

Candidoses invasives en 3 questions :

Quand y penser ?

Comment les confirmer ?

Comment les traiter ?

Sourour Neji

32ème Congrès National de la STPI

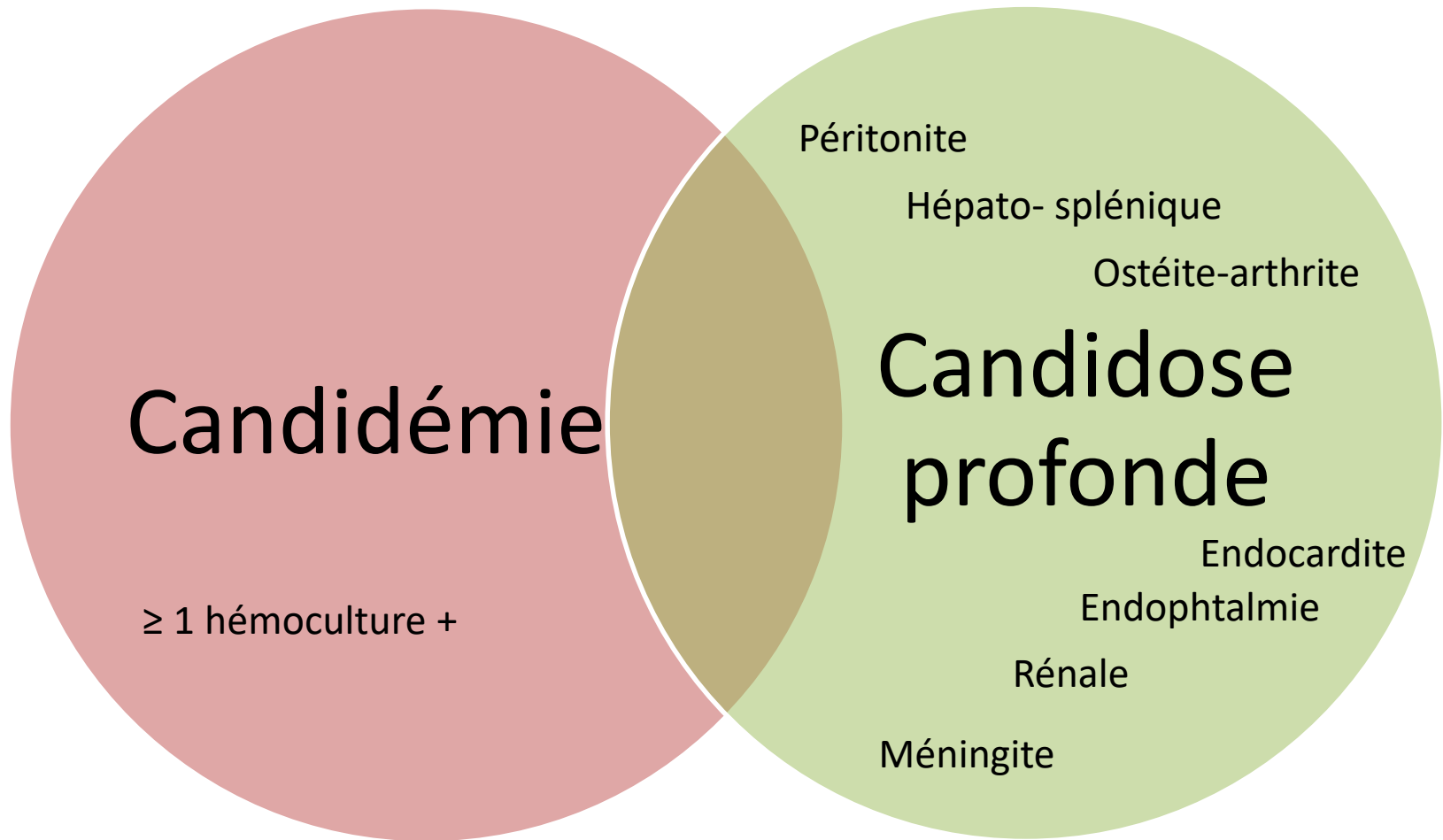
2ème Congrès Francophone de Pathologie Infectieuse et de Microbiologie Clinique

INTRODUCTION

Candida:

- 4^{ème} agent infectieux: infections associées aux soins
- mortalité > 40%
- Patients à risque:
 - Réanimation
 - Hématologie clinique
 - Chirurgie

Candidoses invasives

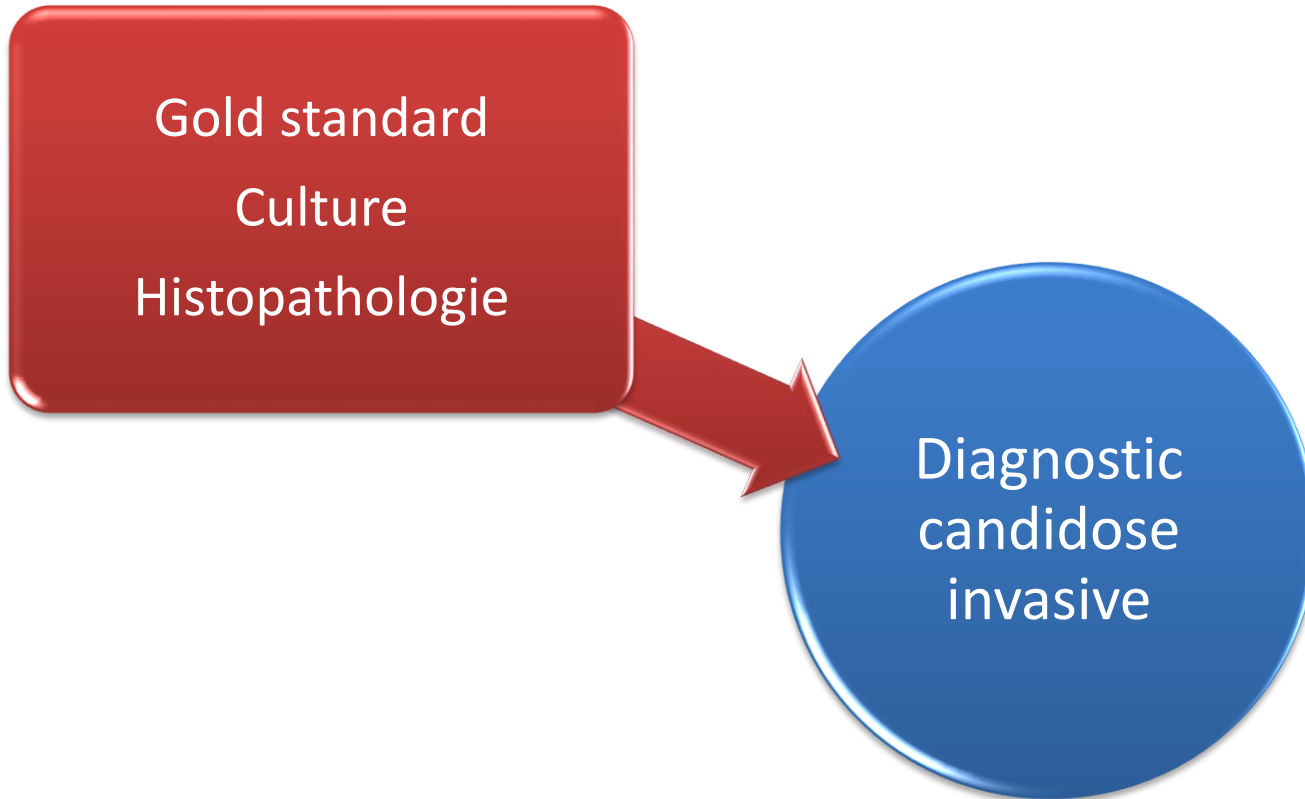


Candidoses invasives

- + En augmentation et grave / Pronostic
- + Difficultés diagnostiques :
 - Absence de signes pathognomoniques
 - Distinguer colonisation et infections
- + Management des CI \Rightarrow “challenges”:
 - Prévention
 - Diagnostic précoce
 - Traitement précoce et adéquat

DIAGNOSTIC

Quelles sont les méthodes disponibles pour le diagnostic CI



DIAGNOSTIC

Clinical Infectious Diseases

MAJOR ARTICLE



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

Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium

Table 1. Criteria for Proven Invasive Fungal Disease

Fungus	Microscopic Analysis: Sterile Material	Culture: Sterile Material	Blood	Serology	Tissue Nucleic Acid Diagnosis
Molds ^a	Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination ^b of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy in which hyphae or melanized yeast-like forms are seen accompanied by evidence of associated tissue damage	Recovery of a hyaline or pigmented mold by culture of a specimen obtained by a sterile procedure from a normally sterile and clinically or radiologically abnormal site consistent with an infectious disease process, excluding BAL fluid, a paranasal or mastoid sinus cavity specimen, and urine	Blood culture that yields a mold ^c (eg, <i>Fusarium</i> species) in the context of a compatible infectious disease process	Not applicable	Amplification of fungal DNA by PCR combined with DNA sequencing when molds are seen in formalin-fixed paraffin-embedded tissue
Yeasts ^a	Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy from a normally sterile site (other than mucous membranes) showing yeast cells, for example, <i>Cryptococcus</i> species indicating encapsulated budding yeasts or <i>Candida</i> species showing pseudohyphae or true hyphae ^d	Recovery of a yeast by culture of a sample obtained by a sterile procedure (including a freshly placed [<24 hours ago] drain) from a normally sterile site showing a clinical or radiological abnormality consistent with an infectious disease process	Blood culture that yields yeast (eg, <i>Cryptococcus</i> or <i>Candida</i> species) or yeast-like fungi (eg, <i>Trichosporon</i> species)	Cryptococcal antigen in cerebrospinal fluid or blood confirms cryptococcosis	Amplification of fungal DNA by PCR combined with DNA sequencing when yeasts are seen in formalin-fixed paraffin-embedded tissue

**Élément fongique identifié: examen anapath
Amplification ADN fongique + séquençage**

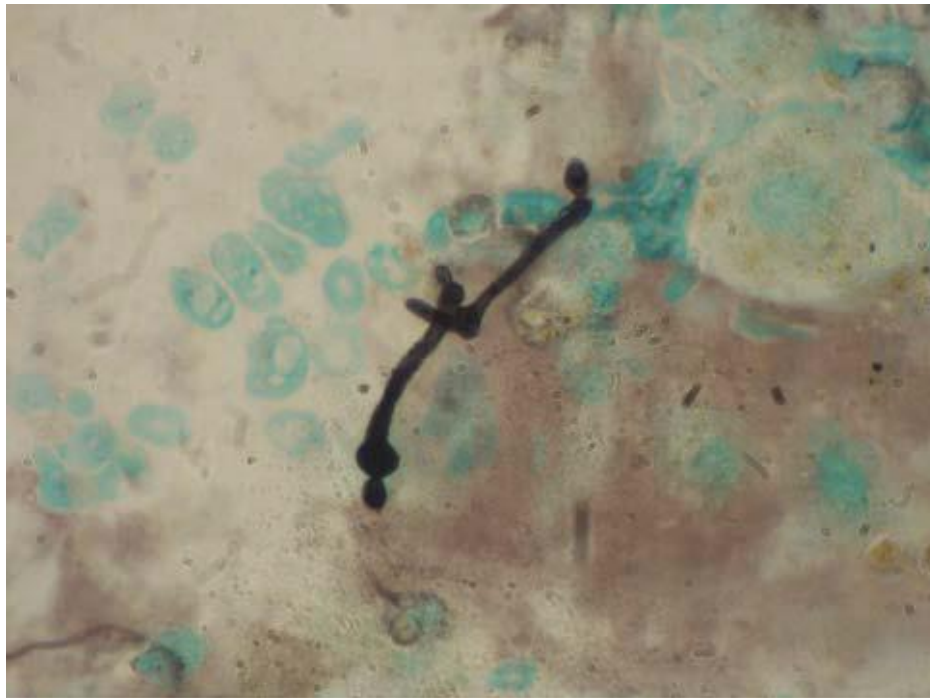
Prélèvements profonds

- Diagnostic de certitude: site stérile; biopsies

Coloration : May Grünwald Giemsa (MGG); Gomori-Grocott

Acide Périodique de Schiff (PAS); fluorescence

- Biopsies: rarement réalisées (gestes invasifs)



Hémocultures

- « Gold standard »
- 1 seule hémoculture positive affirme le diagnostic de candidémie
- Sensibilité \approx 50% (21–71%)
- Sensibilité dépend: - système utilisé
 - espèce
 - Milieux: aérobie; anaérobie

Mycosis

- Temps de positivité: 2-3 jours

Quel volume pour le prélèvement?

- European Fungal Infection Study Group (EFISG)
 - European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID)
 - IDSA (Infectious Diseases Society of America)
-

Age	Adultes	< 2kg	2-12 kg	12-36 kg
Volume	40-60ml (10ml /flacon)	2-4 ml	6 ml	20 ml

- Prélèvements tous les jours si une candidémie est suspectée
- Incubation: au moins 5 jours (2 semaines)



**Bactec
Becton-
Dickinson
(mesure
fluorométrique)**



**Mycosis
77,4%**



**Aérobic
71%**

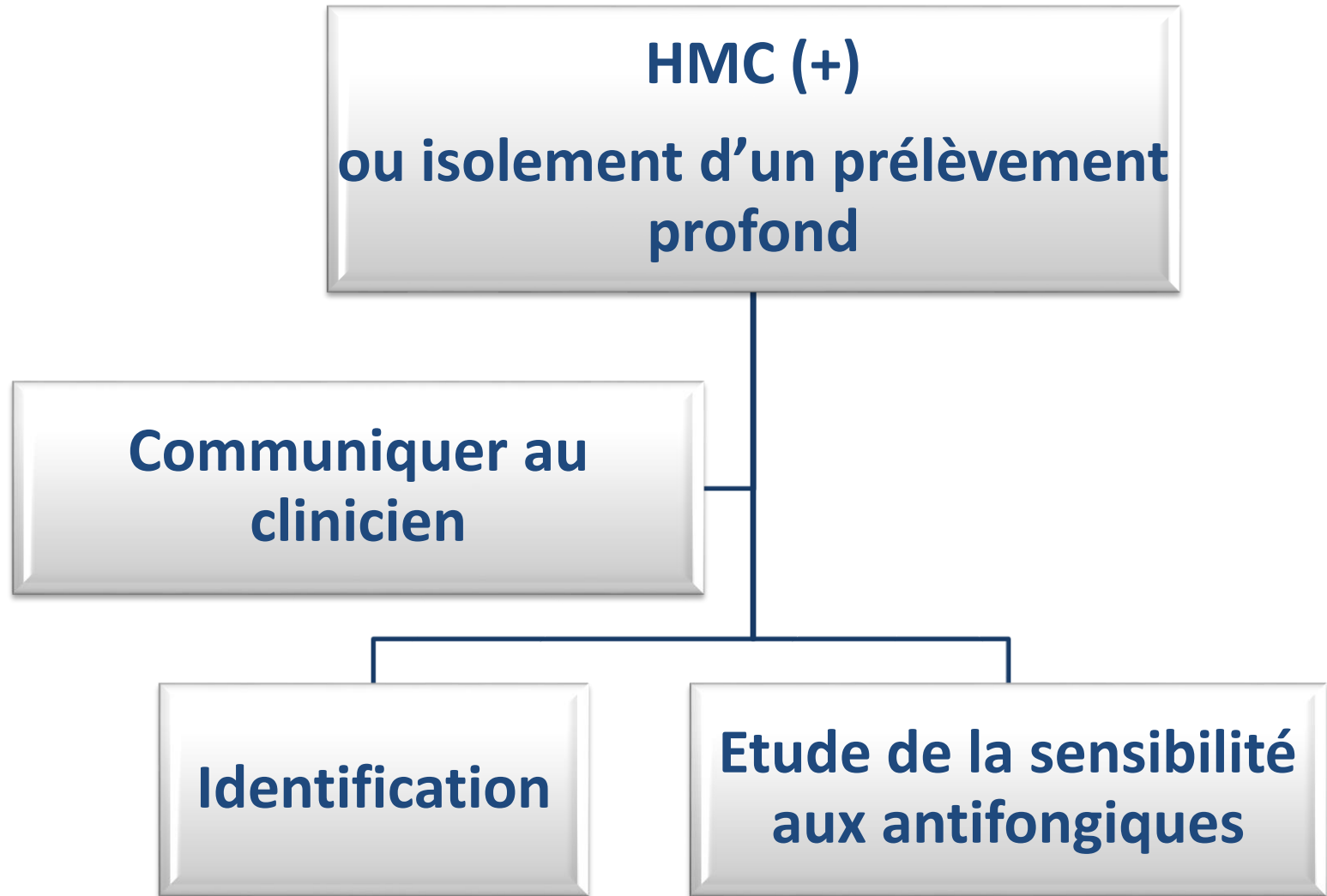
**Anaérobic
8,1%**

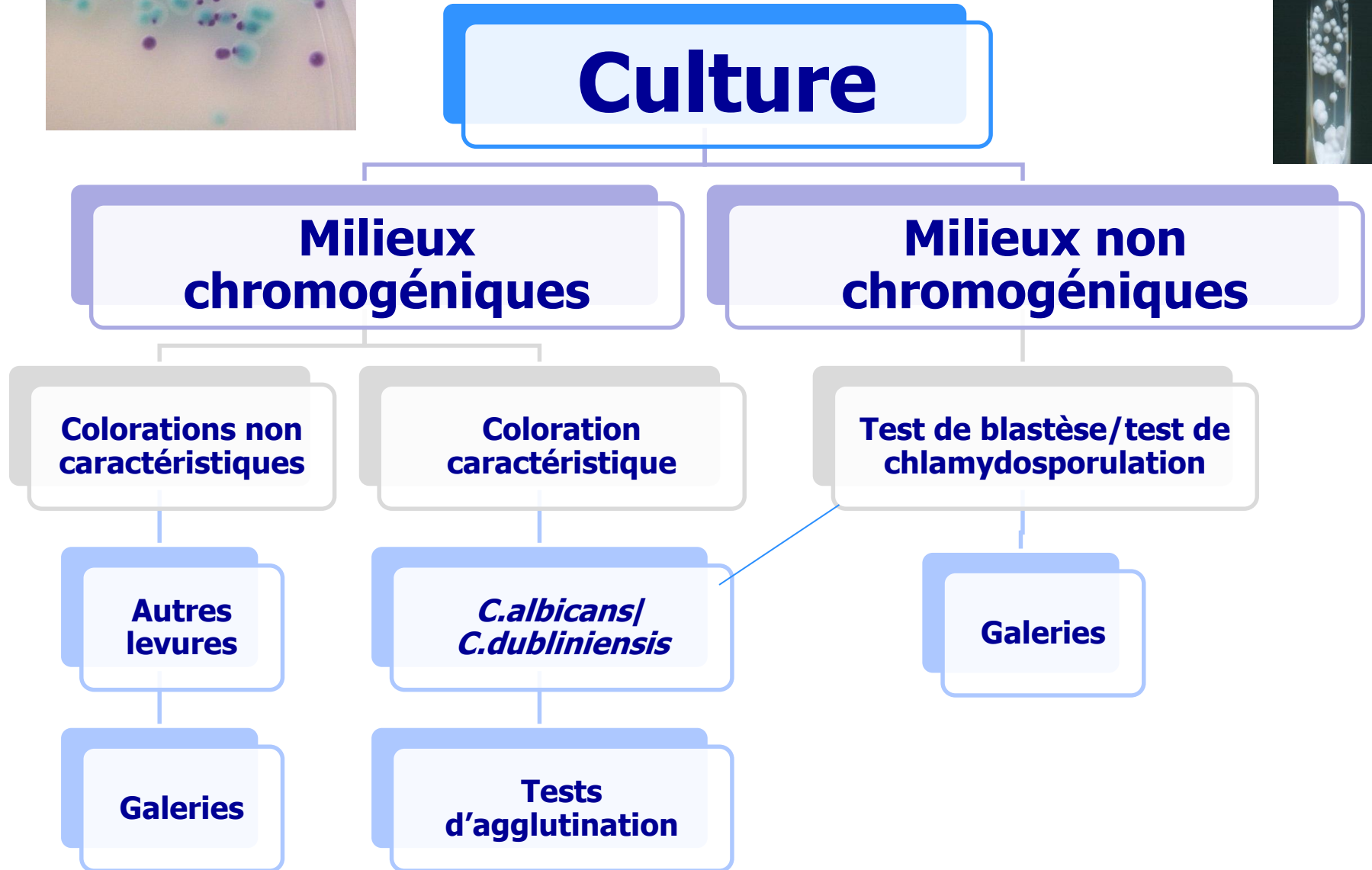
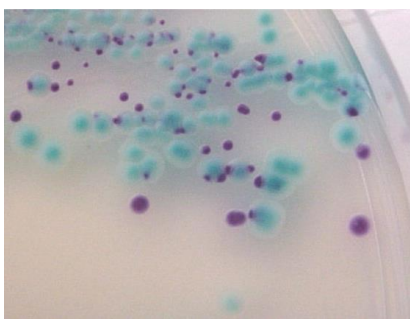


**BacT/Alert® bio-Mérieux (mesure
colorimétrique)**

Technique lyse centrifugation: Isolator

	Mycologie	Aérobie	p (Fisher)
Taux de positivité (flacon)	88%	74,9%	< 0,0001
Taux de positivité (patient)	92,5%	75,9%	< 0,0001
<i>C.albicans</i>	88,8 %	81,6 %	NS
<i>C.glabrata</i>	100 %	58,1%	< 0,0001
Temps de détection	28,9 h	36,5 h	< 0,0001
<i>C.albicans</i>	31,1 h	39,9 h	< 0,0001
<i>C.glabrata</i> : Temps de détection	17,8 h	61,5 h	< 0,0001





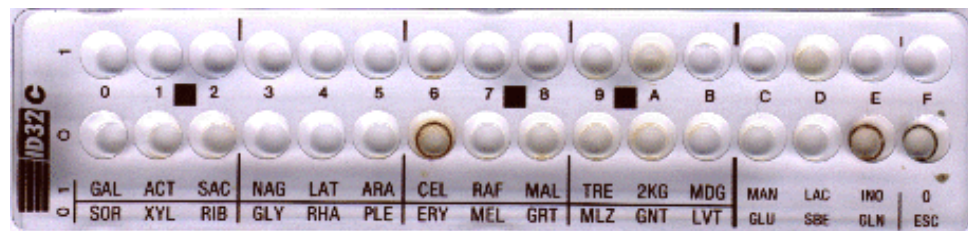
➤ Galeries d'identification:

➔ Études de l'assimilation des sucres:

paramètres	API 20C	Auxacolor	candifast	fungichrom	fungifast	ID32C	VitekYBC
Nombre de taxons	43	33	10	24	10	63	50
Durée	48-72h	24-72h	24-72h	24-48h	24-72h	24-72h	18h
Antifongigramme inclus	non	non	7 ATF testés	non	5 ATF testés	non	4 ATF testés
Commentaires		Simple, peu discriminant				Simple, test performant	

Attention +++ caractères d'assimilation parfois identiques:

C. famata et *C. guillermondii*



Culture

```
graph TD; Culture[Culture] --> Chromo[Milieux chromogéniques]; Culture --> NonChromo[Milieux non chromogéniques]; Chromo --> MS[Spectrométrie de masse]; NonChromo --> Mol[Identification moléculaire (PCR; puces)];
```

The diagram is a hierarchical flowchart. At the top is a blue box labeled 'Culture'. A line from this box branches into two purple boxes: 'Milieux chromogéniques' on the left and 'Milieux non chromogéniques' on the right. From 'Milieux chromogéniques', a line leads to a grey box labeled 'Spectrométrie de masse'. From 'Milieux non chromogéniques', a line leads to a grey box labeled 'Identification moléculaire (PCR; puces)'. A thin purple line also connects the 'Spectrométrie de masse' box to the 'Milieux non chromogéniques' box.

**Milieux
chromogéniques**

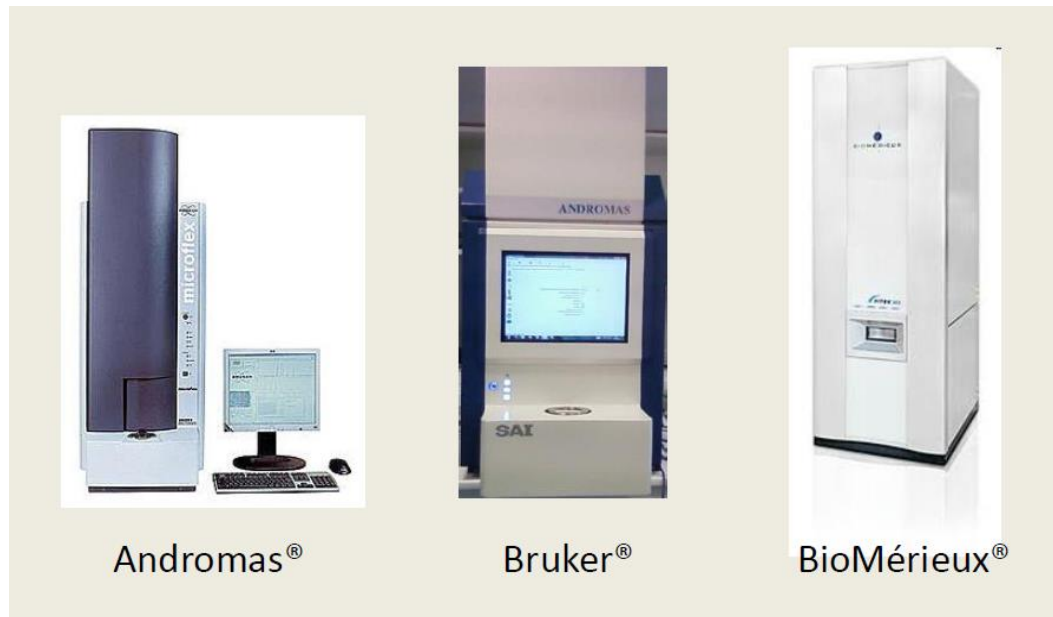
**Milieux non
chromogéniques**

**Spectrométrie de
masse**

**Identification
moléculaire
(PCR; puces)**

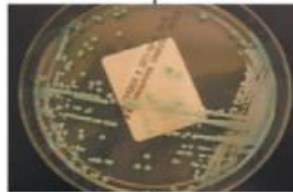
Spectrométrie de masse: MALDI-TOF

- Identification des microorganismes: profil spectral: \neq genres; espèces
- Banques de données: ensemble des spectres de référence



MALDI-TOF : Identification des levures

Systeme Andromas®

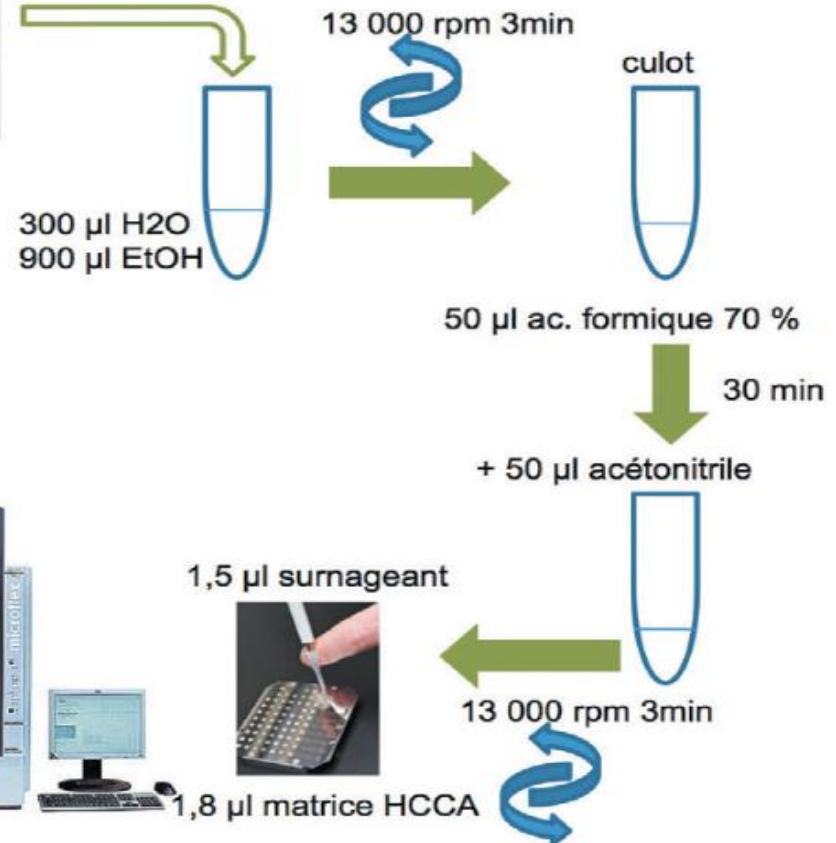


1 μ l ac. formique 70 %

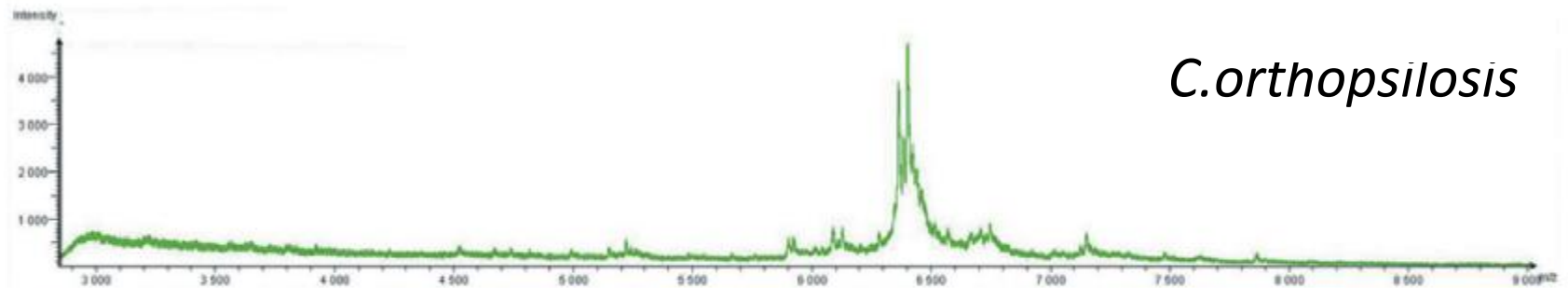
1 μ l matrice HCCA



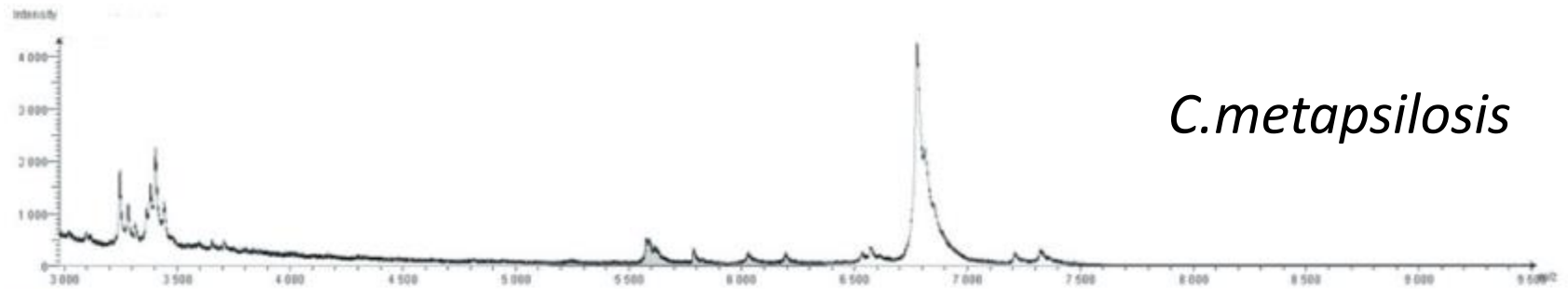
Systeme Bruker®



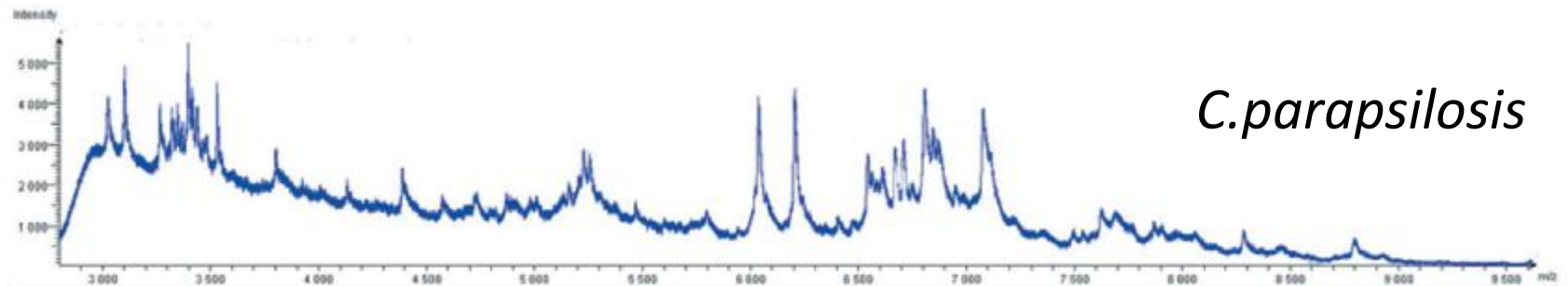
Profils spectraux obtenus chez des espèces appartenant au complexe *C. parapsilosis*



C. orthopsilosis

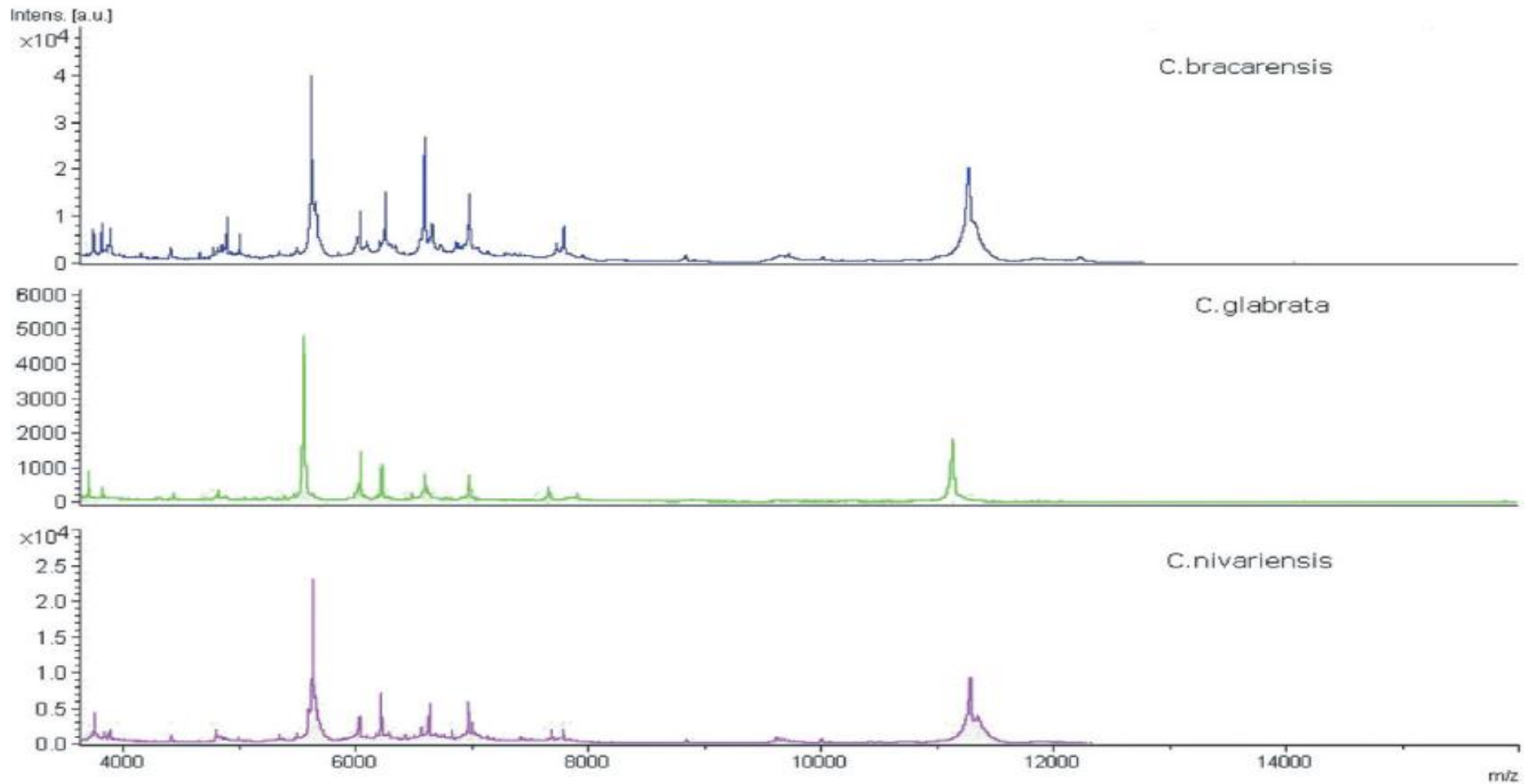


C. metapsilosis



C. parapsilosis

Profils spectraux obtenus chez des espèces appartenant au complexe *C. glabrata*



Identification

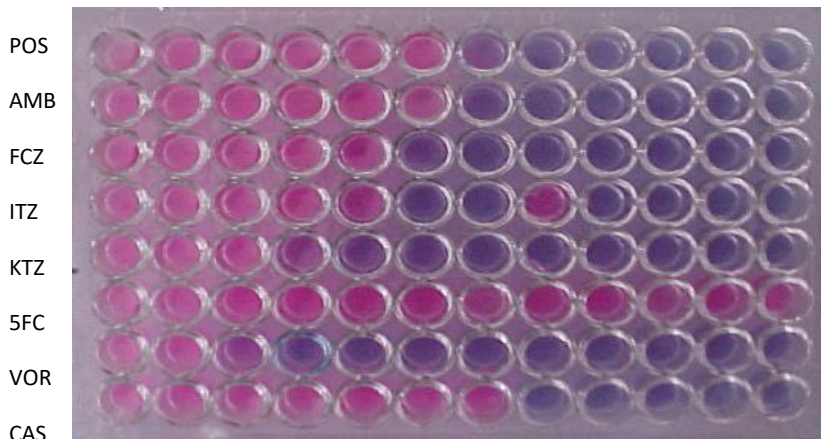
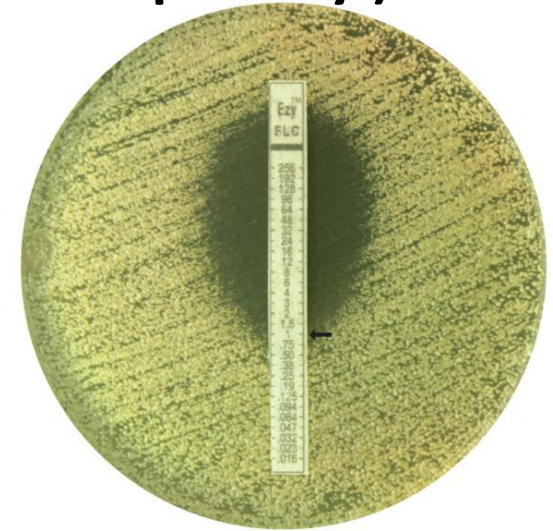
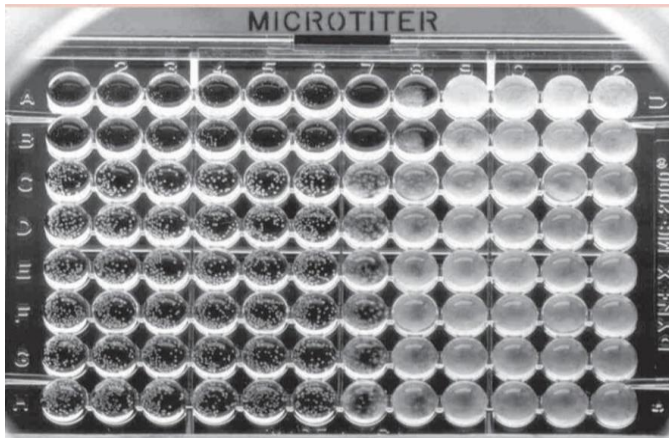
- Identification à partir des flacons d'hémocultures:
- **Spectrométrie de masse:**
 - Les flacons d'hémocultures Bactec[®] (Becton-Dickinson) ou BacT/ALERT[®] sans charbon
- **Hybridation in situ:** Kit Yeast Traffic Light PNA Fish[®] : sondes fluorescentes spécifiques
identification à partir d'HMC < 3H (principales espèces)
- **Système de PCR multiplex sur lightcycler[®]:**
 - Septifast Test (Roche) : 25 micro-organismes différents (5 espèces *Candida*)

Etude de la sensibilité aux antifongiques

Techniques disponibles

-CLSI (Clinical And Laboratory Standards Institute)

-EUCAST(European Committee on Antimicrobial Susceptibility)



Technique	Principe	Avantages	Inconvénients
CLSI / EUCAST	Microdilution liquide	Méthode de Référence	Non commercialisée Lourd, CQ ++
CLSI	Diffusion en gélose (disques)	Méthode de Référence	lourd
Sensititre Yeast one	Microdilution liquide colorimétrique	Standardisée Commercialisée	Kit
Etest	Diffusion en gélose	Commercialisée Simple, Validée	Coût
VITEK2®	Microdilution semi liquide (carte AST-YS06)	automatisé standardisé rapide	Levure + Filamenteux -
Autres	Variable	Certaines commercialisées	Non validées

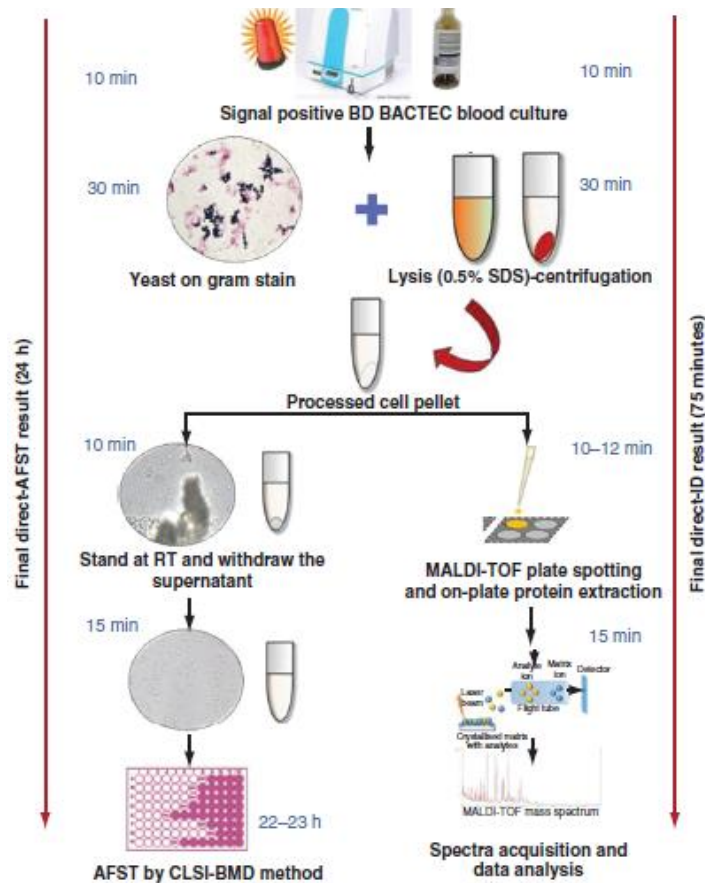
Nouvelles techniques: cytométrie en flux; spectrométrie de masse; IMC (isothermal microcalorimetry); plaque 4D

Identification and broth-microdilution antifungal susceptibility testing of yeast directly from automated blood cultures

Sourav Das¹, Yamini Tawde¹, Shreya Singh¹, Arunaloke Chakrabarti¹, Pallab Ray¹, Shivaprakash M Rudramurthy¹, Harsimran Kaur¹ & Anup Ghosh^{*1}

¹Department of Medical Microbiology, Postgraduate Institute of Medical Education & Research (PGIMER), Chandigarh, India

*Author for correspondence: anupkg3@gmail.com



Deux problèmes majeurs au cours de l'étude des résistances:

➡ Pas de valeurs seuils d'interprétation ou discordance entre les 2 standards CLSI et EUCAST

➡ Absence de corrélation in vitro/in vivo

Overview of antifungal ECOFFs and clinical breakpoints for yeasts, moulds and dermatophytes using the EUCAST E.Def 7.3, E.Def 9.4 and E.Def 11.0 procedures

Version 3.0, valid from 2022-01-18

Species	Drug	ECOFF (mg/L)	Clinical Breakpoints (mg/L)				Recommendation for area of technical uncertainty (ATU) results
		WT ≤	S ≤	I	R >	ATU	
<i>C. albicans</i>	Amphotericin B	1	1		1		
	Anidulafungin	0.03	0.03		0.03		
	Micafungin	0.016	0.016		0.016	0.03	If S to anidulafungin, report as S and add the following comment: Isolates susceptible to anidulafungin with micafungin MIC of 0.03 mg/L do not harbour an <i>fkx</i> mutation conferring resistance to the echinocandins. If not S to anidulafungin, report as R and refer to reference laboratory for <i>fkx</i> sequencing and confirmation of MICs.
	Fluconazole	0.5	2	4	4		
	Itraconazole	0.03	0.06		0.06		
	Posaconazole	0.06	0.06		0.06		
	Voriconazole	0.03	0.06	0.125-0.25	0.25		
	Isavuconazole	ND	ND		ND		
<i>C. dubliniensis</i>	Amphotericin B	0.25	1		1		
	Anidulafungin	ND					
	Micafungin	ND					
	Fluconazole	(0.5)*	2	4	4		
	Itraconazole	0.06	0.06		0.06		
	Posaconazole	0.06	0.06		0.06		
	Voriconazole	0.03	0.06	0.125-0.25	0.25		
	Isavuconazole	ND	ND		ND		
<i>C. glabrata</i>	Amphotericin B	1	1		1		
	Anidulafungin	0.06	0.06		0.06		
	Micafungin	0.03	0.03		0.03		
	Fluconazole	16	0.001	≤16	16		
	Itraconazole	2	ND		ND		
	Posaconazole	1	ND		ND		
	Voriconazole	1	ND		ND		
	Isavuconazole	ND	ND		ND		
<i>C. krusei</i>	Amphotericin B	1	1		1		
	Anidulafungin	0.06	0.06		0.06		
	Micafungin	0.25	ND		ND		
	Fluconazole	128	ND		ND		
	Itraconazole	1	ND		ND		
	Posaconazole	0.5	ND		ND		
	Voriconazole	1	ND		ND		
	Isavuconazole	ND	ND		ND		

Overview of antifungal ECOFFs and clinical breakpoints for yeasts, moulds and dermatophytes using the EUCAST E.Def 7.3, E.Def 9.4 and E.Def 11.0 procedures

Version 3.0, valid from 2022-01-18

Species	Drug	ECOFF (mg/L)	Clinical Breakpoints (mg/L)				Recommendation for area of technical uncertainty (ATU) results
		WT ≤	S ≤	I	R >	ATU	
<i>C. parapsilosis</i>	Amphotericin B	1	1		1		
	Anidulafungin	4	4		4		
	Micafungin	2	2		2		
	Fluconazole	2	2	4	4		
	Itraconazole	0.125	0.125		0.125		
	Posaconazole	0.06	0.06		0.06		
	Voriconazole	0.06	0.125	0.25	0.25		
	Isavuconazole	ND	ND		ND		
<i>C. tropicalis</i>	Amphotericin B	1	1		1		
	Anidulafungin	0.06	0.06		0.06		
	Micafungin	0.06	ND		ND		
	Fluconazole	1	2	4	4		
	Itraconazole	0.125	0.125		0.125		
	Posaconazole	0.06	0.06		0.06		
	Voriconazole	0.125	0.125	0.25	0.25		
	Isavuconazole	ND	ND		ND		
<i>C. guilliermondii</i>	Amphotericin B	(0.5)	ND		ND		
	Anidulafungin	ND	ND		ND		
	Micafungin	ND	ND		ND		
	Fluconazole	(16)	ND		ND		
	Itraconazole	(1)	ND		ND		
	Posaconazole	0.25	ND		ND		
	Voriconazole	ND	ND		ND		
	Isavuconazole	ND	ND		ND		
<i>C. lusitanae</i>	Amphotericin B	(0.5)	ND		ND		
	Anidulafungin	ND	ND		ND		
	Micafungin	ND	ND		ND		
	Fluconazole	ND	ND		ND		
	Itraconazole	(0.125)	ND		ND		
	Posaconazole	ND	ND		ND		
	Voriconazole	ND	ND		ND		
	Isavuconazole	ND	ND		ND		

Minimal Inhibitory Concentration Breakpoints for *In Vitro* Broth Dilution Susceptibility Testing of *Candida* spp. and Select Antifungal Agents After 24-Hour Incubation
M27M44S-Ed3, CLSI 2022

Antifungal Agent	Species	MIC Breakpoints and Interpretive Categories, µg/mL			
		S	I*	SDD†	R
Voriconazole ^{6,a}	<i>C. albicans</i>	≤0.12	0.25–0.5	–	≥1
	<i>C. glabrata</i> [#]	–	–	–	–
	<i>C. krusei</i>	≤0.5	1	–	≥2
	<i>C. parapsilosis</i>	≤0.12	0.25–0.5	–	≥1
	<i>C. tropicalis</i>	≤0.12	0.25–0.5	–	≥1
Fluconazole ^{5,e,f}	<i>C. albicans</i>	≤2	–	4	≥8
	<i>C. glabrata</i> ^{**}	–	–	≤32	≥64
	<i>C. krusei</i> ^{††}	–	–	–	–
	<i>C. parapsilosis</i>	≤2	–	4	≥8
	<i>C. tropicalis</i>	≤2	–	4	≥8
Rezafungin ^{i,j}	<i>C. albicans</i>	≤0,25	–	–	–
	<i>C. auris</i>	≤0,5	–	–	–
	<i>C. dubliniensis</i>	≤ 0,12	–	–	–
	<i>C. glabrata</i>	≤ 0,5	–	–	–
	<i>C. krusei</i>	≤ 0,25	–	–	–
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	–	–	–
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,25	–	–	–

**Patients suspects
de candidose
invasive**

```
graph TD; A[Patients suspects de candidose invasive] --> B[Difficultés de pratiquer des procédures invasives]; A --> C[Faible sensibilité des hémocultures];
```

**Difficultés de pratiquer
des procédures
invasives**

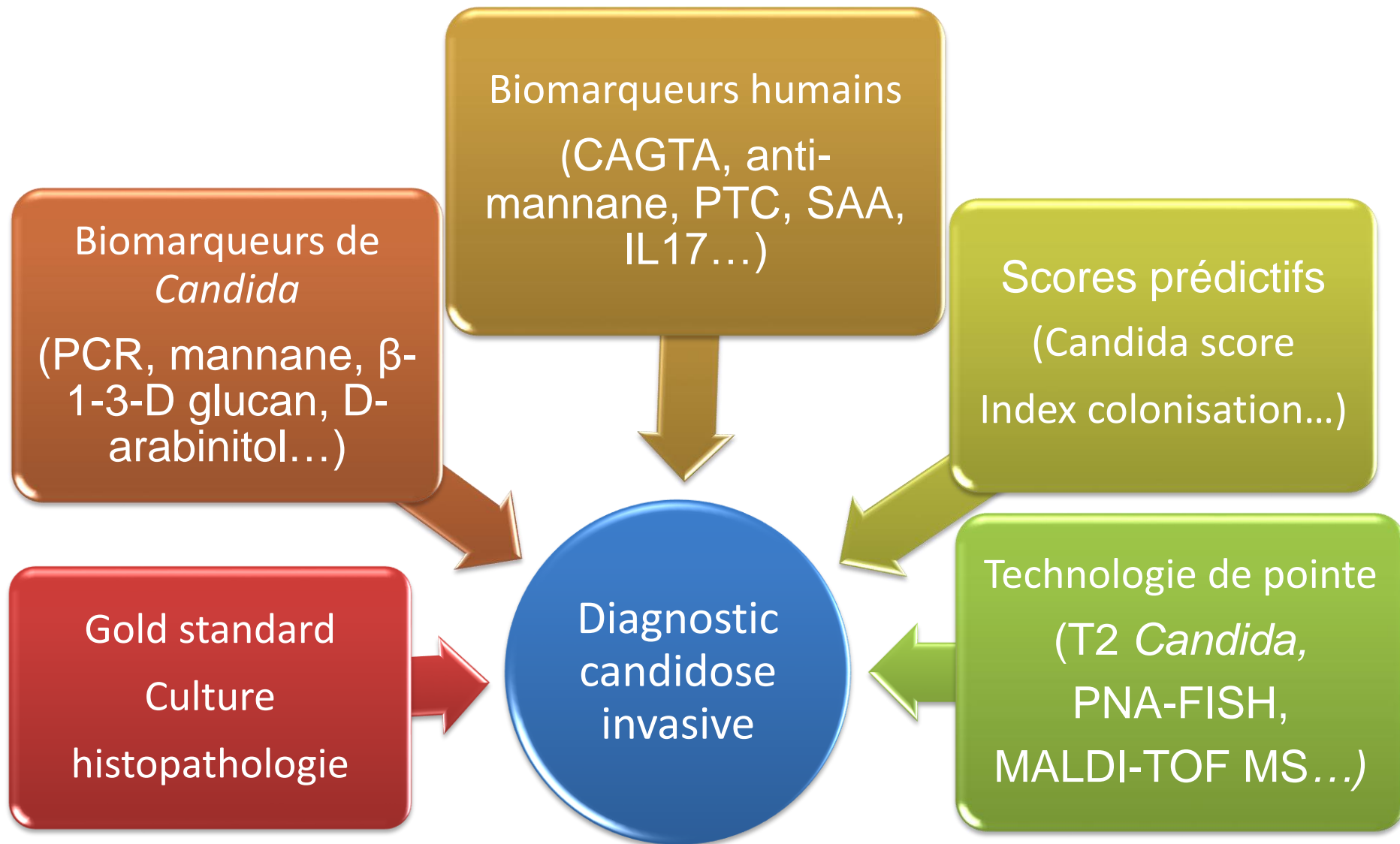
**Faible sensibilité
des hémocultures**

Finding the “Missing 50%” of Invasive
Candidiasis?

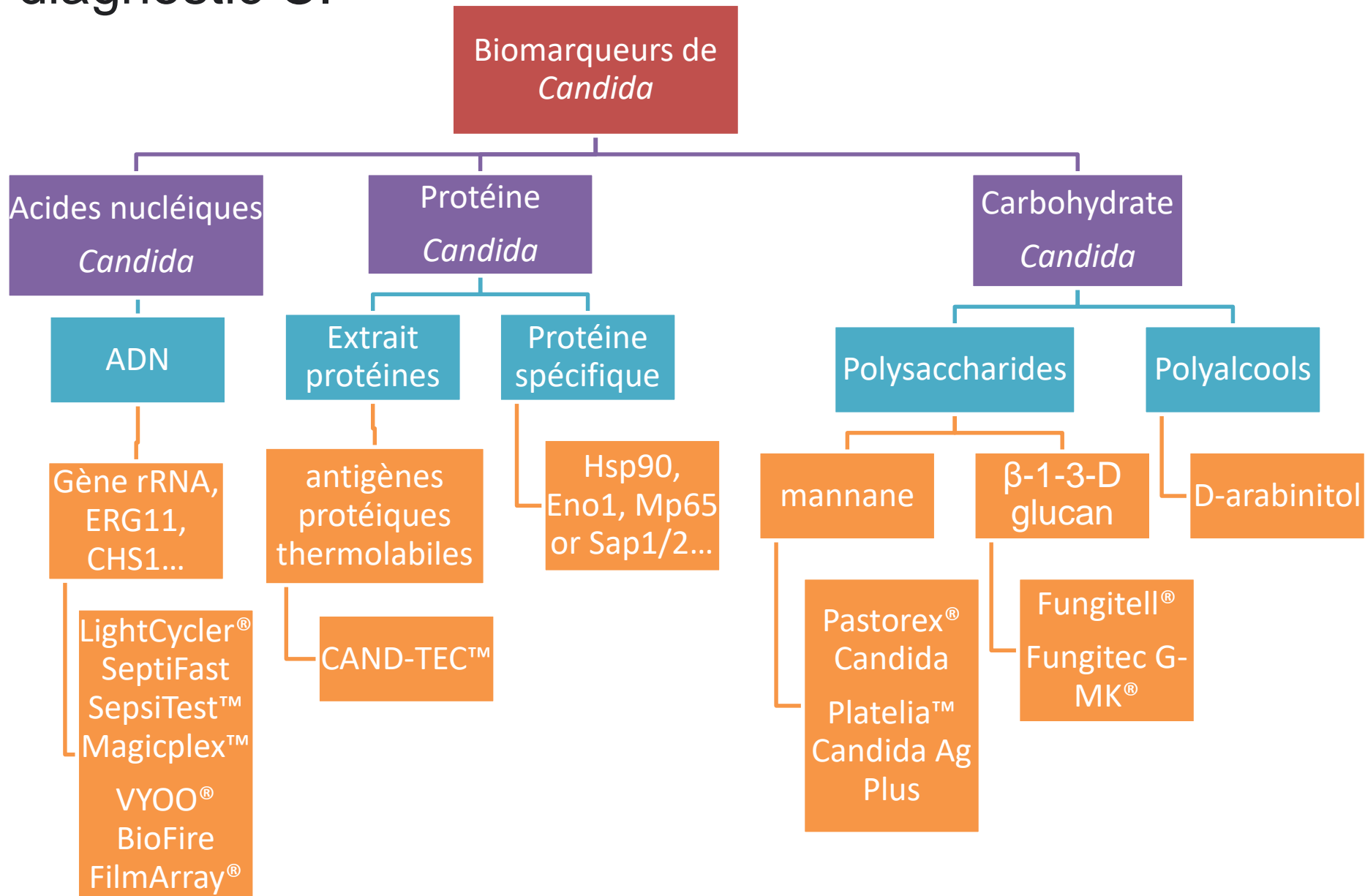


Non-culture Based Tests
NCBT

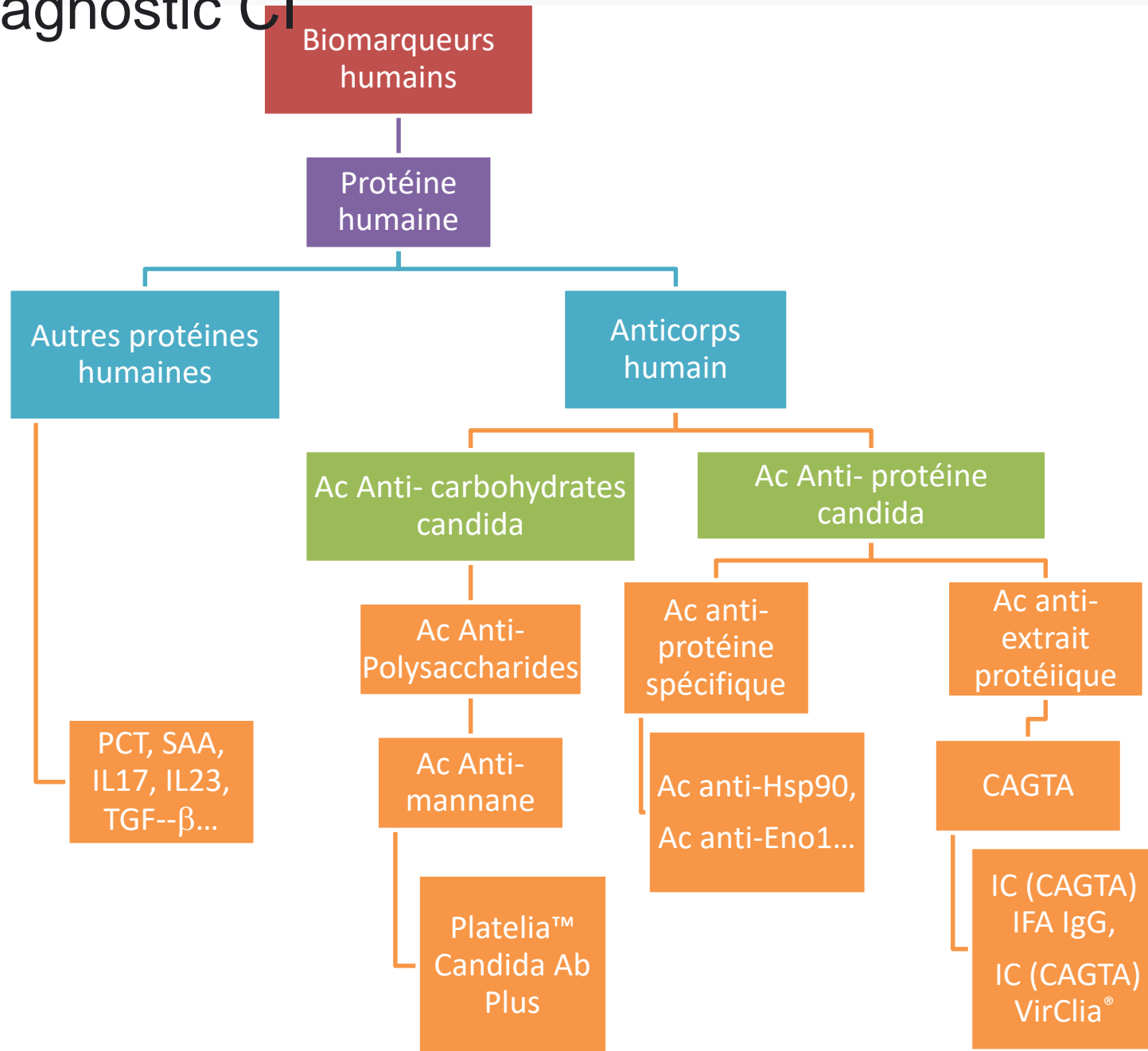
Quelles sont les méthodes disponibles pour le diagnostic CI



Quelles sont les méthodes disponibles pour le diagnostic CI



Quelles sont les méthodes disponibles pour le diagnostic CI



Scores prédictifs

Index de colonisation : Index de PITTET

- Index de colonisation: n de sites colonisés à *Candida* / n total sites testés : index ≥ 0.5
- Index de colonisation corrigé:

l'intensité de la colonisation des différents sites prélevés

index ≥ 0.4 : corrélée à la survenue d'une infection candidosique sévère

Candida score

Nutrition parentérale	1	SCORE > 2,5 risque de CI Se: 81 % Sp: 74% VPN: 98%
Chirurgie	1	
Colonisation à <i>Candida spp</i>	1	
Sepsis sévère	2	

Sen Spec PPV NPV

77.6 66.2 57.1 97.7

64.3 69.6 27.3 91.7

73.9 60.6 4.2 99.0

Candidemia

Invasive candidiasis

84.1 60.2 4.7 99.4

CS>3

Abdominal surgery
Sepsis, septic shock
Total parenteral nutrition
Multifocal *Candida* colonization

Pittet score

Candida colonization (CI>0,5; CCI>0,4)

Ostrosky-Zeichner

Central venous catheter plus >2:
Total parenteral nutrition
Hemodialysis
Pancreatitis
Corticosteroids
Immunosuppression

NMC

Total parenteral nutrition
Central venous catheter
Broad spectrum antibiotics
Steroids
Abdominal surgery



Development and Validation of a Risk Score for Predicting Invasive Candidiasis in Intensive Care Unit Patients by Incorporating Clinical Risk Factors and Lymphocyte Subtyping

OPEN ACCESS

Edited by:
Alessandro Russo,
Magna Graecia University, Italy

Reviewed by:
Neechi Apte,
Scynexis, United States
Fangma Guo,
Southwest University, China

Jiahui Zhang¹, Wei Cheng¹, Dongkai Li¹, Jianwei Chen¹, Guoyu Zhao¹,
Hao Wang^{2*} and Na Cui^{1*}

¹ Department of Critical Care Medicine, State Key Laboratory of Complex Severe and Rare Diseases, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing, China, ² Department of Critical Care Medicine, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing, China

TABLE 2 | Multiple logistic regression model and weighted point assignment.

Variables	β	P value	Exp (β)	Exp (β)(95%CI)	Weighted points
CD8 ⁺ T-cell counts ≤ 143 cells/mm ³	1.059	0.003	2.883	1.434-5.797	1
High-dose corticosteroids receipt	0.999	0.005	2.715	1.362-5.414	1
Carbapenem/Tigecycline	0.740	0.044	2.096	1.022-4.300	1
APACHE II score ≥ 15	1.091	0.014	2.978	1.260-7.037	1
BDG positive	0.863	0.012	2.370	1.207-4.654	1
Emergency GIT/HPB Surgery	1.701	0.005	5.482	1.667-18.026	2
Total parenteral nutrition	0.345	0.542	1.412	0.466-4.282	—

TABLE 3 | Distribution of the risk scores stratified by IC diagnosis in the development cohort.

Predictive score value	No IC (n=657, 93.5%)	IC (n=46, 6.5%)	Total (N=703)
0	59 (9.0)	1 (2.2)	60 (8.5)
1	161 (24.5)	1 (2.2)	162 (23.0)
2	227 (34.6)	6 (13.0)	233 (33.1)
3	127 (19.3)	10 (21.7)	137 (19.5)
4	57 (8.7)	15 (32.6)	72 (10.2)
5	25 (3.8)	5 (10.9)	30 (4.3)
6	1 (0.2)	7 (15.2)	8 (1.1)
7	0 (0.0)	1 (2.2)	1 (0.1)

Data are presented as No. (%).



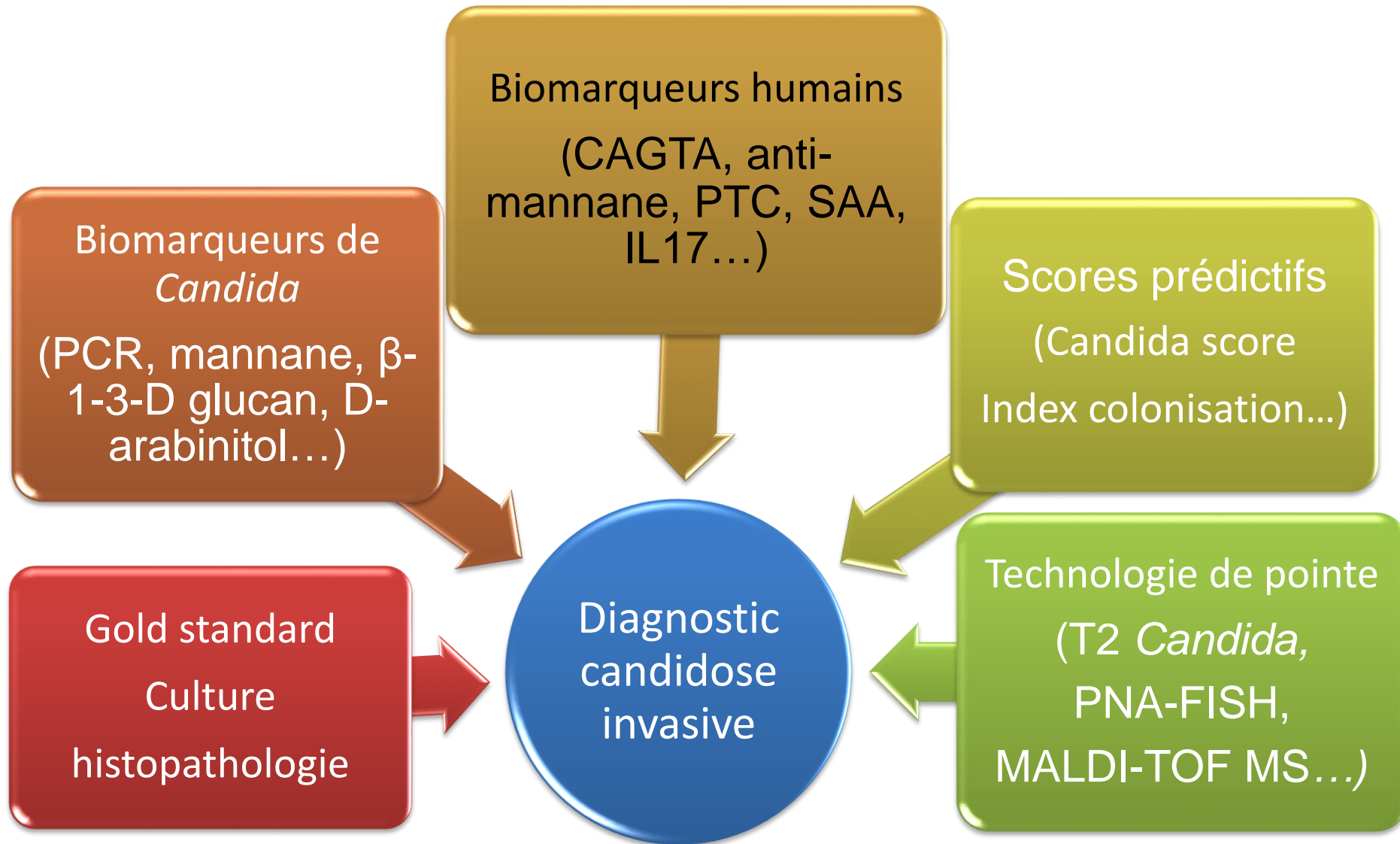
ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients

- Recommendations:

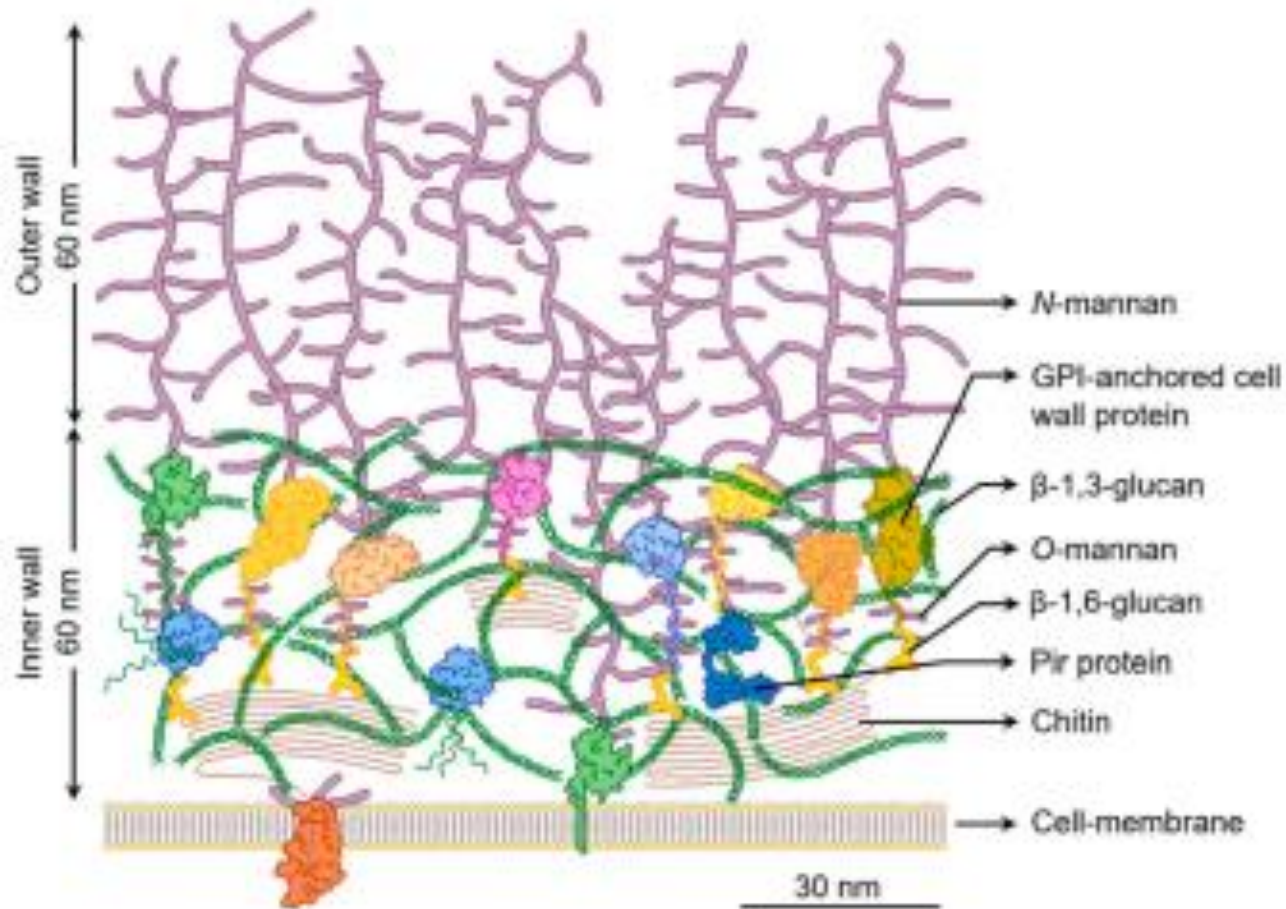
Risk prediction models, because of their simplicity and **high negative predictive** values, should be used **for identifying high-risk patient**

(Strong recommendation, low-quality evidence).

Quelles sont les méthodes disponibles pour le diagnostic CI



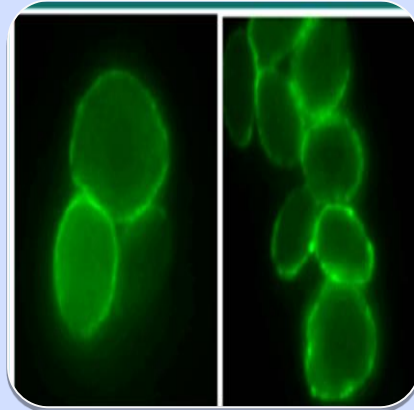
Recherche d'Ac anti- mannane



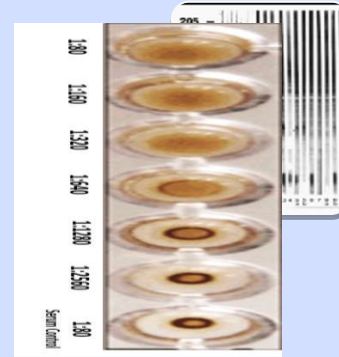
Structure de la paroi de *Candida albicans*



**Ac
précipitants
(Ag C
albicans
Biorad)**



**Blastospore
de C
albicans
(sur lame)**

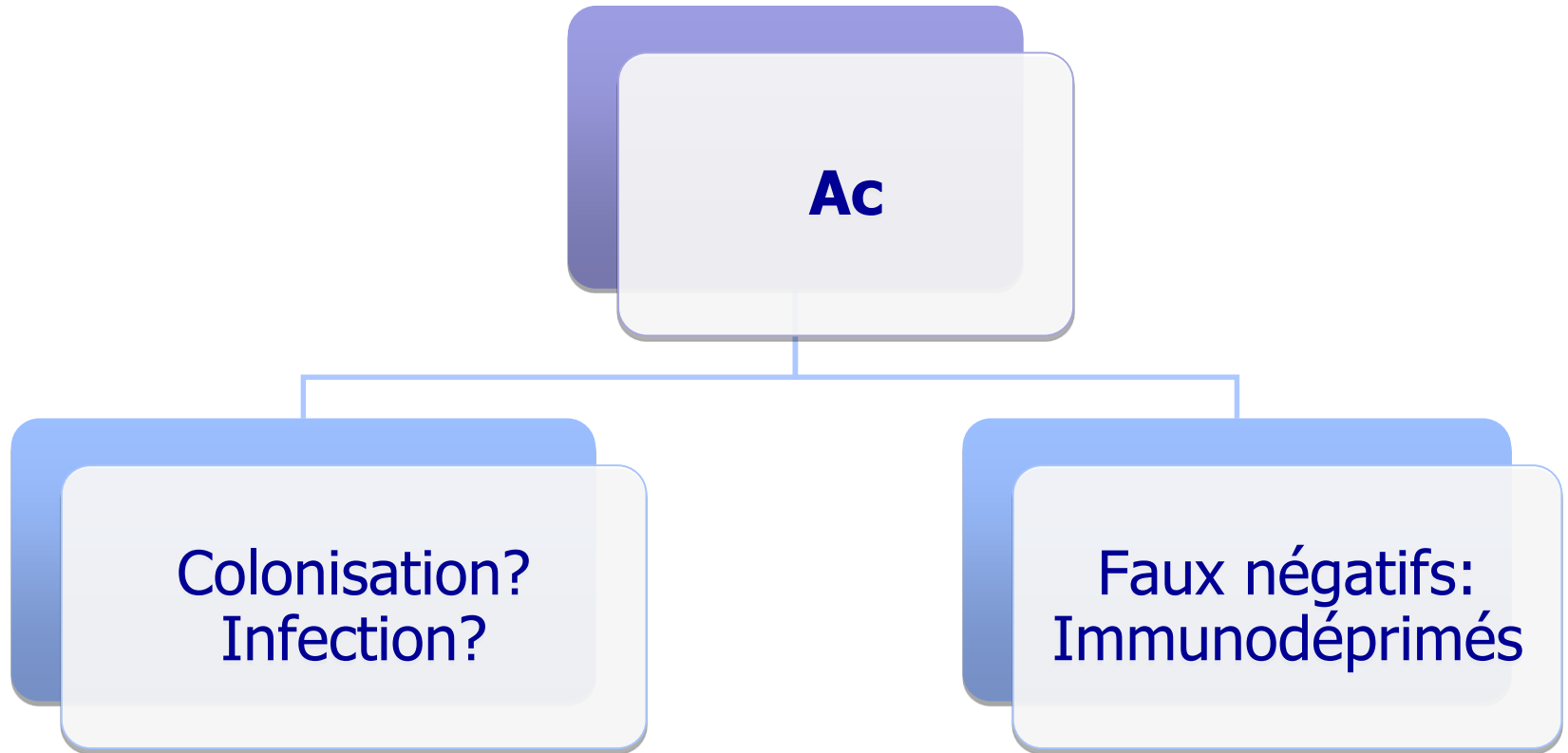


**HAI
fumouze**



**Ac anti-
mannane:
Platelia
Serion**

Détection des Ac: interprétation difficile



CAGTA

Candida albicans germ tube antibodies

INVASIVE CANDIDIASIS (CAGTA) IFA IgG (Ref. PCAALG)

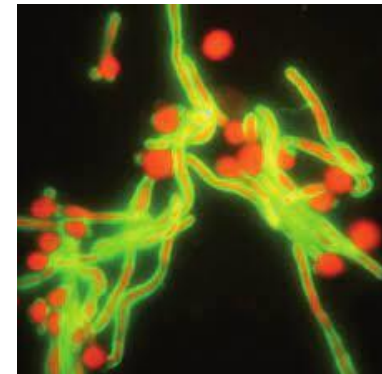
Indirect immunofluorescence assay for the diagnosis of invasive candidiasis by means of *Candida albicans* germ tube IgG antibodies* in human serum.

*specific antibodies against antigens located on the cell wall surface of the mycelium of *C. albicans* (known as CAGTA- *Candida albicans* germ tube antibody- in the scientific literature)

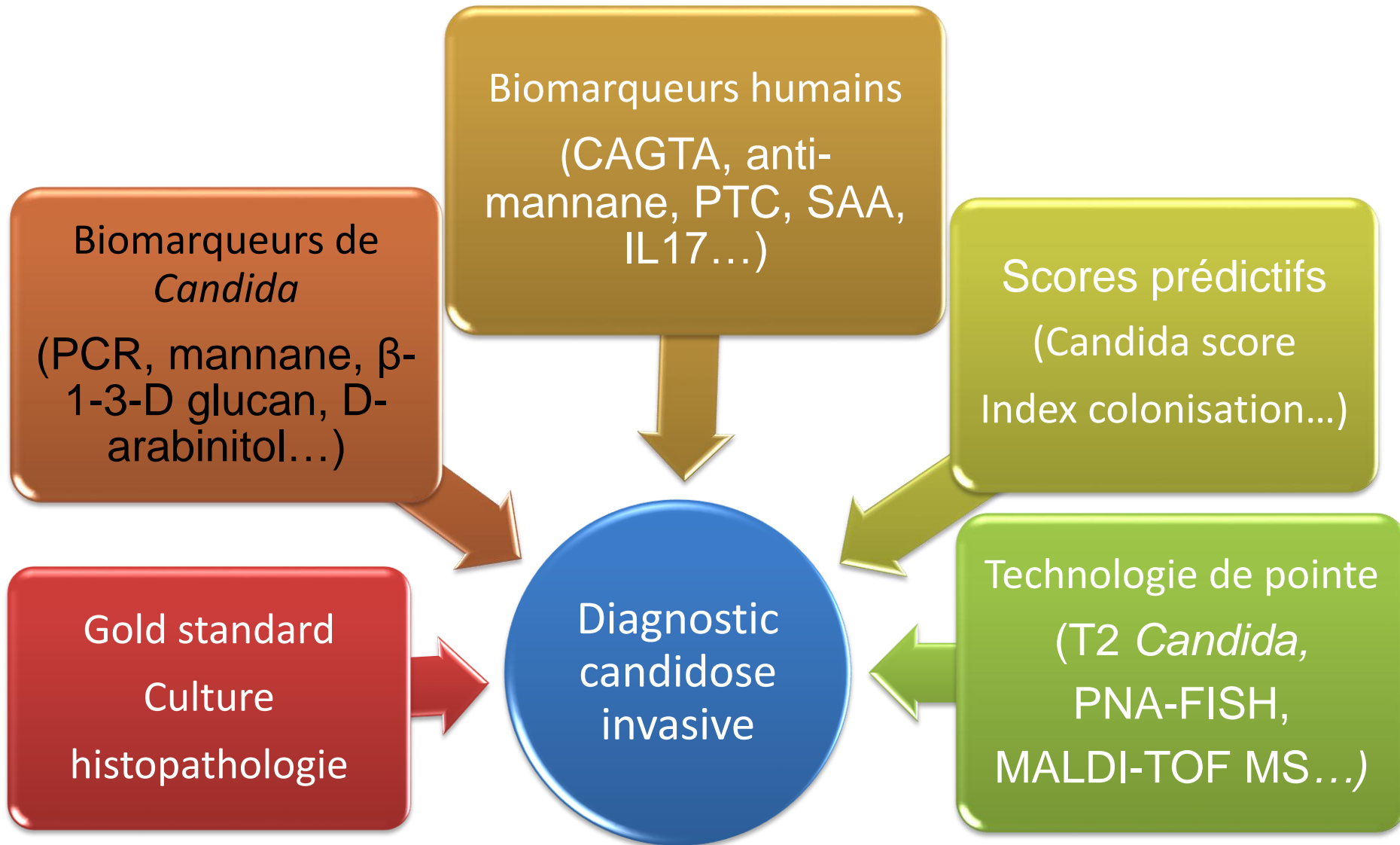


CE

- Détection d'Ac anti-tube germinatif
- Diagnostic précoce: résultats dans 2 heures
- Distinction entre infection et colonisation
- Surveillance du suivi thérapeutique
- Limite: faible sensibilité pour les espèces non- *C. albicans* : *C. glabrata*



Quelles sont les méthodes disponibles pour le diagnostic CI



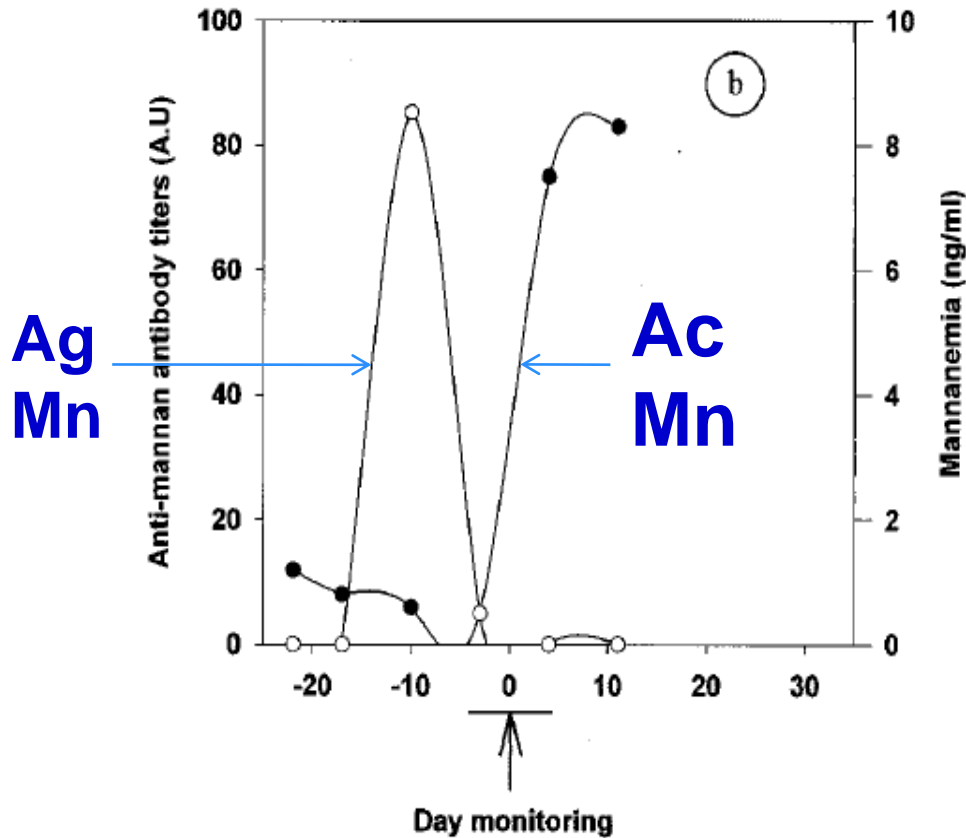
Recherche du mannane

Mannanes: Ag majeurs de la paroi de *Candida*

Plusieurs tests commercialisés tel que:

1. **Test Pastorex *Candida* Biorad**
2. **Platelia *Candida* Ag (Bio - Rad)**
3. **Test Serion ELISA Ag *Candida* (Virion/Serion)**
4. **Dynamiker TM**

Balance Ag/Ac



43 patients: 163 sérums
63 : Ac (+)
43 : Ag (+)
Seulement 5 : 2 tests (+)

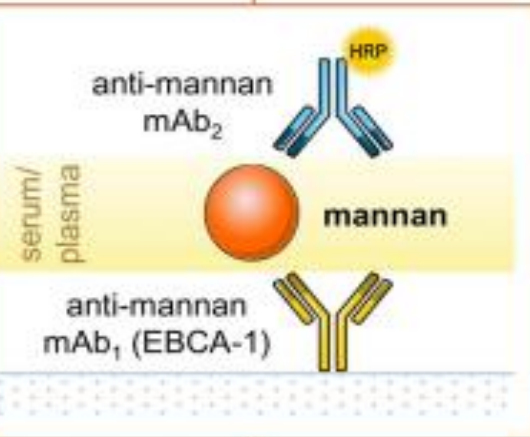
- Ag transitoire
- Cinétique Ag/ Ac: disparition Ag ; Apparition Ac

Recherche d'Ac et d'Ag

Combination of tests



**Candida mannan
(Ag) quantification**



Sandwich ELISA

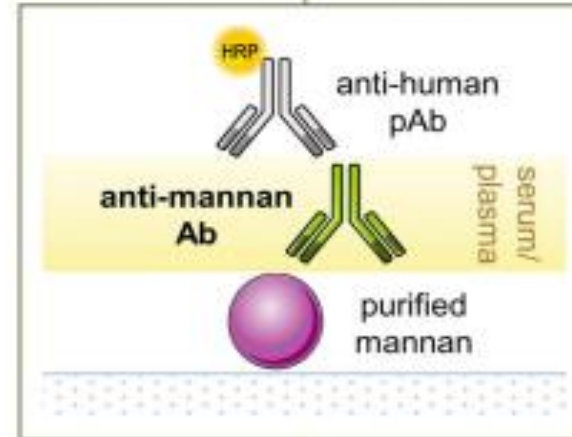
**Platelia™ Candida Ag Plus
(Bio-Rad Laboratories)**

**Se: 58%
Sp: 93%**

Se: 80%



**Human anti-mannan
(Ab) quantification**



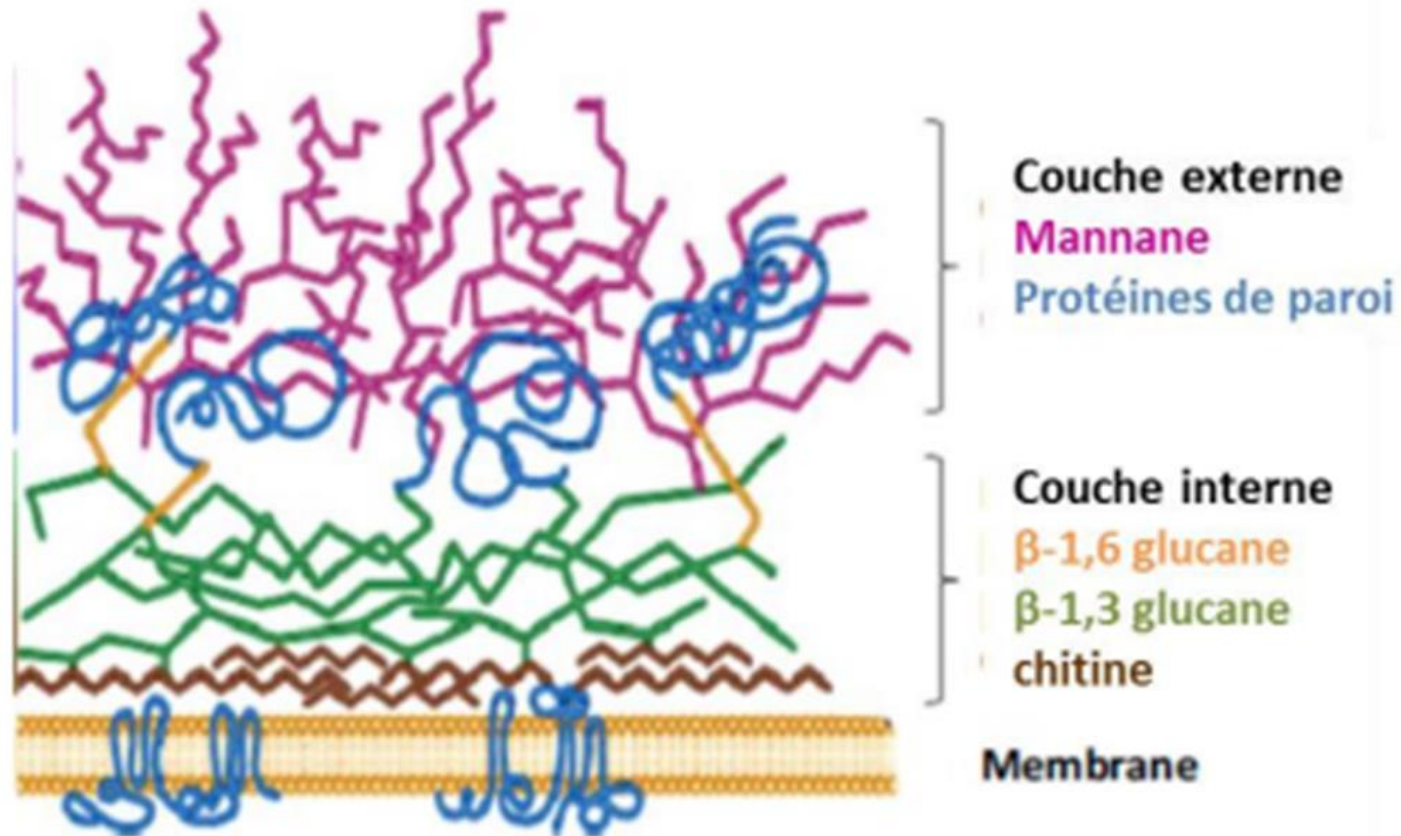
Indirect ELISA

**Platelia™ Candida Ab Plus
(Bio-Rad Laboratories)**

**Se: 59%
Sp: 83%**

Sp: 93%

Recherche de (1-3)- β - D glucanes



Structure de la paroi de *C. albicans*

Recherche de (1-3)- β - D glucanes

- Métabolite existant dans la paroi fongique
- Précoce: positif 10 jours avant le diagnostic clinique d'infection
- **Panfongique**
 - ✓ *Candida, P. jiroveci, Fusarium, Aspergillus, Saccharomyces, Acremonium*
Trichosporon, Histoplasma
 - ✓ Pas *Cryptococcus* et zygomycètes
- **EORTC 2019:** β -D-glucan (Fungitell) \geq 80 ng/L :
 - détecté dans au moins 2 échantillons de sérum
 - à condition que d'autres étiologies aient été exclues
- Coût++++

Détection de β D glucan : tests commercialisés

Test	Méthode	Valeur Cut-Off	Sensibilité	Spécificité
Fungitell	Colorimétrie	Intermédiaire 60–79 pg/mL Positive > 80 pg/mL	27–100%	0–100%
Fungitell STAT		Indéterminé 0.75–1.1 Positive ≥ 1.2	ND	ND
Glucatell	Colorimétrie	80 pg/mL	50–92%	41–94%
Wako Wako-EU	Turbidimétrie	11 pg/mL	50–86%	89–100%
FungitecG test ES Fungitec G test MKII	Colorimétrie	20 pg/mL	67–88%	60–85%
Dynamiker Fungus	Turbidimétrie	95 pg/mL	64–81%	78–80%

Quelques causes de résultats faussement positifs dans le test 1-3 β DG

- Contamination du matériel de laboratoire par des glucanes
- Bactériémie due à *Streptococcus* spp. ou *Enterococcus* spp ou certains bacilles à Gram négatif tels que *Pseudomonas* spp
- Contact avec des éponges chirurgicales et des gazes
- Patients hémodialysés avec des filtres contenant de la cellulose
- TTT IV par immunoglobulines, albumine ou facteurs de coagulation
- TTT IV avec des ATB tels que l'amoxicilline-clavulanique ou la pipéracilline-tazobactam.
- TTT antinéoplasiques avec Lentinane ou Polysaccharide k
- Mucite sévère
- Perturbation du tractus gastro-intestinal : chirurgie abdominale majeure, ischémie intestinale, brûlures
- Maladie hépatique en phase terminale
- Hémolyse

Quelques causes de résultats faussement négatifs dans le test 1-3 β DG

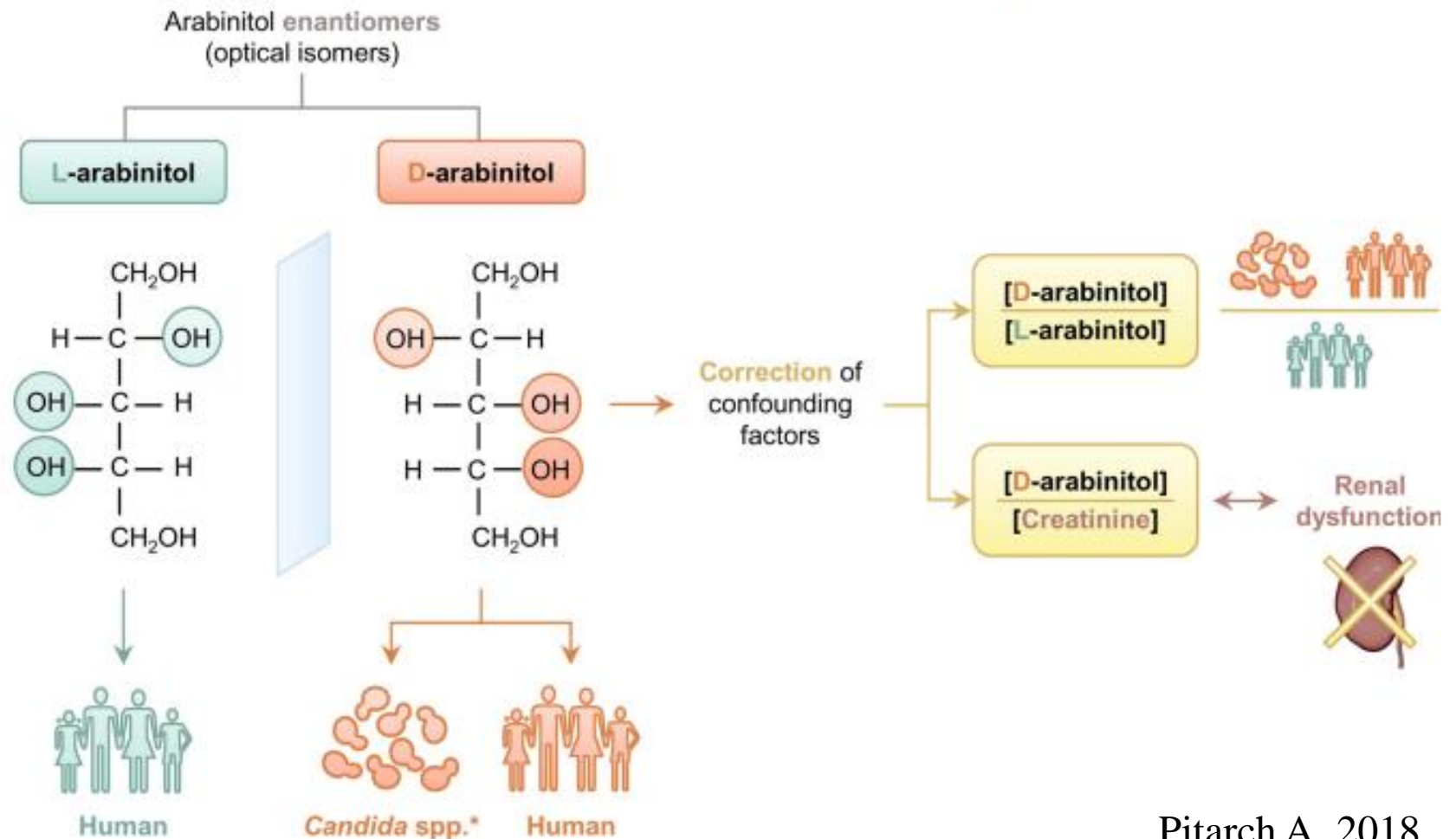
- Sérums hyperpigmentés (bilirubine, triglycérides)
- Traitement antifongique (prophylaxie, empirique)
- Azithromycine ou pentamidine IV
- Sites sanctuaires ou sites d'infection mal vascularisés
- *Candida parapsilosis* ou *Candida auris*

Recherche d' Ag cytoplasmique: énoïase

- **Western blot (bande 48 kDa)**
- **Sensibilité: 71,8 à 75 %.**
- **Spécificité: 96 - 100 %.**
- **Mais:**
 - **développement commercial limité**
 - **coût est très élevé**

Recherche de métabolites: D-arabinitol

- Détection: Chromatographie à gaz ou Elisa
- Elisa+++ (D-arabinitol déshydrogénase de *C. tropicalis* ou de *C. albicans*)
- Urines ou sérum



PCR

PCR

Indépendante
du statut
immunitaire

≠Ac

Cellules
mortes

Non MEE par
culture

Mauvaise
conservation.....

TTT ATF
antérieur

PCR

- PCR « in house »: études++ ⇒

standardisation avant recommandations

- Délai d'exécution rapide : les résultats de PCR précèdent les résultats d'hémoculture positifs d'une durée de 0,5 à 8 jours
- Résultats prometteurs de certaines méthodes plus récentes
- Incapacité à détecter toutes les espèces de *Candida*
- Coût+++++

List of commercially available PCR-based assays for detection of *Candida* spp.

Product	Manufacturer	Method	PCR TARGET* and species detected
AusDiagnostics Sepsis panel	AusDiagnostics Pty Ltd., Mascot, NSW, Australia	Multiplex tandem PCR	ITS1 or ITS2 regions <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i>
CandID [®] and AurisID [®]	OlmDiagnostics, Newcastle, United Kingdom	Multiplex real-time PCR	Target unknown <i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i> <i>Candida auris</i>
FilmArray Blood Culture Identification (BCID) Panel ¹	BioFire Diagnostics, Salt Lake city, Utah, United States	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i>
FungiPlex [®] Candida and FungiPlex [®] Candida auris	Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown <i>Candida</i> spp. (<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. tropicalis</i>), <i>C. glabrata</i> , and <i>C. krusei</i> <i>Candida auris</i>
Magicplex Sepsis Real-Time Test	Seegne, Seoul, South Korea	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i> (and <i>A. fumigatus</i>)
MycoReal Candida	Ingenetix, Vienna, Austria	Real-time PCR with melt curve analysis	ITS2 region <i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitanae</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i>
SeptiFast Real-Time PCR	Roche Diagnostics, Mannheim, Germany	Multiplex real-time PCR assay	Target unknown* <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , and <i>C. tropicalis</i>
SepsiTest-UMD	Molzylm Molecular Diagnostics, Bremen, Germany	PCR and Sanger sequencing	18S rDNA All fungal species
T2Candida	T2 Biosystems, Lexington, MA, United States	T2 magnetic resonance	ITS2 region <i>C. albicans</i> / <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i> complex/ <i>C. krusei</i> , and <i>C. parapsilosis</i> complex
Sepsis Flow Chip	Master Diagnostica, Granada, Spain	Multiplex PCR with automated reverse dot blot hybridization	Target unknown* <i>C. albicans</i> , <i>Candida</i> spp.

*PCR target where specified by the manufacturer. ¹Requires a positive blood culture.

SeptiFast®

- Multiplex-real-time PCR: sang
 - 19 Bactéries
 - *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*
 - *A. fumigatus*.
- Sensibilité: 68%; spécificité:86%

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

Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium

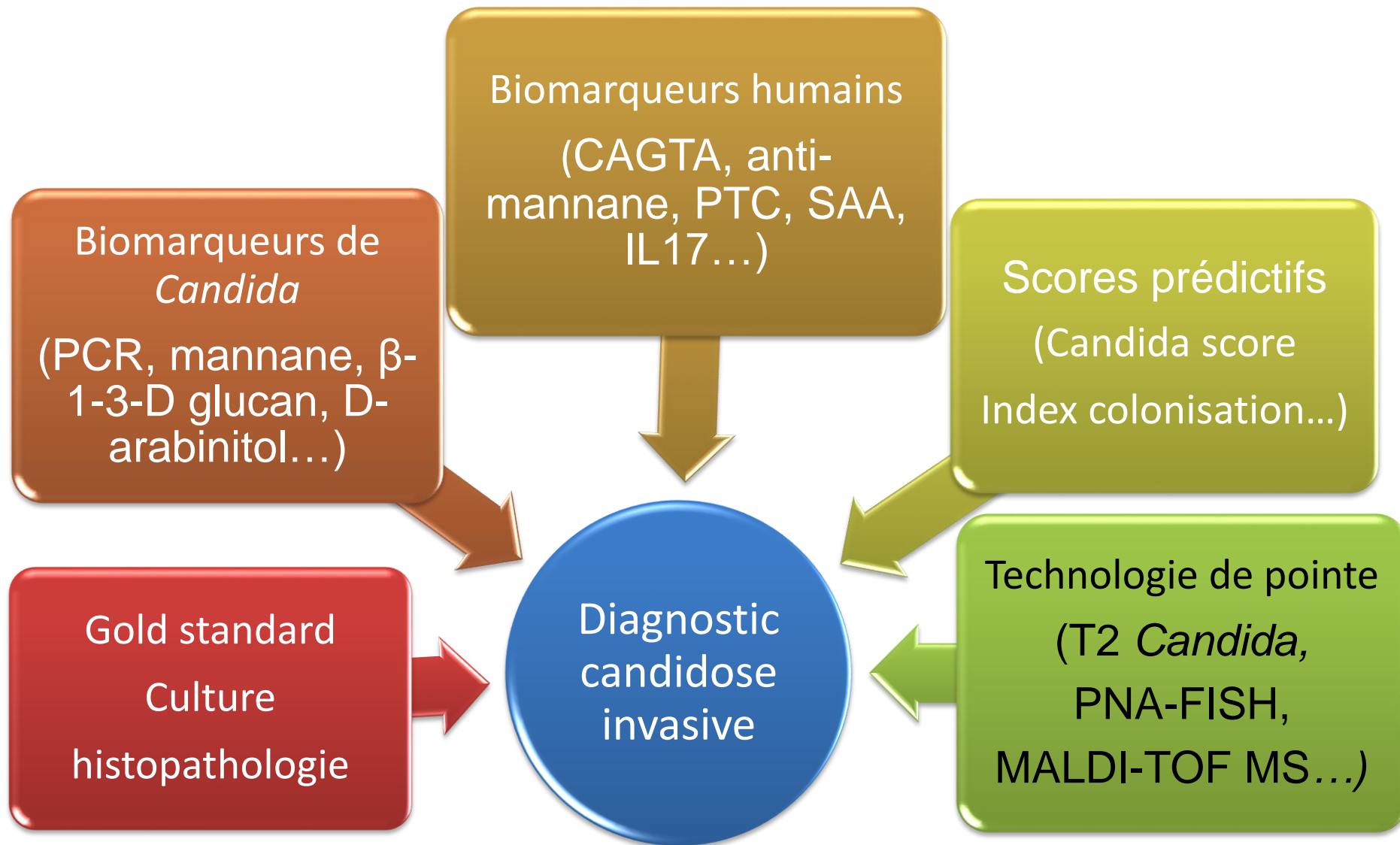
Table 1. Criteria for Proven Invasive Fungal Disease

Fungus	Microscopic Analysis: Sterile Material	Culture: Sterile Material	Blood	Serology	Tissue Nucleic Acid Diagnosis
Yeasts ^a	Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy from a normally sterile site (other than mucous membranes) showing yeast cells, for example, <i>Cryptococcus</i> species indicating encapsulated budding yeasts or <i>Candida</i> species showing pseudohyphae or true hyphae ^d	Recovery of a yeast by culture of a sample obtained by a sterile procedure (including a freshly placed [<24 hours ago] drain) from a normally sterile site showing a clinical or radiological abnormality consistent with an infectious disease process	Blood culture that yields yeast (eg, <i>Cryptococcus</i> or <i>Candida</i> species) or yeast-like fungi (eg, <i>Trichosporon</i> species)	Cryptococcal antigen in cerebrospinal fluid or blood confirms cryptococcosis	Amplification of fungal DNA by PCR combined with DNA sequencing when yeasts are seen in formalin-fixed paraffin-embedded tissue

Amplification of fungal DNA by **PCR combined with DNA sequencing**, but only when fungal elements are seen by histopathology.

PCR would add value by allowing identification of the fungus to genus and possibly species levels.

Quelles sont les méthodes disponibles pour le diagnostic CI



T2-Candida

- T2-Candida: plateforme automatisée de multiplex PCR

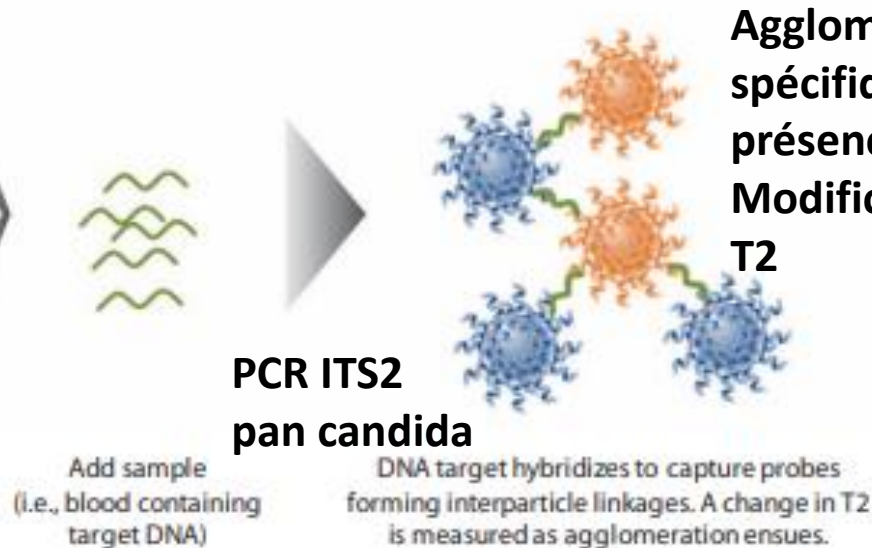
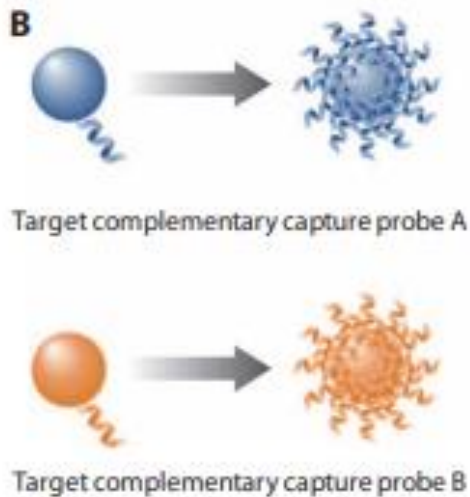
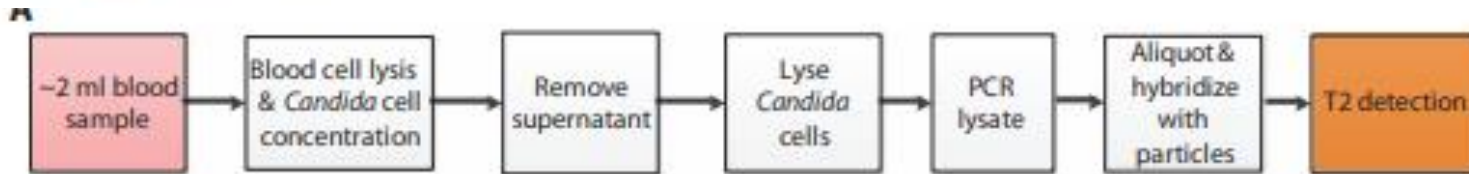
- Détection: 5 espèces:

C. albicans / *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* / *C. krusei*

(*Pichia kudriavzevii*)

- Directement du sang total: **réduisant** ainsi le temps nécessaire à l'obtention d'un résultat positif à **3-5 heures** (contre une soixantaine pour une HC).
- Sensibilité: **88-94%**
- Spécificité: **93-98%**
- NPV (80%–100%)

T2 Candida: Quel est le principe? Nanoparticules (NP) couplées à la PCR



NP superparamagnétiques
couplées à des sondes
spécifiques d'espèce

T2-Candida

AVANTAGES	LIMITES
Indépendant de la collecte des HC	Pas encore prouvé qu'il réduisait de manière significative la mortalité ou la durée de séjour
Limites de détection basses 1CFU/mL	Performances réduites lors de la détection d'une CI profonde chez les patients sans candidémie
Délai d'exécution rapide	Temps et coût nécessaires pour valider les tests et former le personnel
Sensibilité, spécificité et VPN élevées	VPP faibles, population cible incertaine
Totalement automatisé, nécessitant peu de temps de manipulation	Performances réduites en cas d'utilisation sur des échantillons préalablement congelés
Aspect médico-économique: Durée d'hospitalisation réduite Utilisation d'ATF plus adapté, moins de résistance et moins d'EI Durée d'utilisation réduite de l'ATF Baisse de la mortalité Moins de TTT chez les non infectés TTT plus précoce chez les infectés	Ne remplace pas les hémocultures: Déecte seulement 5 types de <i>Candida</i> Ne fournit pas de données de sensibilité aux ATF
Peut tester jusqu'à 7 échantillons à la fois	Actuellement validé pour une utilisation uniquement sur des échantillons de sang total

MALDI-TOF

- Utilisation de la spectrométrie de masse **MALDI-TOF** afin de détecter la présence d'un disaccharide particulier, **le tréhalose**, dans le sérum de patients atteints de candidose invasive.
- Les premiers résultats montrent que cette technique permet un **diagnostic précoce** des candidoses invasives (avant les résultats d'hémoculture), et que la détection au long cours de ce disaccharide était signe de mauvais pronostic

Techniques	Se %	Sp %	Avantages	Inconvénients
1,3-β-D-glucane (sérum)	51-100	30-98	Précoce VPN élevée si prévalence de CI modérée Intérêt dans CIA	Non spécifique des <i>Candida</i> . Nécessité de confirmer un résultat positif. Faux positifs
Mn/anti -Mn (sérum, LCS)	79-87	80-90	Spécifique des <i>Candida</i> spp. Précoce, VPN élevée Intérêt dans CHS et candidoses du SNC	Sensibilité dépendante de l'espèce <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> et <i>C. glabrata</i> (58-70 %), <i>C. parapsilosis</i> et <i>Pichia kudriavzevii</i> (ex- <i>C. krusei</i>) (25-30 %)
CAGTA (sérum)	42-96	54-100	VPP élevée dans candidémie associée à une infection profonde	Études cliniques limitées
PCR à partir d'hémocultures positives	95-100 pour <i>C. albicans</i> 80-90 pour les espèces non- <i>albicans</i>	95-99	Bonne sensibilité (charge fongique élevée) Résultat rapide permettant d'adapter immédiatement le choix du traitement ATF	Certaines trousse ne détectent que <i>C. albicans</i> ou un nombre limité d'espèces (<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>Pichia kudriavzevii</i> [ex- <i>C. krusei</i>])
PCR à partir de sang ou sérum ou plasma	36-91	80-100	Sensibilité parfois insuffisante (charge fongique faible) ;	Absence de standardisation de l'étape d'extraction d'ADN. Certaines trousse ne ciblent que <i>C. auris</i> , d'autres sont multiplex avec un panel défini d'espèces détectées et encore d'autres trousse sont panfongiques : attention à être clair dans le compte-rendu de ce qui est détecté par la technique.



Mycology

Performance of *Candida albicans* germ tube antibodies (CAGTA) and its association with (1 → 3)-β-D-glucan (BDG) for diagnosis of invasive candidiasis (IC)

Pietro Pini ^{a,b,c}, Bruna Colombari ^a, Enrico Marchi ^{a,c}, Anna Castagnoli ^{a,c}, Claudia Venturelli ^b, Mario Sarti ^d, Elisabetta Blasi ^{a,b,*}

^a Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia

^b Azienda Ospedaliero-Universitaria, Policlinico di Modena, Italia

^c Scuola di Specializzazione in Microbiologia e Virologia, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia

^d Azienda Unità Sanitaria Locale, Ospedale Civile Sant'Agostino Estense, Modena, Italia

Table 3

Performance of BDG and CAGTA by a subgroup analysis.

Parameters	Test result % (95% CI) [no. of samples with result ^a /total no. of tested samples]		
	BDG	CAGTA	BDG or CAGTA positive
Sensitivity in samples from:			
<i>C. albicans</i> IC	92.9 (66.1–99.8) [13/14]	85.7 (57.2–98.2) [12/14] [*]	100.0 (76.8–100.0) [14/14]
Non- <i>albicans</i> IC	90.9 (58.7–99.8) [10/11]	9.1 (0.2–41.3) [1/11] [*]	90.9 (58.7–99.8) [10/11]
Sensitivity in samples from:			
Deep-seated candidiasis	91.7 (61.5–99.8) [11/12]	66.7 (34.9–90.1) [8/12]	100.0 (73.5–100.0) [12/12]
Non-deep-seated candidiasis	88.2 (63.6–98.5) [15/17]	41.2 (17.8–64.6) [7/17]	94.1 (71.3–99.9) [16/17]
Specificity in samples from:			
Colonized patients	58.3 (27.7–84.8) [7/12]	83.3 (51.6–97.9) [10/12]	58.3 (27.7–84.8) [7/12]
Non-colonized patients	87.5 (61.7–98.4) [14/16]	93.8 (69.8–99.8) [15/16]	81.3 (54.4–96.0) [13/16]

^a Number of samples with true result with respect to each tested parameter.

^{*} *P* value = 0.000213.

La combinaison des tests dans le diagnostic des candidoses invasives peut améliorer l'utilité clinique et les performances de ces tests.

NCBT : Impact sur la PEC des CI

Initiation de l'ATF préemptif

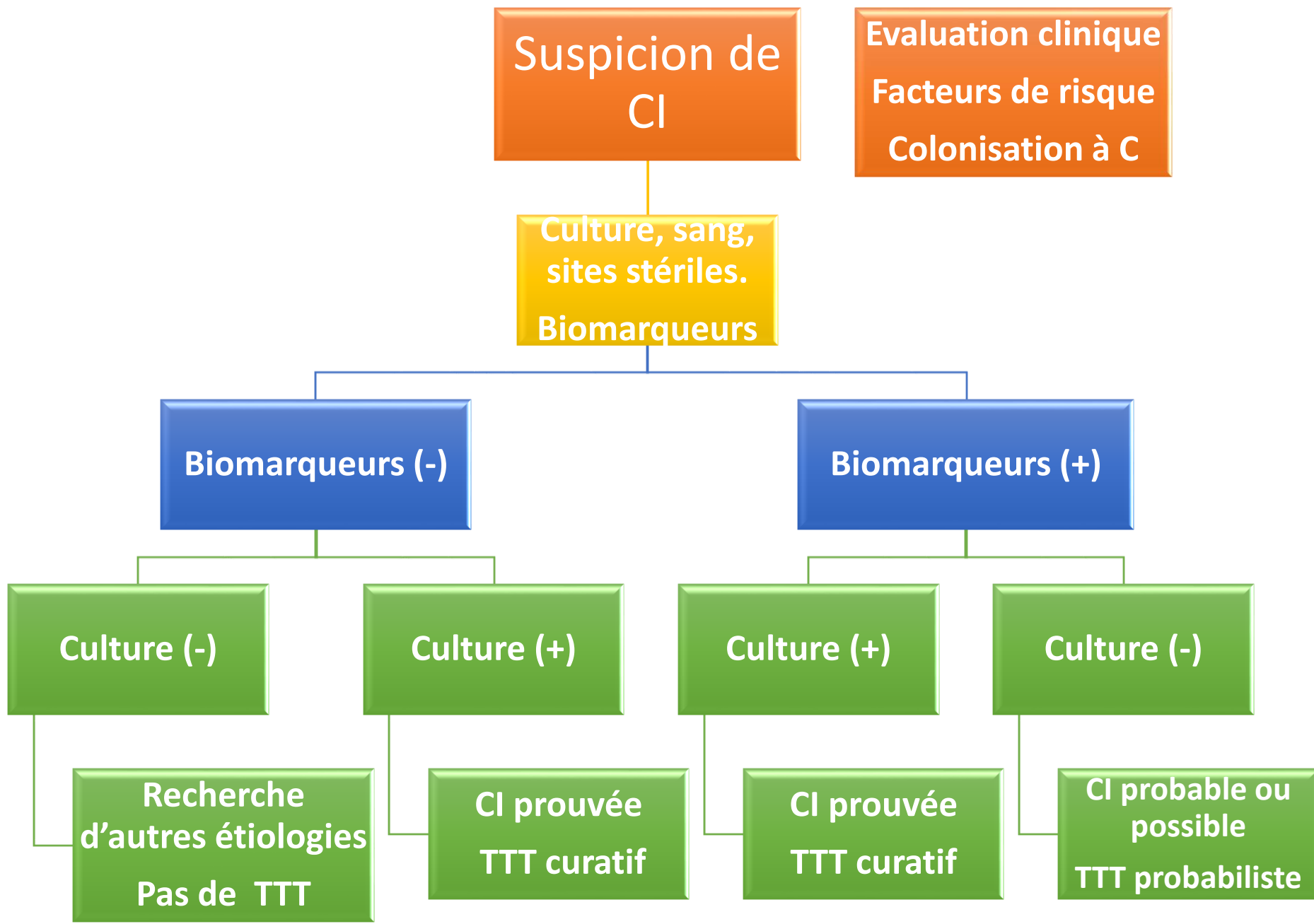


```
graph TD; A[Initiation de l'ATF préemptif] --> B[Interruption de l'ATF empirique]; B --> C[Le suivi clinique et le pronostic];
```

Interruption de l'ATF empirique

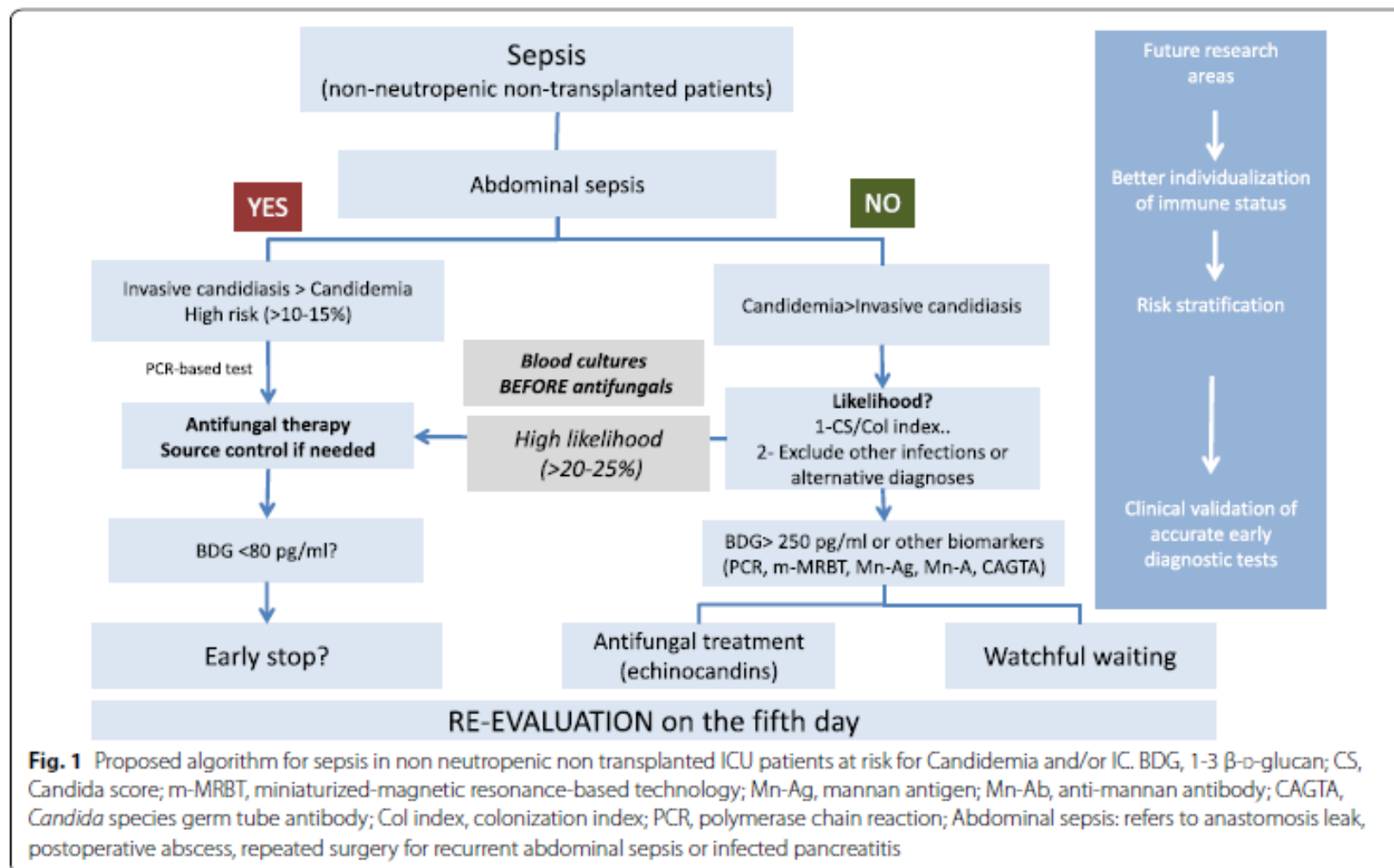
Le suivi clinique et le pronostic

Proposition d'une démarche diagnostique pour les CI





ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients



Immunogénétique pour la médecine de précision

- Des études génomiques récentes ont révélé de nouveaux facteurs d'hôtes pour la CI:
- ✓ Association significative entre la candidémie et les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) dans les locus CD58, LCE4A et TAGAP
- ✓ La combinaison de 2 allèles dangereux ou plus a entraîné une augmentation de 19,4 fois du risque de candidémie
- L'évaluation des facteurs de l'hôte pour la CI avec la génomique humaine peut améliorer le diagnostic et estimer les patients nécessitant une prophylaxie.

Déterminants de la thérapie personnalisée

- Au cours des 5 à 10 prochaines années, le développement rapide de l'immunogénétique fongique générera probablement des outils cliniques de sélection des patients les plus à risque de *Candida* spp. pour vaccination ou TTT ATF prophylactique lors de l'admission aux soins intensifs.
 - De même, des traits immunogénétiques ont été associés à une candidémie persistante et à des résultats défavorables chez les patients en soins intensifs une fois qu'ils ont contracté une CI.
- ↳ Ces connaissances orienteront probablement le recours à l'immunothérapie d'appoint mais aussi au TTT ATF au long cours ou à une surveillance renforcée.

Conclusions

- Le diagnostic des candidoses invasives est un challenge, en particulier chez l'hôte immunodéprimé.
- Les tests "gold standard" : la microscopie et les cultures, ont des limites en termes de sensibilité, de délai de positivité et de difficulté à obtenir des échantillons invasifs.
- L'utilisation des NCBT est recommandée en conjonction avec les méthodes conventionnelles pour améliorer le rendement diagnostique.

Conclusions

- Les biomarqueurs constituent un complément prometteur pour le diagnostic précoce de CI, mais leur application, leurs performances techniques et leur interprétation ne sont pas simples/uniformes dans tous les contextes :
- ➡ Les utilisateurs doivent être conscients des forces et des faiblesses respectives.
- Une combinaison prudente de scores de prédiction clinique et de biomarqueurs fongiques devrait guider l'initiation et l'interruption d'un traitement antifongique précoce afin d'atténuer l'exposition inutile aux antifongiques.

Conclusions

- Il existe actuellement une insuffisance dans les techniques de diagnostic sensibles et précises approuvées.
- Les technologies « omics » semblent être prometteuses, mais nécessitent un développement et des études supplémentaires.

How to treat invasive candidiasis

