

**THÈSE
POUR LE DIPLOME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenu publiquement le 17 juin 2022
Par Mme LESUEUR Amélie**

**BILAN DE L'UTILISATION DU PANEL T2CANDIDA DANS LE DÉPISTAGE
DES CANDIDOSES INVASIVES**

Membres du jury :

Présidente : Madame le Docteur CHABÉ Magali, MCU, Faculté de Pharmacie Lille

Directeur : Monsieur le Professeur SENDID Boualem, PU-PH, CHU de Lille

Assesseurs : Monsieur le Professeur POISSY Julien, PU-PH, CHU de Lille
Monsieur le Docteur DEHECQ Eric, MCU-PH, CH St Philibert

Faculté de Pharmacie de Lille
3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Christel BEAUCOURT
Olivier COLOT
Kathleen O'CONNOR
Jérôme FONCEL
Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen
Premier Vice-Doyen
Vice-Doyen Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoires-Partenariats
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen International et Communication
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Guillaume PENEL
Éric BOULANGER
Damien CUNY
Sébastien D'HARANCY
Hervé HUBERT
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Claire PINÇON
Vincent SOBANSKI
Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études
Assesseur aux Ressources et Personnels
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté
Responsable des Services
Représentant étudiant

Delphine ALLORGE
Benjamin BERTIN
Stéphanie DELBAERE
Anne GARAT
Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86

M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86

Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86

Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille

03 20 96 40 40

<https://pharmacie.univ-lille.fr>

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

REMERCIEMENTS

À ma Présidente de jury,

Madame le Docteur CHABÉ Magali

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse et d'évaluer mon travail.

Soyez assurée de mon profond respect et de toute ma reconnaissance.

À mes assesseurs,

Monsieur le Professeur POISSY Julien

Vous me faites l'honneur de juger cette thèse.

Je suis sensible à l'attention que vous portez à ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

Monsieur le Docteur DEHECQ Eric

Je vous remercie d'être présent pour juger mon travail.

Vous avez vite compris mon intérêt pour la parasitologie-mycologie lors de mon stage à St Philibert, et en avez profité pour me partager vos connaissances. Je vous en suis très reconnaissante.

À mon directeur de thèse,

Monsieur le Professeur SENDID Boualem,

Je vous remercie pour votre accompagnement dans ce travail. Merci pour votre confiance, vos conseils et vos relectures attentives.

Soyez assuré de mon profond respect et de toute ma reconnaissance.

À toute l'équipe du service de parasitologie-mycologie du CHU de Lille,

Merci à tous pour l'intégration dans l'équipe. À Pauline et Camille, je vous remercie pour la formation et les réponses que vous m'avez apportées, ainsi que pour votre gentillesse.

À ma famille,

À **Maman**, pour ta grande patience, ton écoute et ta bienveillance. Merci pour tout ce que tu m'as apporté et merci de croire autant en moi.

À **Papou**, pour ton calme, tous tes conseils et encouragements. Merci de m'avoir toujours poussée vers le haut. J'espère te ramener encore quelques bonnes notes !
Merci à vous d'avoir tout fait pour qu'Elodie et moi ne manquions jamais de rien, merci pour votre amour. Vous êtes les meilleurs parents du monde, je vous aime.

À **ma Didichette**, pour m'avoir supportée (difficilement) durant toute mon enfance. Je te remercie également pour tes conseils concernant Word et cette thèse, et pour m'avoir soutenue dans tous les choix que j'ai fait dans ma vie. Merci également à **Kéké** d'être un super beau-frère. Je vous souhaite le meilleur et serait toujours là pour vous et vos bébés.

À **mamie Liliane**, pour avoir toujours été si fière de moi et pour ta grande gentillesse.
À **papi et mamie**, pour votre présence et vos encouragements tout au long de ma vie.
À tous mes **tontons et tatas, cousins et cousines**, qui ont toujours été présents et sur lesquels je sais pouvoir compter.
À **ma Nounou et J-P**, merci pour tout votre amour.

À mes amis,

À ma **Jeannette**, pour ces apéros, ces soirées, ces week-ends. Je te remercie d'avoir toujours été là pour moi et de m'avoir écoutée à toute heure. Je te souhaite le meilleur, tu le mérites.

À **Léa**, pour tout ce qu'on a partagé pendant la fac et pendant les préparations de ce sacré concours ! Merci de m'avoir toujours épaulée durant ces dures années de travail. Merci de croire en moi, tu sais que c'est réciproque.

À **Estelle**, également pour toutes ses années de fac et de travail partagées ensemble. Merci pour ton calme et ta gentillesse infinie, merci de m'avoir fait découvrir le gâteau de Savoie ! Merci d'être là.

À tous les copains de la fac et aux Picards : merci de faire encore partie de ma vie et de continuer à me faire rire et à être là pour moi.

À ceux rencontrés au cours de mon internat,

À ma **Ryry**, merci d'être là, de m'avoir tant appris (au travail et dans la vie) et de m'avoir aidée à survivre à certaines épreuves. C'est quand même moins fun les stages sans toi, profite de ton beau bureau ! (Hâte d'être au mariage !!!)

Merci aux internes de ma promo : **David** (pour les buenos et la bonne humeur pendant le dernier stage), **Mara** et **Adrien** (promis je serai gentille après la soutenance), **Zoé**, Nicolas, Clément et tous les autres, pour avoir égayé mes stages et pour tous les apéros et soirées partagées ensemble.

Merci aux amigos que j'ai pu croiser : **Micka**, **Ambroise**, **Clara** et **Alice**, j'aurais aimé vous connaître plus tôt !

Aux co-internes du 3^e : **Ibtissem** (merci pour tes relectures et tes encouragements), Alexandre et les ptits jeunes de la bactério, pour m'avoir aidée à affronter cette année difficile.

À ma **Dodo**, **Jasmine** et l'équipe de St Philibert : Alan et Julien, merci pour toutes ses parties de tarot, votre gentillesse et votre patience avec moi. Merci pour ce stage.

À **Caro**, pour l'encadrement en stage et surtout pour ton amitié, je te souhaite le meilleur.

À **toute l'équipe du laboratoire de Valenciennes**. Merci à Maxime, Tristan, Sophie, Joséphine, à tous les techniciens et aux autres. Merci pour tout, votre accueil et votre bienveillance, merci de m'avoir conforté dans mon choix pour la microbiologie. Un grand merci à **Edith**, pour tout ce que vous m'avez apporté durant ces deux stages, vous êtes un modèle pour moi.

À **Jean-Marc** et **Taieb Chouaki**, pour m'avoir formée et transmis votre passion pour la mycologie.

À mes relecteurs et à tous ceux présents aujourd'hui, un grand merci.

Et enfin, merci à **mon Babou**. Merci d'être là pour moi, de me supporter et de m'aimer tous les jours (ou presque). Je te remercie de toujours écouter mes histoires et de t'en souvenir, de toujours me soutenir. Merci d'avoir cédé à mon caprice pour Louminoute et de l'aimer autant que moi. J'ai hâte de continuer à avancer dans la vie avec toi, tu es la meilleure personne sur cette planète, t'aime trop.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	11
SOMMAIRE	14
LISTE DES ABBREVIATIONS	16
INDEX DES FIGURES	18
INDEX DES TABLEAUX	19
INTRODUCTION	21
I. Généralités sur les candidoses invasives	22
1. Agent pathogène	22
a) Le genre <i>Candida</i>	22
b) Structure	22
c) Les différentes espèces de <i>Candida</i> : habitat et pathogénie	23
2. Les infections à <i>Candida</i>	25
a) Physiopathologie des candidoses	25
b) Facteurs de risque d'infection invasive à <i>Candida</i>	27
c) Epidémiologie	29
3. Diagnostic des candidoses invasives	38
a) Imagerie	38
b) Histologie	39
c) Mycologie conventionnelle	39
d) Techniques d'identification	41
PNA-FISH : Peptide Nucleic Acids - Fluorescence In Situ Hybridation	41
Spectrométrie de masse MALDI-ToF	41
Biologie moléculaire	43
e) Techniques alternatives à la culture	46
i. Recherche d'antigènes et d'anticorps dans le sang	46
(1,3)- β -D glucane	46
Antigène mannane et anticorps anti-mannane	47
Anticorps anti-mycélium ou anti-tube germinal (CAGTA)	48
Détection du tréhalose sérique par spectrométrie de masse MALDI-ToF	48
ii. Approches moléculaires	50
PCR	50
T2MR	53
f) Critères diagnostiques	53
II. Objectif et méthode de recueil	55

III. T2MR et panel T2Candida	56
1. Principe	56
a) Automate T2Dx et résonnance magnétique T2.....	56
b) Le panel T2Candida	57
c) Le panel T2Cauris	60
2. Revue de la bibliographie sur l'utilisation du panel T2Candida dans les candidoses invasives	61
a) Etudes précliniques : comparaison du T2C aux hémocultures	61
b) Performances cliniques du T2C	63
i. Candidémies	63
ii. Candidoses profondes	67
iii. Cas pédiatriques	71
c) T2C et prélèvements autres que sanguins	74
i. Dialysats péritonéaux.....	74
ii. Prélèvements oculaires et liquide céphalo-rachidien (LCR)	74
d) T2C et durée de traitement antifongique	75
e) Aspects économiques	78
DISCUSSION	80
CONCLUSION.....	85
ANNEXE.....	86
BIBLIOGRAPHIE.....	87

LISTE DES ABBREVIATIONS

A-Mn : anticorps anti-mannane

Ac : anticorps

Ag : antigène

ATB : antibiotique

ATF : antifongique

BDG : (1,3)- β -D glucanes

CAGTA : *Candida albicans* germ tube antibody

CE : conformité européenne

CHU : centre hospitalier universitaire

CI : candidose invasive

CIA : candidose intra-abdominale

CVC : cathéters veineux centraux

ECMM : European Confederation of Medical Mycology

EORTC/MSG : European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

ESCMID : European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases

ESICM : European Society of Intensive Care Medicine

FDA : Food and Drug Administration

HC : hémoculture

HES : hémateïne-éosine-safran

IC₉₅ : intervalle de confiance à 95%

IDSA : Infectious Diseases Society of America

IFI : infection fongique invasive

IRM : imagerie par résonance magnétique

ITS : internal transcribed spacer

MALDI-TOF : matrix assisted laser desorption ionization – time of flight

Mn : antigène mannane

MO : moelle osseuse

MS : spectrométrie de masse
NA : non applicable
PCR : réaction de polymérisation en chaîne
Se : sensibilité
Sp : spécificité
SSD : sensibilité dose-dépendante
T2C : panel T2Candida
T2MR : résonance magnétique T2
TEP : tomographie par émission de positons
TDM : tomodensitométrie
UFC : unité formant colonie
USI : unité de soins intensifs
VIH : virus de l'immunodéficience humaine
VPN : valeur prédictive négative
VPP : valeur prédictive positive
VVC : voie veineuse centrale

INDEX DES FIGURES

Figure 1. Différentes formes de <i>C. albicans</i> observées au microscope optique (8).	22
Figure 2. Structure de la paroi fongique de <i>C. albicans</i> (10).	23
Figure 3. Représentation des différentes étapes de l'invasion tissulaire de <i>Candida</i> (10).	26
Figure 4. Incidences des CI en épisodes pour 1000 admissions en USI dans différents pays européens (39).	30
Figure 5. Distribution des espèces de <i>Candida</i> à l'origine de candidémies selon les différents pays de l'UE (48).	32
Figure 6. Distribution des espèces de <i>Candida</i> en fonction des pathologies sous-jacentes/soins médicaux (48).	33
Figure 7. Répartition (en %) des espèces de <i>Candida</i> selon l'âge des patients (48).	33
Figure 8. Image d'échographie typique en « œil de bœuf » avec un halo périphérique hypoéchogène entourant un noyau central hyperéchogène (67).	38
Figure 9. Représentation schématique du fonctionnement d'un spectromètre de masse MALDI ToF (74).	42
Figure 10. Représentation schématique des régions primaires (ITS) et secondaires (TEF1 α) du barcoding de l'ADN fongique indiquant les amorces universelles pour leur amplification (90).	44
Figure 11. Représentation schématique de la métagénomique shotgun (94).	45
Figure 12. Spectres obtenus par spectrométrie de masse MALDI-TOF d'un patient candidémique (a) et d'un patient témoin (b). (c) Comparaison de la distribution de l'indice MS-DS dans des sérums de patients candidémiques et de témoins sains (115).	49
Figure 13. Photographie de l'automate T2Dx (CHU de Lille).	56
Figure 14. Les différents panels T2Biosystems disponibles et en étude (140).	57
Figure 15. Représentation schématique de la détection par T2MR (144,147).	59
Figure 16. Pipetage direct de sang total dans la cartouche T2Candida (141).	71
Figure 17. Chronologie du diagnostic et de la disparition de la candidémie du cas au regard des résultats des hémocultures et des T2C (170).	77

INDEX DES TABLEAUX

Tableau I. Principales espèces de <i>Candida</i> en pathologie humaine : habitat, pathologies et particularités associées (12–14).	24
Tableau II. Evaluation des patients à risque de CI selon les différents scores et indication à un traitement antifongique empirique précoce (26,31).	28
Tableau III. Incidences en nombre de cas pour 100 000 personnes par an, des candidémies selon différents pays d'Europe (37).	29
Tableau IV. Distribution des espèces d'isolats de <i>Candida</i> en fonction des années et des régions (43).	31
Tableau V. Candidémies en France métropolitaine, 2001-2010 : taux d'incidence pour 100 000 habitants, proportion d'hommes et létalité (%) par groupe d'âge (50).	34
Tableau VI. Mortalités estimées des candidémies en fonction des espèces de <i>Candida</i> (49).	37
Tableau VII. Résultats de l'étude de Mery <i>et al.</i> concernant l'utilisation du tréhalose, du BDG et du Mn lors du diagnostic de CI (116).	49
Tableau VIII. Listes des tests PCR commerciaux disponibles pour la détection de <i>Candida</i> spp. (7,122–125,129–131).	50
Tableau IX. Tests moléculaires disponibles selon la matrice utilisée pour le diagnostic des CI (7,122–125,129–131).	52
Tableau X. Performances des tests utilisés pour le diagnostic des CI.	54
Tableau XI. Spectre d'activité des agents antifongiques sur les espèces détectées par le T2C (148,149).	59
Tableau XII. Résultats de l'étude de Beyda <i>et al.</i> (154).	61
Tableau XIII. Délai de détection de <i>Candida</i> spp. du système d'hémoculture BACTEC 9050 et du T2C (154).	62
Tableau XIV. Résumé des résultats de performance du T2C par rapport aux hémocultures (5).	64
Tableau XV. VPP et VPN du T2C selon la prévalence des candidémies, en considérant une sensibilité/spécificité du T2C de 91%/98,1% (5).	64
Tableau XVI. Détection de CI et candidémies par le T2C (158).	67
Tableau XVII. Critères permettant le classement des patients en CIA prouvée et CIA probable (140).	68
Tableau XVIII. Performances de la T2C lors de l'étude Krifors <i>et al.</i> (140).	69
Tableau XIX. Performances du T2C, du Mn et de l'association T2C/Mn (143).	73
Tableau XX. Résultats de l'étude publiée par Munoz <i>et al.</i> (171).	77

INTRODUCTION

Les candidoses invasives (CI) représentent un défi médical de par leur mortalité importante en France et dans le monde. L'augmentation de la population immunodéprimée (expansion des immunothérapies, chimiothérapies anticancéreuses...), ainsi que l'augmentation des interventions chirurgicales invasives contribuent à une croissance de l'incidence de ces infections, qui ont encore aujourd'hui une mortalité de l'ordre de 30 à 50% selon les études (1,2).

Dans ce contexte, l'identification rapide et fiable des patients à haut risque de CI reste un enjeu majeur. Les systèmes d'hémoculture sont toujours considérés comme le gold-standard du dépistage des candidémies, bien que très peu sensibles ($\approx 50\%$) et de positivité tardive (3,4). Parmi les nouvelles méthodes de diagnostic rapide non basées sur la culture, le dosage de (1,3)- β -D glucanes (BDG), et celui des mannanes (Mn) et des anticorps anti-mannanes (A-Mn), constituent une approche pertinente pour identifier les patients justifiant d'une prise en charge thérapeutique, en vue d'améliorer leur pronostic vital.

Le panel T2Candida (T2C), outil de dépistage rapide non basé sur la culture approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) américaine en 2014, est une technique qui combine une approche de biologie moléculaire et une approche de biophysique fondée sur la résonance magnétique. Il permet la détection dans le sang périphérique et en moins de 5 heures, des 5 principales espèces de *Candida* impliquées en pathologie humaine : *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* ainsi que *C. tropicalis* (5). L'objectif de cette thèse est de faire une revue de la littérature sur les applications de cette méthode pour le diagnostic des candidémies et des CI depuis sa commercialisation.

I. Généralités sur les candidoses invasives

1. Agent pathogène

a) Le genre *Candida*

Les CI sont des infections fongiques invasives (IFI) déterminées par des levures du genre *Candida*. Ce dernier appartient au phylum des Ascomycètes, de la classe des Saccharomycètes, et il rassemble plus de 200 espèces différentes dont une vingtaine connues en pathologie humaine (6). Parmi elles, 5 espèces de *Candida* sont à l'origine d'environ 95% des infections hospitalières : *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* et *C. krusei* (7).

b) Structure

Les levures du genre *Candida* sont des organismes eucaryotes possédant un appareil végétatif (thalle) composé de blastoconidies. La forme levure, également appelée blastospore, est une structure unicellulaire, de forme ronde ou ovoïde de taille variable (2 à 12 μm). Elle se multiplie par simple bourgeonnement. Cette forme est associée à un état commensal de *Candida*. Deux formes filamenteuses peuvent aussi être observées : le pseudo-mycélium et le mycélium vrai, ce dernier visible uniquement pour quelques espèces dont *C. albicans* et *C. dubliniensis*. Ces formes sont retrouvées de façon importante dans les situations d'infections. La capacité de *C. albicans* à former du mycélium participe à sa virulence (8).

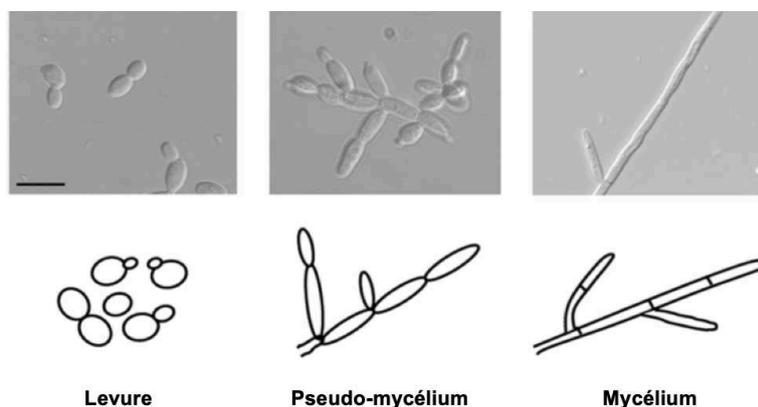


Figure 1. Différentes formes de *C. albicans* observées au microscope optique (8).

La paroi cellulaire des levures, élément structural possédant des propriétés biologiques diverses, participe à la virulence du pathogène (9). Elle correspond à la partie la plus externe de la cellule et est alors la première en contact avec son environnement. La compréhension de sa structure est essentielle pour mettre en place des thérapeutiques et des techniques de dépistage lors d'infections.

Deux principales couches constituent la paroi cellulaire des levures du genre *Candida*. La couche externe est très riche en polymères de mannose (mannane ou phosphopeptidomannane). Ils représentent environ 40% des polysaccharides. La couche interne, contenant les polysaccharides du squelette, la chitine (polymère de N-acétyl-glucosamine) et les β -1,3-glucane et β -1,6-glucane (polymères de glucose) qui, liés par des liaisons glycosidiques, permettent la résistance et la forme de la cellule (2,3).

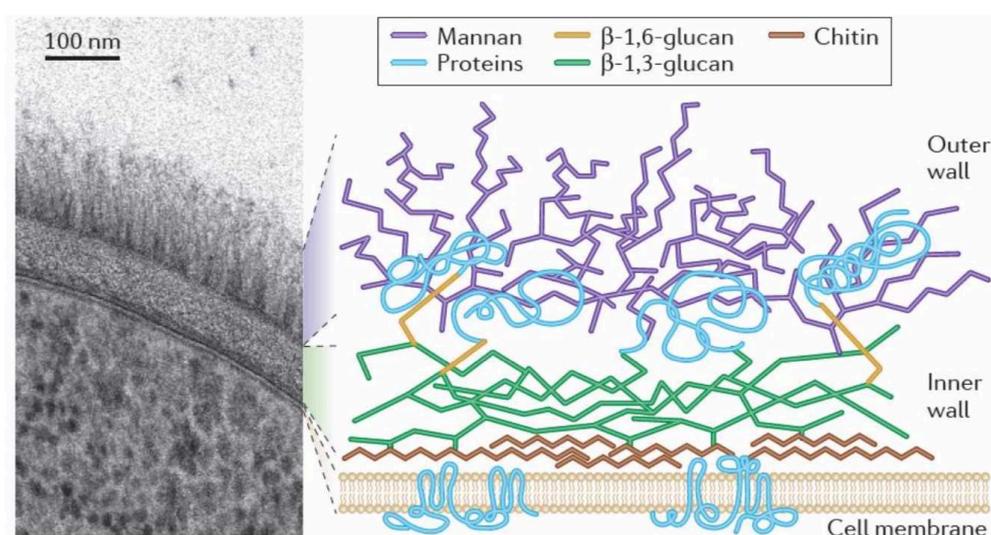


Figure 2. Structure de la paroi fongique de *C. albicans* (10).

c) Les différentes espèces de *Candida* : habitat et pathogénie

Candida est habituellement commensal des muqueuses digestives et génitales chez l'Homme. Cependant, il existe des localisations spécifiques pour certaines espèces, ainsi que des caractéristiques propres (voir Tableau I). Nous pouvons alors prendre pour exemple *C. glabrata*, qui est fréquemment isolé chez les patients âgés ; *C. tropicalis*, souvent associé aux patients neutropéniques dans un contexte onco-

hématologique ; ainsi que *C. parapsilosis*, associé aux infections sur cathéters intraveineux et aux infections du nouveau-né (11).

D'autres espèces, moins fréquentes, sont aussi associées à des pathologies particulières, comme par exemple *C. dubliniensis* et les candidoses oropharyngées des patients séropositifs au VIH, ainsi que *C. lusitaniae*, espèce émergente chez les patients immunodéprimés.

Tableau I. Principales espèces de *Candida* en pathologie humaine : habitat, pathologies et particularités associées (12–14).

Espèce	Habitat	Pathologies associées	Particularités
<i>C. albicans</i>	Muqueuses digestive et urogénitale	Candidoses superficielles et invasives	Espèce la plus fréquente en pathologie humaine
<i>C. glabrata</i>	Muqueuses digestive et urogénitale	Candidoses digestives et urinaires, vaginites Candidoses invasives	Sensibilité diminuée aux azolés, échinocandines Patient âgé Cancérologie, chirurgie digestive...
<i>C. parapsilosis</i>	Commensal de la peau /phanères	Lésions cutanées et onyxis Infections liées aux cathéters Endocardite du toxicomane Candidoses invasives	Infections moins sévères Sensibilité diminuée aux échinocandines Enfants/prématurés
<i>C. tropicalis</i>	Muqueuses digestive et urogénitale Saprophyte de l'environnement	Candidoses invasives	Onco-hématologie (neutropéniques et greffés de MO) Espèce virulente
<i>C. krusei</i>	Muqueuses digestive, urogénitale, respiratoire, peau Origine alimentaire	Endophtalmies Candidoses invasives	Résistance naturelle au fluconazole Patients cancéreux neutropéniques

2. Les infections à *Candida*

a) Physiopathologie des candidoses

Les infections à *Candida* sont le plus souvent d'origine endogène, car ces levures sont présentes en faible quantité dans le microbiote humain. Les infections d'origine exogène sont plus rares et surviennent surtout dans un contexte nosocomial par manuportage (infections sur cathéters veineux centraux (CVC), en particulier à *C. parapsilosis*) (15,16).

Dans certaines circonstances impliquant une neutropénie ou une modification de l'environnement (pH, humidité, prise d'antibiotiques diminuant la flore bactérienne), ces levures vont coloniser les différentes muqueuses (vaginales, digestives, buccales...). L'adhésion aux muqueuses et la prolifération tissulaire qui en découlent vont être une étape clé permettant une translocation des levures, notamment de la lumière intestinale vers la circulation sanguine et leur dissémination dans les différents organes (17). L'effraction des barrières muqueuses ou cutanées, notamment lors de gestes chirurgicaux ou de traumatismes, va contribuer à la pathogenèse des CI (11). Certaines espèces de *Candida* possèdent des facteurs de virulence favorisant le développement des candidoses. C'est notamment le cas de *C. albicans* et *C. parapsilosis*, qui ont la capacité de produire du biofilm, participant au développement d'infections sur matériel (CVC, valves cardiaques...). D'autre part, l'angio-invasion est favorisée par la formation de mycélium par *C. albicans*. A noter que la production de biofilm associée à la colonisation de l'espace sous-unguéal et à la capacité de proliférer dans des solutions glucosées de *C. parapsilosis*, vont contribuer à la virulence de cette espèce en milieu hospitalier (18).

Il existe deux types de candidoses. D'une part, les candidoses superficielles, qui comprennent les candidoses cutanées et digestives (oro-pharyngée, œsophagienne et intestinale) ainsi que les vulvo-vaginites à *Candida*.

Et d'autre part, les CI, qui regroupent 3 différentes entités : les candidémies isolées, les candidoses profondes associées à une candidémie (comme par exemple l'endophtalmie, l'endocardite, l'arthrite, ou encore l'ostéomyélite), ainsi que les

candidoses profondes sans candidémie (comme la pyélonéphrite à *Candida* ou la candidose péritonéale). Les candidoses profondes touchent un ou plusieurs organes, comme le péritoine, le cœur, l'œil ; qui sont infectés soit directement, soit secondairement à un passage hématogène (4). Le terme de candidose intra-abdominale (CIA) regroupe principalement les péritonites et les abcès intra-abdominaux à *Candida* (19). Les infections du péritoine liées à *Candida* sont, dans la plupart des cas, des infections plurimicrobiennes liées à une perforation d'un viscère à l'étage sus-mésocolique. Le rôle de *Candida* dans ces pathologies n'est pas simple à identifier, car les bactéries de la flore sont également de potentiels pathogènes à prendre en compte. Seule la présence de levures dans des prélèvements peropératoires a une réelle valeur diagnostique dans ce contexte (20).

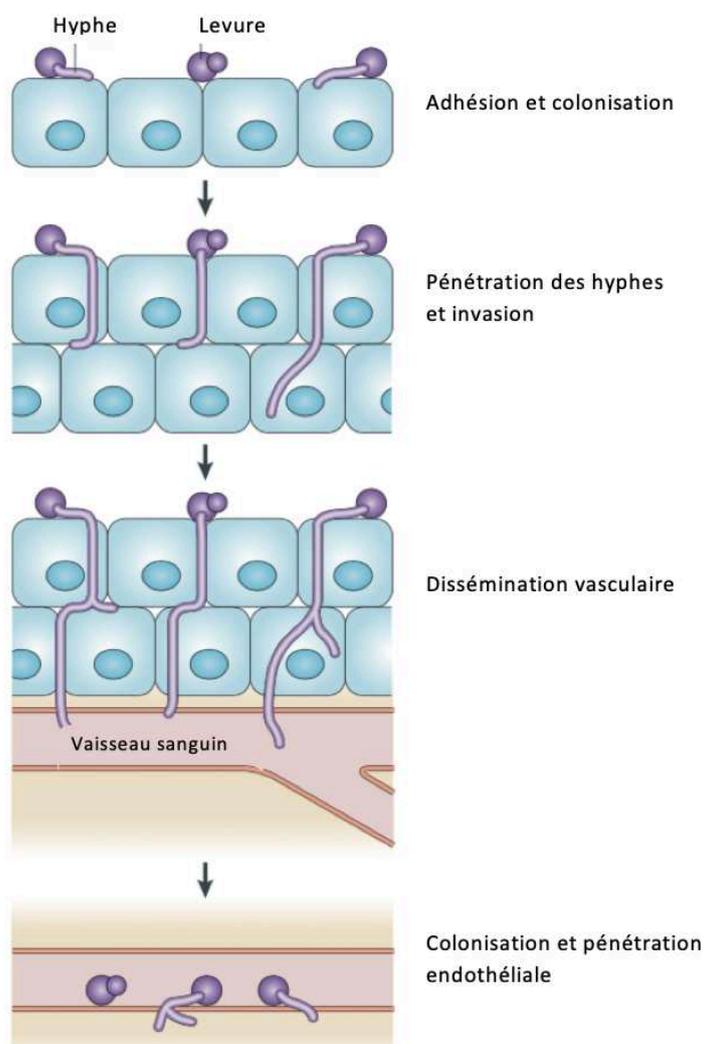


Figure 3. Représentation des différentes étapes de l'invasion tissulaire de *Candida* (10).

b) Facteurs de risque d'infection invasive à *Candida*

Les facteurs de risque d'infection fongique invasive (IFI) et notamment de CI sont désormais bien décrits et nombreux.

Le principal facteur de risque reste la neutropénie, car elle favorise la colonisation de par une baisse de l'immunité innée (21). Cette population ne cesse d'augmenter en raison du développement important des biothérapies immunosuppressives (ibrutinib, tocizumab...), des transplantations et des hospitalisations en soins intensifs (21–23). L'étude NEMIS, portant sur le recueil des différents facteurs de risque de CI (24), a décrit les facteurs suivants : la prise d'antibiotiques (qui déséquilibre la flore microbienne en faveur des levures), l'exposition récente à des triazolés, notamment le fluconazole, qui favorise les infections à espèces naturellement résistantes à cet antifongique (comme *C. glabrata* et *C. krusei*), la présence de CVC, les séjours prolongés en unité de soins intensifs (USI), la chirurgie récente, les âges extrêmes (nouveau-nés et personnes âgées), l'insuffisance rénale, la nutrition parentérale, la ventilation mécanique, les infections à VIH, ainsi que certains terrains particuliers, comme la grossesse et le diabète.

Une étude impliquant plusieurs hôpitaux universitaires suisses et français (25) a identifié les mêmes facteurs de risque chez des patients développant une candidémie en USI et d'autres facteurs de risque plus spécifiques des candidémies : une maladie cardiaque, un choc septique et une exposition aux aminosides. Pour la population hors USI, les facteurs de risque de candidémie comprenaient également l'exposition aux glycopeptides et aux nitroimidazolés.

La candidémie survient le plus souvent chez des patients colonisés ayant plusieurs facteurs de risque, comme une chirurgie majeure, des CVC, ainsi qu'une exposition importante aux antibiotiques, au cours d'un séjour prolongé en USI (26,27).

Ces facteurs de risque sont fréquemment utilisés pour évaluer soit des scores de gravité, soit des scores de probabilité d'une CI, tels que le Candida score proposé par León *et al.* (28). A titre d'exemple, un Candida score de 2,5 permet d'identifier les patients à haut risque de CI avec une sensibilité de 81% et une spécificité de 74%. Il s'est montré utile pour exclure la CI (29).

D'autres scores sont également disponibles (voir Tableau II), mais bien qu'ils aient tous une valeur prédictive négative (VPN) élevée, ils ne permettent pas une sélection des patients atteints de CI. Ils sont donc essentiellement utilisés pour exclure les patients à risque de CI (30).

Tableau II. Evaluation des patients à risque de CI selon les différents scores et indication à un traitement antifongique empirique précoce (26,31).

	Index de colonisation (32)	Score Candida (28)	Modèle de prédiction (33)
Paramètres	Nombre de sites prélevés positifs / nombre total de sites prélevés 2 fois par semaine Seuil : > 0,5 ou ≥ 0,4 si index corrigé	- Chirurgie à l'admission en USI - Nutrition parentérale totale - Colonisation à <i>Candida</i> - Sepsis sévère Seuil : > 2,5 points	Au cours des J1-3 de l'admission en USI : ATB systémique + CVC + ventilation mécanique ≥ 48h + au moins 1 critère parmi les suivants : - Nutrition parentérale totale (J1-3) - Dialyse (J1-3) - Chirurgie importante (dans les 7 jours) - Pancréatite (dans les 7 jours) - Immunosuppression ou stéroïdes (dans les 7 jours)
Patients pour lesquels un ATF est indiqué	10-15%	15-20%	10-15%
Performances	VPP = 66% VPN = 100%	Se = 81% Sp = 74% VPP = 16% VPN = 98%	Se = 50% Sp = 83% VPP = 10% VPN = 97%

c) Epidémiologie

Données internationales

La CI est l'infection fongique invasive la plus fréquente en milieu hospitalier et son incidence dans le monde a progressé de manière significative au cours de la dernière décennie (17). Il s'agit d'une maladie associée au progrès de la médecine moderne (techniques invasives, greffes, biothérapies) qui touche plus de 250 000 personnes et entraîne plus de 50 000 décès dans le monde chaque année (3,23,34). Aux Etats-Unis, les candidémies arrivent au 4^e rang des septicémies dans les USI, soit 10,1% des infections hématogènes (35). La prévalence des CI dans ces unités demeure relativement basse, estimée à hauteur de 1 à 3% des patients (36).

Des inégalités géographiques ont également été constatées en termes d'incidence à travers le monde. En Europe, l'incidence annuelle des candidémies varie de 1,9 pour 100 000 personnes en Finlande, à 11 au Danemark (voir Tableau III) (37), pour un taux d'incidence global évalué récemment à 3,88 pour 100 000 personnes (38). En Amérique du Nord, il varie de 2,8 à 24 pour 100 000 personnes selon les régions.

Tableau III. Incidences, en nombre de cas pour 100 000 personnes par an, des candidémies selon différents pays d'Europe (37).

Pays	Années	Incidence estimée
Finlande	1995-1999	1,9
Norvège	2001-2003	3,0
Islande	1995-1999	4,9
Espagne (Barcelone)	2002-2003	4,9
Danemark	2003-2004	11

Un projet nommé EUCANDICU publié en 2019, a étudié l'incidence des CI en USI dans 9 pays européens (voir Figure 4) (39). L'incidence globale était de 7,07 pour 1000 admissions en USI. Séparément, les incidences étaient de 5,52 pour les candidémies et de 1,84 pour les CIA. Les cas de CI étaient représentés par 65% de candidémies isolées, 29% de CIA isolées et 5% de CIA associées à une candidémie. L'âge médian des patients était de 66 ans et 60% des patients étaient des hommes.

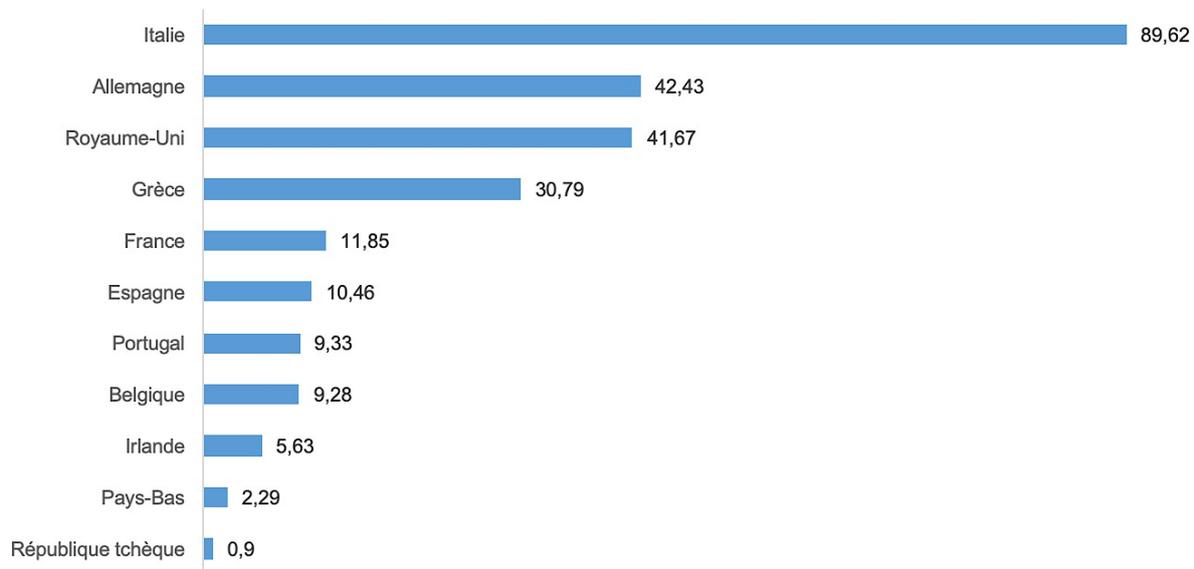


Figure 4. Incidences des CI en épisodes pour 1000 admissions en USI dans différents pays européens (39).

Le recueil des données épidémiologiques des CI demeure fastidieux notamment au regard des difficultés diagnostiques et de l'absence de critères consensuels concernant la définition des niveaux de certitude de l'infection (40). En effet, les données concernant les CI sont souvent estimées majoritairement par la positivité des hémocultures, qui reflètent surtout la prévalence des candidémies. Il est largement reconnu que la candidémie peut être isolée ou le reflet d'une candidose profonde.

Cependant, certaines études rapportent des cas de candidose profonde sans hémoculture positive. Il s'agit notamment du projet EUCANDICU, cité précédemment, et de l'étude menée par M. Nguyen et C. Clancy (41), qui rapporte 53% de CIA avec des hémocultures qui restent constamment négatives.

En réanimation, les patients atteints de CI seraient majoritairement atteints de candidose profonde, qui engendrerait une candidémie secondaire dans plus de 20% des cas (42).

En plus des inégalités géographiques observées en termes d'incidence, la répartition géographique des espèces *Candida* varie selon les populations de patients considérées. Elle est dépendante des habitudes de prescription des antifongiques, de l'écologie locale, des pratiques chirurgicales, et des mesures d'hygiène appliquées dans chaque établissement.

Un programme de surveillance international nommé SENTRY a étudié l'épidémiologie des infections à *Candida* et leurs résistances dans 135 centres médicaux, répartis sur 39 pays (comprenant l'Amérique du Nord, l'Europe, l'Amérique latine et la région Asie-Pacifique) (voir Tableau IV) (43). *C. albicans* était l'espèce majoritaire dans 46,9% des isolats. Elle est suivie de *C. glabrata* avec 18,7%, *C. parapsilosis* avec 15,9%, *C. tropicalis* avec 9,3% et *C. krusei* avec 2,8%. Les autres *Candida* spp. représentaient 6,5% des isolats.

Tableau IV. Distribution des espèces d'isolats de *Candida* en fonction des années et des régions (43).

Période	Nombre d'isolats	C. alb (%)	C. gla (%)	C. par (%)	C. tro (%)	C. kru (%)
1997-2001	5067	57,4	16,0	12,3	9,1	2,5
2006-2008	2647	51,2	15,9	16,8	10,7	2,1
2009-2011	4080	45,3	18,9	17,6	10,0	2,6
2012-2014	4928	46,3	19,3	15,1	8,6	3,2
2015-2016	3653	46,4	19,6	14,4	8,3	2,8
Régions						
Asie-Pacifique	1314	46,0	17,9	12,9	14,1	1,8
Europe	5964	52,5	16,0	15,4	7,5	3,0
Amérique latine	1629	43,9	7,1	24,3	17,0	2,0
Amérique du Nord	6401	42,7	24,3	14,8	8,0	2,9
Total	15 308	46,7	18,7	15,9	9,3	2,8

C. alb = *C. albicans* ; C. gla = *C. glabrata* ; C. par = *C. parapsilosis*, C. tro = *C. tropicalis* et C. kru = *C. krusei*

Cette étude rapporte également une augmentation constante des espèces non-albicans, passant de 42,6% entre 1997 et 2001 à 53,6% entre 2015 et 2016. Il est important de noter qu'en Amérique du Nord, *C. albicans* représente désormais moins de 50% des levures isolées et cette tendance est également observée aujourd'hui dans la plupart des pays industrialisés (44).

C. glabrata se situe en 2^{nde} position dans la plupart des régions du monde, à l'exception de l'Amérique latine et du sud de l'Europe, où *C. parapsilosis* et *C. tropicalis* supplantent *C. glabrata*. Les proportions de *C. tropicalis* et *C. krusei* ont été stables

durant l'étude (44). *C. glabrata*, espèce émergente aux Etats-Unis, en Europe du Nord et centrale, représente jusqu'à 30% des souches isolées d'hémoculture aux Etats-Unis (45). Dans l'étude SENTRY, la proportion de *C. glabrata* est passée de 16 à 19,6% des isolats entre 1997 et 2016. Cette évolution est probablement liée à une exposition répétée aux molécules triazolés (44,46).

Une autre étude, ARTEMIS DISK, impliquant 41 pays, a décrit les mêmes tendances entre les espèces de *Candida*, avec un pourcentage de *C. albicans* d'environ 65% pour les régions Asie-Pacifique, Europe et Afrique/Moyen-Orient, de 52% pour l'Amérique latine et de 49% pour l'Amérique du Nord (47). *C. glabrata* était en seconde position en Amérique du Nord (21,1% des isolats) et en 4^e position en Amérique latine (7,4% des isolats). *C. tropicalis* représente 11,7% des souches isolées en Asie-Pacifique, 13,2% en Amérique latine. Contrairement à l'étude SENTRY, qui rapportait une proportion de 15,4%, *C. parapsilosis* ne représente que 4,2% des isolats obtenus en Europe. Cette étude a également permis de révéler l'émergence des espèces *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. rugosa* et *C. norvegensis*.

Au sein de l'Europe, *C. albicans* reste majoritaire et représente plus de 50% des isolats cliniques, y compris en réanimation (39). En Allemagne et en France, nous retrouvons *C. glabrata* en 2^e position, alors qu'en Europe du Sud, c'est *C. parapsilosis* qui suit *C. albicans* (voir Figure 5) (48).

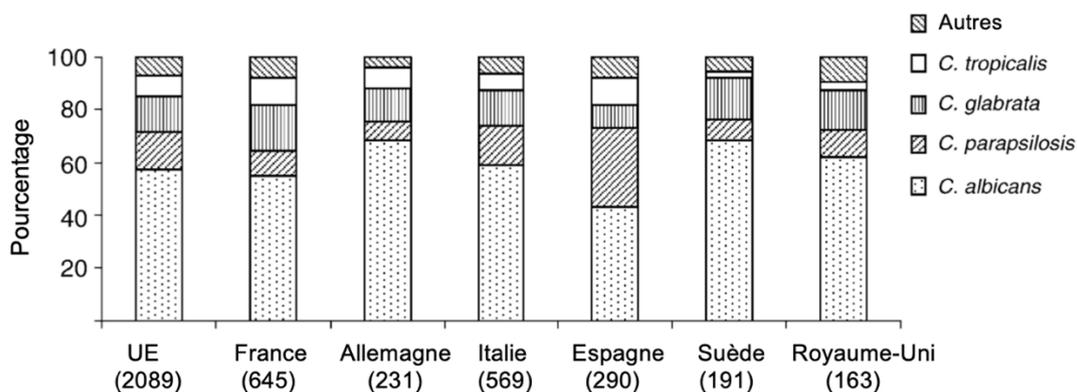


Figure 5. Distribution des espèces de *Candida* à l'origine de candidémies selon les différents pays de l'UE (48).

La répartition des *Candida* varie selon les services et il existe d'importantes différences géographiques mises en évidence grâce aux études épidémiologiques coordonnées par l'ECMM. Une étude multicentrique européenne portant sur 2089 isolats cliniques a mis en évidence des disparités d'incidence au niveau des unités de soins (49). Ainsi en hématologie, *C. albicans* représente 35% des isolats, le reste étant constitué d'espèces non-albicans telles que *C. glabrata* et *C. parapsilosis*. En néonatalogie, la proportion de *C. parapsilosis* est estimée à 30% des souches de levures. La répartition des espèces en fonction des services de soins et de l'âge des patients sont rapportés dans les figures 6 et 7.

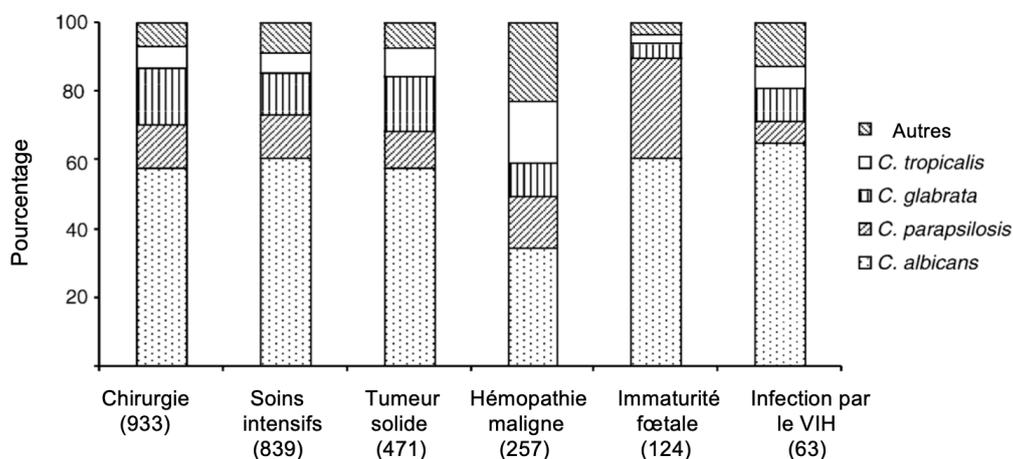


Figure 6. Distribution des espèces de *Candida* en fonction des pathologies sous-jacentes/soins médicaux (48).

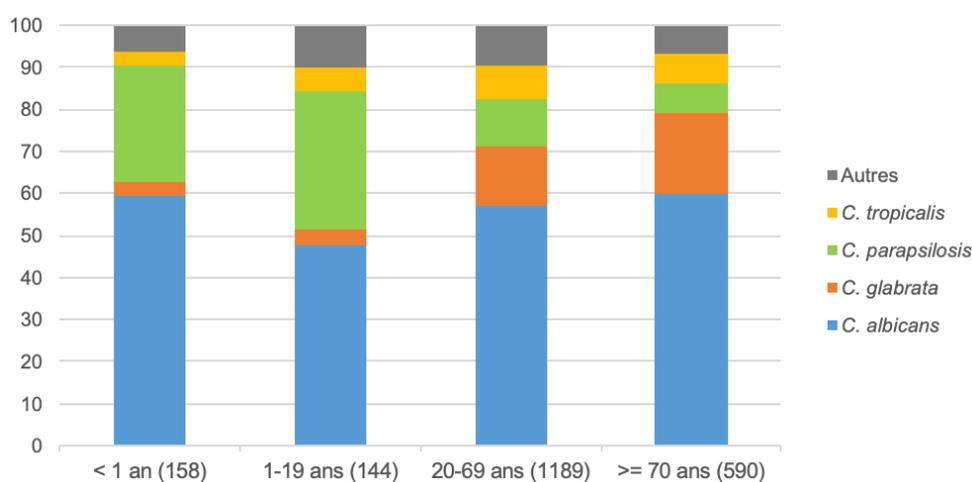


Figure 7. Répartition (en %) des espèces de *Candida* selon l'âge des patients (48).

Données nationales

En France, entre 2001 et 2010, 43,3% des IFI étaient des candidémies (50). L'incidence des CI a été évaluée à 3,45 cas pour 1000 admissions en USI et est en augmentation (51).

Les données recueillies lors de l'étude de Bitar *et al.* sont résumées dans le Tableau V (50). Passé 29 jours de vie, la létalité et l'incidence des candidémies augmentent globalement avec l'âge. Après 70 ans, la mortalité de ces infections avoisine les 50%. La tranche d'âge la plus à risque est celle des 70 à 89 ans en raison de l'immunodéficience et des nombreuses comorbidités acquises chez la personne âgée. Ce recueil montre également que les hommes sont plus représentés que les femmes à tout âge.

Tableau V. Candidémies en France métropolitaine, 2001-2010 : taux d'incidence pour 100 000 habitants, proportion d'hommes et létalité (%) par groupe d'âge (50).

Âge	Incidence (/100 000)	Hommes (%)	Létalité (%)
0-28 jours	2,2	61,5	25
29 jours-9 ans	0,5	59,2	15
10-19 ans	0,3	57,5	18
20-29 ans	0,6	51,8	21
30-39 ans	1,0	58,2	21
40-49 ans	1,7	56,2	32
50-59 ans	3,4	62,0	37
60-69 ans	5,8	64,7	42
70-79 ans	8,1	58,6	47
80-89 ans	8,6	52,0	52
≥ 90 ans	5,3	37,8	50
Total	2,5	58,8	40

Une étude observationnelle, nommée AmarCand 1, réalisée dans 180 services de réanimation intensive en France a évalué l'épidémiologie des candidémies entre 2005 et 2006 (49). L'espèce majoritaire (représentant 57% des levures) était *C. albicans*, suivie par *C. glabrata* (16,7%), *C. parapsilosis* (7,5%), *C. krusei* (5,2%) et *C. tropicalis* (4,9%). Une seconde étude, nommée AmarCand 2, menée dans les services de médecine intensive et réanimation entre 2012 et 2013, a retrouvé une majorité de *C. albicans* (\approx 65%) et de *C. glabrata* (16%) (52).

Une étude rétrospective menée à Grenoble entre 2004 et 2013 renseigne la répartition suivante : 53,1% de *C. albicans*, 16,2% de *C. glabrata*, 7,9% de *C. parapsilosis*, 7,5% de *C. tropicalis* (53). Cette répartition était plutôt stable durant l'étude, avec une légère augmentation de *C. glabrata* contrairement à *C. albicans* qui diminue entre 2010 et 2013.

A Lille, des données différentes ont été observées chez des patients hospitalisés en réanimation entre 2005 et 2010 (54). En effet, les patients candidémiques étaient pour 40,5% infectés par *C. albicans*, pourcentage bien inférieur à celui retrouvé dans les différentes études en France. *C. parapsilosis* était isolé en seconde position avec 23,8%, suivi par *C. glabrata* avec 16,7%.

De manière récente, le réseau RESSIF a décrit l'évolution des IFI en France entre 2012 et 2018 (55). Les fongémies représentaient une IFI sur deux, et leur incidence était en légère augmentation sur la période d'étude (de 1,03 cas/10000 admissions jour à 1,19). Des évolutions concernant les principales pathologies sous-jacentes à ces fongémies ont été observées : une baisse du nombre de patients ayant subi une intervention chirurgicale récente ou ayant séjourné en USI, ainsi qu'une hausse du nombre de patients âgés ou atteints de diabète de type 2.

La distribution des espèces *Candida* était stable dans le temps, avec principalement *C. albicans* (2659 isolats sur 5444, soit 48,8%), *C. glabrata* (16,5%) et *C. parapsilosis* (12,2%), suivis de *C. tropicalis* (7,3%) et *C. krusei* (3%). Les patients atteints d'infection à *Candida* avaient un âge médian de 63,7 ans et étaient majoritairement des hommes (61,8%). Il est cependant important de noter que cette étude a exclu les infections fongiques disséminées secondaires à une intervention chirurgicale, telles que les

abcès ou les péritonites fongiques, ainsi que les infections fongiques ne présentant pas de critères diagnostiques clairs. Les données concernant l'incidence des candidémies et des candidoses invasives sont donc sous-estimées de manière importante dans cette étude.

Concernant les péritonites, la place de *C. albicans* est prépondérante, car isolée dans 58 à 73% des cas dans différentes études françaises (56–58). *C. glabrata* représente entre 15 et 20% des isolats. Ces deux espèces constituent donc jusqu'à plus de 90% des péritonites à *Candida*, ce qui est expliqué par leur présence majoritaire dans la flore microbienne humaine.

Pour ce qui concerne les péritonites compliquées et récidivantes, *C. albicans* représentait 80% des levures isolées dans une étude publiée en 2015 (59).

Ces notions d'écologie fongique locale sont primordiales pour la mise en place des traitements, notamment probabilistes/prophylactiques, chez les patients atteints d'infections à *Candida*.

Données sur la mortalité des infections à *Candida*

Différentes études ont montré que les candidémies étaient à l'origine d'une mortalité significativement plus importante que les bactériémies et qu'elles engendraient des coûts d'hospitalisation élevés, liés aux séjours prolongés dans les services à risque (60). La mortalité à 30 jours des CI en services de soins intensifs et de réanimation varie entre 40 et 60% selon les études (39,51). Concernant les candidémies en France, le réseau RESSIF a décrit des mortalités à 1 mois et à 3 mois stables entre 2012 et 2018 (36,3% et 47,8% respectivement) (55).

Les différences de pronostic varient également en fonction des formes cliniques des candidoses (20). Les candidoses profondes auraient une mortalité moins importante que les candidémies isolées (61,62).

Tableau VI. Mortalités estimées des candidémies en fonction des espèces de *Candida* (49).

Agent infectieux	Mortalité (%)
<i>C. albicans</i>	38,5
<i>C. glabrata</i>	45
<i>C. parapsilosis</i>	25,9
<i>C. tropicalis</i>	41,4

3. Diagnostic des candidoses invasives

Les signes cliniques d'une CI sont non spécifiques et comparables à ceux observés lors d'infections bactériennes ou virales. De ce fait, leur diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques, histologiques et myco-sérologiques. Le diagnostic biologique est fondé sur les méthodes fondées sur la culture (mycologie conventionnelle) ou les méthodes sérologiques.

a) Imagerie

L'imagerie n'est utile que dans de rares cas de CI comme par exemple les atteintes méningées, hépatospléniques, cardiaques ou pulmonaires.

Les trois examens les plus utiles sont l'imagerie à résonance magnétique (IRM), le scanner (63), et plus récemment le TEP-scan (64). Le TEP associé à l'angiographie par TDM du myocarde au ^{18}F -FDG a prouvé son intérêt dans les cas suspects d'endocardite infectieuse et d'infections de dispositifs électroniques cardiaques implantables (65,66). L'échographie peut également être utilisée pour le diagnostic de candidose hépatosplénique (voir Figure 8).

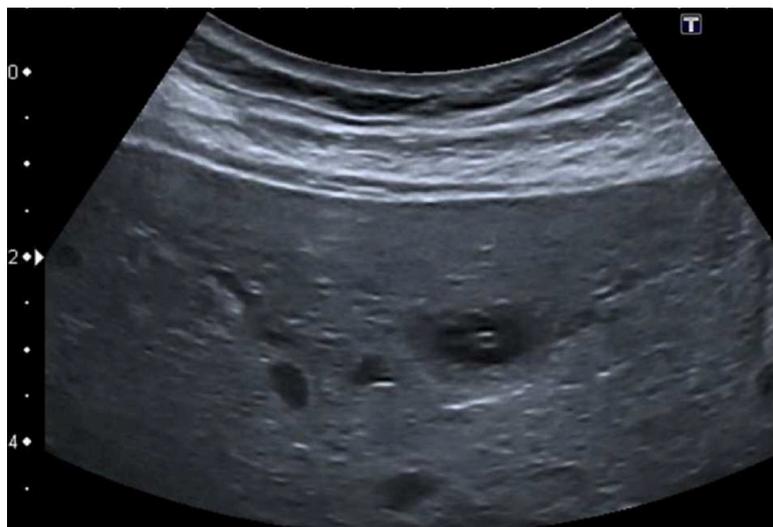


Figure 8. Image d'échographie typique en « œil de bœuf » avec un halo périphérique hypoéchogène entourant un noyau central hyperéchogène (67).

b) Histologie

Cet examen repose sur une biopsie tissulaire, guidée ou non par imagerie. Après fixation des tissus et coloration par HES (Hémalun Eosine Safran), l'examen microscopique révèle des éléments fongiques évocateurs d'infection à levures ou à champignons filamenteux. D'autres colorations peuvent également être réalisées, telles que le May Grünwald Giemsa, l'acide périodique de Schiff ou l'imprégnation argentique (Gomori-Grocott) (68). Pour améliorer la spécificité de cet examen, un ajout d'anticorps marqués par un fluorochrome peut être réalisé. Dans le cas des levures, des levures en bourgeonnement ou des filaments/pseudofilaments (cas de *C. albicans*, *C. dubliniensis*) pourront être observées.

C'est un examen de faible sensibilité, mais qui possède une valeur prédictive positive (VPP) de 100%. Il permet d'éliminer les faux positifs liés à la contamination par la flore saprophyte (69). Le prélèvement de tissus par biopsie étant souvent difficile à obtenir en raison de risque hémorragique, il est en pratique rarement réalisé.

c) Mycologie conventionnelle

Les hémocultures restent la technique de référence concernant le diagnostic des candidémies. La présence d'un seul flacon d'hémoculture positif à *Candida* pose le diagnostic de candidémie. D'autres prélèvements, notamment de sites normalement stériles, peuvent également être mis en culture pour élargir le diagnostic à l'ensemble des CI.

Différents systèmes et flacons d'hémoculture sont aujourd'hui disponibles (Biomérieux® et Becton Dickinson®) avec pour certains des milieux sélectifs pour les champignons, contenant des antibiotiques (par exemple BDBACTEC™ Mycosis IC/F), ce qui permet d'augmenter leur spécificité et leur sensibilité.

Les intérêts principaux à l'isolement des levures sur milieu de culture (Sabouraud, milieux chromogéniques) sont le rendu d'une identification au rang d'espèce, notamment par spectrométrie de masse MALDI-ToF, et la réalisation d'antifongogrammes (notamment E-test ou CMI liquides).

Cependant, l'hémoculture présente d'importantes limites. Sa sensibilité est médiocre, de l'ordre de 50% (3,4). Une étude a rapporté une sensibilité des hémocultures de 70% pour la candidémie et de 30% pour la candidose profonde (4). Lors de candidémies, leur sensibilité pourrait être supérieure à 90%, si 4 paires d'hémocultures sont prélevées par 24h (70). Les techniques conventionnelles de cultures ne sont sensibles qu'à la détection de levures viables (71) avec cependant une limite de détection très faible rapportée dans une étude à 1 UFC/mL (7). La faible sensibilité de cet examen est observée chez les patients recevant des antifongiques à titre prophylactique. En effet, une étude a montré que l'ajout d'agents antifongiques dans des flacons d'hémoculture inoculés à *Candida* spp. a réduit leur taux de détection de 95% à 50-83% (72). De plus, le délai de positivité des cultures est en moyenne de 2 à 5 jours, auquel il faut ajouter le délai d'identification de la levure.

Le diagnostic des candidoses profondes est plus difficile, de par la présence de levures saprophytes dans le microbiote humain. De plus, les prélèvements profonds sont difficiles à recueillir, car ils nécessitent des techniques invasives réalisées par des préleveurs formés, qui sont parfois contre-indiquées, notamment chez des patients ayant d'autres comorbidités (26).

Pour toutes ces raisons, certains auteurs proposent d'utiliser des scores composites afin d'évaluer le risque d'une CI. Ces scores prennent en compte des facteurs cliniques, mycologiques et parfois des facteurs liés à l'hôte. Le plus utilisé d'entre eux est l'index de colonisation (IC). Celui-ci vise à déterminer le ratio entre le nombre de sites corporels colonisés à *Candida* (urine, selles, écouvillonnages des aisselles, nasal, crachats...) sur le nombre de sites corporels prélevés. Un ratio supérieur ou égal à 0,5 détermine les patients justifiant d'une prise en charge thérapeutique environ 6 jours avant le diagnostic de CI. Un index de colonisation corrigé (ICC) tenant compte à la fois du nombre de sites corporels colonisés et de la densité de la charge fongique observée a également été proposé (32).

d) Techniques d'identification

Plusieurs méthodes permettent l'identification d'espèce des levures. Nous détaillerons ici la technique par FISH, la spectrométrie de masse MALDI-TOF, ainsi que certaines approches moléculaires.

➤ PNA-FISH : Peptide Nucleic Acids - Fluorescence In Situ Hybridation

La PNA FISH utilise des sondes d'acide nucléique peptidique (PNA) spécifiques à chaque espèce qui s'hybrident *in situ* avec l'ADN de différentes espèces de *Candida*, produisant alors une fluorescence de différentes couleurs. Cette technique permet de différencier les principales espèces pathogènes, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* et *C. krusei* et d'adapter le traitement antifongique en fonction de l'espèce isolée de l'hémoculture.

C'est une technique simple et rapide, avec une sensibilité de 92 à 100% et une spécificité de 95 à 100% selon les espèces (73).

➤ Spectrométrie de masse MALDI-ToF

La spectrométrie de masse MALDI-ToF permet l'identification de bactéries et de champignons par analyse protéomique, à partir de colonies isolées sur des cultures en milieu solide, ainsi qu'à partir de flacons d'hémoculture positifs directement. L'analyse dure moins de 30 minutes et est de plus en plus utilisée en routine hospitalière (74,75). Son fonctionnement est détaillé dans la Figure 9.

Plus récemment, l'utilisation de la spectrométrie de masse MALDI-ToF a été étendue à la détection de mutations génétiques responsables de la résistance des levures à certains antifongiques. Ainsi, il a été possible de corrélérer les mutations du gène *fks* à la résistance à la caspofungine sur la base des modifications du protéome (76).

D'une manière générale, l'implémentation des techniques de spectrométrie de masse MALDI-ToF dans les laboratoires de microbiologie clinique permet d'améliorer le rendement de l'identification à l'échelle de l'espèce, mais également le

raccourcissement du délai d'initiation de traitements antifongiques, sur la base d'un diagnostic fiable et précoce des IFI.

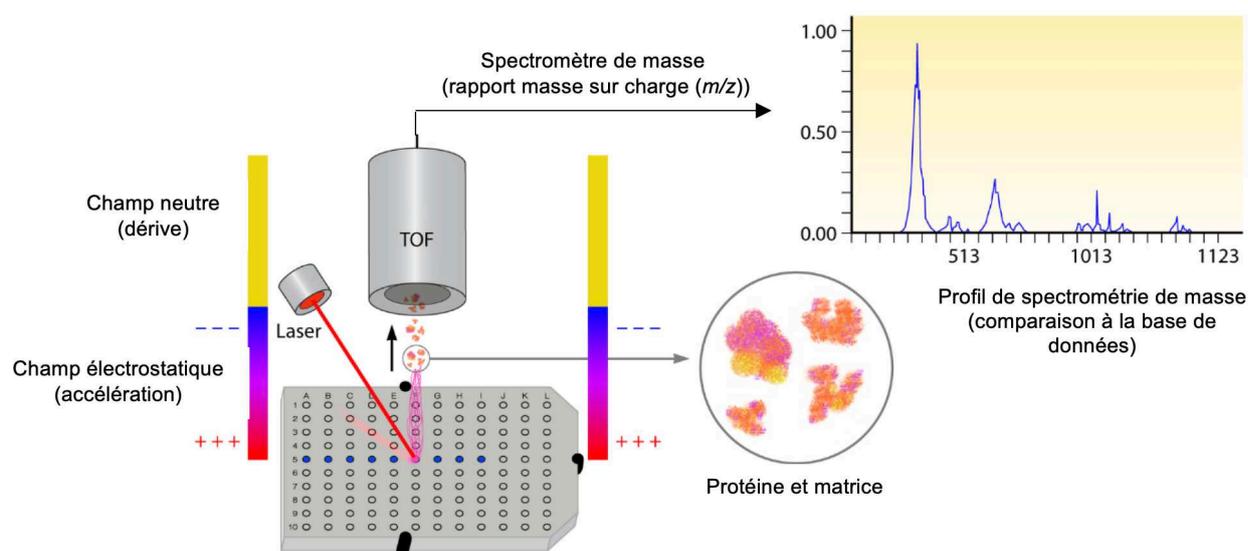


Figure 9. Représentation schématique du fonctionnement d'un spectromètre de masse MALDI ToF (74).

Lors de l'analyse, un laser ionise le dépôt de prélèvement et de matrice situé sur la plaque. Grâce à un champ électrostatique, ces particules ionisées sont projetées dans un canal en fonction de leur rapport masse/charge. Une analyse de leur temps de vol permet alors la formation d'un spectre qui, en comparaison à une banque de données préalablement établie avec un panel représentatif de souches appartenant à une espèce donnée, permet l'identification du micro-organisme à l'échelle du genre et de l'espèce. C'est une technique possédant une sensibilité de 91 à 100% et une spécificité de 100% (77).

➤ Biologie moléculaire

Différentes approches moléculaires permettent l'identification des levures.

Premièrement les tests PCR, dont la première étape d'extraction de l'ADN consiste généralement à lyser les cellules, éliminer les protéines et autres acides nucléiques (ARN...), puis concentrer l'ADN. Cette étape peut être réalisée par des techniques dites maison ou grâce à des kits commerciaux prêts à l'emploi. Les principales cibles d'amplification de ces tests sont les régions variables ITS1 et ITS2, dont la diversité facilite la spéciation des levures (78). Ces régions sont comprises entre les gènes ribosomiques 18S, 5.8S et 28S, hautement conservés dans l'ADN ribosomal. C'est la raison pour laquelle l'analyse des régions ITS est intéressante pour les tests PCR et également pour le séquençage (79,80). La détection des amplicons dépend de la technique de PCR utilisée (81) :

- La PCR conventionnelle qui, après électrophorèse, permet la visualisation des amplicons, à l'aide de molécules fluorescentes (82),
- La PCR nichée (83), dont le principe réside sur la réalisation successive de deux PCR, grâce à l'utilisation de deux couples d'amorces (dont le deuxième couple est interne au premier couple d'amorces). Elle permet d'obtenir de meilleures sensibilité et spécificité que la PCR conventionnelle, mais le risque de contamination des amplicons et le temps technique en sont augmentés (82),
- La PCR en temps réel, plus rapide, sensible et spécifique, est une technologie basée sur la détection et la quantification d'un reporter fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction de PCR (84–86). Elle ne nécessite pas d'étape post-PCR et limite donc le risque de contamination des amplicons (87).

Les tests PCR peuvent également être utilisés à des fins diagnostiques, qui seront détaillées en partie 3. d) ii Approches moléculaires.

Dans un second temps, à la suite d'une PCR, le séquençage des régions ITS1 et ITS2 peut aussi être utile pour la spéciation des levures. Le séquençage du génome entier

peut également être réalisé, mais pas en routine. Celui-ci permet également la détection de mutations de résistance aux antifongiques, comme les mutations du gène ERG11, liées à la résistance aux azolés chez *C. albicans* (7).

Pour finir, des techniques de métagénomique, principalement utilisées en bactériologie, sont à ce jour en développement pour la mycologie (88). C'est le cas du metabarcoding moléculaire de l'ADN fongique. Les codes à barres de l'ADN sont des séquences d'ADN courtes et spécifiques, simples à amplifier et donc rapidement identifiables par simple comparaison avec une banque de données exhaustive (89). Le système de barcoding de l'ADN fongique est double, car formé de deux loci. La région ITS, région primaire permettant d'identifier 75% des champignons, ainsi que le facteur d'élongation translationnel 1 α (TEF1 α), région secondairement ajoutée afin d'améliorer l'identification des souches fongiques. Ce système, nommé Dual DNA barcoding, permet d'identifier la majorité des champignons pathogènes chez l'Homme et les animaux (90).

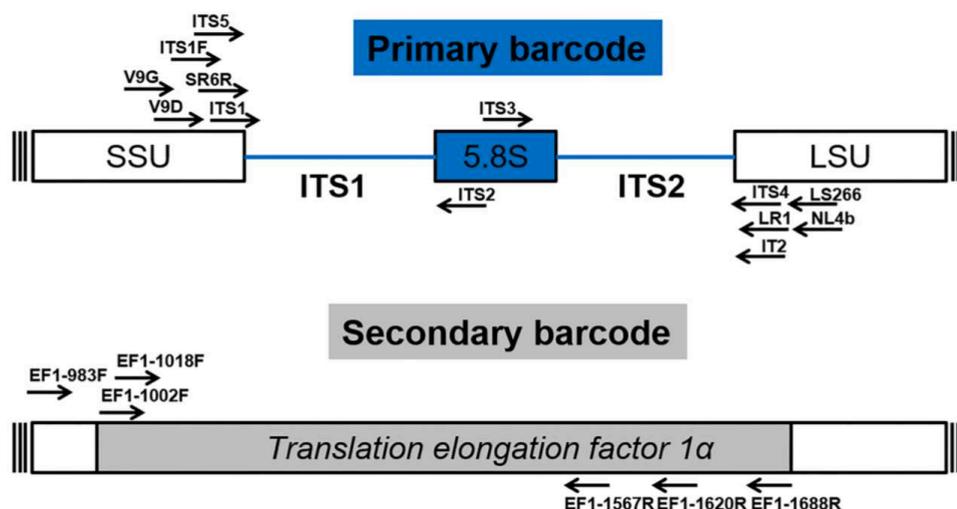


Figure 10. Représentation schématique des régions primaires (ITS) et secondaires (TEF1 α) du barcoding de l'ADN fongique indiquant les amorces universelles pour leur amplification (90).

La métagénomique shotgun (i.e. non ciblée) permet d'apprécier la composition globale du microbiote d'un échantillon. Les séquences obtenues lors de cette analyse sont comparées aux génomes référencés et permettent soit une identification à un génome connu, soit une intégration à la base de données pour définir de nouvelles espèces (91,92). Les principaux référentiels concernent les génomes bactériens, mais les banques de données sont à ce jour en développement pour le domaine fongique (93).

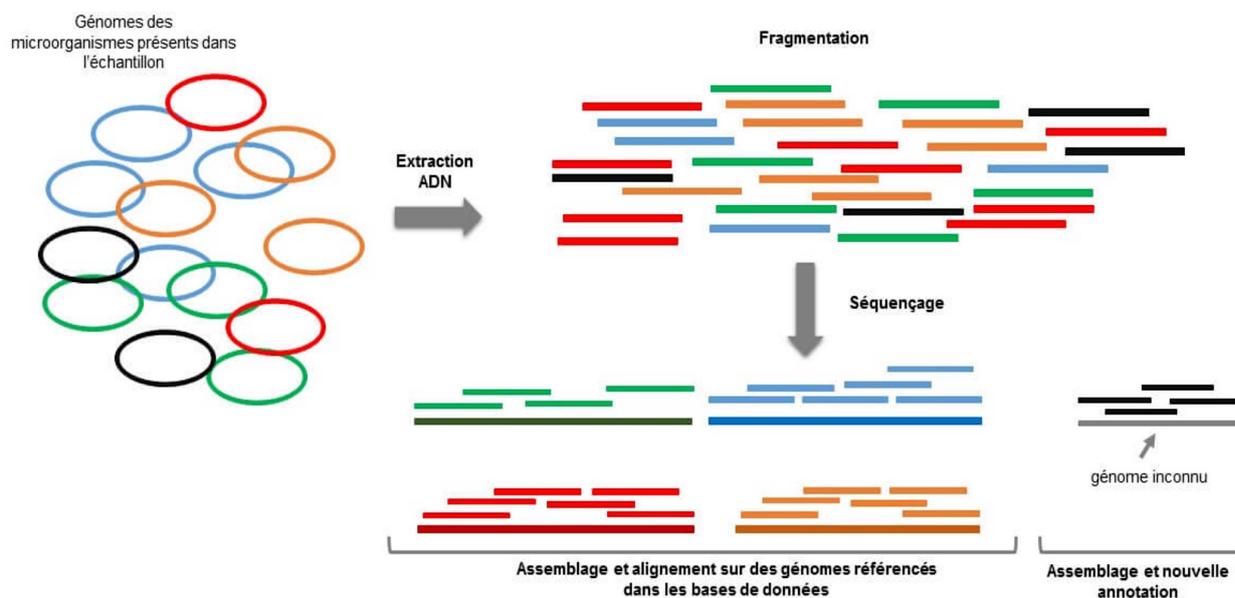


Figure 11. Représentation schématique de la métagénomique shotgun (94).

Pour conclure, ces techniques présentent certains inconvénients. Elles dépendent de l'extension des bases de données, ont un coût important et nécessitent des formations, notamment d'ingénieurs et de bio-informaticiens. Cependant, le coût du séquençage tend à diminuer et permettrait donc son développement à plus grande échelle.

e) Techniques alternatives à la culture

i. Recherche d'antigènes et d'anticorps dans le sang

➤ (1,3)- β -D glucane

Constituant de la paroi cellulaire des *Candida* ainsi que de la plupart des agents fongiques pathogènes (hors *Cryptococcus* et Mucorales), le (1,3)- β -D glucane (BDG) est un marqueur d'infection panfongique. Il n'est donc pas spécifique des infections invasives à *Candida*.

Deux tests sont aujourd'hui disponibles pour la détermination du BDG sérique, Fungitell® (Associates of Cape Cod, East Falmouth, MA, USA), qui est le plus utilisé en France, et Wako (Fujifilm Wako, Neuss, Allemagne). Tous deux ont reçu le marquage CE pour le diagnostic des IFI. Le test Fungitell® BDG a également été autorisé par la FDA. Ces tests sont colorimétriques (Fungitell®) ou turbidimétriques (Wako) et quantifient l'activation de la cascade de coagulation de la limule, médiée par le BDG (95).

Les performances de ce test sont meilleures en cas de dosages itératifs réalisés de manière consécutive, en moyenne deux déterminations par semaine (96). La principale limite de ce marqueur est la proportion importante de faux positifs, notamment dans les populations à risque de CI (patients sous Augmentin ou Tazocilline ou recevant des immunoglobulines...). Une récente étude portant sur des patients candidémiques a montré que la sensibilité et la spécificité du test Fungitell sont respectivement de 87% et 85% (97). Cependant, dans le cadre de la CIA, les performances du Fungitell sont inférieures, avec une sensibilité et une spécificité de 56 à 77% et de 57 à 83%, respectivement (98). Concernant les patients séjournant en USI à risque de CI, la sensibilité et la spécificité retrouvées étaient de 81% et 61% lors d'une étude menée par Haydour *et al.* (99).

L'utilisation du BDG, préconisée par l'ESICM, permet d'identifier les patients les plus à risque d'IFI et peut orienter la stratégie antifongique chez ces patients (100). Ses performances dépassent celles des modèles de prédiction du risque et des indices de colonisation pour prédire les CI à hémoculture négative (101). Le BDG a une VPN très élevée permettant d'exclure la probabilité d'une CI. Il est également intégré parmi les critères diagnostiques des IFI retenus par l'EORTC/MSG (102).

➤ Antigène mannane et anticorps anti-mannane

Le mannane (Mn) est un polysaccharide de la paroi fongique de *Candida* pouvant être retrouvé dans la circulation sanguine lors de CI (103). Il existe différents tests permettant sa détection : l'agglutination au latex (Pastorex, Candida, Bio-Rad) et l'ELISA (Platelia Candida Ag Plus, Bio-Rad et Serion ELISA Antigen, Serion Diagnostics). La détection du mannane constitue un marqueur sensible pour l'identification des patients infectés par *C. albicans*, *C. glabrata* et *C. tropicalis*, mais sa performance reste modeste pour les espèces *C. parapsilosis*, *C. krusei* et *C. kefyr* (104).

Les anticorps anti-mannane (A-Mn) peuvent quant à eux être détectés par des méthodes immunologiques, telles que l'ELISA. Leur quantification dans le sérum, peut être réalisée par des tests d'immunofluorescence indirecte, d'immunoprécipitation, et par ELISA (PlateliaTMCandida Ab plus (Biorad)). A noter que la détection d'anticorps peut être mise en défaut chez les patients immunodéprimés ou chez les patients neutropéniques. Leur détermination est préconisée chez le patient immunocompétent et en sortie d'une phase d'aplasie.

En 2010, une méta-analyse a montré que la sensibilité et la spécificité pour le diagnostic de la CI des Mn et des A-Mn étaient respectivement de 58/93% et de 59/83%. Concernant l'association des deux tests, les valeurs retrouvées étaient de 83% et 86% (105). C'est pourquoi l'utilisation combinée des Mn et A-Mn a été recommandée par l'ESCMID (106). Cependant, une autre étude multicentrique concernant les CIA et autres candidoses profondes a retrouvé une sensibilité des Mn et A-Mn de 40% et 25% respectivement (98).

En 2004, une étude a montré l'intérêt de ces analyses dans le diagnostic des candidoses hépatospléniques (107). En effet, la détection des Mn et/ou d'A-Mn permettrait de réduire le délai diagnostique de cette infection, car précéderait les lésions à l'imagerie de 16 jours.

La performance de ces biomarqueurs est variable selon les études, et bien que spécifiques des infections invasives à *Candida*, ils sont souvent peu sensibles. Leur intérêt réside principalement dans leur association lors du dépistage des IFI à *Candida* et plus particulièrement dans le diagnostic de la candidose hépatosplénique.

➤ **Anticorps anti-mycélium ou anti-tube germinal (CAGTA)**

L'analyse des CAGTA (*Candida albicans* Germ Tube Antibody) repose sur un test immunologique détectant des anticorps dirigés contre des antigènes de la paroi du mycélium de *C. albicans* dans le sang. Ces antigènes sont libérés par *Candida* spp. lors d'une invasion tissulaire (103).

Les auteurs ont établi qu'avec un titre d'anticorps au 1:160, la sensibilité et la spécificité du diagnostic de CI étaient de 84,4% et de 94,7%, respectivement (108). Ce test permettrait également de distinguer les candidoses transitoires (liées à un cathéter) des candidoses associées à une infection profonde.

Une méta-analyse concernant 7 études relatant des performances du dosage des CAGTA dans le diagnostic des CI a retrouvé des performances variables, avec une moyenne de sensibilité/spécificité de 66%/76% (109). Ces performances seraient encore plus modestes dans le diagnostic des candidoses profondes (110–112).

La contribution du CAGTA au diagnostic des candidoses est très hétérogène, et bien que son association avec le BDG ou le mannane semble prometteuse (113,114), aucun test commercialisé n'est, à ce jour, disponible sur le marché français.

➤ **Détection du tréhalose sérique par spectrométrie de masse MALDI-ToF**

Récemment, un nouveau biomarqueur, nommé MS-DS (Mass Spectrometry-DiSaccharide) a été détecté dans le sérum de patients atteints d'IFI, par spectrométrie de masse MALDI-ToF (115). Il a été associé à un signal m/z à 365. Le calcul d'un indice MS-DS permettant la quantification du signal par MALDI-ToF est obtenu en faisant le rapport entre les intensités de signal m/z 365 (associé au tréhalose) et le signal m/z 361 (associé à un signal matrice).

Des analyses supplémentaires, par la technique Orbitrap LC-MS après perméthylation, ont permis d'identifier le tréhalose comme signal correspondant au MS-DS (116). Lors d'infections, une augmentation de la température ou un stress oxydatif peuvent apparaître. Ces conditions défavorables entraînent une accumulation du tréhalose intracellulaire chez *Candida*, qui peut être libéré lors de la phagocytose des levures circulantes (117–119).

L'incapacité des vertébrés à produire du tréhalose augmente sa spécificité dans le diagnostic des IFI. Néanmoins, ce sucre n'étant pas synthétisé uniquement par *Candida*, cette technique n'est pas spécifique des candidoses et est aussi utilisée dans le contexte d'aspergillose et de mucormycose invasive (120,121).

Les performances du MS-DS sont comparables au BDG et au Mn pour le diagnostic de CI et elles sont améliorées par l'utilisation de spectrométrie de masse à haute résolution. Les données de sensibilité et de spécificité varient selon le type de spectrométrie de masse utilisé. Ces résultats sont rapportés dans le Tableau VII, parallèlement à ceux des tests BDG et Mn.

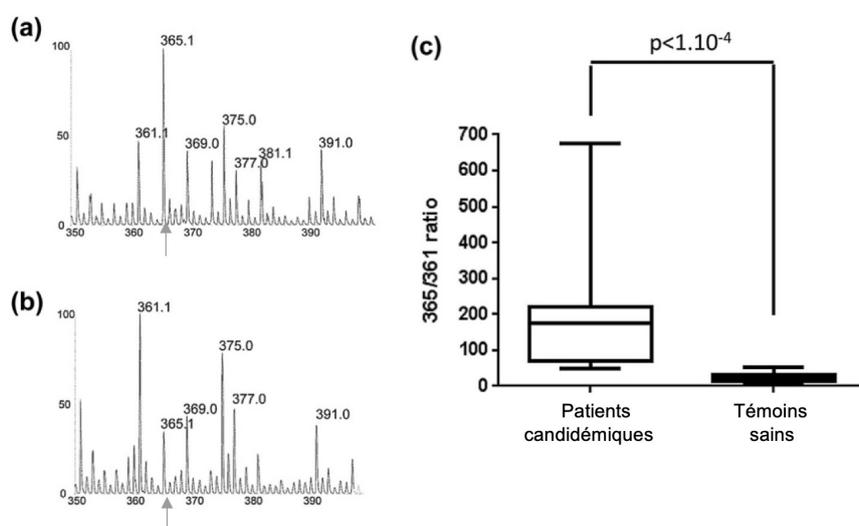


Figure 12. Spectres obtenus par spectrométrie de masse MALDI-TOF d'un patient candidémique (a) et d'un patient témoin (b). (c) Comparaison de la distribution de l'indice MS-DS dans des sérums de patients candidémiques et de témoins sains (115).

Tableau VII. Résultats de l'étude de Mery *et al.* concernant l'utilisation du tréhalose, du BDG et du Mn lors du diagnostic de CI (116).

Test	Valeur seuil	Se (%)	Sp (%)	AUC
BDG	80	80	62	0,8039
Mn	62,5	38	100	0,6939
MALDI-TOF	325	77	83	0,8767
MALDI-TLQ	255	82	83	0,8436

ii. Approches moléculaires

➤ PCR

Différents tests de PCR sont réalisables directement sur diverses matrices (sang, hémoculture, tissus, LCR...) et peuvent être utiles au diagnostic des CI. C'est le cas de PCR panfongiques (ex : SepsiTest™-UMD (122) et MycoReal Fungi (123)), de PCR spécifiques *Candida* (ex : MycoReal Candida (124)) et de PCR multiplex (ex : Lightcycler SeptiFast (125) ou le test BAC BSI d'IRIDICA) (126).

Les PCR panfongiques auraient un intérêt uniquement lorsque des éléments fongiques sont observés sur des tissus en histologie, ou dans des fluides corporels à l'examen direct (102). Ne permettant pas une identification d'espèce, elles peuvent être suivies d'un séquençage ou d'une analyse de la courbe de fusion (127) pour déterminer précisément l'espèce du champignon (7).

Les PCR *Candida* permettent la détection et l'identification des levures du genre *Candida*. La plupart des tests cible les cinq espèces de *Candida* les plus fréquentes en pathologie humaine, c'est à dire *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. krusei*.

Des tests dits syndromiques réalisés par PCR mutliplex peuvent également être utilisés, la plupart à partir d'hémocultures. Ils possèdent généralement des cibles bactériennes (ex : ADN ribosomal 16S) et fongiques (ex : ADN ribosomal 18S), comme le LightCycler SeptiFast ou le Filmarray (125).

La liste des tests PCR disponibles pour la détection de *Candida* spp. est détaillée dans les tableaux VIII et IX.

Tableau VIII. Listes des tests PCR commerciaux disponibles pour la détection de *Candida* spp (7,122–125,128–130).

Test	Méthode	Cible	Espèces détectées
AusDiagnostic Sepsis panel	PCR multiplex	Régions ITS1 ou ITS2	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> et <i>C. tropicalis</i>
MycoReal Candida (Ingenetix)	PCR en temps réel avec analyse de la courbe de fusion	Région ITS2	<i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitaniae</i> , <i>C. parapsilosis</i> et <i>C. tropicalis</i>

MycoReal Fungi (Ingenetix)	PCR en temps réel	Région ITS2	Toutes les espèces fongiques
SepsiTest-UMD (Molzym Molecular Diagnostics)	PCR et séquençage Sanger	ADN ribosomal 18S	Toutes espèces fongiques
SeptiFast Real-Time PCR (Roche Diagnostics)	PCR multiplex en temps réel et analyse de la courbe de fusion	ADN ribosomal 18S	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> et <i>C. tropicalis</i> (et <i>A. fumigatus</i>)
CandID® (OlmDiagnostics)	PCR multiplex en temps réel	Inconnue	<i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> et <i>C. tropicalis</i>
FilmArray Blood Culture Identification Panel (BioFire Diagnostics)	PCR multiplex en temps réel	Inconnue	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> et <i>C. tropicalis</i>
FungiPlex® Candida (Bruker)	PCR multiplex en temps réel	Inconnue	<i>Candida</i> spp. (<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. dubliniensis</i> et <i>C. tropicalis</i>), <i>C. glabrata</i> et <i>C. krusei</i>
FungiPlex® Universal (Bruker)	PCR en temps réel	Inconnue	Toutes espèces fongiques
Magicplex Sepsis Real- Time Test (Seegene)	PCR multiplex en temps réel	Inconnue	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> et <i>C. tropicalis</i> (et <i>A. fumigatus</i>)
Sepsis Flow Chip (Master Diagnostica)	PCR multiplex avec hybridation automatisée reverse dot blot	Inconnue	<i>C. albicans</i> , <i>Candida</i> spp.
IRIDICA BAC BSI (Abbott)	PCR et spectrométrie de masse par ionisation électrospray	ADN 25S et mitochondrial	<i>Candida</i> spp., <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. guilliermondii</i> et <i>C. krusei</i>

Tableau IX. Tests moléculaires disponibles selon la matrice utilisée pour le diagnostic des CI (7,122–125,128–130).

Tests réalisables sur différentes matrices après extraction d'ADN	
PCR multiplex	Fungiplex® Universal ^e Magicplex™ Sepsis ^a Sepsis Flow Chip ^d SeptiFast Real-Time PCR ^a IRIDICA BAS BSI ^a
PCR <i>Candida</i>	MycoReal <i>Candida</i> ^d Fungiplex® <i>Candida</i> ^b CandID® ^c
PCR panfongique*	SepsiTest™-UMD ^d MycoReal Fungi ^d
Tests réalisables sur hémocultures	
PCR multiplex	Filmarray BCID Panel Sepsis Flow Chip ePlex BCID FP Panel (GenMark Dx)

*peuvent être suivies d'un séquençage pour identification

^a sang total, ^b sang total, plasma et sérum, ^c plasma et LBA, ^d prélèvements cliniques divers, ^e ADN extrait

Une méta-analyse de 54 études concernant la détection de l'ADN circulant par PCR a conclu à une sensibilité/spécificité pour les CI prouvées et probables de 95% et 92%, respectivement (131). Ces performances seraient variables pour les CIA, allant de 86 à 91 % de sensibilité et de 33 à 97 % de spécificité (110,111,132).

Une étude a comparé l'utilisation des hémocultures, de la PCR et du BDG dans le diagnostic des CI (132). La PCR s'est avérée plus sensible que le BDG (80% contre 56%), grâce à de meilleures performances dans les cas de candidoses profondes (89% contre 53%). La spécificité de ces deux tests était similaire, de l'ordre de 70%. L'association des hémocultures à la PCR a permis d'obtenir une sensibilité globale de 98% dans le diagnostic des CI, alors que celle de l'association des hémocultures au BDG était de 79%.

Bien que très sensible, l'utilisation de la PCR pour la détection de l'ADN *Candida* à des fins diagnostiques reste très limitée. Très peu de kits standardisés ont bénéficié d'évaluation multicentrique et prospective en vue de définir un consensus sur leurs indications et leurs limites (133). En effet, il subsiste une méconnaissance notable sur

la cinétique de relargage de l'ADN dans les liquides biologiques et la relation entre la charge fongique tissulaire et l'ADNémie (134). Son utilisation est réservée à certains centres, notamment pour la détection des levures dans les tissus.

➤ **T2MR**

La technique et les performances du test sont détaillées en partie II.

f) Critères diagnostiques

Pour conclure sur l'utilité des différents biomarqueurs fongiques, l'ESICM a préconisé, en 2019, d'utiliser les cultures conventionnelles sur sites stériles, ainsi que des techniques non basées sur la culture dans le cadre du diagnostic de la CI (100). Les tests basés sur la PCR sont considérés utiles, mais leur manque de standardisation ne permet pas de les utiliser seuls. L'utilisation combinée des Mn et A-Mn, du BDG et du CAGTA apportent alors une valeur ajoutée et peuvent aider à documenter le niveau de certitude d'une CI. Afin d'exclure la CI, la quantification des BDG, ayant une forte VPN, est recommandée (100).

Les performances des Mn et A-Mn, ainsi que des CAGTA n'étant pas optimales, ces tests n'ont pas été inclus dans les outils de diagnostic de CI.

L'EORTC/MSG préconisent la recherche de BDG par le test Fungitell® ainsi que le T2MR parmi les critères d'une CI probable (102).

Tableau X. Performances des tests utilisés pour le diagnostic des CI.

Test	Sensibilité	Spécificité	Formes de candidoses	Références
HC	21-71%	NA	CI	(3)
	70%		Candidémies	(4)
	30%		Candidoses profondes	(4)
BDG	73-81%	77-97%	CI	(77,135–137)
	87%	85%	Candidémies	(97)
	56-77%	57-83%	CIA	(98,110,132)
Mn et A-Mn	62-83%	86-96%	CI	(3,105)
	40%	25%	Candidoses profondes	(98)
CAGTA	42-96%	54-100%	CI	(110–112)
	53-73%	54-80%	Candidoses profondes	(110,111)
PCR	82-98%	87-98%	CI	(3,131)
	86-91%	33-97%	CIA	(110,111,132)
T2C	89-100%	94-99%	Candidémies	(3,5,77,98,138)
	33-35%	93-98%	CIA	(101,139)

NA : non applicable

II. Objectif et méthode de recueil

L'objectif de cette thèse consiste en la réalisation d'une revue de synthèse sur les applications du panel T2Candida pour le diagnostic des candidémies et des CI depuis sa commercialisation en 2015.

La recherche documentaire a été réalisée jusqu'au 23 mai 2022 sur la base de données de Pubmed. Les articles sélectionnés étaient rédigés en anglais ou en espagnol. Les mots-clés utilisés pour cette recherche étaient les suivants : « T2C », « T2Candida », « T2MR », « T2 magnetic resonance » et « invasive candidiasis diagnosis ».

Un total de 51 articles contenant le terme « T2Candida » a été utilisé.

Une deuxième sélection a été effectuée sur la base des résumés et de leur pertinence clinique. D'autres articles traitants de la même thématique et cités dans les publications comportant les mots-clés ont été lus et analysés pour connaître les performances diagnostiques des autres biomarqueurs.

III. T2MR et panel T2Candida

1. Principe

a) Automate T2Dx et résonance magnétique T2

Cet outil, développé par la société T2Biosystems (Lexington, MA, USA), est basé sur la résonance magnétique T2 (T2RM), mesurant la réaction des molécules d'eau en présence de champs magnétiques.



Figure 13. Photographie de l'automate T2Dx (CHU de Lille).

Cet automate permet la détection de différents analytes sériques (ADN, protéines) par le développement de divers panels commercialisés. Dans le domaine des maladies infectieuses, 6 panels sont aujourd'hui disponibles : T2Candida, T2Cauris, T2Bacteria, T2Resistance (bactérienne), T2Sars-CoV-2 et T2Lyme. Deux autres panels sont en étude (140) (voir Figure 14).

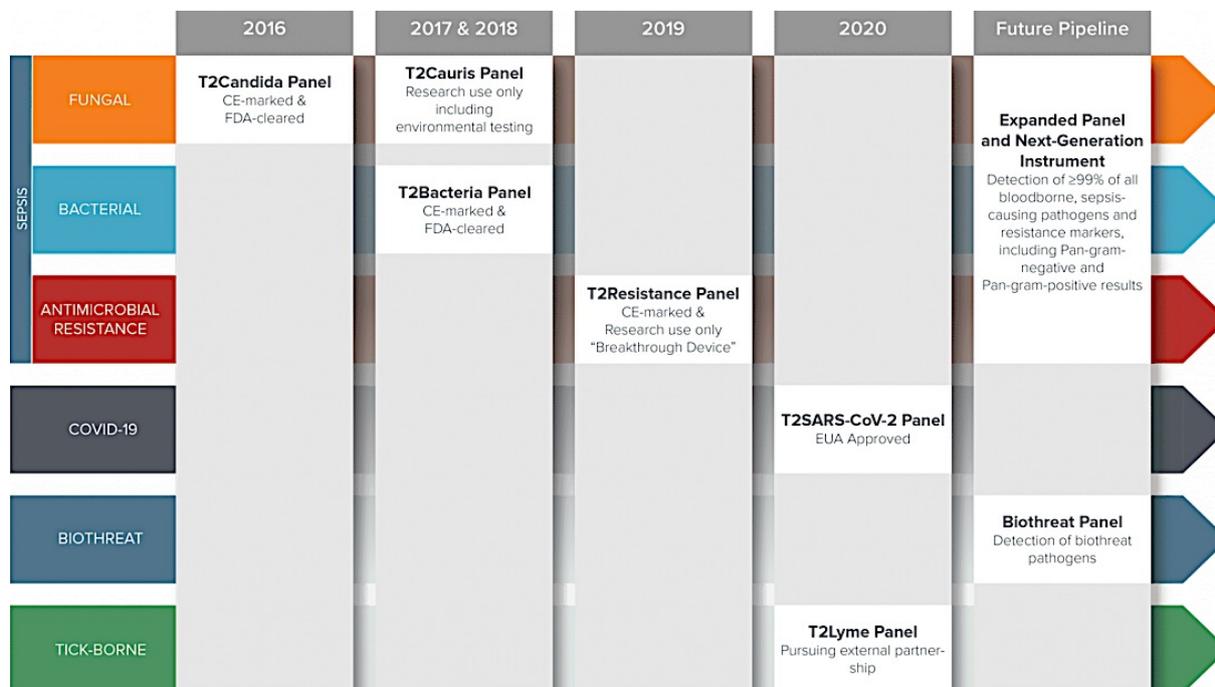


Figure 14. Les différents panels T2Biosystems disponibles et en étude (140).

b) Le panel T2Candida

Approuvé par la FDA en 2014, ce test est préconisé pour le diagnostic des candidémies chez l'adulte. Le panel T2Candida (T2C) utilise des amorces spécifiques de 5 espèces différentes (*C. albicans/C. tropicalis*, *C. glabrata/C. krusei* et *C. parapsilosis*). Il bénéficie désormais d'un marquage CE pour le diagnostic des candidémies et a été mis sur le marché en 2015. Il est utilisé dans plusieurs pays européens (Espagne, Angleterre, Italie, Danemark). En France, cette analyse est réalisable uniquement au CHU de Lille.

Les étapes d'extraction d'acides nucléiques, d'amplification et de détection sont entièrement prises en charge par l'automate. L'analyse est réalisée directement à partir de 5 mL de sang total prélevé sur tube EDTA. Des études ont montré qu'un volume plus faible de sang pouvait être utilisé, notamment 2 mL en population pédiatrique (141,142).

L'instrument T2Dx va réaliser différentes étapes préliminaires à la détection de l'ADN de *Candida*. Tout d'abord, une lyse des globules rouges et des leucocytes sera effectuée, suivie d'une concentration des débris cellulaires, des cellules pathogènes

intactes et de toute autre matrice solide à partir de l'échantillon d'origine. La matrice d'échantillon concentrée sera alors traitée par lyse mécanique à l'aide de billes. L'acide nucléique du lysat pourra alors être amplifié directement dans la matrice à l'aide d'une polymérase thermostable et d'amorces pan-*Candida* dirigées vers la région ITS2 (région de l'espaceur transcrit intermédiaire 2 dans l'opéron de l'ADN ribosomal de *Candida*). L'ADN amplifié sera ensuite hybridé à des séquences nucléotidiques complémentaires fixées sur les nanoparticules superparamagnétiques qui vont s'agglomérer, permettant ainsi leur détection par résonance magnétique T2. En effet, la modification de répartition des molécules d'eau consécutive à cette agglomération, va entraîner une augmentation du signal T2 et positiver le test.

La spéciation est réalisée grâce à l'hybridation de sondes de capture spécifiques d'espèces dans les amplicons du pan-*Candida* (voire Figure 15) (143,144). Le test détecte différentes espèces classées en 3 résultats qualitatifs différents, en lien avec leur sensibilité aux antifongiques (voir Tableau XI) :

- *C. albicans/C. tropicalis* : détection de *C. albicans* et/ou *C. tropicalis*
- *C. glabrata/C. krusei* : détection de *C. glabrata* et *C. krusei*,
- *C. parapsilosis* : détection de *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* et/ou *C. parapsilosis* (145).

Il est important de noter que seul l'ADN fongique provenant de cellules intactes sera détecté (146).

Un contrôle interne comportant de l'ADN synthétique, va permettre de vérifier les résultats en parallèle à chaque échantillon. Si le contrôle est invalide et qu'aucun signal T2MR n'est positif, alors un résultat « non-valide » s'affiche. L'échantillon pourrait alors contenir des inhibiteurs faussant la détection de *Candida*. En plus du contrôle interne, des contrôles externes de T2Candida positifs et négatifs doivent être effectués chaque jour pour contrôler la qualité de l'automate et des réactifs (5).

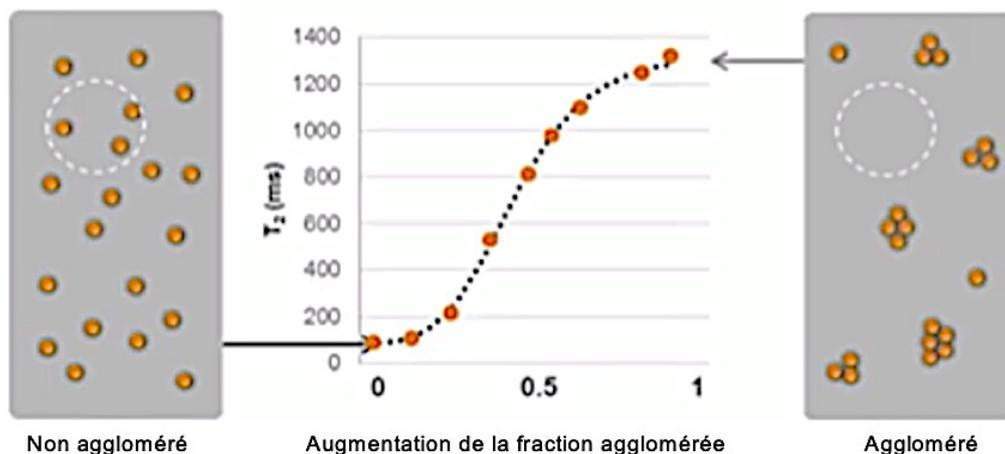
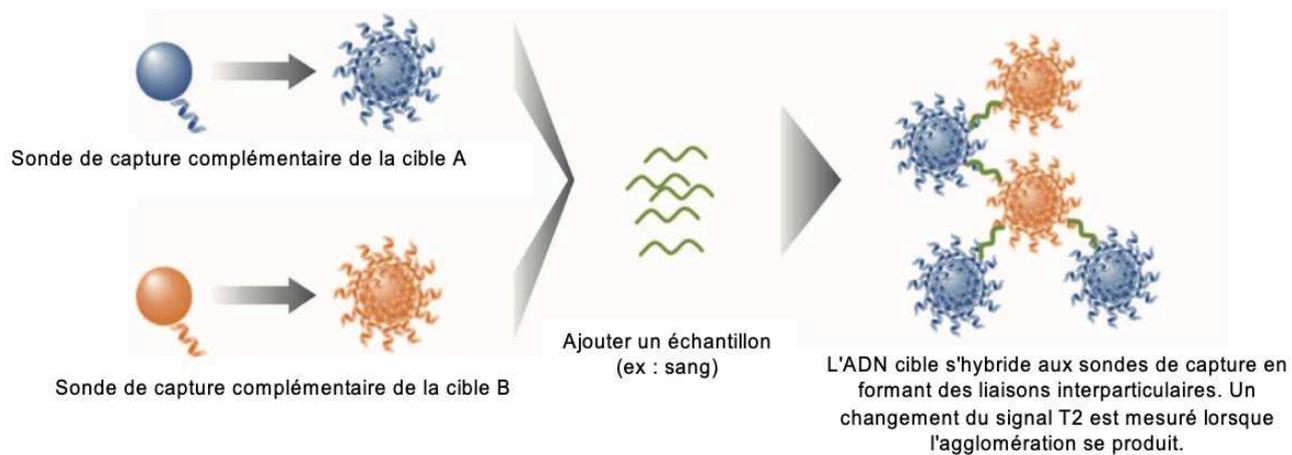


Figure 15. Représentation schématique de la détection par T2MR (144,147).

Tableau XI. Spectre d'activité des agents antifongiques sur les espèces détectées par le T2C (148,149).

	Amphotéricine B	Fluconazole	Voriconazole	Echinocandines
<i>C. albicans</i>	S	S	S	S
<i>C. tropicalis</i>	S	S	S	S
<i>C. parapsilosis</i>	S	S	S	S/R
<i>C. glabrata</i>	S/I	SDD/R	SDD/R	S
<i>C. krusei</i>	S/I	R	S	S

S : sensible, SDD : sensibilité dose-dépendante, I : intermédiaire, R : résistant

La détection par T2MR est hautement sensible, car elle permet de détecter des quantités très faibles d'acides nucléiques, de l'ordre du femtomole, mélangées à une grande diversité d'autres débris, acides nucléiques et protéines.

Les limites de détection observées sont de 3 UFC/mL pour *C. albicans* et *C. tropicalis*, de 2 UFC/mL pour *C. krusei* et *C. glabrata* et 1 UFC/mL pour *C. parapsilosis* (144).

c) Le panel T2Cauris

L'automate T2Dx pourrait également avoir un avantage important au regard de l'émergence de *C. auris*. En effet, cette levure multi-résistante, bien que peu présente en France, pourrait être rencontrée de plus en plus, en lien avec les mouvements de population, notamment liés à la crise ukrainienne, qui pousse certaines populations à migrer vers l'Europe occidentale. *C. auris* est très résistante dans l'environnement, ce qui entraîne des épidémies hospitalières difficiles à contenir, et les infections dues à cette levure sont souvent mortelles. Elle représente donc une menace importante pour la santé publique (150).

Un panel T2Cauris est aujourd'hui disponible exclusivement pour un usage de recherche. Il est réalisable sur des prélèvements cutanés, sanguins, ainsi que sur des prélèvements d'environnement hospitalier. Des essais cliniques réalisés sur sang et sur écouvillonnage cutané sont encourageants (151,152). Ses avantages principaux seraient, comme pour le T2C, une rapidité de diagnostic (< 5h) et une sensibilité importante (< 5 UFC/mL) en comparaison aux cultures (153). De plus, il détecterait *C. auris* sans réaction croisée avec les autres espèces *Candida*, telles que *C. haemulonii* et *C. duobushaemulonii*, avec lesquelles des problèmes d'identification par MALDI-ToF sont possibles (152).

2. Revue de la bibliographie sur l'utilisation du panel T2Candida dans les candidoses invasives

a) Etudes précliniques : comparaison du T2C aux hémocultures

Diverses études ont comparé le T2C aux hémocultures en utilisant des échantillons enrichis en *Candida*.

Beyda *et al.* ont comparé le T2C à des hémocultures aérobies (système automatisé BACTEC 9050) sur des échantillons enrichis à 3,1 à 11 CFU/mL (13 à 20 échantillons par espèces) (154). Le panel a présenté un avantage majeur en comparaison aux hémocultures, car il a détecté 100% des échantillons positifs à *C. glabrata*, contrairement à la technique de référence qui n'en a détecté aucun. Cela peut s'expliquer par le besoin de cette levure de plus de 5 jours d'incubation pour se développer, avec une préférence pour les milieux anaérobies. Les résultats de cette étude sont présentés dans le Tableau XII. En dehors de *C. glabrata*, l'agrément positif entre le T2C et les hémocultures était de 98,8% et l'agrément négatif était de 100%. Des valeurs similaires ont également été obtenues lors d'une seconde étude (144).

Tableau XII. Résultats de l'étude de Beyda *et al.* (154).

Echantillons enrichis		Résultats du T2C			
		Positif	Négatif	Sensibilité	Spécificité
<i>C. glabrata/ C. krusei</i> (n = 39)	Positif	39	0	100%	100%
	Négatif	0	51		
<i>C. albicans/ C. tropicalis</i> (n = 33)	Positif	33	0	100%	98,2%
	Négatif	1	56		
<i>C. parapsilosis</i> (n = 18)	Positif	18	0	100%	95,8%
	Négatif	3	69		
Combinés (n = 90)	Positif	90	0	100%	97,8%
	Négatif	4	176		

Le délai de détection des levures était significativement inférieur pour le T2C par rapport aux hémocultures (voir Tableau XIII), pouvant permettre, dans un contexte clinique, une accélération de la mise en route du traitement antifongique.

Tableau XIII. Délai de détection de *Candida* spp. du système d'hémoculture BACTEC 9050 et du T2C (154).

Espèce	Délai de détection (en heures)		p-value
	Hémoculture	T2C	
<i>C. albicans</i>	106	3,9	< 0,001
<i>C. glabrata</i>	NA	3,6	NA
<i>C. parapsilosis</i>	78,3	3,6	< 0,001
<i>C. tropicalis</i>	30,6	3,6	< 0,001
<i>C. krusei</i>	40,5	3,8	< 0,001

Un avantage supplémentaire du T2C a été observé dans deux autres études (144,155). En effet, contrairement aux hémocultures, la présence d'antifongique dans le prélèvement n'entraîne pas d'interférence avec le T2C, car il détecte les levures intactes vivantes et mortes. Cela permet une détection prolongée de *Candida* spp., notamment chez des patients sous traitement antifongique.

Neely *et al.* ont également testé des échantillons de patients bactériémiques par le T2C, qui se sont avérés négatifs, objectivant de la spécificité du panel (144). De plus des échantillons enrichis contenant des antibiotiques ont été analysés par le T2C, lors d'une seconde étude de Beyda *et al.* (155). Les antibiotiques n'avaient aucun impact sur la sensibilité et le délai de détection du T2C.

b) Performances cliniques du T2C

i. Candidémies

Un essai multicentrique, nommé DIRECT1 (Detecting Infections Rapidly and Easily for Candidemia Trial 1), réalisé par T2Biosystems, a permis l'approbation par la FDA du T2C dans le diagnostic des candidémies (5). Lors de cette étude, des échantillons sanguins prélevés chez plus de 1500 patients hospitalisés présentant des signes de septicémie, ainsi que 250 échantillons contaminés avec des suspensions connues des 5 espèces *Candida*, ont été analysés par T2C en parallèle d'hémocultures aérobie et anaérobies.

Le T2C a présenté une sensibilité de 91,1%, une spécificité de 99,4% par test, ainsi qu'un délai d'identification de $4,4 \pm 1$ heure contre $129,9 \pm 26,3$ heures pour les hémocultures (voir Tableau XIV). Des échantillons enrichis à moins d'1 UFC/mL en *Candida* spp. ont été identifiés par le T2C, témoignant de ses performances analytiques.

Seuls 31 cas de discordance ont été notés entre les résultats des hémocultures et le T2C. Deux cas avec hémoculture positive à *C. albicans* et T2C négatif, qui concernaient des patients en oncologie avec des CVC et qui étaient sous traitement antifongique avant la prise de sang. Les 29 autres cas correspondaient aux échantillons avec une hémoculture négative et un T2C positif (18 *C. albicans*/*C. tropicalis*, 12 *C. parapsilosis* et 1 *C. krusei*/*C. glabrata*). Parmi ces cas, un seul patient présentait une candidose prouvée (infection intra-abdominale à *C. albicans*) selon les critères de l'EORTC. Pour 4 patients, la levure a par la suite été identifiée dans d'autres prélèvements (respiratoires ou urinaires), mais ces patients ne remplissaient pas les critères établis pour un diagnostic de CI. Six patients étaient sous traitement antifongique systémique sans présenter de signe d'infection fongique. Parmi les 18 autres patients discordants, 5 avaient un cathéter central, 4 avaient subi une greffe de cellules souches ou d'organes solides et 3 étaient hospitalisés en oncologie.

Ces cas de discordance T2C positif et hémoculture négative peuvent s'expliquer par l'inhibition de la pousse des levures dans les flacons d'hémoculture en présence d'agents antifongiques, ainsi que par une meilleure sensibilité du T2C dans les candidoses profondes.

Dans cette étude, la VPN a été estimée à 99,5% et 99% pour une population d'étude dans laquelle la prévalence de candidémie était de 5 et 10% respectivement (voire Tableau XV), et le T2C s'est avéré reproductible à 98,5%. Le temps moyen de détection négative était de $4,2 \pm 0,9$ heures, contre 120 heures pour les hémocultures.

Tableau XIV. Résumé des résultats de performance du T2C par rapport aux hémocultures (5).

	Sensibilité (IC_{95%})	Spécificité (IC_{95%})
Global	91,1 % (86,9 %-94,2 %)	99,4% (99,1- 99,6 %)
<i>C. albicans/</i> <i>C. tropicalis</i>	92,3 % (85,4-96,6 %)	98,9 % (98,3 %-99,4 %)
<i>C. parapsilosis</i>	94,2 % (84,1-98,8 %)	99,3 % (98,7-99,6 %)
<i>C. krusei/</i> <i>C. glabrata</i>	88,1 % (80,2-93,7 %)	99,9 % (99,7-100,0 %)

Tableau XV. VPP et VPN du T2C selon la prévalence des candidémies, en considérant une sensibilité/spécificité du T2C de 91%/98,1% (5).

Prévalence	VPP	VPN
1%	32,6%	99,9%
2%	49,4%	99,8%
5%	71,6%	99,5%
10%	84,2%	99,0%
20%	92,3%	97,8%

Un essai multicentrique de suivi, appelé DIRECT2, a été réalisé sur 152 prélèvements de patients candidémiques hospitalisés (138). Le T2C était plus sensible que les hémocultures simultanées chez les patients présentant une candidémie antérieure (dans les 1 à 6 jours) : 45% contre 24% respectivement. Trente-sept des 152 prélèvements avaient un T2C positif alors que les hémocultures, prélevées au même

moment, restaient négatives. Seuls 4 prélèvements ont donné lieu à des hémocultures positives et un T2C négatif et deux d'entre eux étaient coagulés. Ces discordances sont probablement liées à l'impact des traitements antifongiques sur la sensibilité des hémocultures. En effet, 95% du groupe ayant un T2C positif avec des hémocultures simultanées négatives étaient sous traitement antifongique (98).

La neutropénie, un traitement antifongique antérieur et la candidémie à *C. albicans* ont été associés indépendamment à des résultats discordants T2C positif et hémoculture négative.

Le T2C a par la suite été comparé aux hémocultures fongiques (Myco/F Lytic) (156). Trois cent quatre-vingt-trois paires de T2C et hémocultures fongiques ont été analysées, aboutissant à des sensibilité/spécificité et des VPP/VPN du T2C par rapport aux hémocultures fongiques de 64,7%/95,6% et 40,7%/98,5%. La sensibilité et la VPP étaient donc inférieures à celles retrouvées lors de l'étude DIRECT1, sachant que la prévalence de candidémie dans l'échantillon était estimée à 4,4%.

La concordance entre les hémocultures et le T2C était de 94,3%, comprenant 11 paires positives pour les 2 tests ainsi que 350 paires négatives pour les 2 tests. L'hémoculture était positive avec un T2C négatif pour 6 patients (3 souches de *C. glabrata*, 2 de *C. albicans* et 1 de *C. parapsilosis*). La situation inverse (T2C positif et hémoculture négative) concernait 16 patients : 7 *C. parapsilosis*, 7 *C. albicans/C. tropicalis* et 2 *C. glabrata/C. krusei*. Parmi ces patients, 14 avaient un dossier médical évoquant une possible source d'infection.

Une autre étude observationnelle et rétrospective a eu pour but d'évaluer le T2C par rapport aux hémocultures dans la détection et le traitement de la candidémie (157). Deux groupes de patients ont été formés : 96 patients ayant eu un T2C positif et 168 patients ayant eu une hémoculture positive à *Candida*. Le délai moyen de détection, ainsi que celui d'administration d'un traitement antifongique étaient significativement plus courts avec le T2C (respectivement 9h contre 41h et 4h contre 37h avec les hémocultures). Cependant, aucune réduction de mortalité ou de durée de séjour n'a été observée dans cette étude.

Certains facteurs de risque étaient significativement plus présents dans le groupe ayant été diagnostiqué par le T2C : l'insuffisance rénale, l'hémodialyse et la

neutropénie fébrile. Dans le groupe diagnostiqué par hémoculture, les patients avaient d'autres facteurs de risque : un CVC, une nutrition parentérale totale pendant une semaine ou plus ou une bactériémie concomitante.

Il est intéressant de noter que la répartition des espèces *Candida* étaient différentes entre les deux groupes, avec une proportion plus importante de *C. parapsilosis* dans le groupe T2C (31,3% contre 15,5%), alors que les *C. glabrata/C. krusei* étaient plus présents dans le groupe hémocultures (14,6% contre 27,4%). La proportion de *C. albicans/C. tropicalis* était équivalente dans les deux groupes ($\approx 54\%$). Seuls 2,4% des isolats du groupe hémoculture étaient représentés par des espèces non détectables par le T2C (*C. guilliermondii* et *C. lusitaniae*).

Concernant la proportion plus importante de *C. parapsilosis* dans le groupe T2C, nous pourrions formuler l'hypothèse, au regard de l'épidémiologie locale, d'une plus grande détection de cas de contamination cutanée avec le T2C. En effet, aux USA, *C. parapsilosis* ne devrait représenter que 15% des isolats et *C. parapsilosis* est la levure la plus présente dans les cas de contamination cutanée. Cependant, le mode d'inclusion des patients dans deux groupes différents, l'un utilisant uniquement l'hémoculture et le second uniquement le T2C, ne permet pas d'affirmer cette hypothèse.

L'équipe de Tang *et al.* a réalisé une méta-analyse de 8 articles sur la performance du T2C, publiée en 2019 (137). Toutes les études utilisées étaient réalisées aux USA avec pour objectif la comparaison du T2C sur sang total aux hémocultures. La moyenne des sensibilités était de 91% (IC95 % : 88%-94%) et celle des spécificités de 94 % (IC95 % : 93%-95%). Cette analyse a confirmé la fiabilité et la sensibilité élevée du T2C dans le diagnostic des infections à *Candida*.

ii. Candidoses profondes

Pfaller *et al.* ont réuni en 2016 l'ensemble des résultats d'études cliniques disponibles utilisant le T2C pour la détection des CI et des candidémies (voir Tableau XVI) (158). Cela a permis de mettre en avant la sensibilité plus importante du T2C par rapport aux hémocultures dans le diagnostic des CI. En effet, 22 cas de candidose prouvée ou probable ont été détectés par le T2C en l'absence d'hémoculture positive.

Tableau XVI. Détection de CI et candidémies par le T2C (158).

Atteinte	T2C	Hémoculture	Total des infections à <i>Candida</i>
Candidémie	31	33	33
Candidose prouvée	12	0	12
Candidose probable	10	0	10
Cas totaux	53	33	55
Sensibilité	96,4%	60%	

Une étude prospective multicentrique récente a étudié les performances du test T2C dans les CIA (139). Cent trente-quatre patients ont été inclus sur environ 2 ans. La majorité des patients avait été admise en USI après une chirurgie gastro-intestinale (87%) ou en raison d'une pancréatite nécrosante (13%). Des prélèvements d'hémocultures ont été réalisés devant toute suspicion d'infection. Le T2C et le BDG ont été testés en parallèle à chaque hémoculture et à l'occasion de toute autre hémoculture effectuée pour le suivi des patients. La probabilité de CIA dans cette population a été préalablement estimée à 10%. Comme attendu, 13 sur 134 patients ont développé une CAI prouvée. Les critères permettant de classer les patients en « CAI prouvée » ou en « CAI probable » correspondaient aux critères EORTC/MSG et sont résumés dans le Tableau XVII.

Tableau XVII. Critères permettant le classement des patients en CIA prouvée et CIA probable (139).

CIA prouvée	<p>Soit :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Une hémoculture positive à <i>Candida</i> spp. - Une preuve histopathologique, cytopathologique ou microscopique directe compatible avec <i>Candida</i> spp. dans un échantillon provenant d'un site normalement stérile, obtenu par biopsie à l'aiguille ou aspiration. - Une culture avec croissance de <i>Candida</i> spp. obtenue par une procédure stérile, y compris une culture de drainage de <24 h, d'un site normalement stérile présentant une anomalie clinique ou radiologique compatible avec un processus de maladie infectieuse. <p>Avec : une anomalie clinique ou radiologique compatible avec un processus infectieux intra-abdominal.</p>
CIA probable	<p>Un patient ayant subi une chirurgie gastro-intestinale ou une pancréatite nécrosante admis aux soins intensifs ou à l'unité d'hémodialyse.</p> <p>+ BDG \geq 100 pg/mL</p>

Le panel T2C a permis la détection des 2 cas de CIA associée à une candidémie, mais seulement 4 patients parmi les 11 avec CIA seule. Le BDG a montré une sensibilité beaucoup plus haute (85%), mais avec une spécificité plus faible que le T2C (83% contre 97%). Les performances du T2C observées dans cette étude sont présentées dans le Tableau XVIII.

Zurl *et al.* ont étudié, de manière prospective, l'utilisation du T2C chez 32 patients candidémiques et 22 patients atteints de candidoses profondes (159). D'une part, 87% des patients candidémiques avaient un T2C positif à un moment donné de l'étude (entre J-2 et J+3 de la réalisation des hémocultures), contre 68% le jour de la réalisation de l'hémoculture (à J0). Pour 6 des 8 patients candidémiques ayant un T2C négatif à J0, les hémocultures avaient été réalisées sur un CVC et 4 de ces patients avaient un résultat T2C positif entre J-1 et J+2. D'autre part, seuls 27% des patients souffrants de candidose profonde, diagnostiqués sur culture de site stérile, ont eu un T2C positif lors de l'étude. Il est important de noter que plus de 14% des échantillons analysés par T2C étaient invalides ou n'ont pas pu être réalisés à cause de problèmes techniques lors de l'étude.

Tableau XVIII. Performances de la T2C lors de l'étude Krifors et al. (139).

	CIA prouvée <i>n</i> = 13		CIA prouvée et probable <i>n</i> = 33	CIA prouvée et probable (traité) <i>n</i> = 24	CIA prouvée et probable (colonisé) <i>n</i> = 23
	T2C	BDG	T2C	T2C	T2C
Se (IC_{95%})	46% (19-75)	85% (55-98)	24% (11-42)	32% (15-54)	35% (17-57)
Sp (IC_{95%})	97% (92-99)	83% (76-90)	98% (93-100)	98% (94-100)	98% (94-100)
VPP					
Prévalence CIA 1%	12%	5%	11%	16%	16%
Prévalence CIA 5%	42%	21%	39%	49%	50%
Prévalence CIA 10%	61%	36%	58%	67%	68%
VPN					
Prévalence CIA 1%	99%	100%	99%	99%	99%
Prévalence CIA 5%	97%	99%	96%	97%	97%
Prévalence CIA 10%	94%	98%	92%	93%	93%

Traité : Patients diagnostiqués cliniquement CIA et traités par un traitement antifongique.

Colonisé : Au moins une culture positive à *Candida* spp. dans un délai de ± 7 jours.

Une autre étude prospective menée dans une USI portant sur 48 patients à haut risque (101) avait montré les mêmes résultats concernant le T2C et le BDG dans le diagnostic des CIA, c'est-à-dire des sensibilité/spécificité de 33%/93% et de 83%/66,7% respectivement. La VPP du T2C était de 71% et la VPN de 74% dans ce contexte.

Cette étude concluait à une performance plus importante du panel T2C chez les patients les plus graves, ainsi que l'intérêt de l'association T2C et BDG pour le diagnostic des CIA, de par la haute sensibilité du BDG et la haute spécificité du T2C. En effet, dans cette étude, 100% des patients ayant un BDG et un T2C positifs avaient développé une CIA, et 90% des patients pour lesquels le diagnostic de CIA avait été écarté avaient un profil BDG et T2C négatifs.

Parallèlement à l'association T2C et BDG, la combinaison T2C et Mn a aussi été étudiée, de manière prospective, dans le diagnostic des candidoses (160). Concernant les candidémies, les sensibilité/spécificité et VPP/VPN de l'association étaient de 71%/79% et de 26%/96%. Dans les 13 cas de CAI prouvée ou probable avec des hémocultures négatives, les valeurs étaient de 31%/92% et de 20%/96%, avec des performances similaires, de 31%/89% et de 15%/95%, pour le T2C seul.

Une observation clinique a révélé l'efficacité du T2C dans le diagnostic des candidoses profondes isolées (161). Elle concerne une patiente transplantée hépatique ayant développé une thrombose de l'artère hépatique, chez qui l'analyse histopathologique a révélé la présence de micro-abcès compatibles avec une infection fongique. Les prélèvements mis en culture (hémoculture et liquides d'ascite) sont restés stériles. Cependant, différents prélèvements sanguins analysés par le T2C étaient positifs à *C. albicans*/*C. glabrata*. Il s'est avéré que la patiente présentait une candidose profonde à *C. albicans* sans candidémie, confirmée par PCR multiplex sur des biopsies post-mortem.

De manière intéressante, l'utilisation du T2C a également été envisagée dans le diagnostic des complications oculaires secondaires à une candidémie (162,163). Cette complication grave de candidémie est à ce jour diagnostiquée par un examen du fond d'œil, préconisé chez tout patient candidémique.

White *et al.* ont inclus 360 patients candidémiques diagnostiqués par hémoculture et 288 par le T2C sans hémoculture positive associée (162). La proportion de patients présentant une candidose oculaire diagnostiquée lors du fond d'œil était équivalente dans les deux groupes (13% dans le groupe hémoculture contre 9% pour le T2C). *C. parapsilosis* était significativement plus présent dans le groupe T2C, sans conséquence sur la présence de symptôme ou d'atteinte oculaire ou sur la mortalité. Certains facteurs de risque étaient plus présents dans le groupe T2C : la ventilation mécanique, ainsi que les séjours prolongés en USI de plus de 72 heures.

Une seconde évaluation rétrospective a été réalisée sur 164 patients admis en consultation d'ophtalmologie pour suspicion d'endophtalmie ou de chorioretinite (163). Soixante pour cent d'entre eux avaient un T2C positif et 73% avaient une hémoculture positive à *Candida* spp. Treize pour cent des patients ont présenté une candidose

oculaire certaine. La sensibilité du T2C étaient de 75% chez ces patients, contre 64% pour les hémocultures.

Ces deux études mettent en avant l'utilité potentielle du T2C dans la prise en charge précoce de candidose oculaire chez les patients présentant un T2C positif sans hémoculture.

iii. Cas pédiatriques

Le diagnostic de CI est un diagnostic difficile à réaliser chez l'enfant. En effet, il n'y a pas de consensus concernant l'utilisation des biomarqueurs fongiques en population pédiatrique et les études réalisées sur les CI concernent principalement l'adulte.

Une étude a évalué le T2C chez 15 patients âgés de 5 à 12 ans dans le cadre d'une suspicion de candidémie (141). Faute de quantité suffisante de volume sanguin prélevé chez ces patients, une nouvelle méthode de chargement des échantillons a été utilisée. En effet, les instructions du fournisseur prévoient un volume supérieur à 3 ml pour la réalisation du T2C. Dans cette étude, seuls 2 ml de sang étaient collectés. Le chargement de sang total a été réalisé par pipetage direct sur la cartouche T2Candida (voir Figure 16). Le T2C a été appliqué sur 15 patients candidémiques (7 *C. parapsilosis*, 4 *C. albicans*, 3 *C. glabrata* et 1 *C. tropicalis*) et 9 contrôles (non candidémiques). Le T2C a montré une parfaite corrélation avec les résultats de l'hémoculture. Aucun test T2C positif n'a été observé sur les échantillons contrôles.



Figure 16. Pipetage direct de sang total dans la cartouche T2Candida (141).

Une autre étude prospective, réalisée chez des enfants hospitalisés sous antifongiques, a mis en avant une concordance entre le T2C et les hémocultures de 92,8% (164). Sur les 63 patients testés, présentant tous des facteurs de risque de candidémie, 7 avaient un T2C positif (5 *C. parapsilosis* et 2 *C. albicans/C. tropicalis*). Trois de ces patients avaient des hémocultures positives à la même espèce que celle détectée par le T2C. Un quatrième patient, positif à *C. parapsilosis* par le T2C, avait une culture de liquide de drainage médiastinal positif à cette levure, sans hémoculture positive associée. Les 3 patients restants n'ont pas eu de culture positive de confirmation. Cette étude montre une nouvelle fois l'efficacité du T2C chez des patients traités par antifongique, avec une meilleure sensibilité que celle des hémocultures.

L'International Pediatric Fungal Network (IPFN) a initié une étude, nommée BIOPIC (BIOmarkers in Pediatric Invasive Candidiasis), évaluant l'utilisation des biomarqueurs fongiques dans le cadre du diagnostic des CI en pédiatrie (142). Cette récente étude multinationale a étudié différents biomarqueurs fongiques (le T2C, le BDG par Fungitell, ainsi que les Mn et A-Mn par Platelia Candida Plus) chez l'enfant et l'adolescent dans 22 centres de 3 pays différents (USA pour 20 centres, Grèce et Espagne). La culture sur site stérile a été considérée comme la norme de référence. Sur 500 participants, seuls 13 d'entre eux (2,6%) ont présenté des critères compatibles avec le diagnostic de CI. Douze échantillons supplémentaires ont alors été enrichis en *Candida* et analysés par le T2C, pour atteindre une prévalence de CI de 5%. Au total, 418 paires d'échantillons (406 échantillons de patients + 12 échantillons enrichis) ont été inclus dans l'analyse, dont 22 échantillons positifs (5,3% des échantillons). Seul un patient a eu un diagnostic de CI sans candidémie. Ainsi, nous pouvons en conclure que les résultats de cette étude concernent plus précisément les candidémies en population pédiatrique, et non les CI. Dans ce cadre, le T2C était le test présentant les meilleures performances pour la détection des *Candida*. Les valeurs de sensibilité, spécificité, VPP et VPN retrouvées étaient respectivement de 77,3%, 97,2%, 60,7% et 98,7%. L'utilisation combinée des tests a également été étudiée. La meilleure combinaison pour la détection des infections à *Candida* est celle du T2C associé au Mn. Ces résultats sont présentés dans le Tableau XIX.

Tableau XIX. Performances du T2C, du Mn et de l'association T2C/Mn (142).

Test	Sensibilité (%) (IC _{95%})	Spécificité (%) (IC _{95%})	VPP (%) (IC _{95%})	VPN (%) (IC _{95%})
T2C seul	77,3 (54,6-92,2)	97,2 (95,1-98,6)	60.7 (40,6,-78,5)	98.7 (97,0-99,6)
Mn seul	40,9 (20,7-63,7)	97.2 (95,1-98,6)	45.0 (23,1-68,5)	96.7 (94,5-98,3)
Au moins un test positif	86,4 (65,1-97,1)	94.7 (92,0-96,7)	47.5 (31,5-63,9)	99,2 (97,7-99,8)
Deux tests positifs	31,8 (13,9-54,9)	99.8 (98,6-100)	87.5 (47,4-99,7)	96,3 (94,0-97,9)

Cette étude a conclu à une utilité possible du T2C, seul ou en association avec le Mn, pour la détection rapide de *Candida* chez les enfants à risque de CI. Cependant, la faible prévalence de CI dans cet échantillon rend les résultats de l'étude peu fiables (intervalles de confiance importants, présence d'échantillons enrichis, calcul des performances fortement impactés par un seul prélèvement).

Il est important de noter que dans cette étude, des volumes de 2 à 3 mL de sang ont été également utilisés avec succès selon la procédure précédemment énoncée.

D'une manière générale, les études réalisées en population pédiatrique avec candidémie ont permis de montrer que le T2C est une approche fiable pour améliorer la sensibilité, la précocité du diagnostic et ainsi la mise en route d'un traitement antifongique approprié. De plus, l'utilisation d'un volume sanguin de 2 à 3 mL ne constitue plus un frein à la réalisation du test, puisque le fournisseur a validé une procédure permettant d'adapter le workflow de l'automate aux faibles volumes sanguins.

Par ailleurs, il pourrait aussi être intéressant de tester l'utilisation du T2C dans le LCR, afin de diagnostiquer plus rapidement les méningoencéphalites hémotogènes à *Candida*, pathologies touchant les prématurés. Cependant, de par la faible prévalence des CI dans les services de pédiatrie, il est difficile de réaliser des études évaluant les performances du T2C dans ce contexte.

c) T2C et prélèvements autres que sanguins

i. Dialysats péritonéaux

Le diagnostic rapide de péritonite fongique chez des patients en dialyse péritonéale est difficilement réalisable. Bien que l'utilisation de ce type de prélèvement n'ait pas reçu l'aval de la FDA, une étude réalisée sur des dialysats péritonéaux a montré des résultats prometteurs pour l'utilisation du T2C dans le diagnostic de CIA (165). Trois exemplaires de 3 échantillons de dialysats péritonéaux pédiatriques enrichis avec des concentrations connues de *C. glabrata* (3000 CFU/mL, 300 CFU/mL et 3 CFU/mL) ainsi que 3 contrôles négatifs ont été analysés par le T2C. Les échantillons ont préalablement été transférés dans des tubes de 4 mL contenant de l'EDTA et ont été analysés comme l'auraient été des échantillons de sang total. Tous ont donné les résultats attendus, c'est-à-dire que les 3 contrôles négatifs étaient négatifs par le T2C, et tous les échantillons enrichis étaient positifs à *C. glabrata/C. krusei*. Aucun essai n'était invalide.

L'utilisation du T2C sur des prélèvements sanguins, des prélèvements de dialysats péritonéaux et des liquides d'ascite constitue une approche originale complémentaire des tests alternatifs à la culture, tels que le Mn et le BDG pour le diagnostic des CIA.

ii. Prélèvements oculaires et liquide céphalo-rachidien (LCR)

Une observation clinique publiée en 2021, a démontré que l'utilisation du T2C était possible sur prélèvements oculaires et sur LCR (166). Cette observation concerne un nouveau-né présentant plusieurs facteurs de risque de CI : un faible poids de naissance, une chirurgie intestinale durant son premier jour de vie, une nutrition parentérale prolongée et une antibiothérapie large spectre durant 10 jours, via des CVC. Suite à différentes bactériémies, le nourrisson a présenté un syndrome inflammatoire ainsi que des sécrétions oculaires. Un fond d'œil a été réalisé et des lésions rétiniennes ainsi qu'une vitrite ont été observées. Les sécrétions oculaires mises en culture se sont positivées à *C. albicans*, justifiant un traitement par fluconazole. Des atteintes articulaires et cérébrales ont également été vues lors d'IRM. Après 7 jours de traitement antifongique, une aggravation des lésions oculaires au

fond d'œil de contrôle a motivé un switch thérapeutique vers l'amphotéricine B et une vitrectomie.

En raison du risque de dissémination de l'infection, des prélèvements d'humeur vitrée, de LCR et de sang total ont été réalisés pour mise en culture et analyse par T2C. Concernant la réalisation du T2C, le sang total, d'un volume supérieur à 3 mL, a été analysé comme préconisé par le fournisseur. Les 2 mL de LCR ont été placés dans un tube EDTA et complétés avec 3 mL de solution saline stérile. Le prélèvement de vitrectomie d'environ 4 mL, réalisé à l'aide de sérum physiologique stérile, a également été placé dans un tube EDTA. Les prélèvements de sang et de LCR se sont avérés négatifs avec le T2C et en culture. Cependant le prélèvement oculaire était positif à *C. albicans*/*C. tropicalis* avec le T2C. Deux jours plus tard, deux colonies de *C. albicans*, identifiées par MALDI-ToF ont poussé sur la gélose, confirmant la présence de *C. albicans* dans l'humeur vitrée.

Ce cas ouvre de nouvelles perspectives pour la prise en charge des lésions oculaires et méningées induites par les espèces *Candida* et plus généralement pour la réalisation de ce test sur d'autres matrices stériles.

d) T2C et durée de traitement antifongique

Selon les recommandations internationales, le traitement antifongique des CI doit être poursuivi 14 jours après la première hémoculture négative à levure (148). Différents auteurs ont étudié l'utilisation du T2C dans le suivi des CI, afin d'adapter très précocement le traitement antifongique, sa durée, notamment chez les patients à haut risque.

Une étude a été réalisée en 2017 sur les effets de l'instauration du T2C vis-à-vis du délai d'adaptation antifongique et celui de détection de la candidémie (167). Le T2C a permis de réduire de 17h le temps d'accès à un antifongique approprié. De plus, une proportion moins importante de candidoses oculaires a été identifiée chez les patients ayant bénéficié d'un T2C par rapport aux patients n'ayant pas été testés par le panel.

Cela étant probablement dû à la précocité de détection et de mise en place d'un traitement adapté avec cette technique.

Un essai clinique prospectif multicentrique, nommé essai STAMP (Serial Therapeutic and Antifungal Monitoring Protocol), a été réalisé auprès de 31 patients, afin d'évaluer la performance du T2C dans le suivi de la disparition de la candidémie par rapport aux hémocultures (168). Dans le suivi des patients recevant un traitement antifongique, le T2C s'est montré significativement plus performant que les hémocultures. Lors de cet essai, le T2C a également permis de détecter *C. albicans* chez un patient présentant un bilome à cette levure, chez qui les hémocultures sont restées négatives, témoignant de son intérêt dans les candidoses profondes. Ces auteurs ont également formulé l'hypothèse d'arrêter le traitement antifongique après deux T2C consécutifs négatifs. Un rapport de cas a également été publié par Ahuja *et al.*, proposant l'utilisation du T2C pour l'évaluation de la guérison de deux cas d'endocardites de valves prothétiques à *C. parapsilosis* (169).

L'utilisation du T2C dans la décision de durée de traitement antifongique a aussi été étudiée lors d'un cas de candidémie pédiatrique dans un cadre de greffe multi-viscérale (170). Durant ce suivi, des hémocultures ont été réalisées en parallèle de chaque T2C. Les hémocultures étaient positives à *C. parapsilosis* de J8 à J10, alors que les T2C l'étaient de J0 à J28 (voir Figure 17). Le patient a été traité jusqu'à 2 semaines après le premier T2C négatif et a donc eu un traitement plus long que si la durée de traitement avait été basée sur la première hémoculture stérile. Le T2C a permis une adaptation rapide du traitement antifongique (4h après le prélèvement), conduisant à une meilleure prise en charge de l'infection en évitant les effets indésirables d'une molécule inadaptée et l'apparition de résistances aux antifongiques. De plus, l'allongement de la durée de traitement antifongique pourrait permettre d'éviter des récurrences dues à un traitement précocement interrompu.

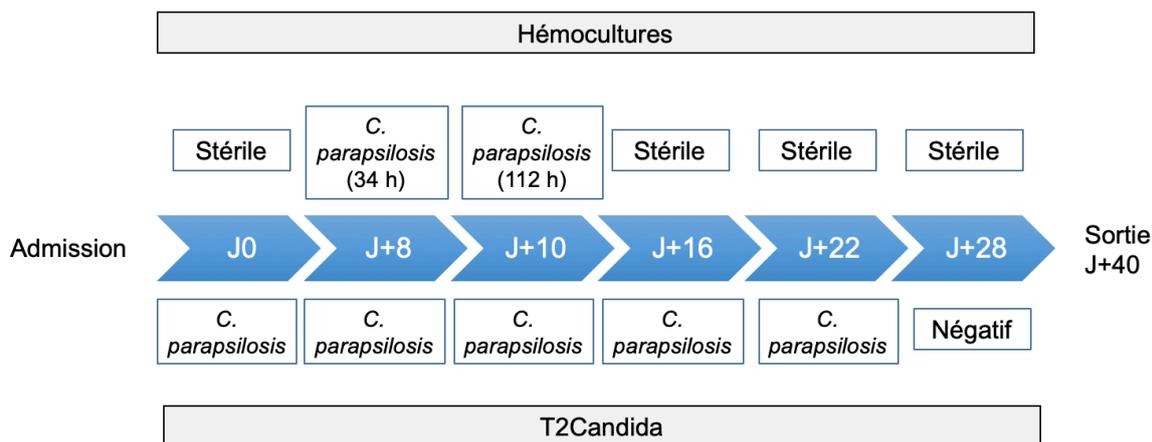


Figure 17. Chronologie du diagnostic et de la disparition de la candidémie du cas au regard des résultats des hémocultures et des T2C (170).

Munoz *et al.* ont étudié l'utilisation du T2C, du BDG et des hémocultures dans le suivi de patients candidémiques, afin de prédire leur évolution vers une candidémie compliquée (171) (définie comme une candidémie suivie de métastases septiques et/ou entraînant le décès du patient). Parmi les 30 patients inclus, 9 ont présenté une candidémie compliquée. Les résultats des 3 tests réalisés en prédiction des épisodes compliqués sont présentés dans le Tableau XX. Le T2C était le marqueur de suivi ayant les meilleures performances pour prédire d'un épisode compliqué. Si positif dans les 5 premiers jours, il a été associé à un risque 37 fois plus élevé de développer une candidémie compliquée.

Tableau XX. Résultats de l'étude publiée par Munoz *et al.* (171).

Test	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
Suivi précoce (< 5 jours)				
Hémocultures	44,4%	76,1%	44,4%	76,1%
T2C	100%	76,1%	64,2%	100%
BDG	100%	38,9%	40,9%	100%
Suivi tardif (> 7 jours)				
Hémocultures	40,0%	100%	100%	66,7%
T2C	85,7%	94,7%	85,7%	94,7%
BDG	100%	33,3%	36,8%	100%

Une seconde étude du même auteur, réalisée chez des patients sous traitement antifongique empirique pour une CI présumée, a étudié l'utilisation du T2C, du CAGTA et du BDG comme marqueurs prédictifs d'une évolution défavorable (172).

Contrairement au BDG et au CAGTA, le T2C était un marqueur indépendamment associé à un mauvais pronostic, avec une VPP de 100% et une VPN de 79,5%.

Les résultats de ces études confirment l'utilité indiscutable du T2C, notamment en termes pronostiques, chez des patients sous traitement antifongique, en association aux hémocultures.

e) Aspects économiques

Des premières études basées sur des modèles théoriques ont permis d'évaluer les économies possibles liées à l'utilisation du T2C (173,174).

Bilir *et al.* ont développé un arbre décisionnel permettant d'estimer les dépenses hospitalières et les conséquences cliniques de l'utilisation du T2C par rapport à l'hémoculture (173). La prévalence des candidémies, la distribution des espèces de *Candida*, les caractéristiques du test, l'utilisation des antifongiques et les différences de durée de séjour et de mortalité en fonction du délai d'initiation du traitement approprié ont été pris en compte. Ainsi, pour un taux de prévalence de 3% et un traitement empirique par micafungine, l'économie annuelle potentielle serait de presque 6 millions de \$ US en utilisant une stratégie de dépistage par T2C comparativement aux hémocultures. La dépense par patient testé a diminué de 1148 \$ US. Lors de cette étude, la mortalité globale a également diminué de 60,6% en utilisant le T2C comme stratégie de dépistage.

Un autre modèle, développé par Walker *et al.*, a confirmé l'économie possible liée à l'utilisation du T2C par rapport aux hémocultures (174). Son avantage majeur serait de permettre d'arrêter un traitement empirique inutile chez les patients à faible risque de CI. Différentes études cliniques ont d'ailleurs confirmé l'utilité du T2C dans la réduction du traitement antifongique empirique (175–178).

Les impacts clinique et économique de l'instauration de tests de diagnostic rapide pourraient être importants, de par la désescalade possible de traitements empiriques inutiles, la réduction des dépenses hospitalières et de la pression de sélection de résistance aux antifongiques.

DISCUSSION

A ce jour, le diagnostic biologique des CI repose sur la réalisation d'hémocultures et l'association de différents biomarqueurs sériques (3,100,113). La contribution de ces examens au diagnostic de CI en termes de sensibilité et de spécificité est variable, raison pour laquelle la majorité des experts recommandent leur utilisation de façon conjointe afin d'améliorer la fiabilité et la précocité du diagnostic. En effet, la positivité des biomarqueurs, tels que le BDG ou le Mn, ne suffit pas à elle seule pour poser le diagnostic de CI (98). Ces derniers participent cependant à documenter le niveau de certitude d'une CI. C'est dans ce contexte que la société T2Biosystems a développé le panel T2C, en vue de compenser la sensibilité imparfaite des hémocultures. En effet, le T2C permet de détecter des faibles charges fongiques rapportées à 1 UFC/mL.

Le T2C est basé sur une technologie innovante, la résonance magnétique T2, qui est hautement sensible. Il permet la détection et l'amplification de l'ADN de levures intactes, ainsi que la spéciation des 5 espèces *Candida* majoritaires en pathologie humaine. Cette technique étant entièrement automatisée et réalisée sur sang total, elle est simple et rapide de réalisation au laboratoire.

Sa sensibilité très importante, de 1 à 3 UFC/mL selon les espèces (144), est un atout majeur face aux méthodes conventionnelles qui ne permettent pas la détection de charges fongiques très faibles. De plus, contrairement à la culture, le T2C permet de détecter les levures viables et non viables. Elle reste donc efficace chez les patients sous traitement antifongique, pour lesquels la charge fongique est souvent diminuée et en grande partie non viable.

Lors d'études précliniques, le T2C a montré une sensibilité et une spécificité proches de 100% (144,154), avec une meilleure détection de *C. glabrata* par rapport aux flacons d'hémoculture aérobie BACTEC. Une nette amélioration du délai de détection des levures a également été observée en comparaison aux hémocultures, passant de plusieurs jours dans certains cas, à moins de 4 heures (154). La positivité du T2C a par ailleurs été rapportée à plusieurs reprises dans des échantillons sanguins enrichis

en antifongiques, ainsi que chez des patients sous traitement antifongique (5,138,144,145,155,157,161,166,167).

Certaines études ont évalué les performances du T2C *in vivo* et *in vitro*. Il s'agit de l'étude DIRECT1, qui porte sur des échantillons de patients septicémiques et des échantillons enrichis (5), qui a montré des sensibilité et spécificité de 91,1% et 99,4% respectivement. Les VPN estimées étaient également très importantes, y compris dans des populations à faible prévalence de candidémie, ce qui n'était pas le cas pour les VPP. En effet, pour une probabilité pré-test de 5%, la VPP a été estimée à 71,6%, alors qu'elle n'était que de 32,6% pour une probabilité pré-test de 1%. L'étude BIOPIC (142), concernant des échantillons d'enfants principalement candidémiques ainsi que des échantillons enrichis, a retrouvé une sensibilité inférieure, de 77,3% avec une spécificité de 97,2%. Dans cette étude comprenant 5,3% d'échantillons positifs, la VPP était également inférieure, à 60,7% avec une VPN de 99,7%.

Les études témoignant de l'utilisation en pratique clinique du T2C révèlent globalement des données de sensibilité inférieures à celles rapportées lors des études *in vitro* (156). Cependant les performances du T2C restent importantes. En effet, les données moyennes de sensibilité et de spécificité du T2C chez des patients candidémiques ont été estimées à 91 et 94% respectivement (137). Une étude ultérieure a cependant décrit des valeurs inférieures en comparant le T2C aux hémocultures fongiques (156). Les sensibilité/spécificité et VPP/VPN retrouvées, pour une prévalence de candidémie de 4,4%, étaient respectivement de 64,7%/95,6% et de 40,7%/98,5%.

Certains auteurs ont mis en lumière la contribution significative du T2C pour la détection des candidoses profondes, sans hémoculture positive associée (158,161,168). Ces observations révèlent une amélioration du délai diagnostique, ainsi que de la prise en charge globale des patients. Cependant lors d'études ciblant les patients atteints de CIA, la sensibilité du T2C, bien que plus importante que celle des hémocultures, reste faible, autour 30-35%. La spécificité du T2C dans ce contexte reste importante, de l'ordre de 93-98% (101,139,159,160).

Sa réalisation sur d'autres matrices, telles que le LCR et l'humeur aqueuse, constitue également un progrès permettant l'amélioration du diagnostic d'infections particulières, telles que les atteintes cérébrales ou oculaires (165,166).

Plusieurs auteurs ont analysé l'utilisation conjointe du T2C avec d'autres biomarqueurs. D'une part, l'association du T2C avec le Mn a été étudiée à plusieurs reprises (142,145,160). Cependant les performances diagnostiques de cette combinaison n'étaient pas significativement supérieures à l'utilisation du T2C seul. D'autre part, une amélioration du diagnostic des CIA a été observée lorsque le T2C est associé au BDG (101,139). En effet, bien que très spécifique dans les cas de candidoses profondes, le T2C a montré une faible sensibilité dans les CIA, contrairement au BDG, peu spécifique et très sensible. Leur utilisation conjointe permet alors d'obtenir des performances intéressantes dans le diagnostic de ces infections.

La forte VPN du T2C, quelle que soit la prévalence d'infection, permet d'exclure une CI et d'arrêter rapidement un traitement antifongique empirique ou pré-emptif (179,180). Un T2C négatif permet alors d'éviter des coûts hospitaliers et des effets indésirables liés aux antifongiques. Il permet également de diminuer la pression de sélection de mutants résistants aux antifongiques.

Son utilisation en tant que marqueur pronostique et de suivi a également été proposée par différents auteurs (167,168,171).

Chez le patient candidémique, le consensus international actuel prévoit une durée de traitement antifongique de 14 jours après la dernière hémoculture négative (148). Certains auteurs pensent pouvoir diminuer la durée de ce traitement en utilisant le T2C (168). Cet objectif pourrait être atteint par un suivi régulier des patients à hémoculture positive par le T2C, dont la sensibilité est reconnue pour détecter jusqu'à 1 cellule par mL. Ce panel pourrait contribuer à mieux évaluer la clairance totale des levures de la circulation sanguine, ayant pour conséquence une réduction de la durée de traitement. Cette dernière pourrait être définie à la suite de deux T2C séquentiels et négatifs.

Bien que prometteur, le T2C présente néanmoins des limites. Son utilisation concomitante aux hémocultures reste indispensable (178). En effet, l'isolement du champignon à partir de la culture permet la réalisation d'identification précise de l'espèce, notamment par MALDI-ToF, ainsi que l'évaluation de la sensibilité aux antifongiques. De plus, contrairement aux cultures, le T2C ne permet pas de détecter les infections polymicrobiennes. Il ne peut donc aujourd'hui se substituer aux cultures. Le second inconvénient réside dans le fait que le panel d'espèces identifiables par le T2C est relativement restreint. Détecter les 5 espèces majoritaires, peut conduire à une proportion non négligeable de résultats faussement négatifs. De plus, sa spéciation par paires limite la précision diagnostique.

Le T2C étant une technique très sensible, il a été rapporté la possibilité de contamination par la flore cutanée, qui surestime la proportion de *C. parapsilosis* détectée dans certaines études (157). Ceci renforce la nécessité d'asepsie cutanée avant tout prélèvement, ainsi que lors de la manipulation du tube. Ces cas de positivité à *C. parapsilosis*, notamment en pédiatrie, doivent faire l'objet d'une attention particulière.

Un pourcentage important (autour de 10%) de résultats invalides a été rapporté dans plusieurs études (5,138,142,156,160,172). Les justifications de l'invalidité de ces tests ne sont pas documentées. Parmi les raisons invoquées au laboratoire, il est souvent rapporté un volume sanguin inférieur à celui préconisé par le fabricant (5 mL). Cette contrainte limite l'utilisation de cet outil dans les populations pédiatriques et de néonatalogie.

En ce qui concerne les aspects économiques, le coût unitaire excessif (256,50€ par test), associé à des dates péremptions courtes des réactifs (77), rendent difficile son développement dans certains laboratoires, ainsi que la réalisation d'études. Il en est de même pour la maintenance de l'appareil, qui nécessite des interventions répétées et coûteuses, puisque le support technique n'est pas encore disponible en France.

Enfin, en pratique clinique, il est parfois difficile d'interpréter un résultat isolé de T2C (31,154,181), justifiant le maintien de l'hémoculture. Ainsi, un profil T2C positif et

hémoculture négative devrait inciter le biologiste à réaliser d'autres biomarqueurs pour documenter la probabilité d'une CI. Par ailleurs, un résultat de T2C négatif chez un patient à hémoculture positive a été rapporté chez des patients porteurs d'un cathéter colonisé par *Candida* (159).

De manière globale, il n'a pas été possible dans les études réalisées à ce jour de démontrer un impact réel et direct de l'utilisation du T2C sur la mortalité des CI. De même, certains auteurs ont émis l'hypothèse que les performances du T2C seraient meilleures dans les populations à forte prévalence de CI (143,179). Il est donc important que la prescription de ce test et l'interprétation des résultats tiennent compte de l'épidémiologie propre à chaque centre.

CONCLUSION

Le T2C est un test non fondé sur la culture qui, comme le BDG ou le Mn, doit être utilisé en complément des hémocultures. En association, le T2C et les biomarqueurs peuvent compenser la faible sensibilité des hémocultures et augmenter le niveau de certitude d'une CI.

Le T2C est désormais intégré aux critères mycologiques de l'EORTC, ce qui témoigne de son intérêt diagnostique dans les CI. Il peut être utilisé dans les différentes formes de candidoses, telles que les candidémies, les candidoses profondes ou les infections localisées particulières (méningites, vitrites...).

Le T2C doit être utilisé en connaissance de l'écologie et de l'épidémiologie locale. En effet, la VPP du T2C serait meilleure lorsque la prévalence de CI est élevée. L'utilisation de ce panel serait donc à privilégier dans les services de réanimation et de soins intensifs, où le risque de CI est important. L'association du T2C avec des biomarqueurs fongiques, d'inflammation ou d'infection, tels que la CRP ou la présepsine, pourrait permettre de mieux identifier les patients à très haut risque de CI, pouvant justifier d'un traitement pré-emptif en l'absence d'hémoculture positive (182,183).

ANNEXE

Classification des CI selon l'EORTC (102).

Prouvée	Probable	Possible
<ul style="list-style-type: none"> - Soit mise en évidence de levures à l'examen histologique, cytologique ou à l'examen direct microscopique de prélèvements obtenus par ponction ou biopsie (hormis les muqueuses) - Soit culture positive d'un échantillon provenant d'un site normalement stérile avec des signes cliniques et radiologiques compatibles avec une infection (hormis les prélèvements urinaires, sinusiens et des muqueuses) - Soit développement de levures à l'hémoculture - Soit une amplification de l'ADN fongique par PCR associée au séquençage de l'ADN lorsque des levures sont observées dans des tissus fixés au formol et inclus en paraffine. 	<ul style="list-style-type: none"> 1 critère d'hôte + 1 critère mycologique + 1 critère clinique 	<ul style="list-style-type: none"> 1 critère d'hôte + 1 critère clinique, sans preuves mycologiques

Critères d'hôte :

- Neutropénie < 500/mm³ pendant plus de 10 jours
- Hémopathie maligne
- Receveur d'allogreffe de CSH ou de greffe d'organe solide
- Corticoïdes > 0,3 mg/kg/j pendant > 3 semaines au cours des 2 derniers mois
- Traitement par d'autres immunosuppresseurs cellulaires T dans les 90 jours précédents (ciclosporine, anti TNF α , Ac monoclonal, analogue nucléosidique)
- Déficit immunitaire constitutionnel
- Maladie aiguë du greffon contre l'hôte de grade III ou IV touchant l'intestin, les poumons ou le foie et réfractaire au traitement de 1^{ère} intention par stéroïdes.

Critères cliniques :

Un de ces deux signes survenant dans les suites d'une candidémie dans les 15 jours :

- Micro abcès hépatiques ou spléniques (lésions en forme d'œil de bœuf) ou dans le cerveau ou augmentation des méninges
- Exsudats rétinien progressifs ou opacités vitréennes à l'examen ophtalmologique

Critère mycologique :

- BDG sérique (Fungitell) \geq 80 ng/mL dans au moins 2 échantillons de sérum consécutifs
- T2Candida positif

BIBLIOGRAPHIE

1. The French Mycosis Study Group, Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, Madec Y, Denoeud-Ndam L, et al. Worrying trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002–2010). *Intensive Care Med.* sept 2014;40(9):1303-12.
2. Puig-Asensio M, Padilla B, Garnacho-Montero J, Zaragoza O, Aguado JM, Zaragoza R, et al. Epidemiology and predictive factors for early and late mortality in *Candida* bloodstream infections: a population-based surveillance in Spain. *Clin Microbiol Infect.* avr 2014;20(4):O245-54.
3. Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. *Campion EW, éditeur. N Engl J Med.* 8 oct 2015;373(15):1445-56.
4. 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.
5. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, et al. T2 Magnetic Resonance Assay for the Rapid Diagnosis of Candidemia in Whole Blood: A Clinical Trial. *Clin Infect Dis.* 15 mars 2015;60(6):892-9.
6. Ripert C. *Mycologie médicale.* Paris: Tec & doc-Lavoisier; 2013.
7. Kidd SE, Chen SCA, Meyer W, Halliday CL. A New Age in Molecular Diagnostics for Invasive Fungal Disease: Are We Ready? *Front Microbiol.* 14 janv 2020;10:2903.
8. Thompson DS, Carlisle PL, Kadosh D. Coevolution of Morphology and Virulence in *Candida* Species. *Eukaryot Cell.* sept 2011;10(9):1173-82.
9. Ruiz-Herrera J, Victoria Elorza M, Valentín E, Sentandreu R. Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS Yeast Res.* janv 2006;6(1):14-29.
10. Gow NAR, van de Veerdonk FL, Brown AJP, Netea MG. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nat Rev Microbiol.* févr 2012;10(2):112-22.
11. Pappas PG. Invasive Candidiasis. *Infect Dis Clin North Am.* sept 2006;20(3):485-506.
12. Koenig H. *Guide de Mycologie Médicale.* Paris: Ellipses; 1995. 284 p.
13. Develoux M, Bretagne S. *Candidoses et levures diverses.* EMC - Mal Infect. janv 2005;2(3):1-15.
14. J-P Bouchara, Pihet M, De Gentile L, Cimon B, Chabasse D. *Les levures et levures.* Paris: Bioforma; 2010. 200 p.
15. Bognoux ME, Kac G, Aegerter P, d'Enfert C, Fagon JY, CandiRea Study Group. Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. *Intensive Care Med.* févr 2008;34(2):292-9.
16. Suleyman G, Alangaden GJ. Nosocomial Fungal Infections. *Infect Dis Clin North Am.* déc 2016;30(4):1023-52.
17. Gonzalez-Lara MF, Ostrosky-Zeichner L. Invasive Candidiasis. *Semin Respir Crit Care Med.* févr 2020;41(01):003-12.
18. López-Ciudad V, Castro-Orjales MJ, León C, Sanz-Rodríguez C, de la Torre-Fernández MJ, de Juan-Romero MAP, et al. Successful treatment of *Candida parapsilosis* mural endocarditis with combined caspofungin and voriconazole. *BMC*

Infect Dis. déc 2006;6(1):73.

19. Bassetti M, Marchetti M, Chakrabarti A, Colizza S, Garnacho-Montero J, Kett DH, et al. A research agenda on the management of intra-abdominal candidiasis: results from a consensus of multinational experts. *Intensive Care Med.* déc 2013;39(12):2092-106.

20. Charles PE, Large A, Quenot JP, Dalle F. Épidémiologie des candidoses invasives en France. *Réanimation.* mai 2016;25(S2):37-43.

21. Tortorano AM, Caspani L, Rigoni AL, Biraghi E, Sicignano A, Viviani MA. Candidosis in the intensive care unit: a 20-year survey. *J Hosp Infect.* mai 2004;57(1):8-13.

22. McCarty TP, Pappas PG. Invasive Candidiasis. *Infect Dis Clin North Am.* mars 2016;30(1):103-24.

23. Arendrup MC. Epidemiology of invasive candidiasis: *Curr Opin Crit Care.* oct 2010;16(5):445-52.

24. Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA, et al. Risk Factors for Candidal Bloodstream Infections in Surgical Intensive Care Unit Patients: The NEMIS Prospective Multicenter Study. *Clin Infect Dis.* 15 juill 2001;33(2):177-86.

25. Poissy J, Damonti L, Bignon A, Khanna N, Von Kietzell M, Boggian K, et al. Risk factors for candidemia: a prospective matched case-control study. *Crit Care.* déc 2020;24(1):109.

26. Eggimann P, Bille J, Marchetti O. Diagnosis of invasive candidiasis in the ICU. *Ann Intensive Care.* déc 2011;1(1):37.

27. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis.* nov 2003;3(11):685-702.

28. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Álvarez-Lerma F, et al. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization*: *Crit Care Med.* mars 2006;34(3):730-7.

29. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Galván B, Blanco A, Castro C, et al. Usefulness of the "Candida score" for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: A prospective multicenter study: *Crit Care Med.* mai 2009;37(5):1624-33.

30. Hermsen ED, Zapapas MK, Maiefski M, Rupp ME, Freifeld AG, Kalil AC. Validation and comparison of clinical prediction rules for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a matched case-control study. *Crit Care.* 2011;15(4):R198.

31. Logan C, Martin-Loeches I, Bicanic T. Invasive candidiasis in critical care: challenges and future directions. *Intensive Care Med.* nov 2020;46(11):2001-14.

32. Pittet D, Frenk E. *Candida* Colonization and Subsequent Infections in Critically Ill Surgical Patients. 1994;220(6):8.

33. Ostrosky-Zeichner L, Pappas PG, Shoham S, Reboli A, Barron MA, Sims C, et al. Improvement of a clinical prediction rule for clinical trials on prophylaxis for invasive candidiasis in the intensive care unit: Prediction rule for *Candida* in ICU. *Mycoses.* janv 2011;54(1):46-51.

34. Cleveland AA, Harrison LH, Farley MM, Hollick R, Stein B, Chiller TM, et al. Declining Incidence of Candidemia and the Shifting Epidemiology of *Candida* Resistance in Two US Metropolitan Areas, 2008–2013: Results from Population-Based Surveillance. Chowdhary A, éditeur. *PLOS ONE.* 30 mars

2015;10(3):e0120452.

35. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Clin Infect Dis.* 1 août 2004;39(3):309-17.
36. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med.* févr 2002;28(2):108-21.
37. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clin Microbiol Rev.* janv 2007;20(1):133-63.
38. Koehler P, Stecher M, Cornely OA, Koehler D, Vehreschild MJGT, Bohlius J, et al. Morbidity and mortality of candidaemia in Europe: an epidemiologic meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* oct 2019;25(10):1200-12.
39. Bassetti M, Giacobbe DR, Vena A, Trucchi C, Ansaldi F, Antonelli M, et al. Incidence and outcome of invasive candidiasis in intensive care units (ICUs) in Europe: results of the EUCANDICU project. *Crit Care.* déc 2019;23(1):219.
40. Gauzit R. Epidémiologie des candidoses invasives en réanimation : dernières données. *Réanimation.* sept 2008;17(6):1-3.
41. Nguyen M, Clancy C. Intra-abdominal candidiasis is underrecognized, but is the most common type of invasive candidiasis and results in poor outcomes [Internet]. Conférence présenté à: Program and abstracts of the 52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 2012; San Francisco. Disponible sur: https://www.aspergillus.org.uk/conference_abstracts/intra-abdominal-candidiasis-iac-is-under-recognized-but-is-the-most-common-type-of-invasive-candidiasis-ic-and-results-in-poor-outcomes/?sfw=pass1646211876
42. Leroy O, Gangneux JP, Montravers P, Mira JP, Gouin F, Sollet JP, et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: A multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006): *Crit Care Med.* mai 2009;37(5):1612-8.
43. Pfaller MA, Diekema DJ, Turnidge JD, Castanheira M, Jones RN. Twenty Years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: Results for *Candida* Species From 1997–2016. *Open Forum Infect Dis.* 15 mars 2019;6(Supplement_1):S79-94.
44. Lamoth F, Lockhart SR, Berkow EL, Calandra T. Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. *J Antimicrob Chemother.* 1 janv 2018;73(suppl_1):i4-13.
45. Matsumoto E, Boyken L, Tendolkar S, McDanel J, Castanheira M, Pfaller M, et al. Candidemia surveillance in Iowa: emergence of echinocandin resistance. *Diagn Microbiol Infect Dis.* juin 2014;79(2):205-8.
46. Astvad KMT, Johansen HK, Røder BL, Rosenvinge FS, Knudsen JD, Lemming L, et al. Update from a 12-Year Nationwide Fungemia Surveillance: Increasing Intrinsic and Acquired Resistance Causes Concern. Diekema DJ, éditeur. *J Clin Microbiol* [Internet]. avr 2018 [cité 14 déc 2021];56(4). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01564-17>
47. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* Species to Fluconazole and Voriconazole as Determined by CLSI Standardized Disk Diffusion. *J Clin Microbiol.* avr 2010;48(4):1366-77.
48. Klingspor L, Tortorano AM, Peman J, Willinger B, Hamal P, Sendid B, et al. Invasive *Candida* infections in surgical patients in intensive care units: a prospective,

- multicentre survey initiated by the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) (2006–2008). *Clin Microbiol Infect.* janv 2015;21(1):87.e1-87.e10.
49. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, et al. Epidemiology of Candidaemia in Europe: Results of 28-Month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Hospital-Based Surveillance Study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1 avr 2004;23(4):317-22.
 50. Bitar D, Lortholary O, Dromer F, Coignard B, Che D. Mycoses invasives en France métropolitaine, PMSI 2001-2010 : incidence, létalité et tendances. :6.
 51. Baldesi O, Bailly S, Ruckly S, Lepape A, L'Heriteau F, Aupee M, et al. ICU-acquired candidaemia in France: Epidemiology and temporal trends, 2004–2013 – A study from the REA-RAISIN network. *J Infect.* juill 2017;75(1):59-67.
 52. AmarCAND2 study group, Leroy O, Bailly S, Gangneux JP, Mira JP, Devos P, et al. Systemic antifungal therapy for proven or suspected invasive candidiasis: the AmarCAND 2 study. *Ann Intensive Care.* déc 2016;6(1):2.
 53. Bailly S, Maubon D, Fournier P, Pelloux H, Schwebel C, Chapuis C, et al. Impact of antifungal prescription on relative distribution and susceptibility of *Candida* spp. – Trends over 10 years. *J Infect.* janv 2016;72(1):103-11.
 54. 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. *Crit Care.* 2014;18(3):R135.
 55. Bretagne S, Sitbon K, Desnos-Ollivier M, Garcia-Hermoso D, Letscher-Bru V, Cassaing S, et al. Active Surveillance Program to Increase Awareness on Invasive Fungal Diseases: the French RESSIF Network (2012 to 2018). Chiller T, éditeur. *mBio.* 2 mai 2022;e00920-22.
 56. Dupont H, Bourichon A, Paugam-Burtz C, Mantz J, Desmots JM. Can yeast isolation in peritoneal fluid be predicted in intensive care unit patients with peritonitis*?. *Crit Care Med.* mars 2003;31(3):752-7.
 57. Montravers P, Dupont H, Gauzit R, Veber B, Auboyer C, Blin P, et al. *Candida* as a risk factor for mortality in peritonitis*: *Crit Care Med.* mars 2006;34(3):646-52.
 58. Montravers P, Dupont H, Eggimann P. Intra-abdominal candidiasis: the guidelines—forgotten non-candidemic invasive candidiasis. *Intensive Care Med.* déc 2013;39(12):2226-30.
 59. Montravers P, Dufour G, Guglielminotti J, Desmard M, Muller C, Houissa H, et al. Dynamic changes of microbial flora and therapeutic consequences in persistent peritonitis. *Crit Care.* déc 2015;19(1):70.
 60. Falagas ME, Apostolou KE, Pappas VD. Attributable mortality of candidemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* juill 2006;25(7):419-25.
 61. Kollef M, Micek S, Hampton N, Doherty JA, Kumar A. Septic Shock Attributed to *Candida* Infection: Importance of Empiric Therapy and Source Control. *Clin Infect Dis.* 15 juin 2012;54(12):1739-46.
 62. Puig-Asensio M, Pemán J, Zaragoza R, Garnacho-Montero J, Martín-Mazuelos E, Cuenca-Estrella M, et al. Impact of Therapeutic Strategies on the Prognosis of Candidemia in the ICU*: *Crit Care Med.* juin 2014;42(6):1423-32.
 63. Anttila VJ, Ruutu P, Bondestam S, Jansson SE, Nordling S, Farkkila M, et al. Hepatosplenic Yeast Infection in Patients with Acute Leukemia: A Diagnostic Problem. *Clin Infect Dis.* 1 juin 1994;18(6):979-81.
 64. Hot A, Maunoury C, Poiree S, Lanternier F, Viard JP, Loulergue P, et al.

- Diagnostic contribution of positron emission tomography with [18F]fluorodeoxyglucose for invasive fungal infections. *Clin Microbiol Infect.* mars 2011;17(3):409-17.
65. Pizzi MN, Roque A, Fernández-Hidalgo N, Cuéllar-Calabria H, Ferreira-González I, González-Alujas MT, et al. Improving the Diagnosis of Infective Endocarditis in Prosthetic Valves and Intracardiac Devices With ¹⁸F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography Angiography: Initial Results at an Infective Endocarditis Referral Center. *Circulation.* 22 sept 2015;132(12):1113-26.
 66. Pizzi MN, Dos-Subirà L, Roque A, Fernández-Hidalgo N, Cuéllar-Calabria H, Pijuan Domènech A, et al. 18 F-FDG-PET/CT angiography in the diagnosis of infective endocarditis and cardiac device infection in adult patients with congenital heart disease and prosthetic material. *Int J Cardiol.* déc 2017;248:396-402.
 67. Cornely OA, Bangard C, Jaspers NJ. Hepatosplenic candidiasis: Hepatosplenic Candidiasis. *Clin Liver Dis.* août 2015;6(2):47-50.
 68. Sinha BK, Monga DP, Prasad S. A combination of Gomori-Grocott methenamine silver nitrate and hematoxyline and eosin staining technique for the demonstration of *Candida albicans* in tissue. *Quad Sclavo Diagn.* déc 1988;24(1-4):129-32.
 69. Kędzierska A, Kochan P, Pietrzyk A, Kędzierska J. Current status of fungal cell wall components in the immunodiagnosics of invasive fungal infections in humans: galactomannan, mannan and (1→3)-β-D-glucan antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 10 oct 2007;26(11):755-66.
 70. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed? *J Clin Microbiol.* nov 2007;45(11):3546-8.
 71. Schell WA, Benton JL, Smith PB, Poore M, Rouse JL, Boles DJ, et al. Evaluation of a digital microfluidic real-time PCR platform to detect DNA of *Candida albicans* in blood. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* sept 2012;31(9):2237-45.
 72. Riedel S, Eisinger SW, Dam L, Stamper PD, Carroll KC. Comparison of BD Bactec Plus Aerobic/F Medium to VersaTREK Redox 1 Blood Culture Medium for Detection of *Candida* spp. in Seeded Blood Culture Specimens Containing Therapeutic Levels of Antifungal Agents. *J Clin Microbiol.* 1 avr 2011;49(4):1524-9.
 73. Stone NRH, Gorton RL, Barker K, Ramnarain P, Kibbler CC. Evaluation of PNA-FISH Yeast Traffic Light for Rapid Identification of Yeast Directly from Positive Blood Cultures and Assessment of Clinical Impact. *J Clin Microbiol.* avr 2013;51(4):1301-2.
 74. Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev.* juill 2013;26(3):547-603.
 75. Criseo G, Scordino F, Romeo O. Current methods for identifying clinically important cryptic *Candida* species. *J Microbiol Methods.* avr 2015;111:50-6.
 76. De Carolis E, Vella A, Florio AR, Posteraro P, Perlin DS, Sanguinetti M, et al. Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Caspofungin Susceptibility Testing of *Candida* and *Aspergillus* Species. *J Clin Microbiol.* 1 juill 2012;50(7):2479-83.
 77. Pitarch A, Nombela C, Gil C. Diagnosis of Invasive Candidiasis: From Gold Standard Methods to Promising Leading-edge Technologies. *Curr Top Med Chem.* 26 nov 2018;18(16):1375-92.
 78. Chen YC, Eisner JD, Kattar MM, Rassouljian-Barrett SL, Lafe K, Yarfitz SL, et al. Identification of Medically Important Yeasts Using PCR-Based Detection of DNA

- Sequence Polymorphisms in the Internal Transcribed Spacer 2 Region of the rRNA Genes. *J CLIN MICROBIOL.* 2000;38:9.
79. Boyanton, Jr BL, Luna RA, Fasciano LR, Menne KG, Versalovic J. DNA Pyrosequencing–Based Identification of Pathogenic *Candida* Species by Using the Internal Transcribed Spacer 2 Region. *Arch Pathol Lab Med.* 1 avr 2008;132(4):667-74.
 80. Iwen PC, Hinrichs SH, Rupp ME. Utilization of the internal transcribed spacer regions as molecular targets to detect and identify human fungal pathogens. *Med Mycol.* 2002;23.
 81. Ellepola ANB, Morrison CJ. Laboratory Diagnosis of Invasive Candidiasis. *J Microbiol.* 43:20.
 82. Bogard M. *Biologie moléculaire en biologie clinique.* Amsterdam; New York: Elsevier; 1998.
 83. Khelif M, Sellami H, Sellami A, Makni F, Cheikhrouhou F, Chelly H, et al. Detection and identification of *Candida* sp. by PCR in candidemia diagnosis. *J Mycol Médicale.* déc 2007;17(4):256-60.
 84. Wellinghausen N, Siegel D, Winter J, Gebert S. Rapid diagnosis of candidaemia by real-time PCR detection of *Candida* DNA in blood samples. *J Med Microbiol.* 1 août 2009;58(8):1106-11.
 85. Klingspor L, Jalal S. Molecular detection and identification of *Candida* and *Aspergillus* spp. from clinical samples using real-time PCR. *Clin Microbiol Infect.* août 2006;12(8):745-53.
 86. Li YL, Leaw SN, Chen JH, Chang HC, Chang TC. Rapid Identification of Yeasts Commonly Found in Positive Blood Cultures by Amplification of the Internal Transcribed Spacer Regions 1 and 2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1 nov 2003;22(11):693-6.
 87. Khelif M, Mary C, Sellami H, Sellami A, Dumon H, Ayadi A, et al. Evaluation of nested and real-time PCR assays in the diagnosis of candidaemia. *Clin Microbiol Infect.* juill 2009;15(7):656-61.
 88. Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics. *Nat Rev Genet.* juin 2019;20(6):341-55.
 89. Meyer W, Irinyi L, Hoang MTV, Robert V, Garcia-Hermoso D, Desnos-Ollivier M, et al. Database establishment for the secondary fungal DNA barcode *translational elongation factor 1 α* (*TEF1 α*). Xu J, éditeur. *Genome.* mars 2019;62(3):160-9.
 90. Hoang MTV, Irinyi L, Chen SCA, Sorrell TC, Meyer W, The ISHAM Barcoding of Medical Fungi Working Group. Dual DNA Barcoding for the Molecular Identification of the Agents of Invasive Fungal Infections. *Front Microbiol.* 18 juill 2019;10:1647.
 91. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol.* sept 2017;35(9):833-44.
 92. Sharpton TJ. An introduction to the analysis of shotgun metagenomic data. *Front Plant Sci* [Internet]. 16 juin 2014 [cité 19 avr 2022];5. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2014.00209/abstract>
 93. Donovan PD, Gonzalez G, Higgins DG, Butler G, Ito K. Identification of fungi in shotgun metagenomics datasets. Nielsen K, éditeur. *PLOS ONE.* 14 févr 2018;13(2):e0192898.
 94. *Métagénomique shotgun* [Internet]. [cité 25 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.france-genomique.org/expertises-technologiques/metagenomique/metagenomique-shotgun/>
 95. 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.* 3 sept 2021;59(9):882-9.

96. Hanson KE, Pfeiffer CD, Lease ED, Balch AH, Zaas AK, Perfect JR, et al. β -D-glucan Surveillance with Preemptive Anidulafungin for Invasive Candidiasis in Intensive Care Unit Patients: A Randomized Pilot Study. Wang P, éditeur. *PLoS ONE.* 6 août 2012;7(8):e42282.

97. 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.* 2018;56(9):12.

98. Clancy C, Nguyen MH. Non-Culture Diagnostics for Invasive Candidiasis: Promise and Unintended Consequences. *J Fungi.* 19 févr 2018;4(1):27.

99. Haydour Q, Hage CA, Carmona EM, Epelbaum O, Evans SE, Gabe LM, et al. Diagnosis of Fungal Infections. A Systematic Review and Meta-Analysis Supporting American Thoracic Society Practice Guideline. *Ann Am Thorac Soc.* sept 2019;16(9):1179-88.

100. Martin-Loeches I, Antonelli M, Cuenca-Estrella M, Dimopoulos G, Einav S, De Waele JJ, et al. ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive Care Med.* juin 2019;45(6):789-805.

101. Lamoth F, Clancy CJ, Tissot F, Squires K, Eggimann P, Flückiger U, et al. Performance of the T2Candida Panel for the Diagnosis of Intra-abdominal Candidiasis. *Open Forum Infect Dis.* 1 mars 2020;7(3):ofaa075.

102. 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. *Clin Infect Dis.* 12 sept 2020;71(6):1367-76.

103. Bassetti M, Giacobbe DR, Vena A, Wolff M. Diagnosis and Treatment of Candidemia in the Intensive Care Unit. *Semin Respir Crit Care Med.* août 2019;40(04):524-39.

104. Poissy J, Parmentier-Decrucq E, Sendid B, Mathieu D, Poulain D. Nouveaux marqueurs pour le diagnostic de la maladie fongique invasive. *Réanimation.* mai 2014;23(3):298-308.

105. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C, the Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Crit Care.* 2010;14(6):R222.

106. Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: diagnostic procedures. *Clin Microbiol Infect.* déc 2012;18:9-18.

107. 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. *Diagn Microbiol Infect Dis.* févr 2005;51(2):95-101.

108. Martínez-Jiménez MC, Muñoz P, Guinea J, Valerio M, Alonso R, Escribano P, et al. Potential role of Candida albicans germ tube antibody in the diagnosis of deep-seated candidemia. *Med Mycol.* 1 avr 2014;52(3):270-5.

109. Wei S, Wu T, Wu Y, Ming D, Zhu X. Diagnostic accuracy of Candida albicans germ tube antibody for invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* avr 2019;93(4):339-45.

110. Fortun J, Meije Y, Buitrago MJ, Gago S, Bernal-Martinez L, Peman J, et al. Clinical validation of a multiplex real-time PCR assay for detection of invasive candidiasis in intensive care unit patients. *J Antimicrob Chemother.* 1 nov 2014;69(11):3134-41.
111. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Castro C, Loza, Zakariya I, et al. Contribution of *Candida* biomarkers and DNA detection for the diagnosis of invasive candidiasis in ICU patients with severe abdominal conditions. *Crit Care.* déc 2016;20(1):149.
112. Parra-Sánchez M, Zakariya-Yousef Breval I, Castro Méndez C, García-Rey S, Loza Vazquez A, Úbeda Iglesias A, et al. *Candida albicans* Germ-Tube Antibody: Evaluation of a New Automatic Assay for Diagnosing Invasive Candidiasis in ICU Patients. *Mycopathologia.* août 2017;182(7-8):645-52.
113. Haute Autorité de Santé. Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic des candidoses invasives. 2017;123.
114. Díez A, Carrano G, Bregón-Villahoz M, Cuétara MS, García-Ruiz JC, Fernandez-de-Larriñoa I, et al. Biomarkers for the diagnosis of invasive candidiasis in immunocompetent and immunocompromised patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* nov 2021;101(3):115509.
115. Sendid B, Poissy J, François N, Mery A, Courtecuisse S, Krzewinski F, et al. Preliminary evidence for a serum disaccharide signature of invasive *Candida albicans* infection detected by MALDI Mass Spectrometry. *Clin Microbiol Infect.* janv 2015;21(1):88.e1-88.e6.
116. Mery A, Jawhara S, François N, Cornu M, Poissy J, Martinez-Esparza M, et al. Identification of fungal trehalose for the diagnosis of invasive candidiasis by mass spectrometry. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj.* avr 2022;1866(4):130083.
117. Zaragoza O, Gonzalez-Parraga P, Pedreno Y, Alvarez-Peral FJ, Argüelles JC. Trehalose accumulation induced during the oxidative stress response is independent of TPS1 mRNA levels in *Candida albicans*. *Int Microbiol.* 1 juin 2003;6(2):121-5.
118. Argüelles JC. Thermotolerance and trehalose accumulation induced by heat shock in yeast cells of *Candida albicans*. *FEMS Microbiol Lett.* 17 janv 2006;146(1):65-71.
119. Alvarez-Peral FJ, Zaragoza O, Pedreno Y, Argüelles JC. Protective role of trehalose during severe oxidative stress caused by hydrogen peroxide and the adaptive oxidative stress response in *Candida albicans*. *Microbiology.* 1 août 2002;148(8):2599-606.
120. Mery A, Sendid B, François N, Cornu M, Poissy J, Guerardel Y, et al. Application of Mass Spectrometry Technology to Early Diagnosis of Invasive Fungal Infections. Diekema DJ, éditeur. *J Clin Microbiol.* nov 2016;54(11):2786-97.
121. 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. Warnock DW, éditeur. *J Clin Microbiol* [Internet]. mai 2019 [cité 28 févr 2022];57(5). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01867-18>
122. Sepsitest™-UMD: Unbiased rDNA PCR Pathogen Diagnosis [Internet]. [cité 26 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.molzym.com/molzym-blog/categories/molecular-diagnostics/166-sepsitest-umd-unbiased-rdna-pcr-pathogen-diagnosis>
123. Ingenetix. MycoReal Fungi [Internet]. 2017 [cité 26 avr 2022]. Disponible sur:

[https://www.ingenetix.com/wp-](https://www.ingenetix.com/wp-content/uploads/2018/12/MycoReal_Fungi_ingenetix_LightCycler2_Manual_v1_3e.pdf)

[content/uploads/2018/12/MycoReal_Fungi_ingenetix_LightCycler2_Manual_v1_3e.pdf](https://www.ingenetix.com/wp-content/uploads/2018/12/MycoReal_Fungi_ingenetix_LightCycler2_Manual_v1_3e.pdf)

124. Ingenetix. Product description : MycoReal Candida [Internet]. 2018 [cité 26 avr 2022]. Disponible sur: https://www.ingenetix.com/wp-content/uploads/2018/12/MycoReal_Candida_ingenetix_Description_v3-2e.pdf
125. Westh H, Lisby G, Breyse F, Bøddinghaus B, Chomarat M, Gant V, et al. Multiplex real-time PCR and blood culture for identification of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis. *Clin Microbiol Infect.* juin 2009;15(6):544-51.
126. Metzgar D, Frinder MW, Rothman RE, Peterson S, Carroll KC, Zhang SX, et al. The IRIDICA BAC BSI Assay: Rapid, Sensitive and Culture-Independent Identification of Bacteria and Candida in Blood. Chaturvedi V, éditeur. *PLOS ONE.* 6 juill 2016;11(7):e0158186.
127. Valero C, de la Cruz-Villar L, Zaragoza Ó, Buitrago MJ. New Panfungal Real-Time PCR Assay for Diagnosis of Invasive Fungal Infections. Warnock DW, éditeur. *J Clin Microbiol.* déc 2016;54(12):2910-8.
128. Cabrera AG, Carrero-Lérida J, Azrak S, Sevilla AO, Díaz JCR. Sepsis Flow CHIP: A new molecular system for simultaneous detection of the main pathogens responsible for nosocomial infections. :1.
129. Metzgar D, Frinder M, Lovari R, Toleno D, Massire C, Blyn LB, et al. Broad-Spectrum Biosensor Capable of Detecting and Identifying Diverse Bacterial and Candida Species in Blood. *J Clin Microbiol.* août 2013;51(8):2670-8.
130. Camp I, Spettel K, Willinger B. Molecular Methods for the Diagnosis of Invasive Candidiasis. *J Fungi.* 6 juill 2020;6(3):101.
131. Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR Diagnosis of Invasive Candidiasis: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Microbiol.* févr 2011;49(2):665-70.
132. Nguyen MH, Wissel MC, Shields RK, Salomoni MA, Hao B, Press EG, et al. Performance of Candida Real-time Polymerase Chain Reaction, -D-Glucan Assay, and Blood Cultures in the Diagnosis of Invasive Candidiasis. *Clin Infect Dis.* 1 mai 2012;54(9):1240-8.
133. Clancy CJ, Nguyen MH. Rapid diagnosis of invasive candidiasis: ready for prime-time? *Curr Opin Infect Dis.* déc 2019;32(6):546-52.
134. Arvanitis M, Anagnostou T, Fuchs BB, Caliendo AM, Mylonakis E. Molecular and Nonmolecular Diagnostic Methods for Invasive Fungal Infections. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):37.
135. Hou TY, Wang SH, Liang SX, Jiang WX, Luo DD, Huang DH. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. Wormley FL, éditeur. *PLOS ONE.* 6 juill 2015;10(7):e0131602.
136. Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, Castagnola E, Lortholary O, Richardson M, et al. -Glucan Antigenemia Assay for the Diagnosis of Invasive Fungal Infections in Patients With Hematological Malignancies: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies From the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). *Clin Infect Dis.* 1 mars 2012;54(5):633-43.
137. Tang DL, Chen X, Zhu CG, Li Z wei, Xia Y, Guo XG. Pooled analysis of T2 Candida for rapid diagnosis of candidiasis. *BMC Infect Dis.* déc 2019;19(1):798.
138. Clancy CJ, Pappas PG, Vazquez J, Judson MA, Kontoyiannis DP, Thompson GR, et al. Detecting Infections Rapidly and Easily for Candidemia Trial, Part 2 (DIRECT2): A Prospective, Multicenter Study of the T2Candida Panel. *Clin Infect Dis.*

17 mai 2018;66(11):1678-86.

139. Krifors A, Ullberg M, Castegren M, Petersson J, Sparrelid E, Hammarström H, et al. T2Candida Assay in the Diagnosis of Intraabdominal Candidiasis: A Prospective Multicenter Study. *J Fungi*. 16 janv 2022;8(1):86.

140. Product Pipeline, Innovative T2MR® applications currently in development [Internet]. [cité 26 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.t2biosystems.com/products-technology-ous/pipeline-ous/>

141. Hamula CL, Hughes K, Fisher BT, Zaoutis TE, Singh IR, Velegiraki A. T2Candida Provides Rapid and Accurate Species Identification in Pediatric Cases of Candidemia. *Am J Clin Pathol*. juin 2016;145(6):858-61.

142. Fisher BT, Boge CLK, Xiao R, Shuster S, Chin-Quee D, Allen J, et al. Multicenter Prospective Study of Biomarkers for Diagnosis of Invasive Candidiasis in Children and Adolescents. *Clin Infect Dis*. 20 janv 2022;ciab928.

143. Zacharioudakis I, Zervou F, Mylonakis E. T2 Magnetic Resonance Assay: Overview of Available Data and Clinical Implications. *J Fungi*. 4 avr 2018;4(2):45.

144. Neely LA, Audeh M, Phung NA, Min M, Suchocki A, Plourde D, et al. T2 Magnetic Resonance Enables Nanoparticle-Mediated Rapid Detection of Candidemia in Whole Blood. *Sci Transl Med* [Internet]. 24 avr 2013 [cité 2 déc 2021];5(182). Disponible sur: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3005377>

145. Arendrup MC, Andersen JS, Holten MK, Krarup KB, Reiter N, Schierbeck J, et al. Diagnostic Performance of T2Candida Among ICU Patients With Risk Factors for Invasive Candidiasis. *Open Forum Infect Dis*. 1 mai 2019;6(5):ofz136.

146. Clancy CJ, Nguyen MH. Diagnosing Invasive Candidiasis. Kraft CS, éditeur. *J Clin Microbiol* [Internet]. mai 2018 [cité 2 déc 2021];56(5). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01909-17>

147. T2Biosystems Inc. A Rapid, Direct-from-Blood Diagnostic to Address Infections from Multidrug Resistant Organisms [Internet]. Youtube. [cité 26 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.youtube.com/watch?v=XqVPI4FqFlo>

148. 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. *Clin Infect Dis*. 15 févr 2016;62(4):e1-50.

149. Montravers P, Desmard M, Dufour G. Candidémies en réanimation. 52 Congrès Natl D'anesthésie Réanimation. 2010;13.

150. Dromer F, Bretagne S, Lortholary O. Rapport annuel d'activité 2020 [Internet]. Institut Pasteur; 2019 Année d'exercice. (Centre National de Référence Mycoses invasives et Antifongiques). Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/file/39845/download>

151. Sexton DJ, Bentz ML, Welsh RM, Litvintseva AP. Evaluation of a new T2 Magnetic Resonance assay for rapid detection of emergent fungal pathogen *Candida auris* on clinical skin swab samples. *Mycoses*. oct 2018;61(10):786-90.

152. Manning B, Snyder JL, Chang B, Shivers RP, Higa T, Wong C, et al. Automated Detection of *Candida auris* Direct from Whole Blood and Swab Specimens by T2MR. :1.

153. Sexton DJ, Bentz ML, Welsh RM, Litvintseva AP. Evaluation of a new T2 Magnetic Resonance assay for rapid detection of emergent fungal pathogen *Candida auris* on clinical skin swab samples. *Mycoses*. oct 2018;61(10):786-90.

154. Beyda ND, Alam MJ, Garey KW. Comparison of the T2Dx instrument with T2Candida assay and automated blood culture in the detection of *Candida* species

- using seeded blood samples. *Diagn Microbiol Infect Dis.* déc 2013;77(4):324-6.
155. Beyda ND, Amadio J, Rodriguez JR, Malinowski K, Garey KW, Wanger A, et al. *In Vitro* Evaluation of BacT/Alert FA Blood Culture Bottles and T2Candida Assay for Detection of Candida in the Presence of Antifungals. Diekema DJ, éditeur. *J Clin Microbiol* [Internet]. août 2018 [cité 2 déc 2021];56(8). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00471-18>
156. Bomkamp JP, Sulaiman R, Hartwell JL, Desai A, Winn VC, Wrin J, et al. Evaluation of a Rapid Fungal Detection Panel for Identification of Candidemia at an Academic Medical Center. Hanson KE, éditeur. *J Clin Microbiol* [Internet]. 24 févr 2020 [cité 2 déc 2021];58(3). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01408-19>
157. Steuber TD, Butler L, Sawyer A, Chappell R, Edwards J. Comparison of blood cultures versus T2 Candida Panel in management of candidemia at a large community hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* mai 2021;40(5):997-1001.
158. Pfaller MA, Wolk DM, Lowery TJ. T2MR and T2Candida: novel technology for the rapid diagnosis of candidemia and invasive candidiasis. *Future Microbiol.* janv 2016;11(1):103-17.
159. Zurl C, Prattes J, Zollner-Schwetz I, Valentin T, Rabensteiner J, Wunsch S, et al. T2Candida magnetic resonance in patients with invasive candidiasis: Strengths and limitations. *Med Mycol.* 1 juill 2020;58(5):632-8.
160. Helweg-Larsen J, Steensen M, Møller Pedersen F, Bredahl Jensen P, Perch M, Møller K, et al. Intensive Care Antifungal Stewardship Programme Based on T2Candida PCR and Candida Mannan Antigen: A Prospective Study. *J Fungi.* 6 déc 2021;7(12):1044.
161. Fortún J, Gioia F, Muñoz P, Graus J, Gómez-García de la Pedrosa E, Martín-Dávila P, et al. T2 magnetic resonance for the diagnosis of deep-seated invasive candidiasis in a liver recipient without candidemia. *Rev Iberoam Micol.* juill 2018;35(3):159-61.
162. White C, Pappas P, McCarty TP. Ocular Candidiasis in Patients with Candidemia Diagnosed by Blood Culture Versus T2Candida® Assay. *Open Forum Infect Dis.* 31 déc 2020;7(Supplement_1):S612-S612.
163. Mikkilineni S, Komati R, Shah N, Gao H. T2 magnetic resonance assay and detection of ocular candidiasis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 22 juill 2019;60(9):826-826.
164. Cendejas-Bueno E, Falces-Romero I, Laplaza-González M, Escosa-García L, Schuffelmann-Gutierrez C, Romero-Gómez MP, et al. Candidemia Diagnosis With T2 Nuclear Magnetic Resonance in a PICU: A New Approach. *Pediatr Crit Care Med.* févr 2021;22(2):e109-14.
165. Kouri AM, Kieffer TW, Nailescu C, Leiser J, Schmitt BH, Relich RF, et al. Evaluation of T2Candida Panel for detection of Candida in peritoneal dialysates. *Perit Dial Int J Int Soc Perit Dial.* janv 2020;40(1):96-9.
166. Cendejas-Bueno E, Peinado H, Baquero-Artigao F, Falces-Romero I, Calvo-Rey C, Banda-Montalvo LL, et al. Off-label use of T2Candida® test in vitreous humor for diagnosing invasive candidiasis: a clinical report. *Future Microbiol.* juin 2021;16(9):619-21.
167. Wilson NM, Alangaden G, Tibbetts RJ, Samuel LP, Davis SL, Kenney RM. T2 Magnetic Resonance Assay Improves Timely Management of Candidemia. *JAMS.* 2017;7.
168. Mylonakis E, Zacharioudakis IM, Clancy CJ, Nguyen MH, Pappas PG. Efficacy of T2 Magnetic Resonance Assay in Monitoring Candidemia after Initiation of

- Antifungal Therapy: the Serial Therapeutic and Antifungal Monitoring Protocol (STAMP) Trial. Warnock DW, éditeur. J Clin Microbiol [Internet]. avr 2018 [cité 2 déc 2021];56(4). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.01756-17>
169. Ahuja T, Fong K, Louie E. Combination antifungal therapy for treatment of *Candida parapsilosis* prosthetic valve endocarditis and utility of T2Candida Panel®: A case series. IDCases. 2019;15:e00525.
170. Falces-Romero I, Cendejas-Bueno E, Laplaza-González M, Escosa-García L, Schuffelmann-Gutiérrez C, Calderón-Llopis B, et al. T2Candida® to guide antifungal and length of treatment of candidemia in a pediatric multivisceral transplant recipient. Med Mycol Case Rep. sept 2018;21:66-8.
171. Muñoz P, Vena A, Machado M, Martínez-Jiménez MC, Gioia F, Gómez E, et al. T2MR contributes to the very early diagnosis of complicated candidaemia. A prospective study. J Antimicrob Chemother. 1 mars 2018;73(suppl_4):iv13-9.
172. Muñoz P, Vena A, Machado M, Gioia F, Martínez-Jiménez MC, Gómez E, et al. T2Candida MR as a predictor of outcome in patients with suspected invasive candidiasis starting empirical antifungal treatment: a prospective pilot study. J Antimicrob Chemother. 1 mars 2018;73(suppl_4):iv6-12.
173. Bilir SP, Ferrufino CP, Pfaller MA, Munakata J. The economic impact of rapid *Candida* species identification by T2Candida among high-risk patients. Future Microbiol. juill 2015;10(7):1133-44.
174. Walker B, Powers-Fletcher MV, Schmidt RL, Hanson KE. Cost-Effectiveness Analysis of Multiplex PCR with Magnetic Resonance Detection versus Empiric or Blood Culture-Directed Therapy for Management of Suspected Candidemia. Warnock DW, éditeur. J Clin Microbiol. mars 2016;54(3):718-26.
175. Giannella M, Paolucci M, Roncarati G, Vandi G, Pascale R, Trapani F, et al. Potential role of T2Candida in the management of empirical antifungal treatment in patients at high risk of candidaemia: a pilot single-centre study. J Antimicrob Chemother. 1 oct 2018;73(10):2856-9.
176. Aitken SL, Beyda ND, Shah DN, Palmer HR, Lasco TM, Koo H, et al. Clinical Practice Patterns in Hospitalized Patients at Risk for Invasive Candidiasis: Role of Antifungal Stewardship Programs in an Era of Rapid Diagnostics. Ann Pharmacother. juin 2014;48(6):683-90.
177. Gill CM, Kenney RM, Hencken L, Mlynarek ME, Alangaden GJ, Samuel LP, et al. T2 Candida versus beta-D-glucan to facilitate antifungal discontinuation in the intensive care unit. Diagn Microbiol Infect Dis. oct 2019;95(2):162-5.
178. Patch ME, Weisz E, Cubillos A, Estrada SJ, Pfaller MA. Impact of rapid, culture-independent diagnosis of candidaemia and invasive candidiasis in a community health system. J Antimicrob Chemother. 1 mars 2018;73(suppl_4):iv27-30.
179. Clancy CJ, Nguyen MH. T2 magnetic resonance for the diagnosis of bloodstream infections: charting a path forward. J Antimicrob Chemother. 1 mars 2018;73(suppl_4):iv2-5.
180. Johnson MD, Lewis RE, Dodds Ashley ES, Ostrosky-Zeichner L, Zaoutis T, Thompson GR, et al. Core Recommendations for Antifungal Stewardship: A Statement of the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. J Infect Dis. 5 août 2020;222(Supplement_3):S175-98.
181. Monday LM, Parraga Acosta T, Alangaden G. T2Candida for the Diagnosis and Management of Invasive Candida Infections. J Fungi. 3 mars 2021;7(3):178.
182. Kazancioglu S, Bastug A, Kayaaslan B, Mutlu NM, Calci E, Turhan T, et al. Diagnostic value of β -D-glucan alone or combined with Candida score, colonization

index and C-reactive protein for candidemia. J Infect Dev Ctries. 28 févr 2022;16(02):362-8.

183. Dobiáš R, Káňová M, Petejová N, Pisti ŠK, Bocek R, Krejčí E, et al. Combined Use of Presepsin and (1,3)- β -D-glucan as Biomarkers for Diagnosing Candida Sepsis and Monitoring the Effectiveness of Treatment in Critically Ill Patients. J Fungi. 17 mars 2022;8(3):308.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2021/2022

Nom : LESUEUR
Prénom : Amélie

Titre de la thèse : BILAN DE L'UTILISATION DU PANEL T2CANDIDA DANS LE DÉPISTAGE DES CANDIDOSES INVASIVES

Mots-clés : panel T2Candida, T2MR, candidose invasive, candidémie, candidose intra-abdominale

Résumé : Les candidoses invasives (CI) sont des infections graves caractérisées par une morbidité importante. Elles représentent un véritable défi pour le biologiste car leur diagnostic demeure, encore aujourd'hui, tardif et difficile. La sensibilité insuffisante des techniques conventionnelles a conduit au développement d'autres stratégies diagnostiques fondées sur la détection des molécules fongiques circulantes, ou plus récemment, au développement d'un nouvel outil sensible pour la détection des principales fongémies à *Candida*, dénommé le panel T2Candida (T2C).

Grâce à une technologie innovante, ce panel permet la détection, jusqu'à 1 à 3 UFC/mL, des 5 principales espèces *Candida* d'intérêt médical (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. krusei*). L'analyse nécessite un volume sanguin de 5 mL prélevé sur tube EDTA et un délai de réponse de moins de 5 heures. Différentes études cliniques ont utilisé le T2C dans le diagnostic des candidémies, qui s'est avéré être un outil sensible à 91% et spécifique à 94%, en moyenne. Dans le diagnostic des candidoses intra-abdominales, ses performances sont moindres avec une sensibilité de l'ordre de 30%. Le panel a également été utilisé avec succès sur d'autres matrices, telles que des dialysats péritonéaux, du LCR ou de l'humeur vitrée. Son utilisation dans le suivi des patients atteints de CI pourrait améliorer la prise en charge globale des patients, en permettant une adaptation thérapeutique plus rapide. Plusieurs études rapportent l'intérêt d'associer ce nouvel outil aux autres biomarqueurs sériques, tels que le (1,3)- β -D glucane (BDG) et le mannane, afin de compenser la sensibilité imparfaite des hémocultures.

Au total, le T2C est un marqueur précoce, fiable et sensible, qui est désormais préconisé par l'EORTC, au même titre que le BDG, pour le diagnostic des CI.

Membres du jury :

Présidente : Madame le Docteur CHABÉ Magali, MCU, Faculté de pharmacie Lille
Directeur de thèse : Monsieur le Professeur SENDID Boualem, PU-PH, CHU de Lille
Assesseurs : Monsieur le Professeur POISSY Julien, PU-PH, CHU de Lille
Monsieur le Docteur DEHECQ Eric, MCU-PH, CH St Philibert