jour. La Fungizone® par voie orale constitue un moyen pour prévenir les mycoses digestives (antifongiques de contact) ou buccales, son action ne sera pas systémique vu sa très faible absorption digestive. Les patients atteints de LAL ne bénéficient donc pas de prophylaxie primaire spécifique pour une infection fongique invasive dans le service du CHU de Nancy. Par contre la prévention primaire par fluconazole (n'a l'AMM que dans la prévention d'une candidose invasive dans le cadre d'une greffe) 400 mg IV ou par voie orale n'est utilisée dans le service que pour la population atteinte de LAM.

2.2. Traitement probabiliste (préemptif et empirique) : analyse de la littérature

Les recommandations ECIL 4 s'appuient sur des études prospectives réalisées dans le domaine pédiatrique et évaluant l'efficacité des molécules utilisées en traitement probabiliste.

La plus ancienne étude comparait l'utilisation de l'amphotéricine B conventionnelle à la posologie de 1 mg/kg/j à l'amphotéricine B liposomale à la posologie de 1 ou 3 mg/kg/j (41). Les patients pédiatriques étaient en neutropénie fébrile non documentée depuis plus de 96 heures. Les résultats obtenus avec l'amphotéricine B liposomale à la posologie de 3 mg/kg /j montraient une efficacité plus importante qu'avec la posologie inférieure ainsi qu'avec l'autre formulation.

Une étude rétrospective a comparé l'efficacité de la caspofungine (70 mg/m^2 à j1 puis 50 mg /m^2/j) et l'amphotéricine B liposomale (3 mg/kg/j) en traitement empirique chez 26 enfants en neutropénie fébrile (58). La durée de la neutropénie et du traitement était plus courte chez les patients traités par caspofungine. Concernant les effets indésirables, aucune différence significative n'a été rapportée.

Une autre étude multicentrique randomisée en double aveugle a évalué l'efficacité et la tolérance de la caspofungine (70 mg/m^2 à j1 puis 50 mg/m^2/j) versus AmB-L (3 mg/kg/j) en traitement empirique, sur 82 patients pédiatriques (59). La réponse globale était plus importante dans le groupe avec la caspofungine (46% vs 32%).

2.3. Traitement probabiliste : stratégie dans le service

Les 26 patients du service ont été inclus dans cette étude car ils présentaient des critères d'inclusion précis : traitement antifongique prescrit, antigénémie Candida ou aspergillaire positives, culture mycologique positive, signes radiologiques et/ou scanner positifs, signes cliniques respiratoire ou fongiques spécifiques etc.

Tableau IX : traitement probabiliste des infections fongiques dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique du CHU de Nancy

Patient	Age	Poids (kg) et surface	Pathologie sous-jacente	Arguments et signes évocateurs d'une infection fongique probable.	Traitement Probabiliste reçu	Posologie	Durée (j)	Efficacité et **Toxicité** ATF
1	21	78 1,83 m^2	LAL T	Durant induction : Aplasie fébrile non documentée résistante aux ATB.	Caspofungine	70 mg/j1 puis 50 mg/j	27	Arrêt de la fièvre après 11 jours d'ATB et ATF
2	4	15	Rhabdomyosarcome alvéolaire nasal	Durant 2ème cure : Aplasie fébrile non documentée.	Fluconazole	12 mg/kg/j	5	Arrêt de la fièvre et sortie d'aplasie après 5 jours d'ATB et d'ATF
3	17	61	LAL B	Durant induction : Aplasie et céphalées persistantes, multiples lésions sus et sous tentorielles au scanner. Aucune documentation infectieuse.	AmB-L	150 mg/j	12	Evolution favorable et sortie d'aplasie après 12 jours d'ATB et d'ATF
4	18	80 2 m^2	LAL B	Fièvre non résolutive devant une septicémie et antibiothérapie pendant plus de 72h.	-Caspofungine -puis AmB-L	-arrêtée - 5 mg/kg/j	-15	-Arrêt de la fièvre sous AmB-L **-Cytolyse hépatique sous caspofungine Hypokaliémie sous AmB-L**.
				2ème épisode : antigénémie aspergillaire positive, image en grelot	Voriconazole	6 mg/kg/j deux fois par jour	10	Evolution favorable avec le scanner de contrôle 10 j après le début du traitement
5	14	37	LAL B	Pan sinusite portage *Aspergillus sp.* (nez) avec PCR négative	Voriconazole	200 mg/j	15	Sortie d'aplasie et reprise de la chimiothérapie

6	17	60 0,86 m^2	Lymphome abdominal à grandes cellules	Fébricule persistant malgré ATB, infection pulmonaire non documentée et portage ORL *C.glabrata et C.Parapsilosis*	Caspofungine	45 mg/j	15	Scanner de contrôle sans foyer infectieux : arrêt de l'ATB et de l'ATF
7	4	24 0,86 m^2	Leucémie de Burkitt	Aplasie fébrile non documentée, portage ORL *C.albicans* et *Geotrichum sp.* et une unique antigénémie aspergillaire positive.	Caspofungine	45 mg/j	15	Sortie d'aplasie sous granocyte et arrêt de la fièvre après 15 jours de traitement.
8	16	59	LAL B	Durant intensification: antigénémie aspergillaire positive mais radio du thorax normale et prélèvements mycologiques négatifs.	Voriconazole	200 mg, 2 fois par jour.	15	Fin de l'aplasie et scanner de contrôle sans foyer infectieux fongique
9	4	11 0,52 m^2	LAL B (hyperploïdie 50 chromosomes)	-Durant consolidation : Fièvre persistante, pleuropneumopathie droite importante, toux grasse, syndrome inflammatoire. -Diminution de l'épanchement pleural mais apparition d'une cavitation au lobe inférieur droit. Aucune documentation aspergillaire. Aucune documentation fongique au final.	Amphotéricine B liposomale -Association caspofungine et amphotéricine B liposomale	- 5 mg/kg/j -5mg/kg/j (AmB-l) et 25mg/j (caspofungine)	-5 -22	-Diminution du syndrome inflammatoire et de l'épanchement pleural sous AmB-L -Nette diminution de la condensation lobaire droite. Sortie d'aplasie et documentation bactérienne. (hémoculture : staphylocoque Méti-R retrouvée) **-Hypoka-liémie sous AmB-L**
10	8	30	LAL B sans atteinte du SNC avec hyperploïdie 56 chromosomes	Durant intensification: Aplasie fébrile non documentée résistante aux antibiotiques sans syndrome inflammatoire	Fluconazole (IV puis per os)	200 mg /j	2	Arrêt de l'aplasie (puis en couverture per os à domicile).

11	15	71 1,83 m^2	LAL B sans atteinte SNC	-Infection pulmonaire avec épanchement sur aplasie profonde, antigénémie aspergillaire négative et syndrome inflammatoire	Amphotéricine B liposomale	5 mg/kg/j	10	Aplasie fébrile persistante sous AmB-L
				Fièvre et aplasie, portage ORL et selles *C.albicans* (résistant à l'AmB-L)	-Caspofungine	70 mg/j1, puis 50 mg/j	10	Guérison bilatérale au scanner sous caspofungine et ATB
12	14	45 1,45 m^2	LAM 1/2	-Pan sinusite avec syndrome interstitiel pulmonaire et discret épanchement pleural gauche, et épanchement intra abdominal.	-Caspofungine -puis Voriconazole	-70 mg/j1 puis 50 mg/j -200 mg, 2 fois /j PO	-15 -43	Pan sinusite d'évolution favorable sous caspofungine et ATB.
13	4	13,50	LAM 5	Durant induction : atteinte pulmonaire lobaire moyenne droite, syndrome inflammatoire, hyperthermie, aucune documentation fongique, antigénémie aspergillaire négative	Amphotéricine B liposomale IV	45 mg/j	40	Evolution clinique favorable : apyrexie.

Dans notre population d'étude, un traitement probabiliste a été initié chez 13 patients. Parmi ces 13 patients certains ont eu recours à deux traitements probabilistes antifongiques pendant la prise en charge de leur pathologie cancéreuse. Au total 18 traitements probabilistes différents ont pu être administrés à nos 13 patients.

La caspofungine a été initiée en première intention dans 6 cas soit 33% des traitements probabilistes, devant une aplasie fébrile non documentée, avec une fièvre résistante aux antibiotiques depuis 72 heures, faisant suspecter une infection fongique. Le traitement est débuté sans documentation fongique ou moléculaire sur un prélèvement du patient. En deuxième intention, la caspofungine a été prescrite en association à l'amphotéricine B liposomale, dans un seul cas, suite à l'aggravation d'une pleuropneumopathie et apparition d'une cavitation évoquant fortement une infection aspergillaire invasive. Finalement aucune documentation aspergillaire n'a été retrouvée chez ce patient après le début de cette association. Dans cette indication, l'utilisation de la caspofungine n'a pas l'AMM pédiatrique.

L'amphotéricine B liposomale a été initiée dans 6 cas ce qui représente 34%, dont 4 fois en première intention et 2 fois en deuxième ligne de traitement. L'amphotéricine B liposomale a été prescrite en première intention à 4 patients (dont 4 fois en monothérapie et une fois en association). Ces patients présentaient tous une hyperthermie, un syndrome inflammatoire élevé et surtout une atteinte pulmonaire avec une antigénémie et une documentation aspergillaire négative. L'initiation de l'amphotéricine B liposomale en première intention a lieu lorsque une infection fongique pulmonaire est soupçonnée et notamment une aspergillose pulmonaire. L'utilisation de l'amphotéricine B liposomale en relais a été réalisée une fois en relais de la caspofungine (suite à une cytolyse hépatique sous caspofungine avec arrêt du premier traitement et switch par l'amphotéricine B liposomale) et une fois en association à la caspofungine devant l'aggravation d'une infection pulmonaire évoquant fortement une aspergillose pulmonaire mais sans documentation fongique ultérieurs (pas d'AMM pédiatrique pour cette association de l'amphotéricine B liposomale et de la caspofungine).

Le voriconazole a été initié en première intention à trois patients (ce qui représente 17% des prescriptions probabilistes), devant un syndrome inflammatoire élevé mais surtout un portage aspergillaire ou une antigénémie aspergillaire associée ou non à des symptômes pulmonaires et à des imageries évocatrices. Les imageries radiographiques n'étant que tardivement spécifiques d'une infection aspergillaire, le voriconazole peut être initié même si la radiographie du thorax est normale et que les prélèvements mycologiques réalisées sont négatifs (car se positivent tardivement également). Le voriconazole per os a été instauré chez un patient en relais de la caspofungine devant une évolution défavorable de la symptomatologie pulmonaire sous caspofungine mais résolutive sous voriconazole et antibiotiques.

Enfin le fluconazole a été initié en première intention à deux reprises (soit 11% des prescriptions des traitements probabilistes) devant une aplasie fébrile non documentée résistante aux antibiotiques et sans syndrome inflammatoire très élevé.

La durée du traitement probabiliste varie de 5 à 40 jours jusqu'à la disparition de la fièvre et des signes cliniques. L'évolution dans le service des patients ayant reçu ce traitement probabiliste est favorable avec une diminution des signes cliniques et une apyrexie obtenue après l'ajout du traitement antifongique au traitement antibiotique déjà débuté.

2.4. Traitement curatif en pédiatrie : analyse de la littérature

L'utilisation de la caspofungine en première ligne de traitement ou en traitement de sauvetage dans les candidoses et aspergilloses invasives, a été développée dans une étude prospective dans les candidoses et aspergilloses invasives documentées. 49 enfants âgés de 6 mois à 17 ans ont été inclus et ont reçu une dose de charge de 70 mg/m^2 puis 50 mg/m^2/j (avec un maximum de 70 mg/j). Le succès à la fin du traitement par Cancidas® était de 81% dans les candidoses invasives, de 100% dans les candidoses œsophagiennes et de 50% dans les aspergilloses invasives (60).

2.5. Traitement curatif : stratégie thérapeutique dans le service

Le tableau suivant regroupe les patients du service pour lesquels une infection fongique a été documentée et ayant reçu un traitement curatif durant leur hospitalisation.

Tableau X : traitement curatif des infections fongiques dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique du CHU de Nancy.

Patient	Age	Poids (kg)	Pathologie sous jacente	Symptômes et signes d'une documentation mycologique	Traitement curatif reçu	posologie	Durée (j)	Efficacité du traitement et **toxicité**
14	15	69	LAL B	Pendant intensification : mycose buccale à *Candida albicans*	Fluconazole PO	200 mg/j	30	Amélioration clinique
15	10	26	LAL T	Nodules pulmonaires et syndrome inflammatoire. PCR aspergillaire positive et présence de filaments septés	Voriconazole IV en 1ère intention	200 mg, 2 fois par jours puis 300mg, 2 fois par jour	Plus de 90j	**-Toxidermie sous voriconazole et tazocilline**.
					Relais AmB-L car contre indication avec alcaloïdes de la pervenche.	5 mg/kg/j	30j	-Stabilité des nodules, PCR aspergillaires négatives, traitement chirurgical **-Contre indication voriconazole alcaloïde de la pervenche**.
16	4	16	LAL B	Candidose buccale documentée durant intensification	Fluconazole PO	200 mg/j	11j	Très bonne évolution.
3	17	61	LAL B	Post allogreffe : antigénémie aspergillaire positive, avec des lésions parenchymateuses pulmonaires évoquant des lésions débutantes, dans un contexte de GvH cutanée	Voriconazole IV	250 mg, 2 fois par jour	Au long court	Diminution de l'antigénémie (reste positive)

				Candidose buccale, avec aplasie fébrile et syndrome inflammatoire.	Fluconazole IV	400 mg/j	33	Sortie d'aplasie et évolution favorable
4	18	80 2m^2	LAL B	Post allogreffe non apparentée : Nécrose épaule gauche, *Fusarium proliferatum* sur PCR pan fongique. Fusariose cutanée, pulmonaire et sinusienne avec antécédent de suspicion aspergillaire	-Association caspofungine IV+ voriconazole IV	-70 mg/j1 puis 50 mg/j V-fend® : 350mg, 2 fois par jour.	-47j pour caspofungine . -au long cours pour voricon-azole.	-Evolution favorable sous caspofungine et voriconazole, avec diminution des douleurs et lésions cutanées et sortie d'aplasie. Nette amélioration pulmonaire et sinusienne au scanner. Pas d'indication de la chirurgie **-myoclonie : surdosage voriconazole**
17	5	16	LAM 1 avec monos o-mie 7	Durant induction en aplasie : sinusite maxillaire bilatérale sans atteinte pulmonaire, antigénémie aspergillaire positive, PCR négative	AmB-L	5 mg/kg/j	31j	**V-fend en prophylaxie secondaire devant ATCD aspergillose en consolidation**
18	16	65 1,62 m^2	LAL B	Durant induction : détresse respiratoire, épanchement pleural droit massif avec pneumopathie et empyème cérébral. *Candida lypolitica avec empyème cérébral et PCR* pan fongique positive dans le LCR	Association AmB-L iv+ caspofungine	-AmB-L : 150 mg/j (soit 2,5 mg/kg/j) -70 mg/j1 puis 50 mg/j	-AmB-L au long court. -arrêt caspofungi-ne car évolution favorable.	-Evolution favorable de l'infection cérébrale et pulmonaire. Négativation du syndrome inflammatoire. Persistance d'un petit foyer pulmonaire, maintien de l'AmB-L seul. **Perturbation rénale (baisse de la clairance rénale) et hypokaliémie sous AmB-L.**
				Suite allogreffe : image du lobe supérieur droit en grelot et documentation *Aspergillus fumigatus*	Voriconazole	6 mg/kg deux fois par jour	Décès suite d'une allogreffe.	Lobectomie réalisée, syndrome inflammatoire élevé, hépatomégalie (CMV), antigénémie aspergillaire en baisse sous voriconazole.

19	7	17 0,72 m^2	LAL B	Durant induction sur aplasie : Aspergillose pulmonaire compliquée d'une péricardite et d'une tamponnade, antigénémie aspergillaire positive, syndrome inflammatoire et douleur thoraciques, nombreux filaments fongiques à la biopsie pulmonaire	-AmB-L IV -puis Caspofungine IV car méthotrexate haute dose	-AmB-L : 50 mg/j (soit 3 mg/kg/j) Cancidas : 40 mg/j	-5j -au long court	-Reprise de la chimiothérapie et cicatrisation de l'aspergillose pulmonaire invasive **CI : MTX+AmB-L** **Hypokaliémie sous ambisome**
				Douleur thoracique, augmentation de l'excavation et de la pneumopathie, hyperthermie.	Association : voriconazole+ caspofungine	-V-fend : 200 mg, 2 fois /j soit 25mg/kg/j (au départ) 10mg/kg/ 12h, dose inefficace)	55j	-Pas d'oxygénodépend-ance, diminution du syndrome inflammatoire biologique, nette régression de l'épanchement péricardique. Réagrégation après 20 jours de la bithérapie antifongique avec douleur thoracique, fièvre et syndrome inflammatoire. Arrêt du voriconazole car inefficace et maintien de l'AmB-L seul car stabilité des lésions séquellaires.
20	2	10	LAL B	Durant induction : candidose buccale et siège	Fluconazole	400 mg/j	25j	Fièvre résolutive et absence de syndrome inflammatoire
21	10	25	LAL B	Durant induction : candidose buccale (*Candida albicans* ORL)	Fluconazole PO	200 mg/j	Au long court	-Evolution favorable **-Cytolyse hépatique sous fluconazole, d'où arrêt du traitement ATF.**
22	12	30	LAL B	Durant induction : Aplasie, Persistance de la fièvre, nodules pulmonaires, imagerie en verre dépoli, douleurs thoraciques, syndrome inflammatoire antigénémies aspergillaires et PCR négatives.	Voriconazole PO	250 mg, 2 fois par jour diminué à 200 mg, deux fois par jour car surdosage	60j puis en couverture prophylacti-que secondaire au long court	-Sortie d'aplasie, aspect stable des lésions et amélioration au scanner **Surdosage au voriconazole (diminution à 200mg, 2 fois/j)**

23	3	11 0,52 m^2	Neuroblastome surrénalien gauche	Suite autogreffe : hyperthermie, pneumopathie bilatérale, oxygène dépendance, antigénémie Candida positive à deux reprises (candidose invasive)	caspofungine	25 mg/j	-minimum 35 jours	Apyrétique et évolution favorable avec poursuite de son protocole (radiothérapie)
24	14	47 1,44 m^2	LAL B	Sinusite sphénoïdale bilatérale, épanchement de la plèvre, image en verre dépoli, oxygène dépendance, antécédents de portage d'*Aspergillus versicolor,* syndrome inflammatoire, pas de documentation aspergillaire .	-AmB-L -puis caspofungine devant tubulopathie	-5mg/kg/j -70 mg/j1 puis 50 mg/j	-16 -5j	Le scanner des sinus et poumons montre une absence de foyers et une diminution des épanchements **Tubulopathie sous AmB-L**
25	10	33	LAM 5	Candidose buccale, dépôt blanchâtre de l'arbre et suramygdale gauche.	Fluconazole PO	200 mg, deux fois par jour	10j	Bonne évolution
				Pneumopathie basale gauche évolutive, Rhizomucor retrouvée dans liquide pleural et LBA, dégradation respiratoire puis dégradation rénale, atteinte pulmonaire bilatérale avec traitement chirurgical impossible.	Association amphotéricine B liposomale et posaconazole PO	-AmB-L 10 mg/kg/j puis 7,5 mg/kg/j. -200 mg, 4 fois /j (puis doublement des doses car dosage inefficace)	10j puis décès	Dégradation respiratoire et rénale, chirurgie impossible car atteinte bilatérale, décès par détresse respiratoire. **Néphrotoxicité de l'AmB-L, d'où diminution de la dose**
26	8	22 0,85 m^2	LAM 1	Pneumopathie nodulaire diffuse avec une antigénémie aspergillaire positive deux mois avant.	-Caspofungine IV puis -AmB-L	-70 mg/j 1 puis 50 mg /j 5 mg/kg/j	42 -6 semaines	-Apyrexie rapide dès la 70ème heure, régression complète du syndrome inflammatoire. Le scanner montre une nette régression en taille et nombre des nodules des deux champs pulmonaires. **Tubulopathie sous AmB-L**
8	16	59	LAL B	Durant induction : candidose buccale, fièvre et syndrome inflammatoire.	Fluconazole PO	400 mg/j	15j	Bonne évolution
11	15	71	LAL B	Durant consolidation : mycose buccale	Fluconazole PO	400 mg/j	15j	Amélioration de la mycose mais persistance de la mycose .

Ainsi 17 patients ont reçu un traitement curatif pour une infection fongique documentée. Parmi ces 17 patients, 4 d'entre eux avaient déjà eu un traitement probabiliste auparavant et seront donc présents dans les deux tableaux (probabiliste et curatif : patients 3, 4, 8 et 11). Au total 25 traitements curatifs différents ont été administrés pour ces 17 patients. Chez 4 patients un premier traitement curatif a été initialement prévu mais a suscité un arrêt et un changement de traitement. L'interruption du premier traitement s'explique soit par une toxicité ou effet indésirable dû à cette molécule ou bien à une contre indication avec les molécules utilisées pour les protocoles de chimiothérapies (exemple patient 15 : contre indication du voriconazole avec les alcaloïdes de la pervenche). Les toxicités des traitements antifongiques seront développées dans une des parties suivantes. C'est le cas des patients 15, 19, 24 et 26.

D'autres patients ont reçu un deuxième traitement curatif au cours de leur protocole de chimiothérapie parce qu'ils ont développé un deuxième épisode d'infection fongique différent du premier et qui a requis la mise en place de ce second traitement. C'est le cas des patients 4 et 25 qui après avoir reçu un traitement curatif pour une candidose buccale ont été traités pour une autre affection fongique. Le patient 18 a reçu un premier traitement curatif pour une candidose invasive durant son traitement d'induction et un second traitement curatif lui a été instauré dans les suites de son allogreffe pour une aspergillose pulmonaire.

Le traitement curatif d'une candidose buccale documentée par fluconazole (Triflucan®) a été ainsi administré à 8 patients, soit 32% du total des prescriptions curatives.

Le voriconazole (Vfend®) a été initié à 6 reprises en première intention devant une documentation aspergillaire, soit 24% de l'ensemble des traitements curatifs, dont 4 fois en monothérapie (patients 3, 15, 18 et 22) et deux fois en association devant une aggravation du tableau clinique (patient 19) ou bien une documentation d'une fusariose (patient 4). Cette prescription du voriconazole en monothérapie est motivée par une documentation aspergillaire mycologique, immunologique et radiologique.

Les autres cas d'aspergilloses documentées ont été traités par amphotéricine B liposomale (Ambisome®). Ainsi ce traitement a été administré à 5 patients atteints d'une aspergillose, dont 3 fois en monothérapie en première ligne de traitement (patient 17, 19 et 24). L'interaction de l'amphotéricine B liposomale avec des hautes doses de méthotrexate et une hypokaliémie au cours du traitement, a nécessité l'arrêt du traitement et l'utilisation de la caspofungine chez le patient 19. En deuxième ligne de traitement l'amphotéricine B a été administrée chez le patient 15 en raison d'une contre indication du premier choix avec la chimiothérapie en cours, et chez le patient 26. Enfin l'amphotéricine B liposomale a été utilisée en association pour le patient 18 en raison d'une candidose invasive et le patient 25 pour une documentation de mucormycose pulmonaire.

La caspofungine a été prescrite chez 4 patients en monothérapie devant une candidose invasive ou une aspergillose pulmonaire, dont deux fois en relais de l'amphotéricine B liposomale pour cause de tubulopathie (patients 19 et 24). L'emploi de la caspofungine en

association avec une autre molécule antifongique a été réalisé chez trois patients différents devant une fusariose documentée du patient 4, une candidose pulmonaire pour le patient 18 et devant l'aggravation de l'aspergillose pulmonaire du patient 19.

Les graphiques ci-dessous montrent le changement des pratiques en pédiatrie et l'évolution des prescriptions des molécules antifongiques dans la prise en charge des aspergillose et candidoses. Il nous permet de comparer les pratiques de prescription en 2000-2001, 2005-2006 avec le service du CHU de Nancy de 2010-2013 (61).

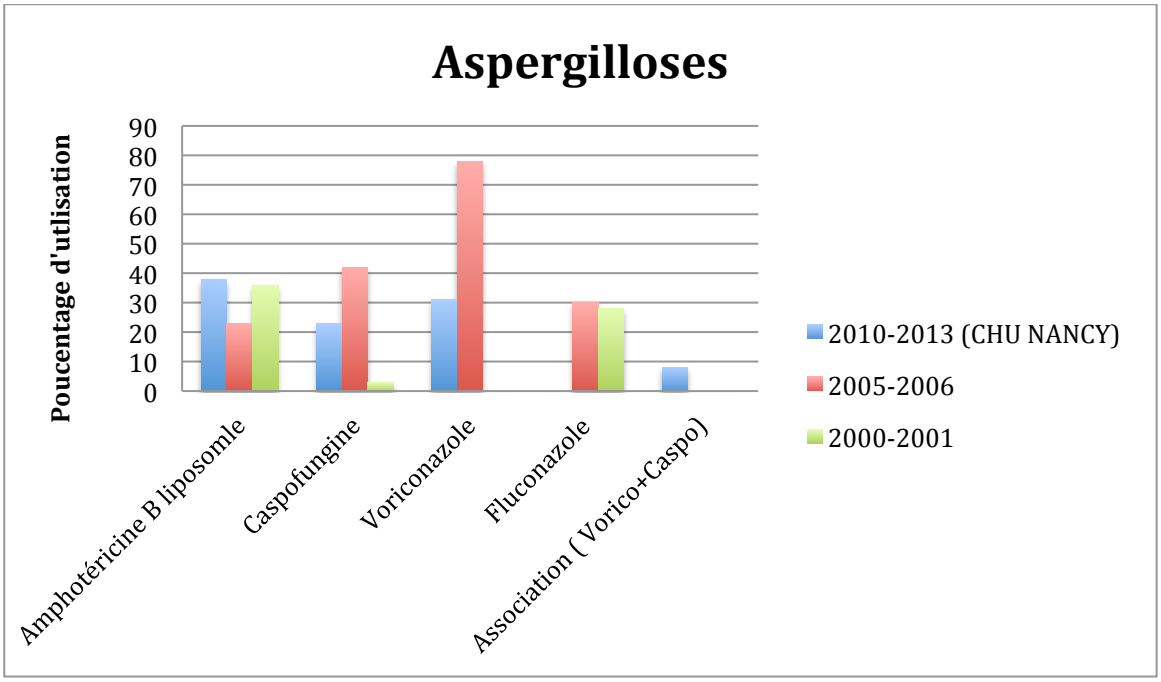


Figure 8 : évolution des prescriptions d'antifongiques (1ère et 2ème intention) dans le traitement curatif des aspergilloses.

Le voriconazole représentait la molécule de choix pour le traitement des aspergilloses en 2005-2006. Dans le service du CHU de Nancy, on observe que le choix des molécules pour le traitement des aspergilloses est réparti de façon homogène entre l'amphotéricine B liposomale, le voriconazole et la caspofungine. De plus, le recours à des associations de molécules n'apparaît que dans des stratégies curatives récentes. Le fluconazole a vu son utilisation diminuer au cours du temps jusqu'à ne plus être utilisé dans le traitement des aspergilloses puisque les espèces aspergillaires y sont résistantes (61).

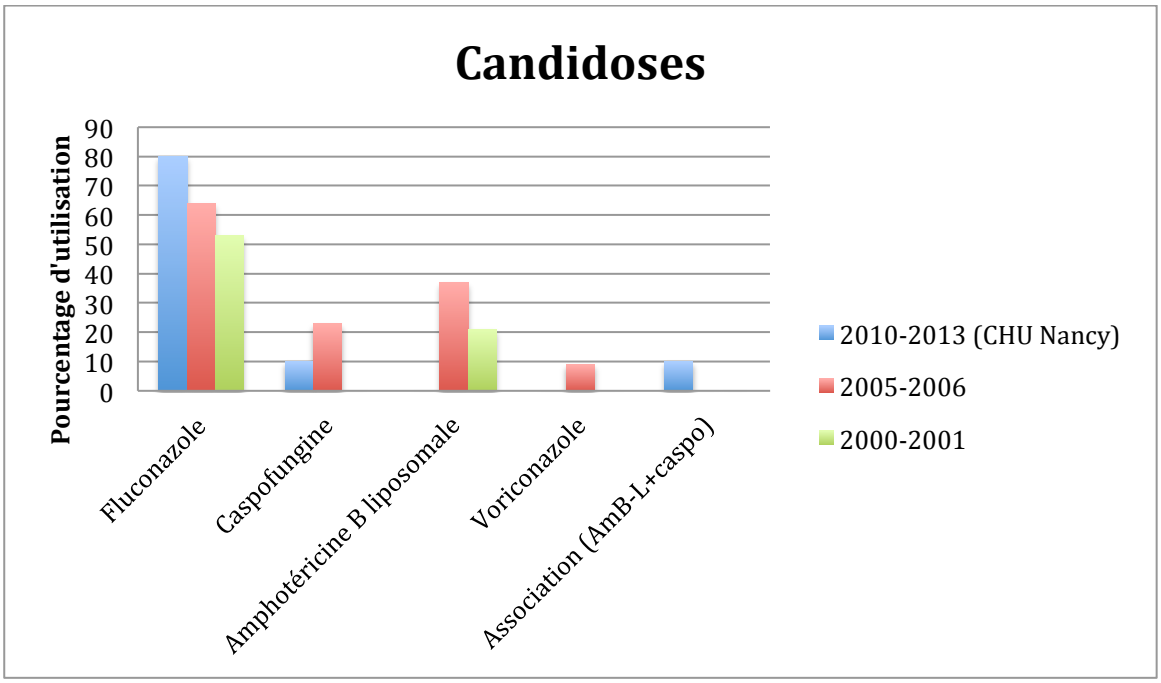


Figure 9 : évolution des prescriptions d'antifongiques (1ère et 2ème intention) dans le traitement curatif des candidoses buccales et invasives.

En ce qui concerne le traitement des candidoses, le fluconazole reste la molécule de choix. Les pratiques ont peu évolué dans le traitement des candidoses. L'association utilisée dans le service a été utilisée suite au diagnostic d'une candidose invasive.

2.6. Prophylaxie des patients greffés : analyse de la littérature

2.6.1. Prophylaxie primaire

Les recommandations ECIL 4 se basent sur quelques études randomisées incluant des patients adultes et pédiatriques greffés de cellules souches hématopoïétiques et qui ont bénéficié d'un traitement prophylactique.

La première étude s'est intéressée à l'utilisation de la micafungine à la posologie de 1 mg/kg et du fluconazole à la posologie de 8 mg/kg, pour les patients ayant un poids inférieur à 50 kg. Ces deux molécules ont été utilisées en prophylaxie primaire durant la phase de neutropénie post greffe chez 84 patients en pédiatrie âgés de moins de 16 ans. Les résultats de cette étude ont montré une efficacité supérieure de la micafungine vis-à-vis du fluconazole (62).

L'autre étude a été menée sur 51 enfants âgés de plus de 2 ans et a comparé l'utilisation du fluconazole et du voriconazole (63). Le voriconazole présente l'avantage d'avoir un spectre large et d'être administrable en iv ou per os. L'utilisation de ces deux molécules en traitement prophylactique chez des patients greffés n'a pas montré de différence significative aussi bien en terme d'efficacité qu'en terme d'effets secondaires observés.

D'autres études s'intéressant à la prophylaxie de ces patients existent dans la littérature. Dans les années 2000 la prophylaxie par le fluconazole a permis une nette réduction des infections fongiques invasives (IFI), de la mortalité due aux IFI et de la mortalité globale (64). Une étude comparative du fluconazole versus placebo a montré l'efficacité de la prophylaxie par le fluconazole à 400mg/j et la réduction de l'apparition d'infections fongiques et une survie plus importante après la greffe chez les patients greffés (64). L'utilisation des azolés en prophylaxie primaire est associée à l'émergence de souches résistantes aux azolés d'autant plus que la posologie employée est faible (3).

En 2007 une étude comparant le posaconazole au fluconazole comme prophylaxie primaire chez les patients ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques et atteints de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) a montré une diminution des IFI sous posaconazole. Le résultat en terme de mortalité globale ou d'effets secondaires liés au traitement n'a pas montré de différence (65).

Dans une autre étude comparant le voriconazole et l'itraconazole en prophylaxie primaire chez les patients allogreffés de CSH, les critères principaux étaient l'absence d'IFI probable ou prouvée, la survie à 180 jours post greffe et le fait de ne pas avoir arrêté la prophylaxie pendant plus de 14 jours pendant les 100 premiers jours. Les résultats ont montré la supériorité du voriconazole du fait de sa tolérance et de son acceptabilité par les patients allogreffés (donc moins d'interruption du traitement). L'incidence des IFI et la survie à 180 jours après la greffe n'ont pas montré de différence significative entre les deux groupes (66).

Les recommandations de durée de cette prophylaxie primaire chez les patients allogreffés étaient de 90 à 100 jours. Cette durée pouvait dépasser les 100 jours dans le cas d'une GVHD ou d'utilisation d'un traitement immunosuppresseur. Les dernières études concernant la durée de cette prophylaxie n'ont pas encore fourni de résultats (56).

2.6.2. Prophylaxie secondaire

La prophylaxie secondaire a pour but de prévenir une nouvelle survenue d'infection fongique chez un patient en neutropénie profonde ou en post-greffe. Elle est dite secondaire car ce type de patient a déjà connu un épisode infectieux fongique au début de son traitement de chimiothérapie avant la greffe. Deux études rétrospectives ont démontré un effet protecteur de la prophylaxie secondaire dans la survenue d'IFI chez des patients ayant reçu une allogreffe (56).

Plus récemment, une étude prospective a été menée sur l'utilisation du voriconazole chez 45 patients bénéficiaires d'une greffe allogénique et ayant développé une infection fongique profonde au début de leur traitement. Sur ces 45 patients, seulement 3 ont développé une infection fongique invasive durant la première année post greffe (67).

Le groupe de travail ECIL 4 affirme que la prophylaxie secondaire diminue le risque de survenue d'infections fongiques chez ces patients (57). Cette recommandation s'appuie sur une étude réalisée sur 11 patients adolescents ayant développé une infection fongique

probable et ayant bénéficié d'une prophylaxie antifongique secondaire contre l'aspergillose pulmonaire durant leur greffe (68). Les molécules utilisées étaient l'amphotéricine B liposomale à la dose de 1mg/kg/j suivi par le voriconazole 200 mg per os jusqu'à la fin de la période de risque. Les résultats de cette étude montrent une réponse partielle chez 9 patients et une réponse complète chez deux patients.

2.7. Analyse de la prophylaxie primaire et secondaire des patients greffés dans le service

L'allogreffe expose à un fort risque d'infection bactérienne, virale ou fongique. Associé à son traitement immunosuppresseur pour prévenir la maladie du greffon contre l'hôte, les prescripteurs mettent en place une prophylaxie antibiotique, antivirale et antifongique jusqu'à 360 jours après la greffe.

Sur notre population de 26 patients, 6 patients ont reçu une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Parmi eux, 4 étaient atteints d'une leucémie aiguë lymphoblastique de type B (LAL B), un patient atteint de LAL T, et un dernier patient atteint d'une LAM 1.

Une patiente a bénéficié d'une autogreffe dans le cadre d'un neuroblastome surrénalien gauche médullaire et osseux.

Les pratiques du service dans le cadre d'une prophylaxie primaire post-greffe utilisent le fluconazole IV (Triflucan) de J1 à J30 relayé par itraconazole (Sporanox®) per os de J31 à J100. Cette pratique est réalisée lorsque le patient n'a pas déjà présenté une infection fongique probable traitée par un antifongique azolé.

Le tableau XI regroupe les stratégies de prophylaxie primaire et secondaire utilisées chez les patients du service ayant bénéficiés d'une greffe.

Tableau XI : stratégie thérapeutique antifongique chez les patients greffés du service.

Patient greffé	Age (ans)	Antécédent d'infection fongique et traitement utilisé (posologie et durée)	Toxicité du traitement utilisé	Type de greffe	GvH	Prophylaxie primaire utilisée	Prophylaxie secondaire
Patient 1	21	-Caspofungine pendant 27 jours devant la persistance de la fièvre	Toxidermie pendant le traitement antibiotique et antifongique	-Allogreffe	-Non	-Fluconazole IV (Triflucan®) de J1 à J30 puis itraconazole per os (Sporanox®) de J 31 à J100.	
Patient 3	17	-Lésions hémorragiques sus et sous tentorielles sans documentation fongique traitées par amphotéricine B liposomale à la dose de 150mg/j pendant 12 jours. (probabiliste)		-Allogreffe de moelle non apparentée.	-Gvh cutanée	-Fluconazole IV de J0 à J30 post greffe puis itraconazole per os de J30 à J100.	-Voriconazole 250 mg deux fois par jour (avec arrêt de l'itraconazole) car antigénémie aspergillaire positive, poursuivi en couverture prophylactique secondaire
Patient 4	18	-Fièvre à 72 h d'ATB : prescription de Caspofungine puis de l'Ambisome® (15j d'Ambisome®). -Candidose buccale traitée par fluconazole 150mg/j pendant 15 jours. -Imagerie en faveur d'un grelot aspergillaire associée à une antigénémie aspergillaire positive : patient traité par amphotéricine B liposomale.	-Cytolyse hépatique sous Cancidas®. -Hypokaliémie sous amphotéricine B liposomale.	-Allogreffe de cellules souches hémato-poïétiques	-Non	-Fluconazole IV de J1 à J30 puis itraconazole per os de J31 à J100.	-Association caspofungine (47 jours) et voriconazole 350 mg/j (poursuivi seul au long cours) pour le traitement d'une fusariose cutanée, pulmonaire et sinusienne.

Patient 17	5	-Sinusite maxillaire bilatérale sans atteinte pulmonaire associée à une antigénémie aspergillaire positive à deux reprises : amphotéricine B liposomale pendant 31 jours.		-Allogreffe de moelle apparentée.	-Gvh digestive haute.	-Fluconazole IV de J1 à J30 puis itraconazole per os de J31 à J100.	-Crise convulsive généralisée : amphotéricine B liposomale en prophylaxie secondaire et en couverture antifongique en attendant les résultats des prélèvements. (puis arrêt)
Patient 18	16	-Epanchement pleural à candida lypolitica : utilisation de l'amphotéricine B liposomale. -PCR pan fongique sur prélèvement LCR positive à *Candida lypolitica*: association de l'amphotéricine B liposomale IV 150mg/j et de la caspofungine. L'amphotéricine B liposomale sera maintenu seul devant l'évolution favorable.	-Perturbation rénale sous amphotéricine B liposomale.	-Allogreffe de cellules souches.	-Non	Amphotéricine B liposomale durant toute la durée de la greffe devant une aspergillose pulmonaire persistante, associée au voriconazole iv (jusqu'à j 100)	-Voriconazole à la posologie de 200mg/j en prophylaxie secondaire car prélèvement positif à *Aspergillus fumigatus*.
Patient 24	14	-Traitement par amphotéricine B liposomale devant une sinusite sphénoïdale bilatérale et pleurésie bilatérale. (antécédent de portage d'aspergillus Versicolor) puis par caspofungine.	-Tubulopathie sous Amphotéricine B liposomale.	-Allogreffe	-Non	Fluconazole IV de J1 à J11 (décès à J11 de la greffe)	

Commentaire : on remarque que chez 5 greffés sur 6 le protocole du service reste le même avec l'utilisation du fluconazole IV durant les 30 premiers jours suivants la greffe puis de l'itraconazole per os jusqu'au 100ème jour post-greffe.

Chez le patient 4 on constate que la prophylaxie primaire par fluconazole a été conservée malgré l'utilisation de cette même molécule pour le traitement d'une candidose buccale pendant la chimiothérapie avant la greffe.

Pour le patient 18 cette prophylaxie primaire post greffe est assurée par l'amphotéricine B liposomale (associée au voriconazole) déjà utilisée en traitement curatif pour une candidose invasive (en association à la caspofungine). L'Ambisome® n'a pas l'AMM en prophylaxie primaire chez les patients neutropéniques pendant la greffe.

En ce qui concerne la prophylaxie secondaire qui est fortement recommandée par ECIL 4, le voriconazole possède une place de choix dans les prescriptions du service. Il est prescrit chez 3 patients allogreffés soit seul, soit en association à la caspofungine lorsque l'évolution sous Cancidas® était jugée favorable durant la première infection fongique. L'amphotéricine B liposomale a également été utilisée dans cette prophylaxie secondaire chez le patient 17. L'Ambisome® présente une utilisation temporaire acceptable en prophylaxie secondaire en pédiatrie.

2.8. Analyse de la tolérance des traitements dans le service

Les traitements antifongiques ont été accompagnés de certaines manifestations toxiques. Il est difficile d'imputer l'effet indésirable au seul traitement antifongique surtout lorsque celui-ci est associé à un traitement antibiotique ou bien aux molécules anticancéreuses. Certains effets sont cependant caractéristiques des molécules antifongiques et ont été relevés dans notre population d'étude.

En traitement probabiliste trois effets indésirables ont été relevés soit une incidence de 17% sur la globalité des traitements probabilistes utilisé (soit 3/18). C'est le cas pour le patient 4 avec une cytolyse hépatique sous caspofungine ayant nécessité son arrêt puis le relais par amphotéricine B liposomale. Chez le patient 4 ainsi que chez le patient 9 une hypokaliémie sous amphotéricine B liposomale a été notée. Les effets indésirables sous traitement antifongique probabiliste sont moins importants quantitativement et en gravité car la durée de ces traitements probabilistes est moindre que les traitements curatifs.

Pour les traitements curatifs, 9 effets indésirables ont été notés chez neuf patients ayant bénéficié d'un traitement curatif, soit une incidence de 36% (9/25). Nous allons développer les effets recensés pour chaque molécule utilisée en traitement curatif.

2.8.1. Effets indésirables sous voriconazole (Vfend®)

Les effets indésirables sous voriconazole en traitement curatif ont été observés chez deux patients alors que cette molécule a été employée à six reprises pour six patients différents.

Une toxidermie a été observée pour le patient 15 après une utilisation du voriconazole à la dose de 200mg, 2 fois par jour associé avec un antibiotique (tazocilline). Cette réaction imputable à l'antifongique ou à l'antibiotique a requis l'arrêt momentané de l'antifongique et le changement de l'antibiothérapie. La posologie chez ce patient était légèrement au dessus de la posologie pédiatrique recommandé, mais la reprise du voriconazole par la suite à la posologie de 300 mg, 2 fois par jour montre que l'effet indésirable observé n'était pas lié à un surdosage. De plus le voriconazole est une molécule particulièrement suivie par dosage sérique chez les patients en pédiatrie.

Le voriconazole a provoqué une myoclonie chez le patient 4 : il était traité par association de la caspofungine au voriconazole pour une fusariose cutanée et pulmonaire (avec un antécédent d'aspergillose suspectée traitée par voriconazole seul en probabiliste). La cause de cette toxicité est un surdosage détecté par suivi sérique avec une posologie de 350 mg, 2 fois par jour chez un patient de 80 kg. Cette dose a été diminuée à 300 mg, 2 fois par jour.

2.8.2. Effets indésirables sous caspofungine (Cancidas®)

Les effets indésirables sous caspofungine sont rares en raison de sa bonne tolérance et des faibles interactions avec les autres antifongiques. Deux effets indésirables ont été relevés chez deux patients sous caspofungine. Une cytolyse hépatique a nécessité le changement du traitement probabiliste par amphotéricine B liposomale pour le patient 4. Au total 7 patients ont bénéficié de ce traitement curatif seul ou en association et aucun effet indésirable n'a été relevé chez les patients traités par caspofungine de façon curative.

2.8.3. Effets indésirables sous amphotéricine B liposomale (Ambisome®)

L'amphotéricine B liposomale est le traitement le plus associé à des manifestations toxiques. La néphrotoxicité de cette molécule a été mise en évidence chez 5 patients différents, alors que 7 patients au total ont bénéficié de cette molécule en traitement curatif (en première intention, en relais ou en association).

Une perturbation rénale avec une diminution de la clairance de la créatinine et une hypokaliémie ont été observées chez 5 patients traités par amphotéricine B liposomale (patients 18, 19, 24, 25, et 26). Cette toxicité est rapportée alors que dans tous les cas les doses administrées étaient conformes aux recommandations en fonction du poids des patients.

L'évolution favorable des signes cliniques et d'imagerie de ces patients sous amphotéricine B liposomale traités pour une aspergillose probable ou prouvée, a permis le maintien de cette molécule. Le rapport bénéfice-risque du traitement était nettement en faveur du bénéfice. Les effets indésirables étaient donc maitrisés par une supplémentation en potassium et une hydratation du patient avec une surveillance accrue de la fonction rénale. Un relais par caspofungine a été réalisé chez le patient 24 en raison d'une tubulopathie à l'ambisome®.

Dans un autre cas c'est la contre-indication de l'amphotéricine B liposomale initiée dans le cadre d'une aspergillose pulmonaire invasive avec le méthotrexate haute dose qui a nécessité le relais par la caspofungine (patient 19). Ce changement est expliqué par l'élimination rénale du Méthotrexate qui peut aggraver l'éventuelle atteinte rénale causée par l'Ambisome®. Le relais par la caspofungine a permis une stabilité des lésions cliniques chez ce patient.

2.8.4. Autres effets indésirables

Une cytolyse hépatique a été observée chez un patient suite à un traitement d'une candidose buccale par fluconazole oral à la dose de 200mg/j qui a nécessité l'arrêt du traitement (patient 21). Les recommandations de l'utilisation du fluconazole dans le traitement curatif d'une candidose (6-12 mg/kg/j) ont été respectées puisque le patient de 25 kg a reçu une dose quotidienne de 200 mg. C'est le seul effet indésirable recensé sous fluconazole pour les 7 patients traités par cette molécule antifongique.

Nous pouvons conclure que tous les effets indésirables survenus durant le traitement chez nos patients ont été relevés dans le cadre d'une utilisation des posologies recommandées en pédiatrie. Cela confirme la nécessité de la surveillance de la fonction rénale, hépatique et du suivi des concentrations sériques tout au long du traitement antifongique. Le suivi de concentrations sériques du voriconazole et de l'itraconazole est recommandé chez les enfants atteints d'infections fongiques invasives en raison de la variabilité interindividuelle du métabolisme et de la pharmacocinétique, en particulier dans la population pédiatrique. Ces dosages sériques permettent non seulement de prévenir les surdosages et par conséquent les manifestations toxiques, mais également de juger de l'efficacité du traitement face à l'infection. La réalisation d'antifongigramme dans certaines infections non résolutives permet la vérification de la sensibilité ou de la résistance de l'espèce face à la molécule choisie et une éventuelle possibilité de modification de traitement.

2.9. Discussion et comparaison des pratiques du service aux recommandations ECIL 4

Nous avons développé les molécules antifongiques possédant les AMM dans le domaine pédiatrique, les recommandations ECIL 4 et les pratiques thérapeutiques du service. Cette partie va nous permettre de comparer les pratiques de prescriptions d'antifongiques du service d'hémato-oncologie pédiatrique du CHU de Nancy aux recommandations ECIL 4, et également vérifier l'emploi de molécules possédant l'AMM dans le domaine pédiatrique. Cette comparaison est réalisée pour chaque type de traitement, d'abord prophylactique, puis probabiliste et enfin curatif.

2.9.1. Traitement prophylactique chez le patient neutropénique

Les recommandations IDSA ne préconisent une prophylaxie primaire de l'aspergillose que pour les patients atteints de LAM, de syndrome myélodysplasique, ou candidats à une allogreffe de cellules souches. Cette prophylaxie primaire est administrée jusqu'à la sortie de l'aplasie du traitement d'induction. Elle est basée sur l'utilisation du posaconazole (200 mg/8h PO) ou du voriconazole (4 mg/kg/12h PO/IV) si intolérance ou taux sérique de posaconazole faible (ou repas insuffisant en lipides). Les autres patients (autogreffe médullaire, lymphome) n'ont pas de prophylaxie primaire antifongique. Rappelons que ces recommandations concernent la population adulte et sont à adapter en pédiatrie.

ECIL 4 recommande cette prophylaxie avec un grade BII chez les patients atteints de leucémies à haut risque (LAM, patients greffés, et patients en rechute de leucémie). Les molécules recommandées dans le domaine pédiatrique sont le posaconazole et l'itraconazole (BI), l'amphotéricine B liposomale (BII) et le fluconazole (CI).

La stratégie préventive dans le service utilisant le fluconazole ne vise que la prévention des candidoses invasives chez les patients atteints de LAM. Cette molécule n'a pas d'activité sur les espèces *Aspergillus* et ne possède l'AMM pédiatrique qu'en prévention dans le cadre d'une greffe. L'autre molécule recommandée (BI) est l'itraconazole, elle possède l'avantage d'avoir un spectre sur les espèces *Candida* et *Aspergillus et* surtout d'avoir l'AMM pédiatrique dans la prévention des infections fongiques invasives chez les patients neutropéniques. L'utilisation de l'itraconazole avec un suivi sérique des concentrations ne représente-t-elle pas une meilleure alternative en prophylaxie des infections fongiques dans notre service?

La prévention chez les patients atteints de LAL considérés comme patient à risque modéré par ECIL 4 dans le service du CHU de Nancy par fluconazole aurait-elle un impact sur la réduction des infections fongiques invasives ?

L'utilisation en prophylaxie primaire d'antifongiques azolés, que ce soit le fluconazole ou l'itraconazole est associée à l'émergence de souches résistantes (54). Cette résistance sera

d'autant plus réelle que les posologies des azolés utilisés sont faibles. Cette utilisation aura un impact certain sur la prise en charge probabiliste ou curative de ces patients ayant reçu une prophylaxie primaire. Le développement d'infections fongiques sous une prophylaxie aux azolés est synonyme de résistances de l'espèce et donc nécessite le recours à d'autres familles de molécules antifongiques. Ceci restreint la marge de prescription d'antifongiques.

Nous pouvons donc dire que le service du CHU de Nancy suit les recommandations développées par ECIL 4 qui préconise une prophylaxie primaire systématique pour les patients à haut risque (BII). Les patients atteints de LAM, de syndrome myélodysplasique ou candidats à une allogreffe de cellules souches bénéficient de cette prophylaxie primaire dans le service. Concernant le choix de la molécule, le fluconazole utilisé dans le service ne permet de prévenir que les candidoses. Comme nous l'avons vu la décision d'un traitement prophylactique est liée au risque de développement d'espèces résistantes, ce qui réduirait les capacités de prescriptions. Cet équilibre est donc difficile à maitriser.

2.9.2. Traitement probabiliste

Les recommandations élaborées par ECIL 4 concernant le traitement probabiliste sont très claires (BII). Ce traitement doit être débuté après 96 heures de fièvre non documentée associée à un état de neutropénie fébrile. Ce traitement doit être poursuivi jusqu'à la résolution de l'épisode fébrile (BII). Les molécules qui sont recommandées pour ce traitement probabiliste sont la caspofungine et l'amphotéricine B liposomale (AI). Ces recommandations s'appuient sur les études pédiatriques que nous avons développées.

Dans le service du CHU de Nancy, l'amphotéricine B et la caspofungine ont été prescrites à 6 devant une fièvre non documentée chez un patient neutropénique. Le service d'hémato-oncologie pédiatrique adhère donc parfaitement aux recommandations ECIL 4. D'une part, par la mise en place de ce traitement recommandé chez certains patients, et d'autre part par le choix de molécules très fortement recommandées.

De plus ces deux molécules possèdent les AMM pédiatriques dans le traitement empirique des infections fongiques chez le patient pédiatrique en neutropénie fébrile. Nous pouvons conclure que les pratiques du service suivent à la fois les recommandations ECIL 4 et les référentiels de bon usage des médicaments antifongiques.

Le voriconazole a été initié chez trois patients en traitement probabiliste. Cette prescription a été motivée par un portage aspergillaire ou des signes radiologiques, ou bien une antigénémie aspergillaire positive, ce qui oriente vers une probable aspergillose pulmonaire. Le voriconazole possède une forte activité contre les espèces Aspergillus, son utilisation peut donc freiner la prolifération de l'espèce aspergillaire et limiter la probabilité d'une aspergillose invasive. Ceci peut expliquer l'orientation du choix de cette molécule dans le traitement probabiliste. Le voriconazole n'a pas l'AMM pédiatrique en traitement probabiliste.

Le fluconazole n'a pas d'AMM dans le traitement probabiliste des infections fongiques en pédiatrie. Son utilisation en première intention est limitée dans le service (2 cas seulement) chez des patients suspectés de développer une candidose buccale, devant une neutropénie fébrile non documentée.

Ces deux molécules, voriconazole et fluconazole ne sont pas recommandées par ECIL 4 dans le traitement probabiliste et ne possèdent pas l'AMM pédiatrique pour cette indication. Dans le service du CHU de Nancy leur utilisation reste limitée et n'est motivée que lorsque le traitement probabiliste est fortement orienté par les signes cliniques présentés par le patient.

Comme nous l'avons relevé dans le service, l'évolution de tous les patients sous traitement probabiliste est bonne après plusieurs jours de traitement probabiliste. Cependant nous pouvons poser la question suivante : combien de cas traités, avaient réellement une fièvre ou des signes imputables uniquement à une infection fongique ? De plus quel est le risque d'apparition d'espèces résistantes? Le développement de méthodes de diagnostic rapide PCR, détection de l'Ag galactommanane qui se positive plusieurs jours avant les signes cliniques, peuvent réduire l'utilisation à tort de ce traitement probabiliste.

2.9.3. Prophylaxie primaire et secondaire des patients greffés :

Prophylaxie primaire des patients greffés :

Les études publiées en pédiatrie ont amené ECIL 4 à recommander une prophylaxie primaire chez les patients allogreffés avec le score BII pendant les deux phases de l'allogreffe. Les recommandations ECIL 4 classent le fluconazole (Triflucan®) en grade AI et l'itraconazole (Sporanox®) ainsi que le voriconazole (Vfend®) en BI avec suivi sérique des concentrations durant la première phase post greffe de neutropénie fébrile. Lorsqu'il n'y a pas de maladie du greffon contre l'hôte dans les suites de la greffe, cette stratégie préventive doit être poursuivie jusqu'au retour du statut immunitaire du patient. Ces deux molécules (fluconazole et itraconazole) possèdent l'AMM pédiatrique dans la prévention des infections fongiques chez les patients greffés.

Dans le cadre d'une maladie du greffon contre l'hôte dans les suites de la greffe, le recours à des fortes doses d'immunosuppresseurs augmente le risque de développement d'infections fongiques invasives. ECIL 4 recommande l'utilisation du voriconazole (BI), du posaconazole (BI) et de l'itraconazole (CII) avec un suivi régulier des dosages sériques. Sur les 6 patients greffés, 5 ont reçu un traitement préventif durant les 100 premiers jours de greffe associant le fluconazole IV (30 premiers jours) et l'itraconazole per os (du 31ème au 100ème jour). L'amphotéricine B liposomale non recommandée a été utilisée chez un patient en couverture prophylactique post-greffe associée au voriconazole i.v, à cause de la persistance d'une aspergillose pulmonaire durant la greffe.

Les pratiques du service d'hémato-oncologie pédiatrique du CHU de Nancy concordent avec les recommandations publiées par ECIL 4 dans le cadre du traitement prophylactique pendant les deux phases post greffe.

Prophylaxie secondaire

Cette prophylaxie secondaire est administrée si un épisode infectieux fongique ancien est connu chez le patient. ECIL 4 recommande l'utilisation de cette stratégie dans la population pédiatrique, aussi longtemps que l'état du patient est immunodéprimé (AII). Cependant ECIL 4 ne recommande pas de molécules spécifiques dans ce traitement prophylactique secondaire. Le choix du traitement doit se faire en fonction de la réponse du patient au traitement utilisé face à la première infection fongique.

L'utilisation de cette prophylaxie secondaire dans le service s'appuie essentiellement sur les molécules entrant dans le cadre d'un PTT (protocole thérapeutique temporaire) dans cette indication. Il s'agit d'une situation temporaire acceptable, puisque aucune molécule ne possède d'AMM pédiatrique dans cette indication. Le voriconazole est prescrit à 3 reprises soit seul ou en association. Le voriconazole est en situation temporaire acceptable dans cette indication de prophylaxie secondaire. L'amphotéricine B liposomale utilisée à une seule reprise en prophylaxie secondaire et possède également une autorisation d'utilisation temporaire en pédiatrie dans cette indication.

D'autres molécules entrent dans le cadre d'une utilisation temporaire acceptable définie par L'ANSM (PTT : protocole thérapeutique temporaire). Ces molécules peuvent être utilisées dans la prévention secondaire en hématologie en cas d'échec ou de contre-indication à un traitement azolé antérieur (c'est le cas de l'Ambisome®). Le voriconazole et le posaconazole (enfant de plus de 13 ans pour le Noxafil®) et la caspofungine entrent également dans cette situation thérapeutique.

IDSA recommande une prophylaxie secondaire par voriconazole 4mg/kg/12h PO. Le posaconazole est en alternative 200 mg/8h PO en cas d'intolérance. Les autres molécules sont discutées selon l'émergence d'infections sous azolés.

Le recours par le service d'hémato-oncologie pédiatrique de Nancy à cette prophylaxie secondaire chez les patients greffés respecte les recommandations formulées par ECIL 4. Le choix de la molécule doit se faire en fonction du traitement reçu pendant le premier épisode d'infection fongique, de la réponse et de l'évolution du patient, et l'apparition éventuelle d'une toxicité.

2.9.4. Prophylaxie secondaire chez les patients neutropéniques

Dans le service, une prophylaxie secondaire a été réalisée par voriconazole durant le traitement de consolidation chez deux patients atteints de LAM 1 (patients 17 et 26) ayant développé une aspergillose probable durant leur traitement d'induction. Chez deux autres patients atteints de LAM 5 (patients 13 et 25), c'est une prophylaxie secondaire par caspofungine (Cancidas®) suite à un premier épisode infectieux fongique. Chez le patient 13 cette prophylaxie secondaire est poursuivie par le voriconazole. Pour le patient 15 atteint

d'une LAL T, une prophylaxie secondaire par voriconazole est maintenue relayée par de la caspofungine en cas d'utilisation de la vincristine dans la chimiothérapie. Cette prophylaxie secondaire anti-aspergillaire fait suite à une aspergillose pulmonaire traitée de façon curative durant l'intensification de la chimiothérapie protocolaire. La patiente 19 a également bénéficié d'une prophylaxie secondaire par voriconazole PO suite à une aspergillose pulmonaire invasive traitée pendant la cure d'intensification. ECIL 4 recommande cette prophylaxie secondaire chez les patients neutropéniques avec le même score que pour les patients greffés (AII).

Les prescriptions du service appliquent les référentiels de bon usage des médicaments antifongiques. Dans le cas de la prophylaxie secondaire des patients neutropénique en hématologie aucune molécule n'ayant l'AMM dans cette indication, le service utilise les molécules en protocole thérapeutiques temporaires. Ce sont des situations hors-AMM acceptables dont le rapport bénéfice-risque de la prescription du produit a été évalué comme étant favorable, sur la base de données disponibles. C'est le cas du voriconazole, de la caspofungine et de l'amphotéricine B liposomale.

2.9.5. Traitement curatif

Nous allons comparer les traitements curatifs employés dans le service du CHU de Nancy avec les recommandations ECIL 4 pour toutes les infections qui ont été documentées dans notre population.

Concernant les aspergilloses invasives : 8 cas ont été diagnostiqués au sein de notre population. Le choix du voriconazole IV en première intention a été réalisé chez 4 patients. Le recours à l'amphotéricine B liposomale en première intention a été observé à 3 reprises. La caspofungine a été initiée une seule fois en première intention pour le traitement d'une aspergillose et deux fois en relais de l'amphotéricine B liposomale en raison d'une tubulopathie rénale. ECIL 4 recommande l'utilisation du voriconazole IV avec suivi des dosages sériques (AI) et de l'amphotéricine B liposomale (BI) en première ligne dans le traitement curatif des aspergilloses invasives. L'association d'antifongiques est recommandée avec le grade CII en deuxième ligne de traitement. Cette association a été utilisée à une seule reprise chez le patient 19 en raison de l'aggravation des signes cliniques de l'aspergillose pulmonaire (donc en deuxième ligne). La caspofungine utilisée en relais de l'amphotéricine B liposomale est recommandée en deuxième ligne de traitement de l'aspergillose invasive (AII). Les molécules utilisées dans notre service, voriconazole, amphotéricine B liposomale et caspofungine possèdent toutes l'AMM pédiatrique pour le traitement des aspergilloses pulmonaires invasives. Seule l'association employée à une seule reprise recommandée en dernier recours par ECIL 4, n'a pas d'AMM dans le domine pédiatrique.

En ce qui concerne les candidoses buccales, 8 cas ont été diagnostiqués dans notre population. Ces 8 patients ont tous reçu du fluconazole en traitement curatif. Cette molécule possède l'AMM en pédiatrie pour le traitement de première intention pour le traitement des

candidoses. ECIL 4 recommande le fluconazole au grade BII dans le traitement des candidoses.

Les autres cas de candidoses diagnostiqués dans le service correspondent à des candidoses invasives. Deux patients (patient 18 et 23) ont reçu un traitement curatif pour une candidose invasive. Les stratégies thérapeutiques ont eu recours à une association d'amphotéricine B liposomale et de caspofungine pour une candidose invasive à *Candida lypolitica*, et à l'utilisation de la caspofungine en monothérapie devant candidose pulmonaire. Ces deux molécules utilisées possèdent l'AMM pédiatrique dans le traitement des candidoses invasives en monothérapie. Leur association n'a pas d'AMM dans cette indication. Les recommandations d'ECIL 4 formulées pour le traitement des candidoses invasives placent l'amphotéricine B liposomale, la caspofungine et le fluconazole en première ligne de traitement (BII).

Deux infections plus rares ont été mises en évidence chez deux patients dans le service. Il s'agit d'une fusariose cutanée et pulmonaire due au germe *Fusarium proliferatum* (patient 4) et une pneumopathie à Rhizormucor (patient 25). Dans les deux cas et devant la gravité des signes cliniques et de l'état du patient, une association de deux antifongiques a été mise en place employant respectivement la caspofungine et voriconazole pour la fusariose, et amphotéricine B liposomale et posaconazole pour la rhizomycose. Ces deux associations n'ont pas d'AMM dans le domaine pédiatrique. Le voriconazole possède l'AMM dans l'indication d'une fusariose. Le posaconazole est en situation temporaire acceptable pour les patients âgés de plus de 13 ans.

Les recommandations ECIL 4 concernant le traitement curatif des mucormycoses préconisent l'utilisation de l'amphotéricine B liposomale en première ligne (BII) et du posaconazole en deuxième ligne (BII). L'association de ces deux molécules est recommandée en deuxième ligne de traitement (CIII). Pour les fusarioses invasives, ECIL 4 recommande le recours au voriconazole (BII), cette molécule ayant l'AMM en pédiatrie pour cette indication. D'autres molécules comme l'amphotéricine B liposomale et le posaconazole constituent une alternative au voriconazole pour le traitement des fusarioses.

Nous pouvons donc conclure que les stratégies employées dans le service d'hémato-oncologie pédiatrique du CHU de Nancy respectent les recommandations émises par ECIL 4 dans le traitement des aspergilloses, candidoses et autres rares infections invasives. Pour les aspergilloses invasives le recours au voriconazole et l'amphotéricine B liposomale en première ligne de traitement, et à la caspofungine et aux associations d'antifongiques en deuxième ligne adhère parfaitement à ces recommandations. De plus ces molécules possédant l'AMM pédiatrique dans cette indication, les référentiels de bon usage des médicaments antifongiques sont également respectés. Seules les associations, qui n'ont pas d'AMM dans le domaine pédiatrique, sortent du cadre de ces référentiels mais sont recommandés par ECIL 4 en traitement de deuxième ligne.

Nous pouvons émettre les mêmes conclusions quant à la gestion des candidoses invasives ou non, avec là aussi l'emploi de molécules ayant l'AMM en pédiatrie et fortement

recommandées par ECIL 4. Les associations utilisées pour ces infections n'ont pas d'AMM en pédiatrie.

Enfin pour les mucormycoses et fusarioses invasives le recours à des associations par le service s'explique par la gravité de ces infections, les associations étant reconnues par ECIL 4 et recommandées en deuxième ligne de traitement.

Conclusion :

Les infections fongiques invasives continuent à être associées à une forte morbidité et mortalité notamment dans la population pédiatrique. L'utilisation de protocoles de chimiothérapies de plus en plus agressifs a eu pour conséquence le développement d'infections fongiques graves en Oncohématologie pédiatrique. Le développement de nouvelles molécules a permis d'enrichir l'arsenal thérapeutique disponible pour les prescripteurs. En parallèle, l'utilisation erronée de certaines de ces molécules et notamment à faibles doses a causé l'émergence de souches résistantes voire de nouvelles espèces.

Depuis 2004 des recommandations basées sur des études comparatives d'efficacité, de tolérance, de toxicité ont été proposées et ont permis d'établir des stratégies thérapeutiques pouvant guider les praticiens dans la prise en charge de ces infections invasives. Cependant ces études sont le plus souvent effectuées chez l'adulte et le manque de données chez l'enfant oblige les praticiens à se servir non seulement des recommandations mais également de leur expérience clinique auprès de ces enfants.

Pour améliorer la prise en charge thérapeutique certains services se sont dotés de recommandations internes fortement basées sur des recommandations européennes et internationales dans le but de guider la prescription des antifongiques. Le rôle des pharmaciens est primordial dans la diffusion et le respect des référentiels mais également dans les recommandations internes lors des réunions pluridisciplinaires.

Les recommandations suivies par le service d'Oncohématologie du CHU de Nancy, s'appuient sur ECIL4. La difficulté pour le service est donc de suivre ces recommandations qui s'appuient sur des résultats d'études et qui ont l'avantage d'être régulièrement mises à jour, tout en respectant les AMM dans le domaine pédiatrique.

Les associations d'antifongiques n'ont pas d'AMM en pédiatrie mais leur utilisation dans le service s'appuie sur quelques études publiées. Elles sont employées pour des cas d'aspergilloses graves avec un pronostic sombre chez le patient pédiatrique, en traitement de sauvetage.

Bien que ces référentiels permettent d'encadrer les pratiques professionnelles de diagnostic et de prescription, il faut noter que chaque patient est caractérisé par une prise en charge spécifique et unique faisant parfois appel à des pratiques s'écartant des recommandations. Les variabilités interindividuelles du métabolisme, de l'élimination, de la réponse au traitement et de la toxicité étant encore plus prononcées en hémato-oncologie pédiatrique, font que cette population nécessite une prise en charge accrue et une surveillance particulière.

Annexe: critères microbiologiques et cliniques liés à l'hôte dans le cadre d'une infection fongique (3)

Type de critère	Critères
Hôte	- Neutropénie (<500 PNN/mm^3 >10j) - Fièvre >96h malgré une antibiothérapie à large spectre approprié chez un patient à risque élevé - Température > 38°C ou <36°C **ET** l'un des éléments suivants : • Neutropénie >10 j dans les 60 jours précédents • Agents immunosuppresseurs dans les 30 j précédents • Mycose invasive prouvée ou probable lors d'une neutropénie antérieure - Réaction du greffon contre l'hôte symptomatique (>grade 2) ou GVH chronique extensive - Corticothérapie > 3 semaines dans les 60 jours précédents
Microbiologie	- Culture *d'Aspergillus sp* à partir d'u ECBC ou d'un LBA - Culture ou cytopathologie évoquant une moisissure dans un prélèvement sinusien - Histocytologie d'un ECBC, LBA ou prélèvement d'un site stérile évoquant une moisissure - Antigène aspergillaire positif dans LBA, LCR ou au moins 2 prélèvements sanguins - Deux cultures positives à levures en l'absence de sonde urinaire - Présence de *Candida sp* dans les urines à l'examen direct en l'absence de sonde urinaire - Candidémie
Clinique	Doit être en rapport avec le site du prélèvement positif et l'épisode en cours
▪ Poumon - Majeur - Mineur	 -Scanner thoracique : signe du halo, du croissant ou cavité au sein d'un infiltrat (hors infections bactérienne) -Signe ou symptôme d'infection respiratoire basse, autres anomalies radiologiques, épanchement pleural
▪ Nez et sinus - Majeur - Mineur	 - Lésions radiologiques évocatrices : érosion des parois des sinus, extension aux structures voisines, destruction de la base crânienne - Obstruction ou écoulement nasal, ulcération ou escarre nasale, épistaxis, œdème péri-orbitaire, sensibilité maxillaire, lésions nécrotiques ou ulcérées du palais
▪ Système nerveux central - Majeur - Mineur	 - Lésions radiologiques évocatrices : mastoïdite, empyème extradural, masse intracérébrale ou intraspinale - Signes de localisation, altération des fonctions supérieures, méningisme, anomalies biochimiques ou cytologiques du LCR, en l'absence d'autres pathogènes ou de cellules malignes
▪ Infection disséminée	- Papules ou nodules sans autre explication, chriorétinite ou endophtalmie
▪ Candidose disséminée chronique	- Multiples lésions en cocarde, périphériques et de petite taille dans le foie ou la rate retrouvées en écho, scanner ou IRM **ET** -Elévation des phosphatases alcalines **MAIS** - Aucun critère microbiologique n'est nécessaire pour cette catégorie
▪ Candidémie	- L'hémoculture isolée suffit. Il n'y a pas de candidémie « possible »

Bibliographie

1. Blot F, Nitenberg G, levlercq B, et al : Infections graves chez l'immunodéprimé en oncohématologie. EMC- Anesthésie-Réanimation. 2001;9(2):1–25.

2. Blot F, et al : Pronostic des infections en oncohématologie. Prognosis of infections in patients with solid tumors and hematologic malignancies. Reanimation. 2003 Mai;12(3):235–47.

3. Beaucaire G, Alfandri S, Leroy O, Et al : Prise en charge diagnostique et thérapeutique des infections a Aspergillus SP. et CANDIDA SP. chez les patients immunodéprimé. Med Mal Infect. 2004 Nov;35(3):121–34.

4. Phulpin-Weibel A, Rivier A, Leblanc T, Et al : Focus on invasive mucormycosis in paediatric haematology oncology patients : a series of 11 cases. Mycoses. 2013 May;56(3):236–40.

5. Edouard Nagera S, Haddad V, Calcagno F, Et al : Infectiologie conforme au programme du CNCI. vernazobres-grego. 2011. 305-308 p.

6. Anane S, Khalfallah G, Et al. Diagnostic biologique des candidoses systémiques : difficultés et perspectives. Pathologie Biologie. 2007 Juin;55(5):262–72.

7. R.Gauzit : Épidémiologie et facteurs de risque des candidoses systémiques en réanimation - EM|Premium. Annales Françaises d'anesthésie et réanimation. 2001 Avril;20(4):394–9.

8. C.Kibbler : Évolution de 1'épidérmiologie des candidoses et aspergilloses invasives. Medecine et maladies infectieuses. 2007;37(2):2–4.

9. Klingspor L, Stinzing G, Fasth A, Et al : Deep candida infection in children receiving allogenic bone marrow transplants: incidence, risk factors and diagnosis. Bone Marrow Transplant. 1996 Jun;17(6):1043–9.

10. Blyth C, Palasanthiran P, O'Brien T, Et al : Antifungal therapy in children with invasive fungal infections: a systematic review. Pediatrics. 2007 Apr;119(4):772–84.

11. Pittet D, Monod M, Suter P, Et al : Candida colonization and subsequent infections in critically III surgical patients Ann. Surg. Pediatr Infec Dis. 1994 Dec;220(6):751–8.

12. Pihet M, Marot A. Diagnostic biologique des candidoses. Revue francophone des laboratoires. 2013 Mar;43(450):47–66.

13. McDonald LC, Weinstein M, Fune J, Et al : Controlled Comparison of BacT/ALERT FAN Aerobic Medium and BACTEC Fungal Blood Culture Medium for Detection of Fungemia. J Clin Microbiol. 2001 Feb 1;39(2):622–4.

14. Mirrett S, Barth Reller L, Petti C : Controlled Clinical Comparison of BacT/ALERT Standard Aerobic Medium with BACTEC Standard Aerobic Medium for Culturing Blood. J Clin Microbiol. 2003 Jun 1;41(6):2391–4.

15. Meyer M-H, Letscher-Bru V, Jaulhac B, Et al : Comparison of Mycosis IC/F and Plus Aerobic/F Media for Diagnosis of Fungemia by the Bactec 9240 System. J Clin Microbiol. 2004 Feb 1;42(2):773–7.

16. Waller J : Cultures en mycologie médicale. EMC-Biologie médicale. 2006;1–4.

17. Quindos G, San Millan R, Biakndi J, Et al : Utility of fluoroplate Candida for the rapid identification of Candida albicans. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1996;14-10:586–9.

18. Willinger B, Et al : Performance of Candida ID, a New Chromogenic Medium for Presumptive Identification of Candida Species, in Comparison to CHROMagar Candida. J Clin Microbiol. 2001 Oct 1;39(10):3793–5.

19. Willemsen M, Brevnaert J, Lauwers S, Et al : Comparison of Auxacolor with API 20 C Aux in yeast identification. Clinical Microbiology and Infection. 1997;3(3):369–75.

20. Waller J, Et al : Évaluation d'un nouveau système d'identification des levures fungichrom I basé sur l'hydrolyse des substrats et l'assimilation colorimétrique des sucres. J Mycol med. 1995;92–7.

21. Laurent F, Cahen P, Honderlick P : Utilisation du réactif Bichrolatex Albicans pour l'identification rapide de Candida albicans dans les flacons d'hémoculture : résultats préliminaires. J Mycol med. 1996;6(1):19–21.

22. Matos A : Identification du Candida albicans : Intéret du réactif BICHRO-latex Albicans Techniques et Biologie. 1998.

23. Sendid B, Caillot D, Baccouch-Humbert B, et al : Contribution of the Platelia Candida-Specific Antibody and Antigen Tests to Early Diagnosis of Systemic Candida tropicalis Infection in Neutropenic Adults. J Clin Microbiol. 2003 Oct 1;41(10):4551–8.

24. Paugam A : Détermination de la sensibilité au Fluconazole et à l'Itraconazole par E test et Fungitest de 11 souches de Candida. Comparaison avec la technique de référence du NCCLS. J Mycol med. 1998;114–5.

25. Kondori N : A randomized, double-blind, multicenter study of caspofungin versus liposomal amphotericin B for empiric antifungal therapy in pediatric patients with persistent fever and neutropenia. Clin Diagn Lab Immunol. 2004 Mar 1;11(2):344–50.

26. Maaroufi Y : Rapid Detection of Candida albicans in Clinical Blood Samples by Using a TaqMan-Based PCR Assay. J Clin Microbiol. 2003 Jul 1;41(7):3293–8.

27. Pihet M, Marot A, et al : Diagnostic biologique des candidoses. Revue francophone des laboratoires. 2013 Mar;43(450):47–61.

28. Michallet M, Ito J, Et al : Approaches to the management of invasive fungal infections in hematologic malignancy and hematopoietic cell transplantation. Journal Clinic Oncology. 2009 juillet;3398–409.

29. Lafram I, Benmiloud S, Chaouki S, Et al : L'aspergillose invasive chez le patient atteint de leucémie. Journal de Pédiatrie et de Puériculture. 2013 Sep;26(4):228–31.

30. Lamalmi F, Aghrouch M, Benomar A, Et al : Aspergillose invasive en onco-hématologie pédiatrique. Med mald infect. 2012 Juin;42(6):280–2.

31. Pauw BD, Walsh TJ, Donnelly JP : Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin Infect Dis. 2008 Jun 15;46(12):1813–21.

32. Mikulska M, Et al : Non-invasive diagnostic procedures for yeast infections. 3rd European Conference on infections in leukemia 2009. 2009;

33. Groll A., Kurz M, Schneider W, Et al : Five-year-survey of invasive aspergillosis in a paediatric cancer centre. Epidemiology, management and long-term survival. Mycosis. 1999;42(7-8):431–42.

34. Kontoyiannis D., Marr K, Park B, Et al : Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the transplant-associated infection surveillance network (TRANSNET). Clin Infect Dis. 2010 Apr 15;50(8):1091–100.

35. Pagano L, Offidani M, Fianchi L, Et al : Mucormycosis in hematologic patients. Haematologica. 2004 Feb;89(2):207–14.

36. Bitar D, Van Cauteren D, lanternier F, Et al : Increasing incidence of zygomycosis (mucormycosis), France, 1997-2006. Emerg Infec Dis. 2009 Sep;15(9):1395–401.

37. Dannaoui E, Meis J, Loebenberg D, Et al : Activity of posaconazole in treatment of experimental disseminated zygomycosis. J antimicrob chemother. 2003 Nov;47(11):3647–50.

38. Marty F, Hammond S, Baden L, Et al : Mortality in hematologic malignancy and hematopoietic stem cell transplant patients with mucormycosis, 2001 to 2009. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Nov;55(11):5018–21.

39. Mehrad B, Paciocco G, Martinez F. Spectrum of Aspergillus infection in lung transplant recipients: case series and review of the literature. Chest. 2001 Jan;119(1):169–75.

40. Vaubourdolle M : Infectiologie. Wolters Kluwer France; 2007. 1052 (873-925) p.

41. Prentice H, Hann I, Herbrecht R, Et al : A randomized comparison of liposomal versus conventional amphotericin B for the treatment of pyrexia of unknown origin in neutropenic patients. Journal of Haematology. 1997 Sep;98(3):711–8.

42. Wiley J, Seibel N, Walsh TJ :Efficacy and safety of amphotericin B lipid complex in 548 children and adolescents with invasive fungal infections. Pediatr Infec Dis Jour. 2005 Feb;24(2):167–74.

43. Karlsson M, Lutsar I, Milligan P : Population pharmacokinetic analysis of voriconazole plasma concentration data from pediatric studies. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Mar;53(3):935–44.

44. Walsh T, Lutsar I, Driscoll T, et al : Voriconazole in the treatment of aspergillosis, scedosporiosis and other invasive fungal infections in children. Pediatr Infec Dis Jour. 2002 Mar;21(3):240–8.

45. Walsh T, Adamson P, Seibel N, Et al : Pharmacokinetics, safety, and tolerability of caspofungin in children and adolescents. Antimicrob Agents Chemother. 2005 Nov;49(11):4536–45.

46. Cazenave B, lanternier F, Lortholary O : Nouveaux antifongiques systémiques (nex antifungals). La lettre de l'Infectiologue. 2010 Oct;25(5):178–84.

47. Queiroz-Telles F, Berezin E, Leverger G, Et al : Micafungin versus liposomal amphotericin B for pediatric patients with invasive candidiasis: substudy of a randomized double-blind trial. Pediatr Infec Dis Jour. 2008 Sep;27(9):820–6.

48. Reignier B, ATTAL M, BEZIE Y, Et al : Prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte: conférence de consensus commune SFAR, SPILF, SRLF. Mai 2004: 5–13.

49. Yilmaz D, Balkan C, Ay Y, Akin M, Karapinar B, Kavakli K : A rescue therapy with a combination of caspofungin and liposomal amphotericin B or voriconazole in children with haematological malignancy and refractory invasive fungal infections. Mycoses. 2011 May;54(3):234–42.

50. Marr K, Boeckh M, Carter R, Et al : Combination antifungal therapy for invasive aspergillosis. Clin Infect Dis. 2004 Sep 15;39(6):797 – 802.

51. Merlin E, Galambrun C, Ribaud P, Et al : Efficacy and safety of caspofungin therapy in children with invasive fungal infections. Pediatr Infec Dis Jour. 2006 Dec;25(12):1186–8.

52. Référentiels de bon usage des médicaments de la liste hors-GHS : bilan juillet 2012. ANSM; 2012. www.ansm.sante.fr

53. Barry B, Bricaire F, Brun-Buisson C. Antimycosqiue à usage systémique. ARS; 2012.

54. Alfandari S, Leroy O, De Botton S, Yakoub-Agha I, Durand-Joly I, Leroy-Cotteau A, et al :Management of aspergillosis in immunocompromised patients. Recommendations of Lille University Hospital--4th version--November 2004. Med Mal Infect. 2005 Mar;35(3):121–34.

55. Pappas P, Kauffman C, Andes D, Et al : Clinical practice guidelines for the managment of candidiasis: 2009 update by Infectious Disesase society of america.(IDSA). Clinical Infectious Diseases. 2009 Mar;48(5):503–35.

56. Maertens, J, Marchetti O, Herbrecht R : Europeen guidelines for antifungal management in leukemia and hematopeitic stem cell transplant recipients: summary of ECIL 3-2009 update. Bone Marrow transplant. 2011 May;46(5):709–18.

57. Groll A., Castagonla E, Simeone C, et al : ECIL 4-Pediatrics Group Considerations for Fungal Diseases ans Antifungal Traetment in children. 2011.

58. Khayat N, Amsallem D, Nerich V, et al : Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical therapy in children with persistently febrile neutropenia. 45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2005 Dec 16;

59. Maertens J, Madero L, Reilly A, Et al : A randomized, double-blind, multicenter study of caspofungin versus liposomal amphotericin B for empiric antifungal therapy in pediatric patients with persistent fever and neutropenia. Pediatr Infec Dis Jour. 2010 May;29(5):415–20.

60. Zaoutis T, Jafri H, Huang L, Et al : A prospective, multicenter study of caspofungin for the treatment of documented Candida or Aspergillus infections in pediatric patients. Pediatrics. 2009 Mar;123(3):877–84.

61. Prasad PA, Coffin SE, Leckerman KH, Walsh TJ, Zaoutis TE : Pediatric antifungal utilization: new drugs, new trends. Pediatr Infect Dis J. 2008 Dec;27(12):1083–8.

62. Van Burik J-AH, Ratanatharathorn V, Stepan DE, et al : Micafungin versus fluconazole for prophylaxis against invasive fungal infections during neutropenia in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. Clin Infect Dis. 2004 Nov 15;39(10):1407–16.

63. Wingard JR, Carter SL, Walsh TJ, Kurtzberg J, Small TN, Baden LR, et al : Randomized, double-blind trial of fluconazole versus voriconazole for prevention of invasive fungal infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. Blood. 2010 Dec 9;116(24):5111–8.

64. Slavin M, Osborne B, Adams R, Et al : Efficacy and safety of fluconazole prophylaxis for fungal infections after marrow transplantation--a prospective, randomized, double-blind study. J Infect Dis. 1995 Jun;171(6):1545–52.

65. Ullmann AJ, Lipton J, Vesole D, Et al : Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. New England Journal of Medicine. 2007 Jan;356(4):335–47.

66. Marks,MD, Pagliuca A, Kibbler C, Et al : Voriconazole or itraconazole for prevention of invasive infections after allogenic hematopieitic stem cell transplantation-focus on patient preference and long term tolerability 15th congress of EHA. Br J Haematolo. 2011 Nov;155(3):318–27.

67. Cordonnier, C, M R, Maertens J, Et al : Voriconazole for secondary prophylaxis of invasive fungal infections in allogeneic stem cell transplant recipients: results of the VOSIFI study. Haematologica. 2010 Oct;95(10):1762–8.

68. Allinson K, Kolve H, Gumbinger HG, Vormoor HJ, Ehlert K, Groll AH : Secondary antifungal prophylaxis in paediatric allogeneic haematopoietic stem cell recipients. J Antimicrob Chemother. 2008 Mar;61(3):734–42.

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : le lundi 16 juin 2014

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par : MAZOUZ Ahmed Yacine

Sujet : TRAITEMENT DES INFECTIONS FONGIQUES DANS LE SERVICE D'ONCOHEMATOLOGIE PEDIATRIQUE DU CHU DE NANCY : EVALUATION DES PRATIQUES SUR UNE PERIODE DE TROIS ANS.

Jury :

Président : M. MERLIN JEAN-LOUIS, Professeur
Directeur : M. CHASTAGNER PASCAL, Professeur
Juges : Mme HENN-MENETRE SOPHIE, Pharmacien
Mme DEMORE BEATRICE, Pharmacien

Vu,

Nancy, le lundi 5 mai 2014

Le Président du Jury
Pr Jean-Louis MERLIN
Biologie cellulaire oncologique
Faculté de Pharmacie
5 rue Albert Lebrun
54001 NANCY CEDEX FRANCE
M. MERLIN JEAN-LOUIS

Directeur de Thèse
Professeur Pascal CHASTAGNER
C.H.U. NANCY - Hôpital d'Enfants
Service de Pédiatrie, Oncologie Pédiatrique et Greffe Hématopoïétique Médullaire
54511 VANDOEUVRE-LES-NANCY CEDEX
Secrétariat : 03 83 15 46 37
M. CHASTAGNER PASCAL

Vu et approuvé,

Nancy, le 19.05.2014

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

UNIVERSITE DE LORRAINE
FACULTE DE PHARMACIE

Francine PAULUS

Vu,

Nancy, le 27 MAI 2014

Le Président de l'Université de Lorraine,

Université de Lorraine
Le Président

Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 6542

N° d'identification : 6542

TITRE

TRAITEMENT DES INFECTIONS FONGIQUES DANS LE SERVICE D'ONCOHÉMATOLOGIE PÉDIATRIQUE DU CHU DE NANCY : ÉVALUATION DES PRATIQUES SUR UNE PÉRIODE DE TROIS ANS.

Thèse soutenue le Lundi 16 juin 2014 à 17h

Par Monsieur MAZOUZ Ahmed Yacine

RESUME :

Les infections fongiques sont associées à une forte morbidité et à une forte mortalité dans la population pédiatrique atteinte d'hémopathies malignes. Les protocoles de chimiothérapies et les traitements immunosuppresseurs sont à l'origine d'une profonde immunodépression à l'origine d'infections fongiques invasives. Le recours à des recommandations contre ces infections est donc primordial dans la prise en charge de ces infections fongiques, qu'elle soit préventive, probabiliste ou curative.

Les recommandations de référence du service d'oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy ont été publiées par le groupe de travail Européen ECIL 4 en 2012. Ces recommandations se basent uniquement sur des études publiées dans le domaine pédiatrique et s'adressent spécifiquement aux patients pédiatriques d'hémato-oncologie atteints d'infections fongiques invasives.

Le travail réalisé a permis d'étudier les pratiques de prescriptions d'antifongiques du service d'Oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy entre juin 2010 et mars 2013 afin d'évaluer l'adhésion de ces pratiques de prescriptions d'antifongiques aux recommandations ECIL4. L'étude des molécules antifongiques disponibles en pédiatrie a également permis d'évaluer la conformité des prescriptions du service aux AMM pédiatriques.

MOTS CLES :

Infections fongiques invasives, service d'Oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy, traitements antifongiques, pratiques professionnelles, AMM pédiatriques.

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Pr. CHASTAGNER PASCAL		**Expérimentale** ⊟ **Bibliographique** □ **Thème** □

Thèmes	1 – Sciences fondamentales 3 – Médicament 5 - Biologie	2 – Hygiène/Environnement 4 – Alimentation – Nutrition **6 – Pratique professionnelle**