



UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE

FACULTE DE MEDECINE AMIENS

Année 2018

Thèse 2018-135

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT

DE DOCTEUR EN MEDECINE

**ASPERGBPCO : PREVALENCE DE L'ISOLEMENT DE
L'ASPERGILLUS DANS LA BRONCHO-PNEUMOPATHIE
CHRONIQUE OBSTRUCTIVE**

Présentée et soutenue publiquement le 04 octobre 2018 à 16h00 à la
salle des thèses de la faculté de Médecine

Par FOUQUET Ugo

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Jounieaux Vincent

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Schmit Jean-Luc

Madame le Professeur Totet Anne

Monsieur le Docteur Benoit Nicolas

Madame le Docteur Hoguet Estelle

Directrice de Thèse :

Madame le Professeur Andréjak Claire



UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE

FACULTE DE MEDECINE AMIENS

Année 2018

Thèse 2018-135

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT

DE DOCTEUR EN MEDECINE

**ASPERGBPCO : PREVALENCE DE L'ISOLEMENT DE
L'ASPERGILLUS DANS LA BRONCHO-PNEUMOPATHIE
CHRONIQUE OBSTRUCTIVE**

Présentée et soutenue publiquement le 04 octobre 2018 à 16h00 à la
salle des thèses de la faculté de Médecine

Par FOUQUET Ugo

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Jounieaux Vincent

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Schmit Jean-Luc

Madame le Professeur Totet Anne

Monsieur le Docteur Benoit Nicolas

Madame le Docteur Hoguet Estelle

Directrice de Thèse :

Madame le Professeur Andréjak Claire

Remerciements

A mon Président de Jury

Monsieur le Professeur JOUNIEAUX Vincent
PROFESSEUR DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER
Pôle Cœur-Thorax-Vaisseaux
Service de Pneumologie- CHU Amiens

*C'est avec vous que j'ai réalisé ma toute première fibroscopie,
C'est avec impatience que j'ai hâte de travailler dans votre service,
Vous me faites l'honneur de présider ce jury,
Veuillez accepter l'expression de mon respect, de ma gratitude.*

A mes juges,

Monsieur le Professeur SCHMIT Jean-Luc
PROFESSEUR DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER
Pôle DRIME
Service des Pathologies Infectieuses et Tropicales – CHU Amiens

Vous me faites l'honneur de juger mon travail,

Veillez accepter l'expression de mes remerciements les plus sincères.

A mes juges,

Madame le Professeur TOTET Anne

PROFESSEUR DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER

Pôle Biologie-Pharmacie et Santé des populations

Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicales – CHU Amiens

Vous me faites l'honneur de juger mon travail,

Veillez accepter l'expression de mes remerciements les plus sincères.

A ma directrice de thèse,

Madame le Professeur ANDREJAK Claire

PROFESSEUR DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER

Pôle Cœur-Thorax-Vaisseaux

Service de Pneumologie- CHU Amiens

Je ne saurais t'exprimer ma gratitude pour tout le travail accompli. Sans toi, cette étude n'aurait jamais vu le jour. Merci pour ta pédagogie, pour ton accompagnement et surtout pour ton extrême patience et ce même quand je te dérangeais les week-ends. Tu as su me remotiver à chaque fois qu'il le fallait et jusqu'au bout j'ai pu compter sur ton soutien. Ce projet est ton projet et je le mènerais jusqu'au bout, sois en sûr. Accepte tous mes sincères remerciements Claire.

A mes juges,

Monsieur le Docteur BENOIT Nicolas

PRATICIEN en Spécialité de Pneumologie

Service de Pneumologie- Clinique de l'Europe Amiens

A toi Nicolas, et à toute l'équipe des 5, je vous donne toute ma gratitude pour votre aide précieuse pour cette étude qui me tient à cœur. Merci pour ta gentillesse, ta disponibilité, ta patience à toute épreuve et à ces petits moments conviviaux en stage où tu avais l'impression de passer pour un ancien parmi les jeunes. Accepte toute ma reconnaissance pour le travail accompli.

A mes juges,

Madame le Docteur HOGUET Estelle

PRATICIEN HOSPITALIER

Service de Pneumologie et Allergologie Respiratoire- CH Abbeville

Un mois de travail avec toi au centre hospitalier d'Abbeville fût insuffisant, j'aurais aimé faire un semestre entier sous ton enseignement. Un grand merci pour ta contribution pour ce projet, pour ta disponibilité et ton implication malgré ta surcharge de travail permettant au service de pneumologie d'Abbeville de participer à cette étude, sache que je t'en suis grandement reconnaissant.

A la Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation- CHU
Amiens,

Madame Stéphanie Devaux

Secrétaire de Recherche Clinique/ Mycobactéries

Je te remercie de ta disponibilité pour les dizaines et les dizaines de fois où je suis venu te déranger sans prévenir dans ton bureau. Merci pour les heures passées pour ce projet.

Monsieur Devassine Jean-Loup

Attaché de Recherche Clinique

Je vous remercie pour la méthodologie et la surveillance de la bonne conduite de cette étude.

A l'ensemble des docteurs du CHU d'Amiens, du CH d'Abbeville, du CH de Saint-Quentin et de la Clinique de l'Europe qui ont accepté avec gentillesse de participer à ce sujet de thèse, sans qui rien n'aurait pu être possible :

Dr Carré Olivier

Dr Bethembos Stéphanie

Dr Douadi Youcef

Dr Dayen Charles

Dr Basille Damien

Dr Monconduit Julien

Dr Toublanc Bénédicte

Dr François Géraldine

Dr Mayeux Isabelle

Dr Popin-Meyer Elisabeth

Dr Baud Mickael

Dr Carette Hortense

Dr Leleu Olivier

Dr Clarot Caroline

Dr Barras Elodie

Dr Rault Isabelle

Dr Trouve Charlotte

Dr Bentayeb Houcine

Dr Suguenot Remi

Dr Lecuyer Emmanuelle

A mes chers Parents, à ma Mère aimante et généreuse, à mon Père et son soutien infailible. Vous représentez chacun à votre manière un modèle pour moi, vous m'avez guidé à travers la vie et vous avez toujours été là pour moi. Je vous dédie cette thèse, merci pour tout, je vous aime.

A Fiona. Ma vie a changé depuis ta rencontre, merci de m'avoir supporté, aidé, pris soin de moi et ce en toute circonstance. Je ne te remercierai jamais assez de ta présence, de ton affection, de ton amour pour moi. A nous l'avenir rempli de voyage et de bonheur. Je t'aime.

A mes sœurs Marie, Amandine et Emmanuelle. Toujours présentes quand le besoin s'en fait ressentir. La famille s'est bien agrandie depuis mais vous restez les mêmes, fidèles à vous-même. J'attends toujours avec grande impatience chaque moment de retrouvaille.

A mes neveux et nièces Clothilde, Florence, Hugues, Joséphine, Pierre-Antoine, Victoria et le petit dernier qui va bientôt arriver. A vous l'avenir, à vous tout le bonheur d'une vie bien remplie avec des parents aimants. Merci d'égayer ces moments précieux que j'ai avec vous. A mes trois cousins et cousines Charles, Gautier et Athénaïs. A Guillaume et Aurore.

A mes beaux-frères Jean-Noël et Gérard. J'ai hâte de fêter ça avec vous. A toi Olivier, je vais avoir tout le temps de te battre encore et encore à tous les jeux que tu me proposes.

A mes grands-parents Guy et Lucette toujours présents et toujours là pour me supporter, je sais que j'aurais toujours un soutien inconditionnel de votre part.

A Carlos et Sarah, toujours un plaisir de passer du temps avec vous, merci de votre soutien et de votre accueil chaleureux à chaque fois que j'arrive chez vous.

A Clara, je sais qu'un jour tu viendras habiter à Amiens.

A Pe, Arnaud et Nico mes grands amis de la catho. Que de bons souvenirs avec vous, que de bons voyages et malgré la distance, une amitié toujours aussi forte. A mon cher François, on repart quand tu veux sur Paris. A Rémi et ses prises de chasse dans l'appartement.

A Constance et Cathy mes deux petites mamans.

A Puch mon parrain de cœur. Déjà 10ans et cette année c'est mon tour !

A la Team Lourdes, Juliette, Pilou, Cécile, Dudu, Geo, Florine, Alexis, Marc, Steffy, Marion et tous les autres, je vous offre le Jurançon quand vous voulez.

A Lise la poule, bientôt ton tour !

A Claire ma marraine pour toujours sur Amiens.

Aux vieux Beaux, Guillaume, Charles et Benoit, bientôt des vôtres je l'espère.

A Fanny, ne m'en veut pas si je n'écris pas tout ton nom faute de place. Je n'oublierais jamais mes années passées avec toi. A William dans le grand Ouest. A Alexis mon frère Amiénois et à Chloé.

A mes deux co-internes Lola et Mélanie, j'espère vraiment que l'on sera à 3 pour cette année.

A toute la team pneumo et les bons moments passés avec vous. A ceux encore sur Amiens et tous les autres partis à travers la France.

Liste des abréviations

ACOS	Asthme COPD Overlap Syndrome
BPCO	Broncho-pneumopathie Chronique Obstructive
CAT	COPD Assessment Test
CCP	Comité de Protection des Personnes
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CRF	Case Report Form
CSI	Corticostéroïdes Inhalés
CVF	Capacité Vitale Forcée
DDB	Dilatation des Bronches
ECBC	Examen Cytobactériologique du Crachat
EFR	Explorations Fonctionnelles Respiratoires
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
HAS	Haute Autorité de la Santé
LABA	Long Acting B2-Adrénégic Receptor
LAMA	Long-Acting Muscarinic Acetylcholine Receptor Antagonists
MMRC	Modified Medical Research Council

Liste des abréviations

MOPC	Maladie pulmonaire chronique obstructive
NFS	Numération Formule Sanguine
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerase Chain Reaction
QVLS	Qualité de vie liée à la santé
VEMS	Volume expiratoire maximale par seconde
VRS	Virus Respiratoire Syncytial

Table des matières

1. Introduction

<i>1.1 Une population particulière en pneumologie : le cas des patients BPCO</i>	19
<i>1.2 La particularité des patients BPCO stade III et IV</i>	19
<i>1.3 Les infections chez les patients ayant une BPCO modérée à sévère</i>	20
1.3.1 Généralités.....	20
1.3.2 BPCO et infection bactérienne.....	20
1.3.3 BPCO et infection virale.....	21
1.3.4 BPCO et infection fongique.....	21
<i>1.4 Aspergillus chez les BPCO, une problématique</i>	21
1.4.1 Généralités sur l'Aspergillus.....	21
1.4.2 Fréquence de l'Aspergillus chez les patients BPCO.....	22
1.4.3 Quels sont les patients BPCO potentiellement plus à risque d'isolement d'Aspergillus dans les expectorations ?.....	23
1.4.4 L'examen cyto bactériologique des crachats : un examen facilement réalisable....	23

2. Matériel et Méthodes

<i>2.1 Objectif principal et critère de jugement principal</i>	25
<i>2.2 Objectifs secondaires et critères de jugement secondaires</i>	25
<i>2.3 Critères d'inclusion et de non inclusion</i>	25
<i>2.4 Variables enregistrées</i>	27
<i>2.5 Déroulement du protocole</i>	27
2.5.1 Généralités.....	27
2.5.2 Vérification des critères d'inclusion et d'exclusion.....	28
2.5.3 Consultation Pneumologique (J1).....	28
2.5.4 Appel téléphonique à M1.....	28
2.5.5 Appel téléphonique à M3.....	29
2.5.6 Appel téléphonique à M6 ou consultation avec son pneumologue référent.....	29
2.5.7 Réalisation de l'examen cyto bactériologique du crachat.....	29
2.5.8 Réalisation de la numération formule sanguine.....	30
<i>2.6 Aspects statistiques</i>	30
2.6.1 Calcul du nombre de sujet nécessaire.....	30
2.6.2 Méthodes statistiques employées.....	30
2.6.3 Aspect réglementaire.....	31

3. Résultats

<i>3.1 Caractéristiques générales des patients à la consultation d'inclusion</i>	32
3.1.1 Age et Sexe.....	32
3.1.2 Stade de la BPCO.....	32
3.1.3 Comorbidités.....	32
3.1.4 Traitement de fond.....	32
<i>3.2 Evaluation de la dyspnée à la consultation d'inclusion(J1)</i>	33

3.3 Suivi à M1 et M3.....	34
3.4 Critère de jugement principal : résultat de l'examen mycologique des crachats.....	34
3.4.1 Nombre d'échantillons.....	34
3.4.2 Qualité de l'échantillon.....	34
3.4.3 Résultats mycologiques de l'échantillon.....	35
3.4.4 Résultats bactériologiques de l'échantillon.....	35
3.5 Comparaison des patients BPCO stade III et IV.....	36
3.5.1 Résultats de l'examen des crachats.....	37
3.5.2 Evaluation de la dyspnée à J1.....	38
3.5.3 Traitement de fond entre les deux groupes.....	38
3.5.4 Suivi de la dyspnée à M1 et M3.....	38
3.6 Caractéristique des patients porteurs d'Aspergillus.....	39
3.6.1 Stade de la BPCO, comorbidités et traitements inhalés.....	39
3.6.2 Résultats de l'examen mycologique.....	39
3.7 Comparaison des patients porteurs d'Aspergillus avec le reste de la population.....	40

4. Discussion

4.1 Rappel des principaux résultats.....	41
4.2 Critique de l'étude.....	41
4.2.1 Critique de la réalisation de l'examen du crachat.....	41
4.2.2 Critique de la qualité de l'examen des crachats.....	42
4.2.3 Critique de l'évaluation de la dyspnée selon le score mMRC et CAT.....	43
4.2.4 Critères d'inclusions et d'exclusion.....	43
4.3 BPCO facteur de risque de colonisation.....	43
4.3.1 Colonisation aspergillaire.....	43
4.3.2 Colonisation bactérienne.....	44
4.3.3 Colonisation bactérienne et fongique, une association discutée.....	44
4.4 Critère de jugement principal : prévalence de l'Aspergillus chez les BPCO.....	45
4.5 Critères de jugement secondaires.....	45
4.6 Quel impact de la recherche Aspergillaire pour les BPCO.....	46

5. Conclusion

Références bibliographiques.....	49
---	-----------

Annexes

Annexe 1 : Avis favorable CPP.....	53
Annexe 2 : Schéma de l'Aspergillus.....	54
Annexe 3 : Echelle mMRC.....	55
Annexe 4 : Score CAT.....	56
Annexe 5 : Echelle Evaluation QVLS.....	57
Annexe 6 : Score GOLD.....	58
Annexe 7 : Critères de Bartlett.....

Résumé

Contexte : Depuis quelques années, les études se multiplient sur l'impact de la présence d'*Aspergillus* chez les patients BPCO. Cependant la prévalence de l'*Aspergillus* dans les sécrétions respiratoires des patients BPCO est encore incertaine et son impact sur leur pathologie respiratoire mal connu.

Méthode : Il s'agissait d'une étude prospective multicentrique menée du 15 mars 2018 au 31 août 2018. L'objectif principal était d'évaluer la prévalence d'*Aspergillus* dans l'examen des crachats des patients BPCO stade III ou IV vus en consultation. Les objectifs secondaires étaient de corréler la présence d'*Aspergillus* chez ces patients et l'évolution de leur pathologie pulmonaire sur 6 mois.

Résultats : Cent cinq patients ont été inclus. Nous avons 97 patients qui ont réalisé un examen des crachats dont 8 sont revenus positifs à *Aspergillus* (7,6%) ; 1 avec un direct et culture positive et 7 à la culture. Concernant la dyspnée à J1 selon le score CAT et l'échelle mMRC, les scores étaient plus élevés dans le groupe BPCO stade IV avec respectivement une moyenne de $2,8 \pm 0,8$ ($p < 0,001$) et $23,4 \pm 7,6$ ($p < 0,001$). Les patients porteurs d'*Aspergillus* étaient comparables au reste de la population en termes de stade de BPCO, ou de sex ratio. Par contre, ils étaient plus souvent porteurs de broncheectasies et ils semblaient plus symptomatiques à M1 que les autres, notamment sur le score CAT ou le nombre d'exacerbations.

Conclusion : Notre étude a retrouvé une prévalence d'*Aspergillus* dans les prélèvements respiratoires de 7,6% chez une population de BPCO stade III et IV. Néanmoins, ces données sous-estiment potentiellement la prévalence réelle compte tenu de nombreux échantillons salivaires. L'étude se poursuit afin d'obtenir les données de suivi à 6 mois afin de déterminer l'impact réel d'*Aspergillus*.

Abstract

Introduction : Since few years, multiple studies have tried to evaluate impact of Aspergillus presence in COPD patients sputa. However, the prevalence of Aspergillus in this population is still uncertain and its impact on their respiratory disease poorly understood.

Method: This was a multicenter prospective study conducted from March 15, 2018 to August 31, 2018. The primary objective was to assess the prevalence of Aspergillus in the sputum examination of patients with COPD stage III or IV seen in consultation. The secondary objectives were to correlate the presence of Aspergillus in these patients and the evolution of their pulmonary pathology over 6 months.

Results: One hundred and five patients were included. We had 97 patients who performed a sputum examination of which 8 were positive to Aspergillus (7.6%); 1 with a positive direct and 7 with only positive culture. For dyspnoea at day 1 according to the CAT score and the mMRC scale, the scores were higher in the stage IV COPD group with respectively an average of 2.8 ± 0.8 ($p < 0.001$) and $23.4 \pm 7,6$ ($p < 0.001$). Patients with Aspergillus were comparable to the whole population in terms of stage of COPD, or sex ratio. On the other hand, they had more often bronchiectasis and they seemed to be more symptomatic at the M1 evaluation than the others, especially on the CAT score or the number of exacerbations.

Conclusion: Our study found a prevalence of 7.6% in a population of COPD stage III and IV. Nevertheless, these data potentially underestimate the true prevalence given many salivary samples. The study is continuing to obtain 6-month follow-up data to determine the actual impact of Aspergillus.

1. Introduction

1.1 Une population particulière en pneumologie : le cas des patients BPCO

En France, la BPCO (bronchopneumopathie chronique obstructive) touche 7,5 % de la population adulte, soit 3,5 millions de personnes [1]. Selon des estimations récentes de l'OMS, actuellement 66 millions de personnes dans le monde ont une BPCO, et 3 millions de personnes en sont décédées. L'OMS prévoit que la BPCO deviendra la troisième cause de décès dans le monde en 2030[2].

Le développement de la maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC) est multifactoriel et les facteurs de risque comprennent à la fois des facteurs génétiques et environnementaux. Bien que le tabagisme soit un facteur de risque établi pour la BPCO, de nombreux autres facteurs associés restent sous-estimés ou négligés. Jusqu'à 50% des cas de BPCO dans certains pays peuvent être attribués à des facteurs de risque autres que le tabac [3] comme notamment l'exposition aux gaz, aux poussières ou à la fumée [4]. Depuis quelques années, les études se multiplient sur l'impact des champignons et notamment l'*Aspergillus* chez ces patients porteurs d'une maladie chronique.

L'enjeu pour les patients BPCO est la qualité de vie qui peut être évaluée par plusieurs questionnaires comme le CAT (COPD Assessment Test) [5], QVLS (Qualité de vie liée à la santé) [6] ou St Georges [7], mais aussi par la dyspnée évaluée sur des échelles (comme l'échelle mMRC) ou le nombre d'exacerbation sur l'année. La qualité de vie est un facteur prédominant dans cette pathologie. En effet le nombre de patients poly-pathologiques est en augmentation constante et avec l'amélioration de la prise en charge des patients BPCO, la notion de qualité de vie est devenue primordiale [8], [9], [10].

1.2 La particularité des patients BPCO stade III et IV

La classification des patients BPCO en stade III et IV correspond aux données du score de GOLD 2006, avec un VEMS entre 30 et 50% pour les patients BPCO stade III et pour les stades IV inférieur à 30% ou supérieur à 30% mais avec des signes d'insuffisance respiratoire et/ou cardiaque. Les patients ayant une pathologie modérée à sévère ont souvent une qualité de vie plus altérée, sont plus fréquemment « exacerbateur » et surtout présente une dyspnée majorée en comparaison aux patients ayant une BPCO peu sévère (stade I et II). Il n'y a pas de lien entre le stade de la BPCO et la mise en évidence d'une bactérie ou d'un champignon lors d'une exacerbation aiguë, cependant les stades III et IV étant plus « exacerbateur », l'infection fongique et/ou bactérienne pourrait être plus fréquente. [11]

De même la mortalité à 3 ans ne dépend pas du stade de la BPCO mais des comorbidités associées [12].

Du fait de la sévérité de la maladie et du risque de décompensation rapprochée, la prise en charge des patients BPCO stade III et IV nécessite un suivi rapproché tant au niveau clinique que paraclinique par le pneumologue référent et le médecin traitant.

1.3 Les infections chez les patients ayant une BPCO modérée à sévère

1.3.1 Généralités

L'inflammation chronique des bronches est responsable d'une immunosuppression locale avec une porte d'entrée pour les infections virales, bactériennes et moins connues fongiques.

Que ce soit une simple bronchite, une trachéite, une pneumonie ou une exacerbation spastique, du fait de la fragilité du poumon par la pathologie chronique sous-jacente, les conséquences sont souvent sévères : hospitalisations à répétition, utilisation d'antibiotiques, consultation médicale, passage en réanimation et surtout altération de la qualité de vie [13], [14].

Les patients présentant des comorbidités comme une dilatations des bronches, un asthme, une pneumoconiose, un cancer ou une colonisation bactérienne ont souvent un tableau clinique plus sévère et une fréquence plus élevée d'exacerbations [15], [16].

1.3.2 BPCO et infection bactérienne

La prise en charge des infections bactériennes est bien définie. Par exemple, l'instauration d'antibiotique est systématique si le patient a une BPCO de stade IV, et est basée sur la purulence et la majoration de l'expectoration pour les patients avec une BPCO de stade III.

La colonisation bactérienne est assez fréquente avec par ordre d'apparition, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, les Enterobactéries puis *Pseudomonas aeruginosa* et enfin dans les formes les plus évoluées de la maladie, après la colonisation bactérienne peut apparaître une colonisation fongique [17].

1.3.3 BPCO et infection virale

Le nombre élevé de sérotypes de certains virus rend leur diagnostic particulièrement difficile. Par conséquent, le manque de sensibilité des méthodes « classiques » (cultures virales, sérologies), utilisées jusqu'au début des années 2000, a certainement sous-évalué la fréquence des infections virales chez les patients BPCO. Avec l'avènement de l'identification d'acide nucléique viral dans les voies aériennes par *polymerase chain reaction* (PCR), les études récentes ont retrouvé des virus dans 30 à 60% des exacerbations respiratoires [18], avec par ordre de fréquence, rhinovirus, VRS et metapneumovirus. Environ 25% des infections respiratoires sont mixtes bactériennes et virales. L'utilisation d'une antibiothérapie reste controversée compte tenu d'une infection mixte dans un quart des cas [19].

1.3.4 BPCO et infection fongique

La prévalence de l'*Aspergillus* est variable selon la pathologie sous-jacente. L'*Aspergillus* est plus volontiers retrouvé chez les patients BPCO stade III et IV. La mise en évidence d'*Aspergillus spp.* lors des exacerbations aiguës de BPCO n'est pas exceptionnelle mais son impact sur le pronostic des patients reste mal connu et il est habituel, en l'absence d'argument pour une authentique infection aspergillaire aiguë ou chronique, de ne pas en tenir compte dans la prise en charge thérapeutique de ces exacerbations [20].

La présence d'*Aspergillus spp.* chez des patients stable dans un examen d'expectoration peut avoir un impact sur la qualité de vie [21]. La prévalence d'*aspergillus* chez un patient BPCO stade III ou IV à l'état stable est moins connue.

1.4 *Aspergillus* chez les BPCO, une problématique

1.4.1 Généralités sur *Aspergillus*

Le nom *Aspergillus* est donné à un genre de champignons imparfaits qui comprend environ 180 espèces, réparties en 18 sections [23]. Certains d'entre eux sont pathogènes, et/ou produisent des métabolites toxiques pour les mammifères.

Les *Aspergillus* sont caractérisés par la présence de conidiophores dressés, terminés par une vésicule supportant, soit une seule rangée de phialides, soit une rangée de phialides et une rangée de cellules sous-jacentes appelées métules. Les phialides et les métules sont également dénommées stérigmates. Les conidies produites en grand nombre par les phialides donnent, à la tête conidienne, un aspect radié si les stérigmates couvrent l'ensemble de la vésicule, ou une apparence en colonne si seule la partie supérieure de celle-ci est fertile.

La température optimale de croissance des *Aspergillus* se situe le plus souvent entre 25°C et 40°C. De nombreuses espèces d'*Aspergillus* ont la capacité de se développer sur des milieux pauvres en eau. On les retrouve donc fréquemment comme contaminants de produits "secs".

Les *Aspergillus* sont les formes asexuées de plusieurs espèces d'Ascomycètes. La classification des *Aspergillus* est surtout basée sur leurs caractères morphologiques. Dans leur classification, Raper et Fennell (1965) ont décrit 132 espèces et divisé le genre en 18 groupes [24]. Cette classification a été révisée par la suite (Samson, 1994) [25]. Le genre compte maintenant 180 espèces ; les groupes de Raper et Fennell ne correspondant pas à la nomenclature internationale Gam *et al.* (1986) les ont remplacés par 18 sections regroupées dans 6 sous-genres [23].

1.4.2 Fréquence de l'*Aspergillus* chez les patients BPCO

La prévalence de l'*Aspergillus* chez les patients ayant une mucoviscidose ou les patients asthmatiques chroniques est déjà connue. Par exemple, l'étude de Van Grunderbeeck *et al.* a retrouvé une prévalence à plus de 33%. Chez les patients BPCO, elle est plus incertaine [26]. Bafhadel *et al.* a retrouvé, tout type de prélèvement confondu, environ 13% d'*Aspergillus* chez les patients BPCO et ce, indépendamment de l'état clinique (stable ou en exacerbation). Soixante-quinze pour cent des *Aspergillus* étaient *Aspergillus fumigatus*. Il a également été démontré que la fonction respiratoire était plus sévère chez les patients colonisés à *Aspergillus* [21]. Agarwal *et al.* a montré que les patients, sensibilisés aux champignons à l'aide de prick test, avaient un taux d'éosinophile supérieur à la moyenne [27].

Everaerts *et al.* a démontré, grâce au sérodiagnostic, que la présence de dilatations des bronches augmentait le risque de sensibilisation à l'*Aspergillus* chez les patients BPCO de 4% à 18% [28]. Huerta *et al.* a mené une étude sur la recherche d'*Aspergillus* sur 240 patients BPCO en exacerbation.

Parmi eux, 16,6% des patients avaient eu un prélèvement respiratoire positif à *Aspergillus* pendant l'épisode aigu et 14,1 % des patients présentaient encore de l'*Aspergillus* à 1 an lors d'un examen de contrôle [29]. Pashley *et al.*, par deux analyses concomitantes des expectorations, a démontré que 29% des patients BPCO étaient colonisés à *Aspergillus* (16 sur 55) [30]. Dans l'étude de HE *et al.* [31], 5% des patients BPCO stade IV présentaient une trachéobronchite aspergillaire avec un diagnostic mycologique sur l'examen cytologique du crachat (8 sur 153)].

Il n'existe cependant que peu d'études sur la prévalence de l'*aspergillus* dans l'examen des crachats chez des patients BPCO cliniquement stable.

1.4.3 Quels sont les patients BPCO potentiellement plus à risque d'isolement d'*Aspergillus* dans les expectorations ?

La colonisation aspergillaire est assez fréquente chez les BPCO stade IV, un peu moins chez les BPCO stade III. En effet, Barberan et al retrouvait la présence d'*Aspergillus* toute forme confondue (colonisation ou forme plus ou moins invasive) plus fréquemment dans les formes sévères de BPCO [32]. Il n'existe aucune recommandation quant à la conduite à tenir chez un patient avec découverte d'*Aspergillus* dans les prélèvements respiratoires sans critères d'aspergillose broncho pulmonaire allergique. Barberan et al a démontré que les patients BPCO stade IV colonisés à *Aspergillus* ont 25% de risque de développer une maladie aspergillaire par la suite [33].

De même Everaerts et al ont démontré que les patients BPCO présentant des dilatations des bronches présentaient plus facilement une colonisation aspergillaire (diagnostiquée par la présence de galactomanne couplée à une PCR aspergillaire dans les sécrétions pulmonaires) avec un pourcentage de colonisation de 23,5% versus 10,5% chez des patients BPCO sans dilatations des bronches et étaient donc à plus haut risque d'aspergillose pulmonaire invasive [34].

La plupart des études portent sur la présence d'*Aspergillus* dans les sécrétions respiratoires de patients BPCO, hospitalisés en soins intensifs et/ou réanimation et suspects de développer une aspergillose pulmonaire invasive.

1.4.4 L'examen cyto bactériologique et mycologique des crachats : un examen facilement réalisable

L'examen cyto bactériologique et mycologique des crachats (ECBC) est un examen couramment réalisé par les patients BPCO stade III et IV. Du fait de la récurrence des exacerbations, du risque de colonisation, l'examen du crachat est régulièrement prescrit en hospitalisation ou en ville. Il est le plus souvent réalisé pour rechercher une colonisation ou une infection bactérienne

Les deux principaux inconvénients de cet examen non invasif sont 1) la quantité insuffisante de sécrétions et 2) la mauvaise qualité de l'échantillon. Les critères de Bartlett déterminent la qualité du crachat avec moins de 10 cellules épithéliales et plus de 25 polynucléaires neutrophiles par champ. Lorsqu'il existe plus de 10 cellules épithéliales par champ, on considère qu'il s'agit d'une contamination salivaire. Chez le patient BPCO, la présence de neutrophile est le critère le plus important pour déterminer le caractère pathologique des sécrétions pulmonaires comme l'a démontré l'étude de Perdesen et al [35].

Huang et al ont montré un possible intérêt à réaliser un ECBC dans le suivi des patients BPCO. En effet, dans leur travail, il existait des changements dans le microbiome respiratoire avec une augmentation de l'abondance des espèces pathogènes typiques de la bronchite chronique obstructive, notamment lors des exacerbations, et une diminution de la diversité du microbiote [36].

Comme expliqué précédemment, la colonisation bactérienne est une évolution naturelle de la BPCO avec initialement des bactéries comme *Haemophilus influenzae* puis *Pseudomonas aeruginosa*, mais qu'en est-il de l'*Aspergillus* ? Peu de données ont été publiées sur la « colonisation » aspergillaire et encore moins sur la conduite à tenir en cas de présence d'*Aspergillus*. La prévalence exacte de l'isolement d'*Aspergillus* dans les sécrétions bronchiques des patients BPCO n'est pas réellement connue.

2. Matériel et Méthodes

2.1 Objectif principal et critère de jugement principal

L'objectif principal de l'étude était d'évaluer la prévalence de l'isolement d'*Aspergillus* dans les prélèvements respiratoires des patients présentant une bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) de stade III ou IV selon les critères spirométriques (GOLD 2006) vus en consultation pneumologique.

Le critère de jugement principal était la mise en évidence d'*Aspergillus sp.* à l'examen direct et/ou à la culture d'un prélèvement respiratoire

2.2 Objectifs secondaires et critères de jugement secondaires

L'objectif secondaire de notre étude était de :

Corréler la présence d'*Aspergillus* chez les patients BPCO de stade III ou IV selon les critères spirométriques et l'évolution de leur pathologie pulmonaire évaluée par :

- Le nombre d'exacerbation annuelle
- La dyspnée
- La qualité de vie
- Les symptômes respiratoires

Les critères de jugement secondaires étaient :

- Evaluation de la dyspnée par le score mMRC
- Evaluer la qualité de vie par le score CAT
- Evaluer le nombre d'exacerbation définie par l'apparition ou la majoration des symptômes respiratoires sur une période de plusieurs jours (les symptômes respiratoires étant la dyspnée, la toux, l'apparition ou la majoration de l'expectoration, la modification de la coloration des exacerbations ou une hospitalisation dans un service de pneumologie pour une aggravation de l'état clinique)

2.3 Critères d'inclusion et de non inclusion

➤ Les critères d'inclusions :

Les patients devaient être vus en consultation par un pneumologue en milieu hospitalier, soit au centre hospitalier universitaire d'Amiens, au centre hospitalier d'Abbeville, au centre hospitalier de Saint-Quentin ou par un pneumologue de la clinique de l'Europe.

Pour être inclus le patient devait présenter une BPCO de stade III ou IV définie par un trouble ventilatoire obstructif (rapport de Tiffeneau avec VEMS/CVF < 0,7) non réversible chez un patient tabagique actif ou passif de :

- Stade III : VEMS entre 30 et 50% des valeurs théoriques
- Stade IV : VEMS inférieur à 30% des valeurs théoriques ou présence d'une insuffisance respiratoire chronique définie par une $PaO_2 < 60$ mmHg ou une insuffisance cardiaque droite

A noter que les patients présentant un ACOS, (syndrome de chevauchement asthme et BPCO) n'étaient pas exclus de l'étude.

Les patients devaient être majeur pour participer à l'étude et devaient avoir donné leur consentement écrit à la réalisation de cette étude.

➤ **Les critères de non inclusion :**

- Patient présentant une mucoviscidose homozygote ou hétérozygote connue
- Patient présentant une forme particulière d'atteinte aspergillaire, connue au moment du diagnostic :
 - Aspergillome
 - Aspergillose bronchopulmonaire allergique
 - Trachéite aspergillaire
 - Bronchite aspergillaire
 - Aspergillose pulmonaire chronique cavitaire
 - Aspergillose pulmonaire invasive
- Patient présentant une fibrose pulmonaire connue :
 - Fibrose pulmonaire idiopathique
 - Sarcoidose avec atteinte fibrosante
 - Syndrome BPCO-fibrose
 - Pneumopathie interstitielle non spécifique avec atteinte fibrosante
- Patient présentant une pathologie hématologique maligne associée :
 - Leucémie aigue myéloïde ou lymphoïde
 - Lymphome de haut grade
 - Myélodysplasie
- Patient mineur
- Patient participant déjà à un autre protocole de recherche expérimental
- Patient non affilié à la sécurité sociale

2.4 Variables enregistrées

Etaient recueillis pour chaque patient :

- La vérification des critères d'inclusion et de non inclusion (vérification de l'éligibilité).
- L'âge et le sexe.
- Les résultats d'explorations fonctionnelles respiratoires datant de moins de 1 an avec le stade de BPCO.
- La présence d'une pathologie respiratoire associée : dilatations des bronches, asthme, pneumoconiose, autres.
- La présence d'une colonisation connue et si oui à quel germe : *Pseudomonas aeruginosa*, mycobactéries non tuberculeuses, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, et autres.
- La présence d'un traitement de la BPCO et si oui lesquelles : les corticostéroïdes inhalés, les B₂mimétiques de longue durée d'action, les anticholinergiques de longue durée d'action, les corticoïdes per os.
- La présence d'une ou plusieurs exacerbations de la BPCO dans les 12 mois précédant l'inclusion et leur nombre.
- La réalisation d'un examen cytobactériologique et mycologique des crachats avec la qualité de l'échantillon selon les critères de BARTLETT détaillant le nombre de leucocytes et de cellules pharyngées ; la présence au sein de l'échantillon d'*Aspergillus* ou d'un autre champignon et enfin le mode d'obtention des résultats soit par examen direct soit par culture.
- Le bilan hématologique réalisé il y a moins d'un mois avec la date du prélèvement détaillant l'hémogramme
- Les résultats du questionnaire mMRC et CAT à l'inclusion, au premier mois, au troisième mois et au sixième mois.
- La présence d'une exacerbation entre l'inclusion et le premier mois, entre le premier mois et le troisième mois et entre le troisième mois et le sixième mois avec la prise ou non d'antibiotiques.

2.5 Déroulement du protocole

2.5.1 Généralités

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective multicentrique Picarde comprenant comme centres le CHU d'Amiens, le CH d'Abbeville, le CH de Saint-Quentin et la Clinique de l'Europe. Cette étude a débuté le 15 mars 2018 et s'est terminée le 31 août 2018.

Chaque patient devait être vu en consultation de pneumologie, signer un consentement après avoir reçu une lettre d'information par son pneumologue référent. Il recevait alors deux ordonnances ; une pour la réalisation d'un examen mycologique des crachats avec recherche spécifique d'*Aspergillus* à réaliser en laboratoire de ville ou dans le laboratoire référent du CH ou de la clinique et une ordonnance pour réaliser une numération formule sanguine sauf si une biologie avait été réalisée dans le mois précédent la consultation. Les scores de CAT et mMRC étaient réalisés lors de la consultation d'inclusion et des entretiens téléphoniques.

2.5.2 Vérification des critères d'inclusion et d'exclusion

Il était à la charge du pneumologue référent de s'assurer de la validation des critères d'inclusion et de non inclusion. Chaque patient devait avoir réalisé une exploration fonctionnelle respiratoire dans l'année précédente pour s'assurer du stade de la BPCO et les antécédents étaient recueillis lors de la consultation.

2.5.3 Consultation Pneumologique (J1)

Le patient répondant aux critères d'inclusion bénéficiait au décours de la consultation pneumologique d'une évaluation du score mMRC et CAT.

L'échelle mMRC était cotée de 0 à 4 ; 0 pour l'absence de dyspnée et 4 pour une dyspnée au moindre effort. Le questionnaire CAT quant à lui était coté de 0 à 40 en prenant en compte la dyspnée, la toux, la quantité d'expectoration, la qualité du sommeil, l'énergie, la spasticité de la poitrine, l'anxiété liée à la maladie et la limitation d'activité.

Le patient repartait avec deux ordonnances, une pour faire l'examen des crachats et une deuxième pour réaliser la numération formule sanguine (NFS).

Si le patient avait déjà réalisé une biologie avec une NFS dans le mois précédent alors la deuxième ordonnance ne lui était pas remise.

Les explorations fonctionnelles respiratoires étaient réalisées lors de la première consultation sauf si elles avaient été réalisées dans l'année qui précédait.

Le patient était informé des modalités du suivi dans les 6 mois à venir avec les appels téléphoniques au premier mois, au troisième mois et au sixième mois.

Les données du patient étaient inscrites dans le CRF avec notamment le stade de la BPCO, les résultats des EFR, les comorbidités pneumologiques, le traitement de fond et la présence ou non d'une colonisation connue.

2.5.4 Appel téléphonique à M1

Un mois après le jour d'inclusion, le patient était appelé pour réaliser :

- Une nouvelle évaluation du score de CAT et mMRC.
- La recherche dans le mois écoulé d'une ou de plusieurs exacerbations et si tel était le cas, l'utilisation d'une antibiothérapie avec le nom de la molécule.
- L'apparition ou l'aggravation de symptômes respiratoires et/ou une altération de la qualité de vie.
- Les résultats de l'examen cytobactériologique et mycologique du crachat et de la NFS lui étaient transmis si le patient le souhaitait.
- En cas d'examen des crachats non interprétable ou non réalisé, il était expliqué au patient la nécessité de réaliser cet examen. Une ordonnance lui était alors fournie à nouveau.

2.5.5 Appel téléphonique à M3

Trois mois après le jour d'inclusion, le patient était appelé une seconde fois le avec une les mêmes questions :

- Une évaluation du score de CAT et mMRC
- L'apparition d'une nouvelle exacerbation toute cause confondue depuis le premier appel téléphonique.
- L'apparition ou l'aggravation de symptômes respiratoires et/ou une altération de la qualité de vie.
- Si l'examen des crachats n'avait pas pu être réalisé pour différentes raisons (Refus secondaire du patient, impossibilité technique de la réaliser, patient n'expectorant pas), le patient était alors exclu secondairement de l'étude.

2.5.6 Appel téléphonique à M6 ou consultation avec son pneumologue référent

A 6 mois après le jour d'inclusion, le patient était revu par son pneumologue référent si cela était déjà planifié, sinon il bénéficiait d'un nouvel appel téléphonique.

La quasi-totalité des patients BPCO stade IV est revu en consultation par un pneumologue en accord avec les recommandations de l'HAS sur le suivi de ces patients. En revanche, les patients BPCO stade III n'étaient pas systématiquement revus en consultation et ils bénéficiaient en l'absence de consultation d'un nouvel appel téléphonique.

Dans les deux situations, les patients bénéficiaient de :

- Une évaluation du score CAT et mMRC
- La recherche d'une ou plusieurs nouvelles exacerbations depuis le deuxième appel téléphonique
- L'apparition ou l'aggravation de symptômes respiratoires et/ou altération de la qualité de vie.
- SI le patient était vu en consultation il bénéficiait d'un examen clinique et des EFR pouvaient de nouveau être réalisées.

2.5.7 Réalisation de l'examen du crachat

L'examen cytbactériologique et mycologique du crachat n'est pas toujours un examen facile à réaliser pour un patient BPCO stade III ou IV. Certains patients ont une bronchorrhée chronique surtout lorsqu'ils ont des dilatations des bronches et l'examen est alors facile à réaliser mais pour d'autres patients, il n'y a aucune expectoration.

Il a donc été proposé aux pneumologues des différents centres des modalités de bonne réalisation de cet examen. Tout d'abord, au mieux, l'examen était réalisé dans la structure médicale où le patient consultait en présence des infirmières. Si cela n'était pas possible, il était alors expliqué au patient de réaliser l'examen tôt le matin à jeun car les fluides bronchiques s'accumulent la nuit et donc au matin il est plus facile d'expectorer.

Si cela ne suffisait pas alors le patient pouvait, s'il en avait à disposition, recourir à un aérosol avant de réaliser l'examen. Enfin, s'il bénéficiait d'une kinésithérapie respiratoire à domicile, alors l'examen pouvait être réalisé avec l'aide du kinésithérapeute.

Le prélèvement était par la suite envoyé soit dans le laboratoire du CH, de la Clinique ou dans des laboratoires de villes.

2.5.8 Réalisation de la numération formule sanguine

La numération formule sanguine était utile d'une part pour rechercher la présence d'une hyperéosinophilie et d'autre part recherche une hyperleucocytose en faveur d'un processus infectieux actif.

Si la numération formule avait été réalisé dans le mois précédent alors le patient n'avait pas besoin de réaliser un nouvel examen biologique dans le cas contraire, une ordonnance lui était remise pour réaliser cet examen soit au CH, soit dans un laboratoire en ville, soit à domicile puis secondairement transmis au laboratoire de ville.

Tout facteur pouvant modifier la numération formule sanguine était notifiée dans le CRF du patient ; il s'agit principalement d'une prise d'une corticothérapie per os ou de la prise d'une antibiothérapie.

2.6 Aspects statistiques

2.6.1 Calcul du nombre de sujet nécessaire

Sous l'hypothèse d'une incertitude totale sur la prévalence attendue, l'inclusion de 100 patients BPCO de stade III/IV garantit une estimation de cette prévalence avec un intervalle de confiance dont la précision (demi-longueur) ne dépassera pas 10%. Si la prévalence est aux alentours de 20%, la précision serait de 8%.

2.6.2 Méthodes statistiques employées

Pour la description des caractéristiques de la population, les variables quantitatives ont été décrites à l'aide de la moyenne \pm écart type et de la médiane (minimum - maximum). Les variables qualitatives ont été décrites par leur fréquence avec un intervalle de confiance de niveau 95 %.

Analyse du critère principal :

La prévalence a été exprimée en pourcentage avec un intervalle de confiance bilatéral à 95%.

Analyse des critères secondaires :

- L'association entre score de dyspnée et la présence d'aspergillus devait être recherchée avec un modèle de régression linéaire.
- L'association entre score de qualité de vie et la présence d'aspergillus devait être recherchée avec un modèle de régression linéaire.
- L'association entre le nombre d'exacerbations sur la durée de participation et la présence d'aspergillus devait être recherchée avec un modèle de régression linéaire. Si la distribution de nombre d'exacerbations est fortement dissymétrique (plus de la moitié des patients n'ont présenté qu'une seule exacerbation par exemple), elle sera dichotomisée et une régression logistique binaire devra être utilisée.

Il n'y a pas eu d'analyse intermédiaire.

L'ensemble de l'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel SAS® version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC).

2.6.3 Aspect réglementaire

Il n'y a pas eu de comité de surveillance car il n'y avait aucun risque particulier pour les patients. La seule intervention était la réalisation d'un examen mycologique des crachats associée à une NFS et des questionnaires de qualité de vie.

Le promoteur et les investigateurs se sont engagés à ce que cette recherche soit réalisée en conformité avec la loi n°2004-806 du 9 août 2004, ainsi qu'en accord avec les Bonnes Pratiques Cliniques (I.C.H. version 4 du 1^{er} mai 1996 et décision du 24 novembre 2006) et la déclaration d'Helsinki (qui peut être retrouvée dans sa version intégrale sur le site <http://www.wma.net>).

Cette recherche a reçu l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes (CPP) Ouest II le 15/02/2018. Conformément à la loi n°2002-303 du 4 mars 2002, les patients sont informés, à leur demande, des résultats globaux de la recherche.

3. Résultats

L'étude s'est déroulée sur quatre centres : le CHU d'Amiens, la Clinique de l'Europe, le CH d'Abbeville et le CH de Saint-Quentin. Cent six patients ont été inclus du 15 mars au 31 août 2018 et un a été exclu faute d'EFR datant de moins de 1 an.. Cent cinq patients ont donc été analysés.

3.1 Caractéristiques générales des patients à la consultation d'inclusion (J1)

3.1.1 Age et Sexe

Sur les 105 patients inclus, 71 étaient des hommes (67,6%) et 34 étaient des femmes (32,4%). L'âge moyen de la population était de $68,0 \pm 15,0$ ans (entre 37 et 92 ans).

3.1.2 Stade de la BPCO

Concernant le statut de la maladie, 50 patients présentaient une BPCO stade III selon les critères du GOLD (47,6%) tandis que 55 patients présentaient une BPCO stade IV (52,4%) avec un VEMS inférieur à 30% ou une insuffisance respiratoire se caractérisant par une oxygéno-dépendance avec une $PaO_2 < 60$ mmHg.

3.1.3 Comorbidités

Dix-huit patients étaient porteurs de dilatations des bronches (DDB) (17,1%), 6 patients présentaient un asthme et donc porteur d'une ACOS, 7 patients présentaient une colonisation connue à une bactérie (6,7%) dont 5 (4,8%) à un *Pseudomonas aeruginosa* et 2 (1,9%) à une mycobactérie non tuberculeuse.

3.1.4 Traitement de fond

Pour le traitement de fond, 70 patients étaient traités par corticostéroïdes inhalés (CSI) (66,7%) dont 23 par du fluticasone (21,9%), 44 par du budésonide (41,9%) et 3 par du béclométhasone (2,9%). A noter que seuls 40,9% étaient exacerbateurs fréquents et avaient donc une indication à un CSI. Cent un patients étaient traités par un bronchodilatateur de longue durée d'action type Béta-2 adrénergique (LABA) (96,2%) avec respectivement 48 patients sous formotérol (45,7%), 21 patients sous salmétérol (20%), 19 patients sous indacaterol (18,1%), 6 patients sous vilanterol (5,7%) et enfin 7 patients sous olodaterol (6,7%). Cent un patients (96,2%) étaient également traités par un anticholinergique de longue durée d'action (LAMA) avec respectivement 12 patients (11,4%) par du glycopyronium, 82 patients (78,1%) par du tiotropium, 5 patients par des aérosols (4,8%) et 3 patients par de l'umclidium (2,9%)

3.2 Evaluation de la dyspnée à la consultation d'inclusion (J1)

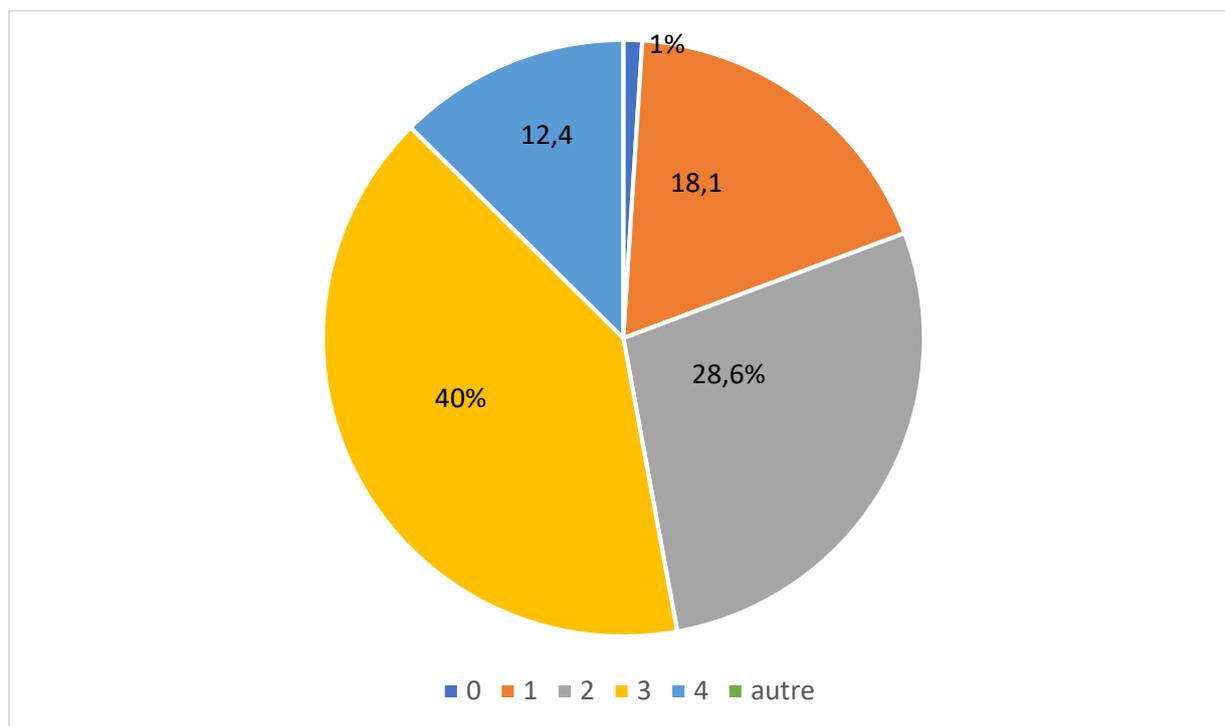


Figure 1 : Evaluation de la dyspnée selon l'échelle mMRC à J1 pour l'ensemble de la population

Les 105 patients inclus ont répondu aux deux questionnaires mMRC et CAT (100%).

L'évaluation moyenne de la dyspnée à J1 sur l'échelle mMRC était de $2,4 \pm 0,6$.

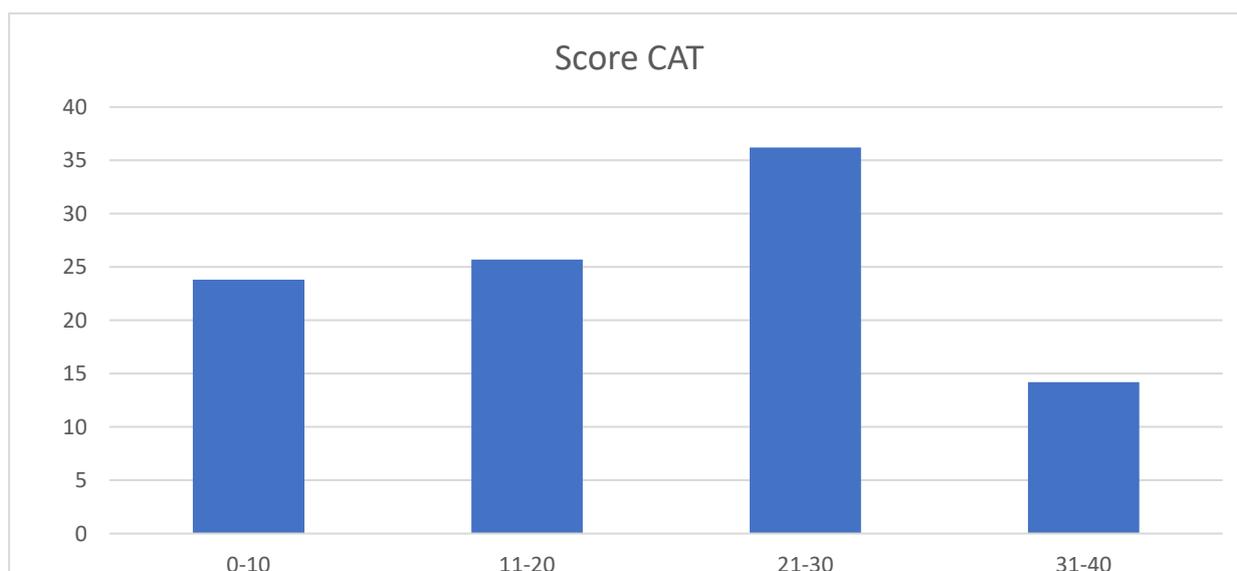


Figure 2 : Score CAT à J1 pour l'ensemble de la population

Le score de CAT moyen des patients à J1 était de $20,0 \pm 9,0$.

3.3 Suivi à M1 et M3

Quatre-vingt-deux patients (78,1%) ont pu être joints par téléphone pour réaliser les scores mMRC et CAT ainsi que le nombre d'exacerbations à M1, 63 à M3 et 0 à M6.

Les scores moyen mMRC et CAT étaient respectivement de $2,4 \pm 0,9$ et $19,2 \pm 8,7$ à M1 et $2,5 \pm 0,8$ et $20,3 \pm 9,1$ à M3. Vingt-quatre exacerbations ont été notées entre J1 et M1, toutes ont été traitées par une antibiothérapie (79% respectant les recommandations). Entre M1 et M3, 19 patients ont présenté une exacerbation, 18 ont été traités par une antibiothérapie (88,9% respectant les recommandations).

3.4 Critère de jugement principal : résultat de l'examen mycologique des crachats

3.4.1 Nombre d'échantillons

Quatre-vingt-dix-sept patients ont réalisé un examen des crachats, le plus souvent mycologique et bactériologique (92,3%) tandis que 8 patients (7,6%) sont en attente de réaliser l'examen ou sont dans l'impossibilité de le réaliser (absence d'expectorations, problème logistique, échantillons refusés par le laboratoire faute de quantité suffisante). Ces 8 patients n'ont pas été exclus car en attente de leurs échantillons avant le 6^{ème} mois. Les 8 patients ayant de l'*Aspergillus* représentaient 7,6% de la population. En excluant les 8 patients n'ayant pas expectoré, la prévalence de l'*Aspergillus* est de 8,2%.

Aucun des patients présentant de l'*Aspergillus* n'avait eu un antécédent de maladie aspergillaire. Les patients n'ayant pas encore été revu à 6 mois, aucun examen complémentaire n'a été réalisé pour l'instant. Aucun patient n'avait de tableau radiologique en faveur d'une maladie aspergillaire.

3.4.2 Qualité de l'échantillon

Concernant la qualité de l'échantillon, 49 patients ont réalisé un échantillon de bonne qualité (46,7%), 42 ont réalisé un échantillon de mauvaise qualité (40%), 8 n'ont pas réalisé d'examen de crachat et pour 6 la qualité selon les critères de Bartlett n'était pas renseignée. Cinquante-quatre échantillons avaient moins de 10 cellules épithéliales par champ (51,4%). Quarante-six échantillons avaient plus de 25 polynucléaires neutrophiles et quatorze plus de 15 polynucléaires neutrophiles par champ.

3.4.3 Résultats mycologiques de l'échantillon

Huit examens mycologiques des crachats sont revenus positifs à *Aspergillus* (7,6%) dont 1 au direct et à la culture, et 7 à la culture uniquement. Parmi les cultures positives, toutes sauf une étaient positives à *Aspergillus fumigatus* (85,7%) et une était positive à *Aspergillus spp* sans plus de précision (14,3%). Neuf échantillons ont eu un direct mycologique positif (8,6%) associés à une culture positive à autre chose qu'*Aspergillus*, et 44 examens sont revenus avec une culture mycologique positive (41,9%) sur un total de 96 échantillons (91,4%).

Concernant les cultures positives, sur 44 échantillons positifs, 40 retrouvaient du *Candida albicans* (38,1%) et 4 retrouvaient un autre type de candida seul (3,8%) comme *Candida spp*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* et enfin un autre type de champignon comme le *Saccharomyces cerevisiae*. A noter que la plupart des prélèvements avaient plusieurs *Candida* dans leurs cultures.

3.4.4 Résultats bactériologiques de l'échantillon

Une culture bactérienne ayant été réalisée pour la plupart des examens de crachats, 34 échantillons sont revenus positifs à une bactérie (32,4%) avec respectivement 13 *Haemophilus influenzae* ou *Branhamella catarrhalis* (12,4%), (1,9%), 6 à Entérobactéries (5,7%), 5 à *Pseudomonas aeruginosa* (4,8%), 2 à *Staphylococcus aureus*, 1 à *Streptococcus pneumoniae* (1%) et 3 à d'autres germes (2,9%). Ainsi 62 cultures de crachats (59%) étaient positives soit à une bactérie soit à un champignon.

3.5 Comparaison des patients BPCO stade III et IV

Les principaux résultats sont présentés dans le tableau 1.

	<i>BPCO GOLD III</i> <i>n=50</i>	<i>BPCO GOLD IV</i> <i>n= 55</i>	<i>p</i>
ECBC			
- prélèvement de qualité, n (%)	21 (48,8%)	33 (68,8%)	0,04
- prélèvement positif à <i>Aspergillus</i> n (%)	5 (10,8%)	3 (6%)	0,59
- prélèvement positif à bactérie n (%)	18 (39,1%)	16 (32%)	0,30
Sévérité			
- mMRC à l'inclusion	2,04 ±0,9	2,82 ±0,8	<0,001
- CAT à l'inclusion	16,3 ±9,1	23,4 ± 7,6	<0,001
- colonisation n (%)	0	7 (12,7%)	0,009
- exacerbateur fréquent	18 (36%)	25 (45,5%)	0,21
Traitement			
- LABA n (%)	48 (96%)	53 (96,4%)	0,65
- LAMA n (%)	48 (96%)	53 (96,4%)	0,65
- CSI n (%)	27 (54%)	43 (78,2%)	0,008
A 1 mois (données sur 82 patients)			
- exacerbation n (%)	7 (17%)	17 (41,4%)	0,032
- traitement antibiotique	100%	100%	1
- Score mMRC	2,0 ±0,9	2,8±0,9	<0,001
- Score CAT	16,5 ± 8,6	22±8,0	<0,001
A 3 mois (données sur 63 patients)			
- exacerbation	5(18,5%)	14 (25,4%)	0,1
- traitement antibiotique	5/5	13/14	
- Score mMRC	2,3 ± 0,8	2,7 ± 0,8	0,04
- Score CAT	17,9± 10	22,1 ±7,5	0,06

Tableau 1 : Caractéristiques des patients, de leurs prélèvements, de leur sévérité et de leur évolution selon le stade de la BPCO

3.5.1 Résultats de l'examen des crachats

Les échantillons étaient de meilleure qualité selon les critères de Bartlett chez les patients BPCO stade IV avec 33 prélèvements de qualité (68,8%) $p=0,04$. Concernant la colonisation à *Aspergillus* ou bactérienne, il n'y a aucune différence significative entre les BPCO stade III et IV avec $p=0,59$ pour *Aspergillus* et $p=0,30$ pour les prélèvements bactériens.

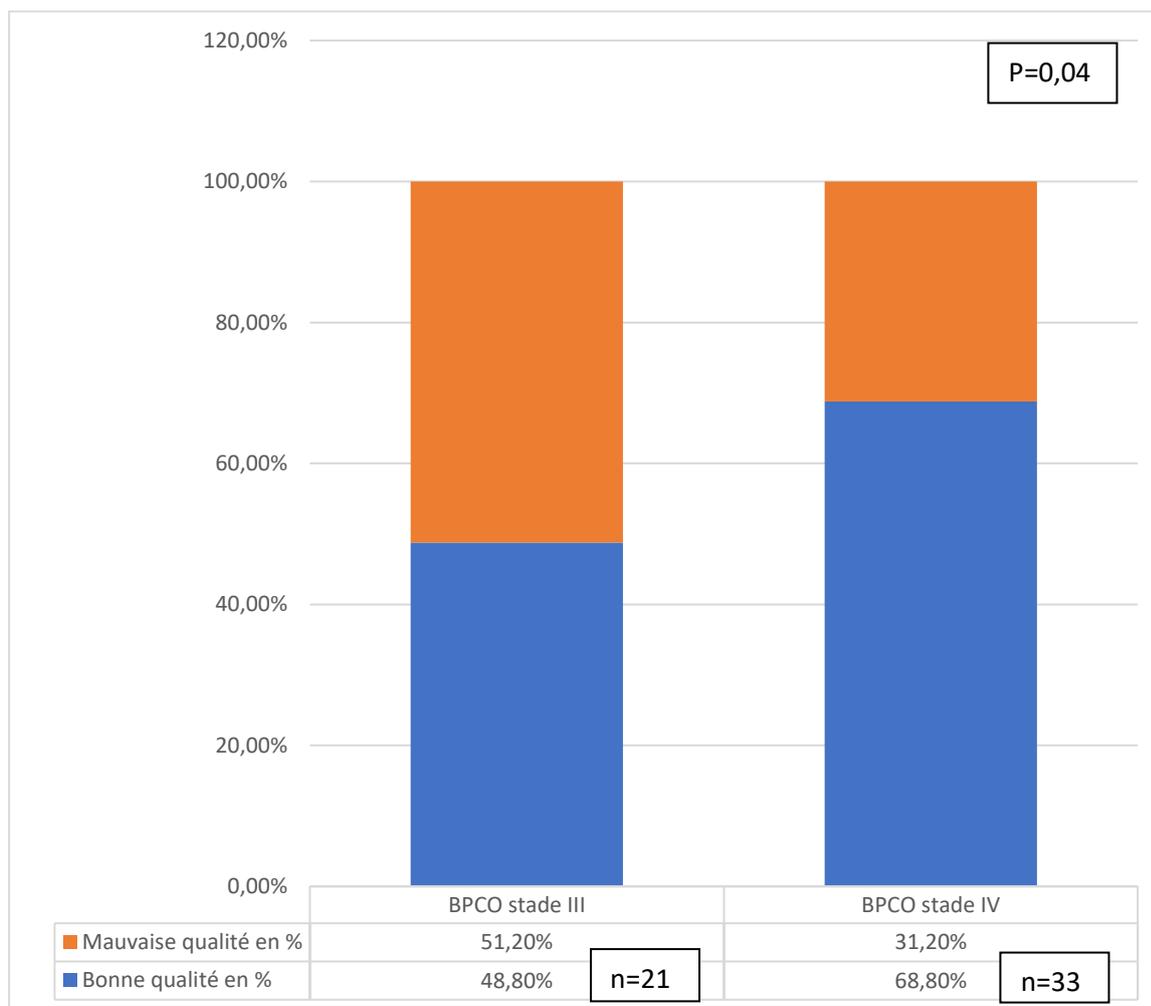


Figure 3 : Qualité de l'ECBC selon le stade de la BPCO

3.5.2 Evaluation de la dyspnée à J1

La dyspnée estimée selon l'échelle mMRC à J1, et le score CAT étaient plus élevées dans le groupe BPCO stade IV avec une moyenne de $2,8 \pm 0,8$ vs $2,04 \pm 0,9$ pour les stades III pour l'échelle mMRC ($p < 0,001$) et $23,4 \pm 7,6$ vs $16,3 \pm 9,1$ pour les stades III ($p < 0,001$) pour le score CAT.

3.5.3 Traitement de fond entre les deux groupes

Il n'y avait pas de différence significative entre le traitement de fond par LAMA et LABA pour les deux groupes de BPCO ($p = 0,65$). En revanche, les patients BPCO stade IV avaient plus volontiers un traitement de fond par CSI avec 43 patients (78,2%) que les BPCO stade III ($p = 0,008$).

3.5.4 Suivi de la dyspnée à M1 et M3

Quant au suivi à 1 mois et 3 mois, il y avait une différence significative entre les deux groupes de BPCO avec un score mMRC et CAT plus élevés dans le groupe stade IV avec respectivement à 3 mois des valeurs de $2,7 \pm 0,8$ et $22,1 \pm 7,5$ dans le groupe de BPCO stade IV ($p = 0,04$ et $0,06$).

	<i>Sexe</i>	<i>Stade BPCO</i>	<i>Comorbidités</i>	<i>CSI</i>	<i>LAMA et LABA</i>	<i>Direct ECBC</i>	<i>Type Aspergillus</i>
<i>Patient 1</i>	<i>Masculin</i>	<i>III</i>	<i>DDB</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>	<i>CGP</i>	<i>Fumigatus</i>
<i>Patient 2</i>	<i>Masculin</i>	<i>III</i>	<i>Non</i>	<i>Non</i>	<i>Oui</i>	<i>Flore polymorphe</i>	<i>Fumigatus</i>
<i>Patient 3</i>	<i>Féminin</i>	<i>IV</i>	<i>DDB et colonisation</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>	<i>Rien</i>	<i>Fumigatus</i>
<i>Patient 4</i>	<i>Féminin</i>	<i>III</i>	<i>Asthme</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>	<i>Rien</i>	<i>Inconnue</i>
<i>Patient 5</i>	<i>Masculin</i>	<i>III</i>	<i>DDB</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>	<i>Flore Polymorphe</i>	<i>Spp</i>
<i>Patient 6</i>	<i>Masculin</i>	<i>IV</i>	<i>DDB</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>	<i>Rien</i>	<i>Fumigatus</i>
<i>Patient 7</i>	<i>Masculin</i>	<i>IV</i>	<i>Non</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>	<i>Rien</i>	<i>Fumigatus</i>
<i>Patient 8</i>	<i>Féminin</i>	<i>III</i>	<i>Non</i>	<i>Oui</i>	<i>Oui</i>	<i>Flore polymorphe</i>	<i>Fumigatus</i>

Tableau 2 : Caractéristiques détaillées des patients porteurs d'Aspergillus

3.6 Caractéristique des patients porteurs d'*Aspergillus*

3.6.1 Stade de la BPCO, comorbidités et traitements inhalés

Cinq patients présentaient des comorbidités avec 3 patients porteurs de dilatations des bronches, un patient asthmatique. Parmi eux, 3 patients étaient BPCO stade IV et 5 BPCO stade III.

Tous les patients présentant de l'*Aspergillus* étaient traités par LABA et LAMA. Ils avaient également tous, sauf un des corticostéroïdes inhalés.

3.6.2 Résultats de l'examen mycologique

La majorité des patients avait un *Aspergillus fumigatus*. Un seul patient avait une culture mycologique uniquement positive à *Aspergillus spp.* sans précision. Sept avaient une culture polymicrobienne.

3.7 Comparaison des patients porteurs d'Aspergillus avec le reste de la population

	Présence d'Aspergillus N=8	Absence d'aspergillus N=98	p
Caractéristiques des patients			
Sexe masculin	5 (62,5%)	62 (69,7%)	0,49
BPCO stade III	5 (62,5%)	42 (47,2%)	0,59
Présence de comorbidités			
- DDB	4 (50%)	14 (15,7%)	0,02
- Asthme	1 (12,5%)	5 (5,6%)	0,48
Colonisation connue	1(12,5%)	6 (6,7%)	0,48
Caractéristiques ECBC			
ECBC de bonne qualité	4 (50%)	45 (54,2%)	0,55
Présence d'un autre champignon	17 ((87,5%)	37 (42%)	0,016
Présence de bactérie à l'ECBC	4 (50%)	30 (34,1%)	0,29
Qualité de vie et son évolution			
Stade mMRC J1	2,9 ± 0,8	2,4 ± 0,9	0,19
Stade mMRC M1	3,1 ± 0,7	2,4 ± 0,9	0,04
Stade mMRC M3	3,17±0,85	2,5± 0,8	0,08
CAT J1	24,4 ± 12,1	19,7 ± 8,6	0,16
CAT M1	27,7 ± 8,8	18,4 ± 8,3	0,007
CAT M3	26,7 ± 10,8	19,7 ± 8,7	0,08
Evolution des exacerbations			
Présence exacerbations J1-M1 (données sur 82 patients)	3 (37,5%)	21 (33,8%)	0,04
Présence exacerbations M1-M3 (données sur 63 patients)	2 (25%)	16 (18%)	NC

Tableau 3 : Tableau comparatif des patients avec présence ou absence d'Aspergillus

NC : non calculable, effectifs trop faibles

Les patients porteurs d'Aspergillus étaient comparables au reste de la population en termes de stade de BPCO ou de sex ratio. Toutefois, une plus grande proportion d'entre eux était porteur de bronchectasies. Ces patients avaient souvent des prélèvements positifs en plus d'Aspergillus à Candida.

Les patients porteurs d'Aspergillus semblaient plus symptomatiques à M1 que les autres, notamment sur le score CAT ou le nombre d'exacerbations. Ces données ne sont pas démontrées à M3, même si une tendance est en faveur d'un score CAT et d'un stade mMRC plus élevés dans le groupe Aspergillus. Cela est probablement dû à un manque de puissance (effectifs trop faibles). L'absence de données à M6 et le manque de données à M3 ne permettaient pas la réalisation de l'étude d'association entre isolement d'Aspergillus et dyspnée, qualité de vie ou survenue d'exacerbations.

A noter l'absence de différence en termes d'éosinophilie sanguine entre les deux groupes (427,8 dans le groupe Aspergillus versus 475 dans le reste de la population).

4. Discussion

4.1 Rappel des principaux résultats

Cent cinq patients ont été inclus, seuls 97 patients ont pu réaliser leur examen de crachat. Sur les 97 échantillons, 8 ont retrouvé de l'Aspergillus ; 7 seulement à la culture et 1 au direct et à la culture.

Ces 8 patients représentaient 7,6% de la population. En excluant les 8 patients n'ayant pas encore expectoré, la prévalence de l'Aspergillus était de 8,2%.

Ces patients ne se différençaient des autres qu'en terme de prévalence de broncheectasies. Et probablement, du fait de cette comorbidité, d'autres champignons étaient souvent isolés, en particulier le Candida. Ces patients semblaient dans le suivi plus symptomatiques (score CAT, nombre d'exacerbations), mais les données encore incomplètes de suivi (notamment M3 et M6) n'ont pas permis de réaliser les analyses pour chercher une éventuelle association entre présence d'aspergillus, aggravation de la dyspnée ou de la qualité de vie ou présence d'exacerbations plus fréquentes.

4.2 Critique de l'étude

4.2.1 Critique de la réalisation de l'examen du crachat

Le nombre de sujet nécessaire évalué était de 100 sujets compte tenu d'une grande incertitude. Pour limiter le risque d'absence de suivi 106 patients ont été inclus. Néanmoins, faute de données disponibles dans la littérature, il n'y a pas eu de calcul de sujets nécessaires précis et des études complémentaires, pour confirmer ces chiffres sont nécessaires, d'autant plus que seuls 97 patients ont pu réaliser l'examen de crachat, et que près de la moitié des échantillons ne possédaient pas les critères de qualité de Bartlett. Pour une partie de la population, fournir une expectoration était facile, compte tenu d'une bronchorrhée importante. Par contre, pour certains, les seuls symptômes quotidiens sont une toux sèche et une dyspnée sans possibilité d'expectorer, et cela malgré le recours à l'aérosolthérapie ou à la kinésithérapie respiratoire. Ainsi le risque d'obtenir des échantillons de mauvaise qualité est plus important dans le groupe phénotype BPCO avec toux sèche, avec potentiellement une récupération de crachats salivaires.

Ensuite, l'inclusion dans quatre centres des patients a eu pour effet le recours à un grand nombre de laboratoires (les laboratoires des 4 centres ainsi que des laboratoires de ville). Or chaque laboratoire a sa propre méthode d'analyse des expectorations. En effet, certains laboratoires refusaient les prélèvements de plus de 4h alors que d'autres laissaient un délai de 12h, de même certains laboratoires ont accepté tous les prélèvements alors que d'autres ne prenaient que les prélèvements fait le matin à jeun. Pour l'analyse des crachats, les méthodes différaient également ; certains laboratoires qui ne trouvaient ni levure ni filament mycélien ou encore un prélèvement de mauvaise qualité ne faisaient aucune culture mycologique ou bactériologique sans prévenir le médecin prescripteur alors qu'une recherche spécifique aspergillaire était notifiée. En cas de contamination oro-pharyngée (échantillon de mauvaise qualité), certains laboratoires renvoyaient un pot de prélèvement alors que d'autres ne cherchaient pas à renouveler l'examen. Ainsi de nombreux examens de crachats sont de mauvaise qualité et sans culture mycologique. Il est donc possible d'avoir sous-estimer le nombre de patients avec présence d'*Aspergillus* dans les crachats.

Quelques erreurs techniques ont également été relevées comme la perte de l'échantillon ou des prélèvements jetés à tort car pas assez de matériel pour faire la recherche bactérienne, la recherche mycologique et la recherche de BAAR. Il existait également une différence entre les centres quant aux modalités de réalisation de l'examen. Certains centres faisaient réaliser l'examen sur place en présence de l'infirmière alors que d'autres fournissaient une ordonnance pour la réalisation en externe avec une obligation pour le patient de se déplacer au laboratoire récupérer le pot de prélèvement et le redéposer ce qui était techniquement difficile pour certains patients oxygène-requérant pouvant expliquer l'absence de réalisation du prélèvement.

Il y a donc probablement un effet centre déterminant sur la qualité et la quantité d'examens réalisés.

4.2.2 Critique de la qualité de l'examen des crachats

Il faut prendre en compte dans ces résultats la qualité de l'examen des crachats. En Effet, seul 49 échantillons (46,7%) étaient de bonne qualité alors que 42 échantillons (40%) étaient de mauvaise qualité selon les critères de Bartlett, c'est-à-dire une probable contamination par la flore oropharyngée avec plus de 10 cellules pharyngées par champ et moins de 25 leucocytes par champ. Chez le patient BPCO, la présence de neutrophile est le critère le plus important pour déterminer le caractère pathologique des sécrétions pulmonaires comme le démontre l'étude de Perdesen et al [35] où des échantillons de crachats induits de 23 patients atteints de MPOC et de 10 témoins sains ont été prélevés et où a été retrouvé la présence de pièges extracellulaires neutrophilique dans les sécrétions des BPCO pour juger de la valeur microbiopathologique. Or dans cette étude, à peine plus de la moitié des prélèvements étaient considérés comme correcte (51,0%). Il est probable que la culture mycologique et bactérienne ait été mal évaluée. Six des 8 patients ayant présenté de l'*Aspergillus* (75%) avaient un échantillon de bonne qualité.

Si nous reportons le nombre d'*Aspergillus* retrouvé en fonction du nombre d'échantillons de bonne qualité alors la prévalence passe de 8,2% à 12,2%.

4.2.3 Critique de l'évaluation de la dyspnée selon le score mMRC et CAT

Tous les patients ont répondu au score CAT et mMRC le jour de leur inclusion mais cette évaluation reste subjective et patient dépendant. C'est pourquoi, compte tenu de la subjectivité des possibles réponses et du caractère complémentaires de chacun de ces scores, une association de deux scores a été utilisée.

Par la suite, l'évaluation des scores CAT et mMRC à 1 et 3 mois se sont fait par appel téléphonique par un même opérateur. Néanmoins, certains patients en incapacité de répondre (absent, couché), c'est alors un proche qui répondait aux 2 questionnaires. Cela a été le cas pour 7 patients. De même 2 patients n'ont pas été joignables par téléphone et ceux malgré de nombreux appels. Le suivi n'a pas encore été fait à M6 pour la plupart des patients (les premières inclusions datant du mois de mars 2018)

Néanmoins, malgré ces limites, cette étude a l'intérêt à la fois d'évaluer à un temps t la présence ou non d'aspergillus dans les expectorations de patients BPCO hors d'une exacerbation aigüe et de suivre ces patients durant 6 mois en focalisant le potentiel impact d'Aspergillus sur la qualité de vie des patients BPCO.

4.2.4 Critères d'inclusion et d'exclusion

Les patients répondaient à tous les critères d'inclusion, seul un patient a été exclu secondairement car il avait des EFR datant de plus de 1an, il n'a pas a été compté au sein de la population des 105 patients analysés. Les 8 patients en attente d'examen de crachat n'ont pas été exclus car soit l'examen avait été réalisé mais en attente de la culture, soit le patient n'arrivait pas à expectorer à ce moment-là et donc l'examen était en attente. Tous les patients avaient signé leur consentement.

4.3 BPCO facteur de risque de colonisation

4.3.1 Colonisation aspergillaire

L'étude de Barberan et al [32] avait identifié 118 patients avec des prélèvements respiratoires positifs à Aspergillus dont 70 colonisés (59,3%) et 48 avec une atteinte invasive (40,7%) essentiellement chez les patients BPCO stade III et IV (77,1% avec $p=0,025$). Dans cette étude, la mortalité était plus élevée chez les BPCO avec atteinte invasive que chez les patients colonisés sauf pour les stade IV du GOLD ou les résultats n'étaient pas significatif. De même, les BPCO stade I et II colonisés à Aspergillus avaient d'autres comorbidités pouvant favoriser cette présence mycologique contrairement aux stade III et IV, ce qui peut faire supposer que la BPCO stade III et IV pourrait être à elle seule un facteur de risque de colonisation aspergillaire.

De la même manière, une autre étude de Barberan et al [33] ayant recherché les facteurs favorisant l'évolution de la colonisation aspergillaire à l'aspergillose invasive, retrouvait la BPCO comme facteur de risque, en particulier les patients classés GOLD IV.

Les comorbidités associées à la BPCO pourraient aussi favoriser la colonisation aspergillaire. L'étude de Everaerts S et al [34] a recherché la sensibilisation à *Aspergillus fumigatus* chez les BPCO tout stade confondu grâce au sérodiagnostic. Il en ressort que les BPCO avec des bronchectasies sont plus fréquemment colonisés à *Aspergillus* que les BPCO sans bronchectasie. Notre étude confirme celle de Everaerts S et al avec 50% des patients présentant de l'*Aspergillus* étaient porteurs de dilatation des bronches avec des résultats significatifs ($p=0,02$).

La recherche d'aspergillose broncho pulmonaire allergique est maintenant bien codifiée chez les patients asthmatiques. Cependant notre étude n'a pas montré de significativité quant à l'association ACOS et le risque d'être colonisé à *Aspergillus*. Toutefois, compte tenu de données insuffisantes, il est impossible de conclure.

4.3.2 Colonisation bactérienne

La présence d'*Aspergillus* était fréquemment associée à la présence de germes comme *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* ou Entérobactéries. Compte tenu de données insuffisantes il est difficile de conclure si c'est la présence d'*Aspergillus* ou si c'est les dilatations des bronches, principale comorbidité associée qui explique ce résultat. Dix-huit patients BPCO stade III et 16 de stade IV ont eu une culture bactérienne positive soit 35% de la population de l'étude avec 13 *Haemophilus influenzae* ou *Branhamella catarrhalis* (12,4%), 6 à Entérobactéries (5,7%), 5 à *Pseudomonas aeruginosa* (4,8%), 2 à *Staphylococcus aureus* (1,9%), 1 à *Streptococcus pneumoniae* (1%) et 3 à d'autres germes (2,9%). Ces résultats sont en faveur de ce qu'avait démontré l'étude de Sethi et al [17] sur les BPCO qui présentaient au cours de l'évolution de leur pathologie une colonisation bactérienne principalement à *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* puis à Entérobactérie et enfin à *Pseudomonas aeruginosa*.

4.3.3 Colonisation bactérienne et fongique, une association discutée

L'étude de Mowat et al [36] a montré que la colonisation à *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients présentant une pathologie respiratoire chronique diminuait la colonisation aspergillaire. A l'inverse, l'étude de Bakare N et al [37] n'a montré aucune différence significative entre la colonisation aspergillaire et la présence de *Pseudomonas aeruginosa*.

Quatre patients sur 8 présentaient à la culture un germe bactérien associé à l'*Aspergillus* avec une prédominance pour les *Pseudomonas aeruginosa* cependant les résultats n'étaient pas significatifs ($p=0,29$). De plus, il n'y avait pas de relation significative entre la présence d'une colonisation antérieure bactérienne et celle d'*Aspergillus*, un seul patient sur 8 était connu colonisé contre 6 patients sur 98 chez les patients sans aspergillus. ($p=0,48$).

4.4 Critère de jugement principal : prévalence de l'Aspergillus chez les BPCO

Bafhadel et al [21] a démontré dans son étude que pas moins de 13% d'Aspergillus avait été retrouvé chez les patients BPCO en état stable ou en exacerbation, tout prélèvement confondu. Huerta et al [29] a mené une étude sur la recherche d'Aspergillus sur 240 patients BPCO en exacerbation. Parmi eux, 16,6% des patients ont eu un prélèvement respiratoire positif à Aspergillus pendant l'épisode aigu et 14,1 % des patients présentaient encore de l'Aspergillus à 1 an lors d'un examen de contrôle. Pashley et al [30], a démontré quant à lui que 29% des patients BPCO étaient colonisés à Aspergillus. Notre étude a mis en évidence seulement 8 patients présentant de l'Aspergillus soit 7,6% de la population BPCO. En excluant les 8 patients n'ayant pas expectoré, la prévalence de l'Aspergillus était de 8,2%. Il faut ensuite prendre en compte le fait qu'à peine plus de la moitié des échantillons étaient de bonne qualité (51%). Il est donc tout à fait possible que cette prévalence dans notre population ait été sous-estimée.

Une uniformisation de la méthode de recueil des expectorations et une réalisation optimale pour obtenir des prélèvements de meilleure qualité semble indispensable. Un échantillon de patient plus grand est également indispensable pour conclure de manière certaine.

Une particularité de l'étude était la recherche d'Aspergillus chez les patients stables vus en consultation habituelle. La plupart des études concernant la recherche aspergillaire et les BPCO portent chez des patients en exacerbations, hospitalisés en service conventionnel ou en réanimation. La prévalence de l'Aspergillus était plus élevée chez les patients en exacerbation comme le montrait ces mêmes études de Bafhadel et al, Patout et al, ainsi que Huerta et al [20], [21], [22]. Cette recherche mycologique chez des patients stables pourrait permettre de dépister les patients BPCO à risque de décompensation avec apparition secondaire d'une maladie aspergillaire.

4.5 Critères de jugement secondaires

Tous les patients avaient évalué leur dyspnée à l'aide de l'échelle mMRC et du score CAT à J1. Sans surprise à J1, les BPCO stade IV avaient une dyspnée plus élevée que les BPCO stade III avec une moyenne de $2,82 \pm 0,8$ pour l'échelle mMRC ($p < 0,001$) et $23,4 \pm 7,6$ ($p < 0,001$) pour le score CAT.

Les patients porteurs d'Aspergillus semblaient plus symptomatiques à M1 que les autres, notamment sur le score CAT ou le nombre d'exacerbation. Ces données ne sont pas démontrées à M3 compte tenu probablement d'un manque de puissance (effectifs trop faibles). Aucune association n'a pu être réalisée compte tenu de données incomplètes pour M3 et la quasi absence pour M6. Le suivi des patients est toujours en cours. L'étude de Ninot G et al a montré l'importance de la qualité de vie des BPCO et le contrôle de leurs symptômes avec un risque accru d'anxiété et de dépression [38].

Chaque élément pouvant être intercurrent sur l'évolution et l'acceptation de leur pathologie respiratoire sous-jacente doit être pris en compte. L'impact de *l'Aspergillus* au sein des BPCO est encore incertain mais étant une colonisation fongique, le retentissement au niveau du patient peut être retardé et chronique d'où la nécessité d'un suivi dans le temps des patients porteurs d'*Aspergillus* afin d'en évaluer l'impact sur leur pathologie respiratoire.

Un autre aspect intéressant de l'étude était le suivi à 6 mois de l'ensemble des patients pour évaluer la qualité de vie selon plusieurs scores et selon le nombre d'exacerbation. L'évaluation de cette qualité de vie peut-être déterminant pour décider d'une prise en charge spécifique des patients présentant de *l'Aspergillus*. Ainsi si il s'avérait que ces patients avaient une franche altération de leur qualité de vie alors même si il s'agissait d'une simple colonisation alors l'impact de *l'Aspergillus* pourrait être démontré et des investigations complémentaires réalisées afin de retourner à une qualité de vie acceptable. En effet, nous savons comme l'a démontré les études de Bay et al [16] et celle de Santos et al [11], l'infection chronique est responsable d'exacerbation à répétition, elles même responsable de chronicisation des infections nécessitant le recours fréquemment à une antibiothérapie afin de diminuer le taux du germe imputable et donc l'inflammation.

4.6 Quel impact de la recherche Aspergillaire pour les BPCO ?

Le rôle de *d'Aspergillus fumigatus* chez les patients asthmatiques est bien connu et sa recherche à l'aide du sérodiagnostic ou du prélèvement respiratoire est bien codifiée. Dans l'étude d'Ashok Shah et al, la prévalence de *l'Aspergillus* était de 6% environ chez les patients asthmatiques dans les pays Occidentaux [39]. Chez les patients ayant une mucoviscidose, une des nombreuses études comme celle d'Amine R et al, évoquait le rôle de la colonisation à *Aspergillus* chez ces patients et l'impact sur la récurrence des hospitalisations [40].

De nombreuses études se sont portées sur l'impact des dilatations des bronches sur la BPCO avec un retentissement notamment sur la qualité de vie. Comme l'a démontré l'étude de Whitters et al, les broncheectasies sont sources d'infections à répétitions, initialement bactérienne puis fongique avec une évolution vers une sur-inflammation chronique liée aux infections à répétition et cette inflammation est responsable du développement des broncheectasies [41]. Le bilan de dilatations des bronches codifié par Barker A et al préconise bien la réalisation d'une recherche mycologique [37]. Cette recherche mycologique est faite initialement dans le cadre du bilan de dilatations des bronches mais également au cours du suivi des patients BPCO avec des broncheectasies notamment. Malheureusement, en pratique, la recherche d'*aspergillus* n'est réalisée que lors d'une décompensation respiratoire aigüe et jamais dans le cadre du suivi du patient. Le nombre de BPCO ne cesse d'augmenter et comme le prévoit l'OMS, cette pathologie sera la 3^{ème} cause de mortalité d'ici 2030. Connaissant l'impact d'*Aspergillus* chez des patients ayant des dilatations des bronches au sein de la population des patients asthmatiques et des patients ayant une mucoviscidose, il serait intéressant de faire une recherche mycologique chez les patients BPCO au moment du diagnostic de la maladie notamment pour les formes les plus sévères afin d'éliminer une colonisation aspergillaire et d'assurer une recherche régulière chez tous les BPCO présentant des dilatations des bronches pour rechercher un tournant au sein de cette maladie.

Les patients BPCO avec aspergillus dans leurs expectorations semblent plus symptomatiques tout au moins en termes de score CAT et de nombre d'exacerbations, devraient tout au moins bénéficier d'une recherche mycologique comme d'une recherche de mycobactérie atypique avant par exemple toute mise sous macrolides (voir sous corticothérapie inhalée) !

Les résultats définitifs de cette étude permettront peut être de confirmer cette tendance à une association entre aspergillus et exacerbations et/ou majoration des symptômes. Néanmoins, la question sous jacente, à laquelle cette étude ne peut répondre est celle de la prise en charge spécifique des patients BPCO avec prélèvements positifs à Aspergillus. Quel bilan complémentaire ? Quel traitement? Quelles formes spécifiques au BPCO ?

5. Conclusion

L'aspergillus représente un enjeu d'actualité pour les patients BPCO même si son implication reste incertaine dans l'évolution de leur pathologie. De nombreuses études ont montré des prévalences différentes chez ces patients à état stable ou en exacerbation et ce quel que soit le type de prélèvement.

Notre étude a retrouvé une prévalence de 8,2% d'Aspergillus chez une population de BPCO stade III et IV, sur des prélèvements respiratoires réalisés lors d'une consultation de suivi classique. Les patients porteurs d'Aspergillus semblaient plus symptomatiques à M1 que les autres, notamment sur le score CAT ou le nombre d'exacerbations. Ces données doivent être confirmées sur les données M3 et M6. L'association de bronchectasies à la BPCO pourrait peut-être favoriser la "colonisation" à aspergillus. Une fois terminée cette étude, plusieurs questions resteront en suspens : le rôle de cet aspergillus, la nécessité ou non d'un traitement et le type de "maladie" aspergillaire potentielle. Tout cela pourra donner des arguments supplémentaires pour une recherche systématique d'aspergillus chez tous les patients BPCO stade III stade IV ou à un sous-groupe plus spécifique à déterminer de cette population.

1. Haute Autorité de Santé - Bronchopneumopathie chronique obstructive
2. OMS | La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)
3. Salvi S. Tobacco smoking and environmental risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest Med.* mars 2014;35(1):17-27.
4. Hagstad S, Backman H, Bjerg A, Ekerljung L, Ye X, Hedman L, et al. Prevalence and risk factors of COPD among never-smokers in two areas of Sweden - Occupational exposure to gas, dust or fumes is an important risk factor. *Respir Med.* nov 2015;109(11):1439-45.
5. Marchand É, Maury G. Évaluation du COPD Assessment Test (CAT) chez des patients BPCO en état stable. *Revue des Maladies Respiratoires.* mars 2012;29(3):391-7.
6. Ninot G, Soyeux F, Fiocco S, Nassih K, Morin AJS, Prefaut C. Le VQ11, un questionnaire de qualité de vie spécifique à la BPCO utilisable en clinique. *Revue des Maladies Respiratoires.* mai 2010;27(5):472-81.
7. Bouchet C, Guillemin F, Thi THH, Cornette A. Validation du questionnaire St Georges pour mesurer la qualité de vie chez les insuffisants respiratoires chroniques. :6.
8. Arikan H, Savci S, Calik-Kutukcu E, Vardar-Yagli N, Saglam M, Inal-Ince D, et al. The relationship between cough-specific quality of life and abdominal muscle endurance, fatigue, and depression in patients with COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2015;10:1829-35.
9. Steurer-Stey C, Markun S, Lana KD, Frei A, Held U, Wensing M, et al. The improving care in chronic obstructive lung disease study: CAROL improving processes of care and quality of life of COPD patients in primary care: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 27 mars 2014;15:96.
10. Blakemore A, Dickens C, Guthrie E, Bower P, Kontopantelis E, Afzal C, et al. Depression and anxiety predict health-related quality of life in chronic obstructive pulmonary disease: systematic review and meta-analysis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2014;9:501-12.
11. Aydemir Y, Aydemir Ö, Kalem F. Relationship between the GOLD combined COPD assessment staging system and bacterial isolation. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2014;9:1045-51.
12. Soriano JB, Lamprecht B, Ramírez AS, Martínez-Camblor P, Kaiser B, Alfageme I, et al. Mortality prediction in chronic obstructive pulmonary disease comparing the GOLD 2007 and 2011 staging systems: a pooled analysis of individual patient data. *Lancet Respir Med.* juin 2015;3(6):443-50.
13. Santos S, Marin A, Serra-Batllés J, de la Rosa D, Solanes I, Pomares X, et al. Treatment of patients with COPD and recurrent exacerbations: the role of infection and inflammation. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 11 mars 2016;11:515-25.

14. Antus B, Barta I. Relationship between exhaled nitric oxide and the frequency of severe acute exacerbation of COPD: 3-year follow-up. *Acta Physiol Hung.* déc 2013;100(4):469-77.
15. Gatheral T, Kumar N, Sansom B, Lai D, Nair A, Vlahos I, et al. COPD-related bronchiectasis; independent impact on disease course and outcomes. *COPD.* déc 2014;11(6):605-14
16. Bai J-W, Mao B, Yang W-L, Liang S, Lu H-W, Xu J-F. Asthma-COPD overlap syndrome showed more exacerbations however lower mortality than COPD. *QJM.* 1 juill 2017;110(7):431-6.
17. Sethi S, Evans N, Grant BJB, Murphy TF. New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 15 août 2002;347(7):465-71.
18. Clark TW, Medina M, Batham S, Curran MD, Parmar S, Nicholson KG. Adults hospitalised with acute respiratory illness rarely have detectable bacteria in the absence of COPD or pneumonia; viral infection predominates in a large prospective UK sample. *J Infect.* nov 2014;69(5):507-15.
19. Welte T, Miravittles M. Viral, bacterial or both? Regardless, we need to treat infection in COPD. *Eur Respir J.* juill 2014;44(1):11-3.
20. Patout M, Lhuillier E, Benattia A, Favennec L, Thiberville L, Muir J-F, et al. Clinical Significance of Isolation of *Aspergillus* spp. During Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Lung Disease. In: C47 COPD: EXACERBATIONS [Internet]. American Thoracic Society; 2016 [cité 10 sept 2018]. p. A5183-A5183. (American Thoracic Society International Conference Abstracts).
21. Bafadhel M, Mckenna S, Agbetile J, Fairs A, Desai D, Mistry V, et al. *Aspergillus fumigatus* during stable state and exacerbations of COPD. *European Respiratory Journal.* 1 janv 2013;erj01629-2012.
22. Peterson SW. Identification of Common *Aspergillus* species by M. A. Klich (2002). Pp. 116. ISBN 90-70-351-46-3. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.. *Mycologist.* août 2003;17(3):128-128.
23. Gams W., Christensen M., Onions A.H. Infrageneric taxa of *Aspergillus*. In: Samson R.A., Pitt J.I., editors. *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics.* Plenum Press; New York: 1985. pp. 55-62.
24. Raper, K.B.; Fennell, D.I. 1965. The Genus *Aspergillus*. :1-686
25. Samson RA, Gams W. Typification of the Species of *Aspergillus* and Associated Teleomorphs. In: Samson RA, Pitt JI, éditeurs. *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics.* Boston, MA: Springer US; 1986
26. Grunderbeeck NV, Conseil V, Leroy S, Wallaert B, Delhaes L. Le risque fongique dans la mucoviscidose: étude pilote. *Annales de biologie clinique.* mars 2010;(2):157-162.

27. Agarwal K, Gaur SN, Chowdhary A. The role of fungal sensitisation in clinical presentation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Mycoses*. sept 2015;58(9):531-5.
28. Everaerts S, Lagrou K, Dubbeldam A, Lorent N, Vermeersch K, Van Hoeyveld E, et al. Sensitization to *Aspergillus fumigatus* as a risk factor for bronchiectasis in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017;12:2629-38.
29. Huerta A, Soler N, Esperatti M, Guerrero M, Menendez R, Gimeno A, et al. Importance of *Aspergillus* spp. isolation in Acute exacerbations of severe COPD: prevalence, factors and follow-up: the FUNGI-COPD study. *Respir Res*. 2014;15(1):17.
30. Pashley CH, Fairs A, Morley JP, Taylor S, Agbetile J, Bafadhel M, et al. Routine processing procedures for isolating filamentous fungi from respiratory sputum samples may underestimate fungal prevalence. *Med Mycol*. mai 2012;50(4):433-8.
31. He H, Jiang S, Zhang L, Sun B, Li F, Zhan Q, et al. *Aspergillus tracheobronchitis* in critically ill patients with chronic obstructive pulmonary diseases. *Mycoses*. 1 août 2014;57(8):473-82.
32. Barberan J, Sanz F, Hernandez J-L, Merlos S, Malmierca E, Garcia-Perez F-J, et al. Clinical features of invasive pulmonary aspergillosis vs. colonization in COPD patients distributed by gold stage. *J Infect*. nov 2012;65(5):447-52.
33. Barberán J, García-Pérez F-J, Villena V, Fernández-Villar A, Malmierca E, Salas C, et al. Development of Aspergillosis in a cohort of non-neutropenic, non-transplant patients colonised by *Aspergillus* spp. *BMC Infect Dis* [Internet]. 6 janv 2017
34. Everaerts S, Lagrou K, Vermeersch K, Dupont LJ, Vanaudenaerde BM, Janssens W. *Aspergillus fumigatus* Detection and Risk Factors in Patients with COPD-Bronchiectasis Overlap. *Int J Mol Sci*. 9 févr 2018;19(2).
35. Pedersen F, Marwitz S, Holz O, Kirsten A, Bahmer T, Waschki B, et al. Neutrophil extracellular trap formation and extracellular DNA in sputum of stable COPD patients. *Respir Med*. oct 2015;109(10):1360-2. Huang YJ, Boushey HA. The Sputum Microbiome in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbations. *Ann Am Thorac Soc*. nov 2015;12 Suppl 2:S176-180.
36. Mowat E, Rajendran R, Williams C, McCulloch E, Jones B, Lang S, et al. *Pseudomonas aeruginosa* and their small diffusible extracellular molecules inhibit *Aspergillus fumigatus* biofilm formation. *FEMS Microbiol Lett*. déc 2010;313(2):96-102.
37. Bakare N, Rickerts V, Bargon J, Just-Nübling G. Prevalence of *Aspergillus fumigatus* and other fungal species in the sputum of adult patients with cystic fibrosis. *Mycoses*. févr 2003;46(1-2):19-23.

38. Ninot G. L'anxiété et la dépression associées à la BPCO : une revue de question. *Revue des Maladies Respiratoires*. juin 2011;28(6):739-48.
39. Shah A, Panjabi C. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis: A Perplexing Clinical Entity. *Allergy Asthma Immunol Res*. juill 2016;8(4):282-97.
40. Amin R, Dupuis A, Aaron SD, Ratjen F. The effect of chronic infection with *Aspergillus fumigatus* on lung function and hospitalization in patients with cystic fibrosis. *Chest*. janv 2010;137(1):171-6.
41. Whitters D, Stockley R. Immunity and bacterial colonisation in bronchiectasis. *Thorax*. nov 2012;67(11):1006-13.

ANNEXES

Annexe 1 : Avis favorable CPP

COMITE de PROTECTION des PERSONNES

CPP OUEST 11 - ANGERS

Monsieur
Direction
CHU
80054

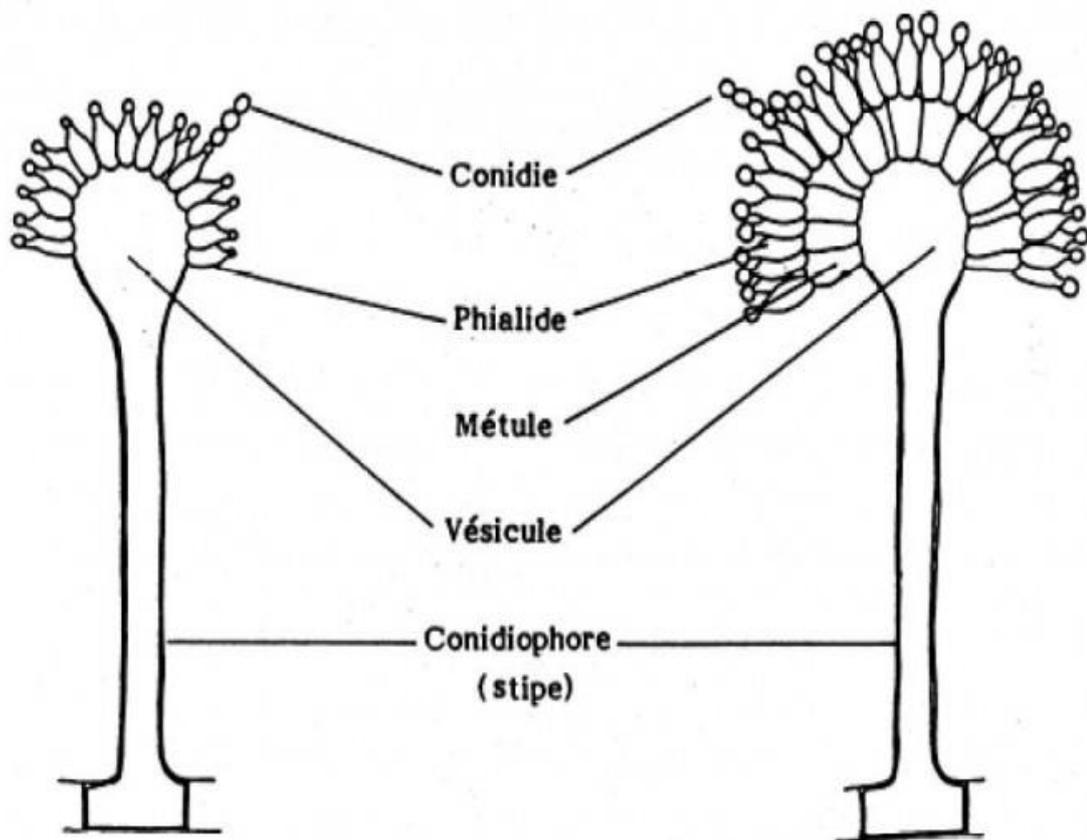


Arnaud Collin
de la Recherche
Amiens Picardie
Amiens Cedex I

Projet d'étude n°2018/05

Angers, le 8 février 2018

Annexe 2 : Schéma de l'Aspergillus



Annexe 3 : Echelle mMRC

Grade de dyspnée	Description
0	Pas de dyspnée sauf en cas d'exercices soutenus
1	Dyspnée lors de la marche rapide sur terrain plat ou en montant une pente douce
2	Dyspnée à la marche sur terrain plat en suivant quelqu'un de son âge ou nécessité de s'arrêter en raison de dyspnée en marchant à son rythme en terrain plat
3	Dyspnée obligeant de s'arrêter pour reprendre son souffle après avoir marché une centaine de mètres ou après quelques minutes en terrain plat
4	Dyspnée empêchant de quitter la maison ou présente à l'habillage et au déshabillage

Annexe 5 : Echelle d'Evaluation QVLS

Les phrases suivantes expriment des sentiments sur les conséquences d'une maladie respiratoire. Pour chacune, cochez l'intensité qui vous correspond le mieux maintenant. Aucune réponse n'est juste, elle est avant tout personnelle.

	Pas du tout	Un peu	Moyennement	Beaucoup	Extrêmement
1. Je souffre de mon essoufflement	<input type="checkbox"/>				
2. Je me fais du souci pour mon état respiratoire	<input type="radio"/>				
3. Je me sens incompris(e) par mon entourage	<input type="triangle-up"/>				
4. Mon état respiratoire m'empêche de me déplacer comme je le voudrais	<input type="checkbox"/>				
5. Je suis somnolent(e) dans la journée	<input type="radio"/>				
6. Je me sens incapable de réaliser mes projets	<input type="triangle-up"/>				
7. Je me fatigue rapidement dans les activités de la vie quotidienne	<input type="checkbox"/>				
8. Physiquement, je suis insatisfait(e) de ce que je peux faire	<input type="radio"/>				
9. Ma maladie respiratoire perturbe ma vie sociale	<input type="triangle-up"/>				
10. Je me sens triste	<input type="radio"/>				
11. Mon état respiratoire limite ma vie affective	<input type="triangle-up"/>				

S'il vous plaît, vérifiez d'avoir répondu à toutes les questions. En vous remerciant.

_____ / 15
 _____ / 20
 _____ / 20
 Total _____ / 55

VQ11, questionnaire court mesurant la qualité de vie liée à la santé spécifique à la BPCO.

Annexe 6 : Score GOLD

Stade I : léger	VEMS/CVF < 0.70 VEMS* \geq 80% du prédit
Stade II : modéré	VEMS/CVF < 0.70 50% \leq VEMS* < 80% du prédit
Stade III : sévère	VEMS/CVF < 0.70 30% \leq VEMS* < 50% du prédit
Stade IV : très sévère	VEMS/CVF < 0.70 VEMS* < 30% du prédit ou VEMS* < 50% + insuffisance respiratoire chronique**

* VEMS mesuré après l'administration de bronchodilatateurs.

** PO₂ (pression partielle d'O₂) < 60 mmHg.

Annexe 7 : Critères de Bartlett

Classe	Cellules épithéliales / champ (X100)	Leucocytes / champ (X100)	Interprétation
1	>25	<10	Non ensemencé (contamination salivaire)
2	>25	10-25	Non ensemencé (contamination salivaire)
3	>25	>25	Significatif
4	10-25	>25	Significatif
5	<10	>25	Significatif