

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 19 octobre 2021
Par M^{elle} Alice DAMBRE**

**Les facteurs confondants des β - (1,3) - D - glucanes,
un marqueur sérique « panfongique » d'interprétation délicate**

Membres du jury :

Président : Pr DUPONT Annabelle, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier, Faculté de Pharmacie de Lille, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Directeur, conseiller de thèse : Dr CORNU Marjorie, Maître de Conférences des Universités et Praticien Hospitalier, Faculté de Médecine de Lille, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Assesseurs :

Pr SENDID Boualem, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier, Faculté de Médecine de Lille, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Dr ROUZE Anahita, Praticien Hospitalier, Pôle de Réanimation, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.



Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective	Régis BORDET
Vice-présidente ressources	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire

Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire

Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL

M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique

M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie
M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurye	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

A ma présidente de jury,

Madame le Professeur Annabelle DUPONT,

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Service d'Hématologie

Centre de Biologie et Pathologie – CHU de Lille

Je vous remercie de me faire l'honneur de juger mon travail et présider le jury de ma thèse. J'ai beaucoup appris de vos enseignements à la faculté lors de mes années d'études, mais également lors de mon passage dans votre service. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.

A mes juges,

Monsieur le Professeur Boualem SENDID

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Chef de service de Parasitologie – Mycologie

Centre de Biologie Pathologie – CHU de Lille

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail. Le passage dans votre service était riche d'enseignements et m'a permis d'approfondir mes connaissances en ce domaine. Je vous prie de recevoir toute ma reconnaissance et mon respect.

Madame le Docteur Anahita ROUZE,

Praticien Hospitalier

Pôle de Réanimation

Hôpital Roger Salengro – CHU de Lille

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse. Nous ne nous étions jamais rencontrés mais vous avez immédiatement accepté avec enthousiasme ma proposition. Je vous prie de recevoir toute ma reconnaissance et mon respect.

A ma directrice de Thèse,

Madame le Docteur Marjorie CORNU

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier

Service de Parasitologie-Mycologie

Centre de Biologie Pathologie – CHU de Lille

Je te remercie d'avoir accepté d'encadrer ce travail et de m'avoir proposé ce sujet de thèse passionnant pour lequel j'ai découvert beaucoup de choses. J'ai beaucoup appris à tes côtés lors de mon stage en Parasitologie-Mycologie, où tu as su transmettre ta passion pour cette discipline. Merci pour ta disponibilité, ta rigueur et ton accompagnement à chaque instant tout au long de ce travail. J'ai un profond respect à ton égard.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance,

Au nombreux **techniciens** et **biologistes**, que j'ai pu côtoyer tout au long de mes années d'internat, au cours de mes différents stages. Merci pour vos enseignements et votre patience à nous transmettre votre savoir.

Je voulais également vous témoigner, tout le plaisir que j'ai eu à travailler avec vous.

A Gabin,

Tu m'as soutenue tout au long de ce travail mais également tout au long de ces années passées ensemble. Tout simplement Merci d'être là à chaque instant.

A mes parents,

Vous avez toujours été présents pour nous, et vous nous avez toujours offert le meilleur. Merci pour l'éducation que vous nous avez inculquée, l'amour et l'esprit de famille que vous nous avez donnés.

A ma sœur et mon frère,

Vous êtes pour moi des modèles dans la vie. Merci d'avoir toujours été là, ainsi que pour ces moments de bonheur partagés au quotidien.

A Manou, Mamie, et Bompa,

Vous avez toujours su nous encourager et croire en chacun de vos petits-enfants. Merci pour l'amour, et les valeurs de la famille que vous nous avez donnés.

A ma famille, ma marraine, mon parrain, mes oncles et tantes et cousins cousines,

Merci pour votre gentillesse, votre affection, et tous les merveilleux moments que nous avons pu vivre ensemble.

A ma belle-famille,

Vous m'avez tout de suite accueillie dans votre famille, merci pour votre gentillesse et les bons moments passés ensemble.

A mes amis proches, du Lycée et de Pharmacie, plus particulièrement Célia, Laura, Jeanne, Louise, et Marie-Clémence,

Merci pour m'avoir toujours soutenue durant ces années d'études, pour la complicité que l'on partage, notre amitié est très importante à mes yeux.

A mes co-internes, et anciens internes devenus biologistes, plus particulièrement, Ambroise, Clara, et Pauline,

Merci pour vos encouragements, et pour « l'amigosité » qui s'est créée entre nous au fil de ces belles années d'internat.

Sommaire

Remerciements	11
Liste des Tableaux	23
Liste des Figures	25
Liste des Abréviations	27
I. Introduction	29
1. Les infections fongiques invasives.....	29
a. Généralités	29
b. Epidémiologie.....	29
c. Les facteurs de risque d'infections fongiques invasives	32
d. Enjeux du diagnostic d'infection fongique invasive.....	32
e. Les recommandations et critères de définitions des infections fongiques invasives	36
2. La paroi fongique	38
a. Généralités	38
b. Les composants de la paroi fongique	39
c. Structure de la paroi fongique selon le genre	40
3. Les Beta -(1,3) -D-glucanes.....	42
a. Définitions.....	42
b. Structure.....	43
c. Rôle des β -D-glucanes	44
d. Les méthodes de dosages des β -(1,3)-D-glucanes	44
4. Le test Fungitell®.....	48
II. Objectifs et méthodes de la contribution personnelle	53
III. Revue de la littérature	55
1. Les microorganismes.....	55

a. Les Bactériémies sont-elles à l'origine d'une détection de β -(1,3)-D-glucanes ?.....	55
b. Infection à <i>Nocardia</i>	59
2. Les facteurs associés aux soins	61
a. Matériels utilisés lors des soins	61
b. Les membranes utilisées dans la production de médicaments	63
c. Les immunoglobulines.....	64
d. Les antibiotiques	65
e. Les produits sanguins.....	66
f. Les antitumoraux.....	68
3. Les interférences analytiques	69
a. Environnement et matériels.....	69
b. Aspect des sérums.....	70
c. Immunoglobulines sériques.....	71
4. Perte d'intégrité épithéliale intestinale	72
a. Patients d'hématologie	73
b. Patients atteints du virus de l'immunodéficience humaine (VIH).....	73
c. Impact de la consommation alimentaire sur les taux de BDG	74
d. Rôle de la colonisation par <i>Candida</i>	75
e. Chirurgie digestive.....	76
5. L'insuffisance hépatique	76
6. Les Tumeurs.....	76
7. Facteurs confondants des tests Wako et Dynamiker.....	77
a. Le test Wako	77
b. Le test Dynamiker.....	78
IV. Discussion	81
1. Les facteurs confondants.....	81

2. De quels facteurs faut-il encore tenir compte à l'heure actuelle ?.....	82
3. Conseils pratiques pour une bonne interprétation	83
4. Intérêt du suivi cinétique des BDG pour évaluer la réponse thérapeutique	85
5. De nouvelles méthodes de dosage en perspective	86
V. Conclusion	89
Bibliographie	91

Liste des Tableaux

Tableau 1. Récapitulatif des différentes catégories d'IFI selon les critères de l'EORTC/MSGERC (31).	37
Tableau 2. Résumé des caractéristiques des cinq tests de détection des BDG.	46
Tableau 3. Caractéristiques techniques des trois tests disponibles en Europe pour le dosage des BDG.	47
Tableau 4. Sensibilités et spécificités de l'étude comparative Fungitell vs. test Wako. De carolis et al. (45)	47
Tableau 5. Elévation des taux de BDG selon le type de membrane d'hémodialyse utilisée.	62
Tableau 6. Réactions croisées et antibiotiques dans le dosage des BDG.	66
Tableau 7. Contamination après manipulation des échantillons (test Fungitell®).....	69

Liste des Figures

Figure 1. Rapport d'activité CNRMA 2014 – Dromer et Lortholary. (6).....	30
Figure 2. Répartition des principales IFI dans RESSIF -CNRMA 2019. (7)	30
Figure 3. Mortalité globale à 3 mois, d'après les données 2019 collectées par le CNRMA. (7).....	31
Figure 4. Facteurs de risques associés aux infections fongiques invasives, extrait de Suleyman et al. (11)	32
Figure 5. Mortalité hospitalière en fonction du délai d'instauration du traitement antifongique. Extrait de Morrell et al. (13).....	33
Figure 6. Mortalité et survie selon le délai d'instauration du traitement des mucormycoses. Extrait de Chamilos et al. (15)	34
Figure 7. Structure de la membrane et de la paroi des cellules fongiques et cibles des antifongiques systémiques. Extrait de Garnaud et al. (33)	38
Figure 8. Structure chimique de la chitine.....	39
Figure 9. Structures des parois cellulaires fongiques par Grün. D'après Zlotko et al. (37)	39
Figure 10. Structure des β – (1,3) – et β – (1,6) – D- glucanes.....	40
Figure 11. Extrait de Gow et al. (34).....	41
Figure 12. Extrait de Gow et al. (34).....	41
Figure 13. Polysaccharides de la paroi cellulaire de la moisissure <i>Aspergillus fumigatus</i> et de la levure <i>Sacharomyces cerevisiae</i> . Le noyau commun à la majorité des champignons est en gris. D'après Latgé. (32)	42
Figure 14. β -glucanes. Megazyme.....	43
Figure 15. Etapes d'obtention du lysat d'amoebocytes (coagulogène) de <i>Limulus</i> ..	48
Figure 16. Principe de détection des BDG selon le test Fungitell®.	49
Figure 17. Etapes du test Fungitell®	50

Figure 18. Exemple de résultats du Fungitell STAT®. L'indice est donné par le ratio entre la pente de l'échantillon (soit 0,00022 OD/s) et la pente du Standard de 80 pg/ml. Ici un indice de 1,4.....	50
Figure 19. Etapes du test Fungitell STAT®, Associates of Cape COD, Inc.	51
Figure 20. Résultats des BDG Fungitell en fonction des groupes de patients. Pickering et al. (4)	56
Figure 21. McIntosh et al. (62)	58
Figure 22. Réactivité du test Fungitell® aux différents surnageants de culture bactérienne. Mennink-Kersten et al. (61).....	58
Figure 23. Formule utilisée pour l'approche du calculateur, extrait de Liss et al. (121)	67
Figure 24. Extrait de Liss et al. (121)	67
Figure 25. Extrait de Pickering et al. (4).....	70
Figure 26. Dosage des BDG en présence ou non d'artefacts optiques. D'après Issa et al. (132)	72
Figure 27. Système de protection des surfaces de la muqueuse gastro-intestinale. D'après Bengmark et al. (135).....	72
Figure 28. Extrait de la notice du test Fungus β -(1,3)-D-Glucane, de TECOMedical Group. (166)	79
Figure 29. Dosage des BDG avant et après l'administration d'IgIV. Extrait de Finkelman. (167).....	84
Figure 30. Facteurs à prendre en compte lorsqu'un faux positif est suspecté. Adapté de Finkelman. (167).....	84
Figure 31. Proposition d'algorithme pour l'interprétation d'un résultat de BDG.....	85
Figure 32. Principe de la méthode SSMC. Extrait d'Adachi et al. (171).....	87

Liste des Abréviations

- AI : Aspergillose Invasive
- API : Aspergillose Pulmonaire Invasive
- BDG : β - (1,3) - D – glucanes
- BEH : Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire
- BGN : Bacille Gram négatif
- CE : Conformité européenne
- CGP : Cocci Gram positif
- CI : Candidose Invasive
- CMV : Cytomégalovirus
- CNRMA : Centre National de Référence des Mycoses invasives et Antifongiques
- CSH : Cellules souches hématopoïétiques
- DO : Densités optiques
- ECIL : European Conference on Infections in Leukaemia
- EORTC : European Organization for Research and Treatment of Cancer
- ESCMID : European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
- FDA : Food and Drug Administration
- FDR : Facteurs de risque
- GAFFI : Global Action Fund for Fungal Infections
- GAG : Galactosaminoglycan
- GalXM : galactoxylomannane
- GDP : Guanosine diphosphate
- GM : Galactomannane
- GVHD : Graft-versus-host disease
- GXM : Glucuronoxylomannane
- HD : Hémodialyse
- IDSA : Société des maladies infectieuses d'Amérique
- IFI : Infection Fongique Invasive
- Ig : Immunoglobulines
- IRA : Insuffisance respiratoire aiguë
- IV : Intraveineux
- LAL : Lysat d'Amoebocytes de Limules
- LBA : Liquide bronchoalvéolaire

- LCR : Liquide céphalorachidien
- MHRA : Medicines and Healthcare products Regulatory Agency
- MSGERC : Mycoses Study Group Education and Research Consortium
- OPG : Glucanes périplasmiques osmorégulés
- PAMP : Pathogen Associated Molecular Pattern
- PCR : Polymerase chain reaction
- PELD : Pediatric End stage Liver Disease
- PLAP : Phosphatase alcaline placentaire
- PMSI : Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information
- pNA : para-nitroaniline
- PPJ : Pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*
- S-BGRP : Recombinant β -1,3-D-glucan recognition protein
- SC : Sous-cutané
- SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise
- SPG : Schizophyllane
- SRE : Système réticulo endothélial
- SSMC : Scanning Single-Molecule Counting
- TAR : Traitement antirétroviral
- T2MR : T2 Magnetic Resonance
- USI : Unité de Soins Intensifs
- VIH : Virus de l'immunodéficience humaine
- VPN : Valeur prédictive négative
- VPP : Valeur prédictive positive

I. Introduction

1. Les infections fongiques invasives

a. Généralités

Les infections fongiques invasives (IFI) sont dues à différents pathogènes fongiques tels que les levures, les moisissures, les champignons dimorphiques ou encore *Pneumocystis jirovecii*. Leur incidence est en augmentation et les IFI restent associées à une forte morbi-mortalité, notamment dans les services de soins intensifs ou chez les patients immunodéprimés, puisque ce sont principalement des infections opportunistes. A l'échelle mondiale, les infections à levures sont les plus fréquentes, suivies des infections à moisissures. Les agents fongiques principalement retrouvés dans les IFI sont : *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* et *Pneumocystis jirovecii*. Toutefois, l'émergence d'infections fongiques causées par des espèces plus rares de *Candida*, d'*Aspergillus*, mais aussi par d'autres champignons émergents tels que les Mucorales ou *Fusarium spp*, parfois plus difficiles à traiter, est un constat préoccupant (1) (2) (3).

b. Epidémiologie

Depuis les années 1980, l'incidence des IFI croît régulièrement. Plusieurs raisons sont proposées face à cette croissance : i) l'augmentation de la prévalence de patients immunodéprimés, ii) l'augmentation de la fréquence des indications des thérapies immunosuppressives, iii) la généralisation de l'utilisation des antibiotiques à large spectre ou encore une utilisation plus importante des dispositifs implantables tels que les cathéters (4).

Dans le monde, selon le GAFFI (Global Action Fund for Fungal Infections), l'incidence des IFI est estimée à environ 13 500 000 personnes par an. En France, selon Bitar *et al.*, qui ont analysé les données du PMSI (Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information), l'incidence totale a été estimée à 5,9 cas/100 000 personnes/an, avec par ordre de fréquence, les candidémies (43,3%), les pneumocystoses (26,1%), les aspergilloses invasives (23,9%), les cryptococcoses (5,2%) et les mucormycoses (1,5%). Ils ont observé une augmentation de l'incidence des IFI de 1,5% par an entre 2001 et 2010 (5). Les données du CNRMA (Centre National de Référence des Mycoses invasives et Antifongiques) de 2014 montrent une

tendance similaire, avec une prépondérance des fongémies (47%), de la pneumocystose (20%) et des aspergilloses invasives (17%), la répartition de ces mycoses variant en fonction des facteurs de risque des patients (**Figure 1**) (6). Peu de changements ont été constatés depuis, hormis une diminution de la proportion d'aspergilloses invasives déclarées depuis 2012 (**Figure 2**) (7). Cependant, les données du CNRMA sont basées sur les déclarations volontaires. Peu de données épidémiologiques récentes à l'échelle nationale sont disponibles actuellement.

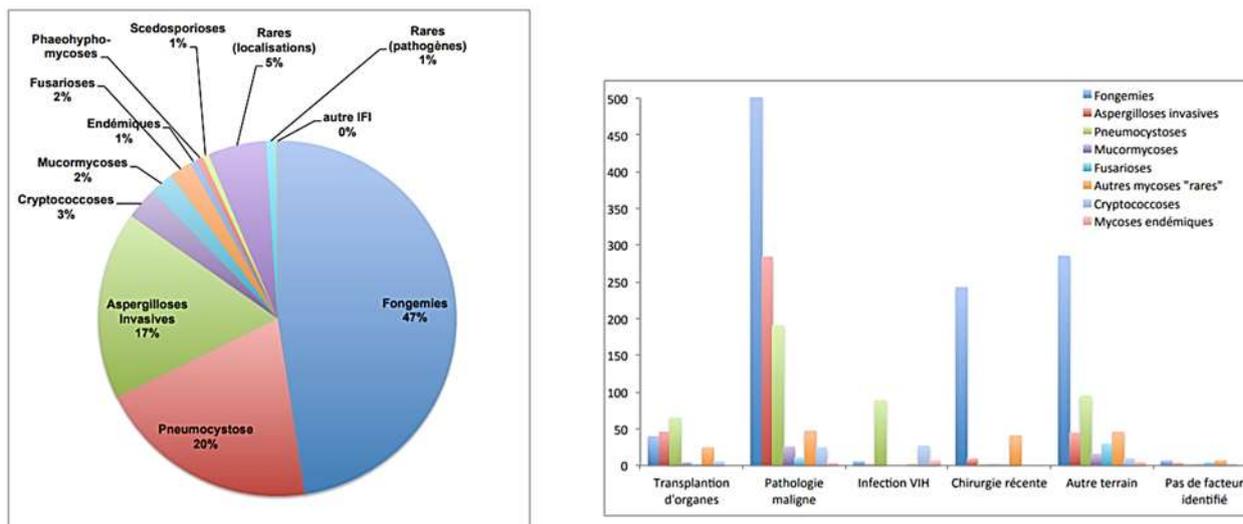


Figure 1. Rapport d'activité CNRMA 2014 – Dromer et Lortholary. (6)

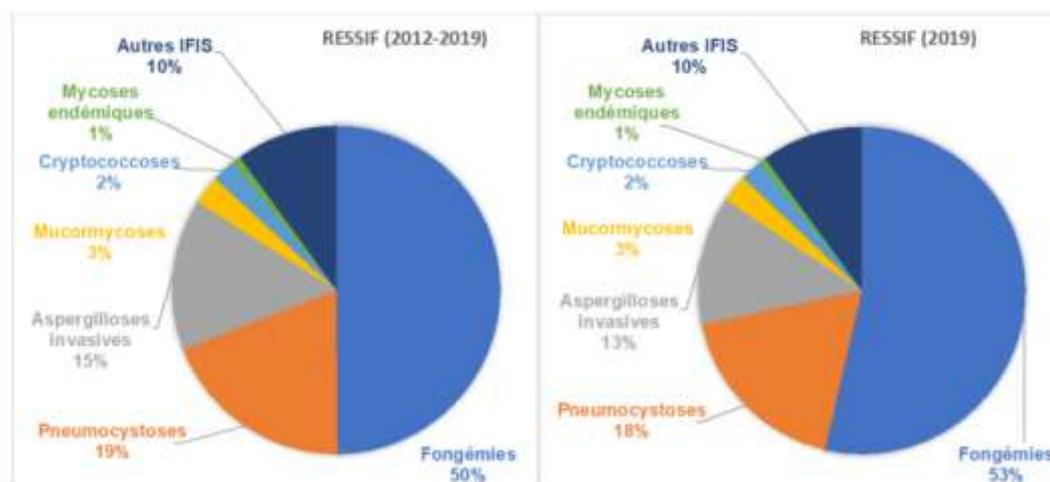


Figure 2. Répartition des principales IFI dans RESSIF -CNRMA 2019. (7)

Dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH) de 2013, une étude sur les candidoses invasives en île de France a permis d'observer la répartition des espèces de *Candida*. La prévalence des candidémies a été estimée à 0,6/1000 admissions hospitalières et à 6,9/1000 admissions en unités de soins intensifs (USI). Six espèces

étaient fréquemment identifiées : *C. albicans* (54,1%), *C. glabrata* (18%), *C. parapsilosis* (11,1%), *C. tropicalis* (9%), *C. krusei* (2,8%) et *C. kefyr* (1,7%). Cette répartition variait selon l'âge et une pré-exposition aux antifongiques (8). Récemment, l'émergence d'une espèce multirésistante a été observée à l'échelle mondiale. Il s'agit de *Candida auris* responsable d'épidémies dans les services de soins hospitaliers depuis 2013, épargnant pour le moment la France où très peu de cas ont été décrits. Cette espèce fait l'objet d'une surveillance accrue (9).

Dans le monde, la mortalité des IFI concerne 15 à 40% des cas infectés. Avec un nombre de décès estimé à plus d'1,6 millions de personnes par an, les IFI seraient à l'origine d'une mortalité plus élevée que celle imputable à la tuberculose (1,5 millions) (10). En France, Bitar *et al.* ont montré une létalité moyenne de 27,3%. Celle-ci semblait décroître pour les candidémies (-1,6% par an) et les aspergilloses invasives (-1,4% par an), alors qu'une augmentation était observée pour les mucormycoses (+9,3% par an), les pneumocystoses (11,7% par an) et cryptococcoses (4,7% par an) (5). La mortalité des fongémies variait de 31,8% à 55,4% selon l'agent fongique incriminé. Le rapport annuel du CNRMA de l'année 2019, a évalué la mortalité à 3 mois des IFI. Celle-ci était très variable selon l'IFI, avec une mortalité importante liée aux mucormycoses de 58% (**Figure 3**) (7). Face à la létalité des IFI, la précision et la rapidité représentent des enjeux majeurs du diagnostic.



Figure 3. Mortalité globale à 3 mois, d'après les données 2019 collectées par le CNRMA. (7)

c. Les facteurs de risque d'infections fongiques invasives

Les facteurs de risque (FDR) d'IFI sont nombreux et varient avec le type d'infection fongique. De plus, ces FDR évoluent dans le temps, à l'instar de l'augmentation des diagnostics d'aspergilloses invasives lors de la pandémie de la COVID-19 traitée par une corticothérapie à haute dose. L'immunodépression est le FDR le plus fréquent. Elle peut être due à un déficit immunitaire d'origine génétique ou acquise en cas d'hémopathie entraînant une leucopénie ou lors de l'utilisation de thérapies immunosuppressives. Ces facteurs de risque ont été recensés par type d'IFI par Suleyman *et al.* (**Figure 4**) (11) Les facteurs d'hôte classiquement rapportés et communs à la plupart des IFI sont les hémopathies malignes, les cancers solides ou les transplantations d'organes. Les patients de réanimation sont également particulièrement exposés. La dernière conférence de consensus de l'European Organization for Research and Treatment of Cancer et the Mycoses Study Group Education and Research Consortium (EORTC/MSGERC), a permis une révision des facteurs d'hôte intégrés dans les définitions d'infections fongiques invasives (12).

<i>Candida</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Scedosporium</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Acute necrotizing pancreatitis • Abdominal surgery; anastomotic leak or repeat laparotomies • Broad-spectrum antibiotics • CVCs • Hemodialysis • HSCT • Immunosuppression including corticosteroids, chemotherapy • Malignancy • Mechanical ventilation >3 d • Multifocal <i>Candida</i> colonization • Neutropenia • Prolonged ICU stay • Prolonged hospitalization • SOT (kidney and liver) • Total parenteral nutrition 	<ul style="list-style-type: none"> • Alemtuzumab • Allogeneic HSCT • Anastomotic complications in lung transplantation • <i>Aspergillus</i> colonization • CMV disease • Corticosteroids • Infliximab • Neutropenia • Older age • Prolonged ICU stay • Renal failure requiring dialysis • Retransplantation • Severe GVHD • T-cell depleting agents 	<ul style="list-style-type: none"> • CMV disease • Corticosteroids • Diabetes mellitus • Echinocandin use • Iron overload • Malnutrition • Myelodysplasia • Neutropenia • Older age • Renal failure • Severe GVHD • Voriconazole use • Trauma • Burns 	<ul style="list-style-type: none"> • Corticosteroid • Myeloma • Severe GVHD 	<ul style="list-style-type: none"> • Corticosteroid • Neutropenia • Severe GVHD

Figure 4. Facteurs de risques associés aux infections fongiques invasives, extrait de Suleyman *et al.* (11)

Abréviations : CMV, cytomegalovirus ; CVC, central venous catheter ; GVHD, graft versus host disease ; HSCT, hematopoietic stem cell transplant ; ICU, intensive care Unit ; SOT, solid organ transplant.

d. Enjeux du diagnostic d'infection fongique invasive

Le diagnostic des IFI repose généralement sur un faisceau d'arguments comprenant les éléments cliniques, ceux issus de l'imagerie et les résultats des analyses biologiques. En mycologie, le diagnostic d'IFI repose sur les résultats de i) l'examen direct, permettant une orientation rapide du diagnostic en cas de positivité et ainsi

d'instaurer rapidement un traitement adapté, ii) la culture, prouvant l'infection lorsqu'il s'agit d'un site dit stérile et permettant l'identification de l'agent fongique en cause et l'étude de la sensibilité aux antifongiques, et enfin iii) l'examen histologique, affirmant le caractère invasif de l'infection (3).

L'impact du délai d'instauration d'un traitement adapté sur la mortalité hospitalière a été évalué par différentes études. Morell *et al.* ont examiné les dossiers de 157 patients atteints de candidémie et ont démontré que l'instauration retardée d'un traitement antifongique (> 12h après le prélèvement d'hémocultures positives) augmentait le risque de mortalité hospitalière. **(Figure 5)** Un diagnostic plus précoce et l'instauration d'un traitement antifongique empirique approprié (en se basant sur les utilisations antérieures d'antifongique et les facteurs de risques des patients) pourraient permettre de réduire la mortalité (13). Greene *et al.* ont démontré une meilleure survie des patients atteints d'aspergillose pulmonaire invasive (API) lorsque le traitement était introduit au moment de l'observation d'un signe précoce à l'imagerie, le signe du halo (14). Chamilos *et al.* se sont intéressés aux mucormycoses, responsables d'une mortalité élevée. Le diagnostic de mucormycose est difficile du fait de l'absence de marqueur précoce et d'une discrimination parfois complexe avec l'API. Cette étude a montré que le retard à l'instauration d'un traitement efficace par amphotéricine B (≥ 6 jours après le début des symptômes) doublait le taux de mortalité à 12 semaines par rapport à un traitement instauré rapidement (82,9% vs. 48,6%) **(Figure 6)** (15).

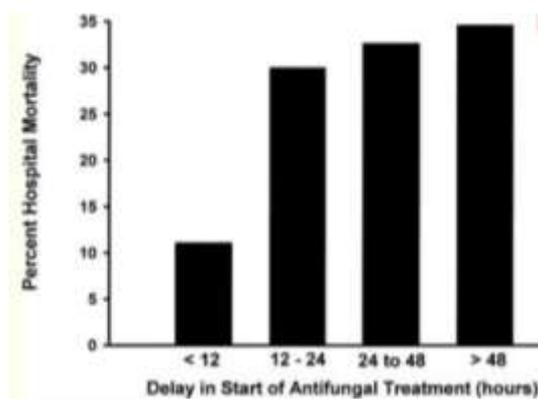


Figure 5. Mortalité hospitalière en fonction du délai d'instauration du traitement antifongique.

Extrait de Morrell *et al.* (13)

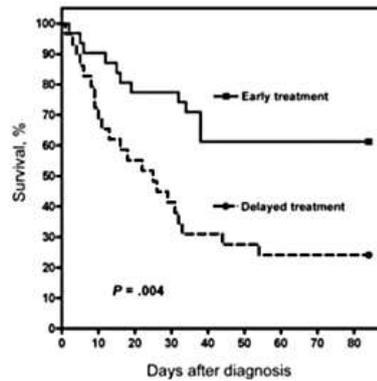


Figure 6. Mortalité et survie selon le délai d'instauration du traitement des mucormycoses. Extrait de Chamilos et al. (15)

Les résultats de ces études soulignent l'importance d'un diagnostic précoce et précis, afin de mettre en place rapidement une thérapeutique adaptée, pour améliorer la survie globale et diminuer la mortalité hospitalière. Cependant, la sensibilité diagnostique des méthodes de référence issues de la mycologie conventionnelle (examen direct, culture) est insuffisante. Ainsi, les hémocultures, permettant le diagnostic de fongémies, ne seraient positives que dans 50 % des candidémies (16), et ne permettent pas le diagnostic de toutes les infections disséminées telles que l'aspergillose invasive. Pour compenser ce manque de sensibilité, deux stratégies existent. L'une des stratégies vise à instaurer un traitement antifongique plus précocement, de manière i) préventive chez des sujets à haut risque, il s'agit de la prophylaxie ou ii) empirique lorsque le patient présente des facteurs de risque d'IFI et des symptômes compatibles. L'autre stratégie vise à utiliser des outils du diagnostic indirect augmentant la sensibilité du diagnostic mycologique. Il s'agit de méthodes non basées sur la culture, utilisées en complément des méthodes de mycologie conventionnelle. Les outils du diagnostic indirect permettent de détecter de façon spécifique des fragments d'agents fongiques tels que leurs acides nucléiques, leurs antigènes pariétaux ou encore leurs métabolites, mais également la réaction de l'hôte contre certains de ces éléments par la détection d'anticorps. De par la nature circulante de ces éléments, ils peuvent être facilement accessibles dans le sérum des patients, permettant alors également d'envisager un diagnostic lorsque les prélèvements invasifs sont contre-indiqués.

Parmi les antigènes sériques couramment détectés, nommés biomarqueurs fongiques, l'antigène mannane est un composé spécifique de la paroi des levures du genre *Candida*, utile au diagnostic de candidoses invasives. L'antigène

galactomannane (GM) est un biomarqueur plutôt spécifique des aspergilloses invasives et l'antigène glucuronoxylomannane est utilisé pour le diagnostic des cryptococcoses. Les β -(1,3)-D-glucanes (BDG) sont utilisés comme marqueurs panfongiques, détectés dans la plupart des IFI (17) (18). La détection combinée des biomarqueurs est couramment utilisée en pratique clinique. L'utilisation combinée de certains marqueurs a été démontré dans le diagnostic des candidoses invasives (19).

Certains de ces biomarqueurs peuvent également être détectés dans d'autres matrices que le sérum telles que le lavage broncho-alvéolaire ou le liquide cébro-spinal ou liquide céphalo-rachidien (LCR). Cela représente un intérêt, en particulier pour l'antigène GM dans le LBA et le LCR, et pour l'antigène cryptocoque dans le LCR (20). Les intérêts de ces biomarqueurs sont diagnostiques et parfois pronostiques. Ils apportent des arguments en faveur ou non du diagnostic d'IFI, de par leurs performances diagnostiques en matière de sensibilité, spécificité ou valeur prédictive négative (VPN), ou en matière de précocité par rapport aux signes cliniques d'infections. L'antigène mannane est notamment connu pour être un marqueur précoce mais transitoire (21) (22). Ces outils peuvent donc être utilisés également dans le cadre d'une stratégie de dépistage. La valeur pronostique de certains biomarqueurs peut reposer sur une valeur élevée du biomarqueur au diagnostic (antigène glucuronoxylomannane et cryptococcoses), ou encore sur la détection persistante du biomarqueur au cours d'un suivi (antigène galactomannane et aspergillose invasive) (2).

Ces biomarqueurs sont considérés comme des biomarqueurs bayésiens, puisqu'ils vont permettre d'attribuer une probabilité d'infection fongique plutôt qu'un diagnostic définitif. Les valeurs prédictives positives et négatives (VPP et VPN) d'un test sont établies selon les valeurs de sensibilité, spécificité et probabilité pré-test de la maladie. Cette dernière est elle-même estimée grâce à la prévalence de la maladie dans différents contextes cliniques. Ainsi, lorsque la probabilité pré-test est faible, la VPP est extrêmement faible et la VPN extrêmement élevée, tandis qu'au fur et à mesure que la probabilité pré-test augmente la VPP augmente et la VPN diminue (23). Ces difficultés d'interprétation ont amené à l'établissement de recommandations quant à l'utilisation de ces biomarqueurs d'IFI.

e. Les recommandations et critères de définitions des infections fongiques invasives

Dans les aspergilloses invasives, le dosage du GM sérique dans la neutropénie prolongée et chez les allogreffés de cellules souches hématopoïétiques (CSH) pendant la phase précoce de la greffe est recommandé en stratégie de dépistage, puisque le test présente une sensibilité élevée et une forte valeur prédictive négative. En cas de prophylaxie anti-moisissures, aucune recommandation n'a pu être établie en raison d'une perte de sensibilité du test. De même, la sensibilité du test est significativement plus faible chez les patients non neutropéniques. La diminution de l'index du GM au cours des 2 premières semaines de traitement antifongique est un prédicteur fiable d'une réponse favorable chez les patients cancéreux. Le dosage des BDG sériques est recommandé pour le diagnostic d'aspergillose invasive chez les patients à haut risque (hématologie maligne, allogreffe de CSH), mais ne sont pas spécifiques d'aspergillose (24) (25).

Dans les candidoses invasives, des recommandations ont été établies par la société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses (ESCMID) en 2012 et par la société des maladies infectieuses d'Amérique (IDSA) en 2016. Il est recommandé de réaliser des tests non basés sur la culture, tels que la détection d'antigènes mannanes, d'anticorps anti-mannane ou de BDG, et la PCR en complément des cultures. La détection des BDG pourrait être plus précoce de quelques jours à quelques semaines avant la positivité des hémocultures et raccourcir le délai d'instauration du traitement antifongique. Dans les méta-analyses des études menées sur les performances des tests de détection des BDG, la sensibilité et la spécificité combinées pour le diagnostic de la candidose invasive étaient respectivement de 75 % à 80 % et de 80 % (26,27). Actuellement, il n'est pas recommandé d'utiliser la détection des BDG pour guider la prise de décision en pédiatrie (28) (29).

Dans les pneumocystoses, des recommandations diagnostiques ont été émises lors de la conférence européenne sur les infections dans les leucémies (ECIL), concernant les patients d'hématologie. Le diagnostic de la pneumonie à *Pneumocystis jirovecii* (PPJ) repose sur des critères cliniques, d'imagerie et biologiques. Lorsque le diagnostic ne peut pas être confirmé à l'examen direct par la présence d'éléments fongiques évocateurs dans un prélèvement respiratoire, une PCR est réalisée. Une

PCR négative dans le LBA permet d'exclure une PPJ. La détection des BDG dans le sérum peut contribuer au diagnostic mais pas au suivi de la PPJ. Un résultat négatif permettrait d'exclure la PPJ chez un patient à risque, alors qu'un résultat positif peut indiquer d'autres infections fongiques (30).

Afin de comparer les études cliniques entre elles, des définitions d'IFI ont été établies par le choix de critères reposant sur le terrain du patient (critères d'hôte), les symptômes clinico-radiologiques (critères cliniques) et les résultats biologiques (critères mycologiques). Récemment, ces définitions consensuelles ont été révisées par les experts de l'EORTC/MSGERC. Les modifications principales concernent la prise en compte des IFI hors immunodépression, l'actualisation des méthodes diagnostiques (PCR, T2MR), l'inclusion de la pneumocystose et l'application à la pédiatrie (12,31). L'utilisation de ces critères permet de définir trois catégories : i) les IFI prouvées, ii) les IFI probables et iii) les IFI possibles (**Tableau 1**).

Tableau 1. Récapitulatif des différentes catégories d'IFI selon les critères de l'EORTC/MSGERC (31).

Type d'IFI	Les critères
IFI prouvées	Clinique – Imagerie + critère mycologique fort (concerne les immunodéprimés (ID) et immunocompétents)
IFI probables	1 critère d'hôte (ID sévère) + 1 critère « clinique » + 1 critère mycologique
IFI possibles	1 critère d'hôte + 1 critère « clinique » + 0 critère mycologique

Il a été défini que les BDG conviennent à la définition des candidoses invasives et pneumocystoses « probables » en cas de contexte évocateur (patients atteints d'hémopathie maligne avec ou sans neutropénie, neutropénie suivant une greffe de CSH, patients d'USI à haut risque de candidose invasive) et d'exclusion d'autres IFI. Pour réaliser la détection des BDG sériques, un seul kit test est recommandé, le kit Fungitell® avec un seuil de positivité ≥ 80 pg/ml. Un résultat supérieur au seuil ainsi qu'un résultat positif répété permet d'augmenter la valeur prédictive positive du test. Au moins 2 sérums consécutifs positifs sont utiles à la définition de pneumocystose ou de candidose invasive probable (12).

2. La paroi fongique

a. Généralités

Les micromycètes sont des êtres vivants eucaryotes, uni- ou pluricellulaires, caractérisés par la présence d'une membrane plasmique constituée d'une bicouche lipidique riche en ergostérol et d'une paroi fongique située autour de la membrane plasmique. Cette paroi est principalement constituée de sucres, ou polysaccharides (> 90%), tels que les glucanes et la chitine, et de glycoprotéines. Ensemble, ces composants contribuent notamment à la rigidité de la paroi (32) (33).

La paroi fongique est une structure dynamique tridimensionnelle ayant différents rôles : un rôle dans la morphogénèse de la cellule, une fonction protectrice contre l'environnement extérieur, un rôle d'échange avec son environnement, une fonction agressive de par la présence de molécules hydrolytiques et toxiques, un rôle clé dans la pathogénèse, notamment dans les processus d'adhérence et d'invasion des tissus et dans le déclenchement de la réponse immunitaire faisant intervenir l'immunité innée et adaptative. Elle protège la cellule des changements de pression osmotique et d'autres stress environnementaux, tout en permettant à la cellule fongique d'interagir avec son environnement. La composition de la paroi fongique est spécifique du genre du champignon. Il s'agit d'une source de candidats potentiels pour les tests diagnostiques mais aussi de cibles potentielles pour les molécules antifongiques (**Figure 7**) (32) (33) (34).

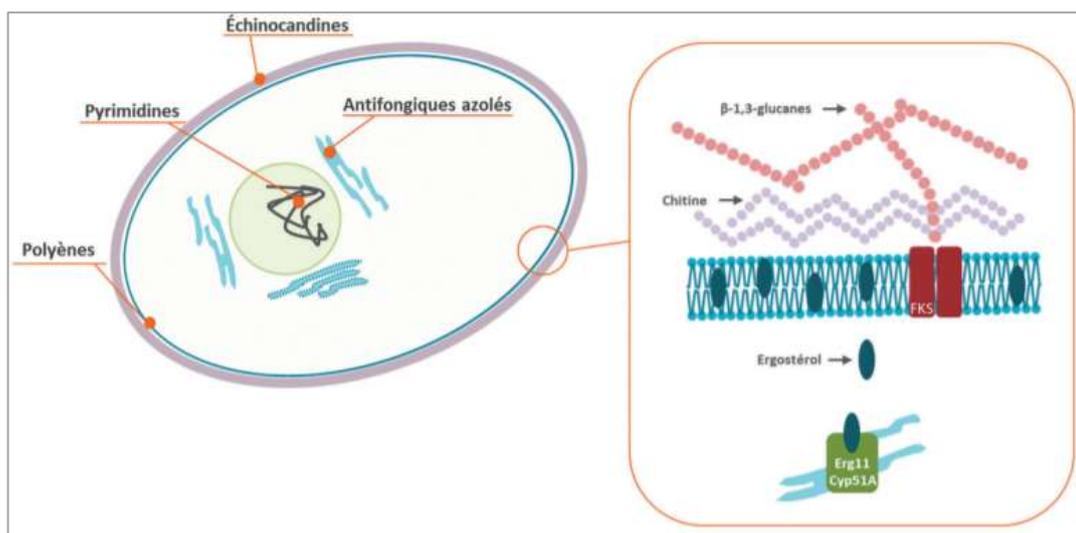


Figure 7. Structure de la membrane et de la paroi des cellules fongiques et cibles des antifongiques systémiques. Extrait de Garnaud et al. (33)

b. Les composants de la paroi fongique

- **La Chitine**

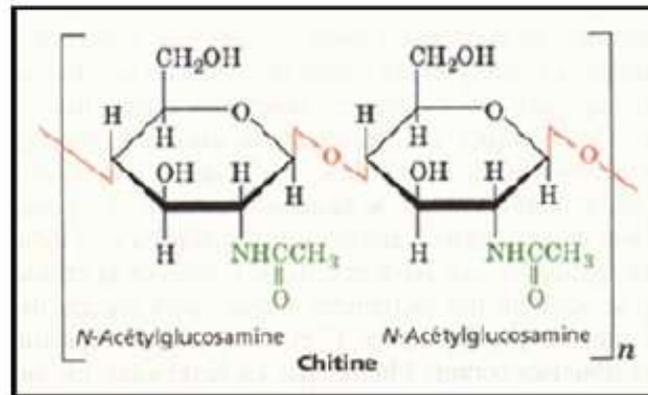


Figure 8. Structure chimique de la chitine.

D'après N. Poussereau, *Éléments clés du développement fongique*, Université Claude Bernard Lyon

La chitine est un polymère de résidus N-acétyl-glucosamine liés en β -1,4 (**Figure 8**). Ce polymère est synthétisé par les chitine-synthases, enzymes localisées au niveau de la membrane plasmique. La chitine est organisée sous forme de microfibrilles disposées de manière antiparallèle. Elle confère à la paroi sa rigidité. La chitine représente 1 à 2% de la paroi cellulaire des levures - la forme hyphale de *C. albicans* représentant une exception avec 3 fois plus de chitine que les autres levures du genre *Candida* -, contre 10 à 20% pour les filamenteux (32) (35). *Pneumocystis* est le seul genre fongique dépourvu de chitine. (36)

- **Les glycoprotéines**

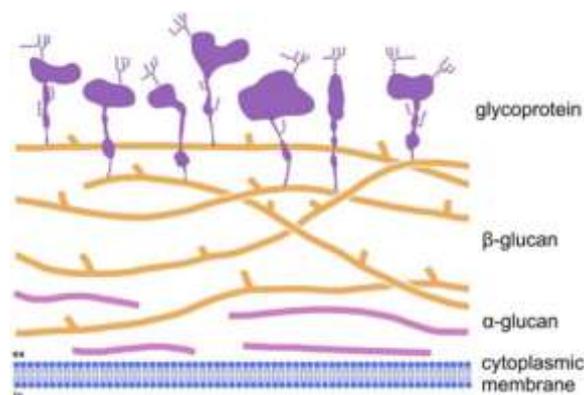


Figure 9. Structures des parois cellulaires fongiques par Grün. D'après Zlotko et al. (37)

Les protéines représentent 30 à 50% de la paroi fongique des levures et 20 à 30% de celle des filamenteux. La majorité des protéines pariétales sont N- ou O-glycosylées, ce sont des glycoprotéines. Elles permettent le maintien de la forme cellulaire, jouent un rôle dans le processus d'adhésion, la protection cellulaire contre différentes substances, l'absorption des molécules, la transmission du signal, la synthèse et la réorganisation des composants de la paroi (35).

- **Les Glucanes**

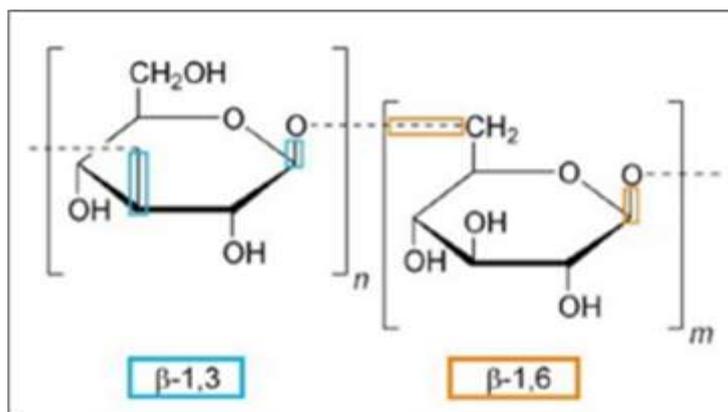


Figure 10. Structure des β – (1,3) – et β – (1,6) – D- glucanes.

D'après N. Poussereau, Eléments clés du développement fongique, Université Claude Bernard Lyon.

Les β -glucanes représentent environ 50% de la paroi fongique et sont donc majoritaires dans la composition de celle-ci. Il s'agit de polymères de D-glucoses liés principalement en β -1,3, parfois en β -1,6 sur les ramifications (notamment pour les levures), et liés à la chitine par des liaisons β -1,4. Les β -(1,3)-D-glucanes (BDG) sont synthétisés par un complexe enzymatique membranaire, la glucane synthase. Il existe un gène codant pour la glucane synthase chez les filamenteux (FKS1) contre 4 pour les levures. D'autres glucanes sont également synthétisés tels que les α -(1,3)-glucanes, composant synthétisé par l' α -glucane synthase (AGS1) (35).

c. Structure de la paroi fongique selon le genre

Chaque paroi est unique, il existe une hétérogénéité de la couche externe et une adaptation selon les genres. Ces différences ont pu être visualisées en microscopie électronique (**Figure 11**) et schématisées (**Figure 12**).

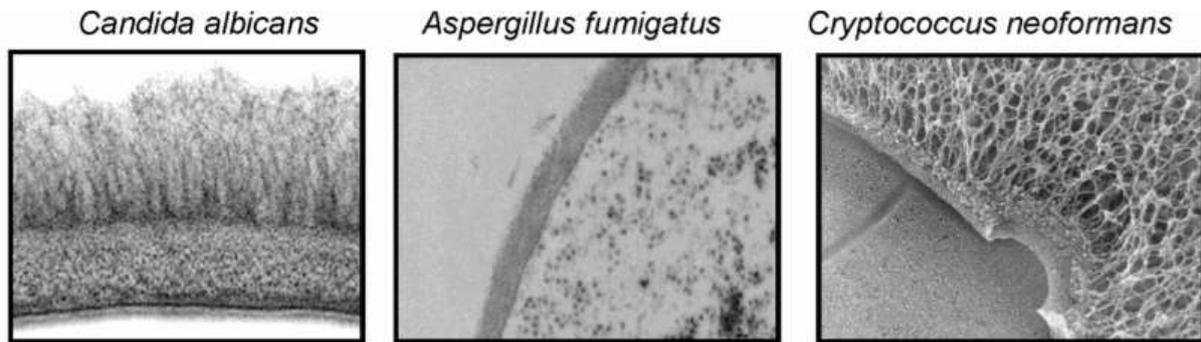


Figure 11. Extrait de Gow et al. (34)

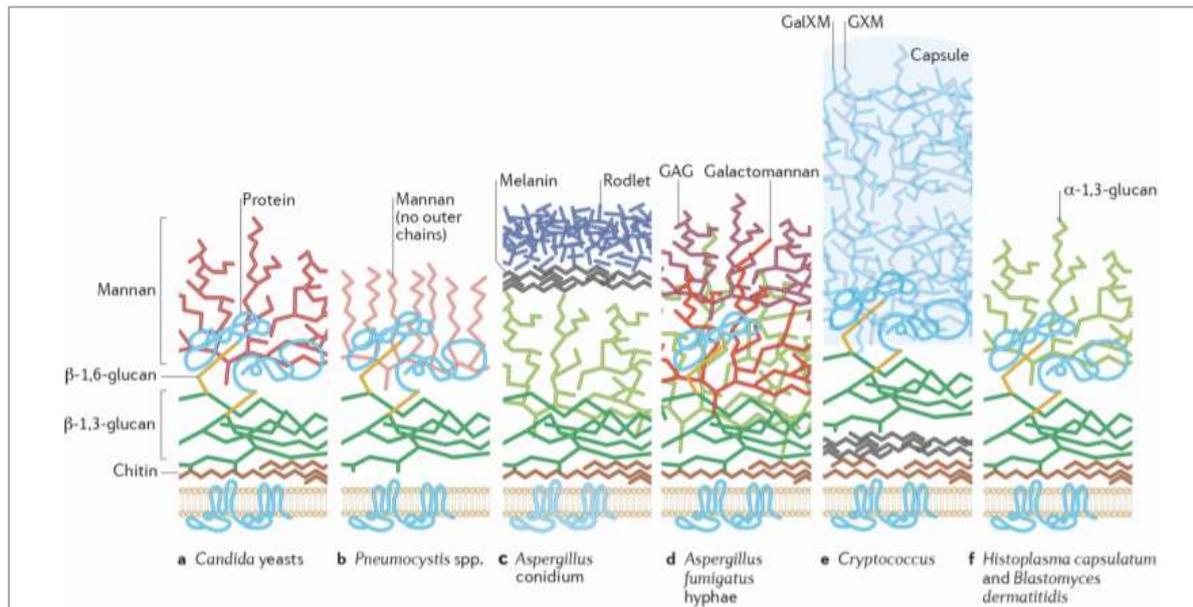


Figure 12. Extrait de Gow et al. (34)

Les β -(1,3)-glucanes ramifiés en β -(1,6) et la chitine sont des éléments communs à la plupart des champignons. La couche externe de la paroi de *Candida* est enrichie en mannanes liés par des résidus glycosylphosphatidylinositol aux β -(1,6)-glucanes. Les mannanes sont des résidus oligomannosyl liés en α et β par des mannosyltransférases qui utilisent le GDP-mannose comme substrat. Les résidus mannoses sont incorporés dans trois structures : les mannoprotéines N- ou O-glycosylées et le phospholipomannane.

La paroi de la spore d'*Aspergillus* est caractérisée par la présence d'une partie externe constituée d'une couche d'hydrophobines organisées en fibrilles, dénommées « rodlets » et d'une couche de mélanine, menant à une inertie immunologique et une capacité de la spore à se disperser aisément dans l'air. Quant à la paroi des hyphes d'*Aspergillus*, elle est composée de β -(1,4)-glucanes liés aux β -(1,3)-glucanes et α -

(1,3)-glucanes pour sa couche interne et expose des galactomannanes et des galactosaminoglycan (GAG) sur sa couche externe.

Cryptococcus neoformans est une levure dont la paroi est caractérisée par la présence d'une couche de mélanine sur un lit de chitine désacétylée en chitosan, et d'une capsule constituée de glucuronoxylomannane (GXM) et de galactoxylomannane (GalXM), jouant un rôle dans l'échappement immunitaire. Enfin, *Histoplasma capsulatum* et *Blastomyces dermatitidis*, deux micromycètes dimorphiques, ont une couche externe composée d' α -(1,3)-glucanes, empêchant une reconnaissance immunitaire efficace des β -(1,3)-glucanes, plus immunogènes (34) (38).

3. Les Beta -(1,3) -D-glucanes

a. Définitions

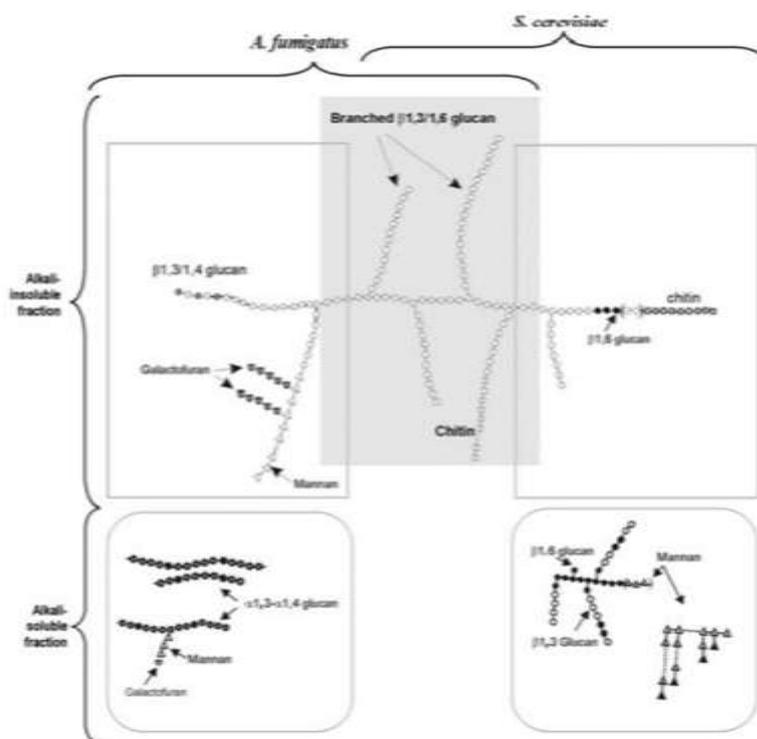


Figure 13. Polysaccharides de la paroi cellulaire de la moisissure *Aspergillus fumigatus* et de la levure *Sacharomyces cerevisiae*. Le noyau commun à la majorité des champignons est en gris. D'après Latgé. (32)

Les β -(1,3)-D-glucanes (BDG) sont largement distribués dans la nature. Ils sont retrouvés dans la paroi fongique de nombreux micromycètes saprophytes et pathogènes, mais également chez les algues, certaines bactéries et les plantes supérieures. Ils sont absents des virus et des cellules humaines, ce qui représente un

avantage pour le diagnostic des IFI. Ils sont non spécifiques d'un genre fongique particulier du fait de leur présence dans la paroi fongique de plusieurs genres fongiques. Cependant, leur détection est peu probable dans les infections par les Mucorales, *Cryptococcus spp* (basidiomycètes en général), et de la forme levure de *Blastomyces dermatitidis*. Ce sont des marqueurs précoces d'IFI, pour lesquels les tests de détection sont sensibles, demeurant parfois difficiles d'interprétation pour les non-initiés, un certain nombre de facteurs confondants ayant été rapportés. La réalisation d'une cinétique de ces marqueurs est beaucoup plus adaptée à la réflexion diagnostique. Ils sont davantage utilisés pour leur VPN. Cependant, leur valeur prédictive positive augmente avec la confirmation de valeurs positives sur différents sérums (3) (39).

b. Structure

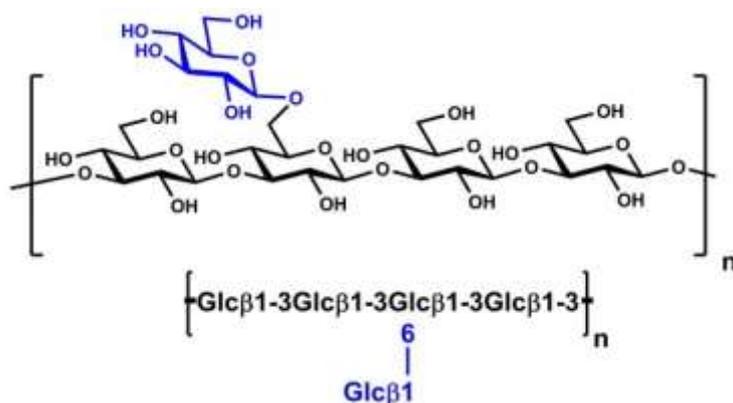


Figure 14. *β-glucanes. Megazyme*

Les BDG sont des polymères linéaires de D-glucose liés en β -(1,3) sur lesquels sont dispersées de manière aléatoire des unités de D-glucose maintenues par des liaisons β -(1,6) (**Figure 14**), le tout formant une structure en peigne. Les BDG existent sous forme soluble et sous forme particulaire. La forme soluble peut inhiber la phagocytose par les monocytes en bloquant le récepteur du BDG présents à leur surface, ce qui pourrait favoriser le développement de l'infection (39). Les BDG sont synthétisés par un complexe enzymatique intra-membranaire, la glucane synthase, utilisant l'UDP-glucose comme substrat. Ce complexe externalise des chaînes linéaires de BDG à travers la membrane, où elles peuvent agir comme substrats pour diverses enzymes transglycosidases.

c. Rôle des β -D-glucanes

Sous l'action des glucane hydrolases et synthases, les BDG sont impliqués dans les modifications de la paroi cellulaire pendant la croissance et la morphogenèse (39). Chez les invertébrés, les BDG provoquent une réponse immunitaire innée, comme chez la Limule, où le facteur G, une sérine protéase, est activé par le glucane pour induire la coagulation de sa lymphe et protéger le reste de son organisme. Chez les insectes et les écrevisses, les BDG entraînent la production de mélanine. Chez les plantes, l'interaction avec les BDG induit la synthèse de la phytoalexine, un métabolite produit en cas d'agression notamment d'origine infectieuse. Enfin chez l'Homme, les BDG sont considérés comme des motifs moléculaires associés à un agent pathogène (PAMPs) et, en tant que tel, induisent un signal d'infection pour le système immunitaire inné. Ils sont reconnus par les cellules de la réponse immunitaire innée via des récepteurs spécifiques, ainsi que par les cellules épithéliales des voies respiratoires ou digestives. Ils se lient à différents récepteurs tels que Dectin-1, Complement Receptor-3, Lactosylceramide et scavenger. Une telle liaison provoque l'activation de cascades de transduction du signal, conduisant notamment à la production de cytokines pro-inflammatoires, une régulation négative occasionnelle de la réponse inflammatoire, une augmentation synergique de la réponse inflammatoire, des « tempêtes » immunologiques fatales et attaque cytotytique (40). Des travaux ont montré que les BDG linéaires stimulent les macrophages de façon significative et que cet effet dépend de la longueur et de la conformation des BDG (41).

Lors d'une IFI, le remodelage de la paroi fongique et la multiplication de l'agent pathogène entraînent un relargage des BDG dans la circulation sanguine en quantité suffisante pour rendre possible leur détection, intéressante pour le diagnostic des IFI.

d. Les méthodes de dosages des β -(1,3)-D-glucanes

Actuellement, cinq tests sont commercialisés pour le dosage des BDG : Fungitell® (Associates of Cape Cod, East Falmouth, MA), Fungitec-G test® (Seikagaku Biobusiness, Tokyo, Japon), beta-glucan® test (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japon), BGSTAR β -glucane (Maruha, Tokyo, Japon) et le test Dynamiker® Fungus (1-3)- β -D-Glucan (Dynamiker Biotechnology (Tianjin) Co., Ltd, China) (42). Les différents tests reposent tous sur le même principe. Ils utilisent les propriétés de défense de la Limule lors de son agression par un pathogène circulant. Il s'agit d'une

réaction enzymatique à partir du lysat d'amoebocytes extrait de la Limule (LAL). Un résumé des caractéristiques des tests est disponible dans le **Tableau 2**.

Dans une revue récente, White *et al.* ont relevé 49 études. La plupart des études (36/49 ; 73 %) concernaient une évaluation du test Fungitell®. Viennent ensuite Glucatell (ancien nom du test Fungitell®) (5 études ; 10 %), Wako (3 études ; 6 %), Fungitec-G (3 études ; 6 %) et Dynamiker (2 études ; 4 %). En se basant sur les seuils recommandés par le fabricant, la sensibilité variait de 27 % à 100 % et la spécificité de 0 % à 100 % pour le test Fungitell®. Pour le test Glucatell, la sensibilité variait de 50 % à 92 %, et la spécificité variait de 41 % à 94 %. Les sensibilités et spécificités des tests Dynamiker, Wako et Fungitec-G variaient de 50 % à 88 % et de 60 % à 100 %. Une trop grande hétérogénéité entre les études ne permettait pas de réelle comparaison (43). Désormais, les tests β -glucan Wako et Dynamiker possèdent le marquage CE venant concurrencer le test Fungitell® en Europe. Un résumé des caractéristiques techniques est disponible dans le **Tableau 3**.

Yoshida *et al.* ont comparé le kit Fungitell® aux trois autres kits utilisés au Japon. Les valeurs de BDG obtenues avec ces kits sont différentes. Cette différence pourrait être due aux calibrants utilisés, au prétraitement des échantillons, ou encore à l'espèce de Limule utilisée pour fabriquer le lysat d'amoebocytes. Ces kits montrent des sensibilités, spécificités, VPN et VPP différentes. Selon les auteurs, le Fungitell® présentait la meilleure sensibilité, tandis que les tests Wako et Mahura présentaient une meilleure spécificité que le kit Fungitell® (44).

De Carolis *et al.* ont comparé les performances diagnostiques des kits Fungitell® et Wako® dans trois pathologies fongiques (IA, IC, et PPJ). Le kit Fungitell® était plus performant à condition d'utiliser les seuils de positivité définis par les fabricants. Ces seuils ne sont pas forcément adaptés aux différentes pathologies fongiques. En abaissant le seuil de positivité du test Wako à 7 pg/ml, les deux tests avaient des performances équivalentes. Les résultats sont résumés dans le **Tableau 4**. (45)

Tableau 2. Résumé des caractéristiques des cinq tests de détection des BDG.

Test	Fungitell® (ex GlucateLL)	Fungitec-G test MK	Beta-glucan test Wako	BGSTAR betaglucan test	Dynamiker Fungus
Fabricant	Associates of Cape Cod, Inc., East Falmouth MA	Seikagaku Corporation, Kogyo, Tokyo Japon	FUJIFILM Wako Pure Chemical Industries, Osaka Japon	Maruha Corporation, Tokyo Japon	Dynamiker Biotechnology Co., Ltd, Tianjin, China
Disponibilité	USA et Europe	Japon	Japon et Europe	Japon	Chine et Europe
Substrat	<i>Limulus polyphemus</i> (Amérique du Nord)	<i>Tachypleus tridentatus</i> (Asie du Sud-Est)	<i>Tachypleus tridentatus</i> (Asie du Sud-Est)	<i>Tachypleus tridentatus</i> (Asie du Sud-Est)	/
Méthode	Colorimétrique	Colorimétrique	Turbidimétrique	Colorimétrique	Colorimétrique
Seuils	60-80 pg/ml (équivoque) ≥ 80pg/ml	20 pg/ml	11 pg/ml	11 pg/ml	70-94 pg/ml (équivoque) ≥ 95pg/ml
Seuils optimaux	60 pg/ml*	/	3-5 pg/ml	3-5 pg/ml	69 pg/ml**

Légendes : * D'après Miceli et Martens 2015 (46) ; ** D'après White et al, 2017 (47)

Tableau 3. Caractéristiques techniques des trois tests disponibles en Europe pour le dosage des BDG.

Test	Fungitell® (ex GlucateLL)	Beta-glucan test Wako	Dynamiker Fungus
Echantillon	Sérum	Sérum ou Plasma	Sérum
Volume d'échantillon	5 µl	100 µl	20 µl
Prétraitement	Solution alcaline	Chaleur et détergents non ioniques avec polymyxine B	Solution alcaline
Nombre d'échantillons	Plaque de 96 puits	Test unitaire, jusqu'à 15 tests simultanément	Plaque de 96 puits (12 barrettes sécables de 8 puits)
Durée de l'analyse	120 min	120 à 150 min	Environ 50 min
Avantages	Test unitaires avec le Fungitell® STAT, forte sensibilité	Approprié pour un faible nombre de test, forte spécificité	Approprié pour un faible nombre de test, Flexibilité technique
Inconvénients	Faible Spécificité	Faible Sensibilité	

Tableau 4. Sensibilités et spécificités de l'étude comparative Fungitell vs. test Wako. De carolis et al. (45)

Type de test	Seuil de positivité	IA		IC		PPJ	
		Se	Sp	Se	Sp	Se	Sp
Fungitell assay (AF)	≥ 80 pg/mL	92,5%	99,5%	100%	97,3%	100%	97,3%
Wako β-glucan test (GT)	≥ 11 pg/mL	60%	99,5%	91%	99,5%	88,2%	99,5%
Wako β-glucan test (GT)	≥ 7 pg/mL	80%	97,3%	98,7%	97,3%	94,1%	97,3%

Abréviations : IA = Invasive aspergillosis, IC= Invasive candidiasis, PPJ =Pneumocystis jirovecii pneumonia, Se = Sensibilité, Sp= Spécificité

Selon une étude de Friedrich *et al.*, comparant les performances des tests Wako et Fungitell® en utilisant les seuils recommandés par les fabricants, les sensibilité, spécificité, VPP et VPN étaient respectivement de 86,7%, 85,0%, 6,0%, 99,8% pour le test Fungitell® et de 42,5%, 98,0%, 19,0% et 99,4% pour le test Wako dans les candidémies. Dans les PPJ, la sensibilité étaient de 100% pour le test Fungitell® et de 88,9% pour le test Wako. La turbidimétrie serait à l'origine de la perte de sensibilité. L'analyse de la courbe ROC permettait de déterminer des valeurs seuils optimales de 70 pg/ml pour le test Fungitell® et 3,8 pg/ml pour le test Wako. A ces taux, les sensibilité/spécificité du test Wako était de 70,8% et 91,5% (48). D'autres études

allaient dans ce sens avec des performances équivalentes entre les 2 tests lorsque le seuil était abaissé (42,45,48,49). Le test Wako apparaît comme une alternative intéressante au test Fungitell® dans les laboratoires avec peu de demandes (48).

Concernant le test Dynamiker, le nombre d'études est encore limité. Wang *et al.* ont comparé le test Dynamiker avec le test Fungitell®. Ils décrivent un seuil optimal pour le test Dynamiker de 70 pg/ml, pour lequel les sensibilité, spécificité, VPP et VPN étaient respectivement de 82,9%, 94,6%, 93,5% et 94,6%, les performances des 2 tests étaient comparables (50). White *et al.* ont montré que le test Dynamiker possède une très bonne sensibilité dans les candidoses invasives (93,3%) mais beaucoup plus faible pour la PPJ (50%) avec une spécificité globale de 78,1% (n=6). Sur l'ensemble des IFI prouvées et probables, ils obtenaient une sensibilité de 90,7% et une spécificité de 73,4%. Le seuil optimal pour le test Dynamiker était de 69 pg/ml (47). Lors d'une étude ciblant spécifiquement la PPJ, White *et al.*, la sensibilité du test Dynamiker était de 87% (100% pour les VIH+), pour une spécificité de 70% (51). En réanimation néonatale, la sensibilité était de 63,6%, pour une spécificité de 90,2%. Avec un seuil de 70 pg/ml, la sensibilité était de 90,5%, pour une spécificité de 56,1% (52).

4. Le test Fungitell®

Le Fungitell est un test colorimétrique cinétique permettant une détection quantitative des BDG sériques chez les patients suspects d'IFI.



Figure 15. *Étapes d'obtention du lysat d'amoebocytes (coagulogène) de Limulus. Miceli et Maertens. (46)*

Les BDG activent le facteur G, un zymogène de type sérine protéase. Le facteur G activé transforme l'enzyme pro-coagulante inactive en une enzyme coagulante active, qui à son tour libère un chromophore absorbant à 405 nm, la para-nitroaniline (pNA), du substrat peptidique chromogène artificiel. En présence de BDG dans l'échantillon, une coloration du puits réactionnel de la microplaque va virer du bleu au jaune. La mesure des densités optiques (DO) est réalisée de façon cinétique. Les taux sont calculés à partir d'une courbe de standard permettant d'estimer les concentrations

en pg/ml. La voie des facteurs C et B permettant l'activation de l'enzyme de coagulation par le lipopolysaccharide bactérien a été désactivée. (**Figure 16**)

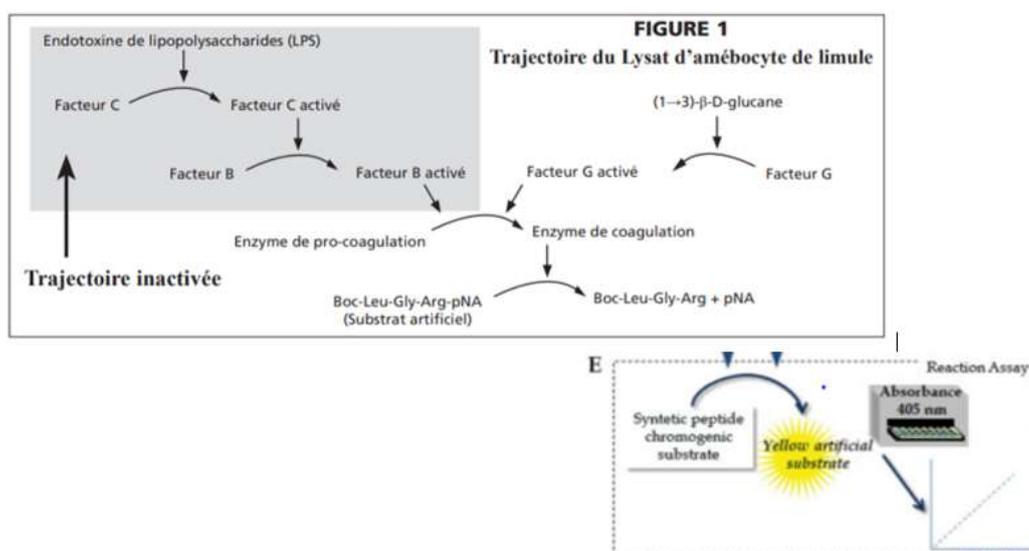


Figure 16. Principe de détection des BDG selon le test Fungitell®.

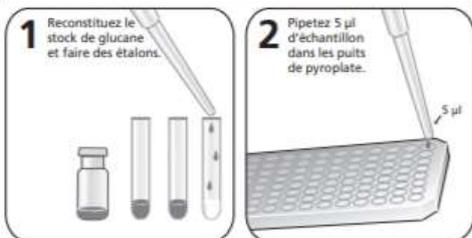
La conformation des BDG joue un rôle dans l'activation du facteur G mais pas leur poids moléculaire. En effet, la conformation en simple hélice permet une plus forte activation du facteur G que la conformation en triple hélice des BDG. C'est pourquoi, un prétraitement par un réactif alcalin est nécessaire afin de permettre, d'une part, le changement de conformation des BDG en simple hélice et, d'autre part, d'inactiver les sérines protéases et les inhibiteurs de sérines-protéases naturellement présents dans le sérum humain afin de réduire le risque de réactions faussement positives ou négatives (53) (54). Les différentes étapes sont décrites dans la **Figure 17**.

Les limites de détection inférieure et supérieure sont ≤ 31 pg/ml et ≥ 500 pg/ml, respectivement. En cas de résultats > 500 pg/ml, une dilution de l'échantillon est réalisée. Les valeurs de BDG obtenues sont interprétées comme négatives si < 60 pg/ml, indéterminées entre 60 pg/ml et 79 pg/ml et positives si ≥ 80 pg/ml.

Le kit Fungitell STAT® a été développé pour réaliser les tests de façon unitaire. Un kit contient 5 flacons de standard, un flacon pouvant servir au dosage de 9 échantillons. Le principe de détection reste le même. Cependant, les DO sont comparées grâce aux pentes obtenues lors de la réaction cinétique. Un indice est alors calculé, l'indice du standard étant de 1 (**Figure 18**). Cette valeur est interprétée qualitativement selon les plages suivantes : négatif $\leq 0,74$, indéterminé de 0,75 à 1,1 et positif $\geq 1,2$. Les étapes du test sont résumées sur la **Figure 19**.

PROCÉDURE DU TEST FUNGITELL® GUIDE RAPIDE

INSTALLATION



ÉCHANTILLONS



Étapes du test Fungitell® :

1. Préparation des standards.
2. Déposer 5 µl d'échantillon dans chacun des puits.
3. Ajouter 20 µl de la solution alcaline dans chacun des puits échantillons de la plaque.
4. Agiter la plaque pendant 5 à 10 secondes puis incuber dans le lecteur de plaque d'incubation pendant 10 minutes à 37°C.
5. Reconstituer le réactif Fungitell® pendant le temps d'incubation de la plaque.
6. Ajouter 25 µl des contrôles négatifs et des étalons sur la plaque.
7. Ajouter 100 µl du Réactif Fungitell® dans chacun des puits.
8. Insérer la plaque dans le lecteur de plaque, agiter 5 à 10 secondes puis incuber pendant 40 minutes à 37°C.
9. Recueil et analyse des données.

Figure 17. Etapes du test Fungitell®

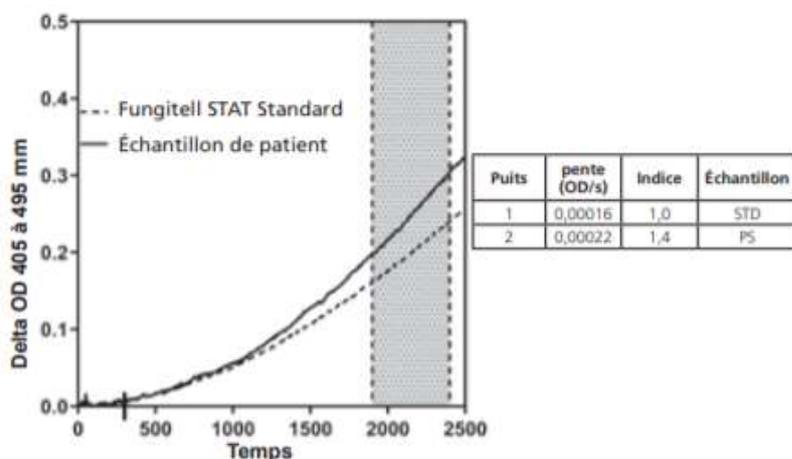
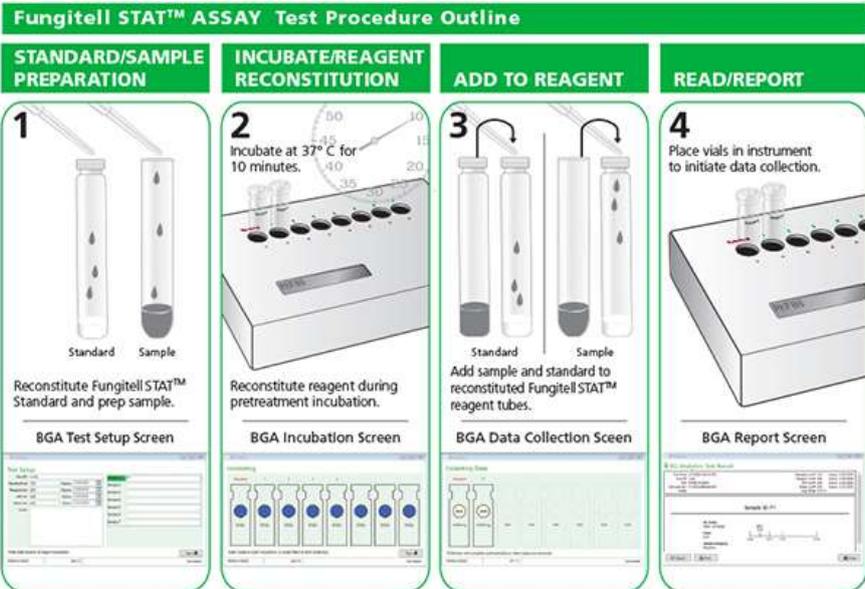


Figure 18. Exemple de résultats du Fungitell STAT®. L'indice est donné par le ratio entre la pente de l'échantillon (soit 0,00022 OD/s) et la pente du Standard de 80 µg/ml. Ici un indice de 1,4.



NOTE: For complete test procedure refer to Fungitell STAT™ Instructions For Use (IFU).

Figure 19. Etapes du test Fungitell STAT®, Associates of Cape COD, Inc.

II. Objectifs et méthodes de la contribution personnelle

Le test Fungitell® se heurte principalement à des difficultés d'interprétation qui nécessite une certaine expertise, alors qu'une discussion clinico-biologique reste indispensable. De nombreux facteurs confondants ont été rapportés, certains restent d'actualité, alors que d'autres n'ont plus lieu d'être.

L'objectif de ce travail était de faire l'état de l'ensemble des facteurs confondants et de fausse réactivité du test rapportés par l'intermédiaire d'une revue de la littérature, afin de discuter des raisons et de ce qui reste d'actualité pour permettre une interprétation éclairée des résultats de ce test.

Pour cela, nous avons interrogé les bases de données suivantes : Pub Med principalement, EM premium et Google scholar. La recherche d'article s'étend jusque septembre 2021. Cette recherche a été réalisée en combinant différents mots clés tels que :

- « invasive fungal diseases », « diagnosis invasive fungal diseases »
- « false positivity and beta glucan », « false positivity and fungitell », « cross reactivity beta glucan », « confounding factor and beta glucan », « beta glucan dosage and false positivity »
- « beta glucan test and bacteremia », « Nocardia and beta glucan »
- « hemodialysis and beta glucan », « cellulose membrane hemodialysis and beta glucan »
- « beta glucan and gauzes »
- « interférences de l'hémolyse sur le dosage du Beta glucan », « interférences analytiques fungitell »
- « candida colonized and false positivity beta glucan »
- « hepatic insufficiency and beta glucan »
- « wako fungitell » et « wako test and beta glucan »

La sélection des articles a été faite à partir de la lecture des titres et des résumés. Un certain nombre d'articles a également été récupéré grâce aux références citées dans les articles lus.

III. Revue de la littérature

1. Les microorganismes

a. Les Bactériémies sont-elles à l'origine d'une détection de β -(1,3)-D-glucanes ?

Il s'agit encore d'un sujet de controverse.

- **Les études « CONTRE »**

Metan *et al.* ont étudié le lien entre bactériémies et positivité des BDG dans un service d'hématologie et de transplantation de CSH. Sur 83 épisodes de bactériémie chez 71 patients, seuls 14 patients avaient un taux de BDG positif. Parmi eux, 10 présentaient une bactériémie à bacilles Gram négatif (BGN) (6 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Klebsiella oxytoca*, 1 *Stenotrophomonas maltophilia*) et 4 à cocci Gram positif (CGP) (2 *Staphylococcus aureus*, 1 *Enterococcus faecium*, 1 *Streptococcus pneumoniae*). Aucune bactériémie à *P. aeruginosa* n'a entraîné de réactivité du test (55).

Dans une étude prospective de Racil *et al.*, sur 26 patients hospitalisés en hématologie et présentant une bactériémie, seuls deux patients présentaient des BDG positifs sur deux échantillons consécutifs. Finalement, ces deux patients souffraient également d'une IFI associée à leur infection bactérienne expliquant des taux élevés (56).

Furfaro *et al.* ont analysé rétrospectivement 91 résultats provenant de 51 patients hospitalisés en hématologie et présentant une bactériémie ; 11 sérums provenant de 7 patients étaient positifs en BDG. Un diagnostic d'AI probable ou possible était posé chez 4 de ces patients, avec un taux de BDG médian de 214 pg/ml et une positivité des BDG sur deux prélèvements consécutifs. Le diagnostic d'IFI était exclu pour les 3 autres patients et présentaient un taux de BDG médian plus faible de 146 pg/ml sur un seul échantillon (57).

Dans l'étude prospective de Desjardins *et al.*, les auteurs excluaient tous facteurs confondants pour 21 patients bactériémiques, 7 à Gram positif (dont 3 streptocoques et 1 entérocoques), 11 à Gram négatif et 3 présentaient une bactériémie polymicrobienne. Tous les résultats des tests Fungitell® étaient négatifs (58).

Lors d'une étude réalisée en USI pédiatrique par Zheng *et al.*, trois groupes distincts ont été comparés : un groupe A témoin (ni bactériémie, ni IFI), un groupe B (bactériémie sans IFI) et un groupe C (bactériémie et IFI). Les valeurs de BDG entre les groupes A et B étaient comparables. Le groupe C présentait des valeurs de BDG significativement plus élevées que le groupe B, comme le montre les valeurs médianes de BDG obtenues dans les groupes A (50 pg/ml), B (50 pg/ml), et C (268,7 pg/ml) (59).

- **Les études « POUR »**

Pickering *et al.* ont montré une diminution de la spécificité du test lors de l'inclusion des patients bactériémiques passant de 77,2% à 51,9%. Les CGP semblaient jouer un rôle plus important avec 11 patients sur 15 présentant ≥ 1 échantillons positifs aux BDG (6 *Staphylococcus aureus*, 3 staphylocoques à coagulase négative, 1 *Streptococcus mitis* et 1 *Enterococcus faecium*), alors que dans le groupe des patients bactériémiques à BGN, seuls 3 patients sur 10 avaient ≥ 1 échantillons positifs aux BDG (2 *Escherichia coli*, 1 *Salmonelle*) (**Figure 20**) (4).

TABLE 1. Fungitell BG assay results for various patient groups

Group (no. of patients)	No. of patients with BG result ^a of:		
	Positive	Indeterminate	Negative
Blood donors (36)	0	0	36
Blood culture positive for yeast (15)	13	1	1
Blood culture positive for gram-positive cocci (15)	11 ^b	1	3
Blood culture positive for gram-negative bacilli (10)	3	2	5
<i>Histoplasma</i> antigen positive (6)	6	0	0
<i>Histoplasma</i> antigen negative (10)	2	2	6
<i>Aspergillus</i> galactomannan positive (32)	31	0	1
<i>Aspergillus</i> galactomannan negative (32)	9	1	22

^a Positive, ≥ 80 pg/ml; indeterminate, 60 to 79 pg/ml; negative, < 60 pg/ml.

^b One patient had documented invasive candidiasis, based on histologic findings in a tissue biopsy.

Figure 20. Résultats des BDG Fungitell en fonction des groupes de patients. Pickering *et al.* (4)

Albert *et al.* ont comparé trois groupes de patients : groupe A, constitué de témoins sans micro-organismes circulants (n=19) ; groupe B, constitué de patients bactériémiques à BGN (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* – *Proteus mirabilis* et *Enterobacter aerogenes*) (n=22) ; et le groupe C, constitué de patients bactériémiques à CGP (*S. aureus*, Staphylocoque à coagulase négative et *Streptococcus pneumoniae*) (n=17). Les taux de BDG étaient positifs chez 16 sur 43

patients bactériémiques, dont 13/22 dans le groupe B (8 *E. coli*, 4 *P. aeruginosa* et 1 association *K. oxytoca* - *P. mirabilis*.) et 3/17 dans le groupe C (*S. aureus*), ce qui semblaient l'inverse de l'étude de Pickering *et al.* (60).

Mennink Kersten *et al.* ont observé une réactivité du test Fungitell® pour 2/9 patients présentant une bactériémie à *P. aeruginosa* et pour 1/5 patient présentant une bactériémie à *S. pneumoniae* (61).

Plusieurs hypothèses permettraient d'expliquer une réelle réactivité du test :

i) Synthèse de BDG par les bactéries

Il a été rapporté que certaines bactéries sont capables de produire des BDG, très peu étaient des pathogènes humains. McIntosh *et al.* ont répertorié les espèces bactériennes productrices de BDG sous trois formes, linéaire, cyclique ou ramifiée. Ces bactéries sont principalement des bactéries du sol et des plantes. Cependant, Nakanishi *et al.* ont montré, par coloration au bleu d'aniline de colonies bactériennes productrices de polysaccharides type « curdlan », qu'*Agrobacterium biovar* anciennement *Alcaligenes faecalis var myxogenes* peut produire des BDG linéaires (« curdlan »). Les espèces bactériennes pathogènes chez l'Homme, rapportées comme productrice de BDG, sont ainsi *Alcaligenes faecalis* et *S. pneumoniae* (**Figure 21**) (62) (63)

Certains streptocoques oraux mutants possèdent des glucosyltransférases leur permettant, en présence de saccharose, de synthétiser des glucanes (α -(1,3) et chaînes latérales α -(1,6) glucosidiques). Les souches de type 37 de *S. pneumoniae* peuvent produire des BDG au niveau de la capsule, constitués d'un squelette de glucose liés en β -(1,3) et de chaînes latérales en β -(1,2) (62) (64) (65) (66).

P. aeruginosa est composé de β -(1,2) et β -(1,6) glucanes périplasmiques osmorégulés (OPG), une réactivité du surnageant de culture de cette bactérie avec le test Fungitell® suggère la présence de liaisons de type β -(1,3) également (**Figure 22**) (61). Certains BGN contiennent dans leur paroi cellulaire des beta-glucanes, notamment *P. aeruginosa*. Certaines bactéries telles que *E. coli* synthétisent des OPG en réponse à des environnements de faible osmolarité. Ces glucanes sont cycliques, cycliques ramifiés ou linéaires ramifiés. Ils peuvent être substitués par divers résidus dans différentes espèces. *E. coli* synthétisent des OPG de taille variable (de 5 à 12 résidus

de glucose), cependant la structure du squelette est de type β -(1,2) avec des liaisons en β -(1,6) (61) (67) (68).

Table 1 Occurrence of bacterial (1 \rightarrow 3)- β -D-glucans

Glucan type	Bacterial source	References
(1 \rightarrow 3)- β -D-glucan, linear	<i>Agrobacterium</i> sp. 10C3 and derivatives	Harada and Harada (1996), Nakanishi et al. (1976)
	<i>Agrobacterium</i> sp. ATCC 31749 and derivatives	Phillips and Lawford (1983), Stasinopoulos et al. (1999), Kim et al. (2003)
	<i>A. radiobacter</i> IFO12607,12665,13127,13256	Nakanishi et al. (1976)
	<i>A. rhizogenes</i> IFO13259	Nakanishi et al. (1976)
	<i>Rhizobium trifolii</i> J60	Ghai et al. (1981)
	<i>Rhizobium</i> sp. TISTR 64B	Footrakul et al. (1981)
	<i>Cellulomonas</i> spp.	Buller (1990)
(1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 6)- β -D-glucan, cyclic	<i>C. flavigena</i> KU	Kenyon and Buller (2002)
	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> USDA 110	Miller et al. (1990)
	<i>R. loti</i> NZP 2309	Estrella et al. (2000)
	<i>Azorhizobium caulinodans</i> HAMB1 216	Komaniecka and Choma (2003)
(1 \rightarrow 3)- β -D-glucan, cyclic	<i>A. brasilense</i> ATCC29710	Altabe et al. (1998)
	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> ndvC mutants	Bhagwat et al. (1999)
	<i>Sinorhizobium meliloti</i> ndvB mutant with the <i>B. japonicum</i> ndv locus	Bhagwat et al. (1999)
(1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 2)- β -D-glucan, side-chain-branched	<i>Streptococcus pneumoniae</i> type 37	Knecht et al. (1970), Llull et al. (2001)

Figure 21. McIntosh et al. (62)

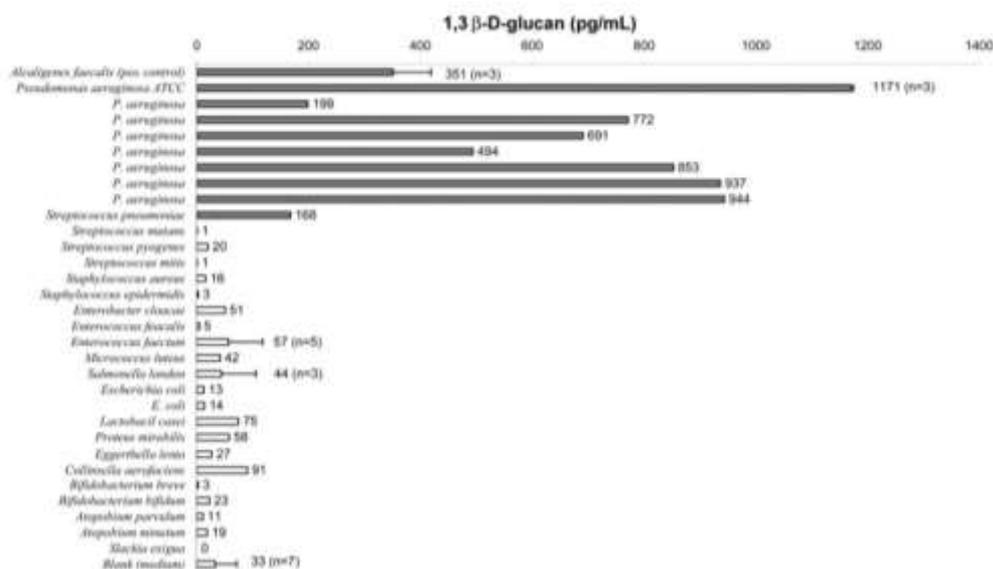


Figure 22. Réactivité du test Fungitell[®] aux différents surnageants de culture bactérienne. Mennink-Kersten et al. (61)

ii) Perte d'intégrité de l'épithélium intestinal lors de sepsis

La perte d'intégrité de l'épithélium intestinal pourrait entraîner une réactivité du test Fungitell[®] suite à la translocation de BDG à travers la barrière intestinale. Il existe différentes raisons à cette perte d'intégrité. Le sepsis est une défaillance d'organes entraînée par une réaction inappropriée de la réponse de l'hôte suite à une infection systémique. Ce sepsis va entraîner une fuite gastro-intestinale, par déstabilisation du cytosquelette et des jonctions serrées des cellules épithéliales intestinales, et par

conséquent, un passage de BDG depuis la lumière intestinale, d'origine alimentaire ou fongique. Cependant, l'augmentation des taux de BDG pourrait également être due à la translocation d'agents fongiques eux-mêmes, entraînant une circulation sanguine transitoire ou non de l'agent (69).

Certaines espèces d'entérocoques produisent un exopolysaccharide contenant de la poly-*N*-acétylglucosamine. Ce facteur de virulence de l'entérocoque lui permet de pénétrer un épithélium. Il possède un rôle dans la rupture de l'intégrité de la barrière intestinale. Dans ce contexte, il existe un risque accru de perméabilité aux BDG, ce qui expliquerait qu'Held *et al.* ont retrouvé une augmentation des taux de BDG avec le test Fungitell® lors de bactériémies à *E. faecalis* (5/10 bactériémies) (60) (70) (71).

Finalement, certaines études n'ont pas écarté tous les facteurs confondants du test parmi les thérapeutiques utilisées de façon concomitante, telles que l'injection intraveineuse récente d'immunoglobulines (Ig) ou encore l'administration d'antibiotiques de la famille des beta-lactamines. De plus, d'après les recommandations actuelles (56), il pourrait paraître plus approprié de faire 2 prélèvements en série pour confirmer un premier dosage positif avant de conclure à un test positif, ce qui n'est souvent pas le cas. La comparaison de ces études souligne l'importance de définir des critères stricts pour la constitution des groupes bactériémiques. Un certain nombre de facteurs confondants ayant été soulevé jusqu'à ce jour, ceux-ci doivent être pris en compte pour une bonne interprétation des résultats. Les études plus récentes, majoritairement prospectives, témoignent que les bactériémies peuvent être une cause rare de positivité du test Fungitell® après s'être affranchies des limites des précédentes études. Il est important d'interpréter les résultats de BDG sur deux prélèvements consécutifs.

b. Infection à *Nocardia*

Nocardia se présente comme un fin bacille Gram positif ramifié, aérobic, ubiquitaire largement distribué dans le sol, les végétaux et l'eau, pouvant coloniser la peau, les tractus respiratoire et digestif de l'homme ou des animaux. Il s'agit d'une bactérie opportuniste touchant principalement les immunodéprimés, mais également les immunocompétents (dans un tiers des cas). Ce bacille est responsable d'infections rares, mais potentiellement mortelles. Ces infections peuvent être localisées (cutanée

ou pulmonaire) ou disséminées (cérébrale, bactériémie). Il existe de nombreuses espèces de *Nocardia* de répartition différente selon le territoire, mais aucune ne possède de BDG dans sa paroi cellulaire. Sa paroi cellulaire est composée d'un polysaccharide neutre, polymère glucidique de D-arabinose, D-galactose, D-glucose et un polyol. Le test Fungitell® n'est pas sensé réagir lors d'une infection à *Nocardia* spp. Cependant, quelques cas de nocardioses pulmonaires ou disséminées ont montré une élévation des taux de BDG (72) (73) (74).

Hashizume *et al.* témoignent pour la première fois d'une augmentation des BDG sériques lors d'un cas de nocardiose pulmonaire chez un patient présentant une polymyosite. Les taux de BDG étaient élevés avant l'administration d'antibiotiques écartant les antibiotiques comme facteurs confondants (75).

Lors d'une Nocardiose cérébrale à *Nocardia abscessus* chez une patiente de 65 ans, les taux de BDG étaient supérieurs à 523 pg/ml (test Fungitell®) dans le LCR, sans qu'aucun autre marqueur fongique sérique, GM, BDG ou antigène cryptocoque, ne soit positif. Les cultures fongiques et bactériennes du LCR étaient négatives. La culture du pus de l'abcès cérébral prélevé chirurgicalement était positive à *Nocardia*. Pour confirmer leur hypothèse, Koncan *et al.* ont récupéré des isolats de trois espèces différentes de *Nocardia* (*N. cyriacigeorgica*, *N. neocaledoniensis* et *N. abscessus*), d'*E. coli* et de *S. aureus*, et de *C. albicans* comme témoin positif. Un bouillon de thioglycolate pur a également été utilisé comme témoin négatif. Les différentes souches ont été inoculées dans du LCR pour lequel le dosage de BDG était négatif. Les taux de BDG étaient négatifs pour *E. coli* et *S. aureus*, et positifs pour *C. albicans* et les différentes espèces de *Nocardia* confirmant l'hypothèse d'une réaction croisée (74).

Par la suite, d'autres cas de nocardiose, utilisant parfois d'autre test de détection des BDG que le Fungitell®, ont été rapportés en raison d'une élévation des BDG sériques (75–77). Dans une étude de Cornu *et al.*, 1 patient sur les 2 inclus présentait un taux de BDG très élevé à 2 336 pg/ml (78). Dans la plupart de ces cas, les autres facteurs confondants des BDG avaient été recherchés et exclus. De plus, pour chacun des cas rapportés, les taux de BDG chutaient avec l'instauration d'un traitement antibiotique adapté, concordant avec l'amélioration clinique. Une élévation des taux de BDG doit donc également mener à évoquer un diagnostic de nocardiose, parfois diagnostic différentiel d'une API.

Une hypothèse expliquant la réactivité du test reposerait sur la présence de BDG dans la paroi cellulaire de *Nocardia*. Morikawa *et al.* étudiaient l'induction de la cytotoxicité des polynucléaires sur des cellules tumorales, par des immunomodulateurs antitumoraux. Parmi les immunomodulateurs testés, les β -(1,3)-D-glucanes d'*Alcaligenes faecalis var. myxogenes* IFO 13140, le Bacillus Calmette-Guérin, *Propionibacterium acnes*, le Zymosan A et le squelette de la paroi de *Nocardia* pouvaient induire un effet cytotoxique. Une structure linéaire de β -(1,3)-glucanes semblait nécessaire à l'induction de cet effet (73).

2. Les facteurs associés aux soins

Certains matériaux ou composés utilisés en chirurgie, hémodialyse, ou encore pour la production de médicaments ou produits dérivés du sang peuvent être à l'origine de réaction croisée lors des tests de détection des BDG. Les sources de contamination possibles par les glucanes lors du processus de fabrication d'un de ces produits sont : i) l'utilisation d'hydrolysats ou d'additifs dérivés de levures ou de plantes dans la préparation des milieux de culture cellulaire ; ii) l'utilisation de cellulose (membranes de filtration, à différentes étapes de production d'un médicament ou lors d'hémodialyse (HD) ; compresses) ou de saccharose ; iii) la contamination fongique d'excipients tels que le citrate de sodium ou le saccharose ; iv) les médicaments constitués de BDG. S'ajoute à cela le fait que la translocation digestive et donc le passage de microorganismes ou de leurs composés pariétaux (BDG) soit favorisée par a) la chirurgie digestive, b) l'antibiothérapie prolongée, c) la chimiothérapie induisant une mucite (79–82).

a. Matériels utilisés lors des soins

- *Les membranes d'hémodialyse*

L'hémodialyse consiste en une purification du sang des patients insuffisants rénaux par l'utilisation de membranes extracorporelles de composition variable. La prévalence des candidémies chez ces patients est de 5,7%, la fistule artério-veineuse constituant une porte d'entrée et l'insuffisance rénale chronique constituent des facteurs de risque (83).

Dès 1984, plusieurs études signalaient une réactivité croisée du test basé sur l'utilisation du LAL avec les membranes à fibres creuses d'HD, les dérivés

cellulosiques tels que le coton et lorsque les patients bénéficiaient d'une HD utilisant des membranes de cuprammonium, constituée de cellulose non modifiée. D'autres études dans les décennies suivantes, ont montré que les taux de BDG s'élevaient chez les patients sous HD utilisant des membranes de cellulose non modifiée, contrairement aux patients sous HD utilisant des membranes synthétiques composés de polysulfone ou de polyméthacrylate de méthyle(84–89). Les résultats sont contradictoires avec d'autres tests que le Fungitell® concernant les membranes de cellulose modifiée (constituée par exemple de triacétate de cellulose) (87,88). La dialyse péritonéale ne nécessite aucune membrane artificielle et aucun effet n'a été observé sur les taux de BDG à ce jour. Un récapitulatif des différentes études est réalisé dans le **Tableau 5**.

Tableau 5. *Elévation des taux de BDG selon le type de membrane d'hémodialyse utilisée.*

Etudes	Test utilisé	Types de membranes	Elévation du taux de BDG
Yoshioka <i>et al.</i> , 1989 (86)	Test LAL	Membranes de cellulose non modifiée (cuprammonium)	oui
Taniguchi <i>et al.</i> , 1990 (90)	Test chromogénique du limulus (CCLT)	Membranes de cellulose	oui
Yoshida <i>et al.</i> , 1998 (89)		Membrane en acétate de cellulose saponifiée	oui
		Membrane de polymère synthétique	oui, non significative
Kanda <i>et al.</i> , 2001 (87)	Test Fungi-Tec G, Japon	Membrane en cellulose	oui
		Membrane en triacétate de cellulose	non
		Membrane en polyméthacrylate de méthyle	non
Kato <i>et al.</i> , 2001(88)	Test kit G test, Japon	Membrane de cellulose régénérée modifiée	oui
		Membrane synthétique en polysulfone	non
Prattes <i>et al.</i> , 2017 (91)	Fungitell®	Membrane de polymère synthétique	non

A l'heure actuelle, la plupart des membranes utilisées sont des membranes synthétiques de pointe ne provoquant aucune réaction croisée avec les tests des BDG. Cependant, en dehors d'une IFI, les patients soumis à l'HD ont d'autres causes possibles d'augmentation des taux de BDG : i) utilisation de produits sanguins ; ii) diminution du flux sanguin de la région splanchnique lors de l'HD, entraînant des troubles intestinaux ischémiques et des lésions transitoires de la barrière intestinale et donc un risque de translocation de BDG dans la circulation sanguine ; iii) dysfonctionnement du système réticulo-endothélial (SRE) chez les insuffisants

rénaux, entraînant un risque d'augmentation des taux de BDG par altération de la clairance des BDG par le SRE (91,92).

- *Les compresses*

Les gazes ou éponges utilisées lors des chirurgies ou chez les grands brûlés peuvent être responsables d'une fausse réactivité des BDG. Les compresses hémostatiques sont des dispositifs médicaux stériles, résorbables, composés de cellulose, extraite du bois. Lorsqu'elle est saturée de sang, la cellulose oxydée gonfle et se transforme en une masse gélatineuse noire ou brune qui contribue à la formation du caillot. La cellulose se présente, dans sa forme linéaire, constituée de plusieurs centaines à milliers de résidus de β -(1,4)-D-glucanes. Alors que les fabricants des tests de détection des BDG indiquent que ces derniers ne réagissent pas avec les β -(1,4)-D-glucanes, certaines études montrent un lien entre l'utilisation de gazes lors de chirurgie et l'élévation des taux de BDG (93) (94).

Szyszkowitz *et al.* ont remarqué que les taux de BDG étaient plus élevés après une chirurgie abdominale ouverte que par laparoscopie. Or, les éponges et les gazes sont plus fréquemment utilisées lors d'une chirurgie ouverte. Ainsi, l'interprétation des taux de BDG dans les 5 jours suivant une chirurgie intestinale est difficile (95). Ce constat a été vérifié chez des patients d'unités de soins intensifs chirurgicaux (USIC) (96) et après pontage aorto-coronarien (diminution progressive des taux de BDG, > 500 pg/ml à J0, 271 pg/ml à J13 sans utilisation d'antifongique). Suite à ce constat, des échantillons d'éponges chirurgicales ont été testées. Ces éponges immergées ont entraîné des taux de BDG très élevés (moyenne de 4853 μ g/ml et 6596 μ g/ml) (97). Chez les brûlés, les taux de BDG sont corrélés à la surface brûlée mais pas à la surface couverte par la gaze. La possibilité d'une translocation à travers la peau lésée n'est pas exclue (98).

Selon l'étude de Kanamori *et al.* (test Wako), l'utilisation d'un pansement chirurgical non tissé en lyocell apparaît comme le produit le plus inerte vis-à-vis du test utilisé.

- b. Les membranes utilisées dans la production de médicaments

Les étapes de purifications des molécules utilisées en thérapeutique peuvent être responsables de la détection de BDG. Lors de ces étapes, des membranes filtrantes

à base de cellulose sont utilisées et peuvent entraîner un relargage de BDG, et une contamination du produit final. Cela est notamment décrit dans la littérature pour les anticorps monoclonaux, les Ig, l'albumine, les antibiotiques ou encore les produits sanguins. Actuellement, aucune directive ou norme indiquant la teneur minimale en BDG des produits pharmaceutiques n'est disponible. Cependant, des directives antérieures de la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis ont proposé que la teneur en BDG et autres impuretés liées au processus soit limitée pour réduire les risques d'immunogénicité. En outre, une limite de spécification, pour un anticorps monoclonal d'Ig E de 10 ng de BDG/mg de produit final, a été fixée par l'agence gouvernementale du Royaume Uni de réglementation des médicaments et des produits de santé (Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA)) (82).

Certaines études proposent des solutions pour diminuer le risque immunogène lors de l'administration d'un produit, et donc réduire le risque de réaction croisée avec les tests de détection des BDG. Le rinçage optimisé de filtre en profondeur est une solution permettant de diviser par 2 les taux de BDG présents dans les produits finaux (80,81). En résumé, les solutions alternatives sont : i) la sélection et le criblage des matières premières pour limiter la quantité de β -glucanes en aval de la production ; ii) l'utilisation de filtres en membrane de nylon 6,6 (polymère de nylon, composé de deux monomères contenant chacun 6 atomes de carbone, l'hexaméthylènediamine et l'acide adipique) à charge modifiée capable d'éliminer les β -glucanes des tampons à des concentrations de pH et de sel relativement faibles ; iii) l'optimisation des rinçages des filtres en profondeur (80–82) (99).

c. Les immunoglobulines

Duffner *et al.* rapportaient les observations de deux patients allogreffés avec des CSH, présentant des taux de BDG élevés en raison de l'administration récente d'Ig. La durée de positivité du test après l'injection d'Ig était de 2 à 3 semaines après la dernière injection (100). Bougnoux *et al.* ont testé 7 formulations intraveineuses (IV) et 4 sous-cutanées (SC), les taux de BDG étaient > 523 pg/ml pour chacune de ces formulations. Chez 18 patients sans signes d'IFI avec injection régulière d'Ig, tous les patients ont vu leur taux de BDG augmentés (> 523 pg/ml) après injection d'Ig (101). L'administration d'Ig polyclonales enrichies en IgM a également entraîné des taux de BDG faussement positifs, avec des valeurs de 30 000 pg/ml pour les

immunoglobulines polyclonales enrichies en IgM et 305 pg/ml pour l'albumine (102). Enfin, Ikemura *et al.* ont montré la présence d'un élément activateur du facteur G dans les Ig. La concentration de cet élément augmente dans le plasma et les urines du patient quelques heures après l'injection. Cette concentration augmente plus fortement lors d'administration répétée. Finalement, les Ig filtrées sur membrane de nylon contenaient moins de BDG que celles filtrées sur membrane de cellulose (103). Ainsi, il n'est pas recommandé de doser les BDG dans les trois semaines suivant une administration d'Ig (104).

d. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont une source controversée de réactivité des tests de détection des BDG. Les antibiotiques les plus fréquemment cités restent les antibiotiques de la famille des beta-lactamines (incluant les pénicillines et les céphalosporines). Différentes origines possibles à cette réaction croisée ont été soulevées et sont détaillées ci-après.

i) *Processus de fabrication impliquant un micro-organisme fongique*

La première étape de fabrication de la pénicilline consiste en la production de la pénicilline naturelle obtenue à partir de la fermentation de *Penicillium chrysogenum*, dont la paroi contient des glucanes. Il n'y a pas eu d'études sur *P. chrysogenum*, mais il a été montré que *Talaromyces marneffe* (anciennement *P. marneffe*) relargue un taux élevé de glucanes dans son surnageant. Ainsi, l'origine fongique de certains antibiotiques pourrait jouer un rôle dans les réactions croisées observées (105–108).

ii) *La filtration sur membranes de cellulose*

Comme vu précédemment pour d'autres médicaments, cette étape est une source probable de contamination lors du processus de fabrication (109).

iii) *L'altération de la barrière gastro-intestinale*

L'administration prolongée d'antibiotiques déséquilibre le microbiote intestinal. Elle induit également une altération de la barrière gastro-intestinale qui devient plus perméable. Ainsi, un passage des BDG depuis la lumière intestinale vers la circulation sanguine pourrait induire des faux positifs des tests de détection des BDG (69) (107).

Les études montrent que les taux de BDG varient selon les lots d'antibiotiques et le fabricant du médicament, l'administration répétée d'un antibiotique jouant un rôle également. Il serait intéressant que les fabricants indiquent la teneur en BDG des lots du produit final (110,111). Un récapitulatif des antibiotiques incriminés ou non est réalisé dans le **Tableau 6**.

Tableau 6. Réactions croisées et antibiotiques dans le dosage des BDG.

	Auteurs de l'étude	Antibiotiques
Etudes POUR	Liss <i>et al.</i> (110)	Amoxicilline-acide clavulanique, ampicilline, ampicilline-sulbactam, pipéracilline-tazobactam, céfazoline, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefuroxime, imipénème, méropénème, colistine, daptomycine, doxycycline, érythromycine, flucloxacilline, linézolide, rifampicine, amphotéricine B desoxycholate et liposomale, caspofungine, fluconazole et voriconazole
	Mennink kersten <i>et al.</i> (106)	Amoxicilline-acide clavulanique
	Sulahian <i>et al.</i> (109)	Amoxicilline, amoxicilline-acide clavulanique, pipéracilline-tazobactam
	Pickering <i>et al.</i> (4)	Amoxicilline, nafcilline, pipéracilline-tazobactam, imipénème, céfazoline
	Hachem <i>et al.</i> (112)	Pipéracilline-tazobactam
	Marty <i>et al.</i> (111)	Pipéracilline-tazobactam
Etudes CONTRE	Metan <i>et al.</i> (105)	Pipéracilline-tazobactam
	Metan <i>et al.</i> (107)	Ampicilline-sulbactam
	Mennink kersten <i>et al.</i> (106)	Pipéracilline-tazobactam
	Hammarström <i>et al.</i> (113)	Pipéracilline-tazobactam

e. Les produits sanguins

Plusieurs produits dérivés du sang ont été incriminés : albumine, culots de globule rouge, plasma frais congelés ou encore des facteurs de coagulation sanguine. La présence de BDG est due également aux filtres de cellulose employés lors de la filtration des éléments sanguins (114–118). Lo Cascio *et al.* ont observé que l'administration de 30 g d'albumine, deux jours avant le dosage des BDG, entraînait un résultat faussement positif. L'étude de Koo *et al.* confirmait ce constat. Les membranes de cellulose sont utilisées dans la première étape de fabrication de l'albumine (119,120).

Pour interpréter les résultats de BDG suite à l'administration des produits dérivés du sang, Liss *et al.* proposent trois approches : i) l'approche prédictive négative, selon laquelle il ne faut pas tenir compte d'un résultat positif les jours suivant l'administration de produits sanguins, et n'utiliser que les résultats négatifs pour exclure une IFI ; ii) l'approche de la valeur maximale, selon laquelle la mesure des taux de BDG après transfusion devient la nouvelle valeur seuil, ainsi en cas de stabilité ou d'augmentation de cette valeur cela serait en faveur d'une IFI ; et iii) l'approche du calculateur, selon laquelle la détermination par le producteur du taux de BDG contenu dans le produit sanguin avant la perfusion permet de calculer par une formule validée (**Figure 23**) les taux de BDG post transfusionnel attendus et d'ajuster la valeur seuil. Cette dernière approche apparaît intéressante, mais oblige les producteurs à indiquer la teneur en BDG de leurs produits (121).

$$\frac{\text{Blood product BDG [pg ml}^{-1}] \times \text{volume of infusion [ml]}}{\text{Established patient blood volume [ml]}}$$

Figure 23. Formule utilisée pour l'approche du calculateur, extrait de Liss *et al.* (121)

Liss *et al.* ont évalué l'interaction potentielle de différents produits sanguins (albumine humaine, plasma frais congelé, transfusion de plaquettes non diluées et concentrés de globules rouges) avec les dosages de BDG. Seuls les taux de BDG après administration de plaquettes étaient négatifs. Les concentrations de BDG mesurées chez les patients après transfusion correspondaient approximativement à leurs estimations selon la formule précédemment citée (**Figure 24**) (121).

Table 2 BDG level calculations and measurements.

	Human albumin	Packed red cells – patient 1	Packed red cells - patient 2
BDG in product ¹	1,251	PRBC 1: 2113 PRBC 2: 3070	PRBC 3: 2057 PRBC 4: 3371
Expected BDG increase ¹	10,5	269	271
Patient serum BDG pretransfusion ¹	42	17	13
Patient serum BDG post-transfusion ¹	58	183	361

BDG, 1,3-β-D-glucan; PRBC, packed red blood cells.

¹All values in pg ml⁻¹.

Figure 24. Extrait de Liss *et al.* (121)

f. Les antitumoraux

Les BDG peuvent être utilisés comme adjuvant de la chimiothérapie, radiothérapie ou immunothérapie anticancéreuses. Les BDG utilisés sont dérivés de différents microorganismes, et notamment des levures. Les anticorps monoclonaux antitumoraux se lient aux cellules tumorales et activent le complément. Les BDG viennent stimuler la réponse immunitaire en se liant spécifiquement au récepteur 3 du complément (CR3) via le domaine des lectines, et ainsi favoriser la cytotoxicité cellulaire des cellules cancéreuses recouvertes d'iC3b (opsonine produite lors du clivage par le facteur I du complément de la protéine C3b). Les BDG vont également stimuler les réponses immunitaires antitumorales innées et adaptatives. La supériorité de l'utilisation combinée des BDG avec les anticorps monoclonaux a été démontrée par rapport à l'utilisation seule de chacun des composants. L'ajout d'immunomodulateurs comme les glucanes promet une amélioration des thérapies anticancéreuses. Les BDG trouvent également une nouvelle utilisation en tant que particule de transport d'autres agents thérapeutiques anticancéreux. Ainsi, leurs propriétés anti-cancéreuses sont multiples (122–125).

Le schizophyllane (Sonifilan, Sizofiran, SPG) ou encore le lentinane font partie des spécialités utilisées. Le SPG est constitué d'unités répétitives de résidus de β -(1,3)-D-glycopyranosyle (poids moléculaire d'environ 450 000). La clairance du SPG chez l'homme peut être supérieure à 30 jours après une seule injection intramusculaire de 20 ou 40 mg, la concentration sanguine de SPG était de l'ordre de dizaines de ng/ml. Le lentinane est utilisé en clinique comme modificateur de la réponse biologique dans le traitement du cancer gastrique. Des études sur l'administration de lentinane ou schizophyllane comme facteur confondant des BDG montrent qu'un test de détection des BDG peut être positif jusqu'à plusieurs années après l'administration, comme en témoigne le cas d'une patiente présentant un taux de BDG très élevé plusieurs années après le traitement d'un cancer du col de l'utérus par administration de Sizofiran (126,127).

3. Les interférences analytiques

Il existe deux types d'interférences analytiques potentielles. Le premier lié à une contamination par l'environnement ou le matériel utilisé lors de la réalisation du test. Le deuxième lié à l'aspect des sérums en lien avec l'hémolyse, la lactescence, l'ictère par la présence de bilirubine, ou la turbidité.

a. Environnement et matériels

Lors de la réalisation du test, une attention particulière doit être portée sur l'environnement de la manipulation, afin de limiter les risques de contamination. Les spores fongiques présentes en suspension dans l'air sont une source éventuelle de contamination. Une étude d'Iossifova *et al.* a permis d'observer des variations des quantités de BDG environnementales selon les espèces fongiques présentes dans des échantillons de poussières domestiques. Les espèces contribuant le plus à augmenter les concentrations en BDG étaient les plus répandues dans l'environnement (128). Il est recommandé d'utiliser des matériaux et réactifs exempts de β -(1,3)-D-glucanes détectables, dits « *glucan-free* ». Les matériaux cellulosiques tels que les gazes, le papier absorbant et les cartons d'emballage doivent être évités dans l'environnement où se déroule le test (129).

Dans une étude de Pickering *et al.*, les taux de BDG pouvaient s'élever avec la manipulation des échantillons. Trois échantillons de 1 ml initialement négatifs vis-à-vis des BDG, ont été transférés jusque 4 fois dans de nouveaux tubes. Chaque aliquot a été testé simultanément. Une augmentation des concentrations en BDG a été observée pour deux échantillons au fur et à mesure des transferts (**Tableau 7**) (4).

Tableau 7. Contamination après manipulation des échantillons (test Fungitell®).
D'après Pickering *et al.* (4)

	Taux des BDG (en pg/ml) après n transferts				
	n=0	n=1	n=2	n=3	n=4
Echantillon 1	58	36	38	322	529
Echantillon 2	24	21	50	83	102
Echantillon 3	34	19	16	24	33

b. Aspect des sérums

Ces interférences concernent essentiellement les tests utilisant la cinétique-colorimétrique comme méthode de détection. Le fabricant du test Fungitell® mentionne l'interférence possible avec les échantillons hémolysés, lipémiques ou encore ictériques. Le risque de résultats faussement négatifs ou faussement positifs varie avec le type d'interférence. Pickering *et al.* ont montré les effets de l'hémolyse, l'hyperbilirubinémie et l'hypertriglycéridémie sur le test Fungitell®. Après supplémentation d'échantillons initialement positifs pour ce test avec de bilirubine et des triglycérides, les résultats étaient faussement négatifs, contrairement à l'hémoglobine qui entraînait des résultats faussement positifs (**Figure 25**). Cette étude a permis de définir des seuils de concentration minimale d'interférence (pour une déviation standard de 20%) de 588 mg/dl pour l'hémoglobine, de 72 mg/dl pour la bilirubine et de 466 mg/dl pour les triglycérides (4). Le fabricant recommande de tester de nouveau l'échantillon après dilution, en cas de cinétiques de DO inhabituelles, notamment en cas d'hémolyse, lipémie ou d'excès de bilirubine (129). Nadji *et al.* ont dosé les BDG de 39 sérums (8 clairs, 11 lipémiques, 8 ictériques et 12 hémolysés). Les échantillons ont été dosés purs et dilués jusqu'au 10^{ème} en duplicats. Les taux de BDG étaient stables pour les échantillons d'aspect clair avant et après dilution, augmentés pour les échantillons ictériques ou lipémiques après dilution, et variables pour les échantillons hémolysés (7/12 augmentés et 5/12 diminués) après dilution (130).

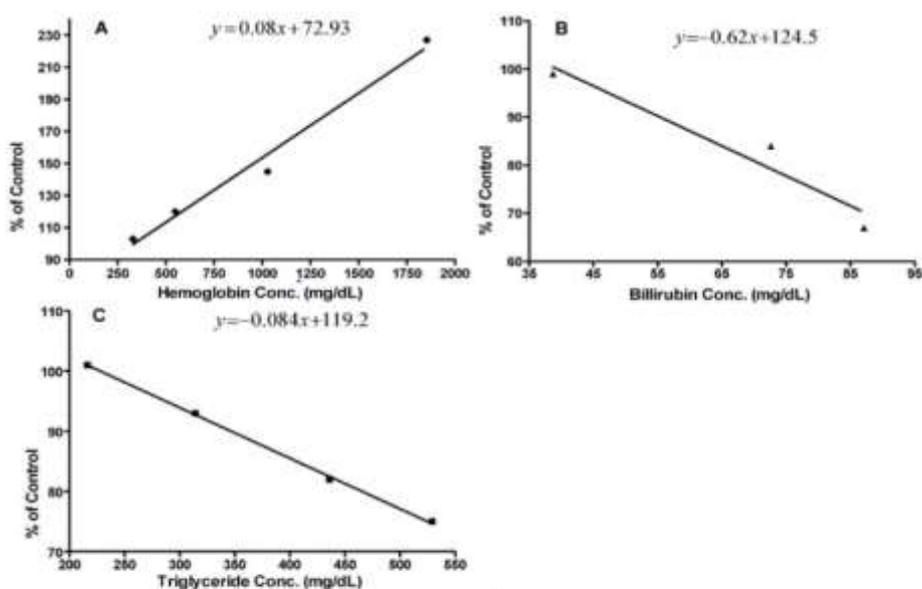


FIG. 2. Interference plots showing the effects of increasing concentrations of hemoglobin, bilirubin, and triglycerides on the Fungitell assay. The plots show percent inhibition of a BG-positive serum sample as a function of increasing concentrations of hemoglobin (A), bilirubin (B), and triglycerides (C).

Figure 25. Extrait de Pickering *et al.* (4)

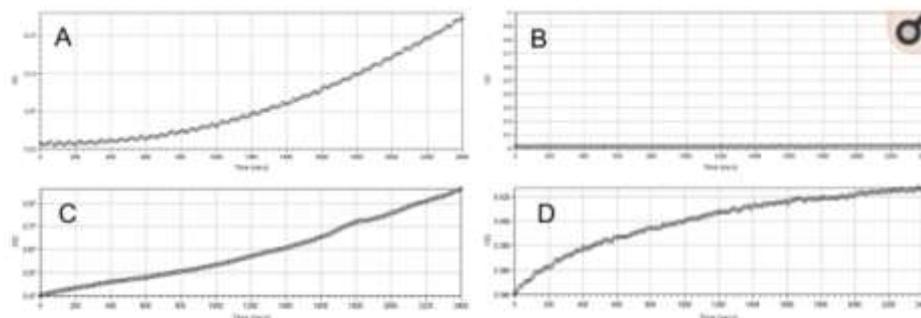
La L-asparaginase est une enzyme de nature protéique extraite de cultures d'*E. coli*, hydrolysant l'asparagine. Elle est indiquée dans le traitement des leucémies lymphoblastiques aiguës et les lymphomes malins non hodgkinien, empêchant les cellules tumorales, incapables de synthétiser elle-même cet acide aminé, de s'approvisionner en asparagine extracellulaire et donc entraînant leur mort. L'étude de Hammarström *et al.* incluait 13 patients suivi en hématologie présentant une IFI prouvée ou probable et 96 patients ne présentant pas d'IFI. Deux échantillons de sérum ont été prélevés successivement. Parmi les 96 patients non infectés par une IFI, 59 avaient au moins un dosage de BDG > à 50 pg/ml (Fungitell®). Les patients traités par L-asparaginase pégylée présentaient un taux moyen de BDG sériques significativement plus élevé. La L-asparaginase entraîne généralement une augmentation de la triglycéridémie. Cependant, une hypotriglycéridémie est également possible en cas de traitement par L-asparaginase. Le processus de fabrication du médicament pourrait également être impliqué (113) (131).

c. Immunoglobulines sériques

Un taux élevé d'Ig, observé en cas de myélome multiple par exemple, pourrait entraîner une précipitation du mélange réactionnel avec le kit Fungitell®. L'observation des courbes obtenues lors du dosage offre une opportunité d'observer les artefacts optiques potentiels. En cas d'artefacts, la DO augmente sans période de latence initiale, normalement associée à l'activation de la protéase zymogène (**Figure 26**) (132). Dans l'étude impliquant 29 sérums de patients atteints de myélome multiple ou de macroglobulinémie de Waldenström sans IFI, 7 sérums étaient ininterprétables en raison d'artefacts optiques provenant de niveaux élevés de paraprotéines. Des taux d'IgG > 2000 mg/dl étaient prédictifs de d'artefacts. En effet, les Ig de type G ont un point isoélectrique dans la plage basique (pH de 6,5 à 9,5) tandis que les Ig de type A ou M ont un point isoélectrique dans la plage acide (pH de 4,5 à 6,5). Or, le tampon du dosage des BDG présente un pH de 7,4, se situant dans la plage basique, entraînant un risque de précipitation des IgG (132).

Finalement, Sendid *et al.* ont décrit une stratégie simple pour surmonter les interférences sériques lors de la détection des BDG, reposant sur la thermostabilité des sucres, et donc des glucanes. Un chauffage des échantillons à 100°C pendant 3 minutes en présence de Na₂-EDTA suivi d'une centrifugation à 10 000 g permet de

dissocier les complexes sériques ou de dégrader les composés thermosensibles (protides, lipides, ou bilirubine) et de les éliminer (133).



(A) BG dosage trace cinétique d'un échantillon positif sans artefacts optiques ; (B) trace cinétique d'un contrôle négatif. (C et D) trace cinétique montrant des artefacts optiques. OD, densité optique. Dans les panneaux C et D, notez les lectures initiales de DO élevée et l'absence de périodes de latence initiales compatibles avec des artefacts optiques.

Figure 26. Dosage des BDG en présence ou non d'artefacts optiques. D'après Issa et al. (132)

4. Perte d'intégrité épithéliale intestinale

La muqueuse intestinale est une barrière physique, biologique et immunologique, permettant l'absorption des nutriments tout en empêchant la translocation des microbes et de leurs produits. Cette barrière intestinale peut être altérée en cas de sepsis, d'insuffisance rénale chronique, de cirrhose, mucoviscidose, infection à CMV ou en cas d'infection par le VIH, mais également de façon iatrogène, suite à une chimiothérapie ou une chirurgie abdominale. Ces lésions intestinales peuvent alors entraîner une translocation microbienne ou entraîner des faux positifs aux tests de détection des BDG (134).

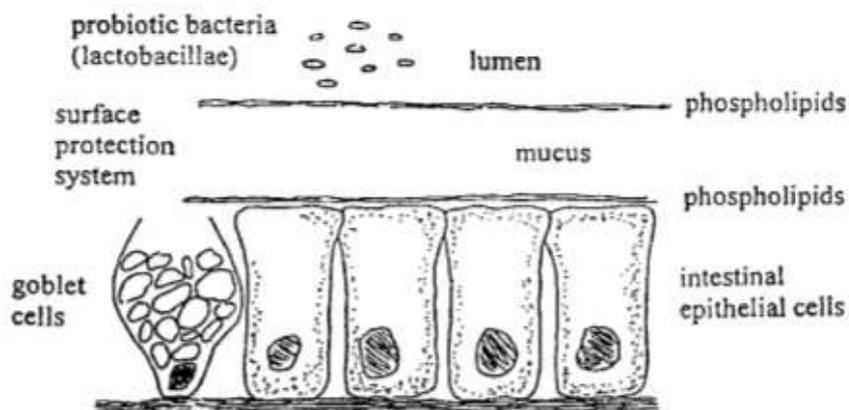


Figure 27. Système de protection des surfaces de la muqueuse gastro-intestinale. D'après Bengmark et al. (135)

a. Patients d'hématologie

L'altération de la barrière intestinale peut être le fait d'une mucite due à une chimiothérapie ou d'une réaction du greffon contre l'hôte de localisation digestive (GVHD) (134). Dans les 24h suivant la chimiothérapie, une hyperperméabilité intestinale entraîne un risque de translocation microbienne, due à l'apoptose des cryptes, une dysmorphose cellulaire et une ouverture des jonctions serrées intercellulaires (91)(136). Plusieurs études faites chez les patients d'hématologie, décrivent des cas de fausse positivité du test. Les auteurs émettent l'hypothèse d'une translocation fongique à la suite d'une apoptose des entérocytes induite par la chimiothérapie. Les mucites pourraient conduire à un passage de *Candida* ou ses antigènes à travers la muqueuse endommagée (136–141). Cependant, selon Prattes *et al.*, la mucite à elle seule ne peut pas expliquer l'élévation des taux de BDG. Aucune corrélation n'a été observée entre les marqueurs de mucite (citrulline et protéine de liaison aux acides gras intestinaux (IFABP)) et les taux de BDG chez des patients atteints de mucite (142).

b. Patients atteints du virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

L'infection par le VIH est associée à une modification du microbiote intestinal, à une perturbation de la barrière épithéliale intestinale et à une augmentation de la perméabilité intestinale. Malgré l'amélioration de la santé globale de ces patients recevant un traitement antirétroviral (TAR), les lésions intestinales persistent et la translocation de produits microbiens depuis la lumière intestinale vers la circulation sanguine contribue à la persistance d'un état inflammatoire chronique à l'origine des comorbidités non liées au SIDA. Le contact permanent avec les BDG pourrait jouer un rôle dans l'entretien de l'inflammation (134).

Les patients atteints du VIH présentent une dysbiose intestinale liée à une activation accrue des lymphocytes T CD4 et CD8 combinée à une infiltration de neutrophiles dans le sigmoïde. Les entérocytes subissent une apoptose entraînant une perte d'intégrité intestinale permettant la translocation bactérienne et fongique dans la circulation sanguine. Cette translocation contribue à l'activation immunitaire systémique et l'apparition de comorbidités, notamment coronarienne. Ils ont ainsi montré que les taux de BDG étaient élevés chez ces patients et associés à des marqueurs de l'inflammation et à l'activation des lymphocytes CD4 et CD8. Les taux

de BDG étaient élevés indépendamment de la durée de l'infection par le VIH et persistaient sous TAR (143).

Dans une étude impliquant des enfants ougandais atteints par le VIH, souvent dès la naissance, les taux de BDG étaient plus élevés chez les enfants séropositifs que chez les enfants séronégatifs (indépendamment d'une exposition au VIH pendant la grossesse). En dehors d'une éventuelle translocation microbienne, des facteurs socio-économiques ou des habitudes alimentaires riches en β -glucanes (champignon, avoine, orge) étaient proposés pour expliquer ces taux. De plus, la translocation fongique pourrait concerner d'autres sites corporels que l'intestin tels que la peau ou les cavités buccale et nasale, connues pour être colonisées par des champignons (144).

c. Impact de la consommation alimentaire sur les taux de BDG

Hashimoto *et al.* ont rapporté le cas d'un patient présentant une élévation des taux de BDG après une allogreffe de CSH. Le patient a présenté une réaction du greffon contre l'hôte impliquant la peau et le tractus gastro-intestinal, traitée par corticoïdes. Les taux de BDG étaient augmentés (157 pg/ml à J61, 229 pg/ml à J89), sans augmentation des galactomannanes. L'augmentation des taux de BDG coïncidait avec la consommation de varech par le patient. Il s'agit d'une algue brune de l'ordre des Laminariales contenant divers polysaccharides dont la laminarine. La laminarine est un polysaccharide de stockage linéaire du glucose avec des liaisons (1,3) prédominantes. Il a été retenu que le varech était la cause de l'élévation significative des BDG (145).

Selon Spriet *et al.*, la consommation d'un complément nutritionnel « l'ImunixX » contenant des BDG n'entraînait pas de positivité du test. Cependant, leur étude a été réalisée chez des volontaires sains ne présentant apparemment pas de lésions intestinales. L'absorption des BDG serait augmentée lorsqu'il existe une perméabilité gastro-intestinale (146).

d. Rôle de la colonisation par *Candida*

La colonisation par *Candida* est une des causes de fausse positivité étudiée dans la littérature. Les facteurs de risque de colonisation par *Candida* sont principalement une durée prolongée d'un séjour en soins intensifs, l'utilisation d'une nutrition parentérale, d'antibiotiques à large spectre et à long terme, la présence de cathéters centraux et une chirurgie abdominale (147). Dans une étude de Ponton *et al.*, 3 patients avaient des taux de BDG significatifs, les IFI ayant été exclues. Sur ces 3 patients, seuls 2 étaient colonisés par *Candida* (sur 1 et 4 sites). Cependant d'autres patients étaient colonisés et leurs taux de BDG étaient négatifs. Aucun lien ne pouvait donc être établi (148,149), De même pour Obayashi *et al.*, sur 10 patients présentant une colonisation à *Candida* sans signe d'inflammation (5 buccales, 3 pulmonaires et 2 urinaires), tous avaient des taux de BDG négatifs (150). Cependant, l'étude de Poissy *et al.*, contredit ces conclusions. Leurs résultats témoignent d'une association entre un niveau cumulé de colonisation élevé à *Candida* pendant tout le séjour en soin intensif et un niveau élevé de BDG >1 000 pg/ml (151).

Les patients atteints de mucoviscidose ou sous ventilation mécanique sont sujets à une colonisation fongique, notamment respiratoire. Rautemaa *et al.* témoignent que les patients atteints de mucoviscidose présentant une colonisation du tractus respiratoire par *Candida* ou *Aspergillus*, ont des taux de BDG élevés sans signes d'IFI. Cette élévation serait due à une perméabilité de la barrière intestinale liée à un état d'hyper-inflammation et non à une translocation pulmonaire (152). Cependant, l'étude de Kitsios *et al.* a montré qu'une translocation pulmonaire est possible. Ils ont réparti des patients sous ventilation mécanique souffrant d'une insuffisance respiratoire aiguë (IRA) selon trois sous-groupes : détresse respiratoire aiguë, COVID-19 et traumatisme crânien. Deux marqueurs ont été étudiés pour évaluer les lésions pulmonaires et intestinales, respectivement RAGE plasmatique (Receptor for advanced glycation end products) et FABP-2, parallèlement à la mesure des taux de BDG et l'évaluation de la colonisation des tractus digestifs et respiratoires. Leurs résultats suggèrent que les alvéoles lésées peuvent contribuer à la circulation des BDG, tout comme les lésions inflammatoires digestives (153). Il a également été suggéré que des taux de BDG élevés pouvaient être considérés comme un marqueur prédictif de mortalité chez les malades graves et un marqueur de l'invasion de la barrière intestinale avant l'infection (154).

Chez les enfants dont les nouveau-nés, la colonisation fongique pourrait également être associée à des taux élevés de BDG. Comme décrit par Ramos *et al.*, les taux sériques de BDG peuvent être plus élevés chez les enfants que chez les adultes en l'absence d'IFI (155). Goudjil *et al.*, suggèraient une augmentation du seuil de positivité à 125 pg/ml (Test Fungitell®) (156).

e. Chirurgie digestive

En plus de l'utilisation de gaze contenant de la cellulose, la chirurgie abdominale peut représenter un risque de facteur confondant. Dans une étude de White *et al.*, 9 des 13 patients ayant été opérés avaient des taux de BDG élevés alors qu'une IFI était exclue. Les auteurs mettaient en cause une translocation de la flore intestinale vers la circulation sanguine (47).

5. L'insuffisance hépatique

Les BDG ont une élimination principalement hépatique. Une étude de Suda *et al.*, suggérait que les cellules hépatiques de Kupffer sont responsables de la dégradation des BDG (157). D'après une étude de Sanada *et al.*, ayant exploré les taux de BDG au niveau de la veine porte en comparaison avec ceux d'une veine périphérique lors d'une transplantation hépatique, les taux sériques de BDG reflèteraient la clairance hépatique (158). Ainsi, il semblerait qu'une altération de la fonction hépatique entraînerait une augmentation des taux sériques de BDG lié à un défaut de leur clairance. Ces éléments sont appuyés par les résultats de l'étude de Kimura *et al.* Des rats atteints de cirrhose présentaient des taux de BDG après chirurgie digestive plus importants que les rats non cirrhotiques (159). Dans le cas des cirrhoses, l'augmentation pourrait également être associée à un risque de translocation microbienne par perte d'intégrité intestinale.

6. Les Tumeurs

Certaines tumeurs pourraient être responsables d'une élévation des taux de BDG. Pinto *et al.* ont rapporté le cas d'un patient de 16 ans dont le test de détection des BDG était positif. Un bilan des étiologies malignes, infectieuses et auto-immunes était réalisé devant un affaissement du visage, des acouphènes du côté gauche et une perte auditive bilatérale. Seuls les BDG étaient élevés, > 500 pg/ml, associés à un

dosage du GM négatif. Le voriconazole était introduit pour suspicion d'une méningite fongique. Aucune culture n'est revenue positive. Finalement, un germinome intracrânien était diagnostiqué. L'immunomarquage était positif pour le facteur de transcription se liant à l'octamère 4 et la phosphatase alcaline placentaire (PLAP). Les deux dosages sériques de BDG suivants étaient positifs (à 362 et 429 pg/ml). Après avoir écarté les autres causes de faux positifs et une IFI, il apparaît possible que les protéines glycosylées codées par le gène PLAP soient responsables de la réactivité du test. Ainsi les tumeurs des cellules germinales pourraient être un des facteurs confondants du test des BDG (160).

7. Facteurs confondants des tests Wako et Dynamiker

Des faux positifs ont également été rapportés pour les autres tests de détection de BDG commercialisés. Nous allons nous intéresser plus particulièrement aux tests Wako et Dynamiker, qui ont obtenus le marquage CE.

a. Le test Wako

Ce test utilise une méthode de détection turbidimétrique, qui lui confère une meilleure spécificité. Cette méthode lui permet de s'affranchir de certaines réactions non spécifiques entraînant des faux positifs notamment les interférences analytiques liés à l'aspect coloré du sérum (hémolyse, ictère) (161). Certains facteurs confondants rapportés pour le test Fungitell® sont valables pour le test Wako tels que les injections d'Ig humaine, l'utilisation de médicaments contenant des BDG (lentinane, SPG), l'utilisation de membranes de cellulose pour l'HD, les gazes utilisées lors de chirurgie ou encore l'administration de produits sanguins (126) (162). L'une des principales sources de β -glucanes dans les membranes celluloses est le β -(1,4)-D-glucane. Lors de l'analyse des produits de relargage des membranes après action de la β -(1,3)-glucanase, permettant de dégrader les BDG, les résultats du test était négatif. La détection est donc bien spécifique des β -(1,3)-D-glucanes. Le mécanisme par lequel la cellulose relargue des β -(1,3)-D-glucanes n'a pas été étudié (114). Dans une étude de Kannamori *et al.*, 6 gazes différentes ont été immergées dans de l'eau purifiée stérile et les taux de BDG relargués ont été mesurés. Après 120 minutes d'immersion, les taux de BDG allaient de 11,7 pg/ml, pour les gazes à base de lyocell (Soft gauze®), à 6612 pg/ml pour les éponges à base de coton tissé (LAP Sponge®). A l'exception du

pansement chirurgical non tissé en lyocell, il y avait une corrélation positive entre le temps d'immersion et les valeurs de BDG. Les taux de BDG variaient selon la marque et le type de gaze. Les taux de BDG étaient plus faibles avec les gazes n'ayant pas subi de pré lavage des fibres de coton. Les gazes à base de lyocell non tissés ne généraient pas d'élévation des taux de BDG après 120 minutes d'immersion (94).

Dans des études impliquant des patients VIH+ ou atteints d'hémopathies (163), des patients présentant une mucite sévère et/ou une infection au VIH ainsi que pour des patients présentant une péritonite bactérienne notamment à *Pseudomonas aeruginosa*, une colonisation par *Candida*, aucun faux positifs n'a été relevé. Seule l'administration de pipéracilline-tazobactam, et la présence de lésions cutanées étendues étaient associés à des taux élevés de BDG (164). Dans l'étude de Seen *et al.*, aucun faux positif n'était observé (165). Mais, tout comme le test Fungitell®, une réaction du test Wako a été observée en cas de nocardiose comme le montre le cas clinique décrit par Sawai *et al.* (77).

b. Le test Dynamiker

Selon la notice fournie par le fabricant, les causes possibles de faux positifs sont une contamination environnementale pendant le test, l'hémodialyse en cas d'utilisation de membranes de cellulose, l'utilisation de compresses ou matériaux similaires contenant du glucane, les préparations de type albumine, facteurs de coagulation du sang, immunoglobulines, les septicémies d'origine bactérienne (à streptocoque en particulier), les traitements par des molécules anticancéreuses (lentinane et schizophyllane), les traitements par sulfamides. Des interférences analytiques sont également possibles en cas d'échantillon hémolysé, ictérique, trouble en raison d'un taux important de lipides. (**Figure 28**) (166).

Interférences

Les tests de contrôle des différentes substances potentiellement interférentes dans le sérum ont montré qu'il n'y avait pas d'interférences pour les concentrations mentionnées ci-dessous :

Substance	Concentration
Hémoglobine dans des échantillons hémolysés	≤ 7 mg/ml
Triglycérides dans des échantillons troubles à haute teneur en M.G.	≤ 5 mmol/l
Bilirubine dans des échantillons de jaunisse	≤ 170 μ mol/l

Réaction croisée

Substance	Concentration
Endotoxine	≤ 1.0 EU/ml

Figure 28. Extrait de la notice du test Fungus β -(1,3)-D-Glucane, de TECOmedical Group. (166)

En raison d'un nombre très restreint d'études sur ce test, nous avons peu de recul sur l'existence de facteurs confondants. L'étude de Shabaan *et al.*, est une des rares études relevant des causes de fausse positivité du test dans une population de réanimation néonatale. Leur étude avait inclus 77 patients répartis en trois groupes : i) groupe sans fongémie (n=44), ii) groupe avec une suspicion de fongémie (n=25), et iii) groupe avec fongémie prouvée (n=11). Dans le groupe sans fongémie, ils ont répertorié 14 taux équivoques et 4 taux positifs de BDG. Les causes possibles évoquées étaient la chirurgie récente et des septicémies à *P. aeruginosa*. Les critères d'exclusion incluaient l'utilisation d'antibiotiques dérivés de sources fongiques tel que l'amoxicilline-acide clavulanique, de produits sanguins, d'immunoglobulines et n'ont pas pu être évalués. (52)

IV. Discussion

1. Les facteurs confondants

L'interprétation des résultats des tests de BDG est complexe pour les non-initiés. Alors qu'un test négatif exclu, la plupart du temps le risque d'IFI, en raison de la forte VPN du test, un certain nombre de facteurs confondants empêche de considérer un test positif sans se poser de questions. Parmi les facteurs relevés dans la littérature, certains restent encore controversés, tandis que d'autres sont reconnus de façon certaine.

Parmi les facteurs controversés, il est établi que certaines bactéries pathogènes chez l'Homme sont susceptibles de produire des β -(1,3)-D-glucanes tels que *Alcaligenes faecalis* ou *Streptococcus pneumoniae* de type 37. *Pseudomonas aeruginosa* possède un squelette polysaccharidique de type β -(1,2)-D-glucane ne permettant normalement pas de réagir avec les tests de détection des BDG. Les entérocoques permettraient une perméabilité de la barrière digestive, entraînant un risque de passage des BDG à travers la muqueuse intestinale et indirectement des taux sériques plus élevés de BDG. Enfin, les infections à *Nocardia* semblent responsables d'une augmentation des taux de BDG sériques sans que la raison ait été identifiée.

Parmi les facteurs reconnus, il existe de nombreuses origines iatrogènes. Les compresses utilisées en chirurgie, les membranes filtrantes en cellulose utilisées lors de séances d'hémodialyse, ainsi que pour la fabrication de médicaments ou la filtration de produits sanguins ont été étudiées. Malgré leur nature cellulosique, dont les liaisons sont de type β -(1,4), un relargage de résidus liés en β -(1,3) est possible sans que l'on ne sache l'expliquer. Ainsi, dans les produits à risque, sont évoqués les anticorps monoclonaux, les immunoglobulines, les produits sanguins (albumine, culots de globule rouge, plasma frais congelés ou encore des facteurs de coagulation sanguine), les antibiotiques, principalement les beta-lactamines. De par leur nature même, les adjuvants des anti-tumoraux, constitués de β -(1,3)-D-glucanes, sont incriminés (SPG, lentinane).

La perte d'intégrité digestive est un facteur confondant important, en permettant la translocation de micro-organismes ou le passage direct de BDG d'origine

alimentaire (algues, champignons, avoine) ou relargués par les micro-organismes dans la lumière intestinale. Cette perte d'intégrité peut être due à de nombreux facteurs tels que les enterococcémies, le sepsis, l'insuffisance rénale chronique (IRC), l'infection par le VIH, la chimiothérapie, mucoviscidose, l'insuffisance hépatique (IH), la GVHD, ou encore la chirurgie digestive. La perte d'intégrité des épithéliums pulmonaires et cutanés ont également été rapporté en tant que causes possibles d'augmentation des BDG. La présence d'une colonisation par des éléments fongiques pourrait jouer un rôle supplémentaire dans l'élévation des BDG en cas de perte d'intégrité.

Les sérums lipémiques, ictériques, hémolytiques, troubles, hyperprotéiques, interfèrent principalement avec les méthodes de détection par cinétique-colorimétrique. Enfin, de façon anecdotique, certaines tumeurs germinales seraient capables de produire des protéines glycosylées réagissant avec les tests de détection des BDG.

2. De quels facteurs faut-il encore tenir compte à l'heure actuelle ?

L'hémodialyse en tant que tel n'est plus un facteur confondant étant donné que les membranes de celluloses utilisées initialement ont été remplacées par des membranes synthétiques. Par contre les membranes de cellulose sont toujours utilisées dans la fabrication de médicaments. Cependant, concernant les antibiotiques, Finkelman affirme que l'administration parentérale d'antibiotiques est une voie d'apport de BDG circulant possible mais peu probable, du fait de la dilution élevée lors de l'injection de volumes assez faibles d'antibiotiques. De plus, les patients recevant des antibiotiques sont nombreux, et pourtant nous n'observons pas systématiquement pour autant des taux significatifs de BDG dans cette population (167). De plus en plus, les fabricants sont amenés à surveiller les taux de BDG dans leurs produits à usage thérapeutique et à les réduire. Les membranes peuvent faire l'objet d'un processus de rinçage permettant la réduction des BDG relargués et de nouveaux matériaux permettent petit à petit de remplacer les membranes de cellulose (40).

Lors de la réalisation des tests de détection des BDG, l'utilisation de matériels « *glucan-free* » est en œuvre depuis des années. Le risque de contamination environnementale n'étant pas négligeable, le respect de bonnes pratiques de manipulation est indispensable : éviter les transferts répétés, manipuler les sérums

sous poste de sécurité microbiologique, réserver une paillasse « propre » pour la réalisation du test. Afin de s'affranchir des risques de faux positifs (ou faux négatifs) liés aux interférences analytiques, il est nécessaire de considérer le chauffage des échantillons à 100°C pendant 3 minutes en présence de Na₂-EDTA comme une étape pré-analytique intéressante. Lors de la validation technique des résultats, l'analyse des cinétiques est indispensable afin d'éliminer les cinétiques ne présentant pas de phase de latence. Ces bonnes pratiques font l'objet d'une formation stricte du manipulateur, réduisant considérablement les risques de mauvaise interprétation qui pourraient être générés au laboratoire.

3. Conseils pratiques pour une bonne interprétation

Les résultats des tests doivent être interprétés en fonction du contexte clinique du patient, de la cinétique des dosages successifs de BDG et des autres éléments du diagnostic biologique mycologique. Cela permet d'augmenter la sensibilité et la spécificité du test. La recherche de facteurs confondants est également indispensable. Deux dosages successifs positifs augmentent la spécificité du test et sont en faveur d'une IFI. Une diminution ou négativation rapide du taux de BDG sans traitement antifongique est en faveur de faux positifs. Lorsqu'un médicament semble responsable, il est possible de caractériser les taux de BDG du lot incriminé. L'« approche du calculateur » proposé par Liss (121) peut également être une solution envisageable, bien qu'elle paraisse fastidieuse. Déterminer les taux de BDG avant injection d'un médicament peut également être une alternative (167).

Une augmentation des taux de BDG est généralement attendue en cas d'injection d'Ig IV ou SC. Il est conseillé d'attendre le temps de la demi-vie avant de doser à nouveau les BDG, à savoir au moins 2 semaines. Selon des données collectées par Finkelman, la diminution des taux de BDG pourrait être plus rapide d'une semaine après administration d'IgIV (**Figure 29**) (167). De même, le dosage des BDG peut être faussement positif dans les jours suivants une chirurgie, en raison de l'utilisation de gazes ou d'éponges. Il est conseillé d'attendre 3 à 5 jours post-opératoires avant de doser les BDG. Par contre, les médicaments composés de BDG tel que le Sizofiran, peuvent entraîner une détection de BDG à long terme.

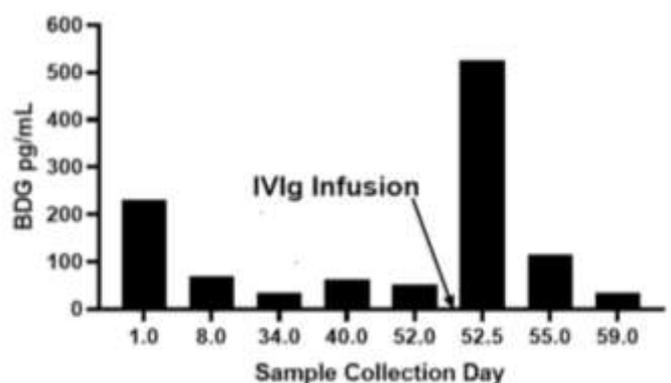


Figure 29. Dosage des BDG avant et après l'administration d'IgIV. Extrait de Finkelman. (167)

Dans le cas des patients suivis pour une infection par le VIH, il pourrait être nécessaire d'adapter le seuil pour cette catégorie de patients ou d'évaluer les taux de base des patients avant toute complication. Il est essentiel de prendre en considération l'ensemble des résultats des investigations clinico-biologiques lors de l'interprétation d'un résultat positif. Une évaluation cinétique peut également être nécessaire.

Finkelman a récemment proposé une liste de questions pour aider à l'interprétation des résultats positifs de BDG (**Figure 30**). Basés sur l'ensemble des informations recueillies dans cette revue, nous proposons un algorithme d'aide à l'interprétation (**Figure 31**).

A. Faux positifs liés aux produits médicaux	
1.	Le patient a-t-il reçu des perfusions d'IgIV ?
2.	Le patient a-t-il reçu des perfusions d'albumine sérique humaine ?
3.	Le patient a-t-il reçu une nutrition parentérale totale ?
4.	Le patient a-t-il subi une chirurgie invasive au cours des 4 derniers jours ?
5.	Le patient a-t-il des compresses de gaze à demeure, des éponges chirurgicales ?
6.	D'autres dispositifs médicaux celluloseux invasifs sont-ils utilisés ?
B. Faux positifs liés à l'état de santé	
1.	Le patient présente-t-il des signes de mucite ou d'entérocolite grave ?
2.	Le patient est-il en hémodialyse ?
3.	Le patient a-t-il une nocardiose invasive ?
4.	Une ischémie intestinale ou une hypoxie est-elle suspectée ?
5.	Une pneumocystose a-t-elle été exclue ?

Figure 30. Facteurs à prendre en compte lorsqu'un faux positif est suspecté. Adapté de Finkelman. (167)

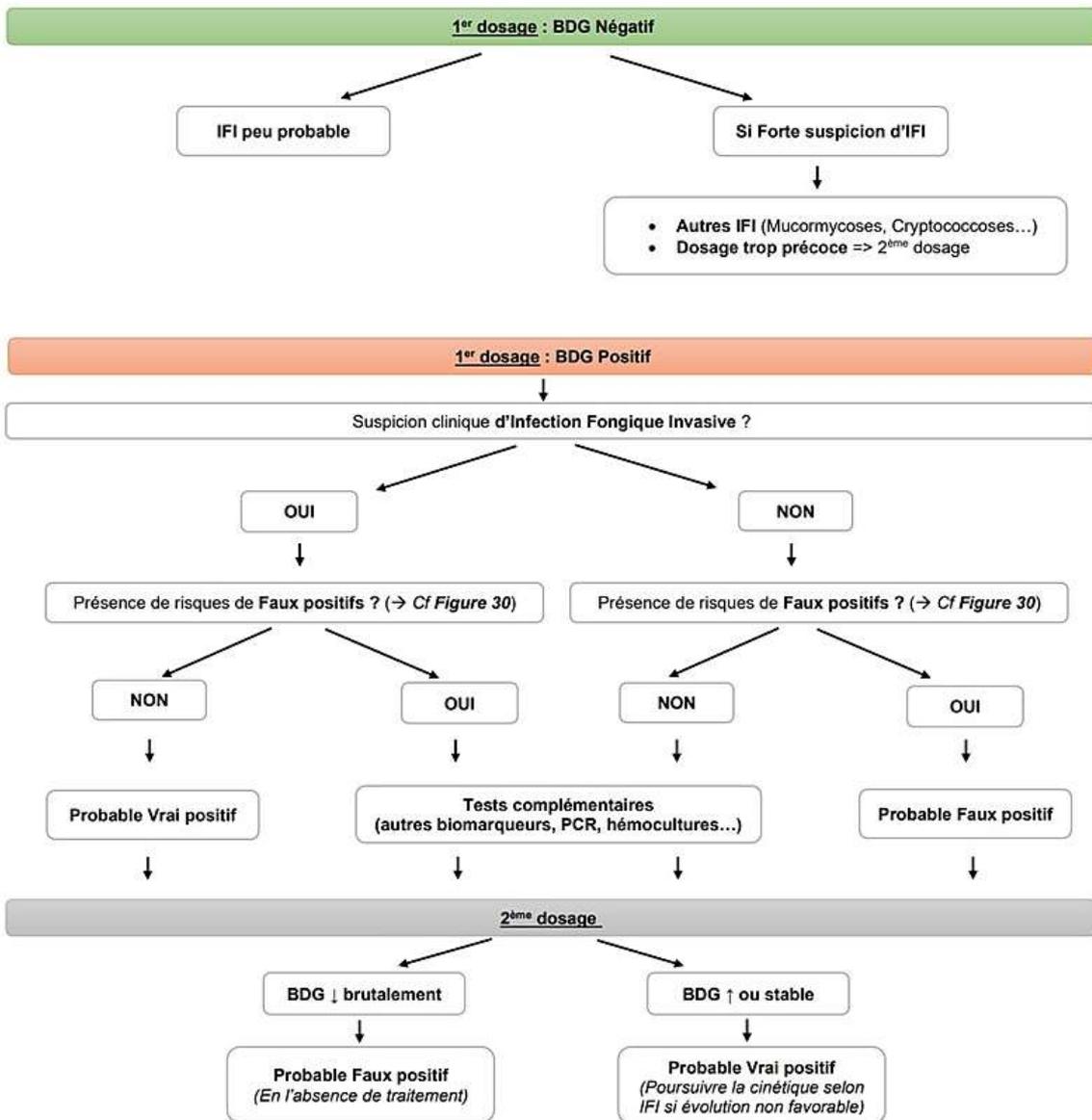


Figure 31. Proposition d'algorithme pour l'interprétation d'un résultat de BDG.

4. Intérêt du suivi cinétique des BDG pour évaluer la réponse thérapeutique

Le suivi cinétique des BDG est un élément important de la réflexion diagnostique. Mais son intérêt dans la réponse au traitement et son intérêt pronostique reste controversé. Angebault *et al.* ont suivi les cinétiques des taux de BDG chez des patients présentant des IFI probables ou avérées. Après une candidémie, les taux de BDG pouvaient devenir négatifs après plus d'1 mois de traitement. En cas d'aspergillose invasive, les taux étaient négatifs après plus de 3 mois de traitement. Cependant, différents profils ont été distingués : profil toujours négatif, profil avec alternance de négatifs ou faibles positifs, profil de diminution rapide des BDG, profil de diminution lente des BDG. Une

diminution plus lente était généralement associée à des localisations profondes de candidoses. En cas d'aspergillose invasive, la persistance prolongée des BDG était associée à une localisation sinusienne et/ou cérébrale (168).

Une diminution des taux de BDG serait plutôt en faveur d'une réponse au traitement, tandis qu'une augmentation du taux des BDG serait associée à un échec du traitement. Les résultats de l'étude de Jaijakul *et al.* suggéraient que l'évolution entre les taux initiaux de BDG basaux et consécutifs permettaient de prédire les réponses thérapeutiques dans les candidoses invasives traitées par échinocandines (169). Tandis que pour Koo *et al.*, ni la valeur des taux de BDG au moment du diagnostic, ni les variations précoces des taux de BDG n'étaient prédictives de l'évolution clinique. Dans cette étude, les taux de BDG sériques diminuaient lentement chez la plupart des patients atteints d'aspergillose, de candidose ou de PPJ traités par un traitement antifongique approprié, et persistaient au-dessus du seuil de positivité longtemps après la résolution clinique de l'infection initiale (170).

5. De nouvelles méthodes de dosage en perspective

Alors que les glucanes liées en β -(1,3)/(1,4) sont retrouvées chez les végétaux, les chaînes de glucanes liées en β -(1,3)/(1,6) sont plus courantes chez les champignons. La méthode SSMC (Scanning Single-Molecule Counting), décrite par Adachi *et al.*, est une méthode alternative au test LAL qui permettrait de s'affranchir des réactions faussement positives d'origine végétale et donc en relation avec l'utilisation de cellulose. Cette méthode utilise une protéine recombinante, la S-BGRP (protéine de reconnaissance des β -(1,3)-D-glucanes), qui se lie aux BDG, ainsi qu'une protéine (1,6)- β -glucanase mutante, ayant une spécificité élevée pour les β -(1,6)-glucanes fongique tout en ayant perdu son activité hydrolase. Chacune de ces protéines est marquée par l'Alexa Fluor 647 (AF647) et la biotine, respectivement. L'ensemble est mis en présence de l'échantillon et de billes magnétiques conjuguées à la streptavidine ayant une forte affinité pour la biotine. Les billes magnétiques permettent d'isoler l'ensemble des glucanes liés en β -(1,3)/(1,6) de façon spécifique. Une élution des protéines S-BGRP fluorescentes est réalisée afin de compter celles-ci en microscopie confocale, et ainsi d'évaluer les taux de BDG (**Figure 32**). Cette méthode permet de détecter les BDG d'*Aspergillus* et de *Candida*. La détection des BDG de pollen ou de laminarine est possible mais lorsque les taux sont très élevés, de l'ordre du $\mu\text{g/ml}$. Les taux de BDG obtenus avec cette méthode sont corrélés avec les taux obtenus via le

test utilisant le LAL. Six préparations d'IgIV ont été testées. Une seule préparation, la Polyglobuline-N, induisait une réaction avec cette nouvelle méthode, alors que 5/6 préparations réagissaient avec le test au LAL. Cette méthode peu coûteuse pourrait permettre de s'affranchir des fausses réactivités dues à la cellulose. La détection combinée de β -(1,3)/(1,6) est plus spécifique des champignons. Le principal inconvénient réside dans le système de mesure, assez encombrant (171). Une évaluation clinique est attendue.

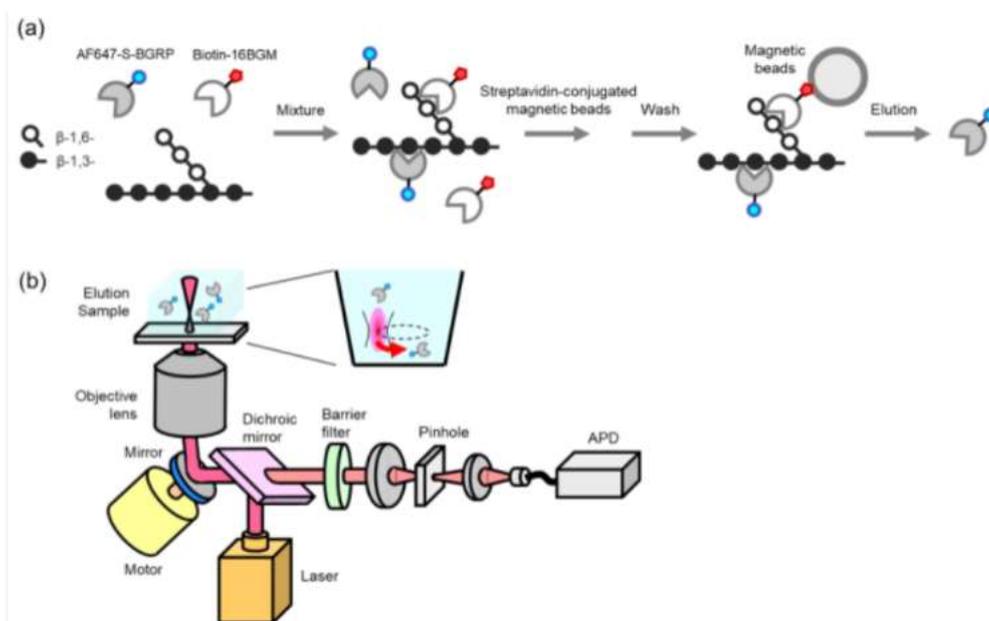


Figure 32. Principe de la méthode SSMC. Extrait d'Adachi et al. (171)

La Limule étant en voie d'extinction, les fabricants envisagent d'autres pistes de détection. Associates of Cape Cod, ainsi que d'autres fabricants tels que Biomérieux, proposent déjà un facteur C recombinant pour la détection des endotoxines (voie du facteur C chez la Limule, inhibée lors de la détection de BDG) avec une révélation de fluorescence ou par turbidimétrie. (https://www.acciusa.com/assets/files/pdf/PyroSmart-Brochure_MKT21-077_FR.pdf). Il ne reste qu'un pas vers la production de facteur G recombinant.

V. Conclusion

L'incidence des IFI augmente, alors que leur mortalité reste élevée. Un traitement adapté et précoce est essentiel. Les méthodes diagnostiques conventionnelles présentant une sensibilité faible, nécessitent la complémentarité des tests PCR et des biomarqueurs, ayant des performances diagnostiques variables selon la pathologie fongique et le terrain du patient. Les méthodes de détection des BDG, marqueur « panfongique », présentent une VPN élevée, mais un manque de spécificité, dû en partie, à la présence de nombreux facteurs confondants.

Actuellement cinq tests différents existent pour le dosage des BDG : Fungitell® (Associates of Cape Cod, East Falmouth, MA), Fungitec-G test® (Seikagaku Biobusiness, Tokyo, Japon), beta-glucan® test (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japon), BGSTAR β -glucane (Maruha, Tokyo, Japon) et le test Dynamiker® Fungus. En France, le test Fungitell® est le plus utilisé. Cependant, l'obtention du marquage CE pour deux autres tests, le test Wako® et le test Dynamiker®, amènent à reconsidérer les possibilités diagnostiques. Le principe du dosage des BDG est basé sur l'utilisation du LAL, dont la voie du facteur G est activée par les BDG. Un des inconvénients majeurs réside dans la reconnaissance des β -(1,3)-D-glucanes également d'origine végétale, entraînant de nombreux faux positifs notamment par l'utilisation de cellulose pour la filtration des molécules thérapeutiques, des produits sanguins ou encore pour la fabrication de compresses chirurgicales.

Nous avons pu voir à travers cette revue de la littérature que les facteurs confondants sont nombreux et parfois dépendants les uns aux autres. Ce qui rend complexe l'interprétation des taux positifs de BDG. Dans ces situations, il faut multiplier les tests diagnostiques d'IFI, réitérer les dosages de BDG pour réaliser une cinétique, et éliminer la possibilité de facteurs confondants lors de l'interprétation des résultats des tests de détection. Des mesures sont disponibles afin de limiter l'action de certains facteurs sur l'interprétation. La confrontation au contexte clinique et un échange clinico-biologique sont indispensables à l'interprétation (**Figure 30**). Cependant, la fabrication de tests plus spécifiques permettrait une interprétation plus aisée.

Bibliographie

1. Horn DL, Fishman JA, Steinbach WJ, Anaissie EJ, Marr KA, Olyaei AJ, et al. Presentation of the PATH Alliance® registry for prospective data collection and analysis of the epidemiology, therapy, and outcomes of invasive fungal infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. déc 2007;59(4):407-14.
2. Bretagne S. Antigènes fongiques en réanimation: tests disponibles et état des lieux. *Réanimation*. juin 2007;16(3):232-9.
3. Accoceberry DI. DIAGNOSTIC DES INFECTIONS FONGIQUES INVASIVES. 2019;12.
4. Pickering JW, Sant HW, Bowles CAP, Roberts WL, Woods GL. Evaluation of a (1->3)-D-Glucan Assay for Diagnosis of Invasive Fungal Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 déc 2005;43(12):5957-62.
5. Bitar D, Lortholary O, Dromer F, Coignard B, Che D. Mycoses invasives en France métropolitaine, PMSI 2001-2010 : incidence, létalité et tendances. :6.
6. Dromer PF, Lortholary PO. Centre national de référence Mycoses Invasives et Antifongiques. 2014;47.
7. Centre national de référence des mycoses invasives et antifongiques. Rapport annuel d'activité 2020. 2020 Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/file/39845/download>
8. Renaudat C, Sitbon K, Desnos-Ollivier M, Fontanet A, Bretagne S, Lortholary O, et al. Candidémies en Île-de-France : données de l'Observatoire des levures (2002-2010). *BEH*. 2013;4.
9. Kohlenberg A, Struelens MJ, Monnet DL, Plachouras D. *Candida auris*: epidemiological situation, laboratory capacity and preparedness in European Union and European Economic Area countries, 2013 to 2017. *Euro Surveill*. 29 mars 2018;23(13).
10. Fréquence des maladies fongiques - Gaffi | Gaffi - Fonds d'action mondial contre les infections fongiques. Disponible sur: <https://www.gaffi.org/why/fungal-disease-frequency/>
11. Suleyman G, Alangaden GJ. Nosocomial Fungal Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*. déc 2016;30(4):1023-52.
12. Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, et al. Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clinical Infectious Diseases*. 12 sept 2020;71(6):1367-76.
13. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the Empiric Treatment of *Candida* Bloodstream Infection until Positive Blood Culture Results Are Obtained: a Potential Risk Factor for Hospital Mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. sept 2005;49(9):3640-5.

14. Greene RE, Schlamm HT, Oestmann J-W, Stark P, Durand C, Lortholary O, et al. Imaging Findings in Acute Invasive Pulmonary Aspergillosis: Clinical Significance of the Halo Sign. *Clinical Infectious Diseases*. 1 févr 2007;44(3):373-9.
15. Chamilos G, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Delaying Amphotericin B–Based Frontline Therapy Significantly Increases Mortality among Patients with Hematologic Malignancy Who Have Zygomycosis. *Clin Infect Dis*. 15 août 2008;47(4):503-9.
16. Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the “Missing 50%” of Invasive Candidiasis: How Nonculture Diagnostics Will Improve Understanding of Disease Spectrum and Transform Patient Care. *Clin Infect Dis*. 1 mai 2013;56(9):1284-92.
17. Bognoux M-E. Outils pour le diagnostic et le suivi des Infections Fongiques Invasives chez les patients immunodéprimés : Patients d’hématologie et transplantés. 2009;117.
18. Weinbergerova B, Kocmanova I, Racil Z, Mayer J. Serological Approaches. In: Lion T, éditeur. *Human Fungal Pathogen Identification: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer; 2017. p. 209-21. (Methods in Molecular Biology).
19. Sendid B, Poirot JL, Tabouret M, Bonnin A, Caillot D, Camus D, et al. Combined detection of mannanaemia and anti-mannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. *Journal of Medical Microbiology*. 1 mai 2002;51(5):433-42.
20. Bajwa S, Kulshrestha A. Fungal Infections in Intensive Care Unit: Challenges in Diagnosis and Management. *Ann Med Health Sci Res*. 2013;3(2):238-44.
21. Frédéric N. Haute Autorité de santé. 2017;123.
22. Prella M, Bille J, Pugnale M, Duvoisin B, Cavassini M, Calandra T, et al. Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 1 févr 2005;51(2):95-101.
23. Clancy CJ, Nguyen MH. Non-Culture Diagnostics for Invasive Candidiasis: Promise and Unintended Consequences. *J Fungi (Basel)*. 19 févr 2018;4(1).
24. Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdagli S, Denning DW, Groll AH, Lagrou K, et al. Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clinical Microbiology and Infection*. mai 2018;24:e1-38.
25. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 15 août 2016;63(4):e1-60.
26. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME. -D-Glucan Assay for the Diagnosis of Invasive Fungal Infections: A Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 15 mars 2011;52(6):750-70.

27. Onishi A, Sugiyama D, Kogata Y, Saegusa J, Sugimoto T, Kawano S, et al. Diagnostic Accuracy of Serum 1,3- β -D-Glucan for Pneumocystis jirovecii Pneumonia, Invasive Candidiasis, and Invasive Aspergillosis: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Microbiol.* janv 2012;50(1):7-15.
28. Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, et al. ESCMID* *This guideline was presented in part at ECCMID 2011. European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases. guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: diagnostic procedures. *Clinical Microbiology and Infection.* déc 2012;18:9-18.
29. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases.* 15 févr 2016;62(4):e1-50.
30. Alanio A, Hauser PM, Lagrou K, Melchers WJG, Helweg-Larsen J, Matos O, et al. ECIL guidelines for the diagnosis of Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 1 sept 2016;71(9):2386-96.
31. Dr S. Alfandari. Aspergillose invasive - DUACAI. 2020.
32. Latgé J-P. The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell. *Molecular Microbiology.* 2007;66(2):279-90.
33. Garnaud C. Membrane et paroi fongiques : des rôles clés dans la résistance aux antifongiques. *Revue Francophone des Laboratoires.* févr 2020;9.
34. Gow N, Latge J, Munro C, éditeurs. The Fungal Cell Wall: Structure, Biosynthesis, and Function. In: *The Fungal Kingdom* . American Society of Microbiology; 2017. p. 267-92. Disponible sur: <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555819583.chap12>
35. Garcia-Rubio R, de Oliveira HC, Rivera J, Trevijano-Contador N. The Fungal Cell Wall: Candida, Cryptococcus, and Aspergillus Species. *Front Microbiol.* 9 janv 2020;10.
36. Ma L, Chen Z, Huang DW, Kutty G, Ishihara M, Wang H, et al. Genome analysis of three Pneumocystis species reveals adaptation mechanisms to life exclusively in mammalian hosts. *Nat Commun.* 22 févr 2016;7.
37. Złotko K, Wiater A, Waśko A, Pleszczyńska M, Paduch R, Jaroszek-Ścisiel J, et al. A Report on Fungal (1 \rightarrow 3)- α -D-glucans: Properties, Functions and Application. *Molecules.* 2 nov 2019;24(21):3972.
38. Erwig LP, Gow NAR. Interactions of fungal pathogens with phagocytes. *Nat Rev Microbiol.* mars 2016;14(3):163-76.
39. A. Kędzierska, P. Kochan, A. Pietrzyk. Current Status Of Fungal Cell Wall components in the immunodiagnosics of invasive fungal infections in humans: galactomannan, mannan and (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 2007.

40. FINKELMAN MA. (1³)-β-D-Glucan: Pharmaceutical Contaminant and Biological Response Modifier. *American Pharmaceutical Review*. 2016;4.
41. Kataoka K, Muta T, Yamazaki S, Takeshige K. Activation of Macrophages by Linear (1→3)-β-d-Glucans: implications for the recognition of fungi by innate immunity*. *Journal of Biological Chemistry*. 27 sept 2002;277(39):36825-31.
42. Alanio A, Gits-Muselli M, Guigue N, Denis B, Bergeron A, Touratier S, et al. Prospective comparison of (1,3)-beta-D-glucan detection using colorimetric and turbidimetric assays for diagnosing invasive fungal disease. *Med Mycol*. 20 avr 2021;myab016.
43. White SK, Schmidt RL, Walker BS, Hanson KE. (1→3)-β-D-glucan testing for the detection of invasive fungal infections in immunocompromised or critically ill people. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2020;(7).
44. Yoshida K, Shoji H, Takuma T, Niki Y. Clinical viability of Fungitell, a new (1→3)-β-d-glucan measurement kit, for diagnosis of invasive fungal infection, and comparison with other kits available in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2011;17(4):473-7.
45. De Carolis E, Marchionni F, Torelli R, Angela MG, Pagano L, Murri R, et al. Comparative performance evaluation of Wako β-glucan test and Fungitell assay for the diagnosis of invasive fungal diseases. *PLoS One*. 29 juill 2020;15(7).
46. Miceli M, Maertens J. Role of Non-Culture-Based Tests, with an Emphasis on Galactomannan Testing for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 23 sept 2015;36(05):650-61.
47. White PL, Price JS, Posso RB, Barnes RA. An evaluation of the performance of the Dynamiker® Fungus (1-3)-β-D-Glucan Assay to assist in the diagnosis of invasive aspergillosis, invasive candidiasis and *Pneumocystis pneumonia*. *Med Mycol*. 1 nov 2017;55(8):843-50.
48. Friedrich R, Rappold E, Bogdan C, Held J. Comparative Analysis of the Wako β-Glucan Test and the Fungitell Assay for Diagnosis of Candidemia and *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *J Clin Microbiol*. 27 août 2018;56(9).
49. Mercier T, Guldentops E, Patteet S, Beuselinck K, Lagrou K, Maertens J. Beta-d-Glucan for Diagnosing *Pneumocystis Pneumonia*: a Direct Comparison between the Wako β-Glucan Assay and the Fungitell Assay. *J Clin Microbiol*. 24 mai 2019;57(6).
50. Wang Y, Liu W, Yan W, Xu Y. Performance of Dynamiker® (1-3)-beta-D glucan assay compared to Fungitell® for the diagnosis of invasive fungal diseases from serum samples. 2016;
51. White PL, Posso RB, Gorton RL, Price JS, Wey E, Barnes RA. An evaluation of the performance of the Dynamiker® Fungus (1-3)-β-D-Glucan Assay to assist in the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia*. *Med Mycol*. 1 août 2018;56(6):778-81.

52. Shabaan AE, Elbaz LM, El-Emshaty WM, Shouman B. Role of serum (1,3)- β -d-glucan assay in early diagnosis of invasive fungal infections in a neonatal intensive care unit. *Jornal de Pediatria*. 1 sept 2018;94(5):559-65.
53. Aketagawa J, Tanaka S, Tamura H, Shibata Y, Saito H. Activation of Limulus Coagulation Factor G by Several ($1 \rightarrow 3$)- β -D-Glucans: Comparison of the Potency of Glucans with Identical Degree of Polymerization but Different Conformations. *J Biochem*. 1993;113(6):4.
54. Wright WF, Overman SB, Ribes JA. (1–3)- β -D-Glucan Assay: A Review of its Laboratory and Clinical Application. *Lab Med*. nov 2011;42(11):679-85.
55. Metan G, Nedret Koc A, Ağkuş Ç, Kaynar LG, Alp E, Eser B. Can bacteraemia lead to false positive results in 1,3-beta-d-glucan test? Analysis of 83 bacteraemia episodes in high-risk patients for invasive fungal infections. *Revista Iberoamericana de Micología*. juill 2012;29(3):169-71.
56. Racil Z, Kocmanova I, Toskova M, Winterova J, Lengerova M, Timilsina S, et al. Reactivity of the 1,3-b-D-glucan assay during bacteraemia: limited evidence from a prospective study. 2012;4.
57. Furfaro E, Mikulska M, Del Bono V, Guolo F, Minetto P, Gobbi M, et al. Bloodstream Infections Are an Improbable Cause of Positive Serum (1,3)- β -d-Glucan in Hematology Patients. *Clin Vaccine Immunol*. sept 2014;21(9):1357-9.
58. Desjardins A, Parize P, Angebault C, Lécuyer H, Lortholary O, Bougnoux M-E. Lack of 1-3-B-D-glucan detection in adults with bacteraemia. *Medical Mycology*. 1 mai 2015;53(4):405-8.
59. Zheng F, Gu Y, Zha H, Deng J, Zhang Z. The Diagnostic Value of (1 \rightarrow 3)-Beta-d-glucans and Galactomannan Assays in Children Suffering from Bacteremia in Pediatric Intensive Care Unit. *Mycopathologia*. 1 juin 2017;182(5):555-60.
60. Albert O, Toubas D, Strady C, Cousson J, Delmas C, Vernet V, et al. Reactivity of (1 \rightarrow 3)- β -d-glucan assay in bacterial bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. nov 2011;30(11):1453-60.
61. Mennink-Kersten MASH, Ruegebrink D, Verweij PE. *Pseudomonas aeruginosa* as a Cause of 1,3-b-d-Glucan Assay Reactivity. *Clin Infect Dis*. 15 juin 2008;46(12):1931-2.
62. McIntosh M, Stone BA, Stanisich VA. Curdlan and other bacterial (1 \rightarrow 3)- β -D-glucans. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005;
63. Nakanishi, I, Kimura K, Suzuki T. Demonstration Of Curdlan-Type Polysaccharide And Some Other J3-1, 3-Glucan In Microorganisms With Aniline Blue. *J Gen App Microbiol*. 1976;
64. Inai S, Nagaki K, Ebisu S, Kato K, Kotani S, Misaki A. Activation of the Alternative Complement Pathway by Water-Insoluble Glucans of *Streptococcus Mutans*: The Relation between Their Chemical Structures and Activating Potencies. *Journal of Immunology*. 1976;6.

65. Finkelman MA. Specificity Influences in (1→3)-β-d-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. *J Fungi (Basel)* . 29 déc 2020;7(1).
66. Deutsch S-M, Falentin H, Dols-Lafargue M, Lapointe G, Roy D. Capsular exopolysaccharide biosynthesis gene of *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. *Int J Food Microbiol.* 31 juill 2008;125(3):252-8.
67. Tang L, Weissborn AC, Kennedy EP. Domains of *Escherichia coli* Acyl Carrier Protein Important for Membrane-Derived-Oligosaccharide Biosynthesis. *J Bacteriol.* 1997;179:9.
68. Lequette Y, Ödberg-Ferragut C, Bohin J-P, Lacroix J-M. Identification of *mdoD*, an *mdoG* Paralog Which Encodes a Twin-Arginine-Dependent Periplasmic Protein That Controls Osmoregulated Periplasmic Glucan Backbone Structures. *JB.* 15 juin 2004;186(12):3695-702.
69. Panpetch W, Chanchaoenthana W, Bootdee K, Nilgate S, Finkelman M, Tumwasorn S, et al. *Lactobacillus rhamnosus* L34 Attenuates Gut Translocation-Induced Bacterial Sepsis in Murine Models of Leaky Gut. *Infect Immun* . 19 déc 2017;86(1).
70. Held J, Kohlberger I, Rappold E, Busse Grawitz A, Häcker G. Comparison of (1→3)-β-d-Glucan, Mannan/Anti-Mannan Antibodies, and Cand-Tec Candida Antigen as Serum Biomarkers for Candidemia. *J Clin Microbiol.* avr 2013;51(4):1158-64.
71. Ramos Y, Rocha J, Hael AL, van Gestel J, Vlamakis H, Cywes-Bentley C, et al. PolyGlcNAc-containing exopolymers enable surface penetration by non-motile *Enterococcus faecalis*. *PLoS Pathog* . 11 févr 2019;15(2).
72. Nakamura I, Nagakura T, Fujita H, Fukusima S, Gonoï T. *Nocardia elegans* infection: a case report and literature review. *International Journal of Infectious Diseases.* janv 2017;54:15-7.
73. Morikawa K, Takeda R, Yamazaki M, Mizuno D. Induction of Tumoricidal Activity of Polymorphonuclear Leukocytes by a Linear 0-1,3-D-Glucan and Other Immunomodulators in Murine Cells. 1985;45:7.
74. Koncan R, Favuzzi V, Ligozzi M, Sorrentino A, Cornaglia G, Cascio GL. Cross-reactivity of *Nocardia* spp. in the fungal (1-3)-β-d-glucan assay performed on cerebral spinal fluid. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* févr 2015;81(2):94-5.
75. Hashizume Y, Takise A, Kawata T, Suzuki K, Endou K, Horie T. [Pulmonary nocardiosis with elevation of serum beta-D-glucan in a patient with polymyositis]. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi.* oct 2011;49(10):750-5.
76. Ge Y, Zhu X, Hu K, Zhang Q, Li W, Zhang C, et al. Positive Serum Beta-D-glucan by G Test and *Aspergillus fumigatus* Sputum Culture Mimic Invasive Pulmonary Aspergillosis in a Pulmonary *Nocardia* Patient: a Case Report and Literature Review. *Clin Lab* . 2019;65(06/2019).

77. Sawai T, Nakao T, Yamaguchi S, Yoshioka S, Matsuo N, Suyama N, et al. Detection of high serum levels of β -D-Glucan in disseminated nocardial infection: a case report. *BMC Infect Dis.* déc 2017;17(1):272.
78. Cornu M, Sendid B, Mery A, François N, Mikulska M, Letscher-Bru V, et al. Evaluation of Mass Spectrometry-Based Detection of Panfungal Serum Disaccharide for Diagnosis of Invasive Fungal Infections: Results from a Collaborative Study Involving Six European Clinical Centers. *J Clin Microbiol.* 26 avr 2019;57(5):e01867-18.
79. Jiang C, Scherfner S, Dick LW, Mahon D, Qiu D, Cheng K-C, et al. Demonstrating β -glucan and yeast peptide clearance in biopharmaceutical downstream processes. *Biotechnol Prog.* avr 2011;27(2):442-50.
80. Vigor K, Emerson J, Scott R, Cheek J, Barton C, Bax HJ, et al. Development of downstream processing to minimize beta-glucan impurities in GMP-manufactured therapeutic antibodies. *Biotechnology Progress.* 2016;32(6):1494-502.
81. Holstein M, Jang D, Urrea C, Botta LS, Grimm W, Ghose S, et al. Control of leached beta-glucan levels from depth filters by an improved depth filtration flush strategy. *Biotechnol Prog.* janv 2021;37(1):e3086.
82. Kluters S, Steinhauser K, Pfänder R, Studts J. Introduction and clearance of beta-glucan in the downstream processing of monoclonal antibodies. *Biotechnol Prog.* 20 mars 2021;e3149.
83. Prattes J, Krause R, Schilcher G. Reliability of serum 1,3-beta-D-glucan assay in patients undergoing renal replacement therapy: a review of the literature - PubMed. *Mycoses* . janv 2015.
84. Pearson FC, Bohon J, Lee W, Bruszer G, Sagona M, Dawe R, et al. Comparison of Chemical Analyses of Hollow-Fiber Dialyzer Extracts. *Artificial Organs.* 1984;8(3):291-8.
85. Henne W, Schulze H, Pelger M, Tretzel J, von Sengbusch G. Hollow-fiber dialyzers and their pyrogenicity testing by *Limulus* amoebocyte lysate. *Artif Organs.* août 1984;8(3):299-305.
86. Yoshioka T, Ikegami K, Ikemura K, Shiono S, Uenishi M, Sugimoto H, et al. A study on *limulus* amoebocyte lysate (LAL) reactive material derived from dialyzers. *Jpn J Surg.* janv 1989;19(1):38-41.
87. Kanda H, Kubo K, Hamasaki K, Kanda Y, Nakao A, Kitamura T, et al. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan level. *Kidney International.* 1 juill 2001;60(1):319-23.
88. Kato A, Takita T, Furuhashi M, Takahashi T, Maruyama Y, Hishida A. Elevation of blood (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan concentrations in hemodialysis patients. *Nephron.* sept 2001;89(1):15-9.
89. Yoshida K, Nakajima M, Yamasaki M, Kitano Y, Niki Y, Ohsawa G, et al. [Investigation of the influence of hemodialysis membranes and factors associated

- with hemodialysis on serum (1→3)-beta-D-glucan]. *Kansenshogaku Zasshi*. mars 1998;72(3):245-8.
90. Taniguchi T, Katsushima, Lee. Endotoxemia in patients on hemodialysis. 1990
 91. Prattes J, Schneditz D, Prüller F, Jandl E, Sauseng N, Hoenigl M, et al. 1,3-β-d-Glucan testing is highly specific in patients undergoing dialysis treatment. *J Infect*. janv 2017;74(1):72-80.
 92. Swift O, Vilar E, Farrington K. Unexplained inflammation in end-stage kidney disease: Is the combination of enhanced gastrointestinal permeability and reticuloendothelial dysfunction its cause? *Semin Dial*. sept 2019;32(5):417-23.
 93. Aubourg R, Bouche S, Putzolu J. Hémostatiques chirurgicaux . HAS; 2011 juin.
 94. Kanamori H, Kanemitsu K, Miyasaka T, Ameku K, Endo S, Aoyagi T, et al. Measurement of (1-3)-beta-D-glucan derived from different gauze types. *Tohoku J Exp Med*. févr 2009;217(2):117-21.
 95. Szyszkowitz A, Zurl C, Herzeg A, Berger A, Gemes G, Mitteregger M, et al. Serum 1,3-Beta-D-Glucan Values During and After Laparoscopic and Open Intestinal Surgery. *Open Forum Infect Dis*. déc 2018;5(12):ofy296.
 96. Mohr JF, Sims C, Paetznick V, Rodriguez J, Finkelman MA, Rex JH, et al. Prospective Survey of (1→3)-β-d-Glucan and Its Relationship to Invasive Candidiasis in the Surgical Intensive Care Unit Setting. *J Clin Microbiol*. janv 2011;49(1):58-61.
 97. Styczynski A, Bonilla H, Treynor E, Shashank J, Zhang Y, Finkelman M. Beta-Glucanemia after Coronary Artery Bypass Graft Surgery: A Case Report. *JoF*. 2 oct 2018;4(4):114.
 98. Shupp JW, Petraitiene R, Jaskille AD, Pavlovich AR, Matt SE, Nguyen DT, et al. Early serum (1→3)-β-D-glucan levels in patients with burn injury: Beta glucan levels in burn patients. *Mycoses*. mai 2012;55(3):224-7.
 99. Gefroh E, Hewig A, Vedantham G, McClure M, Krivosheyeva A, Lajmi A, et al. Multipronged approach to managing beta-glucan contaminants in the downstream process: control of raw materials and filtration with charge-modified nylon 6,6 membrane filters. *Biotechnol Prog*. juin 2013;29(3):672-80.
 100. Duffner U, Abdel-Mageed A, Dahl K, Fogg G, Hester J. Serum (1 → 3)-β- D - glucan levels (Fungitell assay) is not useful as a screening test for recipients of an allogeneic HSCT while on immunoglobulin replacement. *Bone Marrow Transplant*. janv 2012;47(1):151-2.
 101. Bognoux M-E, Angebault C, Paccoud O, Coignard H, Lanternier F, Lortholary O. Impact of intravenous and subcutaneous immunoglobulins on false positivity of galactomannan and β-D-glucan antigenaemia and detection of circulating *Aspergillus fumigatus* DNA. *Clinical Microbiology and Infection*. août 2020;26(8):1101-2.
 102. Pini P, Bettua C, Orsi CF, Venturelli C, Forghieri F, Bigliardi S, et al. Evaluation of serum (1 → 3)-β-d-glucan clinical performance: kinetic assessment, comparison

- with galactomannan and evaluation of confounding factors. *Infection*. 1 avr 2016;44(2):223-33.
103. Ikemura K, Ikegami K, Shimazu T, Yoshioka T, Sugimoto T. False-positive result in Limulus test caused by Limulus amoebocyte lysate-reactive material in immunoglobulin products. *J Clin Microbiol*. sept 1989;27(9):1965-8.
104. Egger M, Prüller F, Raggam R, Divjak MK, Kurath-Koller S, Lackner H, et al. False positive serum levels of (1-3)- β -D-Glucan after infusion of intravenous immunoglobulins and time to normalisation. *J Infect*. févr 2018;76(2):206-10.
105. Metan G, Ağkuş Ç, Buldu H, Koç AN. The interaction between piperacillin/tazobactam and assays for Aspergillus galactomannan and 1,3-beta-d-glucan in patients without risk factors for invasive fungal infections. *Infection*. 1 juin 2010;38(3):217-21.
106. Mennink-Kersten MASH, Warris A, Verweij PE. 1,3- β -D-Glucan in Patients Receiving Intravenous Amoxicillin–Clavulanic Acid. *N Engl J Med*. 29 juin 2006;354(26):2834-5.
107. Metan G, Agkus C, Koc AN, Elmali F, Finkelman MA. Does ampicillin-sulbactam cause false positivity of (1,3)-beta-D-glucan assay? A prospective evaluation of 15 patients without invasive fungal infections*. *Mycoses*. 2012;55(4):366-71.
108. Ito S, Ashizawa M, Sasaki R, Ikeda T, Toda Y, Mashima K, et al. False-positive elevation of 1,3-beta-D-glucan caused by continuous administration of penicillin G. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 1 oct 2018;24(10):812-4.
109. Sulahian A, Porcher R, Bergeron A, Touratier S, Raffoux E, Menotti J, et al. Use and Limits of (1-3)- β -d-Glucan Assay (Fungitell), Compared to Galactomannan Determination (Platelia Aspergillus), for Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol*. juill 2014;52(7):2328-33.
110. Liss B, Cornely OA, Hoffmann D, Dimitriou V, Wisplinghoff H. 1,3- β -d-Glucan contamination of common antimicrobials: Table 1. *J Antimicrob Chemother*. avr 2016;71(4):913-5.
111. Marty FM, Lowry CM, Lempitski SJ, Kubiak DW, Finkelman MA, Baden LR. Reactivity of (1 \rightarrow 3)- β -d-Glucan Assay with Commonly Used Intravenous Antimicrobials. *AAC*. oct 2006;50(10):3450-3.
112. Hachem R, Kontoyiannis D, Chemaly R, Jiang Y, Reitzel R, Raad I. Utility of Galactomannan Enzyme Immunoassay and (1,3) β -d-Glucan in Diagnosis of Invasive Fungal Infections: Low Sensitivity for Aspergillus fumigatus Infection in Hematologic Malignancy Patients. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 jan 2009;47(1):129-33.
113. Hammarström H, Kondori N, Friman V, Wennerås C. How to interpret serum levels of beta-glucan for the diagnosis of invasive fungal infections in adult high-risk hematology patients: optimal cut-off levels and confounding factors. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1 mai 2015;34(5):917-25.

114. Usami M, Ohata A, Horiuchi T, Nagasawa K, Wakabayashi T, Tanaka S. Positive (1→3)-β-D-glucan in blood components and release of (1→3)-β-D-glucan from depth-type membrane filters for blood processing. *Transfusion*. sept 2002;42(9):1189-95.
115. Ohata A, Usami M, Horiuchi T, Nagasawa K, Kinoshita K. Release of (1→3)-beta-D-glucan from depth-type membrane filters and their in vitro effects on proinflammatory cytokine production. *Artif Organs*. août 2003;27(8):728-35.
116. Nagasawa K, Yano T, Kitabayashi G, Morimoto H, Yamada Y, Ohata A, et al. Experimental proof of contamination of blood components by (1→3)-β-D-glucan caused by filtration with cellulose filters in the manufacturing process. :6.
117. Goudjil S, Chazal C, Moreau F, Leke A, Kongolo G, Chouaki T. Blood product transfusions are associated with an increase in serum (1-3)-beta-d-glucan in infants during the initial hospitalization in neonatal intensive care unit (NICU). *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 18 avr 2017;30(8):933-7.
118. Nakae H, Tomida K, Kikuya Y, Okuyama M, Igarashi T. Comparison of quality of human serum albumin preparations in two pharmaceutical products. *Acute Med Surg*. 1 mars 2017;4(3):251-4.
119. Lo Cascio G, Koncan R, Stringari G, Russo A, Azzini A, Ugolini A, et al. Interference of confounding factors on the use of (1,3)-beta-D-glucan in the diagnosis of invasive candidiasis in the intensive care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1 févr 2015;34(2):357-65.
120. Koo S, Bryar JM, Page JH, Baden LR, Marty FM. Diagnostic performance of the (1→3)-beta-D-glucan assay for invasive fungal disease. *Clin Infect Dis*. 1 déc 2009;49(11):1650-9.
121. Liss B, Cornely OA, Hoffmann D, Dimitriou V, Wisplinghoff H. 1,3-β-D-glucan concentrations in blood products predict false positive post-transfusion results. *Mycoses*. janv 2016;59(1):39-42.
122. Akramiene D, Kondrotas A, Didziapetriene J, Kevelaitis E. Effects of beta-glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)*. 2007;43(8):597-606.
123. Xiang D, Sharma VR, Freter CE, Yan J. Anti-Tumor Monoclonal Antibodies in Conjunction with β-Glucans: A Novel Anti- Cancer Immunotherapy. *CMC*. 1 sept 2012;19(25):4298-305.
124. Hong F, Yan J, Baran JT, Allendorf DJ, Hansen RD, Ostroff GR, et al. Mechanism by which orally administered beta-1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *J Immunol*. 15 juill 2004;173(2):797-806.
125. Geller A, Shrestha R, Yan J. Yeast-Derived β-Glucan in Cancer: Novel Uses of a Traditional Therapeutic. *Int J Mol Sci*. 24 juill 2019;20(15):E3618.
126. Tokuyasu H, Takeda K, Kawasaki Y, Sakaguchi Y, Isowa N, Shimizu E, et al. High plasma concentration of beta-D-glucan after administration of sizofiran for cervical cancer. *Int J Gen Med*. 5 oct 2010;3:273-7.

127. Ishizuka Y, Tsukada H, Gejyo F. Interference of (1 → 3)-beta-D-glucan administration in the measurement of plasma (1 → 3)-beta-D-glucan. *Intern Med.* févr 2004;43(2):97-101.
128. Iossifova Y, Reponen T, Sucharew H, Succop P, Vesper S. Use of (1-3)-β-d-glucan concentrations in dust as a surrogate method for estimating specific fungal exposures. *Indoor Air.* juin 2008;18(3):225-32.
129. Associates of cape code incorporated. Test Fungitell . 2020. Disponible sur: https://www.fungitell.com/pdfs/Fungitell_multilang_pisheets/Fungitell%20Insert%20FR.pdf
130. Nadji S, Tinez C, Da Costa C, Favart B, Damiani C, Totet A. Impact de l'aspect du sérum sur le dosage du β (1,3)-D-glucane. *Journal de Mycologie Médicale.* sept 2017;27(3):e39-40.
131. Parsons SK, Skapek SX, Neufeld EJ, Kuhlman C, Young ML, Donnelly M, et al. Asparaginase-Associated Lipid Abnormalities in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood.* 15 mars 1997;89(6):1886-95.
132. Issa NC, Koo S, Lynch RC, Gay C, Hammond SP, Baden LR, et al. Serum Galactomannan and (1→3)-β-d-Glucan Assays for Patients with Multiple Myeloma and Waldenstrom's Macroglobulinemia. *J Clin Microbiol.* mars 2012;50(3):1054-6.
133. Sendid B, Francois N, Decool V, Poissy J, Poulain D. Strategy for overcoming serum interferences in detection of serum (1,3)-β-D-glucans. *J Clin Microbiol.* janv 2013;51(1):375-6.
134. Ouyang J, Isnard S, Lin J, Fombuena B, Chatterjee D, Wiche Salinas TR, et al. Daily variations of gut microbial translocation markers in ART-treated HIV-infected people. *AIDS Res Ther.* déc 2020;17(1):15.
135. Bengmark S, Jeppsson B. Gastrointestinal surface protection and mucosa reconditioning. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* oct 1995;19(5):410-5.
136. Ellis M. Preventing microbial translocation in haematological malignancy. *British Journal of Haematology.* 2004;125(3):282-93.
137. Giacobbe DR, Del Bono V, Viscoli C, Mikulska M. Use of 1,3-β-D-glucan in invasive fungal diseases in hematology patients. *Expert Review of Anti-infective Therapy.* 2 déc 2017;15(12):1101-12.
138. Kedzierska A. (1→3)-B-D-Glucan : A New Marker for the Early Serodiagnosis of Deep-seated Fungal Infections in Human. *Polish Journal of Microbiology.* 2007;
139. Ellis M, al-Ramadi B, Finkelman M, Hedstrom U, Kristensen J, Ali-Zadeh H, et al. Assessment of the clinical utility of serial β-d-glucan concentrations in patients with persistent neutropenic fever. *Journal of Medical Microbiology.* 1 mars 2008;57(3):287-95.
140. Racil Z, Kocmanova I, Lengerova M, Weinbergerova B, Buresova L, Toskova M, et al. Difficulties in using 1,3-β-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological

- malignancies--high frequency of false-positive results and their analysis. *J Med Microbiol.* sept 2010;59(Pt 9):1016-22.
141. Guitard J, Tabone M-D, Senghor Y, Cros C, Moissenet D, Markowicz K, et al. Detection of β -D-glucan for the diagnosis of invasive fungal infection in children with hematological malignancy. *Journal of Infection.* déc 2016;73(6):607-15.
 142. Prattes J, Raggam RB, Vanstraelen K, Rabensteiner J, Hoegenauer C, Krause R, et al. Chemotherapy-Induced Intestinal Mucosal Barrier Damage: a Cause of Falsely Elevated Serum 1,3-Beta-d-Glucan Levels? *Journal of Clinical Microbiology.* 1 mars 2016;54(3):798-801.
 143. Isnard S, Fombuena B, Sadouni M, Lin J, Richard C, Routy B, et al. Circulating β -d-Glucan as a Marker of Subclinical Coronary Plaque in Antiretroviral Therapy-Treated People With Human Immunodeficiency Virus. *Open Forum Infectious Diseases* . 1 juin 2021;8(6).
 144. Dirajlal-Fargo S, El-Kamari V, Weiner L, Shan L, Sattar A, Kulkarni M, et al. Altered Intestinal Permeability and Fungal Translocation in Ugandan Children With Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis.* 23 mai 2020;70(11):2413-22.
 145. Hashimoto N, Mori T, Hashida R, Sakurai M, Koda Y, Toyama T, et al. False-positive serum (1, 3)- β -D-glucan elevation due to intake of seaweed in a hematopoietic stem cell transplant recipient. *Transpl Infect Dis.* avr 2017;19(2).
 146. Spriet I, Desmet S, Willems L, Lagrou K. No interference of the 1,3- β -D-glucan containing nutritional supplement ImunixX with the 1,3- β -D-glucan serum test. *Mycoses.* sept 2011;54(5):e352-353.
 147. Weiss E, Timsit J-F. Management of invasive candidiasis in nonneutropenic ICU patients. *Ther Adv Infect Dis.* oct 2014;2(5-6):105-15.
 148. Pazos C, Pontón J, Palacio AD. Contribution of (1 \rightarrow 3)- β -d-Glucan Chromogenic Assay to Diagnosis and Therapeutic Monitoring of Invasive Aspergillosis in Neutropenic Adult Patients: a Comparison with Serial Screening for Circulating Galactomannan. *Journal of Clinical Microbiology.* 1 janv 2005;43(1):299-305.
 149. Ponton, Del palacio. Influence of Candida Colonization on the (1r3) b-d-Glucan Assay. *CLIN INFECT DIS.* 15 juill 2006;43(2):264-5.
 150. Obayashi T, Kawai T, Yoshida M, Mori T, Goto H, Yasuoka A, et al. Plasma (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *The Lancet.* 7 janv 1995;345(8941):17-20.
 151. Poissy J, Sendid B, Damiens S, Ichi Ishibashi K, François N, Kouv M, et al. Presence of Candida cell wall derived polysaccharides in the sera of intensive care unit patients: relation with candidaemia and Candida colonisation. *Critical Care.* 29 juin 2014;18(3):R135.
 152. Rautemaa V, Green HD, Jones AM, Rautemaa-Richardson R. High level of β -(1,3)-d-glucan antigenaemia in cystic fibrosis in the absence of invasive fungal disease. *Diagn Microbiol Infect Dis.* août 2017;88(4):316-21.

153. Kitsios GD, Kotok D, Yang H, Finkelman MA, Zhang Y, Britton N, et al. Plasma 1,3- β -d-glucan levels predict adverse clinical outcomes in critical illness. *JCI Insight*. 2021;6(14):e141277.
154. Posteraro B, De Pascale G, Tumbarello M, Torelli R, Pennisi MA, Bello G, et al. Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan assay, Candida score, and colonization index. *Crit Care*. 2011;15(5):R249.
155. Ramos JT, Villar S, Bouza E, Bergon-Sendin E, Perez Rivilla A, Collados CT, et al. Performance of a Quantitative PCR-Based Assay and Beta-d-Glucan Detection for Diagnosis of Invasive Candidiasis in Very-Low-Birth-Weight Preterm Neonatal Patients (CANDINEO Study). *J Clin Microbiol*. sept 2017;55(9):2752-64.
156. Goudjil S, Kongolo G, Dusol L, Imestouren F, Cornu M, Leke A, et al. (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan levels in candidiasis infections in the critically ill neonate. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 1 janv 2013;26(1):44-8.
157. Suda M, Ohno N, Hashimoto T, Koizumi K, Adachi Y, Yadomae T. Kupffer cells play important roles in the metabolic degradation of a soluble anti-tumor (1 \rightarrow 3)- β -d-glucan, SSG, in mice. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. sept 1996;15(2-3):93-100.
158. Sanada Y, Mizuta K, Urahashi T, Ihara Y, Wakiya T, Okada N, et al. The efficacy of measurement of the serum beta-D glucan in the patients with biliary atresia. *Pediatr Surg Int*. oct 2012;28(10):993-6.
159. Kimura Y, Nakao A, Tamura H, Tanaka S, Takagi H. Clinical and experimental studies of the limulus test after digestive surgery. *Surg Today*. 1995;25(9):790-4.
160. Pinto JM, Sultan R, Dawis MAC. False-positive (1,3) β -D-glucan assay in a patient with intracranial germinoma. *Pediatr Infect Dis J*. juin 2015;34(6):676-7.
161. Bamba, Nagano, Moro. Efficacy of the new β -D-glucan measurement kit for diagnosing invasive fungal infections, as compared with that of four conventional kits. 2021.
162. Shimoyama K, Kan S, Takahashi G, Morino G, Yamada Y, Inoue Y, et al. Basic Verification of β -D Glucan in Leukocyte-Rich Plasma for the Diagnosis of Deep Mycosis. *Infect Chemother*. mars 2021;53(1):75-83.
163. Dichtl K, Seybold U, Wagener J. Evaluation of a Turbidimetric β -d-Glucan Test for Detection of *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *J Clin Microbiol*. 25 juin 2018;56(7):e00286-18.
164. Cento V, Alteri C, Mancini V, Gatti M, Lepera V, Mazza E, et al. Quantification of 1,3- β -d-glucan by Wako β -glucan assay for rapid exclusion of invasive fungal infections in critical patients: A diagnostic test accuracy study. *Mycoses*. 2020;63(12):1299-310.
165. Senn L, Robinson JO, Schmidt S, Knaup M, Asahi N, Satomura S, et al. 1,3- -D-Glucan Antigenemia for Early Diagnosis of Invasive Fungal Infections in

Neutropenic Patients with Acute Leukemia. *Clinical Infectious Diseases*. 15 mars 2008;46(6):878-85.

166. TECOmedical Group. TECO® Fungus (1-3)- β -D-Glucan Assay . Disponible sur: https://www.tecomedical.com/download-file?file_id=4348&file_code=3c0b93807f
167. Finkelman MA. Specificity Influences in (1 \rightarrow 3)- β -d-Glucan-Supported Diagnosis of Invasive Fungal Disease. *J Fungi (Basel)* . 29 déc 2020;7(1).
168. Angebault C, Lanternier F, Dalle F, Schrimpf C, Roupie A-L, Dupuis A, et al. Prospective Evaluation of Serum β -Glucan Testing in Patients With Probable or Proven Fungal Diseases. *Open Forum Infectious Diseases* . 1 mai 2016;3(ofw128).
169. Jaijakul S, Vazquez JA, Swanson RN, Ostrosky-Zeichner L. (1,3)- β -D-glucan as a prognostic marker of treatment response in invasive candidiasis. *Clin Infect Dis*. août 2012;55(4):521-6.
170. Koo S, Baden LR, Marty FM. Post-diagnostic kinetics of the (1 \rightarrow 3)- β -D-glucan assay in invasive aspergillosis, invasive candidiasis and *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. *Clin Microbiol Infect*. mai 2012;18(5):E122-127.
171. Adachi Y, Nakata H, Tanabe T, Yamanaka D, Kanno T, Ishibashi K, et al. Development of a Highly Sensitive β -Glucan Detection System Using Scanning Single-Molecule Counting Method. *Int J Mol Sci*. 1 juin 2021;22(11):5977.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2020/2021

Nom : DAMBRE

Prénom : Alice

Titre de la thèse : Les facteurs confondants des $\beta - (1,3) - D -$ glucanes, un marqueur sérique « panfongique » d'interprétation délicate.

Mots-clés : $\beta - (1,3) - D -$ glucanes, biomarqueur sérique, infection fongique invasive, facteurs confondants, réactions croisées

Résumé.

L'incidence des infections fongiques invasives (IFI) augmente, alors que leur mortalité reste élevée. Un diagnostic rapide est essentiel pour permettre un traitement précoce et adapté. Les tests diagnostiques issus de la mycologie conventionnelle manquent de sensibilité. Les tests PCR et de détection de biomarqueurs fongiques sont rapidement devenus complémentaires. Les résultats des tests de détection des $\beta - (1,3) - D -$ glucanes (BDG), marqueur sérique « panfongique », sont d'interprétation délicate. La valeur prédictive négative >95% est son principal avantage. Il existe cinq tests pour la détection des BDG à l'origine de nombreux facteurs confondants entraînant des faux positifs. L'objectif de ce travail était d'établir une revue de ces différents facteurs et des mécanismes en cause. Les bactériémies, des facteurs associés aux soins impliquant du matériel composé de cellulose, de nombreux produits à visée thérapeutique (antibiotiques, immunoglobulines, produits sanguins, L-asparaginase, anticorps monoclonaux, adjuvants anti-cancéreux), des interférences analytiques, une perte d'intégrité intestinale sont principalement incriminés, certains sont controversés. Des améliorations ont été apportées par les industriels, dans le choix des matériaux, afin de limiter le risque de faux positifs. Le laboratoire a aussi un rôle à jouer dans la validation des résultats de BDG avant d'envisager une interprétation clinique. L'interprétation des résultats, en lien avec le contexte clinique, doit être le fruit d'un dialogue clinico-biologique pendant lequel les facteurs confondants doivent être recherchés, la répétition des dosages permet généralement d'éliminer un faux positif. Une méthode alternative de détection des BDG plus spécifique serait bienvenue.

Membres du jury :

Président : Pr DUPONT Annabelle, Faculté de Pharmacie de Lille, CHU de Lille

Assesseurs : Pr SENDID Boualem, Faculté de Médecine de Lille, CHU de Lille

Dr ROUZE Anahita, CHU de Lille.

Directeur de thèse : Dr CORNU Marjorie, Faculté de Médecine de Lille, CHU de Lille