

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2011

N° 108

**MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE
BIOLOGIE MEDICALE**

Conformément au décret n° 2003-76 du 23 janvier 2003
tient lieu de :

THESE
pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE
DES de BIOLOGIE MEDICALE

par

Laurent TADEC
né le 21 novembre 1981 à Noisy-le-Sec (93)

Présentée et soutenue publiquement le 21 octobre 2011

« Épidémiologie des candidémies au CHU de Nantes :
Etude rétrospective (2004 – 2010) »

Président : Monsieur le Professeur Daniel VILLERS

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Florent MORIO

Membres du jury : Monsieur le Professeur Patrice LE PAPE
 Monsieur le Docteur Michel MIEGEVILLE
 Monsieur le Docteur Jean-Philippe TALARMIN

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	5
CANDIDA ET CANDIDEMIES : REVUE DE LA LITTERATURE.....	7
1. Le genre <i>Candida</i>.....	8
1.1. Quelques repères taxonomiques	8
1.2. De très nombreuses espèces.....	10
1.2.1. Habitat naturel des <i>Candida</i> spp.	10
1.2.2. Un nombre d'espèces identifiées en augmentation constante	11
1.2.3. Notion de complexes d'espèces	13
2. Pouvoir pathogène et facteurs de risque des candidoses.....	21
2.1. Les candidoses superficielles.....	21
2.1.1. Les candidoses cutanées et unguéales.....	21
2.1.2. Les candidoses muqueuses	22
2.2. Les candidoses invasives	22
3. Démarche diagnostic des candidémies : de la clinique au laboratoire.....	28
3.1. En cas de suspicion de candidémie.....	28
3.2. Diagnostic biologique : rôle du laboratoire	31
3.2.1. Un rôle en amont.....	31
3.2.2. Démarche au laboratoire	31
3.2.3. Méthodes utiles pour le diagnostic de candidémie.....	42
3.2.4. Détermination de la sensibilité <i>in vitro</i> des levures vis-à-vis des antifongiques.....	44
3.2.5. Détection de l'échec thérapeutique	49
4. Bases de la prise en charge thérapeutique.....	50
4.1. Une prise en charge précoce, garant d'un meilleur pronostic.....	50
4.2. Molécules disponibles	51
4.3. Prise en charge thérapeutique	52
4.3.1. Recommandations 2009 de l'IDSA	52
4.3.2. Recommandations 2011 de l'ESCMID.....	54
4.3.3. Comparaison des recommandations de l'IDSA et de l'ESCMID	56
5. Epidémiologie des candidémies : données actuelles.....	56
5.1. Incidence des candidémies	57
5.2. Aspects médico-économiques	60
5.2.1. Mortalité globale des candidémies.....	60
5.2.2. Mortalité attribuable.....	61
5.2.3. Un impact économique important.....	61
5.3. Candidémies : données démographiques.....	62

5.4.	Candidémies : patients et services à risque	63
5.5.	Candidémies : quelles espèces ?	64
5.5.1.	Facteurs influençant l'épidémiologie des <i>Candida</i>	65
5.5.2.	Répartition des <i>Candida</i> spp. au sein de la population générale	68
5.6.	Candidémies : évolution de la sensibilité aux antifongiques et stratégies thérapeutiques	77
5.6.1.	Sensibilité <i>in vitro</i> aux antifongiques	77
5.6.2.	Stratégies thérapeutiques	79
MATERIELS ET METHODES		81
1.	Méthodologie	82
2.	Analyse des données démographiques	83
3.	Analyse des données mycologiques	83
3.1.	Identification mycologique	84
3.2.	Détermination de la sensibilité <i>in vitro</i> aux antifongiques	85
4.	Analyse des données cliniques	85
5.	Fiche de recueil et analyse des données	86
RESULTATS		87
1.	Données démographiques	88
1.1.	Caractéristiques des patients	88
1.2.	Services d'hospitalisation	89
2.	Incidence des candidémies	91
2.1.	Evolution du nombre d'épisodes de candidémie par année	91
2.2.	Incidence globale, par année et par service	91
3.	Population et facteurs de risque	93
4.	Données mycologiques	94
4.1.	Concordance entre les résultats de l'identification phénotypique et la biologie moléculaire	94
4.2.	Distribution globale des espèces	96
4.3.	Facteurs influençant la distribution des espèces	98
4.4.	Résultats de la sensibilité <i>in vitro</i> aux antifongiques des <i>Candida</i> spp. isolés d'hémocultures	101
4.4.1.	Fluconazole et voriconazole	102
4.4.2.	Caspofungine	106
4.4.3.	Amphotéricine B	108
5.	Données cliniques et pronostic	108
5.1.	Localisations secondaires	108
5.2.	Candidémies au CHU : impact sur la mortalité	109
6.	Prise en charge thérapeutique	111
6.1.	Délai avant instauration du traitement antifongique	111
6.2.	Antifongique administré en première intention	113
6.3.	Stratégie antifongique en fonction de l'espèce de <i>Candida</i>	114
6.4.	Retrait des voies veineuses centrales	116

7. Synthèse des résultats.....	116
DISCUSSION	119
1. Méthodologie de l'étude	120
2. Données épidémiologiques	122
2.1. Démographie des patients.....	122
2.2. Incidence des candidémies au CHU de Nantes.....	122
2.3. Population à risque et facteurs favorisant	123
2.4. Aspects mycologiques	124
2.4.1. Distribution des espèces.....	124
2.4.2. Facteurs influençant la distribution des espèces	126
2.4.3. Sensibilité <i>in vitro</i> aux antifongiques.....	127
2.5. Aspects cliniques	128
3. Prise en charge thérapeutique	129
4. Synthèse de l'étude	131
ANNEXES.....	133
Annexe n°1 : Recommandations françaises pour la prise en charge thérapeutique des candidémies (2004) (SFAR <i>et al.</i> 2004).....	134
Annexe n°2 : Fiche de recueil des données patients atteints de candidémie (TALARMIN <i>et al.</i> 2009).....	135
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	139
SERMENT MEDICAL	148

INTRODUCTION

Les infections fongiques invasives, en augmentation constante ces dernières années suite à l'accroissement constant de la population de patients immunodéprimés, constituent un enjeu majeur de santé publique. Elles sont également associées à une mortalité qui reste encore élevée malgré l'arrivée de nouvelles classes d'antifongiques, sans compter le surcoût financier associé à leur prise en charge. Parmi elles, les candidoses invasives, et notamment les candidémies, sont les plus fréquentes. Ces candidémies surviennent le plus souvent en contexte hospitalier chez des patients fragilisés et restent associées à une mortalité élevée et ce, malgré des recommandations de prise en charge de mieux en mieux codifiées. Du fait du développement constant de nouvelles chimiothérapies et de nouveaux protocoles d'immunosuppression, les terrains et populations à risque se multiplient. On assiste donc ces dernières décennies à une évolution dans l'épidémiologie des candidémies. On observe ainsi une diminution progressive de la prévalence de *Candida albicans* au profit d'autres espèces souvent moins sensibles aux antifongiques, phénomène mondial même si il existe des disparités géographiques significatives dans la distribution des espèces ou bien encore, même si cela reste plus ponctuel, l'acquisition de mécanismes de résistance aux antifongiques. Les études épidémiologiques mettent également en évidence l'émergence d'espèces rares, considérées jusqu'alors comme non pathogènes, responsables d'infections invasives.

A l'heure actuelle, la plupart des études épidémiologiques concernant les candidémies disponibles dans la littérature sont multicentriques et le plus souvent nord-américaines, les données françaises étant encore rares. Hors, du fait des disparités géographiques parfois importantes en termes d'écologie et de pratiques médicales, d'une étude à une autre, les données ne sont pas forcément superposables et encore moins applicables aux problématiques locales. C'est dans cet objectif qu'il nous est apparu intéressant d'établir l'épidémiologie des candidémies sur le sol français et en l'occurrence dans notre centre hospitalier, lors d'une étude rétrospective de l'ensemble des épisodes de candidémie survenus au Centre Hospitalier Universitaire de Nantes entre 2004 et 2010.

Avant d'aborder la méthodologie de ce travail et les principaux résultats en les mettant en perspective vis-à-vis des données de la littérature, ce manuscrit présente dans une première

partie les principales caractéristiques des levures du genre *Candida*, les méthodes utilisées pour leur identification, notamment au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Nantes, ainsi qu'un état des lieux des données épidémiologiques actuelles sur les candidoses invasives et les candidémies.

***CANDIDA* ET CANDIDEMIES :
REVUE DE LA LITTERATURE**

1. Le genre *Candida*

Les *Candida* sont des champignons cosmopolites, omniprésents dans le milieu extérieur (eau, sol, fruits, etc...), mais également dans la flore commensale de l'homme et de nombreux animaux. Dans certains cas, notamment chez les patients fragilisés ou présentant des facteurs de risque bien particuliers, ces champignons peuvent adopter un comportement opportuniste et être à l'origine d'infections plus ou moins sévères.

1.1. Quelques repères taxonomiques

Les *Candida* sont des champignons microscopiques, habituellement appelés « levures » dans le langage courant. Ce sont des organismes eucaryotes unicellulaires, se reproduisant par bourgeonnement grâce à la formation de blastospores. Certaines espèces de *Candida* sont également capables de produire des filaments mycéliens sous la forme de pseudomycélium ou pseudohyphes voire de mycélium vrai.

Le code international de nomenclature botanique préconise d'utiliser, quand elle est connue, le nom de la forme sexuée ou téléomorphe des champignons et non celui de la forme asexuée (anamorphe). Schématiquement les levures du genre *Candida* ont longtemps été considérées comme appartenant à deux ensembles distincts :

- Les Ascomycètes : espèces dont la forme sexuée est connue. La reproduction sexuée s'effectue grâce à des ascospores. A titre d'exemple, *Candida lusitanae* dont la forme sexuée est *Clavispora lusitanae*.
- Les Deutéromycètes : espèces dont la forme sexuée n'est pas connue. Les *Candida* constituent la classe des Blastomycètes, la production de spores s'effectuant par bourgeonnement, par exemple *Candida parapsilosis*.

Cette classification, reposant uniquement sur l'existence d'une forme sexuée est donc complexe et source de confusion.

Ainsi, en mycologie médicale, la forme sexuée étant très rarement observée, il est donc usuel d'appeler ces champignons par leur stade asexué même si la forme sexuée est connue (BOUCHARA *et al.* 2010).

Différentes espèces de *Candida* pour lesquelles la forme sexuée est connue sont présentées dans le tableau 1 (JOHNSON 2009).

Tableau 1 : Principales espèces de *Candida* dont la forme sexuée est connue (JOHNSON 2009)

Forme anamorphe (asexuée)	Forme téléomorphe (sexuée)
<i>C. famata</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
<i>C. guilliermondii</i>	<i>Pichia guilliermondii</i>
<i>C. kefyr</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>C. krusei</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>
<i>C. lipolytica</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>
<i>C. lusitaniae</i>	<i>Clavispora lusitaniae</i>
<i>C. pelliculosa</i>	<i>Pichia anomala</i>
<i>C. norvegensis</i>	<i>Pichia norvegensis</i>
<i>C. utilis</i>	<i>Pichia jadinii</i>
<i>C. fermentati</i>	<i>Pichia caribbica</i>
<i>C. spharica</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>

La nomenclature des champignons microscopiques, et par conséquent celle du genre *Candida*, est complexe et évolue en permanence grâce notamment au développement de la biologie moléculaire à des fins taxonomiques. Dans la dernière classification du règne fongique proposée récemment par un collège d'experts, les espèces du genre *Candida* sont regroupées au sein de l'ordre des Saccharomycetales, lui-même inclus dans le phylum des Ascomycota (HIBBETT *et al.* 2007).

Les levures du genre *Candida* ont été regroupées dans le même ensemble, car elles présentent plusieurs caractéristiques communes (CHABASSE *et al.* 2006). Leur membrane cellulaire est essentiellement constituée d'un stérol spécifique : l'ergostérol. La paroi cellulaire des *Candida* est composée de protéines et de polysaccharides dont les principaux sont les β -glucanes (1-3 et 1-6), qui, avec l'ergostérol, ont pour fonction d'assurer l'intégrité de la membrane et de la paroi cellulaire. L'ergostérol ainsi que la synthèse des glucanes par la glucane-synthase constituent les cibles principales des antifongiques actuellement utilisés en thérapeutique. Par ailleurs les β -(1,3)glucanes sont également des cibles antigéniques utilisées par certains tests diagnostiques. Les *Candida* ne possèdent pas de capsule, ce qui permet de les différencier des levures du genre *Cryptococcus*. De plus, les *Candida* ne possèdent pas non plus d'activité uréasique contrairement aux autres levures, comme par exemple les levures Basidiomycètes (*Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp., etc...), et n'assimilent pas l'inositol, mais fermentent les sucres. Ce dernier caractère est d'ailleurs mis à profit pour l'identification d'espèces des *Candida*. Les différents profils de fermentation des sucres des cinq principales espèces d'intérêt médical sont présentés dans le tableau 2 (KOENIG 1995).

Tableau 2 : Fermentation des sucres des cinq principales espèces de *Candida* (KOENIG 1995)

Espèces	Glucose	Galactose	Saccharose	Maltose	Lactose	Raffinose
<i>C. albicans</i>	+	v	-	+	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	v	-(+)	-(+)	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	v	+	-	-
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	-	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-

v = variable, + = positif, - = négatif

1.2. De très nombreuses espèces

Si les candidoses superficielles, comme le muguet, ont été décrites par Hippocrate, le genre *Candida* n'est connu que depuis 1853, année durant laquelle Robin décrit l'agent pathogène du muguet qu'il appelle *Oidium albicans*. Ce n'est qu'en 1923 que cette espèce est replacée dans le genre *Candida* par Berkhout (KOENIG 1995). Depuis les premiers pas dans la description du genre *Candida* et grâce au développement croissant des méthodes d'analyse génétique, le genre *Candida* s'est considérablement étoffé et de nouvelles espèces sont régulièrement décrites. De fait, le genre *Candida* regroupe aujourd'hui au moins 200 espèces différentes (TAIEB *et al.* 2011). Toutefois, seul un nombre encore limité d'entre elles a été isolé en pathologie humaine, comme nous allons le voir ci-après.

1.2.1. Habitat naturel des *Candida* spp.

Les *Candida* sont des levures ubiquitaires, présentes dans l'environnement, à toutes les latitudes et sur de nombreuses matières organiques végétales ou animales (ANOFEL 2007; TAIEB *et al.* 2011). Toutefois, ces *Candida* sont également présents dans la flore commensale humaine, et notamment dans la flore du tube digestif, où ils sont en équilibre avec la flore bactérienne. Ils font aussi partie des flores buccales, génito-urinaires et certaines espèces sont présentes au niveau du revêtement cutané. Comme nous le verrons, la présence des *Candida* au niveau des différentes flores commensales représente autant de portes d'entrée potentielles pour une infection.

Même si toutes les espèces de *Candida* peuvent se retrouver de façon ponctuelle dans la flore commensale, chacune d'entre elles atteint plus spécifiquement un type d'organe ou un profil de patient particulier en fonction de son habitat préférentiel. Ce dernier point explique que même si *C. albicans* est de loin l'espèce la plus fréquemment isolée en pathologie humaine,

d'autres espèces peuvent être également retrouvées dans les prélèvements médicaux (CHABASSE *et al.* 2006).

L'habitat naturel et le spectre clinique des cinq principales espèces de *Candida* rencontrées en pathologie humaine sont présentés dans le tableau 3 (EGGIMANN *et al.* 2003).

Tableau 3 : Habitat naturel et spectre clinique des cinq principales espèces de *Candida* adapté de (EGGIMANN *et al.* 2003)

Espèces	Habitat naturel	Spécificités cliniques
<i>C. albicans</i>	Tube digestif	Espèce la plus fréquente Candidoses superficielles et profondes
<i>C. glabrata</i>	Tube digestif Tractus génito-urinaire	Candidoses superficielles et profondes Infections du tractus urinaire
<i>C. parapsilosis</i>	Revêtement cutané	Candidémies liées à un dispositif intraveineux Candidémies chez le nouveau-né
<i>C. tropicalis</i>	Végétaux, eau	Candidémies chez le patient immunodéprimé
<i>C. krusei</i>	Produits laitiers	Candidémies, résistance naturelle au fluconazole

1.2.2. Un nombre d'espèces identifiées en augmentation constante

Outre les cinq espèces qui sont les plus fréquemment isolées en pathologie humaine, d'autres espèces comme nous allons le voir, tendent à « émerger » ces dernières années. Cette situation peut s'expliquer par plusieurs facteurs plus ou moins intriqués entre eux.

L'utilisation de plus en plus répandue d'antibiotiques à large spectre favorise le déséquilibre de la flore commensale bactérienne permettant le développement des *Candida* spp. L'utilisation de plus en plus fréquente de dispositifs médicaux intraveineux (cathéters, chambres implantables...) ou invasifs, estimés à plus de 45 millions/an aux Etats-Unis dans une étude récente (NETT and ANDES 2006), constituent autant de portes d'entrée potentielles au développement d'une candidose invasive mais également autant de supports pour le développement d'un biofilm (KOJIC and DAROUICHE 2004; RAMAGE *et al.* 2009). Ces biofilms constituent pour les différents agents pathogènes, dont les *Candida* spp., des niches très peu accessibles aux traitements antifongiques (CHANDRA *et al.* 2001).

D'autres facteurs sont également en cause dans l'émergence en pathologie humaine de nouvelles espèces de *Candida* spp. Il faut notamment aussi considérer le développement constant de nouvelles chimiothérapies et de nouveaux traitements immunosuppresseurs responsables d'immunosuppressions de plus en plus profondes et longues, favorisant ainsi le développement d'agents pathogènes opportunistes. Par ailleurs, il ne faut pas négliger l'essor

de protocoles chirurgicaux de plus en plus agressifs qui offrent également de nombreuses portes d'entrée aux infections fongiques, et notamment au niveau abdominal (ARENDRUP 2010; TORTORANO *et al.* 2006). Tous ces facteurs ont permis le développement de levures pathogènes dites opportunistes, qui peuvent ainsi profiter de l'affaiblissement des barrières immunitaires et naturelles de l'organisme.

Enfin, il faut également prendre en compte les progrès constants des techniques d'identification et notamment l'essor des techniques de biologie moléculaire appliquée aux champignons qui permettent une identification de plus en plus précise. Ainsi certaines espèces qui ne pouvaient être distinguées par les méthodes usuelles d'identification, peuvent maintenant être bien différenciées, comme c'est le cas par exemple pour *C. parapsilosis* et ses deux espèces proches, *C. metapsilosis* et *C. orthopsilosis* (TAVANTI *et al.* 2005) ou bien encore pour *C. glabrata* très proche de *C. nivariensis* (ALCOBA-FLOREZ *et al.* 2005) et *C. bracarensis* (CORREIA *et al.* 2006).

Une étude longitudinale des espèces impliquées dans les candidoses invasives, et présentée dans le tableau 4, illustre bien l'importance croissante des espèces non-*albicans*, dont quelques espèces « rares », ainsi qu'une diminution de la proportion de *C. albicans* depuis les années 2000 aux USA (PFALLER and DIEKEMA 2007).

Tableau 4 : Evolution de la distribution des espèces de *Candida* au cours de candidoses invasives aux Etats-Unis de 1997 à 2003 (PFALLER and DIEKEMA 2007)

Espèces	% d'isolats					
	1997-1998	1999	2000	2001	2002	2003
<i>C. albicans</i>	73,3	69,8	68,1	65,4	61,4	62,3
<i>C. glabrata</i>	11,0	9,7	9,5	11,1	10,7	12,0
<i>C. tropicalis</i>	4,6	5,3	7,2	7,5	7,4	7,5
<i>C. parapsilosis</i>	4,2	4,9	5,6	6,9	6,6	7,3
<i>C. krusei</i>	1,7	2,2	3,2	2,5	2,6	2,7
<i>C. guilliermondii</i>	0,5	0,8	0,8	0,7	1,0	0,8
<i>C. lusitaniae</i>	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,6
<i>C. kefyr</i>	0,2	0,4	0,5	0,4	0,4	0,5
<i>C. rugosa</i>	0,03	0,03	0,2	0,7	0,6	0,4
<i>C. famata</i>	0,08	0,2	0,5	0,2	0,4	0,3
<i>C. inconspicua</i>			0,08	0,1	0,2	0,3
<i>C. norvegensis</i>			0,08	0,1	0,07	0,1
<i>C. dubliniensis</i>			0,01	0,08	0,1	0,05
<i>C. lipolytica</i>			0,06	0,06	0,06	0,08
<i>C. zeylanoides</i>			0,03	0,08	0,02	0,04
<i>C. pelliculosa</i>				0,06	0,05	0,04
<i>Candida spp.</i>	3,9	6	3,7	3,3	7,9	4,9
Total	22533	20998	11698	21804	24680	33002

Dans une revue de la littérature encore plus récente, ce n'est plus 31 espèces (PFALLER *et al.* 2010c), mais 40 espèces distinctes qui sont décrites comme potentiellement à l'origine d'infection humaine (cf. Tableau 5) (JOHNSON 2009).

Tableau 5 : Espèces de *Candida* isolées en pathologie humaine et classées en fonction de leur fréquence (JOHNSON 2009)

Espèces fréquentes	Espèces peu fréquentes	Espèces rares
<i>C. albicans</i>	<i>C. dubliniensis</i>	<i>C. blankii</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>C. famata</i>	<i>C. bracarensis</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>C. inconspicua</i>	<i>C. catenulata</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. chiropterorum</i>
<i>C. krusei</i>	<i>C. metapsilosis</i>	<i>C. ciferri</i>
<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. norvegensis</i>	<i>C. eremophila</i>
<i>C. lusitaniae</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<i>C. fabianii</i>
<i>C. kefyr</i>	<i>C. pelliculosa</i>	<i>C. fermentati</i>
	<i>C. rugosa</i>	<i>C. freyschussii</i>
	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. haemulonii</i>
		<i>C. intermedia</i>
		<i>C. lambica</i>
		<i>C. magnoliae</i>
		<i>C. membranaefaciens</i>
		<i>C. nivariensis</i>
		<i>C. palmioleophila</i>
		<i>C. pararugosa</i>
		<i>C. pseudohaemulonii</i>
		<i>C. pseudorugosa</i>
		<i>C. pintolopesii</i>
		<i>C. pulcherrima</i>
		<i>C. thermophila</i>
		<i>C. utilis</i>
		<i>C. valida</i>
		<i>C. viswanathii</i>

Le répertoire des *Candida* responsables d'infection chez l'homme n'a donc probablement pas fini de s'étoffer du fait du caractère opportuniste de ces levures (PFALLER and DIEKEMA 2007).

1.2.3. Notion de complexes d'espèces

Un complexe d'espèces regroupe des espèces proches sur les plans phylogénétique et phénotypique, mais présentant suffisamment de différences pour être individualisées et considérées comme espèces distinctes. L'essor des techniques de biologie moléculaire appliquées à la taxonomie des champignons a ainsi permis de différencier certaines espèces qui étaient auparavant regroupées au sein d'un même complexe. C'est notamment le cas de *C. albicans* et *C. dubliniensis* ou bien encore des complexes de *C. parapsilosis* et de *C. glabrata*. Malheureusement, il reste difficile de réaliser ces techniques d'identification

moléculaire au quotidien dans la plupart des laboratoires, car souvent longues à mettre en œuvre, relativement coûteuses et nécessitant un personnel expérimenté. Ainsi, l'identification mycologique se limite dans de nombreux cas au complexe, du fait des capacités d'identification limitées des méthodes phénotypiques.

➤ Complexe *C. albicans* et *C. dubliniensis*

C'est en 1995 à Dublin que Derek Sullivan et al. décrit pour la première fois l'espèce *C. dubliniensis* (SULLIVAN et al. 1995), ayant remarqué que certaines souches de *C. albicans*, isolées de prélèvements de candidoses buccales chez des patients infectés par le VIH, présentaient un nombre anormalement important de chlamydospores après culture sur milieu RAT (Riz, Agar, Tween) (figure 1). Ces souches présentaient, après restriction enzymatique, des profils génétiques identiques entre elles, mais bien distincts de celui des souches habituelles de *C. albicans*. L'ensemble de ces observations a conduit à la description de *C. dubliniensis* en tant que nouvelle espèce.

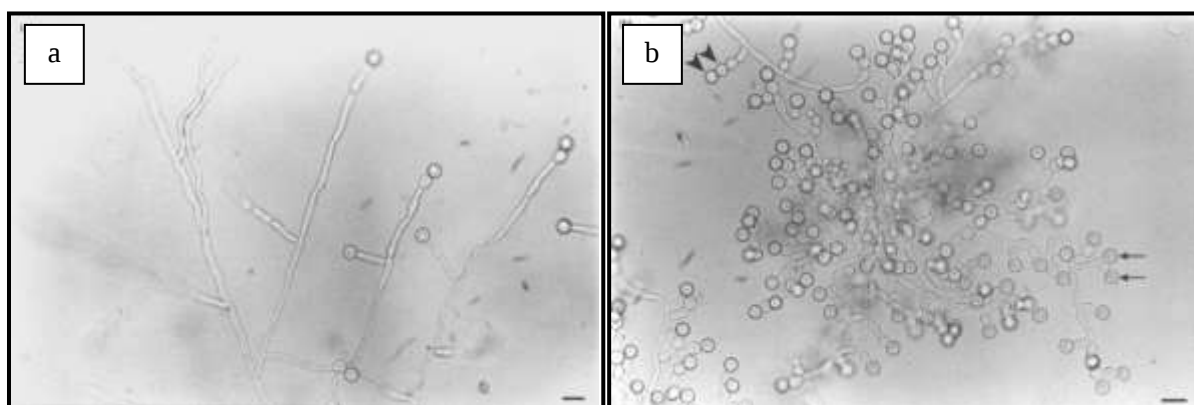


Figure 1 : Production de chlamydospores sur milieu RAT (a) *C. albicans* et (b) *C. dubliniensis* (SULLIVAN et al. 1995)

Candida dubliniensis n'est pas apparu avec l'épidémie de SIDA et existait bien avant sa description par Derek Sullivan, mais était identifié comme *C. albicans* du fait de leur extrême proximité phénotypique. Ainsi on peut retrouver rétrospectivement des souches de *C. dubliniensis* dès 1952, soit bien avant sa description en 1995, isolées chez des patients non infectés par le VIH (SULLIVAN et al. 1999). Ces deux espèces très proches sur le plan phénotypique ont toutefois quelques différences phénotypiques, illustrées dans le tableau 6 (PAUGAM et al. 2008).

Tableau 6 : Distinctions phénotypiques entre *C. albicans* et *C. dubliniensis* (PAUGAM *et al.* 2008)

	<i>C. albicans</i>	<i>C. dubliniensis</i>
Chlamydospores	+ isolées	+++ groupées
Croissance		
42°C	+	-
Sabouraud + 6,5% NaCl	+	-
Assimilation		
Glycérol	+	-
D-xylose	+	-
Présence de β-glucosidase	oui	non
Aspect des colonies		
Milieu tétrazolum	Rose-pâle	Rouge-marron
Candida ID2 [®]	Bleu cobalt	Bleu turquoise*
CHROMagar [®] Candida	Vert	Vert-foncé*

* Perte possible si repiquage ou stockage

Il est donc théoriquement possible de distinguer *C. dubliniensis* de *C. albicans* par les méthodes phénotypiques usuelles, mais cela reste excessivement difficile en pratique, l'étude de la chlamydosporulation restant subjective et la coloration des colonies sur les milieux chromogènes pouvant être mise en défaut en cas d'incubation prolongée (PAUGAM *et al.* 2008). Par ailleurs, même si *C. dubliniensis* peut être identifiée grâce à certaines galeries d'identification phénotypiques commerciales, les profils obtenus grâce à l'assimilation des carbohydrates ne sont pas toujours fiables. L'identification de cette espèce doit donc reposer sur d'autres tests (LORETO *et al.* 2010), notamment les tests reposant sur le principe d'agglutination comme le test Bichrodubli[®] commercialisé par le laboratoire Fumouze, que nous détaillerons plus loin.

Concernant la distribution de *C. dubliniensis*, il s'agit d'une espèce plus fréquemment rencontrée chez les patients atteints du VIH que dans le reste de la population et notamment au niveau de la cavité orale où certaines études rapportent des prévalences très variables allant de 1,2 à 48% (LORETO *et al.* 2010).

Comme *C. albicans*, *C. dubliniensis* est une espèce naturellement sensible aux antifongiques, malgré quelques descriptions de cas de résistance sous traitement (RUHNKE *et al.* 2000).

➤ *C. parapsilosis*

Des données anciennes nous montrent que *C. parapsilosis* était déjà connu comme une espèce hétérogène sur le plan génétique (SCHERER and STEVENS 1987). Cette espèce était en fait constituée d'un ensemble de trois groupes, nommés *C. parapsilosis* groupes I, II et III, différenciés grâce à des techniques de génétique moléculaire comme le RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) ou le séquençage des ADN mitochondriaux et ribosomaux (LIN *et al.* 1995; NOSEK *et al.* 2002).

L'étude des séquences d'ADN des trois groupes de *C. parapsilosis* (I, II et III) a permis plus récemment de les séparer en trois espèces distinctes (TAVANTI *et al.* 2005) notamment grâce à l'analyse du polymorphisme nucléotidique de la région ITS (International Transcribed Spacer) de l'ADN ribosomal. Selon les loci étudiés, le pourcentage de divergence entre ces trois espèces varie de 82,1 à 87,7% ou de 82,5 à 86,6%, permettant d'établir l'arbre phylogénétique présenté dans la figure 2 (LIN *et al.* 1995; TAVANTI *et al.* 2005).

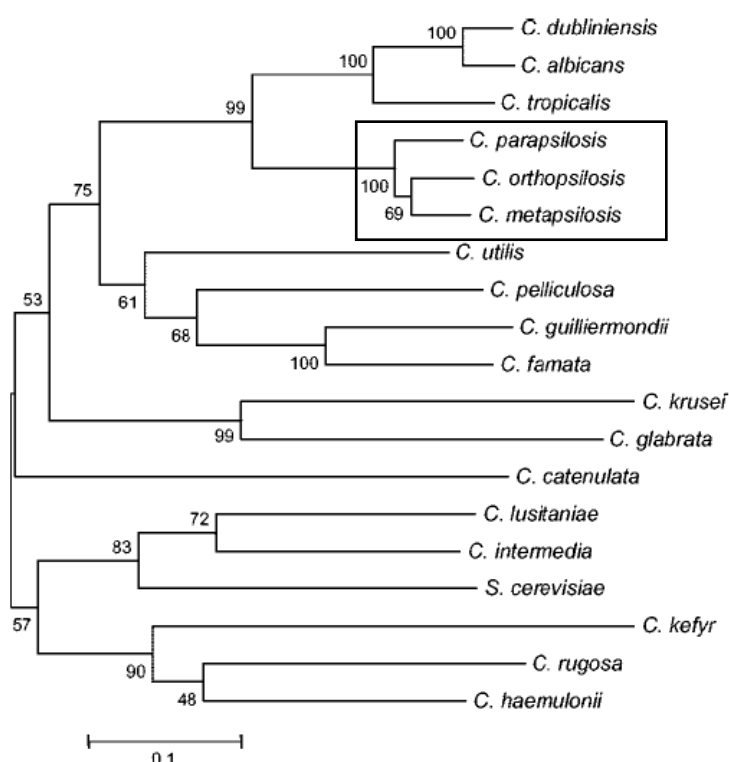


Figure 2 : Arbre phylogénétique obtenu après analyse comparative des séquences nucléotidiques de la région ITS1 de l'ADN ribosomal (TAVANTI *et al.* 2005)

Les trois groupes ont donc été renommés de la façon suivante :

- Le groupe I est devenu *C. parapsilosis* au sens strict.
- Le groupe II est devenu *C. orthopsilosis*.
- Le groupe III est devenu *C. metapsilosis*.

Ces trois espèces sont regroupées sous le terme de complexe d'espèces *C. parapsilosis*. Bien qu'encore non différenciables par les méthodes actuelles reposant sur des critères phénotypiques (GARCIA-EFFRON *et al.* 2011), elles sont donc aisément identifiables par les méthodes reposant sur le séquençage des régions ITS ou bien encore sur la spectrométrie de masse MALDI-TOF, deux méthodes disponibles dans un nombre croissant de laboratoires (HENDRICKX *et al.* 2011).

Sur le plan épidémiologique, *C. parapsilosis sensu lato* apparaît au deuxième ou troisième rang en termes de fréquence, notamment dans les études sur les candidémies, en France comme à l'étranger (HORN *et al.* 2009). *C. parapsilosis sensu stricto* est largement prédominant par rapport à *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis*, avec toutefois quelques différences en fonction des régions. Le tableau 7 rapporte les proportions d'identification de *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis* parmi les isollements du complexe *C. parapsilosis* en fonction des continents (LOCKHART *et al.* 2008). On constate qu'à une exception près (l'Australie), *C. metapsilosis* est l'espèce la plus rare parmi les trois espèces du complexe *parapsilosis*.

Tableau 7 : Distribution de *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis* dans le complexe *C. parapsilosis* selon les continents (LOCKHART *et al.* 2008)

Continents	<i>C. parapsilosis sensu stricto</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	<i>C. metapsilosis</i>
Afrique	98,6	0,7	0,7
Asie	86,4	11,0	2,6
Australie	87,7	5,5	6,8
Europe et Moyen-Orient	93,6	3,5	2,9
Amérique du Nord	94,4	5,0	0,6
Amérique du Sud	87,8	10,9	1,3

Outre un intérêt purement épidémiologique, une identification précise de ces trois espèces permet d'étudier leur profil de sensibilité vis-à-vis des différents antifongiques. Les données concernant ce sujet sont encore récentes et peu nombreuses, du fait d'un faible nombre d'isolats de *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis* disponibles. Une étude récemment publiée et portant sur 1929 isolats de *C. parapsilosis sensu lato* montre que les CMI (Concentrations

Minimales Inhibitrices) aux antifongiques de *C. orthopsilosis* et de *C. metapsilosis* seraient légèrement plus basses que celles de *C. parapsilosis* à l'exception du fluconazole (LOCKHART *et al.* 2008). Une autre étude portant sur 71 patients montrait d'une part que les CMI pour le fluconazole et le voriconazole des souches de *C. metapsilosis* étaient significativement plus élevées que pour celles des deux autres espèces et mettait notamment en évidence trois isolats de *C. metapsilosis* résistants au fluconazole. D'autre part, les souches de *C. metapsilosis* présentaient des CMI significativement moins élevées que *C. parapsilosis* au sens strict et *C. orthopsilosis* vis-à-vis des échinocandines (CHEN *et al.* 2010).

➤ *C. glabrata*

La problématique du complexe *C. parapsilosis* se pose de la même façon pour *C. glabrata*. Deux nouvelles espèces ont ainsi été mises en évidence ces dernières années, *C. nivariensis* et *C. bracarensis* (ALCOBA-FLOREZ *et al.* 2005; CORREIA *et al.* 2006). Les différences phénotypiques, présentées dans le tableau 8, sont relativement limitées. *C. nivariensis* fermente le tréhalose et apparaît blanc sur gélose chromogène CHROMagar® contrairement à *C. glabrata* ne fermentant pas le tréhalose et apparaissant rose. *C. bracarensis* quant à lui assimile la L-Lysine. Ces différences ainsi que le fait que ces deux espèces n'apparaissent pas dans les bases de données des différentes galeries d'identification commerciales utilisées en routine, rendent leur identification quasi-impossible sans avoir recours à la biologie moléculaire ou la spectrométrie de masse (ALCOBA-FLOREZ *et al.* 2005; CORREIA *et al.* 2006).

Tableau 8 : Différences phénotypiques entre *C. glabrata*, *C. nivariensis* et *C. bracarensis* (ALCOBA-FLOREZ *et al.* 2005; CORREIA *et al.* 2006)

	<i>C. glabrata</i>	<i>C. nivariensis</i>	<i>C. bracarensis</i>
Couleur des colonies sur milieu CHROMagar®	roses	blanches	blanches
Fermentation du tréhalose	-	+	
Assimilation de la L-lysine	-		+
RTT Glabrata® (Fumouze Diagnostics)	+	-	-

Si la pathogénicité de ces deux nouvelles espèces semble maintenant bien établie comme illustrée par leur implication dans des fongémies, peu de données quant à leur épidémiologie sont disponibles du fait de leur découverte récente (FUJITA *et al.* 2007; WARREN *et al.* 2010). Il semble cependant que leurs prévalences soient très faibles. Ainsi, en Espagne sur 143 isolats de *C. glabrata* trois seulement étaient en fait des *C. bracarensis* et aucun des *C. nivariensis* (CUENCA-ESTRELLA *et al.* 2011). Dans une autre étude, portant sur 1598 isolats

de *C. glabrata* provenant de différents continents, seuls deux étaient des *C. bracarensis* et un seul était un *C. nivariensis* (LOCKHART *et al.* 2009). De même, l'étude épidémiologique française EPICANDI n'a mis en évidence qu'un seul *C. bracarensis* et aucun *C. nivariensis* sur 1403 souches de *Candida* spp. (LACROIX *et al.* 2011).

Malheureusement le nombre de souches disponibles pour l'étude de la sensibilité aux antifongiques de *C. nivariensis* et de *C. bracarensis* est trop faible pour permettre de dégager un profil de sensibilité spécifique pour ces deux nouvelles espèces. Toutefois, les deux études mentionnées ci-dessus ne semblent pas montrer de différences significatives de sensibilité aux antifongiques par rapport à *C. glabrata* (CUENCA-ESTRELLA *et al.* 2011; LOCKHART *et al.* 2009).

➤ D'autres espèces proches phénotypiquement

Candida famata et *guilliermondii* sont des espèces isolées de manière moins fréquentes en pathologie humaine, représentant moins de 1% des isolats de candidoses invasives dans une étude américaine entre 1997 et 2003 (PFALLER and DIEKEMA 2007). Néanmoins d'autres études récentes ont montré, à l'aide de techniques de biologie moléculaire, que ces deux espèces sont souvent mal identifiées avec les techniques usuelles basées sur des critères phénotypiques. Ainsi une étude récente a montré que 67% des isolats identifiés comme *C. famata* étaient en réalité des *C. guilliermondii* et que 44% des souches identifiées initialement comme étant des *C. guilliermondii* étaient mal identifiées et ont été corrigées en *C. parapsilosis*, *C. fermentati* ou *C. zeylanoides* (CORNET *et al.* 2011). Une autre étude française reprenant plusieurs isolats de *C. famata* et de *C. guilliermondii* confirme que les souches de *C. famata* sont souvent mal identifiées et sont en réalité des *C. guilliermondii* pour la plupart, mais la biologie moléculaire met en évidence également quelques *C. palmioleophila* (DESNOS-OLLIVIER *et al.* 2008).

Obtenir une identification précise de l'espèce présente un intérêt essentiellement épidémiologique car il n'existe pas toujours de différence de profil de sensibilité aux antifongiques entre deux espèces proches. Cependant, celle-ci peut s'avérer très utile dans certains cas, et notamment pour identifier *C. palmioleophila* car cette espèce n'a pas le même profil de sensibilité *in vitro* aux antifongiques que *C. famata* ou *C. guilliermondii*, deux espèces avec lesquelles elle est fréquemment confondue. Ainsi, comme illustré récemment, les isolats de *C. palmioleophila* présentent notamment des CMI très basses pour les

échinocandines mais généralement élevées pour le fluconazole (JENSEN and ARENDRUP 2011). L'étude multicentrique EPICANDI menée entre janvier et février 2010 avait pour but d'établir l'épidémiologie des *Candida* spp. dans les services à risque de candidose invasive, mais également de comparer les performances de différentes techniques d'identification, dont la galerie ID32C® et l'étude des séquences d'ADN en biologie moléculaire. Cette étude confirme les résultats exposés plus haut. Après analyse en biologie moléculaire de 12 souches identifiées de manière correcte comme étant des *C. guilliermondii* par la galerie d'identification ID32C®, trois d'entre elles étaient en fait des *C. fermentatii* et la seule souche de *C. famata* de l'étude a été finalement identifiée par biologie moléculaire comme *C. lusitaniae* (LACROIX *et al.* 2011).

Candida kefyr et *C. sphærica* sont également deux espèces très proches sur le plan phénotypique, parfois confondues (GOMEZ-LOPEZ *et al.* 2010). Il s'agit d'une donnée intéressante car *C. kefyr*, bien que ne faisant pas partie des cinq espèces les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine, est tout de même régulièrement isolée au cours des candidoses invasives, et sa prévalence pourrait donc être sous-estimée (PFALLER and DIEKEMA 2007).

Le même problème est observé pour *C. inconspicua* et *C. norvegensis* indiscernables par les méthodes phénotypiques telles que la galerie ID32C® (MAJOROS *et al.* 2003). Dans plusieurs études, la grande majorité des souches initialement identifiées comme *C. norvegensis* se sont révélées, après analyse en biologie moléculaire, être des *C. inconspicua* (LACROIX *et al.* 2011; MAJOROS *et al.* 2003).

L'épidémiologie des *Candida*, en particulier celle des candidémies, rapportée dans la plupart des études n'est donc pas parfaitement exacte car elle repose le plus souvent uniquement sur les méthodes d'identification phénotypique dont les capacités d'identification sont limitées. La prévalence de certaines espèces peut ainsi être sous-estimée comme par exemple *C. famata* qui est bien souvent mal identifié, ou bien alors sous-estimée quand celles-ci sont absentes des bases de données des systèmes d'identification commerciaux.

2. Pouvoir pathogène et facteurs de risque des candidoses

Les candidoses sont des affections opportunistes qui peuvent se développer dès lors que les barrières naturelles de l'organisme se retrouvent affaiblies, que ce soit au niveau local ou général. Ainsi, les âges extrêmes de la vie, les effractions cutanées accidentelles ou via un dispositif invasif, certaines pathologies chroniques comme le diabète ou bien encore certains traitements médicamenteux comme une antibiothérapie à large spectre pouvant modifier la flore normale de l'organisme et entraîner un déséquilibre en faveur d'un *Candida* spp, sont autant de facteurs de risque de candidose.

Les *Candida* spp. peuvent être schématiquement responsables de deux types d'infections bien distinctes : d'une part les candidoses superficielles, fréquentes et habituellement bénignes et, d'autre part, les candidoses invasives, touchant principalement des patients à risque et qui peuvent engager le pronostic vital. Le sujet de ce travail portant spécifiquement sur les candidémies, nous aborderons plus précisément les candidoses invasives.

2.1. Les candidoses superficielles

Les candidoses superficielles touchant la peau, les phanères et les muqueuses, sont fréquentes et concernent aussi bien le sujet immunocompétent que le sujet immunodéprimé.

2.1.1. Les candidoses cutanées et unguéales

Les levures du genre *Candida* peuvent être aussi bien à l'origine de lésions des grands plis, des plis de l'aîne ou du pli interfessier, l'infection est alors appelée intertrigo, que des ongles ou de leur pourtour, on parle alors respectivement d'onyxis et de périonyxis. Ces infections se situent préférentiellement au niveau des mains et des grands plis, où prédominent les facteurs favorisant tels que l'humidité et la macération. Formes cliniques habituellement bénignes, leur traitement est aisé et repose essentiellement sur la suppression des facteurs favorisant et la mise en place d'un traitement antifongique le plus souvent local. Il peut cependant exister des formes plus sévères, touchant des patients fragilisés, les nouveau-nés par exemple, ou ayant un terrain particulier tel que certains déficits immunitaires comme dans le cas de la candidose muco-cutanée chronique (CHABASSE *et al.* 2006).

2.1.2. Les candidoses muqueuses

Les candidoses génito-urinaires constituent la manifestation la plus fréquente des candidoses touchant les muqueuses. Les femmes en âge de procréer sont plus particulièrement exposées à ce type d'infection et notamment à la candidose vulvo-vaginale. Il est ainsi admis que 75% des femmes font au cours de leur vie, au moins un épisode de vulvo-vaginite à *Candida* (SOBEL 1997). A l'opposé, l'infection à levure de la sphère génitale chez l'homme est beaucoup plus rare (BOUCHARA *et al.* 2010).

Les candidoses des muqueuses digestives sont également très fréquentes, les *Candida* et notamment *C. albicans* étant des commensaux de la flore digestive. Elles peuvent affecter tous les segments du tube digestif. La candidose buccale et œsophagienne, appelée communément muguet, est la plus courante, déjà décrite du temps d'Hippocrate, notamment chez les nouveau-nés ou les patients atteints du VIH (cf. figure 3). Si *C. albicans* ou *C. glabrata* sont les deux espèces les plus fréquemment rencontrées au niveau buccal (CHABASSE *et al.* 2006), on note chez les patients atteints du VIH une prévalence plus importante de *C. dubliniensis* (SULLIVAN *et al.* 1995).



Figure 3 : Aspect clinique d'un muguet buccal (ANOFEL 2007)

2.2. Les candidoses invasives

Chez les patients les plus fragiles, les *Candida* peuvent être à l'origine d'infections profondes et invasives de mauvais pronostic. Elles peuvent atteindre n'importe quel organe : septicémies à *Candida* spp., endocardites, candidoses digestives, hépatospléniques, cutanées, rénales, oculaires, etc... (OUDE LASHOF *et al.* 2011).

La septicémie à *Candida*, ou candidémie, est une des formes les plus graves de candidoses invasives. La candidémie, telle que définie communément et notamment dans la conférence de consensus commune sur la prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte, élaborée de manière conjointe par la Société Française d'Anesthésie et de Réanimation (SFAR), la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et la Société de Réanimation de Langue Française (SRLF) en 2004, consiste en la présence d'au moins une hémoculture positive à *Candida* spp. (SFAR *et al.* 2004). Les candidémies sont particulièrement sévères non seulement car elles engagent fréquemment le pronostic vital, mais aussi car elles peuvent être le point de départ de localisations secondaires, bruyantes et aggravant encore le pronostic : localisations cutanées, hépatospléniques, thrombophlébites septiques...

➤ Services et situations à risque

- Chirurgie et soins intensifs

Les données de la littérature sur les candidoses invasives illustrent clairement que les patients les plus susceptibles de développer une candidose invasive sont les patients hospitalisés dans les services de chirurgie et de soins intensifs. Ainsi, dans une étude américaine récente, 32,8% des patients ayant présenté un épisode de candidémie avaient subi une chirurgie (HORN *et al.* 2009). En Europe, dans l'étude de l'ECMM (European Confederation of Medical Mycologie), 1007 des 2089 épisodes de candidémie (42,8%) provenaient de patients des services de chirurgie et 839 (40,2%) des services de soins intensifs (TORTORANO *et al.* 2006). De façon similaire, en Italie, l'incidence de survenue d'une candidémie était beaucoup plus élevée pour les services de soins intensifs (15,8/10000 patient-jours) suivi par les services de chirurgie (0,69/10000 patient-jours) mais nettement plus faible pour les services de médecine (0,15/10000 patient-jours) (LUZZATI *et al.* 2005).

- Hémopathies malignes

Une autre catégorie de patients particulièrement exposée au risque de candidémie est représentée par les patients dont le système immunitaire est défaillant : notamment lors d'immunodépression chez les malades atteints d'hémopathies malignes ou d'un cancer, chez les patients recevant un traitement immunosuppresseur à la suite d'une transplantation d'organe ou bien encore lors d'un traitement d'une maladie chronique. Parmi les patients immunodéprimés, on peut remarquer que tous ne présentent pas le même risque de candidose

invasive. Certains d'entre eux, dits à « haut risque », sont plus particulièrement exposés. Il s'agit des patients présentant une neutropénie, souvent profonde. A contrario, les patients infectés par le VIH au stade SIDA sont peu représentés dans les différentes études. Ainsi, seuls 63 patients étaient infectés par le VIH (3%) dans l'étude européenne de l'ECMM, 2% dans une étude nord-américaine plus récente, voire sont absents de certaines études, le VIH n'étant parfois pas mentionné comme facteur de risque (HORN *et al.* 2009; TORTORANO *et al.* 2006; ZAOUTIS *et al.* 2005).

- Transplantation d'organes solides

Les patients receveurs d'organes solides représentent également une catégorie très exposée aux infections fongiques invasives (PAPPAS *et al.* 2010). Ainsi, comme illustré dans la figure 4, les candidoses représentent plus de la moitié des infections fongiques invasives chez les patients ayant reçu une greffe d'organe solide. Sur 1208 infections fongiques prouvées ou probables répertoriées par le réseau américain TRANSNET (Transplant-Associated Infection Surveillance Network) concernant 1063 receveurs d'organes durant la période allant de mars 2001 à mars 2006, 639 étaient des candidoses invasives, soit 52,9% des cas, loin devant les aspergilloses invasives (18,8% des cas) (PAPPAS *et al.* 2010).

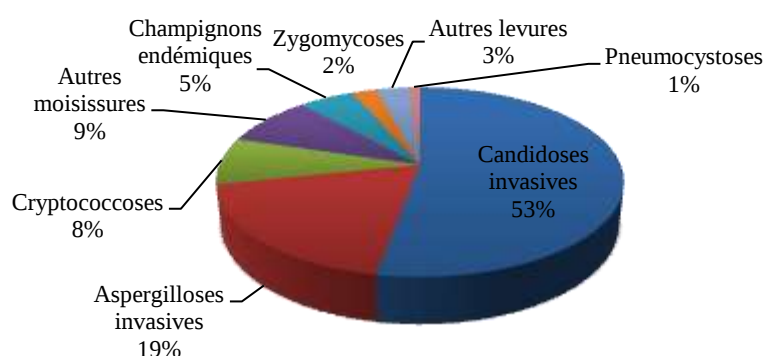


Figure 4 : Infections fongiques invasives en fonction de l'agent fongique chez 1063 receveurs d'organes solides (PAPPAS *et al.* 2010)

Celles-ci surviennent généralement dans les premiers temps après la chirurgie, les patients cumulant plusieurs facteurs de risque : chirurgie lourde, immunosuppression importante, séjour en unité de soins intensifs avec pose de cathéters centraux notamment. Ainsi comme illustré dans la figure 5, les candidoses invasives prédominent largement parmi les infections fongiques invasives survenant de façon précoce, le plus souvent dans les 90 premiers jours après la transplantation avec une médiane de survenue de 103 jours, contre 184 jours pour les aspergilloses ou bien 312 jours pour les zygomycoses (PAPPAS *et al.* 2010).

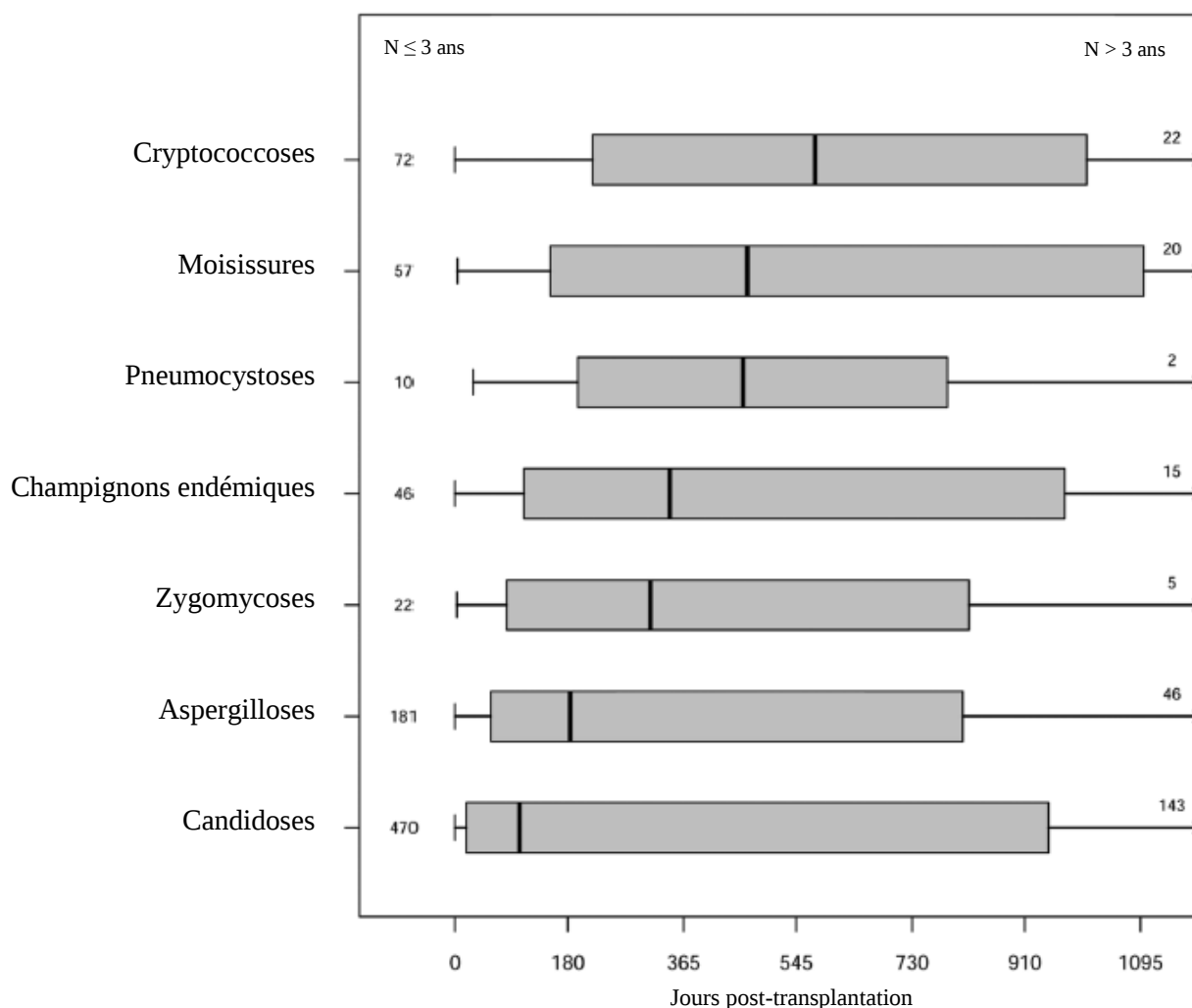


Figure 5 : Délai de survenue d'une infection fongique invasive en fonction du type d'agent fongique (PAPPAS *et al.* 2010). La médiane est représentée par un trait vertical.

➤ Cathéters et autres dispositifs intraveineux

Le principal facteur de risque retrouvé chez la très grande majorité des patients atteints de candidémie est la présence d'une voie veineuse centrale. Ce facteur de risque est rapporté dans toutes les études, aussi bien internationales que françaises. Un cathétérisme vasculaire est ainsi retrouvé dans 46% des cas des épisodes de candidémie pour les adultes et 58% des cas en pédiatrie dans l'étude portant sur les candidémies durant l'année 2000 aux Etats-Unis (ZAOUTIS *et al.* 2005). Cette proportion est encore plus élevée dans la série de l'ECMM avec près de 80% (TORTORANO *et al.* 2004) ou encore dans une étude espagnole monocentrique avec 64% (ORTEGA *et al.* 2011). En France, lors d'une étude conduite au CHU de Tours entre 1991 et 1995, il est apparu que près de 88% des patients étaient porteurs d'une voie veineuse centrale (MANDARD and BESNARD 1996). Plus récemment, dans une étude observationnelle

dans l'Ouest de la France durant l'année 2004, 72% des patients étaient porteurs d'un cathéter veineux central (TALARMIN *et al.* 2009).

➤ Antibiothérapie à large spectre

Un autre facteur prédisposant rencontré très fréquemment dans la plupart des séries est la prise d'une antibiothérapie à large spectre dans les jours précédant la survenue de l'épisode de candidémie (PFALLER and DIEKEMA 2007). Ainsi dans les mêmes études que celles citées précédemment, on retrouve que 74,5% des patients dans l'étude de l'ECMM, 75,8% dans l'étude observationnelle dans l'Ouest de la France durant l'année 2004 et jusqu'à plus de 98% des patients dans l'étude menée à Tours, avaient reçu une antibiothérapie dans les 45 jours précédant la survenue de la candidémie (MANDARD and BESNARD 1996; PFALLER and DIEKEMA 2007; TALARMIN *et al.* 2009).

➤ Autres facteurs de risque

D'autres facteurs de risque peuvent être également associés à la survenue d'un épisode de candidémie, notamment ceux constituant une porte d'entrée privilégiée pour les levures.

- La nutrition parentérale est un facteur de risque très souvent rapporté et serait présent chez 19 à 37,2% des patients en fonction des études (HORN *et al.* 2009; ZAOUTIS *et al.* 2005).
- L'hémodialyse est également un facteur de risque régulièrement mis en évidence, pour les même raisons puisqu'elle nécessite la mise en place de cathéters (GUERY *et al.* 2009a).
- De même, les brûlures étendues constituent une porte d'entrée privilégiée pour les levures, bien que les données concernant ce type de patients soient plus rares. Dans la série de l'ECMM sur 2089 cas recensés, 29 présentaient des brûlures, soit 1,4% (TORTORANO *et al.* 2004).

- D'autres facteurs entraînant une diminution des moyens de défense naturels de l'organisme sont encore mis en évidence : diabète, alcoolisme, corticothérapie, ventilation mécanique etc...

Tableau 9 : Part des principaux facteurs de risque de survenue d'une candidémie dans trois études (en %)
(HORN *et al.* 2009; TORTORANO *et al.* 2006; ZAOUTIS *et al.* 2005)

Facteurs de risque	Horn <i>et al.</i> 2009 (n=2019)	Tortorano <i>et al.</i> 2006 (n=2089)	Zaoutis <i>et al.</i> 2005 (n=8949)
Chirurgie	32,8	48,2	-
Unité de soins intensifs	-	40,2	-
Transplantation d'organes solides	8,2	-	0,5
Hémopathies malignes	9,8	12,3	4
Cancer d'organe solide	17,4	22,5	19
Voie veineuse centrale	86,2	79,6	46
Nutrition parentérale	37,2	-	19
Antibiothérapie préalable	-	74,5	-
Diabète	34,9	-	19

➤ Colonisation à *Candida*

Afin de mieux prévenir ces épisodes de candidémie, un score de colonisation à *Candida* appelé score de Pittet peut être établi pour les patients présentant un fort risque de développer une candidose invasive, comme les patients de réanimation (PITTET *et al.* 1994). Cet indice de colonisation est calculé à partir de prélèvements superficiels pluriorificiels réalisés à l'écouvillon à partir de plusieurs sites tels qu'oropharynx ou liquide gastrique, nez, anus, et prélèvement d'urine. Le score de Pittet est calculé de la manière suivante : nombre de sites colonisés / nombre de sites testés. Il est considéré comme positif s'il est $\geq 0,5$. Ainsi, à partir de deux sites positifs sur quatre avec la même espèce de *Candida*, le patient est considéré comme colonisé par cette espèce. Plus l'index de colonisation est élevé, plus le patient est à risque de développer une infection fongique invasive (PITTET *et al.* 1994). Ce score permet également d'instaurer un traitement prophylactique chez ces patients à risque.

Il existe d'autres scores, comme le « *Candida* score », reposant à la fois sur la recherche de colonisation fongique mais aussi sur la présence de facteurs de risque et l'état clinique du patient (LEON *et al.* 2006). Ce score permet là encore de détecter les patients devant bénéficier d'un traitement antifongique précoce. Une autre étude des mêmes auteurs a d'autre part mis en évidence qu'un *Candida* score < 3 rend très peu probable la survenue d'une candidose invasive chez un patient non-neutropénique (LEON *et al.* 2009).

3. Démarche diagnostic des candidémies : de la clinique au laboratoire

Le diagnostic d'une candidémie est difficile car les signes cliniques qui lui sont associés sont relativement aspécifiques, notamment en l'absence de localisations secondaires. Les perturbations biologiques de la candidémie le sont également, en partie du fait du caractère brutal de l'infection. On peut observer une hyperlymphocytose dans 50% des cas liée à la réponse immunitaire de l'hôte mais les patients concernés présentent fréquemment des perturbations de leur bilan biologique en relation avec la pathologie sous-jacente (POULAIN 2000). Il est donc impossible de suspecter une candidémie sur un simple bilan biologique même si celui-ci présente des anomalies.

Du fait de la pauvreté des signes cliniques, et compte tenu de la gravité potentielle de l'infection, une candidémie doit donc être évoquée systematiquement et recherchée minutieusement devant toute fièvre prolongée résistante à un traitement antibiotique adapté et bien conduit, chez un patient à risque.

3.1. En cas de suspicion de candidémie

➤ Prélèvement d'hémocultures

Toute suspicion de candidémie doit conduire à la réalisation d'hémocultures. Selon les recommandations émises récemment par l'ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), il est préconisé de réaliser entre deux et quatre hémocultures au minimum, trois étant le nombre idéal, répétées quotidiennement, avec une incubation d'au moins cinq jours. Une des raisons qui justifie le prélèvement de plusieurs flacons est la sensibilité médiocre des hémocultures en cas de candidémie, qui se situe entre 50 et 75% (ULLMANN *et al.* 2011). Une fois prélevés, ces flacons sont insérés dans un automate pour hémocultures. A l'heure actuelle il existe plusieurs systèmes commerciaux, présentés dans le tableau 10 et dont les performances sont proches, même si ces appareils présentent quelques différences (SFM 2010). Du fait des progrès techniques, ces systèmes s'améliorent en permanence.

Tableau 10 : Automates pour hémocultures

Systèmes	Méthode de détection de la croissance
Bactec[®] ⁽¹⁾	Mesure non invasive de CO2 par fluorescence
Becton Dickinson	
Vital[®]	Mesure de variation CO2-H2 et/ou pH par fluorescence
BioMérieux	
BacT/Alert[®]	Mesure du CO2 par "sensor" indicateur de pH
Organon-Teknika	
Bio-Argos[®]	Mesure du CO2 par infrarouge
Bio-Rad	

⁽¹⁾ système actuellement utilisé au CHU de Nantes

Une étude réalisée il y a plusieurs années comparant les performances des systèmes Bactec[®] et BacT/Alert[®] avait montré que le système BacT/Alert[®] présentait de meilleures performances que le système Bactec[®] aussi bien au niveau du délai de détection qu'en nombre de faux négatifs. Dans cette étude, le système BacT/Alert[®] avait détecté une croissance de *Candida* dans 90% des flacons inoculés avec un délai moyen de croissance de 25,62 heures, alors que le système Bactec[®] n'a détecté une croissance que dans seulement 66% des flacons avec un délai de croissance de 27,30 heures (HORVATH *et al.* 2004).

Bien que les levures soient des microorganismes non exigeants, et donc capables de se multiplier dans des flacons aérobie et anaérobie classiquement employés par les laboratoires de bactériologie, il est toujours recommandé d'inoculer en plus un flacon plus spécifiquement dédié à la recherche d'agents pathogènes fongiques pour s'assurer les meilleures chances d'isolement, notamment chez les patients à risque. A l'heure actuelle, ces flacons sont disponibles uniquement dans le système Bactec[®]. Ils contiennent des antibiotiques permettant d'inhiber la croissance bactérienne qui pourrait masquer ou freiner la croissance des levures. Une étude a ainsi montré que le flacon Mycosis IC/F du système Bactec[®] permettait une meilleure détection des levures avec 77,4% d'hémocultures positives contre 71% pour le flacon aérobie standard (CHIARINI *et al.* 2008). De même dans l'étude mentionnée plus haut, les flacons spécifiquement dédiés à la recherche d'agents fongiques ne présentaient pas de faux négatifs dans les systèmes Bactec[®] et BacT/Alert[®] (HORVATH *et al.* 2004). Par ailleurs, comme illustré dans une autre étude, l'utilisation des flacons Mycosis IC/F pourrait permettre une détection plus précoce des cas de candidémie à *C. glabrata* (KIRBY *et al.* 2009). *Candida glabrata* étant une des cinq espèces les plus souvent impliquées dans les candidémies, comme nous le verrons plus loin, le prélèvement d'un flacon Mycosis IC/F doit donc être systématique, au moins chez les patients à risque.

Il est donc essentiel, lors d'une suspicion de candidémie chez des patients à risque, de prélever plusieurs hémocultures (au moins trois séries) et de privilégier les flacons spécifiquement dédiés à la recherche des agents fongiques (Mycosis IC/F).

➤ Recherche de signes de dissémination

Les localisations secondaires, souvent plus bruyantes, peuvent parfois constituer un signal d'alerte permettant d'évoquer le diagnostic de candidémie. Parfois ce sont seulement des images radiologiques qui orientent vers le diagnostic de candidémie (GUERY *et al.* 2009a). Celles qui doivent être recherchées en premier lieu sont les signes de localisation cutanée ou ophtalmologique à type de chorioretinite ou plus rarement d'endophtalmie (OUDE LASHOF *et al.* 2011) (cf figure 6) voire d'endocardite.

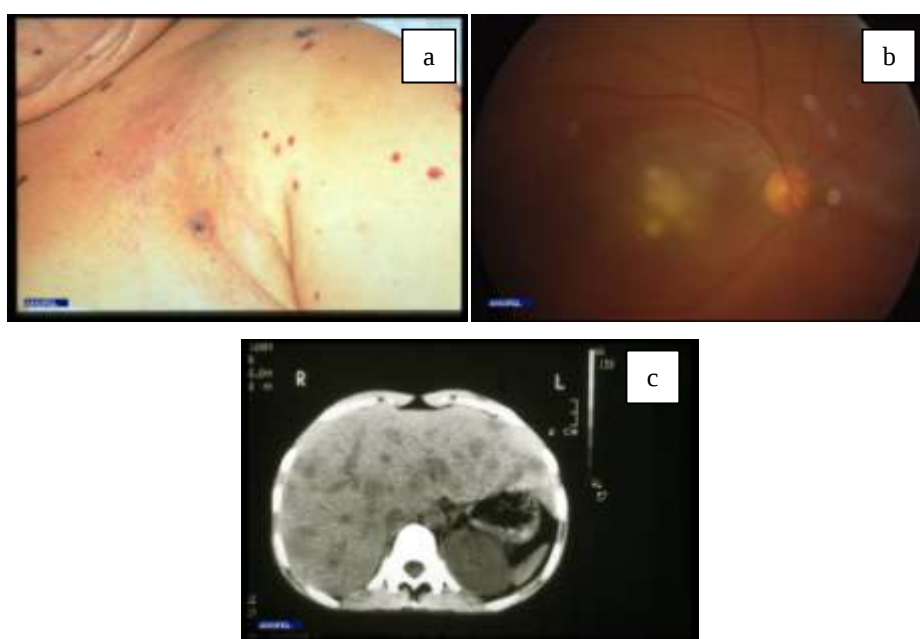


Figure 6 : Exemples de quelques localisations secondaires observées au cours de candidémies : (a) cutanée, (b) foyers de chorioretinite et (c) image tomodensitométrique de localisations hépatiques (ANOFEL 2007)

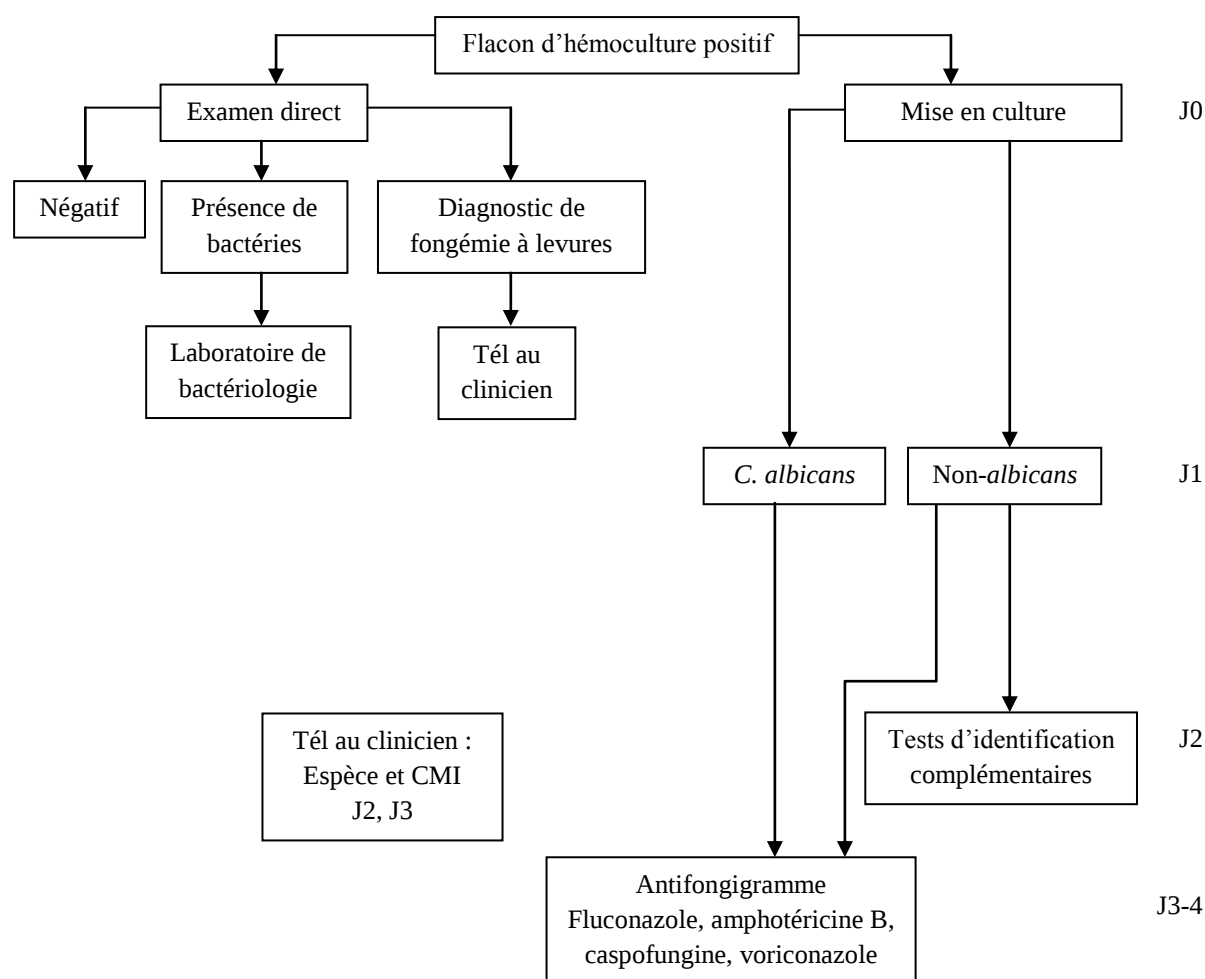
3.2. Diagnostic biologique : rôle du laboratoire

3.2.1. Un rôle en amont

Le laboratoire a tout d'abord un rôle en amont du développement d'une candidose invasive en dépistant les patients à haut risque d'infection nosocomiale des services de réanimation, grâce à la détection de la colonisation dont nous avons parlé précédemment.

3.2.2. Démarche au laboratoire

En cas d'hémoculture détectée positive par l'automate d'hémoculture, une série d'actions va être déclenchée dans le laboratoire pour permettre une prise en charge optimale et assurer un rendu rapide des résultats. L'algorithme mis en œuvre au CHU de Nantes est présenté ci-dessous, chaque étape sera détaillée ci-après.



3.2.2.1. Confirmation du diagnostic

➤ Examen direct

La première étape, commune à la plupart des prélèvements à visée mycologique reçus au laboratoire, est la réalisation d'un examen microscopique direct du prélèvement. Les *Candida* spp. étant des levures, à l'examen direct elles se présentent donc le plus souvent sous une forme ovale plus ou moins bourgeonnante. Cependant pour certaines espèces il est possible d'observer des pseudo-filaments ou filaments vrais prenant naissance à partir des tubes germinatifs (figure 7). *Candida albicans* est l'espèce qui produit le plus fréquemment ces tubes germinatifs (SUDBERY *et al.* 2004). La réalisation de cet examen direct nécessite donc un œil averti.



Figure 7 : *Candida albicans* : différentes formes observées à l'examen direct, forme ovale bourgeonnante (a), avec tubes germinatifs (b), avec pseudohyphes (c) (SUDBERY *et al.* 2004)

Les tubes germinatifs et pseudohyphes ne sont pas observés chez toutes les espèces de *Candida*. *Candida glabrata* ne présente pas ces différents aspects à l'examen direct, leur présence permet donc d'éliminer cette possibilité des identifications possibles (BOUCHARA *et al.* 2010).

Cet examen direct est une étape essentielle car il permettra aussi de faire un diagnostic différentiel avec d'autres levures pathogènes n'appartenant pas au genre *Candida*. Le genre *Geotrichum* par exemple a un aspect totalement différent avec des filaments mycéliens septés et d'aspect rectangulaire.

➤ Ensemencement des milieux de culture mycologique

Les *Candida* étant des levures non exigeantes, elles sont faciles à cultiver sur la plupart des milieux utilisés au laboratoire tel que le milieu de Sabouraud. L'adjonction d'antibiotiques

tels que le chloramphénicol ou la gentamicine permet l'inhibition de la croissance bactérienne. Après incubation à une température de 37°C pendant 24 à 72 heures les colonies prennent un aspect blanc-crème, lisse et brillant ou mat en fonction des espèces. Certaines espèces de *Candida* pouvant revêtir un aspect identique, il n'est pas possible de faire une identification d'espèce à partir des seuls critères micro et/ou macroscopiques. Cependant il existe des outils d'identification simples à utiliser en routine.

Au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Nantes, deux milieux sont ensemencés à partir d'une hémoculture positive à levures :

- Milieu de Sabouraud additionné de chloramphénicol et incubé à 30°C

Les colonies de levures apparaissent d'aspect blanc à blanc-crème, brillant ou mat, lisse ou plissé. Ce milieu ne permet pas l'identification d'espèce, la plupart des *Candida* présentant le même aspect. Cependant, des colonies blanches, mates à bords festonnés orientent vers *C. krusei* (BOUCHARA *et al.* 2010).

- Milieu chromogène incubé à 35°C

Il s'agit d'un milieu dans lequel sont incorporés des substrats chromogènes permettant de révéler une activité enzymatique spécifique d'une espèce de *Candida*. Quand cette enzyme est présente, les colonies de levures apparaissent plus ou moins pigmentées en fonction de leur capacité à dégrader le substrat chromogénique. La principale enzyme détectée est la β -galactosaminidase, souvent associée à la détection de la β -glucosidase ou de la phosphatase. Ces milieux permettent une identification rapide en 24 à 48 heures et sont particulièrement bien adaptés à l'identification rapide de *C. albicans* (FREYDIERE *et al.* 2001). *Candida dubliniensis* peut théoriquement être différencié grâce à ces milieux, mais cela reste très difficile en pratique. D'autres espèces peuvent être identifiées à l'aide de ces milieux comme *C. tropicalis* et *C. krusei*, mais il convient d'être très prudent et d'effectuer systématiquement des tests complémentaires d'identification pour toute espèce non-*albicans*. Les principaux milieux chromogènes disponibles dans le commerce sont répertoriés dans le tableau 11 (BOUCHARA *et al.* 2010).

Tableau 11 : Principaux milieux chromogènes disponibles sur le marché

	<i>Candida</i> ID2®	CHROMagar <i>Candida</i> ®	<i>Candida</i> Brilliance®	CandiSelect® 4
Fabricant	BioMérieux	Becton Dickinson	Oxoid	BioRad
Enzymes étudiées	β -galactosaminidase β -glucosidase	β -galactosaminidase Phosphatase	β -galactosaminidase Phosphatase	β -galactosaminidase Phosphatase
<i>Candida</i> identifiés	<i>C. albicans</i> (bleu)	<i>C. albicans</i> (vert) <i>C. tropicalis</i> (bleu métallique) <i>C. krusei</i> (rose pâle)	<i>C. albicans</i> (vert)	<i>C. albicans</i> (rose violet)
Orientation	<i>C. tropicalis</i> , <i>C. lusitaniae</i> , <i>C. kefyr</i> (rose)		<i>C. tropicalis</i> (bleu) <i>C. krusei</i> (colonies roses irrégulières)	<i>C. krusei</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> (bleu)

Il est important de noter que, à l'exception de *C. albicans*, il reste nécessaire d'employer des tests complémentaires d'identification et de ne pas se fier uniquement à la couleur des colonies, celle-ci n'apportant qu'une orientation.

3.2.2.2. Stratégies d'identification de l'espèce en cause

Bien que certains aspects de colonies en culture puissent orienter vers une espèce ou une autre, il reste essentiel d'identifier précisément chaque souche isolée de prélèvements profonds et en particulier d'hémocultures. Pour cela plusieurs tests plus ou moins rapides et simples sont disponibles.

➤ Test de blastèse ou de filamentation en sérum

La capacité que possède *C. albicans* à produire des tubes germinatifs est mise à profit dans le test de germination. En pratique quelques colonies sont incubées dans un sérum décomplémenté à 37°C pendant deux heures. A l'issue de l'étape d'incubation, la présence de tubes germinatifs sans étranglement à leur base, relativement spécifique de *C. albicans*, est recherchée (cf. figure 8) (Mackenzie 1962).

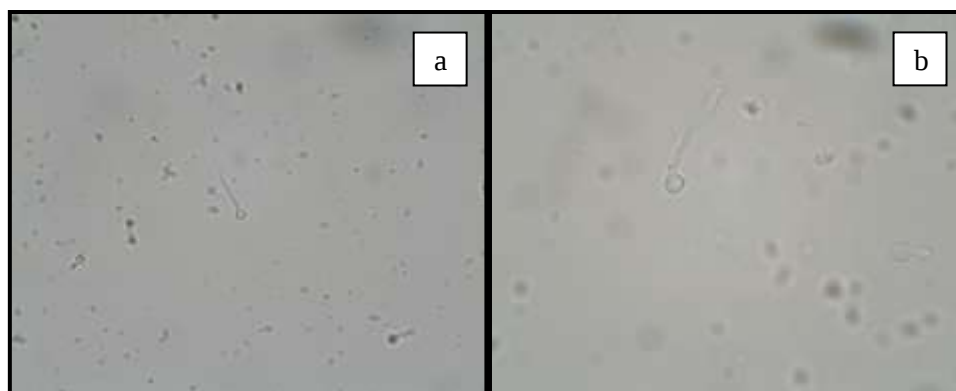


Figure 8 : Test de blastèse avec formation de tubes germinatifs grossissement (a) x400 et (b) x1000(collection personnelle)

Cependant il convient d'être très prudent concernant ce test pour plusieurs raisons : il ne permet pas de distinguer les deux espèces du complexe *C. albicans/C. dubliniensis* et il peut être pris en défaut, certaines souches de *C. albicans* ne produisant pas de tubes germinatifs (PAUGAM *et al.* 2008; SUDBERY *et al.* 2004). Il peut également exister un risque de confusion, la production de tubes germinatifs n'étant pas complètement spécifique de l'espèce *C. albicans* et d'autres espèces sont capables de produire des pseudo-filaments (Mackenzie 1962).

Une autre difficulté réside dans le fait que la lecture n'est pas toujours aisée, certains *Candida* produisant des pseudo-filaments d'aspect proche des tubes germinatifs de *C. albicans* mais présentant un étranglement à leur base.

➤ Test de chlamydosporulation

Candida albicans et *C. dubliniensis* sont deux espèces capables de produire des structures particulières, les chlamydo-spores. Celles-ci n'apparaissent que dans des conditions de culture stringentes, car il s'agit de formes de résistance et d'adaptation. Leur mise en évidence repose sur l'utilisation de milieux de culture « pauvres » tels que le PCB (pomme de terre, carotte, bile) ou le RAT (riz, agar, tween) que l'on laisse incuber 24 à 48 heures entre 25 et 28°C. L'observation au microscope du milieu de culture entre deux lames révélera la présence ou non de chlamydo-spores. *Candida albicans* et *C. dubliniensis* sont capables de produire ces structures (se reporter à la figure 1 page 17), alors que les autres espèces ne produisent que du pseudomycélium sur ces milieux, à l'exception de *C. glabrata* qui ne produit que des chlamydo-spores (Calderone 2002).

➤ Tests d'identification rapides

Il existe des tests rapides et faciles à mettre en œuvre pour identifier certaines espèces de *Candida* : *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei* et *C. glabrata*. L'intérêt de ces tests réside dans le fait de pouvoir renseigner au plus vite le clinicien sur l'identification de l'espèce dès l'obtention de colonies en culture, par rapport aux galeries d'identification qui nécessitent un délai supplémentaire de 24 à 48 heures.

- Identification spécifique de *C. albicans*

Il s'agit d'un test immunologique reposant sur une réaction d'agglutination antigène/anticorps. Des particules de latex sont sensibilisées avec un anticorps monoclonal dirigé contre un antigène spécifique de la paroi de *C. albicans* (Bichrolatex[®], Fumouze diagnostics). Ce test est très performant avec une sensibilité de 100% (FREYDIERE *et al.* 1997). Bien qu'aisé à réaliser, rapide et fiable, il est moins utilisé en routine car plus onéreux que le test de blastèse (FREYDIERE *et al.* 2001).

- Identification spécifique de *C. dubliniensis*

Le principe du test est le même que pour celui de *C. albicans* (Bichro-dubli[®], Fumouze diagnostics), à savoir une réaction d'agglutination antigène/anticorps (figure 9 page 41). Ce test présente une sensibilité et une spécificité élevées du fait de l'utilisation d'anticorps monoclonaux, respectivement 98% et 100% (MAROT-LEBLOND *et al.* 2006). Il est utile pour distinguer les deux espèces du complexe *C. albicans/C. dubliniensis*, indifférenciables par les méthodes d'identification simples.

- Identification spécifique de *C. krusei*

Le principe du Krusei-color[®] (Fumouze diagnostics) reste le même que ceux précédemment cités, un exemple est montré figure 10 page 41. Une étude rapporte une sensibilité de 100% et une spécificité de 95% pour ce test (FREYDIERE *et al.* 1997), certaines souches de *C. kefyr* et *C. inconspicua* notamment pouvant présenter une agglutination non spécifique (FREYDIERE *et al.* 1997).

- Identification spécifique de *C. glabrata*

Le Rapid Trehalose Test[®] (RTT laboratoire Fumouze diagnostics) permet l'identification de *C. glabrata* par détection rapide d'une enzyme (la tréhalase) en une vingtaine de minutes à

partir des colonies obtenues en culture. Le principe de ce test repose donc sur l'hydrolyse du tréhalose, mise en évidence par détection colorée. Il faut néanmoins réaliser deux autres cupules témoins :

- Une cupule témoin maltose permettant d'éliminer *C. tropicalis*, dont certaines souches peuvent également hydrolyser le tréhalose, mais aussi le maltose (contrairement à *C. glabrata*).
- Une cupule témoin, les milieux gélosés pouvant conduire à une réaction faussement positive.

Seule la cupule tréhalose virera à l'orange en cas de présence de *C. glabrata* (figure 11 page 41). Les performances de ce test sont excellentes avec une sensibilité allant de 93,8% à 97,9% et une spécificité allant de 97,6% à 98,8% selon les milieux d'isolement (FREYDIERE *et al.* 2003).

Il n'existe pas d'études analysant spécifiquement les performances du test Glabrata RTT[®] sur les deux espèces proches de *C. glabrata*, à savoir *C. nivariensis* et *C. bracarensis*. Néanmoins dans un cas clinique rapporté récemment dans la littérature, deux souches de *C. nivariensis* et une souche de *C. bracarensis* étaient négatives par cette technique (WAHYUNINGSIH *et al.* 2008).

➤ Les méthodes d'identification biochimique

Quand les techniques d'identification rapides citées ci-dessus sont mises en défaut, on peut recourir à d'autres méthodes. Il existe des galeries d'identification, utilisant les carbohydrates ou sucres, très utilisées en routine. Elles reposent sur deux principes, soit l'auxanogramme avec l'assimilation des sucres, soit le zymogramme avec leur fermentation. Selon la méthode utilisée, le nombre de sucres testés varie. Le profil ainsi obtenu est comparé à une base de données fournie par le fabricant. Selon les méthodes, le nombre d'espèces identifiables varie. La plus performante est probablement la galerie ID 32C[®], dont un exemple est présenté dans la figure 12 page 41, commercialisée par BioMérieux, qui est capable d'identifier 63 espèces différentes, ce qui explique qu'elle soit la galerie la plus utilisée en routine dans les laboratoires (FREYDIERE *et al.* 2001). Le résultat de cette galerie est rendu en pourcentage de probabilité, une très bonne identification correspondant à un pourcentage $\geq 98\%$. Dans une étude analysant les performances de cette galerie en fonction de l'espèce en cause, on note que la galerie API ID32C[®] identifie correctement les espèces communes avec un taux de

94%, mais celui-ci est beaucoup plus faible lorsque la galerie est confrontée à des espèces plus rares avec 56% seulement d'identifications correctes (MELETIADIS *et al.* 2011). Ceci s'explique tout d'abord par le fait que même si la base de données de l'ID32C[®] est très fournie, elle n'est pas exhaustive. De plus, certaines espèces nécessitent des tests complémentaires comme *C. norvegensis* ou *C. inconspicua*. En outre, comme nous l'avons déjà noté plus haut, il existe des espèces trop proches phénotypiquement pour être différenciées par les méthodes biochimiques. Ainsi une autre étude montre des difficultés d'identification de cette méthode concernant certaines espèces. Sur 264 isolats cliniques, la galerie ID32C[®] a identifié de manière incorrecte douze *C. inconspicua* comme étant *C. norvegensis*, cinq *C. lusitaniae* comme *C. famata* et un *C. tropicalis* comme *C. humicolus* (SZABO *et al.* 2008). Il convient donc d'être toujours critique vis-à-vis du résultat de ces méthodes car elles peuvent être mises en défaut même sur des espèces qui sont assez fréquemment impliquées en pathologie humaine.

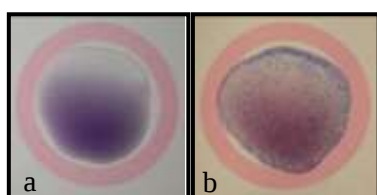


Figure 9 : Test Bichro-dubli[®] négatif (a), positif en présence de *C. dubliniensis* (b) (collection personnelle)

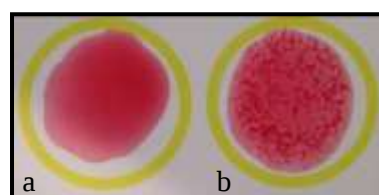


Figure 10 : Test Krusei-color[®] négatif (a), positif (b) (collection personnelle)

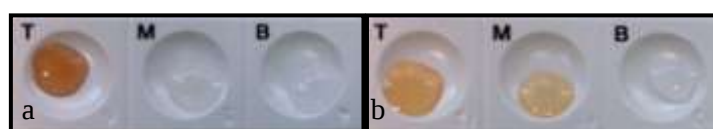


Figure 11 : Glabrata RTT[®] *C. glabrata* (a) et *Candida* autre que *glabrata* (b) (collection personnelle)
T = cupule Tréhalose, M = cupule Maltose, B = témoin négatif



Figure 12 : Galerie ID32C[®] : exemple de profil obtenu avec *C. tropicalis* (collection personnelle)

Une autre galerie manuelle est également utilisée au laboratoire : l'Auxacolor[®] commercialisée par BioRad. Elle étudie 15 caractères biochimiques permettant d'identifier 33 espèces différentes. Simple de réalisation, elle présente également de bonnes performances avec un taux d'identifications correctes de 95%, mais comme les deux autres, reste moins performantes sur les espèces rares avec 43% de bonnes identifications (MELETIADIS *et al.* 2011).

Afin de pallier aux méthodes manuelles, BioMérieux a également développé un système d'identification automatisé reposant sur l'automate Vitek[®]. Bien qu'entièrement automatisée, avec un temps d'incubation court, cette méthode reste cependant un peu moins performante que la galerie ID 32C[®] avec un taux d'identifications correctes de 92%. Ce système semble tout de même un peu meilleur pour les espèces rares avec 64% d'identifications correctes (MELETIADIS *et al.* 2011). Une autre étude comparant l'identification de 61 isolats d'espèces différentes par le système Vitek 2[®], par PCR et par ID32C[®] choisie comme méthode de référence montre que 58 isolats (95,1%) ont été correctement identifiés par la galerie ID32C[®] contre seulement 41 (67,2%) pour le système Vitek 2[®]. Parmi les 20 souches identifiées de manière incorrecte, on retrouvait sept souches présentant une faible discrimination ne permettant pas de conclure entre plusieurs espèces, trois souches identifiées comme étant une autre espèce, et 10 souches non identifiées. L'espèce présentant le plus de difficultés d'identification par la méthode Vitek 2[®] dans cette étude était *C. glabrata* : sur 18 isolats, cinq étaient non identifiés, trois étaient identifiés comme *C. magnoliae* et quatre présentaient une faible discrimination avec *C. magnoliae*. Il est plus difficile de mettre en évidence cet état de fait pour *C. krusei*, car trois souches seulement ont été testées et sur ces trois souches, deux n'ont pas été identifiées (MASSONET *et al.* 2004).

Malgré les progrès techniques et les bonnes performances des différents tests et galeries d'identification à disposition des laboratoires, ceux-ci peuvent être mis en défaut. De plus ces méthodes d'identification phénotypique ne permettent un rendu de résultat qu'en 24 heures au mieux pour *C. albicans* à 48-72 heures voire plus pour un non-*albicans*.

➤ Autres méthodes d'identification

Quand les techniques classiques de routine sont mises en défaut, il est possible d'avoir recours à des techniques plus complexes mais plus performantes telles que l'identification par biologie moléculaire ou la spectrométrie de masse MALDI-TOF.

- Identification moléculaire appliquée à la mycologie

Bien qu'il existe des méthodes permettant l'identification précise d'espèces, la méthode la plus utilisée est une PCR (Polymerase Chain Reaction) panfongique suivie d'un séquençage des produits d'amplification. Il s'agit de méthodes non commerciales dites « maison ». Pour l'identification des champignons, les régions d'ADN codant pour les ARN sont les plus utilisées (BOUGNOUX and ESPINASSE 2003). Au sein du règne fongique, les régions d'ADNr codant pour les sous-unités 18S, 5,8S et 28S de l'ARNr sont bien conservées. Ces trois domaines sont séparés par deux régions variables non codantes et donc sujet à polymorphisme, appelées ITS (Internal Transcribed Spacer) : ITS1 et ITS2 (cf figure 13). Ce motif a l'avantage d'être répété plusieurs fois dans le génome des champignons (chaque répétition étant séparée par une région IGS, espaceur intergénique), ce qui facilite grandement leur détection et améliorant ainsi la sensibilité de la technique.

Le tableau 12 liste les différents couples d'amorces utilisables pour l'amplification des régions ITS (BOUGNOUX and ESPINASSE 2003).

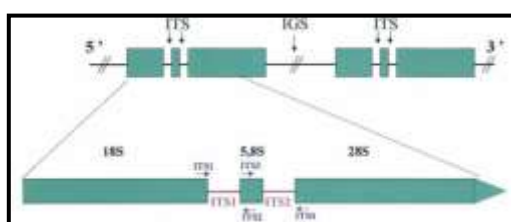


Figure 13 : Schéma de l'ADNr des champignons (BOUGNOUX and ESPINASSE 2003)

Tableau 12 : Amorces universelles ITS et régions amplifiées (BOUGNOUX and ESPINASSE 2003)

Couples d'amorces	Séquences 5'→3'	Régions amplifiées
ITS1 / ITS2	ITS1: TCC GTA GGT GAA CCT GCG G ITS2: GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC	extrémité 3' 18S, ITS1 et extrémité 5' 5,8S
ITS3 / ITS4	ITS3: GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC ITS4: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	extrémité 3' 5,8S, ITS2 et extrémité 5' 28S
ITS1 / ITS4	ITS1: TCC GTA GGT GAA CCT GCG G ITS4: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	extrémité 3' 18S, ITS1, 5,8S ITS2 et extrémité 5' 28S

Il s'agit de la méthode de référence (ou « gold standard »), utilisée régulièrement au laboratoire de mycologie du CHU de Nantes. Cette méthode est le plus souvent mise en œuvre à partir du champignon isolé en culture mais il est possible de la réaliser directement à

partir des prélèvements biologiques. Les quelques études sur ce sujet font état de bonnes performances, notamment à partir des flacons d'hémoculture (LAU *et al.* 2008). Il s'agit d'une perspective intéressante, permettant de réduire considérablement le délai de réponse concernant l'identification de l'espèce (LANDLINGER *et al.* 2010; LAU *et al.* 2010). A noter que les techniques de PCR ne sont pas recommandées dans la stratégie diagnostique du fait de grandes disparités de performances et de l'absence de standardisation. Pourtant il s'agit de techniques présentant selon les études une sensibilité > 80% et une spécificité > 90% (MCMULLAN *et al.* 2008; WELLINGHAUSEN *et al.* 2009). Les techniques de PCR permettent également un diagnostic plus précoce que l'hémoculture (LAU *et al.* 2010), mais aussi de limiter le nombre de faux négatifs avec des hémocultures qui restent négatives chez des patients ayant une candidose invasive probable ou prouvée (AVNI *et al.* 2011).

Une fois les séquences nucléotidiques obtenues, il faut ensuite les comparer à une base de données, la plus utilisée étant la base de données GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) qui est une des plus fournies et qui permet la comparaison des séquences après alignement grâce au logiciel BLAST (« Basic Local Alignment Search Tool », www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi). La principale limitation de cette base est qu'elle est alimentée publiquement, sans contrôle des séquences déposées. Il faut donc rester prudent et critique quant aux résultats obtenus.

Néanmoins dans certains cas, l'analyse des régions ribosomales n'est pas suffisante et l'étude doit donc être complétée par l'analyse d'autres loci comme le facteur d'élongation EF1 α (GABRIEL *et al.* 2011).

- Spectrométrie de masse MALDI-TOF

Le MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption-ionisation Time Of Flight) est une méthode reposant sur la spectrométrie de masse. Il s'agit d'une technique innovante avec une durée d'analyse très courte de l'ordre d'une vingtaine de minutes. Du fait que la technique soit encore peu répandue dû à un coût élevé de l'appareillage, les données concernant la mycologie médicale restent encore peu fournies. Cependant il existe de bons résultats obtenus à partir d'hémocultures : dans une étude, une suspension de levures a été inoculée dans des flacons d'hémocultures puis l'identification a été ensuite directement réalisée grâce au MALDI-TOF à partir du flacon. Les 20 souches étudiées ont été identifiées correctement (FERRONI *et al.* 2010). Il ne s'agissait pas dans cette étude de conditions réelles de culture, et

il faudra attendre d'avoir plus de données pour réaliser cette technique en routine directement à partir de flacons d'hémoculture.

Il s'agit néanmoins d'une méthode en plein essor, du fait d'un délai de rendu de résultat bien plus court que pour les autres méthodes (VAN HERENDAEL *et al.* 2011), de plus en plus répandue en microbiologie, et donc les données concernant ses performances sont de plus en plus nombreuses. Le tableau 13 illustre les résultats d'identification de 61 souches de levures obtenus par MALDI-TOF comparés à ceux obtenus par les méthodes biochimiques usuelles. On peut constater que, outre le fait que le MALDI-TOF est très performant sur l'identification du genre, il est bien meilleur sur l'identification précise de l'espèce (VAN VEEN *et al.* 2010).

Tableau 13 : Performances comparées du MALDI-TOF et des méthodes biochimiques usuelles pour l'identification de 61 souches de levures (VAN VEEN *et al.* 2010)

	MALDI-TOF (n [%])	Méthodes biochimiques (n [%])
Identification correcte de genre	59 (96,7)	60 (98,4)
Identification correcte d'espèce	52 (85,2)	47 (77)
Erreur majeure	0 (0)	1 (1,6)
Erreur mineure	2 (3,3)	2 (3,3)
Pas d'identification	1 (1,6)	0 (0)
Résultat non uniforme entre les duplicates	1 (1,6)	NA

Erreur majeure = mauvaise identification de genre

Erreur mineure = bonne identification de genre mais mauvaise identification d'espèce

NA = non applicable

Bien que cette méthode soit extrêmement performante pour l'identification des levures, elle montre également de bonnes performances pour l'identification de champignons filamenteux comme les *Aspergillus* ou bien encore les *Scedosporium* permettant une identification précise, jusqu'à l'espèce (ALANIO *et al.* 2011; COULIBALY *et al.* 2011).

Enfin, même s'il s'agit d'une technique qui nécessite un appareillage ayant un coût élevé, celui de l'analyse en elle-même est par contre très avantageux de l'ordre de 0,50€ par échantillon (DHIMAN *et al.* 2011).

3.2.3. Méthodes utiles pour le diagnostic de candidémie

Il existe d'autres méthodes pour faire le diagnostic de candidémie que la réalisation d'hémocultures. Deux d'entre elles ont récemment fait l'objet de recommandations par le groupe de travail de l'ESCMID (ULLMANN *et al.* 2011).

➤ Détection de l'antigène mannane et des anticorps anti-mannane dans le sérum

L'antigène mannane est un composant de la paroi des *Candida*. Il est le principal antigène de *Candida* circulant au cours d'une infection invasive à levure. Leur recherche se fait par méthode ELISA (Platelia Candida[®], BioRad).

Selon une étude récente, la détection de l'anticorps anti-mannane précède souvent la survenue d'une candidose invasive chez les patients à risque (VERDUYN LUNEL *et al.* 2009). Si on analyse les différents résultats de diverses études, on se rend compte que, prises individuellement, les deux recherches présentent des sensibilités médiocres de l'ordre de 58% pour la détection du mannane et de 59% pour la détection de l'anticorps anti-mannane mais que la combinaison des deux techniques augmente considérablement la sensibilité à 83% (MIKULSKA *et al.* 2010).

Celle-ci diffère toutefois selon l'espèce de *Candida* en cause, étant plus élevée dans le cas d'une infection à *C. albicans*, une étude montrant même une sensibilité de 100% pour cette espèce, suivie de *C. tropicalis*, *C. glabrata* (SENDID *et al.* 2002).

Le groupe de travail de l'ECIL (European Conference on Infections in Leukemia) recommande donc de préférer la détection combinée de mannane et d'anti-mannane à la détection d'un seul des deux paramètres pour le diagnostic de candidose invasive (MIKULSKA *et al.* 2010).

➤ Détection du β -D-Glucane dans le sérum

La détection du β -D-Glucane nécessite le recours à une méthode complexe, le Limulus test. Le principe repose sur une cascade de coagulation dont l'activité est mesurée par méthode colorimétrique ou turbidimétrique réalisée en cinétique. Il s'agit donc d'une méthode complexe, onéreuse et nécessitant un équipement particulier. Plusieurs kits sont disponibles sur le marché, le plus répandu étant le Fungitell[®] (Capecod).

Le β -D-Glucane n'est malheureusement pas spécifique du genre *Candida*, étant produit par la plupart des espèces du règne fongique, à l'exception des Zygomycètes et de *Cryptococcus*. De nombreuses études traitant de ce sujet sont résumées dans une méta-analyse récente (KARAGEORGOPOULOS *et al.* 2011). Dans cette méta-analyse, les sensibilités rapportées pour détecter une infection fongique invasive quel que soit l'agent responsable sont très disparates et parfois médiocres. Pour exemple, une étude rapporte une sensibilité de 64% et une spécificité de 84% (KOO *et al.* 2009). Dans une autre étude analysant spécifiquement des cas

de candidémie prouvée, comparés à des cas de vaginite à *C. albicans*, montre que la spécificité de la méthode n'est que de 52%, alors que la spécificité atteint 100% (ALAM *et al.* 2007). Cependant il peut exister de nombreux faux positifs et la sensibilité est plus faible chez les patients atteints de pathologies hématologiques. Il ne s'agit donc pas d'une méthode de premier choix pour établir un diagnostic de candidémie.

3.2.4. Détermination de la sensibilité *in vitro* des levures vis-à-vis des antifongiques

Bien que les résistances acquises aux antifongiques soient rares chez les levures du genre *Candida*, la détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice) reste intéressante notamment en cas d'échec thérapeutique ou d'isolement d'espèce rare. Par mesure de précaution, elle est réalisée de manière systématique au CHU de Nantes, d'autant plus qu'un traitement rapide, adapté, à doses efficaces est important pour la prise en charge des patients (GAREY *et al.* 2006; MORRELL *et al.* 2005). Cependant ce dernier point n'a pas été rapporté dans une autre étude (KLUDZE-FORSON *et al.* 2010).

3.2.4.1. Méthodes d'étude

Il existe plusieurs techniques permettant de déterminer les concentrations minimales inhibitrices des levures vis-à-vis des antifongiques :

- Méthodes de référence : détermination des CMIs établies par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) aux Etats-Unis et l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) en Europe.
- Détermination des CMIs par bandelettes E-test[®] : méthode couramment utilisée et qui est bien corrélée aux méthodes de référence (PFALLER *et al.* 2010b)
- Antifongigramme automatisé Vitek 2[®]
- Autres méthodes moins utilisées : Sensititre Yeast One[®], ...

3.2.4.2. Les techniques de référence

Que la technique émane du CLSI (M27-A3) ou de l'EUCAST, le principe est similaire et repose souvent sur une méthode de microdilution en milieu liquide qui consiste à mettre en présence une suspension de levure calibrée avec des concentrations croissantes de

l'antifongique à tester. Chaque cupule est comparée à une cupule témoin sans antifongique (témoin de croissance).

Les deux techniques sont relativement similaires dans leur réalisation (PFALLER *et al.* 2011):

- Même milieu RPMI, avec une teneur en glucose de 0,2% pour le CLSI mais de 2% pour l'EUCAST.
- Température d'incubation entre 35 et 37°C sans agitation.
- L'inoculum de la suspension de levures est 1000 fois plus important pour l'EUCAST que pour le CLSI.
- Lecture visuelle pour le CLSI et spectrophotométrique pour l'EUCAST.

Malgré quelques différences de réalisation, ces deux méthodes de référence donnent des résultats cohérents et bien corrélés entre eux, pour tous les antifongiques et en particulier pour la classe des azolés (PFALLER *et al.* 2010b; PFALLER *et al.* 2011).

Selon les molécules antifongiques testées, l'interprétation est différente pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice :

- La CMI de l'amphotéricine B, fongicide sur les levures, correspond à la première cupule où la pousse est inhibée de 100% selon le CLSI. Selon l'EUCAST, la CMI se situe au niveau de la cupule où la pousse est inhibée de 90% par rapport à la cupule témoin.
- Pour les autres molécules, les azolés (fluconazole, itraconazole, voriconazole et posaconazole), les échinocandines et la 5-fluorocytosine (5-FC), la CMI est lue au niveau de la cupule où la pousse est inhibée de 50% par rapport à la cupule témoin (CANTON *et al.* 2009).

Ces techniques de référence sont malheureusement trop lourdes à mettre en œuvre dans un laboratoire de mycologie. Des techniques plus simples et relativement bien corrélées aux méthodes de référence ont donc été développées.

3.2.4.3. La méthode E-test[®]

Cette méthode qui utilise le principe de diffusion en milieu gélosé, utilise des bandelettes imprégnées d'un gradient d'antifongique. En pratique, un milieu gélosé estensemencé avec

un inoculum standardisé de la souche de levure à tester. La bandelette E-test[®] est ensuite déposée sur la gélose elle-même incubée pendant 24 à 48 heures. La CMI est lue à l'intersection entre l'ellipse d'inhibition et la bandelette.

A l'instar des techniques de référence, les CMI ne se lisent pas de la même manière en fonction de l'antifongique étudié :

- Pour l'amphotéricine B, la lecture se fait toujours à 100% d'inhibition.
- Pour la 5-fluorocytosine (5-FC), la lecture s'effectue à 90% d'inhibition.
- Pour les azolés et les échinocandines, la lecture s'effectue à 80% d'inhibition.

Il n'est donc pas toujours aisé de lire un antifongigramme par bandelette E-test[®], puisque pour certaines molécules d'antifongiques on peut avoir une croissance persistante de colonies de petite taille, même pour des concentrations élevées d'antifongique, dont il ne faut pas tenir compte lors de la lecture. Ce phénomène est appelé phénomène de traîne pour les azolés. De même pour les échinocandines, il peut y avoir une « croissance paradoxale » pour des concentrations élevées d'antifongiques supérieures à la CMI, qu'il ne faut pas prendre en compte pour la lecture (ARIKAN 2007). Quelques exemples d'antifongigrammes par méthode E-test[®] sont illustrés dans la figure 14.

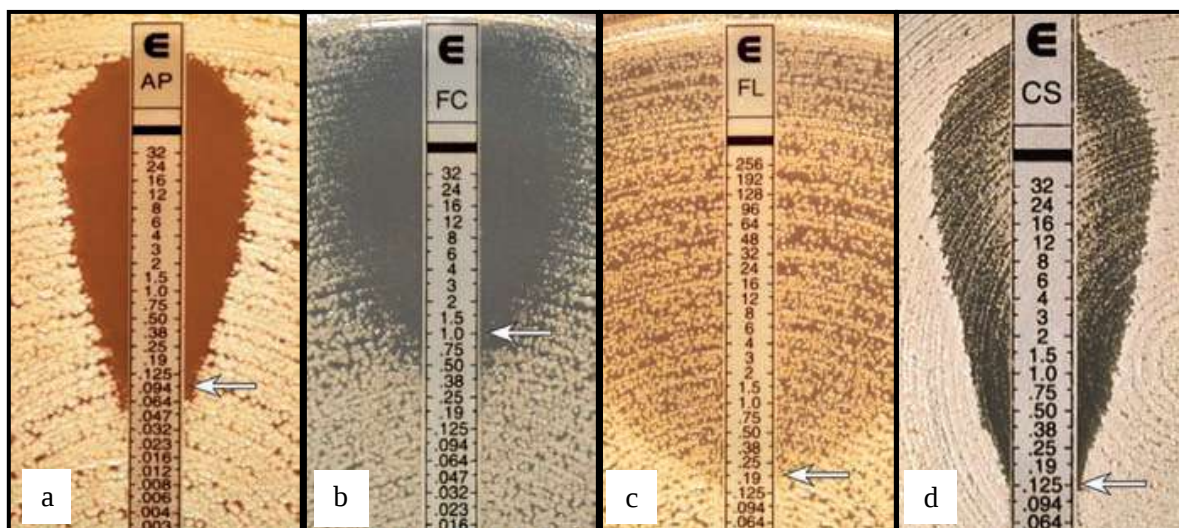


Figure 14 : Antifongigramme par méthode E-test[®] (<http://www.biomerieux-diagnostic.com>)

- (a) Amphotéricine B : lecture à 100% d'inhibition, soit 0,094 µg/mL
- (b) 5-FC : lecture à 90% d'inhibition, soit 1 µg/mL
- (c) Fluconazole : ne pas tenir compte de l'effet de traîne, lecture à 80% d'inhibition, soit 0,19 µg/mL
- (d) Caspofungine : ne pas tenir compte de la repousse paradoxale observée à des CMI élevées, lecture à 80% d'inhibition, soit 0,125 µg/mL

Cette technique présente une bonne corrélation avec les méthodes de référence par microdilution en milieu liquide du CLSI et de l'EUCAST, aussi bien pour la classe des azolés (PFALLER *et al.* 2011) que pour celle des échinocandines (PFALLER *et al.* 2010b). En ce qui concerne l'amphotéricine B, les données comparatives montrent que la méthode E-test[®] est au moins aussi fiable et probablement meilleure que les méthodes de référence, notamment concernant la détection d'isolats de *Candida* résistants vis-à-vis de l'amphotéricine B (ARIKAN 2007; WANGER *et al.* 1995). Ceci associé au fait qu'il s'agisse d'une technique plus simple à mettre en œuvre, en fait une des techniques les plus utilisées dans les laboratoires de mycologie médicale.

3.2.4.4. Autres méthodes

A côté des méthodes manuelles, d'autres méthodes, comme la galerie ATB Fungus 2[®] ou bien encore automatisée comme le système Vitek AST-YS[®] sont disponibles. Ces deux méthodes semblent assez bien corrélées aux méthodes de référence, certaines espèces comme *C. glabrata* et *C. krusei* faisant tout de même exception (BORGHI *et al.* 2010; TORRES-RODRIGUEZ and ALVARADO-RAMIREZ 2007). Une étude récente a ainsi souligné une moins bonne corrélation entre les CMI obtenues par le système Vitek 2[®] par rapport aux méthodes du CLSI et E-test[®] concernant *C. glabrata* et les azolés (BOURGEOIS *et al.* 2010).

3.2.4.5. Lecture et interprétation de l'antifongigramme

Des seuils de sensibilité de référence ont été définis par les comités d'experts (CLSI et EUCAST) pour certains antifongiques comme les azolés ou les échinocandines. Ceux-ci sont régulièrement révisés par les deux comités d'experts. Par contre il n'existe pas de seuil de sensibilité officiel pour l'amphotéricine B.

Il existe donc des seuils de sensibilité pour les antifongiques de la famille des azolés en fonction de l'espèce en cause. Il est également important de tenir compte du fait que certaines espèces de *Candida* sont intrinsèquement résistantes à certains antifongiques. Par exemple, *C. krusei* est naturellement résistant au fluconazole et *C. glabrata* est considéré de moindre sensibilité au fluconazole (PAPPAS *et al.* 2009).

Des seuils critiques de sensibilité pour les azolés et la 5-FC, donnés dans le tableau 14, avaient été définis par le CLSI (ARIKAN 2007).

Tableau 14 : Anciens seuils critiques de sensibilité pour les azolés et la 5-FC établis par le CLSI (M27-A3) (ARIKAN 2007)

Antifongiques	CMI (µg/mL)		
	S	SDD	R
Fluconazole	≤ 8	16 - 32	≥ 64
Itraconazole	≤ 0,125	0,25 - 0,5	≥ 1
Voriconazole	≤ 1	2	≥ 4
5-fluorocytosine	≤ 4	8 - 16	≥ 32

S = sensible ; SDD = sensibilité dose-dépendante ; R = résistant

Ces seuils ne semblaient plus adaptés aux pratiques cliniques actuelles car elles ne prenaient pas en compte l'espèce de *Candida* en cause, certaines étant intrinsèquement de sensibilité diminuée à certains antifongiques. Ces seuils ont donc été révisés très récemment et harmonisés entre les deux groupes d'experts comme présentés ci-dessous.

➤ Antifongiques azolés

Les seuils critiques de sensibilité préconisés étaient jusqu'alors différents entre le CLSI et l'EUCAST. Dans un objectif d'harmonisation des seuils entre les deux comités d'experts, les seuils critiques de sensibilité pour le fluconazole et le voriconazole ont été réévalués en fonction de l'espèce étudiée (tableau 15) (PFALLER *et al.* 2011a; PFALLER *et al.* 2010a).

Tableau 15 : Seuils critiques de sensibilité pour le fluconazole et le voriconazole pour les cinq principales espèces de *Candida* (PFALLER *et al.* 2011a; PFALLER *et al.* 2010a)

Espèces	Fluconazole CMI (µg/mL)			Voriconazole CMI (µg/mL)		
	S	SDD	R	S	SDD	R
<i>C. albicans</i>	≤ 2	4	≥ 8	≤ 0,125	0,25 – 0,5	≥ 1
<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	≥ 8	≤ 0,125	0,25 – 0,5	≥ 1
<i>C. tropicalis</i>	≤ 2	4	≥ 8	≤ 0,125	0,25 – 0,5	≥ 1
<i>C. krusei</i>	Résistance naturelle			≤ 0,5	1	≥ 2
<i>C. glabrata</i>	-	≤ 32	≥ 64	*	*	*

S = sensible ; SDD = sensibilité dose-dépendante ; R = résistant

* Pour *C. glabrata* les données sont insuffisantes pour montrer une corrélation entre une CMI obtenue *in vitro* et une efficacité clinique. Une CMI ≤ 0,5 µg/mL permet uniquement de conclure que la souche est « sauvage ».

➤ Les échinocandines

Pour les échinocandines, les données mises à disposition par le CLSI (document M27-A3) suggéraient que quelle que soit l'espèce, un seuil critique unique de sensibilité à 2 µg/mL

pouvait être retenu. Ainsi, une souche présentant une CMI $\leq 2\mu\text{g/mL}$ était donc considérée comme sensible et une souche présentant une CMI $> 2\mu\text{g/mL}$ comme résistante. Cependant comme illustré dans plusieurs études ce seuil n'était pas satisfaisant car certaines souches de *Candida* ayant acquis un mécanisme de résistance conservaient une CMI $< 2\mu\text{g/mL}$ (PFALLER *et al.* 2011c). Par ailleurs, d'autres espèces comme *C. parapsilosis* ou *C. guilliermondii* naturellement de sensibilité diminuée à cette classe d'antifongiques présentent des CMI naturellement élevées (PFALLER *et al.* 2011c).

Des données plus récentes, rapportées dans le tableau 16, préconisent désormais, comme pour les autres familles d'antifongiques, de prendre en compte l'espèce (PFALLER *et al.* 2011c).

Tableau 16 : Seuils critiques de sensibilité pour les cinq principales espèces vis à vis des échinocandines d'après le CLSI (PFALLER *et al.* 2011c)

Espèces	Seuils ($\mu\text{g/mL}$)								
	Caspofungine			Anidulafungine			Micafungine		
	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R
<i>C. albicans</i>	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1
<i>C. tropicalis</i>	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1
<i>C. krusei</i>	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1
<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	≥ 8	≤ 2	4	≥ 8	≤ 2	4	≥ 8
<i>C. glabrata</i>	$\leq 0,12$	0,25	$\geq 0,5$	$\leq 0,12$	0,25	$\geq 0,5$	$\leq 0,6$	0,12	$\geq 0,25$

3.2.5. Détection de l'échec thérapeutique

Le rôle du laboratoire ne s'arrête pas à la simple identification de l'espèce en cause ni à la réalisation de l'antifongigramme, puisqu'un suivi de la candidémie est nécessaire. Ainsi le traitement antifongique doit être poursuivi pendant au moins deux semaines après la dernière hémoculture positive tel que recommandé par les groupes d'experts (PAPPAS *et al.* 2009)(ESCMID 2011). Des hémocultures à visée mycologique doivent donc être prélevées régulièrement au cours de l'épisode, afin de s'assurer de la bonne efficacité du traitement et de surveiller l'apparition d'une résistance acquise ou plus fréquemment l'émergence d'une autre espèce, de moindre sensibilité à l'antifongique administré et qui pourrait compromettre le pronostic du patient.

Le rôle du laboratoire est donc essentiel et multiple : prévenir le plus tôt possible dès la positivité des hémocultures, identifier l'espèce et sa sensibilité *in vitro* aux antifongiques pour pouvoir adapter le traitement en fonction des résistances intrinsèques/acquises. Néanmoins, le fait de s'assurer que l'antifongique utilisé est bien efficace *in vitro* n'est pas forcément synonyme de réussite clinique *in vivo*, le suivi biologique est donc primordial.

4. Bases de la prise en charge thérapeutique

La prise en charge des candidoses invasives n'est pas simple et a fait l'objet comme nous allons le voir, de plusieurs recommandations de sociétés savantes ou de groupes d'experts.

4.1. Une prise en charge précoce, garant d'un meilleur pronostic

Tout épisode de candidémie doit faire l'objet d'un traitement antifongique. Si les modalités du traitement comme le choix de l'antifongique, peuvent différer en fonction des recommandations, toutes préconisent la mise en place d'un traitement antifongique le plus précoce possible en cas de candidose invasive (DE PAUW *et al.* 2008; PAPPAS *et al.* 2009). En effet, il a été rapporté dans plusieurs études, un lien entre le délai de mise en place d'un traitement et le taux de mortalité chez des patients atteints de candidose invasive. Ce dernier augmente avec le délai de mise en place du traitement antifongique, comme le montre la figure 15, un retard de prise en charge thérapeutique de 12 heures après la première hémoculture positive à *Candida* étant associé à une augmentation significative de la mortalité (MORRELL *et al.* 2005). Dans une étude plus récente, les auteurs montraient une association quasi linéaire entre le délai de mise en place de l'antifongique et la mortalité, celle-ci étant plus faible à J0 (15%) mais de l'ordre de 24% à J1, 37% à J2 et jusqu'à 41% si le traitement est instauré avec un délai supérieur à deux jours (GUERY *et al.* 2009b).

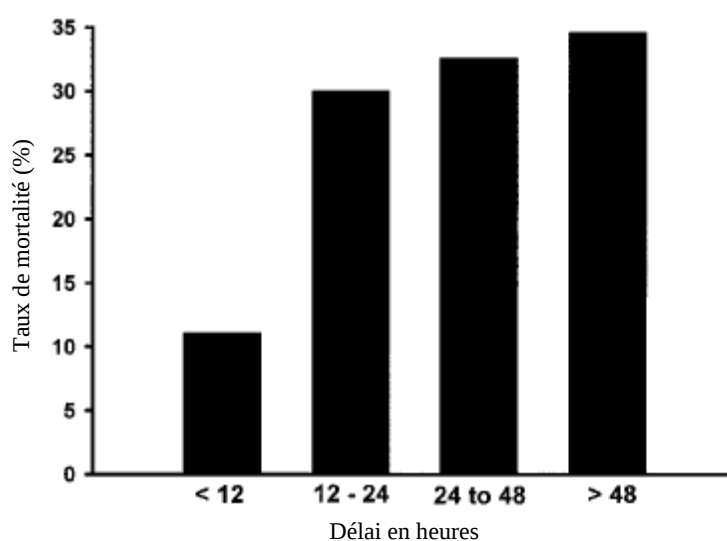


Figure 15 : Relation entre le délai de mise en route du traitement antifongique (en abscisses) et le taux de mortalité (en ordonnées) (MORRELL *et al.* 2005)

4.2. Molécules disponibles

Plusieurs classes d'antifongiques peuvent être utilisées pour le traitement des candidémies (SFAR *et al.* 2004; TAIEB *et al.* 2011) :

- Les polyènes : l'amphotéricine B désoxycholate (Fungizone[®]) a cédé la place aux formulations lipidiques de l'amphotéricine B comme l'amphotéricine B liposomale (Ambisome[®]). Ils s'utilisent par voie parentérale. L'amphotéricine B a été le traitement de référence des infections fongiques invasives pendant plus de 30 ans, elle est très active sur la plupart des *Candida* spp. incluant *C. glabrata* et *C. parapsilosis*.
- Les azolés : fluconazole (Triflucan[®]), voriconazole (Vfend[®]). Ils s'utilisent par voie parentérale ou per os. Ils sont mieux supportés que les polyènes et actifs sur la plupart des *Candida* spp. Deux espèces toutefois ne font pas partie de leur spectre, *C. krusei*, intrinsèquement résistant (résistance naturelle au fluconazole), et *C. glabrata*, inconstamment sensible.
- Les échinocandines : caspofungine (Cancidas[®]), micafungine (Mycamine[®]), représentent la classe la plus récente d'antifongiques. Ils s'utilisent uniquement par voie parentérale et présentent une bonne tolérance. Elles ont une activité *in vitro* moindre sur *C. parapsilosis* et *C. guilliermondii* (PFALLER *et al.* 2010a).
- La 5-fluorocytosine ou 5-FC (Ancotil[®]). Elle s'administre par voie parentérale ou per os, mais uniquement en association car le développement de résistances est rapide lors d'une utilisation en monothérapie (VERMES *et al.* 2000).

Historiquement, l'amphotéricine B était le traitement utilisé en première intention lors d'un épisode de candidémie. Ce traitement a été supplanté par la classe thérapeutique des azolés du fait d'une bien meilleure tolérance ainsi que par l'apparition d'une nouvelle classe d'antifongiques, les échinocandines, classe dotée d'un large spectre associé à un bon profil de tolérance.

4.3. Prise en charge thérapeutique

La prise en charge thérapeutique des candidémies repose sur :

- Un traitement de première intention mis en place dès la positivité d'une hémoculture et dans l'attente de l'identification de l'espèce.
- Un traitement de deuxième intention réévalué à l'issue de l'identification.

Il apparaît donc essentiel de bien connaître l'épidémiologie des *Candida* spp. afin d'instaurer un traitement de première intention, le plus susceptible d'être efficace, avant l'identification précise de l'espèce de *Candida* en cause. Comme illustré dans le tableau 17, certaines espèces de *Candida*, parmi les plus fréquentes, présentent des résistances naturelles à certaines familles d'antifongiques (PAPPAS *et al.* 2009).

Tableau 17 : Spectre de sensibilité des principales espèces de *Candida* spp. impliquées dans les candidoses invasives (PAPPAS *et al.* 2009)

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

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

Les dernières recommandations françaises pour la prise en charge des candidémies, établies par la Conférence de consensus de 2004 (annexe n°1), sont complexes à mettre en œuvre car reposent notamment sur plusieurs critères :

- Fonction rénale du patient
- Présence d'une neutropénie
- Traitement antifongique antérieur par un antifongique azolé.

De plus, ces recommandations préconisaient également le recours fréquent à l'amphotéricine B désoxycholate, dont la néphrotoxicité est bien établie (SFAR *et al.* 2004).

4.3.1. Recommandations 2009 de l'IDSA

Les dernières recommandations de l'IDSA (Infectious Diseases Society of America), présentées dans le tableau 18, sont plus simples et ne considèrent que deux situations, d'une

part les patients non neutropéniques et d'autre part les patients neutropéniques (PAPPAS *et al.* 2009). Elles sont donc plus souvent adoptées que les recommandations françaises.

Tableau 18 : Recommandations thérapeutiques 2009 de l'IDSA pour la prise en charge des candidémies chez l'adulte (PAPPAS *et al.* 2009)

Patients	1ère intention	Alternative	Commentaire
Patients non neutropéniques	Fluconazole 800 mg J1 puis 400 mg/j (AI)	Amphotéricine B désoxycholate	Echinocandines pour les malades modérément sévères à sévères
	ou	0,5-1 mg/kg/j (AI)	
neutropéniques	Echinocandines (AI)	ou	ou exposition récente aux azolés (A III)
	casprofongine 70 mg J1 puis 50 mg/j micafungine 100 mg/j anidulafungine 200 mg J1 puis 100 mg/j	Amphotéricine B liposomale 3-5 mg/kg/j (AI) ou Voriconazole 400 mgx2/j J1 et J2 puis 200 mgx2/J (AI)	
Patients neutropéniques	Echinocandines	Fluconazole 800 mg J1 puis 400 mg/J (BIII)	Fluconazole pour les malades peu sévères et pas d'exposition récente aux azolés (BIII)
	casprofongine 70 mg J1 puis 50 mg/j (AII) micafungine 100 mg/j (AII) anidulafungine 200 mg J1 puis 100 mg/j (AIII)	ou Voriconazole 400 mgx2/j J1 et J2 puis 200 mg x 2/j (BIII)	
	ou		
	Amphotéricine B liposomale 3-5 mg/kg/j (AII)		

Ces recommandations nécessitent quelques précisions concernant l'adaptation thérapeutique en fonction de l'espèce isolée (PAPPAS *et al.* 2009) :

- La désescalade thérapeutique d'une échinocandine vers le fluconazole est recommandée pour les patients non-neutropéniques cliniquement stables et présentant un épisode de candidémie à une espèce de *Candida* sensible au fluconazole (AII).
- En cas de candidémie à *C. glabrata*, une échinocandine est préférée (BIII) sauf si un azolé a déjà été prescrit et qu'il a fait la preuve de son efficacité (BIII).
- En cas de candidémie à *C. parapsilosis*, le fluconazole est recommandé (BIII) sauf si une échinocandine a déjà été mise en place et qu'elle a fait la preuve de son efficacité (BIII).

A noter qu'il existe également des recommandations plus spécifiques pour certaines catégories de patients notamment ceux présentant des localisations secondaires ainsi que pour les patients issus de la population pédiatrique.

Dans ces recommandations, il est fortement recommandé pour les patients non-neutropéniques (AII) dès que cela est possible d'ôter tous les dispositifs médicaux comme les cathéters centraux, cathéters de dialyse, nutrition parentérale, etc ... Chez les patients neutropéniques, cela peut être envisagé (BIII), car il peut s'agir de la porte d'entrée prouvée ou suspectée de la candidémie (PAPPAS *et al.* 2009).

4.3.2. Recommandations 2011 de l'ESCMID

Plus récemment, l'ESCMID a également proposé des recommandations pour la prise en charge des candidémies dont le champ d'application est large, allant du diagnostic à la prise en charge thérapeutique.

➤ Recommandations pour le diagnostic

L'examen à réaliser en premier lieu en cas de suspicion de candidémie est évidemment l'hémoculture dont les modalités de prélèvements sont résumées dans le tableau 19.

Tableau 19 : Recommandations pour les prélèvements d'hémocultures en cas de suspicion de candidémie (ESCMID 2011)

Recommandations pour le prélèvement des hémocultures	
Nombre	3 (2 à 4)
Site	Ponction veineuse périphérique
Volume :	
Enfant < 2 kg	2 à 4 mL
entre 2 et 12 kg	6 mL
entre 12 et 36 kg	20 mL
Adulte	Au moins 60 mL
Fréquence	Quotidienne
Durée d'incubation	Au moins 5 jours
Sensibilité	50 à 75%

Ces recommandations proposent également le recours à la détection combinée de l'antigène mannane et des anticorps anti-mannane du fait de la forte valeur prédictive de ces tests, ainsi qu'à la recherche du β -D-glucane dans le sérum pour le diagnostic de candidémie. A noter que pour le dosage du β -D-glucane, seul le test Fungitell® est recommandé.

L'utilisation des méthodes reposant sur la PCR n'est pas recommandée tout comme le recours à la spectrométrie de masse, MALDI-TOF, qui n'est pas mentionné dans ces recommandations.

➤ Recommandations pour la prise en charge thérapeutique

Ces dernières recommandations insistent notamment, comme évoqué préalablement, sur la nécessité d'instaurer un traitement antifongique même en cas de candidémie asymptomatique (DE PAUW *et al.* 2008).

Comme illustré dans le tableau 20, ces recommandations préconisent le recours en première intention à une échinocandine (ESCMID 2011).

Tableau 20 : Recommandations thérapeutiques 2011 pour la prise en charge des candidémies chez l'adulte selon l'ESCMID

Classes thérapeutiques	Molécules	Niveau de preuve
Echinocandines	casposungine 70 mg J1 puis 50 mg/j	AI
	ou micafungine 100 mg/j	AI
	ou anidulafungine 200 mg J1 puis 100 mg/j	AI
Azols	Fluconazole	CI
	Voriconazole	BI
Polyènes	Amphotéricine B liposomale	BI
	Amphotéricine B désoxycholate	DI

Il existe par ailleurs, à l'image des recommandations émises par l'IDSA, des recommandations spécifiques pour certains patients et notamment pour la population pédiatrique qui, comme nous le verrons, ne présente pas les mêmes caractéristiques épidémiologiques que la population adulte.

Dans ces recommandations, une fois l'identification d'espèce et après un traitement de 10 jours par une échinocandine par voie parentérale, une désescalade peut être envisagée au profit du fluconazole si (BII) :

- La souche isolée est sensible au fluconazole.
- Le patient tolère un traitement per os.
- Le patient est stable.

➤ Retrait des cathéters centraux

Il s'agit d'un point également abordé dans ces recommandations, car il peut exister des situations où l'ablation du cathéter central n'est pas nécessaire ou n'apporte pas un bénéfice réel pour le patient, notamment chez les patients traités par amphotéricine B ou échinocandine chez qui il peut être maintenu du fait du caractère fongicide et de l'activité sur le biofilm de ces antifongiques(DII) (KUCHARIKOVA *et al.* 2010; NUCCI *et al.* 2010).

Néanmoins, dès que celui-ci est suspecté de point de départ de l'infection, l'ablation doit être considérée.

4.3.3. Comparaison des recommandations de l'IDSA et de l'ESCMID

Le tableau 21 compare les différentes stratégies diagnostiques et thérapeutiques recommandées par l'IDSA et par l'ESCMID pour la prise en charge des candidémies dans une population adulte.

Tableau 21 : Comparaison entre les recommandations pour la prise en charge des candidémies chez l'adulte de l'IDSA et de l'ESCMID

	IDSA	ESCMID
Année de publication	2009	2011
Caractéristiques des patients	Non-neutropéniques Neutropéniques	aucune
Stratégie diagnostique	non	oui
Traitement de 1^{ère} intention	Fluconazole ou Echinocandine	Echinocandine
Réévaluation thérapeutique	Dès l'identification de l'espèce	Après 10 j de traitement IV
Retrait du cathéter	Fortement conseillé	En fonction des cas

5. Epidémiologie des candidémies : données actuelles

Un grand nombre de publications scientifiques concernant les candidémies ont été publiées ces dix dernières années. L'objectif de cette revue actualisée de la littérature, est de revenir sur les principaux traits épidémiologiques des candidémies, tant sur l'aspect clinique que sur les données mycologiques. Cette analyse de la littérature va nous permettre d'entrevoir les nombreuses disparités dans l'épidémiologie des candidémies non seulement au niveau mondial, mais également au niveau national voire à l'échelle locale.

5.1. Incidence des candidémies

Avant d'aborder l'incidence des candidémies, il est nécessaire de rappeler que l'incidence des fongémies est nettement plus faible que celles des bactériémies comme illustré dans une étude prospective conduite aux Etats-Unis sur plus de 20 ans entre les années 1979 et 2000 (Figure 16). Toutefois on peut noter que si l'incidence des sepsis d'origine bactérienne apparaît en diminution, la part des sepsis d'origine fongique semble en augmentation constante sur la période d'étude, avec une augmentation de plus de 200% entre 1979 et 2000 (MARTIN *et al.* 2003).

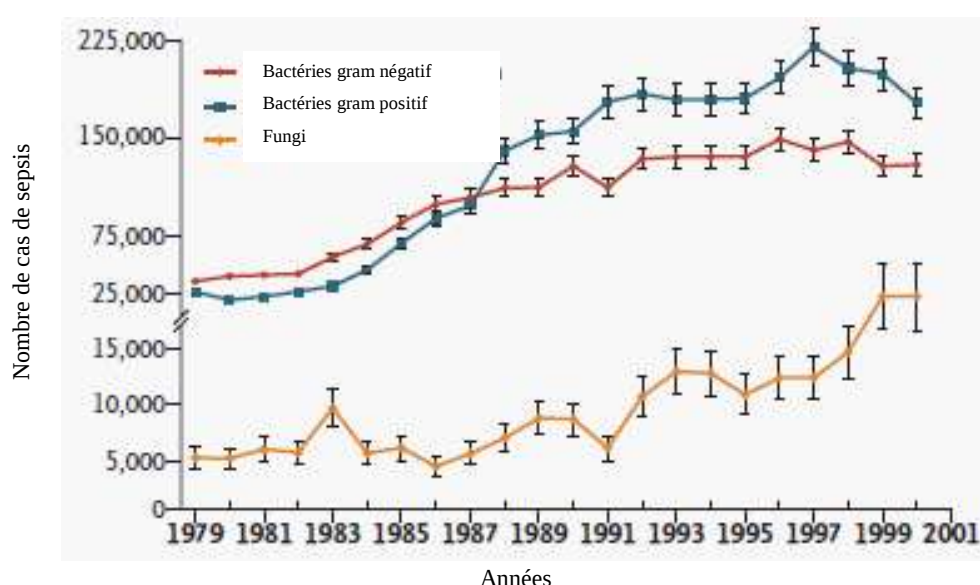


Figure 16 : Nombre de cas de sepsis aux Etats-Unis d'origine bactérienne ou fongique entre 1979 et 2000 (MARTIN *et al.* 2003)

Aux USA, il a été montré que les *Candida* spp. représentent le 4^{ème} agent pathogène isolé dans les hémocultures, la situation étant quasi similaire en Europe où les *Candida* se place au 5^{ème} rang des pathogènes responsables de septicémie, derrière *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, les Staphylocoques blancs et *Pseudomonas aeruginosa* (BOUZA and MUNOZ 2008).

Ainsi aux USA ils seraient retrouvés dans 6 à 11% des hémocultures positives. Cette proportion serait un peu plus faible en Europe où ils ne représenteraient que 1 à 8% des agents pathogènes isolés d'hémocultures, avec quelques similarités en fonction des pays : de 2,3% en France à 4% en Espagne, la Grèce et la Suisse se situant aux alentours de 3% (EGGIMANN *et al.* 2003). Les *Candida* représentent donc une proportion non négligeable parmi les agents pathogènes isolés d'hémocultures.

En réalité, dans la quasi-totalité des cas, ces épisodes de candidémie surviennent chez des patients hospitalisés et sont donc considérés comme des infections nosocomiales dans plus de 80% des cas (BECK-SAGUE and JARVIS 1993; ELOY-GOSSELIN 2006).

Si, comme illustré dans la figure 16, les épisodes de candidémie semblent plutôt en augmentation, plusieurs facteurs peuvent expliquer cette tendance (BOUZA and MUNOZ 2008) :

- L'évolution de la médecine permet désormais une meilleure survie des patients, notamment aux âges extrêmes de la vie.
- Les procédures médicales et chirurgicales sont de plus en plus agressives et invasives, créant de nombreuses opportunités pour les *Candida* d'entrer et de se multiplier dans l'organisme.
- L'utilisation plus large des traitements immunosuppresseurs notamment pour la prise en charge des pathologies chroniques.
- L'utilisation d'antibiothérapie à large spectre concerne elle aussi un plus grand nombre de patients.

Il existe plusieurs modes d'expression de l'incidence de survenue des candidémies, parfois exprimée pour 1000 admissions à l'hôpital, parfois pour 10000 journées d'hospitalisation ou encore pour 100000 habitants par an, ce qui en fait une donnée pas toujours aisée à comparer entre les études.

Ainsi l'incidence des infections fongiques était en augmentation jusque dans les années 1990. Alors que les infections nosocomiales à champignons, dont la majorité étant représentée par les infections profondes à *Candida*, représentaient entre 2 et 3,8 pour 1000 malades hospitalisés entre 1980 et 1990 aux USA, depuis les années 1990, cette incidence est stable et plus basse entre à 0,2 et 0,46 pour 10000 journées d'hospitalisation (ELOY-GOSSELIN 2006).

En réalité il y a de grandes disparités d'incidence entre les différentes régions du globe. A titre d'exemple, la Norvège et la Finlande rapporte des incidences relativement basses, aux alentours de 3/100000 habitants, alors que celle-ci est nettement plus élevée au Danemark avec 11/100000 habitants (ARENDRUP 2010). De la même manière, il peut exister des disparités importantes au sein d'un même pays. Ainsi aux USA, San Francisco et Atlanta ont une incidence des candidémies entre 6 et 9/100000 alors que Baltimore rapporte un taux de 24/100000 (PFALLER and DIEKEMA 2007).

Le tableau 22 illustre les variations d'incidences estimées en fonction des pays dans les différentes études portant sur la population totale (PFALLER and DIEKEMA 2007).

Tableau 22 : Incidences estimées des candidémies dans différents pays (PFALLER and DIEKEMA 2007)

Régions	Années	Pays/Villes/Etats	Incidence/100000 habitants/an
Europe	1995-1999	Finlande	1,9
	1991-1994	Norvège	2,0
	2001-2003	Norvège	3,0
	1995-1999	Islande	4,9
	2002-2003	Barcelone	4,9
	2003-2004	Danemark	11,0
Etats-Unis	1998-2001	Iowa	6,0
	1992-1993	San Francisco	7,1
	1992-1993	Atlanta	8,7
	1998-2000	Connecticut	7,1
	1998-2000	Baltimore	24,0
Canada	1999-2004	Calgary	2,8

En Europe, les données de la littérature, reportées dans le tableau 23, font état d'incidences allant de 0,17‰ admissions en Norvège et en Finlande, à 0,53‰ en Espagne. La France se situe entre 0,20 et 0,29‰ admissions en fonction des études (TORTORANO *et al.* 2006).

Tableau 23 : Incidences nationales des candidémies en Europe (TORTORANO *et al.* 2006)

Pays	Années	Incidence/1000 admissions
France	1995	0,29
	1997-1999	0,20
Norvège	1991-1996	0,17
Finlande	1995-1999	0,17
Espagne	2002-2003	0,53
Danemark	2003-2004	0,49
Suède	1997-1999	0,32

En France à l'échelle locale, il existe moins de données sur l'incidence, deux séries françaises quasi-historiques et portant sur un faible nombre de patients rapportaient :

- à Tours entre 1991 et 1995, une incidence moyenne de 0,31‰ hospitalisations (MANDARD and BESNARD 1996)
- à l'hôpital Avicenne de Paris entre 1989 et 1995 une incidence de 1,3‰ admissions (LAUNAY PUYBASSET and LORTHOLARY 1995).

Si l'on ne s'intéresse plus à la population globale des patients admis à l'hôpital, mais aux patients des services à risque, l'incidence peut être bien plus importante pour atteindre par exemple 2,0‰ admissions dans les unités de soins intensifs en France et en Espagne, jusqu'à 3,8‰ admissions dans les unités de néonatalogie (TORTORANO *et al.* 2006). Une étude portant sur 24 unités de soins intensifs en France rapporte même une incidence de 6,7‰ admissions (BOUZA and MUNOZ 2008).

Si l'incidence globale de survenue des candidémies peut varier considérablement d'un pays à l'autre, d'une ville à l'autre d'un même pays, il en est de même au sein d'un hôpital entre ses différents services. Ainsi les incidences rapportées dans les unités de soins intensifs sont près de 10 fois plus élevées que dans des études portant sur des populations plus générales : par exemple pour la France, l'incidence globale rapportée se situe entre 0,20 et 0,30 /1000 admissions, alors que si on ne regarde que les services de soins intensifs, on atteint des incidences dix fois plus importantes, de l'ordre de 2‰ admissions (TORTORANO *et al.* 2006).

5.2. Aspects médico-économiques

5.2.1. Mortalité globale des candidémies

Comme illustré dans de nombreuses études, les sepsis provoqués par les agents fongiques sont souvent plus graves que ceux provoqués par les bactéries et ont par conséquent un impact important en termes de mortalité.

Si on ne considère que les taux bruts de mortalité (ou mortalité globale) après la survenue d'une candidémie, on perçoit aisément la sévérité de cet événement. On peut ainsi considérer le taux de mortalité à environ un tiers des patients au minimum que l'on étudie la mortalité à 12 semaines (HORN *et al.* 2009) ou à 30 jours après la survenue d'une candidémie (TORTORANO *et al.* 2006).

Comme illustré dans plusieurs études, la mortalité apparaît en partie liée à la nature de l'espèce de *Candida* en cause : *C. krusei* est l'espèce associée à la mortalité la plus élevée, atteignant plus de 50% des patients (HORN *et al.* 2009; TORTORANO *et al.* 2006). A contrario, les patients atteints de candidémies à *C. parapsilosis* ont le meilleur taux de survie, avec

environ un quart seulement des patients décédés au bout de 30 jours ou 12 semaines (HORN *et al.* 2009; TORTORANO *et al.* 2006).

Le tableau 24 compare les taux de mortalité obtenus aux Etats-Unis à 12 semaines (HORN *et al.* 2009) et ceux obtenus en Europe à 30 jours (TORTORANO *et al.* 2006) en fonction des espèces de *Candida*.

Tableau 24 : Taux de mortalité obtenus en fonction des espèces (HORN *et al.* 2009; TORTORANO *et al.* 2006)

	Espèces de <i>Candida</i>					
	Total	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>
Horn <i>et al.</i> , 2010 Mortalité à 12 sem	35,2	35,6	38,1	23,7	41,1	52,9
Tortorano <i>et al.</i> , 2006 Mortalité à 30 j	37,9	38,5	45,0	25,9	41,4	55,3

5.2.2. Mortalité attribuable

Déterminer si la candidémie est responsable du décès d'un patient est extrêmement difficile car la très grande majorité des patients présentant un épisode de candidémie multiplie les facteurs de risque. Les données de la littérature sont ainsi très disparates et oscillent entre 5 et 71% (FALAGAS *et al.* 2006). Il s'agit d'une donnée très discutée, certains auteurs affirmant que la survenue d'une candidémie n'est pas un facteur de surmortalité dans les services de soins intensifs (BLOT *et al.* 2002), alors que d'autres ont démontré que dans 49% des décès ceux-ci étaient imputables à l'épisode de candidémie (GUDLAUGSSON *et al.* 2003). Nous pouvons donc constater au vu de l'écart très important qu'il existe entre les différentes études qu'il ne s'agit pas d'une donnée très précise, d'autant plus que les populations de patients ne sont pas forcément identiques entre les séries (pédiatrie, populations adultes, patients issus de soins intensifs, etc...) et que le nombre de patients inclus est souvent trop faible pour obtenir des conclusions significatives.

5.2.3. Un impact économique important

Ces infections dont la prise en charge est difficile vont donc naturellement peser sur la durée d'hospitalisation, en moyenne plus longue, et sur le coût de prise en charge. Une étude américaine, dont les principaux résultats sont résumés dans le tableau 25, illustre bien

l'impact médico-économique majeur des candidémies sur le système de santé (ZAOUTIS *et al.* 2005).

Tableau 25 : Impact médico-économique des candidémies selon une étude américaine portant sur 2000 patients hospitalisés (ZAOUTIS *et al.* 2005)

	Patients pédiatriques			Patients adultes		
	Candidémie (n=1118)	Sans candidémie (n=2062)	Augmentation attribuable	Candidémie (n=8949)	Sans candidémie (n=17267)	Augmentation attribuable
Mortalité (%)	15,8	5,9	10,0 (6,2-3,8)	30,6	16,1	14,5 (12,1-16,9)
Durée en jours d'hospitalisation	44,8	23,7	21,1 (14,4-27,8)	18,6	8,5	10,1 (8,9-11,3)
Coût en \$/patients	183645	91379	92266 (65058-119474)	66154	26823	39331 (33604-45602)

5.3. Candidémies : données démographiques

Connaître la démographie des patients est une étape essentielle dans la connaissance d'une pathologie : âge préférentiel de survenue, pathologie concernant plus un sexe qu'un autre, etc...

➤ Sex ratio

Concernant la répartition selon le sexe, toutes les données publiées jusqu'à présent mettent en évidence une nette prédominance du sexe masculin. Dans une des dernières grande série américaine conduite entre le 1^{er} juillet 2004 et le 5 mars 2008 et portant sur 2019 patients, 1084 étaient des hommes soit près de 54% des patients (HORN *et al.* 2009). Cette nette répartition en faveur des hommes est retrouvée dans d'autres études, en particulier en France. Au CHU de Tours entre 1991 et 1995 les hommes représentaient 58,9% des patients (MANDARD and BESNARD 1996), à l'hôpital Avicenne entre 1989 et 1995, on dénombrait 41 hommes contre 17 femmes (LAUNAY PUYBASSET and LORTHOLARY 1995). En 2004 sur l'Ouest de la France, les patients masculins représentaient plus de 66% des patients (TALARMIN *et al.* 2009).

➤ Âge moyen

Pour ce qui est de l'âge moyen, même si les âges extrêmes sont particulièrement exposés aux candidémies, il se situe bien souvent selon les études entre 50 et 65 ans. Ceci est sans doute dû au fait que la plupart des études sont menées sur des populations adultes, la population

pédiatrique étant souvent peu représentée. Dans les études américaines sur ce sujet, en fonction de la population considérée, on trouve un âge médian de 65 ans avec des âges compris entre 50 et 76 ans chez l'adulte (ZAOUTIS *et al.* 2005), ou un âge moyen de 53,5 ans avec des extrêmes allant de 0 à 96,4 ans sur une population considérant tous les âges (HORN *et al.* 2009). Au niveau national, sur les deux études menées en France dans les années 1990 sur des séries plus modestes, on retrouve un âge moyen de 60 ± 18 ans à Tours et de 53 ± 7 ans à l'hôpital Avicenne (ELOY-GOSSELIN 2006; MANDARD and BESNARD 1996). Dans l'étude conduite en 2004 dans l'Ouest de la France, celui-ci se situait à 61,5 ans (TALARMIN *et al.* 2009).

5.4. Candidémies : patients et services à risque

➤ Services à risque

Les services concernés par ces épisodes de candidémie sont tout naturellement ceux qui accueillent les patients les plus à risque, à savoir en premier lieu les services d'**hématologie** ainsi que les services de **réanimations** et de **soins intensifs** (GUERY *et al.* 2009a). Une étude madrilène publiée en 2008 a ainsi montré que 33 à 55% des épisodes de candidémie avaient lieu dans les unités de soins intensifs (BOUZA and MUNOZ 2008). Dans l'étude menée par l'ECMM durant 28 mois entre 1997 et 1999, 40,2% des épisodes de candidémie ont eu lieu dans les unités de soins intensifs, juste après les services de chirurgie avec 44,7% (TORTORANO *et al.* 2004).

➤ Immunosuppression

Les patients les plus naturellement exposés sont ceux présentant un affaiblissement des défenses immunitaires. Il s'agit des patients atteints d'hémopathie maligne ou d'un cancer solide, les transplantés d'organes solides ou de moelle osseuse, recevant un traitement immunosuppresseur (PICAZO *et al.* 2008; TALARMIN *et al.* 2009).

➤ Rupture des barrières naturelles de l'organisme

D'autres patients ont également un risque accru de développer une candidémie. Ce sont ceux présentant une effraction des barrières naturelles, que ce soit via un dispositif intraveineux de type cathéter ou chambre implantable, ce facteur de risque étant retrouvé dans plus de 70% des cas dans la majorité des études. Les brûlures étendues, le sondage urinaire, la nutrition parentérale, ou bien encore l'administration d'une antibiothérapie à large spectre dans les jours précédents, entraînant des modifications de la flore commensale notamment du tube digestif, sont autant de facteurs de risque de candidémie (TORTORANO *et al.* 2004).

En résumé, les facteurs de risque les plus fréquemment rencontrés chez une très grande majorité des patients dans la plupart des études, sont sans conteste : la présence d'un cathéter central et l'antibiothérapie à large spectre dans les jours précédant la survenue de l'épisode. Celle-ci est retrouvée dans une très importante proportion des patients, pouvant atteindre plus de 90% des cas (BOUZA and MUNOZ 2008; LAUNAY PUYBASSET and LORTHOLARY 1995; MANDARD and BESNARD 1996). Le tableau 26 donne les principaux facteurs de risque de développer une candidose invasive (GUERY *et al.* 2009a).

Tableau 26 : Principaux facteurs de risque de candidose invasive (GUERY *et al.* 2009a)

Facteurs de risque
Neutropénie
Chimiothérapie anticancéreuse
Colonisation avec un <i>Candida</i> spp.
Antibiothérapie à large spectre
Cathéter veineux central
Hémodialyse
Score Apache
Nutrition parentérale
Ventilation mécanique
Chirurgie récente
Âges extrêmes

5.5. Candidémies : quelles espèces ?

L'état des lieux des candidémies concernant la répartition des différentes espèces de *Candida* dans la population globale, dans des populations particulières, ainsi que son évolution au cours du temps sont présentés ci-dessous.

5.5.1. Facteurs influençant l'épidémiologie des *Candida*

A travers les différentes études traitant des candidémies, on peut remarquer que certaines populations de patients ne présentent pas la même distribution des espèces isolées d'hémocultures que dans la population globale, même si, quelle que soit la population considérée, *C. albicans* reste encore à l'heure actuelle, l'espèce majoritaire.

➤ Âge des patients

La distribution des espèces de *Candida* spp. isolées à partir d'hémocultures varie significativement en fonction de l'âge des patients. Au sein de la population pédiatrique, *C. parapsilosis* est une espèce bien plus fréquemment isolée que dans la population globale (PFALLER and DIEKEMA 2007). Dans l'étude épidémiologique européenne menée par l'ECMM dont les résultats sont illustrés dans la figure 17, on observe la même tendance (TORTORANO *et al.* 2004) à savoir que *C. parapsilosis* domine largement le groupe des *Candida* non-*albicans* chez les patients de moins de 20 ans, allant même jusqu'à représenter près d'un tiers des souches isolées, les autres espèces n'étant retrouvées qu'avec des fréquences plus faibles. On peut également constater qu'à l'inverse, *C. glabrata* est nettement plus prévalent chez les sujets âgés. La prévalence de *C. albicans*, elle, reste constante à tous les âges de la vie.

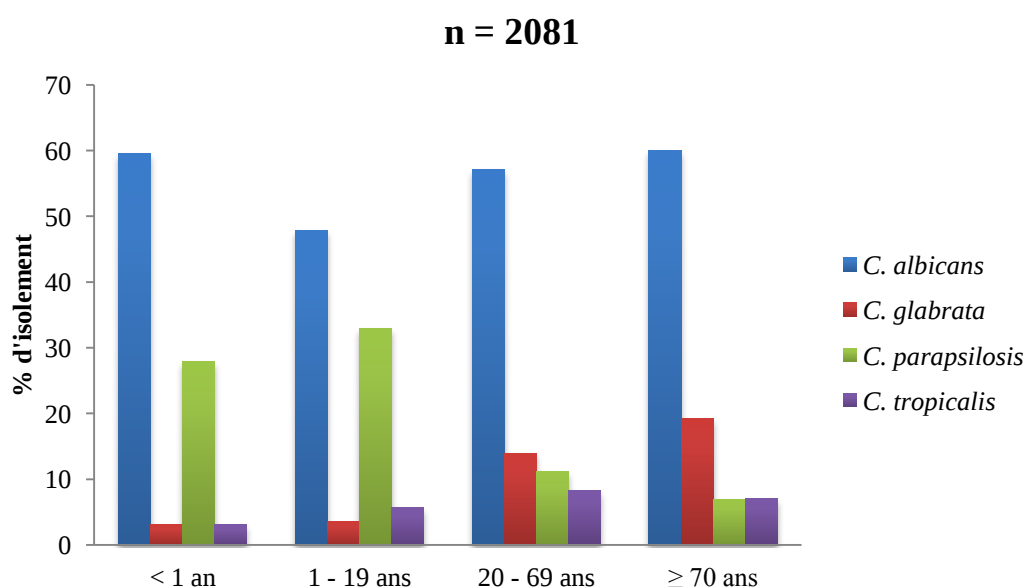


Figure 17 : Distribution des 4 principales espèces de *Candida* (%) en fonction de l'âge (TORTORANO *et al.* 2004)

➤ Influence de la pathologie sous-jacente

Les patients atteints d'hémopathies malignes ou bien présentant une neutropénie représentent également un groupe à part dans l'épidémiologie des candidémies avec une plus forte fréquence de *C. tropicalis*. En effet bien que *C. tropicalis* fasse partie des cinq espèces les plus souvent rencontrées en pathologie humaine elle n'occupe que le troisième ou le quatrième rang avec une prévalence entre 7 et 8% selon les études (PFALLER and DIEKEMA 2007; TORTORANO *et al.* 2004).

La figure 18, issue des données de l'ECMM, illustre la prévalence particulièrement importante de *C. tropicalis* chez les patients atteints d'une hémopathie maligne comparée aux autres pathologies sous-jacentes (tumeur solide, HIV, chirurgie, soins intensifs) (TORTORANO *et al.* 2004). Ces données ont été également rapportées dans une étude plus récente (SENDID *et al.* 2006).

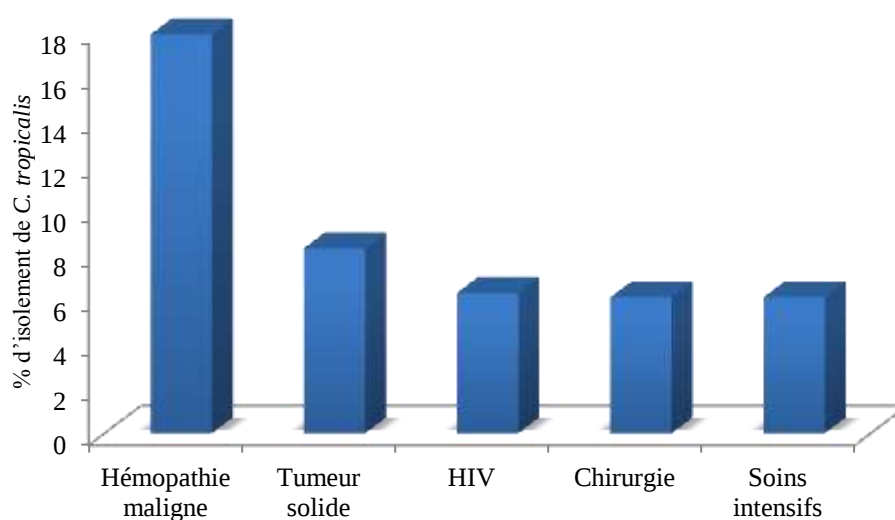


Figure 18 : Fréquence d'isolement de *C. tropicalis* (%) en fonction de la pathologie sous-jacente (TORTORANO *et al.* 2004)

Cette forte prévalence de *C. tropicalis* dans les candidémies chez les patients atteints d'hémopathie maligne est un fait maintenant bien établi, d'autres études, en France ou à l'étranger, ont montré des données similaires voire une prévalence encore plus élevée, parfois supérieure à 20% (SIPSAS *et al.* 2009; VIGOUROUX *et al.* 2006).

Il faut aussi noter que *C. krusei* est également principalement rapporté chez les patients greffés de moelle et atteints d'un cancer où il constitue une espèce émergente du fait de

l'utilisation de la prophylaxie par le fluconazole au sein de cette population (PFALLER and DIEKEMA 2007).

➤ Présence d'un cathéter veineux central

Comme pour les bactéries, les *Candida* spp. participent à la formation du biofilm susceptible de se créer à la surface de tout matériel médical étranger à l'organisme (CHANDRA *et al.* 2001). Les *Candida* faisant partie de la flore commensale cutanée et les cathéters veineux centraux étant des dispositifs très souvent utilisés notamment dans les services de soins intensifs, il constitue une porte d'entrée importante et à ne pas méconnaître pour les *Candida* (EGGIMANN *et al.* 2004).

C. parapsilosis est une des principales espèces commensales de la peau, c'est donc tout naturellement chez les patients porteur d'un cathéter veineux central que l'on retrouve la plus forte proportion de candidémies dues à cette espèce (KOJIC and DAROUICHE 2004).

Aux Etats-Unis, un cathéter veineux central est retrouvé chez plus de 40% des patients atteints d'une candidémie à *C. parapsilosis* (HORN *et al.* 2009), donnée retrouvée également dans d'autres études notamment une étude monocentrique espagnole, dans laquelle 62% des candidémies à *C. parapsilosis* présentaient un cathétérisme veineux central (ORTEGA *et al.* 2011). En toute logique, le retrait du cathéter central est donc un élément important dans la prise en charge des candidémies (PAPPAS *et al.* 2009). Ce dernier point reste tout de même discuté, le retrait ne serait pas obligatoirement bénéfique pour le patient (LIU *et al.* 2009; NUCCI *et al.* 2010; RODRIGUEZ *et al.* 2007).

➤ Impact d'un traitement antifongique préalable

L'utilisation du fluconazole ou de la caspofungine en tant que traitement préventif des infections candidosiques a conduit certains auteurs à s'interroger sur son éventuelle influence sur la distribution des espèces responsables de candidémies. Une étude récente a ainsi montré qu'un traitement antifongique dans les 30 jours précédant l'épisode de candidémie était susceptible d'influer de façon notable sur la distribution des espèces (LORTHOLARY *et al.* 2010). Dans cette étude, l'utilisation du fluconazole a été associée à une augmentation significative de la proportion de *C. glabrata* (de 18 à 29%) et de *C. krusei* (de 3 à 8%) respectivement. Le même phénomène a été observé avec l'utilisation de la caspofungine,

associée à une augmentation de fréquence de *C. parapsilosis*, *C. glabrata* et de *C. krusei* de 13 à 31%, 18 à 35% et de 3 à 13% respectivement. Les données de cette étude sont illustrées dans la figure 19.

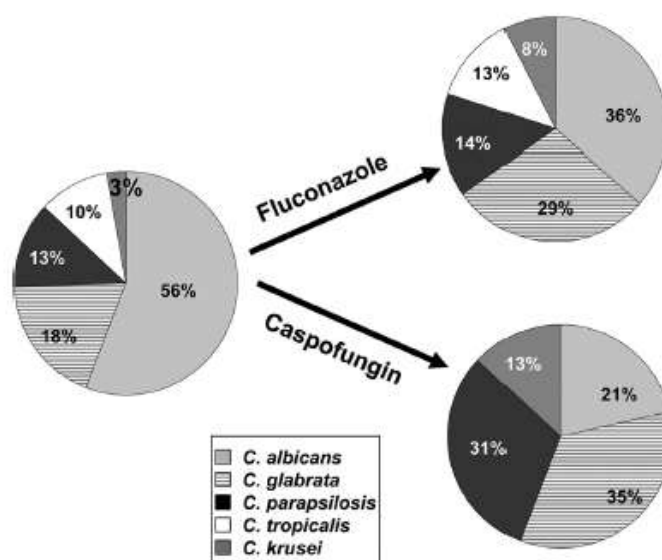


Figure 19 : Proportion des cinq espèces principales de *Candida* responsables de candidémies chez les patients ayant été ou non exposés antérieurement au fluconazole ou à la caspofungine dans les 30 jours précédant l'épisode de candidémie (LORTHOLARY *et al.* 2010)

Des données similaires ont été rapportées dans d'autres études et illustrent l'importance de ne pas méconnaître la possible influence des antifongiques sur l'épidémiologie de ces infections (HORN *et al.* 2009; ORTEGA *et al.* 2011).

Un autre fait important illustré dans l'étude de Lortholary *et al.*, montre aussi que l'utilisation antérieure d'un antifongique comme le fluconazole ou la caspofungine pourrait être associée à une augmentation significative des CMI des *Candida* isolés concernant ces deux antifongiques. Pour le fluconazole, cette augmentation touche plus spécifiquement les espèces *C. parapsilosis* et *C. tropicalis* qui sont intrinsèquement sensibles à ce dernier, alors que pour la caspofungine, l'augmentation des CMI touchait les cinq espèces majoritaires (LORTHOLARY *et al.* 2010).

5.5.2. Répartition des *Candida* spp. au sein de la population générale

Candida albicans est l'espèce la plus souvent isolée, que ce soit aux Etats-Unis (HORN *et al.* 2009; PFALLER and DIEKEMA 2007), en Europe (BOUZA and MUNOZ 2008; GUERY *et al.*

2009a; ORTEGA *et al.* 2011; TORTORANO *et al.* 2006) ou sur d'autres continents (ARENDRUP 2010). Néanmoins, si *C. albicans* reste l'espèce majoritaire dans toutes les études, celle-ci peut parfois représenter moins de la moitié des souches isolées, alors que dans d'autres endroits elle garde une proportion nettement supérieure à 50%.

En réalité, même si il existe de très nombreuses espèces pouvant être isolées de prélèvements humains, près de 90% des candidoses invasives sont dues aux cinq espèces suivantes : *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. krusei* (PFALLER and DIEKEMA 2007).

➤ Candidémies : données mondiales

Quel que soit le lieu où sont observées les données sur les candidémies, *C. albicans* est donc l'espèce majoritairement isolée, sa prévalence oscillant dans la plupart des études entre 50 et 70% des isolats. Par contre il existe des disparités parfois importantes concernant la proportion des espèces non-*albicans*, et en particulier *C. glabrata* et *C. parapsilosis* dont la prévalence est globalement en augmentation. La figure 20 montre une carte avec les différentes proportions des trois principales espèces de *Candida* non-*albicans* isolées de candidémies dans différents pays à travers le monde (ARENDRUP 2010).

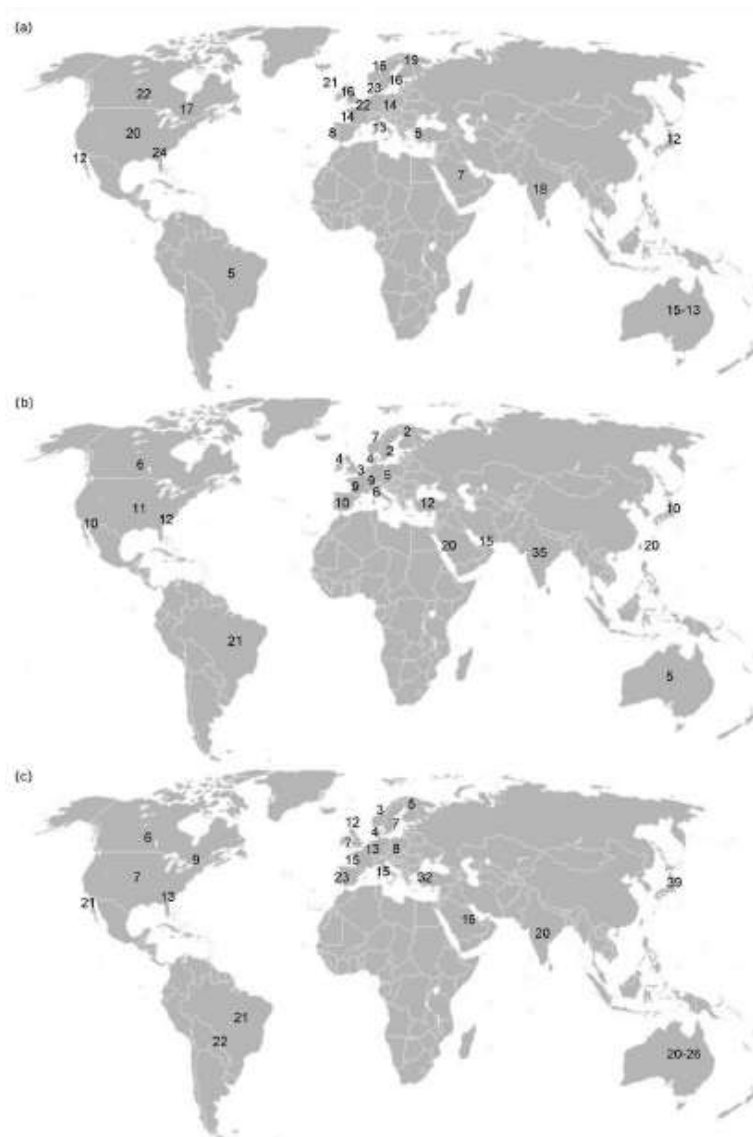


Figure 20 : Variations géographiques de la prévalence de *C. glabrata* (a), *C. tropicalis* (b) et de *C. parapsilosis* (c) dans les candidémies (Arendrup 2010)
Les chiffres correspondent aux pourcentages d'isolement de chacune des trois espèces.

Comme illustré dans cette revue de la littérature, mais également au travers d'autres études récentes, on constate une nette disparité dans la distribution des différentes espèces de *Candida* au niveau mondial. Plus surprenant encore, celle-ci est également observée entre pays voisins, comme nous le verrons plus spécifiquement dans l'épidémiologie des candidémies au niveau européen.

Candida glabrata est l'espèce émergente aux Etats-Unis et se situe désormais largement en seconde position des espèces isolées à partir d'hémocultures avec une proportion atteignant 20 à 24%. Il n'en est pas de même dans d'autres pays où *C. glabrata* n'est retrouvé qu'en troisième voire en quatrième position après *C. parapsilosis* et *C. tropicalis*. C'est notamment

le cas en Amérique Latine avec une proportion d'isolement de 4 à 7% seulement (PFALLER and DIEKEMA 2007). L'hypothèse avancée concernant l'émergence de *C. glabrata* aux Etats-Unis serait due à l'utilisation plus large du fluconazole en prophylaxie (WINGARD *et al.* 1993), même si cette hypothèse est discutée (ARENDRUP 2010). Le tableau 27 illustre l'émergence de *C. glabrata* aux Etats-Unis entre 1992 et 2000 (PFALLER and DIEKEMA 2007).

Tableau 27 : Variation de la distribution des espèces de *Candida* isolées d'hémocultures aux Etats-Unis entre 1992 et 2000 (PFALLER and DIEKEMA 2007)

Période d'étude	n	% des différentes espèces				
		<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>
1992-1993	837	52	12	21	10	4
1993-1995	79	56	15	15	10	-
1995-1997	1593	46	20	14	12	2
1995-1998	934	53	20	10	12	3
1998-2000	935	45	24	13	12	2

➤ Candidémies : données nord-américaines

Grâce à une étude multicentrique réalisée par le réseau PATH (Prospective Antifungal Therapy), nous avons une image relativement fiable de l'épidémiologie générale des candidémies aux Etats-Unis entre 2004 et 2008 (HORN *et al.* 2009). Comme nous le verrons en Europe, *C. albicans* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée mais représente moins de 50% des isolats (45,6%). Ainsi, *C. albicans* est isolé moins d'une fois sur deux aux USA. Comme illustré dans la figure 21, parmi les espèces non-*albicans* (soit 54,4%), *C. glabrata* occupe le premier rang, étant donc la seconde espèce de *Candida* retrouvée dans les candidémies aux Etats-Unis avec 26%, suivie par *C. parapsilosis* (15,7%), *C. tropicalis* (8,1%) et *C. krusei* (2,5%).

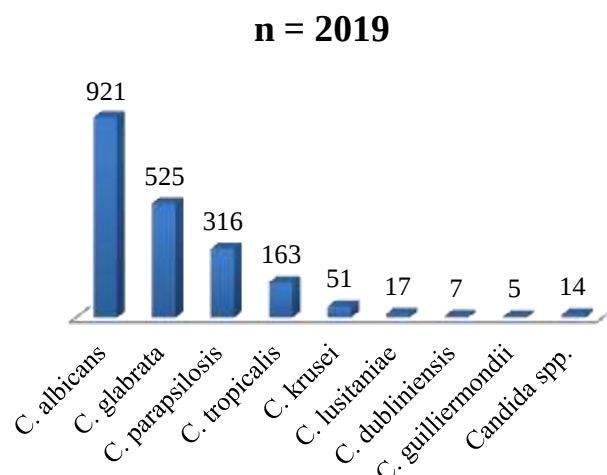


Figure 21 : Distribution des *Candida* spp. isolés d'hémocultures aux Etats-Unis entre 2004 et 2008 : réseau PATH Alliance (n = 2019 patients) (HORN *et al.* 2009)

Plus qu'un « instantané » sur la distribution des espèces cette étude illustre le résultat de l'évolution de cette distribution au cours du temps et la part de plus en plus importante des espèces non-*albicans* (HORN *et al.* 2009).

➤ Candidémies : données européennes

L'ECMM a suivi l'épidémiologie des candidémies en Europe entre septembre 1997 et décembre 1999 dans sept pays : Allemagne, Autriche, Espagne, France, Grande-Bretagne, Italie et Suède (TORTORANO *et al.* 2004). A nouveau dans cette étude, *C. albicans* était l'espèce majoritaire quel que soit le pays et représentait au total 56,4% des souches isolées de candidémies. L'Espagne faisait toutefois figure d'exception puisqu'il s'agissait du seul pays sur les sept étudiés où *C. albicans* représentait moins de la moitié des espèces isolées au profit des espèces non-*albicans*. Au niveau européen, *C. glabrata* est en seconde position en termes de prévalence (13,6%) suivi par *C. parapsilosis* (13,3%) et *C. tropicalis* (7,2%) les autres espèces ne représentant que 9,5%. Les données françaises recueillies au cours de cette période sont assez superposables aux données européennes. La distribution des espèces, pays par pays est présentée dans la figure 22 (TORTORANO *et al.* 2006).

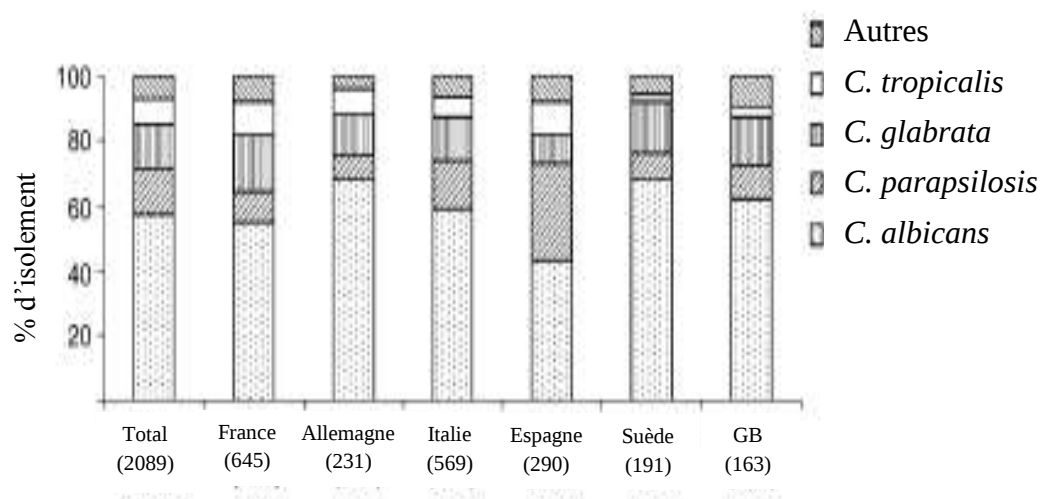


Figure 22 : Enquête ECMM, *Candida* spp. isolés d'hémocultures par pays (TORTORANO *et al.* 2006)

On peut observer à travers cette figure que *C. glabrata* est plus prévalent dans les pays d'Europe du nord (Suède et Grande-Bretagne notamment) et *C. parapsilosis* plus fréquent dans les pays du sud de l'Europe comme l'Espagne.

Comme le montre la figure 23, une étude menée en Espagne entre 2002 et 2003 à Barcelone confirme la forte prévalence de *C. parapsilosis* et la part plus faible de *C. glabrata* (ALMIRANTE *et al.* 2005).

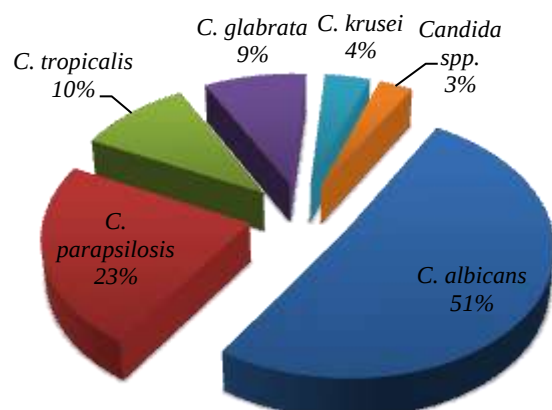


Figure 23 : Distribution des espèces de *Candida* isolées d'hémocultures à Barcelone entre 2002 et 2003 (ALMIRANTE *et al.* 2005)

L'épidémiologie espagnole apparaît donc distincte de celle observée dans les études américaines, puisque *C. glabrata* arrive seulement en quatrième position derrière *C. albicans*, *C. parapsilosis* représentant un quart des isolats et *C. tropicalis*. Une autre étude

monocentrique sur une plus large période d'étude (1991 et 2008), et dont les résultats sont présentés figure 28, confirment cette particularité épidémiologique (ORTEGA *et al.* 2011).

Tableau 28 : Evolution de la distribution des espèces de *Candida* isolées d'hémocultures entre 1991 et 2008 en Espagne (ORTEGA *et al.* 2011)

	1991-1995	1996-2000	2001-2005	2006-2008	Total
<i>C. albicans</i>	57 (45%)	62 (47%)	75 (46%)	57 (54%)	252 (48%)
<i>C. parapsilosis</i>	23 (18%)	24 (18%)	34 (20%)	15 (14%)	95 (18%)
<i>C. tropicalis</i>	18 (14%)	21 (16%)	21 (13%)	14 (13%)	74 (14%)
<i>C. glabrata</i>	18 (14%)	17 (13%)	11 (7%)	13 (12%)	60 (11%)
<i>C. krusei</i>	4 (3%)	5 (4%)	10 (6%)	4 (4%)	23 (4%)
Autres	8 (6%)	1 (1%)	11 (7%)	4 (4%)	25 (5%)

A noter que dans cette étude, on note peu d'évolution au cours du temps, *C. albicans* restant l'espèce majoritaire et la part des *Candida* non-*albicans* représentant à peine plus de 50%.

➤ Candidémies : données françaises

En France, comme ailleurs, on retrouve des données relativement similaires. Une étude, présentée dans la figure 24 et menée sur 7 ans dans 27 centres hospitaliers de la région parisienne, totalisant 2618 isolats de candidémies (2289 épisodes), montre encore une fois l'omniprésence de *C. albicans*, suivi par *C. glabrata*, *C. parapsilosis* puis *C. tropicalis* (LORTHOLARY *et al.* 2010).

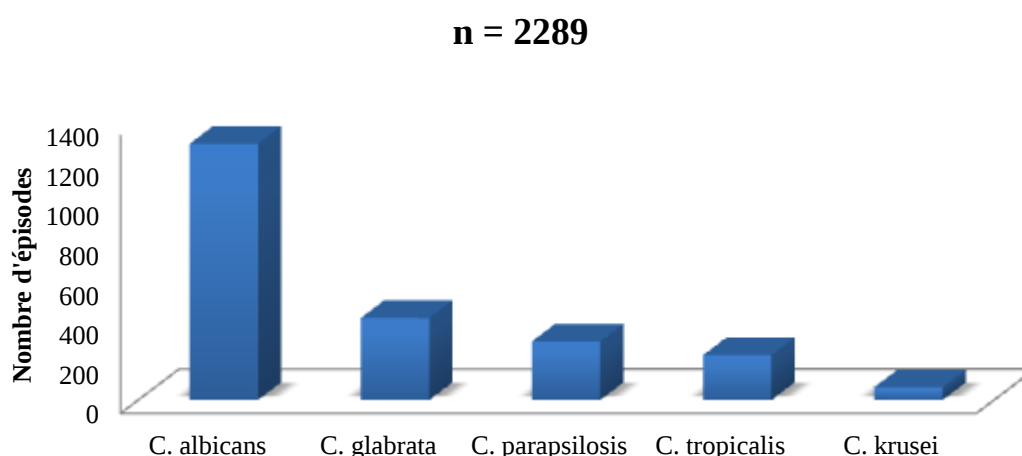


Figure 24 : Répartition des cinq espèces principales de *Candida* parmi 2289 candidémies dans 27 hôpitaux de la région parisienne (LORTHOLARY *et al.* 2010)

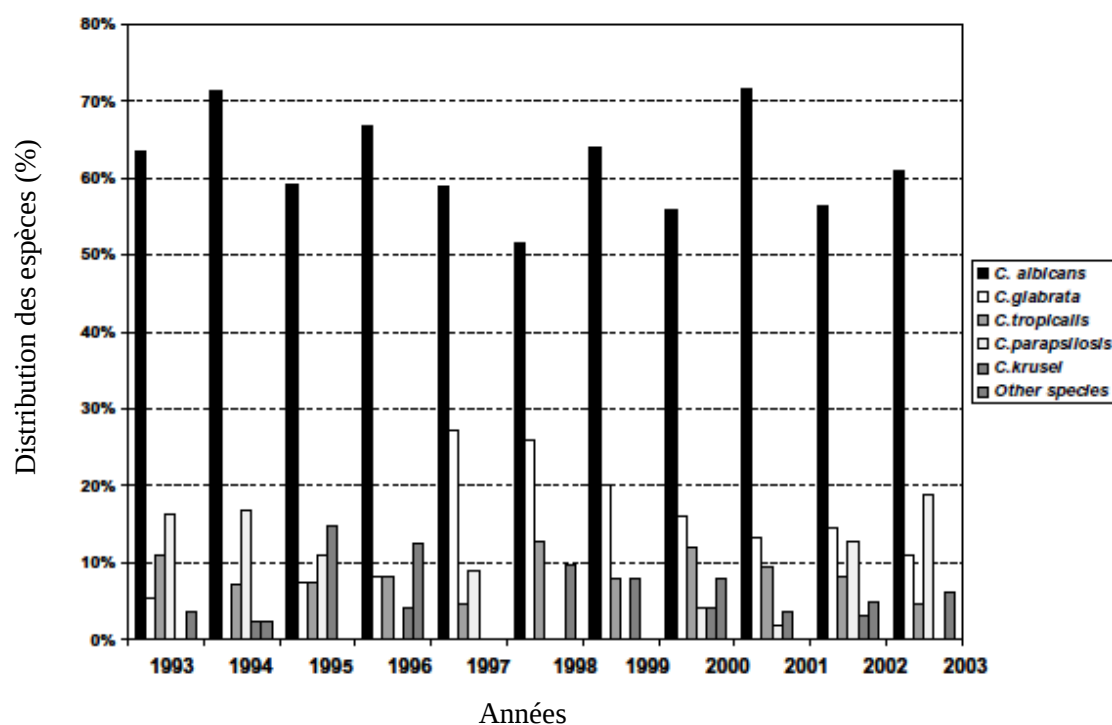
Une autre étude menée d'octobre 2005 à mai 2006 dans des unités de soins intensifs montre des données comparables à celle menée par l'ECMM (LEROY *et al.* 2009), c'est-à-dire

C. albicans reste l'espèce majoritairement isolée dans les cas de candidoses invasives avec 57% des isolats, suivi de *C. glabrata* (16,7%), *C. parapsilosis* (7,5%), *C. krusei* (5,2%) et *C. tropicalis* (4,9%). Ces données sont confirmées par une autre étude qui retrouvait une proportion de 54,2% de *C. albicans* dans les hémocultures et de 17% de *C. glabrata* (BOUGNOUX *et al.* 2008). Toutes ces données combinées confirment l'émergence de *C. glabrata* en seconde position, tout comme aux Etats-Unis, en termes de fréquence en France. Par contre ces données ne montrent pas de diminution de la proportion de *C. albicans* au cours du temps, représentant toujours de nos jours plus de la moitié des isolats issus d'hémocultures dans les candidémies, comme dans les données plus anciennes, proportion tout à fait comparable à celle retrouvée 10 ans plus tard dans l'ouest de la France (RICHEL *et al.* 2002; TALARMIN *et al.* 2009).

Relativement peu d'études sont disponibles dans la littérature concernant l'épidémiologie locale des candidémies dans les différents centres hospitaliers français. Les résultats des études menées dans trois villes (Lille, Lyon et Tours) sont illustrés dans la figure 25 (MANDARD and BESNARD 1996; MARTIN *et al.* 2005; SENDID *et al.* 2006). Bien que toutes les trois mettent en évidence *C. albicans* en tant qu'espèce majoritaire on note par contre qu'à Tours, *C. tropicalis* arrive au second rang alors qu'à Lyon et Lille la seconde place est occupée par *C. glabrata*.

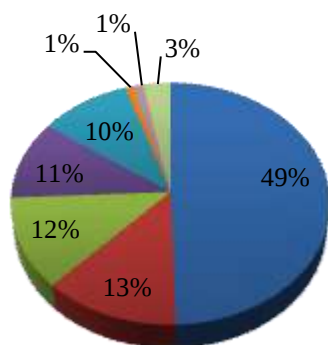
Lille 1993 – 2003

n = 430



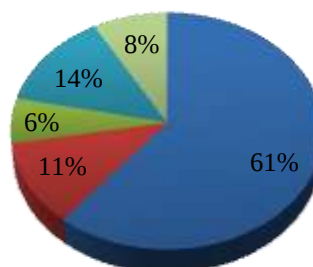
Lyon 1998-2001

n = 198



Tours 1991-1995

n = 97



- *C. albicans*
- *C. glabrata*
- *C. parapsilosis*
- *C. krusei*
- *C. tropicalis*
- *C. famata*
- *C. kefyr*
- *C. lusitaniae*
- Autres

Figure 25 : Distribution des espèces de *Candida* isolées d'hémocultures à Lille 1993-2003 (SENDID *et al.* 2006), Lyon 1998-2001 (MARTIN *et al.* 2005) et Tours 1991-1995 (Mandard and Besnard 1996)

5.6. Candidémies : évolution de la sensibilité aux antifongiques et stratégies thérapeutiques

5.6.1. Sensibilité *in vitro* aux antifongiques

Si on consulte les données de la littérature, on constate que la majorité des souches de *Candida* spp. sont sensibles aux antifongiques. Dans les principales études menées en Europe, la fréquence de la résistance de *C. albicans* est extrêmement faible, de moins de 2% des isolats pour le fluconazole et la 5-fluorocytosine, la résistance à l'amphotéricine B étant également exceptionnelle (TORTORANO *et al.* 2006). Dans cette étude également, parmi les *Candida* non-*albicans*, entre 5% et 10% d'entre eux étaient résistants au fluconazole et à la 5-fluorocytosine respectivement. De même, une étude portant exclusivement sur les espèces rares de *Candida* révèle que la quasi-totalité de ces espèces sont sensibles à tous les antifongiques utilisés. De plus, dans cette étude, la plupart des souches résistantes à une ou plusieurs échinocandines étaient des *C. guilliermondii* (DIEKEMA *et al.* 2009).

➤ Famille des azolés

Une étude rétrospective ayant analysé l'évolution des profils de sensibilité aux azolés sur une période allant de 1997 à 2007 retrouve des résultats similaires, 1,4% des *C. albicans* étant résistants *in vitro* au fluconazole, comme attendu, les espèces intrinsèquement résistantes au fluconazole étant *C. glabrata* et *C. krusei*. Les tableaux 29 et 30 montrent l'évolution des résistances vis-à-vis du fluconazole et du voriconazole respectivement des cinq principales espèces de *Candida* durant la période de l'étude (PFALLER *et al.* 2010b).

Tableau 29 : Evolution de la proportion des résistances vis-à-vis du fluconazole des cinq principales espèces de *Candida* (PFALLER *et al.* 2010b)

Espèces	1997-2000		2001-2004		2005-2007	
	n	% R	n	% R	n	% R
<i>C. albicans</i>	39152	0,9	71027	1,4	57598	1,4
<i>C. glabrata</i>	5634	19,2	12963	15,9	10342	15,4
<i>C. tropicalis</i>	2996	3,6	8496	4,5	7050	3,6
<i>C. parapsilosis</i>	2633	2,5	7783	3,5	5005	3,6
<i>C. krusei</i>	1207	65,8	2840	77,5	2239	79,3

Tableau 30 : Evolution de la proportion des résistances vis-à-vis du voriconazole des cinq principales espèces de *Candida* (PFALLER *et al.* 2010b)

Espèces	2001-2004		2005		2006		2007	
	n	% R	n	% R	n	% R	n	% R
<i>C. albicans</i>	68575	1,2	18630	1,5	18965	1,0	19795	1,0
<i>C. glabrata</i>	12643	10,3	3185	9,5	3413	10,2	3727	9,4
<i>C. tropicalis</i>	8171	6,1	2136	4,5	2317	3,8	2574	5,1
<i>C. parapsilosis</i>	7464	1,8	1581	1,9	1724	1,3	1687	1,8
<i>C. krusei</i>	2765	7,7	684	7,9	742	6,5	814	8,0

Au vu de ces résultats, il n'apparaît pas de modification significative de la sensibilité *in vitro* aux azolés de ces cinq espèces de *Candida*.

➤ Famille des échinocandines

L'évolution des CMI₉₀ vis-à-vis des échinocandines, analysée sur une période de six années et sur un large collectif de souches, est présentée dans le tableau 31 (PFALLER *et al.* 2008). On constate ainsi la très bonne activité des échinocandines sur *C. albicans* comme en atteste la CMI₉₀ extrêmement basse pour la caspofungine (CMI₉₀=0,06 µg/mL), mais également sur *C. glabrata* ou bien *C. tropicalis*. En revanche, ces données confirment la moins bonne sensibilité *in vitro* de *C. parapsilosis* et *C. guilliermondii*. Cette étude n'a également pas mis en évidence d'évolution de la sensibilité aux échinocandines sur la période étudiée (six ans).

Tableau 31 : Profil de sensibilité *in vitro* des isolats des cinq principales espèces de *Candida* vis-à-vis de l'anidulafungine, la caspofungine et la micafungine (DIEKEMA *et al.* 2009)

Anidulafungine, la Caspofungine et la Micafungine (DIEREMA et al. 2009)													
Espèces	N=	Antifongiques	% cumulés d'isolats sensibles à la CMI (µg/mL)										
			0,007	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	≥8
<i>C. albicans</i>	2869	Anidulafungine	6,2	33,5	69,5	92,4	99,1	99,5	99,5	99,6	100		
		Caspofungine	1,7	26,7	74,2	97,1	99,3	99,9	100				
		Micafungine	11,9	80,6	96,4	99,3	99,4	99,5	99,6	100			
<i>C. parapsilosis</i>	759	Anidulafungine			0,3	0,3	0,3	1,4	4,7	27,9	92,5	100	
		Caspofungine		0,1	0,5	3,3	10,7	52,2	89,5	98,6	99,9	100	
		Micafungine		0,1	0,3	0,3	0,5	6,1	24,4	79,3	100		
<i>C. glabrata</i>	747	Anidulafungine		0,4	7,8	62,4	93,6	99,4	99,7	99,9	99,9	100	
		Caspofungine		7,0	65,2	95,3	98,4	99,2	99,7	99,9	99,9	99,9	100
		Micafungine	13,7	91,4	97,9	98,9	99,5	99,9	99,9	100			
<i>C. tropicalis</i>	625	Anidulafungine	3,2	24,2	75,7	95,0	98,4	99,4	99,5	99,5	100		
		Caspofungine	1,3	31,0	79,7	97,3	99,0	99,7	99,7	99,8	99,8	99,8	100
		Micafungine	4,0	39,5	77,6	96,3	98,6	99,5	99,7	100			
<i>C. krusei</i>	136	Anidulafungine		2,9	47,1	90,4	99,3	99,3	100				
		Caspofungine		0,7	0,7	41,9	75,7	94,9	99,3	100			
		Micafungine		2,2	13,2	85,3	96,3	100					

Enfin, cette étude ne révèle pas non plus de différence dans la distribution des CMI₉₀ en fonction des régions d'étude (DIEKEMA *et al.* 2009).

5.6.2. Stratégies thérapeutiques

Les habitudes concernant le traitement des candidoses invasives ont évolué depuis l'avènement des échinocandines en 2003.

Dans les études les plus anciennes, le fluconazole était le traitement le plus largement utilisé avec l'amphotéricine B. Ainsi en Europe, dans l'étude réalisée par l'ECMM avant l'arrivée des échinocandines, il existait peu de différences en termes de stratégie thérapeutique entre les six pays d'Europe étudiés. Le fluconazole était le principal antifongique utilisé (moins utilisé cependant en Espagne), suivi par l'amphotéricine B désoxycholate. A part quelques exceptions, la mise en place d'une combinaison d'antifongiques restait exceptionnelle. La figure 26 illustre les traitements utilisés en première intention dans six pays européens (TORTORANO *et al.* 2006).

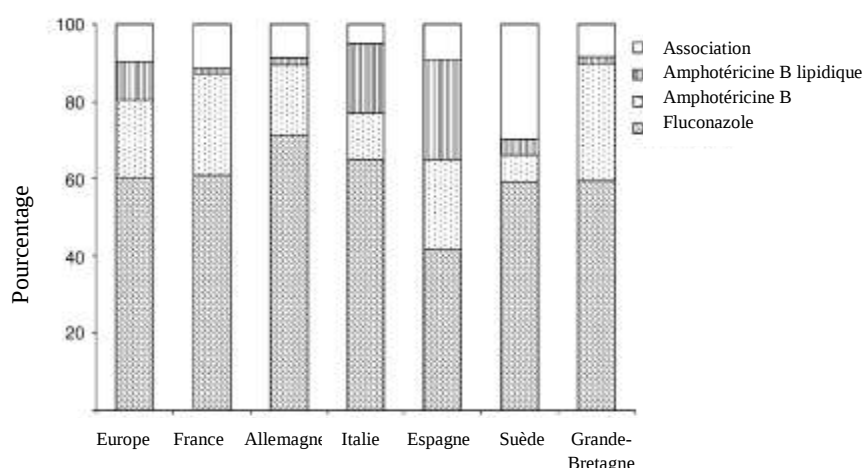


Figure 26 : Antifongiques utilisés en première intention dans la série de l'ECMM (TORTORANO *et al.* 2006)

Des données nord-américaines plus récentes confirment le fait que le fluconazole reste le traitement principal des candidémies, mais les échinocandines et notamment la caspofungine occupe une place de choix dans la prise en charge, étant désormais utilisée dans plus d'un tiers des cas (HORN *et al.* 2009), les autres antifongiques étant d'utilisation plus limitée et instaurés que dans un très faible nombre de cas. Cependant il faut rappeler que le choix de l'antifongique repose en partie sur l'espèce en cause, toutes les espèces ne présentant pas le même spectre de sensibilité vis-à-vis des antifongiques. Ainsi, pour *C. glabrata*, la caspofungine est bien plus souvent utilisée en première intention à la place du fluconazole, comme le recommande les comités d'experts de l'IDSA ou de l'ESCMID. La figure 27

reporte les différentes fréquences d'utilisation des antifongiques en fonction des espèces (HORN *et al.* 2009).

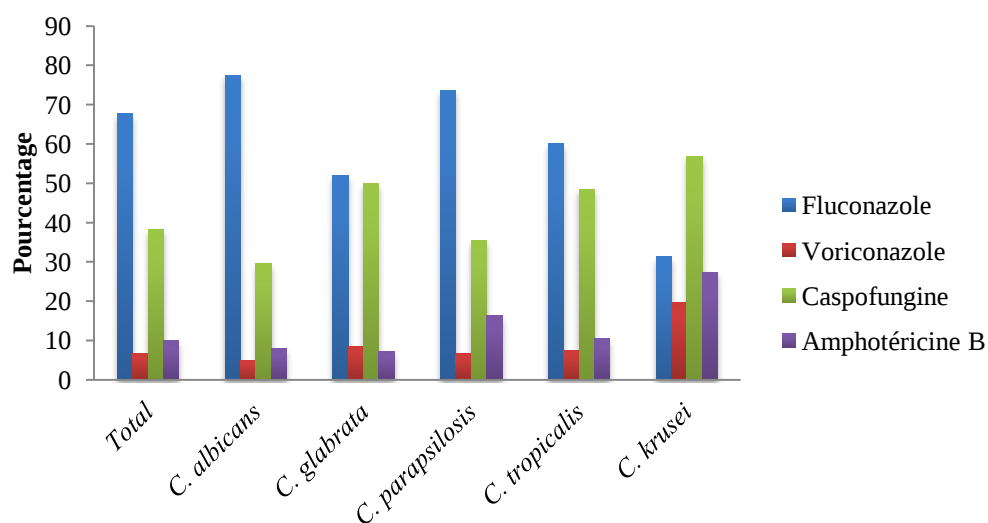


Figure 27 : Fréquences d'utilisation de différents antifongiques en fonction de l'espèce (HORN *et al.* 2009)

Il est donc essentiel de connaître l'épidémiologie locale des candidémies afin d'instaurer un traitement adéquat le plus rapidement possible, celui-ci étant gage d'une meilleure survie.

MATERIELS ET METHODES

L'étude faisant l'objet de ce travail est une étude rétrospective monocentrique des candidémies survenues au Centre Hospitalier Universitaire de Nantes. Bien que la vocation initiale de cette étude soit essentiellement mycologique, nous avons souhaité également lui apporter une dimension clinique.

➤ Objectif principal :

Il s'agissait dans cette étude d'établir l'épidémiologie locale des candidémies dans notre Centre Hospitalier :

- Données démographiques
- Données mycologiques
- Données cliniques.

➤ Objectif secondaire :

Cette étude a également permis de comparer les données obtenues dans notre centre hospitalier aux données nationales et internationales issues de la littérature.

1. Méthodologie

- Type d'étude :

L'étude présentée dans ce manuscrit est une étude monocentrique rétrospective.

- Durée de l'étude :

L'analyse prend en compte l'ensemble des épisodes de candidémie diagnostiqués dans notre établissement entre le 15 mars 2004 et le 31 décembre 2010 soit un recueil de près de sept années.

- Critères d'inclusion :

Tous les patients hospitalisés au CHU de Nantes pendant la durée de l'étude et ayant présenté une candidémie diagnostiquée au laboratoire de parasitologie-mycologie, quel que soit leur service d'hospitalisation, ont été inclus.

Ont été exclus de l'analyse les patients pris en charge dans notre CHU pour un épisode de candidémie dont le diagnostic a été porté en dehors de notre établissement ainsi que toute identification de souches d'hémocultures chez des patients non hospitalisés au CHU (exemple des patients hospitalisés au Centre Régional de Lutte Contre le Cancer, CRLCC).

N'ont pas été inclus dans l'étude également les souches de *Candida* spp. issues de flacons d'hémocultures mais provenant de prélèvements autres que sanguins : liquide articulaire, liquide d'ascite, moelle osseuse, etc...

Enfin, n'ont pas été incluses dans l'étude toutes les souches d'hémocultures non identifiées comme appartenant au genre *Candida*.

2. Analyse des données démographiques

Afin de mieux connaître la population concernée par ces épisodes de candidémie, quelques paramètres démographiques simples ont été recueillis :

- Age
- Sexe
- Services d'hospitalisation au moment du diagnostic.

3. Analyse des données mycologiques

Toutes les souches de *Candida* spp. issues d'hémocultures ont été considérées, qu'elles aient été isolées à partir de flacons d'hémocultures Mycosis IC/F ou bien des flacons d'hémocultures bactériennes aérobie et anaérobie.

Un certain nombre de paramètres mycologiques, détaillés ci-dessous, a été analysé dans le cadre de cette étude :

- Date de la première et de la dernière hémoculture positive à *Candida* spp.
- Espèce(s) identifiée(s)
- Sensibilité *in vitro* vis-à-vis des différentes classes d'antifongiques :
 - Azolés : fluconazole et voriconazole
 - Echinocandines : caspofungine
 - Amphotéricine B
- Résultats des cultures mycologiques des cathéters centraux et/ou chambres implantables en cas d'ablation

- Résultats des cultures mycologiques des prélèvements réalisés dans le cadre de localisations secondaires viscérales
- Existence d'une colonisation à *Candida* spp.

3.1. Identification mycologique

L'identification de chaque souche a été réalisée au laboratoire de mycologie du CHU de Nantes au moment du diagnostic par les techniques phénotypiques usuelles, selon le schéma de prise en charge d'une hémoculture positive présenté page 34.

Dans le cadre de cette étude et pour une épidémiologie plus précise, nous avons souhaité confirmer l'identification de certains des isolats par amplification et séquençage de la région ITS de l'ADN ribosomal. Cette analyse, réalisée donc de manière rétrospective par rapport à l'épisode de candidémie, a été rendue possible grâce à la cryoconservation systématique au laboratoire de mycologie des souches à l'origine d'infections profondes.

Cette identification complémentaire par biologie moléculaire a été réservée aux situations suivantes :

- Espèces appartenant aux complexes d'espèces :
 - *C. parapsilosis* :

Dans le cadre d'une étude réalisée récemment et visant à évaluer la prévalence de *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. orthopsilosis* et de *C. metapsilosis* dans les candidémies sur la période 2004-2009 au CHU de Nantes une grande partie des isolats de notre étude avait déjà fait l'objet d'une identification par biologie moléculaire (THIERRY *et al.* 2011). Ainsi, seuls des isolats de *C. parapsilosis* issus d'hémocultures identifiés depuis juillet 2009 ont été identifiés par biologie moléculaire dans le cadre de cette étude rétrospective.

- *C. glabrata*

Pour les raisons décrites précédemment, à savoir la très grande proximité phénotypique entre *C. glabrata*, *C. nivariensis* et *C. bracarensis*, tous les isolats identifiés comme *C. glabrata* ont été systématiquement identifiés également par biologie moléculaire afin de pallier aux limites de l'identification phénotypique.

- Espèces rares :

Toutes les souches identifiées comme *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. lipolytica*, *C. inconspicua* ou *C. pelliculosa* par les méthodes phénotypiques ont été également analysées par biologie moléculaire du fait des erreurs fréquentes d'identification discutées précédemment pour ces espèces.

3.2. Détermination de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques

La détermination des concentrations minimales inhibitrices vis-à-vis des azolés (fluconazole, voriconazole et itraconazole), de l'amphotéricine B et de la caspofungine a été réalisée pour la grande majorité des isolats au moment du diagnostic.

Toutefois, dans le cadre de cette étude, et dans un but d'exhaustivité, la sensibilité *in vitro* au fluconazole a été réalisée a posteriori pour six isolats, non testés au moment du diagnostic. Par ailleurs, toute CMI anormalement élevée pour un antifongique a été vérifiée a posteriori en particulier pour le fluconazole et la caspofungine.

4. Analyse des données cliniques

Un certain nombre de paramètres cliniques, détaillés ci-dessous, a été analysé dans cette étude :

- Facteurs de risque :
 - présence d'un ou plusieurs cathéter(s) central(aux)
 - présence d'une chambre implantable
 - pathologie(s) sous-jacente(s)
 - administration d'un traitement antibiotique à large spectre dans les jours précédant l'épisode de candidémie
- Existence d'une localisation secondaire à l'épisode de candidémie
- Principe de la prise en charge thérapeutique :
 - Nature du (ou des) antifongique(s) administré(s)
 - Date de début du traitement
- Evolution clinique à 12 semaines.

Afin de collecter au mieux possible ces informations et de la manière la plus exhaustive possible, plusieurs sources d'informations ont été utilisées :

- Consultation des dossiers informatisés sur Clinicom
- Consultation des dossiers médicaux des patients inclus dans notre étude. Cette consultation a été rendue possible grâce à l'accord des différents chefs de service concernés.
- Consultation de la base de données de l'étude menée en 2004 sur les candidémies dans l'ouest de la France (TALARMIN *et al.* 2009). 23 épisodes de candidémie survenus au CHU de Nantes durant l'année 2004 avaient déjà été recueillis à l'occasion de cette étude.
- Consultation des données des archives de la pharmacie hospitalière concernant la distribution des antifongiques.

Enfin, pour l'analyse de l'incidence des épisodes de candidémie, nous avons utilisé les chiffres d'admissions dans les unités de médecine, chirurgie et obstétrique durant les années 2004 à 2010 (obtenus auprès de Véronique Dilé du bureau du contrôle de gestion).

5. Fiche de recueil et analyse des données

Les données collectées pour chacun des épisodes de candidémie ont été consignées dans une fiche de notification présentée en annexe n°2 et élaborée il y a plusieurs années par le Dr Talarmin, infectiologue au CHU de Nantes (TALARMIN *et al.* 2009). Celle-ci comprend plusieurs volets :

- Premier volet : données démographiques du patient
- Deuxième volet : données mycologiques
- Troisième volet : pathologie sous-jacente et facteurs de risque
- Quatrième volet : prise en charge thérapeutique
- Dernier volet : évolution clinique.

RESULTATS

Du 15 mars 2004 au 31 décembre 2010, 205 souches de *Candida* ont été isolées d'hémocultures au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Nantes. Ces 205 isolats de *Candida* concernaient 199 épisodes (196 patients).

Douze personnes représentant douze épisodes de candidémie ont été exclues de l'étude car : huit d'entre eux étaient des patients du Centre de Recherche et de Lutte Contre le Cancer René Gauducheau (CRLCC). Quatre autres patients ont également été exclus car hospitalisés secondairement au CHU suite à un épisode de candidémie diagnostiqué en dehors de notre établissement (Clinique Brétéché à Nantes, Clinique Saint Augustin à Nantes ou bien encore au centre hospitalier de Challans ou du Mans).

En conclusion, au total, 193 isolats de *Candida* ont été retenus pour cette étude. Ils concernaient 187 épisodes et 184 patients.

Au cours de la période de recueil des données, 117 dossiers médicaux de patients ont pu être consultés auprès des archives médicales.

1. Données démographiques

1.1. Caractéristiques des patients

Comme expliqué ci-dessus, au total, les 193 isolats de *Candida* retenus dans cette étude concernaient 187 épisodes de candidémie et 184 patients. Pour six patients (3,3%), deux espèces de *Candida* différentes ont été isolées au cours du même épisode. Trois des 184 patients ont présenté deux épisodes distincts de candidémie au cours de la période d'étude. Pour l'analyse, deux épisodes ont été considérés comme distincts si espacés d'au moins une semaine.

Sur l'ensemble de l'étude, le sex ratio est très en faveur des patients de sexe masculin avec un **sex ratio hommes/femmes de 1,5**. Toutefois, comme illustré dans la figure 28, ce sex ratio varie sensiblement d'une année à l'autre même si cette évolution doit être pondérée du fait de l'effectif relativement faible des candidémies chaque année.

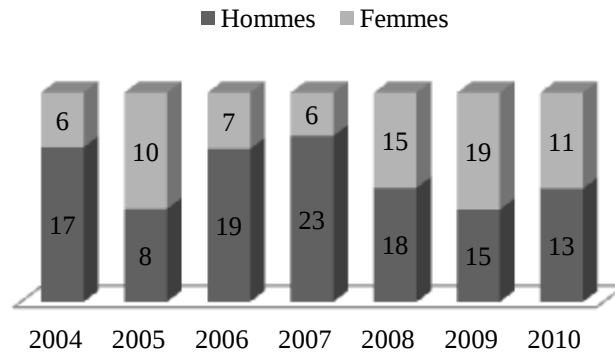


Figure 28 : Répartition hommes/femmes dans les candidémies entre 2004 et 2010 au CHU de Nantes

L'âge moyen des patients dans notre étude était de 53,4 ans (minimum = 12 jours, maximum = 93,9 ans). Il s'agit donc d'une pathologie concernant préférentiellement le sujet d'âge mur et de sexe masculin.

1.2. Services d'hospitalisation

Comme illustré dans la première partie de ce travail, certains services sont plus concernés que d'autres par le risque de survenue de candidémies car ils accueillent des patients multipliant les facteurs de risque. La figure 29 illustre l'ensemble des services pour lesquels au moins un épisode de candidémie est survenu sur la période étudiée. Il apparaît clairement que les services hébergeant les patients les plus à risque de candidémies sont les services d'hématologie clinique, de réanimation et d'hépatologie, la part des autres services étant nettement plus faible. Toutefois au total on observe une grande diversité avec 38 services différents concernés.

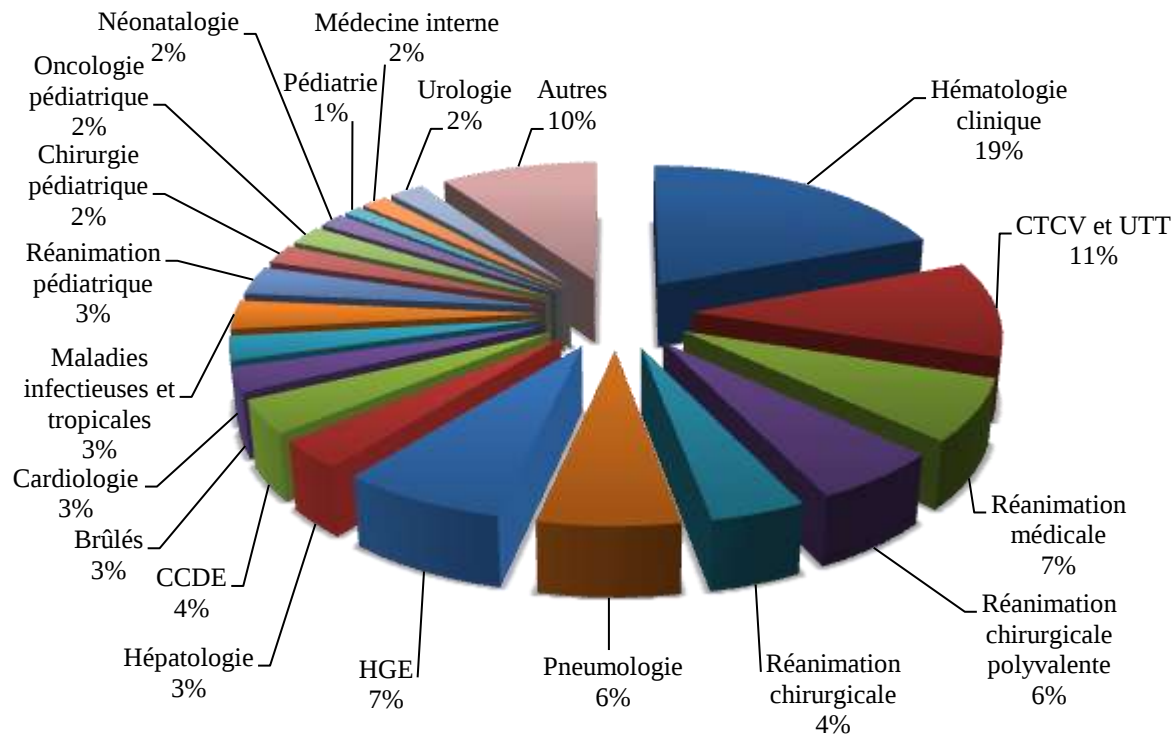


Figure 29 : Répartition des épisodes de candidémie au CHU de Nantes entre 2004 et 2010 en fonction du service d'hospitalisation (n = 187 épisodes)

CTCV = service de réanimation Chirurgicale Thoracique et Cardio-Vasculaire

UTT = Unité de Transplantation Thoracique

HGE = Hépto-Gastro-Entérologie

CCDE = Clinique Chirurgicale Digestive et Endocrinienne

A travers cette figure, on observe plusieurs points importants :

- Près de 20% des candidémies (36 épisodes), sont survenues chez des patients hospitalisés en hématologie clinique.
- 28% des candidémies (soit 52 épisodes), ont eu lieu dans un service de réanimation (réanimation médicale, chirurgicale, chirurgicale polyvalente ou CTCV).
- Seulement 10% des épisodes sont issus des services de pédiatrie.

2. Incidence des candidémies

2.1. Evolution du nombre d'épisodes de candidémie par année

L'évolution du nombre de candidémies survenues chaque année durant la période d'étude est illustrée dans la figure 30. Malgré une augmentation au cours des années 2008 et 2009, le nombre d'épisodes annuel se situe aux alentours de 25 à 30 épisodes.

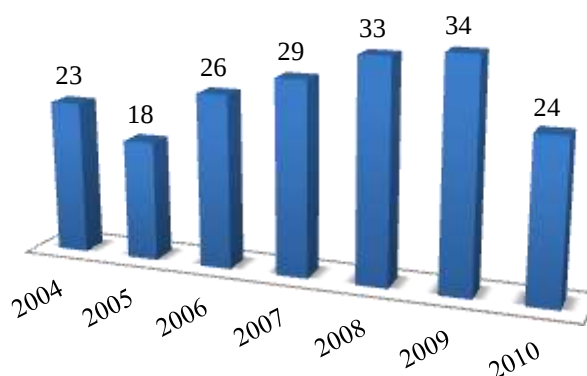


Figure 30 : Nombre d'épisodes de candidémie survenus au CHU de Nantes entre 2004 et 2010

2.2. Incidence globale, par année et par service

La figure 31 montre l'évolution du nombre d'épisodes de candidémie par année, pondérée par le nombre d'hospitalisations à temps complet dans les services de médecine, de chirurgie et d'obstétrique (MCO).

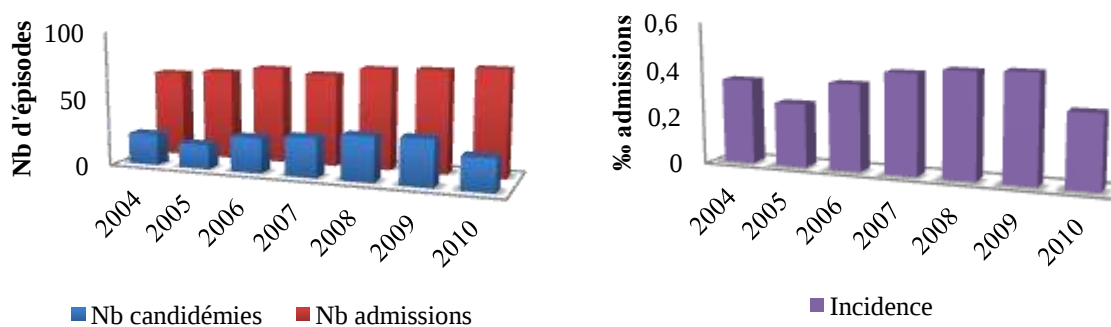


Figure 31 : Evolution de l'incidence des candidémies au CHU de Nantes pour 1000 hospitalisations dans les services de médecine, chirurgie et obstétrique entre 2004 et 2010
Le nombre d'admissions est donné en millier d'épisodes.

L'incidence moyenne sur les sept années de notre étude est donc de 0,37 épisode de candidémie pour 1000 hospitalisations. Il est intéressant de noter l'augmentation constante de cette incidence de 0,27 à 0,45‰ hospitalisations entre 2005 et 2009, comme le laissaient présager les résultats présentés dans la figure 30. Toutefois, on note une diminution brutale à 0,31‰ admissions en 2010 en accord avec la diminution du nombre de candidémies (figure 30). L'explication de ces variations brutales d'incidence reste à déterminer.

Comme attendu, l'étude de l'incidence de survenue des candidémies en fonction des services révèle de grandes disparités (figure 32). Ainsi nous pouvons observer que si l'incidence globale dans les services de médecine, chirurgie et obstétrique n'est en moyenne que de 0,37‰ hospitalisations à temps complet, celle-ci est bien plus élevée si l'on ne considère que les services les plus à risque. A titre d'exemple, l'incidence des candidémies est de 6,65‰ en hématologie clinique. De même, mais de manière moins prononcée, l'incidence des candidémies dans les services de réanimation est intermédiaire, à 2‰ admissions.

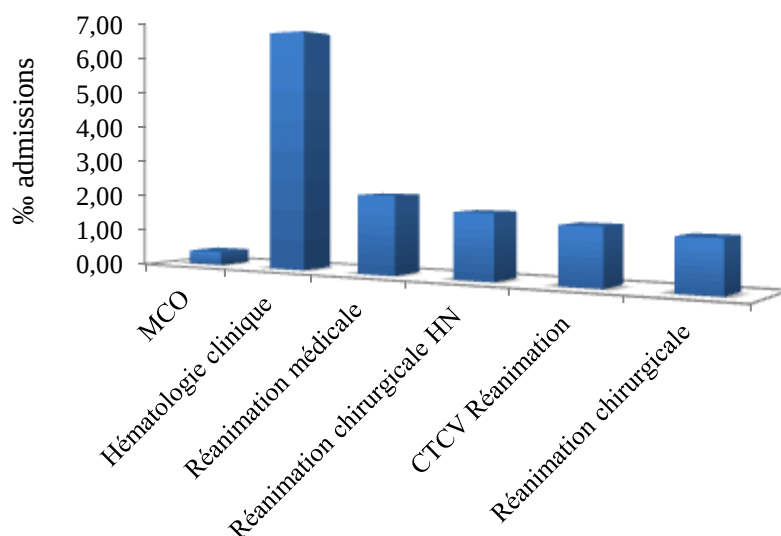


Figure 32 : Incidence de survenue de candidémies en fonction des services

MCO = médecine, chirurgie, obstétrique

CTCV = chirurgie thoracique et cardio-vasculaire

Réanimation chirurgicale HN = réanimation chirurgicale polyvalente (Hôpital Nord Laënnec)

Cette grande disparité d'incidence entre les services s'explique par le fait que les patients hospitalisés dans les services d'hématologie clinique et de réanimation cumulent généralement les facteurs de risque : pathologie sous-jacente, voie veineuse centrale, antibiothérapie à large spectre, traitements immunosuppresseurs...

3. Population et facteurs de risque

Différents facteurs de risque ont été recherchés dans le cadre de cette étude. Au cours des 187 épisodes, certains facteurs de risque ont été retrouvés plus fréquemment que d'autres. L'ensemble des facteurs de risque mis en évidence est résumé dans le tableau 32.

➤ Pathologies sous-jacentes

Plusieurs pathologies ou états pathologiques sous-jacents émergent de notre étude :

- Actes chirurgicaux récents : mis en évidence pour 47 patients (25,5%).
- Neutropénie et hémopathies malignes :
Une hémopathie maligne est retrouvée chez 25% des patients (46 patients sur les 184 inclus dans l'étude).
Une neutropénie a été mise en évidence chez 36 patients (19,6%), cependant il s'agissait d'une situation étroitement liée à la présence d'une hémopathie maligne puisque sur ces 36 patients, 35 étaient également atteints d'une hémopathie maligne.
- Cancer d'organe solide :
La notion d'un cancer d'organe solide a été retrouvée pour 45 des 184 patients de notre étude (24,5%).

➤ Présence d'une voie veineuse centrale

La présence d'une voie veineuse centrale (cathéter, chambre implantable, etc...) a été le facteur de risque le plus souvent mis en évidence, retrouvée pour 144 des 187 épisodes soit 77%. Il s'agissait dans la très grande majorité des cas, d'un cathéter central (125 épisodes sur les 144 concernés, 86,8%), la présence d'une chambre implantable étant moins fréquemment rapportée.

➤ Antibiothérapie préalable

Dans près de 75% des cas, (140 épisodes), il a été retrouvé la notion d'un traitement antibiotique dans les 14 jours précédant le diagnostic de candidémie. Cette antibiothérapie reposait le plus souvent sur une β -lactamine (90 épisodes) ou la tazocilline (24 épisodes) ou

une autre classe d'antibiotiques (128 épisodes). Dans la grande majorité des cas, il s'agissait d'une antibiothérapie multiple, à large spectre.

➤ Autres facteurs de risque

D'autres facteurs de risque ont également été notés au cours de notre étude et sont listés dans le tableau 32 ci-dessous.

Tableau 32 : Principaux facteurs de risque mis en évidence dans notre étude (n = 184 patients)

Facteurs de risque	n	%
Voie veineuse centrale	142	77,2
Antibiothérapie	140	76,1
Chirurgie récente	47	25,5
Hémopathie maligne	46	25
Cancer d'organe solide	45	24,5
Neutropénie	36	19,6
Ethylisme	29	15,8
Diabète	26	14,1
Transplantation d'organe solide	17	9,2
Brûlés	7	3,8

L'analyse des différents facteurs de risque observés au cours de l'étude met en évidence que :

- La présence d'une voie veineuse centrale et l'existence d'une antibiothérapie dans les jours précédant la survenue d'une candidémie sont observées chez plus de $\frac{3}{4}$ des patients inclus dans l'étude.
- La grande majorité des patients cumulent plusieurs facteurs ou situations à risque.

4. Données mycologiques

4.1. Concordance entre les résultats de l'identification phénotypique et la biologie moléculaire

Même si ce n'était pas son objectif principal, cette étude, dont l'objectif a été d'établir l'épidémiologie des *candida* la plus exacte possible, a également été l'occasion d'évaluer les performances des méthodes d'identification phénotypiques utilisées au laboratoire de

mycologie du CHU de Nantes, concernant certaines espèces de *Candida* spp., notamment les espèces appartenant aux complexes *parapsilosis* et *glabrata*, ainsi que les espèces rares.

➤ *C. parapsilosis*

Parmi les 29 isolats de notre étude et identifiés comme *C. parapsilosis sensu lato* par les méthodes phénotypiques usuelles au moment du diagnostic, l'identification par biologie moléculaire par séquençage de la région ITS a permis d'identifier, pour 28 d'entre eux, *C. parapsilosis sensu stricto* et pour un isolat le séquençage a permis la mise en évidence de *C. metapsilosis* (3,4%). Aucune souche appartenant à l'espèce *C. orthopsilosis* n'a été identifiée.

➤ *C. glabrata*

Parmi les 19 isolats d'hémoculture identifiés comme *C. glabrata* par les méthodes d'identification phénotypiques au moment du diagnostic, 18 ont pu être analysés de manière rétrospective par amplification et séquençage de la région ITS. Pour chacune des 18 souches, l'identification moléculaire a confirmé l'identification de *C. glabrata*, aucune souche de *C. baracarensis* ni *C. nivariensis* n'ayant été mise en évidence.

➤ Autres espèces

Pour les autres isolats, appartenant à des espèces moins fréquemment à l'origine d'infection invasive, l'identification par biologie moléculaire a confirmé dans la plupart des cas l'identification initiale comme présenté ci-dessous :

- *C. guilliermondii* (n=2)
- *C. lipolytica* (n=2)
- *C. pelliculosa* (n=1)
- *C. inconspicua* (n=1).

En revanche, pour un des isolats, identifié au moment du diagnostic comme *C. famata* par les méthodes phénotypiques, l'identification s'est avérée être un *C. guilliermondii*, résultat qui

confirme les données de la littérature soulignant la très faible prévalence de cette espèce, souvent surestimée, en pathologie humaine.

4.2. Distribution globale des espèces

Comme illustré dans la figure 33, pendant la durée de l'étude, l'espèce majoritairement isolée d'hémocultures a été ***C. albicans*** représentant **51,8%** des isolats (n = 100), suivi de :

- *C. parapsilosis* (14,5%, n = 28)
- *C. glabrata* (9,8%, n = 19)
- *C. tropicalis* (9,8%, n = 19)
- *C. kefyr* (3,6%, n = 7).

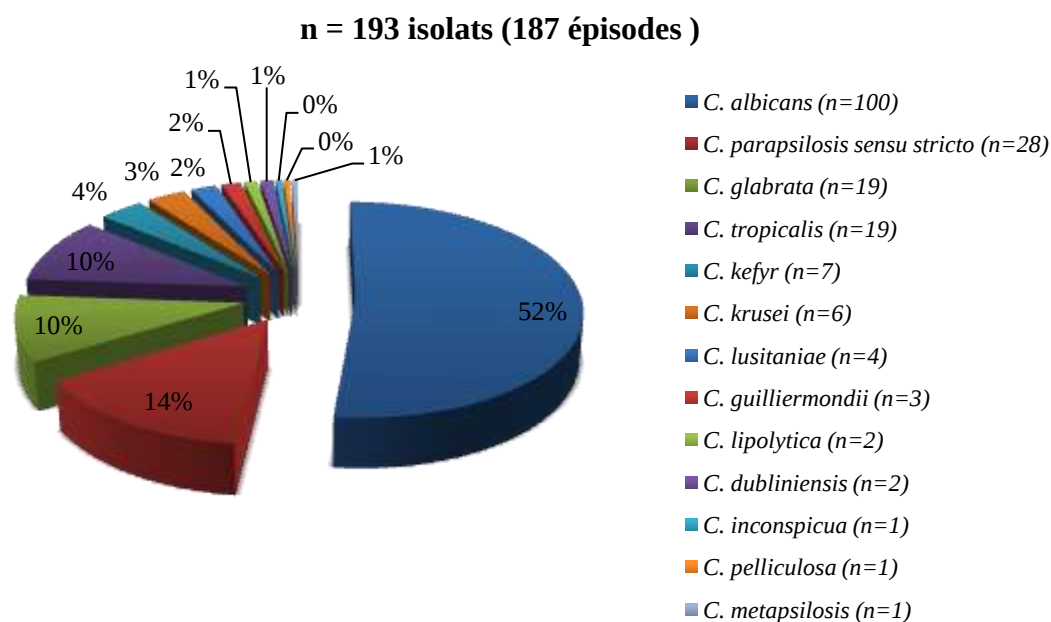


Figure 33 : Distribution des espèces isolées d'hémocultures entre 2004 et 2010 au CHU de Nantes (n=193)

Comme dans les études antérieures, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. kefyr* représentent plus de 90% des isolats de candidémie dans notre centre hospitalier. Après *C. krusei* ne représentant que six isolats et *C. lusitaniae* quatre isolats, toutes les autres espèces n'ont été isolées qu'une, deux ou trois fois pendant la durée de l'étude.

Au total 13 espèces différentes ont été isolées au cours de l'étude illustrant la grande diversité des espèces de *Candida* susceptibles d'être à l'origine d'infections invasives. Si une espèce extrêmement rare comme *C. metapsilosis* apparaît dans l'étude, l'ensemble des espèces dites rares ne représentent que 7% de l'ensemble des isolats.

La distribution et l'évolution au cours du temps des espèces en cause dans les candidémies sont présentées dans la figure 34. Cette analyse, montre que *C. albicans* reste l'espèce majoritaire quelle que soit l'année considérée même si sa prévalence est variable, oscillant entre 40 et 60% des isolats.

A noter également dans cette figure que l'évolution au cours du temps n'est pas marquée par une augmentation des espèces non-*albicans*, la proportion annuelle de *C. albicans* restant globalement stable entre 40 et 50% à deux exceptions près où elle est nettement supérieure à 60%. Parmi les espèces non-*albicans*, la proportion d'isolement de *C. glabrata* présente des variations assez nettes : d'abord une diminution de 2004 (13%) à 2007 (3,4%) puis une réascension franche de 2007 à 2010 (12,5%). Cette dernière augmentation semble se faire au détriment principalement de *C. tropicalis* qui ne représente plus que 4,2% des isolats de l'année 2010, alors qu'en 2005 celui-ci a été isolé dans 22% des cas analysés. Enfin, il faut souligner que la proportion des autres espèces rares n'augmente pas au cours du temps.

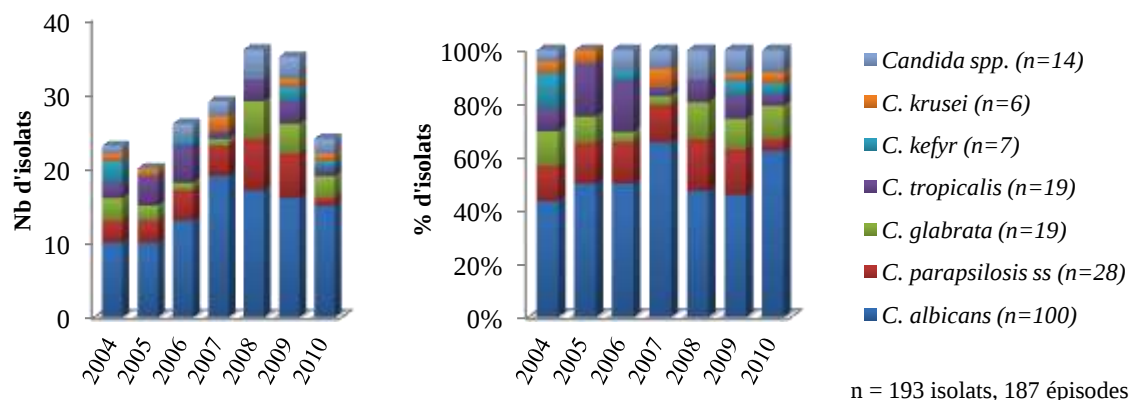


Figure 34 : Distribution des espèces de *Candida* isolées d'hémocultures au CHU de Nantes (n=193)

Parmi les 14 *Candida* spp. rapportés dans la figure 34, on retrouve une grande variété d'espèces, dont certaines considérées comme de rares agents d'infections invasives (*C. inconspicua* et *C. lipolytica* par exemple). Aucune tendance n'a pu être dégagée sur la prévalence de ces espèces rares au cours de l'étude.

4.3. Facteurs influençant la distribution des espèces

➤ Service d'hospitalisation

Dans l'analyse ci-dessous, nous avons étudié la distribution des espèces de *Candida* dans les deux types de services pour lesquels le plus grand nombre d'épisodes de candidémie a été observé durant la période d'étude à savoir l'hématologie clinique et les services de réanimation (regroupant les réanimations médicale, chirurgicale, chirurgicale polyvalente et la réanimation CTCV). Comme illustré dans la figure 35, cette analyse met en évidence d'importantes disparités dans la distribution des espèces entre ces services. Ainsi, chez les patients pris en charge en hématologie, on retrouve une très nette prédominance des espèces non-*albicans* (89,2%), la part de *C. albicans* étant relativement faible (10,8%). Ainsi l'espèce la plus fréquente en hématologie au CHU de Nantes est *C. tropicalis* avec une prévalence de 27% (10 épisodes sur les 37 notifiés). Il est à noter également la présence non négligeable d'espèces rares (13,5%, soit cinq isolats : deux *C. dubliniensis*, deux *C. guilliermondii* et un *C. lusitaniae*) et de *C. kefyr* et *C. krusei*, dont les prévalences sont plus importantes que dans l'analyse globale, tous services confondus (13,5% contre 3,6% chacun dans l'analyse globale). Dans les services de réanimation, la répartition des espèces est clairement différente, *C. albicans* restant l'espèce majoritaire (73,1%), les autres espèces étant isolées de manière très peu fréquente, y compris *C. parapsilosis*.

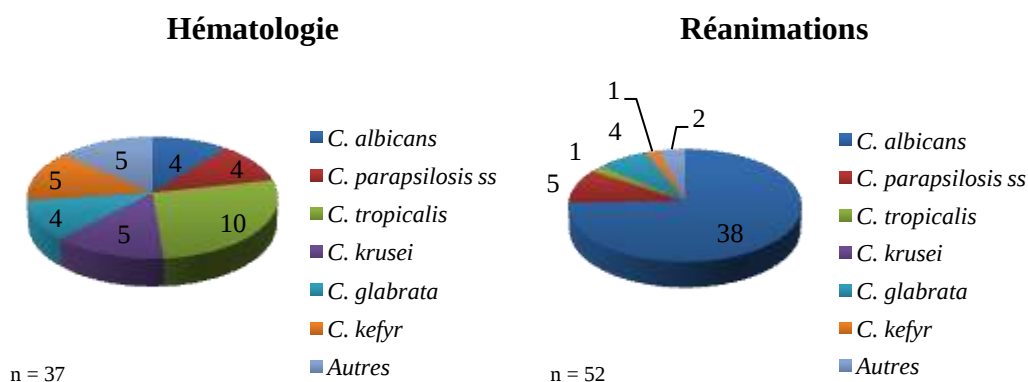


Figure 35 : Distribution des espèces de *Candida* isolées d'hémocultures dans les services d'hématologie clinique et de réanimation entre 2004 et 2010

Hématologie clinique = UF 3910, 3911, 3913 et 3915

Réanimations = UF 3760, 3761, 3762, 3763, 3810 et 3850

➤ Pathologie(s) sous-jacente(s)

En étudiant les facteurs de risque de candidémie au cours de cette étude rétrospective, il est apparu que les patients atteints d'hémopathie maligne et ayant présenté un épisode de candidémie ne sont pas toujours hospitalisés dans une des unités du service d'hématologie clinique au moment de l'épisode. Toutefois, si on étudie la distribution des espèces de *Candida* chez ces patients, qu'ils soient ou non hospitalisés en hématologie, on retrouve à nouveau une très nette prédominance des espèces non-*albicans* (86%) et la forte prévalence de *C. tropicalis* (24%) (figure 36). Ces résultats soulignent que la distribution des espèces est intimement liée à la nature de la pathologie sous-jacente. Ainsi, les patients atteints d'hémopathies malignes sont plus à risque de développer une candidémie à une espèce non-*albicans* et en particulier à *C. tropicalis*.

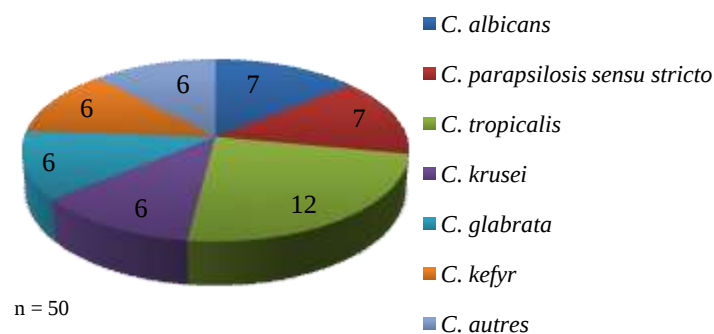


Figure 36 : Distribution des espèces chez les patients atteints d'hémopathie maligne

➤ Âge des patients

Comme illustré précédemment lors de l'analyse de la littérature, la distribution des *Candida* spp. n'est pas similaire entre les patients issus de services de pédiatrie et de services hébergeant des adultes. Afin de voir si ces résultats sont également observés dans notre étude, nous avons étudié la fréquence des candidémies en fonction de l'âge des patients. Comme attendu et illustré dans la figure 37, au sein de la population pédiatrique (patients âgés de 0 à 15 ans), *C. parapsilosis* est l'espèce majoritaire (38%) devant *C. albicans*, même si nous ne disposons que d'un faible nombre de patients dans cette catégorie (n = 21). A l'opposé, chez les patients de plus de 15 ans, *C. albicans* prédomine largement quelle que soit la tranche

d'âge considérée. A noter aussi que la prévalence de *C. glabrata* est, elle, plus importante chez l'adulte que chez l'enfant.

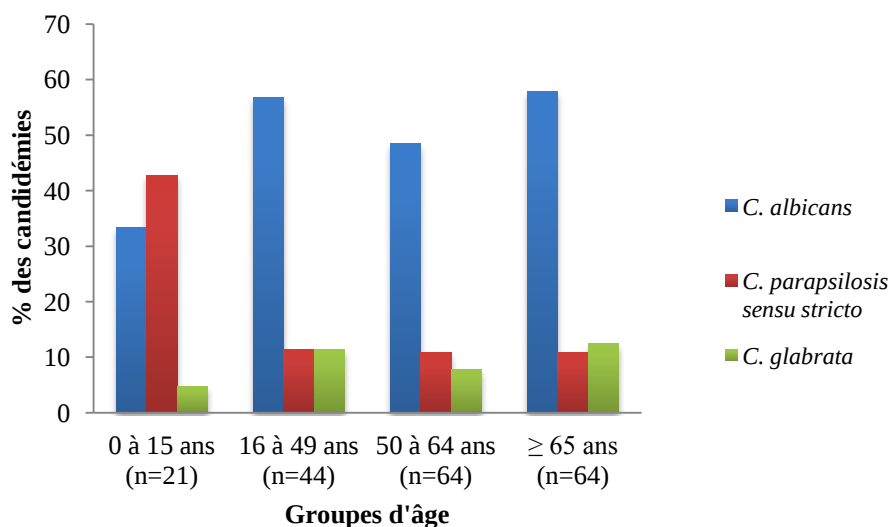


Figure 37 : Distribution des espèces de *Candida* en fonction de l'âge des patients (n = 193)

➤ Présence d'une voie veineuse centrale

Dans le cadre de cette étude, l'information concernant la présence ou l'absence d'une voie veineuse centrale a été analysée pour 160 des 187 épisodes (85,6%) concernant 166 isolats. La distribution des espèces parmi les patients possédant une voie veineuse centrale rejoint la distribution globale présentée plus haut. On ne note pas de prévalence plus importante de *C. parapsilosis* parmi les patients présentant une voie veineuse centrale par rapport aux patients ne présentant pas de voie veineuse centrale (figure 38). Toutefois, ce résultat doit être pondéré du fait du nombre limité de patients dans cette dernière catégorie (n=16).

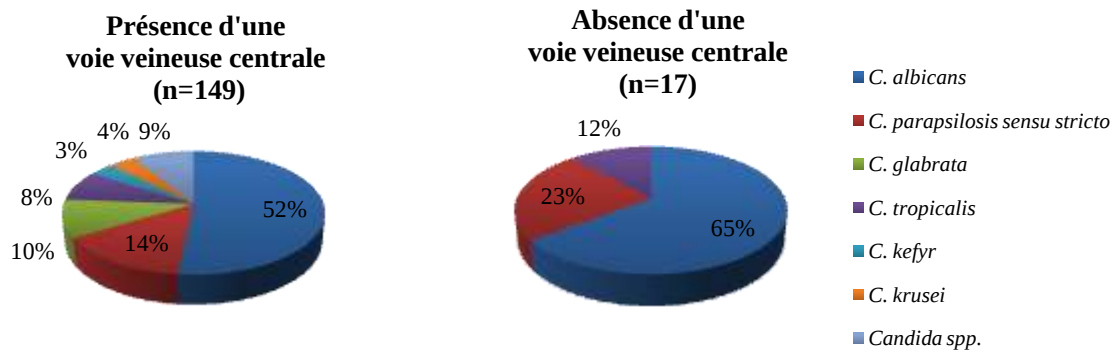


Figure 38 : Distribution des espèces chez les patients présentant (n = 149 isolats, 144 épisodes) et ne présentant pas (n = 17 isolats, 16 épisodes) une voie veineuse centrale

Au total, parmi les 149 patients présentant une voie veineuse centrale, 123 ont bénéficié d'une ablation de celle-ci et, pour seulement 113 d'entre eux (75,8%), le cathéter a été transmis au laboratoire pour analyse microbiologique. Pour 70 d'entre eux, la culture s'est révélée négative (61,9%). Ces résultats illustrent le faible rendement de la culture des cathéters en cas de candidémie et montre que le cathéter n'est probablement pas la porte d'entrée prépondérante à l'infection. Pour les 43 cathéters dont les cultures se sont avérées positives (38%), l'identification d'espèce n'a pu être réalisée que pour 33 d'entre eux, le cathéter ayant été adressé au laboratoire de bactériologie et la levure non transmise au laboratoire de mycologie pour identification. *Candida albicans* prédomine nettement (n=21, 63,6%) suivi de *C. parapsilosis* (n=8, 24,2%). Pour chaque patient, l'espèce identifiée au niveau du cathéter était la même que celle identifiée dans les hémocultures. Pour un patient, pour lequel deux espèces différentes étaient en cause (*C. albicans* et *C. parapsilosis*), seul *C. albicans* a été mis en évidence dans le cathéter.

4.4. Résultats de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques des *Candida* spp. isolés d'hémocultures

Au total, la détermination de la CMI vis-à-vis des antifongiques a été réalisée pour l'intégralité des isolats pour le fluconazole (n=193, 100%), pour 172 isolats vis-à-vis du voriconazole (89,2%), 146 vis-à-vis de la caspofungine (75,6%) et 181 pour l'amphotéricine B (93,8%).

4.4.1. Fluconazole et voriconazole

➤ Fluconazole (n=193)

Pour l'ensemble des souches on obtient une $\text{CMI}_{50} = 0,25 \mu\text{g/mL}$ et une $\text{CMI}_{90} = 8 \mu\text{g/mL}$. La figure 39 illustre les résultats des CMI en $\mu\text{g/mL}$ vis-à-vis du fluconazole pour les trois espèces principales : *C. albicans*, *C. parapsilosis* et *C. glabrata*.

- *C. albicans*

En tenant compte du précédent seuil de sensibilité du CLSI à $8 \mu\text{g/mL}$, 100% des souches de *C. albicans* auraient été classées sensibles. Avec les nouveaux seuils proposés par le CLSI (PFALLER *et al.* 2010a), 96% de ces isolats sont considérés comme sensibles et 4% comme de sensibilité diminuée vis-à-vis du fluconazole. Aucune souche n'apparaît résistante au fluconazole.

La CMI_{90} (concentration d'antifongique inhibant 90% des isolats) se situe à $1 \mu\text{g/mL}$, soit inférieure au seuil de sensibilité défini par le CLSI.

- *C. parapsilosis sensu stricto*

Pour *C. parapsilosis sensu stricto* le changement de seuil n'a pas d'incidence sur l'interprétation des CMI, 89% des isolats étant sensibles et trois isolats résistants. De ce fait, la CMI_{90} pour cette espèce apparaît élevée ($24 \mu\text{g/mL}$) alors que la CMI_{50} se situe à un niveau beaucoup plus faible à $0,25 \mu\text{g/mL}$.

- *C. glabrata*

Pour *C. glabrata*, on note des CMI plus élevées, cette espèce étant naturellement moins sensible au fluconazole. Ainsi on observe ici une CMI_{90} très élevée à $256 \mu\text{g/mL}$.

- *C. tropicalis*

Enfin, 100% des isolats de *C. tropicalis* sont sensibles *in vitro* à cet antifongique.

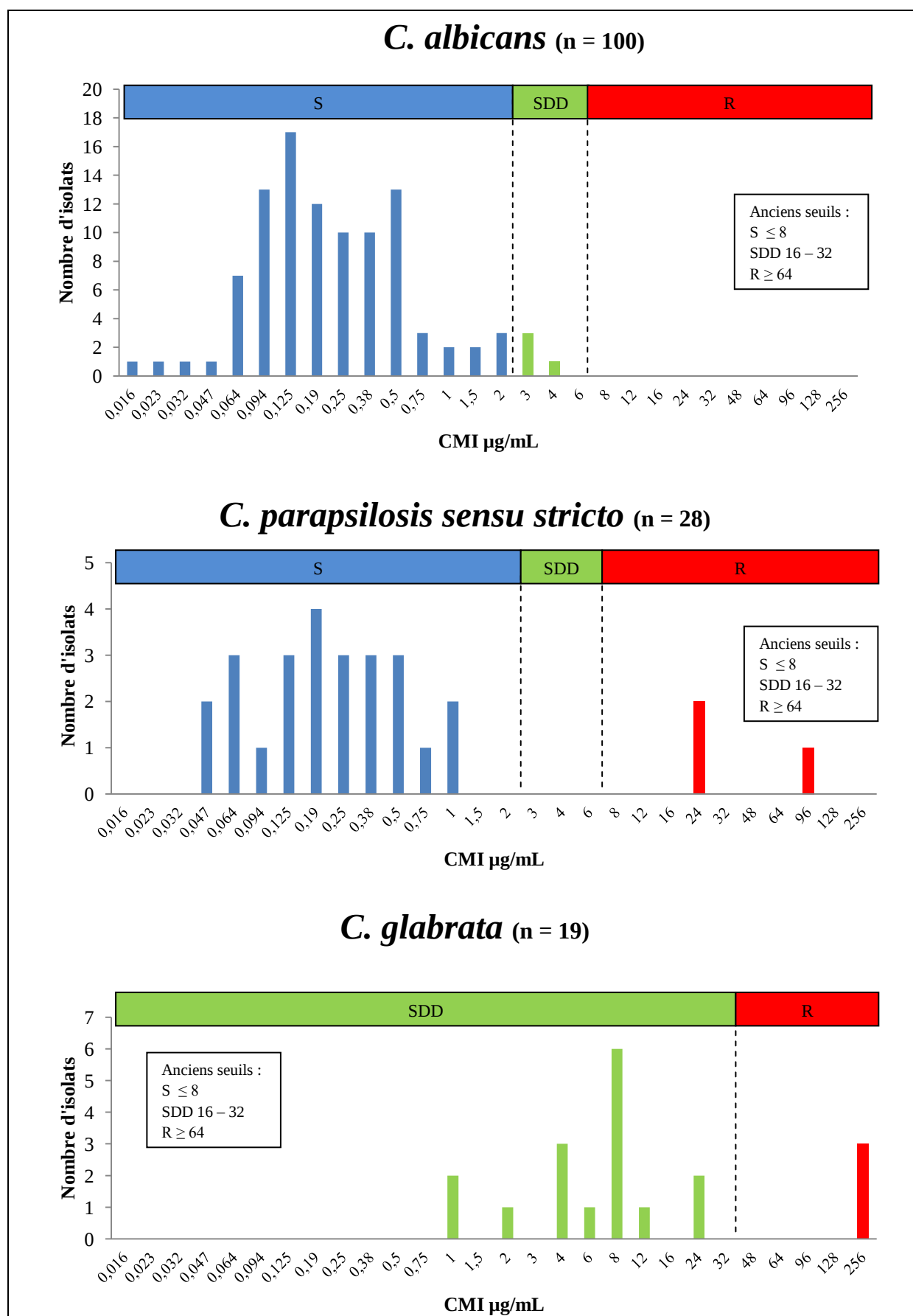


Figure 39 : Distribution des CMI (µg/mL) vis-à-vis du fluconazole pour *C. albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto* et *C. glabrata* (S = sensible, SDD = sensibilité dose-dépendante, R = résistant)

➤ Voriconazole

Pour les 172 souches analysées vis-à-vis du voriconazole on obtient une $\text{CMI}_{90} = 0,19 \mu\text{g/mL}$ et une $\text{CMI}_{50} = 0,016 \mu\text{g/mL}$ confirmant la forte activité *in vitro* du voriconazole sur les levures du genre *Candida*. La figure 40 illustre les résultats des CMI en $\mu\text{g/mL}$ vis-à-vis du voriconazole pour les trois espèces principales : *C. albicans*, *C. parapsilosis* et *C. glabrata*.

- *C. albicans*

Pour cette espèce, sur les 85 souches étudiées, un seul isolat (1,2%) peut être considéré comme de sensibilité diminuée (SDD). A noter qu'en utilisant les anciens seuils de sensibilité, cet isolat aurait été catégorisé comme sensible au voriconazole. Ces résultats illustrent la forte activité *in vitro* du voriconazole sur *C. albicans* comme le montre la CMI_{90} ($0,047 \mu\text{g/mL}$) et la CMI_{50} ($0,008 \mu\text{g/mL}$).

- *C. parapsilosis sensu stricto*

Concernant *C. parapsilosis*, deux souches sont considérées comme de sensibilité diminuée et une souche est considérée comme résistante vis-à-vis du voriconazole. Il est à noter que ces trois souches sont les mêmes que les trois souches considérées comme résistantes vis-à-vis du fluconazole, illustrant un profil de résistance croisée entre ces deux antifongiques qui devra être analysé dans une étude ultérieure. Toutefois nos résultats confirment, comme attendu, la forte activité *in vitro* du voriconazole vis-à-vis de *C. parapsilosis* comme en atteste les CMI_{90} ($0,25 \mu\text{g/mL}$) et CMI_{50} ($0,008 \mu\text{g/mL}$) relativement basses.

- *C. glabrata*

Malgré le nombre limité de souches testées vis-à-vis de cette antifongique ($n=17$), trois d'entre-elles se situent au-delà du seuil de $0,5 \mu\text{g/mL}$ seuil épidémiologique incluant au moins 95% des isolats dits « sauvages » (parfois appelé ECV, Epidemiological Cutoff Value). Il s'agit des trois mêmes souches présentant une CMI très élevée ($>256 \mu\text{g/mL}$) vis-à-vis du fluconazole illustrant là encore un profil de résistance croisée entre ces deux antifongiques azolés. D'une manière générale, nos résultats confirment la moindre sensibilité de *C. glabrata* au fluconazole mais également au voriconazole ($\text{CMI}_{90} = 8 \mu\text{g/mL}$, $\text{CMI}_{50} = 0,125 \mu\text{g/mL}$).

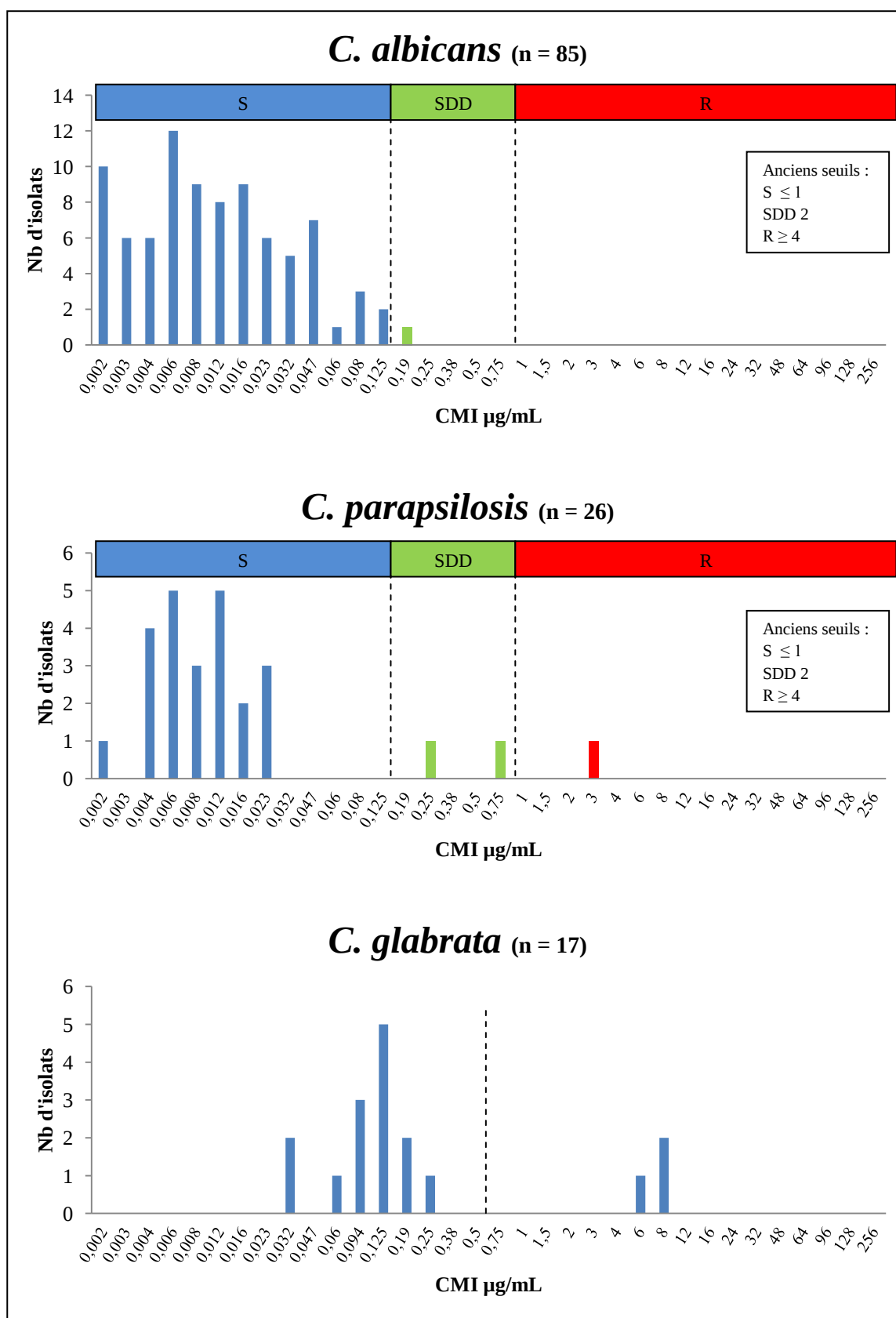


Figure 40 : Distribution des CMI (µg/mL) vis-à-vis du voriconazole pour *C. albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto* et *C. glabrata* (S = sensible, SDD = sensibilité dose-dépendante, R = résistant)

4.4.2. Caspofungine

Parmi les 193 isolats de l'étude, 146 ont été testés vis-à-vis de la caspofungine (75,6%). L'ensemble des isolats testés vis-à-vis de la caspofungine présentait une $\text{CMI}_{90} = 0,75 \mu\text{g/mL}$ et une $\text{CMI}_{50} = 0,094 \mu\text{g/mL}$. La figure 41 illustre la distribution des CMIs en $\mu\text{g/mL}$ vis-à-vis de la caspofungine pour les trois espèces principales : *C. albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto* et *C. glabrata*.

L'analyse des CMIs montre que l'ensemble des isolats de *C. albicans* et *C. parapsilosis sensu stricto* sont sensibles à la caspofungine, que ce soit avec les anciens ou les nouveaux seuils de sensibilité établis par le CLSI. Pour *C. albicans* on obtient une $\text{CMI}_{90} = 0,125 \mu\text{g/mL}$ et une $\text{CMI}_{50} = 0,064 \mu\text{g/mL}$, toutes les souches étant sensibles à cette antifongique.

Pour *C. parapsilosis* on obtient une $\text{CMI}_{90} = 1,5 \mu\text{g/mL}$ et une $\text{CMI}_{50} = 0,5 \mu\text{g/mL}$, résultats en accord avec la moindre sensibilité de cette espèce aux échinocandines due à un polymorphisme sur le gène *FKS1* et présent naturellement chez toutes souches de cette espèce. Comme pour *C. albicans*, nos résultats ne montrent pas d'isolat ayant acquis une résistance vis-à-vis de la caspofungine au cours de l'étude.

Pour *C. glabrata*, sur les 14 isolats testés, sept sont sensibles *in vitro*, six sont apparus de sensibilité diminuée. Une souche est apparue résistante vis-à-vis de la caspofungine ($\text{CMI} \geq 0,5 \mu\text{g/mL}$). A noter que la CMI de cet isolat a été confirmée de manière rétrospective dans le cadre de cette étude. Il est intéressant de souligner, qu'en considérant l'ancien seuil d'interprétation des CMIs, toutes les souches testées auraient été considérées comme sensibles vis-à-vis de la caspofungine, conduisant à une sous-estimation de la résistance aux échinocandines. Là encore, des travaux complémentaires devraient nous permettre de mettre en évidence les mécanismes intrinsèques expliquant la moindre sensibilité aux échinocandines de ces isolats. Au total, les CMI_{90} et CMI_{50} restent relativement basses ($0,25 \mu\text{g/mL}$ et $0,152 \mu\text{g/mL}$ respectivement).

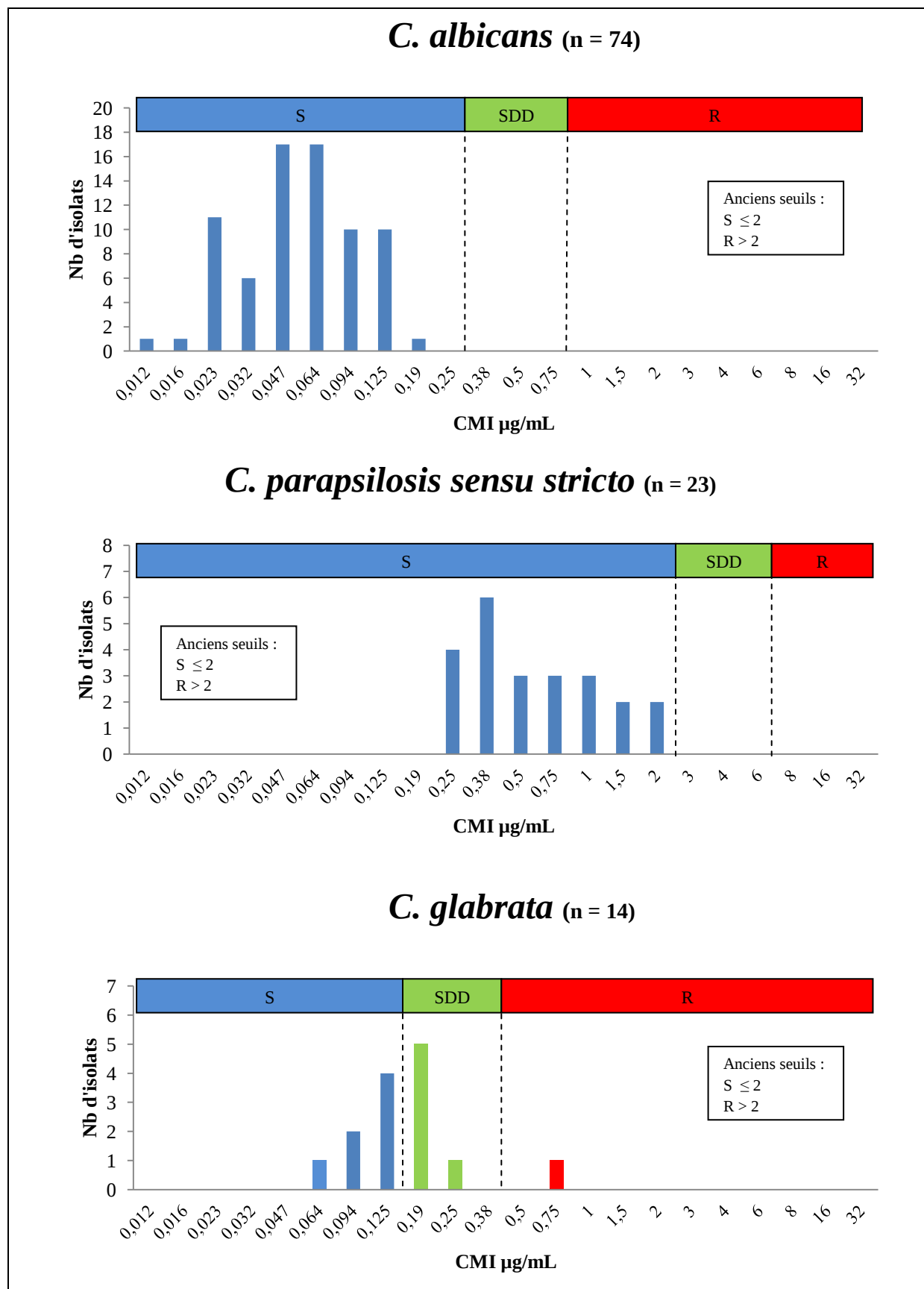


Figure 41 : Distribution des CMI (µg/mL) vis-à-vis de la caspofungine pour *C. albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto* et *C. glabrata* (S = sensible, SDD = sensibilité dose-dépendante, R = résistant)

4.4.3. Amphotéricine B

Parmi les 181 souches testées (93,4%), aucune n'a présenté de CMI élevée vis-à-vis de cet antifongique illustrant sa forte activité sur les levures du genre *Candida*. La figure 42 illustre la distribution des CMI vis-à-vis de l'amphotéricine B des 181 isolats testés au cours de l'étude.

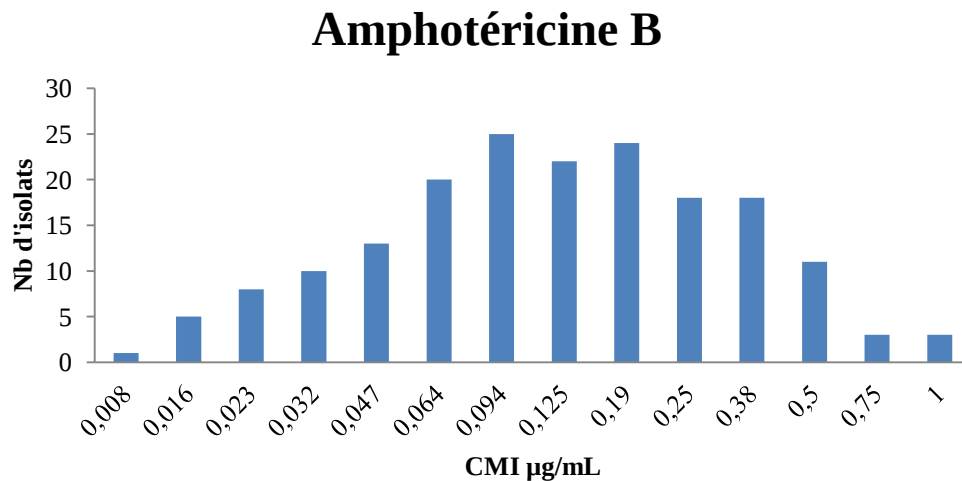


Figure 42 : Distribution des CMI (µg/mL) vis-à-vis de l'amphotéricine B des 181 isolats de *Candida* spp.

Pour l'amphotéricine B on obtient une $CMI_{90} = 0,38 \mu\text{g/mL}$ et une $CMI_{50} = 0,125 \mu\text{g/mL}$. Les souches présentant les CMI supérieures à la CMI_{90} sont essentiellement des *C. parapsilosis* et des *C. glabrata*.

5. Données cliniques et pronostic

5.1. Localisations secondaires

Pour chaque patient inclus dans l'étude, une éventuelle localisation viscérale de la candidémie a été recherchée à savoir :

- Cutanée
- Endocardite
- Ophtalmologique
- Hépatosplénique
- Ostéo-articulaire

- Neuro-méningée
- Œsophagienne
- Rénale
- Thrombophlébite septique

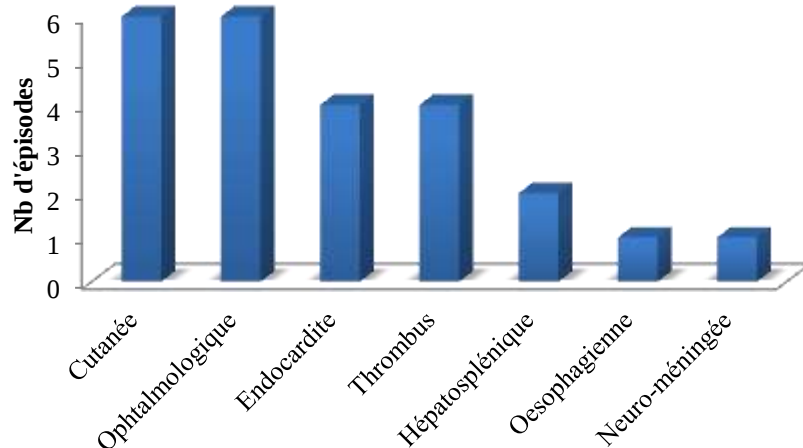


Figure 43 : Localisations secondaires des candidémies

Au total, 28 patients ont présenté une localisation viscérale secondaire. Comme illustré dans la figure 43, les localisations secondaires les plus fréquentes sont les localisations cutanées et ophtalmologiques. Sur la période de l'étude, deux patients ont présenté deux localisations viscérales distinctes.

Parmi les six patients ayant présenté une localisation ophtalmologique, il s'agissait pour quatre d'entre eux de rétinites et pour un d'une endophtalmie. Pour le dernier patient, le type d'atteinte ophtalmologique n'a pas été renseigné.

Parmi les patients présentant une localisation secondaire à la candidémie, on met en évidence une nette prédominance de *C. albicans*, suivi des quatre autres principales espèces (*C. parapsilosis*, *C. glabrata* et *C. tropicalis*). Aucune espèce rare n'a été à l'origine de candidémie avec localisation secondaire.

5.2. Candidémies au CHU : impact sur la mortalité

L'évolution clinique a été évaluée dans cette étude à 12 semaines après la mise en évidence de la première hémoculture positive à *Candida*.

➤ Mortalité globale à 12 semaines

Dans notre étude, comme le montre la figure 44, l'évolution a été favorable dans la majorité des cas, soit 117 épisodes (114 patients) parmi les 187 (183 patients) (63%). L'information n'a malheureusement pas pu être obtenue pour 15 d'entre eux (8%). En revanche, l'évolution à 12 semaines a été défavorable pour 55 patients et épisodes, soit dans 29% des cas, aboutissant au décès, attribuable ou non, à l'épisode de candidémie.

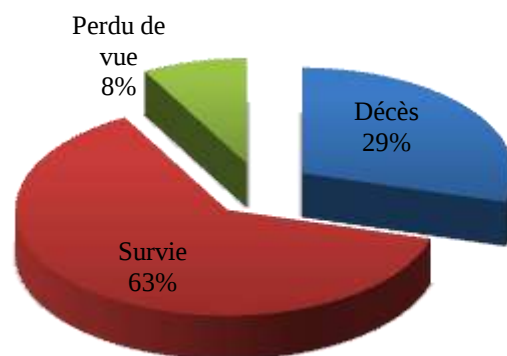


Figure 44 : Mortalité à 12 semaines après l'épisode de candidémie au CHU de Nantes (n = 187 épisodes, 183 patients)

Ce chiffre souligne la gravité de ces infections, puisque dans près d'un tiers des cas, l'évolution a été rapidement défavorable dans les 12 premières semaines suivant le diagnostic.

Du fait du faible nombre d'épisodes survenant chaque année, l'analyse de l'évolution du taux de mortalité à 12 semaines au cours du temps est difficile et varie de façon importante (tableau 33). Toutefois, les taux de décès les plus élevés semblent être observés au cours des premières années de l'étude, 2004 et 2006 notamment.

Tableau 33 : Devenir des patients à 12 semaines en fonction des années

Statut à 12 semaines	2004 (n = 23)	2005 (n = 18)	2006 (n = 24)	2007 (n = 29)	2008 (n = 33)	2009 (n = 34)	2010 (n = 24)
Survie	10 (43,5%)	11 (61,1%)	14 (58,3%)	19 (65,5%)	26 (78,8%)	20 (58,8%)	15 (62,5%)
Décès	12 (52,2%)	5 (27,8%)	10 (41,7%)	8 (27,6%)	3 (9,1%)	9 (26,5%)	8 (33,3%)
Perdu de vue	1 (4,3%)	2 (11,1%)	0 (0%)	2 (6,9%)	4 (12,1%)	5 (14,7%)	1 (4,2%)

➤ Mortalité en fonction de l'espèce de *Candida*

Le tableau 34, qui illustre la mortalité à 12 semaines en fonction de l'espèce identifiée, met clairement en évidence de réelles disparités entre les cinq principales espèces de *Candida*. Ainsi, *C. tropicalis* est associé à un moins bon pronostic avec plus de 47% des patients présentant une évolution défavorable à 12 semaines. A l'opposé, les patients présentant une candidémie à *C. parapsilosis* sont ceux pour lesquels le taux de survie est le plus important (75%). Résultat du faible nombre de patients présentant une candidémie à *C. krusei* (n=6), nous ne retrouvons pas les données récemment publiées mettant en évidence une mortalité plus importante quand cette espèce est impliquée.

Tableau 34 : Devenir des patients à 12 semaines en fonction des espèces

Statut à 12 semaines	Espèces de <i>Candida</i> n (%)						
	Total n=187	<i>C. albicans</i> n=100	<i>C. parapsilosis</i> n=28	<i>C. glabrata</i> n=19	<i>C. tropicalis</i> n=19	<i>C. krusei</i> n=6	Autres n=21
Vivant	117 (62,6%)	56 (56%)	21 (75%)	13 (68,4%)	9 (47,4%)	6 (100%)	15 (71,4%)
Décédé	55 (29,4%)	33 (33%)	5 (17,9%)	5 (26,3%)	9 (47,4%)	0 (0%)	5 (23,8%)
Perdu de vue	15 (8%)	11 (11%)	2 (7,1%)	1 (5,3%)	1 (5,2%)	0 (0%)	1 (4,8%)

Le taux de mortalité à 12 semaines de *C. albicans*, l'espèce majoritaire, reste dans la moyenne de la mortalité globale. Il est à noter qu'il s'agit pour chacune des espèces de petites cohortes.

6. Prise en charge thérapeutique

Plusieurs éléments de la prise en charge thérapeutique présentés ci-dessous ont été étudiés :

- Date de prélèvement de la première hémoculture positive à *Candida* spp.
- Date d'instauration du traitement.
- Nature de l'antifongique administré en première intention.
- Nature de l'antifongique administré en seconde intention suite à l'identification d'espèce.

6.1. Délai avant instauration du traitement antifongique

Parmi les 187 épisodes recensés, le délai avant mise en place d'un traitement antifongique a pu être estimé pour 114 d'entre eux (61%). Le délai moyen de mise en route d'un traitement antifongique est de deux jours après la date de prélèvement de la première hémoculture positive à *Candida*. Ce délai peut paraître long, mais il est pourtant inférieur au temps que

représente l'acheminement du flacon d'hémoculture au laboratoire, l'incubation et la transmission de la présence de levures au service, illustrant le fait que la prise en charge thérapeutique précède régulièrement le diagnostic.

La figure 45 illustre les taux de décès à 12 semaines en fonction du délai d'instauration du traitement antifongique après la date de prélèvement de la première hémoculture positive, répartis arbitrairement en trois catégories :

- moins de 24 heures
- entre 24 et 48 heures
- au-delà de 48 heures.

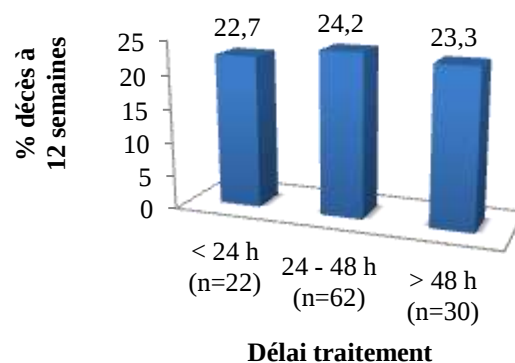


Figure 45 : Taux de décès à 12 semaines en fonction du délai de mise en route d'un traitement antifongique (n = 114 épisodes)

Il est intéressant de noter que, dans cette analyse, on n'observe aucune influence du délai d'instauration du traitement sur l'évolution clinique. Si on ne note pas ici de réelles différences entre les trois catégories, on peut tout de même observer que les taux de mortalité à 12 semaines sont inférieurs au taux de mortalité global de notre étude (29%). Ces résultats peuvent s'expliquer de différentes manières :

- certains patients n'ont pas bénéficié d'un traitement du fait d'un décès précoce.
- seulement 114 épisodes sur les 187 ont pu être étudiés ici.

6.2. Antifongique administré en première intention

Au total, sur les 187 épisodes de candidémie analysés, à l'exception de 16 épisodes (16 patients) du fait d'un décès précoce, tous ont fait l'objet d'un traitement antifongique. Pour huit épisodes, les informations concernant le traitement antifongique n'étaient pas disponibles.

La figure 46 illustre les différents antifongiques utilisés et leurs proportions relatives. Il apparaît globalement que sur la période d'étude, les deux antifongiques les plus utilisés sont le fluconazole et la caspofungine, en accord avec les recommandations nationales et internationales pour la prise en charge de ces infections. Seule une très faible proportion des patients a bénéficié d'une association d'antifongiques.

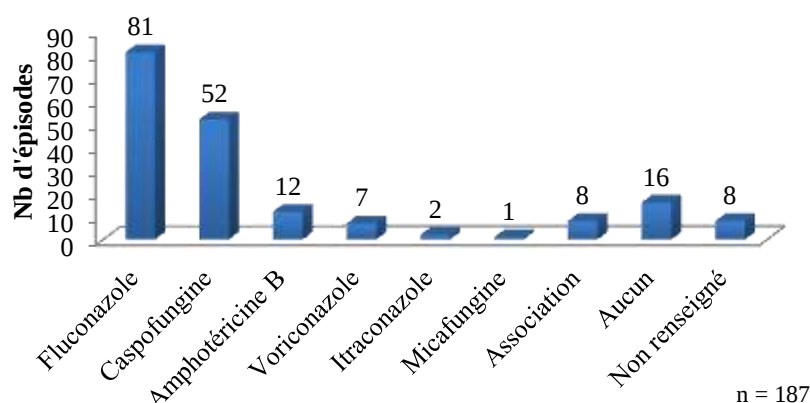


Figure 46 : Part des différents antifongiques dans la prise en charge des candidémies au CHU de Nantes, entre 2004 et 2010 (n = 187 épisodes)

L'analyse de la part de ces différents antifongiques, année par année, présentée dans la figure 47 révèle une évolution des pratiques thérapeutiques en faveur de la caspofungine au cours du temps.

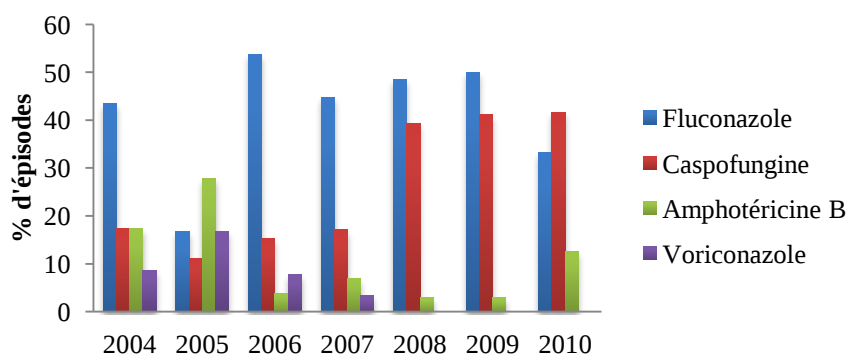


Figure 47 : Evolution des pratiques thérapeutiques au cours de candidémies au CHU de Nantes, 2004-2010

On peut observer que l'année 2005 fait figure d'exception, puisque ni le fluconazole, ni la caspofungine ne sont les traitements principalement utilisés au profit de l'amphotéricine B et du voriconazole.

L'évolution dans la prise en charge thérapeutique des candidémies est marquée par plusieurs faits importants :

- Le fluconazole reste l'un des traitements les plus utilisés.
- L'utilisation de la caspofungine est en progression constante depuis 2005 et constitue en 2010 le traitement le plus souvent instauré en première intention.
- La part des autres antifongiques (voriconazole et amphotéricine B) dans la stratégie de prise en charge des candidémies reste faible.

6.3. Stratégie antifongique en fonction de l'espèce de *Candida*

La figure 48 détaille les traitements de première et deuxième intention après identification de l'espèce pour *C. albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto* et *C. glabrata* concernant le fluconazole et la caspofungine. Cette analyse nous est apparue pertinente du fait des sensibilités différentes aux antifongiques des différentes espèces de *Candida* :

- *C. parapsilosis* de sensibilité diminuée aux échinocandines
- *C. krusei* intrinsèquement résistant au fluconazole
- *C. glabrata* intrinsèquement résistant au fluconazole.

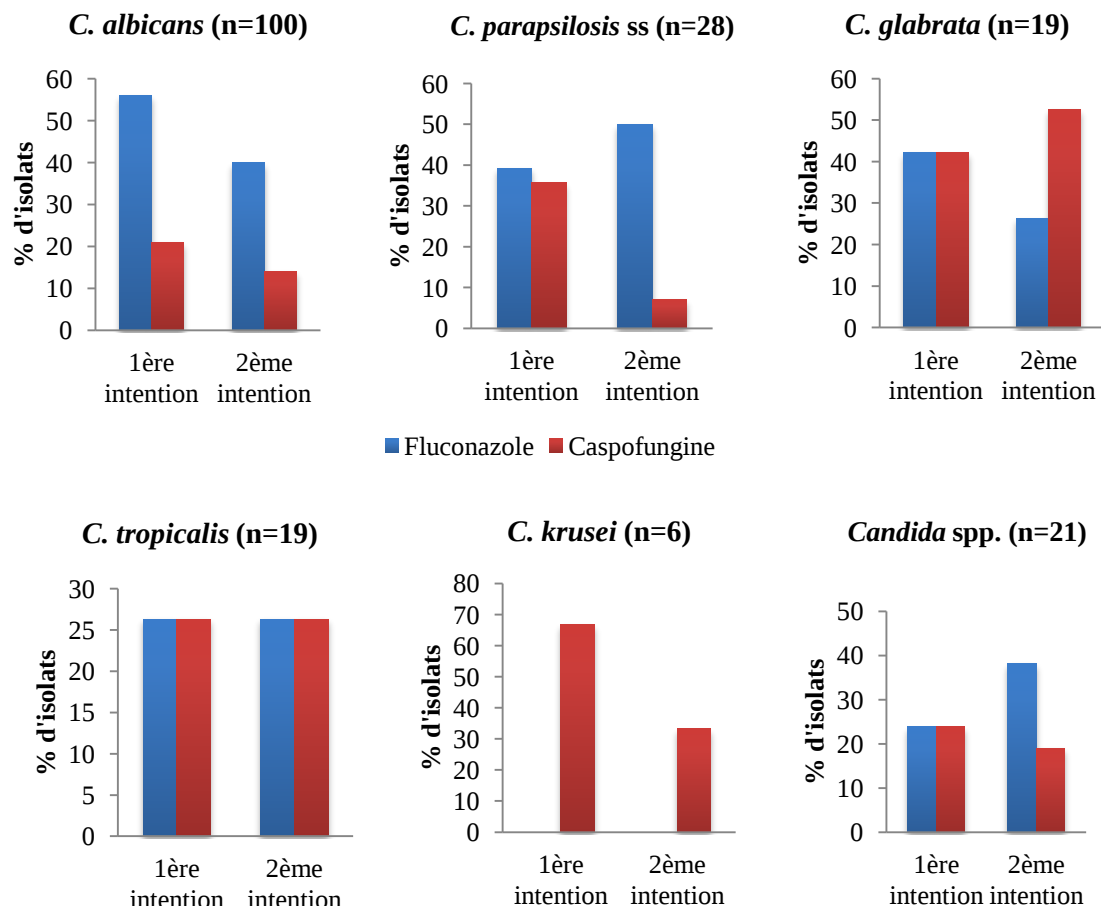


Figure 48 : Distribution du fluconazole et de la caspofungine en première et deuxième intention en fonction de l'espèce

Nos résultats illustrent qu'une fois l'identification obtenue (J2-J3), le fluconazole reste le traitement majoritairement utilisé en cas de candidémie à *C. albicans*, comme recommandé dans les conférences de consensus des sociétés savantes, du fait de la forte sensibilité vis-à-vis du fluconazole de cette espèce.

En revanche, il est fréquemment remplacé par la caspofungine en cas de candidémie à *C. glabrata* en accord avec la moindre sensibilité de cette espèce au fluconazole. Concernant *C. parapsilosis sensu stricto*, la caspofungine n'est quasiment plus utilisée une fois l'identification obtenue et remplacée par le fluconazole comme attendu.

En résumé :

- Le fluconazole est le traitement principal instauré en première intention.
- En cas d'isolement de *C. parapsilosis*, la caspofungine est quasiment toujours abandonnée au profit d'un azolé et notamment le fluconazole.
- En cas d'isolement de *C. glabrata* ou de *C. krusei*, la caspofungine est le traitement de choix.

6.4. Retrait des voies veineuses centrales

Parmi les 144 épisodes concernés par la présence d'un cathéter central ou d'une chambre implantable, 123 ont subi une ablation de cette voie veineuse centrale (85,4%). Pour 17 épisodes la voie veineuse centrale a été maintenue et cette information n'était pas disponible pour quatre épisodes.

Ainsi, sur les 123 ablations, 43 présentaient une culture mycologique positive à levure, ce qui représente 35% des ablations, 70 ont présenté une culture négative. Pour 10 épisodes ayant subi une ablation, l'information concernant la culture mycologique n'était pas disponible.

Si on compare les taux de mortalité à 12 semaines entre les patients qui ont bénéficié d'une ablation de leur voie veineuse centrale avec ceux n'en ayant pas bénéficié, on met en évidence une réelle différence entre les deux groupes en faveur de l'ablation de cette dernière, le fait d'ôter la voie veineuse centrale étant associée à une meilleure évolution clinique (tableau 35).

Tableau 35 : Devenir à 12 semaines des patients en fonction de l'ablation ou non de leur voie veineuse centrale (n=140)

Devenir à 12 semaines	Voie veineuse centrale	
	Ablation, n=123	Pas d'ablation, n=17
Vivant	89 (72,3%)	6 (35,3%)
Décédé	27 (22%)	8 (47,1%)
Perdu de vue	7 (5,7%)	3 (17,6%)

7. Synthèse des résultats

Le tableau 36 résume les principales caractéristiques des épisodes de candidémie analysés dans l'étude, ainsi que celles concernant les candidémies à *C. albicans*, *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. glabrata* et *C. tropicalis*.

Tableau 36 : Principales caractéristiques des 187 épisodes de candidémie, des 100 épisodes à *C. albicans*, des 28 épisodes à *C. parapsilosis sensu stricto*, des 19 épisodes à *C. glabrata* et des 19 épisodes à *C. tropicalis*

Caractéristiques	Candida spp.				
	Total (n=187)	<i>C. albicans</i> (n=100)	<i>C. parapsilosis</i> <i>sensu stricto</i> (n=28)	<i>C. glabrata</i> (n=19)	<i>C. tropicalis</i> (n=19)
Age moyen (années)	53,4 (12j-93,9)	56,9 (16j-93,9)	39,3 (18j-81,1)	56,9 (79j-88,7)	55,2 (14-85,3)
Sex ratio H/F	1,5	1,7	1,5	1,1	0,58
Services d'hospitalisation					
Hématologie	36 (19,2%)	4 (4%)	4 (14,3%)	4 (21%)	10 (52,6%)
Réanimations	52 (27,8%)	38 (38%)	5 (17,8%)	4 (21%)	1 (5,3%)
Facteurs de risque					
Voie veineuse centrale	144 (77%)	76 (76%)	22 (78,5%)	15 (78,9%)	12 (63,2%)
ATB < 14j	140 (74,8%)	76 (76%)	19 (67,8%)	14 (73,7%)	15 (78,9%)
Hémopathie	47 (25,1%)	7 (7%)	7 (25%)	6 (31,6%)	12 (63,2%)
Chirurgie	47 (25,1%)	34 (34%)	4 (14,3%)	3 (15,8%)	2 (10,5%)
Cancer	45 (24%)	32 (32%)	5 (17,8%)	4 (21%)	4 (21%)
Tranches d'âge :					
< 15 ans	19 (10,2%)	7 (7%)	9 (32,1%)	1 (5,3%)	1 (5,3%)
> 15 ans	168 (89,8%)	93 (93%)	19 (67,9%)	18 (94,7%)	18 (94,7%)
Evolution clinique à 12 semaines					
Survie	117 (62,6%)	56 (56%)	21 (75%)	13 (68,4%)	9 (47,4%)
Décès	55 (29,4%)	33 (33%)	5 (17,9%)	5 (26,3%)	9 (47,4%)
Perdue de vue	15 (8%)	11 (11%)	2 (7,1)	1 (5,3%)	1 (5,2%)

ATB = antibiothérapie

Les résultats de cette analyse montrent que :

- Les candidémies sont des infections affectant plutôt l'homme d'âge mûr. Chez les sujets de moins de 15 ans, *C. parapsilosis* est l'espèce la plus fréquente.
- Les services concernés en premier lieu sont les services d'hématologie clinique et de réanimation.
- Les facteurs de risque les plus souvent mis en évidence, de façon ubiquitaire quelle que soit l'espèce de *Candida* en cause, sont la présence d'une voie veineuse centrale et un traitement antibiotique dans les jours précédant la survenue de la candidémie.
- Les états pathologiques sous-jacents suivants sont fréquemment retrouvés :
 - Une hémopathie maligne, en particulier quand l'espèce identifiée est *C. tropicalis*.
 - Une chirurgie récente, en particulier quand l'espèce identifiée est *C. albicans*, probablement expliqué par le fait qu'il s'agit fréquemment de chirurgie abdominale.
 - Un antécédent de cancer.
- Il s'agit d'une complication grave, mettant en jeu le pronostic vital puisque près d'un tiers des patients sont décédés dans les 12 semaines suivant le diagnostic, particulièrement quand *C. tropicalis* est en cause, *C. parapsilosis* présentant le taux de mortalité à 12 semaines le plus faible.

DISCUSSION

Cette étude avait pour objectif de faire un état des lieux de l'épidémiologie des candidémies au CHU de Nantes ainsi que l'évolution de celle-ci au cours du temps. Il s'agissait d'une étude monocentrique rétrospective concernant l'ensemble des services des différents sites du CHU de Nantes.

1. Méthodologie de l'étude

Le fait que cette étude ait été réalisée dans un seul centre hospitalier en fait l'un des points forts de l'analyse. En effet, de nombreuses études sur les candidoses invasives et sur les candidémies sont multicentriques, conduites de manière nationale voire internationale. Hors, il a été remarqué à plusieurs reprises que l'épidémiologie des *Candida* pouvait être différente d'un centre à un autre, rendant les données issues des études multicentriques peu utilisables car imparfaitement superposables à l'épidémiologie locale d'un centre hospitalier.

L'autre intérêt d'une étude monocentrique réside aussi dans le fait que toutes les souches isolées au cours de candidémies ont été analysées de manière uniforme, selon une procédure élaborée par un seul laboratoire. Par contre, du fait du caractère monocentrique, le nombre d'épisodes est significativement réduit, rendant nécessaire la réalisation d'une étude sur une plus longue période pour pallier à cet inconvénient. Ainsi, dans le cadre de cette étude, l'analyse rétrospective de près de sept années, de 2004 à 2010, a permis de collecter les informations cliniques et biologiques concernant 187 épisodes de candidémie survenus chez 184 patients.

Un autre point fort de cette étude, d'ailleurs valable pour toutes les études s'intéressant aux candidémies, est que la définition d'un épisode de candidémie est bien codifiée : il s'agit de la présence d'au moins une hémoculture positive à *Candida*. Il n'y a donc pas de biais de sélection parmi les patients inclus dans l'étude. De plus ces épisodes ne concernent qu'un seul type de prélèvement, l'hémoculture dont la prise en charge est elle-même bien codifiée.

L'étude a été menée de manière rétrospective, ce qui présente quelques avantages :

- Cela a permis d'inclure un nombre relativement important d'épisodes de candidémie. Il a été ainsi possible d'inclure des isolats de candidémies depuis 2004 et de suivre l'évolution de celles-ci sur une période de sept années.

- La conservation des souches de *Candida* issues d'hémocultures depuis 2004 a rendu possibles certaines analyses complémentaires comme l'identification précise d'espèce par biologie moléculaire ou la vérification de CMI (réalisable également lors d'études prospectives).

Par contre, cette approche rétrospective présente un certain nombre de limites :

- Les données recherchées n'étaient pas toujours disponibles dans les dossiers des patients aussi bien informatisés que papier.
- Un nombre important de dossiers étaient susceptibles d'être consultés, il a donc fallu cibler les informations à rechercher et notamment choisir les plus fiables à mettre en évidence afin d'assurer une analyse correcte de celles-ci.
- Les données recueillies comportent obligatoirement des imprécisions dues à la consultation rétrospective de dossiers parfois importants en termes de volume.
- Toutes les données biologiques n'ont pas pu être vérifiées, et notamment l'identification mycologique des espèces par biologie moléculaire. Seule une partie d'entre elles, sélectionnées de manière pertinente, a été vérifiée par biologie moléculaire.

La fiche de recueil des données utilisée pour cette étude était destinée à un recueil prospectif des informations et non à son utilisation de manière rétrospective. En effet, de nombreuses données sont difficiles à recueillir de manière rétrospective, et concernent notamment les facteurs de risque tels que la présence d'une pression artérielle sanglante, la présence d'une nutrition parentérale ou bien encore la présence d'un sondage urinaire voire parfois des renseignements précis concernant les différents traitements suivis par les patients (immunosuppresseurs, corticothérapie, chimiothérapie, etc...). D'autres facteurs de risque n'ont pas été analysés dans le cadre de cette étude dont la présence d'une ventilation mécanique.

La principale difficulté rencontrée dans cette étude a été finalement d'établir une chronologie exacte entre la date de prélèvement de la première hémoculture positive à *Candida* et la date de mise en route d'un traitement antifongique et d'ablation des cathéters centraux si présents.

2. Données épidémiologiques

2.1. Démographie des patients

On retrouve dans notre étude une nette prédominance de patients de sexe masculin (110 patients sur les 184, 59,8%). L'explication la plus probable est que la population masculine soit plus représentée parmi les patients présentant les facteurs de risque principaux de candidémie (hémopathies malignes, séjours en réanimation, etc...). Cette prédominance de patients masculins est retrouvée dans la plupart des études sur les candidémies, bien qu'elle soit plus ou moins prononcée (BASSETTI *et al.* 2011; HORN *et al.* 2009; LORTHOLARY *et al.* 2010).

Si les 184 patients inclus dans l'étude présentent des âges compris entre 12 jours et 94 ans environ, les patients de moins de 15 ans ne représentent que 21 d'entre eux (11,4%), rendant difficile l'analyse dans cette population pédiatrique du fait de son faible effectif. Pour étudier l'épidémiologie des candidémies au sein de la population pédiatrique, une étude monocentrique mais sur une durée plus longue, voire multicentrique, apparaît nécessaire pour obtenir un nombre significatif d'épisodes. L'étude faisant l'objet de ce travail s'est donc plus spécifiquement intéressée aux candidémies survenues dans la population adulte.

De façon attendue, comme illustré dans de nombreuses études, les services les plus touchés par ces épisodes de candidémie dans notre centre hospitalier sont les services de réanimation et d'hématologie clinique, services accueillant les patients les plus à risques (ARENDRUP 2010; BASSETTI *et al.* 2011; EGGIMANN *et al.* 2003; GUERY *et al.* 2009a; HORN *et al.* 2009; LORTHOLARY *et al.* 2010; TORTORANO *et al.* 2006).

2.2. Incidence des candidémies au CHU de Nantes

L'incidence globale calculée dans notre étude (0,37‰ hospitalisations) reste dans la moyenne des incidences calculées dans les études précédentes, notamment en France, ou dans les autres pays européens (ARENDRUP 2010; TORTORANO *et al.* 2006), mais également dans les études américaines (EGGIMANN *et al.* 2003; MARTIN *et al.* 2003; ZAOUTIS *et al.* 2005).

Il en est de même pour l'incidence concernant les services de réanimation, quasiment identique à celles déjà rapportées dans d'autres études notamment en France (TORTORANO *et al.* 2006). Cependant il existe une autre étude française montrant une incidence dans les services de soins intensifs bien plus élevée que la nôtre (BOUGNOUX *et al.* 2008).

Finalement, il est intéressant de noter qu'il existe assez peu de données concernant l'incidence des épisodes de candidémie dans les services d'hématologie clinique. Néanmoins la forte incidence retrouvée dans ce type de service au cours de notre étude (6,65‰ hospitalisations) est en accord avec le fait que les hémopathies malignes sont bien un des facteurs de risque principaux de développer une candidémie (PAGANO *et al.* 2006).

2.3. Population à risque et facteurs favorisant

Pour mettre en évidence les différents facteurs de risque, nous nous sommes basés sur ceux déjà retrouvés dans les études précédentes. En effet, comme il existe de nombreuses études à ce sujet, les facteurs de risque les plus souvent mis en évidence sont maintenant bien identifiés.

Ainsi les deux facteurs de risque principaux retrouvés dans notre étude de façon prépondérante sont, d'une part, la présence d'une voie veineuse centrale et, d'autre part, l'existence d'une antibiothérapie à large spectre récente, deux facteurs de risque principalement retrouvés dans d'autres études (GAREY *et al.* 2006; GUERY *et al.* 2009a; HORN *et al.* 2009; LORTHOLARY *et al.* 2010; MANDARD and BESNARD 1996; MARTIN *et al.* 2005; TALARMIN *et al.* 2009; TORTORANO *et al.* 2006).

Si notre étude ne met pas en évidence de « nouveaux » facteurs de risque par rapport aux autres études de la littérature, certains d'entre eux ne sont pas retrouvés de manière aussi prépondérante. C'est le cas notamment de l'existence d'un acte chirurgical récent précédant l'épisode de candidémie. Ainsi dans l'étude européenne de l'ECMM, conduite dans sept pays, une chirurgie récente a été retrouvée dans près de la moitié des cas de candidémie (TORTORANO *et al.* 2006). A l'opposé, dans notre étude, celle-ci n'est mise en évidence que dans un quart des épisodes.

A contrario, notre étude montre une proportion assez importante de patients atteints d'hémopathie maligne, atteignant un quart des cas, en accord avec une autre étude française, alors que ce facteur reste beaucoup moins marqué dans les autres études et notamment les études américaines et européennes incluant un plus grand nombre de patients (HORN *et al.* 2009; MARTIN *et al.* 2005; TORTORANO *et al.* 2006).

D'autres facteurs de risque sont retrouvés avec des fréquences similaires dans l'étude présentée dans ce manuscrit et dans la littérature. Il s'agit de la transplantation d'organes solides, du cancer, du diabète ou bien encore de l'existence de brûlures étendues. Ce dernier facteur n'est retrouvé que dans de très faibles proportions en accord avec les données de la littérature (HA *et al.* 2011; HORN *et al.* 2009; TORTORANO *et al.* 2006).

Comme expliqué précédemment, au cours de l'étude, quelques difficultés ont été rencontrées au niveau du recueil de certaines données, rendant peu fiable leur analyse par la suite. L'existence d'une pression artérielle sanglante, d'une hémodialyse, d'une nutrition parentérale, d'un sondage urinaire ou bien encore l'existence de certains traitements (corticoïdes ou immunosuppresseurs) sont des données complexes à mettre en évidence de manière fiable, ils n'ont donc pas été retenus pour l'analyse finale des données au risque d'introduire un biais d'analyse. De la même manière, d'autres données étaient plus délicates à obtenir comme le statut sérologique des patients vis-à-vis du VIH. En effet, cette donnée n'apparaît pas dans le dossier informatique des patients, seuls les antécédents rapportés dans les différents courriers et observations peuvent éventuellement le mentionner. Il est à noter qu'il n'a été retrouvé ce facteur de risque pour aucun des patients inclus dans l'étude. L'analyse des données de la littérature montre qu'il s'agit d'un facteur de risque peu important (HORN *et al.* 2009; ORTEGA *et al.* 2011; TORTORANO *et al.* 2006).

2.4. Aspects mycologiques

2.4.1. Distribution des espèces

Un des points forts de cette étude concerne la distribution des espèces impliquées, la plus exacte possible du fait de l'identification par biologie moléculaire de tous les isolats dont l'identification peut être difficile ou erronée par les méthodes phénotypiques : espèces du complexe *C. parapsilosis* et *C. glabrata*, ou autres espèces rares. Au total l'identification de

31 souches sur les 193 (16,1%) a été vérifiée par biologie moléculaire. L'utilisation de l'identification moléculaire a permis de rectifier l'identification de deux isolats, l'un comme *C. metapsilosis* et identifié initialement comme *C. parapsilosis* et le second comme *C. guilliermondii* et identifié initialement comme *C. famata*. L'isolement d'une souche de *C. metapsilosis* est d'ailleurs assez exceptionnel compte tenu de sa fréquence relativement faible en pathologie humaine (CANTON *et al.* 2011; CORNET *et al.* 2011; LOCKHART *et al.* 2008; THIERRY *et al.* 2011).

Il faut également noter que le test Bichro-dubli[®] (Fumouze diagnostics), permettant la distinction des deux espèces *C. albicans* et *C. dubliniensis*, n'est pas utilisé en routine au laboratoire de mycologie du CHU de Nantes. De ce fait, il existe donc probablement une sous-estimation de la proportion de *C. dubliniensis* dans notre étude.

En accord avec toutes les données de la littérature, *C. albicans* est l'espèce majoritairement isolée au cours de candidémies. Celui-ci représente sur la période d'étude plus de 50% des isolats au CHU de Nantes, comme dans la plupart des études européennes, à l'exception de quelques études conduites en Espagne (ARENDRUP 2010; BOUZA and MUNOZ 2008; LORTHOLARY *et al.* 2010; ORTEGA *et al.* 2011; TORTORANO *et al.* 2006). Par contre, si l'on compare ces données avec les études américaines ou même françaises publiées ces dernières années, on peut constater que dans notre centre hospitalier, la prévalence de *C. glabrata* et *C. krusei* reste stable au cours du temps et que la proportion des non-*albicans* ne dépasse pas 50% des isolats (HORN *et al.* 2009; MARTIN *et al.* 2005).

On note quelques différences au sein des cinq espèces majoritairement isolées au cours de cette étude par rapport aux données de la littérature. Outre que *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* et *C. tropicalis* fassent partie de ces cinq espèces les plus fréquentes comme dans toutes les études de la littérature publiées à ce jour, nous pouvons observer que *C. kefyr*, malgré un nombre d'isolats modeste, occupe la cinquième place dans notre étude, au détriment de *C. krusei* qui se trouve relégué à la sixième place, donnée qui n'est pas vraiment retrouvée dans la littérature (HORN *et al.* 2009; PFALLER and DIEKEMA 2007; TORTORANO *et al.* 2006), mais déjà observée dans l'étude EPICANDI (LACROIX *et al.* 2011). Une autre différence notable réside dans le fait que *C. parapsilosis* est la deuxième espèce de *Candida* isolée au cours de candidémies survenues au CHU de Nantes. Dans bon nombre d'études multicentriques, cette deuxième place est habituellement occupée par *C. glabrata* (GAREY *et*

al. 2006; GUERY *et al.* 2009a; HORN *et al.* 2009; KLOTZ *et al.* 2007; LORTHOLARY *et al.* 2010; PFALLER and DIEKEMA 2007; TORTORANO *et al.* 2006). Par contre, dans d'autres études monocentriques notamment en Espagne, *C. parapsilosis* reste la seconde espèce de *Candida* isolée en termes de fréquence (BOUZA and MUNOZ 2008; ORTEGA *et al.* 2011).

Malgré ces différences plus ou moins marquées avec les données de la littérature, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. krusei* représentent plus de 90% des isollements au cours des candidémies. Excepté *C. krusei*, les autres espèces isolées dans l'étude ne représentent qu'une, deux, trois ou quatre souches au plus. Au total, 13 espèces différentes de *Candida* spp. ont pu être identifiées au cours de cette étude. Même s'il existe plus de 40 espèces différentes connues pour être pathogènes, ce chiffre reste relativement important rapporté au nombre d'inclusions (JOHNSON 2009).

2.4.2. Facteurs influençant la distribution des espèces

Le fait d'observer une proportion de *C. tropicalis* plus importante parmi les patients hospitalisés dans un service d'hématologie clinique ou atteints d'une hémopathie maligne était une donnée déjà mise en évidence dans la plupart des études nord-américaines, européennes ou même françaises, même si aucune explication convaincante n'a été avancée à ce jour (HORN *et al.* 2009; PFALLER and DIEKEMA 2007; SENDID *et al.* 2006; SIPSAS *et al.* 2009; VIGOUROUX *et al.* 2006).

En accord également avec les données issues de la littérature, *C. parapsilosis* présente une prévalence beaucoup plus élevée, étant même l'espèce majoritairement isolée, parmi les patients de moins de 15 ans. En effet, il avait déjà été remarqué que *C. parapsilosis* était plus fréquemment retrouvé lors d'infections chez les enfants et nouveau-nés (PFALLER and DIEKEMA 2007; TORTORANO *et al.* 2004).

Contrairement à certaines données de la littérature, la présence d'une voie veineuse centrale n'est pas liée au CHU de Nantes à une plus forte proportion d'isolement de *C. parapsilosis*. En effet, celui-ci étant fréquemment impliqué dans la formation du biofilm, il a été isolé avec des proportions plus importantes au cours de candidoses invasives chez les patients avec une

voie veineuse centrale ou une nutrition parentérale (ARENDRUP 2010; PFALLER and DIEKEMA 2007).

2.4.3. Sensibilité *in vitro* aux antifongiques

Dans notre étude nous n'avons mis en évidence que très peu de souches résistantes ou de sensibilité diminuée vis-à-vis des principaux antifongiques, le fluconazole, le voriconazole et la caspofungine. La majorité des souches présentant des CMI élevées au fluconazole ont été observées pour des isolats de *C. glabrata* et *C. krusei*, deux espèces présentant naturellement une moindre sensibilité au fluconazole voire une résistance dans le cas de *C. krusei*. En ce qui concerne *C. albicans* seules quatre souches parmi les 100 testées vis-à-vis du fluconazole sont de sensibilité diminuée (SDD) vis-à-vis de ce dernier (4%). A noter que pour ces isolats, le voriconazole maintenait une bonne activité. Des travaux complémentaires pourraient être conduits pour confirmer la résistance *in vivo* et déterminer les mécanismes moléculaires concourant à la moindre sensibilité de ces isolats au fluconazole.

Fait important et rassurant du fait de l'usage croissant tout au long de notre étude de cet antifongique, aucun isolat de *C. albicans* n'a été retrouvé résistant *in vitro* vis-à-vis de la caspofungine. Le fait que l'espèce *C. albicans* reste très sensible au cours du temps vis-à-vis des différents antifongiques est une donnée déjà établie dans la littérature (PFALLER *et al.* 2008; PFALLER *et al.* 2010c). Cependant il a déjà été décrit dans d'autres études plusieurs cas d'émergence de résistance à la caspofungine (BLANCHARD *et al.* 2011).

Comme dans la littérature, nous avons montré ici que la caspofungine reste très efficace sur la plupart des *Candida* spp. La grande majorité des souches présentant des CMI élevées à la caspofungine étaient des isolats appartenant aux espèces *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* et *C. guilliermondii*, espèces présentant naturellement une moindre sensibilité aux échinocandines *in vitro* du fait d'une mutation sur le gène *FKS1*.

Il n'a pas été possible dans l'étude présentée dans ce manuscrit de suivre réellement l'évolution des profils de sensibilité aux antifongiques au cours du temps. En effet, le faible nombre d'effectifs par année, combiné au fait que certains antifongiques comme la caspofungine n'ont pas été testés sur tous les isolats au moment du diagnostic rend difficile cette analyse. On peut tout de même constater à l'observation des données recueillies que les

levures du genre *Candida* restent très sensibles vis-à-vis des différents antifongiques, à l'exception des espèces présentant naturellement une moindre sensibilité.

2.5. Aspects cliniques

Il existe peu d'études rapportant la fréquence des localisations secondaires consécutives à un épisode de candidémie. De fait, nous n'en mettons en évidence que très peu dans notre étude (28 patients). La majorité d'entre elles sont des localisations cutanées et ophtalmologiques. Parmi les six patients ayant présenté une atteinte ophtalmologique, il s'agissait pour la plupart de chorioretinites, comme dans la littérature (OUDE LASHOF *et al.* 2011).

L'étude présentée ici rapporte un taux de décès à 12 semaines dans la moyenne basse de ceux rapportés dans d'autres études (ARENDRUP 2010; BASSETTI *et al.* 2011; HORN *et al.* 2009; ORTEGA *et al.* 2011; TORTORANO *et al.* 2006; ZAOUTIS *et al.* 2005). Comme mentionné précédemment, calculer la mortalité attribuable à l'épisode de candidémie est difficile, les patients inclus dans l'étude présentant de nombreux facteurs de risque (FALAGAS *et al.* 2006). Grâce à un faible nombre de patients perdus de vue dans notre étude, nous avons une idée assez précise du devenir des patients à 12 semaines au CHU de Nantes après la survenue d'une candidémie. En réalité les taux de mortalité sont assez difficiles à comparer entre les études, celles-ci analysant les candidémies parfois dans des populations particulières telles que les patients des services de soins intensifs ou d'hématologie. Ceux-ci peuvent donc présenter des taux de décès plus importants que ceux présentés ici (BASSETTI *et al.* 2011; FALAGAS *et al.* 2006; KLOTZ *et al.* 2007; PICAZO *et al.* 2008).

Les taux de mortalité observés au CHU de Nantes en fonction des espèces de *Candida* isolées d'hémocultures sont en accord avec des données récentes, à savoir que *C. tropicalis* présente un taux de mortalité parmi les plus élevés alors que *C. parapsilosis* semble plutôt associé à une évolution plus souvent favorable (HORN *et al.* 2009). On peut également noter dans notre étude que les six patients atteints d'une candidémie à *C. krusei* ont survécu au-delà de 12 semaines, en désaccord, mais probablement dû à ce faible effectif, avec les données de la littérature qui montrent que les épisodes à *C. krusei* présentent un pronostic plus sombre par rapport aux autres espèces (ORTEGA *et al.* 2011; TORTORANO *et al.* 2006).

3. Prise en charge thérapeutique

Il est intéressant de souligner que nous n'observons pas dans notre étude de différence entre les taux de mortalité calculés selon le délai d'instauration du traitement, 22,7% pour un traitement instauré dans les 24 heures suivant le prélèvement de la première hémoculture positive, 24,2% pour un délai entre 24 et 48 heures et 23,3% au-delà de 48 heures, contrairement à ce qui avait été observé dans d'autres études. Il avait ainsi été mis en évidence qu'un traitement antifongique précoce était un facteur de meilleur pronostic : de 15% de mortalité pour un traitement débuté à J0, contre 24% à J1, 37% à J2, jusqu'à 41% à partir de J3 (GAREY *et al.* 2006; GUERY *et al.* 2009b). Des données similaires avaient également mis en évidence dans une autre étude une différence significative des taux de mortalité selon que le traitement ait été instauré dans les 12 premières heures (11,1%) ou au-delà de 12 heures (33,1%) (MORRELL *et al.* 2005). Il s'agit cependant d'une donnée discutée, ainsi dans une autre étude plus récente, comme dans le cadre de notre étude, il n'a pas été mis en évidence d'impact sur la mortalité en fonction du délai d'instauration du traitement (KLUDZE-FORSON *et al.* 2010). Dans notre étude comme dans les études mentionnées ici, ce délai a été calculé de façon similaire, et correspond au délai entre le prélèvement de la première hémoculture positive ayant conduit au diagnostic de candidémie et le début du traitement antifongique. Celui-ci peut varier considérablement d'un patient à un autre en fonction du degré de suspicion de candidémie. En effet, chez les patients pour qui il ne s'agissait pas de l'hypothèse principale, il peut correspondre au délai de positivité de l'hémoculture, parfois supérieur à 48 heures, et de transmission au service clinique. Il n'a malheureusement pas été possible en rétrospectif, dans cette étude, de recueillir les délais d'instauration du traitement antifongique de façon plus précise, toutes les 12 heures par exemple. En effet, il aurait été préférable pour l'étude d'obtenir précisément les dates et heures de prélèvement de la première hémoculture positive, de la transmission de cette positivité au service clinique et de l'instauration du traitement. Toutefois on observe des taux de décès à 12 semaines plus faibles chez les patients pour qui on connaît la date d'instauration du traitement que chez ceux qui n'en ont pas bénéficié ou pour qui cette information n'était pas disponible.

Conformément aux données de la littérature, le fluconazole reste globalement le traitement majoritairement administré en première intention. L'évolution des pratiques thérapeutiques montre également un abandon progressif de l'amphotéricine B et du voriconazole, ainsi que l'avènement de la caspofungine comme traitement principal utilisé en cas de candidémie

(HORN *et al.* 2009; SENDID *et al.* 2006; TORTORANO *et al.* 2004). De façon similaire aux données de la littérature et en relation avec les profils de sensibilité différents des espèces aux antifongiques, le traitement varie en fonction de l'espèce de *Candida* isolée. En cas de *C. parapsilosis*, la caspofungine est le plus souvent abandonnée au profit du fluconazole et inversement en cas de candidémie à *C. glabrata* ou à *C. krusei* où une échinocandine est souvent instaurée en lieu et place du fluconazole (HORN *et al.* 2009).

Il n'a malheureusement pas été possible dans cette étude d'observer une influence éventuelle d'un traitement antifongique préalable à la survenue de l'épisode de candidémie sur la distribution des espèces de *Candida*. En effet, une étude avait montré qu'un traitement préalable pouvait influencer la distribution des espèces : les proportions de *C. parapsilosis*, *C. glabrata* et *C. krusei* étaient plus élevées en cas de traitement par caspofungine dans les 30 jours précédents, et qu'il en était de même pour *C. glabrata* et *C. krusei* en cas de traitement par fluconazole (LORTHOLARY *et al.* 2010). Pour cela il faudrait conduire une étude prospective, avec le relevé précis des traitements suivis par le patient avant la survenue d'une candidémie.

Le dernier point que nous avons souhaité étudié, particulièrement d'actualité au vu de la littérature récente, est l'influence du retrait de la voie veineuse centrale sur l'évolution clinique. Cependant l'analyse est apparue rapidement difficile du fait du faible nombre de patients pour lesquels la voie veineuse centrale a été maintenue. Toutefois, en accord avec différentes études, le non-retrait d'un cathéter central semble être de moins bon pronostic, étant visiblement associé à une évolution clinique plus souvent défavorable comme le montre la mortalité plus élevée à 12 semaines (TORTORANO *et al.* 2006). Il s'agit néanmoins d'une donnée discutée dans de nombreuses études. Plusieurs auteurs avancent le fait que le retrait de la voie veineuse centrale chez un patient présentant un épisode de candidémie n'aurait pas d'influence sur la survie. En effet, les patients ayant ce type de dispositif présentent pour la plupart de nombreux autres facteurs de risque confondants (score APACHE II, âge élevé, sévérité de l'état pathologique sous-jacent). Le moins bon pronostic observé serait donc davantage lié au terrain qu'au dispositif lui-même (LIU *et al.* 2009; NUCCI *et al.* 2010; RODRIGUEZ *et al.* 2007). De plus, comme le montre notre étude, la culture du dispositif intraveineux, quand elle est réalisée, reste souvent négative, permettant de s'interroger sur le fait qu'il s'agisse d'une des principales portes d'entrée à l'infection et soulignant aussi probablement la faible sensibilité de cet examen.

4. Synthèse de l'étude

L'étude dont les résultats sont présentés dans ce manuscrit reste donc globalement en accord avec les données issues de la littérature concernant les candidémies. Quelques points restent cependant à souligner :

- L'incidence importante des candidémies chez les patients hospitalisés en hématologie, évaluée à 6,65‰ hospitalisations soit près de 20 fois supérieur à l'incidence globale moyenne.
- La prévalence significative de *C. kefyr*, cinquième espèce impliquée dans les candidémies au CHU de Nantes après *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* et *C. tropicalis*.
- La faible prévalence de la résistance aux antifongiques notamment aux échinocandines, antifongiques occupant désormais une place importante dans la prise en charge des candidémies.
- L'absence de différence entre les taux de mortalité en fonction du délai d'instauration du traitement et qui devra être analysée de manière plus approfondie.

Certains résultats mériteraient également d'être confirmés sur des cohortes plus importantes, notamment ceux concernant les patients de moins de 15 ans ou l'impact du retrait des cathéters veineux centraux par exemple. Le fait que cette étude ait été menée de manière monocentrique limite malheureusement le nombre de patients inclus, mais ce travail fournit une base intéressante pour le suivi de l'épidémiologie des candidémies au CHU de Nantes. Notre étude devra toutefois être complétée par une analyse statistique afin de conforter les résultats obtenus.

Le travail présenté dans ce manuscrit trouve son importance dans le fait qu'il n'existe encore que peu de données françaises concernant l'épidémiologie des candidémies. Le fait qu'il s'agisse ici d'une étude monocentrique est intéressant car, comme nous l'avons expliqué, l'épidémiologie des candidémies peut varier considérablement d'un lieu géographique à un autre, y compris à l'intérieur d'un même pays.

Même si cette étude a été réalisée de manière rétrospective, elle a permis de poser les bases du suivi de l'épidémiologie des candidémies au CHU de Nantes. Grâce à la concertation entre les praticiens des services cliniques et le service de parasitologie-mycologie du Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, le suivi de cette épidémiologie pourra être réalisé afin de

mieux appréhender les changements de distribution des espèces ou encore l'émergence de résistances aux antifongiques au sein des levures du genre *Candida*.

Dans un avenir proche, le laboratoire de mycologie devrait disposer d'un outil encore plus performant, reposant sur la spectrométrie de masse MALDI-TOF et permettant une identification mycologique robuste tout en réduisant significativement les délais d'identification. Sa mise en œuvre directement sur les flacons d'hémocultures, comme déjà réalisée dans certains centres hospitaliers, permettra de réduire de façon drastique les délais de transmission aux services cliniques et permettra probablement d'améliorer encore la prise en charge de ces infections et probablement leur pronostic.

ANNEXES

Annexe n°1 : Recommandations françaises pour la prise en charge thérapeutique des candidémies (2004) (SFAR *et al.* 2004)

Schéma thérapeutique avant identification de l'espèce

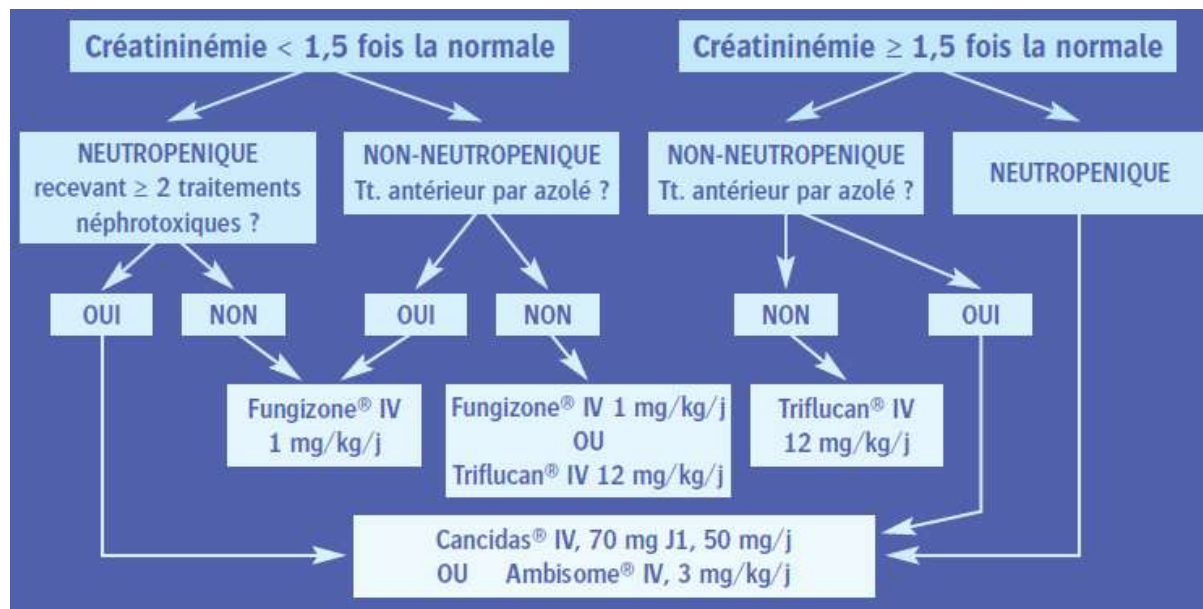
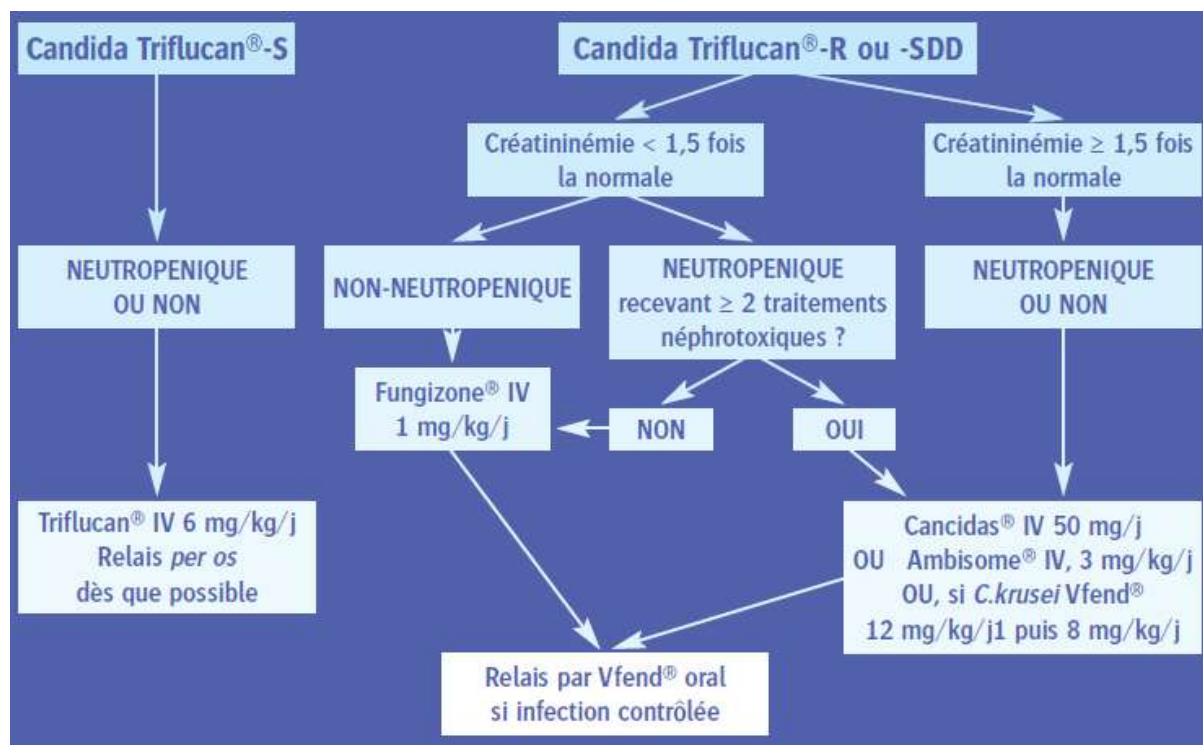


Schéma thérapeutique après identification de l'espèce et obtention de l'antifongogramme



Annexe n°2 : Fiche de recueil des données patients atteints de candidémie (TALARMIN *et al.* 2009)

INFECTIONS INVASIVES A LEVURES

Nom : |__| |__| |__| |__| Prénom |__| |__| |__| Sexe : ☐ F ☐ M
3 premières lettres 2 premières lettres
 Âge : |__| |__| ans Poids : |__| |__| kg Taille : |__| |__| cm
 Code UF : |__| |__| |__| |__|

I - Caractéristiques de l'infection

- Candidémie ☐ oui ☐ non
 Si oui : Nombre de flacons aéro/anaérobies positifs |__| |__|
 Nombre total prélevé |__| |__|
 Nombre de flacons Mycosis-Bactec® positifs |__| |__|
 Nombre total prélevé |__| |__|
 Date de la première hémoculture positive : ____/____/____
 Date de la dernière hémoculture positive : ____/____/____
 Nombre d'hémocultures négatives au cours de l'épisode |__| |__|
 Fièvre >38°C ☐ oui ☐ non
 Etat de choc ☐ oui ☐ non
 Pression artérielle minimale ____/____/____
- Atteintes viscérales associées ☐ oui ☐ non
 Si oui : mettre une croix dans la ou les case(s) correspondante(s)

Atteinte	Oui	Non	Atteinte	Oui	Non
Endocardite	☐	☐	Ostéo-articulaire	☐	☐
Neuro-méningée	☐	☐	Cutanée	☐	☐
Ophthalmologique	☐	☐	Pulmonaire	☐	☐
Péritonite	☐	☐	Hépatosplénique	☐	☐
sophagienne	☐	☐	Thrombophlébite septique	☐	☐
Pyélonéphrite	☐	☐	Autre	☐	☐

Préciser les critères sur lesquels repose le diagnostic de cette (ces) atteinte(s) :
 (Ex : culture biopsie synoviale, LBA, crachats...)

.....

- Recherche de colonisation (Pittet) ☐ oui ☐ non
 Sites prélevés ☐ oropharynx ☐ urines ☐ anus
 ☐ vagin ☐ respiratoire ☐ drains
 ☐ selles ☐ liquide gastrique
 Nombre de sites positifs |__| |__|
- Espèce *Candida* : ☐ *albicans* ☐ *glabrata* ☐ *krusei*
 ☐ *parapsilosis* ☐ *tropicalis* ☐ *guilliermondii*
 ☐ *kefyr* ☐ *lusitaniae* ☐ autre

- CMI des antifongiques

Antifongique	Fait	Non fait	Valeur (mg/l)	Méthode
Fluconazole	☐	☐		
Voriconazole	☐	☐		
Itraconazole	☐	☐		
Amphotéricine B	☐	☐		
5 Fluorocytosine	☐	☐		
Caspofungine	☐	☐		

- Prophylaxie antifongique : ☐ oui ☐ non
Si oui, laquelle :
Date de début : ____/____/____

II - Terrain. Facteurs de risque.

Procédures invasives

- KT central : ☐ oui ☐ non
Date de pose : ____/____/____
Site : ☐ jugulaire ☐ sous-clavier ☐ fémoral
Ablation : ☐ oui ☐ non
Mise en culture ☐ oui ☐ non Si oui, résultats culture **+** ou **—**
Date d'ablation : ____/____/____
Si plusieurs KTC, détailler :
Si plusieurs KTC : durée cumulée de procédure invasive : ! ____ ! jours
- Pression artérielle sanglante : ☐ oui ☐ non
Date de pose : ____/____/____
Site : ☐ radiale ☐ fémorale
Ablation : ☐ oui ☐ non
Mise en culture ☐ oui ☐ non Si oui, résultats culture **+** ou **—**
Date d'ablation : ____/____/____
- Chambre implantable : ☐ oui ☐ non
Date de pose : ____/____/____
Ablation : ☐ oui ☐ non
Mise en culture ☐ oui ☐ non Si oui, résultats culture **+** ou **—**
Date d'ablation : ____/____/____
- Sondage urinaire ☐ oui ☐ non

Facteurs de risque liés à l'hôte

- Hémopathie : ☐ oui ☐ non; Si oui, laquelle : _____
- Greffe : de moelle osseuse : ☐ oui ☐ non
Si oui : Autogreffe MO ☐ oui ☐ non
Allogreffe MO ☐ oui ☐ non
d'organe solide : ☐ oui ☐ non
Date de la greffe ____/____/____
- GVH : ☐ oui ☐ non
- Neutropénie <500: ☐ oui ☐ non Si oui : durée ! ____ ! jours
Date de début : ____/____/____
Nadir des PNN : ! ____ ! /mm³

- Cancer solide : ☐ oui ☐ non
Si oui, chimiothérapie récente: ☐ oui ☐ non
Si oui, laquelle : _____
Cure N° : |_____|
- SIDA, séropositivité VIH : ☐ oui ☐ non
Si oui, taux de CD4 : |_____| /mm³
- Chirurgie (multiple, étendue, abdominale) ☐ oui ☐ non
- Brûlures ☐ oui ☐ non. Si oui, surface brûlée : |_____| %
- Traumatisme grave ☐ oui ☐ non
- Diarrhées ☐ oui ☐ non
- Hémodialyse ☐ oui ☐ non
- Diabète ☐ oui ☐ non
- Alcoolisme ☐ oui ☐ non
- Durée du séjour à l'hôpital : |_____| jours
- Durée du séjour en réanimation : |_____| jours
- Autre pathologie prédisposante :

Facteurs de risque liés à l'exposition médicamenteuse

- Antibiothérapie dans les 14 jours précédents ☐ oui ☐ non
Si oui, lesquels ?

☐ Céphalosporine	☐ Pénicilline
☐ Fluoroquinolone	☐ Aminoside
☐ Glycopeptide	☐ Oxazolidinone
☐ Autre	
- Corticothérapie ☐ oui ☐ non
Dose journalière : |_____| mg d'équivalent prednisone
Ancienneté : |_____| jours
- Nutrition parentérale ☐ oui ☐ non
- Autres immunosuppresseurs ☐ oui ☐ non
si oui, préciser :

Bilans biologiques

- Créatininémie en début de traitement : |_____| µmol/L
- Créatininémie en fin de traitement : |_____| µmol/L
- Bilan hépatique en début de traitement
ASAT |_____| ALAT |_____| γGT |_____| PA |_____|
Bili totale |_____| Bili conjuguée |_____|
- Bilan hépatique en fin de traitement
ASAT |_____| ALAT |_____| γGT |_____| PA |_____|
Bili totale |_____| Bili conjuguée |_____|
- Bilan de coagulation :
TP |_____| TCA |_____| Facteur V |_____|
- NFS:
Hb |_____| Plaquettes |_____|

III - Traitement. Indiquer tous les antifongiques reçus (traitement initial et/ou de relais) en utilisant une nouvelle ligne pour tout changement de produit et/ou de posologie et/ou de voie

Produit	Posologie / j	Voie	Date de début	Date de fin

❖ Effets secondaires ☐ oui ☐ non

Si oui, préciser :

.....

.....

❖ Dosages : ☐ oui ☐ non

Si oui :

	Produit dosé	Date	Pic	Vallée
Dosage 1				
Dosage 2				
Dosage 3				

Pathologies infectieuses concomitantes et traitements.

.....

.....

Autres traitements administrés simultanément :

.....

.....

IV - Evolution.

❖ Succès : ☐ oui ☐ non

Clinique ☐ oui ☐ non

Mycologique ☐ oui ☐ non

❖ Echec : ☐ oui ☐ non

Clinique ☐ oui ☐ non

Mycologique ☐ oui ☐ non

❖ Décès : ☐ oui ☐ non Date : ____/____/____

❖ Décès attribuable à la candidose : ☐ oui ☐ non

❖ Cause du décès :

.....

.....

❖ Patient vivant :

○ A J30 ☐ oui ☐ non

○ A J90 ☐ oui ☐ non

○ A J180 ☐ oui ☐ non

○ A J360 ☐ oui ☐ non

Fiche remplie par : _____

Numéro de téléphone : _____

E-mail : _____

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALAM, F. F., A. S. MUSTAFA and Z. U. KHAN, 2007 Comparative evaluation of (1, 3)-beta-D-glucan, mannan and anti-mannan antibodies, and *Candida* species-specific snPCR in patients with candidemia. *BMC Infect Dis* **7**: 103.
- ALANIO, A., J. L. BERETTI, B. DAUPHIN, E. MELLADO, G. QUESNE *et al.*, 2011 Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for fast and accurate identification of clinically relevant *Aspergillus* species. *Clin Microbiol Infect* **17**: 750-755.
- ALCOBA-FLOREZ, J., S. MENDEZ-ALVAREZ, J. CANO, J. GUARRO, E. PEREZ-ROTH *et al.*, 2005 Phenotypic and molecular characterization of *Candida nivariensis* sp. nov., a possible new opportunistic fungus. *J Clin Microbiol* **43**: 4107-4111.
- ALMIRANTE, B., D. RODRIGUEZ, B. J. PARK, M. CUENCA-ESTRELLA, A. M. PLANES *et al.*, 2005 Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* **43**: 1829-1835.
- ANOFEL, 2007 *Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales*.
- ARENDRUP, M. C., 2010 Epidemiology of invasive candidiasis. *Curr Opin Crit Care* **16**: 445-452.
- ARIKAN, S., 2007 Current status of antifungal susceptibility testing methods. *Med Mycol* **45**: 569-587.
- AVNI, T., L. LEIBOVICI and M. PAUL, 2011 PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol* **49**: 665-670.
- BASSETTI, M., L. TARAMASSO, E. NICCO, M. P. MOLINARI, M. MUSSAP *et al.*, 2011 Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and outcome of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in Italy. *PLoS One* **6**: e24198.
- BECK-SAGUE, C., and W. R. JARVIS, 1993 Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* **167**: 1247-1251.
- BLANCHARD, E., O. LORTHOLARY, K. BOUKRIS-SITBON, M. DESNOS-OLLIVIER, F. DROMER *et al.*, 2011 Prior Caspofungin Exposure in Patients with Hematological Malignancies Is a Risk Factor for Subsequent Fungemia Due to Decreased Susceptible *Candida* Spp.: a Case-Control Study in Paris, France. *Antimicrob Agents Chemother*.
- BLOT, S. I., K. H. VANDEWOUDE, E. A. HOSTE and F. A. COLARDYN, 2002 Effects of nosocomial candidemia on outcomes of critically ill patients. *Am J Med* **113**: 480-485.
- BORGHI, E., R. IATTA, R. SCIOTA, C. BIASSONI, T. CUNA *et al.*, 2010 Comparative evaluation of the Vitek 2 yeast susceptibility test and CLSI broth microdilution reference method for testing antifungal susceptibility of invasive fungal isolates in Italy: the GISIA3 study. *J Clin Microbiol* **48**: 3153-3157.
- BOUCHARA, J., M. PIHET, L. DE GENTILE, B. CIMON and D. CHABASSE, 2010 *Les levures et levuroses*.
- BOUGNOUX, M., and F. ESPINASSE, 2003 Nouvelles applications des techniques de biologie moléculaire en mycologie médicale. *Revue française des laboratoires* **2003**: 67-71.
- BOUGNOUX, M. E., G. KAC, P. AEGERTER, C. D'ENFERT and J. Y. FAGON, 2008 Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. *Intensive Care Med* **34**: 292-299.
- BOURGEOIS, N., L. DEHANDSCHOEWERCKER, S. BERTOUT, P. J. BOUSQUET, P. RISPAIL *et al.*, 2010 Antifungal susceptibility of 205 *Candida* spp. isolated primarily during invasive Candidiasis and comparison of the Vitek 2 system with the CLSI broth microdilution and Etest methods. *J Clin Microbiol* **48**: 154-161.
- BOUZA, E., and P. MUNOZ, 2008 Epidemiology of candidemia in intensive care units. *Int J Antimicrob Agents* **32 Suppl 2**: S87-91.
- CALDERONE, R., 2002 *Candida* and candidiasis.
- CANTON, E., A. ESPINEL-INGROFF and J. PEMAN, 2009 Trends in antifungal susceptibility testing using CLSI reference and commercial methods. *Expert Rev Anti Infect Ther* **7**: 107-119.
- CANTON, E., J. PEMAN, G. QUINDOS, E. ERASO, I. MIRANDA-ZAPICO *et al.*, 2011 Epidemiology, Molecular Identification and Antifungal Susceptibility of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* Isolated from Patients with Candidemia: Prospective Multicenter Study. *Antimicrob Agents Chemother*.
- CHABASSE, D., R. ROBERT, A. MAROT and M. PIHET, 2006 *Candida* pathogènes.

- CHANDRA, J., D. M. KUHN, P. K. MUKHERJEE, L. L. HOYER, T. MCCORMICK *et al.*, 2001 Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol* **183**: 5385-5394.
- CHEN, Y. C., Y. H. LIN, K. W. CHEN, J. LII, H. J. TENG *et al.*, 2010 Molecular epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis sensu stricto*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* in Taiwan. *Diagn Microbiol Infect Dis* **68**: 284-292.
- CHIARINI, A., A. PALMERI, T. AMATO, R. IMMORDINO, S. DISTEFANO *et al.*, 2008 Detection of bacterial and yeast species with the Bactec 9120 automated system with routine use of aerobic, anaerobic, and fungal media. *J Clin Microbiol* **46**: 4029-4033.
- CORNET, M., B. SENDID, C. FRADIN, C. GAILLARDIN, D. POULAIN *et al.*, 2011 Molecular identification of closely related *Candida* species using two ribosomal intergenic spacer fingerprinting methods. *J Mol Diagn* **13**: 12-22.
- CORREIA, A., P. SAMPAIO, S. JAMES and C. PAIS, 2006 *Candida bracarensis* sp. nov., a novel anamorphic yeast species phenotypically similar to *Candida glabrata*. *Int J Syst Evol Microbiol* **56**: 313-317.
- COULIBALY, O., C. MARINACH-PATRICE, C. CASSAGNE, R. PIARROUX, D. MAZIER *et al.*, 2011 *Pseudallescheria/Scedosporium* complex species identification by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Med Mycol* **49**: 621-626.
- CUENCA-ESTRELLA, M., A. GOMEZ-LOPEZ, G. ISLA, D. RODRIGUEZ, B. ALMIRANTE *et al.*, 2011 Prevalence of *Candida bracarensis* and *Candida nivariensis* in a Spanish collection of yeasts: comparison of results from a reference centre and from a population-based surveillance study of candidemia. *Med Mycol* **49**: 525-529.
- DE PAUW, B., T. J. WALSH, J. P. DONNELLY, D. A. STEVENS, J. E. EDWARDS *et al.*, 2008 Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* **46**: 1813-1821.
- DESNOS-OLLIVIER, M., M. RAGON, V. ROBERT, D. RAOUX, J. C. GANTIER *et al.*, 2008 *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*), a rare human fungal pathogen often misidentified as *Pichia guilliermondii* (*Candida guilliermondii*). *J Clin Microbiol* **46**: 3237-3242.
- DHIMAN, N., L. HALL, S. L. WOHLFIEL, S. P. BUCKWALTER and N. L. WENGENACK, 2011 Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. *J Clin Microbiol* **49**: 1614-1616.
- DIEKEMA, D. J., S. A. MESSER, L. B. BOYKEN, R. J. HOLLIS, J. KROEGER *et al.*, 2009 In vitro activity of seven systemically active antifungal agents against a large global collection of rare *Candida* species as determined by CLSI broth microdilution methods. *J Clin Microbiol* **47**: 3170-3177.
- EGGIMANN, P., J. GARBINO and D. PITTET, 2003 Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* **3**: 685-702.
- EGGIMANN, P., H. SAX and D. PITTET, 2004 Catheter-related infections. *Microbes Infect* **6**: 1033-1042.
- ELOY-GOSSELIN, O., 2006 Diagnostic et épidémiologie des infections à *Candida* sp. en réanimation, pp. Paris XII.
- FALAGAS, M. E., K. E. APOSTOLOU and V. D. PAPPAS, 2006 Attributable mortality of candidemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **25**: 419-425.
- FERRONI, A., S. SUAREZ, J. L. BERETTI, B. DAUPHIN, E. BILLE *et al.*, 2010 Real-time identification of bacteria and *Candida* species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* **48**: 1542-1548.
- FREYDIERE, A. M., L. BUCHAILLE, R. GUINET and Y. GILLE, 1997 Evaluation of latex reagents for rapid identification of *Candida albicans* and *C. krusei* colonies. *J Clin Microbiol* **35**: 877-880.
- FREYDIERE, A. M., R. GUINET and P. BOIRON, 2001 Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med Mycol* **39**: 9-33.
- FREYDIERE, A. M., R. ROBERT, C. PLOTON, A. MAROT-LEBLOND, F. MONERAU *et al.*, 2003 Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, GLABRATA RTT. *J Clin Microbiol* **41**: 3861-3863.

- FUJITA, S., Y. SENDA, T. OKUSI, Y. OTA, H. TAKADA *et al.*, 2007 Catheter-related fungemia due to fluconazole-resistant *Candida nivariensis*. *J Clin Microbiol* **45**: 3459-3461.
- GABRIEL, F., T. NOEL and I. ACCOCEBERRY, 2011 *Lindnera (Pichia) fabianii* blood infection after mesenteric ischemia. *Med Mycol*.
- GARCIA-EFFRON, G., E. CANTON, J. PEMAN, A. DILGER, E. ROMA *et al.*, 2011 Assessment of two new molecular based methods for identification of *Candida parapsilosis sensu lato* species. *J Clin Microbiol*.
- GAREY, K. W., M. REGE, M. P. PAI, D. E. MINGO, K. J. SUDA *et al.*, 2006 Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis* **43**: 25-31.
- GOMEZ-LOPEZ, A., D. PAN, I. CUESTA, A. ALASTRUEY-IZQUIERDO, J. L. RODRIGUEZ-TUDELA *et al.*, 2010 Molecular identification and susceptibility profile in vitro of the emerging pathogen *Candida kefyr*. *Diagn Microbiol Infect Dis* **66**: 116-119.
- GUDLAUGSSON, O., S. GILLESPIE, K. LEE, J. VANDE BERG, J. HU *et al.*, 2003 Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis* **37**: 1172-1177.
- GUERY, B. P., M. C. ARENDRUP, G. AUZINGER, E. AZOULAY, M. BORGES SA *et al.*, 2009a Management of invasive candidiasis and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part I. Epidemiology and diagnosis. *Intensive Care Med* **35**: 55-62.
- GUERY, B. P., M. C. ARENDRUP, G. AUZINGER, E. AZOULAY, M. BORGES SA *et al.*, 2009b Management of invasive candidiasis and candidemia in adult non-neutropenic intensive care unit patients: Part II. Treatment. *Intensive Care Med* **35**: 206-214.
- HA, J. F., C. M. ITALIANO, C. H. HEATH, S. SHIH, S. REA *et al.*, 2011 Candidemia and invasive candidiasis: a review of the literature for the burns surgeon. *Burns* **37**: 181-195.
- HENDRICKX, M., J. S. GOFFINET, D. SWINNE and M. DETANDT, 2011 Screening of strains of the *Candida parapsilosis* group of the BCCM/IHEM collection by MALDI-TOF MS. *Diagn Microbiol Infect Dis* **70**: 544-548.
- HIBBETT, D. S., M. BINDER, J. F. BISCHOFF, M. BLACKWELL, P. F. CANNON *et al.*, 2007 A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol Res* **111**: 509-547.
- HORN, D. L., D. NEOFYTOS, E. J. ANAISSIE, J. A. FISHMAN, W. J. STEINBACH *et al.*, 2009 Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis* **48**: 1695-1703.
- HORVATH, L. L., B. J. GEORGE, C. K. MURRAY, L. S. HARRISON and D. R. HOSPENTHAL, 2004 Direct comparison of the BACTEC 9240 and BacT/ALERT 3D automated blood culture systems for candida growth detection. *J Clin Microbiol* **42**: 115-118.
- JENSEN, R. H., and M. C. ARENDRUP, 2011 *Candida palmioleophila*: characterization of a previously overlooked pathogen and its unique susceptibility profile in comparison with five related species. *J Clin Microbiol* **49**: 549-556.
- JOHNSON, E. M., 2009 Rare and emerging *Candida* species. 152-159.
- KARAGEORGOPOULOS, D. E., E. K. VOULOUMANOU, F. NTZIORA, A. MICHALOPOULOS, P. I. RAFAILIDIS *et al.*, 2011 beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* **52**: 750-770.
- KIRBY, J. E., M. DELANEY, Q. QIAN and H. S. GOLD, 2009 Optimal use of Myco/F lytic and standard BACTEC blood culture bottles for detection of yeast and mycobacteria. *Arch Pathol Lab Med* **133**: 93-96.
- KLOTZ, S. A., B. S. CHASIN, B. POWELL, N. K. GAUR and P. N. LIPKE, 2007 Polymicrobial bloodstream infections involving *Candida* species: analysis of patients and review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis* **59**: 401-406.
- KLUDZE-FORSON, M., G. A. ESCHENAUER, C. J. KUBIN, P. DELLA-LATTA and S. W. LAM, 2010 The impact of delaying the initiation of appropriate antifungal treatment for *Candida* bloodstream infection. *Med Mycol* **48**: 436-439.
- KOENIG, H., 1995 *Guide mycologie médicale*.
- KOJIC, E. M., and R. O. DAROUICHE, 2004 *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev* **17**: 255-267.
- KOO, S., J. M. BRYAR, J. H. PAGE, L. R. BADEN and F. M. MARTY, 2009 Diagnostic performance of the (1-->3)-beta-D-glucan assay for invasive fungal disease. *Clin Infect Dis* **49**: 1650-1659.

- KUCHARIKOVA, S., H. TOURNU, M. HOLTAPPELS, P. VAN DIJCK and K. LAGROU, 2010 In vivo efficacy of anidulafungin against mature *Candida albicans* biofilms in a novel rat model of catheter-associated Candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* **54**: 4474-4475.
- LACROIX, C., A. GICQUEL, F. MORIO, J. LAMBERT, I. ACCOCEBERRY *et al.*, 2011 Differences in diversity and susceptibility of *Candida* species isolated from clinical samples in intensive care and haematology units in 8 French university hospitals. En préparation.
- LANDLINGER, C., S. PREUNER, L. BASKOVA, M. VAN GROTEL, N. G. HARTWIG *et al.*, 2010 Diagnosis of invasive fungal infections by a real-time panfungal PCR assay in immunocompromised pediatric patients. *Leukemia* **24**: 2032-2038.
- LAU, A., C. HALLIDAY, S. C. CHEN, E. G. PLAYFORD, K. STANLEY *et al.*, 2010 Comparison of whole blood, serum, and plasma for early detection of candidemia by multiplex-tandem PCR. *J Clin Microbiol* **48**: 811-816.
- LAU, A., T. C. SORRELL, S. CHEN, K. STANLEY, J. IREDELL *et al.*, 2008 Multiplex tandem PCR: a novel platform for rapid detection and identification of fungal pathogens from blood culture specimens. *J Clin Microbiol* **46**: 3021-3027.
- LAUNAY PUYBASSET, O., and O. LORTHOLARY, 1995 Etude retrospective de 58 épisodes de candidémie à l'hôpital Avicenne entre le 1er juin 1989 et le 1er juin 1995, pp.
- LEON, C., S. RUIZ-SANTANA, P. SAAVEDRA, B. ALMIRANTE, J. NOLLA-SALAS *et al.*, 2006 A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Crit Care Med* **34**: 730-737.
- LEON, C., S. RUIZ-SANTANA, P. SAAVEDRA, B. GALVAN, A. BLANCO *et al.*, 2009 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* **37**: 1624-1633.
- LEROY, O., J. P. GANGNEUX, P. MONTRAVERS, J. P. MIRA, F. GOUIN *et al.*, 2009 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* **37**: 1612-1618.
- LIN, D., L. C. WU, M. G. RINALDI and P. F. LEHMANN, 1995 Three distinct genotypes within *Candida parapsilosis* from clinical sources. *J Clin Microbiol* **33**: 1815-1821.
- LIU, C. Y., L. J. HUANG, W. S. WANG, T. L. CHEN, C. C. YEN *et al.*, 2009 Candidemia in cancer patients: impact of early removal of non-tunneled central venous catheters on outcome. *J Infect* **58**: 154-160.
- LOCKHART, S. R., S. A. MESSER, M. GHERNA, J. A. BISHOP, W. G. MERZ *et al.*, 2009 Identification of *Candida nivariensis* and *Candida bracarensis* in a large global collection of *Candida glabrata* isolates: comparison to the literature. *J Clin Microbiol* **47**: 1216-1217.
- LOCKHART, S. R., S. A. MESSER, M. A. PFALLER and D. J. DIEKEMA, 2008 Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in comparison to the closely related species *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol* **46**: 2659-2664.
- LORETO, E. S., L. A. SCHEID, C. W. NOGUEIRA, G. ZENI, J. M. SANTURIO *et al.*, 2010 *Candida dubliniensis*: epidemiology and phenotypic methods for identification. *Mycopathologia* **169**: 431-443.
- LORTHOLARY, O., M. DESNOS-OLLIVIER, K. SITBON, A. FONTANET, S. BRETAGNE *et al.*, 2010 Recent exposure to caspofungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia: a prospective multicenter study involving 2,441 patients. *Antimicrob Agents Chemother* **55**: 532-538.
- LUZZATI, R., B. ALLEGIANZI, L. ANTOZZI, L. MASALA, E. PEGORARO *et al.*, 2005 Secular trends in nosocomial candidaemia in non-neutropenic patients in an Italian tertiary hospital. *Clin Microbiol Infect* **11**: 908-913.
- MACKENZIE, D. W., 1962 Serum tube identification of *Candida albicans*. *J Clin Pathol* **15**: 563-565.
- MAJOROS, L., G. KARDOS, A. BELAK, A. MARAZ, L. ASZTALOS *et al.*, 2003 Restriction enzyme analysis of ribosomal DNA shows that *Candida inconspicua* clinical isolates can be misidentified as *Candida norvegensis* with traditional diagnostic procedures. *J Clin Microbiol* **41**: 5250-5253.

- MANDARD, N., and L. BESNARD, 1996 Les candidémies au C.H.U. de Tours
Etude rétrospective sur cinq années (1991-1995), pp. François Rabelais, Tours.
- MAROT-LEBLOND, A., B. BEUCHER, S. DAVID, S. NAIL-BILAUD and R. ROBERT, 2006 Development and evaluation of a rapid latex agglutination test using a monoclonal antibody to identify *Candida dubliniensis* colonies. *J Clin Microbiol* **44**: 138-142.
- MARTIN, D., F. PERSAT, M. A. PIENS and S. PICOT, 2005 *Candida* species distribution in bloodstream cultures in Lyon, France, 1998-2001. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **24**: 329-333.
- MARTIN, G. S., D. M. MANNINO, S. EATON and M. MOSS, 2003 The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* **348**: 1546-1554.
- MASSONET, C., J. VAN ELDERE, M. VANECHOUTTE, T. DE BAERE, J. VERHAEGEN *et al.*, 2004 Comparison of VITEK 2 with ITS2-fragment length polymorphism analysis for identification of yeast species. *J Clin Microbiol* **42**: 2209-2211.
- MCMULLAN, R., L. METWALLY, P. V. COYLE, S. HEDDERWICK, B. MCCLOSKEY *et al.*, 2008 A prospective clinical trial of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of candidemia in nonneutropenic, critically ill adults. *Clin Infect Dis* **46**: 890-896.
- MELETIADIS, J., M. ARABATZIS, M. BOMPOLA, K. TSIVERIOTIS, S. HINI *et al.*, 2011 Comparative evaluation of three commercial identification systems using common and rare bloodstream yeast isolates. *J Clin Microbiol* **49**: 2722-2727.
- MIKULSKA, M., T. CALANDRA, M. SANGUINETTI, D. POULAIN and C. VISCOLI, 2010 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* **14**: R222.
- MORRELL, M., V. J. FRASER and M. H. KOLLEF, 2005 Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother* **49**: 3640-3645.
- NETT, J., and D. ANDES, 2006 *Candida albicans* biofilm development, modeling a host-pathogen interaction. *Curr Opin Microbiol* **9**: 340-345.
- NOSEK, J., L. TOMASKA, A. RYCOVSKA and H. FUKUHARA, 2002 Mitochondrial telomeres as molecular markers for identification of the opportunistic yeast pathogen *Candida parapsilosis*. *J Clin Microbiol* **40**: 1283-1289.
- NUCCI, M., E. ANAISSIE, R. F. BETTS, B. F. DUPONT, C. WU *et al.*, 2010 Early removal of central venous catheter in patients with candidemia does not improve outcome: analysis of 842 patients from 2 randomized clinical trials. *Clin Infect Dis* **51**: 295-303.
- ORTEGA, M., F. MARCO, A. SORIANO, M. ALMELA, J. A. MARTINEZ *et al.*, 2011 *Candida* species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008. *J Hosp Infect* **77**: 157-161.
- OUDE LASHOF, A. M., A. ROTHOVA, J. D. SOBEL, M. RUHNKE, P. G. PAPPAS *et al.*, 2011 Ocular manifestations of candidemia. *Clin Infect Dis* **53**: 262-268.
- PAGANO, L., M. CAIRA, A. CANDONI, M. OFFIDANI, L. FIANCHI *et al.*, 2006 The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica* **91**: 1068-1075.
- PAPPAS, P. G., B. D. ALEXANDER, D. R. ANDES, S. HADLEY, C. A. KAUFFMAN *et al.*, 2010 Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin Infect Dis* **50**: 1101-1111.
- PAPPAS, P. G., C. A. KAUFFMAN, D. ANDES, D. K. BENJAMIN, JR., T. F. CALANDRA *et al.*, 2009 Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **48**: 503-535.
- PAUGAM, A., M. T. BAIXENCH and C. VIGUIE, 2008 [An update on *Candida dubliniensis*]. *Med Mal Infect* **38**: 1-7.
- PFALLER, M. A., D. ANDES, M. C. ARENDRUP, D. J. DIEKEMA, A. ESPINEL-INGROFF *et al.*, 2011a Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida* spp. revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. *Diagn Microbiol Infect Dis*.
- PFALLER, M. A., D. ANDES, D. J. DIEKEMA, A. ESPINEL-INGROFF and D. SHEEHAN, 2010a Wild-type MIC distributions, epidemiological cutoff values and species-specific clinical breakpoints for

- fluconazole and *Candida*: time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods. *Drug Resist Updat* **13**: 180-195.
- PFALLER, M. A., L. BOYKEN, R. J. HOLLIS, J. KROEGER, S. A. MESSER *et al.*, 2008 In vitro susceptibility of invasive isolates of *Candida* spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin: six years of global surveillance. *J Clin Microbiol* **46**: 150-156.
- PFALLER, M. A., L. BOYKEN, R. J. HOLLIS, J. KROEGER, S. A. MESSER *et al.*, 2010a Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for the echinocandins and *Candida* spp. *J Clin Microbiol* **48**: 52-56.
- PFALLER, M. A., M. CASTANHEIRA, D. J. DIEKEMA, S. A. MESSER, G. J. MOET *et al.*, 2010b Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Etest methods with the CLSI broth microdilution method for echinocandin susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol* **48**: 1592-1599.
- PFALLER, M. A., and D. J. DIEKEMA, 2007 Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* **20**: 133-163.
- PFALLER, M. A., D. J. DIEKEMA, D. ANDES, M. C. ARENDRUP, S. D. BROWN *et al.*, 2011c Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: Integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. *Drug Resist Updat* **14**: 164-176.
- PFALLER, M. A., D. J. DIEKEMA, D. L. GIBBS, V. A. NEWELL, D. ELLIS *et al.*, 2010b 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* **48**: 1366-1377.
- PFALLER, M. A., D. J. DIEKEMA, D. L. GIBBS, V. A. NEWELL, D. ELLIS *et al.*, 2010c 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* **48**: 1366-1377.
- PFALLER, M. A., A. ESPINEL-INGROFF, L. BOYKEN, R. J. HOLLIS, J. KROEGER *et al.*, 2011 Comparison of the broth microdilution (BMD) method of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing with the 24-hour CLSI BMD method for testing susceptibility of *Candida* species to fluconazole, posaconazole, and voriconazole by use of epidemiological cutoff values. *J Clin Microbiol* **49**: 845-850.
- PICAZO, J. J., F. GONZALEZ-ROMO and F. J. CANDEL, 2008 Candidemia in the critically ill patient. *Int J Antimicrob Agents* **32 Suppl 2**: S83-85.
- PITTET, D., M. MONOD, P. M. SUTER, E. FRENK and R. AUCTIONTHALER, 1994 *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* **220**: 751-758.
- POULAIN, D., 2000 Physiopathologie et diagnostic des candidoses systémiques. *La lettre de l'infectiologie* **5**: 182-190.
- RAMAGE, G., E. MOWAT, B. JONES, C. WILLIAMS and J. LOPEZ-RIBOT, 2009 Our current understanding of fungal biofilms. *Crit Rev Microbiol* **35**: 340-355.
- RICHE, H., P. ROUX, C. DES CHAMPS, Y. ESNAULT and A. ANDREMONT, 2002 Candidemia in French hospitals: incidence rates and characteristics. *Clin Microbiol Infect* **8**: 405-412.
- RODRIGUEZ, D., B. J. PARK, B. ALMIRANTE, M. CUENCA-ESTRELLA, A. M. PLANES *et al.*, 2007 Impact of early central venous catheter removal on outcome in patients with candidaemia. *Clin Microbiol Infect* **13**: 788-793.
- RUHNKE, M., A. SCHMIDT-WESTHAUSEN and J. MORSCHHAUSER, 2000 Development of simultaneous resistance to fluconazole in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* in a patient with AIDS. *J Antimicrob Chemother* **46**: 291-295.
- SCHERER, S., and D. A. STEVENS, 1987 Application of DNA typing methods to epidemiology and taxonomy of *Candida* species. *J Clin Microbiol* **25**: 675-679.
- SENDID, B., A. COTTEAU, N. FRANCOIS, A. D'HAVELOOSE, A. STANDAERT *et al.*, 2006 Candidaemia and antifungal therapy in a French University Hospital: rough trends over a decade and possible links. *BMC Infect Dis* **6**: 80.
- SENDID, B., J. L. POIROT, M. TABOURET, A. BONNIN, D. CAILLOT *et al.*, 2002 Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. *J Med Microbiol* **51**: 433-442.

- SFAR, SPILF and SRLF, 2004 Prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte, pp.
- SFM, 2010 *Rémic*.
- SIPSAS, N. V., R. E. LEWIS, J. TARRAND, R. HACHEM, K. V. ROLSTON *et al.*, 2009 Candidemia in patients with hematologic malignancies in the era of new antifungal agents (2001-2007): stable incidence but changing epidemiology of a still frequently lethal infection. *Cancer* **115**: 4745-4752.
- SOBEL, J. D., 1997 Vaginitis. *N Engl J Med* **337**: 1896-1903.
- SUDBERY, P., N. GOW and J. BERMAN, 2004 The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* **12**: 317-324.
- SULLIVAN, D. J., G. MORAN, S. DONNELLY, S. GEE, E. PINJON *et al.*, 1999 *Candida dubliniensis*: An update. *Rev Iberoam Micol* **16**: 72-76.
- SULLIVAN, D. J., T. J. WESTERNENG, K. A. HAYNES, D. E. BENNETT and D. C. COLEMAN, 1995 *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology* **141** (Pt 7): 1507-1521.
- SZABO, Z., B. TOTH, M. KOVACS, G. KARDOS, A. MARAZ *et al.*, 2008 Evaluation of the new Micronaut-Candida system compared to the API ID32C method for yeast identification. *J Clin Microbiol* **46**: 1824-1825.
- TAIEB, F., F. MECHAI, A. LEFORT, F. LANTERNIER, M. E. BOUGNOUX *et al.*, 2011 [Management of candidemia and invasive candidiasis]. *Rev Med Interne* **32**: 173-180.
- TALARMIN, J. P., D. BOUTOILLE, P. TATTEVIN, S. DARGERÉ, P. WEINBRECK *et al.*, 2009 [Epidemiology of candidemia: a one-year prospective observational study in the west of France]. *Med Mal Infect* **39**: 877-885.
- TAVANTI, A., A. D. DAVIDSON, N. A. GOW, M. C. MAIDEN and F. C. ODDS, 2005 *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. *J Clin Microbiol* **43**: 284-292.
- THIERRY, G., F. MORIO, P. LE PAPE, F. GAY-ANDRIEU, O. BARRE *et al.*, 2011 [Prevalence of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* in candidemia over a 5-year period at Nantes hospital and in vitro susceptibility to three echinocandins by E-test(R)]. *Pathol Biol (Paris)* **59**: 52-56.
- TORRES-RODRIGUEZ, J. M., and E. ALVARADO-RAMIREZ, 2007 In vitro susceptibilities to yeasts using the ATB FUNGUS 2 method, compared with Sensititre Yeast One and standard CLSI (NCCLS) M27-A2 methods. *J Antimicrob Chemother* **60**: 658-661.
- TORTORANO, A. M., C. KIBBLER, J. PEMAN, H. BERNHARDT, L. KLINGSPOR *et al.*, 2006 Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents* **27**: 359-366.
- TORTORANO, A. M., J. PEMAN, H. BERNHARDT, L. KLINGSPOR, C. C. KIBBLER *et al.*, 2004 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* **23**: 317-322.
- ULLMANN, J., M. CUENCA-ESTRELLA, O. LORTHOLARY, O. CORNELLY and E. ROILIDES, 2011 Presentation of the ESCMID diagnostic and management guideline for *Candida* diseases 2011, pp. in *21st ECCMID*, Milan, Italy.
- VAN HERENDAEL, B. H., P. BRUYNSEELS, M. BENSALD, T. BOEKHOUT, T. DE BAERE *et al.*, 2011 Validation of a modified algorithm for the identification of yeast isolates using matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.
- VAN VEEN, S. Q., E. C. CLAAS and E. J. KUIJPER, 2010 High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J Clin Microbiol* **48**: 900-907.
- VERDUYN LUNEL, F. M., J. P. DONNELLY, H. A. VAN DER LEE, N. M. BLIJLEVEN and P. E. VERWEIJ, 2009 Circulating *Candida*-specific anti-mannan antibodies precede invasive candidiasis in patients undergoing myelo-ablative chemotherapy. *Clin Microbiol Infect* **15**: 380-386.

- VERMES, A., H. J. GUCHELAAR and J. DANKERT, 2000 Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. *J Antimicrob Chemother* **46**: 171-179.
- VIGOUROUX, S., O. MORIN, P. MOREAU, J. L. HAROUSSEAU and N. MILPIED, 2006 Candidemia in patients with hematologic malignancies: analysis of 7 years' experience in a single center. *Haematologica* **91**: 717-718.
- WAHYUNINGSIH, R., I. N. SAHBANDAR, B. THEELEN, F. HAGEN, G. POOT *et al.*, 2008 *Candida nivariensis* isolated from an Indonesian human immunodeficiency virus-infected patient suffering from oropharyngeal candidiasis. *J Clin Microbiol* **46**: 388-391.
- WANGER, A., K. MILLS, P. W. NELSON and J. H. REX, 1995 Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing: enhanced ability to detect amphotericin B-resistant *Candida* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* **39**: 2520-2522.
- WARREN, T. A., L. MCTAGGART, S. E. RICHARDSON and S. X. ZHANG, 2010 *Candida bracarensis* bloodstream infection in an immunocompromised patient. *J Clin Microbiol* **48**: 4677-4679.
- WELLINGHAUSEN, N., D. SIEGEL, J. WINTER and S. GEBERT, 2009 Rapid diagnosis of candidaemia by real-time PCR detection of *Candida* DNA in blood samples. *J Med Microbiol* **58**: 1106-1111.
- WINGARD, J. R., W. G. MERZ, M. G. RINALDI, C. B. MILLER, J. E. KARP *et al.*, 1993 Association of *Torulopsis glabrata* infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother* **37**: 1847-1849.
- ZAOUTIS, T. E., J. ARGON, J. CHU, J. A. BERLIN, T. J. WALSH *et al.*, 2005 The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clin Infect Dis* **41**: 1232-1239.

SERMENT MEDICAL

Au moment d'être admis (e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis (e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré (e) et méprisé (e) si j'y manque.

NOM : TADEC

PRENOM : Laurent

**Titre de Thèse : Épidémiologie des candidémies au CHU de Nantes :
Eude rétrospective (2004 – 2010)**

RESUME

Les candidémies sont des infections invasives, le plus souvent nosocomiales et associées à une mortalité élevée. En quelques années, les données sur l'épidémiologie des candidémies se sont considérablement étoffées et ont permis notamment de souligner la diminution constante de la prévalence de *C. albicans* au profit des espèces non-*albicans*, présentant, pour certaines d'entre-elles, une sensibilité diminuée aux antifongiques.

Ce manuscrit présente les résultats d'une étude épidémiologique rétrospective de l'ensemble des épisodes de candidémie survenus au CHU de Nantes entre 2004 et 2010. Dans le cadre de cette étude, 187 épisodes, correspondant à 184 patients, ont été analysés. Si l'épidémiologie globale est en grande partie semblable aux données de la littérature, nous avons néanmoins pu mettre en évidence quelques particularités intéressantes comme la prévalence de *C. kefyr* (3.6%), au 5^{ème} rang en terme de prévalence derrière *C. albicans* (51.8%), *C. parapsilosis* (14.5%), *C. glabrata* (9.8%) et *C. tropicalis* (9.8%). Aucune évolution significative de la distribution des espèces n'a été notée au cours de l'étude. Nous rapportons une faible prévalence de la résistance *in vitro* aux antifongiques. Malgré l'évolution de la prise en charge thérapeutique, et notamment la part croissante des échinocandines, les candidémies restent des infections de mauvais pronostic comme en témoigne la mortalité globale élevée, en partie liée à l'espèce en cause, de l'ordre de 30% dans les 12 semaines suivant le diagnostic.

MOTS-CLES

Étude rétrospective ; CHU de Nantes ; *Candida* spp. ; candidémie ; facteurs de risque ; prise en charge thérapeutique ; sensibilité aux antifongiques