

Infections fongiques invasives

Optimiser le diagnostic mycologique

Dr Hamed Chouaieb

MCA, Laboratoire de Parasitologie–Mycologie
CHU Farhat Hached de Sousse | Université de Sousse

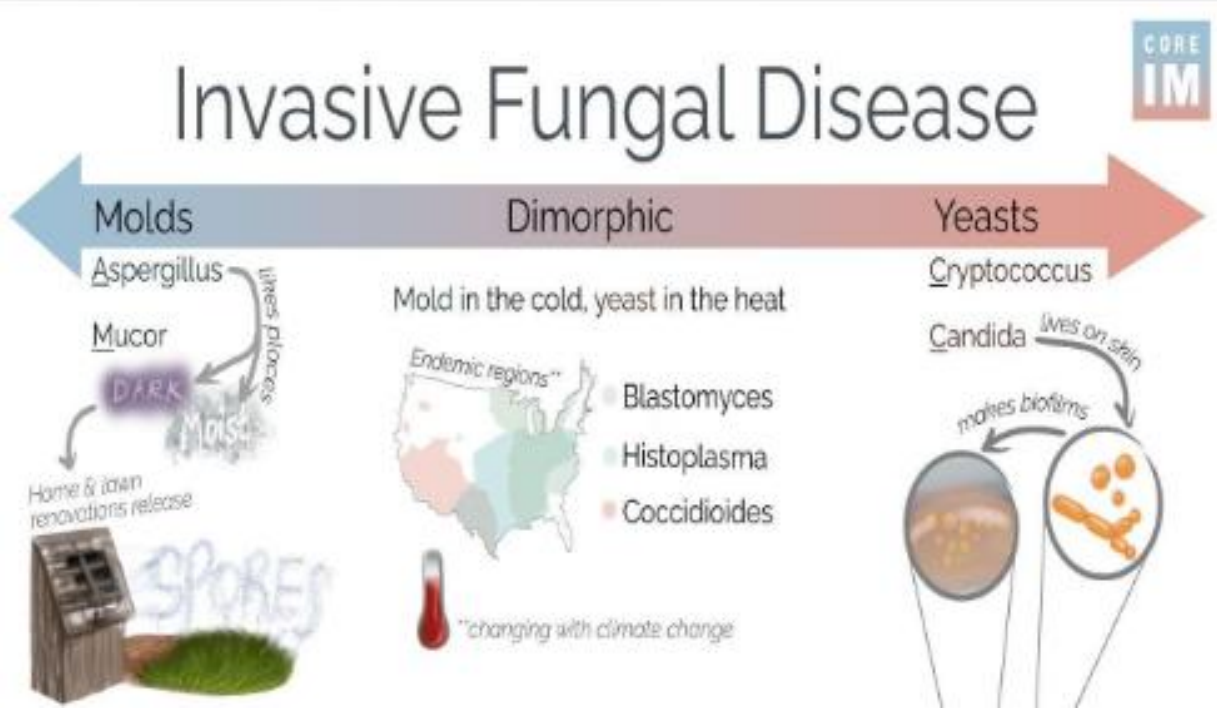
19 novembre 2026
Jeudi · 08h30 › 17h00

Complexe socio-scientifique
Faculté de Médecine de Sousse

Introduction

Infections fongiques INVASIVES

OMS : Infections systémiques résultant de l'implantation de champignons de manière systémique ou dans les tissus profonds



- ✓Infections opportunistes
- ✓Infections associés aux soins
- ✓Infections communautaires

World Health Organization. (2025). Landscape analysis of commercially available and pipeline in vitro diagnostics for fungal priority pathogens.

Introduction



Un fardeau mondial sous-estimé

6,5 Millions

IFI / an dans le monde

3,8 Millions

décès / an (dont ~2,5 M directement attribuables)

≈ 2,1 Millions

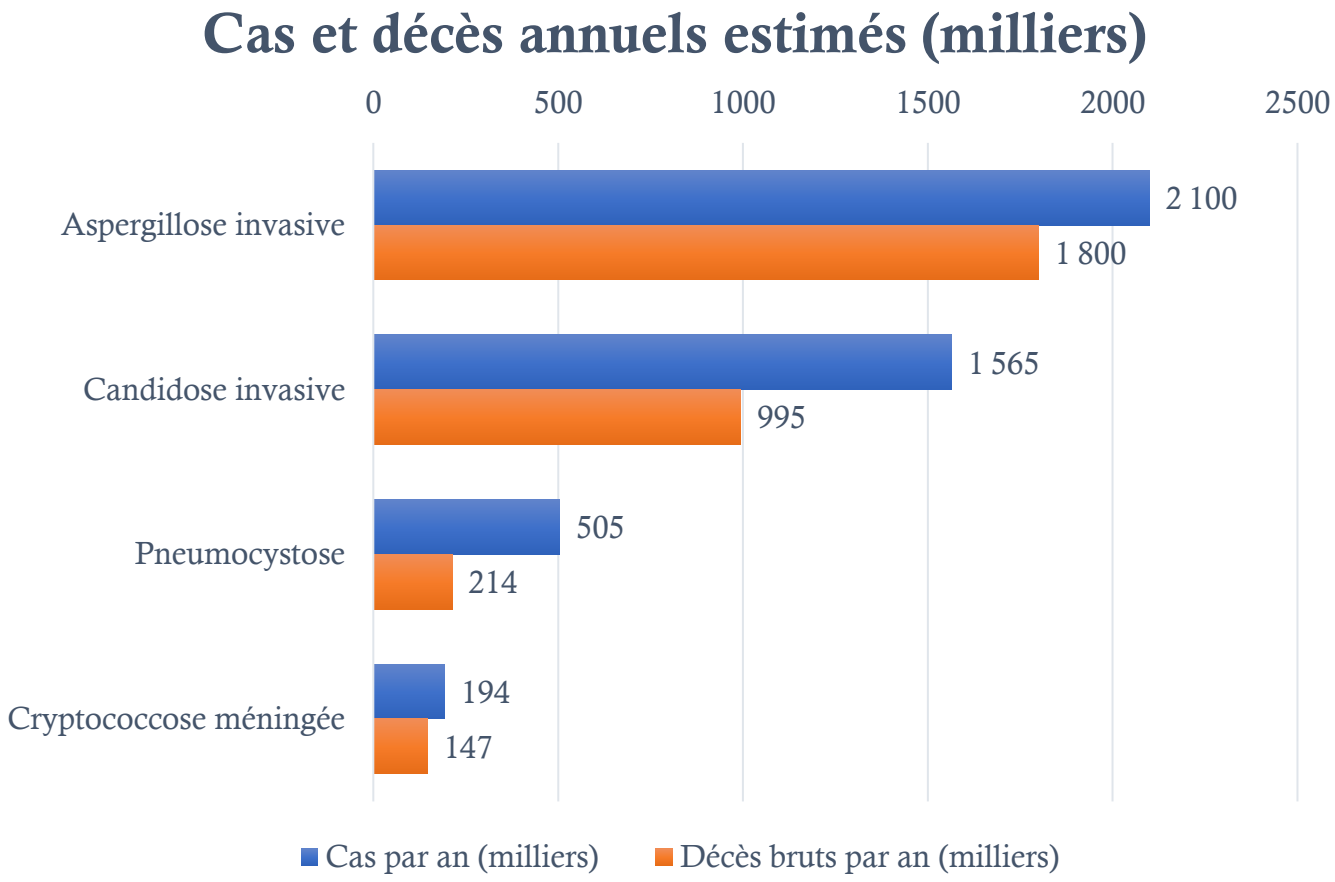
aspergilloses invasives / an

≈ 1,6 Millions

candidoses invasives / an

≈ 0,5 Millions

PCP/ an



Denning (Lancet Infect Dis 2024)

Introduction

Un fardeau mondial sous-estimé

Réalité Clinique sous estimée

Open Forum Infectious Diseases
BRIEF REPORT
IDSA Infectious Diseases Society of America
hivma hiv medicine association
OXFORD

Limited Index of Clinical Suspicion and Underdiagnosis of Histopathologically Documented Invasive Mold Infections

Grégoire Caudron de Coquereaumont,[1,a] Jade Couchepin,[1,a] Jean Y. Perentes,[2] Thorsten Krueger,[2] Alban Lovis,[3] Samuel Rotman,[4,©] and Frederic Lamoth[1,5]

Switzerland

Invasive mold infections (IMIs) are difficult to diagnose. This analysis of histopathologically proven IMIs at our institution (2010–2019) showed that 11/41 (27%) of them were not suspected at the time of biopsy/autopsy (9/17, 53% among autopsies). The rate of missed diagnosis was particularly high (8/16, 50%) among nonhematologic cancer patients.

27 % (11/41) non suspectées ante et post mortem

53 % (9/17) : identifiées à l'autopsie

Mycoses
Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases
Open Access

ORIGINAL ARTICLE

Invasive aspergillosis in critically ill patients: An autopsy study

Eva E. Tejerina, Elena Abril, Rebeca Padilla, Covadonga Rodríguez Ruíz, Aida Ballen, Fernando Frutos-Vivar, José Ángel Lorente, Andrés Esteban

First published: 09 June 2019 | https://doi.org/10.1111/myc.12927 | VIEW METRICS

period of the study (25 years), 893 postmortem examinations were performed in the ICU. Twenty-five patients (2.8%) were diagnosed with IA in autopsy. Only ten (40%) were classified as IA ante-mortem, based on the initiation of antifungal treatment. The most

60 % : non diagnostiquées, non traitées

Introduction

Un fardeau mondial sous-estimé

Réalité Clinique sous estimée

Journal of *Fungi*

MDPI

Review

Pulmonary and Extrapulmonary Manifestations of Fungal Infections Misdiagnosed as Tuberculosis: The Need for Prompt Diagnosis and Management

Bassey E. Ekeng [1,2,3,*], Adeyinka A. Davies [1,4], Iriagbonse I. Osaigbovo [1,5], Adilia Warris [6], Rita O. Oladele [1,7] and David W. Denning [8]

Confusion avec d'autres infections

also do. A total of 80 individual cases misdiagnosed as TB are highlighted: aspergillosis (n = 18, 22.5%), histoplasmosis (n = 16, 20%), blastomycosis (n = 14, 17.5%), cryptococcosis (n = 11, 13.8%), talaromycosis (n = 7, 8.8%), coccidioidomycosis (n = 5, 6.3%), mucormycosis (n = 4, 5%), sporotrichosis (n = 3, 3.8%), phaeohyphomycosis (n = 1, 1.3%) and chromoblastomycosis (n = 1, 1.3%). Case series from India and Pakistan reported over 100 cases of chronic and allergic bronchopulmonary aspergillosis had received anti-TB therapy before the correct diagnosis was made. Forty-five cases (56.3%) had favorable outcomes, and 25 (33.8%) died, outcome was unclear in the remainder. Seventeen

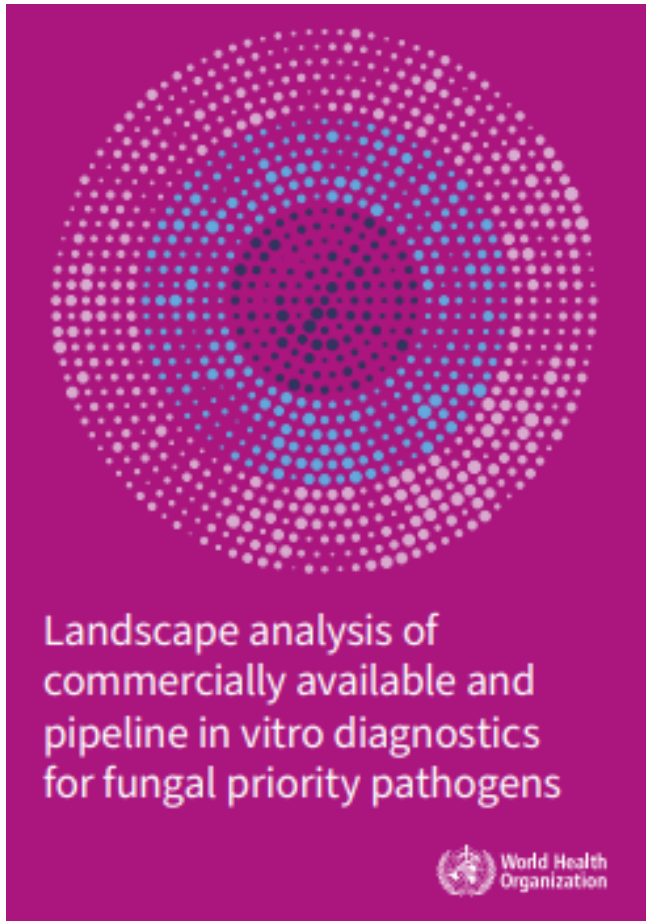
Introduction

Un fardeau mondial sous-estimé

OMS : **grave pénurie de médicaments et d'outils de diagnostic** concernant les maladies fongiques invasives



Mortalité jusqu'à 88%



- **Cultures :** lentes, sensibilité
- **ATF : tests phénotypiques :** depend de l'isolement par la culture, lentes, couteuses, accessibilité?
- **Dépendance** à des laboratoires équipés et à un personnel formé → accès très inégal dans les pays à revenu faible/intermédiaire
- **Besoin prioritaire** : tests rapides, peu coûteux, detection des Rces

Introduction



Tunisie : un fardeau estimé, peu mesuré

Peu d'études avec dénominateur ; pas de surveillance nationale des IFI

250 494	personnes/an atteintes d'une mycose grave (2,12 % de la population)
708	aspergilloses invasives/an (6/100 000)
591	candidémies/an + ~88 péritonites à *Candida*
144	pneumocystoses/an chez le VIH (non-VIH non estimé)
46	méningites à cryptocoque/an
23	mucormycoses/an (probablement sous-estimé)

Fathallah A,. J Mycol Med 2024;34:101479 ; Jemli B et al. Pan Afr Med J 2024;48:130 ; Hadrich I et al. Mycoses 2010 ; Sellami A et al. Mycopathologia 2011 ; Osman M et al. Braz J Microbiol 2020

Introduction

- **Diagnostic : Primordial**

- **Infection non diagnostiquée = infection non traitée / surtraitée (empirique)**

- **Retard diagnostic = aggrave le pronostic**

JOURNAL ARTICLE

Time to Initiation of Fluconazole Therapy Impacts Mortality in Patients with Candidemia: A Multi-Institutional Study

Get access

Kevin W. Garey ✉, Milind Rege, Manjunath P. Pai, Dana E. Mingo, Katie J. Suda, Robin S. Turpin, David T. Bearden

Clinical Infectious Diseases, Volume 43, Issue 1, 1 July 2006, Pages 25–31, https://doi.org/10.1086/504810

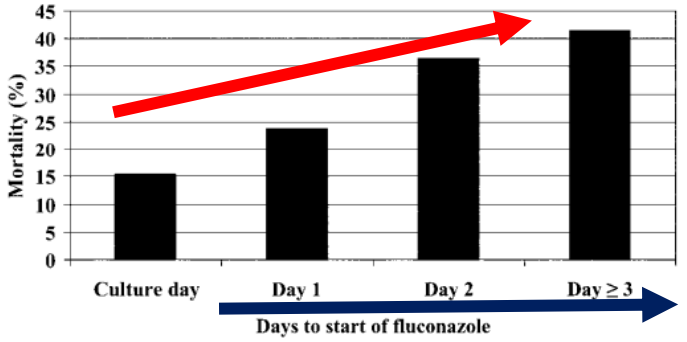


Figure 2. Relationship between hospital mortality and the number of days to initiation of fluconazole therapy. We calculated the days to the start of fluconazole therapy by subtracting the start date of fluconazole therapy from the culture date of the first blood sample positive for yeast ($P = .0009$ for trend, using the Mantel-Haenszel χ^2 test).

Mortalité

Retard dg

→Bon diagnostic +++ →Bon usage des ATF : « right drug, right place, right time »

Introduction

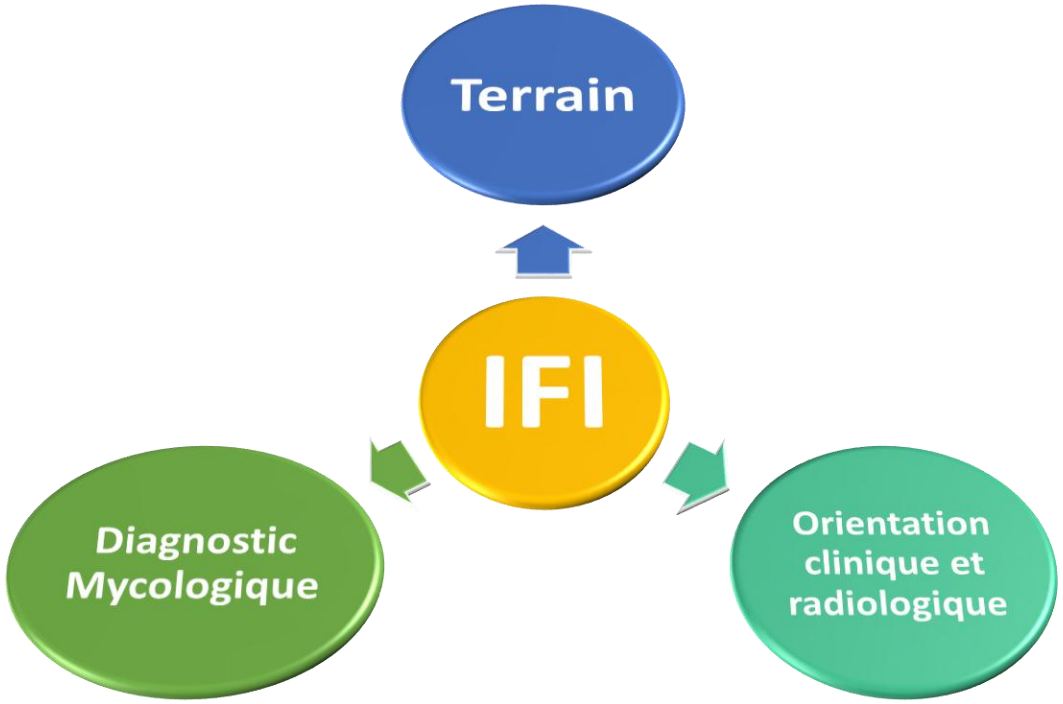
- **Diagnostic : Primordial = Difficile = Challenge**

  - Les tests ne sont pas toujours spécifiques de l'infection invasive.
  - La probabilité prétest est déterminante.
  - Le traitement antifongique modifie les performances diagnostiques.
  - Les examens sont parfois prescrits sans stratégie.
  - Prélèvement non validé.



Comment optimiser le diagnostic mycologique des infections fongiques invasives?

Diagnostic: Faisceau d'arguments



- **Quel patient présente un risque de développer une IFI?**
- **Chez qui déclencher des investigations approfondies?**
- **Un traitement probabiliste ou préemptif?**
- **Scores prédictifs : Mieux développés pour les CI (*Candida* score** (León) : Se = 81%, VPN = 98%, **Index de colonisation** (Pittet) ≥ 0,5 ; surtout VPN).

Identifier les patients à risque et suspecter tôt

Etendre le spectre des patients à risque

Candidose invasive

CVC, nutrition parentérale, ATB large spectre, séjour en réa> 7 j

Chirurgie abdominale : perforations/fistules récidivantes, pancréatite grave

IR / hémodialyse, colonisation multi-sites à *Candida*

Candidozyma (Candida) auris

Aspergillose invasive

Hématologie : neutropénie profonde prolongée (LAM/SMD), allogreffe (GVH, corticoïdes)

Transplantés : poumon (6,5 %) > cœur > foie > rein

Nouvelles populations : ibrutinib et autres inhibiteurs de BTK, CAR-T, anti-CD20

Réanimation : grippe, COVID-19, BPCO sous corticoïdes, cirrhose décompensée

Mucormycose

Diabète déséquilibré / acidocétose : forme rhino-orbito-cérébrale (dominante en Tunisie)

Hémopathies, allogreffe : forme pulmonaire, percée sous voriconazole ou échinocandine

Corticoïdes, déféroxamine, brûlures, traumatismes : forme cutanée

Pneumocystose

VIH : CD4 < 200/mm³ sans prophylaxie ; souvent révélatrice

Non-VIH (en hausse) : corticothérapie prolongée, hémopathies, rituximab, greffes, maladies de système, chimiothérapies

Cryptococcose

VIH avancé (CD4 < 100-200) : méningo-encéphalite ± dissémination

Non-VIH : transplantés, corticoïdes, cirrhose, hémopathies, lymphopénie CD4 idiopathique

Mycoses endémiques (importées)

À évoquer selon l'histoire de voyage ou l'origine du patient

Identifier les patients à risque et suspecter tôt

Les référentiels en vigueur



Les référentiels en vigueur

2017
ESCMID-ECMM-ERS
Aspergillose : diagnostic et prise en charge

2019
ECMM / MSG-ERC
Mucormycose : guideline globale

2020
EORTC/MSGERC
Révision des définitions des IFI (référence)

2020-21
ECMM/ISHAM, experts
CAPA (COVID) et IAPA (grippe)

2021
ECMM/ISHAM/ASM
Moisissures rares, levures rares, mycoses endémiques

2024
ESCMID/ESICM/ECMM…
FUNDICU : IFI en réanimation (non neutropéniques)

2024
ECMM/ISHAM/ASM
Cryptococcose : guideline globale

2025
ECMM/ISHAM/ASM
Candidose : guideline globale (> 100 experts, 35 pays)

EORTC/MSGERC 2020 : l'architecture des définitions

L'isolement d'un champignon ne suffit pas toujours pour le diagnostic : classer

PROUVÉE

Mise en évidence du champignon dans un site stérile / tissu avec lésions (histo, culture, ADN sur tissu)

PROBABLE

Facteur d'hôte + critère clinique/radiologique + critère mycologique

POSSIBLE

Facteur d'hôte + critère clinique, sans preuve mycologique

Donnelly JP et al. Revision and update of the consensus definitions of IFD from the EORTC and the MSGERC. Clin Infect Dis 2020;71:1367-76

Moyens de diagnostic des infections fongiques invasives

Méthodes conventionnelles

Mycologie conventionnelle : toujours la base

Examen direct → Culture → Histologie → Identification → Antifongigramme

Moyens de diagnostic des infections fongiques invasives

Optimiser les prélèvements : la première étape décisive : STANDARDISATION

- ✓ Selon le site
- ✓ Éviter les prélèvements superficiels non représentatifs
- ✓ **Avant l'antifongique**
- ✓ Asepsie + Transport + Conservation + Renseignements+++
- ✓ Volume : répartition entre mycologie, anatomopathologie et biologie moléculaire
- ✓ **Echantillons liquides > 2 mL** doivent être **centrifugés** (2000 × g pendant 10 min)
- ✓ **Prélèvements tissulaires** : éviter les méthodes d'homogénéisation (broyage ou le bead-beating) surtout filamenteux+++

Moyens de diagnostic des infections fongiques invasives

Examen direct

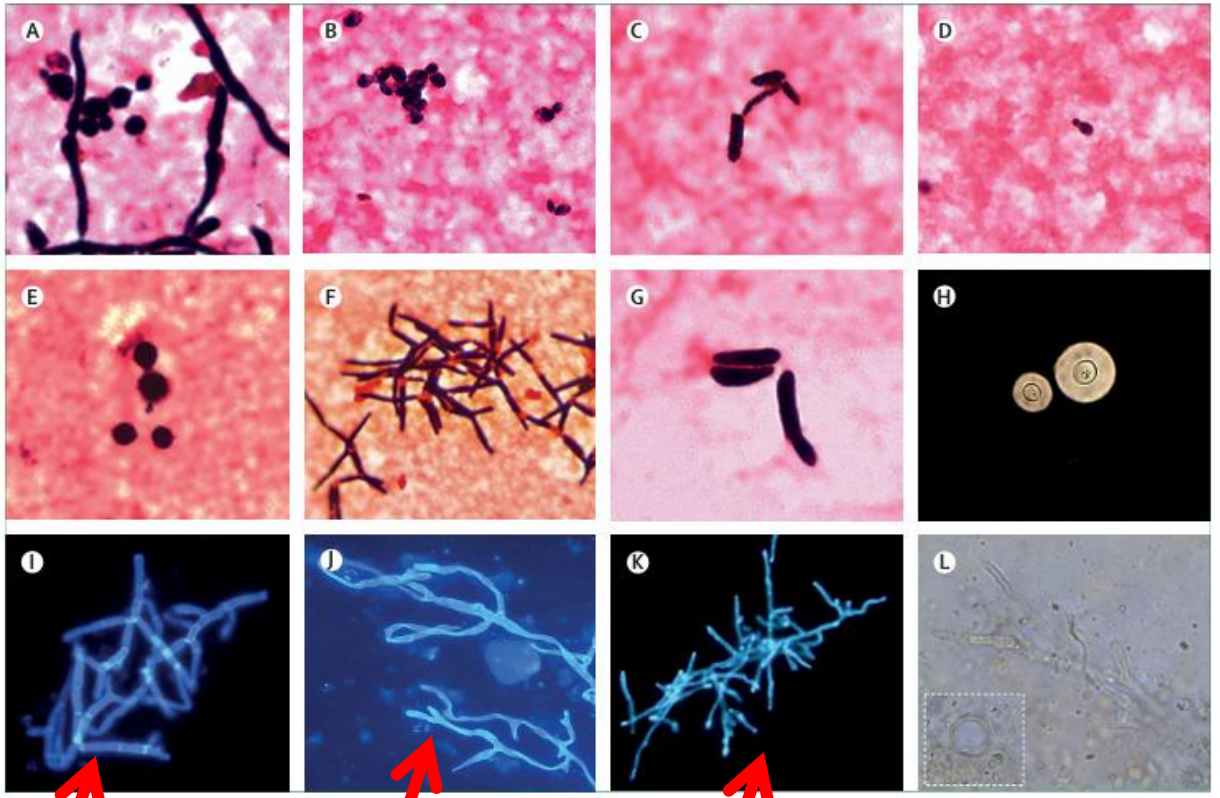
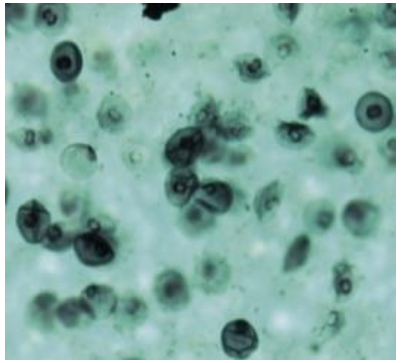


Figure 1: Microscopical morphology of various fungal pathogens in direct examination



Se?

Table 1. Criteria for Proven Invasive Fungal Disease

Fungus	Microscopic Analysis: Sterile Material	C
Molds[a]	Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination[b] of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy in which hyphae or melanized yeast-like forms are seen accompanied by evidence of associated tissue damage	R
Yeasts[a]	Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy from a normally sterile site (other than mucous membranes) showing yeast cells, for example, *Cryptococcus* species indicating encapsulated budding yeasts or *Candida* species showing pseudohyphae or true hyphae[d]	R
Pneumo-cystis	Detection of the organism microscopically in tissue, BAL fluid, expectorated sputum using conventional or immunofluores-cence staining	N

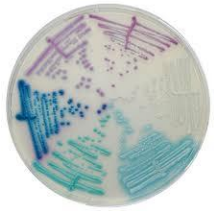
4) Mycologie conventionnelle : toujours la base

Examen direct → **Culture**

Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium









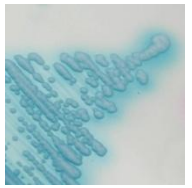


Table 1. Criteria for Proven Invasive Fungal Disease

Culture: Sterile Material
Recovery of a hyaline or pigmented mold by culture of a specimen obtained by a sterile procedure from a normally sterile and clinically or radiologically abnormal site consistent with an infectious disease process, excluding BAL fluid, a paranasal or mastoid sinus cavity specimen, and urine
Recovery of a yeast by culture of a sample obtained by a sterile procedure (including a freshly placed [<24 hours ago] drain) from a normally sterile site showing a clinical or radiological abnormality consistent with an infectious disease process





Moyens de diagnostic des infections fongiques invasives

Mycologie conventionnelle : toujours la base

Examen direct → Culture → Histologie → Identification

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases: 2025 update

Silke Schelenz, Alireza Abdolrasouli, Darius Armstrong-James, H Ruth Ashbee, Richard Barton, Tihana Bicanic, Andy Borman, Lottie Brown, Chris Eades, Laura Ferreras-Antolin, Rebecca Gorton, Ronan McMullan, Iain Page, Nelun Perera, Riina Rautemaa-Richardson, Johannes Wagener, P Lewis White, David W Denning

The gold standard methods currently used for yeast identification are MALDI-ToF mass spectrometry[19] or molecular methods typically involving PCR amplification and sequencing of a portion of the *28S mRNA* gene or Internal Transcribed Spacer regions.[20] Many common

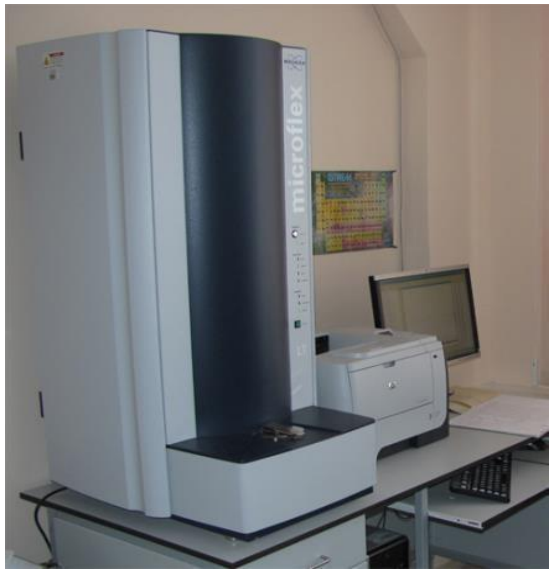
Nouvelle nomenclature : *Pichia kudriavzevii (Ex Candida krusei)*

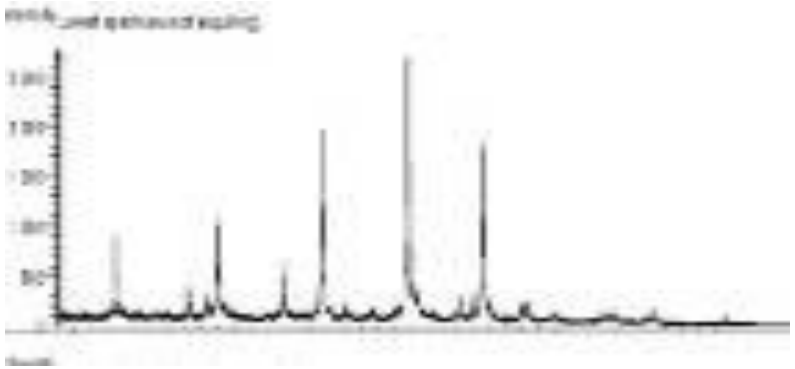
Identification MALDI-TOF
Spectrométrie de Masse

BIOMERIEUX



BRUKER





Cout?
Base de données?

Directement sur hémoculture ?

Moyens de diagnostic des infections fongiques invasives



Moyens de diagnostic des infections fongiques invasives

Nouvelles approches

Biomarqueurs	Techniques moléculaires et autres
• Galactomannane • BDG • Mannane/Anti-mannane • GXM	• PCR • Metagénomique • Maldi-tof

Biomarqueurs : performances à connaître

Test	Se / Sp (ordre de grandeur)	Usage principal
Galactomannane Sérum	78 % / 85 %	**Dépistage/diagnostic en hémato ; suivi**
Galactomannane LBA	87 % / 89 %	**Meilleur test en réa et chez le transplanté**

Clinical Infectious Diseases
IDSA GUIDELINE

Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America

Thomas F. Patterson,[1,a] George R. Thompson III,[2] David W. Denning,[3] Jay A. Fishman,[4] Susan Hadley,[5] Raoul Herbrecht,[6] Dimitrios P. Kontoyiannis,[7] Kieren A. Marr,[8] Vicki A. Morrison,[9] M. Hong Nguyen,[10] Brahm H. Segal,[11] William J. Steinbach,[12] David A. Stevens,[13] Thomas J. Walsh,[14] John R. Wingard,[15] Jo-Anne H. Young,[16] and John E. Bennett[17,a]

How Should Galactomannan and (1 → 3)-β-D-Glucan Be Used for the Diagnosis of Aspergillosis?

Recommendations.

9. Serum and BAL galactomannan (GM) is recommended as an accurate marker for the diagnosis of IA in adult and pediatric patients when used in certain patient subpopulations (hematologic malignancy, HSCT) *(strong recommendation; high-quality evidence).*
10. GM is not recommended for routine blood screening in patients receiving mold-active antifungal therapy or prophylaxis, but can be applied to bronchoscopy specimens from those patients *(strong recommendation; high-quality evidence).*
11. GM is not recommended for screening in SOT recipients or patients with chronic granulomatous disease (CGD) *(strong recommendation; high-quality evidence).*
12. Serum assays for (1 → 3)-β-D-glucan are recommended for diagnosing IA in high-risk patients (hematologic malignancy, allogeneic HSCT), but are not specific for *Aspergillus (strong recommendation; moderate-quality evidence).*

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases: 2025 update

Serum galactomannan should be performed whenever invasive aspergillosis is suspected, notably among patients in medical intensive care and those who are immunocompromised

- Active galactomannan surveillance in new groups at risk (eg, people with influenza, COVID-19, or interstitial lung disease) is required as clinical and radiological features of invasive aspergillosis are non-descript
- Although serum galactomannan in patients without neutropenia might have reduced sensitivity, specificity remains good

BALF galactomannan should be performed in the same groups as for serum, and in patients with complex

Biomarqueurs : performances à connaître

Test	Se / Sp (ordre de grandeur)	Usage principal
Galactomannane Sérum	78 % / 85 %	Dépistage/diagnostic en hémato ; suivi
Galactomannane LBA	87 % / 89 %	Meilleur test en réa et chez le transplanté

Apport dans le diagnostic

EORTC/MSGERC Definitions of Invasive Fungal Diseases: Summary of Activities of the Intensive Care Unit Working Group

Matteo Bassetti,[1,2,✉] Elie Azoulay,[3,4] Bart-Jan Kullberg,[5] Markus Ruhnke,[6] Shmuel Shoham,[7] Jose Vazquez,[8] Daniele Roberto Giacobbe,[1] and Thierry Calandra[9]

Probable

Aspergillosis only
Galactomannan antigen
Antigen detected in plasma, serum, BAL, or CSF
Any 1 of the following:
Single serum or plasma: ≥1.0
BAL fluid: ≥1.0
Single serum or plasma: ≥0.7 and BAL fluid ≥0.8
CSF: ≥1.0

GM : faux positifs

- Solutés contenant du gluconate, certains lots de β-lactamines (amox-clav, pipéracilline-tazobactam, historiques)
- Translocation digestive (mucite, GVH digestive, nourrisson, alimentation)
- Réactions croisées : *Fusarium, Penicillium/Talaromyces, Histoplasma, Geotrichum, Trichosporon*
- Transfusions (certaines poches), immunoglobulines

GM : faux négatifs

- Prophylaxie ou traitement anti-moisissures (PCZ, VCZ) (même en onco-hémtao)
- Non-neutropéniques : angio-invasion limitée, GM capté par les PNN
- Trachéobronchite ou forme localisée
- Présence d'AC anti-*Aspergillus*

Biomarqueurs : performances à connaître

Test	Se / Sp (ordre de grandeur)	Usage principal
Galactomannane Sérum	78 % / 85 %	Dépistage/diagnostic en hémato ; suivi
Galactomannane LBA	87 % / 89 %	Meilleur test en réa et chez le transplanté
LFA *Aspergillus*	LBA ~ 86 % / 93 %	Résultat en < 1 h, unitaire
CrAg (LFA/agglutination/ELISA)	> 99 % LCR/ > 95 %	Diagnostic, dépistage VIH, **titre = pronostic**

Immunochromatographie (LFA)

- **GM-LFA** (IMMY) : galactomannane, sérum/LBA, ~45 r
- **AspLFD** (OLM) : glycoprotéine d'A. fumigatus, ~25 min
- Sur LBA en hématologie : GM-LFA > AspLFD
- **CrAg LFA semi-quantitatif** : titre en une étape
- **Intérêt majeur** pour les laboratoires sans série ELISA (unitaire, rapide)

Cryptococcal antigen in cerebrospinal fluid or blood confirms cryptococcosis

Published in final edited form as:
Lancet Infect Dis. 2024 August ; 24(8): e495–e512. doi:10.1016/S1473-3099(23)00731-4.

Global guideline for the diagnosis and management of cryptococcosis: an initiative of the ECMM and ISHAM in cooperation with the ASM

Ten principles of CM management

1. **Selectively screen, risk-stratify and investigate for cryptococcosis**.
   - **(AI)** Perform a blood CrAg by LFA for the screening of cryptococcosis in newly diagnosed PLHIV with CD4 <200 cells/mm^3, and in PLHIV recommencing ART after a period of discontinuation (with CD4 <200 cells/mm^3), and determine the CrAg titre if positive.
   - **(AIIt)** All patients with suspected or confirmed cryptococcosis (including cryptococcal antigenemia) require careful clinical assessment for CNS, pulmonary and other body site involvement. Investigations for disseminated disease should include: (1) lumbar puncture (LP) with measurement of CSF opening pressure (OP), glucose, protein, cell counts, microscopy, culture, and quantification of CSF CrAg; (2) quantification of blood CrAg, and cultures of blood, sputum (or other respiratory specimens) and/or of other affected sites; (3) ideally, brain imaging (preferably MRI) and chest imaging (preferably CT).
   - **(AIIu)** In asymptomatic cryptococcal antigenaemic PLHIV without clinical cryptococcosis after thorough investigation (including at least a LP), fluconazole 1200 mg daily for 2 weeks (when ART may be initiated), followed by 800 mg daily for 8 weeks, and 200 mg thereafter for about 6 months is recommended. (Guidance may be updated contingent on results of present prospective trials.)
   - **(BI)** In clinical settings where CrAg LFA screening is not available (despite WHO's strong recommendations), universal primary prophylaxis with fluconazole 100 mg daily in PLHIV with CD4 count <200 cells/mm^3 is recommended

Biomarqueurs : performances à connaître

Test	Se / Sp (ordre de grandeur)	Usage principal
Galactomannane Sérum	78 % / 85 %	Dépistage/diagnostic en hémato ; suivi
Galactomannane LBA	87 % / 89 %	Meilleur test en réa et chez le transplanté
LFA *Aspergillus*	LBA ~ 86 % / 93 %	Résultat en < 1 h, unitaire
CrAg (LFA/agglutination/ELISA)	> 99 % LCR/ > 95 %	Diagnostic, dépistage VIH, **titre = pronostic**
β-D-glucane	IC ~ 77 % / 85 % ; PCP 96 % / 84 %	**Exclusion (VPN) ; Précoce ; ne détecte ni Mucorales ni *Cryptococcus***

Biomarqueurs : performances à connaître

AI

Clinical Infectious Diseases
IDSA GUIDELINE

Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America

Thomas F. Patterson,[1,a] George R. Thompson III,[2] David W. Denning,[3] Jay A. Fishman,[4] Susan Hadley,[5] Raoul Herbrecht,[6] Dimitrios P. Kontoyiannis,[7] Kieren A. Marr,[8] Vicki A. Morrison,[9] M. Hong Nguyen,[10] Brahm H. Segal,[11] William J. Steinbach,[12] David A. Stevens,[13] Thomas J. Walsh,[14] John R. Wingard,[15] Jo-Anne H. Young,[16] and John E. Bennett[17,a]

12. Serum assays for (1 → 3)-β-D-glucan are recommended for diagnosing IA in high-risk patients (hematologic malignancy, allogeneic HSCT), but are not specific for *Aspergillus* *(strong recommendation; moderate-quality evidence).*

Ne figure pas dans EORTC pour AI

PCP

Probable

Mycological evidence

ß-D-glucan (Fungitell) ≥80 ng/L (pg/mL) detection in ≥2 consecutive serum samples provided other etiologies have been excluded

VPP , VPN?

Published in final edited form as:
AIDS. 2013 March 27; 27(6): 967–972. doi:10.1097/QAD.0b013e32835cb646.

Test Performance of Blood Beta-Glucan for *Pneumocystis Jirovecii* Pneumonia in Patients with AIDS and Respiratory Symptoms

Brian R. Wood[1], Lauren Komarow[2], Andrew R. Zolopa[3], Malcolm A. Finkelman[4], William G. Powderly[5], and Paul E. Sax[6]

>500 pg/mL : forte VPP

Attention PCP avec BDG nég

CI

Probable

Mycological evidence

ß-D-glucan (Fungitell) ≥80 ng/L (pg/mL) detected in at least 2 consecutive serum samples provided that other etiologies have been excluded

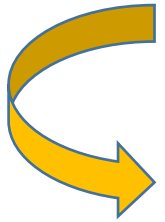
Absent : CNM, Mucorales

- **β-D-glucane : pièges**
- **Faux positifs** : hémodialyse (membranes cellulosiques), albumine, IgIV, compresses chirurgicales, bactériémies (Gram négatif, streptocoques), amox-clav, mucite
- **Non détectés** : Mucorales, *Cryptococcus* (et *Blastomyces*)
- **Force : VPN élevée → arrêt des antifongiques empiriques**

Biomarqueurs : performances à connaître

Test	Se / Sp (ordre de grandeur)	Usage principal
Galactomannane Sérum	78 % / 85 %	Dépistage/diagnostic en hémato ; suivi
Galactomannane LBA	87 % / 89 %	Meilleur test en réa et chez le transplanté
LFA *Aspergillus*	LBA ~ 86 % / 93 %	Résultat en < 1 h, unitaire
CrAg (LFA/agglutination/ELISA)	> 99 % LCR/ > 95 %	Diagnostic, dépistage VIH, **titre = pronostic**
β-D-glucane	IC ~ 77 % / 85 % ; PCP 96 % / 84 %	**Exclusion (VPN) ; Précoce ; ne détecte ni Mucorales ni *Cryptococcus***

- Personnel bien formé
- Probabilité pré-test : Un résultat n'a de valeur qu'en contexte : hôte, signes, imagerie. Antifongique en cours? Négatif n'exclut pas
- Aucun test n'est universellement disponible : adapter la stratégie aux moyens. Faux positifs?



Biologie moléculaire et nouvelles approches

Techniques moléculaires

Situations complexes

Champignons non cultivables

Examen direct positif et culture négative/lente

Identification des champignons difficiles

Mais

Sensibilité parfois trop élevée : limite entre contamination, colonisation et infection

Standardisation? Littérature très hétérogène

Outils ciblés : “je sais ce que je cherche”

qPCR *Aspergillus* , qPCR *Pneumocystis jirovecii*, qPCR Mucorales , PCR plusieurs espèces…

Table 1 List of commercially available PCR-based assays for detection of fungi

Commercial PCR and manufacturer	Target species detected	Assay method	Target and specimen used	Assay time	References
Magicplex Sepsis Real eTime Test (Seegne)	- *Aspergillus fumigatus*	Multiplex real time PCR	Unknow; Whole blood	6 h (including DNA extraction)	Camp et al. [142]
A. fumigatus Bio-Evolution (Bio-Evolution)	- *Aspergillus fumigatus*	Real time PCR	ITS1 region; BAL	< 80 min after DNA extraction	Denis et al. [143]
MycAssay *Aspergillus* (Myconostica)	Eighteen *Aspergillus* species - *Aspergillus fumigatus* - *Aspergillus flavus* - *Aspergillus terreus* - *Aspergillus niger*	Real-time PCR	18S rDNA; BAL and Serum	4 h	Guniea et al. [144]
AsperGenius® (PathoNostics)	- *Aspergillus fumigatus* - *Aspergillus terreus*	Multiplex real-time PCR	28 S rRNA; BAL, Serum, Plasma, Biopsy tissue	< 3 h	Chong et al. [145]
Aspergillus spp. ELITe MGB® Kit (ELITechGroup)	- *Aspergillus niger* - *Aspergillus nidulans* - *Aspergillus terreus* - *Aspergillus flavus* - *Aspergillus versicolor* - *Aspergillus glaucus*	Quantitative real-time PCR	18S rDNA; Bronchial secretions, BAL	Not available (NA)	Grancini et al. [146]
MycoReal *Aspergillus* (Ingenetix)	- *Aspergillus fumigatus* *Aspergillus flavus* - *Aspergillus nidulans* - *Aspergillus niger* - *Aspergillus terreus*	Real-time PCR	ITS2 region; BAL, Blood, CSF, Tissue	NA	Zeller et al. [147]; Kidd et al. [148]
MycoGENIE® *Aspergillus* Species	*Aspergillus* spp. including: *A. fumigatus*	Quadruplex real-time PCR	28 S rRNA; BAL, serum Biopsy	NA	Dannaoui et al. [149]
Magicplex Sepsis Real eTime Test (Seegne)	-*Aspergillus fumigatus* - *Candida albicans* - *Candida glabrata* - *Candida Krusei* - *Candida parapsilosis* - *Candida tropicalis*	Multiplex real-time PCR	Unknown; Whole blood	6 h	Zboromyrska et al. [150]
FungiPlex Candida (Bruker Daltonics)	*Candida albicans* - *Candida parapsilosis* - *Candida dubliniensis* - *Candida tropicalis* - *Candida glabrata* - *Candida krusei*	Multiplex real-time PCR	Unknown; Whole blood, serum, plasma	< 2 h (after DNA extraction)	Fuchs et al. 2019 [151]
FilmArray Blood Culture Identification (BCID) Panel	*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*	Multiplex real-time PCR assay	Unknown; whole blood	1 h	Salimnia et al. [152]
SeptiFast LightCycler (Roche)	-*Candida albicans* - *Candida tropicalis* - *Candida parapsilosis*	Multiplex Real-time PCR (DNA melt curve analysis)	ITS region; Whole blood	6–7 h	Steinmann et al. [153]

Biologie moléculaire et nouvelles approches

Outils ciblés

qPCR *Aspergillus*

EORTC/MSGERC Definitions of Invasive Fungal Diseases: Summary of Activities of the Intensive Care Unit Working Group

Matteo Bassetti,[1,2,©] Elie Azoulay,[3,4] Bart-Jan Kullberg,[5] Markus Ruhnke,[6] Shmuel Shoham,[7] Jose Vazquez,[8] Daniele Roberto Giacobbe,[1] and Thierry Calandra[9]

AI prouvée : Biopsie (ED +) avec culture ou **PCR** séquençage ***Aspergillus* +**

AI probable : Patients critères « d'hôte de l'EORTC/ ECMM » et clinique

– Prélèvements sanguins (PS) sérum/ Plasma/ Sg total : **2 tests PCR *Aspergillus* + consécutifs**

– ou LBA **: 2 duplicates tests PCR *Apergillus* +**

– ou PS =**1 test PCR +** et LBA =**1 test PCR +**

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases: 2025 update

Silke Schelenz, Alireza Abdolrasouli, Darius Armstrong-James, H Ruth Ashbee, Richard Barton, Tihana Bicanic, Andy Borman, Lottie Brown, Chris Eades, Laura Ferreras-Antolin, Rebecca Gorton, Ronan McMullan, Iain Page, Nelun Perera, Riina Rautemaa-Richardson, Johannes Wagener, P Lewis White, David W Denning

- *Aspergillus* PCR testing of blood can be considered, alongside galactomannan in patients at high risk of invasive aspergillosis (eg, patients with neutropenia)
- A positive *Aspergillus* PCR combined with positive galactomannan usually confirms the diagnosis of invasive aspergillosis, and if both negative, rules it out

Clinical Infectious Diseases
IDSA GUIDELINE

Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America

Thomas F. Patterson,[1,a] George R. Thompson III,[2] David W. Denning,[3] Jay A. Fishman,[4] Susan Hadley,[5] Raoul Herbrecht,[6] Dimitrios P. Kontoyiannis,[7] Kieren A. Marr,[8] Vicki A. Morrison,[9] M. Hong Nguyen,[10] Brahm H. Segal,[11] William J. Steinbach,[12] David A. Stevens,[13] Thomas J. Walsh,[14] John R. Wingard,[15] Jo-Anne H. Young,[16] and John E. Bennett[17,a]

8. As research in the area continues, we recommend that clinicians choosing to use PCR assays employ them carefully in the management of individual patients on a case-by-case basis. Clinicians should be aware of the methodologies and performance characteristics of the specific assay used, and interpret results accordingly. When PCR assays are used, results should be considered in conjunction with other diagnostic tests and the clinical context *(strong recommendation; moderate-quality evidence)*.

Aspergillus spp. The high negative predictive value of BAL PCR (usually ≥95%) suggests a role in ruling out IPA. To date, data suggest that the diagnostic performance of blood or BAL PCR is comparable to that of serum and BAL GM index (GMI; ratio

Biologie moléculaire et nouvelles approches

Outils ciblés

qPCR *Pneumocystis jirovecii*

Pneumocystose :

associée au **BDG** quand disponible;

EORTC : probable

BSMM : LBA, crachats, endotrachéal, ANP (Nné), remplace le micrcoscope, associée au BDG : cofirme et exclut

EORTC/MSGERC Definitions of Invasive Fungal Diseases: Summary of Activities of the Intensive Care Unit Working Group

Matteo Bassetti,[1,2] Elie Azoulay,[3,4] Bart-Jan Kullberg,[5] Markus Ruhnke,[6] Shmuel Shoham,[7] Jose Vazquez,[8] Daniele Roberto Giacobbe,[1] and Thierry Calandra[9]

Prouvée : non

Pneumo-cystis	Detection of the organism microscopically in tissue, BAL fluid, expectorated sputum using conventional or immunofluores-cence staining	Not applicable	Not applicable	Not applicable	Not applicable

Probable

Mycological evidence
ß-D-glucan (Fungitell) ≥80 ng/L (pg/mL) detection in ≥2 consecutive serum samples provided other etiologies have been excluded
Detection of *Pneumocystis jirovecii* DNA by quantitative real-time polymerase chain reaction in a respiratory tract specimen

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases: 2025 update

PCR (qPCR) on BALF is the diagnostic test of choice. If bronchoscopy is not feasible or delayed, qPCR on induced sputum is the next best option. It is recommended to issue a quantitative result, as low-level fungal loads. Serum and blood can also be tested, and if positive, is usually a poor prognostic sign,[55] although data is scarce. PCR negativity when testing upper respiratory tract and blood samples should not be used to solely exclude *Pneumocystis* pneumonia. In patients with

patient is negative by *Pneumocystis* pneumonia PCR and serum BDG the probability of *Pneumocystis* pneumonia is very low (<1%). Using the whole BAL fluid or pellet is

Outils ciblés

qPCR Mucorales

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases: 2025 update

Silke Schelenz, Alireza Abdolrasouli, Darius Armstrong-James, H Ruth Ashbee, Richard Barton, Tihana Bicanic, Andy Borman, Lottie Brown, Chris Eades, Laura Ferreras-Antolin, Rebecca Gorton, Ronan McMullan, Iain Page, Nelun Perera, Riina Rautemaa-Richardson, Johannes Wagener, P Lewis White, David W Denning

Mucorales PCR

Mucorales PCR should be performed in all patients with suspected mucormycosis, alongside culture and histopathology. The site of infection determines the

pas de biomarqueur validé dans EORTC 2020
la PCR Mucorales n'y figure pas encore

Biologie moléculaire et nouvelles approches

Outils ciblés

Candida

Yeasts[a]	Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy from a normally sterile site (other than mucous membranes) showing yeast cells, for example, *Cryptococcus* species indicating encapsulated budding yeasts or *Candida* species showing pseudohyphae or true hyphae[d]	Recovery of a yeast by culture of a sample obtained by a sterile procedure (including a freshly placed [<24 hours ago] drain) from a normally sterile site showing a clinical or radiological abnormality consistent with an infectious disease process	Blood culture that yields yeast (eg, *Cryptococcus* or *Candida* species) or yeast-like fungi (eg, *Trichosporon* species)	Cryptococcal antigen in cerebrospinal fluid or blood confirms cryptococcosis	Amplification of fungal DNA by PCR combined with DNA sequencing when yeasts are seen in formalin-fixed paraffin-embedded tissue

Mycological evidence
ß-D-glucan (Fungitell) ≥80 ng/L (pg/mL) detected in at least 2 consecutive serum samples provided that other etiologies have been excluded
Positive T2Candida[a]



T2Candida

Limite : couverture limitée aux espèces ciblées, coût et disponibilité.

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases: 2025 update

Candida PCR

Candida PCR is recommended as an adjunctive test (ideally performed in combination with BDG) to aid in the diagnosis of candidaemia caused by the most common *Candida* species. *Candida* PCR negativity is not sufficient for excluding invasive candidiasis. A meta-

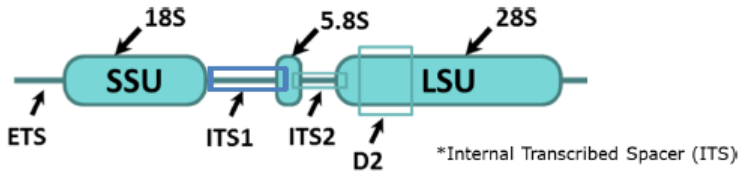
generated excellent sensitivity of 95% and specificity of 92% and a higher positivity rate than blood culture (85% *vs* 36%), but data are mostly limited to diagnosis of

Biologie moléculaire et nouvelles approches

Outils non ciblés

PCR panfongique

PCR puis Séquençage ITS (sanger)



séquencer une région génétique sélectionnée pour identifier un champignon, parfois sans connaître préalablement l'espèce.

Prélèvements polymicrobiens, peau, digestif, prélèvement non stérile?

The more "panfungal", the less specific AND the less sensitive

Table 1. Criteria for Proven Invasive Fungal Disease

Fungus	
Molds[a]	Amplification of fungal DNA by PCR combined with DNA sequencing when molds are seen in formalin-fixed paraffin-embedded tissue
Yeasts[a]	Amplification of fungal DNA by PCR combined with DNA sequencing when yeasts are seen in formalin-fixed paraffin-embedded tissue
Pneumocystis	Not applicable

Mercier T et al. Med Mycol 2020 ; Chong GM et al. JCM 2015-2016 ; Dannaoui E et al. JCM 2017 ; Mylonakis E et al. CID 2015 ; Lamoth F et al. OFID 2020 ; Coulon P, CHU Lille

Biologie moléculaire et nouvelles approches

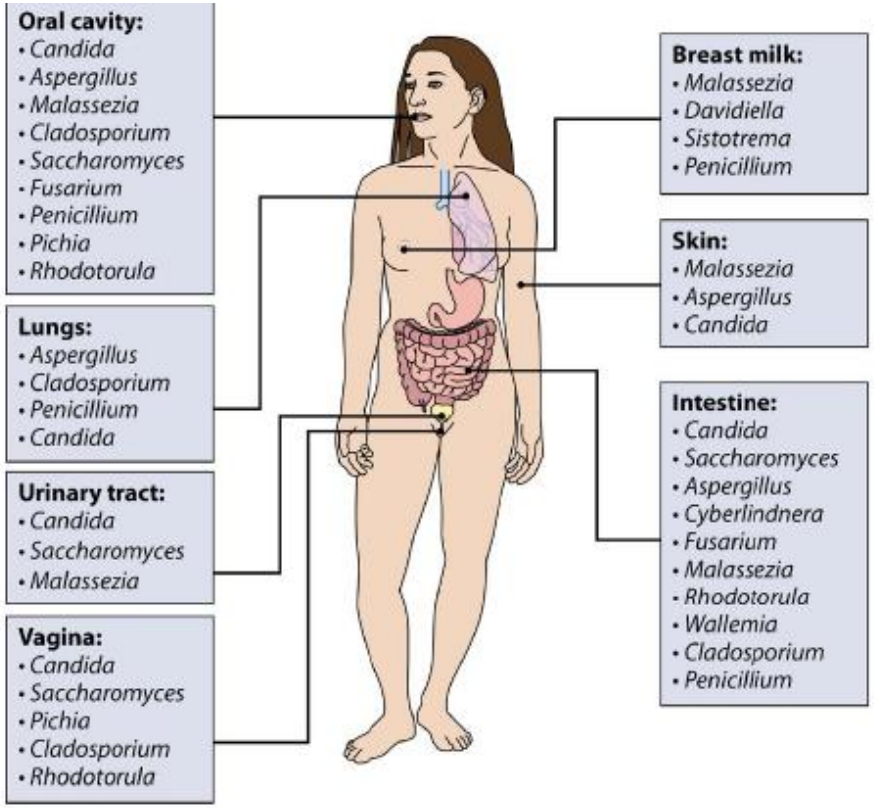
Métagénomique

Plasma
tube stabilisateur (type Streck)
→ **ADN libre**
extraction, soustraction de l'humain
→ **Séquençage**
haut débit, non ciblé
→ **Bioinformatique**
base de référence validée
→ **Rapport**
pathogènes + quantité

vers un diagnostic sans hypothèse microbiologique préalable

ciblé de l'ensemble du matériel génétique présent dans un échantillon clinique

Problème : contamination du réactif, champignons environnementaux



Santu *et al.* Infect Immun. 2021



Récapitulatif

IFI prouvée : critères mycologiques stricts (EORTC)

	Moisissures (*Aspergillus*…)	Levures (*Candida, Cryptococcus*…)	*Pneumocystis*
Microscopie / histologie	Filaments sur biopsie ou ponction avec lésions tissulaires associées	Levures (± pseudo-filaments) dans un site normalement stérile (hors muqueuses)	*P. jirovecii* : Asques/formes trophiques (coloration, IF) sur tissu, prélèvement respiratoire
Culture	Site stérile, lésion clinique/radiologique, prélevé stérilement (exclus : LBA, sinus, urines)	Site stérile, prélevé stérilement (drain récent < 24 h accepté)	-
Hémoculture	Moisissure (ex. *Fusarium*) dans un contexte compatible	Levure (*Candida, Cryptococcus*, levures rares)	-
Antigène	-	CrAg dans le LCR ou le sang = cryptococcose prouvée	-
ADN sur tissu	PCR + séquençage sur tissu fixé où des filaments sont vus	PCR + séquençage sur tissu où des levures sont vues	-

Donnelly JP et al. Clin Infect Dis 2020 ; Cornely OA et al. Lancet Infect Dis 2019

Critères mycologiques du diagnostic « probable » (EORTC)

IFI	Critères mycologiques (≥ 1)
Aspergillose	**Examen direct/culture** (expectoration, LBA, brossage, aspiration) • **GM sérum/plasma** ≥ 1,0 • **GM LBA** ≥ 1,0 • **GM sérum** ≥ 0,7 + LBA ≥ 0,8 • **GM LCR** ≥ 1,0 • **qPCR :** ≥ 2 positives consécutives sur sang (plasma/sérum/sang total), ou ≥ 2 répliquats positifs sur LBA, ou 1 sang + 1 LBA positives
Autres moisissures (Mucorales, *Fusarium*…)	Examen direct ou culture sur prélèvement respiratoire/sinusien ; pas de biomarqueur validé dans EORTC 2020 (la PCR Mucorales n'y figure pas encore)
Candidose	**BDG** ≥ 80 ng/L (Fungitell®) sur ≥ 2 sérums consécutifs, autres causes exclues • **T2*Candida*** positif
Pneumocystose	**BDG** sérique ≥ 80 ng/L (Fungitell), autres causes exclues • qPCR positive sur prélèvement respiratoire
Cryptococcose neuro-méningée	LCR : pression d'ouverture • encre de Chine culture site non stérile

Donnelly JP et al. Clin Infect Dis 2020 ; Cornely OA et al. Lancet Infect Dis 2019

Organisation du laboratoire et amélioration continue

Gap entre possible et recommandé

Algorithmes diagnostiques adaptés aux ressources disponibles

Contrôle qualité, validation des méthodes

Réevaluation après résultats

Proposer des **indicateurs qualité**

Créer un laboratoire de référence ? : diagnostic des IFI, Identification des champignons difficiles (stériles, site inhabituel, résistance inhabituelle…), Surveillance des IFI, Sensibilité des champignons d'intérêt médical

Examen	Statut
Examen direct, culture, identification phénotypique	Routine (CHU)
Histopathologie	Routine (CHU)
Antigène galactomannane (sérum, LBA)	Routine (CHU)
Mannane / anti-mannane ; CrAg	Routine (CHU)
Sérologies Aspergillus / Candida	Routine (CHU)
MALDI-TOF	Quelques centres
antifongigramme standardisé	?
qPCR P. *jirovecii*	Quelques centres
β-D-glucane, LFA *Aspergillus*	?
qPCR *Aspergillus* / Mucorales, PCR résistance	?
T2Candida, métagénomique, laboratoire BSL-3	?

Algorithme global : devant une suspicion d'IFI

1. Évaluer l'hôte : EORTC, réa (FUNDICU), VIH/CD4, prophylaxie en cours → **2. Identifier le syndrome** + imagerie orientée (TDM, IRM, fond d'œil) → **3. Prélever AVANT de traiter** si possible ; renseigner le laboratoire

Sepsis sous ATB, réa, CVC	Nodules, halo, cavité	Verre dépoli + hypoxémie	Méningite subaiguë	Sinusite nécrosante, halo inversé	Lésions cutanées, HC à moisissure
Candida	*Aspergillus*	*Pneumocystis*	*Cryptococcus*	Mucorales	*Fusarium*, autres
HC ×3, BDG ×2, prélèvements profonds	GM sérum, PCR, LBA (GM, PCR, **culture**)	BDG, LBA : IF + qPCR	CrAg sérum + LCR, pression	Biopsie urgente, qPCR sérum	Biopsie, **hémocultures**

4. Classer (prouvée / probable / possible) et traiter de façon préemptive sans attendre la preuve si le tableau est grave

5. Documenter : identification à l'espèce + antifongigramme ; suivi des biomarqueurs (GM, BDG, qPCR) ; désescalade si négatifs

Synthèse de l'orateur d'après EORTC/MSGERC 2020, FUNDICU 2024 et les guidelines ECMM/ISHAM/ASM 2019-2025

Messages clés



Comment optimiser le diagnostic mycologique des infections fongiques invasives?

Diagnostic stewardship



1. Le bon patient

2. Le bon prélèvement au bon moment

3. Le bon examen

4. Le bon résultat, correctement interprété, rapidement transmis

5. La bonne décision clinique

MERCI