

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE 1999

THESE N° 336.

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Obtenu après soutenance du

MEMOIRE du DIPLOME d'ETUDES SPECIALISEES de BIOLOGIE MEDICALE

(Conformément décret n°90-180 du 10 septembre 1990)



Présenté et soutenu devant le jury interregional du Sud-Ouest

le 23 Septembre 1999

par

Ludovic MERIOT

**INTERET DU DOSAGE DES IgM ANTI-CANDIDA ALBICANS DANS
LES CANDIDOSES SYSTEMIQUES.
ETUDE RETROSPECTIVE DANS DEUX SERVICES DE
REANIMATION RESPIRATOIRE.**

JURY

Président :
Assesseurs :

Professeur BENOIST H.
Professeur GENESTAL M.
Docteur RECCO P.
Madame LINAS M.D.
Monsieur FONVIEILLE J.L.

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE: Monsieur le Professeur GHESTEM Axel

ASSESSEURS: Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard
Monsieur DREYFUSS Gilles - Maître de Conférences

PROFESSEURS:

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
BERNARD Michel	PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE - BIOLOGIE MOLECULAIRE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE-HYDROLOGIE-ENVIRONNEMENT
LOUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE

SECRETARE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

Je dédie cette thèse,

A Anne-Françoise,

A Corentin,

A mes Parents,

A ma Famille,

A ma Belle-Famille,

A mes Amis.

A notre Président de Jury de Thèse

Monsieur le Professeur H. BENOIST

Professeur des Universités
Laboratoire d'Immunologie
Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse

*Vous nous faites un grand honneur en acceptant la
présidence du jury de cette thèse.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre gratitude et de
notre profond respect.*

A notre Jury de Thèse

Madame le Professeur M. GENESTAL

Professeur des Universités
Praticien Hospitalier
Service de Réanimation Médicale
Hôpital de Purpan – CHU Toulouse

Nous sommes très honorés pour l'intérêt que vous avez bien voulu accorder à ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération.

Madame le Docteur P. RECCO

Maître de Conférences des Universités
Praticien Hospitalier
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie
Hôpital de Rangueil – CHU Toulouse

Vous nous avez accordé votre confiance pour la réalisation de ce travail dont vous êtes à l'origine.

Nous avons toujours apprécié l'étendue de votre savoir, la qualité de vos enseignements et votre grande disponibilité.

Veillez trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

Madame M.-D. LINAS

Maître de Conférences des Universités
Praticien Hospitalier
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie
Hôpital de Rangueil – CHU Toulouse

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites
en acceptant de juger ce travail.*

*Nous avons toujours apprécié la qualité de vos
enseignements, votre gentillesse et votre sens des relations
humaines.*

Soyez assuré de notre sincère reconnaissance.

Monsieur J.-L. FONVIEILLE

Maître de Conférences des Universités
Laboratoire de Parasitologie
Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse

*Vous avez chaleureusement accepté de siéger au jury de
cette thèse.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre respectueuse
gratitude.*

Nous exprimons également nos remerciements à :

Monsieur le Docteur J.P CHARLET

Pour sa disponibilité, sa gentillesse et sa compétence.

Madame le Docteur M. CAZAUX

Pour son aide tout au long de ce travail.

Monsieur le Docteur M. EL HAMRI

Pour son soutien tout au long de ce travail.

Et à tout le personnel du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie.

**INTERET DU DOSAGE DES IgM ANTI-*CANDIDA ALBICANS* DANS
LES CANDIDOSES SYSTEMIQUES.**

**ETUDE RETROSPECTIVE DANS DEUX SERVICES DE
REANIMATION RESPIRATOIRE.**

SOMMAIRE

INTRODUCTION	12
GENERALITES	14
I - STRUCTURE ET CLASSIFICATION DES LEVURES DU GENRE CANDIDA.....	15
I – 1 RAPPEL SUR LES CHAMPIGNONS.....	15
I - 2 STRUCTURE ET CLASSIFICATION DES LEVURES	15
I - 3 LE GENRE CANDIDA.....	16
II - EPIDEMIOLOGIE DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES	18
III - ELEMENTS DE PHYSIOPATHOLOGIE DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES ...	21
III – 1 ORGANISATION CELLULAIRE ET MOLECULAIRE.....	21
III – 2 FACTEURS FAVORISANT LA DISSEMINATION.....	23
III – 3 DEVELOPPEMENT DE L'INFECTION.....	23
III – 4 MECANISMES DE DEFENSE.....	25
IV - MANIFESTATIONS CLINIQUES DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES.....	30
IV – 1 LE SYNDROME SEPTICEMIQUE VRAI.....	30
IV – 2 MANIFESTATIONS PATHOGENIQUES CUTANEEES ET/OU OCULAIRES.	31
IV – 3 AUTRES LOCALISATIONS TISSULAIRES.....	32
IV – 4 CANDIDOSES PROFONDES DITES « NON HEMATOGENES »	34
V - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES	37
V – 1 DIAGNOSTIC DIRECT	37
V – 2 DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE.....	39
VI - TRAITEMENT DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES	43
VI – 1 PRÉVENTION	43
VI – 2 INFECTIONS DÉFINIES.....	43
NOTRE ETUDE.....	46
I - BUT DE NOTRE ETUDE.....	47
II - MATERIELS ET METHODES	48

II - 1 DESCRIPTION DES TECHNIQUES.....	48
II - 2 RECRUTEMENT DES PATIENTS.....	50
II - 3 ANALYSE STATISTIQUE.....	53
III - RESULTATS	54
III - 1 ETUDE PRÉLIMINAIRE : ETUDE DE LA VARIABLE IgM.....	54
III - 2 EVALUATION ET INTÉRÊT DES IgM ANTI- <i>CANDIDA ALBICANS</i>	59
IV - DISCUSSION.....	70
CONCLUSION.....	75
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	78
ANNEXES.....	86
Annexe 1 : Classification des champignons d'après KWON CHUNG et BENNET (1992).....	87
Annexe 2 : Classification des levures.....	88
Annexe 3 : Distribution dans la nature des principales espèces du genre CANDIDA (Tableau 1).....	89
Annexe 4 : Facteurs de risque des candidoses systématiques (tableau 2).....	90
Annexe 5 : Infections candidosiques selon Pittet.....	91
Annexe 6 : Résultats des sérologies des patients du groupe I (négatifs).....	92
Annexe 7 : Résultats des sérologies des patients du groupe II (colonisés)...	93
Annexe 8 : Résultats des sérologies des patients du groupe III (infectés)	95

INTRODUCTION

Une incidence croissante des infections fongiques est observée depuis une vingtaine d'année. Les infections à *Candida* sont les plus fréquentes des infections fongiques observées en milieu de réanimation et il est généralement admis que leur importance dans les infections nosocomiales augmente.

Les facteurs de risque des candidoses profondes sont nombreux, dominés par l'immunodépression, la sévérité des pathologies sous jacentes, la durée d'exposition à des techniques invasives et la lourdeur des interventions chirurgicales.

Les infections profondes à *Candida* sont d'autant plus graves que leur diagnostic reste difficile, en l'absence notamment de critères précis de différenciation des colonisations et des infections vraies et du fait de la non-spécificité des manifestations cliniques. D'autre part, les moyens techniques de diagnostic au laboratoire manquent d'efficacité et de rapidité compte tenu des conséquences souvent péjoratives de ces infections.

Nous nous proposons dans cette thèse d'évaluer l'intérêt d'un test commercialisé par les laboratoires BIOMERICA permettant le dosage des immunoglobulines M (IgM) anti-*Candida albicans* dans le sérum par une technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) , à partir de résultats obtenus dans deux services de réanimation respiratoire. Mais tout d'abord, nous exposerons quelques généralités sur les champignons du genre *Candida* et sur les candidoses systémiques.

GENERALITES

I - STRUCTURE ET CLASSIFICATION DES LEVURES DU GENRE CANDIDA

I - 1 RAPPEL SUR LES CHAMPIGNONS

Les champignons sont des organismes hétérotrophes c'est à dire incapables de synthétiser leur propre molécule de carbone.

La cellule des champignons présente une organisation comparable à celle des végétaux : c'est une cellule eucaryote, limitée par une paroi différenciée où les vacuoles occupent souvent un volume important. La présence de chitine et de glycogène, est en revanche une caractéristique des cellules animales. Ces propriétés, jointes à des arguments phylogénétiques, conduisent actuellement à considérer que les quelques 120 000 espèces de champignons, représentent un règne à part entière s'étant individualisé entre les règnes animaux et végétaux. Les cellules des champignons sont organisées en un appareil végétatif primitif : le thalle. Chez la très grande majorité des espèces fongiques, le thalle est formé d'un enchevêtrement de filaments, les mycéliums, pouvant donner naissance à des spores sexuées ou asexuées.

De très nombreuses classifications des champignons ont vu le jour. Elles sont modifiées avec l'évolution des connaissances et l'application récente à la mycologie des techniques de biologie moléculaire. Nous pouvons retenir la classification de Kwon Chung et Bennet (1992) que nous reprenons en *annexe 1* [29].

I - 2 STRUCTURE ET CLASSIFICATION DES LEVURES

Les levures sont des champignons microscopiques se multipliant par bourgeonnement ou scissiparité. Elles constituent un thalle particulier dans lequel les cellules restent agglomérées en colonies. Chaque levure représente la forme végétative mais également dans la plupart des cas, la forme de résistance et de dissémination de l'espèce. On en compte actuellement environ 600 espèces.

Les levures sont classées selon des caractères morphologiques, physiologiques et biologiques. Elles sont séparées en trois groupes selon leur reproduction sexuée :

- les ascomycètes : présence d'asques et d'ascospores,
- les basidiomycètes : présence de basides et de basidiospores,
- les deutéromycètes : levures imparfaites pour lesquelles on ne connaît en général pas la reproduction sexuée. Mais l'étude des caractères biochimiques montre que certaines d'entre elles possèdent des affinités soit pour les ascomycètes, soit pour les basidiomycètes.

Donc sous une homogénéité morphologique apparente les levures constituent, en fait, un groupe très hétérogène résultant de convergences dans l'évolution de taxa fongiques très différents. En effet, nombre d'espèces de levures décrites initialement selon des arguments morphologiques et physiologiques s'avèrent correspondre à la forme asexuée d'autres espèces, filamenteuses ou levuriformes affectant une morphologie différente et/ou une reproduction sexuée dans d'autres conditions de cultures. Nous ne ferons qu'un minimum de références à cette systématique complexe, en constante évolution et nécessairement imbriquée dans la taxonomie générale des champignons. En pratique, les critères morphologiques et physiologiques sont suffisants pour identifier et discriminer le nombre réduit d'espèces de levures impliquées en pathologie humaine. Une classification des levures est présentée dans le tableau 1 situé en *annexe 2* [29].

I - 3 LE GENRE CANDIDA

Le genre *Candida* (anciennement *Monilia*) comprend actuellement environ 200 espèces mais quelques-unes seulement intéressent la mycologie médicale. Il représente près de 83% de toutes les levures isolées chez l'homme. *C.albicans* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée. C'est un endosaprophyte des muqueuses en particulier de la muqueuse digestive. Les autres espèces sont saprophytes des muqueuses et/ou de la peau : *Issatchenkia orientalis* (*C. krusei*), *C.glabrata*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C.lusitaniae*, *C.lipolytica*, *C.pseudotropicalis*...

Le genre *Candida* regroupe des levures non pigmentées formant des colonies blanches- crémeuses. Les levures, dont la taille varie de 3 à 15µm, sont formées à partir de la cellule mère selon un processus blastique (bourgeoisement) donnant naissance de manière multipolaire à des cellules filles, sphériques ou oblongues, encore appelées blastospores ou blastoconidies (la conidie étant le nom général donné aux spores issues de la reproduction asexuée des champignons). Les blastoconidies n'apparaissent pas capsulées en microscopie photonique.

Certaines conditions de milieu (agents tensioactifs, semi-anaérobiose, développement in vivo...) influencent la morphogenèse des *Candida* qui donnent alors naissance à des blastoconidies dont la croissance pariétale est beaucoup plus importante dans l'axe du bourgeoisement. Ces formes de croissance allongées fréquemment attachées par leur apex évoquent au microscope à faible grossissement du mycélium et ont reçu le nom de pseudomycélium.

C. albicans présente par rapport aux autres levures du genre *Candida* deux stades morphologiques spécifiques. Le premier consiste en de grosses spores à paroi épaisse à l'extrémité des rameaux pseudomycéliens, les chlamydoconidies. Le second est le mycélium vrai, résultant d'une croissance apicale. Ce mycélium peut être facilement obtenu par incubation de blastoconidies dans de nombreux milieux et débute en quelques heures par la formation d'un tube germinatif, élément flexueux qui va ultérieurement s'allonger et se rigidifier.

Toutes ces formes de croissance, blastoconidies, pseudomycélium, mycélium sont réversibles et susceptibles d'être observées dans les tissus humains parasités, où l'on rencontre également fréquemment des formes torulées, irrégulières. En règle générale, les *Candida* saprophytes se développent sous forme de blastoconidies alors que la phase parasitaire est plus volontiers filamenteuse, mais ce dimorphisme n'a pas de caractère absolu.

II - EPIDEMIOLOGIE DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES

La mycologie médicale a subi au cours de la dernière décennie de profondes modifications, liées à la fois au changement des populations de patients, à l'élargissement des thérapeutiques disponibles, à l'évolution des pathogènes en cause et aux progrès des pratiques médicales.

Avec l'amélioration des traitements anti-infectieux et des procédures de réanimation, un nombre croissant de patients immunodéprimés survit aux infections bactériennes et aux maladies sous-jacentes, venant accroître le nombre des sujets à risque d'infections fongiques systémiques.

Ainsi selon une publication récente de M.A. Pfaller et coll.[43] portant sur 4725 germes responsables d'infections, dans le cadre d'un programme de surveillance sur une période de 15 mois des infections nosocomiales, le genre *Candida* vient au quatrième rang avec 379 souches, soit 8%. Les staphylocoques occupent la première place : 49% au total, dont la moitié de souches à coagulase négative.

L'étude EPIC réalisée en 1992 place les fongémies en cinquième position avec une prévalence de 17%. Les quatre principaux agents pathogènes incriminés dans les infections nosocomiales acquises en réanimation sont : les entérobactéries (34,4%), *Staphylococcus aureus* (30,1%), *Pseudomonas aeruginosa* (28,7%), les staphylocoques à coagulase négative (19,1%) [61].

La plus grande étude disponible a été faite dans le cadre du Système National de Surveillance des Infections Nosocomiales (NNISS) aux Etats-Unis [5]. L'analyse portait sur 30 477 dossiers de patients ayant fait une infection fongique nosocomiale entre 1980 et 1990. Elle démontre clairement l'augmentation de fréquence des infections fongiques nosocomiales. Le taux passait de 2 à 3,9 infections pour 1000 admissions dans les 73 hôpitaux participant à l'enquête depuis plus de 5 ans ($p < 0,001$). L'augmentation était plus importante dans les grands centres hospitalo-universitaires que dans les autres.

La proportion d'infections fongiques parmi les infections nosocomiales passait de 6% en 1980 à 10,4% en 1990.

En ce qui concerne les germes en cause, le genre *Candida* est majoritaire. Ainsi, il représentait 86% des infections fongiques nosocomiales déclarées au NNIS, suivi en fréquence par les *Aspergillus*.

L'épidémiologie de ces infections est donc en complète évolution.

Candida sp. est donc le groupe de champignons majoritaire au cours des infections fongiques nosocomiales. Les *Candida* sont responsables d'une grande variété de pathologies incluant fongémies, endocardites, arthrites, ostéomyélites, endophtalmies.... La mortalité associée aux candidémies dépasse 50% dans la plupart des études [5,16].

C.albicans est l'agent étiologique majeur des candidoses. Il s'agit d'un champignon endogène saprophyte des muqueuses appartenant à la flore normale du tube digestif. Un équilibre numérique s'établit avec les bactéries intestinales qui sont majoritaires. La colonisation première du tube digestif s'effectue à la naissance. Par contre *C.albicans* n'est jamais isolé des téguments sains. Les autres *Candida* sont plus ubiquitaires. Le tableau 2 en annexe 3 rappelle la distribution dans la nature de ces levures.

Le réservoir principal de l'infection est donc le tube digestif. La fréquence de portage varie selon les sujets, les espèces de *Candida* et les techniques d'isolement utilisées. Dans l'intestin, *C. albicans* reste l'espèce prédominante (51%). Par des méthodes de biotypage et de génotypage, on a pu montrer que les sujets hébergeant *C. albicans* gardent le même biotype dans différents sites anatomiques et sur des périodes de temps très prolongées. De plus, on a pu démontrer que les souches responsables d'infections disséminées étaient identiques à celles colonisant les patients au niveau des sites superficiels [62]. Ainsi, l'origine des candidémies est-elle le plus souvent endogène. Cependant, la source de l'infection peut aussi être exogène. Des souches de *Candida sp.* ont ainsi été isolées de l'environnement des patients (eau, bassin, lit, air) ou, plus fréquemment des mains du personnel soignant ou des perfusions [49,52].

Lorsque des candidémies sont diagnostiquées dans un même service et de façon répétée, il est toujours important de rechercher des défaillances du programme de prévention. Si la source est endogène, c'est une diminution de la colonisation des sites superficiels qu'il faut atteindre ; si en revanche la source est exogène, il faut améliorer les mesures d'hygiène et en particulier le lavage des mains du personnel soignant [44]. Il est

raisonnable de renforcer ces deux parties du programme de prévention, même si la probabilité de transmission des souches d'un patient à l'autre est faible dans certaines unités de soins [44].

Candida albicans reste l'espèce principalement isolée au cours de ces infections. Cependant, les espèces "*non albicans*" représentent, dans certaines institutions, la moitié des isollements au cours des fongémies avec principalement *C.glabrata*, *C tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* [38].

L'émergence des infections à *C. glabrata* est préoccupante. C'est aujourd'hui la plus fréquente des espèces de *Candida "non albicans"*. Elle comporte le taux le plus élevé de complications non oculaires (endocardites, ostéomyélites, abcès hépato-spléniques) et le taux le plus élevé de mortalité. Le traitement est particulièrement difficile : pour le fluconazole, comme d'ailleurs les autres dérivés azolés, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont très élevées ; pour l'amphotéricine B, les concentrations fongicides sont nettement supérieures aux CMI.

Les mécanismes de l'infection candidosique sont encore incomplètement élucidés, mais quelques notions de physiopathologie sont indispensables pour appréhender la complexité diagnostique de ces infections graves. La pathogénie des infections à *Candida* est dominée par la séquence colonisation- infection locale- dissémination générale. Cette séquence colonisation- infection locale- dissémination est un pré-requis à la survenue d'une infection systémique à *Candida* [47] et fait intervenir des mécanismes variés plus ou moins intriqués [33,56,57].

III - ELEMENTS DE PHYSIOPATHOLOGIE DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES

III - 1 ORGANISATION CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

III - 1-1 LA PAROI

Elle confère à la cellule l'essentiel de ses caractéristiques. C'est la principale cible des études fondamentales. Elle est responsable de la pathogénicité des levures, de leur versatilité, de l'ensemble de leurs propriétés d'adhésion, de pénétration, de diffusion et aussi de l'efficacité des antifongiques. Sa superficie est recouverte par un réseau dense de fibrilles très fines, non visibles en microscopie optique, s'apparentant à une capsule en microscopie électronique. Son extension, qui varie en fonction de l'hydrophobicité du milieu, peut-être considérable. C'est à ce niveau que se situent les adhésines de *C. albicans* dont certaines sont analogues structurellement aux intégrines de mammifères [24]. Ces adhésines constituent un facteur de pathogénicité puisqu'elles conditionnent l'adhérence aux cellules épithéliales, aux substances acryliques (cathéters), mais également à la fraction C3 du complément ou aux plaquettes, induisant une cascade d'événements physiopathologiques. La paroi elle-même comprend un réseau très dense de fibrilles, de chitine ou de polymères de glucose (glucanes) déterminant la forme de la cellule et sa résistance mécanique et chimique. Dans les mailles de ce réseau fibrillaire, relativement inerte sur le plan antigénique, se situent des mannoprotéines structurales ou enzymatiques. Les mannoprotéines structurales possèdent une copule polysaccharidique très importante constituant ce qu'il est convenu d'appeler le mannane pariétal.

Le mannane, qui correspond à des édifices complexes de masse moléculaire élevée constitués de résidus mannose liés en α -1,6 ; α -1,2 ; α -1,3 ; β -1,2 est un antigène quantitativement et qualitativement majeur des *Candida*. Il comprend des motifs oligomannosidiques qui supportent la spécificité sérologique des espèces du genre *Candida* ainsi que des motifs permettant de différencier les sérotypes A et B de *C.albicans*. Chez l'homme, le mannane suscite l'élaboration d'anticorps à des degrés divers chez les sujets sains, et chez les patients colonisés ou infectés [26] ; il circule dans le sérum de patients atteints de formes profondes de candidose.

Le mannane est un immunomodulateur puissant ; à ce titre, il est notamment susceptible de déprimer spécifiquement la réponse immune de patients atteints de candidoses cutanéomuqueuses étendues. Cet ensemble moléculaire, contenant des inducteurs de cytokines apparaît de plus en plus comme un facteur de pathogénicité des *Candida* et fait à ce titre l'objet d'études visant à définir les relations structure/immunoréactivité des oligomannosides qui le constituent. Sur ces bases, un phospholipomannane de *C.albicans* contenant des homopolymères d'oligomannosides liés en β -1,2 a récemment été caractérisé. Ce composé, au même titre que de nombreux lipopolysaccharides de bactéries ou de protistes pathogènes, est un inducteur de TNF α ("tumor necrosis factor") et pourrait donc être responsable d'effets délétères lié à l'infection [7].

La paroi constitue également le lieu où circulent les mannoprotéines et notamment les enzymes dégradant les substrats nécessaires à la croissance. Parmi ces enzymes, les aspartyl-protéinases sont les mieux caractérisées. A de nombreuses reprises, leur sécrétion a été corrélée à la pathogénicité.

III – 1 –2 LE CYTOPLASME

Il ne présente pas d'organites différenciés par rapport à une cellule eucaryote typique, hormis le développement d'un système vacuolovésiculaire, évoluant en relation avec le cycle cellulaire, et impliqué en majeure partie dans la synthèse de la paroi. Les protéines cytoplasmiques, contrairement aux mannoprotéines pariétales, qui suscitent une réponse humorale chez tout individu, n'induiraient des anticorps qu'après dégradation des levures par les cellules macrophagiques, au cours de processus pathologiques. Parmi ces protéines, deux antigènes majeurs ont été particulièrement étudiés ; il s'agit d'une énolase vacuolaire de 48kDa ayant un intérêt diagnostique [35] et d'une protéine cytosolique de 47kDa, partiellement excrétée, sous-unité d'une "heat shock protein"(HSP) 90. Les anticorps anti-HSP 90 auraient un effet protecteur au cours de l'infection [63].

III – 2 FACTEURS FAVORISANT LA DISSEMINATION

Le développement d'une candidose profonde nécessite la présence de facteurs prédisposants que l'on peut diviser schématiquement en 3 groupes :

- Les facteurs provoquant une diminution du système immunitaire de l'individu : chimiothérapie, immunosuppresseurs, hémopathie maligne, altération quantitative ou qualitative des polynucléaires neutrophiles, corticothérapie, diabète, nouveau-né, prématuré, vieillard, SIDA, malnutrition.

- Les facteurs provoquant une modification de la flore intestinale et une colonisation du tube digestif par *C.albicans* : antibiothérapie large spectre, alimentation parentérale totale.

- Les facteurs invasifs : cathétérisme intraveineux, toxicomanie, chirurgie lourde, digestive et cardiaque en particulier, sondes urinaires à demeure...

L'association de plusieurs de ces facteurs chez un même patient est fréquente.

Ces facteurs prédisposants sont résumés dans le tableau 3 situé en *annexe 4*.

III – 3 DEVELOPPEMENT DE L'INFECTION

III – 3 – 1 ADHESION

Cette étape est indispensable. Les levures vont adhérer à la surface des cellules épithéliales (buccales, vaginales, uro-épithéliales, digestives...) grâce à l'adhésine chez *C.albicans*.

Les pseudofilaments ou "germ-tubes", (étape morphologique entre la levure et la forme filamenteuse), sont également impliqués dans le processus d'adhésion. Les levures en germination adhèrent *in vitro* en plus grand nombre que les levures ne germant pas.

Elles peuvent également adhérer aux cellules endothéliales vasculaires, aux cathéters en matière plastique et à certaines prothèses.

III – 3 – 2 PENETRATION

Pour pénétrer chez son hôte, la levure devra développer une stratégie parfois complexe dont l'atout majeur repose sur une très grande biodiversité. La levure *Candida* possède une forte variabilité phénotypique s'exprimant au niveau de la morphologie, de la composition chimique et antigénique de la paroi cellulaire, donc au niveau de ses propriétés de surface. Ces modifications se traduiront par exemple par l'augmentation des propriétés d'adhérence, de la capacité à sécréter certains enzymes ou à résister à l'action de certains antifongiques [48,55]. Le mécanisme de la pénétration est mal connu. Plusieurs facteurs interviendraient dans la destruction de la paroi cellulaire, un facteur mécanique par croissance des filaments à travers l'épithélium, des facteurs enzymatiques : protéinases, phospholipases...(plus de 40 enzymes ont été décrits chez *C.albicans*).

III – 3 – 3 DISSEMINATION

Quand la réaction inflammatoire ne permet pas de juguler l'infection, celle-ci se dissémine par contiguïté aux tissus voisins avec une extension lymphatique et sanguine. Différents organes seront atteints : le rein, la rate, le foie, les yeux, le cœur, le cerveau. Nous parlerons dans ce cas-là de candidoses systémiques.

III – 4 MECANISMES DE DEFENSE

III – 4 – 1 MOYENS NON-SPECIFIQUES

III – 4 – 1 –1 LES BARRIERES NATURELLES

- *La peau :*

La peau intacte avec son épithélium stratifié kératinisé représente une barrière mécanique à la pénétration des micro-organismes auxquels elle est constamment exposée. La sécheresse de la peau, l'acidité de sa surface, les propriétés fongicides de certains acides gras à longue chaîne sécrétés par les glandes sébacées et le renouvellement de l'épithélium sont de très efficaces moyens de défense.

De minimes altérations du revêtement cutané (excoriation, fissuration par macération) permettent l'installation de levures du genre *Candida* notamment. La présence de cathéters veineux et/ou intrapéritonéaux permettant l'accès direct des micro-organismes au milieu intérieur sont donc des sources de septicémies à *Candida*.

- *La cavité buccale :*

Le lysozyme est une molécule protéique de bas poids moléculaire présente en quantité assez élevée dans la cavité buccale et surtout dans la salive. Elle entraîne l'agglutination et la mort par modification de la perméabilité de la membrane cellulaire de *C.albicans*. Elle stimule également la phagocytose en association avec les IgA.

La lactoferrine produite par les polynucléaires neutrophiles, la lactopéroxydase et les glycoprotéines salivaires sont autant de facteurs présents dans la cavité buccale empêchant une infection candidosique.

- *Le tractus gastro-intestinal :*

Outre l'acidité gastrique et la mobilité intestinale, l'hôte est protégé par la continuité de l'épithélium, le mucus, les enzymes digestifs, les immunoglobulines sécrétées et la constante exsudation de neutrophiles sanguins dans la lumière intestinale. La flore bactérienne joue également un grand rôle aussi bien au niveau du tractus gastro-intestinal que dans la cavité buccale. Cette flore peut restreindre mais pas éliminer les *Candida*. Les interactions comprennent la compétition nutritionnelle, l'élaboration de produits toxiques et la compétition pour une niche écologique. On conçoit donc le rôle des facteurs iatrogènes modifiant l'équilibre de la population microbienne endogène au profit de la flore fongique.

Cependant, chez l'immunodéprimé, les candidoses du tractus gastro-intestinal, comme les œsophagites à *Candida*, conduisent le plus souvent à une perforation et à une dissémination sanguine ou à une dissémination aux autres organes à partir des sites ulcérés.

- *La muqueuse respiratoire :*

Le tractus respiratoire inférieur est stérile normalement ; le courant d'air inhalé est débarrassé d'une partie des bactéries et particules par l'action filtrante des poils nasaux. L'autre partie atteignant les parties basses respiratoires va subir l'action conjointe du mucus et des sécrétions (lysozyme, lactoferrine, interféron, immunoglobulines) ; elles seront ensuite éliminées par le film mucociliaire ascendant.

Les pneumopathies candidosiques sont exceptionnelles ; elles surviennent le plus souvent chez des malades recevant des traitements immunodépresseurs, des antibiotiques à large spectre ou des corticoïdes pour diverses maladies graves sous-jacentes. Les deux principales voies d'accès des levures au parenchyme pulmonaire sont la voie hématogène et l'extension directe de proche en proche d'une candidose pharyngée qui gagne la muqueuse bronchique, pénètre la paroi des bronches et diffuse dans le parenchyme.

- Tractus génital :

La vessie, les urètres et les reins sont normalement stériles chez l'homme sain ; les principaux facteurs limitant la colonisation sont le lavage répété de ces voies par l'urine et l'activité anti-microbienne et anti-fongique du liquide prostatique. Notons que les candidoses urinaires basses sont d'origine régionale, digestive ou génitale alors que les candidoses rénales sont d'origine ascendante, ou surtout d'origine hématogène au cours d'une levrémie. Cette pathologie est le plus souvent iatrogène : chez l'immunodéprimé, le tractus urinaire est fréquemment infecté par l'instrumentation, la cathétérisation.

III – 4 – 1 – 2 LA REACTION INFLAMMATOIRE

Elle constitue le moyen de défense non spécifique le plus important. Elle intervient lorsque la levure a franchi ces barrières naturellement ou à la suite d'effractions mécaniques par exemple. Son implantation dans le tissu sous-cutané ou sous-épithélial entraîne le déclenchement de la réaction inflammatoire.

- Les cellules de la réaction inflammatoire :

Les polynucléaires neutrophiles

Les polynucléaires neutrophiles constituent les facteurs essentiels de la défense de l'organisme contre le développement de nombreux pathogènes et contre les levures du genre *Candida* en particulier. Une neutropénie inférieure à 500 éléments par mm³ est considérée comme un facteur de risque candidosique majeur.

Les monocytes

Les monocytes vont se transformer en monocytes activés ou en macrophages au niveau tissulaire. Outre leur fonction d'épuration, les macrophages initient la réponse lymphocytaire immune en présentant les antigènes fongiques aux lymphocytes voisins.

- La phagocytose

L'efficacité de ces deux types cellulaires, particulièrement impliqués dans la défense antifongique, est largement sous la dépendance des cytokines libérées par les cellules T. La migration des cellules du compartiment vasculaire au compartiment interstitiel, siège de l'infection, se fait le long d'un gradient de facteur chimiotactique. Il y a ensuite adhésion de la levure à la cellule puis phagocytose et formation d'un phagolysosome; certains facteurs favorisent cette phagocytose : les IgG et les facteurs C3 du complément lorsqu'ils sont présents à la surface du champignon ; les macrophages et les polynucléaires neutrophiles ont des récepteurs spécifiques pour les fragments Fc des IgG et des IgM et pour le C3.

Si les cellules phagocytaires participent à l'évidence aux mécanismes de défense vis à vis du groupe des champignons opportunistes sous leur forme levure, par contre, les formes invasives mycéliennes, trop grandes pour être ingérées nécessitent d'autres mécanismes de clairance permettant la résistance de l'hôte. Les polynucléaires neutrophiles et les macrophages vont adhérer aux mycéliums et libérer différents métabolites (activité myéloperoxydasique, métabolites oxydatifs) entraînant la destruction de la membrane fongique. Ils sont en effet incapables de les ingérer.

La production de mycélium est donc un facteur important mais non essentiel de virulence dans la pathogénicité du *Candida*.

- Le système du complément

Il est constitué d'un ensemble de protéines qui vont moduler le processus inflammatoire. Certaines de ces protéines sont des facteurs opsonisants et chimiotactiques.

III – 4 – 2 MOYENS SPECIFIQUES

Le macrophage est la plaque tournante du système de défense anti-*Candida* ; outre ses capacités de phagocytose, il peut présenter les structures antigéniques aux cellules

lymphocytaires voisines et initier ainsi la réponse spécifique. Celle-ci peut être de deux types, soit à médiation cellulaire (lymphocyte T), soit à médiation humorale.

III – 4 – 2 – 1 IMMUNITE A MEDIATION CELLULAIRE

Les macrophages, après avoir phagocyté et remanié les antigènes fongiques, vont les présenter aux lymphocytes T en association avec les antigènes du système HLA classe 2. Les lymphocytes alors activés sous l'influence de différentes cytokines vont proliférer. Les lymphocytes T8 cytotoxiques, en collaboration avec les lymphocytes T4 (helper), seront les effecteurs de la réponse à médiation cellulaire.

III – 4 – 2 – 2 IMMUNITE A MEDIATION HUMORALE

Les macrophages présentent l'antigène fongique remanié aux lymphocytes B. Ceux-ci, ainsi activés vont synthétiser et excréter des immunoglobulines spécifiques de l'antigène fongique. Les lymphocytes T jouent un rôle majeur dans l'activation des lymphocytes B. Les lymphocytes B activés vont acquérir les récepteurs à l'IL2. Celle-ci produite par les lymphocytes T activés dans le même temps fera proliférer le clone de lymphocytes B et stimulera la différenciation des cellules B en plasmocytes.

La réponse humorale, si elle est parfois associée à une évolution favorable de l'affection, ne semble cependant pas impliquée au niveau des mécanismes effecteurs, non plus d'ailleurs que l'activation du complément. Mais le rôle de l'immunité à médiation humorale dans les infections à *Candida albicans* est un sujet très controversé [9]. Certaines publications notent l'importance de l'immunité à anticorps dans les candidoses tandis que d'autres auteurs la négligent. L'étude de la production d'anticorps spécifiques pourra être utilisée dans un but diagnostique et fera l'objet de cette thèse.

Ainsi la réponse immunitaire anti-*Candida* semble être essentiellement à médiation cellulaire.

IV - MANIFESTATIONS CLINIQUES DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES

Le cadre des candidoses systémiques se heurte à un problème de définition : candidoses invasives, systémiques, disséminées, profondes, viscérales sont autant de termes qui témoignent d'une difficulté de classification.

Le terme de candidose systémique regroupe donc les candidoses septicémiques avec hémocultures positives et/ou les candidoses viscérales pour lesquelles l'infection s'est produite le plus souvent par voie hématogène. Mais des candidoses profondes peuvent aussi ne pas résulter d'une dissémination hématogène.

Les candidoses profondes ont pris une des premières places en pathologie infectieuse, en particulier dans les unités de Soins Intensifs. Pittet et Solomkin considèrent également les candidoses en réanimation comme des infections hématogènes ou non hématogènes et ont établi une classification (voir tableau 4 en *annexe 5*) [46].

Pour Gouin et Viggiano [17] les candidoses systémiques comprennent les candidémies et les atteintes viscérales profondes avec ou sans hémocultures positives.

Pour le CDC (Centers for Disease Control, Atlanta), les critères d'infection à *Candida albicans* sont les suivants : isolement de *Candida albicans* dans un liquide biologique normalement stérile ou dans une biopsie, dans un contexte clinique évocateur.

Les manifestations cliniques des candidoses systémiques sont dénuées de spécificité. Une hyperthermie est présente dans 80% des cas, de degré et d'aspect très variable, l'hyperleucocytose dans 50% des cas environ. L'interprétation en est mal aisée chez un patient potentiellement exposé à une infection bactérienne ou qui peut associer infection bactérienne et infection fongique.

Le tableau clinique d'une candidose systémique est extrêmement variable allant d'un état stable à un état de choc avec défaillances viscérales multiples.

IV – 1 LE SYNDROME SEPTICEMIQUE VRAI

Ce syndrome septicémique vrai se traduit par une levurémie, laquelle se définit par l'isolement d'une espèce pathogène de *Candida* à partir d'au moins une hémoculture. Une hémoculture positive à levure a ainsi une valeur diagnostique reconnue [25]. Elle peut témoigner aussi bien d'une levurémie que d'une dissémination, mais une mortalité de 38%

des patients attribuée à la candidémie souligne la gravité pronostique qui lui est liée [65]. C'est au cours de différents tableaux cliniques sans spécificité mais qui incitent à rechercher une infection profonde, bactérienne ou fongique, d'ailleurs fréquemment intriquées, qu'une candidémie est constatée. Le plus souvent, elle survient lors d'un pic thermique chez un patient ayant une fièvre persistante malgré l'administration d'une antibiothérapie à large spectre, mais elle peut également survenir lors d'une hypothermie brutale. Chez des patients recevant une corticothérapie systémique, les modifications thermiques peuvent être masquées, seule une dégradation de l'état général incite alors à rechercher une infection profonde. L'examen du patient reste capital dans toutes ces situations pour évaluer la gravité de l'état septique qui peut se compliquer d'un choc septique ou d'une coagulation intra vasculaire disséminée (CIVD) aboutissant à des lésions des organes vitaux.

IV – 2 MANIFESTATIONS PATHOGENIQUES CUTANÉES ET/OU OCULAIRES

IV – 2 – 1 MANIFESTATIONS CUTANÉES

Elles ont une grande valeur étiologique, lorsqu'elles s'associent à des myalgies diffuses, et certains auteurs accordent une valeur diagnostique particulière à la triade fièvre-éruptions cutanées-myalgies sur un terrain à haut risque. La biopsie cutanée peut concourir au diagnostic précoce. Ces manifestations cutanées sont constituées d'une éruption à éléments monomorphes, le plus souvent maculopapuleux parfois prurigineux, de couleur rose à rouge. Elles siègent essentiellement sur le tronc et leur nombre va de l'unité au "rash" disséminé. Elles sont à distinguer des candidoses cutanées primitives et correspondent à un infiltrat inflammatoire dermique au sein duquel les espèces *Candida tropicalis* et *Candida albicans* sont le plus souvent isolées. L'éruption apparaît au début de la septicémie et disparaît après traitement.

IV – 2 –2 MANIFESTATIONS OCULAIRES

Elles peuvent se rencontrer au cours des septicémies à *Candida* mais aussi au décours d'une chirurgie oculaire par contamination peropératoire. Du point de vue clinique, la lésion la plus caractéristique et la plus fréquente est la chorioretinite. Elle donne au fond d'œil des taches cotonneuses blanc-jaunâtre à bord net, bombant dans le vitré et cachant plus ou moins les vaisseaux rétiens, uni ou bilatérales, uniques ou multiples. On peut également rencontrer une extension au vitré, une panophtalmie avec pronostic visuel compromis ou encore une uvéite antérieure.

Les signes oculaires, plus fréquemment observés avec *Candida albicans* qu'avec les autres espèces de *Candida*, ne sont trouvés que chez 10 à 30 % des patients ayant une septicémie candidosique et pratiquement jamais en cas de neutropénie. De plus un délai de plusieurs semaines peut séparer une fongémie de l'apparition des signes cliniques. En revanche, des lésions caractéristiques au fond d'œil témoignent d'une atteinte pluriviscérale. Cet examen permet donc d'établir le diagnostic de candidose profonde. Il doit être réalisé systématiquement et précocement chez les patients suspects d'infection candidosique.

IV – 3 AUTRES LOCALISATIONS TISSULAIRES

Ces atteintes viscérales sont de diagnostic difficile et requièrent des investigations plus complexes ou agressives (radiographies, ponctions ou biopsies)

IV – 3 –1 CANDIDOSES CARDIAQUES

En ce qui concerne les atteintes cardiaques, les trois tuniques peuvent être touchées avec une localisation endocardique préférentielle. La localisation endocardique est la plus fréquente et la plus grave [60]. L'endocardite du cœur gauche est une complication du traitement d'une endocardite bactérienne ou survient sur prothèse

valvulaire. Cette endocardite postopératoire se constitue à bas bruit et survient habituellement dans les deux mois suivant l'intervention. Le diagnostic est évoqué sur les signes classiques d'endocardite (purpura, hypersplénisme, panaris d'Osler...) ou sur l'apparition d'un souffle cardiaque, d'un dysfonctionnement de la valve, d'embolisations septiques artérielles (en particulier rétinienne), mais ces symptômes peuvent manquer. L'échographie visualise des végétations beaucoup plus grosses que des végétations bactériennes. Leur ablation chirurgicale est presque toujours nécessaire.

L'atteinte cardiaque est une localisation candidosique fréquente chez l'héroïnomanie, souvent déterminée par des *Candida sp* (*C.parapsilosis*, *C.tropicalis*). L'endocardite est plutôt tricuspidiennne. Un certain nombre de décès attribués à une overdose étaient le fait d'une myocardite candidosique.

Les péricardites et les myocardites sont par contre beaucoup plus rares.

IV – 3 – 2 CANDIDOSES HEPATOSPLENIQUES

Ce sont des candidoses chroniques disséminées survenant chez le patient neutropénique. Cette candidose est soit muette, soit responsable d'une hépatosplénomégalie, de troubles digestifs (nausée, vomissement, douleur de l'hypocondre droit...) avec élévation des phosphatases alcalines. L'échographie et le scanner révèlent la présence d'abcès multiples intraparenchymateux de petite taille.

IV – 3 – 3 CANDIDOSES RENALES

Le rein est une des premières cibles lors d'une levurose systémique. La clinique est généralement plus contributive au diagnostic que la biologie. Il peut exister des symptômes de cystite identiques à ceux d'une cystite bactérienne.

La cystoscopie révèle alors des pseudomembranes sur une muqueuse hémorragique ou l'existence d'un granulôme. La pyélonéphrite est le plus souvent asymptomatique mais l'insuffisance rénale incite à pratiquer une échographie ou un examen tomodensitométrique qui révèle de nombreux microabcès parenchymateux.

IV – 3 – 4 CANDIDOSES PULMONAIRES

L'envahissement du parenchyme pulmonaire par voie hémotogène se traduit par une miliaire à nodules de petite taille, disséminés ou à distribution symétrique sous-pleurale qu'objective l'examen radiologique. La symptomatologie clinique n'a rien de spécifique. La présence de blastospores et de pseudofilaments dans un lavage bronchioloalvéolaire pouvant correspondre à une extension à l'arbre bronchique d'un foyer digestif candidosique n'a qu'une valeur d'alerte. Le seul élément de diagnostic reconnu est la preuve histologique.

IV – 3 – 5 AUTRES ATTEINTES VISCERALES

Les candidoses neuroméningées [56,57] sont rares, le plus souvent secondaires à une dissémination hémotogène responsable d'encéphalite avec microabcès, d'anévrysmes mycotiques, plus rarement de méningoencéphalite, exceptionnellement d'atteintes médullaires. Le diagnostic est difficile en raison d'une symptomatologie non spécifique. Elles sont souvent associées à d'autres atteintes systémiques, notamment aux endocardites.

Les atteintes articulaires également sont rares [56], favorisées par la présence de prothèse, observées le plus souvent au décours d'une septicémie.

Les localisations osseuses quant à elles peuvent se manifester des mois après la sortie de l'hôpital et dans ce cas les atteintes vertébrales sont prédominantes. La clinique peu spécifique se résume souvent à une douleur isolée. L'imagerie radiologique met en évidence une lyse osseuse. Le diagnostic de certitude est confirmé par l'isolement de la levure à partir d'une biopsie du foyer osseux.

IV – 4 CANDIDOSES PROFONDES DITES « NON HEMATOGENES »

Des candidoses profondes peuvent ne pas résulter d'une dissémination hémotogène même si elles sont moins fréquentes que celles issues de dissémination hémotogène.

IV – 4 – 1 PERITONITE

Elle complique surtout la dialyse et la chirurgie abdominale. L'isolement des *Candida* d'un liquide de dialyse est aisé. Il peut signifier une simple contamination, le patient apyrétique ne présente alors aucun signe de péritonite et le liquide péritonéal se stérilise en 48 heures de lavage continu. S'il s'agit d'une péritonite, les symptômes habituels sont présents : liquide purulent, ileus paralytique, fièvre. Les péritonites à levures dites «chirurgicales» par perforation gastro-intestinale, lâchage de sutures...sont fréquemment associées à des infections bactériennes aérobies ou anaérobies.

IV – 4 – 2 PNEUMOPATHIE

La pneumopathie primaire par voie bronchique est rare (0,2 à 0,4 % des immunodéprimés). Elle est souvent associée à d'autres complications pulmonaires et résulte d'une aspiration des sécrétions oropharyngées infectées. Les symptômes associent fièvre, polypnée, toux avec expectorations, et parfois douleurs thoraciques. La radiographie montre un infiltrat asymétrique du lobe inférieur, inhomogène, basal ou hilare sans spécificité. Seule une biopsie parenchymateuse confirme le diagnostic.

IV – 4 – 3 CHOLECYSTITE

La symptomatologie de la cholécystite associe une douleur abdominale haute à droite et un ictère. De nombreuses levures sont mises en évidence à partir de la bile ou de la vésicule biliaire ; des cultures systématiques lors d'interventions chirurgicales sont assez fréquemment positives sur des terrains alcoolotabagiques. Les complications à titre d'obstruction des voies biliaires, de gangrène, de cholangite, et d'abcès sus-hépatique se rencontrent surtout chez les immunodéprimés.

IV – 4 – 4 PYELONEPHRITE

L'atteinte rénale peut survenir par voie rétrograde. Dans ce cas il s'agit d'une complication par voie ascendante d'une infection basse, lors d'un diabète sucré, (où la colonisation vésicale est habituelle), d'une obstruction des voies urinaires, de calculs rénaux, de sondes urétrales ou de néphrostomie. Les symptômes sont identiques à ceux d'une pyélonéphrite bactérienne, parfois majorés d'un syndrome obstructif lié à l'existence de véritables boules fongiques "fungus balls" dans le bassinet ou de nécrose papillaire.

Il faut aussi noter que les patients présentant une candidurie ne développent pas forcément une candidose rénale. Ces candiduries signent le plus souvent une colonisation de la sonde ou de la vessie mais peuvent aussi être l'expression d'une infection.

IV – 4 – 5 AUTRES LOCALISATIONS

Des cas de pancréatite isolée et à un moindre degré de prostatite ont été rapportés dans la littérature.

Ces diverses localisations primaires sont autant de sources de disséminations hématogènes à considérer chez le patient à risque d'infection systémique tel qu'il a été défini.

Des candidoses superficielles peuvent aussi être à l'origine de disséminations profondes, il peut s'agir de candidoses cutanées, génitales, œsophagiennes, candidoses gastriques et intestinales, candidoses buccales (muguet).

V - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES

Le diagnostic de certitude d'une candidose profonde peut être obtenu par l'isolement et la culture de la levure à partir d'un site normalement stérile : hémoculture, ponction de liquide articulaire, ponction de LCR, biopsie d'un organe profond.

Cependant, cette situation "idéale" est rare en clinique et l'isolement de *Candida* à partir d'un épithélium ne permet pas la distinction entre colonisation et infection profonde. C'est pourquoi les techniques de recherche d'anticorps et/ou d'antigènes circulants ont été développées, dans l'espoir de faciliter le diagnostic de candidose disséminée.

L'autopsie systématique d'une population d'immunodéprimés permet de quantifier la difficulté diagnostique : l'infection fongique n'est affirmée in vivo que dans moins de 25% des cas [21]. Les moyens biologiques de diagnostic sont donc actuellement insuffisants. Ils manquent surtout de sensibilité et ne permettent pas un diagnostic assez précoce d'infection systémique pour mettre en place un traitement antifongique efficace.

V – 1 DIAGNOSTIC DIRECT

L'examen mycologique est la première étape du diagnostic biologique des candidoses systémiques. Son interprétation diffère selon le site d'isolement.

V – 1 – 1 LES HEMOCULTURES

La négativité des hémocultures ne peut faire écarter le diagnostic. En effet, seulement environ 50% des candidoses multi-viscérales ont des hémocultures positives [22]. Et ceci pour deux raisons : une décharge épisodique et en faible quantité des éléments fongiques ainsi qu'une performance insuffisante des milieux et systèmes d'hémoculture. L'adaptation des automates conçus pour la bactériologie et dont le principe est fondé sur

une appréciation radiométrique ou spectrographique de la croissance des micro-organismes a permis de réduire les délais de positivité.

Le délai de positivité des cultures dépend des systèmes utilisés ; les plus courants sont le système BACTEC utilisant la détection du CO₂ témoin de la croissance microbienne par spectrophotométrie infrarouge (Becton Dickinson Instrument System) ou le système ISOLATOR (Wampole Laboratories). Ce délai varie entre deux et six jours.

D'après une étude multicentrique en 1994 et 1995 portant sur 25 centres hospitaliers français [53], on note la prédominance de *C.albicans* (55%). Cette espèce est actuellement en diminution au profit d'autres espèces de *Candida*, en particulier *C.tropicalis* (7%) et *C.parapsilosis* (12%) dont la fréquence est en augmentation dans les hémopathies malignes, de *C.krusei* (3%) souvent responsable de colonisation des cathéters et de *C.glabrata* (12%) dont la résistance au kétoconazole semble favoriser son développement dans le tube digestif, point de départ ultérieur de dissémination.

V – 1 – 2 LES PRELEVEMENTS PROFONDS

S'il s'agit de sites normalement stériles, l'isolement de levures doit toujours être considéré, en premier lieu, comme le résultat d'un développement pathogène à intégrer dans le diagnostic clinique.

Le recours à des biopsies est loin d'être toujours raisonnablement possible chez des malades en état précaire. Cependant, la mise en évidence de levures bourgeonnantes et/ou de filaments mycéliens dans les tissus des organes profonds d'un patient à risque est hautement significative : LCR, liquide d'ascite, liquide articulaire, prélèvements biopsiques. L'invasion tissulaire par l'espèce *Candida* provoque typiquement une réaction inflammatoire aiguë puis la formation de microabcès. Parmi les cellules de l'inflammation prédominent les polynucléaires neutrophiles ; on note aussi la présence de lymphocytes et de monocytes. Chez les patients neutropéniques, la réponse inflammatoire est faible ou nulle.

V – 1 – 3 PRELEVEMENTS PERIPHERIQUES

S'il s'agit de sites normalement colonisés par les levures, leur mise en évidence à l'examen direct ou en culture est un argument nécessaire, mais souvent insuffisant pour affirmer leur pathogénicité. Rentrant dans ce cadre les prélèvements buccaux, vaginaux, de crachats, de selles, mais également les prélèvements d'urines, de liquides bronchoalvéolaires.

L'interprétation diagnostique de ce type de prélèvements est difficile et nécessite une interprétation clinique. L'appréciation quantitative d'une colonisation candidosique dans des prélèvements tels que les urines, les expectorations, les selles...ne permet pas d'affirmer une dissémination systémique de ce champignon.

En revanche, l'isolement simultané de levures dans plusieurs sites ou l'isolement répété de levures au niveau d'une cavité drainée (plèvre, péritoine, médiastin...) particulièrement à la suite d'un acte chirurgical et chez les sujets à risque, doivent constituer un signal d'alarme et évoquer de principe une candidose profonde lorsque s'associent des signes généraux.

Bien que d'une grande valeur diagnostique, les techniques d'isolement et d'identification soulèvent le problème du délai de réponse souvent trop long et d'une interprétation difficile. Ceci souligne l'intérêt des méthodes de diagnostic immunologique.

V – 2 DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE

Il s'adresse soit à la détection d'anticorps spécifique, soit à la détection d'antigènes ou de métabolites fongiques présents dans les divers liquides biologiques de l'organisme.

V – 2- 1 RECHERCHE D'ANTIGENES ET DE METABOLITES

La recherche d'antigènes ou de métabolites circulants est une approche intéressante, en particulier chez les immunodéprimés, afin de réaliser un diagnostic rapide de candidose profonde, avant l'apparition éventuelle d'anticorps spécifiques.

- Les mannanes :

Différentes techniques dont le système PASTOREX (Sanofi Diagnostics Pasteur) sont utilisées pour rechercher les mannanes pariétaux des *Candida*. Ils circulent sous forme d'immuns complexes et leur dissociation peut se faire grâce à la chaleur ou à l'utilisation d'enzyme. Les différentes études concernant le PASTOREX montrent une bonne spécificité (>90%) mais une sensibilité faible (52%) [23].

- Glycoprotéine sensible à la chaleur :

La mise en évidence d'une glycoprotéine circulante sensible à la chaleur, (30mn, 56°) a permis le développement du système CANDTEC (Ramco Laboratories, Texas, USA) utilisant l'agglutination de particules de latex sensibilisées par un anticorps polyclonal anti- *C. albicans*. Au seuil de 1/8, la sensibilité est de seulement 40% [31]. Ce test présente de plus des réactions faussement positives en présence du facteur rhumatoïde ou lors de cryptococcose.

- Protéine de 47 kDa (Heat-Shok Protein) :

Matthews et coll [36,37] ont isolé par chromatographie d'affinité à partir de sérums de malades, une protéine de 47 kDa. Cette protéine spécifique de l'espèce *C.albicans*, est présente dans la blastopore et dans la forme mycélium. On la retrouve dans le cytoplasme et la paroi. Une technique immuno-enzymatique en "dot" a été mise au point pour la recherche de cette protéine dans le sérum. Elle ne montre pas une sensibilité supérieure aux techniques précédentes.

- Protéine de 48 kDa (Enolase) :

Strockbine et coll ont utilisé la chromatographie d'échanges d'ions afin d'obtenir une fraction d'antigènes cytoplasmiques de *C. albicans* contenant principalement une protéine de 48 kDa ayant une activité enzymatique de type émolase [58]. La détection de cette protéine est une technique dont la sensibilité a été évaluée à 54% [63].

- Métabolites :

La détection de métabolites spécifiques de *Candida* tels que le mannose et l'arabinitol par chromatographie en phase gazeuse ou par méthode ELISA peut permettre le diagnostic des candidoses profondes. Toutefois, la quantité de mannose libre augmente chez certains diabétiques et l'accumulation d'arabinitol chez les insuffisants rénaux oblige à utiliser le rapport arabinitol/créatinine. Ces techniques manquent également de sensibilité.

En somme, quelque soit la technique utilisée (antigénémie ou recherche de métabolites), la sensibilité n'est pas supérieure à celle des hémocultures.

V – 2 RECHERCHE D'ANTICORPS

Il est connu de longue date que tous les individus sains possèdent des anticorps sériques anti-*C. albicans*, parfois en quantité importante. Ces anticorps résultent du portage saprophytique de *C. albicans*, de candidoses digestives infracliniques, de séquelles sérologiques de candidoses anciennes, de réactions croisées avec des micro-organismes pathogènes ou des levures utilisées en industrie alimentaire (ex : *Saccharomyces cerevisiae*).

Plus d'une centaine de méthodes sérologiques ont été décrites pour le diagnostic de candidoses, mais très peu sont disponibles commercialement. Chacune réalise un compromis plus ou moins réussi entre sensibilité, spécificité, rapidité, et coût. Schématiquement, on peut distinguer deux types de méthodes :

- Les méthodes s'adressant à des antigènes totaux, figurés ou solubles, riches en mannanes (immunofluorescence indirecte, agglutination directe, hémagglutination passive, tests immunoenzymatiques, électrosynérèse en gélose...). Ces méthodes proposent un seuil quantitatif discriminant (généralement exprimé sous la forme d'un titre du sérum ou d'une valeur absolue du test) au-delà duquel la candidose est probable. Des taux très élevés sont toujours à prendre en considération, sous réserve d'une bonne standardisation ; ces techniques généralement simples et peu onéreuses fournissent un élément de surveillance des patients à risque.

- Les méthodes s'adressant à des antigènes cytoplasmiques suscitent préférentiellement la synthèse d'anticorps durant les processus pathogènes. Plusieurs antigènes, essentiellement protéiques et cytoplasmiques, présentant ces caractéristiques de masse moléculaire relative variant entre 54 000 et 29 000 ont été décrits. Les mieux caractérisés sont l'énolase vacuolaire de 48 kDa [34,58] et la sous unité 47 kDa de la HSP 90 [34]. Les anticorps dirigés contre ces protéines, mis en évidence en "western blot" [58], permettent indéniablement un diagnostic plus spécifique mais difficile à mettre en œuvre en pratique courante.

La présence d'anticorps anti-antigènes cytoplasmiques serait théoriquement plus en faveur d'une candidose invasive, la stimulation du système immunitaire par ces antigènes n'étant possible qu'après phagocytose des levures par les polynucléaires neutrophiles et les macrophages au cours de l'invasion tissulaire.

La recherche des anticorps anti-*Candida* pose donc différents problèmes : la diminution de l'immuno-compétence de la plupart des sujets atteints oblige à augmenter la sensibilité des techniques : d'autre part, la cinétique d'apparition des anticorps spécifiques est imparfaitement connue et leur présence à un taux significatif n'est pas obligatoirement liée à une candidose profonde.

VI - TRAITEMENT DES CANDIDOSES SYSTEMIQUES

VI – 1 PREVENTION

Le traitement préventif a pour but la décontamination de tous les sites, en particulier du tube digestif. Si le risque d'infection candidosique, candidémie ou forme disséminée, n'est pas supprimé, il apparaît ainsi franchement diminué dans de nombreuses études. La prophylaxie anti-*Candida* ne se discute pas chez le neutropénique, et, est couramment mise en œuvre dans les services d'oncohématologie. Son utilité est reconnue dans la plupart des services pratiquant des greffes d'organes, mais elle demeure un sujet de controverse dans d'autres services traitant des patients pourtant exposés (unités de soins intensifs médicales et chirurgicales en particulier). Les modalités d'administration restent imprécises, aucun schéma thérapeutique ne définit les doses et la durée qui restent à l'appréciation de l'utilisateur.

VI – 2 INFECTIONS DEFINIES

Un traitement par voie systémique est requis mais la multiplicité des espèces, des terrains, des manifestations cliniques, fait qu'il n'existe aucun schéma directeur. Une bonne connaissance des antifongiques disponibles prenant en compte leur spectre d'activité, leur biodisponibilité et leur biodiffusion tissulaire, leurs effets secondaires et leurs interactions médicamenteuses, leur synergie ou leur antagonisme vis-à-vis d'autres antifongiques est nécessaire dans la prise d'une décision thérapeutique en fonction de l'état du patient et de l'agent responsable [12,13,19].

Le traitement médical des candidémies nécessite l'utilisation d'antifongiques à diffusion systémique. L'antifongique de référence est représenté par l'Amphotéricine B (Fungizone ®). Ces dernières années, l'industrie pharmaceutique a mis sur le marché de nouveaux antifongiques, notamment les triazolés (Triflucan® et Sporanox®) qui ont un spectre large, une bonne tolérance, des bonnes diffusion et biodisponibilité per os. Enfin, la

5-Fluoro-Cytosine (Ancotil ®) doit être utilisée en association avec l'Amphotéricine B ou le fluconazole.

VI – 2 – 1 L'AMPHOTERICINE B :

Il agit par rupture de l'intégralité de la membrane fongique. Son spectre est très large et il n'existe quasiment pas de souches résistantes. Sa toxicité constitue son principal problème : toxicité rénale quasi-constante réversible et proportionnelle à la dose totale, toxicité veineuse, réactions anaphylactoïdes. Divers schémas d'administration sont proposés (dose cumulative <8mg/kg)

VI – 2 – 2 LE FLUCONAZOLE :

Il est très actif sur *Candida spp* sauf sur *Candida krusei* en raison d'une résistance naturelle. L'enzyme cible est la C14-déméthylase qui permet la synthèse d'un stérol composant essentiel de la membrane fongique. Une dose de charge de 10 mg/kg/j peut initier le traitement pendant 3 à 5 jours, puis 400 mg/j pendant 10 à 15 jours [18].

L'existence de localisations secondaires, oculaires ou endocarditiques contre-indiquent pour l'instant son emploi.

Quatre essais ont comparé l'efficacité de l'amphotéricine B à celle du Fluconazole.

Rex et coll [50] ont comparé dans une étude multicentrique randomisée (206 patients candidémiques) 103 patients sous fluconazole 400mg/j à un groupe de 103 patients ayant reçus 0,5 à 0,6 mg/kg/j d'amphotéricine B. Ils ne retrouvent pas de différence significative sur la réponse clinique et la mortalité. La population ne présente pas d'immunodépression, ni de neutropénie, 59% des souches concernent *Candida albicans*.

Nguyen et coll [40] ont réalisé une étude multicentrique non randomisée comparant 294 patients candidémiques non neutropéniques. Aucune différence significative statistiquement n'est retrouvée sur la mortalité à 7, 14, 30 jours.

Annaissie et coll [1] ont réalisé une étude rétrospective non randomisée avec fluconazole 200-600 mg/j pendant 13 jours versus amphotéricine B 0,3-1,2 mg/kg/j pendant 10 jours sur 2 populations de patients cancéreux. Aucune différence significative n'est retrouvée sur la réponse clinique et mycologique. 80% des candidémies proviennent d'un cathéter.

Phillips et coll [45] ont comparé dans une étude multicentrique randomisée (106 patients candidémiques) 50 patients sous fluconazole (avec dose de charge de 800 mg) et 53 patients sous amphotéricine B (0,6 mg/kg). Les auteurs ne trouvent pas de différences significatives sur la réponse clinique et la mortalité.

NOTRE ETUDE

I - BUT DE NOTRE ETUDE

Devant la difficulté du diagnostic direct des candidoses systémiques, les recherches se sont portées sur le développement de techniques sérologiques : la mise en évidence des anticorps et les antigénémies. Comme nous l'avons vu précédemment, les antigénémies se sont avérées très peu sensibles. Les techniques sérologiques mettant en évidence des anticorps anti-*Candida* sont donc les plus couramment utilisées. Elles présentent cependant trois inconvénients majeurs :

L'apparition des anticorps ou l'augmentation de leur titre est toujours différée dans le temps (quelques jours) par rapport au début de l'infection. Ce délai est dans de nombreux cas trop long (certains malades ne survivant pas au-delà de quelques jours face à un syndrome septicémique aigu).

Il est difficile d'interpréter les titres d'anticorps spécifiques obtenus. Sont-ils les témoins d'une infection profonde ou tout simplement d'une infection superficielle liée au commensalisme des *Candida* ? Si elles ne sont pas fortement positives, les sérologies *Candida* seront donc interprétées sur des variations de titre entre deux prélèvements distants de quelques jours. Ceci retarde d'autant plus le diagnostic.

Les candidoses disséminées font parties des infections opportunistes survenant chez les immunodéprimés. Par conséquent, la détection des anticorps chez ces patients sera rendue d'autant plus difficile que leur système immunitaire est déprimé.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'intérêt du dosage sérique des IgM anti-*C. albicans* pour le diagnostic d'infection à *C. albicans*.

La commercialisation de ce kit ELISA, technique très sensible, en lecture automatisée, nous a suggéré de la comparer aux deux techniques déjà utilisées dans le service de Parasitologie du CHU Rangueil à Toulouse que sont l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'immunoélectrophorèse rapide (IER). Ceci dans l'espoir d'améliorer la qualité du diagnostic immunologique et l'efficacité du suivi biologique des malades.

Nous avons donc réalisé une étude rétrospective à partir de sérums de malades hospitalisés dans deux services de réanimation respiratoire.

II - MATERIELS ET METHODES

II - 1 DESCRIPTION DES TECHNIQUES

II - 1 - 1 L'IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE (IFI)

Les antigènes immobilisés sur les spots des lames sont préparés à partir d'une suspension de levures *C.albicans* obtenues à partir de cultures sur milieu de SABOURAUD. Les sérums testés sont auparavant dilués au 1/200, 1/400, 1/800... dans du PBS. Ils sont ensuite déposés sur les spots et incubés 30 mn à 37°C, la lecture s'effectue au microscope à fluorescence. Le titre rendu correspond à la dernière dilution positive de sérum. Cette technique permet donc la mise en évidence d'anticorps essentiellement anti-mannanes (antigènes de paroi) sans distinction d'isotypes IgG, IgM et IgA. Toutefois la majorité des anticorps détectés sont de nature IgG étant donné la prépondérance de cet isotype dans le sérum par rapport aux IgA et surtout aux IgM [30]. Un taux de 1/800 est considéré comme significatif mais il est préférable d'interpréter des variations de titres sur deux prélèvements.

II - 1 - 2 L'IMMUNO-ELECTROPHORESE RAPIDE (IER)

Le premier temps de cette technique (Beckman) consiste en une migration dans un gel d'agarose d'un extrait antigénique de *Candida* sous l'influence d'un champ électrique (12mn sous 100 Volts). Les antigènes utilisés sont commercialisés par le laboratoire Sanofi/Diagnostics Pasteur(N°52952). Ils sont de deux types et sont mélangés :

- les antigènes métaboliques, obtenus à partir de filtrat de cultures en milieu liquide de SABOURAUD à + 30°C,
- les antigènes somatiques ou cellulaires obtenus à partir de broyats de cultures agités à 30°C en milieu liquide en milieu de SABOURAUD.

Dans un deuxième temps, les sérums sont déposés dans des gouttières parallèlement à la zone de migration de l'extrait antigénique. L'ensemble est incubé 24

heures ; par diffusion dans le gel (accélérée par la mise sous presse), il se forme en présence d'anticorps spécifiques des arcs de précipitation. L'IER ne détecte pas directement une quantité d'anticorps mais plutôt la réponse multiclonale en fonction de sa stimulation par les différents antigènes des *Candida*. Un nombre d'arcs supérieur à 1 est considéré comme significatif. Les arcs ne disparaissent que lentement après un épisode infectieux ; ils peuvent donc être témoin d'une infection ancienne.

II - 1 - 3 LE CANDIQUANT DES LABORATOIRES BIOMERICA

Sous ce nom est regroupé un ensemble de trois kits de réactifs permettant le dosage par une technique ELISA des isotypes IgM, IgG, IgA anti-*Candida* dans le sérum. Nous n'avons utilisé que le kit IgM. Un extrait antigénique constitué d'un mélange de protéines cytoplasmiques de *C.albicans* est purifié et immobilisé à la surface des cupules.

D'autre part, les sérums testés sont dilués au 1/200 dans un tampon fourni dans le kit. Ils sont ensuite déposés dans les puits et incubés à la température du laboratoire pendant une heure. Après lavage, une immunoglobuline anti-IgM humaine conjuguée à une enzyme est rajoutée. L'ensemble est incubé 30 minutes à température ambiante. La dernière étape consiste en l'addition d'un substrat permettant le développement en 10 minutes d'une coloration dont l'intensité est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 450 nm. La réaction inclut un témoin négatif, un témoin positif, un blanc réactif et 5 points de gamme permettant de tracer une droite sur un papier semi-logarithmique. Les densités optiques lues au spectrophotomètre sont ainsi converties en unités/ml.

Le test qualifie un sérum de positif pour un titre supérieur à 25 unités/ml, de négatif pour un titre inférieur à 12,5 unités/ml et de douteux pour un titre compris entre 12,5 et 25 unités/ml.

Dans le laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'hôpital de Ranguel, il a été réalisé une étude prospective en 1997 en vue de la validation de ce kit pour le diagnostic à grande échelle des candidoses afin de fournir aux cliniciens un élément diagnostic supplémentaire [39].

De cette étude, il résulte que le seuil de positivité donné par le laboratoire BIOMERICA est apparu très bas.

Après avoir testé des sérums de malades et de sujets sains (donneurs de sang), le seuil de positivité a du être porté à 90 U/ml.

Les IgM semblent plus spécifiques des candidoses profondes.

L'interaction du facteur rhumatoïde avec les réactifs du kit a conduit à supprimer préalablement les facteurs rhumatoïdes de tous les sérums à tester. Tous les sérums sont traités par un absorbant RF-ABSORBANT ® des laboratoires BEHRING.

De plus les reproductibilités et répétabilités ont été étudiées. Concernant la reproductibilité, les coefficients de variations ont été les suivants : 20% pour des sérums à valeur basse, 13% pour ceux à valeur moyenne, 15% pour ceux à valeur élevée. Un sérum a été testé 10 fois dans la même série, le coefficient de variation trouvé a été de 6%.

Aucune réaction croisée n'a été observée avec les sérums de malades atteints de cryptococcose (n=4), ainsi que les sérums de malades atteints d'aspergillose (n=11) [39].

II - 2 RECRUTEMENT DES PATIENTS

Notre étude comporte deux parties. Une première partie est une étude préliminaire ayant pour but l'évaluation des IgM et leur comparaison par rapport aux techniques sérologiques déjà citées. La deuxième partie consistera en une étude plus approfondie du dosage des IgM anti-*Candida albicans*, leur cinétique et leur intérêt diagnostique.

II - 2 - 1 ÉTUDE PRELIMINAIRE

Entre octobre 1997 et janvier 1999, tous les sérums adressés au laboratoire de mycologie pour diagnostic sérologique de candidose ont été testés par les trois techniques citées : IFI, IER et ELISA IgM.

Elle a été effectuée sur 626 sérums concernant 232 patients hospitalisés dans deux services de réanimation respiratoire des Hôpitaux de Toulouse : Service de Réanimation Respiratoire de l'hôpital Purpan (Pr. CATHALA B., Pr. GENESTAL M.) et le Service de Réanimation Respiratoire de l'hôpital Rangueil (Pr. VIRENQUE M., Dr. MAZEROLLES M.).

II – 2 - 2 SECONDE ETUDE

Seuls les patients pour lesquels nous disposions de plusieurs sérums ont été retenus. Il s'agit de 116 patients hospitalisés dans les deux services de réanimation respiratoire cités.

Nous disposions d'au moins deux sérums à une semaine d'intervalle pour chaque patient. Il s'agit de patients hospitalisés plus de 7 jours dans le service.

Les patients ont été répartis en 3 groupes, négatifs, colonisés, infectés. La répartition entre les différents groupes s'est faite à partir des données cliniques et paracliniques. Les analyses mycologiques des différents prélèvements et les techniques sérologiques ont été réalisées au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU Rangueil à Toulouse.

Certaines analyses mycologiques sont réalisées de manière systématique. En effet, les prélèvements réalisés dans les services de réanimation en routine une fois par semaine sont les urocultures et les aspirations trachéales. Si on retrouve la présence de *Candida albicans* dans les aspirations, on réalise en plus un lavage broncho-alvéolaire pour éliminer une contamination bucco-pharyngée.

Les autres prélèvements sont réalisés en fonction des points d'appel clinique. Ce sont les hémocultures, des prélèvements profonds (sinus, collection intra-péritonéale, biopsies...), prélèvements de pus, prélèvements œsophagiens, prélèvements sur cathéter. La fréquence de ces divers prélèvements est fonction du contexte clinique.

De plus, seuls les patients infectés ou colonisés par l'espèce *Candida albicans* ont été inclus dans les groupes. Les patients infectés ou colonisés par d'autres espèces de *Candida* ne sont pas rentrés dans notre étude.

Groupe I : ce groupe comprend 126 sérums de 42 patients, il y a au minimum 2 sérums par patient, séparés par au moins une semaine d'intervalle. Ces patients hospitalisés sont considérés comme des patients négatifs, ils sont ni colonisés ni infectés. Les divers prélèvements sont restés stériles et aucun critère clinique ne révélait une infection par une levure du genre *Candida*.

Groupe II : ce groupe comprend 198 sérums de 52 patients, il y a au minimum 2 sérums par patient. Ces patients sont considérés comme des patients colonisés. Seuls les patients colonisés par l'espèce *Candida albicans* sont inclus dans notre étude. La colonisation se définit par l'isolement d'un *Candida* au niveau d'un site ou de plusieurs sites de prélèvement (urines, aspirations) en l'absence de signe clinique.

Groupe III : ce groupe comprend 106 sérums de 22 patients, il y a au minimum 2 sérums par patient. Ces patients sont considérés comme des patients infectés. Comme critères d'infections candidosiques, nous avons retenu les critères cités dans le chapitre portant sur les candidoses systémiques, c'est à dire l'isolement de *C. albicans* dans un liquide biologique normalement stérile ou dans une biopsie, dans un contexte clinique évocateur. Ces candidoses pouvant résulter d'une dissémination hématogène ou non.

Si ces patients ont été colonisés ou négatifs avant d'être connus infectés, seuls leurs sérums à partir de l'infection ont été retenus pour faire partie du groupe III.

Les caractéristiques de la population sont résumées dans le tableau 5.

	Groupe I Patients négatifs n=42	Groupe II Patients colonisés n=52	Groupe III Patients infectés n=22
Age (ans)	42 ± 13	59 ± 14	52 ± 20
Sexe ratio (M/F)	28 / 14	28 / 24	13 / 9.
Motif d'hospitalisation			
Polytraumatisme	13	12	9
Post-opératoire	22	25	8
Digestif	13	16	6
Cardiovasculaire	7	8	1
Autres	2	1	1
Médecine	7	15	5

Tableau 5 : Caractéristiques de la population étudiée

II – 3 ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique des résultats a été réalisée en utilisant le logiciel de dépouillement d'enquête développé pour la Faculté de Médecine de Toulouse par le Docteur J.P.CHARLET qui est le logiciel DM 90.

Dans un premier temps a été réalisée l'analyse descriptive des variables avec calculs des paramètres classiques : moyenne, écart type, écart type à la racine, quartiles. Cette analyse a permis de vérifier le caractère gaussien des distributions et nous a poussé pour certaines variables à utiliser dans les tests une transformation logarithmique dans la mesure où la distribution d'origine était de type log normal.

Les tests qui ont été ensuite réalisés ont été pour la plupart des tests bivariés, paramétriques, classiques.

Schématiquement trois cas se sont présentés.

- Dans la recherche de liaison entre deux variables catégorielles (après éventuellement découpage en classe d'une variable continue), nous avons eu recours au test du X^2 de PEARSON sur tableau de contingence. Lorsque les effectifs l'imposaient le test exact de FISHER s'est substitué au test du X^2 .
- Lorsque nous avons confronté une variable quantitative continue, à une variable catégorielle, nous avons eu recours à des comparaisons de moyenne en utilisant selon les distributions le test du t de STUDENT sur séries non appariées, ou une analyse de variance à un facteur catégoriel, éventuellement suivi de comparaisons deux à deux par la méthode des contrastes de SCHEFFE ou le test de BEARENS-FISHER en cas de comparaisons de deux moyennes avec des variances différentes.
- Enfin l'existence d'une relation entre deux variables quantitatives a été testée et estimée par le coefficient de corrélation de PEARSON.

De plus l'intérêt diagnostique des IgM anti-*Candida albicans* dans la reconnaissance d'une candidose systémique par rapport à une colonisation a été exploré en terme de

sensibilité et spécificité avec la détermination d'une courbe R.O.C. (Receiver Operating Characteristic).

III - RESULTATS

III – 1 ETUDE PRELIMINAIRE : ETUDE DE LA VARIABLE IgM

Cette étude a été faite à partir de 626 Sérums.

La moyenne de la variable est égale à 180,83 U/ml et l'écart-type à 169,73 U/ml.

Les quartiles ont été les suivants : 68/125/230. La médiane est donc pour un taux de 125 U/ml. L'intervalle de fluctuation à 95% est quant à lui de 10 à 650 U/ml.

Devant ces résultats, il a été décidé de transformer la variable IgM en $\text{Log} (\text{IgM} + 1)$ pour obtenir une distribution gaussienne. On appellera la nouvelle variable après transformation logarithmique IgML. Les nouveaux paramètres descriptifs de variables sont résumés dans le tableau 6.

	IgM	IgML [IgML = Log (IgM +1)]
Moyenne	180,83	4,7792
Ecart-type	169,73	1,0404
Ecart-type/ racine(n)	6,7838	0,0415
Quartiles	68/125/68	4,2341/4,8363/5,4424
Int de fluctuation à 95%	10-650	2,3979-6,4785

Tableau 6 : Paramètres descriptifs des variables IgM et IgML.

Ainsi par transformation de la variable IgML, on obtient une moyenne géométrique de 118 U/ml et une médiane de 125 U/ml.

Ainsi à partir de notre distribution de la variable IgM, on obtient l'histogramme de la figure 1

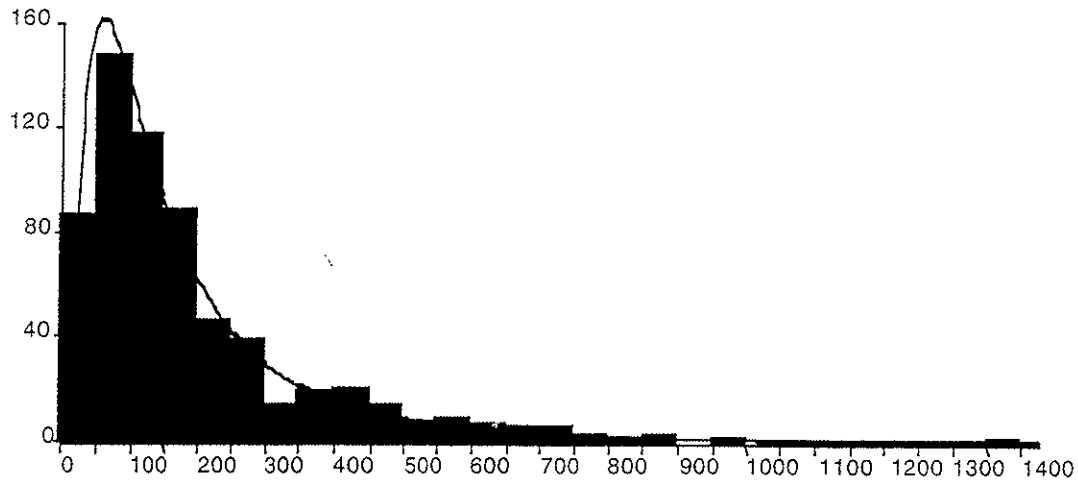


Figure 1 : distribution de la variable IgM.

Ensuite nous avons choisi d'étudier les corrélations entre nos trois techniques utilisées : IgM Candiquant®, IFI, IER par une analyse en régression par le calcul des coefficients de corrélation de PEARSON (les trois variables ayant subi une transformation logarithmique). Les résultats sont résumés dans le tableau 7.

	IgM Candiquant	IFI	IER
IgM Candiquant	1		
IFI	r = 0,38 p = 0,01	1	
IER	r = 0,37 p = 0,01	r=0,62 p=0,01	1

Avec r= coefficient de corrélation

Tableau 7 : Analyse en régression des 3 techniques

La corrélation entre IgM et IFI est faible ou non significative. Il en est de même pour la corrélation entre IgM et IER.

Au contraire les techniques IFI et IER sont bien corrélées.

Ensuite, toujours dans le but de démontrer l'apport du dosage des IgM anti *Candida albicans* par rapport aux autres techniques, nous avons regroupé les résultats d'IER et d'IFI en 2 classes numérotées 0 et 1 (négatif et positif).

Pour l'IFI, la classe 0 correspond aux résultats strictement inférieurs à 800 (négatif) et la classe 1 supérieur ou égal à 800 (positif).

Ainsi par le test de BEARENS-FISHER, on voit que les moyennes de la variable IgM sont significativement différentes dans les 2 classes de résultats d'IFI. Les moyennes d'IgM sont plus élevées quand l'IFI est positive ($p \leq 0,0001$).

Par le même test, on montre que les moyennes d'IgM sont plus élevées quand l'IER est positive, c'est à dire supérieure à 3 arcs ($p \leq 0,0001$).

La distribution de la variable titre d'IgM en fonction de la variable IFI de la figure 2 montre des discordances, surtout pour des titres élevés d'IgM où l'on voit qu'il y a des titres en IFI bas.

Ainsi la détection des IgM serait-elle plus précoce que l'IFI dans le diagnostic des candidoses ?

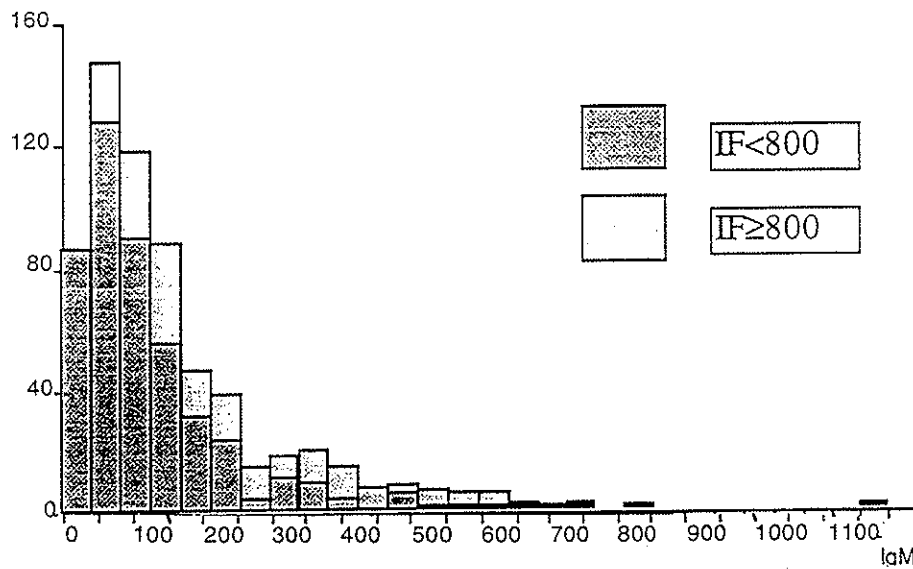


Figure 2 : Distribution de la variable titre d'IgM en fonction de la variable IFI.

La troisième étape a été de comparer les titres d'IgM aux titres obtenus en IFI et en IER. Pour cela les taux d'IgM ont été découpés en 3 classes en tenant compte des travaux antérieurs [39,51] de façon à transformer des variables quantitatives en des variables qualitatives.

< 90 U/ml : négatif

90 U/ml ≤ IgM < 300 U/ml : positif

≥ 300 U/ml : positif fort

IgM/IFI	< 800	≥ 800
< 90 U/ml	192 (31%)	18 (3%)
90 U/ml ≤ IgM < 300 U/ml	218 (35%)	94 (15%)
≥ 300 U/ml	39 (6%)	65 (10%)

Les pourcentages sont donnés par rapport au nombre total de sérums

Tableau 8 : Relations entre les variables qualitatives IgM et IFI.

Les anticorps détectés par l'IFI sont essentiellement de nature IgG, dirigés contre des antigènes de paroi, riche en mannanes. Ils apparaissent donc en théorie plus tardivement que les IgM, et persistent longtemps dans l'organisme à des taux élevés notamment au cours des candidoses cutanéomuqueuses [30]. Il en résulte une faible concordance entre les deux techniques, avec surtout des titres en IFI ou en IER bas et des IgM élevés (en caractères gras dans les tableaux 8 et 9).

Les titres en IgM apparaissent dissociés et pourraient éventuellement être discriminants car cet isotype est en principe précocement positif.

IgM/IER	< 3 arcs	≥ 3 arcs
< 90 U/ml	193 (31%)	17 (3%)
90 U/ml ≤ IgM < 300 U/ml	235 (37%)	77 (12%)
≥ 300 U/ml	67 (11%)	37 (6%)

Les pourcentages sont donnés par rapport au nombre total de sérums

Tableau 9 : Relations entre les variables qualitatives IgM et IER.

L'IFI et l'IER, sont deux techniques qui se positivent tardivement après l'épisode infectieux et restent longtemps positives et peuvent donc être les témoins d'une infection ancienne.

C'est ainsi que de nouvelles techniques se sont développées et nous avons choisi d'évaluer et d'étudier les IgM anti-*Candida albicans*, (commercialisés sous le nom de CANDIQUANT®) dans la mesure où cet isotype apparaît d'ors et déjà plus précocement positif que l'IFI ou l'IER.

Dans notre étude suivante, seuls les patients colonisés ou infectés par *C.albicans* ont été retenus. Il est à noter que d'autres patients étaient colonisés par d'autres espèces de *Candida*. Les résultats des taux d'IgM sont donnés dans le tableau 10 ci dessous.

Espèces	Site de prélèvement	IgM
<i>C.glabrata</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.glabrata</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.glabrata</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.glabrata</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.glabrata</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.glabrata</i>	aspiration	< 90 U/ml
<i>C.tropicalis</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.tropicalis</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.tropicalis</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.parapsilosis</i>	urines	≥90 U/ml
<i>C.krusei</i>	urines	≥ 90 U/ml
<i>C.pseudotropicalis(C.kefyr)</i>	urines	< 90 U/ml

Tableau 10 : Taux d'IgM des patients colonisés par des *Candida* autres que *C.albicans*

III – 2 EVALUATION ET INTERET DES IgM ANTI-*CANDIDA ALBICANS*

Dans le chapitre " Matériels et Méthodes " nous avons 3 groupes de patients. Comme mentionné dans le tableau 5, nous constatons qu'il n'y a pas de différence significative quant à l'âge des patients entre les 3 groupes.

En se basant sur les critères cliniques et mycologiques nous avons cherché à déterminer pour les patients des groupes "colonisé" et "infecté" les délais d'apparition de la colonisation et de l'infection après l'entrée dans les services. Ces délais ont été répertoriés pour chaque patient en fonction des critères cliniques et des résultats mycologiques.

Le test de Student a été utilisé pour comparer les moyennes de ce délai entre les deux groupes : il n'y a pas de différence significative entre le délai d'apparition de la colonisation et de l'infection.

Le délai d'apparition de la colonisation est de 12 jours \pm 2 jours.

Le délai d'apparition de l'infection est de 14 jours \pm 8 jours.

La cinétique des IgM anti-*Candida albicans* a été étudiée pour chaque groupe de patients. Les sérologies IgM sont faites une fois par semaine pour chaque patient.

Pour le **groupe I**, groupe de patients négatifs, nous disposons pour les 42 patients d'au moins deux sérums par patient, avec un intervalle d'une semaine entre les deux sérologies.

Les moyennes des IgM ont été comparées en séries appariées par la méthode des couples. Ainsi pour les patients du groupe I, les taux d'IgM ne varient pas significativement à une semaine d'intervalle.

Pour le **groupe II**, groupe de patients colonisés (52 patients), nous disposons d'un suivi sérologique hebdomadaire, avec pour 19 patients un suivi sur au moins 5 semaines. Par une comparaison des moyennes d'une série de variable IgM par une analyse de variance en blocs sans répétition (analyse sur un facteur répétitif), nous observons que les

taux d'IgM ne varient pas significativement dans le temps. Les taux restent stables au cours de la colonisation candidosique.

Pour le **groupe III**, groupe des patients infectés (22 patients), nous disposons également d'un suivi sérologique hebdomadaire, avec pour 9 patients un suivi sur au moins 5 semaines. Nous observons que les taux d'IgM varient significativement pendant les deux premières sérologies ($p \leq 0,05$). Les taux d'IgM augmentent significativement au début du suivi mais ne varient pas de façon significative ensuite.

Ceci pourrait être dû au fait que l'infection a été diagnostiquée et le traitement a été mis en place.

Ensuite nous avons comparé les taux d'IgM entre les 3 groupes de patients en comparant les moyennes de la variable IgM entre les trois groupes et ensuite nous avons recherché une différence entre les groupes (deux à deux) par la méthode des contrastes de SCHEFFE.

Les premières sérologies correspondent aux sérologies contemporaines du diagnostic de la colonisation et de l'infection. Les deuxièmes, troisièmes ... sont ensuite les sérologies faites à une semaine d'intervalle.

Pour les deux premières sérologies (sur deux semaines), nous obtenons des différences significatives de moyennes d'IgM ($p \leq 0,001$) entre les trois groupes. Par la méthode des contrastes, le tableau 11 reprend les différences significatives.

	1 ^{ère} sérologie	2 ^{ème} sérologie
Groupe I et II	S $p \leq 0,001$	S $p \leq 0,001$
Groupe I et III	S $p \leq 0,001$	S $p \leq 0,0001$
Groupe II et III	S $p \leq 0,05$	S $p \leq 0,05$

S : Significatif

Tableau 11 : Comparaison des IgM entre chaque groupe de patients

Les taux d'IgM sont significativement plus élevés dans les groupes II et III. De plus, concernant les deux premières sérologies les taux d'IgM sont significativement plus élevés dans le groupe III que dans le groupe II.

Pour les sérologies suivantes, nous avons procédé aux mêmes tests statistiques, mais les effectifs se réduisent dans le temps car certains patients ont quitté le service et n'ont pas eu de suivi sérologique ultérieur.

	3 ^{ème} sérologie	4 ^{ème} sérologie	5 ^{ème} sérologie
Groupe I et II	S $p \leq 0,01$	S $p \leq 0,05$	S $p \leq 0,05$
Groupe I et III	S $p \leq 0,01$	S $p \leq 0,01$	S $p \leq 0,05$
Groupe II et III	NS	NS	NS

S : Significatif NS : Non Significatif

Tableau 12 : Comparaison des IgM entre chaque groupe de patients (suite)

Les taux sont significativement plus élevés dans le groupe III par rapport au groupe I. Il en est de même dans le groupe II par rapport au groupe I. Par contre, il n'y a plus de différence significative entre les groupes II et III.

L'examen des dossiers cliniques montre que cela pourrait être du aux traitements antifongiques qui ont été mis en place.

Au total, pour le groupe I, les taux sont considérés comme négatifs (taux d'IgM inférieurs à 90 U/ml) et sont stables.

La totalité des résultats d'IgM, IFI et IER pour les patients négatifs sont repris en *annexe 6*.

Pour le groupe II, les taux sont plus élevés que les taux d'IgM du groupe I et ils sont stables dans le temps

Les taux d'IgM moyens obtenus sont de 139 ± 59 U/ml.

Les principaux sites colonisés concernant les patients de notre étude sont les urines, les aspirations bronchiques et les LBA.

La totalité des résultats d'IgM, IFI et IER pour les patients colonisés sont repris en *annexe 7*.

Pour le groupe III, les taux d'IgM sont nettement plus élevés et nous allons essayer de déterminer un seuil d'IgM permettant d'orienter le diagnostic vers une candidose systémique.

L'évaluation de l'intérêt du dosage des IgM passe par l'utilisation d'une courbe ROC, instrument d'appréciation du compromis sensibilité-spécificité, comme moyen rationnel de déterminer un seuil de décision. Le seuil de décision a été déterminé de sorte que la somme sensibilité plus spécificité soit maximale.

Sur notre population, l'aire sous la courbe obtenue à partir du logiciel DM 90 est de 0,870 et le seuil de positivité des IgM ayant la meilleure sensibilité et la meilleure spécificité pour déterminer une infection candidosique est de 280 U/ml.

Pour ce seuil de positivité à 280 U/ml, la sensibilité est de 70% et la spécificité de 89%.

La valeur prédictive positive est de 61% et la valeur prédictive négative de 90%.

Dans le groupe des patients colonisés, si on fixe le seuil de positivité à 280 U/ml, on constate que 18 patients ont dépassé ce seuil (35%). Nous pouvons penser que ces patients colonisés dépassant le seuil de 280 U/ml sont plus à risque de candidose que les

patients colonisés ayant un taux inférieur à ce seuil, puisque nous savons que la colonisation est un prérequis à la candidose systémique.

Sur les 18 patients, 5 patients ont été traités par TRIFLUCAN car ils avaient 2 sites colonisés (urines et aspirations bronchiques). Les autres patients n'ont pas eu de suivi car ils ont été orientés vers d'autres services et 4 des patients sont décédés dans le service.

Ainsi il est vraisemblable que toute élévation brutale des IgM chez un patient colonisé peut être considérée comme un risque de passage à une candidose invasive.

Les patients du groupe infecté ont tous été traités par TRIFLUCAN, car pour tous il a été diagnostiqué une candidose systémique, preuve mycologique à l'appui, ce qui a été le critère d'inclusion dans notre groupe III.

La totalité des résultats d'IgM, IFI et IER pour les 22 patients sont repris en *annexe 8*.

Nous nous proposons ensuite de reprendre la cinétique de quelques patients du groupe III. L'évolution des sérologies de 14 patients sur les 22 du groupe a été détaillée.

Concernant les graphiques, ils sont à double échelle en ordonnées, avec les IgM et les résultats d'IFI et en abscisses ce sont les jours à partir de la date d'entrée dans le service de réanimation.

La date du prélèvement mycologique signifiant une candidose systémique est représentée par ▼

La date du prélèvement mycologique signifiant une colonisation candidosique est représentée par √

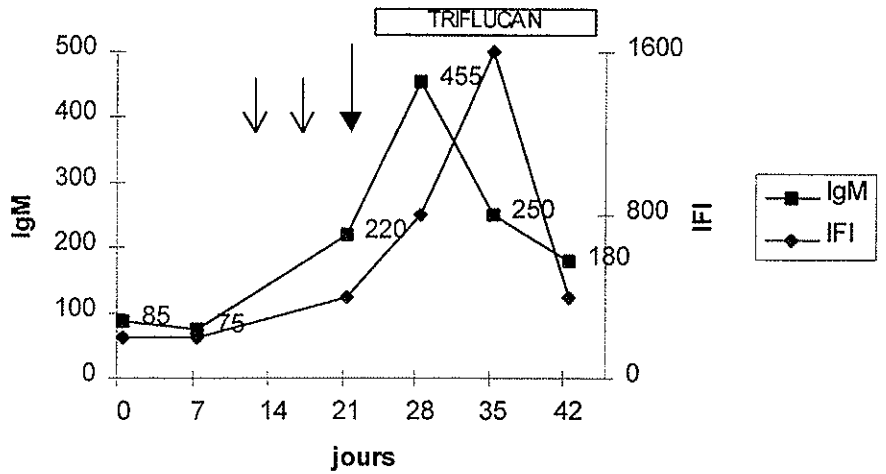
La mise en place du traitement antifongique est également représentée.

Patient 1

68 ans / M
Polytraumatisme

C. albicans dans LBA ↓ ↓

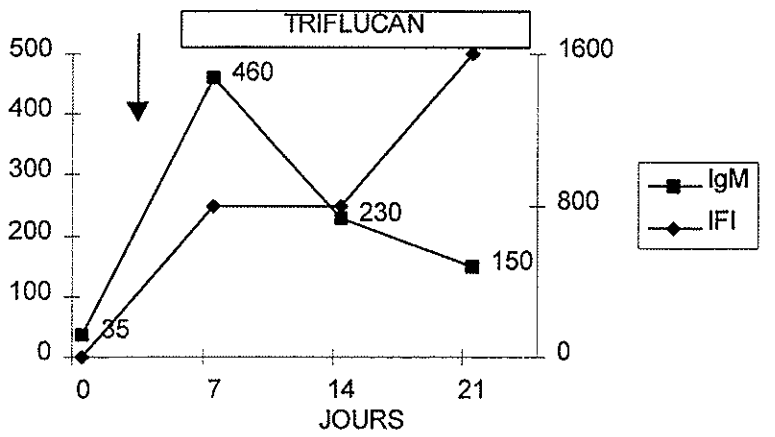
C. albicans dans LBA avec
moule bronchique
(pneumopathie) ↓



Patient 2

24 ans / M
Polytraumatisme

Péritonite à *C. albicans* ↓

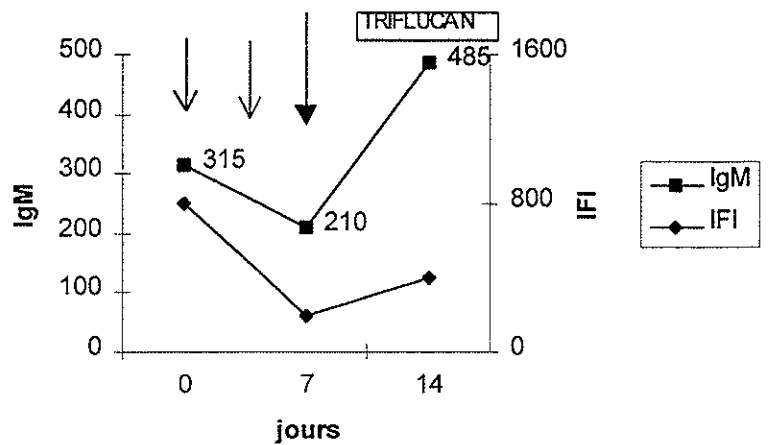


Patient 3

54 ans / M
Post-opératoire
Chirurgie digestive

C. albicans dans les urines ↓

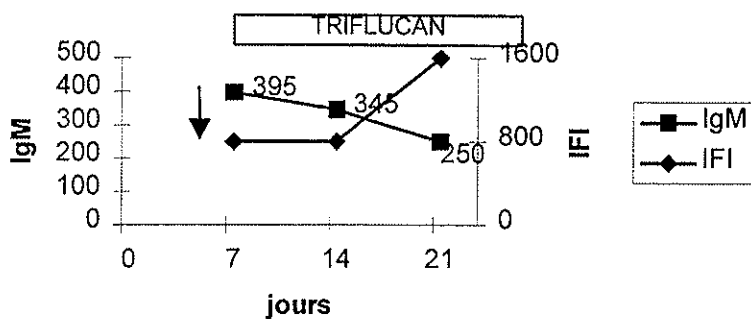
Microabcès du parenchyme
rénal = candidose rénale
Pyélonéphrite ↓



Patient 4

33 ans / F
Héroïnomane

2 Hémocultures ⊕
C.albicans

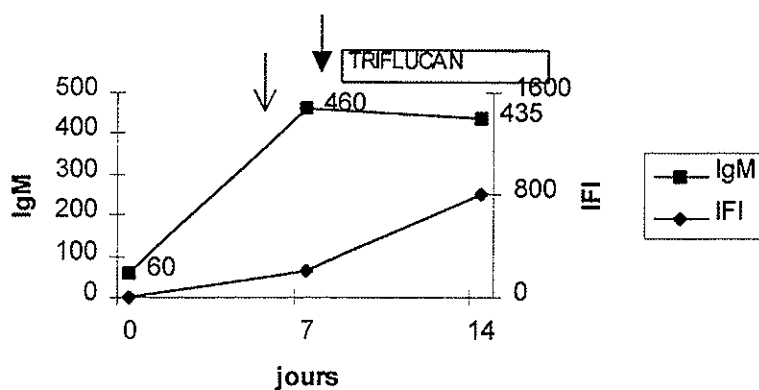


Patient 5

25 ans / M
Polytraumatisme

C.albicans dans les urines

Péritonite à *C.albicans*

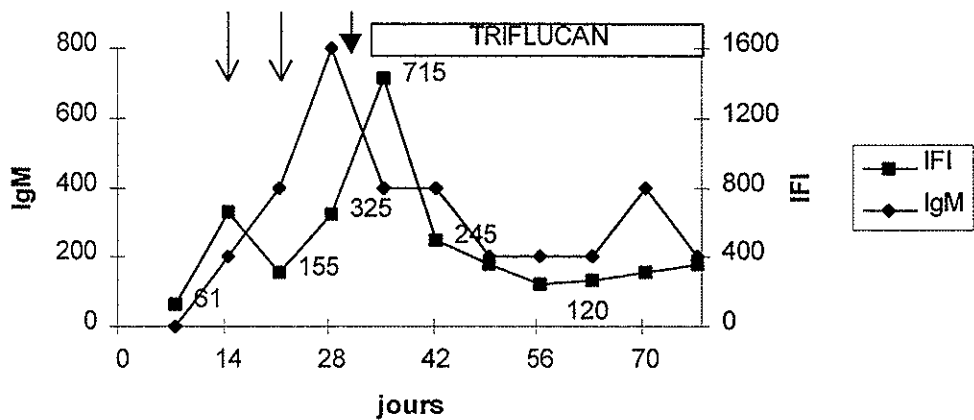


Patient 6

79 ans / M
Polytraumatisme

Urines + LBA avec
C.albicans (2 fois)

LBA *C.albicans*
pneumopathie

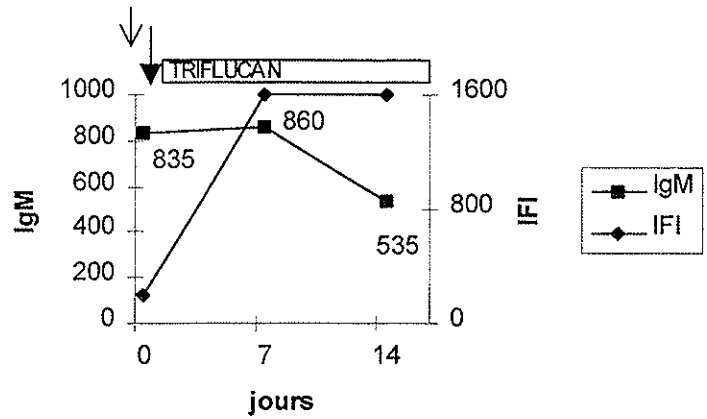


Patient 7

75 ans / M
Post-opératoire
Chirurgie digestive

C.albicans dans urines ↓

Hémocultures ⊕ *C.albicans* ↓

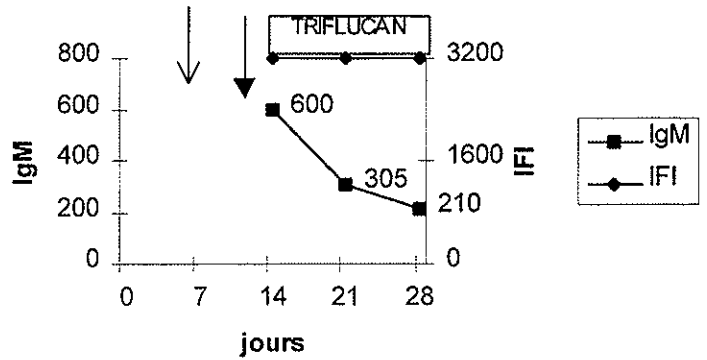


Patient 8

56 ans / M
Polytraumatisme

C.albicans dans aspiration ↓

Hémocultures ⊕ *C.albicans* ↓

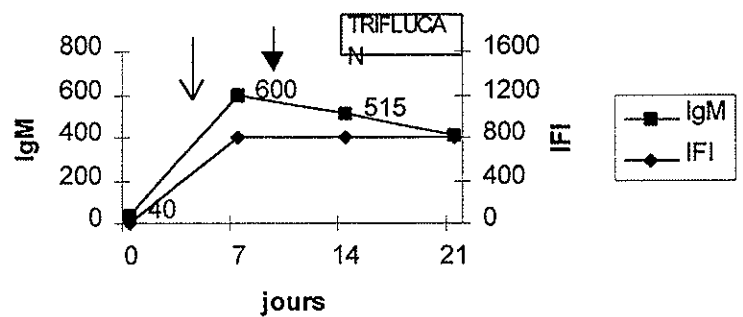


Patient 9

75 ans / F
Polytraumatisme

C.albicans dans aspirations ↓

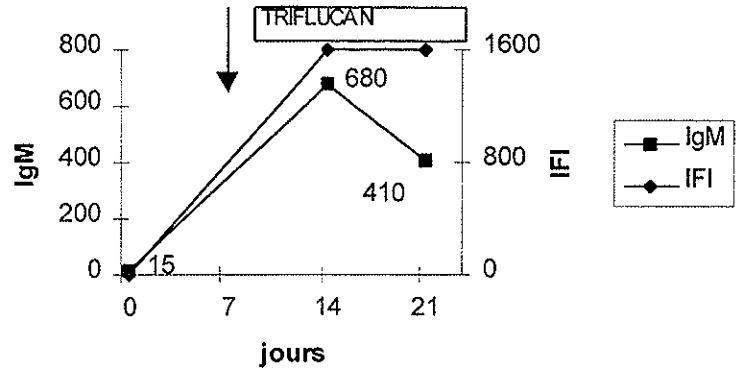
C.albicans dans LBA
(moule
bronchique, pneumopathie) ↓



Patient 10

40 ans / F
Polytraumatisme

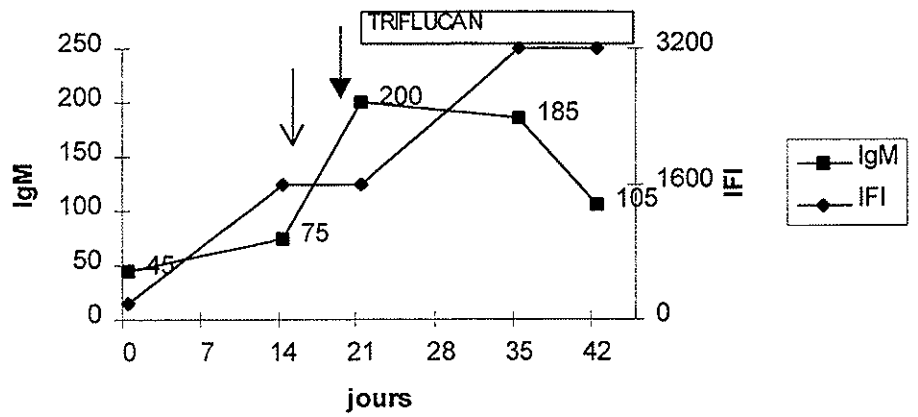
Abcès intrapéritonéale ↓
avec *C. albicans*



Patient 11

50 ans / M
Polytraumatisme

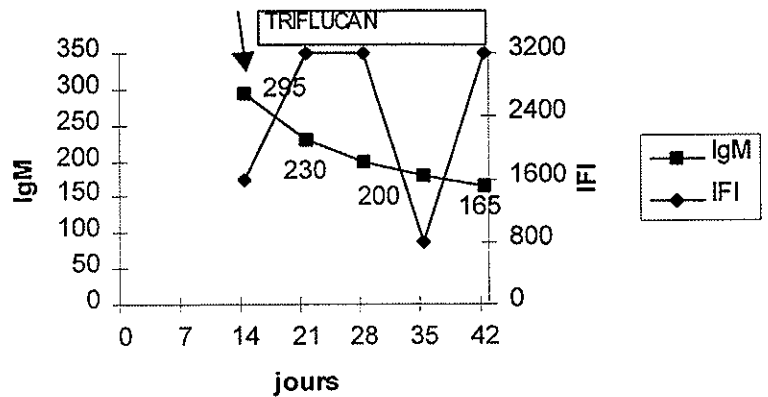
C. albicans dans urines ↓
Candidose œsophagienne ↓



Patient 12

69 ans / F
Insuffisance rénale

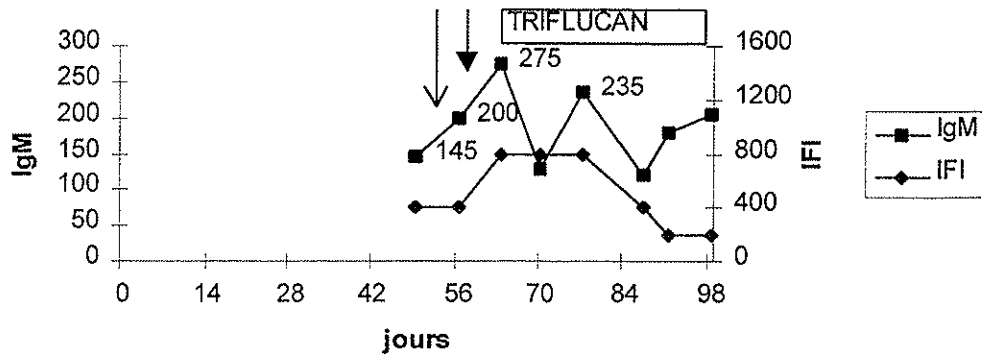
C. albicans dans urines, ↓
Dans LBA, dans
biopsie des sinus ↓



Patient 13

64 ans / M
Post-opératoire

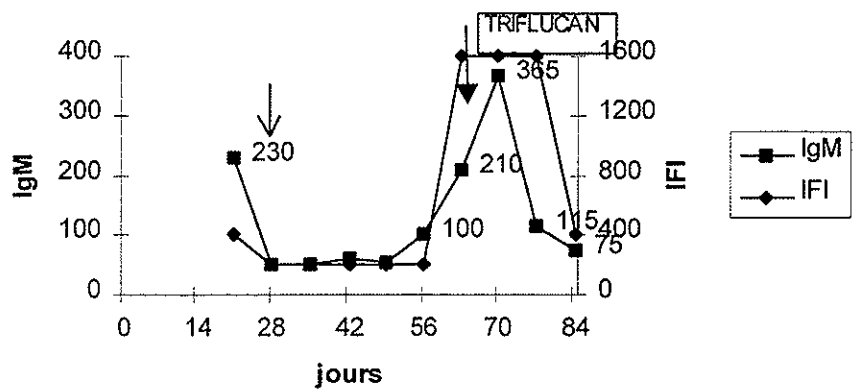
C. albicans dans urines ↓
C. albicans dans LBA ↓



Patient 14

75 ans / F
Post-opératoire
Traumatologie

C. albicans dans urines ↓
Hémoculture ⊕ *C. albicans* ↓



A partir de l'analyse de ces 14 graphiques, plusieurs observations peuvent être faites.

- Chez 7 patients (Patient 1,2,5,6,9,10,11) il existe une séroconversion manifeste contemporaine de l'isolement du *Candida albicans* dans un ou plusieurs sites. Ces patients sont tous des polytraumatisés, indemnes de toute candidose à l'entrée au BRR (Bloc de Réanimation Respiratoire). Le huitième patient polytraumatisé n'a été prélevé qu'au 14^{ème} jour.
- Par contre, 6 patients ont au début de leur hospitalisation en BRR des taux élevés en IgM et des prélèvements positifs en mycologie. Il s'agit de 2 patients en postopératoire de chirurgie digestive, de 2 en postopératoire de traumatologie, d'une patiente héroïnomane

et d'un patient insuffisant rénal. Leur colonisation voire leur infection systémique est préalable à leur arrivée au BRR.

- Sur les 22 patients infectés, pour 17 d'entre eux nous savions qu'ils étaient colonisés auparavant.
- De plus, les taux d'IgM pendant la période contemporaine au diagnostic mycologique de l'infection candidosique sont élevés ou en nette augmentation par rapport à la sérologie précédente. Ainsi des taux élevés ou en forte augmentation peuvent être un élément diagnostique des candidoses systémiques.
- Les IgM sont un meilleur marqueur que les titres d'IFI qui augmentent plus tardivement et également lors d'une colonisation candidosique.
- Comme les montrent les cinétiques des patients 1 à 14 du groupe III, nous observons que sous traitement antifongique (TRIFLUCAN) il y a une diminution des taux d'IgM. Mais notre faible échantillon et l'absence d'étude randomisée ne suffisent pas à prouver que les taux diminuent sous traitement d'une manière significative.
- Par contre les titres d'IFI restent élevés malgré le traitement antifongique.

IV - DISCUSSION

Le diagnostic des candidoses systémiques pose certaines difficultés.

Le diagnostic immunologique des candidoses est un outil diagnostique important dans le diagnostic précoce. Toutefois de nombreuses techniques antérieures utilisant la détection d'anticorps à partir d'antigènes non purifiés dans les candidoses invasives souffrent d'une mauvaise sensibilité et/ou spécificité.

Ainsi l'utilisation clinique du dosage des anticorps sériques dans les candidoses systémiques est de plus limitée par l'existence de résultats faussement négatifs chez les patients immunodéprimés. L'apparition des anticorps est de plus décalée par rapport au début de l'infection fongique. Malgré ces inconvénients, ces techniques restent très utiles étant donné la faible sensibilité des hémocultures, des antigénémies et de la recherche de métabolites [8].

De nombreuses techniques sérologiques utilisant des antigènes à base de mannanes détectent des anticorps spécifiques aussi bien chez le sujet sain que chez les patients atteints de candidose systémique. C'est le cas de notre technique d'IFI. Aussi l'interprétation des résultats se fera plutôt sur une cinétique des titres d'anticorps [30].

Le problème majeur dans l'évaluation de tous les tests immunologiques pour le diagnostic des candidoses profondes est la confirmation du diagnostic par des techniques non sérologiques (mise en culture et examen anatomopathologique) : nous n'avons eu la certitude de candidose systémique que chez seulement 22 patients avec des cultures mycologiques positives.

Pour faire face à ce problème, différentes techniques sont apparues permettant la détection d'anticorps anti-antigènes cytoplasmiques ou d'anticorps dirigés contre les structures mycéliennes des *Candida*. Elles sont basées sur l'hypothèse que le système immunitaire est exposé à ces antigènes seulement dans les candidoses invasives [11].

Quelques études ont montré un bon compromis de sensibilité et de spécificité en utilisant la détection d'anticorps à partir d'antigènes purifiés [6,15,20,59].

Plusieurs études ont montré que les anticorps dirigés contre une protéine cytoplasmique dominante des *Candida* (déterminée par Western-Blot) sont

significativement élevés chez 70 à 87% des patients présentant une candidose systémique [2,36,58].

Il est certain que dans le schéma classique de la réponse immunitaire les premiers anticorps à apparaître face à un nouvel antigène sont les IgM qui opéreront ensuite un switch vers les IgG. Les IgM sont plus précoces que les IgG [64] et sont en faveur d'une infection récente ; mais pourrait-elle devenir invasive ? Dans la mesure où la phagocytose des *Candida* en position pathogène fait apparaître de nouveaux antigènes (cytoplasmiques en particulier), une augmentation des IgM semble logique dans ces cas-là. Notre étude a confirmé cette hypothèse.

D'autre part l'approche isotypique a souvent été abordée, le but commun de ces études étant de déterminer quel isotype est le plus précoce et le plus spécifique d'une infection profonde. Les résultats sont très divergents selon les équipes, ceci étant lié à la technique utilisée, mais aussi et surtout à la préparation antigénique utilisée. Aubert [3,4] conclue en faveur des IgA tandis que Werle [64] et Klinnspor [28] concluent en faveur des IgM.

Le kit IgM des laboratoires BIOMERICA nous paraît donc séduisant puisqu'il associe la détection de l'isotype IgM avec l'utilisation d'un mélange d'antigènes d'origine cytoplasmique. Ces deux caractéristiques sont garantes de rapidité et de spécificité d'une infection profonde. La technique de type ELISA va apporter sa sensibilité.

Le dosage sérique des isotypes IgM anti-*Candida albicans* est un kit facile d'utilisation pour le laboratoire de Parasitologie-Mycologie, la réponse peut parvenir en moins de 24 heures dans le service clinique. Pour des raisons économiques, les sérums sont regroupés une fois par semaine, 24 à 48 H après le prélèvement.

Nous avons vu qu'en pratique, il existe un taux de base d'anticorps anti-antigènes cytoplasmiques chez le sujet sain. Il avait été fixé un titre "significatif" en IgM à 90U/ml. Ceci est confirmé par les résultats des patients de notre groupe I étudié en tenant compte des renseignements cliniques et biologiques de ces patients.

Actuellement, il existe très peu d'études cliniques permettant de connaître le seuil de positivité de ce test. Par ailleurs la validité de ce sérodiagnostic comme la validité de tous les sérodiagnostics à *Candida* impose des critères diagnostiques de candidose systémique certains. Le seul critère reconnu par tous est le critère histologique. Mais il est difficile, en pratique clinique, d'être systématiquement invasif chez des patients en état critique.

Cependant, les techniques sérologiques ne sont pas encore tout à fait satisfaisantes. Le clinicien est confronté à un problème d'urgence face aux candidoses systémiques. Le traitement sera mis en route avant d'avoir les résultats sérologiques au vu de la clinique (fièvre nue résistante à une antibiothérapie à large spectre). Ceux-ci permettront de confirmer ou d'infirmer le diagnostic quelques jours plus tard. Quel que soit l'isotype et les antigènes utilisés, le délai d'apparition des anticorps restera un inconvénient de ces techniques sérologiques. Mais elles resteront utiles tant que le diagnostic direct ne sera pas plus performant. Klingspor a montré que chez tous les enfants étudiés ayant une candidose systémique, la sérologie a été positive en moyenne 6 jours avant que l'infection candidosique ait été vérifiée par des techniques directes [27].

Les espoirs futurs se porteront sur de nouvelles techniques d'antigénémies utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes dominants du *Candida* et en rapport avec un rôle pathogène du champignon [10]. La biologie moléculaire fait aussi l'objet de nombreuses recherches.

Le diagnostic biologique des patients infectés à *Candida* est actuellement difficile, il existe de nombreux tests de sérodiagnostic, dont certains sont commercialisés mais concernant ces tests commercialisés, les études actuelles ne montrent pas de test ayant une sensibilité et spécificité acceptable. Petri [42] a réalisé un test d'hémagglutination, d'immunofluorescence et un Cand-tec test (recherche antigène) chez 435 patients de réanimation non neutropéniques, la sensibilité retrouvée était respectivement de 88%, 100%, 50% tandis que la spécificité était de 26%, 6%, 73%. Paulus [41] ne trouve pas d'intérêt à l'utilisation de test Cand-Tec pour le diagnostic de candidose en réanimation, il a mis en évidence une sensibilité et spécificité du test respectivement de 53% et de 57%, par ailleurs ce test est positif par le facteur rhumatoïde.

Nos résultats semblent satisfaisants, avec une sensibilité de 70% et une spécificité de 89% au seuil de 280 U/ml pour une candidose systémique, comparés aux résultats obtenus avec d'autres techniques utilisant la détection d'anticorps par ELISA à partir d'antigènes purifiés. En effet en recherche Van Deventer [59], à partir d'une émolase de 47 kDa trouve une sensibilité de 53% et spécificité de 78%. Berdin [6] à partir d'une émolase de 48 kDa trouve une sensibilité de 73% et une spécificité de 95%. El Moudni [14] à partir d'une métallopeptidase de 57 kDa obtient quant à lui une sensibilité de 83% et une spécificité de 97%. Walsh [63] a utilisé comme sérodiagnostic la recherche de l'émolase chez 170 patients et a retrouvé une sensibilité et spécificité respectivement de 54% et 96%.

D'autres travaux plus récents orientent vers la détection d'antigènes et simultanément la détection d'anticorps vis à vis de ces antigènes [54].

La colonisation est pratiquement toujours un prérequis à l'infection. La candidémie est le plus souvent précédée d'une colonisation par souche génétiquement identique.

La relation entre le nombre de sites colonisés et la probabilité d'une candidémie est indiscutable.

Martino [32] retrouve 22% de candidémies lorsque plusieurs sites sont colonisés, alors qu'une candidémie survient seulement dans 5% des cas avec un seul site colonisé.

Concernant notre étude, nous avons 17 des 22 patients qui étaient colonisés avant que le diagnostic de candidose systémique ne soit posé.

Pittet [47] en 1994 a défini un index de colonisation (IC) en ramenant le nombre de sites distincts colonisés à *Candida* au nombre total de sites distincts prélevés. Dans son étude, un index de colonisation supérieur à 0,5 est associé à un risque très significatif d'une infection sévère à *Candida* dans les jours suivants. La valeur prédictive positive d'un index de colonisation supérieur à 0,5 est de 66% alors que la valeur prédictive négative est de 100%.

Pour la colonisation, l'utilisation du kit IgM pourrait suppléer à la multiplication des sites de prélèvements invasifs comme dans l'étude de Pittet [47].

Pour les patients colonisés, nous avons vu que nous obtenions des taux d'IgM stables, mais significatifs, supérieurs à 90 U/ml.

Ce sont ces patients colonisés qui posent un problème, faut-il les traiter ? Nous pouvons penser que toute élévation brutale des IgM chez un patient colonisé peut être considérée comme un risque de candidose invasive.

Il faut demeurer très prudent en ce qui concerne la place du traitement prophylactique antifongique chez le patient de réanimation à haut risque : en dehors d'études randomisées et contrôlées, il n'est pas licite actuellement de proposer un traitement prophylactique. Tout au moins, il faut se poser de façon précise l'intérêt du rapport bénéfice/risque de développement de résistance de ces agents pathogènes.

Il semble que les sujets à traiter sont ceux ayant des taux supérieurs à 280 U/ml ou présentant une élévation significative des taux d'IgM. L'intérêt potentiel des IgM est évident chez ces sujets colonisés fragilisés qu'il est essentiel de traiter précocement.

CONCLUSION

Affirmer ou éliminer le diagnostic de candidose systémique rencontre des difficultés. En conséquence devant une pathologie croissante et de forte gravité, deux situations s'opposent.

- Du fait de la fréquence des colonisations, ce diagnostic risque d'être porté par excès impliquant un traitement au coût élevé, et surtout l'apparition de résistances.

- A l'opposé, un retard diagnostique est grevé de taux de morbidité et mortalité élevés.

Le test ELISA CANDIQUANT® commercialisé par BIOMERICA dosant les IgM anti-*Candida albicans* a permis de comparer cette technique aux deux techniques préalablement utilisées, l'IFI (Immuno Fluorescence Indirecte) et l'IER (Immuno Electrophorèse Rapide) quant à leur sensibilité, leur spécificité et à la cinétique des titres d'anticorps obtenus.

L'étude préliminaire rétrospective a porté sur 15 mois et a été effectuée sur 626 sérums de 232 patients hospitalisés dans 2 services de Réanimation Respiratoire. Les résultats soumis à des études statistiques ont permis de constater la bonne corrélation connue entre IFI et IER, mais par contre il apparaît une certaine discordance entre ces 2 méthodes et les IgM anti-*Candida*, qui en cinétique s'avèrent plus précocement positifs.

La seconde étude, portant sur la même période, a utilisé les résultats sérologiques et mycologiques concernant 116 patients répartis de ce fait en 3 groupes :

- Pour le groupe I "Indemnes de Candidose"(n=42), les taux d'IgM sont considérés comme négatifs (< 90 U/ml) et stables ;
- Pour le groupe II "colonisés"(n=52), les taux sont plus élevés que dans le groupe I mais stables dans le temps (titre moyen : 139 ± 59 U/ml) ;
- Pour le groupe III "infectés"(n=22), les taux d'IgM sont nettement plus élevés. Pour un seuil de pathogénicité à 280 U/ml la sensibilité du test est de 70% et sa spécificité de 89%, la valeur prédictive positive est de 61% et la valeur prédictive négative de 90%.

Toute élévation brutale des IgM chez un patient colonisé peut être considérée comme un risque non négligeable de candidose invasive.

Chez un faible nombre de patients infectés (n=14) traités par Fluconazole, les taux d'IgM diminuent régulièrement.

Ces études méritent ainsi d'être poursuivies de manière prospective pour affiner le diagnostic précoce des candidoses systémiques chez les malades à risque.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **ANNAISSIE E, VARTAVARIAN S.E, ALBISAID D.**
Fluconazole Versus Amphotéricine B in the Treatment of Hematogenous Candidiasis : a Matched Cohort Study.
Am. J. Med., 1996;**101** : 170-176.
- [2] **AU YONG J.K., TROY F.A, GOLDSTEIN E.**
Serologic analysis of antigenspecific reactivity in patients with systemic candidiasis.
Diagn. Microbiol. Infec. Dis., 1985;**3** : 419-432
- [3] **AUBERT D.**
Caractéristique des Isotypes IgM, IgA, IgE anti-Candida : Application en Pathologie Humaine.
D.E.A., 1992, Université de REIMS.
- [4] **AUBERT D., PUYGAUTHIER-TOUBAS D., LEON P., PIGNON B., FOUDRINIER F., MARNEF F., BOULANT J., PINON J.M.**
Characterization of Specific anti-Candida IgM, IgA and IgE : diagnostic value in deep-seated infections.
Mycoses, 1996;**39** : 169-176.
- [5] **BECK-SAGUE C.M., JARVIS W.R. AND THE NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE PROGRAM**
Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990 .
J. Infect. Dis., 1993;**167** : 1247-1251
- [6] **BERDIN B., BOUX DE CASSON-RAIMBEAU F., MAROT-LEBLOND A., ROUBERT R., SENET J.M.**
Etude préliminaire évaluant l'intérêt de l'utilisation d'antigène purifié (Ag3D9, Ag48) pour le sérodiagnostic des candidoses profondes par méthode immuno-enzymatique ELISA
J.Mycol.Med., 1995;**5** : 140-144
- [7] **BODEY G.P.**
Candidiasis.
In:BODEY G.P.ed.Raven Press. New York.1993
- [8] **BOUGNOUX M.E., HILL C., MOISSENET D., FEUILHADE DE CHAUVIN M., BONNAY M., VICENS-SPRAUEL I., PIETRI F.**
Comparaison of Antibody, Antigen, and Metabolite Assays for hospitalized Patients with Disseminated or Peripheral Candidiasis.
J. Clin. Microbiol., 1990;**28** : 905-909.
- [9] **CASADEVALL A.**
Antibody Immunity and Invasive Fungal Infections.
Infect. and Immun., 1995;**63** : 4211-4218.

- [10] **DE REPENTIGNY L., KAUFMAN L., COLE G.T., KRUSE D., LATGE J.P., MATTHEWS R.C.**
Immunodiagnosis of invasive fungal infections.
J. Med Vet Mycol, 1994;**32**(Suppl 1) : 239-252
- [11] **DE REPENTIGNY L., REISS E.**
Current trends in immunodiagnosis of candidiasis and aspergillosis.
Rev. Infect. Dis., 1984;**6** : 301-312
- [12] **DUPONT B.**
Clinical manifestations and management of candidosis in the compromised patient.
In : WARNOCK D.W., RICHARDSON M.D. eds. Fungal infection in the compromised patient. JOHN WILEY & SONS. Chichester. 1991; pp 56-83.
- [13] **EDWARDS J.E., FILLER S.**
Current strategies for treating invasive candidiasis : emphasis on infections in neutropenic patients.
Clin. Infect. Dis., 1992;**14**(Suppl 1): S106-113.
- [14] **EL MOUDNI B., RODIER M.H, DANIAULT G. JACQUEMIN J.L.**
Improved Immunodiagnosis of Human Candidiasis by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using a *Candida albicans* 52-Kilodalton Metallopeptidase.
Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1998;**5** : 823-825.
- [15] **ERDREICH L., LEE. E.T.**
Use of relative operating characteristic analysis in epidemiology.
Am.J.Epidemiol., 1981;**144** : 649-662
- [16] **FRASER V.J., JONES M., DUNKEL J., STORFER S., MEDOFF G., DUNAGAN W.C.**
Candidemia in a tertiary care hospital:epidemiology, risk factors, and predictors of mortality.
Clin. Infect. Dis., 1992;**15** : 414-421
- [17] **GOUIN F., VIGGIANO M.**
Candidoses systémiques : épidémiologie et diagnostic.
Réan. Urg., 1996;**5** (4 bis spécial) : 7s-11s.
- [18] **GRANINGER W., PRESTERIL E., GWORGOPOULS A.**
A treatment of *Candida albicans* fungemia with fluconazole.
J. Infect. Dis., 1993, **26** : 133-146.
- [19] **GRAYBILL J.**
Future direction of antifungal chemotherapy.
Clin. Infect. Dis., 1992;**14**(Suppl 1) : S70-81.

- [20] **GREENFIELD R.A., BUSSEY M.J, STEPHENS J.L , JONES J.M.**
Serial enzyme-linked immunosorbent assays for antibody to Candida antigens during induction chemotherapy for acute leukemia.
J.Infect. Dis., 1983;**148** : 275-283
- [21] **GROLL A., SHAH P.M., MENTZEL C., SCHNEIDER M.**
Changing pattern of invasive mycosis at autopsy
Abstract 109- Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1994, 106.
- [22] **GUILLOT R., LEBEAU B., VERMOREL O.**
Candidose systémique et hémoculture.
Rev. Fr. Lab., 1988;**179** : 69-77.
- [23] **HERENT P., STYNEN D., HERNANDO F., FRUIT J., POULAIN D.**
Retrospective evaluation of two latex agglutination tests for detection of circulating antigens during invasive candidosis.
J. Clin. Microbiol., 1992;**30** : 2158-2164.
- [24] **HOSTETTER M.K.**
Function of integrin analogues in adhesion.
J. Mycol. Med., 1992;**2** : 14-18.
- [25] **JARVIS R.W.**
Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections, with Emphasis on Candida Species.
Clin. Infect. Dis., 1995;**20** : 1526-30
- [26] **JONES J.M.**
Laboratory diagnosis of invasive candidiasis.
Clin. Microbiol. Revue, 1990;**3** : 32-45.
- [27] **KLINGSPOR L., STINTZING G., TOLLEMAR J.**
Deep Candida infection in child liver transplant recipients : serological diagnosis and incidence.
Acta-Paediatr., 1995;**84** : 424-428
- [28] **KLINGSPOR L., STINTZING G., TOLLEMAR J.,**
Deep Candida infection in children receiving allogenic bone marrow transplants : incidence, risk factors and diagnosis.
Bone Marrow Transplant, 1996;**17** : 1043-1049
- [29] **KOENIG H.**
Guide de Mycologie Médicale.
Ed Ellipses. Paris,1995

- [30] **LEJOLY-BOISSEAU H., BERGER E., TRIBOULEY J., APPRIOU M.**
Les Anticorps Anti-Mannanes dans le Sérodiagnostic des Candidoses.
Communication - Congrès de la Société Française de Mycologie Médicale, Arcachon, 20-21 Mars 1997.
- [31] **LEMIEUX C., SAINT-GERMAIN G., VINCELETTE J., KAUFMAN L., DE REPENTIGNY L.**
Collaborative evaluation of antigen detection by a commercial latex agglutination test and enzyme immunoassay in the diagnosis of invasive candidiasis.
J. Clin. Microbiol., 1990;**28** : 249-253.
- [32] **MARTINO P., GIRMENIA C.**
Are we making progress in antifungal therapy ?
Curr. Opin. Oncol., 1997;**9** : 314-320.
- [33] **MARTINO P., GIRMENIA C., VENDITTI M., MICOZZI A., SANTILLI S., BURGIO V.L., MANDELLI F.**
Candida colonization and systemic infection in neutropenic patients. A retrospective study.
Cancer, 1989;**64** : 2030-2034.
- [34] **MASON A., BRANDT M., BUCKLER H.**
Enolase activity associated with a *C. albicans* cytoplasmic antigen.
Yeast, 1989;**5** : S231-S240.
- [35] **MATTHEWS R.C.**
Early diagnosis of systemic candidal infection.
J. Antimicrobiol. Chemother., 1993;**31** : 809-812.
- [36] **MATTHEWS R.C., BURNIE J.P., TABAQCHALI S.**
Immunoblot analysis of the serological response in systemic candidosis.
Lancet, 1984;**2** : 1415-8.
- [37] **MATTHEWS R.C., BURNIE J.P., TABAQCHALI S.**
Isolation of immunodominant antigens from sera of patients with systemic candidiasis and characterization of serological response to *Candida albicans*.
J. Clin. Microbiol., 1987;**25** : 230-237.
- [38] **MEUNIER R., AOUN A., BITAR N.**
Candidemia in immunocompromised patients.
Clin. Infect. Dis., 1992;**14**(Suppl 1) : S120-S125.
- [39] **NESPOULOUS B., RECCO P.**
Diagnostic immunologique des candidoses : intérêt du dosage sérique en ELISA des isotopes IgG, IgM, IgA, anti *Candida*.
Thèse Pharmacie, 1997. 97 TOU 3/2038.

- [40] **NGUYEN M.H, PEACOCK J.E, TANNER DC.**
Therapeutic approaches in patients with candidemia.
Arc. Intern. Med., 1995;**155** : 2429-2435
- [41] **PAULUS S., BASTIEN O., FILLEY S., REQUIN J.**
Intérêt de la recherche des antigènes circulants de *Candida* en réanimation.
Réan. Urg., 1996;**5** : 383-387.
- [42] **PETRI M.G., KONIG J., LODE H.**
Epidemiology of invasive mycosis in ICU patients : a prospective multicenter study in 435 non-neutropenic patients.
Intens. Care Med., 1997;**23** : 317-325.
- [43] **PFALLER M.A., JONES R.N., MESSER S.A., EDMOND M.B., WENZEL R.P.**
National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *Candida albicans* : frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE program.
Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 1998;**31** : 327-332
- [44] **PFALLER M.A.**
Epidemiology and control of fungal infections.
Cin. Infect. Dis., 1994;**19**(Suppl. 1) : S8-S13.
- [45] **PHILLIPS P., SHAFRAN S., GRARBER G.**
Multicenter randomized trial of fluconazole versus amphotéricine B for treatment of candidemia in non neutropénique patients.
Eur. J. Microbiol. Infect. Dis., 1997;**16** : 337-345.
- [46] **PITTET D., ANAISSIE E., SOLOMKIN J.S.**
When to start antifungal therapy in the non neutropenic critically ill?
in: VINCENT J.L.. (ed) Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine : 567-577.
Ed Springer, 1996.
- [47] **PITTET D., MONOD M., PETER M., FRENK E.**
Candida Colonization and Subsequent Infections in Critically ill Surgical Patients.
Annals of Surgery, 1994;**220** : 751-758.
- [48] **POULAIN D.**
Candidoses : bases moléculaires de l'adaptation parasitaire de protistes pathogènes opportunistes.
Ann. Parasitol. Hum. Comp., 1990;**65**(Suppl 1): 125-130.
- [49] **RANGEL-FRAUSTO M.S., MARTIN M.A., SAIMAN L.**
High-prevalence of *Candida* spp. On hands of health care workers in surgical and neonatal intensive care units.
34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy(abstract J106).
Orlando, Florida, 1994

- [50] **REX J.H., BENNET J.E., SUGAR A.M., PAPPAS P.G., EDWARDS J.E., WEBB C.D.**
Randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patients without neutropenia.
New. Eng. J. Med., 1994;**331** : 1325-1330
- [51] **RIU-POULENC B.**
Intérêt du dosage sérique des isotypes IgM anti Candida dans la prise en charge thérapeutique des candidoses en réanimation.
Mémoire pour le DESC de Réanimation médicale- Toulouse 1998
- [52] **ROMANO F., RIBERA G., GIULIANO M.A**
Study of a hospital cluster of systemic candidosis using DNA typing methods.
Epidemiol. Infect., 1994;**112** : 393-398
- [53] **ROUX P.**
Incidence des fongémies et des fonguries en France : enquête multicentrique en 1994 et 1995.
Communication Congrès de la Société Française de la Mycologie Médicale, Arcachon, 20-21 Mars 1997
- [54] **SENDID B., TABOURET M., POIROT J.L., MATHIEU D., FRUIT J., POULAIN D.**
New Enzyme Immunoassays for Sensitive Detection of Circulating Candida albicans Mannan and Antimannan Antibodies : Useful Combined Test for Diagnosis of Systemic Candidiasis.
J. Clin. Microbiol., 1999;**37** : 1510-1517.
- [55] **SENET J.M., ROBERT R.**
Physiopathologie des candidoses.
J. Mycol. Med., 1995;**5** : 145-166.
- [56] **SMITH C.B.**
Candidiasis, pathogenesis, host resistance and predisposing factors.
In Candidiasis BODEY G.P.ed.Raven Press. New York.1993
- [57] **SOBEL J.D., VASQUEZ J.**
Candidemia and systemic candidiasis.
Sémin. Resp. Inf., 1990;**5** : 123-127.
- [58] **STROSKBINE N., LARGEN M., ZWEIBEL S.,BUCKLER H.**
Identification and molecular weight characterization of antigens from Candida albicans that are recognized by human sera.
Infect. Immun., 1984;**43** : 715-721.

- [59] **VAN DEVENTER A.J.M, VAN VLIET H.J.A, HOP W.C.J., GOESSENS W.H.F.**
Diagnostic value of anti-Candida enolase antibodies.
J.Clin.Microbiol., 1994;**32** :17-23.
- [60] **VASQUEZ J.A., SANCHEZ V., DMUCHOWSKI C., DEMBRY L.M., SOBEL J.D., ZERVOS M.J.**
Nosocomial acquisition of *Candida albicans* : an epidemiologic study.
J. Infect. Dis., 1993;**168** : 195-201.
- [61] **VINCENT J.L., BIHARI D.J., SUTER P.M., BRUINING H.A., WHITE J.**
The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe (EPIC).
JAMA, 1995, **274** : 639-644.
- [62] **VOSS A., HOLLIS R.J., PFALLER M.A., WENZEL R.P., DOEBBELING B.N.**
Investigation of the sequence of colonization and the candidemia in nonneutropenic patients.
J. Clin. Microbiol., 1994;**32** : 975-980
- [63] **WALSH T.J., HATHORN W.W., SOBEL J.D.**
Detection of circulating *Candida* enolase by immunoassay in cancer patients with candidiasis.
N. Engl. J. Med., 1991;**324** : 1026-1031.
- [64] **WERLE E., KAPPE R., FIEHN W., SONNTAG H.G.**
Detection of anti-*Candida* antibodies of IgM, IgG and IgA classes by enzyme immunoassays in sequential sera of hospitalized patients.
Mycoses, 1994;**37** (Suppl 1) : 71-78
- [65] **WEY S., MORI M., PFALLER M., WOOLSON R, WENZEL R.**
Hospital acquired candidemia : the attributable mortality and excess length of stay.
Arch. Intern. Med., 1988;**148** : 2642-2645

ANNEXES

Annexe 1 : Classification des champignons
d'après KWON CHUNG ET BENNET (1992)

Règne	CHAMPIGNONS		
Division	EUMYCOTA		
		PHYLUM (Sub-division)	
I. ZYGOMYCOTINA			
Classe/	ZYGOMYCETES		
Ordre/		1 Mucorales :	<i>Mucor, Rhizopus, Absidia</i>
		2 Entomophthorales :	<i>Conidiobolus, Basidiobolus.</i>
II. ASCOMYCOTINA			
Classe/	A.HEMIASCOMYCETES		
Ordre/		Endomycetales :	levures sexuées.
	B.ASCOMYCETES		
Ordre/		1 Onygenales	
		Famille :	Arthrodermataceae
			Genre <i>Arthroderma</i>
			<i>Ctenomyces</i>
			<i>Nannizia</i>
			Onygenaceae
			Genre <i>Ajellomyces</i>
			<i>Aphanoascus</i>
		2 Eurotiales	
		Famille :	Trichocomaceae
			Genre <i>Eurotium</i>
			<i>Emericella</i>
			<i>Talaromyces</i>
		3 Microascales	
			Genre <i>Pseudallescheria</i>
			<i>Microascus</i>
		4 Ophiostomatales	
			Genre <i>Ceratocystis</i>
		5 Hypocreales	
			Genre <i>Nectria</i>
			<i>Gibberella</i>
		6 Sordariales	
			Genre <i>Sordaria, Chaetomium</i>
		7 Pezizales	
			Genre <i>Peziza</i>
		8 Dothidiales	
			Genre <i>Leptosphaeria</i>
			<i>Piedraia</i>
III. BASIDIOMYCOTINA			
Classe/	A.HETEROBASIDIOMYCETES		
Ordre/		Filobasidiales	
			Genre <i>Filobasidiella</i>
	B.HOLOBASIDIOMYCETES		
Ordre/		Aphylophorales	
			Genre <i>Schizophyllum</i>
		Agaricales	
			Genre <i>Coprinus</i>
IV. DEUTEROMYCOTINA			
Classe/	A COELOMYCETES		
Ordre/		Sphaeropsidales	
			Genre <i>Phoma, Nattrassia...</i>
	B.BLASTOMYCETES (levures asexuées)		
	C.HYPHOMYCETES		
Ordre/		Moniliales	
		Famille :	Monoliaceae
			Dematiaceae

Annexe 2 : Classification des levures

I. ASCOMYCOTINA

Hemiascomycètes

Endomycétales

- Spermophthoraceae: 3 genres
- Saccharomycetaceae :
 - Schizosaccharomycetoideae : 1 genre *Schizosaccharomyces*
 - Nadsonioideae : 4 genres
 - Lipomycetoideae : 1 genre
 - Saccharomycetoideae : 24 genres dont *Saccharomyces*

II. BASIDIOMYCOTINA

Ustilaginales

- Filobasidiaceae : 3 genres dont *Filobasidiella neotormans*
- Levures formant des teliospores : 3 genres

Tremellaies

- Sirobasidiaceae : 2 genres
- Tremellaceae : 2 genres

III. DEUTEROMYCOTINA

Blastomycètes

- Cryptococcaceae : 15 genres dont *Candida*
 - Cryptococcus*
 - Malassazia*
 - Rhodotorula*
 - Trichosporon*
- Sporobolomycetaceae : 2 genres

N.B.: en caractères gras, les genres impliqués en pathologie humaine.

**Annexe 3 : Distribution dans la nature
des principales espèces du genre *Candida* (tableau 1)**

Genre et espèce	Ecologie/ Nature	Etat saprophytique chez l'Homme (H) ou l'Animal (A)
<i>Candida albicans</i>	0 (Si présence: contamination d'origine humaine ou animale)	Muqueuses (tube digestif) Absence sur peau normale Bouche 20% Selles 25% Vagin 10% Expectorations 15% H A
<i>Candida tropicalis</i>	Sol, eau Végétaux Produits laitiers	- Muqueuses Bouche 9% Selles 10% Vagin 2% Expectorations 10% - Peau H A
<i>Candida parapsilosis</i>	Eau Végétaux	- Muqueuses - Peau
<i>Issatchenkia orientalis</i> (<i>Candida tropicalis</i>)	Sol, air Végétaux Produits laitiers Produits de fermentations (vin, bière)	- Muqueuses - Peau, ongles H A
<i>Candida glabrata</i>	Sol, eau (rare) Végétaux	- Muqueuses - Selles - Urines

Annexe 4 : Facteurs de risque des candidoses systémiques (tableau 2)

<u>FACTEURS MAJEURS DE RISQUE</u>	<u>AUTRES FACTEURS</u>
Antibiothérapie antérieure Colonisation ≥ 2 sites Immunosuppression Chirurgie abdominale majeure Brûlures ($> 50\%$) Traumatisme grave Score de gravité élevé	Cathéter central Sonde urinaire Nutrition parentérale Hémodialyse Réanimation ≥ 8 jours Néoplasie Héroïnomanie

Annexe 5 : Infections candidosiques selon Pittet [46]

<u>INFECTIONS HEMATOGENES</u>	<u>INFECTIONS "NON" HEMATOGENES</u>
Candidémie Infection sur cathéter Atteintes ophtalmiques Abscesses multiples Phlébite suppurée Infection sur matériel Arthrites, ostéomyélite Endocardite, péricardite Méningites	Candidose oropharyngée Œsophagite Candidose gastro-intestinale Pneumopathie Péritonite Abscesses intra-abdominal Abscesses de paroi Infections urinaires hautes ou basses

Annexe 6 : Résultats des sérologies des patients du groupe I (négatifs)

PATIENT	AGE	IgM	IFI	IER
1	48	80	400	0
		90	400	0
2	53	45	0	0
		0	0	1
3	27	31	200	0
		10	200	1
4	54	50	0	0
		110	0	0
5	35	60	0	0
		65	0	0
6	62	270	400	1
		125	0	0
7	62	115	400	2
		70	800	2
8	43	55	0	0
		275	800	2
9	61	120	800	0
		255	400	1
		120	400	2
		180	400	1
10	71	150	400	1
		220	800	2
11	77	10	0	0
	77	25	200	0
12	46	122	0	0
		55	0	0
		90	200	0
		65	0	0
		30	200	0
		50	400	1
		45	400	0
13	56	50	800	4
		50	800	3
14	53	13	400	0
		115	200	0
15	68	12	0	0
		16	0	0
		25	200	0
		40	400	0
		45	200	0
		60	0	0
		60	0	1
		45	0	0
		20	200	1
		50	200	1
16	72	50	400	0
		105	400	2
17	55	140	200	2
		55	200	2
		90	200	3
		85	400	3
		50	200	3
		50	200	3
		50	400	3
18	65	25	400	0
		145	200	1
19	65	30	0	0
		75	200	0
		55	400	0
20	65	95	800	2
		80	800	2
21	75	42	0	0
		38	0	0

21		50	200	0
22	73	60	0	0
		80	0	0
		50	200	0
23	47	55	0	0
		180	0	2
		190	400	3
24	73	40	0	0
		90	0	0
25	44	75	0	0
		60	0	0
26	57	60	200	1
		80	200	1
		80	200	0
27	60	5	200	0
		80	200	0
28	87	31	0	0
		36	0	0
		100	0	0
29	61	45	200	1
		50	0	1
30	59	42	200	0
		150	200	1
		150	200	1
		105	0	0
31	59	75	0	0
		130	0	0
		105	200	0
		115	200	0
32	46	10	0	0
		35	200	0
33	51	95	400	2
		85	0	1
34	33	90	0	0
		240	400	2
35	56	21	0	0
		40	200	0
		30	400	1
		70	400	0
		60	400	0
		50	400	0
		72	800	0
		45	400	0
36	48	100	0	0
		70	0	0
37	71	125	200	0
		150	200	0
38	58	81	400	0
		168	400	0
		170	200	2
		12	200	0
		80	0	0
		90	0	0
39	30	50	200	0
		25	200	0
		55	0	0
40	74	30	0	0
		50	0	0
		0	0	0
41	51	5	200	0
		5	200	0
42	53	60	0	0
		35	200	0

Annexe 7 : Résultats des sérologies des patients du groupe II (colonisés)

PATIENT	AGE	IgM	IFI	IER
1	55	155	800	1
		190	800	2
2	67	155	200	1
		100	400	0
3	57	175	400	1
		195	400	3
		195	400	2
4	69	75	200	0
		50	200	0
5	52	165	200	2
		160	200	3
6	78	150	400	1
		125	0	0
		100	0	0
		150	200	0
		115	200	0
		105	200	0
7	62	0	0	0
		85	200	0
		125	400	1
		125	200	0
8	59	20	200	0
		70	0	0
		0	200	0
9	39	118	0	0
		220	200	0
		110	0	0
		130	200	0
		110	200	0
		125	200	1
		120	0	1
		175	0	0
10	46	70	0	0
		95	0	0
		165	200	0
		225	200	0
11	26	265	400	2
		135	400	3
12	49	85	200	3
		75	400	4
13	56	165	1600	5
		145	800	3
14	55	170	200	1
		250	200	1
		275	200	0
		105	0	0
15	37	145	0	0
		95	400	0
16	47	145	800	2
		65	800	1

		63	800	0
		74	200	1
		120	400	1
		110	400	2
17	61	60	200	0
		175	400	4
		175	800	4
		60	400	3
18	40	60	400	2
		110	400	2
19	74	150	800	0
		130	800	2
		425	400	2
		165	800	3
		200	800	3
20	68	65	400	1
		60	0	0
		95	400	2
		75	200	2
		130	400	2
		100	1600	3
		130	400	3
		85	400	2
		87	1600	4
21	59	100	400	2
		110	800	2
22	58	325	1600	5
		420	1600	5
		455	3200	5
		490	3200	3
23	22	158	0	0
		194	0	0
		130	0	0
24	77	220	400	2
		255	400	2
		230	800	4
25	39	215	200	1
		185	400	0
26	62	145	1600	5
		85	800	4
27	67	115	200	1
		85	400	0
28	67	165	400	2
		130	400	3
		85	400	2
29	50	475	1600	2
		270	1600	3
		175	0	0
		140	800	3
		75	1600	2
		120	1600	2

		75	1600	2
		65	800	2
		380	400	2
		50	400	2
		70	200	2
		85	200	1
		65	400	1
		70	200	1
30	64	240	200	0
		153	800	4
31	78	171	400	4
		60	800	4
32	78	215	1600	5
		150	800	2
		160	1600	2
		350	1600	4
33	75	170	0	0
		85	200	0
		100	200	0
		85	0	0
		90	0	0
34	49	16	200	0
		59	400	1
		180	800	3
		135	1600	5
35	46	280	400	2
		250	800	2
36	62	205	800	3
		160	200	1
		125	400	2
		120	400	2
		140	400	2
		120	800	1
37	78	125	1600	5
		100	3200	5
		242	3200	5
		200	400	3
38	73	205	200	0
		140	200	3
		65	1600	3
39	68	170	400	0
		180	400	0
		195	200	0
		50	0	0
		15	200	0
40	69	35	0	0
		40	200	0
		110	400	0
		95	400	1
41	48	65	0	0
		190	400	1
		155	800	3
		105	400	2
		85	400	2
42	76	275	400	1
		420	200	0
		195	400	1
		125	200	0

		155	200	0
		175	400	2
		135	400	0
43	63	20	0	0
		155	200	2
		370	200	2
		355	400	2
		325	400	1
44	75	220	400	3
		160	800	3
45	62	245	200	1
		135	200	0
		125	0	0
		195	200	0
		190	0	0
		115	200	1
		240	200	2
		245	400	2
		275	0	1
		110	200	0
		270	200	1
46	65	150	0	0
		39	400	3
		33	800	3
47	71	20	0	0
		240	200	4
		250	800	4
48	65	10	0	0
		235	200	1
		250	400	2
49	52	145	200	2
		200	400	3
50	63	115	200	0
		90	400	2
51	81	250	400	2
		195	400	2
		275	800	2
52	42	280	400	0
		275	800	2

Annexe 8 : Résultats des sérologies des patients du groupe III (infectés)

PATIENT	AGE	Jours de l'infection*	IgM	IFI	IER		
1	68 ans	j-25	85	200	1	<i>C.albicans</i>	LBA
		j-18	75	200	3		
		j-4	220	400	5		
		j3	455	800	5		
		j10	250	1600	3		
		j17	180	400	3		
2	24 ans	j-4	35	0	0	<i>C.albicans</i>	Péritonite
		j3	460	800	3		
		j10	230	800	3		
		j17	150	1600	3		
3	54 ans	j-7	315	800	1	<i>C.albicans</i>	Pyelonephrite
		j0	210	200	0		
		j7	485	400	0		
4	33 ans	j2	395	800	3	<i>C.albicans</i>	Hémocultures
		j9	345	800	2		
		j16	250	1600	1		
5	25 ans	j-7	60	0	0	<i>C.albicans</i>	Péritonite
		j0	460	200	2		
		j7	435	800	3		
6	79 ans	j-21	61	0	0	<i>C.albicans</i>	LBA
		j-14	330	400	3		
		j-7	155	800	3		
		j0	325	1600	3		
		j7	715	800	4		
		j14	245	800	2		
		j21	180	400	3		
		j28	120	400	2		
		j35	135	400	1		
		j42	155	800	1		
		j49	180	400	1		
7	75 ans	j-1	835	200	2	<i>C.albicans</i>	Hémocultures
		j6	860	1600	2		
		j3	535	1600	1		
8	56 ans	j2	600	3200	3	<i>C.albicans</i>	Hémocultures
		j9	305	3200	5		
		j16	210	3200	5		
9	71 ans	j-10	40	0	1	<i>C.albicans</i>	LBA
		j-3	600	800	3		
		j4	515	800	2		
		j11	410	800	3		
10	40 ans	j-8	15	0	0	<i>C.albicans</i>	Abcès intrapéritonéale
		j6	680	1600	2		
		j13	410	1600	2		
11	50 ans	j-21	45	200	0	<i>C.albicans</i>	Candidose oesophagienne
		j-7	75	1600	3		
		j0	200	1600	3		
		j14	185	3200	3		
		j21	105	3200	4		
12	69 ans	j0	295	1600	3	<i>C.albicans</i>	LBA, urines, sinus
		j7	230	3200	4		
		j14	200	3200	4		
		j21	180	800	3		
		j28	165	3200	5		

13	64 ans	j-7	145	400	2	<i>C. albicans</i>	LBA,urines
		j0	200	400	2		
		j7	275	800	2		
		j14	130	800	0		
		j21	235	800	1		
		j31	120	400	2		
		j35	180	200	0		
		j42	205	200	1		
14	75 ans	j-42	230	400	0	<i>C. albicans</i>	Hémocultures
		j-37	50	200	2		
		j-30	50	200	1		
		j-23	60	200	1		
		j-16	55	200	1		
		j-9	100	200	1		
		j-2	210	1600	3		
		j5	365	1600	5		
		j12	115	1600	5		
		j19	75	400	2		
15	58 ans	j2	225	800	3	<i>C. albicans</i>	urines, sinus
		j9	135	3200	3		
		j16	110	1600	5		
		j23	120	1600	3		
		j30	155	1600	3		
		j37	175	1600	5		
		j42	130	400	3		
		j49	175	400	3		
16	59 ans	j0	370	800	2	<i>C. albicans</i>	Hémocultures
		j7	350	400	2		
		j14	265	400	2		
17	20 ans	j-2	90	0	0	<i>C. albicans</i>	Péritonite
		j5	595	1600	4		
		j12	195	1600	3		
18	21 ans	j0	505	6400	4	<i>C. albicans</i>	Hémocultures
		j14	170	3200	4		
		j21	250	3200	3		
19	69 ans	j3	460	400	2	<i>C. albicans</i>	Hémocultures
		j10	365	0	0		
20	31 ans	j-5	239	200	0	<i>C. albicans</i>	Hémocultures
		j2	360	200	1		
		j9	245	200	1		
21	73 ans	j-14	130	400	1	<i>C. albicans</i>	LBA, sinus
		j-7	110	400	1		
		j0	255	400	2		
		j7	170	800	1		
		j14	105	400	1		
		j21	180	400	0		
		j28	80	400	0		
		j35	10	400	0		
		j42	0	400	0		
22	44 ans	j0	205	800	2	<i>C. albicans</i>	hémocultures
		j7	220	400	2		
		j14	140	1600	3		
		j35	145	800	2		
		j49	150	1600	2		

* Jour de l'infection = jour du premier prélèvement attestant d'une infection candidosique

BUL.

n° 336.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

MERIJOT Ludovic - INTERET DU DOSAGE DES IgM ANTI-CANDIDA ALBICANS
DANS LES CANDIDOSES SYSTEMIQUES. ETUDE RETROSPECTIVE DANS DEUX
SERVICES DE REANIMATION RESPIRATOIRE.

Th. D. : Pharm. ; Limoges ; 1999 ; 99 p

RESUME :

Affirmer ou éliminer le diagnostic de candidose systémique rencontre des difficultés.

Le test ELISA CANDIQUANT® commercialisé par BIOMERICA dosant les IgM anti-*Candida albicans* a permis de comparer cette technique aux deux techniques préalablement utilisées, l'IFI (Immuno Fluorescence Indirecte) et l'IER (Immuno Electrophorèse Rapide) quant à leur sensibilité, leur spécificité et à la cinétique des titres d'anticorps obtenus.

L'étude préliminaire rétrospective a porté sur 15 mois et a été effectuée sur 626 sérums de 232 patients hospitalisés dans 2 services de Réanimation Respiratoire. Les résultats soumis à des études statistiques ont permis de constater la bonne corrélation connue entre IFI et IER, mais par contre il apparaît une certaine discordance entre ces 2 méthodes et les IgM anti-*Candida*, qui en cinétique s'avèrent plus précocement positifs.

La seconde étude, portant sur la même période, a utilisé les résultats sérologiques et mycologiques concernant 116 patients répartis de ce fait en 3 groupes :

- Pour le groupe I "Indemnes de Candidose"(n=42), les taux d'IgM sont considérés comme négatifs (< 90 U/ml) et stables ;

- Pour le groupe II "colonisés"(n=52), les taux sont plus élevés que dans le groupe I mais stables dans le temps (titre moyen : 139 ± 59 U/ml) ;

- Pour le groupe III "infectés"(n=22), les taux d'IgM sont nettement plus élevés. Pour un seuil de pathogénicité à 280 U/ml la sensibilité du test est de 70% et sa spécificité de 89%, la valeur prédictive positive est de 61% et la valeur prédictive négative de 90%.

Toute élévation brutale des IgM chez un patient colonisé peut être considérée comme un risque non négligeable de candidose invasive.

Chez un faible nombre de patients infectés (n=14) traités par Fluconazole, les taux d'IgM diminuent régulièrement.

MOTS CLES :

- Candidose systémiques
- Réanimation
- *Candida albicans*

- ELISA
- IgM anti-*Candida albicans*
- Candiquant

JURY :

Président :
Assesseurs :

Professeur BENOIST H.
Professeur GENESTAL M.
Docteur RECCO P.
Madame LINAS M.D.
Monsieur FONVIEILLE J.L.
