



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

Insuffisance Respiratoire Aiguë chez le patient immunodéprimé : Quelle approche diagnostique ?

L. Camous, V. Lemiale, D. Schnell, S. de Miranda, E. Azoulay

Introduction

Les praticiens de la plupart des spécialités prennent en charge un nombre croissant de patients atteints de tumeurs solides ou hématologiques. En effet, les stratégies de dépistage à un stade précoce des tumeurs, l'amélioration des traitements disponibles, l'intensification et l'allongement de la durée des traitements ont permis une augmentation de la survie globale des patients dans de nombreuses pathologies tumorales malignes [1]. Par exemple, un schéma de chimiothérapie basé sur des cycles de durée raccourcie et de plus forte intensité a permis d'augmenter le taux de rémission et de guérison dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) de l'adulte [2]. La meilleure compréhension de la physiopathologie du myélome multiple a permis le développement de nouvelles drogues ciblées [3]. Les thérapeutiques ciblées ont démontré leur intérêt dans les lymphomes malins non hodgkinien et les leucémies myéloïdes chroniques (LMC) [4, 5]. Aussi, les facteurs de croissance hématopoïétiques diminuant la durée la durée de neutropénie, ont permis l'utilisation de plus fortes doses de chimiothérapie, et ainsi amélioré le taux de guérison [6]. Toutefois, la toxicité des traitements et les complications infectieuses ont augmenté de façon parallèle avec l'usage croissant de thérapeutiques anticancéreuses plus agressives.

Les complications pulmonaires sont les plus fréquentes chez les patients en cours de chimiothérapie. L'insuffisance respiratoire aiguë (IRA) est la première cause d'admission en réanimation des patients d'oncohématologie (OH) [7-9] et est responsable du décès dans 50 % des cas. Cette mortalité peut atteindre 60 %-70 % en cas de nécessité de mise sous ventilation mécanique et de 80 %-90 % chez les allogreffés de moelle osseuse sous ventilation mécanique [10]. Ces complications sont généralement sévères, avec des infiltrats pulmonaires diffus, entraînant une hypoxémie et des dysfonctions d'organes [11]. L'usage de la ventilation non invasive a permis une augmentation de la survie en diminuant la nécessité

Réanimation Médicale, Hôpital Saint-Louis ;
Université Paris 7, Assistance Publique
des Hôpitaux de Paris, Paris.

Correspondance :
elie.azoulay@sls.ap-hop-paris.fr

d'intubation chez les patients d'OH ayant une atteinte respiratoire isolée et un niveau d'hypoxémie sévère mais pas extrême [12-15].

Les infiltrats pulmonaires des patients d'OH peuvent être secondaires à de nombreuses étiologies (*tableau 1*). Bien que la nécessité d'un traitement précoce, notamment d'une antibiothérapie adaptée, fasse actuellement consensus, le débat sur la meilleure stratégie diagnostique des infiltrats pulmonaires chez les patients d'OH est encore ouvert [16]. L'éventail des stratégies varie du traitement probabiliste sans exploration diagnostique (que nous ne recommandons pas de façon générale) à la biopsie pulmonaire à thorax ouvert

(que nous cherchons perpétuellement à éviter). Toutefois, la réalisation d'explorations diagnostiques est recommandée par la plupart des équipes. La différence fondamentale entre les différentes stratégies repose sur la réalisation ou non d'une fibroscopie bronchique avec lavage broncho-alvéolaire (LBA) (*tableau 2*) [16]. Le débat sur la réalisation du LBA est particulièrement important pour les patients avec une hypoxémie sévère, parmi lesquels la réalisation du LBA entraîne une dégradation clinique dans 10 à 40 % des cas [17-19]. Ce risque doit être comparé à l'absence de diagnostic certain, facteur indépendant prédictif de décès chez les patients d'OH en IRA [10, 20-22].

Tableau I.

Étiologie des infiltrats pulmonaires des patients d'oncohématologie. D'après [16].

Infections

Infections bactériennes

Bactéries pyogènes

- Streptococcus Pneumoniae
- Staphylococcus Aureus
- Haemophilus Influenzae
- Pseudomonas Aeruginosa et autres entérobactéries

Bactéries intracellulaires

- Legionella Pneumophila
- Mycoplasma Pneumoniae et Chlamydia Pneumoniae

Autres bactéries

- Nocardia spp
- Actinomyces Israeli

Pneumocystis Jiroveci

Infections fongiques invasives

Moisissures

- Aspergilloses
- Autres infections fongiques émergentes : trichosporiose, zygomycoses, fusarioses

Candidoses viscérales avec atteinte pulmonaire

Infections fongiques endémiques (histoplasmose, coccidiomycose, blastomycose)

Infections virales (primo-infection ou réactivation)

- Virus respiratoires saisonniers (Influenza, Parainfluenza, rhinovirus, virus respiratoire syncytial)
- Herpesvirus (cytomégalovirus, herpes virus, virus de la varicelle, HHV6)
- Autres (Adenovirus)

Infections à Mycobactéries

Infections à Mycobacterium Tuberculosis et mycobactérioses atypiques

Causes non-infectieuses

Œdème aigu pulmonaire

Syndrome de fuite capillaire

Infiltration spécifique pulmonaire

Toxicité pulmonaire de la chimiothérapie

Hémorragie intra-alvéolaire

TRALI (œdème lésionnel pulmonaire post transfusionnel)

Pneumonie radique

Protéïnose alvéolaire

Domage alvéolaire diffus

Bronchiolite

Pneumonie organisée

Atteinte tumorale secondaire

Tableau II.

Stratégie diagnostique des infiltrats pulmonaires chez le patient d'OH. D'après [16].

Radiographie

Radiographie de Thorax

- Scanner thoracique à haute résolution
- Echographie cardiaque ou pleurale

Crachats induits

- Recherche de bactéries
- Recherche de Bacilles alcool-acido résistants
- Recherche de champignons (Aspergillus)
- Recherche de Pneumocystis Jiroveci (coloration MGG et immunofluorescence)
- PCR Pneumocystis Jiroveci

Hémocultures

- Sur milieu aéro-anaérobies
- Sur milieu spécifique mycobactérie, fongique

Examens sanguins

- Sérologies (Chlamydia Pneumoniae, Mycoplasma Pneumoniae)
- PCR pan herpétique, PCR CMV
- Antigénémie Aspergillaire

Aspiration naso-pharyngée

- Recherche de virus (PCR et immuno-fluorescence)

Examens urinaires

- Bactériologie et cytologie
- Antigénurie légionelle

Bio-marqueurs

- BNP ou NT-proBNP
- Creative protein
- Fibrinogène plasmatique
- Procalcitonine

Dans cette revue, nous discuterons tout d'abord de la DIRECT attitude, qui permet d'optimiser la probabilité de mise en route d'une antibiothérapie adéquate dans les heures suivant l'admission en réanimation (*fig. 1*). Nous ne recommandons pas la DIRECT attitude comme seule stratégie diagnostique, car seule l'identification certaine de l'étiologie des infiltrats pulmonaires augmente la probabilité de survie. Nous décrirons ensuite les deux principales stratégies diagnostiques des infiltrats pulmonaires différant par l'usage ou non du LBA. L'efficacité diagnostique du LBA ayant été évaluée dans une revue récente [16], nous développerons plutôt la stratégie

D le **D**élag depuis le début des symptômes, le diagnostic de la maladie maligne ou la greffe de moelle

I la nature du déficit **I**mmunitaire

R l'aspect **R**adiographique

E l'**E**xpérience de l'équipe

C la présentation **C**linique

T l'aspect **T**omodensitométrique

Fig. 1.
La DIRECT attitude permettant de mettre au point une stratégie anti-infectieuse adaptée et de guider les investigations adéquates. D'après [16].

diagnostique sans LBA. Dans notre expérience, le LBA combiné aux autres explorations non invasives ne permet d'établir un diagnostic de certitude que chez près de 20 % des patients. Si la biopsie pulmonaire est souvent contre-indiquée par l'hypoxémie sévère et les autres défaillances d'organes, elle reste d'une part l'examen de référence, et d'autre part l'outil diagnostique à la fois le plus aimé et le plus redouté.

La DIRECT attitude : un canevas permettant de sélectionner l'antibiothérapie initiale et les premières explorations diagnostiques

Nous avons récemment proposé une stratégie clinique permettant aux cliniciens de privilégier des hypothèses étiologiques dans la procédure diagnostique d'infiltrats pulmonaires chez les patients d'OH avant toute investigation diagnostique (fig. 1) [16]. Cette approche empirique est actuellement en cours de validation prospective.

Le but principal de la DIRECT attitude est de centrer les investigations diagnostiques et la thérapeutique sur les quelques étiologies les plus probables pour chaque patient, plutôt que de considérer le panel complet des causes d'infiltrats pulmonaires chez les patients d'OH. En permettant de cibler les 2 ou 3 diagnostics étiologiques les plus probables pour chaque patient, la DIRECT attitude pourrait aider à la mise en route des thérapeutiques les plus appropriées dans les premières heures suivant l'admission.

– D représente le délai par rapport à 3 événements importants :

- le délai depuis le diagnostic initial du cancer ;
- le délai depuis le début des signes respiratoires ;

- et dans le cas des allogreffés, le délai depuis l'allogreffe. Par exemple, l'infiltration pulmonaire leucémique ou la leucostase survient chez les patients avec une hyperleucocytose blastique importante, généralement lors de la phase inaugurale de la maladie ou lors de la rechute [23]. Une dyspnée subaiguë d'aggravation progressive sur une période de plus de 15 jours est généralement secondaire à une infiltration pulmonaire spécifique ou à une insuffisance cardiaque congestive plutôt qu'à une pneumopathie bactérienne ou une pneumocystose pulmonaire. Chez les allogreffés de moelle osseuse, le risque de pneumopathie à CMV est maximal lors de la phase de GVH (Graft versus host disease), alors que sa survenue au cours des 30 premiers jours post-allogreffe est peu probable [24]. Cette maladie est devenue néanmoins rare depuis l'utilisation large du traitement préemptif de toute PCR positive à CMV.

– I représente le type de déficit immunitaire sous-jacent. Cette information est primordiale pour formuler des hypothèses sur le type de pathogène responsable des infiltrats pulmonaires. Les patients avec un déficit de l'immunité cellulaire (par exemple les leucémies aiguës lymphoblastiques ou les lymphomes) sont à haut risque d'infections fongiques ou virales (par exemple, les infections herpétiques [HSV], de pneumocystose pulmonaire, et de mycoses émergentes). Les patients avec un déficit de la phagocytose (par exemple, la leucémie à tricholeucocytes, la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC), et la LMC) sont à risque d'infections à germes intracellulaires (par exemple *Legionella*, *Mycoplasma*, et *Mycobacterium Tuberculosis*). Les patients ayant une neutropénie ou une altération des fonctions des neutrophiles (par exemple, les neutropénies quantitatives ou qualitatives, les syndromes myélodysplasiques, et la LMC) sont prédisposés aux infections bactériennes ou fongiques. Enfin, l'hypogammaglobulinémie des patients avec une leucémie lymphoïde chronique ou un myélome les prédispose aux infections à germes encapsulés.

Toutefois, tous ces schémas théoriques doivent être réinterprétés à la lumière des nouvelles technologies de caractérisation des déficits immunitaires. De plus, le développement actuel de schémas de chimiothérapie plus intensifs et plus prolongés et de thérapeutiques anti-tumorales ciblées (comme les anticorps anti CD20 ou antiCD52) va probablement changer les schémas classiques d'immunodépression des patients d'OH ce qui suggère que de nouvelles études épidémiologiques qualitatives sont nécessaires

– R se réfère à la sémiologie radiologique du cliché thoracique.

– E représente l'expérience clinique du praticien et sa connaissance de la littérature. Par exemple, bien que l'hémorragie intra-alvéolaire puisse être théoriquement à l'origine d'infiltrats pulmonaires chez tous les immunodéprimés, cette complication s'observe essentiellement chez les allogreffés de

moelle osseuse [25, 26]. De façon analogue, l'aspergillose pulmonaire touche généralement les malades neutropéniques au long cours (p.e. les patients leucémiques en induction), ceux sous corticothérapie au long cours [27, 28] essentiellement dans le cadre de l'allogreffe de moelle [29].

– C représente les données de l'examen clinique complet du patient.

– T représente les données sémiologiques de la tomodensitométrie à haute résolution.

Stratégie diagnostique non invasive

Le [tableau 2](#) rapporte les outils utilisés dans la stratégie diagnostique sans LBA. La réalisation de ces examens pourrait être une alternative à la réalisation d'un LBA chez les patients d'OH avec des infiltrats pulmonaires. Nous discuterons les données disponibles pour chacune des techniques dans le cas particulier des patients d'OH. Les données radiologiques (radiographie standard et scanner) seront développées dans une autre section. Nous passerons en revue les examens complémentaires utilisés dans le diagnostic des infiltrats pulmonaires.

Examens complémentaires à visée anti-infectieuse

1) Infections bactériennes

Les pneumonies bactériennes des patients immunodéprimés sont généralement secondaires à des infections à Bacilles à gram négatifs (BGN) ou à *Staphylococcus aureus*. La pression de sélection résultant de l'usage d'antibiothérapies à large spectre explique l'émergence actuelle de souches de BGN multirésistants. Comme nous l'avons discuté dans le chapitre précédent, la rentabilité diagnostique du LBA est souvent faible. De plus, certains germes identifiés peuvent représenter des colonisants de l'arbre trachéobronchique, plutôt que de réels pathogènes. Dans une étude menée dans une population d'allogreffés aucun agent pathogène n'était isolé chez 70 % des malades, et certains des micro-organismes mis en évidence (comme *Candida spp*, *Staphylococcus coagulase-negative*, et *Enterococcus sp*) n'étaient probablement que des contaminants [30].

L'analyse des études cliniques sur le LBA montre les analyses microbiologiques standards, peuvent échouer à documenter la cause d'une pneumonie bactérienne. Dans la population des patients sous antibiothérapie probabiliste à large spectre au moment de la réalisation du LBA, la sensibilité de la coloration de Gram et des cultures est faible, et le temps de culture peut être long. De plus, ces méthodes ne font pas la distinction entre colonisation et infection véritable. Le diagnostic sérologique est lent et la plupart du temps

à la fois peu sensible et peu spécifique. Dans la plupart des cas malgré une démarche diagnostique optimale, il n'y a pas de documentation microbiologique. Les méthodes de diagnostic rapide permettent au praticien de sélectionner la thérapie la plus adaptée. Ces tests sont disponibles pour *Legionella pneumophila* ou *Streptococcus pneumoniae* et sont en cours de développement pour d'autres agents pathogènes. Toutefois, il semble que l'incidence réelle de ces pathogènes chez les patients d'OH ait été surestimée.

Legionella pneumophila

Dans un premier temps, les anticorps dirigés contre *Legionella pneumophila* étaient recherchés par immunofluorescence ou par des tests de micro-agglutination. Depuis, de nombreux tests ELISA (différant par leur technique d'extraction d'antigène) ont été développés. La sensibilité rapportée est variable (41 % à 75 % selon les méthodes) [31, 32]. De faibles taux d'anticorps anti *Legionella spp* ont été détectés chez des volontaires sains, des donneurs de sang ou des patients hospitalisés [33, 34]. La présence de ces anticorps semble témoigner d'une exposition préalable à *Legionella spp*. La détection urinaire de l'antigène est positive 1 à 3 jours après le début de l'infection et reste positive jusqu'à 1 an après dans une petite proportion de patients [35, 36]. L'atout majeur de l'antigénurie est sa spécificité supérieure à 99 % [37]. La sensibilité de détection des infections à *L. pneumophila* varie de 56 à 99 % [38]. Toutefois, on doit noter la faible sensibilité de l'antigénurie pour les autres sérogroupes de *L. pneumophila* que le type 1, les valeurs rapportées allant de 14 % à 69 % [39, 40]. Dans les années à venir, un test PCR de réalisation simple avec une forte sensibilité et une spécificité de 99 % sera disponible en routine [41].

Streptococcus pneumoniae

Le diagnostic des pneumococcies nécessite l'isolement du germe dans un échantillon non contaminé (p.e hémocultures ou liquide pleural). Les hémocultures sont positives dans seulement 25 % des cas et en cas d'antibiothérapie préalable, ce taux est encore plus faible. 70 % à 80 % des pneumopathies à *Streptococcus pneumoniae* ne sont pas septicémiques. La culture des crachats induits oriente seulement vers le diagnostic, car le portage nasopharyngé de *S. pneumoniae* est courant. Les méthodes PCR de détection de *S. pneumoniae* ont montré une faible sensibilité sur les échantillons urinaires ou sanguins et une spécificité insuffisante pour le diagnostic d'infection sur les prélèvements respiratoires. De nombreuses publications ont évalué l'usage de la détection d'un antigène pneumococcique. Les kits commerciaux de détection urinaire du polysaccharide C ont une sensibilité et une spécificité élevée chez l'adulte. Le test de détection urinaire de l'antigène pneumococcique Binax NOW a en effet une sensibilité de 82 % et une spécificité de 97 % en cas

d'hémocultures positives. La réalisation de ce test est facile, détecte le polysaccharide C, antigène de la membrane plasmique commun à toutes les souches de *S. pneumoniae* et le résultat est obtenu en 15 minutes. Le test était encore positif chez 83 % des patients, retestés à J3 de traitement antibiotique et restait positif pendant au moins 7 jours chez la plupart des patients [42]. Les résultats étaient comparables dans les autres études de la littérature [43-45]. Une méthode de PCR nichée, ciblant le germe de la pneumolysine pour détecter l'ADN de *S. pneumoniae* a été évaluée sur divers prélèvements biologiques de 474 patients avec une pneumonie aiguë communautaire et 183 patients-contrôles sans pneumonie. Cette méthode n'apportait que peu d'informations supplémentaires par rapport aux autres méthodes de détection de *S. pneumoniae* et ne permettait pas de différencier colonisation et infection en cas d'utilisation sur les prélèvements respiratoires [43, 45].

Mycoplasma pneumoniae

Le diagnostic d'infections à pathogènes de croissance difficile tels que *Mycoplasma pneumoniae* est basé classiquement sur des sérologies montrant une augmentation du titre d'anticorps. Cette méthode est d'une sensibilité douteuse chez les immunodéprimés, et plus particulièrement chez les patients avec un déficit de l'immunité humorale. Les cultures sont relativement peu sensibles et longues, avec un délai de 3 semaines de culture avant la détection du pathogène [46]. De nombreuses méthodes PCR de détection de *M. pneumoniae* ont été évaluées sur plusieurs types de prélèvements respiratoires et dans diverses populations, avec des résultats prometteurs. La PCR a une sensibilité bien supérieure et l'obtention du résultat est beaucoup plus rapide. De façon générale, la corrélation entre la sérologie et les résultats de la PCR est très bonne [47]. La PCR peut être réalisée sur les prélèvements des voies aériennes supérieures (VAS) ou pulmonaires. Les prélèvements des VAS (écouvillon pharyngé et prélèvements nasopharyngés) sont à privilégier, de par leur facilité d'obtention, et la forte sensibilité du résultat [43]. La PCR sur l'écouvillon pharyngé est probablement le meilleur test de détection de *M. pneumoniae*. Toutefois, des procédures standardisées doivent être mises au point avant la généralisation de l'utilisation de cette méthode [48].

Chlamydia pneumoniae

Les cultures bactériologiques pour la détection de *C. pneumoniae* sont techniquement difficiles, lentes, et leur rendement est généralement faible. Le diagnostic des infections à *C. pneumoniae* repose sur la sérologie, dont la valeur chez l'immunodéprimé est incertaine. De plus, cette méthode nécessite un sérum prélevé à la phase aiguë et à distance de l'infection, ce qui ne permet de poser le diagnostic que de façon rétrospective. Ces limitations techniques importantes

ont entraîné de nombreuses études de PCR à visée diagnostique des infections à *C. pneumoniae*. Malheureusement, les résultats sont décevants. De façon générale, la PCR était aussi sensible que la culture, mais la spécificité exacte était difficile à établir en l'absence d'une méthode de référence [43].

Usage de l'aspiration nasopharyngée pour le diagnostic des pneumonies virales

Dans les années passées, les cultures virales étaient la méthode de référence pour le diagnostic biologique des infections respiratoires virales. Toutefois, les résultats n'étaient obtenus qu'après un délai de 2 à 10 jours. Des méthodes de diagnostic plus rapides telles que la détection d'antigènes viraux ont été développées. Ces techniques sont toutefois considérées comme moins sensibles et moins spécifiques que les cultures virales. De plus, ces techniques de détection d'antigènes ne sont pas réalisables pour tous les virus respiratoires. La sensibilité et la spécificité élevées de la PCR dans la détection des infections respiratoires virales en ont fait la méthode diagnostique de référence [49]. La détection par PCR des virus respiratoires est non seulement plus sensible que la culture virale ou la détection d'antigènes, mais elle permet de raccourcir le délai diagnostique, notamment chez le patient d'OH [50, 51]. La PCR est une méthode fiable de détection pour les virus Parainfluenza 1-3, le virus respiratoire syncytial, le rhinovirus, les virus influenza A and B, les enterovirus, et les coronavirus [52-54]. La PCR sur les écouvillons nasopharyngés donne les mêmes résultats que sur les liquides de LBA [49]. Dans une étude incluant des patients d'hématologie avec des infections respiratoires virales, la PCR sur les écouvillons nasopharyngés permettait dans la plupart des cas d'établir le diagnostic [55]. Dans les années futures, un usage à plus large échelle des PCR multiplex chez les patients d'OH devrait soulever de nouvelles questions sur l'implication clinique réelle des virus isolés dans les aspirations nasopharyngés des patients avec des infiltrats pulmonaires [54].

Après greffe de cellules souches, le Cytomégalovirus (CMV) est souvent responsable d'infections sévères. L'antigénémie CMV est une méthode diagnostique quantitative rapide pour le monitoring des infections à CMV. La réalisation de ce test est fastidieuse, car elle nécessite un comptage manuel du nombre de cellules infectées pour chaque échantillon. De plus, les résultats peuvent être modifiés par des facteurs inhérents tels que la méthode de stockage et les méthodes de fixation. Les techniques de PCR ont été utilisées pour le diagnostic des infections à CMV. La PCR en temps réel donne une mesure quantitative de la charge virale. Toutefois, si le cut-off de l'antigénémie pour initier un traitement a été fixé, le seuil optimal de la charge virale en PCR n'a pas été déterminé [49, 56].

Les greffés de moelle et les patients avec des tumeurs hématologiques ont un déficit profond de l'immunité, ce qui entraîne un risque de pneumonie herpétique. Bien que dans la plupart des cas, on mette en évidence un herpesvirus de type 1, les autres herpes virus tels que, le virus varicelle zona, l'Epstein-Barr virus, HHV-6, and HHV-8 sont aussi à l'origine d'infections pulmonaires dans cette population de malades. Récemment, l'avancée des techniques diagnostiques et l'utilisation de traitements prophylactiques ou préemptifs ont modifié l'épidémiologie des infections à Herpesviridae. Malgré cela, les Herpesviridae restent une cause importante de morbidité et de mortalité chez les transplantés de cellules souches [57]. Les méthodes de PCR multiplexes d'amplification de l'ADN des Herpesviridae ont les meilleures sensibilités, quel que soit l'échantillon testé [58].

Stratégie diagnostique non-invasive de la pneumocystose pulmonaire (PCP)

La méthode diagnostique de référence de la pneumocystose pulmonaire est la mise en évidence du pathogène au microscope après coloration, (méthénamine d'argent, Giemsa, ou bleu de toluidine) ou par immunofluorescence sur le prélèvement (crachat induit ou liquide de LBA) [59]. Plusieurs études ont démontré que la sensibilité de la PCR était supérieure à celle du microscope pour la détection de *P. jiroveci* [60]. La PCR est un outil utile pour écarter le diagnostic de pneumocystose pulmonaire chez les VIH négatifs, qui ont la plupart du temps des quantités de pathogènes plus faibles que les VIH+. [61]. Les méthodes de PCR en temps réel semblent avoir une meilleure spécificité [49, 62-64]. Des échantillons identiques à ceux utilisés pour la microscopie, peuvent être utilisés pour la PCR [60]. La PCR sur le liquide de LBA permet d'obtenir le meilleur rendement diagnostique ; même si les crachats induits, utilisés en routine pour les patients VIH+, peuvent aider au diagnostic ; leur valeur prédictive exacte n'a pas été évaluée chez les autres populations d'immunodéprimés [63]. Les lavages oraux peuvent être utilisés comme prélèvement non-invasif alternatif, malgré une sensibilité de la PCR bien plus faible que sur les prélèvements pulmonaires [65, 66]. Dans une publication récente [67], la pneumocystose pulmonaire était recherchée chez 448 patients, en utilisant à la fois la PCR et la coloration de Gromori-Grocott. Le crachat induit seul était diagnostique chez 39 patients et un LBA était réalisé chez 351 autres patients. La sensibilité de la PCR était de 87 % et sa spécificité de 92 %, la valeur prédictive négative du test sur le liquide de LBA étant alors de 98,7 %. Étant donné cette excellente valeur prédictive négative, nous recommandons l'usage de la PCR pour éliminer le diagnostic de pneumocystose pulmonaire comme étiologie d'infiltrats pulmonaires chez le patient d'OH. Une PCR négative sur le liquide de LBA ou

sur un crachat induit de bonne qualité permet d'arrêter le traitement curatif anti-Pneumocystis [68]. Une PCR positive ne peut être que corrélée au niveau de suspicion clinique de PCP. En cas d'absence de suspicion clinique, il peut s'agir soit d'un faux positif soit d'une colonisation bronchique à Pneumocystis.

Méthodes diagnostiques des infections fongiques

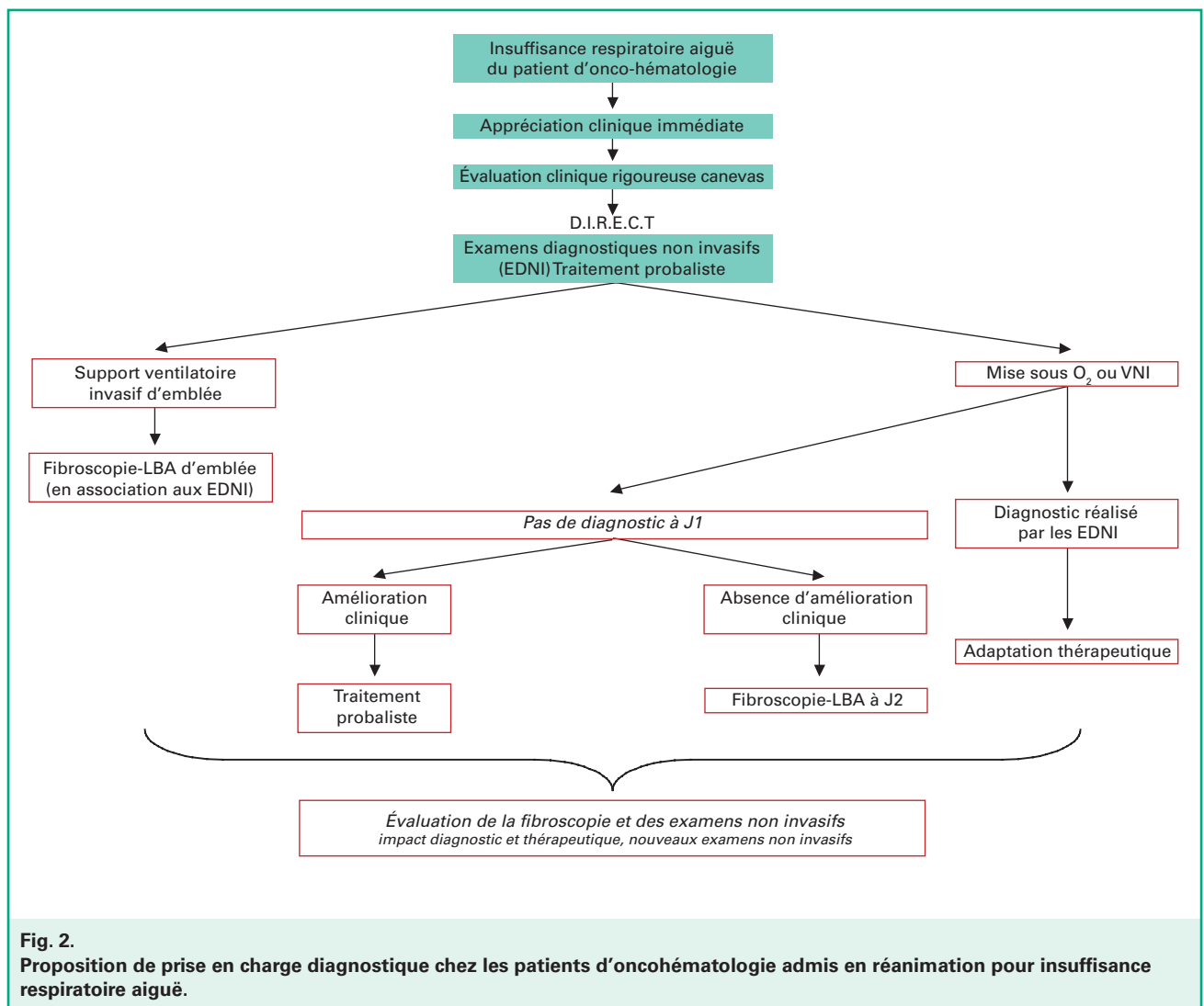
Jusque récemment, seule la mise en évidence d'*Aspergillus* dans un milieu biologique normalement stérile permettait de poser un diagnostic de certitude d'infection fongique invasive. Les échantillons de sites cliniques qui peuvent être colonisés (crachats, liquide de LBA, ou prélèvements sinusiens) permettent rarement de poser le diagnostic. La présence d'*Aspergillus spp* dans le liquide de LBA peut simplement indiquer une colonisation plutôt qu'une infection invasive. La culture peut prendre un délai de plusieurs jours, voire plusieurs semaines. La méthode de référence est le diagnostic histologique de la présence d'éléments hyphaux invasifs sur un échantillon de tissu obtenu par un prélèvement invasif, mais ces procédures sont dangereuses chez les patients fragiles [69, 70]. La première étude clinique comparant la positivité de l'antigénémie aspergillaire avec l'examen histologique a montré que la technique ELISA permettait de poser un diagnostic avec une sensibilité de 92,6 % et une spécificité de 95,4 % [71]. La VPP était de 93 % et la VPN de 95 % [71]. Dans plus de la moitié des cas, l'antigénémie se positivait avant qu'il existe des arguments cliniques pour une aspergillose invasive [72, 73]. À partir des résultats de ces résultats et de ceux d'autres études, l'*European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group* et le *National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group* ont élaboré une conférence de consensus sur la définition standard des infections fongiques invasives, utilisant la réalisation de l'antigénémie aspergillaire comme méthode diagnostique majeure. La conférence de consensus recommande que l'antigénémie aspergillaire serve à établir un diagnostic d'aspergillose probable [70]. La valeur de cette stratégie diagnostique a été validée par plusieurs études cliniques [74, 75]. De plus, la rentabilité diagnostique de l'antigénémie aspergillaire chez le neutropénique semble meilleure [76]. Une technique PCR de détection d'*Aspergillus spp* a été développée, mais reste trop peu spécifique avec beaucoup de faux positifs [77-79].

Mise en évidence de l'ADN microbien par PCR sur sang total

Les données de nombreuses analyses multivariées montrent que dans le sepsis sévère, l'antibiothérapie non adaptée

est un important facteur indépendant prédictif de mortalité [80]. En pratique clinique, l'usage d'une antibiothérapie à large spectre permet de contrebalancer l'absence d'identification du micro-organisme à l'origine du sepsis. L'inconvénient de cette stratégie est l'émergence, sous l'effet d'une forte pression de sélection, de souches de bactéries multirésistantes. De plus, chez les patients d'hématologie neutropéniques, le rendement diagnostique des hémocultures est faible [81] (25 % voire moins en cas d'antibiothérapie concomitante au prélèvement des hémocultures) et plus de la moitié des infections cliniquement diagnostiquées sont traitées de manière empirique. Une explication serait le faible inoculum bactérien ou fongique nécessaire au développement d'une infection. Pour pallier à ce problème [82], plusieurs outils diagnostiques rapides utilisant des méthodes de biologie moléculaire (comme la PCR en temps réel) ont été développés [83]. Leur

utilité en pratique clinique n'est pas encore démontrée. Dans le sepsis sévère [84], la corrélation entre PCR et hémocultures est décevante. En effet, la PCR n'est positive que dans 70 % des cas où l'hémoculture est positive [84]. Toutefois, une PCR positive était statistiquement associée à un score de dysfonction d'organes plus grand et une tendance à une mortalité plus élevée. Dans la population des malades immunodéprimés, les résultats des études préliminaires semblent plus prometteurs, même si la précision de ces méthodes doit être encore évaluée [85, 86]. La PCR semble plus sensible que les hémocultures avec une adéquation de 100 % entre hémocultures positives et PCR et une grande VPN (98,6 %) en cas de négativité de la PCR. Cependant, ces résultats doivent être confirmés dans des études de plus grande ampleur, et l'utilité clinique de cette méthode doit se traduire en termes de quantité d'antibiotiques consommés et de désescalade thérapeutique.



Conclusion

Au-delà de la place résiduelle du LBA chez les malades d'OH avec IRA, la mise au point de nouvelles techniques non invasives va permettre d'améliorer le diagnostic des pneumonies bactériennes (recherche de l'ARN 16S) et virales (puces à ADN). Des applications sur les autres pathogènes sont aussi à attendre. On peut espérer que ces nouvelles techniques améliorent la rentabilité diagnostique du LBA [87].

Nous pensons que le développement de ces méthodes diagnostiques non invasives va entraîner une baisse de l'usage de la FB-LBA comme le LBA a entraîné une baisse de la réalisation des biopsies pulmonaires [88]. Toutefois, en cas d'incertitude diagnostique malgré une démarche diagnostique exhaustive incluant le LBA, il est licite d'étudier la balance bénéfiques/risques d'une biopsie pulmonaire, étant donné sa rentabilité élevée, car le diagnostic étiologique de l'atteinte pulmonaire diminue la mortalité [10, 16].

Nous proposons à l'heure actuelle un algorithme de prise en charge diagnostique des patients d'OH admis en réanimation pour IRA (fig. 2).

Conflit d'intérêts

L. Camous, D. Schnell, V. Lemiale, E. Azoulay n'ont déclaré aucun conflit d'intérêts.

S. de Miranda, n'a pas transmis sa déclaration de conflit d'intérêts.

Références

- Brenner H. : Long-term survival rates of cancer patients achieved by the end of the 20th century: a period analysis. *Lancet* 2002 ; 360 : 1131-35.
- Linker C, Damon L, Ries C, Navarro W : Intensified and shortened cyclical chemotherapy for adult acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2002 ; 20 : 2464-71.
- Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, Irwin D, Stadtmauer EA, Facon T, Harousseau JL, Ben-Yehuda D, Lonial S, Goldschmidt H, Reece D, San-Miguel JF, Bladé J, Boccadoro M, Cavenagh J, Dalton WS, Boral AL, Esseltine DL, Porter JB, Schenkein D, Anderson KC : Assessment of Proteasome Inhibition for Extending Remissions (APEX) Investigators. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 2487-98.
- O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, Cornelissen JJ, Fischer T, Hochhaus A, Hughes T, Lechner K, Nielsen JL, Rousselot P, Reiffers J, Saglio G, Shepherd J, Simonsson B, Gratwohl A, Goldman JM, Kantarjian H, Taylor K, Verhoef G, Bolton AE, Capdeville R, Druker BJ : IRIS Investigators. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 994-1004.
- Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, Morel P, Van Den Neste E, Salles G, Gaulard P, Reyes F, Lederlin P, Gisselbrecht C : CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002 ; 346 : 235-42.
- Bergh J, Wiklund T, Erikstein B, Lidbrink E, Lindman H, Malmström P, Kellokumpu-Lehtinen P, Bengtsson NO, Söderlund G, Anker G, Wist E, Ottosson S, Salminen E, Ljungman P, Holte H, Nilsson J, Blomqvist C, Wilking N : Tailored fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide compared with marrow-supported high-dose chemotherapy as adjuvant treatment for high-risk breast cancer: a randomised trial. Scandinavian Breast Group 9401 study. *Lancet* 2000 ; 356 : 1384-91.
- Azoulay E, Recher C, Alberti C, Soufir L, Leleu G, Le Gall JR, Ferman J, Schlemmer B : Changing use of intensive care for hematological patients: the example of multiple myeloma. *Intensive Care Med* 1999 ; 25 : 1395-401.
- Kress JB, Christenson J, Pohlman AS, Linkin DR, Hall JB : Outcomes of critically ill cancer patients in a university hospital setting. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 ; 160 : 1957-61.
- Soares M, Fontes F, Dantas J, Gadelha D, Cariello P, Nardes F, Amorim C, Toscano L, Rocco JR : Performance of six severity-of-illness scores in cancer patients requiring admission to the intensive care unit: a prospective observational study. *Crit Care* 2004 ; 8 : R194-203. Epub 2004 May 24.
- Azoulay E, Thiéry G, Chevret S, Moreau D, Darmon M, Bergeron A, Yang K, Meignin V, Cioldi M, Le Gall JR, Tazi A, Schlemmer B : The prognosis of acute respiratory failure in critically ill cancer patients. *Medicine* 2004 ; 83 : 360-70.
- Chaoui D, Legrand O, Roche N, Cornet M, Lefebvre A, Peffault de Latour R, Sanhes L, Huchon G, Marie JP, Rabbat A : Incidence and prognostic value of respiratory events in acute leukemia. *Leukemia* 2004 ; 18 : 670-5.
- Azoulay E, Alberti C, Bornstain C, Leleu G, Moreau D, Recher C, Chevret S, Le Gall JR, Brochard L, Schlemmer B : Improved survival in cancer patients requiring mechanical ventilatory support: impact of noninvasive mechanical ventilatory support. *Crit Care Med* 2001 ; 29 : 519-25.
- Meert AP, Close L, Hardy M, Berghmans T, Markiewicz E, Sculier JP : Noninvasive ventilation: application to the cancer patient admitted in the intensive care unit. *Support Care Cancer* 2003 ; 11 : 56-9.
- Rabbat A, Chaoui D, Montani D, Legrand O, Lefebvre A, Rio B, Roche N, Lorut C, Marie JP, Huchon G : Prognosis of patients with acute myeloid leukaemia admitted to intensive care. *Br J Haematol* 2005 ; 129 : 350-57.
- Hilbert G, Gruson D, Vargas F, Valentino R, Gbikpi-Benissan G, Dupon M, Reiffers J, Cardinaud JP : Noninvasive ventilation in immunosuppressed patients with pulmonary infiltrates, fever, and acute respiratory failure. *N Engl J Med* 2001 ; 344 : 481-87.
- Azoulay E, Schlemmer B : Diagnostic strategy in cancer patients with acute respiratory failure. *Intensive Care Med* 2006 ; 32 : 808-22.
- Dunagan DP, Baker AM, Hurd DD, Haponik EF : Bronchoscopic evaluation of pulmonary infiltrates following bone marrow transplantation. *Chest* 1997 ; 111 : 135-41.
- White P, Bonacum JT, Miller CB : Utility of fiberoptic bronchoscopy in bone marrow transplant patients. *Bone Marrow Transplant* 1997 ; 20 : 681-87.
- Murray PV, O'Brien ME, Padhani AR, Powles R, Cunningham D, Jeanes A, Ashley S : Use of first line bronchoalveolar lavage in the immunosuppressed oncology patient. *Bone Marrow Transplant* 2001 ; 27 : 967-71.
- Stover DE, Zaman MB, Hajdu SI, Lange M, Gold J, Armstrong D : Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates in the immunosuppressed host. *Ann Intern Med* 1984 ; 101 : 1-7.

- 21 Gruson D, Hilbert G, Portel L, Boiron JM, Bebear CM, Vargas F, Bebear C, Reiffers J, Gbikpi-Benissan G, Cardinaud JP : Severe respiratory failure requiring ICU admission in bone marrow transplant recipients. *Eur Respir J* 1999 ; 13 : 883-87.
- 22 Gruson D, Hilbert G, Portel L, Boiron JM, Bebear CM, Vargas F, Bebear C, Reiffers J, Gbikpi-Benissan G, Cardinaud JP : Utility of fiberoptic bronchoscopy in neutropenic patients admitted to the intensive care unit with pulmonary infiltrates. *Crit Care Med* 2000 ; 28 : 2224-30.
- 23 Azoulay E, Fieux F, Moreau D, Thiery G, Rousselot P, Parrot A, Le Gall JR, Dombret H, Schlemmer B : Acute monocytic leukemia presenting as acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 ; 167 : 1329-33.
- 24 Cordonnier C, Escudier E, Nicolas JC, Fleury J, Deforges L, Ingrand D, Bricout F, Bernaudin JF : Evaluation of three assays on alveolar lavage fluid in the diagnosis of cytomegalovirus pneumonitis after bone marrow transplantation. *J Infect Dis* 1987 ; 155 : 495-500.
- 25 Agustí C, Ramirez J, Picado C, Xaubert A, Carreras E, Ballester E, Torres A, Battochia C, Rodriguez-Roisin R : Diffuse alveolar hemorrhage in allogeneic bone marrow transplantation. A postmortem study. *Am J Respir Crit Care Med* 1995 ; 151 : 1006-10.
- 26 Afessa B, Tefferi A, Litzow MR, Krowka MJ, Wylam ME, Peters SG : Diffuse alveolar hemorrhage in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 166 : 641-45.
- 27 Trof RJ, Beishuizen A, Debets-Ossenkopp YJ, Girbes AR, Groeneveld AB : Management of invasive pulmonary aspergillosis in non-neutropenic critically ill patients. *Intensive Care Med* 2007 ; 33 : 1694-703.
- 28 Castagnola E, Bagnasco F, Faraci M, Caviglia I, Caruso S, Cappelli B, Moroni C, Morreale G, Timitilli A, Tripodi G, Lanino E, Haupt R : Incidence of bacteremias and invasive mycoses in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single center experience. *Bone Marrow Transplant* 2008 ; 41 : 339-47.
- 29 Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M, Hiemenz JW, Wingard JR, Dupont B, Rinaldi MG, Stevens DA, Graybill JR : Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes. 13 Aspergillus Study Group. *Medicine* 2000 ; 79 : 250-60.
- 30 Dettenkofer M, Wenzler-Röttele S, Babikir R, Bertz H, Ebner W, Meyer E, Rüden H, Gastmeier P, Daschner FD : Hospital Infection Surveillance System for Patients with Hematologic/Oncologic Malignancies Study Group. Surveillance of nosocomial sepsis and pneumonia in patients with a bone marrow or peripheral blood stem cell transplant: a multicenter project. *Clin Infect Dis* 2005 ; 40 : 926-31.
- 31 Blázquez RM, Espinosa FJ, Martínez-Toldos CM, Alemany L, García-Orenes MC, Segovia M : Sensitivity of urinary antigen test in relation to clinical severity in a large outbreak of Legionella pneumonia in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005 ; 24 : 488-91.
- 32 Domínguez J, Galí N, Matas L, Pedroso P, Hernández A, Padilla E, Ausina V : Evaluation of a rapid immunochromatographic assay for the detection of Legionella antigen in urine samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999 ; 18 : 896-98.
- 33 Waterer GW, Baselski VS, Wunderink RG : Legionella and community-acquired pneumonia: a review of current diagnostic tests from a clinician's viewpoint. *Am J Med* 2001 ; 110 : 41-8.
- 34 Deforges L, Legrand P, Tankovic J, Brun-Buisson C, Lang P, Soussy CJ : Case of false-positive results of the urinary antigen test for Legionella pneumophila. *Clin Infect Dis* 1999 ; 29 : 953-54.
- 35 Mykietiuik A, Carratalà J, Fernández-Sabé N, Dorca J, Verdaguer R, Manresa F, Gudiol F : Clinical outcomes for hospitalized patients with Legionella pneumonia in the antigenuria era: the influence of levofloxacin therapy. *Clin Infect Dis* 2005 ; 40 : 794-99.
- 36 Domínguez JA, Galí N, Pedroso P, Fargas A, Padilla E, Manterola JM, Matas L : Comparison of the Binax Legionella urinary antigen enzyme immunoassay (EIA) with the Biotest Legionella Urin antigen EIA for detection of Legionella antigen in both concentrated and nonconcentrated urine samples. *J Clin Microbiol* 1998 ; 36 : 2718-22.
- 37 Wever PC, Yzerman EP, Kuijper EJ, Speelman P, Dankert J. Rapid diagnosis of Legionnaires' disease using an immunochromatographic assay for Legionella pneumophila serogroup 1 antigen in urine during an outbreak in the Netherlands. *J Clin Microbiol* 2000 ; 38 : 2738-39.
- 38 Yzerman EP, den Boer JW, Lettinga KD, Schellekens J, Dankert J, Peeters M : Sensitivity of three urinary antigen tests associated with clinical severity in a large outbreak of Legionnaires' disease in The Netherlands. *J Clin Microbiol* 2002 ; 40 : 3232-36.
- 39 Helbig JH, Uldum SA, Bernander S, Lück PC, Wewalka G, Abraham B, Gaia V, Harrison TG : Clinical utility of urinary antigen detection for diagnosis of community-acquired, travel-associated, and nosocomial legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 2003 ; 41 : 838-40.
- 40 Benson RF, Tang PW, Fields BS : Evaluation of the Binax and Biotest urinary antigen kits for detection of Legionnaires' disease due to multiple serogroups and species of Legionella. *J Clin Microbiol* 2000 ; 38 : 2763-65.
- 41 Den Boer J.W, Yzerman E.P : Diagnosis of Legionella infection in Legionnaires' disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004 ; 23 : 871-78.
- 42 Smith MD, Derrington P, Evans R, Creek M, Morris R, Dance DA, Cartwright K : Rapid diagnosis of bacteremic pneumococcal infections in adults by using the Binax NOW Streptococcus pneumoniae urinary antigen test: a prospective, controlled clinical evaluation. *J Clin Microbiol* 2003 ; 41 : 2810-13.
- 43 Murdoch D.R : Nucleic acid amplification tests for the diagnosis of pneumonia. *Clin Infect Dis* 2003 ; 36 : 1162-70.
- 44 Domínguez J, Galí N, Blanco S, Pedroso P, Prat C, Matas L, Ausina V : Detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen by a rapid immunochromatographic assay in urine samples. *Chest* 2001 ; 119 : 243-49.
- 45 Murdoch DR, Laing RT, Mills GD, Karalus NC, Town GI, Mirrett S, Reller LB : Evaluation of a rapid immunochromatographic test for detection of Streptococcus pneumoniae antigen in urine samples from adults with community-acquired pneumonia. *J Clin Microbiol* 2001 ; 39 : 3495-98.
- 46 Jacobs E, Bennewitz A, Bredt W : Reaction pattern of human anti-Mycoplasma pneumoniae antibodies in enzyme-linked immunosorbent assays and immunoblotting. *J Clin Microbiol* 1986 ; 23 : 517-22.
- 47 Abele-Horn M, Busch U, Nitschko H, Jacobs E, Bax R, Pfaff F, Schaffer B, Heesemann J : Molecular approaches to diagnosis of pulmonary diseases due to Mycoplasma pneumoniae. *J Clin Microbiol* 1998 ; 36 : 548-51.
- 48 Dorigo-Zetsma JW, Verkooyen RP, van Helden HP, van der Nat H, van den Bosch JM : Molecular detection of Mycoplasma pneumoniae in adults with community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *J Clin Microbiol* 2001 ; 39 : 1184-86.
- 49 Murdoch D.R. : Impact of rapid microbiological testing on the management of lower respiratory tract infection. *Clin Infect Dis* 2005 ; 41 : 1445-47.
- 50 van Elden LJ, van Kraaij MG, Nijhuis M, Hendriksen KA, Dekker AW, Rozenberg-Araska M, van Loon AM : Polymerase chain reaction is more sensitive than viral culture and antigen testing for the detection of respiratory viruses in adults with hematological cancer and pneumonia. *Clin Infect Dis* 2002 ; 34 : 177-83.
- 51 Templeton KE, Scheltinga SA, van den Eeden WC, Graffelman AW, van den Broek PJ, Claas EC : Improved diagnosis of the etiology of

- community-acquired pneumonia with real-time polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 2005 ; 41 : 345-51.
- 52 van Elden LJ, van Loon AM, van der Beek A, Hendriksen KA, Hoepelman AI, van Kraaij MG, Schipper P, Nijhuis M : Applicability of a real-time quantitative PCR assay for diagnosis of respiratory syncytial virus infection in immunocompromised adults. *J Clin Microbiol* 2003 ; 41 : 4378-81.
- 53 van Elden LJ, van Loon AM, van Alphen F, Hendriksen KA, Hoepelman AI, van Kraaij MG, Oosterheert JJ, Schipper P, Schuurman R, Nijhuis M : Frequent detection of human coronaviruses in clinical specimens from patients with respiratory tract infection by use of a novel real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 2004 ; 189 : 652-57.
- 54 van Kraaij MG, van Elden LJ, van Loon AM, Hendriksen KA, Laterveer L, Dekker AW, Nijhuis M : Frequent detection of respiratory viruses in adult recipients of stem cell transplants with the use of real-time polymerase chain reaction, compared with viral culture. *Clin Infect Dis* 2005 ; 40 : 662-69.
- 55 Martino R, Rámila E, Rabella N, Muñoz JM, Peyret M, Portos JM, Laborda R, Sierra J : Respiratory virus infections in adults with hematologic malignancies: a prospective study. *Clin Infect Dis* 2003 ; 36 : 1-8.
- 56 Tanaka Y, Kanda Y, Kami M, Mori S, Hamaki T, Kusumi E, Miyakoshi S, Nannya Y, Chiba S, Arai Y, Mitani K, Hirai H, Mutou Y : Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group (J-HOCS). Monitoring cytomegalovirus infection by antigenemia assay and two distinct plasma real-time PCR methods after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002 ; 30 : 315-19.
- 57 Taplitz RA, Jordan MC : Pneumonia caused by herpesviruses in recipients of hematopoietic cell transplants. *Semin Respir Infect* 2002 ; 17 : 121-29.
- 58 Druce J, Catton M, Chibo D, Minerds K, Tyssen D, Kostecki R, Maskill B, Leong-Shaw W, Gerrard M, Birch C : Utility of a multiplex PCR assay for detecting herpesvirus DNA in clinical samples. *J Clin Microbiol* 2002 ; 40 : 1728-32.
- 59 Thomas CF, Jr., Limper AH : Pneumocystis pneumonia. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 2487-98.
- 60 Wakefield AE, Guiver L, Miller RF, Hopkin JM : DNA amplification on induced sputum samples for diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia. *Lancet* 1991 ; 337 : 1378-79.
- 61 Kovacs JA, Hiemenz JW, Macher AM, Stover D, Murray HW, Shelhamer J, Lane HC, Urmacher C, Honig C, Longo DL, et al. : Pneumocystis carinii pneumonia: a comparison between patients with the acquired immunodeficiency syndrome and patients with other immunodeficiencies. *Ann Intern Med* 1984 ; 100 : 663-71.
- 62 Arcenas RC, Uhl JR, Buckwalter SP, Limper AH, Crino D, Roberts GD, Wengenack NL : A real-time polymerase chain reaction assay for detection of Pneumocystis from bronchoalveolar lavage fluid. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006 ; 54 : 169-75.
- 63 Durand-Joly I, Chabé M, Soula F, Delhaes L, Camus D, Dei-Cas E : Molecular diagnosis of Pneumocystis pneumonia. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005 ; 45 : 405-10.
- 64 Alvarez-Martínez MJ, Miró JM, Valls ME, Moreno A, Rivas PV, Solé M, Benito N, Domingo P, Muñoz C, Rivera E, Zar HJ, Wissmann G, Diehl AR, Prolla JC, de Anta MT, Gatell JM, Wilson PE, Meshnick SR : Spanish PCP Working Group. Sensitivity and specificity of nested and real-time PCR for the detection of Pneumocystis jiroveci in clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006 ; 56 : 153-60.
- 65 Kovacs JA, Gill VJ, Meshnick S, Masur H : New insights into transmission, diagnosis, and drug treatment of Pneumocystis carinii pneumonia. *Jama* 2001 ; 286 : 2450-60.
- 66 Fischer S, Gill VJ, Kovacs J, Miele P, Keary J, Silcott V, Huang S, Borio L, Stock F, Fahle G, Brown D, Hahn B, Townley E, Lucey D, Masur H : The use of oral washes to diagnose Pneumocystis carinii pneumonia: a blinded prospective study using a polymerase chain reaction-based detection system. *J Infect Dis* 2001 ; 184 : 1485-88.
- 67 Azoulay E, Bergeron A, Chevret S, Bele N, Schlemmer B, Menotti J : Polymerase chain reaction for diagnosing pneumocystis pneumonia in non-HIV immunocompromised patients with pulmonary infiltrates. *Chest* 2009 ; 135 : 655-61.
- 68 Ribes JA, Limper AH, Espy MJ, Smith TF : PCR detection of Pneumocystis carinii in bronchoalveolar lavage specimens: analysis of sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol* 1997 ; 35 : 830-35.
- 69 Maertens J, Verhaegen J, Demuyneck H, Brock P, Verhoef G, Vandenberghe P, Van Eldere J, Verbist L, Boogaerts M : Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1999 ; 37 : 3223-28.
- 70 Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, Denning DW, Donnelly JP, Edwards JE, Erjavec Z, Fiere D, Lortholary O, Maertens J, Meis JF, Patterson TF, Ritter J, Selleslag D, Shah PM, Stevens DA, Walsh TJ : Invasive Fungal Infections Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer; Mycoses Study Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002 ; 34 : 7-14.
- 71 Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Boogaerts M : Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood* 2001 ; 97 : 1604-10.
- 72 Maertens J, Van Eldere J, Verhaegen J, Verbeke E, Verschakelen J, Boogaerts M : Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *J Infect Dis* 2002 ; 186 : 1297-306.
- 73 Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, Verschakelen J, Lagrou K, Verbeke E, Wilmer A, Verhaegen J, Boogaerts M, Van Eldere J : Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. *Clin Infect Dis* 2005 ; 41 : 1242-50.
- 74 Borlenghi E, Cattaneo C, Capucci MA, Pan A, Quaresmini G, Franco F, Grazioli L, Carosi G, Rossi G : Usefulness of the MSG/IFICG/EORTC diagnostic criteria of invasive pulmonary aspergillosis in the clinical management of patients with acute leukaemia developing pulmonary infiltrates. *Ann Hematol* 2007 ; 86 : 205-10.
- 75 Subirà M, Martino R, Rovira M, Vazquez L, Serrano D, De La Cámara R : Clinical applicability of the new EORTC/MSG classification for invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematological malignancies and autopsy-confirmed invasive aspergillosis. *Ann Hematol* 2003 ; 82 : 80-2.
- 76 Bretagne S, Marmorat-Khuong A, Kuentz M, Latgé JP, Bart-Delabesse E, Cordonnier C : Serum Aspergillus galactomannan antigen testing by sandwich ELISA: practical use in neutropenic patients. *J Infect* 1997 ; 35 : 7-15.
- 77 Hohenthal U, Itälä M, Salonen J, Sipilä J, Rantakokko-Jalava K, Meurman O, Nikoskelainen J, Vainionpää R, Kotilainen P : Bronchoalveolar lavage

- in immunocompromised patients with haematological malignancy-value of new microbiological methods. *Eur J Haematol* 2005 ; 74 : 203-11.
- 78** Musher B, Fredricks D, Leisenring W, Balajee SA, Smith C, Marr KA : Aspergillus galactomannan enzyme immunoassay and quantitative PCR for diagnosis of invasive aspergillosis with bronchoalveolar lavage fluid. *J Clin Microbiol* 2004 ; 42 : 5517-22.
- 79** Francesconi, A., Kasai M, Petraitiene R, Petraitis V, Kalahar AM, Schaufele R, Hope WW, Shea YR, Bacher J, Walsh TJ : Characterization and comparison of galactomannan enzyme immunoassay and quantitative real-time PCR assay for detection of *Aspergillus fumigatus* in bronchoalveolar lavage fluid from experimental invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2006 ; 44 : 2475-80.
- 80** MacArthur, R.D., Miller M, Albertson T, Panack E, Johnson D, Teoh L, Barchak W : Adequacy of early empiric antibiotic treatment and survival in severe sepsis: experience from the MONARCS trial. *Clin Infect Dis* 2004 ; 38 : 284-88.
- 81** Xu, J., Moore JE, Miller BC, Alexander HD, Maclarg R, Morris Tc, Rooney PJ : Improved laboratory diagnosis of bacterial and fungal infections in patients with hematological malignancies using PCR and ribosomal RNA sequence analysis. *Leuk Lymphoma* 2004 ; 45 : 1637-41.
- 82** Peters, R.P., Van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM : New developments in the diagnosis of bloodstream infections. *Lancet Infect Dis* 2004 ; 4 : 751-60.
- 83** Louie, R.F., Tang Z, Albertson TE, Cohen S., Tran NK, Kost GJ : Multiplex polymerase chain reaction detection enhancement of bacteremia and fungemia. *Crit Care Med* 2008 ; 36 : 1487-92.
- 84** Bloos, F., Hinder F, Becker K, Sachse S, Dessap AM, Straube E, Cattoir V, Brun-Buisson C, Reinhart K, Peters G, Bauer M : A multicenter trial to compare blood culture with polymerase chain reaction in severe human sepsis. *Intensive Care Med* 2010 ; 36 : 241-47
- 85** Skovbjerg, S., Welinder-Olsson C, Kondori N, Kjellin E, Nowrouzian F, Wold AE, Stockelberg D, Larsson P, Wenneras C : Optimization of the detection of microbes in blood from immunocompromised patients with haematological malignancies. *Clin Microbiol Infect* 2009 ; 15 : 680-83.
- 86** Mancini, N., Clerici D., Diotti R., Perotti M, Ghidoli N, De Marco D, Pizzorno B, Emrich T, Burioni R, Cicceri F, Clementi M : Molecular diagnosis of sepsis in neutropenic patients with haematological malignancies. *J Med Microbiol* 2008 ; 57 : 601-4.
- 87** Perkins, G.D., Chatterjee S, Giles S, McAuley DF, Quinton S, Thickett DR, Gao F : Safety and Tolerability of Nonbronchoscopic Lavage in ARDS. *Chest* 2005 ; 127 : 1358-63.
- 88** Sharma, S., Nadrous HF, Peters SG, Tefferi A, Litzow MR, Aubry MC, Afessa B : Pulmonary complications in adult blood and marrow transplant recipients: autopsy findings. *Chest* 2005 ; 128 : 1385-92.