



available at www.sciencedirect.com



journal homepage: <http://france.elsevier.com/direct/REAURG/>



MISE AU POINT

Antigènes fongiques en réanimation : tests disponibles et état des lieux

Fungal antigens in intensive care units: available assays and current uses

S. Bretagne

Laboratoire de parasitologie-mycologie, hôpital Henri-Mondor, 51, avenue de Maréchal-De-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil, France

Centre national de référence de mycologie et des antifongiques, Institut Pasteur, Paris, France

Disponible sur internet le 16 mars 2007

MOTS CLÉS

Antigènes fongiques ;
Galactomannane ;
Mannane ;
Glucane ;
Réanimation

Résumé De nombreux tests sérologiques essayent de pallier les insuffisances des méthodes microbiologiques de diagnostic des infections fongiques. Plusieurs antigènes ont été évalués : le galactomannane (GM) pour le diagnostic des infections aspergillaires, le mannane (Mn) pour les infections à levures, le β -glucane (β G) pour l'ensemble des infections fongiques, et l'antigène capsulaire de *Cryptococcus neoformans*. Les performances de ces tests sont en général satisfaisantes lorsque des collections de sérums de situations cliniques bien individualisées sont utilisées. En revanche, lors d'études prospectives, les performances sont nettement moins bonnes. Cela souligne la difficulté à homogénéiser les populations de malades et à standardiser les définitions d'infections fongiques. Pour le GM, les acquis de l'oncohématologie peuvent être utilisés en réanimation lorsque des patients immunodéprimés sont hospitalisés. Pour le Mn, les espoirs reposent sur une recherche associée à celle des anticorps anti-Mn. Le gain par rapport à une surveillance microbiologique des sites colonisés à levures n'est pour l'instant pas démontré. Pour le β G, il semble que son meilleur atout soit sa valeur prédictive négative en raison des difficultés à distinguer les infections fongiques des infections bactériennes en cas de positivité. En dehors de l'antigène capsulaire cryptococcique, un dosage isolé est en général insuffisant pour porter un diagnostic positif et doit être répété dans une stratégie de surveillance des patients à risque.

© 2007 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Fungal antigens;
Galactomannan;

Abstract Numerous serological assays try to supply the pitfalls of microbiological diagnostic methods for fungal infections. Several antigens have been assessed: the galactomannan (GM), the mannan (Mn), the β -glucan (β G), and the capsular antigen for the diagnosis of invasive aspergillosis, yeast infections, all the fungal infections, and the *Cryptococcus neoformans*

Adresse e-mail : stephane.bretagne@hmn.aphp.fr (S. Bretagne).

Mannan;
Glucan;
Intensive care unit

infection respectively. The performance characteristics of these assays are usually satisfactory when serum samples collected in well defined clinical settings are used. In contrast, the results of prospective studies are often disappointing. This underlines the difficulty in standardizing the patient populations and the definitions of fungal infections. For the GM assay, the conclusions obtained in onco-hematology can be used for immunocompromised patients hospitalized in intensive care units. For the Mn assays, the hope relies on the simultaneous detection of both antigen and antibodies. The advantage over the microbiological screening for yeasts of different anatomical sites remains to be demonstrated. For the BG assay, its best interest seems to be its negative predictive value as bacterial and fungal infections are hardly distinguished when the test is positive. Excepted for the capsular cryptococcal antigen, a single test is usually not contributive for any of the assays, which should be implemented as a screening test for patients at risk for fungal infections.

© 2007 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Introduction

Les infections fongiques en milieu hospitalier sont dominées par les infections à levures, en premier lieu *Candida albicans*, et les infections à champignons filamenteux, dont le principal agent est *Aspergillus fumigatus*. Le diagnostic de ces infections fongiques a toujours été difficile pour de multiples raisons. Tout d'abord, la symptomatologie des infections fongiques graves se résume le plus souvent à une fièvre et/ou une pneumopathie persistante sous-antibiotique. Pour les levures, le diagnostic a longtemps reposé sur la positivité d'hémocultures. Cependant, cet examen est peu sensible : 50 % des candidoses invasives ne se traduiraient pas par une candidémie. Plus important, quand cet événement survient, il est manifestement trop tardif, ce qui se traduit par une mortalité globale de 40 % [1]. Pour les sites anatomiques ouverts sur l'extérieur, le problème est l'interprétation d'une culture positive. Ainsi, il n'y a pas de corrélation entre pneumonie à *Candida* et numération des colonies dans les prélèvements respiratoires, même si la colonisation par *C. albicans* est associée à des séjours prolongés en réanimation [2]. Ces difficultés tiennent au caractère opportuniste des levures qui sont des commensaux de la peau et des muqueuses. Les souches infectantes et les souches commensales sont identiques chez un patient donné [3,4]. Il est donc toujours difficile d'attribuer formellement la pathologie observée au germe isolé [5]. Les problèmes diagnostiques rencontrés pour les levures sont similaires à des degrés divers à ceux rencontrés pour d'autres infections fongiques comme les aspergilloses pulmonaires [6,7].

Ces difficultés diagnostiques ont eu plusieurs conséquences. Sur le plan scientifique, la multiplication des définitions a rendu difficile la comparaison entre publications. Cela a contribué à la perception d'une certaine discordance quant à la gravité des infections fongiques ou à l'efficacité thérapeutique des antifongiques. C'est pourquoi un effort important a été conduit pour proposer des critères consensuels pour les infections fongiques en oncologie [8]. Les définitions proposées par l'EORTC-MSG sont basées sur une association de critères d'hôtes, microbiologiques et radiologiques. Les auteurs insistent sur le fait que ces propositions sont ciblées sur les patients d'oncologie. Des ajustements sont certainement indispensables pour

d'autres catégories de patients à risque d'infection fongique et en particulier en réanimation [9]. Ces définitions avec leurs limites sont néanmoins indispensables pour l'évaluation des tests diagnostiques en l'absence fréquente, sinon quasi constante actuellement, de critères anatomopathologiques.

Les difficultés d'interprétation des résultats microbiologiques ont aussi eu comme conséquence la multiplication de tests diagnostiques [10]. Parmi les tests sérologiques proposés pour le diagnostic de candidoses figure la détection de protéines [11] ou d'arabitol [12]. Certains kits commerciaux utilisent des antigènes non définis (CanD-tec®, Ramco, États Unis). D'autres ciblés sur la détection d'énolase n'ont pas été commercialisés [11]. Actuellement, les évaluations se focalisent sur la détection de polysides. Ces recherches d'antigènes (Ag) font maintenant appel à des réactifs standardisés, comme les anticorps (Ac) monoclonaux, et à des techniques sensibles et standardisées comme l'Elisa (*enzyme-linked immunosorbent assay*) [10]. Parmi ces antigènes bénéficiant de kits commerciaux figurent le galactomannane (GM), le mannane (Mn) et le β -glucane (β G) sans oublier les Ag capsulaires cryptococques.

Tests disponibles

Galactomannane (GM)

De nombreuses techniques de détection du GM ont été utilisées et en particulier l'agglutination de particules de latex sensibilisées, mais la sensibilité des tests proposés (10-15 ng/ml) est trop faible pour être utile en clinique aux stades précoces de l'infection. Stynen et ses collaborateurs [13] ont introduit un test Elisa en utilisant un Ac monoclonal de rat EB-A2, qui est actuellement commercialisé (Platelia® *Aspergillus*, BioRad). Une étude pivot utilisant des critères diagnostiques stricts obtenus d'autopsies de 71 patients avançait une sensibilité de 92,6 % et une spécificité de 95,4 % [14].

L'Ac monoclonal du test reconnaît les résidus galactofuranose des chaînes latérales produites par les *Aspergillus* spp. La présence de quatre résidus est nécessaire pour que l'Ac puisse se lier et donc donner un résultat positif. Le nombre d'épitopes varie en fonction des espèces, des

souches et des conditions de culture. Pendant sa phase de croissance, le GM est incorporé dans la paroi du champignon et est aussi excrété dans le milieu extérieur. Cette excrétion, maximale pendant la phase de croissance exponentielle, peut décroître dans des conditions moins propices, telles au sein d'infarctus ou de nécrose tissulaire. En raison de la grande taille du GM (> 20 kDa), on pense que l'invasion vasculaire est nécessaire pour qu'il puisse être détecté dans le sérum du patient. Cette invasion vasculaire varie en fonction de multiples facteurs comme la maladie sous-jacente, les infections bactériennes ou virales concomitantes, les chimiothérapies ou les irradiations (Tableau 1). Le GM relargué dans la circulation varie en conséquence [15].

La spécificité du test est satisfaisante, généralement supérieure à 85 %, mais la sensibilité du test varie énormément de 25 à 100 %. Les facteurs qui influencent les performances du test sont multiples [15]. Parmi ceux-ci, la présence d'une neutropénie a récemment été avancée [16]. Plus le patient est neutropénique, plus le taux de GM est élevé au cours d'une aspergillose invasive. Cela est à rapprocher des résultats d'une méta-analyse récente qui montre que les performances du test sont meilleures en hématologie, où le facteur de risque majeur d'aspergillose invasive est la neutropénie, que dans le cadre des transplantations d'organes, au cours desquelles la neutropénie est souvent modérée et de courte durée [17]. L'emploi du test dans d'autres populations que les patients d'hématologie doit tenir compte de ces limitations (Tableau 1). Sur un plan individuel, de nombreux facteurs peuvent expliquer que la détection de GM soit négative lors d'une authentique aspergillose. Le GM relargué dans la circulation peut être indétectable si le champignon ne peut croître dans un foyer infarci ou si le foyer est circonscrit sans contact avec le courant sanguin comme au cours de granulomatoses chroniques [18]. Quand la détection de GM est positive, l'évolution du taux va de paire, en général, avec l'évolution clinique : une augmentation étant associée à un mauvais pronostic [19].

La principale limitation du test est le fort taux de fausses positivités. Celle-ci varie de 5 % chez l'adulte à 83 % chez les nouveau-nés [15]. Une première explication est la

translocation intestinale de GM contenu dans les aliments ou les boissons. En effet, le GM est très largement répandu dans l'environnement. L'absorption intestinale ne surviendrait cependant que chez les patients dont l'intégrité du tube digestif serait compromise. Certains antigènes bactériens, en particulier ceux de *Bifidobacterium bifidum* particulièrement fréquent chez les nouveau-nés, sont aussi reconnus par l'anticorps monoclonal EB-A2 [20]. La détection de GM dans des lots d'antibiotiques, en particulier l'association piperacilline-tazobactam, est également source d'une grande confusion d'autant plus que la contamination, probablement due à l'utilisation de *Penicillium* sp. pour la synthèse de l'antibiotique, est variable d'un lot à l'autre au sein de la même spécialité. Lorsqu'une telle contamination est suspectée, le GM disparaît en général deux à trois jours après l'arrêt de l'antibiotique incriminé [21].

En raison de résultats négatifs en début d'évolution de l'aspergillose invasive, ou variables en fonction du caractère invasif ou non, l'implantation du test ne se conçoit que dans une stratégie de suivi. Les patients à risque incluent les leucémies aiguës myéloblastiques, les myélodysplasies et les allogreffes de moelle, soit pendant la neutropénie initiale, soit au cours de la maladie du greffon contre l'hôte. Le test GM est donc utilisé en routine dans de nombreux services d'hématologie sur une base de deux tests par semaine. Le seuil actuel pour rendre un résultat positif est un ratio de 0,5 par rapport à un témoin de 1 ng/ml. En raison du fort taux de fausse positivité, deux GM positifs sur deux prélèvements différents sont nécessaires pour retenir le GM comme critère microbiologique dans les définitions d'aspergilloses invasives [8]. Plus qu'un résultat isolé, c'est l'augmentation sur deux sérums successifs qui doit déclencher une recherche active du champignon et la mise sous traitement antifongique. D'autres groupes de malades peuvent bénéficier de cette surveillance comme les transplantés de foie ou de poumons. Cette stratégie ne se conçoit que si l'incidence dans la population ciblée dépasse 5 % [15].

Le GM peut aussi être recherché ponctuellement dans d'autres liquides biologiques. En dehors des urines où le

Tableau 1 Facteurs influençant les performances du test galactomannane (d'après [15])

Facteurs épidémiologiques	Populations de patients étudiés	
	Stratégies d'échantillonnage	
	Prévalence de l'infection	
	Définition d'un patient infecté	
	Définition d'un résultat positif	
	Seuil de positivité	
	Expérience technique du laboratoire	
	Site de l'infection	
	Maladie sous-jacente	
	Degré d'immunodépression	
	Facteurs biologiques	Environnement immédiat de la lésion aspergillaire (pH, O ₂ ...)
		Intensité de la neutropénie et de la corticothérapie
		Espèce fongique causale
		Structure du GM secrété
Fonctions rénales et hépatiques		
Conservation des échantillons		
Prétraitement des échantillons avant analyse		
Traitement antifongique		

taux de faux positifs est trop élevé pour que le test soit conseillé, certains utilisent le test Platelia® *Aspergillus* pour la recherche de GM dans le LCR, le liquide pleural, le liquide de LBA. Bien que non validé par le fabricant dans ces indications, ces recherches peuvent être utiles ponctuellement sachant que la positivité dans ces liquides s'accompagne généralement d'une positivité dans le sérum.

La production de GM n'est pas l'apanage des *Aspergillus* spp. Elle existe chez *Penicillium marneffeii*, *Histoplasma capsulatum* et même *Cryptococcus neoformans* [22]. Plus qu'un désavantage, cela permet d'évoquer d'autres pathologies en fonction du contexte clinique. Ponctuellement en Europe, le test GM peut être utilisé pour suivre l'évolution des infections à *P. marneffeii* chez les patients sidéens [23].

Mannane (Mn)

Comme le glucane, les mannanes (Mn) sont des constituants majeurs des parois de *Candida albicans* [24]. Les Mn sont fortement immunogènes et impliqués dans la réponse immune. Ils correspondent à un large répertoire de molécules liées entre elles par différentes liaisons α ou β . Des anticorps humains ou animaux reconnaissent le type de liaisons et la longueur des chaînes de mannoses. Ces épitopes peuvent être espèces spécifiques ou partagés entre plusieurs espèces de levures [25,26]. L'idée de certains auteurs a été de coupler la recherche d'Ag Mn et d'Ac anti-Mn [24].

La détection de l'AgMn a été proposée, il y a de nombreuses années pour le diagnostic des candidoses. Ce n'est qu'à la suite d'améliorations techniques avec en particulier le développement d'anticorps monoclonaux que les performances des tests ont pu être évaluées avec une certaine reproductibilité des résultats [24]. Le test Platelia *Candida* Ag est basé sur la détection de résidus oligomannoses liés en α relargués dans le sérum. À l'inverse de la détection de l'AgMn, la détection d'Ac anti-*Candida* a été peu développée, accusée d'être non spécifique et peu sensible. Les deux arguments sont d'une part la non-distinction entre patients colonisés et infectés, et d'autre part l'absence de réponse Ac chez les immunodéprimés qui sont par ailleurs souvent abondamment transfusés.

Les meilleurs résultats ont été obtenus en couplant la recherche de Mn (Platelia® *Candida* Ag, BioRad) et celle d'Ac circulants anti-Mn (Platelia® *Candida* Ac, BioRad). Les évaluations rétrospectives ont porté sur des populations diverses, incluant des patients neutropéniques ou non [27]. Ainsi, 84 % des patients avec une candidose tissulaire à *C. albicans* sont positifs à l'un des deux tests [24]. La séquence disparition de l'Ag suivie de l'apparition de l'Ac serait évocatrice d'une candidose tissulaire. Lors d'une étude rétrospective chez des patients neutropéniques avec un groupe témoin présentant les mêmes facteurs de risques [28], les deux tests ont été positifs chez 89 % des patients avec candidose invasive et 16 % des patients contrôles. Dans cette étude, la sensibilité était de 89 %, la spécificité de 84 %, et les valeurs prédictives positive et négative de 86 et 88 %. Les auteurs concluent que ces deux tests réalisés une fois par semaine dès l'admission pourraient être utiles pour la prise en charge des candidoses invasives chez le patient neutropénique [28].

Les deux tests semblent pouvoir être utilisés pour le diagnostic d'autres levures telles *C. tropicalis* [26] et *C. glabrata* [29]. Ils peuvent également, surtout pour la recherche d'Ag, être utilisés sur d'autres liquides biologiques comme le LCR [30] bien qu'ils ne soient pas validés pour cette application.

Si ces tests doivent être utilisés, comme pour le GM, ils doivent s'inscrire dans une stratégie de surveillance, des tests sur des sérums isolés n'ayant que peu de signification. Une des principales limitations de la recherche de Mn est sa rapide clairance du sérum. Une voie de recherche est d'ajouter au test existant, reconnaissant les liaisons- α , la recherche de résidus Mn liés en β ; les deux familles d'Ag semblant avoir des cinétiques différentes dans le sérum [31]. D'autres tests sont en cours de développement aussi bien pour la recherche d'Ag [32] que d'Ac [33].

Beta-D-glucane (β G)

Le (1,3)- β -D-glucane (β G) est un composant de la paroi fongique de la plupart des champignons, incluant levures et champignons filamenteux, à l'exception de *C. neoformans* et des zygomycètes [34]. Le principe du test repose sur l'activation de la cascade de coagulation du crabe en fer à cheval (*Limulus polyphemus*). Les liposaccharides et le β G déclenchent la dégranulation des amœbocytes de *L. polyphemus* qui relarguent des sérines protéases et des facteurs C et G. Le LPS active spécifiquement le facteur C, et le β G le facteur G. Le lysat de *L. polyphemus* a été rendu spécifique pour le β G en retirant le facteur C. La lecture du test fait appel à un spectrophotomètre et les résultats sont rendus en fonction d'une courbe de calibration.

Plusieurs publications ont d'abord positionné ce test par rapport aux tests déjà disponibles pour mettre en évidence des performances du même ordre chez l'animal [35] et chez l'homme sur des collections de sérums [36]. Comme souvent avec les infections fongiques, les performances du test ont ensuite varié en fonction des populations étudiées. Ainsi, en comparant des donneurs de sang et des patients avec candidémie, et un seuil de 80 pg/ml, la sensibilité du test est de 93 % et la spécificité de 100 % [37]. Avec un seuil légèrement inférieur (60 pg/ml), d'autres auteurs concluent sur des populations similaires à une sensibilité de 97 % et une spécificité de 93 % [38]. Le problème se complique fortement quand des patients bactériémiques sont inclus. La spécificité tombe alors à 73 % et la valeur prédictive positive à 52 % en raison du fort taux de fausses positivités [37]. Dans ces mêmes circonstances, certains rapportent de meilleurs chiffres [38,39], mais à l'inverse, pour d'autres, les performances du test sont jugées encore plus mauvaises [40]. Les raisons qui expliquent ce fort taux de positivité sont multiples et sont résumées dans le Tableau 2.

Si le β G a été essentiellement utilisé pour le diagnostic des infections à levures, il peut aussi être utilisé pour d'autres infections fongiques, en particulier aspergillaires. Certains auteurs combinent les tests β G et GM pour affiner le diagnostic [39]. Pour ces auteurs, l'association des deux tests permet surtout de réduire les faux positifs des deux tests et donc d'améliorer leur spécificité. Le test β G est aussi positif lors d'infections à *Histoplasma capsulatum*, ce

Tableau 2 Causes possibles de faux positif avec le test BG (d'après [37])

Liées à des traitements	Immunoglobulines intraveineuses Albumine Fractions plasmatiques Facteurs de la coagulation Antibiotiques : B-lactamines (pipéracilline + tazobactam) Autres (putatifs) : polysaccharides antitumoraux, chimiothérapies, radiothérapies
Liées au matériel de soins	Hémodialyse Compresse ou autre matériel contenant du BG Nature des tubes de prélèvements et le nombre de manipulations de ces tubes
Liées à des infections bactériennes	Bacilles Gram négatif Streptocoques
Liées au patient	Altérations muqueuses (chimiothérapies, irradiation) qui permettraient au BG des levures colonisant le tube digestif d'être absorbé Sérum hémolysé ou lipémique

qui peut être utile quand le patient est suspect d'avoir séjourné dans un pays endémique.

En conclusion, le BG test est limité par le fort taux de fausse positivité qui est source d'une valeur prédictive positive médiocre. À l'inverse, sa valeur prédictive négative apparaît comme son meilleur atout, excepté pour les infections à cryptocoque et à zygomycètes. Les deux tests commerciaux ne sont pas encore disponibles en France.

Antigène cryptococcique

À l'inverse des autres recherches d'Ag pour le diagnostic d'infections fongiques, celle ciblée sur la recherche d'Ag capsulaire de *C. neoformans* est utilisée depuis de nombreuses années et son intérêt bien démontré. Cela est dû à une particularité de cette levure qui produit des Ag capsulaires en très grande quantité. Les méthodes basées sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées sont de réalisation simple et répondent bien à l'urgence du diagnostic sous réserve qu'un traitement à la pronase des prélèvements soit réalisé pour éviter les faux négatifs [41]. Un test utilisant la détection par Elisa est également commercialisé (Premier™, *C. neoformans* antigène, Meridian Diagnostics). Ce test donne moins de faux positifs, pas de réactions croisées avec le facteur rhumatoïde en particulier, et permet d'effectuer le test par séries. Il est en revanche moins souple pour un diagnostic ponctuel en urgence. Il existe toujours un risque potentiel de réaction croisée lors d'infection à *Trichosporon begelii*, heureusement rarissime.

Applications en réanimation

Plusieurs questions se posent en réanimation auxquelles la recherche d'Ag serait sensée répondre :

- est-ce que ces tests sont plus sensibles que les examens microbiologiques et éventuellement peuvent-ils s'y substituer ?
- Permettent-ils de distinguer colonisation et infection ?
- Permettent-ils de guider les stratégies diagnostiques et thérapeutiques, et le suivi des malades ?
- Permettent-ils d'anticiper le diagnostic de survenue d'une infection profonde (dont le témoin est souvent la survenue d'une candidémie) ?

Il n'existe malheureusement que très peu d'études qui permettent d'apporter des réponses solides à ces questions.

Galactomannane

Pour le GM, quelques publications isolées font état de sa valeur diagnostique chez des patients de réanimation [42]. Sachant que les résultats négatifs ne sont pas rapportés, on ne peut connaître la valeur prédictive positive ou négative dans cette situation. Il semble néanmoins cohérent d'appliquer en réanimation les mêmes règles que celles utilisées en oncohématologie, c'est-à-dire de pratiquer un suivi deux fois par semaine des patients à risque. Une positivité entraînera une recherche active d'*Aspergillus* dans les prélèvements respiratoires et sinusiens. Un test négatif n'éliminera pas le diagnostic mais ne justifiera pas l'arrêt de la surveillance. En dehors des patients d'hématologie, un dépistage systématique ne se justifie pas. Le test peut cependant s'appliquer à certains patients, en particulier ceux recevant une forte corticothérapie.

Mannane et Ac antimannane

La valeur des recherches de Mn et d'Ac anti-Mn est probablement différente en réanimation médicale et en réanimation chirurgicale. Chez les patients chirurgicaux à risque d'infection à levures, ces tests doivent être comparés à la recherche microbiologique et aux index de colonisation, ce qui est rarement fait. En effet, devant le risque des infections à levures et leur pronostic, l'attitude actuelle de certains consiste à surveiller les patients à risque et les traiter par le fluconazole quand la colonisation devient importante [43]. Cela nécessite l'individualisation des patients à risque dans ces différentes unités et un programme de surveillance microbiologique [44]. Ces programmes ont un coût. Un test sérologique pourrait s'avérer moins cher ou pourrait être de réalisation plus aisée que les recherches microbiologiques dans certains centres.

Quelques publications plus particulièrement ciblées sur des patients de réanimation commencent à être rapportées. Une étude prospective sur 105 patients de réanimation médicale a retrouvé dix patients avec candidose prouvée, probable ou possible suivant les critères EORTC [45]. Les recherches couplées d'Ag (Platelia® *Candida* Ag) et

d'anticorps (hémagglutination Fumouze) sont plus souvent positives chez les patients avec un index de colonisation > 0,5 ($p = 0,0003$). Compte tenu du fort taux de positivité chez les patients colonisés (43 %) et chez les patients non colonisés et non infectés (20 %), les auteurs concluent à l'inutilité de la recherche isolée de Mn [45]. Une autre étude a comparé la détection de Mn (Platelia® *Candida* Ag), d'Ac IgM anti-*Candida* (Candiquant-IgM®, Biotrin, Lyon, France) et d'Ac totaux anti-*Candida* par immunofluorescence chez 75 patients de réanimation dont 29 patients de chirurgie [46]. Les auteurs concluent à une meilleure sensibilité de la détection de l'AgMn sur celle des anticorps. Chez les 29 patients de chirurgie, l'index de colonisation > 0,5 permet de cibler les patients infectés.

En utilisant la recherche d'autres antigènes que le Mn, mais avec une philosophie similaire, à savoir une recherche couplée d'Ag (CanD-tec® Ramco) et d'Ac (hémagglutination), les résultats sont contrastés. Une étude sur huit patients de réanimation chirurgicale avec infections à levures appariés à 16 patients conclut à l'absence d'intérêt du test Ag utilisé, alors que la recherche d'Ac est recommandée par les auteurs pour étayer le diagnostic d'infection à levure [47]. À l'inverse, dans une autre étude [48], les auteurs concluent à une sensibilité et à une spécificité des deux tests combinés de 100 et 83 % en étudiant 104 patients de réanimation. Une troisième étude sur 214 patients de réanimation dont 36 ont développé une infection candidosique conclut à un très faible intérêt des techniques sérologiques [49].

Glucane

Pour la détection de BG, les publications sont également contrastées. Digby et al. concluent à l'impossibilité de différencier les infections bactériennes des infections fongiques chez 46 patients de réanimation [40]. D'autres auteurs, chez des patients chirurgicaux à risque d'infections fongiques, concluent à l'intérêt du BG pour décider ou non d'un traitement par le fluconazole [50]. Lors d'études préliminaires, certains auteurs avaient conclu à la nécessité de combiner les différentes recherches d'Ag [36].

Antigène capsulaire cryptococcique

Il n'y a pas d'étude systématique sur l'intérêt de la recherche d'Ag cryptococcique en réanimation. Cette recherche peut s'avérer cependant pertinente au coup par coup lorsque des examens de premières lignes reviennent négatifs. S'il existe des signes méningés ou une immunodépression connue pour augmenter le risque d'infection cryptococcique (infection VIH ou hémopathies lymphoïdes), on pensera généralement à réaliser le test. Il n'en est pas de même si aucun facteur de risque n'est présent alors que l'on décrit régulièrement des cas dans de telles circonstances [41].

Conclusion

L'apport de la recherche d'Ag fongique en réanimation semble pour l'instant limité. Pour le GM et les infections

aspergillaires, il semble raisonnable de s'inspirer de l'expérience de l'oncohématologie pour les patients à risque qui sont hospitalisés en réanimation. Pour les infections à levures, la détermination couplée d'Ag et d'Ac semble la voie la plus prometteuse. Si l'évaluation sur des sérums de collection est souvent satisfaisante, les résultats des études de terrain sont souvent contradictoires et décevants. Cela souligne la difficulté à comparer les résultats quand les tests employés ne sont pas identiques, chez des patients certes de réanimation mais peu comparables, avec des définitions d'infections fongiques différentes et sur des petits effectifs recrutés dans un seul centre. Des études d'envergure, différenciant les patients suivant leurs facteurs de risque et évaluant l'intérêt des tests sérologiques par rapport aux cultures microbiologiques sont nécessaires. En l'absence de gold standard, il est probable que ces études devront comporter l'analyse du maximum de tests indépendants possibles [51]. Pour l'instant, il n'existe pas de recommandations pour inclure les recherches d'Ag dans des stratégies de traitements prophylactiques ou préemptifs en réanimation et les pratiques sont basées sur l'expérience de chaque centre.

Références

- [1] Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, Vande Berg J, Hu J, et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis* 2003;37:1172-7.
- [2] Azoulay E, Timsit JF, Tafflet M, de Lassence A, Darmon M, et al. *Candida* colonization of the respiratory tract and subsequent pseudomonas ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2006;129:110-7.
- [3] Eloy O, Marque S, Botterel F, Stéphan F, Costa J-M, et al. Uniform distribution of three *Candida albicans* microsatellite markers in two French ICU populations supports a lack of nosocomial cross-contamination. *BMC Infect Dis* 2006;13:162.
- [4] Stephan F, Bah MS, Desterke C, Rezaiguia-Delclaux S, Foulet F, et al. Molecular diversity and routes of colonization of *Candida albicans* in a surgical intensive care unit, as studied using microsatellite markers. *Clin Infect Dis* 2002;35:1477-83.
- [5] Casadevall A, Pirofski LA. Host-pathogen interactions: redefining the basic concepts of virulence and pathogenicity. *Infect Immun* 1999;67:3703-13.
- [6] Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, Ortiz-Leyba C, Leon C, Alvarez-Lerma F, et al. Isolation of *Aspergillus* spp. from the respiratory tract in critically ill patients: risk factors, clinical presentation and outcome. *Crit Care* 2005;9:R191-R199.
- [7] Vandewoude KH, Blot SI, Benoit D, Colardyn F, Vogelaers D. Invasive aspergillosis in critically ill patients: attributable mortality and excesses in length of ICU stay and ventilator dependence. *J Hosp Infect* 2004;56:269-76.
- [8] Ascioğlu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002;34:7-14.
- [9] Meersseman W, Vandecasteele SJ, Wilmer A, Verbeken E, Peetermans WE, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:621-5.
- [10] Yeo SF, Wong B. Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:465-84.

- [11] Walsh TJ, Hathorn JW, Sobel JD, Merz WG, Sanchez V, et al. Detection of circulating candida enolase by immunoassay in patients with cancer and invasive candidiasis. *N Engl J Med* 1991;324:1026-31.
- [12] Sigmundsdottir G, Christensson B, Bjorklund LJ, Hakansson K, Pehrson C, Larsson L. Urine D-arabinitol/L-arabinitol ratio in diagnosis of invasive candidiasis in newborn infants. *J Clin Microbiol* 2000;38:3039-42.
- [13] Stynen D, Goris A, Sarfati J, Latge JP. A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1995;33:497-500.
- [14] Maertens J, Verhaegen J, Demuyneck H, Brock P, Verhoef G, et al. Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive Aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1999;37:3223-8.
- [15] Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2004;4:349-57.
- [16] Cordonnier C, Botterel F, Pautas C, Maury S, Kuentz M, Bretagne S. Galactomannan antigenemia has a higher diagnostic yield in invasive aspergillosis in deeply neutropenic patients than in others. in 32nd EBMT meeting. Hamburg: Germany; 2006.
- [17] Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2006;42:1417-27.
- [18] Verweij PE, Weemaes CM, Curfs JH, Bretagne S, Meis JF. Failure to detect circulating Aspergillus markers in a patient with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2000;38:3900-1.
- [19] Boutboul F, Alberti C, Leblanc T, Sulahian A, Gluckman E, et al. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: increasing antigenemia is associated with progressive disease. *Clin Infect Dis* 2002;34:939-43.
- [20] Mennink-Kersten MA, Klont RR, Warris A, Op den Camp HJ, Verweij PE. *Bifidobacterium* lipoteichoic acid and false ELISA reactivity in aspergillus antigen detection. *Lancet* 2004;363:325-7.
- [21] Bart-Delabesse E, Basile M, Al Jijakli A, Souville D, Gay F, et al. Detection of *Aspergillus* galactomannan antigenemia to determine biological and clinical implications of beta-lactam treatments. *J Clin Microbiol* 2005;43:5214-20.
- [22] Dalle F, Charles PE, Blanc K, Caillot D, Chavanet P, et al. *Cryptococcus neoformans* galactoxylomannan contains an epitope (s) that is cross-reactive with *Aspergillus* galactomannan. *J Clin Microbiol* 2005;43:2929-31.
- [23] Rimek D, Zimmermann T, Hartmann M, Prariyachatigul C, Kappe R. Disseminated *Penicillium marneffeii* infection in an HIV-positive female from Thailand in Germany. *Mycoses* 1999; 42(Suppl 2):25-8.
- [24] Sendid B, Tabouret M, Poirot JL, Mathieu D, Fruit J, Poulain D. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 1999;37:1510-7.
- [25] Rimek D, Singh J, Kappe R. Cross-reactivity of the PLATELIA CANDIDA antigen detection enzyme immunoassay with fungal antigen extracts. *J Clin Microbiol* 2003;41:3395-8.
- [26] Sendid B, Caillot D, Baccouch-Humbert B, Klingspor L, Grandjean M, et al. Contribution of the Platelia *Candida*-specific antibody and antigen tests to early diagnosis of systemic *Candida tropicalis* infection in neutropenic adults. *J Clin Microbiol* 2003;41:4551-8.
- [27] Yera H, Sendid B, Francois N, Camus D, Poulain D. Contribution of serological tests and blood culture to the early diagnosis of systemic candidiasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:864-70.
- [28] Prella M, Bille J, Pugnale M, Duvoisin B, Cavassini M, et al. Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;51:95-101.
- [29] Sendid B, Poirot JL, Tabouret M, Bonnin A, Caillot D, et al. Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. *J Med Microbiol* 2002;51:433-42.
- [30] Verduyn Lunel FM, Voss A, Kuijper EJ, Gelinck LB, Hoogerbrugge PM, et al. Detection of the *Candida* antigen mannan in cerebrospinal fluid specimens from patients suspected of having *Candida* meningitis. *J Clin Microbiol* 2004;42:867-70.
- [31] Sendid B, Jouault T, Coudriau R, Camus D, Odds F, et al. Increased sensitivity of mannanemia detection tests by joint detection of alpha- and beta-linked oligomannosides during experimental and human systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 2004;42:164-71.
- [32] Fujita S, Takamura T, Nagahara M, Hashimoto T. Evaluation of a newly developed down-flow immunoassay for detection of serum mannan antigens in patients with candidaemia. *J Med Microbiol* 2006;55:537-43.
- [33] Philip A, Odabasi Z, Matiuzzi G, Paetznick VL, Tan SW, et al. Syscan3, a kit for detection of anti-*Candida* antibodies for diagnosis of invasive candidiasis. *J Clin Microbiol* 2005;43:4834-5.
- [34] Odabasi Z, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, McGinnis MR, Ostrosky-Zeichner L. Differences in beta-glucan levels in culture supernatants of a variety of fungi. *Med Mycol* 2006; 44:267-72.
- [35] Hashimoto A, Yamakami Y, Kamberi P, Yamagata E, Karashima R, et al. Comparison of PCR, (1->3)-beta-D-glucan and galactomannan assays in sera of rats with experimental invasive aspergillosis. *J Clin Lab Anal* 1998;12:257-62.
- [36] Mitsutake K, Miyazaki T, Tashiro T, Yamamoto Y, Takeya H, et al. Enolase antigen, mannan antigen, Cand-Tec antigen, and beta-glucan in patients with candidemia. *J Clin Microbiol* 1996;34:1918-21.
- [37] Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, Roberts WL, Woods GL. Evaluation of a (1->3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol* 2005;43:5957-62.
- [38] Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, Kantarjian H, Saeki F, et al. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis* 2004;39:199-205.
- [39] Pazos C, Ponton J, Del Palacio A. Contribution of (1->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol* 2005;43:299-305.
- [40] Digby J, Kalbfleisch J, Glenn A, Larsen A, Browder W, Williams D. Serum glucan levels are not specific for presence of fungal infections in intensive care unit patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:882-5.
- [41] Dromer F, Lortholary O. Cryptococcoses. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* 2004; 8: 613-1-10.
- [42] Nourry L, Gagnadoux F, Pierrot M, Gourdier AL, Mercat A, Racineux JL. Aspergillose pulmonaire invasive compliquant un choc septique. *Rev Mal Respir* 2005;22:806-10.
- [43] Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003;3:685-702.
- [44] Sandven P, Giercksky KE. Yeast colonization in surgical patients with intra-abdominal perforations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:475-81.

- [45] Ibara A-S, Morin O, Renard B, Millet S, Struillou L, Villers D. Surveillance mycologique des patients à haut risque de candidose invasive: place de l'antigénémie mannane. *Journal de Mycologie Médicale* 2004;14:34-42.
- [46] Eloy E, Marque S, Mourvilliers B, Pina P, Allouch P-Y, et al. Intérêt de l'index de colonisation, de l'antigénémie mannane, des IgM et des anticorps totaux anti-Candida dans le diagnostic des candidoses invasives chez les patients de réanimation. *Journal de Mycologie Médicale* 2006;16:113-8.
- [47] Lepper PM, Wiedeck H, Geldner G, Essig A, Trautmann M. Value of *Candida* antigen and antibody assays for the diagnosis of invasive candidosis in surgical intensive care patients. *Intensive Care Med* 2001;27:916-20.
- [48] Bar W, Hecker H. Diagnosis of systemic *Candida* infections in patients of the intensive care unit. Significance of serum antigens and antibodies. *Mycoses* 2002;45:22-8.
- [49] Pallavicini F, Izzi I, Pennisi MA, Morace G, Portaccio GG, et al. Evaluation of the utility of serological tests in the diagnosis of candidemia. *Minerva Anesthesiol* 1999;65:637-9.
- [50] Takesue Y, Kakehashi M, Ohge H, Imamura Y, Murakami Y, et al. Combined assessment of beta-D-glucan and degree of candida colonization before starting empiric therapy for candidiasis in surgical patients. *World J Surg* 2004;28:625-30.
- [51] Spiegelhalter DJ, Best NG. Bayesian approaches to multiple sources of evidence and uncertainty in complex cost-effectiveness modelling. *Stat Med* 2003;22:3687-709.