REPUBLIQUE DU BENIN

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

------*

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

------*

FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

--------*

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE EN MEDECINE

------**

Année : 2021 **N° 2421**

EVALUATION D'UN TEST DE DIAGNOSTIC RAPIDE POUR LE DIAGNOSTIC DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE CHRONIQUE

THESE

Présentée et soutenue publiquement pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE
DIPLÔME D'ETAT

Par

Florentin AYIMANDE

Né le 24 Octobre 1996 à Cotonou (République du Bénin)

Directrice de thèse

MCA Yolande SISSINTO SAVI DE TOVE

Co-directeur de thèse

MA Ablo Prudence WACHINOU

Présidente du jury

Pr Dorothée A. KINDE GAZARD

Membres du jury

MCA Armand WANVOEGBE

MCA Ulrich VODOUHE

MCA Yolande SISSINTO SAVI DE TOVE

Pr Dorothée A. KINDE GAZARD

REPUBLIQUE DU BENIN
*****
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE
****

N°1386 /2021/UAC/FSS/VD-Ecoles/VD-UFR Pharma/VD UFR Méd/SGE/CP/SA

UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

NOVEMBRE 2021

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

DOYEN : Professeur MEHINTO Delphin K.

VICE-DOYEN U.F.R Médecine : Professeur ZOUMENOU Eugène

VICE-DOYEN U.F.R Pharmacie : Maître de Conférences Agrégé YEMOA Loconon Y. Achille

VICE-DOYENNE /ECOLES : Professeur EZIN-HOUNGBE Josiane

Année : 2020-2021 (version novembre 2021)
Source : Service du Personnel

PROFESSEURS TITULAIRES

1.	Dr EZIN-HOUNGBE Josiane.....	Psychiatrie Adulte
2.	Dr HOUINATO Dismand Stéphan.....	Neurologie
3.	Dr ADJIBABI Wassi.....	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
4.	Dr KINDE GAZARD Dorothée Akoko.....	Parasitologie Mycologie
5.	Dr MEHINTO Delphin Kuassi.....	Chirurgie Viscérale
6.	Dr VIGNIKIN -YEHOUESSI Bernadette	ORL-Chirurgie- Cervico- Faciale
7.	Dr GANGBO Flore	Histologie- Embryologie-Cytogénétique
8.	Dr LALEYE Anatole O. A	Histologie-Embryologie-Cytogénétique
9.	Dr AMOUSSOU-GUENOU Marcellin Kuassi.	Biophysique, Médecine Nucléaire
10.	Dr FIOGBE Michel Armand.....	Chirurgie Pédiatrique
11.	Dr HANS-MOEVI Aristote	Orthopédie -Traumatologie
12.	Dr KPADONOU Toussaint Godonou.....	Médecine Physique – Réadaptation
13.	Dr SOUNOUVOU Ignace.....	Ophtalmologie
14.	Dr BIAOU Olivier	Imagerie Médicale
15.	Dr ODOULAMI-YEHOUESSI Lisette.....	Ophtalmologie
16.	Dr ZOUMENOU Eugène.....	Anesthésie-Réanimation
17.	Dr DENAKPO Justin Lewis	Gynécologie Obstétrique
18.	Dr DOSSOU Francis Moïse	Chirurgie Générale
19.	Dr ADEGBIDI Hugues Daniel Gbadébo	Dermatologie Vénérologie
20.	Dr AFFOLABI Dissou.....	Bactériologie-Virologie
21.	Dr ALAO Modjere Ola Maroufou Jules.....	Pédiatrie et Génétique Médicale
22.	Dr ATADOKPEDE Agbomènou Félix.....	Dermatologie- Vénérologie
23.	Dr AWEDE Bonaventure Lucien Sévérin.....	Physiologie
24.	Dr FIOSSI-KPADONOU Emilie.....	Pédopsychiatrie
25.	Dr TONATO-BAGNAN Josiane Angéline A.	Gynécologie-Obstétrique
26.	Dr ADJIEN Kodjo Constant	Neurologie
27.	Dr OGOUYEMI-HOUNTO Aurore Bertille.	Parasitologie
28.	Dr SAGBO Gratien.....	Pédiatrie
29.	Dr SEHONOU Jean	Hépato-Gastro-Entérologie
30.	Dr AGODOKPESSI Gildas	Pneumo-Phtisiologie
31.	ALAMOU Soulé.....	Ophtalmologie
32.	Dr ALLABI Aurel Constant Eustache.....	Pharmacologie Clinique

Source : Service du Personnel

MAK 2/10

33. Dr AVAKOUDJO Josué D. Georges	Urologie-Andrologie
34. Dr AYELO Ahounmènou Paul	Médecine du Travail
35. Dr GNONLONFOUN Dieu donné	Neurologie
36. Dr HOUNKPATIN Benjamin I. Bodounrin.....	Gynécologie Obstétrique
37. Dr TSHABU AGUEMON Christiane	Gynécologie Obstétrique
38. Dr ZOMALHETO Zavier Cossi	Rhumatologie
39. Dr GBENOU Antoine Séraphin	Chirurgie Pédiatrique
40. Dr YEKPE Hermione Patricia Frida épouse AHOUANSOU	Imagerie Médicale

MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES

1. Dr ASSOUTO A. Pamphile.	Anesthésie –Réanimation
2. Dr AVAKOUDJO François	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
3. Dr HOUNKPE Pierre Claver	Anesthésie-Réanimation
4. Dr LAWSON AFOUDA Sonia.....	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
5. Dr AGUEMON Badirou Din.....	Santé Publique
6. Dr ALAGNIDE Hountondji Etienne	Médecine Physique et de Réadaptation
7. Dr AZON KOUANOU Angèle	Médecine Interne
8. Dr GBESSI Dansou Gaspard	Chirurgie Générale
9. Dr HINSON Vikkey Antoine	Médecine du Travail
10. Dr LALYA Francis Honorat.....	Pédiatrie et Génétique Médicale
11. Dr SISSINTO SAVI DE TOVE Yolande.....	Parasitologie-Mycologie
12. Dr VIGAN Jacques	Néphrologie
13. Dr YEMOA Loconon Y. Achille.	Chimie Analytique-Bromatologie
14. Dr AGBODANDE Kouessi Anthelme	Médecine Interne
15. Dr ALIHONOU Thierry	Neurochirurgie
16. Dr BAGNAN TOSSA Léhila.....	Pédiatrie et Génétique Médicale
17. Dr GANFON Habib M. Yoel.	Pharmacognosie
18. Dr KEREKOU Annelie Célestine.	Endocrinologie
19. Dr VODOUHE Ulrich B.	ORL-Chirurgie Cervico Faciale
20. Dr WANVOEGBE Armand.....	Médecine Interne

19BK 3/10

JOURNEE 2021

Source : Service du Personnel

MAITRES ASSISTANTS

1.	Dr GANDAHO Hugues Jean-Thierry	Neurochirurgie
2.	Dr AGBOTON Bruno Léopold	Néphrologie
3.	Dr ALIHONOU Florence	Pédiatrie et Génétique Médicale
4.	Dr ABOUKI Chakiratou Olaïdé Adoukê.....	Ophtalmologie
5.	Dr AKPADJAN Gbèmawonmédè Fabrice.....	Dermatologie-Vénérologie
6.	Dr CHIGBLO Sègla Pascal Eric.....	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
7.	Dr DEGBOE Kaï Bérénice Esthelle	Dermatologie-Vénérologie
8.	Dr DJOSSOU Médéssè David (Demande de mise à disponibilité).....	Odontologie Pédiatrique
9.	Dr HODONOU Détondji Fred Jean-Martin...	Urologie-Andrologie
10.	Dr LAWANI Ismaïla.....	Chirurgie Viscérale
11.	Dr OGOUDJOBI Ogourindé Mathieu.....	Gynécologie-Obstétrique
12.	Dr ZOHOUN-GUIDIGBI Lutécia Myria A.....	Pédiatrie et Génétique Médicale
13.	Dr ABOUBACAR Moufalilou	Gynécologie-Obstétrique
14.	Dr ADJADOHOUN Sonia B.M. Gwladys....	Radiologie
15.	Dr ADJAGBA D. Philippe M	Cardiologie
16.	Dr AMOSSOU L. François.....	Traumatologie-Orthopédie
17.	Dr ATTOLOU Sètondji Roger Gilles.....	Chirurgie Générale
18.	Dr AZONBAKIN Azandégbé Simon	Histologie-Embryologie-Cytogénétique
19.	Dr BADOU Agnès Oladun Sylvie.....	Ethnologie
20.	Dr GNANGNON Freddy Houehanou R.....	Cancérologie Chirurgicale
21.	Dr GNINKOUN Comlan Jules.....	Endocrinologie Métabolisme et Nutrition
22.	Dr IMOROU SOUAÏBOU Yacoubou.....	Chirurgie Générale
23.	Dr KPOSSOU Aboudou Raïmi	Gastroentérologie et Hépathologie
24.	Dr LOKOSSOU M. Symphorose.....	Gynécologie-Obstétrique
25.	Dr PADONOU Abiodoun Djossè.....	Traumatologie-Orthopédie
26.	Dr PADONOU Sètondji Géraud Roméo.....	Santé Publique
27.	Dr SEIDOU Falilatou	Anatomie Pathologique
28.	Dr SONOU Djidjoho Joël A.....	Cardiologie
29.	Dr TOGNIFODE M. Véronique.....	Gynécologie-Obstétrique
30.	Dr TOKOUDAGBA Kossi Jean-Marie Dénis...	Chimie Organique et Chimie des Substances Naturelles
31.	Dr WACHINOU Ablo Prudence.....	Pneumo-Phtisiologie
32.	Dr YEVI Dodji Magloire Inès.....	Urologie Andrologie
33.	Dr ADJOBIMEY Mênonli.....	Santé au Travail
34.	Dr AKODJENOU Joseph	Anesthésie Réanimation
35.	Dr ANAGONOU Lary Lucrèce.....	Pédopsychiatrie
36.	Dr BANCOLE POGNON Sylvie Arlette A.....	Chirurgie Buccale
37.	Dr BIGOT Cédric Egnonwa Parfait	Médecine Légale
38.	Dr BOGNON Gilles M.....	Pédiatrie
39.	Dr KLIKPO Elvire	Psychiatrie Adulte
40.	Dr MIKPONHOUE Rose Christelle épse OLOU.....	Médecine du Travail
41.	Dr PADONOU Caroline	Pédiatrie

MBK 4/10

Source : Service du Personnel

ARCHIVE 2021

42. Dr ZOHOUN Comlan Gildas Alban	Hématologie
43. Dr AHOUNOU Ernest Stéphane.....	Anesthésie-Réanimation
44. Dr AÏGBE Nestor.....	Ophtalmologie
45. Dr DANGBEMEY Djima Patrice.....	Gynécologie-Odstrétique
46. Dr DO SANTOS ZOUNON Alexis.....	OTO-Rhino Laryngologie et Chirurgie Cervico-Faciale
47. Dr HOUNKPONOU Eliane Kayivi Murielle épouse AMOUSSOU-GUENOU.....	Cardiologie
48. Dr LALEYE Christel Marie Fortunat Olatumbossum B.I.	Anatomie
49. Dr MIZEHOUN Gbèdécon Carmelle.....	Nutrition et Diététique

ASSISTANTS

1. Dr VIGNON Cyprien K.(Procédure d'appel en cours pour service abandonné)	Chirurgie Générale
2. Dr LANKPEKO-AFFOLABI Clémence M.	Pédiatrie et Génétique Médicale
3. Dr YAKOUBOU YOBO Annatou	Pédiatrie et Génétique Médicale
4. Dr SOSSA Jean	Urologie
5. Dr VIGNON Koffi Rodolphe	Hépato-Gastroentérologie
6. Dr AMONLES Yves D.	Psychiatrie
7. Dr LAWSON Roland F (Situation non connue).....	Pharmacologie
8. AGBOKPONTO Janvier Engelbert.....	Chimie Analytique
9. Dr HOUESSOU ENIANLOKO Nicole Zinhoué épse TCHIAKPE.....	Pédiatrie
10. Dr HOUNDETOUNGAN David Gilles.....	Biophysique
11. Dr AZA-GNANDJI Guy-Gérard.....	Psychiatrie
12. Dr DADJO Kinski Aumar.....	Traumatologie Orthopédie
13. Dr GOUKODADJA Oswald.....	Traumatologie Orthopédie
14. Dr ASSANHOU Assogba Gabin.....	Pharmacie Galénique
15. Dr BAGLO Dédé Priscillia Tatiana.....	Hématologie Biologie

MBK 5/10

NOVEMBRE 2021

Source : Service du Personnel

EMERITES

1- Dr BASSABI Souleymane.....

2- Dr AHYI Réné A. Galbert.....

3- Dr PADONOU Nazaire.....

4- Dr HOUNKPE Célestin.....

5- Dr Do ANGO-PADONOU Florencia.....

6- Dr GNINAFON Martin.....

7- Dr ALIHONOU Eusèbe Magloire.....

COLLABORATEURS

A- COLLABORATEURS EXTERIEURS

1- Dr LECLERCQ Joëlle.....	Professeur de Pharmacognosie à l'Université Catholique de Louvain (UCL)
2 - Dr CREPPY Edmond.....	Professeur de Toxicologie à la retraite - Université de Bordeaux 2
3 - Dr ATINDEHOU Eugène.....	Professeur de Chimie Analytique à la retraite - Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY
4 - Dr GRISLAIN Luc.....	Professeur de Galénique à l'Université Bordeaux 2
5 - Dr POUPAERT Jacques.....	Professeur de Chimie Pharmaceutique à la retraite – Université Catholique de Louvrain
6 - Dr EVRARD Brigitte.....	Professeur de Galénique à l'Université de Liège
7-Dr ROBERT Jean-Michel	Professeur de Chimie Thérapeutique/UFR Pharmacie Université de Nantes
8-Dr ZIME DIAWARA H. Hermine	Maître-Assistant de Pharmacie Galénique à l'Université Joseph KI-ZERBO ; Burkina-Faso
9-Dr OUATTARA Mahama.....	Maître de Conférences Agrégé de Chimie Médicale à l'Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY
10-Dr SANGARE Béatrice.....	Maître de Conférences Agrégé de Toxicologie à l'Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY

Source : Service du Personnel

MAK 6/10

NOVEMBRE 2021

B- COLLABORATEURS NATIONAUX

1- Dr LOKO Frédéric Simplice	Professeur Titulaire de Biochimie à l'Ecole Polytechnique de l'UAC
2–Dr AHISSOU Hyacinthe.....	Professeur Titulaire de Biochimie à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
3–Dr GBENOU Joachim	Professeur Titulaire de Chimie Organique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
4- Dr OUENDO Edgard-Marius.....	Professeur Titulaire en Santé Publique, Epidémiologie (IRSP)
5- Dr KPATCHAVI Adolphe.....	Professeur Titulaire en Sociologie Anthropologie
6- Dr AGUEH Damienne Victoire.....	Professeur Titulaire en Santé Publique, Epidémiologie (IRSP) ; Maître ès Sciences en Nutrition
7–Dr JOSSE Roger Gérard	Professeur Titulaire de Chimie Analytique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
8–Dr GBAGUIDI Fernand	Professeur Titulaire de Chimie Organique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
9–Dr WOTTO Valentin	Professeur Titulaire de Chimie Physique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
10- Mr ATOHOUN Guy	Professeur Titulaire de Chimie Minérale
11- Dr EZIN Eugène.....	Professeur Titulaire en Informatique à l'Institut de Mathématiques et de Sciences Physiques de l'UAC
12– Dr OGOUYANDJOU Simplice.....	Maître de Conférences en Mathématiques
13- Dr KPOVIESSI Salomé	Professeur Titulaire en Chimie Organique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
14- Dr DJEGO Gaudens	Professeur Titulaire en Ecologie/Botanique
15- Mr AGBANI Benoît	Maître Assistant de Physique à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UAC
16- Dr MEDEGAN FAGLA Sèdami Romarique.....	Maître-Assistant en Chimie Organique.

MAR 7/10

Source : Service du Personnel

C- AUTRES ENSEIGNANTS ASSOCIES

1 - Mr JADIN Olivier	Kinésithérapie
2 - Mr YEHOUESSI Jacques	Soins infirmiers
3 - Mme QUENUM Marie	Soins Infirmiers
4 - Mr AFANUH Matthew.....	Anglais
5- Dr HENADOU Martin	Législation Pharmaceutique
6 - Dr AHLONSOU Prosper	Législation Pharmaceutique
7 - Mr ANANI Yves.....	Techniques de kinésithérapie passive
8 - Mr ASSOGBA Franck.....	Techniques de kinésithérapie active
9 - Mr GNIMASSOU Karol.....	Techniques de kinésithérapie respiratoire
10- Mme DJIVOH Yolande.....	Périnéologie
11- Mr AHO Audrey	Electrothérapie
12 - Dr HOUNGBEDJI Germain	Analyse du mouvement, Biomatériaux et Thérapie Manuelle Orthopédique
13 - Mr SOGBOSSI Emmanuel.....	Anatomie palpatoire
14 - Mme ZOUNON Diane.....	Analyse du mouvement
15 - Mr OLOUKA Jean.....	Techniques de kinésithérapie en neurologie adulte
16 - Mme BABI Josiane.....	Techniques de kinésithérapie en neurologie-pédiatrie
17 - Mr ACAKPO Alfred.....	Nutrition
18- Mr KADI Christophe.....	Anglais
20 - Mr DJOSSOU A. K. Alfred.....	Anglais
21 - Mr SOUMANOU Mohamed.....	Technologie alimentaire
22 - Mr ABOU Adam.....	Technologie alimentaire
23 - Mme CAPO-CHICHI Callinice.....	Biologie moléculaire
24 - Mr SANNI Ambaliou.....	Biologie moléculaire
25 - Dr ALASSANI Adébayo.....	Médecine interne/Nutrition
26 - Mr MIKODE Denis.....	Nutrition
27 - Mme LOKOSSOU Céline.....	Nutrition

Source : Service du Personnel

MAK 8/10

NE PEUT ETRE VENDU 2021

28 - Mme HOUNGBO Hermance.....	Nutrition
29 - Mr ADOMAHOU David.....	Nutrition
30 -Mme DOSSOU-SINTONDJI Reine.....	Nutrition
31- Dr SOSSA Charles.....	Nutrition
32 - Mr HESSOU Joseph.....	Nutrition
33 - Mme MELOME Marie Constance	Communication
34 - Mme COSSI Reine.....	Méthodologie
35 – Dr MOROU Karim	Nutrition
36– Dr AZANDJEME Colette	Nutrition
39-Mme Napporn Clarisse.....	Psychologie Sociale, (Maître-assistant à la FLASH)
40 - Mr AÏHOU Mamère.....	Finances Publiques
41 -Mr AMOUSSOU YEYE Denis	Psychologie générale, Psychologie du couple
42- Dr BODEA Gilbert	Méthodologie de la recherche, Sociologie de la famille
43 - Mr ZANNOU Jules.....	Droit Administratif et Constitutionnel
44 - Mr KEKE Jean-Claude.....	Economie
45 - Mr AVOCE Viagamou.....	Economie
46- Mr EKPINSE Emile.....	Rédaction administrative
47 - Mme SAGBOHAN Mireille.....	Economie Familiale, Economie Sociale
48- Mr HOUEDJISSIN Benoit.....	Déviance et délinquance juvénile
49 - Mme AKINHOLA Valérie.....	Méthodologie d'intervention, intervention sociale d'aide à la personne
50 - Mme IDOSSOU Valérie.....	Introduction à la politique sociale, politique de protection des personnes âgées, cadre théorique, service social de groupe
51- Mr ADJAÏ Olivier.....	Politique de protection sociale de l'enfant
52 - Mr TONI Mathias.....	Politique de la jeunesse, Politique de protection sociale des personnes handicapées
53- Mr COMAHOUE Franck	Politique de protection sociale de l'enfant, TD devoir médico-social (Méthodologie d'intervention)
54- Mme SESSOU Fidélia	TD Devoir social (Méthodologie d'intervention)

MAK 9/10

Source : Service du Personnel

NOVEMBRE 2021

55- Dr de SOUZA Pélagie Léchidia.....	Socio-Anthropologie Générale
56 - Mr SOSSOU Janvier	Technique d'animation
57 - Mr HOUNTONDJI Albert	Droit du travail
58 - Mr HOUNTONDJI Jules	Service social communautaire
59- Mr ALADATIN Prévert	Droit Pénal Général, Procédure Pénal
60 - Dr IBIKUNLE Charles	Introduction au Droit, Droit civil
61 - Mme TCHIBOZO Pauline	Intervention d'aide à la personne
62- Mr ATODJINOU Candide	Statistique
63- Mr AKOCHAYE Nicolas	Démographie
64 - Dr VISSOH Séraphin.....	Méthodologie de la Recherche
65 – Mr GBEHINTO Bruno	Gestion de projet
66- Mr NANSI Célestin	Sécurité Sociale
67- Mr AGBOGBE Nestor	RBC et Pédiatrie Sociale
68- Mme DARBOUX Marie Antoinette Brigitte	Littérature Anglaise et Américaine

Le Doyen,

01/12/2021

Université d'Abomey - Calavi
LE DOYEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA SANTE

Professeur Delphin K. MEHINTO

Source : Service du Personnel

NOVEMBRE 2021

Dédicaces

A Dieu tout Puissant et Miséricordieux

« Comment rendrai-je au Seigneur tout le bien qu'Il m'a fait ? ».

Psaumes 116 v 12

Je suis toujours sans voix quand je réalise l'immensité de Tes œuvres dans ma vie. Tu me connais mieux que moi et Tes choix pour moi sont parfaits. Merci mon Dieu d'avoir fait le chemin avec moi. Je sais que Tes bontés ne s'épuisent point et qu'avec Toi j'irai de gloire en gloire.

Amen.

A la Vierge Marie

Ma mère et ma reine. Qu'ai-je demandé par ton intercession sans obtenir gain de cause ? Comme à Canna tu viens à mon secours sans même que je n'en exprime le besoin.

Merci Sainte mère.

- ***A ma défunte mère Léontine HOUESSOU***

Tu aurais tout donné pour me voir arriver au bout de cette aventure que tu as si ardemment désirée pour moi. Tu me voulais grand médecin. Aujourd'hui, j'ai le cœur meurtri quand je réalise que tu n'es plus là pour voir ton souhait se réaliser et récolter des fruits de ton dur labeur sur ma personne. De là-haut, j'espère que tu es fière de moi. Je sais qu'en permanence tu es à mes côtés et que jamais tu ne m'abandonnes. Repos éternel maman.

Je t'aime d'un amour infini !

- ***A mon père Emile C. D.* AYIMANDE**

Tu as toujours cru en moi et tu t'es donné corps et âme pour ma réussite. La rigueur avec laquelle tu nous as éduqués est pour moi le plus grand des héritages. Vois en ce travail l'expression de ma profonde reconnaissance.

Puisse le Seigneur te bénir abondamment et te combler de longs jours heureux.

Profonde gratitude.

- ***A mes frères et sœurs :* Marius, Viviane, Monique, Nicaise, Noël et Christelle**

Vous avez toujours été là pour moi à chaque étape sans vous lasser de me soutenir. Voyez en ce travail l'aboutissement de vos efforts quotidiens.

Puisse le Seigneur vous accorder santé, réussite, bonheur et qu'Il nous unisse davantage.

Soyez bénis.

- ***A Murielle FAGNON***

Tu as toujours été là pour moi, dans les bons comme dans les mauvais moments. Tu as beaucoup contribué à l'accomplissement de la personne que je suis devenu. Je ne saurai jamais assez te remercier pour ta présence et ton amour. Puisse le Seigneur te combler infiniment de ses grâces et nous unir davantage.

Infiniment merci.

Remerciements

Ce travail est l'aboutissement d'un long cheminement au cours duquel j'ai bénéficié de l'encadrement, des encouragements et du soutien de plusieurs personnes, à qui je tiens à dire profondément et sincèrement merci.

- ***Au Docteur Prudence WACHINOU***

Vous avez accepté de codiriger ce travail. Nous vous remercions pour votre grande contribution. Recevez ici l'expression de notre profonde gratitude.

Sincères remerciements.

- ***Aux Docteurs Fréderic ALOVOKPINHOU, Fadyl SEFOU, Alain CODJIA, Crespin SOGLOHOUN et Calixte ALOFA.***

Vous m'avez accompagné durant ce travail par vos conseils et vos encouragements. J'ai été profondément touché par la gentillesse de votre accueil et votre spontanéité.

Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

- ***Au personnel du CNHU-PP de Cotonou***

Ces mois passés avec vous ont été des moments mémorables. Pour votre disponibilité, vos conseils et vos encouragements je vous remercie.

Profonde reconnaissance.

- ***A la major du CNHU-PPC, Mme FAMAGAN***

Vous étiez toujours présente à mes côtés tout au long de l'étude malgré vos nombreuses occupations.

Sincères remerciements.

- ***A tout le personnel du laboratoire de parasitologie- mycologie du CNHU-HKM***

Merci pour votre accueil, votre disponibilité et vos encouragements.

Sincères remerciements.

- ***A Mr Augustin KOUKPOLIYI et Mr David BIAO***

Vous m'avez appris la pratique des différentes manipulations réalisées dans cette étude. Merci pour le savoir que vous m'avez partagé.

Sincères remerciements.

- ***Au Dr Madjer DEGBEY***

Plus qu'un ainé, tu es un frère. Tu m'as toujours apporté ton soutien et m'a toujours guidé depuis mes débuts dans la faculté. Tu m'as fait marcher dans tes pas. Je te serai toujours reconnaissant.

Sincères remerciements.

- ***Au Dr Salim DJAOUGA***

Avec toi, apprendre rime avec rigoler. Ta modestie et ta rigueur scientifique sont sans égales. Merci pour la connaissance apportée.

Infiniment merci.

- ***A mes amis Godwill FAVI, Rodrigue ANITCHEHOU et Jean-Pierre DJOSSA***

Nous avons commencé cette aventure depuis 2014. On a connu des moments de joie et de tristesse, mais nous étions toujours soudés. Que Dieu veille sur vous mes frères. De belles choses nous attendent à l'horizon.

Profonds remerciements.

- ***A mes collègues et amis du groupe d'internat***

Merci pour les expériences que nous avons partagées. Que les luttes que nous menons pour changer nos conditions portent leurs fruits.

Brillante carrière à tous.

- **A mes cadets *Adriana, Grâce, Auriane, Pelegrina*.**

Merci de m'avoir encouragé et accompagné dans cette étude.

Profonde gratitude.

Hommages

- ***A tous nos illustres maîtres de la Faculté des Sciences de la Santé***

Merci pour votre contribution à notre formation et pour tous les enseignements précieux reçus de vous. En reconnaissance de votre dévouement à la transmission du savoir, nous vous prions d'accepter nos sentiments de gratitude et d'hommage.

Hommages mérités.

- ***Au Professeur Dorothée A. KINDE-GAZARD***

Votre grandeur d'âme, votre ardeur au travail, votre rigueur scientifique et votre simplicité nous ont beaucoup impressionné.

Veuillez recevoir l'expression de notre profond respect et de notre admiration.

Hommages respectueux.

- ***Au Professeur Aurore OGOUYEMI-HOUNTO***

Votre rigueur scientifique, votre éloquence et votre ardeur au travail forcent l'admiration.

Veuillez recevoir l'expression de notre profond respect.

Hommages mérités.

- ***Au Professeur Dissou AFFOLABI***

Pour votre autorisation qui nous a permis l'accès au laboratoire du CNHU-PPC et la collaboration du personnel.

Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Sincères remerciements.

- ***Au Professeur Gildas AGODOKPESSI***

Votre rigueur scientifique nous laisse sans voix. Merci d'avoir accepté nous accompagner dans ce travail. Vos apports et vos conseils ont été d'une aide précieuse.

Sincères remerciements.

- ***A notre directrice de thèse, Maître de Conférences Agrégé Yolande SISSINTO-SAVI DE TOVE***

Vous m'avez fait l'honneur de bien vouloir assurer la direction de cette thèse et comme une mère vous m'avez tenu par la main et guidé jusqu'à la fin. Votre sens du travail bien fait, votre humilité, et votre amabilité méritent toute admiration. Malgré vos multiples occupations, vous avez accepté nous encadrer dans la réalisation de ce travail. Permettez-moi de vous exprimer ma sincère gratitude et tout mon respect.

Puisse l'Eternel exaucer vos vœux les plus chers ainsi que ceux de votre famille.

Hommages mérités.

Liste des sigles et abréviations

A.	*: Aspergillus*
ABPA	: Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique
Ac	: Anticorps
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AI	: Aspergillose Invasive
APC	: Aspergillose Pulmonaire Chronique
APCC	: Aspergillose Pulmonaire Chronique Cavitaire
APCF	: Aspergillose Pulmonaire Chronique Fibrosante
APCN	: Aspergillose Pulmonaire Chronique Nécrosante
ASLO	: Anti-Streptolysines O
ASSURED	: Affordable Sensitive Specific User-friendly Rapid and robust Equipment-free and Deliverable to end users
BPCO	: Bronchopneumopathie Chronique Obstructive
CDT	: Centre de Dépistage et de Traitement
CNHU-HKM	: Centre National Hospitalier et Universitaire -Hubert Koutoukou Maga
CNHU-PPC	: Centre National Hospitalier Universitaire de Pneumo Phtisiologie de Cotonou
ECBU	: Examen Cytobactériologique des Urines

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

FS/GE : Frottis Sanguin/ Goutte Epaisse

FSS : Faculté des Sciences de la Santé

ICT : Immunochromatographie

IDSA : Infectious Diseases Society of America (Société Américaine des Maladies Infectieuses)

Ig : Immunoglobulines

MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight

NADPH : Nicotinamide-Adénosine-Dinucléotide Phosphate

PCR : Polymerase Chain Reaction

Se : Sensibilité

SDW : Sérodiagnostic de WIDAL

Sp : Spécificité

TDM : Tomodensitométrie

TDR : Test de Diagnostic Rapide

TP : Tuberculose Pulmonaire

TPHA : Treponema Pallidum Hemagglutination Assay

UER : Unité d'Enseignement et de Recherche

UFR : Unité de Formation et de Recherche

VDRL : Veneral Disease Research Laboratory

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VN : Vrai négatif

VP : Vrai positif

VPP : Valeur Prédictive Négative

VPN : Valeur Prédictive Positive

% : Pourcentage

° C : Degré Celsius

µL : Microlitre

mm^3 : Millimètre cube

Liste des tableaux et figures

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification d'*Aspergillus sp* 7

Tableau II : Aspects macroscopiques des principales espèces d'*Aspergillus*..... 9

Tableau III : Aspects microscopiques des principales espèces d'*Aspergillus* 10

Tableau IV :Tableau de contingence d'un échantillon de N sujets classés en fonction de leur état de santé selon un test de référence et le test étudié..... 31

Tableau V : La séroprévalence de l'APC (CNHU-PPC 2019-2021)..... 54

Tableau VI : La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative du test Aspergillus ICT IgG-IgM 55

LISTE DES FIGURES

Figure N°1 : Classification d'*Aspergillus sp.* 8
Figure N°2 : Vue schématique de la contamination par l'*Aspergillus* 13
Figure N°3 : Spores d*'Aspergillus* 14
Figure N°4 : Diverses formes et chevauchements possibles d'APC 18
Figure N°5 : Scanners de patients présentant un aspergillome 22
Figure N°6 : Imagerie d'APCC 23
Figure N°7 : Radiographies d'un patient présentant une APCC (A : Juin 1994) qui a évolué en APCF (B : Septembre 1997) 23
Figure N°8 : Images d'APCN 24
Figure N°9 : Scanner pulmonaire montrant un nodule avec signe du halo 25
Figure N°10 : Truffes aspergillaires observée après une exérèse 35
Figure N°11: Exemple de cassette *ASPERGILLUS* ICT IgG-IgM (LDBio) 44
Figure N°12 : Kit ELISA bordier 45
Figure N°13 : Vue des barrettes ELISA bordier 47
Figure N°14 : Diagramme de flux global de l'étude 51
Figure N°15: Distribution de la population d'étude selon l'âge 52
Figure N°16 : Distribution de la population d'étude selon la profession 53
Figure N°17 : Répartition en pourcentage des résultats d'*Aspergillus* ICT(TDR) des patients en fonction des seuils de positivité de l'ELISA 56

SOMMAIRE

Introduction 1

1. Généralités 5

2. Cadre, matériels et méthode d'étude 36

3. Résultats 50

4. Discussion 57

Conclusion et suggestions 64

SUGGESTIONS 67

Références 69

Annexes ..... a

Table des matières ..... A

Introduction

Les aspergilloses constituent la première étiologie de mycoses pulmonaires dans le monde **[1].** *Aspergillus* est un champignon filamenteux cosmopolite ubiquitaire dans l'environnement dont l'inhalation de spores est constante et quotidienne expliquant sa forte colonisation des voies respiratoires **[2].** Environ 300 espèces du genre *Aspergillus* sont dénombrées **[3]** parmi lesquelles ***A. fumigatus, A. flavus, A. niger, A. nidulans, A. terreus et A. versicolor*** sont généralement identifiées pathogènes pour l'homme. L'incidence de la maladie a significativement augmenté au cours des vingt dernières années **[4]** avec des manifestations respiratoires touchant principalement les voies aériennes inférieures **[5]**. La prévalence de l'aspergillose n'est pas rapportée précisément dans la littérature mais on estime à 3 millions le nombre de cas d'aspergillose pulmonaire chronique (APC) dans le monde **[6,7]**. Les mécanismes physiopathologiques qui conduisent au développement de la maladie sont multiples. Les formes cliniques varient selon le statut immunitaire des patients et des pathologies sous-jacentes **[8,9]**. Elles affectent surtout les patients présentant des pathologies pulmonaires sous-jacentes telles que la tuberculose ou une infection à mycobactérie atypique, la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), un cancer pulmonaire et l'emphysème **[8]**.

Le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire repose sur un processus intégré où les cliniciens doivent analyser les caractéristiques cliniques du patient, les images radiologiques et les résultats de laboratoires issus d' une sérologie et si nécessaire d'un examen mycologique **[7, 10]**. Ainsi la détection des immunoglobines G (Ig G) spécifiques à *Aspergillus* est essentielle au diagnostic de l'aspergillose pulmonaire chronique. La sérologie représente une composante importante parmi les critères diagnostiques de l'APC **[7]**. Cependant les tests diagnostiques existants souvent coûteux, reposent sur des procédures automatisées, nécessitent une

alimentation électrique stable et ne sont pas compatibles avec les environnements de laboratoire pauvres en ressources **[11]**.

Un nouveau test de diagnostic rapide a été récemment commercialisé et révolutionne le diagnostic en pratique quotidienne: *Aspergillus* ICT IgG-IgM. Il s'agit d'un test de migration latérale utilisant la technologie immunochromatographique (ICT) mis au point pour la détection des anticorps IgG et IgM d'*Aspergillus*. Ce test nécessite un équipement minimal et peut être effectué en petites séries. Il est parfaitement adapté aux contextes à faibles ressources **[7]**. De plus, il est facile à utiliser et il a été démontré qu'il répond aux critères ASSURED définis par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS): abordable, sensible, spécifique, convivial, rapide et robuste, sans équipement et livrable aux utilisateurs finaux. Il serait donc compatible avec le diagnostic biologique dans un pays à ressources limitées **[11]**. D'après les études réalisées par Elizabeth Stucky Hunter et *al.* en septembre 2019 à Manchester, le test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT IgG-IgM présente d'excellentes performances en tant qu'outil de dépistage de l'APC. Cependant les valeurs prédictives observées dans une population d'étude ne pourront être transposées dans une autre où la prévalence de la maladie est différente. Il serait ainsi judicieux de l'évaluer dans nos conditions de travail au Bénin. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre sujet de thèse intitulé: « **EVALUATION D'UN TEST DE DIAGNOSTIC RAPIDE POUR LE DIAGNOSTIC DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE CHRONIQUE** ».

Objectifs

- ✓ **Objectif général** :

Evaluer la performance du test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT IgG-IgM pour l'APC au CNHU-PPC.

- ✓ **Objectifs spécifiques**

De façon spécifique, il s'est agi de :

1. Décrire les caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude.
2. Déterminer la séroprévalence de l'aspergillose pulmonaire chronique chez les tousseurs chroniques non tuberculeux au CNHU-PPC.
3. Calculer la sensibilité et la spécificité du test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT IgG-IgM.
4. Calculer la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative du test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT IgG-IgM.

1. Généralités

1.1. DEFINITION DE QUELQUES CONCEPTS

L'aspergillose est une maladie infectieuse due à un champignon du genre *Aspergillus* **[1].**

L'aspergillose pulmonaire chronique est une maladie infectieuse due au développement et à la multiplication de l'*Aspergillus* au niveau pulmonaire et évoluant depuis au moins trois (03) mois **[12]**.

Un test diagnostique est toute procédure utilisée pour collecter des informations sur le statut de santé d'un individu (test de laboratoire, examen clinique, examen anatomopathologique, examen d'imagerie, questionnaire) **[13]**.

La validité diagnostique d'un test est définie comme sa capacité à effectivement mesurer ce qu'il est censé mesurer, à savoir la présence ou l'absence de la maladie ou du phénomène à détecter **[13].**

1.2. EPIDEMIOLOGIE

1.2.1. Agent pathogène

Aspergillus est un champignon ubiquitaire, cosmopolite, saprophyte et filamenteux formant un mycélium cloisonné hyalin **[14]**. C'est une moisissure qui représente 1 à 7 % des champignons de l'environnement. Il se développe sur la matière organique en décomposition, dans les sols, les végétaux, les terreaux, les denrées alimentaires et les céréales. Depuis leur première description en 1729 par Micheli, le nombre d'espèces n'a cessé d'augmenter et, actuellement, plus de 300 espèces sont dénombrées. Au sein de cette multitude d'espèces, seulement une trentaine est potentiellement pathogène chez l'homme. Au premier rang, il s'agit d'*Aspergillus fumigatus*, responsable de 80 à 90 % des cas d'aspergilloses. *A. flavus, A. nidulans*, *A. niger*, *A. versicolor* ou encore *A. terreus* sont aussi retrouvées à des incidences variables **[3]**.

1.2.1.1. Taxonomie

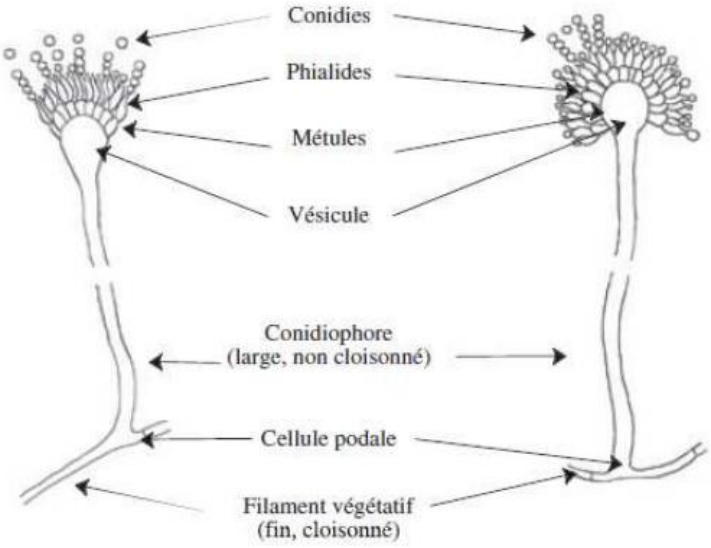
Le genre *Aspergillus* appartient au règne des *Fungi*, au phylum des *Ascomycota*, à la classe des *Eurotiomycètes*, à l'ordre des Eurotiales et à la famille des *Aspergillacea*e **[15]**.

Tableau I:Classification d'Aspergillus sp

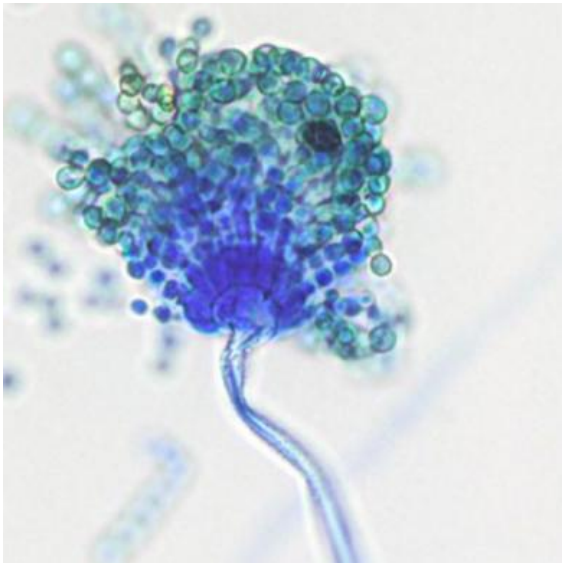
Rangs taxonomiques	Taxons
Règne	Fungi
Phylum	Ascomycota
Classe	Eurotiomycètes
Ordre	Eurotiales
Famille	Aspergillaceae
Genre	*Aspergillus*

1.2.1.2. Caractères morphologiques

Aspergillus est caractérisé par un thalle végétatif formé de filaments mycéliens hyalins de diamètre fin (2 à 4µm) et régulier, septés et ramifiés. Sur ces filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés non cloisonnés appelés stipes ou conidiophores. Ceux-ci sont terminés par une vésicule sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule (tête unisériée) ou portées par des petits articles insérés sur la vésicule, les métules (tête bisériée) comme indiqué sur la figure 1A. L'ensemble conidiophore, vésicule (± métules), phialides et conidies constitue la tête aspergillaire qui caractérise le genre (voir figure 1B) [**16**].



(A)



(B)

Figure N°1

(A) : Vue schématique d'une tête aspergillaire

(B) : Vue microscopique d'une tête aspergillaire

Les tableaux II et III résument respectivement les caractères morphologiques et microscopiques des espèces aspergillaires le plus souvent isolées.

Tableau II : Aspects macroscopiques des principales espèces d'*Aspergillus*

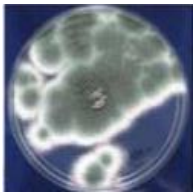
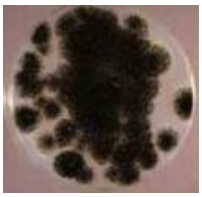
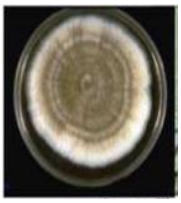
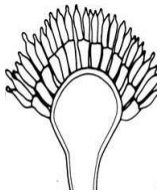
	A. fumigatus	***A. flavus***	***A. nidulans***	***A. niger***	***A. terreus***
ASPECTS DES COLONIES	Colonies blanches, puis bleu-vert, puis vert foncé à gris noirâtre 	Colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaunes, puis vert-jaune 	Colonies duveteuses à poudreuses, en général vert foncé ou vert cresson, jaunâtres pour les souches productrices de cléistothèces. Revers rougeâtre 	Colonies d'abord blanches, puis jaunes et enfin granuleuses noires 	Colonies duveteuses à poudreuses, de teinte beige à brun-noisette ou cannelle 

Tableau III: Aspects microscopiques des principales espèces d'*Aspergillus*

		A. fumigatus	***A. flavus***	***A. nidulans***	***A. niger***	***A. terreus***
ASPECTS MICROSCOPIQUES	**Stipe**	Lisse Pigmentée dans sa partie supérieure (300µm)	Rugueuse (1000µm)	Lisse et courte colorée en brun (75 à 100µm)	Lisse et longue Incolore (1000 à 3000µm)	Courte et lisse (100 à 150µm)
	Tête aspergillaire	Unisériée, en colonne compacte, assez grande (jusqu'à 100µm de long) 	Unisériée ou bisériée, petite en colonne ou grande et radiée (300 à 400µm de long) 	Bisériée, en colonne, courte et compacte 	Bisériée radiée, noire à maturité 	Bisériée, en colonne évasée (Aspect d'éventail) 
	Vésicule	Hémisphérique (20 à 30µm)	Sphérique (25 à 45µm)	Sphérique	Globuleuse (45 à 75µm)	Globuleuse
	Phialides	Portée directement sur la vésicule	Portée directement ou par des métules	Portée par des métules sur 1/3 ou 2/3 de la vésicule	Généralement portée par des métules	Fines portées par des métules serrées
	Conidies	Rondes, vertes Finement échinulées (2,5 à 3µm)	Rondes à piriformes échinulées (3,5 à 4,5µm)	Rondes échinulées (3 à 3,5µm)	Rondes finement échinulées (4 à 5µm)	Rondes et elliptiques Lisses et petites (1,5 à 2,5µm)

1.2.2. Réservoir

Le genre *Aspergillus* est un champignon cosmopolite très répandu dans le milieu extérieur où il vit en saprophyte colonisant de nombreux écosystèmes.

1.2.2.1. Répartition dans l'atmosphère

Selon les études aéromycologiques, le genre *Aspergillus* représente 1 à 5 % des moisissures dans l'atmosphère, en 4ème rang derrière *Cladosporium* (20 à 30 %), Al*ternaria* (9 à 18 %) et *Penicillium* (6 à 8 %) **[17]**. Le nombre de spores aspergillaires isolées de l'air est variable selon le lieu et la saison **[18]**. Le genre *Aspergillus* représente 2 à 3 % des champignons isolés dans l'atmosphère au sein des hôpitaux.

1.2.2.2. Répartition dans les habitations

Aspergillus est retrouvé aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des habitations **[3]**. A l'intérieur, il est présent dans les poussières accumulées derrière les meubles, les réfrigérateurs, sur les cadres, dans les faux plafonds, les conduits d'aération et dans la terre des plantes en pot. On le retrouve aussi dans les denrées alimentaires comme les céréales, les fruits moisis ou le poivre. Il est parfois présent dans les climatiseurs, les humidificateurs **[19]**. Les courants d'air assurent sa dissémination. A l'extérieur, on le trouve aussi bien en milieu urbain qu'en milieu rural.

1.2.2.3. Répartition en milieu hospitalier

En milieu hospitalier, *Aspergillus* se concentre au niveau des grilles d'arrivée d'air conditionné, du matériel de protection contre le feu, dans les gaines de ventilation et les faux plafonds **[3]**. Il est également retrouvé dans les tenues opératoires, les plâtres et les cartons d'emballage **[20]**. Les travaux de rénovation en milieu hospitalier ou de construction et de démolition de locaux à proximité sont considérés comme un risque majeur environnemental.

1.2.2.4. Répartition selon les espèces

- ✓ ***A. fumigatus***

Espèce la plus souvent isolée chez les patients et responsable de 80 à 90 % des observations d'AI. Elle est retrouvée aussi bien dans les régions chaudes que froides du globe. Sa bonne tolérance aux températures élevées explique son abondance dans les composts et autres matières organiques dans lesquelles interviennent des phénomènes de décomposition avec élévation thermique (silos à grains, foin en balles) **[17,21]**.

- ✓ ***A. flavus***

Cette espèce est plus fréquente dans les zones tropicales où elle se développe sur le fruit de l'arachide sur lequel il peut produire des aflatoxines. *A. flavus* se trouve dans les sols cultivés, sur les graines de céréales telles que le maïs ou l'avoine **[22]**.

- ✓ ***A .niger***

Espèce très commune dans le monde entier, elle se développe sur des substrats variés. Elle présente un pic de distribution estival en rapport avec son affinité pour les plantes herbacées **[22].**

- ✓ ***A.nidulans***

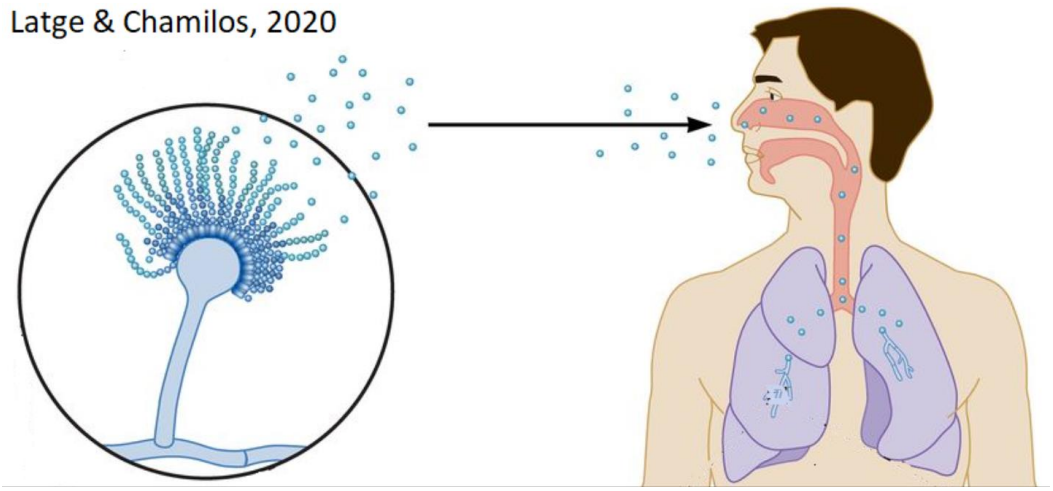
Espèce très répandue, elle est isolée du sol, de l'air et de substrats végétaux **[22]**.

- ✓ ***A.terreus***

Cette espèce des terres arables des régions chaudes, colonise les débris végétaux, la paille, le coton et les grains stockés **[22]**.

1.2.3. Mode de transmission

Le mode de contamination habituel est l'inhalation des spores en suspension dans l'air. C'estun phénomène inévitable et quasi quotidienne **[17]**. Les spores sont généralement inspirées par les voies aériennes supérieures et peuvent atteindre les alvéoles pulmonaires (figure 2) **[23]**.



<u>Figure N°2</u>: Vue schématique de la contamination par l'*Aspergillus*

1.3. PATHOGENIE

Toutes les espèces d'*Aspergillus* ne sont pas pourvues de pouvoir pathogène pour l'homme. Seules celles dotées de facteurs physiques, toxiques et enzymatiques peuvent être virulentes en présence de facteurs favorisants chez l'hôte.

1.3.1. Pouvoir pathogène

1.3.1.1. Facteurs physiques

✓ **Taille**

La petite taille des spores leur donne la possibilité d'atteindre les alvéoles pulmonaires. Par exemple, la taille des conidies d'*A. fumigatus* ne dépassant pas 2 à 3µm est un élément essentiel de la virulence de ce champignon puisqu'elle permet aux conidies de pénétrer profondément dans les voies respiratoires (figure 3) **[24]**.

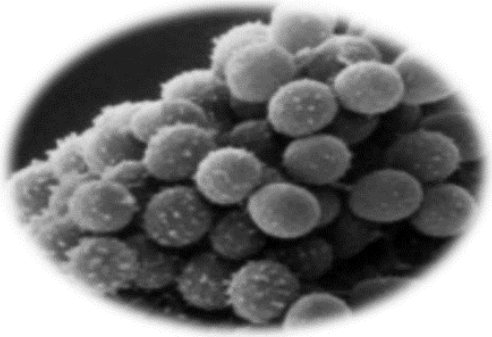


Figure N°3: Spores d'*Aspergillus*

✓ **Thermophilie**

C'est la capacité pour une espèce de survivre et de se multiplier à 37 °C, voire au-delà de cette température. *A. fumigatus* se développe très bien à 45°C et pousse même jusqu'à 57°C. Les autres espèces pathogènes dont *A. flavus, A. nidulans, A. terreus, A. niger* sont elles aussi thermophiles **[3]**.

✓ **Filamentation**

Les filaments qui résultent de la germination des spores représentent la forme invasive du champignon. Leur grande taille constitue une entrave à la phagocytose.

✓ **La résistance aux milieux extérieurs**

La résistance des *Aspergillus* à des milieux fortement chargés en sels et la capacité à survivre dans des milieux secs ou faiblement oxygénés permettent à ces champignons de s'adapter très facilement au parasitisme.

✓ **Molécules d'adhésion**

L'adhérence des conidies aux tissus de l'hôte est une étape cruciale dans le développement de l'infection aspergillaire **[25].** A la suite de dommages tissulaires, les conidies se lient spécifiquement aux protéines des membranes basales : fibrinogène, laminine, complément, fibronectine, albumine et collagène **[26,27]**. Aussi, des hydrophobines localisées à la surface des conidies favoriseraient également l'adhérence aux cellules de l'arbre respiratoire **[28, 29]**.

1.3.1.2. Production de toxines

La production de toxines participe aussi au pouvoir pathogène du genre *Aspergillus*. La gliotoxine produite par *A. fumigatus* possède un pouvoir d'immunosuppression en réduisant la phagocytose par les macrophages et les polynucléaires **[30]**. L'acide phtioïque produit en petite quantité par un nombre restreint de souches pourrait contribuer à la formation de granulome **[31]**. Une autre mycotoxine, l'acide oxalique est produit principalement par l'espèce *A. niger* **[32]**.

1.3.1.3. Production d'enzymes

A. fumigatus produit de nombreux enzymes protéolytiques qui altèrent les tissus et facilitent leur invasion, notamment au niveau pulmonaire **[3].** Il produit des hémolysines, des phospholipases, ainsi que des ribonucléases capables de cliver les ribosomes des cellules eucaryotes et de provoquer la mort de la cellule **[33, 34]**

1.3.2. Moyens de défense

En dépit d'inhalation régulière, le risque d'infection aspergillaire reste limité dans la population générale. Les défenses pulmonaires antifongiques reposent sur l'action coordonnée de 2 types d'immunité : innée et acquise **[35].**

1.3.3. Facteurs favorisants

Ce sont les conditions qui contribuent le plus au développement du champignon chez son hôte.

1.3.3.1. Facteurs environnementaux

Une élévation de l'aérobiocontamination a pu être reliée à une colonisation des voies aérodigestives supérieures et à la survenue de cas d'aspergillose **[36].** En effet, plusieurs études ont montré une relation significative entre la contamination fongique de l'air et des surfaces des secteurs non protégés des services d'hématologie clinique et la survenue de cas d'aspergillose nosocomiale **[37]**.

1.3.3.2. Facteurs locaux

L'altération du tapis mucociliaire par le tabagisme, la mucoviscidose, l'asthme, les antécédents de bronchopneumopathie obstructive ou de fibrose pulmonaire peuvent expliquer la colonisation de l'arbre trachéo-bronchique. De même, les infections pulmonaires à mycobactéries, virus influenzae, pyogènes, cytomégalovirus et mycoplasme peuvent également favoriser la survenue d'aspergillose par le biais des altérations des cellules épithéliales ou du tapis mucociliaire qu'elles engendrent **[17]**.

1.3.3.3. Facteurs généraux

Il s'agit de :

✓ **La neutropénie** : lorsqu'elle est sévère, (Polynucléaires neutrophiles < 500/mm³) elle est un facteur de risque majeur dans la survenue de l'aspergillose notamment l'AI **[37]**. Cependant, un taux normal de polynucléaires neutrophiles n'est pas suffisant pour écarter chez un patient un risque aspergillaire **[17]**.

✓ **La Corticothérapie** : elle est un facteur de risque connu de survenue de l'AI, quel que soit le contexte pathologique.

✓ **Le Déficit en NADPH-oxydase** : Un déficit héréditaire en nicotinamide-adénosine-dinucléotide phosphate (NADPH)-oxydase granulocytaire et macrophagique explique la survenue d'AI au cours de l'évolution de la granulomatose septique chronique **[38]**.

1.4. DIAGNOSTIC DES ASPERGILLOSES

Le diagnostic de l'aspergillose est un diagnostic complexe mettant en jeu les caractéristiques cliniques du patient, les images radiologiques et les résultats de laboratoires issus d'un examen mycologique et d'une sérologie.

1.4.1. Diagnostic clinique

1.4.1.1. Les aspergilloses respiratoires

✓ **Les Aspergilloses Pulmonaires Chroniques**

Les APC peuvent présenter différentes formes cliniques **[12]**:

✓ Aspergillome simple ;

✓ Aspergillose Pulmonaire Chronique Cavitaire (APCC) ;

✓ Aspergillose Pulmonaire Chronique Fibrosante (APCF) ;

✓ Nodules aspergillaires ;

✓ Aspergillose Pulmonaire Chronique Nécrosante (APCN) = Aspergillose subaigüe ou semi invasive.

Ces formes peuvent présenter ou pas des boules fongiques. Sans traitement l'APC peut détruire un lobe entier ou même les deux poumons. Sur le plan clinique, sont notés une perte de poids, une fatigue, une toux, une dyspnée et ou une hémoptysie évoluant depuis plus de trois mois. Bien que chaque APC soit classée comme des entités cliniques à part entière, elles restent proches les unes des autres, avec la possibilité d'évolution d'une forme à une autre voire même de chevauchement entre elles (Figure 4).

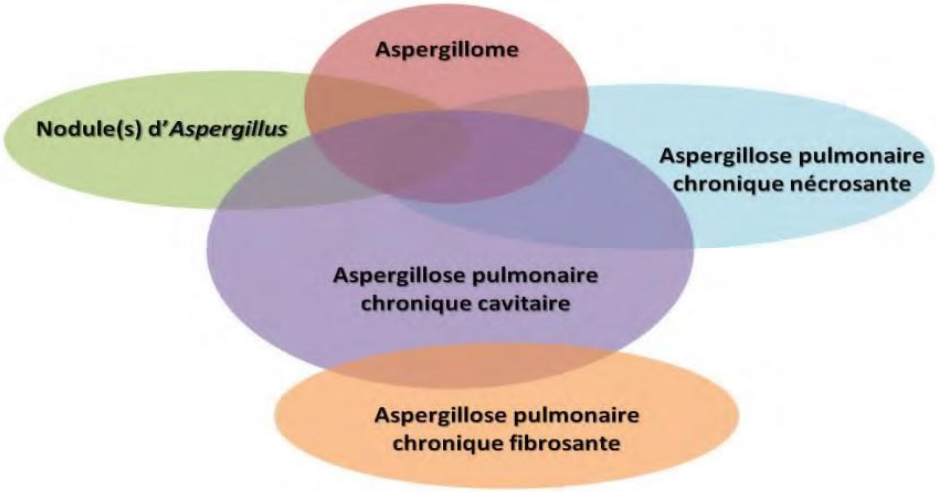


Figure N°4: Diverses formes et chevauchements possibles d'APC[10]

✓ **Aspergillome simple**

L'espèce la plus mise en cause est *A. fumigatus*. L'aspergillome étant le plus souvent asymptomatique, sa découverte est généralement fortuite mais quelques fois sont notées une toux, des expectorations et surtout des hémoptysies. Il se forme en général sur une cavité à la suite d'une pathologie telle qu'une tuberculose ou un emphysème et qui communique avec les bronches ou de voies aériennes pathologiques (BPCO, mucoviscidose) **[39,12]**.

L'aspergillome simple est unique. Les formes multiples et bilatérales sont regroupées sous le terme d'APCC.

- ✓ **Aspergillose Pulmonaire Chronique Cavitaire**

Anciennement appelée aspergillome complexe, il s'agit de formations et expansions de multiples cavités, dont certaines peuvent contenir des balles aspergillaires évoluant depuis plus de 3 mois **[12,39]**. Le patient présente une altération de l'état général avec une perte de poids, une asthénie, de la toux, une hémoptysie et de la fièvre **[12].**

- ✓ **Aspergillose Pulmonaire Chronique Fibrosante**

L'APCC peut évoluer vers une fibrose pulmonaire extensive : on parle alors d'APCF. La fibrose peut être limitée à un lobe supérieur ou alors s'étendre à toute l'aire pulmonaire entraînant une altération de la fonction pulmonaire. Les principales manifestations cliniques comprennent une altération de l'état général avec une toux productive, un amaigrissement, une hémoptysie et une dyspnée **[12,39]**.

- ✓ **Nodules aspergillaires**

Cette forme d'APC, a priori rare (environ 10% des cas d'APC), mais très probablement sous-diagnostiquée, correspond à la présence d'un ou plusieurs petits nodules (moins de 3 mm) dans les poumons. Le diagnostic est réalisé sur l'examen histologique d'une biopsie. Elle est souvent confondue avec une autre pathologie, en particulier un carcinome pulmonaire **[12].**

- ✓ **Aspergillose Pulmonaire Chronique Nécrosante**

Le développement de l'APCC en APCN est lié à l'expansion des cavités préexistantes. Elle est retrouvée chez les patients avec un système immunitaire

légèrement affaibli, tels que ceux traités par faibles doses immunosuppressives de corticoïdes, ceux ayant une pathologie pulmonaire sous-jacente ou ceux ayant des comorbidités telles que diabète, alcoolisme ou cirrhose hépatique **[39,12,40]**. Du fait de cette immunodépression modérée, l'APCN évolue sur un mode subaigu, plus rapidement que les autres formes d'APC, en quelques semaines, généralement entre 1 et 3 mois : on parle alors de forme semi-invasive ou d'AI subaigüe **[12,39]**. On considère cette entité clinique comme un intermédiaire entre APC et AI.

✓ **Autres aspergilloses respiratoires**

- **Aspergillose broncho pulmonaire allergique (ABPA)** ou maladie de Hinson-Pepys : il s'agit d'une réaction allergique aux antigènes aspergillaires avec une réaction inflammatoire locale (afflux d'éosinophiles, hypersécrétion et altération de la paroi bronchique). Ceci a pour conséquence, un encombrement des voies aériennes qui sont souvent dilatées. Elle est souvent retrouvée chez les patients asthmatiques et ceux atteints de mucoviscidose.
- **Asthme aspergillaire** : C'est une forme allergique due à l'inhalation de spores d'*Aspergillus* qui est à l'origine d'une crise d'asthme se manifestant par une toux et une fièvre. Elle est accompagnée d'une réaction d'hypersensibilité retardée.
- **Alvéolite allergique extrinsèque ou pneumopathie d'hypersensibilité** : c'est une inflammation des poumons due à une réaction allergique suite à l'inhalation de poussières contenant des spores de champignons chez des personnes non atopiques.
- **Rhinosinusite allergique** : c'est une forme chronique de rhinosinusite due à l'inhalation de spores de champignons chez des sujets jeunes dont le

diagnostic différentiel avec la rhinosinusite non allergique est difficile. Elle survient chez un sujet ayant un terrain allergique.

- **Sinusite aspergillaire** : c'est une infection chronique des sinus le plus souvent unilatéral maxillaire. Elle se manifeste par des céphalées, une douleur au niveau des sinus, une obstruction nasale.
- **Aspergillose pulmonaire invasive** : c'est la forme la plus grave qui survient principalement chez les patients immunodéprimés notamment les malades neutropéniques. C'est le plus souvent une infection nosocomiale chez les transplantés d'organe. Elle se manifeste sous la forme d'une pneumopathie aiguë infectieuse avec fièvre, toux, dyspnée, hypoxie, pouvant se disséminer à tout l'organisme. Le pronostic est redoutable avec une mortalité très élevée.

1.4.1.2. Aspergilloses extra respiratoires

Elles sont diverses et variées.

- ✓ **Formes oculaires** : sous forme de kératite ou de choriorétinite.
- ✓ **Les atteintes des oreilles (otomycoses) :** elles se manifestent par une baisse de l'acuité auditive, une otalgie et une fièvre.
- ✓ **Les formes cutanées** qui peuvent être dues au développement du champignon sur des plaies ou des brûlures traumatiques.
- ✓ **Les atteintes unguéales** sont également diversifiées (sous unguéales, distales, leuconychies).

1.4.2. Diagnostic radiologique

L'imagerie a un rôle important dans l'élaboration du diagnostic précoce des infections pulmonaires aspergillaires. La radiographie standard, même si elle est incontournable dans la surveillance régulière des patients, est cependant décevante dans les premiers temps de l'infection fongique, contrairement à la

tomodensitométrie (TDM) thoracique. Ainsi cette dernière devrait être envisagée comme examen de première intention.

1.4.2.1. Aspergillome

Dans environ un cas sur quatre, l'aspergillome est découvert fortuitement à l'occasion d'une radiographie pulmonaire **[2].** Le cliché thoracique suffit pour évoquer le diagnostic surtout devant des modifications d'une cavité ancienne. L'aspergillome est souvent caractéristique à l'imagerie, l'aspect "en grelot" est retrouvé dans la majorité des cas. On observe une opacité occupant une cavité qui est souvent entourée d'un "croissant gazeux" (Figure 5) **[24].**

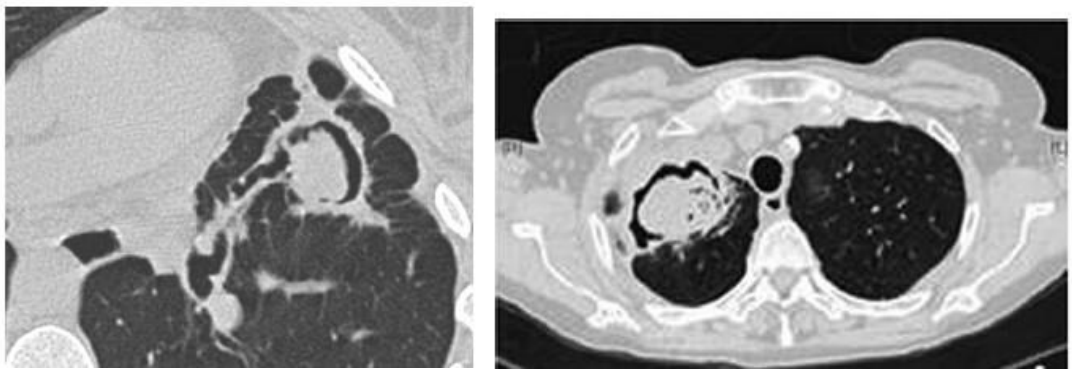


Figure N°5: Scanners de patients présentant un aspergillome
(Image du grelot aspergillaire et du croissant gazeux)

1.4.2.2. Aspergillose Pulmonaire Chronique Cavitaire

L'APCC montre à l'imagerie de multiples cavités, entourées d'un liseré inflammatoire et d'infiltrats péri-cavitaires. Ces cavités peuvent contenir ou non une balle aspergillaire. Elles progressent pour ensuite former une seule grande cavité ou évoluent vers la fibrose (Figure 6) **[12,39,41]**. Cette progression est généralement observée sur une période supérieure à 3 mois.

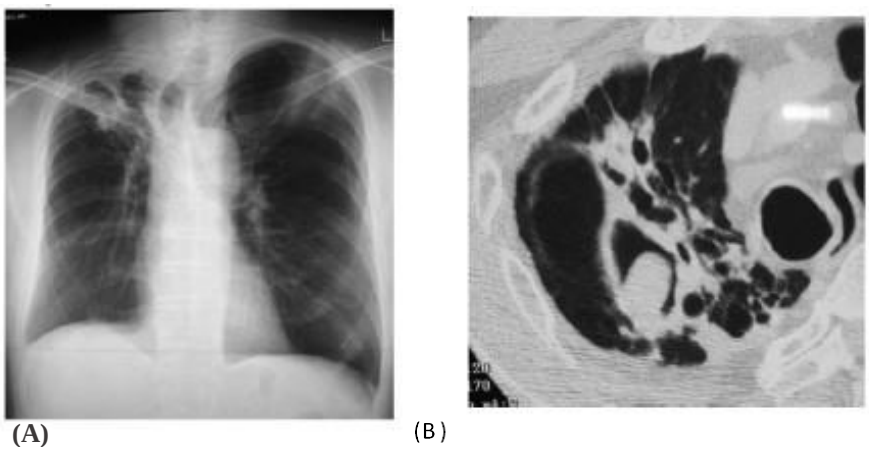


Figure N°6: Imagerie d'APCC

A et B : Radiographie et scanner d'un patient présentant une APCC avec des antécédents de tuberculose pulmonaire. On observe de multiples cavités avec un aspergillome au niveau du lobe supérieur droit.

1.4.2.3. Aspergillose Pulmonaire Chronique Fibrosante

L'APCF est caractérisée par une fibrose majeure, qui peut être limitée à un lobe ou alors s'étendre à tout l'hémi thorax (Figure 7) **[12].**

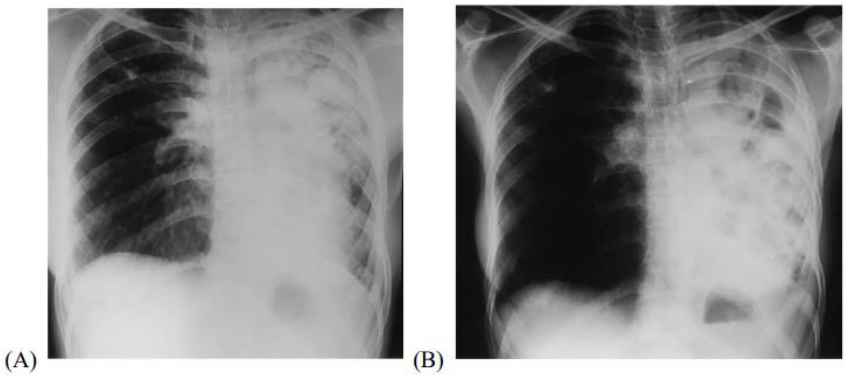


Figure N°7: Radiographies d'un patient présentant une APCC (A : Juin 1994) qui a évolué en APCF (B : Septembre 1997)

1.4.2.4. Aspergillose Pulmonaire Chronique Nécrosante

La tomodensitométrie permet de mettre en évidence des infiltrats plus ou moins excavés avec apparition de nouvelles cavités ou extension des cavités

préexistantes. Lors d'APCN, on observe initialement sur l'imagerie des infiltrats et consolidations dans le lobe supérieur ou sur le segment supérieur du lobe inférieur associé à une bronchectasie (Figure 8) **[12,42].** Les consolidations évoluent pour former des cavités après plusieurs semaines ou mois **[43].** On peut également voir une balle fongique, mais cela dépend du stade d'évolution de la maladie.

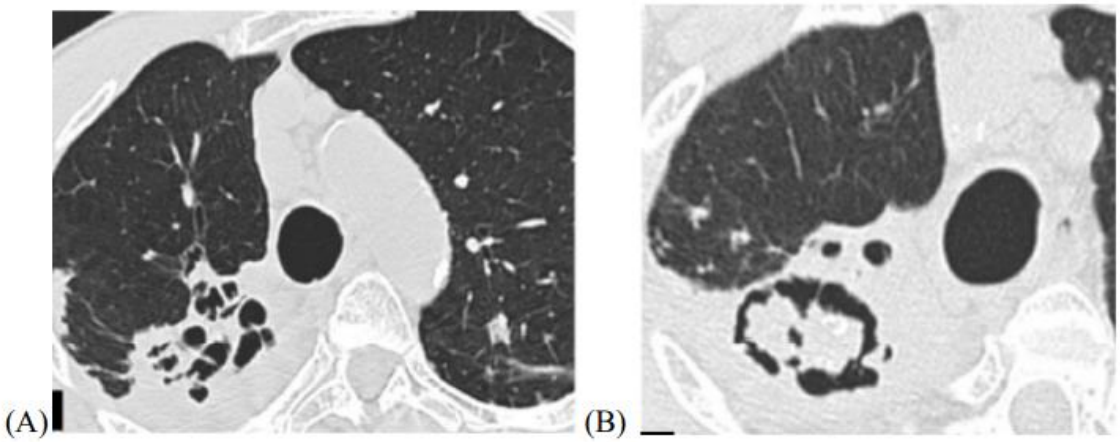


Figure N°8: Images d'APCN

(A) : Consolidation du lobe supérieur droit avec bronchectasie.

(B) : Même patient 7 mois plus tard : la consolidation initiale évolue progressivement vers la formation d'une cavité.

1.4.2.5. Aspergillose broncho-pulmonaire allergique

Les anomalies radiologiques peuvent être fixées ou labiles. Elles reflètent soit l'atteinte bronchique et le retentissement de la bronchopathie sur le parenchyme pulmonaire ou l'expression de la réaction allergique pulmonaire **[44].**

Durant les exacerbations, les signes caractéristiques sont ceux de lésions labiles à type d'infiltrats parenchymateux hétérogènes ou péri-hilaires migrateurs, d'impactions mucoïdes ou bronchocèles avec aspect caractéristique en « doigt de gant » ou encore d'atélectasies segmentaires ou lobaires par bouchon muqueux**[2]**.

1.4.2.6. Aspergillose Invasive

Les radiographies simples montrent souvent des infiltrats alvéolaires non spécifiques ou des lésions nodulaires plus suggestives **[2]**.

Dans le diagnostic précoce de l'AI, la TDM est d'une sensibilité très supérieure à la radiographie thoracique standard qui est peu contributive dans les premiers jours, voire les premières semaines **[45]**.

Tout patient chez qui une AI est suspectée doit alors bénéficier le plus rapidement possible d'un scanner thoracique, à la recherche de signes évocateurs tels que le signe du halo, le croissant gazeux, et de recherches mycologiques (Figure 9) **[46]**.

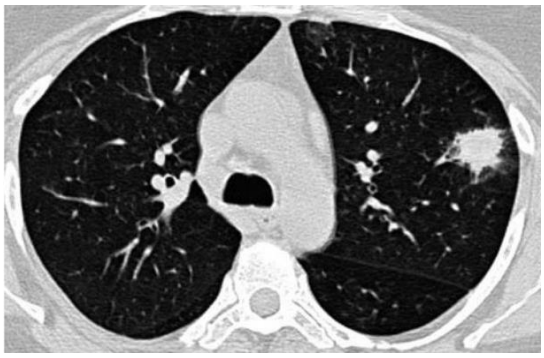


Figure N°9: Scanner pulmonaire montrant un nodule avec signe du halo

1.4.3. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

La confirmation biologique de l'aspergillose est importante même s'il existe une forte suspicion clinique **[47]**. Actuellement, à côté des méthodes classiques de diagnostic histologique, mycologique et sérologique, de nouveaux moyens de diagnostic orientés vers la mise en évidence d'antigène aspergillaire et/ou d'ADN aspergillaire permettent un diagnostic précoce de l'AI **[48]**.

1.4.3.1. Les prélèvements

Ils peuvent être ciblés en fonction des points d'appel cliniques, ou sanguins pour la mise en évidence d'une dissémination hématogène. Les prélèvements doivent se faire dans des conditions d'asepsie rigoureuse ; ils doivent être recueillis dans un récipient stérile et sans addition de fixateur pour les biopsies destinées à l'examen mycologique. Ils doivent être acheminés rapidement au laboratoire, ou à défaut conservés à 4°C **[3]**.

Le prélèvement sanguin est indispensable pour la recherche d'antigènes (ou éventuellement de l'ADN) aspergillaires chez les immunodéprimés lors de suspicion d'AI. Chez le patient immunocompétent suspect d'aspergillose chronique ou de formes allergiques, il permet la recherche d'anticorps anti-aspergillaires **[48]**.

D'autres sites, point de départ de l'infection ou point d'appel de dissémination, peuvent être prélevés (liquide pleural, sinus, urines, liquide céphalorachidien, peau, conduit auditif).

1.4.3.2. Diagnostic mycologique

Le diagnostic mycologique doit être effectué par un laboratoire expérimenté, et doit associer un examen direct et une culture sur milieu spécifique.

- **Examen direct**

Cet examen s'effectue entre lame et lamelle dans l'eau physiologique avec éventuellement l'ajout d'un agent dissociant comme la potasse à 10% qui permet d'éclaircir le milieu ou d'un colorant comme le bleu lactique **[48]**. Une première lecture réalisée à l'état frais peut être complétée de fixations-colorations (Gomori-Grocott, May-Grünwald-Giemsa) **[49]**. Il permet de mettre en évidence les filaments mycéliens de type aspergillaire. Ces derniers apparaissent hyalins, septés, parfois ramifiés et mesurant entre 2 et 4µm de diamètre **[3]**. Dans les

prélèvements de sinus, de bronches, de conduit auditif, des têtes et des spores aspergillaires peuvent être observées **[50]**.

- **Culture**

Elle permet l'identification précise du genre et de l'espèce du champignon et elle est réalisée sur milieu fongique spécifique additionné ou non d'antibiotique, coulé dans une boite de Pétri ou en tube, qui sont le milieu de Sabouraud sans actidione, gélose à l'extrait de malt ou milieu de Czapeck **[50]**.

Les *Aspergillus* poussent en 3 à 5 jours à 37°C et à 25°C. L'aspect macroscopique est celui d'une colonie plane, poudreuse, granuleuse ou veloutée, parfois cotonneuse, et de couleur variée en fonction de l'espèce **[3]**. L'interprétation d'une recherche mycologique repose sur le type de prélèvement, la cellularité du prélèvement, le résultat de l'examen direct et de la culture ainsi qu'au statut immunitaire du patient.

1.4.3. 3. Diagnostic histologique

L'examen histopathologique se pratique sur un prélèvement fixé (formol ou liquide de Bouin) et fait appel à des colorations classiques (Hémalun-Eosine-Safran, acide périodique-Schiff) ou à des colorations spécifiques de la paroi fongique (imprégnation argentique selon Gomori-Grocott) **[51]**. En cas de positivité, il visualise le champignon dans les tissus permettant ainsi d'affirmer son implication dans le processus pathologique ce qui constitue un argument essentiel du diagnostic **[49]**.

1.4.3.4. Diagnostic sérologique

- ✓ **Détection d'anticorps circulants**

Chez l'hôte immunocompétent, le contact avec le champignon se traduit par une réponse immunitaire humorale. Ainsi, la détection de ces anticorps sériques représente un argument majeur pour le diagnostic des aspergillomes, des

aspergilloses localisées et des aspergilloses immunoallergiques **[3]**. En revanche, chez l'hôte fortement immunodéprimé, dans le cas des AI, elle reste un argument mineur du fait de la faible réponse humorale **[52]**.

Ce diagnostic repose sur la mise en évidence d'anticorps précipitants par différentes techniques comme l'immunoélectrophorèse, par double diffusion selon Ouchterlony, ou par électrosynérèse **[3]**. Ces techniques quoique d'une sensibilité diminuées permettent à la fois le dépistage et la confirmation de l'infection aspergillaire. Elles se font sur gel d'agarose et visualisent des arcs de précipitation se formant entre antigènes et anticorps. Des techniques de dépistage, sensibles et rapides, ont supplanté ces méthodes d'immunoprécipitation, comme l'hémagglutination indirecte ou l'ELISA **[53]**. Ces méthodes utilisées pour des séries de sérums restent non convenables pour un laboratoire recevant un faible débit de demande d'examens sérologiques. La mise au point de tests immunochromatographiques de diagnostic rapide unitaire qualitatif, permettant la détection simultanée des IgG et des IgM anti-*Aspergillus*, est une alternative économique pour les laboratoires recevant peu de demandes de sérologie aspergillaire.

Les techniques de détection des anticorps utilisent généralement des antigènes d'*A. fumigatus*, espèce la plus souvent impliquée en pathologie humaine. D'autres espèces émergeant depuis quelques années (*A. niger A. flavus* et *A. terreus*) peuvent être détectées par les mêmes techniques, en raison de réactions croisées **[54]**.

- ✓ **Détection d'antigènes circulants**

Il s'agit de marqueurs solubles dont la présence dans le sang se conçoit comme test de dépistage de l'angio-invasion chez les patients à haut risque. Deux polysaccharides de la paroi fongique peuvent être recherchés :

- Le galactomannane qui est relativement spécifique des *Aspergillus*, peut être détecté dans les liquides biologiques tel le sérum et le liquide broncho-alvéolaire par une méthode ELISA (Platelia ELISA®) ou agglutination au latex [45]**.** Le risque de faux positifs persiste toujours, mais les causes d'erreurs sont maintenant bien connues. Des réactions croisées sont possibles, mais rares, avec d'autres champignons filamenteux ou non, notamment *Penicillium* **[55]**.
- Les β (1,3) D-glucanes, commun à de nombreux champignons, dont *Aspergillus*, *Candida* et *Pneumocystis jirovecii*, font désormais partie de l'arsenal des outils diagnostiques des infections fongiques invasives **[56]**.

1.4.3.5. Autres méthodes diagnostiques biologiques

✓ **Biologie moléculaire**

Actuellement, les techniques de biologie moléculaire ont un grand intérêt dans le diagnostic des aspergilloses du fait du développement des techniques d'amplifications géniques. Mais aussi de leur rapidité et leur très grande sensibilité, jointes à l'optimisation des techniques et le développement des méthodes de typage moléculaire **[3]**.

✓ **Place de la spectrométrie de masse MALDI-TOF**

La spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation/Time Of Flight) est un outil récent de protéomique qui a montré son intérêt pour l'identification des champignons filamenteux **[57]**. C'est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés ainsi que leur identification et leur quantification **[58]**.

Cette technique permet une identification rapide des *Aspergillus* et la concordance avec les résultats de la PCR atteint plus de 98% **[59]**.

En résumé le diagnostic positif de l'APC se pose sur la base des critères ci-après, définit par la société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses et la société européenne des maladies respiratoires **[60]** :

- ✓ ≥ 1 symptôme (toux productive, hémoptysie, perte pondérale) ;
- ✓ Lésion radiologique cavitaire évolutive avec infiltrat paracavitaire ;
- ✓ Précipitines aspergillaires (IgG) sériques, *Aspergillus* dans la cavité ou Ac IgG-IgM sérique.

La présence d'immunoglobulines IgG/IgM anti-*Aspergillus* dans le sérum est considérée comme suffisante pour remplir le critère microbiologique.

1.5. EVALUATION DE LA VALIDITE D'UN TEST

L'évaluation de la validité d'un test est un pré-requis avant son utilisation en routine. Schématiquement, elle consiste à réaliser le test étudié dans une population de patients et à évaluer les résultats obtenus à ceux d'un test de référence permettant de classer les patients en malades et indemnes de la maladie. Le test de référence est le meilleur test disponible pour déterminer la présence ou l'absence de la maladie étudiée. Il s'agit d'un test parfait, capable d'identifier, sans erreur, les sujets malades des sujets non malades **[61]**.

En considérant un échantillon de sujets extraits au hasard dans la population chez qui est réalisé le test étudié, les sujets sont classés en malade (**M+**) ou indemne de la maladie (**M-**) avec le test de référence et en positif (**R+)** ou négatif (**R-**) en fonction du résultat du test étudié.

Les sujets testés se répartissent en 4 catégories :

- ✓ Les vrais positifs (VP) : sujets malades avec un résultat positif (**M+ / R**+)
- ✓ Les vrais négatifs (VN) : sujets indemnes de la maladie avec un résultat négatif (**M- / R**-)

- ✓ Les faux positifs (FP) : sujets indemnes de la maladie avec un résultat positif (**M - / R**+)
- ✓ Les faux négatifs (FN) : sujets malades avec un résultat négatif (**M+ / R**).

Les résultats du test étudié sont donc entachés de deux grands types d'erreurs :

- ✓ Conclure qu'un malade ne l'est pas, c'est le faux négatif ;
- ✓ Conclure qu'un patient indemne de la maladie est malade, c'est le faux positif.

Ces informations, résumées dans un tableau de contingence (tableau IV), permettent de calculer les différents indices évaluant les performances diagnostiques du test **[62]**.

Tableau IV: Tableau de contingence d'un échantillon de N sujets classés en fonction de leur état de santé selon un test de référence et le test étudié.

		Test de référence		
		Malades (M+)	Indemnes de la maladie (M-)	Total
Test étudié	Résultats Positifs (R+)	Vrai positif (VP)	Faux positif (FP)	VP + FP
	Résultats Négatifs (R-)	Faux négatif (FN)	Vrai négatif (VN)	FN + VN
	Total	VP + FN	FP + VN	N

1.5.1. Les indicateurs de performances d'un test de diagnostic

1.5.1.1. La sensibilité

La sensibilité (Se) mesure la capacité d'un test à bien identifier les malades. Elle correspond à la probabilité d'avoir un test positif chez un sujet malade. Elle est exprimée par la proportion de vrais positifs chez les sujets malades,

Soit : **Se = VP / (VP + FN)**

Une sensibilité égale à 1 signifie que FN=0 donc le test est positif chez 100 % des malades. Ainsi lorsque le résultat du test est négatif, le sujet n'est jamais malade **[63]** car il n'y a pas de faux négatif. Un test très sensible (Se ≈ 1) est utile pour exclure la maladie lorsqu'il est négatif.

À l'inverse, une sensibilité égale à 0 signifie que le test est négatif chez 100 % des malades.

1.5.1.2. La spécificité (Sp)

La spécificité (Sp) mesure la capacité d'un test à bien classer les patients indemnes de la maladie. Elle correspond à la probabilité d'avoir un test négatif chez un sujet indemne de la maladie. Elle est exprimée par la proportion de vrais négatifs chez les sujets indemnes de la maladie,

Soit : **Sp = VN / (VN + FP)**

Une spécificité égale à 1 signifie que FP=0 et le test est négatif chez 100 % des patients indemnes de la maladie, Ainsi lorsque le résultat du test est positif, le sujet est toujours malade **[63]** car il n'y a pas de faux positif. Un test très spécifique (Sp≈1) est utile pour confirmer la maladie lorsqu'il est positif. Une spécificité égale à 0 signifie que le test est positif chez 100 % des sujets indemnes de la maladie.

La sensibilité et la spécificité sont deux caractéristiques intrinsèques d'un test, car elles ne sont pas influencées par la prévalence de la maladie dans la population étudiée. Elles constituent les paramètres principaux pour caractériser la validité d'un test.

1.5.1.3. La valeur prédictive positive (VPP)

La valeur prédictive positive (VPP) correspond à la probabilité d'être malade quand le test est positif. C'est la proportion de personnes réellement malades parmi celles qui ont un test positif,

Soit : **VPP = VP / (VP + FP)**

Plus cette valeur est proche de 1, plus le patient a de risque d'être malade en cas de test positif, le nombre de faux positifs étant faible. Une valeur prédictive positive de 0,8 signifie qu'un patient avec un test positif à 80 % de risque d'être malade.

1.5.1.4. La valeur prédictive négative (VPN)

La valeur prédictive négative (VPN) correspond à la probabilité d'être indemne de la maladie quand le test est négatif. C'est la proportion de personnes réellement saines parmi celles qui ont un test négatif,

Soit : **VPN = VN / (VN + FN)**

Plus cette valeur est proche de 1, plus le patient a de chance d'être indemne de la maladie si le test est négatif. Une valeur prédictive négative de 0,8 signifie qu'un patient avec un test négatif à 80 % de chance d'être indemne de la maladie.

1.6. TRAITEMENT ET PREVENTION

1.6.1. Traitement curatif

1.6.1.1. But

Le traitement curatif des APC a pour but d'améliorer les symptômes du patient, de prévenir ou limiter les hémoptysies et de prévenir la formation de fibrose pulmonaire.

1.6.1.2. Moyens

- ✓ **Les antifongiques**

Plusieurs classes de médicaments antifongiques, ayant des mécanismes d'action différents, existent actuellement sur le marché (voir annexe 8) **[64-66]**.

- ✓ **Corticothérapie et soins locaux associés (mucolytiques, bronchodilatateurs)**

Ils sont utilisés dans les aspergilloses allergiques (ABPA et autres). Les corticoïdes sont utilisés au long cours par voie orale afin de contrôler la réponse immunitaire et d'avoir une action anti-inflammatoire **[67]**, ce qui aboutit à une diminution du taux sérique des IgE totales et de l'éosinophilie.

- ✓ **Moyens chirurgicaux**

Ils sont utilisés dans le traitement de l'aspergillome et de certains APCN, ce sont :

L'ablation ou curetage d'une masse fongique,

La chirurgie de débridage dans les infections tissulaires après traumatisme ou brûlure

1.6.1.3. Indications

- ✓ **Aspergillome**

L'exérèse chirurgicale reste le traitement de référence de l'aspergillome (Figure 10) **[68,69]**.

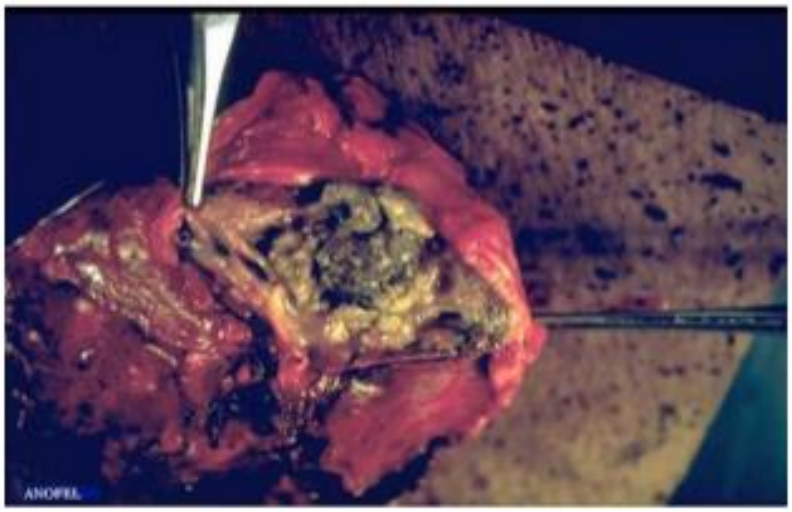


Figure N°10: Truffes aspergillaires observée après une exérèse

Dans la plupart des cas d'aspergillome unique, la chirurgie est indiquée avec possibilité d'un traitement antifongique préopératoire et postopératoire par itraconazole ou voriconazole. Pour les cas complexes ou chroniques, un traitement antifongique est souvent nécessaire.

- ✓ **Autres formes d'APC**

Dans les autres formes d'APC, l'itraconazole est souvent recommandé **[40,68]**.

1.7. Prévention

Il consiste à préserver le patient à risque d'une source environnementale de spores fongiques **[47]**.

2. Cadre, matériels et méthode d'étude

2.1. CADRE DE L'ETUDE

Notre étude s'est déroulée dans le centre de référence fréquenté par les tousseurs chroniques au Bénin : Centre National Hospitalier Universitaire de Pneumo-Phtisiologie de Cotonou (CNHU-PPC) « Le Lazaret ». Les différentes manipulations de laboratoire ont été effectuées au laboratoire de parasitologie-mycologie du Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga (CNHU-HKM) de Cotonou.

2.1.1. Le Centre National Hospitalier universitaire de Pneumo-Phtisiologie de Cotonou (CNHU-PPC) « Le Lazaret »

Le CNHU-PPC est le centre national de référence de prise en charge de la tuberculose et des maladies respiratoires au Bénin. Il est le plus grand centre de dépistage et de traitement (CDT) du Bénin. Le CNHU-PPC est composé de plusieurs services et organisé comme suit :

- ✓ Un service administratif et financier ;
- ✓ Un service clinique ;
- ✓ Un laboratoire polyvalent de biologie clinique ;
- ✓ Un service de radiologie.

Le laboratoire du CNHU-PPC organise le diagnostic et le suivi bactériologique de la tuberculose et de l'ulcère de Buruli au Bénin. En dehors des examens de mycobactériologie, ce laboratoire réalise également des examens de bactériologie générale, de sérologie, de biologie moléculaire, de biochimie et d'hématologie. Les analyses microbiologiques y ont été effectuées et sont gratuites pour les patients tuberculeux.

2.1.2. Le laboratoire de Parasitologie-Mycologie du Centre National Hospitalier Universitaire Hubert Koutoukou MAGA (CNHU-HKM).

Au plan structurel, le laboratoire de Parasitologie-Mycologie est subdivisé en quatre (04) sections comprenant chacune plusieurs postes.

La section 1 qui comporte quatre (04) postes répartis comme suit :

- ✓ Poste 1 : confection des lames FS/GE ;
- ✓ Poste 2 : confection des lames de coprologie parasitaire, ECBU sans culture, sédiment urinaire ;
- ✓ Poste 3 : coloration des lames ;
- ✓ Poste 4 : lecture des lames de FS/GE, d'ECBU et de coprologie.

La section 2 comporte deux (02) postes répartis comme suit :

- ✓ Poste 1 : Sérologie TPHA, VDRL, ASLO, VIH ;
- ✓ Poste 2 : Sérodiagnostic de Widal (SDW).

La section 3 est réservée à la réalisation de la sérologie Chlamydia et de la sérologie Toxoplasmose et Rubéole.

La section 4 est réservée à la Mycologie.

Au plan fonctionnel, le laboratoire de Parasitologie-Mycologie fonctionne selon un système de permanence et de garde. L'équipe de permanence composée de 08 techniciens les jours ouvrables et d'un technicien les weekends et jours fériés, assure les différentes activités du laboratoire de 08h à17h.

La garde est assurée par un technicien de l'un des deux laboratoires (laboratoire de Parasitologie-Mycologie et de Bactériologie-Virologie) de 17h à

08h. Toutes les analyses réalisées au laboratoire doivent être validées par un médecin biologiste.

Pour la réalisation de ces tâches, ce laboratoire dispose des ressources humaines suivantes :

- ✓ Un chef service (chef de service du service de Microbiologie) ;
- ✓ Quatre (04) praticiens hospitaliers dont deux professeurs titulaires, un maître de conférences agrégé et un médecin biologiste ;
- ✓ Dix (10) techniciens de laboratoire dont deux (2) ingénieurs biologistes, un ingénieur des travaux d'analyses biomédicales, sept (7) techniciens supérieurs ;
- ✓ Deux (02) aides-soignants qui s'occupent de l'accueil, de l'entretien du laboratoire et de la délivrance des résultats.

2.2. MATERIEL (voir annexe 6 et 7)

2.3. METHODE D'ETUDE

2.3.1. Type et période d'étude

Il s'est agi d'une étude transversale, descriptive et analytique conduite sur la période allant de mai 2019 à décembre 2021.

2.3.2. Population d'étude

La population d'étude était constituée des tousseurs chroniques venus en consultation au CNHU-PP de Cotonou pendant la période susmentionnée

2.3.3. Critères de sélection

Les critères de sélection sont basés sur la définition de l'APC telle que donnée par la société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses et la société européenne des maladies respiratoires **[10].**

2.3.3.1. Critères d'inclusion

Étaient inclus dans l'étude les patients présentant :

- ✓ des signes cliniques et symptômes tels que : une toux productive, une perte de poids, une bronchectasie ou une hémoptysie évoluant depuis au moins 3 mois ;
- ✓ des signes radiologiques suggérant des caractéristiques de l'APC tels que des lésions pulmonaires cavitaires, infiltrats paracavitaires, épaississements pleuraux et nodules ;
- ✓ un résultat « GeneXpert » négatif.

2.3.3.2. Critères de non inclusion

N'étaient pas inclus dans l'étude les patients ayant déjà reçu un traitement antifongique oral au cours des deux derniers mois précédant la phase clinique.

2.3.4. Echantillonnage et taille de l'échantillon

2.3.4.1. Echantillonnage

Les patients ont été successivement sélectionnés selon un échantillonnage exhaustif sur la période d'étude.

2.3.4.2. Taille de l'échantillon

Au cours de la période d'étude, 5582 patients ont été screenés, seulement 84 ont été inclus dans notre étude.

2.3.5. Conduite de l'étude

2.3.5.1. Préparation de l'enquête

- ✓ **Techniques et outils de collecte de données**

Les informations utiles à l'étude ont été recueillies à partir des questionnaires, des fiches de dépouillement (dossier des malades, registre de laboratoire).

✓ **Information des autorités et formation**

Après l'obtention de l'autorisation accordée par les autorités compétentes pour la réalisation de l'étude, le personnel du laboratoire et de la clinique concernée a été informé de l'étude. Les objectifs et le déroulement de l'étude leur ont été précisés. L'équipe de l'Unité d'Enseignement et de Recherche (UER) en parasitologie-mycologie nous a formé sur l'étude.

2.3.5.2. Démarrage de l'enquête

Le recrutement des patients s'est fait les matins aux heures de consultations dans le centre. Après les salutations d'usage, les patients ont été informés de l'étude et leur consentement éclairé a été obtenu.

✓ **Accueil et screening des patients**

Tous les patients tousseurs chroniques venus en consultation au centre ont été reçus par les infirmières du service de consultation et un interrogatoire a été réalisé pour rechercher les signes cliniques.

Une radiographie pulmonaire a été demandée et un bon d'examen des crachats à la recherche de l'ADN du bacille tuberculeux a été établi pour chacun d'eux. Un pot pour recueillir les expectorations leur était remis. Les patients se rendaient dans l'espace réservé dans la cour de l'hôpital pour produire les expectorations. Puis ils se rendaient au niveau du poste d'accueil du laboratoire où ils déposaient le bon d'examen des crachats et le pot.

Après l'analyse des crachats par le GeneXpert, les résultats ont été rendus aux patients le lendemain matin ou le troisième jour selon l'heure à laquelle le prélèvement a été déposé.

✓ **Inclusion des patients et administration du questionnaire aux participants**

Tous les patients tousseurs chroniques screenés reviennent au poste de consultation avec les résultats de l'examen radiographique et les résultats GeneXpert où la fiche de screening était renseignée. Ceux qui répondaient aux critères de sélection ont été inclus dans l'étude. A partir de ce moment, un code a été affecté à chaque patient et un questionnaire leur a été administré suivi d'un prélèvement sanguin.

2.3.5.3. Prélèvement

Le sang total a été recueilli dans un tube sec.

2.3.5.4. Examens de laboratoire

Au laboratoire, nous avons recherché les anticorps anti-*Aspergillus* par la sérologie par ELISA bordier (test de référence) et le test de diagnostic rapide ASPERGILLUS ICT IgG-IgM.

✓ **Réception du prélèvement et préparation des documents de travail**

Avant les manipulations au laboratoire, nous avons eu à :

- Etiqueter le prélèvement à la réception sur le système de gestion du laboratoire.
- Enregistrer les échantillons et les patients dans un registre.

2.3.5.4.1. *Aspergillus* ICT IgG-IgM

Aspergillus ICT IgG-IgM est un test rapide utilisant la technique immunochromatographique qui permet la détection simultanée des IgG et des IgM anti-Aspergillus dans le sérum humain.

✓ **Principe**

Aspergillus ICT IgG-IgM est un test unitaire qualitatif. Il est basé sur le principe du sandwich homogène, réaction immunologique de 2 épitopes identiques avec les deux sites de liaison d'un anticorps bivalent.

✓ **Mode opératoire**

Le test consiste à déposer successivement un échantillon de sérum puis une solution (appelée éluant) dans le puits prévu à cet effet. Commence alors la migration concomitante (chromatographie) du sérum et des particules de latex. Cette migration est achevée en 20-30 minutes.

Après avoir sorti le nombre de cassettes désiré et refermé soigneusement le sachet (avec le dessicant à l'intérieur) en chassant au mieux l'air contenu, nous avons eu à:

- identifier chaque cassette à l'aide du numéro de l'échantillon à tester.
- à l'aide d'une micropipette montée d'un embout jetable, déposer 15 µl de sérum ou plasma dans le puits échantillon.
- déposer dans le puits 4 gouttes d'éluant présent dans le coffret. Tenir le compte-gouttes retourné verticalement pendant la distribution. Reboucher le compte-goutte après usage.
- déclencher le chronomètre quand l'éluant est réparti dans les cassettes de la série.

✓ **Lecture et interprétation**

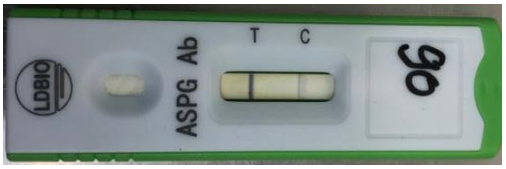
La lecture du test doit être faite entre 20 et 30 minutes après déclanchement du chronomètre près d'une fenêtre à la lumière du jour ou sous éclairage direct (figure 11).

Test positif : 2 lignes, une noire (T) et une bleue (C), apparaissent dans les zones correspondantes. Toute ligne « T » noire, même de faible intensité doit être considérée comme positive.

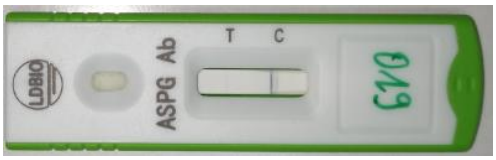
Test négatif : Aucune ligne noire n'apparait, seule la ligne bleue « C » apparait.

Test équivoque : Dans de très rares cas, une ligne grise diffuse peut apparaitre sur la bande « T ». Ce résultat est à considérer comme négatif mais à contrôler sur un prélèvement ultérieur ou par une autre technique.

Test non valide : La ligne « C » bleue n'apparait pas.



Test positif



Test négatif

Figure N°11: Exemple de cassette *ASPERGILLUS* ICT IgG-IgM (LDBio)

(Source : notre étude, service de Microbiologie du CNHU-HKM 2021)

2.3.5.4.2. ELISA Bordier *Aspergillus fumigatus*

Le kit ELISA Bordier *Aspergillus fumigatus* immuno-enzymatique permet la détection quantitative des anticorps IgG anti-*Aspergillus fumigatus* dans le sérum humain (figure12).

- ✓ **Principe**

La trousse contient le matériel nécessaire pour effectuer 96 tests immuno-enzymatiques (tests ELISA) sur des barrettes sécables sensibilisées avec le mélange suivant :

- antigènes solubles somatiques et métaboliques d'*Aspergillus fumigatus*
- antigènes recombinants : dipeptidylpeptidase type V (chymotrypsine) et ribonucléase (mitogilline) d'*Aspergillus fumigatus.*

Les anticorps spécifiques de l'échantillon se lient à ces antigènes et les anticorps non spécifiques seront éliminés par lavage. La présence d'anticorps spécifiques vis-à-vis des antigènes fongiques est détectée avec un conjugué protéine A - phosphatase alcaline.

Une deuxième étape de lavage élimine le conjugué non lié. La révélation des anticorps liés est faite par l'addition du substrat qui devient jaune en présence de phosphatase alcaline. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques d'*Aspergillus fumigatus* dans l'échantillon. Le phosphate de potassium ajouté arrêtera la réaction. L'absorbance à 405 nm est lue avec un lecteur de microplaques ELISA.



Figure N°12: Kit ELISA bordier

- ✓ **Mode opératoire**

Lors de l'exécution du test, nous avons évité la formation de bulles dans les puits.

Étape 1 : Blocage

Nous avons eu à :

- remplir complètement les puits avec la solution de tampon de dilution.
- incuber 5 à 15 minutes à température ambiante (blocage des puits).

- éliminer le tampon de dilution par aspiration ou en secouant les barrettes au-dessus d'un évier.

Étape 2 : Incubation avec les échantillons

Nous avons eu à:

- remplir le premier puits de la première barrette avec 100 µl de tampon de dilution (blanc sans sérum).
- remplir les trois puits suivants avec respectivement 100 µl de sérum de contrôle dilués négatif, faiblement positif (seuil) et positif. Pour des essais de plus de 25 échantillons, nous avons rempli les trois derniers puits avec des sérums de contrôle comme doublon.
- remplir les autres puits avec les échantillons dilués (100 µl).
- couvrir les puits avec de la bande adhésive et incuber 30 minutes à 37°c.
- éliminer les sérums et laver 4 x avec ~ 250 µl de solution de lavage.

Étape 3 : Incubation avec le conjugué

Nous avons eu à :

- Distribuer 100 µl du conjugué dilué dans chaque puits (blanc sans sérum inclus).
- Couvrir les puits avec de la bande adhésive et incuber 30 minutes à 37°C.
- Éliminer le conjugué et laver 4 x avec ~ 250 µl de solution de lavage.

Étape 4 : Incubation avec le substrat

Nous avons eu à :

- Distribuer 100 µl de la solution de substrat dans chaque puits.
- Couvrir les puits avec de la bande adhésive et incuber 30 minutes à 37°C.
- Arrêter la réaction en ajoutant 100 µl de la solution d'arrêt à chaque puits.

Étape 5 : Mesure de la densité optique

Nous avons mesuré la densité optique (DO) à une longueur d'onde de 405 nm dans l'heure qui suit l'addition de la solution d'arrêt (figure 13).

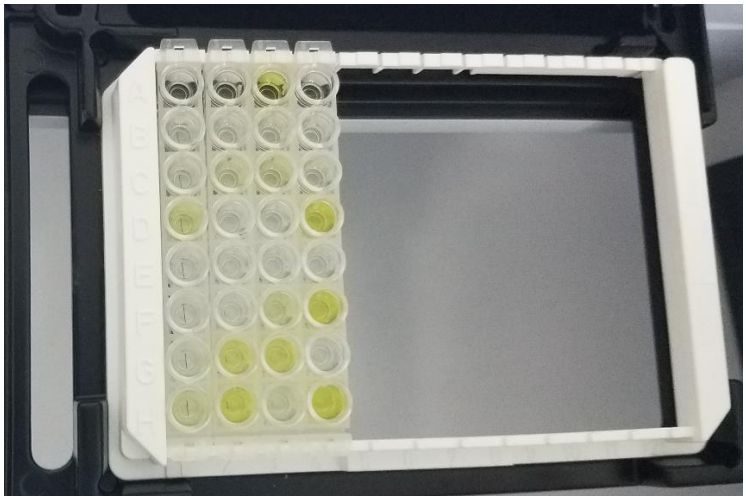


Figure N°13: Vue des barrettes ELISA bordier

(Source : notre étude, laboratoire de microbiologie CNHU-HKM 2021)

- ✓ **Interprétation**

Soustraire la valeur du blanc sans sérum de toutes les autres valeurs. Le cas échéant, calculer les moyennes des valeurs de DO des sérums de contrôle dupliqués. Le test est valable si les trois critères suivants sont remplis :

- DO contrôle positif > 1.200
- DO contrôle négatif < 10 % du contrôle positif
- DO du blanc contre l'air < 0.350

La concentration en anticorps du sérum seuil 6100-07 a été ajustée de manière à permettre une distinction optimale entre les sérums de cas cliniques d'aspergillose de patients immunocompétents et les sérums de sujets sains.

L'index cut off de chaque échantillon est définit, après soustraction du blanc sans sérum, par la formule suivante:

Index =

Le résultat est **négatif** lorsque l'index du sérum à tester est inférieur à **0.8**. Dans ce cas, la concentration d'anticorps IgG dirigés contre les antigènes d'*Aspergillus fumigatus* n'est pas cliniquement significative.

La **zone grise** correspond à un index situé entre **0.8** et **1.0**. Dans ce cas l'échantillon doit être considéré comme limite, il est alors recommandé de répéter le test avec le même sérum ou avec un nouveau sérum du même patient prélevé 2 à 4 semaines plus tard.

Le résultat est **positif** lorsque l'index du sérum à tester est supérieur à **1.0**. Dans ce cas, la concentration d'anticorps IgG dirigés contre les antigènes d'*Aspergillus fumigatus* est considérée comme cliniquement significative. Ce résultat oriente vers une sensibilisation aspergillaire ou une aspergillose.

✓ **Enregistrement des résultats et gestion des déchets**

A la fin des manipulations, nous avons noté le résultat sur la liste de travail, puis éliminer les déchets dans la poubelle pour être incinérées.

✓ **Prise en charge du patient**

Les patients chez qui le diagnostic d'APC a été posé sont traités selon le protocole de prise en charge habituel de l'hôpital par l'Itraconazole.

2.3.6. Variables de l'étude

Les variables étudiées chez les patients étaient :

✓ **Variables dépendantes**

- La sensibilité
- La spécificité
- La valeur prédictive positive
- La valeur prédictive négative

- ✓ **Variables indépendantes**
  - L'âge
  - Le sexe
  - La profession

2.3.7. Gestion et exploitation statistique des données

La saisie des données a été réalisée grâce au logiciel EPIDATA version 11.0 et Excel 2016 et l'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel R.

2.3.8. Considérations éthiques

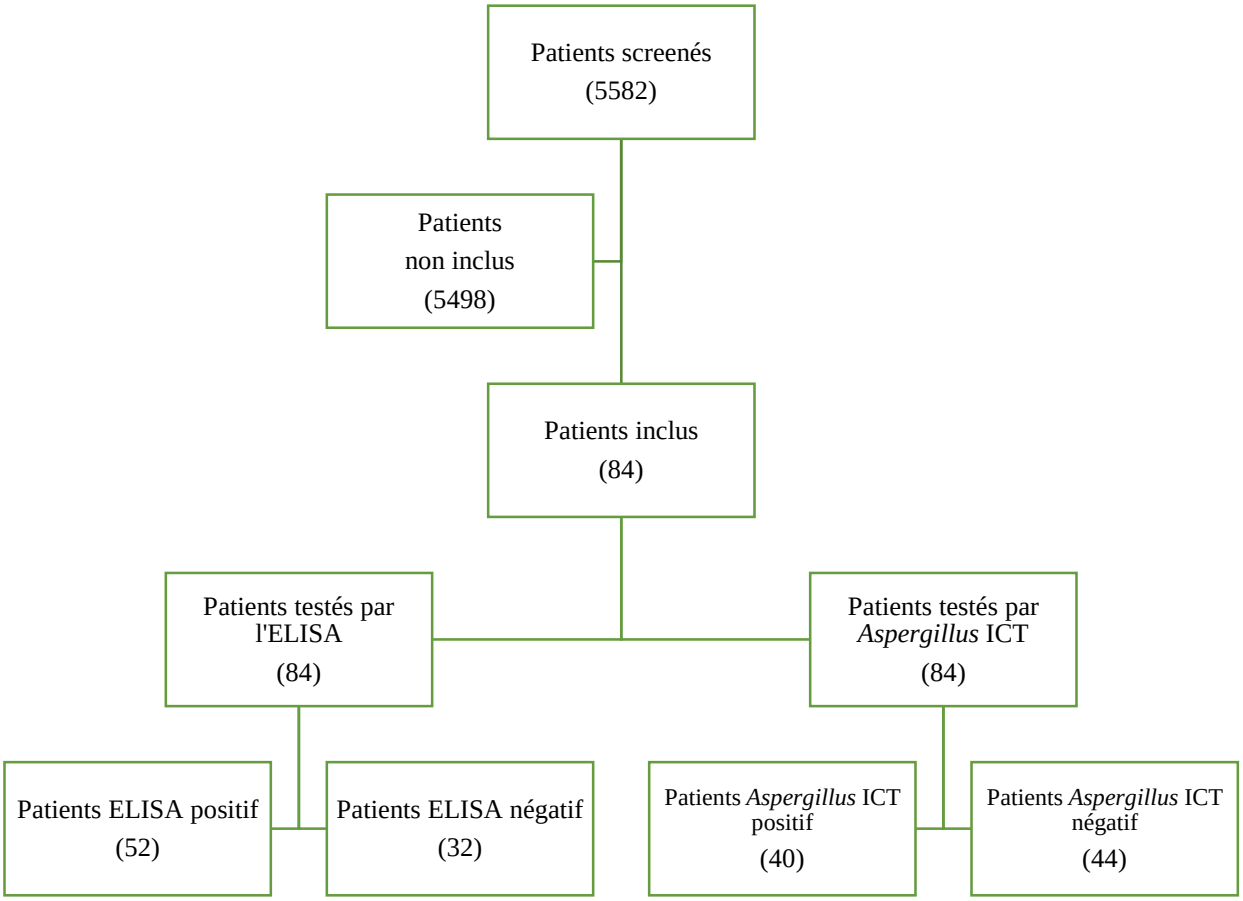
L'étude a été réalisée après obtention de l'autorisation des chefs hiérarchiques du CNHU-PP de Cotonou et des responsables du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CNHU-HKM. Pour des raisons de confidentialité le recrutement des cas a été effectué sur des fiches anonymes et numérotées et toutes les données recueillies n'ont servi que dans le cadre de l'étude. Les participants ont reçu une explication détaillée de l'étude dans leur langue de compréhension. Le consentement éclairé a été alors proposé à la signature de l'adulte participant ou la personne en charge du mineur. Les autorités administratives et sanitaires ont également été mises au courant avant le démarrage des activités.

3. Résultats

3.1. Diagramme de flux

Le diagramme de flux indique la répartition de la population étudiée et se lit de haut en bas.

Au total 5582 patients ont été screenés dont 84 inclus dans notre étude.



<u>Figure N°14:</u>Diagramme de flux global de l'étude

(CNHU-PPC 2019-2021)

3.2. Caractéristiques épidémiologiques de la population d'étude

3.2.1. L'âge

La figure 15 montre la distribution de la population d'étude selon l'âge.

La moyenne d'âge dans notre étude était de 43,90 ± 12,60 ans avec des extrêmes de 10 à 75 ans. La tranche d'âge la plus représentée était celle de 36 à 45 ans (29,80%).

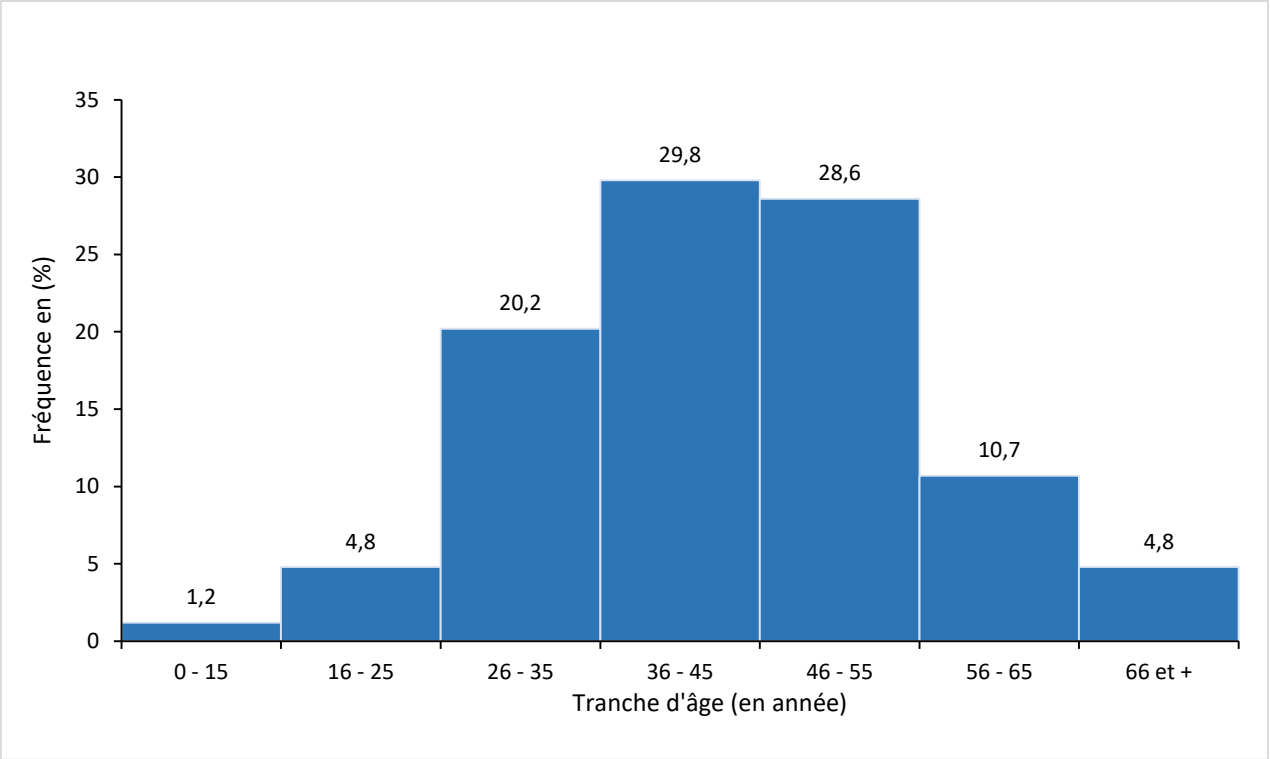


Figure N°15: Distribution de la population d'étude selon l'âge

(CNHU-PPC 2019-2021)

3.2.2. Le sexe

Des 84 patients inclus, il y avait une prédominance masculine (58), soit 69%.

3.2.3. Occupation socioprofessionnelle

La figure 16 présente la répartition des patients selon les différentes occupations socioprofessionnelles.

La population d'étude était dominée par les artisans (39,3%).

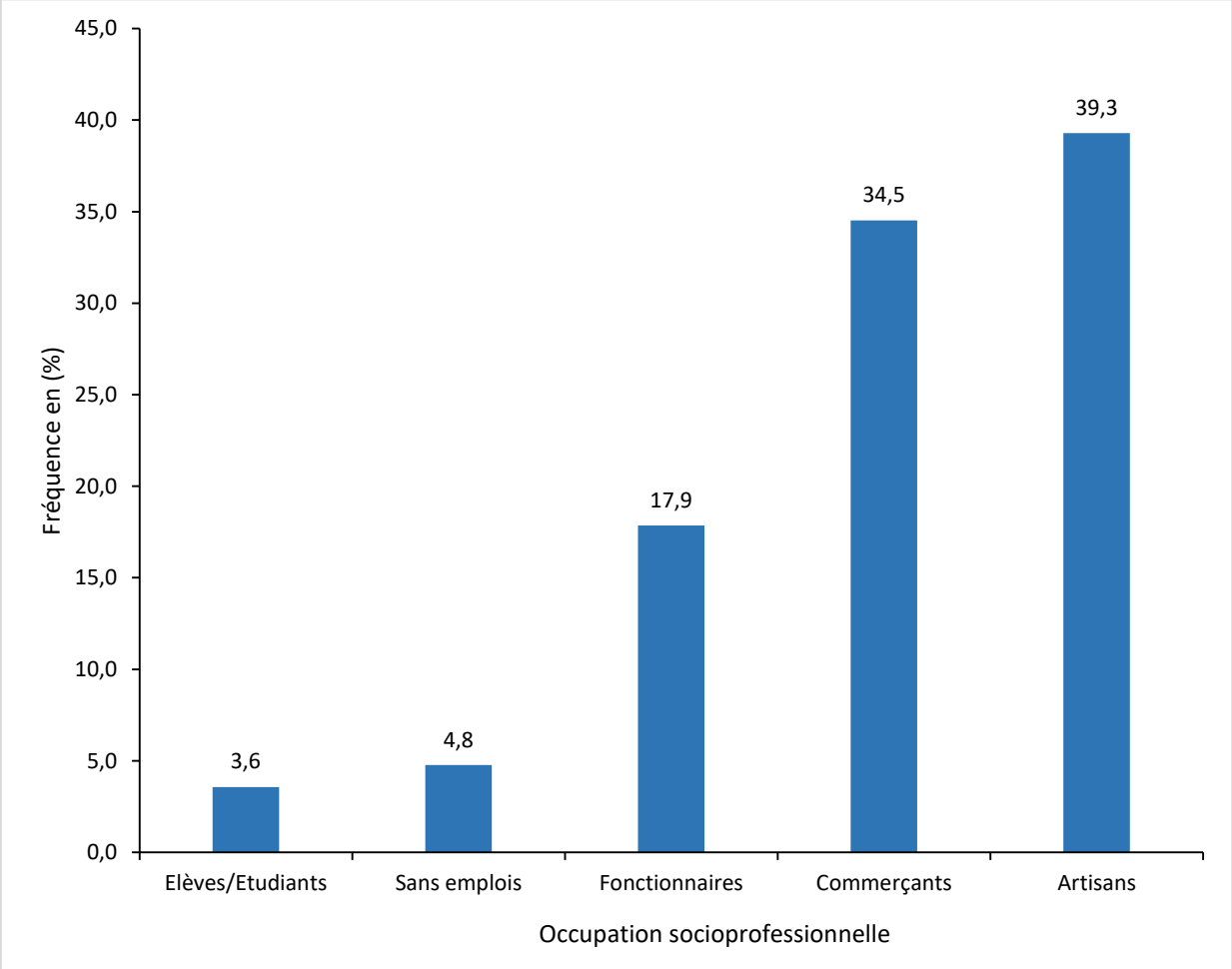


Figure N°16: Distribution de la population d'étude selon la profession

(CNHU-PPC 2019-2021)

3.3. Séroprévalence de l'APC

Le tableau V présente la séroprévalence de l'APC à partir de l'ELISA

Tableau V : la séroprévalence de l'APC **(CNHU-PPC 2019-2021)**

	Effectifs	**Séroprévalence (%)**	***IC 95%***
ELISA Positive	52	**61,9**	51,2 - 71,8
ELISA Négative	32	38,1	28,3 - 48,5
Total	84	100	-

Des 84 patients inclus dans notre étude, 52 étaient positifs à notre test de référence. Ainsi la séroprévalence de l'APC de notre étude est de **61,90%**.

3.4. Performance du test de diagnostic rapide (Sensibilité ; spécificité ; valeur prédictive positive et valeur prédictive négative)

Le tableau VI montre la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative du test *Aspergillus* ICT IgG-IgM.

Tableau VI : La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative du test Aspergillus ICT IgG-IgM

	Effectifs	**Sérologie ELISA**		***Valeur prédictive***		***Sensibilité***	***Spécificité***
		Positive	**Négative**	**Positive** *(% [IC])*	**Négative** *(% [IC])*	*(% [IC])*	*(%[IC])*
Aspergillus ICT positif	40	37	3	**92,50** *[80,14-97,42]*	**65,91** *[51,14-78,12]*	**71,15** [57,73-81,67]	**90,63** [75,78-96,76]
Aspergillus ICT négatif	44	15	29				

La sensibilité est **71,15%**

La spécificité est **90,63%**

La valeur prédictive positive est **92,50%**

La valeur prédictive négative est **65,91%**

3.4.3. Correspondance entre les titres d'IgG et les résultats d'*Aspergillus* ICT

Sur la figure 17 est présentée la répartition en pourcentage des résultats d'*Aspergillus* ICT des patients en fonction des seuils de positivité de l'ELISA.

De l'analyse de cette figure, on constate qu'au-delà de la valeur **4,73** index de l'ELISA, tous les échantillons testés à partir du test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT sont positifs.

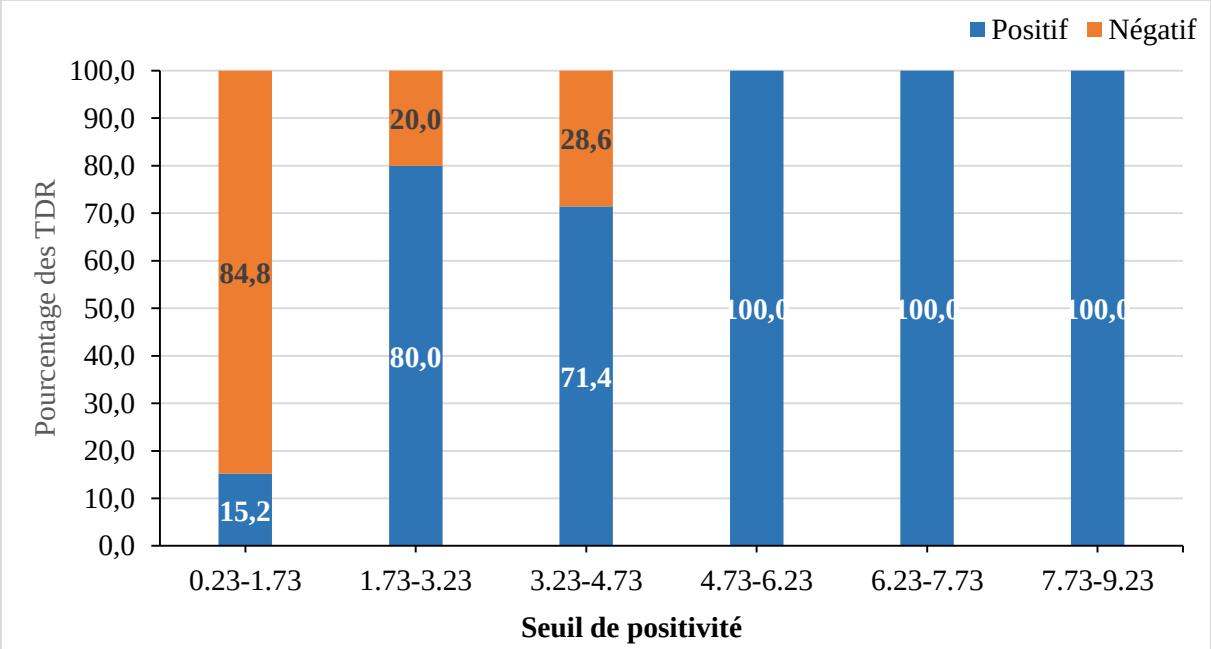


Figure N°17: Répartition en pourcentage des résultats d'*Aspergillus* ICT(TDR) des patients en fonction des seuils de positivité de l'ELISA

4. Discussion

4.1. Intérêt de l'étude

Les APC représentent un groupe d'affections dues, à des moisissures du genre *Aspergillus*, très répandues dans l'environnement. Ces affections surviennent généralement sur des poumons antérieurement lésés par des affections inflammatoires notamment la tuberculose. Il s'agit d'une maladie dont le diagnostic est complexe, mettant en jeu un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et sérologiques. Le diagnostic sérologique implique la détection des Ac anti-aspergillaires dans le sérum des patients. Cette détection repose sur des procédures automatisées et nécessite des laboratoires équipés avec une alimentation électrique stable. Elle est donc difficile à réaliser dans les pays en voie de développement. D'où l'intérêt d'un test de diagnostic rapide (TDR).

La présente étude porte sur l'évaluation d'un test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'APC. Les analyses et conclusions de cette étude permettront d'apprécier la performance de ce test dans le diagnostic rapide afin de l'APC sous nos cieux.

4.2. Méthodes d'étude

Notre étude s'est déroulée selon une méthodologie de travail précise.

Une étude transversale et descriptive a été mise en place dans le but d'évaluer un test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire chronique. Cette étude a été menée au Centre National Hospitalier Universitaire

de Pneumo-Phtisiologie de Cotonou, qui est le centre national de référence de prise en charge de la tuberculose, et des maladies respiratoires au Bénin. L'étude a porté sur 84 patients reçus en consultation et qui présentaient une toux depuis au moins trois mois ; une hémoptysie et/ou perte de poids, des lésions radiologiques (cavernes, infiltrats paracavitaire, nodules...) et un résultat GeneXpert négatif. Chaque patient de l'étude a bénéficié à la fois du test sérologique ELISA bordier (test de référence) et du test de diagnostic rapide. Ces tests ont été réalisés dans le laboratoire de parasitologie-mycologie du CNHU-HKM et nous ont permis d'évaluer les performances du test de diagnostic rapide *Aspergillus*-ICT par rapport au test de référence.

La littérature indique de précédentes études similaires réalisées sur des populations de tailles variables **[7,70,71].**

4.3. Les caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude

4.3.1. Age

Dans notre étude, le recrutement des patients s'est fait sans distinction d'âge ni de sexe. La majorité des patients inclus étaient des adultes. Dakpo et *al*. en 2019 au Bénin ont étudié les aspects épidémiologiques et diagnostiques de l'APC chez des tousseurs chroniques en milieu hospitalier sur 78 patients. Les résultats de cette étude ont montré un âge moyen de 45,86 ans, proche de notre résultat qui est de 43,90 ans. Par contre, Oladele *et al.* en 2015 au Nigéria **[72]** et Kwizera *et al.*

en Ouganda **[73]** ont trouvé respectivement un âge moyen de 39,8 ans ± 12,3 et 34 ans. Ces proportions sont en dessous de la nôtre. Par ailleurs, Guo et *al.* et Hou et *al.* en Chine ont trouvé des âges moyens plus élevés à savoir de 56,74 et 53 ans **[74-75].** Nous lions cette différence aux variations des caractéristiques sociodémographiques de chaque pays.

4.3.1.2. Sexe

Nous avons trouvé dans notre étude une forte prédominance masculine à 69%. Nos résultats se rapprochent de ceux de Dakpo et *al.* qui avaient également trouvé une prédominance masculine à 66,7%. Hedayati *et al.* en 2014 ont mené une étude similaire en Iran sur une population dont 53,2% étaient des hommes. D'autres auteurs comme Kwizera *et al.* en Ouganda et Guo et *al.* en Chine retrouvaient également cette même prédominance masculine **[76].**

Par contre Oladele *et al.* en 2015 au Nigéria ont trouvé dans leur population une prédominance féminine avec 59,6% **[72]**. Beltran Rodriguez *et al.* en 2018 au Cuba avait une population faite autant d'hommes (24) que de femmes (23) **[9]**.

De manière générale, les hommes sont les plus atteints. Cette prédominance masculine dans notre contexte pourrait être expliquée par le fait que dans la population incluse, la plupart des anciens tuberculeux étaient des hommes.

4.2.2. La séroprévalence de l'APC à l'ELISA Bordier

La séroprévalence dans notre étude était de 61,90 %. D'après l'étude réalisée par Dakpo et *al.* au Bénin en 2019, le taux de séroprévalence de l'APC, déterminé à partir du test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT était de 44,3%. Damien et *al*. en 2018 en France, ont réalisé une étude sur l'évaluation de sept réactifs (Biorad; ELISA Bordier; ELISA Classic Sérion; ImmunoCap; *Aspergillus* ICT IgG-IgM LDBIO; Western-Blot; Immunoelectrophorèse Sébia) dans le diagnostic des aspergilloses pulmonaires chroniques et allergiques auprès de 123 sujets immunocompétents. Les résultats de l'étude montraient, une séroprévalence de l'APC selon ELISA Bordier à 39,02%. La séroprévalence des autres tests était de 35 ,77% pour ImmunoCap ; ELISA ClassicTM Sérion et Biorad, 38,21% pour *Aspergillus* IgG/IgM LDBIO et Western-Blot TM et 43,08% pour Immunoélectrophorèse Sébia. Beltran Rodriguez *et al.* en 2018 au Cuba avait une prévalence de 44,7% par l'ELISA (IgG *Aspergillus fumigatus*) **[9]**. Hedayati *et al.* ont trouvé en Iran en 2014 , une séroprévalence de 44,3% (55/124) au sein d'une population de patients tuberculeux par la méthode ELISA (Omega kit) **[76]**.

Oladele *et al.* au Nigéria qui ont trouvé une prévalence infime de 8,2% (17/208) en utilisant aussi une méthode ELISA (ImmunoCAP *Aspergillus* IgG ThermoFisher) **[72]**. Cette variation de la séroprévalence s'expliquerait par la

variété des tests diagnostiques utilisés pour la détection des anticorps anti-*Aspergillus* ayant chacun des performances différentes.

4.2.3. Performance du test *Aspergillus* ICT IgG-IgM

Nous avons évalué la performance de *Aspergillus* ICT en choisissant ELISA Bordier comme test de référence. Ce faisant, nous avons pu établir que *Aspergillus* ICT a une sensibilité (71,15%) et une spécificité (90,63%).

Plusieurs autres auteurs rapportent que ce test de diagnostic est très performant, quel que soit le test de référence utilisé. En effet, en 2019 au Royaume Uni, Stucky Hunter *et al.* ont évalué la performance de *Aspergillus* ICT par rapport à l'ImmunoCap sur une population de 154 patients APC. *Aspergillus* ICT avait une sensibilité de 91,60% et une spécificité de 98% **[7]**. De même, Piarroux et *al*. en France, en 2019, ont évalué le test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT au test d'immunotransfert IgG avec une sensibilité et une spécificité qui étaient respectivement de 88,9 % et 96,3 % **[70]**. Damien et *al*. en 2018 en France, ont eu également des résultats similaires après une étude menée sur l'évaluation de sept réactifs dans le diagnostic des aspergilloses pulmonaires chroniques et allergiques auprès de 123 sujets immunocompétents. Le test *Aspergillus* ICT IgG-IgM montrait une sensibilité comparable aux tests de dépistage et une spécificité semblable à celles des tests de confirmation utilisés dans l'étude **[71]**. Il avait une sensibilité de 84,9 % et une spécificité de 97,1%.

Par contre Kwizera et *al.* en Ouganda ont trouvé de faibles résultats. En effet, Kwizera et *al.* ont mené une étude sur l'évaluation de l'*Aspergillus* ICT pour le sérodiagnostic de l'asthme fongique sur une période s'étendant de mai 2017 à juin 2018. Les résultats de cette étude montrent une sensibilité, une spécificité, une valeur prédictive positive et une valeur prédictive négative respectivement de 0.0%, 96,4%, 0,0% et 96,7% pour le diagnostic de l'aspergillose bronchopulmonaire allergique. Les résultats ont montré également pour le diagnostic de l'asthme fongique, une sensibilité, une spécificité, une valeur prédictive positive et une valeur prédictive négative respectivement de 6,7%, 97,1%, 30,8% et 84,5% **[73]**. Cette absence de similitude entre les résultats s'explique par le fait que les pathologies étudiées par Kwizera et al. sont d'origines allergiques, mettant donc beaucoup plus en jeu les IgE.

4.3. Limites de l'étude

La principale limite de notre étude résidait dans le nombre réduit de cas d'aspergillose pulmonaire enregistré sur la période d'étude diminuant notre taille d'échantillon. L'autre limite, est en rapport aux différents tests utilisés. En effet, il existe des possibilités de réactions croisées avec d'autres pathologies méconnues du patient, notamment une pneumocystose, une cryptococcose ou une candidose.

Conclusion et suggestions

Nous avons réalisé une étude sur l'évaluation d'un test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire chronique chez les tousseurs chroniques au CNHU-PPC. Au terme de cette étude, la moyenne d'âge des patients était de 43,90 ± 12,60 ans. La tranche d'âge la plus représentée a été celle de 36 à 45 ans (29,80%). La majorité de nos patients a été des sujets de sexe masculin (69%). La séroprévalence de l'aspergillose pulmonaire chronique calculée à l'aide de l'ELISA a été de 61,90%. Le test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT IgG-IgM a eu une sensibilité de 71,15% et une spécificité de 90,63%. Les valeurs prédictives positive et négative ont été respectivement de 92,50% et 65,91%. Ainsi, le test de diagnostic rapide présente une moyenne performance pour le diagnostic précoce et rapide de l'APC. Il serait judicieux d'associer un test de confirmation.

SUGGESTIONS

Au terme de notre étude, nous formulons les suggestions suivantes :

✓ AU MINISTERE DE LA SANTE

- Promouvoir et financer des études sur l'aspergillose pulmonaire sur toute l'étendue du territoire.
- Mettre à disposition des centres hospitaliers de pneumo-phtisiologie les tests sérologiques dans les cas de tuberculose à GeneXpert négatif et ou à bacilloscopie négative.
- Incorporer l'algorithme de diagnostic des *Aspergillus* dans le programme national de la lutte contre la tuberculose.
- Renforcer la formation des agents de santé en mycologie.
- Equiper les laboratoires de référence de mycologie en test sérologique.

✓ A L'UER DE PARASITOLOGIE- MYCOLOGIE DE LA FSS

- Poursuivre l'étude sur l'évaluation de test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire chronique, avec l'utilisation d'un test de confirmation, dans d'autres centres hospitaliers de pneumo-phtisiologie afin de mieux l'évaluer sur une grande population.
- Evaluer la réponse au traitement anti-tuberculeux et si possible une sérologie anti-Aspergillus.

✓ A L'ENDROIT DU PERSONNEL MEDICAL

- Réaliser systématiquement le test de diagnostic rapide devant tout patient qui présente une toux chronique productive et un résultat GeneXpert négatif.

✓ **A L'ENDROIT DE LA POPULATION EN GENERAL**

- Consulter assez rapidement en cas d'une toux persistante surtout les anciens tuberculeux.
- Suivre les recommandations des médecins.

Références

[1] **Voisin C, Bervar JF, Stach B.** *Aspergillus* et aspergillose: Clinique. *EMC-Maladie infectieuse.* 1994;8:1-5.

[2] **Blandin S DG**. L'aspergillose en pratique pour le pneumologue. *Rev Pneumol Clin.* 2008;64(4):202–10.

[3] **Gangneux JP, Bouchara JP CD.** Biologie et diagnostic des infections à *Aspergillus.EMC–Maladies Infect.* 2013;10:1–10.

[4] **Germaud P.** «*Aspergillus*» et système respiratoire. *EMC-Médecine*. 2005;2(6):585–95.

[5] **Philippe GP.** Aspergilloses chez l'immunocompétent: Vers une nouvelle classification? *Rev Mal Respir*. 2005;22:711–4.

[6] **Denning DW, Pleuvry A, Cole DC.** Global burden of chronic pulmonary aspergillosis as a sequel to pulmonary tuberculosis. *Bull World Heal Organ*. 2011;89:864–72.

[7] **Hunter ES, Richardson MD, Denning DW.** Evaluation of LDBio Aspergillus ICT lateral flow assay for IgG and IgM antibody detection in chronic pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2019;57:1–12.

[8] **Godet C, Philippe B, Laurent F, Cadranel J.** Chronic pulmonary aspergillosis: An update on diagnosis and treatment. *Respiration.* 2014;88(2):162–174.

[9] **Rodríguez NB, Juan-Galán S, Luis J, Andreu CMF, Yera DM, Pita MB et al.** Chronic pulmonary aspergillosis in patients with underlying respiratory disorders in cuba—A pilot study. *J Fungi*. 2019;5:4–11.

[10] **Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, Chakrabarti A, Blot S, et al.** Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. *European Respiratory Journal*. 2016;47(1):45-68.

[11] **Piarroux RP, Romain T, Martin A, Vainqueur D, Vitte J, Lachaud L, et al.** Multicenter Evaluation of a Novel Immunochromatographic Test for Anti-*Aspergillus* IgG Detection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019;9:1–7.

[12] **Denning DW, Riniotis K, Dobrashian R, Sabatakou H.** Chronic Cavitary and Fibrosing Pulmonary and Pleural Aspergillosis: Case Series, Proposed Nomenclature Change, and Review. *Clin Infect Dis*. 2003;37(3):S265-80.

[13] **Elie C**. Principes des études diagnostiques. *Bull Cancer*. 2001;805–10.

[14] **Binder RE, Faling LJ, Pugatch RD, Mahasean C, Snider GL.** Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: A discrete clinical entity. *Medicine.* 1982;61(2): 109–24.

[15] **Samson RA, Yilmaz N, Houbraken J, Spierenburg H, Seifert KA, Peterson SW, et al.** Phylogeny and nomenclature of the genus Talaromyces and taxa accommodatedin Penicillium subgenus Biverticillium. *Stud Mycol*. 2011;70:159–83.

[16] **Chabasse D, Bouchara JP, de Gentile L, Brun S, Cimon B, Penn P.** Les Moisissures d'intérêt Médical. *Cahier de formation Biologie médicale*. 2002;25:11–159.

[17] **Morion O.** *Aspergillus* et aspergillose. *EMC-Maladies Infect*. 2003;1–7.

[18] **Charpin J, Aubert J**. Intéret du recensementdes spores fongiques atmosphériques dans l'allergie respiratoire. *Biol méd*. 1968;57:201–46.

[19] **Nolard N**. Les liens entre les risques d'Aspergillose et la contamination de l'environnement: revue de la littérature. *Pathol Biol*. 1994;42:706-71.

[20] **Neuvéglise C, Sarfati J, Debeaupuis JP, Thien HV, Just J, Tournier G, et al.** Longitudinal Study of *Aspergillus fumigatus* Strains Isolated from Cystic Fibrosis Patients. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 1997;16(10):747-50.

[21] **Anderson MJ, Gull K, Denning DW.** Molecular typing by random amplification of polymorphic DNA and M13 southern hybridization of related paired isolates of *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol.* 1996;34: 87–93.

[22] **Glimp RA, Bayer AS**. Pulmonary Aspergilloma: Diagnostic and Therapeutic Considerations. *Arch Intern Med.* 1983;143:303–308.

[23] **Park SJ, Mehrad B.** Innate immunity to *Aspergillus* species. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22:535–51.

[24] **Kosmidis C, Denning DW.** The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Thorax*. 2015;70:270–77.

[25] **Bouchara JP, Tronchin G.** Adhésion et pathogénicité dans les infections aspergillaires. *Méd Mal Inf.* 1999;29:705–11.

[26] **Tronchin G, Esnault K, Renier G, Filmon R, Chabasse D, Bouchara JP.**

Expression and identification of a laminin-binding protein in *Aspergillus fumigatus* conidia. *Infect Immun.* 1997;65:9–15.

[27] **Bouchara JP, Tronchin G, Larcher G, et Chabasse D.** The search for virulence determinants in *Aspergillus fumigatus. Trends Microbiol.* 1995;3:327–30.

[28] **Upadhyay SK, Mahajan L, Ramjee S, Singh Y, Basir SF, Madan T.** Identification and characterization of a laminin-binding protein of *Aspergillus fumigatus*: Extracellular thaumatin domain protein (AfCalAp). *J Med Microbiol*. 2009;58:714–22.

[29] **Bromley IMJ, Donaldson K.** Binding of *Aspergillus fumigatus* spores to lung epithelial cells and basement membrane proteins: Relevance to the asthmatic lung. *Thorax*. 1996;51:1203–9.

[30] **Mullbacher A, Waring P, Eichner RD**. Identification of an agent in cultures of *Aspergillus fumigatus* displaying anti-phagocytic and immunomodulating activity in vitro. *J Gen Microbiol.* 1985;131:1251–8.

[31] **Hope WW, Walsh TJ, Denning DW.** The invasive and saprophytic syndromes due to *Aspergillus spp. Medical mycology*. 2005;43(1):S207-38.

[32] **Khabir A, Makni S, Ayadi L, Boudawara T, Frikha I, Sahnoun Y et al**. Pulmonary oxalosis with necrotizing pulmonary aspergillosis. *Ann Pathol*. 2002;22(2):121–3.

[33] **Ok M, Latge JP, Baeuerlein C, Ebel F, Mezger M, Topp M, et al.** Immune responses of human immature dendritic cells can be modulated by the recombinant *Aspergillus fumigatus* antigen Aspf1. *Clin Vaccine Immunol*. 2009;16:1485–92.

[34] **Lamy B, Moutaouakil M, Latge JP, Davies J.** Secretion of a potential virulence factor, a fungal ribonucleotoxin, during human aspergillosis infections. *Mol Microbiol*. 1991;5:1811–5.

[35] **Isael-Biet D.** Les défenses pulmonaires anti-aspergillaires. *Arch Pediatr* 2003;10:563–8.

[36] **Daniau C, Kauffmann-Lacroix CO.** L'aérobiocontamination fongique en milieu hospitalier. *J Mycol Méd.* 1998; 8(3):139-46.

[37] **Alberti C, Bouakline A, Ribaud P, Lacroix C, Rousselot P, Leblanc T, et al.** Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in haematology patients. *J Hosp Infect.* 2001;48:198–206.

[38] **Mouy R, Vilmer GC.** Infection aspergillaire et granulomatose septique chronique. *Med Mal Infect*. 1984;14(11):566–71.

[39] **Smith NL, Denning DW.** Underlying conditions in chronic pulmonary aspergillosis including simple aspergilloma. *Eur Resp J*. 2011;37(865):72.

[40] **Saraceno JL, Phelps DT, Ferro TJ, Futerfas R, Schawtz DB.** Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: Approach to management. *Chest*. 1997;112:541–8.

[41] **Izumikawa K, Tashiro T, Tashiro M, Takazono T, Kosai K, Morinaga Y et al.** Pathogenesis and clinical features of chronic pulmonary aspergillosis-Is it possible to distinguish CNPA and CCPA clinically? *J Infect Chemother*. 2014;20:208–12.

[42] **Chabi ML, Goracci A, Roche N, Paugam A, Lupo RM.** Pulmonary aspergillosis. *Diagn Interv Imaging.* 2015;96(5):435–42.

[43] **Denning DW.** Chronic forms of pulmonary aspergillosis. *Clin Infect Dis*. 2001;7:25-31.

[44] **Sans N, Giron J, Fajadet P, Galy-Fourcade RJ.** Le spectre de la pathologie aspergillaire thoracique en imagerie. *Feuill Radiol.* 1999;39(4): 273–83.

[45] **Germaud P, Renaudin K, Danner I, Morin O.** Aspergilloses broncho-pulmonaires: les nouveaux enjeux. *Rev Mal Respir*. 2001;18(3):257–66.

[46] **Bergeron A, Porcher R, Sulahian A, de Bazeaire C, Chagnon K, Raffoux E.** The strategy for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis should depend on both the underlying condition and the leukocyte count of patients with hematologic malignancies. *Blood.* 2012;119:1831–7.

[47] **Ripert C**. Mycologie médicale. Lavoisier, 2013.

[48] **Morion O**. Aspergilloses. *EMC - Biol médicale*. 2002;90–135.

[49] **Germaud P, Boutoille D, Gay-Andrieu F.** Mycoses bronchopulmonaires (aspects immunoallergiques exclus). *EMC Pneumologie*. 2010;7:1-26.

[50] **Kerouedan JC.** Aspergillose. In: Gentilini M, Caumes E, Richard-Lenoble D, Bégué P, Touze JE. Médecine tropicale. *Paris: Lavoisier*. 2012;1308p.

[51] **Lacroix FM.** Comment bien instituer, suivre, contrôler et optimiser un traitement antiviral non-antirétroviral. In: Mouly S, Sellier P, editors. Monitoring thérapeutique des anti-infectieux: des exigences réglementaires au bon usage du médicament. *Paris Springer Verlag Fr*. 2003;148p.

[52] **Desoubeaux G, Bailly CJ.** Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: updates and recommendations. *Med Mal Infect*. 2014;44(3):89–101.

[53] **Guitard J, Sendid B, Thorez S, Gits HC.** Evaluation of a recombinant antigen-based enzyme immunoassay for the diagnosis of noninvasive aspergillosis. *J Clin Microbiol.* 2012;50(3):762–5.

[54] **Persat F, Ranque S.** Intérêts et limites du sérodiagnostic fongique. *La lettre de l'infectiologue*. 2009;24(1):8–18.

[55] **Persat F, Ranque S.** Intérêts et limites du sérodiagnostic fongique. *La Lett l'infectiologue. 2*009;24(1):8–18.

[56] **Acosta J, Catalan M, del Palacio-Peréz-Medel A, Lora D, Montejo JC, Cuetara MS, et al.** A prospective comparison of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of pulmonary invasive aspergillosis in medical patients under intensive care: Comparison with the diagnostic performance of galactomannan and of (1→ 3) -β-d-glucan. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1053–60.

[57] **De Carolis E, Posteraro B, Lass-Fl C, Vella A, Florio AR, Torelli R et al.** Species identification of *Aspergillus*, Fusarium and Mucorales with direct surface analysis by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis.* 2012;18(5):475–84.

[58] **Alanio A.** La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF en mycologie clinique: Avantages réels, écueils potentiels. *J des Anti-Infectieux.* 2013;15:71–82.

[59] **Alanio A, Beretti JL, Dauphin B, Mellado E, Quesne G, Lacroix C et al.** Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for fast and accurate identification of clinically relevant *Aspergillus* species. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(5):750–5.

[60] **Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, Chakrabarti A, Blot S, et al** Chronic pulmonary aspergillosis : rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. *European Respiratory Journal.* 2016;47(1):45–68.

[61] **Knottnerus JA, van Weel MJ.** Evaluation of diagnostic procedures. *BMJ.* 2002;7335:477-80.

[62] **Delacour H, Servonnet A, Roche C.** Critères d'évaluation de la validité d'un test biologique. *Rev Francoph des Lab.* 2009;2009:41–8.

[63] **Labarere J.** Evaluation des caractéristiques d'un test diagnostique. *Rev Francoph des Lab.* 2011;8:1–6.

[64] **Hochart S, Barrier F, Durand-Joly I, Horrent S, Decaudin PO**. Les antifongiques systémiques: Partie 1: éléments pharmaceutiques. *Pharm Hosp.* 2008;43(173):103–9.

[65] **Hochart S, Barrier F, Durand-Joly I, Horrent S, Decaudin PO.** Les antifongiques systémiques Partie 2: éléments thérapeutiques. *Pharm Hosp*. 2008;43(174):155–68.

[66] **Hochart S, Barrier F, Durand-Joly I, Horrent S, Decaudin PO.** Systemic antifungal agents - Part 2: Therapeutic aspects. *Pharm Hosp.* 2008;43:155–68.

[67] **Soubani AO, Chandrasekar PH.** The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Chest*. 2002;121:1988–99.

[68] **Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA et al.** Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2008;46(3):27–60.

[69] **Brik A, Salem AM, Kamal AR, Abdel-Sadek M, Essa M, el Sharawy M et al.** Surgical outcome of pulmonary aspergilloma. *Eur J Cardio-thoracic Surg*. 2008;34:882–5.

[70] **Piarroux RP, Romain T, Martin A, Vinqueur D, Vitte J, Lachaud L et al.** Multicenter evaluatio of a novel immunochromatographic test ffor anti-*Aspergillus* IgG detection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019;9(12):1–7.

[71] **Vainqueur D.** Evauation de sept réactifs dans le dignostic de l'Apergillose pulmonaire chronique et allergiques. 2018;1–64.

[72] **Oladele RO, Irurhe NK, Foden P, Akanmu AS, Gbaja-Biamila T, Nwosu A et al.** Chronic pulmonary aspergillosis as a cause of smear-negative TB and/or TB treatment failure in Nigerians. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2017;21:1056–61.

[73] **Kwizera R, Bongomin F, Olum R, Worodria W, Buwanga F, Meya BD, et al.** Evaluation of an *Aspergillus* IgG/IgM lateral flow assay for serodiagnosis of fungal asthma in Uganda. *PLoS One*. 2021;16:1–10.

[74] **Guo Y, Bai Y, Yang C, et Gu L.** Evaluation of *Aspergillus* IgG, IgM antibody for diagnosing in chronic pulmonary aspergillosis : A prospective study from a single center in China. *Med.* 2019;98(16):1–5.

[75] **Hou X, Zhang H, Kou L, Lv W, Lu J, Li J.** Clinical features and diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis in Chinese patients. *Med.* 2017;96(42):1-6.

[76] **Hedayati MT, Azimi Y, Droudinia A, Mousavi B, Khalilian A, Hedayati H et al.** Prevalence of chronic pulmonary aspergillosis in patients with tuberculosis from Iran. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;34(9):1759–65.

Annexes

ANNEXE 1 : NOTE D'INFORMATION

Avant d'accepter de participer à ce projet de recherche, veuillez prendre le temps d'écouter ou de lire et de comprendre les renseignements qui suivent. Ce document vous explique le but de ce projet de recherche, ses procédures, avantages, risques et inconvénients. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugerez utiles à la personne qui vous présente ce document.

MCA SISSINTO SAVI de TOVE Y, Médecin Parasitologue Mycologue, Investigateur

AYIMANDE Florentin, étudiant en 7ème année de médecine à la Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou, Téléphone portable : (229) 67477564.

Contexte et justification

L'unité d'enseignement et de recherche de parasitologie-Mycologie du CNHU-HKM supervise un travail de recherche intitulé « Evaluation d'un test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire chronique ».
L'Aspergillose Pulmonaire Chronique (APC) est une affection respiratoire complexe impliquant de diverses conditions sous-jacentes, facteurs de risque, caractéristiques cliniques, radiologiques ou des réponses au traitement. Elle se produit généralement comme une suite de plusieurs affections inflammatoires des poumons notamment la tuberculose. Son diagnostic nécessite la mise en evidence d'anticorps anti-aspergillaires dans le sérum des patients. Mais cette détection d'anticorps repose sur des procédures automatisées et nécessite des laboratoires, une alimentation électrique stable. Elle est donc difficile à réaliser dans les pays en voie de développement. D'où l'intérêt d'un test de diagnostic rapide pour un diagnostic rapide et précoce.

Objectifs

Évaluer un test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire chronique.

Modalités de participation à l'étude

Des données seront recueillies sur chaque patient et seront consignées sur une fiche individuelle de collecte de données. Pour cette étude tous les patients inclus dans l'étude seront prélevés. Ces prélèvements seront réalisés par des professionnels de la santé (techniciens de laboratoire et infirmiers).

Si vous acceptez participer à cette étude, nous allons vous poser des questions sur votre état de santé et recueillir votre sang. Vous pouvez décider librement de participer ou non à cette étude. Cela n'influencera en rien notre attitude vis-à-vis de vous. Vous bénéficierez d'un accueil comme d'habitude au centre de santé.

Risques

Les éventuels préjudices et risques de l'étude sont la douleur liée à la piqure lors du prélèvement du sang.

Avantages

Cette étude nous aidera à évaluer les performances du test de diagnostic rapide pour le diagnostic de APC de facon globale. Elle permettra dans le même temps de faire un depistage gratuit de l'aspergillose pulmonaire parmi les tousseurs chroniques non tuberculeux en vue de leur prise en charge.

Confidentialité

Toutes les personnes dans cette étude recevront un code. Pour les résultats, seulement les codes seront utilisés. Les originaux des documents, mentionnant votre identité seront gardés dans un lieu sécurisé, accessible seulement aux responsables de l'étude. Ni votre nom, ni votre identification, ni le code attribué ne seront utilisés dans une publication ou un rapport de cette étude. Seules les

autorités du comité d'éthique médical, seront autorisées à consulter les dossiers des participants pour vérifier les procédures de l'étude, sans violer la confidentialité.

Chaque participant à l'étude sera mis au courant des résultats du prélèvement.

Questions

Tous les éclaircissements demandés en ce qui concerne l'étude seront donnés par l'équipe médicale. Après avoir pris connaissance en langue locale du contenu de l'étude, chaque personne signera le formulaire de consentement éclairé en totale liberté d'esprit.

ANNEXE 2 : FICHE DE CONSENTEMENT ÉCLAIRÉ

J'ai lu ou on m'a lu et j'ai compris les informations sur le but de la recherche portant sur « Evaluation d'un test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire chronique »

J'ai eu l'occasion de poser toutes les questions aux membres de l'équipe de recherche. Les réponses m'ont été fournies dans un langage que je comprends.

J'ai compris les inconvénients et les avantages du fait de ma participation à cette étude.

J'ai compris aussi que :

- Ma participation à l'étude est volontaire et que je peux me retirer à tout moment
- Les données qui me concernent seront gardées de manière anonyme et je n'autorise leur consultation que par les personnes qui collaborent à cette recherche sous la responsabilité des investigateurs.
- Les chercheurs impliqués dans cette étude auront accès aux données me concernant dans le respect de la plus stricte confidentialité
- Les résultats de l'étude pourront être publiés dans les revues scientifiques
- Les dossiers de recherche pourraient être inspectés par le comité d'éthique au Bénin pour s'assurer du bon déroulement de l'étude.

Il m'a été clairement expliqué et j'ai compris que mon consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leur responsabilité et je conserve tous mes droits tels que garantis par la loi.

Le sujet a accepté de participer à cette étude de recherche

OUI ☐ NON ☐

Nom(s) et prénom(s) participants :

Participant 1…… Age : /__/__/ Sexe : /__/ Code : /_/_/_/_/_/_/_/_/

Nom et prénom de la personne consentante si c'est un enfant

Lien de parenté au(x) enfants ……. Profession de la personne consentante ……

Contact téléphonique du gardien d'enfant : /_/_/ /_/_/ /_/_/ ou /_/_/ /_/_/ /_/_/

Date : /_/_/ /_/_/ /_/_/ Signature (personne ayant servi de témoin / traducteur) : …….

A l'endroit de l'enquêteur

Je soussigné avoir expliqué tous les détails de l'étude au parent ou tuteur indiqué plus haut et atteste qu'il a compris et donné son consentement.

Nom de l'enquêteur qui a informé le participant : ……

Date : ..... Signature de l'enquêteur

ANNEXE 3 : PROCEDURE D'AFFECTATION ET DE VERIFICATION DES CODES

- Affecter un code : Chaque patient de l'étude a un numéro de laboratoire qui lui est attribué. Ce numéro est inscrit sur la fiche d'enquête qui porte son nom suivi de numéro d'ordre inclusion dans l'étude. Par exemple une fiche d'enquête peut porter le code 001AP pour le premier patient enroulé dans l'étude.
- Noter dans le questionnaire le code correspondant
- Vérifier si les codes d'identification des participants sur les fiches de renseignements sont les mêmes que ceux marqués sur les tubes.

ANNEXE 4 : FICHE D'ENQUETE

Date : ……. Code registre : …….

1.Identité

Nom et Prénom (s) : …… Age : ……

Sexe : Masculin ⬡ Féminin ⬡ Poids : …… Taille : …..

2.Caractéristiques sociodémographiques

Téléphone : …….

Profession : ……

Adresse complète : ……

3.Symptomatologie

a) Depuis combien de temps toussez-vous ?

< à 3 semaines ⬡ > à 3 semaines ⬡

b) La toux est-elle accompagnée d'expectorations ?

Oui ⬡ Non ⬡

Si oui, quel est l'aspect de l'expectoration?

Muqueux ⬡ Purulent ⬡

Brun- verdâtre ⬡ Hémoptoïque ⬡

c) Avez-vous présenté des douleurs thoraciques ?

Oui ⬡ Non ⬡

d) Qu'avez-vous déjà reçu comment traitement ?

Rien ⬡ Antitussif ⬡ Antibiotique ⬡

⬡ ⬡

Antituberculeux Ne sais pas

Autres : ……

4. Maladie sous-jacente

Tuberculose ⎔ BCPO ⎔ Emphysème ⎔ Sarcoïdose ⎔

Dilatation des bronches ⎔ Cancer pulmonaire ⎔

Autres : ……

5.Examens radiologiques

Présence de :

Cavernes tuberculeuses Oui ⎔ Non ⎔

Truffes aspergillaires Oui ⎔ Non ⎔

Fibroses Oui ⎔ Non ⎔

Autres aspects : ……

6.Sérologie ELISA Bordier

Positive ⎔ Négative ⎔

- Si positive, precisez le titre …….

7.Sérologie *Aspergillus* ICT IgG-IgM (LD Bio)

Positive ⎔ Négative ⎔

ANNEXE 5 : Prélèvement du sang

Préparation

- Remplir la fiche de prélèvement
- Etiqueter le tube de prélèvement
- Faire un lavage antiseptique des mains
- Mettre un gant
- Préparer le matériel de prélèvement et prévenir le patient de l'acte de soins.
- Vérifier l'identité du patient
- Installer le patient et disposer la protection à usage unique.

Ponction

Veiller à :

- Poser le garrot et repérer le site de ponction en moins d'une minute car risque d'hémolyse, d'activation plaquettaire,
- Ponctionner la veine en évitant de faire « pomper »,

ANNEXE 6: *Aspergillus* ICT IgG-IgM

Indication du test

Aspergillus ICT IgG-IgM est un test rapide utilisant la technique immuno-chromatographique qui permet la détection simultanée des IgG et des IgM anti-Aspergillus dans le sérum humain.

Principe

Aspergillus ICT IgG-IgM est un test unitaire qualitatif. Il est basé sur le principe du sandwich homogène réaction immunologique de 2 épitopes identiques avec les deux sites de liaison d'un anticorps bivalent.

A l'intérieur de la cassette, le dispositif est composé de :

- Une bandelette de nitrocellulose sur laquelle sont répartis en deux bandes réactives : l'antigène (purifié à partir d'une culture d'*Aspergillus fumigatus*) de la bande «test » (T) et les gammaglobulines de lapin de la bande « contrôle » (C),
- Un support en fibre de verre (pad conjugué) imprégné de particules de latex noir couplées à l'antigène d'*Aspergillus fumigatus* (« latex test » = latex T) et des particules de latex bleu couplées à un anti sérum de chèvre anti-IgG de lapin (« latex contrôle » = latex C).

Le test consiste à déposer successivement un échantillon de sérum puis une solution éluant (appelée éluant) dans le puits prévu à cet effet. Commence alors la migration concomitante (chromatographie) du sérum et des particules de latex. Cette migration est achevée en 20-30 minutes.

En cas de présence d'anticorps spécifiques (IgG et/ou IgM) dans l'échantillon, un complexe se forme entre les anticorps du patient et le latex T. Ce complexe est capturé par la bande T et se traduit par l'apparition d'une bande colorée en noir : le test est positif.

La capture directe du latex C par la bande C provoque l'apparition d'une bande colorée en bleu, témoin du bon fonctionnement de la chromatographie ; l'apparition de la bande contrôle bleue est systématique quel que soit le statut sérologique du patient. Les deux lettres « T » et « C » sont imprimées sur la cassette afin de matérialiser la position des zones de lecture correspondantes.

Composition du coffret (20 TESTS)

- 20 cassettes prêtes à l'emploi : 2 sachets (scellés + fermeture minigrip®) de 10 tests incluant un dessicant.
- 1 X 3 ml de tampon d'élution (flacon compte-gouttes)
- 1 notice d'utilisation

Prélèvement et préparation des échantillons

Le test utilise indifféremment du sérum ou du plasma.

Le prélèvement sanguin doit être fait de façon aseptique sur tube sec

Sur tube avec gel, ne pas prélever de gel qui peut être responsable de faux positifs.

Eviter autant que possible l'hémolyse du prélèvement.

Maintenir les échantillons à 2-8°C jusqu'à leur mise en œuvre. S'ils doivent être conservés, les congeler à une température inférieure à -15°C.

Ne pas utiliser d'échantillon contaminé. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois.

Mode opératoire

Matériel nécessaire mais non fourni : micropipette et embouts à usage unique pour la distribution de 15µL, chronomètre.

Si les sachets de 10 tests sont conservés à 2-8°C, les laisser 15 minutes au minimum à température ambiante avant de les ouvrir : les températures s'équilibrent pour éviter la condensation dans le sachet.

- Après avoir sorti le nombre de cassettes désiré, refermer soigneusement le sachet (avec le dessicant à l'intérieur) en chassant au mieux l'air contenu. Conserver le sachet fermé et l'éluant à température ambiante, 2 mois au maximum.
- Identifier chaque cassette à l'aide du numéro de l'échantillon à tester. Ne pas travailler avec des séries de plus de 10 cassettes. Deux séries successives de 10 cassettes doivent être décalées de quelques minutes afin de pouvoir effectuer les lectures aux temps recommandés (utiliser 2 chronomètres).
- l'aide d'une micropipette montée d'un embout jetable, déposer 15 µl de sérum ou plasma dans le puits échantillon. Pratiquer de même avec toutes les cassettes à utiliser d'une même série avant de passer à l'étape suivante.
- Déposer dans le puits 4 gouttes d'éluant présent dans le coffret. Ne pas utiliser un éluant ayant un numéro de lot différent. Tenir le compte-gouttes retourné verticalement pendant la distribution. Reboucher le compte-gouttes après usage.
- Déclencher le chronomètre quand l'éluant est réparti dans les cassettes de la série.

Lecture et interprétation

Effectuer la lecture près d'une fenêtre à la lumière du jour ou sous éclairage direct (par exemple : une lampe de bureau).

Eviter les ombres projetées sur la zone de lecture. La lecture du test doit être faite entre 20 et 30 minutes après déclanchement du chronomètre.

Ne pas tenir compte des résultats obtenus après 30 minutes.

- **Test positif** : 2 lignes, une noire (T) et une bleue (C), apparaissent dans les zones correspondantes. Toute ligne « T » noire, même de faible intensité doit être

considérée comme positive. Pour lire avec certitude une bande de faible intensité, effectuer la lecture l'œil à la verticale de la zone de lecture.

- **Test négatif** : Aucune ligne noire n'apparait, seule la ligne bleue « C » apparait.
- **Test équivoque** : Dans de très rares cas, une ligne grise diffuse peut apparaitre sur la bande « T ». Ce résultat est à considérer comme négatif mais à contrôler sur un prélèvement ultérieur ou par une autre technique.
- **Test non valide** : La ligne « C » bleue n'apparait pas. Relire les instructions et renouveler le test. Si le problème persiste, contacter le fabricant ou votre distributeur.

ANNEXE 7 : ELISA Bordier *Aspergillus fumigatus*

Indication :

Le kit ELISA Bordier *Aspergillus fumigatus* immuno-enzymatique permet la détection quantitative des anticorps IgG contre *Aspergillus fumigatus* dans le sérum humain.

Principe du test et présentation

La trousse contient le matériel nécessaire pour effectuer 96 tests immuno-enzymatiques (tests ELISA) sur des barrettes sécables sensibilisées avec le mélange suivant :

- antigènes solubles somatiques et métaboliques d'*Aspergillus fumigatus*
- antigènes recombinants : dipeptidylpeptidase type V (chymotrypsine) et ribonucléase (mitogilline) d'*Aspergillus fumigatus*

Les anticorps spécifiques de l'échantillon se lieront à ces antigènes et les anticorps non spécifiques seront éliminés par lavage. La présence d'anticorps spécifiques vis-à-vis des antigènes fongiques est détectée avec un conjugué protéine A - phosphatase alcaline.

Une deuxième étape de lavage éliminera le conjugué non lié. La révélation des anticorps liés est faite par l'addition du substrat qui devient jaune en présence de phosphatase alcaline. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques d'*Aspergillus fumigatus* dans l'échantillon. Le phosphate de potassium ajouté arrêtera la réaction. L'absorbance à 405 nm est lue avec un lecteur de microplaques ELISA.

Matériel contenu dans le kit :

- Barrettes sécables sensibilisées avec le mélange d'antigènes *d'Aspergillus fumigatus*

- Tampon de dilution (concentré 10 x), coloré en violet
- Solution de lavage (concentrée 10 x)
- Tampon de l'enzyme
- Solution d'arrêt (0.5M K3PO4)
- Sérum de contrôle négatif (20 x), bouchon vert 200
- Sérum de contrôle faiblement positif (seuil, 20 x), bouchon jaune
- Sérum de contrôle positif (20 x), bouchon vert
- Conjugué protéine A - phosphatase alcaline (50 x), bouchon violet
- Substrat de la phosphatase (para-nitrophènylphosphate)
- Réservoir de réactifs pour multipipettes,
- Cadre pour les supports de puits

Durée de vie et conservation :

Conserver la trousse entre 2° et 8°C (transport à température ambiante), éviter l'exposition prolongée des composants à la lumière directe. La date de péremption et le numéro de lot sont imprimés sur le côté de la boite. Après ouverture initiale, tous les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration lorsqu'ils sont conservés entre 2° et 8°C.

Équipement nécessaire ne se trouvant pas dans la trousse :

- Pipettes (µl et ml).
- Récipients.
- Tubes de dilution.
- Bande adhésive pour couvrir les puits pendant les incubations.
- Eau distillée.
- Incubateur à 37°C.
- Lecteur ELISA ajusté à une longueur d'onde de 405 nm.
- Équipement manuel ou automatique pour le rinçage des puits.

- Vortex.
- Minuteur.

Préparation des réactifs avant l'usage :

Équilibrer tous les réactifs à température ambiante et mélanger avant utilisation.

Barrettes sensibilisées : ouvrir le côté du sachet d'aluminium 6100-01 et retirer le nombre de puits nécessaires (un pour le blanc sans sérum, trois pour les contrôles plus le nombre d'échantillons). Placer les puits dans un support. Si nécessaire, compléter les positions inutilisées du support avec des puits usagés. Placer le support dans un cadre en respectant son orientation. Conserver les barrettes inutilisées scellées dans le sachet avec le dessicatif.

Tampon de dilution : diluer le tampon de dilution concentré 10x 6100-02, 1/10 dans de l'eau distillée. Il est utilisé pour la dilution des sérums de contrôle, des échantillons et du conjugué. Le tampon dilué est stable pendant 2 mois à 2-8°C.

Solution de lavage : diluer la solution de lavage concentrée 10x 6100-03, 1/10 dans de l'eau distillée. Si vous désirez utiliser votre propre solution de lavage, évitez les tampons contenant du phosphate qui pourrait inhiber par la suite l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline. La solution de lavage diluée est stable pendant 2 mois à 2-8°C.

Sérums de contrôle : diluer 10 µl de chaque sérum 6100-06 à -08 dans 190 µl de la solution de tampon de dilution (dilution finale : 1/20). Les sérums de contrôle dilués sont stables pendant 2 mois à 2-8°C.

Conjugué : diluer le conjugué 6100-09, 1/50 dans la solution de tampon de dilution. Diluer le conjugué le jour du test. Ne pas stocker le conjugué dilué.

Solution de substrat : dissoudre le nombre nécessaire de tablettes de substrat 6100-10 dans le tampon de l'enzyme 6100-04 non dilué (une tablette dans 2.5 ml de

tampon). Vortexer jusqu'à dissolution complète de la tablette. Diluer le substrat le jour du test et protéger le tube de la lumière directe.

Les tablettes et les solutions de substrat doivent être incolores ou ne présenter qu'une légère teinte jaune. Si une tablette ou une solution de substrat devient jaune, elle peut avoir été partiellement hydrolysée et doit être jetée. Ne pas stocker la solution de substrat.

Solution d'arrêt : utiliser le réactif 6100-05 non dilué.

Collecte et préparation des échantillons :

Utiliser du sérum humain. Le conserver à 2-8°C s'il est analysé dans les jours suivant le prélèvement, sinon le conserver à -20°C ou moins. Éviter les cycles de congélation/décongélation. Mélanger les échantillons et diluer 1/201 dans la solution de tampon de dilution (par ex. 5 □l d'échantillon dans 1 ml).

Méthode :

Lors de l'exécution du test, éviter la formation de bulles dans les puits.

Étape 1 : Blocage

Remplir complètement les puits avec la solution de tampon de dilution.

Incuber 5 à 15 minutes à température ambiante (blocage des puits).

Éliminer le tampon de dilution par aspiration ou en secouant les barrettes au-dessus d'un évier.

Étape 2 : Incubation avec les échantillons :

Remplir le premier puits de la première barrette avec 100 µl de tampon de dilution (blanc sans sérum). Remplir les trois puits suivants avec respectivement 100 µl de sérum de contrôle dilués négatif, faiblement positif (seuil) et positif. Pour des essais de plus de 25 échantillons, nous recommandons de remplir les trois derniers puits avec des sérums de contrôle comme doublon. Remplir les autres puits avec

les échantillons dilués (100 µl). Couvrir les puits avec de la bande adhésive et incuber 30 minutes à 37°C. Éliminer les sérums et laver 4 x avec ~ 250 □l de solution de lavage.

Étape 3 : Incubation avec le conjugué :
Distribuer 100 µl du conjugué dilué dans chaque puits (blanc sans sérum inclus). Couvrir les puits avec de la bande adhésive et incuber 30 minutes à 37°C. Éliminer le conjugué et laver 4 x avec ~ 250 □l de solution de lavage.

Étape 4 : Incubation avec le substrat :
Distribuer 100 µl de la solution de substrat dans chaque puits.
Couvrir les puits avec de la bande adhésive et incuber 30 minutes à 37°C.
Arrêter la réaction en ajoutant 100 µl de la solution d'arrêt à chaque puits.

Étape 5 : Mesure de la densité optique :
Si besoin, essuyer le dessous des puits et éliminer les bulles éventuelles. Mesurer la densité optique (DO) à une longueur d'onde de 405 nm dans l'heure qui suit l'addition de la solution d'arrêt.

Interprétation :
Soustraire la valeur du blanc sans sérum de toutes les autres valeurs. Le cas échéant, calculer les moyennes des valeurs de DO des sérums de contrôle dupliqués. Le test est valable si les trois critères suivants sont remplis :
- DO contrôle positif > 1.200
- DO contrôle négatif < 10 % du contrôle positif
- DO du blanc contre l'air < 0.350

La concentration en anticorps du sérum seuil 6100-07 a été ajustée de manière à permettre une distinction optimale entre les sérums de cas cliniques d'aspergillose de patients immunocompétents et les sérums de sujets sains.

L'index cut off de chaque échantillon est définit, après soustraction du blanc sans sérum, par la formule suivante:

Index =

Le résultat est **négatif** lorsque l'index du sérum à tester est inférieur à **0.8**. Dans ce cas, la concentration d'anticorps IgG dirigés contre les antigènes d'*Aspergillus fumigatus* n'est pas cliniquement significative.

La **zone grise** correspond à un index situé entre **0.8** et **1.0**. Dans ce cas l'échantillon doit être considéré comme limite, il est alors recommandé de répéter le test avec le même sérum ou avec un nouveau sérum du même patient prélevé 2 à 4 semaines plus tard.

Le résultat est **positif** lorsque l'index du sérum à tester est supérieur à **1.0**. Dans ce cas, la concentration d'anticorps IgG dirigés contre les antigènes d'*Aspergillus fumigatus* est considérée comme cliniquement significative. Ce résultat oriente vers une sensibilisation aspergillaire ou une aspergillose.

ANNEXES 8 : Les antifongiques utilisés dans le traitement des aspergilloses

Famille	**Molécules**	**Mécanismes d'action**	**Posologies**
Polyènes	Amphotéricine B désoxycholate	La dimérisation de l'amphotéricine B expose ces pôles hydrophobes. Ce dimère présente une forte affinité pour l'ergostérol, constituant essentiel de la membrane fongique, ce qui lui permet de s'inclure dans cette membrane. Il forme ainsi des canaux libérant l'eau et les ions inclus dans la cellule fongique, et induit ainsi sa lyse	1 mg/kg/j en perfusion de 4 à 6 heures
	Amphotéricine B liposomale		3 mg/kg/jour en perfusion de 2 à 4 heures
	Le complexe lipidique d'amphotéricine B		5 mg/kg/jour en perfusion de 2 à 4 heures
Azolés	Itraconazole	Inhibition de la C-14 déméthylasse nécessaire à la synthèse de l'ergostérol membranaire par interactions avec le cytochrome P-450. Il en résulte dans la membrane, une déplétion en ergostérol et une accumulation de stérols aberrants.	200 mg 2 fois/jour pendant deux jours puis 200 mg une fois par jour
	Voriconazole		6 mg/kg toutes les 12 heures le premier jour, puis 4 mg/kg toutes les 12 heures.
	Posaconazole		400 mg 2 fois/jour
Echinocandines	Caspofungine	Inhibition de la β (1-3) D-glucane synthétase, impliquée dans la synthèse du β (1-3) D-glucane empêchant ainsi la synthèse de la paroi.	70 mg le 1er jour, puis de 50 mg/j par voie IV.

Table des matières

Table des matières

Dédicaces 0

Remerciements vi

Hommages x

Liste des sigles et abréviations xiii

Liste des tableaux et figures xvii

LISTE DES TABLEAUX xviii

LISTE DES FIGURES xix

SOMMAIRE xxi

Introduction 1

1. Généralités 5

1.2. EPIDEMIOLOGIE 6

1.2.1. Agent pathogène 6

1.2.1.1. Taxonomie 7

1.2.1.2. Caractères morphologiques 7

1.2.2. Réservoir 11

1.2.2.1. Répartition dans l'atmosphère 11

1.2.2.2. Répartition dans les habitations 11

1.2.2.3. Répartition en milieu hospitalier 11

1.2.2.4. Répartition selon les espèces 12

1.2.3. Mode de transmission 13

1.3. PATHOGENIE 13

1.3.1. Pouvoir pathogène 14

1.3.1.1. Facteurs physiques 14
1.3.1.2. Production de toxines 15
1.3.1.3. Production d'enzymes 15
1.3.2. Moyens de défense 16
1.3.3. Facteurs favorisants 16
1.3.3.1. Facteurs environnementaux 16
1.3.3.2. Facteurs locaux 16
1.3.3.3. Facteurs généraux 17
1.4. DIAGNOSTIC DES ASPERGILLOSES 17
1.4.1. Diagnostic clinique 17
1.4.1.1. Les aspergilloses respiratoires 17
1.4.1.2. Aspergilloses extra respiratoires 21
1.4.2. Diagnostic radiologique 21
1.4.2.1. Aspergillome 22
1.4.2.2. Aspergillose Pulmonaire Chronique Cavitaire 22
1.4.2.3. Aspergillose Pulmonaire Chronique Fibrosante 23
1.4.2.4. Aspergillose Pulmonaire Chronique Nécrosante 23
1.4.2.5. Aspergillose broncho-pulmonaire allergique 24
1.4.2.6. Aspergillose Invasive 25
1.4.3. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE 25
1.4.3.1. Les prélèvements 26
1.4.3.2. Diagnostic mycologique 26

1.4.3. 3. Diagnostic histologique 27

1.4.3.4. Diagnostic sérologique 27

1.4.3.5. Autres méthodes diagnostiques biologiques 29

1.5. EVALUATION DE LA VALIDITE D'UN TEST 30

1.5.1. Les indicateurs de performances d'un test de diagnostic 32

1.5.1.1. La sensibilité 32

1.5.1.2. La spécificité (Sp) 32

1.5.1.3. La valeur prédictive positive (VPP) 33

1.5.1.4. La valeur prédictive négative (VPN) 33

1.6. TRAITEMENT ET PREVENTION 34

1.6.1. Traitement curatif 34

1.6.1.1. But 34

1.6.1.2. Moyens 34

1.6.1.3. Indications 35

1.7. Prévention 35

2. Cadre, matériels et méthode d'étude 36

2.1. CADRE DE L'ETUDE 37

2.1.1. Le Centre National Hospitalier universitaire de Pneumo-Phtisiologie de Cotonou (CNHU-PPC) « Le Lazaret » 37

2.1.2. Le laboratoire de Parasitologie-Mycologie du Centre National Hospitalier Universitaire Hubert Koutoukou MAGA (CNHU-HKM). 38

2.2. MATERIEL (voir annexe 6 et 7) 39

2.3. METHODE D'ETUDE 39

2.3.1. Type et période d'étude 39
2.3.3. Critères de sélection 39
2.3.3.1. Critères d'inclusion 40
2.3.3.2. Critères de non inclusion 40
2.3.4. Echantillonnage et taille de l'échantillon 40
2.3.4.1. Echantillonnage 40
2.3.4.2. Taille de l'échantillon 40
2.3.5. Conduite de l'étude 40
2.3.5.1. Préparation de l'enquête 40
2.3.5.2. Démarrage de l'enquête 41
2.3.5.3. Prélèvement 42
2.3.5.4. Examens de laboratoire 42
2.3.5.4.1. *Aspergillus* ICT IgG-IgM 42
2.3.5.4.2. ELISA Bordier *Aspergillus fumigatus* 44
2.3.6. Variables de l'étude 48
2.3.7. Gestion et exploitation statistique des données 49
2.3.8. Considérations éthiques 49
3. Résultats 50
3.1. Diagramme de flux 51
3.2. Caractéristiques épidémiologiques de la population d'étude 52
3.2.1. L'âge 52
3.2.2. Le sexe 53

3.2.3. Occupation socioprofessionnelle 53

3.3. Séroprévalence de l'APC 54

3.4. Performance du test de diagnostic rapide (Sensibilité ; spécificité ; valeur prédictive positive et valeur prédictive négative) 54

3.4.3. Correspondance entre les titres d'IgG et les résultats d'*Aspergillus* ICT. 56

4. Discussion 57

4.1. Intérêt de l'étude..... 58

4.2. Méthodes d'étude 58

4.3. Les caractéristiques sociodémographiques de la population d'étude 59

4.3.1. Age 59

4.3.1.2. Sexe 60

4.2.2. La séroprévalence de l'APC à l'ELISA Bordier..... 61

4.2.3. Performance du test *Aspergillus* ICT IgG-IgM..... 62

4.3. Limites de l'étude..... 63

Conclusion et suggestions 64

SUGGESTIONS..... 67

Références 69

Annexes ..... a

Table des matières ..... A

SERMENT D'HIPPOCRATE

Devant le peuple Béninois
En présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure au nom de l'Être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.
Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.
Je ne participerai pas à aucun partage clandestin d'honoraires.
Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs, ni à favoriser les crimes.
Je ne permettrai pas que les considérations de religions, de nation, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient. Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.
Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.
Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je donnerai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.
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.

Je le jure !

LE PRESIDENT DU JURY

VU LE DOYEN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

LE RECTEUR DE L'UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI

RESUME

INTRODUCTION : L'aspergillose pulmonaire chronique (APC) est une maladie infectieuse potentiellement mortelle qui affecte au moins 3millions de personnes dans le monde. Elle est due à la colonisation et à l'envahissement du parenchyme pulmonaire par des champignons du genre *Aspergillus*. Son diagnostic est complexe impliquant notamment la détection des Ac anti-aspergillaires dans le sérum des patients atteints.

OBJECTIF : Evaluer un test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire chronique.

METHODES : Il s'est agi d'une étude transversale à visée descriptive et analytique qui a été réalisée de Mai 2019 à Décembre 2021 au Centre National Hospitalier Universitaire de Pneumo-Phtisiologie de Cotonou. La population d'étude était constituée de 84 patients inclus sur la base de critères cliniques et radiologiques évoquant l'APC et d'un résultat « GeneXpert » négatif. Les patients inclus ont tous bénéficié d'un test sérologique à l'ELISA bordier (test de référence) et un test de diagnostic rapide Aspergillus ICT IgG-IgM LDBio au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou MAGA.

RESULTATS : La population d'étude était majoritairement masculine **(**69%) avec une moyenne d'âge à 43,90 ans. La séroprévalence de l'aspergillose pulmonaire chronique calculée à l'aide de l'Elisa était de 61,90%.

Le test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT IgG-IgM avait une sensibilité de 71,15% et une spécificité de 90,63%. Les valeurs prédictives positive et négative étaient respectivement de 92,50% et 65,91%.

CONCLUSION : Au terme de notre étude, il ressort que le test de diagnostic rapide *Aspergillus* ICT IgG-IgM LDBio présente une moyenne performance en tant qu'outil diagnostique de l'APC et peut être utilisé donc pour son diagnostic précoce et rapide dans les pays à revenu faible. Il serait judicieux de le coupler au test de confirmation.

MOTS-CLES : Aspergillose Pulmonaire Chronique, Test de diagnostic rapide, séroprévalence, Cotonou

ABSTRACT

INTRODUCTION: Chronic pulmonary aspergillosis (CPA) is a life-threatening infectious disease that affects at least 3 million people worldwide. It is due to the colonization and invasion of the lung parenchyma by fungi of the genus Aspergillus. Its diagnosis is complex involving in particular the detection of anti-aspergillus antibodies in the serum of affected patients.

OBJECTIVE: To evaluate a rapid diagnostic test for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis.

METHODS: This is a descriptive and analytical cross-sectional study which was carried out from May 2019 to December 2021 at the national University Hospital center of Ppneumo-Phtisiology of Cotonou. The study population is made up of 84 patients included, without distinction of age or sex, on the basis of clinical and radiological signs evoking CPA and a negative GENEXPERT. All the patients included had benefited a serological test with ELISA bordier (reference test) and an Aspergillus ICT IgG-IgM LDBio rapid diagnostic test at the Parasitology-Mycology laboratory of the National Hospital and University Center Hubert Koutoukou MAGA.

RESULTS: The study population was predominantly male (69%) with an average old of 43,90 years. The seroprevalence of chronic pulmonary aspergillosis calculated using the ELISA was 61.90%.The Aspergillus ICT IgG-IgM rapid diagnostic test had a sensitivity of 71.15% and a specificity of 90.63%. The positive and negative predictive values were 92.63% and 65.91% respectively.

CONCLUSION: At the end of our study, it appears that the Aspergillus ICT IgG-IgM LDBio rapid diagnostic test has average performance as a diagnostic tool for CPA and can therefore be used for its early diagnosis in low and middle income countries. It would be wise to couple it with the confirmation test.

KEYWORDS: Chronic Pulmonary Aspergillosis, rapid diagnostic test, seroprevalence, Cotonou.