



HAL
open science

Impact des traitements antifongiques systémiques sur le diagnostic des candidémies

Sébastien Bailly

► **To cite this version:**

Sébastien Bailly. Impact des traitements antifongiques systémiques sur le diagnostic des candidémies. Sciences pharmaceutiques. 2015. dumas-01393225

HAL Id: dumas-01393225

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01393225>

Submitted on 7 Nov 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER
FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année : 2015

N°

**MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES D'INNOVATION
PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE (IPR)**

Conformément aux dispositions du décret N° 90-810 du 10 septembre 1990, tient lieu de

THÈSE
PRESENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
DIPLOME D'ÉTAT

**IMPACT DES TRAITEMENTS ANTIFONGIQUES SYSTEMIQUES SUR LE
DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DES CANDIDEMIES**

Sébastien BAILLY

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE
GRENOBLE

Le 16/10/2015

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :

Pr. Christophe Ribuo

Membres :

Pr Muriel Cornet

Dr Luc Foroni

Dr Danièle Maubon

Pr Hervé Pelloux

Pr Marie-Christine Woronoff-Lemsi

La Faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Christophe RIBUOT**

 Vice-doyen et Directrice des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**
Année 2014-2015
ENSEIGNANTS A L'UFR DE PHARMACIE

STATUT	NOM	PRENOM	DEPARTEMENT**	LABORATOIRE
MCU	ALDEBERT	Delphine	D4	LAPM_UMR SNRS 5163
PU-PH	ALLENET	Benoit	D5	ThEMAS TIMC-IMAG (UMR CNRS 5525)
PU	BAKRI	Aziz	D5	TIMC-IMAG
MCU	BATANDIER	Cécile	D1	LBFA, Inserm U1055
MCU-PH	BEDOUCHE	Pierrick	D5	ThEMAS TIMC-IMAG (UMR CNRS 5525)
MCU	BELAIDI-CORSAT	Elise	D5	HP2-Inserm U1042
PAST	BELLET	Béatrice	D5	-
PU	BOUMENDJEL	Ahcène	D3	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	BOURGOIN	Sandrine	D1	CRI Inserm/UJF U823, équipe 5
MCU	BRETON	Jean	D1	L.C.I.B. - UMR E3 CEA/UJF
MCU	BRIANCON-MARJOLLET	Anne	D5	HP2-Inserm U1042
MCU	BUDAYOVA SPANO	Monika	D4	IBS
PU	BURMEISTER	Wim	D4	UVHCI, UMI 3265 UJF-EMBL-CNRS
MCU-PH	BUSSER	Benoit	D1	CRI Inserm/UJF U823, équipe 5
Professeur Emérite	CALOP	Jean	D5	-
MCU	CAVAILLES	Pierre	D1	LAPM
MCU	CHOISNARD	Luc	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
PU-PH	CORNET	Murielle	D4	THEREX, TIMC-IMAG
PU-PH	DANEL	Vincent	D5	SMUR SAMU
PU	DECOUT	Jean-Luc	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	DELETRAZ-DELPORTE	Martine	D5	Equipe SIS « Santé, Individu, Société »-EAM 4128) UCB

DOMAINE DE LA MERCI
 38706 LA TRONCHE CEDEX – France
 TEL : +33 (0)4 76 63 71 72
 FAX : +33 (0)4 76 63 71 70

Affaire suivie par Lantou FAURE NEUHAUSER

Lanto.Faure@ujf-grenoble.fr

MCU	DEMEILLIERS	Christine	D1	LBFA, Inserm U1055
PU	DROUET	Christian	D4	AGIM - CNRS 3405
PU	DROUET	Emmanuel	D4	UVHCI, UMI 3265 UJF-EMBL- CNRS
MCU	DURMORT- MEUNIER	Claire	D1	I.B.S
PU-PH	FAURE	Patrice	D1	HP2-Inserm U1042
PRCE	FITE	Andrée	D6	-
PRAG	GAUCHARD	Pierre-Alexis	D3	-
MCU-PH	GERMI	Raphaëlle	D4	UVHCI, UMI 3265 UJF-EMBL- CNRS
MCU	GEZE	Annabelle	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	GILLY	Catherine	D3	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
PU	GODIN-RIBUOT	Diane	D5	HP2-Inserm U1042
PRCE	GOUBIER MATHYS	Laurence	D6	-
Professeure Émérite	GRILLOT	Renée	D4	-
MCU	GROSSET	Catherine	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	GUIEU	Valérie	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	HININGER- FAVIER	Isabelle	D1	LBFA, Inserm U1055
MCU	JOYEUX-FAURE	Marie	D5	HP2-Inserm U1042
MCU	KHALEF	Nawel	D5	TIMC-IMAG
MCU	KRIVOBOK	Serge	D3	IRTSV
PU	LENORMAND	Jean Luc	D1	THEREX, TIMC-IMAG
PU	MARTIN	Donald	D1	TIMC-IMAG, UMR 5525 UJF- CNRS
MCU	MELO DE LIMA	Christelle	D4	L.E.C.A
PU-PH	MOSSUZ	Pascal	D4	THEREX, TIMC-IMAG
MCU	MOUHAMADOU	Bello	D3	L.E.C.A
MCU	NICOLLE	Edwige	D3	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	OUKACINE	Farid	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	PERES	Basile	D3	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	PEUCHMAUR	Marine	D3	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
PU	PEYRIN	Éric	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	RACHIDI	Walid	D1	L.C.I.B - UMR E3 CEA/UJF

DOMAINE DE LA MERCI
38706 LA TRONCHE CEDEX – France
TEL : +33 (0)4 76 63 71 72
FAX : +33 (0)4 76 63 71 70

Affaire suivie par Lantou FAURE NEUHAUSER Lanto.Faure@ujf-grenoble.fr

MCU	RAVELET	Corinne	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
PU	RIBUOT	Christophe	D5	HP2-Inserm U1042
PAST	RIEU	Isabelle	D5	-
Professeure Émérite	ROUSSEL	Anne -Marie	D1	-
PU-PH	SEVE	Michel	D1	CR INSERM / UJF U823 Institut Albert Bonniot
MCU	SOUARD	Florence	D3	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
MCU	TARBOURIECH	Nicolas	D4	UVHCI, UMI 3265 UJF-EMBL- CNRS
PAST	TROUILLER	Patrice	D5	-
MCU	VANHAVERBEKE	Cécile	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063
PU	WOUESSIDJEWÉ	Denis	D2	DPM, UJF/CNRS UMR 5063

**** D1 : Département « Mécanismes Biologiques des Maladies et des Traitements (DMBMT) »**

D2 : Département « Bases Physicochimiques du Médicament »

D3 : Département « Origine, Obtention et Optimisation des Principes Actifs des Médicaments » (O3-PAM)

**D4 : Département « Bases immunologiques, Hématologiques et Infectieuses des Maladies et
Médicaments associés »**

D5 : Département « Médicaments et Produits de Santé »

D6 : Département « Anglais »

ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CIB : Centre d'Innovation en Biologie
CRI : Centre de Recherche Institut
CNRS : Centre National de Recherche Scientifique
DCE : Doctorants Contractuels
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
et de Cognition et Ontogenèse »
HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogénèse
IPB :
IBS : Institut de Biologie Structurale
JR : Jean Roget
LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogénèse des Microorganismes
LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée

LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
MCU : Maîtres de Conférences des Universités
MCU-PH : Maîtres de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers
PAST : Professeur Associé à Temps Partiel
PRAG : Professeur Agrégé
PRCE : Professeur certifié affecté dans l'enseignement
PU : Professeurs des Universités
PU-PH : Professeurs des Universités et Praticiens Hospitaliers
TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation
UMR : Unité Mixte de Recherche
UVHCI : Unit of Virus Host Cell Interactions

On commence à vieillir, quand on finit d'apprendre

Proverbe japonais.

Remerciements

Mes remerciements s'adressent tout d'abord aux membres du jury :

A Monsieur le Professeur Christophe Ribuot, qui a bien voulu accepter d'être Président du jury. Merci pour le temps que vous m'avez consacré ainsi que pour vos conseils tout au long de mon parcours d'interne à Grenoble.

A Madame le Professeur Muriel Cornet, co-directrice de cette thèse. Je suis très reconnaissant de vos conseils, de votre soutien tout au long de mon internat et de votre confiance pour les projets et les missions d'enseignement que vous m'avez confiés.

A Madame le Docteur Danièle Maubon, co-directrice de cette thèse. Du recueil des données à la rédaction de l'article, ton soutien et ta réactivité à toute épreuve ont été une véritable source de motivation pour avancer.

A Monsieur le Professeur Hervé Pelloux, pour m'avoir accueilli dans votre service. Votre confiance et votre soutien ont été déterminants durant mon internat. Je vous remercie également de vos conseils pour la suite de mon cursus.

A Madame le Professeur Marie-Christine Woronoff-Lemsi, je tiens à vous remercier pour l'ensemble de mon cursus de pharmacie à Besançon, pour votre aide et votre appui tout au long de mes années d'étudiant. Ce travail est un témoignage de vos enseignements.

A Monsieur le Docteur Luc Foroni, pour toute son aide et son appui pour le recueil des données à la pharmacie hospitalière à Grenoble. Sans cela, nombre de travaux réalisés durant mon internat n'auraient pas été possibles.

Je tiens à remercier également toutes les personnes qui m'ont aidé durant mon cursus d'internat ainsi que durant mes années d'études de pharmacie :

Au Professeur Jean-François Timsit, mon directeur de thèse d'université, sans qui ce travail n'aurait pas pu être possible. Je vous exprime, à nouveau, toute ma gratitude pour tout ce que vous m'avez permis d'apprendre à vos côtés.

Aux biologistes du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Grenoble, les docteurs Marie-Pierre Brenier-Pinchart, Odile Faure, Hélène Fricker-Hidalgo, Céline Dard et Cécile Garnaud pour votre aide précieuse sur les questions biologiques. Cela a été un plaisir de travailler avec vous, et j'espère que d'autres projets nous amèneront à collaborer de nouveau ensemble.

Au Professeur Jean-Louis Pépin, pour m'avoir fait confiance et confié des projets de recherches. Et pour votre soutien pour la suite de mon parcours.

A tout le service de biostatistiques des Hospices Civils de Lyon, notamment les Professeurs René Ecochard et Pascal Roy et les Docteurs Muriel Rabilloud, Delphine Maucourt-Boulch, ainsi que Sylvain Roche pour vos enseignements en statistiques. Et plus particulièrement au Docteur Fabien Subtil pour son aide et ses conseils qui m'ont été très précieux.

Au Docteur Jean Iwaz, des Hospices Civils de Lyon, qui a bien voulu prendre le temps de relire l'anglais pour la soumission de cet article mais aussi beaucoup de travaux réalisés durant mon internat.

Au Professeur Anne-Marie Schott, de l'unité d'information médicale des Hospices Civils de Lyon, pour m'avoir fait découvrir l'épidémiologie et ouvert les portes de la recherche dans ce domaine.

Au Docteur Raphaëlle Germe pour son soutien pour ma demande de dossier d'année recherche qui m'a permis de mener à bien l'ensemble de mes travaux.

Au Professeur Patrice Faure, coordinateur de la filière de l'internat innovation pharmaceutique et recherche sur Grenoble, pour ses conseils dans la réalisation de mon cursus.

Au Professeur Laurence Nicod pour son appui déterminant au début de mon cursus. Mes remerciements vont également à tous les enseignants de la faculté de Pharmacie de Besançon pour leurs enseignements.

Aux co-internes de la filière IPR : Kathy, Delphine, Julie, Pauline et tout particulièrement Emmanuel et Claire pour leur investissement et leur aide pour les différentes démarches.

A Pascal, pour toute l'énergie que tu as mis au service des internes IPR, la richesse des discussions qui ont été possibles. Je me répète, mais cela a été un vrai plaisir de faire ta connaissance.

A Olga, pour toute ton aide pour les cours de pharmacie. Sans toi cela aurait été plus difficile, et beaucoup moins drôle !

Enfin mes remerciements vont tout particulièrement :

A mes parents, pour votre soutien et votre générosité inconditionnelle, sans qui rien n'aurait été possible.

A Samuel, pour toute la joie qui m'est donnée de te voir grandir, découvrir, t'étonner et t'émerveiller sans cesse.

A Marie, pour ton soutien sans faille pendant tout ces moments parfois difficiles. Et plus simplement, parce que nous sommes toute la vie, mon amour.

Sommaire

Remerciements	7
Sommaire	9
Liste des tableaux	11
Liste des figures	11
Liste des abréviations	11
Introduction	12
1 ^{ère} partie : Rappels bibliographiques.....	15
I. Les candidoses invasives	16
1. Définition.....	16
2. Physiopathologie	16
3. Facteurs de risque	18
4. Épidémiologie des candidoses invasives.....	19
5. Le genre <i>Candida</i> et les espèces pathogènes.....	19
a. Généralités	19
b. <i>Candida albicans</i>	20
c. <i>Candida non albicans</i>	20
II. Diagnostic biologique	21
III. Les traitements antifongiques systémiques.....	22
1. Les échinocandines.....	23
2. Les triazolés.....	23
3. Les polylènes	24
4. La flucytosine	24
IV. Prises en charge thérapeutique des candidoses invasives.....	25
1. Le traitement prophylactique.....	25
a. Définition.....	25

b. Prise en charge.....	26
2. Les traitements empiriques et pré-emptifs	26
a. Définitions	26
b. Prise en charge.....	26
3. Le traitement curatif	27
a. Définition.....	27
b. Prise en charge.....	27
4. Approche médico-économique.....	28
2 ^{ème} partie : Apport des modèles hiérarchiques dans l'analyse des données biologiques	29
I. Définition des données répétées.....	30
II. Structure hiérarchique des données	30
III. Les modèles pour données hiérarchiques	31
3 ^{ème} partie : Evaluation de l'impact des traitements antifongiques sur le diagnostic des candidémies	33
Supplément électronique	62
Discussion et perspectives.....	68
Conclusion.....	71
Références bibliographiques	74
Annexe 1	81
Serment de Galien	83

Liste des tableaux

Tableau 1 : Synthèse des facteurs de risque de candidose invasive selon Pfaller et al. [31] ...	18
Tableau 2 : principaux facteurs associés à l'émergence d'espèces non <i>albicans</i> (d'après Paramythiotou et al. [47]).....	20

Liste des figures

Figure 1: Physiopathologie de la candidose invasive d'après Gow 2012, Nature Reviews Microbiology [23]	17
Figure 2 : Cibles et mécanismes d'actions des antifongiques systémiques (Maubon et al. [60])	23
Figure 3 : différents niveaux des traitements antifongiques en fonction du niveau de preuve (d'après Eggimann et al. [6])	25
Figure 4 : Schéma d'une structure de données hiérarchiques à trois niveaux	31

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

CHU : centre hospitalier universitaire

ELISA : enzyme linked immunosorbent-assay

ESCMID : European society of clinical microbiology and infectious diseases

PMSI : programme de médicalisation des systèmes d'information

PCR : polymerase chain reaction

ETP : équivalent temps plein

Introduction

Les levures du genre *Candida* représentent les principaux pathogènes responsables d'infections fongiques invasives, notamment chez le patient immunodéprimé. [1, 2] Depuis les années 1980, la part des patients non immunodéprimés développant une infection invasive à ces levures augmente. [3] Cette évolution est induite par l'amélioration continue des soins entraînant une augmentation du nombre de patients immunodéprimés ainsi qu'une augmentation des actes qui favorisent l'émergence des candidoses invasives (antibiothérapie antibactérienne, pose de cathéters, nutrition parentérale). [4, 5]

Du fait de l'absence de signes spécifiques de l'infection, le diagnostic des candidoses invasives, dont les candidémies, est difficile à établir et survient tardivement. [6] Si le traitement est administré tardivement ou n'est pas adéquat, la mortalité attribuable des candidémies est élevée, variant de 30 à 60% en fonction des situations cliniques et des espèces. [7, 8] Ainsi, la mise en place d'un traitement empirique est recommandée par les principaux comités d'experts internationaux pour les patients à risque de candidose invasive. [9, 10] Ces traitements administrés n'ont pas nécessairement d'effets sur le pronostic à court terme des patients, [11] induisent une sélection des espèces naturellement résistantes et modifient la sensibilité aux antifongiques des autres espèces de *Candida*, [12] pouvant entraîner des échecs thérapeutiques. [13, 14] De plus, la recommandation d'administrer en première ligne des antifongiques de la famille des échinocandines entraîne une augmentation non négligeable du coût de prise en charge des patients. [15-17]

L'un des enjeux dans la prise en charge des candidémies est l'amélioration de la performance des méthodes diagnostiques pour diminuer le délai avant la mise en place d'une thérapeutique efficace. Actuellement, la méthode diagnostique de référence d'une candidémie est l'obtention d'une hémoculture positive malgré une faible sensibilité de la méthode (75% dans le meilleur des cas). La sensibilité des hémocultures peut être impactée par l'administration préalable d'un traitement antifongique. [18] Cependant, il existe trois types de flacons d'hémoculture et l'impact d'un traitement antifongique sur la croissance des levures dans ces différents flacons n'est pas clairement établi. De même, le type de flacon d'hémoculture à privilégier selon la présence ou non d'un traitement antifongique reste une question non résolue, notamment dans les services de soins intensifs.

L'informatisation des données permet de disposer rapidement d'un recueil rétrospectif de qualité qu'il est possible d'exploiter en utilisant des méthodes d'analyse adaptées aux données répétées. Il a donc été possible d'apporter des éléments de réponse aux questions

posées quant à l'impact d'un traitement antifongique systémique préalable sur le diagnostic des candidémies à partir des données du CHU de Grenoble.

Cette thèse s'articule en trois parties. Dans une première partie, nous ferons de brefs rappels bibliographiques sur les candidémies et les traitements antifongiques systémiques. Dans une deuxième partie, nous aborderons les modèles hiérarchiques utilisés pour prendre en compte les données répétées. Et enfin, la troisième partie est composée de l'article intitulé "*Impact of systemic antifungal therapy on the detection of Candida species in blood cultures in clinical cases of candidemia*" présentant les résultats et qui a été soumis à la revue International Journal of Antimicrobial Agents.

1^{ère} partie : Rappels bibliographiques

I. Les candidoses invasives

1. Définition

Le spectre des infections liées aux levures du genre *Candida* est relativement large. À la différence des candidoses cutanéomuqueuses qui se caractérisent par une infection de la peau (intertrigo) ou des muqueuses (candidose buccale, œsophagite et vulvovaginite), la candidose invasive fait suite à une pénétration des levures du genre *Candida* dans les tissus, sous la barrière épithéliale, ou au niveau des organes. [19, 20] Trois types de candidoses invasives peuvent être documentées [21, 22] :

- Les candidémies qui sont déterminées par l'isolement d'une espèce de *Candida* dans au moins une hémoculture.
- Les candidoses intra-abdominales ou péritonéales, définies par au moins une culture positive à *Candida* spp. dans le liquide péritonéal collecté en peropératoire.
- Les autres candidoses invasives, ou candidoses profondes sont définies par un examen histopathologique ou cytopathologique et/ou une culture montrant des levures dans un échantillon provenant d'un site normalement stérile (liquide pleural, humeur aqueuse, biopsie hépatique ou rénale...).

2. Physiopathologie

Les candidoses invasives sont secondaires, dans la grande majorité des cas, à une contamination endogène à la différence des autres infections fongiques invasives pour lesquelles la contamination est principalement exogène et aéroportée. Le modèle physiopathologique qui permet d'expliquer la plupart des candidoses d'origine endogène est un modèle de translocation digestive des levures commensales du microbiote intestinal (Figure 1). [3, 23] L'étape préalable à l'infection est le plus souvent une colonisation accrue et persistante de la muqueuse digestive qui se développe à la suite soit d'une modification de l'écosystème de la flore endogène, [3] notamment du fait de l'administration de thérapeutique antibactérienne à large spectre chez des patients à risque, [24] soit à la suite d'une perte d'intégrité physique de la muqueuse après une chirurgie ou l'administration de traitements cytotoxiques. [25] Si la majorité des levures responsables de candidoses invasives est d'origine endogène, il existe également une origine exogène liée à une pénétration par voie transcutanée, favorisée par des matériels étrangers, notamment dans les unités de soins intensifs. [26] Ce mode de contamination peut donner lieu à des contaminations croisées. [27] Ainsi, les cathéters veineux centraux constituent une porte d'entrée importante pour les

candidoses invasives et permettent le développement de biofilms, sources de contaminations secondaires et de résistances aux antifongiques. [21]

Après l'étape de colonisation favorisée par les facteurs d'adhésion exprimés par les espèces invasives de *Candida* spp., les levures sont capables de passer à travers la barrière épithéliale par micro-invasion. Cette invasion est facilitée par la capacité à former des filaments qui est un facteur de virulence important même s'il n'est pas indispensable. En effet, *C. glabrata* par exemple, n'existe que sous forme levure et est la deuxième espèce responsable de candidose invasive.

De la même façon qu'elles ont traversé la muqueuse intestinale, les levures pénètrent dans les vaisseaux provoquant une infection systémique et une dissémination à tout l'organisme (Figure 1). [3, 23] Les formes péritonéales sont particulières, car elles sont secondaires à une perforation digestive entraînant ainsi une dissémination dans la cavité péritonéale sans dissémination hématogène initiale. [28]

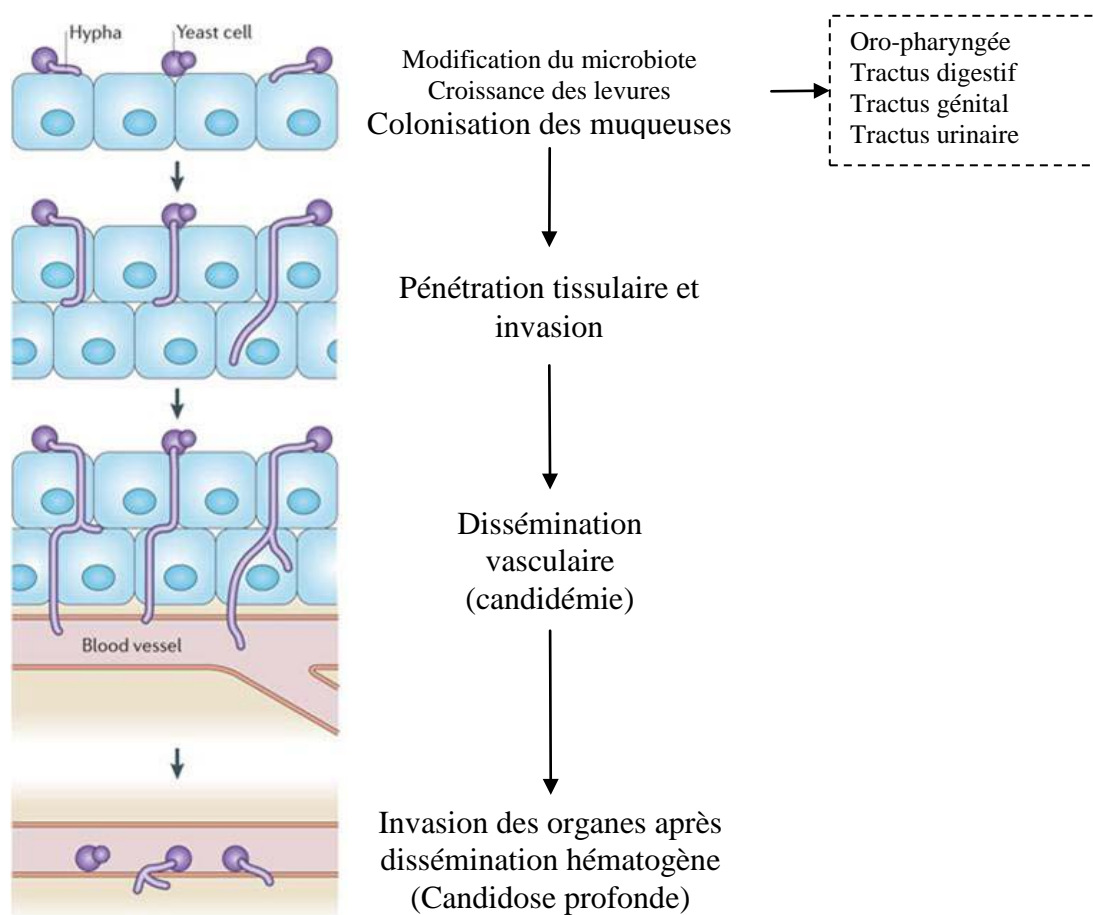


Figure 1: Physiopathologie de la candidose invasive d'après Gow 2012, Nature Reviews Microbiology [23]

3. Facteurs de risque

Les facteurs de risque d'une candidose invasive sont nombreux et non spécifiques. Parmi les plus importants, on distingue : une colonisation multi-site à *Candida*, [29, 30] une antibiothérapie, la présence de dispositifs intra-vasculaires (cathéters veineux centraux, cathéter de Swan-Ganz, cathéters artériels notamment), une neutropénie, un acte chirurgical et notamment chirurgie abdominale, une nutrition parentérale, une corticothérapie, une chimiothérapie, les défaillances d'organes, une insuffisance rénale aiguë, une ventilation mécanique, la durée de séjour notamment en soins intensifs, un sepsis, un âge extrême (nouveau-nés ou patients âgés). [3] Le Tableau 1 adapté de l'article de Pfaller et al. [31] présente une synthèse des principaux facteurs de risque de candidose invasive.

Tableau 1 : Synthèse des facteurs de risque de candidose invasive selon Pfaller et al. [31]

Facteurs de risque	Rôle suggéré dans l'infection invasive
Agents antimicrobiens	Accrois la colonisation et favorise l'accès vasculaire des levures
Traitement par corticostéroïdes	Immunosuppression
Âges extrêmes (<1 an et >70 ans)	Immunosuppression
Chimiothérapie	Immunosuppression
Cancer	Altération de la barrière muqueuse
Colonisation antérieure	Immunosuppression
Suppression de l'acidité gastrique	Favorise la pénétration vasculaire
Présence de cathéters	Favorise la colonisation et la pénétration vasculaire
Nutrition parentérale totale	Accès vasculaire direct
	Possibilité de biofilms
	Hyperglycémie
	Contamination directe
Neutropénie (<500/mm ³)	Immunosuppression
Chirurgie gastro-intestinale	Altération de la barrière muqueuse
	Accès vasculaire direct
	Voie d'infection
Ventilation mécanique	Voie d'infection
Défaillance rénale, hémodialyse	Voie d'infection
	Immunosuppression
Malnutrition	Immunosuppression
Durée d'hospitalisation ou de séjour en soins intensifs	Exposition aux pathogènes
	Exposition à des facteurs de risques additionnels
Défaillances d'organes	Immunosuppression
	Exposition à des procédures invasives

4. Épidémiologie des candidoses invasives

Le genre *Candida* constitue la première cause d'infections fongiques. [32-35] Une étude menée sur le Programme de Médicalisation du Système d'Information (PMSI) en France sur dix ans, a montré que les candidoses invasives représentaient presque la moitié des infections fongiques invasives (43,4%) suivies par les pneumonies à *Pneumocystis jirovecii* (26,1%), les aspergilloses invasives (23,9%) et les cryptococcoses (5,2%). [36]

L'incidence des candidoses invasives a augmenté depuis les vingt dernières années, [37] pour atteindre 9 à 12% des septicémies, et ces infections sont classées au quatrième rang des causes de septicémies nosocomiales. [21, 38] La mortalité attribuable des candidémies est estimée entre 25 et 38%. [37]

5. Le genre *Candida* et les espèces pathogènes

a. Généralités

Le genre *Candida* fait partie de la famille des *Saccharomycetaceae* qui est une des familles de champignons microscopiques. [39] Il s'agit de levures unicellulaires, dont plus de 200 espèces ont été décrites. L'absence de chlorophylle les classe parmi les organismes hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils puisent leurs ressources, et notamment les hydrates de carbone, dans le milieu extérieur pour assurer leur survie et leur croissance. [40] Ce sont des organismes cosmopolites qui sont retrouvés comme commensaux des animaux homéothermes. [41] Chez l'homme, certaines espèces du genre *Candida* sont décrites comme étant des colonisateurs de l'épiderme et d'autres font partie de la flore normale des muqueuses buccales, intestinales et vaginales. [42] *C. albicans* reste l'espèce prédominante, même si cela peut varier en fonction des pays, de l'âge de la population ou en fonction des écosystèmes hospitaliers. Depuis quelques années, il y a une augmentation de la proportion des espèces *Candida* autres que *albicans* (*C. non albicans*). [43] L'épidémiologie des candidoses invasives est dominée par les cinq espèces suivantes : *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. krusei*. L'identification de l'espèce impliquée dans une candidose invasive est cruciale pour le choix du traitement antifongique, du fait de l'existence de résistances naturelles.

b. *Candida albicans*

Il s'agit d'une espèce commensale des muqueuses humaines, notamment la muqueuse digestive. Elle est retrouvée dans la majorité des cas d'infections cutané-muqueuses et dans 40 à 70% des cas de candidémies. [44] La présence d'une tumeur solide, l'absence de prophylaxie par fluconazole ainsi que l'absence de neutropénie ont été identifiées comme facteurs en faveur de *C. albicans*.

c. *Candida* non *albicans*

Ces espèces sont en émergence d'une part à cause de la pression de sélection exercée par le fluconazole sur *C. albicans* qui y est très sensible, et d'autre part du fait de l'augmentation du nombre de patients présentant des facteurs favorables à ces espèces. [45, 46] *Candida glabrata* se retrouve principalement chez les patients les plus âgés. *C. tropicalis* et *C. krusei* sont des espèces qui concernent les patients ayant une chimiothérapie lourde avec une neutropénie sévère. *C. parapsilosis* colonise principalement la peau, et est responsable de candidémie dont la porte d'entrée est un cathéter après formation de biofilm. [21] C'est l'espèce la plus fréquemment impliquée en réanimation néo-natale. Les principaux facteurs associés à l'émergence d'espèces non *albicans* sont présentés dans le Tableau 2. [47]

Ces espèces présentent souvent une résistance intrinsèque aux antifongiques systémiques. Les souches de *C. glabrata* et *C. krusei* sont intrinsèquement moins sensibles et résistantes, respectivement au fluconazole. Les isolats de *C. parapsilosis* présentent une sensibilité naturelle moindre aux échinocandines. [45] La mortalité attribuable est différente selon les espèces, *C. tropicalis* et *C. glabrata* présentent la mortalité attribuable la plus élevée, estimée à 40-70% tandis que *C. parapsilosis* la plus basse, estimée à 20-40%. [46]

Tableau 2 : principaux facteurs associés à l'émergence d'espèces non *albicans* (d'après Paramythiotou et al. [47])

<i>C. glabrata</i>	Patients âgés Transplantation d'organes solides Exposition préalable au fluconazole Association avec des antibiotiques (vancomycine, piperacilin/tazobactam)
<i>C. parapsilosis</i>	Formation de biofilms sur cathéters Épidémies nosocomiales Matériel implanté Nutrition parentérale totale Réanimation néo-natale, enfants
<i>C. tropicalis</i>	Neutropénie Chimiothérapie Hémopathies malignes
<i>C. krusei</i>	Association avec des antibiotiques (vancomycine, piperacilin/tazobactam) Hémopathies malignes Neutropénie Chirurgie abdominale récente Exposition préalable au fluconazole

II. Diagnostic biologique

Le diagnostic des candidoses invasives est difficile et souvent retardé du fait de l'absence de signes cliniques ou radiologiques spécifiques. [6, 19, 21] Les cultures, et notamment les hémocultures, restent les méthodes de référence pour poser un diagnostic de candidémie. Elles permettent d'identifier l'espèce et de déterminer la sensibilité aux antifongiques. Cependant, dans le meilleur des cas, la sensibilité d'une hémoculture reste insuffisante (entre 50 et 75%). Elle est impactée par la présence d'un traitement antifongique [18] et par une localisation profonde, par exemple dans les péritonites, où la levure n'est pas forcément présente dans le sang. [6, 21] Enfin le temps de diagnostic est lié au délai de croissance des levures dans les milieux de culture, [48-51] retardant d'autant la possibilité de mettre en place un traitement efficace. [52] Ainsi le temps moyen de positivité d'un flacon d'hémoculture, toutes espèces confondues a été estimé à 25.9 heures \pm 24.9 heures, avec un temps de positivité plus important pour *C. glabrata* (56.5h \pm 25.5h). [51]

Un des enjeux actuels dans la prise en charge des candidoses invasives est de réduire le délai de diagnostic et d'identifier des biomarqueurs permettant un diagnostic fiable et précoce afin de commencer le plus tôt possible un traitement ciblé. Deux marqueurs ont été étudiés récemment, le (1,3)- β -D-glucane et le mannane.

Le (1,3)- β -D-glucane est un composant de la paroi fongique qui peut être détecté précocement lors d'une infection fongique invasive [53] et dont la diminution est corrélée à une évolution favorable notamment à la suite d'une candidose invasive. [54] Cependant il ne s'agit pas d'un composant spécifique des levures du genre *Candida* et il est détectable plus d'un mois après la fin de l'infection. [21] De plus, le (1,3)- β -D-glucane ne permet pas toujours de distinguer la colonisation de l'infection, distinction qui reste un enjeu majeur chez les patients à risque. Étant donné la faible prévalence des candidoses invasives, un résultat négatif peut être considéré comme une absence d'infection fongique, [53] mais ce biomarqueur ne permet pas de valider le diagnostic. De plus, la forte valeur prédictive négative, souvent présentée dans les études comme un avantage important de ce marqueur, ne permet pas d'exclure beaucoup de patients à risque, notamment dans les unités de soins intensifs. En effet, les patients à risque présentent souvent un résultat positif, du fait de la colonisation préexistante qui peut concerner jusqu'à 80% des patients. [21]

Le mannane, polysaccharide de la paroi des *Candida*, est un autre marqueur qui a fait l'objet d'études pour le diagnostic des candidoses invasives. L'antigène mannane et les

anticorps anti-mannanes peuvent être mesurés à l'aide d'un test immuno-enzymatique (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay ou ELISA). Il s'agit d'un marqueur plus spécifique que le (1,3)- β -D-glucane, mais dont la sensibilité reste faible. [55] Des études ont montré l'intérêt de rechercher conjointement le (1,3)- β -D-glucane et le mannane pour le diagnostic des candidoses invasives. [56]

La détection de l'ADN fongique à l'aide de méthode de biologie moléculaire (Polymerase Chain Reaction ou PCR) montre de meilleures performances en terme de sensibilité et de spécificité que les autres biomarqueurs. [57] Cependant, l'absence de consensus sur les cibles à amplifier ainsi que sur les méthodes à utiliser a retardé le développement de tests utilisables en pratique clinique.

Une nouvelle méthode de diagnostic rapide basée sur la résonance magnétique T2 est en cours de développement et d'approbation par la Food and Drug Administration aux États-Unis. [58] Cette approche automatisée appelée T2Candida propose d'identifier les espèces invasives directement à partir d'un prélèvement sanguin. Sans entrer dans les détails techniques, la méthode se base sur une amplification et une hybridation des amplicons qui modifient le champ magnétique. Les performances de cet outil devancent celles des tests actuels avec un temps de positivité moyen de 4 heures (contre une moyenne de 24 à 36 heures pour les hémocultures en fonction des espèces) et une sensibilité et une spécificité supérieures à 90%, déterminées en utilisant les hémocultures comme gold standard. [58]

Enfin une nouvelle méthode permettant de réduire le temps nécessaire pour identifier une espèce fongique à partir d'une culture positive a été développée : la spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight). [59] Ces techniques permettent une identification d'espèce directement à partir d'un milieu d'hémoculture sans attendre la subculture qui demande au moins 24h.

III. Les traitements antifongiques systémiques

Quatre familles de molécules sont utilisées dans la prise en charge des candidoses invasives : les polyènes, les triazolés, les échinocandines et les pyrimidines (flucytosine) et sont représentés schématiquement dans la Figure 2 issue de l'article de Maubon *et al.* [60]

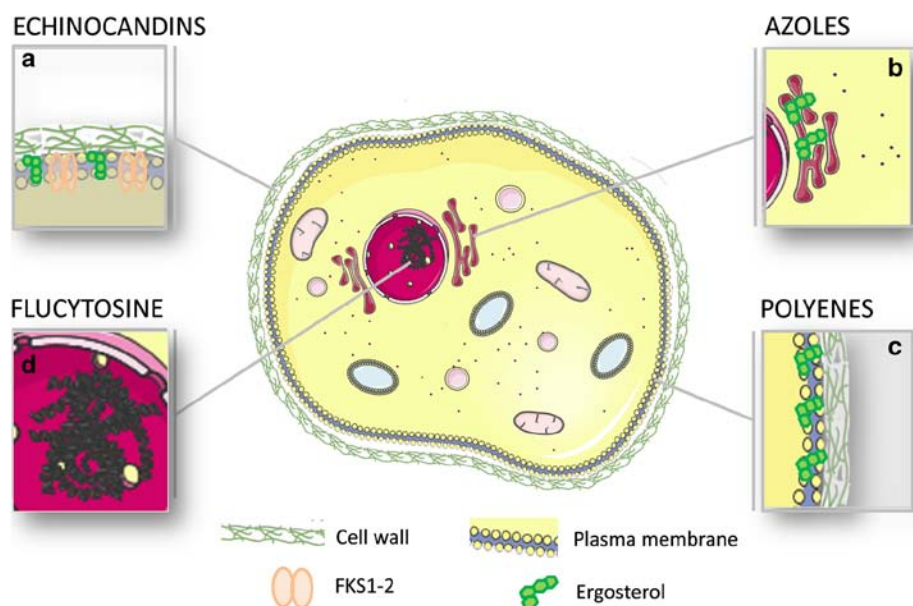


Figure 2 : Cibles et mécanismes d'actions des antifongiques systémiques (Maubon et al. [60])

1. Les échinocandines

Il s'agit de la dernière famille de molécules antifongiques mises sur le marché avec la caspofungine (2001), la micafungine (2005) et l'anidulafungine (2006). [61] Leur action sur les levures du genre *Candida* est décrite comme étant principalement fongicide. Ils sont impliqués dans l'inhibition d'une enzyme, la glucane synthase, responsable de la synthèse des (1,3)- β -D-glucanes, composants essentiels de la paroi fongique. [62] Les principaux phénomènes de résistance observés sont liés à une mutation des gènes *FKS* qui codent pour la (1,3)- β -D-glucane synthase. Ce phénomène entraîne une diminution de l'activité inhibitrice et est à l'origine d'une résistance croisée aux trois molécules. [45, 60] L'espèce *C. parapsilosis* présente un polymorphisme naturel pour ces gènes, ce qui diminue leur sensibilité aux échinocandines. [45]

2. Les triazolés

Le fluconazole est apparu en 1990 et présente une excellente biodisponibilité par voie orale, une large distribution, y compris dans le liquide céphalo-rachidien et l'humeur vitrée et un risque d'interaction et de toxicité moindres que les précédents azolés. Il est rapidement devenu l'un des antifongiques les plus prescrits pour les infections invasives. Son mode d'action fongistatique repose principalement sur l'inhibition d'une enzyme, la 14- α -dé méthylase (également appelée Erg11 ou Cyp51p). Le blocage de cette enzyme a trois effets majeurs : 1) une déplétion en ergostérol membranaire, provoquant une altération de la fluidité et une fragilisation de la membrane 2) une modification de l'activité des protéines liées à la

membrane parmi lesquelles on trouve les enzymes responsables de la synthèse des β -D-glucanes et de la chitine et 3) la synthèse de 14- α -methyl-stérols qui sont toxiques pour la cellule fongique. [45, 62, 63]

Cependant, le fluconazole présente une absence totale d'activité sur les champignons filamenteux comme les *Aspergillus*, les *Fusarium*, ou les Mucorales. Par ailleurs dans le genre *Candida*, les espèces *C. glabrata* et *C. krusei*, *C. inconspicua* et *C. norvegensis* sont moins sensibles, voire complètement résistantes. C'est pourquoi la recherche s'est poursuivie et a abouti à de nouvelles molécules, avec l'apparition du voriconazole (2002), du posaconazole (2006) et de l'isavuconazole (2014), antifongiques à large spectre. Cependant, cet élargissement du spectre d'activité s'est fait aux dépens de la variabilité pharmacocinétique et de l'augmentation d'interactions médicamenteuses.

3. Les polyènes

Dans cette famille, l'amphotéricine B est le premier antifongique systémique, mis sur le marché en 1958, qui a servi de standard dans la prise en charge des candidoses invasives pendant plus de 40 ans. Son action fongicide est liée à la formation d'un complexe avec l'ergostérol, un composant essentiel de la membrane fongique. Ceci va entraîner la formation d'un pore, responsable de l'évacuation du contenu cellulaire et de la lyse osmotique de la cellule. Cependant, si l'amphotéricine B a une affinité supérieure pour l'ergostérol, elle peut également se lier au cholestérol des membranes des cellules humaines, et entraîne des effets indésirables principalement néphrotoxiques notamment à des concentrations élevées. Pour diminuer ces effets indésirables, l'amphotéricine B a fait l'objet d'une innovation galénique avec le développement de formes liposomales et de complexes lipidiques qui diminuent la distribution rénale et augmentent l'affinité pour l'ergostérol des cellules fongiques. Parmi les levures, peu de phénomènes de résistance à la fois intrinsèque (seules les espèces du genre *Trichosporon* sont considérées comme peu sensibles) et acquise (*C. lusitaniae* sensible intrinsèquement peut devenir rapidement moins sensible sous pression antifongique) ont été rapportés.

4. La flucytosine

Il s'agit d'un analogue de la pyrimidine, base azotée, qui est convertie en 5-fluorouracil qui inhibe la synthèse de l'ADN et de l'ARN fongique. [45] Son spectre d'action est étroit avec un risque de résistance acquise élevée. La flucytosine est administrée en association avec les autres antifongiques pour limiter l'émergence de résistance. [63] Son excellente diffusion

tissulaire en fait un antifongique qui reste intéressant dans les candidoses profondes atteignant des sites peu accessibles aux autres molécules.

IV. Prises en charge thérapeutique des candidoses invasives

Deux recommandations internationales existent pour la prise en charge des candidoses invasives chez les patients non-neutropéniques. Les recommandations de la société américaine des maladies infectieuses (IDSA : Infectious Diseases Society of America) [9] et la société européenne ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) [10] se rejoignent sur la nécessité de diagnostiquer le plus rapidement possible une candidose invasive et sur la mise en place d'une thérapie antifongique empirique basée sur l'identification des sujets à haut risque. [21] Il existe plusieurs degrés de traitement qui dépendent de la probabilité de la maladie et du niveau de documentation microbiologique comme cela a été schématisé par Eggimann et al. et repris dans la Figure 3. [6]

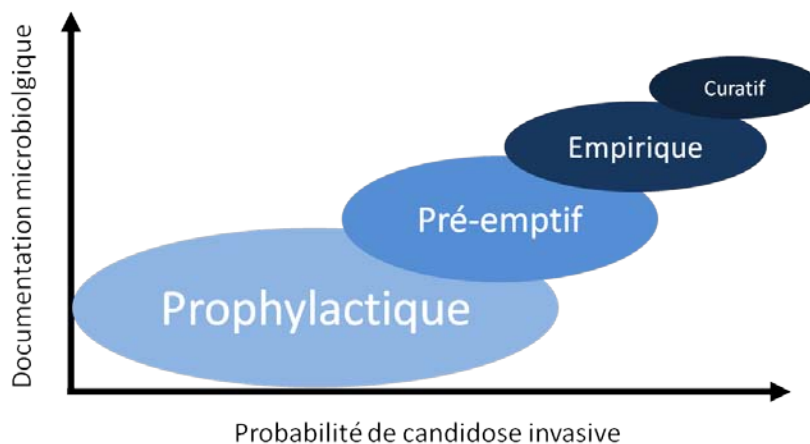


Figure 3 : différents niveaux des traitements antifongiques en fonction du niveau de preuve (d'après Eggimann et al. [6])

1. Le traitement prophylactique

a. Définition

Un traitement prophylactique concerne les patients à haut risque en l'absence de signes cliniques ou biologiques d'infection. Le principal avantage attendu de cette approche est de réduire le risque de survenue d'une candidémie. [64]

b. Prise en charge

La stratégie prophylactique est bien définie pour les patients avec une neutropénie persistante, notamment dans les cas d'hémopathie maligne ou de greffe de cellules souches. [64, 65] Pour les patients non-neutropéniques, le traitement prophylactique est réservé aux patients à risques pour lesquels il a été démontré un bénéfice d'une telle prise en charge. [6] Cependant, face à l'insuffisance de données issues d'essais cliniques, il n'y a pas de groupes à risques clairement défini. [10] Ainsi, le traitement prophylactique peut être recommandé dans les cas de chirurgie abdominale, en particulier les transplantations hépatiques, pour les patients ayant des perforations gastro-intestinales récurrentes ou des fistules anastomotiques. L'objectif est alors de prévenir toute infection intra-abdominale par *Candida* en administrant du fluconazole (400 mg/j). [10] Les autres cas où un traitement prophylactique est recommandé concernent les patients critiques de réanimation sous ventilation invasive ayant plusieurs facteurs de risques de candidose invasive. [10]

2. Les traitements empiriques et pré-emptifs

a. Définitions

Les approches pré-emptives et empiriques sont très proches, conduisant parfois à des confusions. Selon la société européenne de microbiologie clinique et de maladies infectieuses (ESCMID : European society of clinical microbiology and infectious diseases), l'approche pré-emptive est définie comme une thérapie mise en œuvre sur une présomption biologique de candidose (colonisation, marqueurs biologiques, présence de facteurs de risques), mais sans documentation formelle. [10] Le traitement empirique lui est défini comme étant l'administration d'antifongique chez des patients à risques d'infection fongique invasive présentant un sepsis persistant qui ne répond pas à des traitements antibactériens ciblés. [6, 10]

b. Prise en charge

L'initiation d'un traitement empirique se base sur la prescription d'échinocandines en première ligne. En l'absence de culture positive à *Candida*, la décision de démarrer un traitement repose sur quatre éléments : le type de patients (chirurgicaux ou non), le type de candidose invasive la plus probable (intra-abdominale ou candidémie), les scores cliniques (index de colonisation, [66] *Candida* score, [67] score de Dupont [68]) et la présence de biomarqueurs potentiels ((1,3)- β -D-glucane ou mannanes) [21].

Il a été démontré récemment que 7,5% des patients présents un jour donné en unités de soins intensifs, représentant les prescripteurs les plus importants, ont reçu un traitement antifongique. Parmi ceux-ci les deux tiers ne présentent pas d'infection fongique invasive documentée. [69] Les nouveaux antifongiques disponibles sont bien tolérés, ce qui facilite leur utilisation empirique et peut conduire à un sur-traitement. Toutefois, il a été montré que ces sur-traitements contribuent à la sélection d'espèces résistantes et l'émergence de résistances acquises chez des espèces habituellement sensibles. Ces résistances ont été récemment reconnues responsables d'échecs cliniques. [14, 70-72] Par exemple, au sein de la réanimation médicale du CHU de Grenoble, une relation significative a été établie entre une augmentation de la consommation d'antifongiques systémiques et une augmentation de la concentration minimale inhibitrice des levures. [12] En parallèle, aucune étude n'a confirmé le bénéfice des traitements empiriques sur le pronostic du patient. [73, 74] Dans une étude observationnelle basée sur une méthode statistique d'inférence causale, nous avons montré que l'administration d'antifongique systémique de façon empirique n'avait pas d'effet sur le pronostic du patient à court terme, que ce soit la survenue d'une infection fongique ou la mortalité. [11] Enfin il n'existe aucune donnée quant à l'impact de l'arrêt d'un traitement empirique en l'absence de documentation de l'infection. [75]

3. Le traitement curatif

a. Définition

Le traitement curatif est instauré après documentation de la candidose invasive le plus souvent par une hémoculture positive. [10]

b. Prise en charge

Ce traitement dépend de la situation clinique et des espèces isolées, mais repose, selon les recommandations des experts internationaux, sur l'administration d'une échinocandine en première ligne, d'autant plus que l'état du patient est sévère. Il doit se poursuivre pendant au moins 14 jours dans le cas des candidémies non compliquées. [9, 10] Le fluconazole est suggéré en première intention à la place des échinocandines dans le cas où l'infection est due à *C. parapsilosis*. [10]

La fin de la candidémie doit être détectée par au moins une hémoculture journalière jusqu'à la négativité. La recherche de foyers secondaires de la candidémie doit se faire par une échocardiographie trans-oesophagienne et un examen du fond d'œil. [10]

Pour limiter les effets de sur-traitement et le risque de phénomène de sélection de souches résistantes, il est conseillé de mettre en place une désescalade du traitement initial par échinocandine vers un traitement par fluconazole en l'absence de preuve d'infection lorsque l'état du patient est stabilisé après un certain délai qui varie allant de 3 jours pour les recommandations américaines à 10 jours pour les recommandations européennes. [9, 10, 76]

4. Approche médico-économique

Les antifongiques font partie des médicaments onéreux et représentent un budget conséquent pour un CHU. Par exemple, sur le CHU de Grenoble, le budget 2014 consacré aux traitements antifongiques systémiques s'est élevé à 2.569.148 € (source : pharmacie centrale du CHU). En 2011, dans le cadre d'un travail de thèse, seulement 20% des prescriptions d'antifongiques systémiques ont été jugées pertinentes au regard de différents critères (indication, posologie, voie d'administration et durée du traitement) établis à partir des recommandations locales, nationales, européennes et américaines. En adaptant et en ajustant les prescriptions d'antifongiques non conformes, l'économie potentielle sur une année se serait élevée à 18% du budget d'antifongique, soit l'équivalent de 3,5 ETP en poste de praticien hospitalier. [77] Cela rejoint la conclusion d'une étude où il a été estimé que si 100 % des doses journalières définies étaient dispensées correctement, l'économie pouvant résulter représenterait 23% du coût total de la consommation d'antifongiques. [78] Une étude récente a montré que les principales raisons de prescription abusive des antifongiques étaient le traitement de la colonisation à *Candida* ou l'absence d'arrêt ou de désescalade de traitement en cas de disparition des facteurs de risques chez le patient ou l'absence de confirmation de la candidose invasive. [17] Dans une moindre mesure, nous avons évalué, dans le cadre d'un autre article, que la mise en place d'une désescalade ou un arrêt précoce du traitement, n'impacte pas le pronostic des patients et entraîne une diminution de la durée d'administration des antifongiques systémiques avec une différence de coût médiane de 1.100 € par patient en faveur de la désescalade. [79]

2^{ème} partie : Apport des modèles hiérarchiques dans l'analyse des données biologiques

I. Définition des données répétées

Les données répétées, également appelées données longitudinales, se définissent par des mesures réalisées sur une même unité (patient, sérum, animal...), à des temps différents. Ce type de données est fréquemment rencontré dans le domaine médical. L'automatisation du recueil des données des différents appareils et le déploiement de systèmes d'informations hospitaliers facilitent l'accès à ces données répétées.

II. Structure hiérarchique des données

Les données répétées peuvent s'assimiler à des données hiérarchiques qui sont définies par différents niveaux d'information. Le niveau de base est le niveau de collecte des données, et les niveaux supérieurs sont des niveaux de regroupement, correspondant à des caractéristiques communes. Pour illustrer cela à partir de l'article qui sera présenté ultérieurement, nous avons étudié ici les résultats des flacons d'hémocultures chez des patients du CHU de Grenoble. Chaque patient peut être prélevé plusieurs jours, et à chaque prélèvement, plusieurs flacons peuvent être prélevés. En effet, il existe trois flacons d'hémocultures : deux flacons contenant des résines adsorbantes dont un poussant en aérobie et un autre en anaérobie et un flacon spécifique des espèces fongiques ne contenant pas de résine (Mycosis).

La Figure 3 est une représentation schématique d'une structure de données hiérarchiques à trois niveaux. Au premier niveau, les caractéristiques du patient (âge, sexe, paramètres cliniques initiaux) sont recueillies à son entrée à l'hôpital ou dans le service et restent fixes pendant son séjour.

Au deuxième niveau, pour chaque patient il peut y avoir plusieurs jours où des prélèvements sont réalisés durant le séjour pour lesquels de nouvelles informations sont recueillies : date de prélèvement, administration d'antifongiques, nombre de jours depuis l'entrée dans le service, etc. Ces informations sont les mêmes pour tous les flacons prélevés ce jour là.

Enfin le troisième niveau concerne les informations qui varient pour chaque unité d'analyse, c'est-à-dire le flacon d'hémoculture. Pour ce niveau de nouvelles données sont recueillies : date de mise en culture, date de positivité, temps de positivité, espèce identifiée, etc.

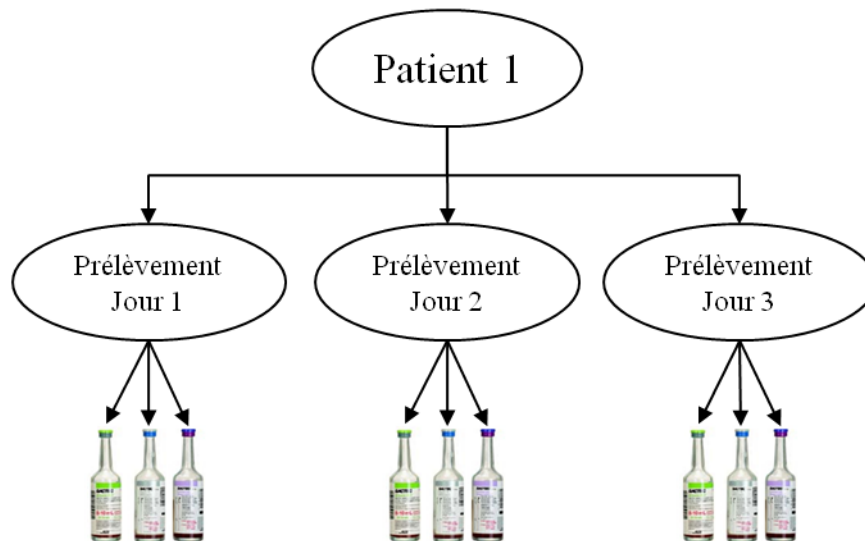


Figure 4 : Schéma d'une structure de données hiérarchiques à trois niveaux

III. Les modèles pour données hiérarchiques

Les approches classiques de statistique inférentielle (par exemple test de Student, analyse de la variance (ANOVA), régression logistique) s'appuient sur l'hypothèse, forte, d'indépendance des observations entre elles. Comme nous pouvons le remarquer sur la Figure 3, cette hypothèse n'est pas vérifiée dans le cas des données longitudinales. Malheureusement, dans de nombreux cas, les études médicales continuent à utiliser des méthodes de régression standards pour analyser ces données.

En plus de la violation de l'hypothèse d'indépendance des données, l'absence de prise en compte de la répétition des mesures conduit à une sous-estimation de la variance liée à une inflation artificielle du nombre d'observations indépendantes aux niveaux les plus élevés. Dans l'exemple de la Figure 3, cela correspond à une multiplication des valeurs des caractéristiques des patients qui sont communes à chaque flacon étudié. Étant donné qu'il y a neuf flacons, l'âge du patient serait pris en compte neuf fois, de même que ses autres caractéristiques. Au niveau du jour de prélèvement, pour le premier jour étudié, si le patient est sous antifongique, cela serait pris en compte trois fois au lieu d'une. Ainsi un patient ayant trois flacons prélevés sur dix jours pèsera davantage qu'un patient ayant trois flacons prélevés sur un jour.

Cette approche conduit à une erreur de type I, c'est-à-dire au risque de conclure à un lien significatif entre un facteur d'exposition et la variable d'intérêt, alors que ce lien n'existe pas en réalité. [80]

Les modèles hiérarchiques, également connus sous le terme de modèles à effets mixtes, permettent d'analyser des données présentées sous forme de cluster. En prenant en compte les informations correspondant aux différents groupes, cette approche permet d'obtenir des erreurs standards correctes, et donc des intervalles de confiance et des tests de significativité corrects. En outre, ces modèles fournissent une estimation de la variabilité intra-groupe et inter-groupe. [81, 82] Pour l'exemple de la Figure 3, cela revient à estimer d'une part la variation des mesures observées au niveau d'un patient (variation intra-groupe) et d'autre part l'effet du patient par rapport aux autres (variation inter-groupe). Cette approche est très utile dans le cas des études multicentriques pour prendre en compte la variabilité au sein d'un même hôpital et la variabilité inter-hôpital.

3^{ème} partie : Evaluation de l'impact des traitements antifongiques sur le diagnostic des candidémies

Article soumis

Titre : Impact of systemic antifungal therapy on the detection of *Candida* spp. in blood cultures in clinical cases of candidemia

Présentations en congrès :

- Poster présenté au 7th trends in Medical Mycolgy 2015, Lisbon, 9-12 octobre 2015.
- Résumé soumis pour présentation orale pour le congrès de la Société de Réanimation en Langue Française (SRLF) 2016 portant sur les patients de réanimation (Annexe 1)

Résumé:

L'objectif de l'étude était d'évaluer, en situation clinique, l'impact d'un traitement antifongique systémique sur la détection des levures dans les flacons hémocultures. De plus, les performances des différents types de flacons ont été analysées en fonction de la présence d'un traitement antifongique.

Cent vingt-cinq patients ayant eu une candidémie au CHU de Grenoble sur 4 ans (2010 – 2013) ont été inclus de façon rétrospective. Nous avons comparé les résultats des flacons avec résines adsorbantes (Bactec aérobie et Bactec anaérobie) avec ceux des flacons sélectifs des champignons ne contenant pas de résines (Mycosis) pour : le taux de positivité, le temps de positivité (TTP) et la concordance des flacons positifs, en utilisant pour chaque caractéristique une analyse multivariée avec un modèle hiérarchique à effets mixtes. Une analyse en sous-groupe a été réalisée pour les patients en unités de soins intensifs.

Nos résultats montrent que le taux de positivité des flacons est diminué par la présence d'un traitement antifongique ($p < 0.01$), par une chirurgie abdominale ($p = 0.01$) et par une hémodialyse ($p = 0.02$). Le traitement antifongique augmente significativement le TTP dans tous les flacons. Cependant, même si le TTP reste comparable entre les deux types de flacons, l'effet du traitement antifongique est significativement plus élevé pour les flacons sans résines. Enfin, le traitement antifongique diminue le taux d'agrément observé entre les deux types de flacons.

Bien qu'il s'agisse d'une étude rétrospective monocentrique et que certains facteurs n'aient pas été pris en compte, comme le volume de prélèvement, les résultats montrent clairement que le traitement antifongique modifie le résultat et le temps de détection des deux types de flacons. Cela doit être pris en compte lors de l'analyse des résultats biologiques. De plus, cette étude a démontré l'intérêt d'associer des flacons avec résines et des flacons sans résines pour optimiser la détection des levures, notamment en présence de traitement antifongique.

Impact of systemic antifungal therapy on the detection of *Candida* species in blood cultures in clinical cases of candidemia

Sébastien Bailly,^{1,2,3} Cécile Garnaud^{1,4}, Muriel Cornet,^{1,4} Patricia Pavese,⁵ Rebecca Hamidfar-Roy,⁶ Luc Foroni,⁷ Sandrine Boisset,⁸ Jean-François Timsit,^{3,9} Danièle Maubon^{1,4}

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Institut de Biologie et de Pathologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France

² U823, Université Grenoble Alpes, France

³ UMR 1137 - IAME Team 5 – DeSCID, Inserm/ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité University, Paris, France

⁴ Laboratoire TIMC-TheREx, UMR 5525 CNRS-UJF, Université Grenoble Alpes, France

⁵ Département des maladies infectieuses, CHU Grenoble, France

⁶ Réanimation médicale, CHU Grenoble, France

⁷ Pharmacie hospitalière, CHU Grenoble, France

⁸ Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Institut de Biologie et de Pathologie, Grenoble, France

⁹ Réanimation Médicale et des Maladies Infectieuses, Hôpital Bichat, Paris, France

Keywords: candidemia, blood culture, systemic antifungal therapy, diagnosis

Running title: Impact of systemic antifungals on blood culture

Corresponding author: Danièle Maubon, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Institut de Biologie et de Pathologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France. dmaubon@chu-grenoble.fr; daniele.maubon@ujf-grenoble.fr Tel (+33) 4 76 76 54 90. Fax (+33) 4 76 76 52 28.

SYNOPSIS 246 words

Objectives

Candidemia diagnosis and follow-up still rely on blood cultures. Here, we present a clinical study of the impact of systemic antifungal therapy (SAT) on yeast detection in blood culture.

Methods

Patients (n=125) experiencing candidemia at Grenoble University Hospital (France) were included in a four-year retrospective study. The Plus Aerobic/F (Aerobic) and Plus Anaerobic/F (Anaerobic) bottles, which both contain adsorbing resins, and the non-resin Mycosis IC/F (Mycosis) bottles were compared using multivariate hierarchical models adjusted on clinical characteristics.

Results

The positivity rate (PR) was significantly decreased in patients with SAT ($p < 0.01$), abdominal surgery ($p = 0.01$), and hemodialysis ($p = 0.02$). In all bottles, the SAT reduced the PR by a factor of 0.16 (95% CI: [0.08; 0.32]) and increased the time to positivity (TTP) by a factor of 1.76 ([1.30; 2.40]; $p < 0.01$). The impact of SAT on the TTP was higher in non-resin bottles (Mycosis) than in resin bottles (Aerobic and Anaerobic grouped together) (RR=1.76, [1.30; 2.40]); however, the TTPs in non-resin and resin bottles remained comparable. A discordance regarding the PR was observed with and without SAT (37 and 58%, respectively), but the SAT decreased significantly the agreement rate by a factor of 0.29 (CI: [0.12; 0.68]).

Conclusion

We showed a significant effect of SAT on blood culture results and a clear benefit from the concomitant use of resin and non-resin bottles, especially in patients receiving SAT. Taking into account the presence of SAT in both the blood culture protocol and the result analysis may improve patient management.

INTRODUCTION

Over the 20 past years, *Candida* species have been increasingly found in blood infections, [1] whereas candidemia has a poor prognosis [2] and a relatively high mortality rate partly because of delayed diagnosis.[3-5] Unfortunately, there is currently no optimal test for rapid and specific diagnosis of candidemia. In fact, despite their low sensitivity (50% to 75% when sampling recommendations are correctly followed), blood cultures remain the gold standard for diagnosing candidemia [6] and are recommended in most guidelines.[6, 7] Blood cultures are also proposed for the monitoring of the infection; which implies the collection of at least one blood sample per day until obtaining a negative culture.[6, 8] This monitoring procedure is important because systemic antifungal therapy (SAT) should be maintained 14 days after the last positive blood culture and because an early switch from the first line echinocandin to an azole therapy is recommended in stable patients with negative blood cultures.[6-8]

Currently, only an automated validated blood culture system is promoted and the guidelines provide no clear recommendations about the most efficient blood culture sampling protocol.[6] Also, it is not clear whether the use of a fungal selective medium is beneficial. Contrarily to a non-selective medium, a selective medium contains antibiotics and lytic agents that enhance the positivity rate. This is true for *C. glabrata* and for polymicrobial (bacterial and yeast) infections.[9-11] Contrarily to this selective medium, non-selective aerobic and anaerobic media contain adsorbing agents (resins or charcoal) that capture circulating antimicrobial compounds. It is now well-known that the presence of antimicrobial compounds in blood culture bottles alters the growth of the pathogens and thus their detection by the automated system. Within the context of yeast detection, studies based on artificially spiked blood cultures showed somewhat conflicting results depending on the type of automated system and the *in vitro* protocol.[12] Recent studies have shown that the presence of antifungal agents (more specifically fungicidal agents such as echinocandins) in spiked blood culture bottles without adsorbing agents may affect significantly the positivity rate as well as the time to positivity (TTP) of the cultures.[13, 14] Because empirical or preemptive SAT with echinocandins is increasingly prescribed to patients with suspected candidemia, this SAT may have a direct impact on the time to diagnosis and to initiation of a targeted antifungal therapy. In patients with documented candidemia, antifungal treatment may also change the follow-up strategy that is currently based on repeated blood cultures and affect the time to step-down or end therapy.

Assessing the diagnostic value of candidemia for one type of blood culture bottle is challenging because of the lack of comparative studies in real clinical situations. Because

candidemia is still a rare event in patients with sepsis, clinicians prescribe frequently tests in non-selective aerobic and anaerobic resin bottles before adding selective non-resin fungal bottles. In the meantime, some patients may have already received SAT, which may complicate the interpretation of blood culture results. This raises the following questions: 1) does SAT alter the detection and the time to detection in blood culture bottles and, if so, does this effect vary according to the presence of resins? 2) What is the added value of each type of blood culture bottle in the clinical setting of candidemia in presence and absence of SAT? In this study, we addressed these two questions in real clinical conditions by investigating the ability of selective non-resin fungal (Mycosis) and non-selective aerobic and anaerobic resin bottles (Aerobic and Anaerobic) to detect candidemia knowing the patients' status regarding SAT.

MATERIAL AND METHODS

Patients

This retrospective study was conducted from July 2010 to March 2014 at Grenoble University Hospital, France. It included all patients experiencing candidemia defined as at least one blood culture bottle positive for *Candida* species. Patients receiving SAT and admitted to the intensive care units (ICUs) were subject to sub-group analyses.

Blood culture systems

The Bactec Mycosis IC/F (Mycosis) (BD Diagnostics, Sparks, USA) bottle is a selective medium developed to improve the recovery of fungi from blood. It contains antibiotic and lytic agents with no adsorbing resins.[15] The Bactec Plus Aerobic/F (Aerobic) and the Bactec plus Anaerobic/ F (Anaerobic) (BD Diagnostics) bottles contain nonionic adsorbing resins to neutralize antibiotics. For each bottle, the volume recommended for inoculation was 8 to 10 mL of blood. All blood culture bottles were incubated in an automated system BACTEC FX (BD Diagnostics). The maximum incubation time was 5 days for Aerobic or Anaerobic bottles and 6 days for Mycosis bottles.[16] All blood cultures positive for yeasts were sub-cultured, and the strains identified using assimilation tests (api-ID32C, bioMérieux Marcy l'Etoile, France), rapid identification tests (Glabrata RTT, Bichro-Latex Albicans, Krusei Color; Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret, France) or mass spectrometry using MALDI-TOF technology (BRUKER DALTONIK GmbH, Bremen, Germany).

The present analysis considered the use of all three blood culture bottles available at the hospital (Aerobic, Anaerobic, and Mycosis).

Data collection

Throughout the study, the sampling date, the type of blood culture bottle, the time to positivity (TTP), and species identification were collected using the BD EpiCenter software (BD Diagnostics) and the Laboratory Information System (Synergie Software, Technidata, Meylan, France).

For each patient with candidemia, information about SAT was collected. It included the date and duration of each treatment and the antifungal class including azoles (regarded as fungistatic), echinocandins or polyens (regarded as fungicidal).

Finally, laboratory data were confronted with pharmacological data to determine whether antifungal compounds are present in the blood at the time of blood sampling. Besides, the following clinical data were collected: Charlson score, hospital unit, age, sex, broad spectrum antibacterial therapy, catheterization, invasive mechanical ventilation, abdominal surgery, severe sepsis. The SAPS II score was available only for ICU patients.

Statistical analysis

Positivity rate analysis

The positivity rate (PR) was determined for resin bottles (Aerobic and Anaerobic grouped together) and non-resin ones (Mycosis). After the first positive blood culture, each bottle collected was considered within a 5-day interval. This 5-day interval was chosen because the positive and negative bottles during this period could belong to the same episode of candidemia. A negative blood culture bottle was considered as a false negative whenever one of the two other bottles (of the set of 3 with the same blood sample) was positive. A multivariate hierarchical model was used to identify the factors associated with an increase or a decrease in the probability of having a positive result within this period. Finally, a sensitivity analysis was performed by considering only Aerobic and Mycosis bottles.

Time to positivity analysis

For the time to positivity, we considered only the sampling days with at least one positive blood culture. To assess the effect of SAT on the time to positivity (TTP), we considered that when a patient had a candidemia diagnosis based on at least one positive blood culture bottle, the negative bottles collected the same day were considered having a TTP equal to the maximum incubation time in the study; i.e., 144 hours.

In patients with more than one positive blood culture bottle, the TTP of each bottle was considered independently. Among the resin bottles, only the bottle (Aerobic or Anaerobic) with the shorter TTP was considered. Firstly, a univariate analysis was performed using the non-parametric Kruskal-Wallis test to compare the raw TTPs according to the SAT administration and the type of blood culture bottle. Secondly, a three-level hierarchical model for patient, sampling days and blood culture bottles was used to study patient variability and the multiple sampling dates. A negative binomial distribution was used to identify the factors associated with an extended TTP. Finally, because SAT and the bottle type (resin *versus* non-resin) are both assumed to influence TTP, an interaction term between SAT and the bottle type was introduced into the model.

Two sub-groups analyses for PR and TTP were designed by focusing specifically on: 1) ICU patients, which allowed including the severity of illness (SAPS II) as a factor in the model 2) only SAT-treated patients to study both the impact of SAT type (fungistatic versus fungicidal) and the time elapsed from SAT initiation to positivity.

Agreement between resin and non-resin bottles

In a first analysis, only patients with a pair of blood culture bottles constituted by one resin (Aerobic or Anaerobic) and one non-resin (Mycosis) bottle collected the same day were considered. A concordant result was defined as positive resin and positive non-resin bottles for the same species. In a second analysis the results of Aerobic, Anaerobic, and Mycosis bottles collected the same day from the same patient were independently considered. Univariate analyses were performed to assess the concordance between bottles using: 1) McNemar test for the concordance between resin and non-resin; and 2) A Cochran Q test for the concordance between the three bottles followed by McNemar post-hoc tests with a Bonferroni correction. In addition, to identify the factors significantly associated with concordance, a multivariate mixed model included all variables with p value < 0.20 in the univariate analyses.

A normal distribution of the residuals was considered for the validity of each model. A p value of 0.05 was considered for statistical significance unless otherwise stated. All statistical analyses were carried out with SAS v9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

RESULTS

Patient and blood culture bottle characteristics

The study included 125 patients with candidemia of whom 72 were males (57.6%). The patients' median age was 61.5 years (Interquartile range, IQR: 48-74) and the median Charlson score was 6 (IQR: 4; 9). At candidemia diagnosis, 64 patients (51.2%) were already admitted to ICU with a median SAPS II score of 47 (IQR: 42-55). Among all patients, 37 (29.6%) have underwent abdominal surgery and 43 (34.7%) have developed severe sepsis. *Candida albicans* was the main species identified (44.5%) followed by *C. glabrata* (24.2%), *C. tropicalis* (10.2%), and other species (10.1%) A more detailed presentation of the clinical conditions is given in Table 1.

Positivity rate

Overall, 586 blood culture bottles were considered within a 5-day interval after the first positive culture. The overall positivity rate was 55% in the absence of SAT (229 positive results out of 418 bottles) and there was no significant difference according to the type of bottle (51% in Mycosis and 57% in resin bottles, $p=0.24$). In the presence of SAT, the overall positivity rate was 27% (45 positive results out of 168 bottles) and there also was no significant difference according to the type of bottle (25% in Mycosis and 29% in resin bottles, $p=0.60$). The overall PR was significantly higher in the absence than the presence of SAT ($p<0.01$) (Figure 1).

The multivariate analysis showed that the PR was significantly associated with SAT, previous abdominal surgery, and hemodialysis which all decreased the probability of blood culture positivity (Table 2). Indeed, regardless of the type of bottle (resin *versus* non-resin), the use of SAT decreased significantly the PR by a factor of 0.16 (95% CI: [0.08; 0.32]), which corresponds to a 6-fold increase in the number of false negative blood culture bottles. Finally, there was a trend, although not significant, towards an increase in the PR in resin bottles (Aerobic and Anaerobic grouped together) as compared to non-resin bottles (Mycosis) (OR: 1.14; 95% CI: [0.72; 1.79]) (Table 2). These results were confirmed by the sensitivity analysis where only Aerobic and Mycosis bottles were compared: the same three factors (SAT, abdominal surgery, and hemodialysis) remained significantly associated with a reduction of the PR (Table E1).

Concerning the sub-group analysis in ICU patients only, only the SAT decreased significantly the PR. In the sub-group of SAT-treated patients only, the effect of SAT effect on positivity

was independent of the type of antifungal treatment (fungicidal or fungistatic) and of the time elapsed from SAT initiation to positivity (Table E1).

Culture time to positivity

Overall, 380 bottles were studied: 216 resin (56.8%) and 164 non-resin (43.2%). *C. albicans* was the main species identified (37.4%) followed by *C. glabrata* (23%), and other fungal species (39.6%) (Table 3). The SAT was initiated before sampling in 101 bottles (26.6%). SAT was mainly echinocandins (n=47, 12.3%) followed by azoles (n=39, 10.2%) and polyenes (n=15, 3.9%) (Table 3).

The median TTP was 26 hours (IQR: 16-46) in the absence of SAT and there was no significant difference between the types of blood culture bottle (23h (IQR: 15-38) in Mycosis and 28h (IQR: 17.5-49) in resin bottles; p=0.20). In the presence of SAT, the median TTP was 41h (IQR: 23-83) and there was also no significant difference between the types of blood culture bottle (39.5h (IQR: 21-144) in Mycosis and 41h (IQR: 23-69) in resin bottles; p=0.50). The median TTP was significantly higher in the bottles of patients with than in those of patients without SAT. (p <0.01) (Figure 2).

In the multivariate analysis, the impact of SAT on the TTP was confirmed; the SAT increased the TTP of all bottles (resin and non-resin) by a factor of 1.76 (95%CI: [1.30; 2.40]; p<0.01). The impact of SAT on TTP was more important in non-resin (Mycosis) than in resin bottles (Aerobic and Anaerobic) (Table 4). Regardless of SAT, the TTP was slightly extended by a factor of 1.15 (95%CI: [0.93; 1.42]) in resin bottles vs. non-resin bottles; however, this trend did not reach statistical significance (p = 0.19; Table 4). With resin bottles, the TTP was significantly extended by a factor of 1.23 (95% CI; [1.01; 1.49]; p=0.04) in Aerobic and 3.17 (95% CI: [2.58; 3.91] in Anaerobic bottles; p<0.01), each type being independently compared with the non-resin bottles (data not shown). The TTP was significantly higher for *C. albicans* and *C. glabrata* versus other species (p=0.02, RR=1.38 95% CI: [1.06; 1.79] for *C. albicans* and p = 0.05, RR= 1.37 95% CI: [1.00; 1.87] for *C. glabrata*) (Table 4).

In the sub-group analyses, focusing on ICU patients only, SAT remained significantly associated with an increase of the TTP. The impact of SAT remained significantly higher in Mycosis bottles than in Aerobic and Anaerobic bottles (interaction terms), however Aerobic and Anaerobic bottles grouped together were still associated with an increase of the TTP in comparison with non-resin (Mycosis) bottles. There was no effect of SAPS II on TTP (Table E2). Focusing on SAT-treated patients only, the TTP was not significantly influenced by the

Candida species, the type of SAT (fungicidal or fungistatic), or the time elapsed from SAT initiation to positivity (Table E3).

Agreement rate analyses

We considered 133 pairs of blood cultures (133 resin – Aerobic or Anaerobic – and 133 non-resin bottles) from 82 patients (Figure 3). Agreements between resin and non-resin bottles were observed in 61 pairs (63%) in untreated patients and for 15 (42%) in patients receiving SAT. In concordant results, resin and non-resin bottles had close median TTPs in SAT-treated patients (45 hours, IQR: 26.5-79.5 and 44 hours, IQR: 25.5-144, respectively, $p = 0.80$), and untreated patients (30 hours, IQR: 19-67.5 and 25 hours IQR: 19-42, respectively, $p = 0.66$). In the absence of SAT, only 16 (16%) blood cultures with resin and 20 (21%) non-resin bottles were positive. In the presence of SAT, 13 (36%) resin bottles and 8 (22%) non-resin bottles were positive (Figure 3).

In the multivariate analysis, the use of SAT was significantly associated with a decrease in the agreement rate (OR: 0.29, 95% CI: [0.12; 0.68], $p < 0.01$). When the three bottles were considered independently, some candidemia diagnoses were achieved with only one bottle (Figure E1). The analysis of the results of the pairs showed that the Aerobic-Mycosis bottle combination reached the best positivity rate with all species in presence (PR = 88%) or absence (PR = 99%) of SAT. Only *C. glabrata* was better detected by the Anaerobic-Mycosis bottle combination with a 100% positivity rate (Table E4 and E5).

DISCUSSION

We conducted a study based on routine clinical and biological data to evaluate the impact of systemic antifungal therapy on the performance of different types of blood culture bottles in patients with candidemia. To the best of our knowledge, this is one of the first studies to analyze the agreement rate between resin non-selective (Aerobic and Anaerobic) and non-resin fungal selective (Mycosis) bottles in the presence or absence of SAT. We showed that the concomitant use of resin bottles and non-resin bottles is important for patient's care regardless of SAT and that the benefit is even greater for patients receiving SAT. We noticed that the SAT influences the PR of blood cultures independently of the bottle type (resin or non-resin). Regarding the TTP, though the impact of SAT on non-resin bottle results was more important than on resin bottle results, the TTP remained comparable between resin grouped together and non-resin bottles. Knowing that up to 75% of in ICU patients receive empirical SAT for invasive candidiasis, our results support the recommendation of blood culture on both resin and non-resin bottles and, whenever possible, before SAT.[17, 18]

In case of suspected candidemia, blood culture should be done daily. The use of a supplementary bottle involves blood depletion and costs.[6] Despite a high amount of published data regarding the performance of currently available blood culture-automated systems, the benefit from using all Aerobic/Anaerobic resin bottles and Mycosis non-resin bottles within the context of candidemia remains unclear to many clinicians.[9, 11, 13, 19-23] Recent results on *in vitro* simulated blood cultures suggest that follow-up should be performed with non-selective media containing an adsorbent system rather than with selective media without adsorbing resins.[13, 14] In the present study, we could not confirm that resin bottles were more efficient, especially in the presence of fungicidal agents such as echinocandins.[14] On the contrary, we showed that, in real clinical settings, the use of resin and non-resin bottles favors candidemia detection, especially when SAT is ongoing. This discrepancy may be due to the fact that, in real clinical settings, blood cultures are not carried out at the maximal concentration (C_{max}) of the SAT. Thus, the antifungal concentration may be subject to variations. A difference between the *in vivo* and *in vitro* metabolism of echinocandins may be involved too.

We found that there was no difference in terms of PR between Aerobic/Anaerobic resin bottles and Mycosis non-resin bottles. Because the collection of their results is generally made simultaneously, we have chosen to compile positive results from both Aerobic and Anaerobic bottles. Under these conditions, we could not confirm the superiority of non-resin bottles in detecting a higher number of culture with *C. glabrata*. This may be because positive

results in Aerobic and Anaerobic bottles were combined under resin bottle results or simply because previous conclusions were mostly those of *in vitro* simulated blood cultures that may not reflect real *C. glabrata* bloodstream infections. The SAT was significantly associated with a decrease in the probability of blood culture positivity but this was not related to the presence or absence of resins in the bottle. Thus, in the present study, the performance of resin and non-resin bottles were found equivalent in terms of positivity rate with or without SAT.

TTP is an important parameter because it can lead to quicker targeted SAT initiation, which is beneficial for the patients [24]. In our study, 27% of the bottles (corresponding to 9.6% of patients) contained SAT at the time of blood culture and we showed that the presence of SAT extended the TTP by a factor of 1.76 ([1.30; 2.40]; $p < 0.01$). TTP of *Candida* blood culture has been also proposed to help species differentiation, especially regarding *C. glabrata* whose growth is relatively slow.[25, 26] Here, the TTP was significantly increased with *C. glabrata* and *C. albicans* vs. other species. TTP was also found significantly higher with Anaerobic than with Aerobic or non-resin bottles, except for *C. glabrata* (data not shown). This is a classical case because aerobic conditions are normally needed for yeast growth. Others have suggested that the TTP may be used to predict clinical outcomes.[27, 28] Kim et al. showed that the mortality rate at 6 weeks was significantly higher in a group with TTPs ≤ 24 h than in the group with TTPs > 24 h.[28] In their cohort, 8% of the patients received SAT prior to a positive blood culture but the proportion of bottles with SAT and the influence of SAT were unknown.

Here, we considered that neither the results on PR nor those on TTP were sufficient to show a clear benefit of using a single bottle at the patient level. We looked forward to the agreement rate between the different types of bottles (Figure 2) and showed that both resin and non-resin bottles bring an added value to candidemia diagnosis. Choosing between the two would lead to a loss of information for candidemia management. For example, the selection of Aerobic and Anaerobic bottles in the presence of SAT results in a loss of 13 positive bottles; i.e., 36%. There may be several hypotheses to explain the discordant results between the types of bottles. First, the growth of *Candida* species can be different according to the culture medium but, in our study, the discordances were not significantly related to the species. The multivariate analysis showed a significant increase in discordant results in SAT patients. This suggests that the collection of both resin and non-resin bottles is required in patients under SAT. Finally, in cases of an extremely low inoculum concentration, discordance may result simply from the growth of yeasts in only one bottle. However, this is unlikely because a blood concentration of 1 CFU/mL is sufficient to provide a positive

aerobic or selective medium.[12, 29] In Patel *et al.*, a higher rate of bacteremia was detected with 30 mL of blood versus 20 mL of blood, but this strategy did not enhance the rate of *Candida* identification.[30]

In contrast to studies focusing on bacteremia, we found no evidence of microbial or clinical determinant of TTP.[31] Only abdominal surgery and hemodialysis patients correlated with low positivity rates. For abdominal surgery, this may be the consequence of a low rate of circulating yeast in the context of abdominal candidiasis. Hemodialysis is commonly associated with an increased risk of candidemia [32] but our study showed a lower number of positive bottles during the candidemic episode. This cannot be explained without further studies.

The present study has several limitations. First, it was a retrospective study carried out in a single university hospital and the number of patients with candidemia was rather small. Second, although local guidelines for blood culture should be respected, we could not monitor the filling of each blood culture bottle. This parameter can influence blood culture results.[33] Monitoring systems that measure blood volume in the blood culture will probably become of paramount importance in the management of candidemia.[33] Third, the antifungal susceptibility of the strains was not collected; this may have led to potential biases in the analysis of the impact of SAT. However, three patients with *C. glabrata* (13 bottles) did not receive fluconazole and no patient with *C. parapsilosis* received echinocandins; this suggests a small impact of the intrinsic resistance on our results. Finally, the sub-group analyses of SAT-treated patients are certainly under-powered due to the small sample size. These specific issues should be soon assessed on a larger population. A comparative multicentric study would be also necessary to address definitively the benefit of using both resin and non-resin bottles to diagnose candidemia in the presence or absence of SAT.

CONCLUSION

Constant evaluation of blood culture performances is important because the incidence and mortality from candidemia are still growing despite new antifungals and guidelines.[34] Using a practical clinical approach, we demonstrated that SAT prescription influences significantly the results of blood cultures regardless of the presence of resins in the blood culture bottle. This should encourage clinicians to use only pertinent empirical SAT prescription and start blood cultures before SAT initiation. We demonstrated also that using both Aerobic/Anaerobic resin and Mycosis non-resin bottles have a clear added value because blood culture results obtained in these bottles are often discordant. This added value is even more significant when the patients are under SAT. Thus, a systematic use of both non-resin and resin bottles may not only improve the primary diagnosis but also shorten the time before reducing or ending therapy. When the species are identified, the association Aerobic-Mycosis is the best for all *Candida* species, except *C. glabrata* with which the Anaerobic-Mycosis association gives the best positivity rate. The recommendations on candidemia diagnosis and follow-up should soon be clarified to help clinicians in their everyday practice.

Acknowledgments

The authors are grateful to Lucie Le Pennec for the collection of the clinical and pharmacological data collection. They are also grateful for Jean Iwaz (Hospices Civils de Lyon) for the revision of the final drafts.

Funding

None

Ethical approval

Not required.

Transparency declaration

During the past 5 years, CG received travel grants from Pfizer and MSD, MC received money for lectures from Pfizer and travel expenses from Pfizer, Gilead, and MSD. JFT gave lectures for symposia set up by Astellas, Pfizer, MSD, 3M, Novartis, and Gilead; benefited from unrestricted research grants from 3M, MSD, and Astellas; and was a consultant involved in MSD, 3M, and Bayer scientific boards.

SB, PP, RHR, LF, and DM have no conflicts of interest.

REFERENCES

- [1] Enoch DA, Ludlam HA, Brown NM. Invasive fungal infections: a review of epidemiology and management options. *J Med Microbiol.* 2006;55:809-18.
- [2] Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis.* 2004;39:309-17.
- [3] Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3640-5.
- [4] Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis.* 2006;43:25-31.
- [5] Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Cecilia T, De Pascale G, et al. A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Medicine.* 2014;40:839-45.
- [6] Cuenca-Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Donnelly JP, et al. diagnostic procedures-ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures: Diagnosis of *Candida* diseases. *Clinical Microbiology and Infection.* 2012;18:9-18.
- [7] Marchetti O, Lamoth F, Mikulska M, Viscoli C, Verweij P, Bretagne S. ECIL recommendations for the use of biological markers for the diagnosis of invasive fungal diseases in leukemic patients and hematopoietic SCT recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47:846-54.
- [8] Pappas Peter G, Kauffman Carol A, Andes D, Benjamin JDaniel K, Calandra Thierry F, Edwards JJohn E, et al. *Candida*-Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases.* 2009;48:503-35.
- [9] Meyer MH, Letscher-Bru V, Jaulhac B, Waller J, Candolfi E. Comparison of Mycosis IC/F and Plus Aerobic/F Media for Diagnosis of Fungemia by the Bactec 9240 System. *Journal of Clinical Microbiology.* 2004;42:773-7.
- [10] Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, Fuursted K, Johansen HK, Kjaeldgaard P, et al. National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). *Journal of clinical microbiology.* 2011;49:325-34.

- [11] Ericson E-L, Klingspor L, Ullberg M, Ozenci V. Clinical comparison of the Bactec Mycosis IC/F, BacT/Alert FA, and BacT/Alert FN blood culture vials for the detection of candidemia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;73:153-6.
- [12] George BJ, Horvath LL, Hospenthal DR. Effect of Inoculum Size on Detection of Candida Growth by the BACTEC 9240 Automated Blood Culture System Using Aerobic and Anaerobic Media. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005;43:433-5.
- [13] Jekarl DW, Lee S-Y, Lee S, Park Y-J, Lee J, Baek SM, et al. Comparison of the Bactec Fx Plus, Mycosis IC/F, Mycosis/F Lytic blood culture media and the BacT/Alert 3D FA media for detection of Candida species in seeded blood culture specimens containing therapeutic peak levels of fluconazole. *J Clin Lab Anal*. 2012;26:412-9.
- [14] Kock R, Eissing LC, Bosch MG, Ellger B, Horn D, Idelevich EA, et al. Evaluation of Bactec Mycosis IC/F and Plus Aerobic/F Blood Culture Bottles for Detection of Candida in the Presence of Antifungal Agents. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51:3683-7.
- [15] Fricker-Hidalgo H, Lebeau B, Pelloux H, Grillot R. Use of the BACTEC 9240 System with Mycosis-IC/F Blood Culture Bottles for Detection of Fungemia. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004;42:1855-6.
- [16] Bosshard PP. Incubation of fungal cultures: how long is long enough? *Mycoses*. 2011;54:e539-e45.
- [17] Bailly S, Bouadma L, Azoulay E, Orgeas MG, Adrie C, Souweine B, et al. Failure of Empirical Systemic Antifungal Therapy in Mechanically Ventilated Critically Ill Patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191:1139-46.
- [18] Azoulay E, Dupont H, Tabah A, Lortholary O, Stahl J-P, Francois A, et al. Systemic antifungal therapy in critically ill patients without invasive fungal infection*. *Crit Care Med*. 2012;40:813-22.
- [19] Flayhart D, Borek AP, Wakefield T, Dick J, Carroll KC. Comparison of BACTEC PLUS blood culture media to BacT/Alert FA blood culture media for detection of bacterial pathogens in samples containing therapeutic levels of antibiotics. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;45:816-21.
- [20] Horvath LL, George BJ, Murray CK, Harrison LS, Hospenthal DR. Direct Comparison of the BACTEC 9240 and BacT/ALERT 3D Automated Blood Culture Systems for Candida Growth Detection. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004;42:115-8.
- [21] Horvath LL, George BJ, Hospenthal DR. Detection of Fifteen Species of Candida in an Automated Blood Culture System. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;45:3062-4.

- [22] Riedel S, Eisinger SW, Dam L, Stamper PD, Carroll KC. Comparison of BD Bactec Plus Aerobic/F Medium to VersaTREK Redox 1 Blood Culture Medium for Detection of *Candida* spp. in Seeded Blood Culture Specimens Containing Therapeutic Levels of Antifungal Agents. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011;49:1524-9.
- [23] Klingspor L, Muhammed SA, Ozenci V. Comparison of the two blood culture systems, Bactec 9240 and BacT/Alert 3D, in the detection of *Candida* spp. and bacteria with polymicrobial sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31:2983-7.
- [24] Taur Y, Cohen N, Dubnow S, Paskovaty A, Seo SK. Effect of Antifungal Therapy Timing on Mortality in Cancer Patients with Candidemia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:184-90.
- [25] Huang L, Zhang YY, Sun LY. Time to positivity of blood culture can predict different *Candida* species instead of pathogen concentration in candidemia. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2013;32:917-22.
- [26] Cobos-Trigueros N, Morata L, Torres J, Zboromyrska Y, Soriano A, Pitart C, et al. Usefulness of time-to-positivity in aerobic and anaerobic vials to predict the presence of *Candida glabrata* in patients with candidaemia. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:2839-41.
- [27] Nunes CZ, Marra AR, Edmond MB, Victor EdS, Pereira CAP. Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcome in patients with *Candida albicans* bloodstream infection. *BMC Infectious Diseases*. 2013;13:486.
- [28] Kim S-H, Yoon YK, Kim MJ, Sohn JW. Clinical impact of time to positivity for *Candida* species on mortality in patients with candidaemia. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:2890-7.
- [29] Fricker-Hidalgo H, Chazot F, Lebeau B, Pelloux H, Ambroise-Thomas P, Grillot R. Use of simulated blood cultures to compare a specific fungal medium with a standard microorganism medium for yeast detection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1998;17:113-6.
- [30] Patel R, Vetter EA, Harmsen WS, Schleck CD, Fadel HJ, Cockerill FR. Optimized Pathogen Detection with 30- Compared to 20-Milliliter Blood Culture Draws. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011;49:4047-51.
- [31] Martinez JA, Pozo L, Almela M, Marco F, Soriano A, López F, et al. Microbial and clinical determinants of time-to-positivity in patients with bacteraemia. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007;13:709-16.

- [32] Chow JK, Golan Y, Ruthazer R, Karchmer AW, Carmeli Y, Lichtenberg DA, et al. Risk factors for albicans and non-albicans candidemia in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 2008;36:1993-8.
- [33] Chang J, Park JS, Park S, Choi B, Yoon NS, Sung H, et al. Impact of monitoring blood volume in the BD BACTEC™ FX blood culture system: virtual volume versus actual volume. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;81:89-93.
- [34] Lortholary O, Renaudat C, Sitbon K, Madec Y, Denoeud-Ndam L, Wolff M, et al. Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002-2010). *Intensive Care Medicine.* 2014;40:1303-12.

Table 1 - Clinical characteristics of candidemia patients (N=125).

Characteristic	N (%)
Age (median, IQR)	61.5 [48; 74]
Gender (male)	72 (57.6)
Broad spectrum antibacterial therapy	92 (73.6)
Presence of catheter	66 (52.8)
Intensive care unit	64 (51.2)
SAPS II Score* (median, IQR)	47 [42; 55]
IMV on blood sample day	29 (23.4)
Abdominal surgery	37 (29.6)
Pancreatitis	4 (3.2)
Severe sepsis	43 (34.7)
Charlson score (median, IQR)	6 [4; 9]
Anticancer chemotherapy	40 (32.3)
Hemodialysis	14 (11.2)
Stem cell transplant	7 (5.6)
Solid organ transplant	8 (6.5)
Neutropenia	16 (12.9)
Diabetes	14 (11.3)
Diabetes organ damage	5 (4)
Myocardial infarction	9 (7.3)
Congestive_heart_failure	22 (17.7)
Cerebrovascular disease	10 (8.1)
Chronic pulmonary disease	32 (25.8)
Corticosteroid therapy	22 (17.6)
Moderate severe renal disease	15 (12.1)
Non-metastatic tumor	29 (23.4)
Metastatic solid tumor	23 (18.5)
Moderate severe liver disease	22 (17.7)
AIDS	2 (1.6)
Identified fungal species	
<i>C. albicans</i>	57 (44.5)
<i>C. glabrata</i>	29 (24.2)
<i>C. tropicalis</i>	13 (10.2)
<i>C. kefyr</i>	6 (4.7)
<i>C. lusitaniae</i>	6 (4.7)
<i>C. parapsilosis</i>	5 (3.9)
Other <i>Candida</i> species [†]	6 (4.7)
Other fungal species [§]	4 (3.1)

* SAPS II score: available only for ICU patients.

[†] Other *Candida* species: *C.dublinensis* (N=2), *C. krusei* (N=2), *C. holmii* (N=1), *C. lipolytica* (N=1)

[§] Other fungal species: *Cryptococcus neoformans* (N=1), *Geotrichum capitatum* (N=1), *Saccharomyces cerevisiae* (N=2) - IMV: invasive mechanical ventilation.

Table 2 - Results of the multivariate mixed model for positivity.

Variable	OR [95% CI]	P value
Abdominal surgery	0.42 [0.23; 0.77]	0.01
Broad spectrum antibacterial therapy	0.57 [0.29; 1.12]	0.10
Hemodialysis	0.37 [0.16; 0.85]	0.02
Hospital unit: ICU	1.18 [0.64; 2.18]	0.59
Presence of a catheter	0.79 [0.45; 1.41]	0.43
Corticosteroid therapy	1.46 [0.71; 3.00]	0.31
Candida species		
<i>C. albicans</i>	0.86 [0.45; 1.63]	0.64
<i>C. glabrata</i>	1.55 [0.71; 3.38]	0.28
Other		
Systemic antifungal treatment	0.16 [0.08; 0.32]	<0.01
Resin bottles (Aerobic or Anaerobic)*	1.14 [0.72; 1.79]	0.58
Interaction term: Resin bottles x SAT	0.97 [0.41; 2.32]	0.95

OR>1 in favor of positivity

*Mycosis was taken as reference.

Table 3 - Characteristics and time to positivity of blood culture bottles of the 125 patients with candidemia.

	Aerobic/Anaerobic		Mycosis	
	N (%)	TTP	N (%)	TTP
Number of bottles	216	30 [19; 52]	164	26 [16; 60]
Anaerobic bottles	15	33.5 [17 ; 53]		
Aerobic bottles	201	30 [19 ; 52]		
Candida species				
<i>C. albicans</i>	82 (38.0)	31.5 [21; 69]	65 (39.6)	25 [15; 40]
<i>C. glabrata</i>	52 (24.1)	45 [27; 66]	38 (23.2)	40 [21; 86]
<i>C. tropicalis</i>	23 (10.7)	20 [10; 33]	20 (12.2)	20.75 [10; 39.5]
<i>C. lusitaniae</i>	15 (6.9)	21 [10; 30.5]	8 (4.9)	25 [16; 89]
<i>C. kefyr</i>	13 (6.0)	20 [17; 31]	7 (4.3)	14 [10; 20]
<i>C. krusei</i>	11 (5.1)	32 [20; 144]	9 (5.5)	144 [32; 144]
<i>C. parapsilosis</i>	6 (2.8)	20.5 [19; 22]	6 (3.4)	19.5 [16; 21]
Other <i>Candida</i> *	3 (1.4)	144 [144; 144]	4 (2.4)	30.5 [19; 62]
Other†	11 (5.1)	26.5 [12; 46]	7 (4.3)	23 [13; 27]
Antifungal treatment	55 (25.5)		46 (28.1)	
Azoles	18 (8.4)		21 (12.8)	
Candins	29 (13.4)		18 (11.0)	
Polyenes	8 (3.7)		7 (4.3)	

Aerobic: Bactec Plus Aerobic/F; Anaerobic: Bactec plus Anaerobic/ F; Mycosis: Bactec Mycosis IC/F
Data are expressed as N = number of strains (%) or median and interquartile range for TTP

TTP: Time to positivity (median, IQR)

*Other *Candida*: *C. dubliniensis* (N=2), *C. holmii* (N=1) and *C. lipolytica* (N=1 in Mycosis bottles).

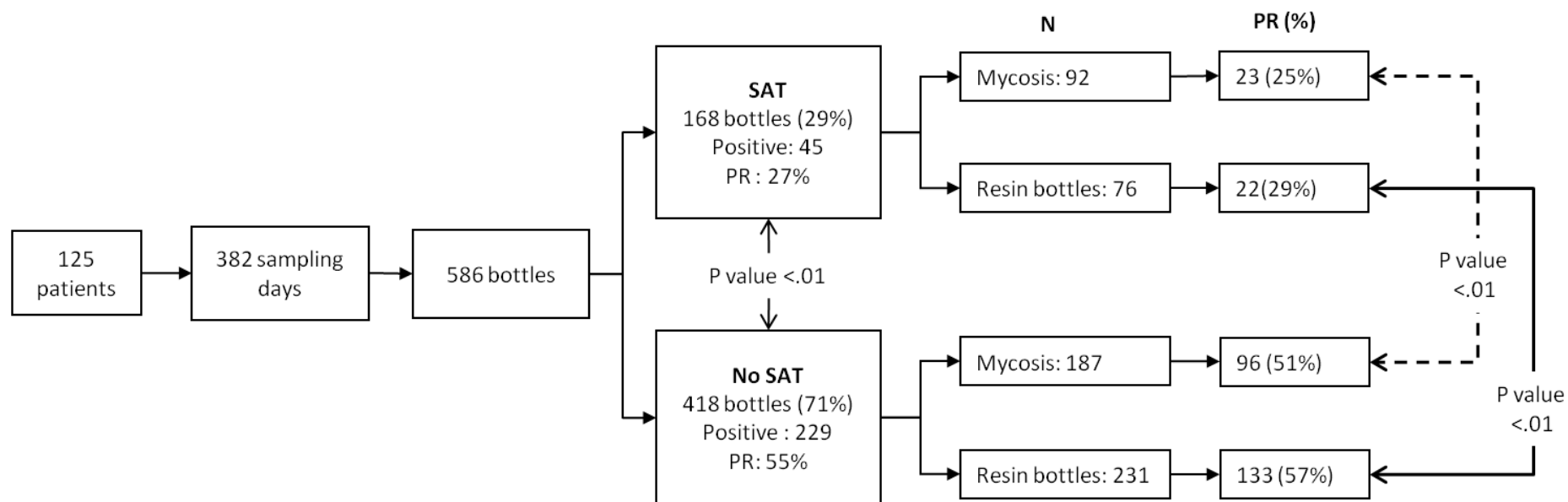
†Other: *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum capitum* and *Saccharomyces cerevisiae*.

Table 4: Results of the hierarchical model for time to positivity.

Variable	Relative risk [95% CI]	P value
Abdominal surgery	0.98 [0.76; 1.27]	0.88
Broad spectrum antibacterial therapy	1.10 [0.85; 1.44]	0.46
Severe sepsis	1.05 [0.82; 1.34]	0.71
Invasive mechanical ventilation	1.38 [1.06; 1.78]	0.02
Presence of a catheter	1.09 [0.86; 1.38]	0.48
Charlson score		
0 – 4	1.13 [0.85; 1.49]	0.41
5 – 7	1.10 [0.84; 1.45]	0.50
8 - 16	Ref	
Delay from 1 st positive result (days)		
0	1.13 [0.89; 1.44]	0.31
1	0.56 [0.41; 0.76]	<.01
>2	Ref	
Fungal species		
<i>C. albicans</i>	1.38 [1.06; 1.79]	0.02
<i>C. glabrata</i>	1.37 [1.00; 1.87]	0.05
Other	Ref	
Type of blood culture bottle		
Aerobic and Anaerobic bottles	1.15 [0.93; 1.42]	0.19
Mycosis bottles	Ref	
Antifungal treatment	1.76 [1.25; 2.5]	<.01
Interaction: SAT*Resin bottles	0.66 [0.45; 0.99]	0.04
Interaction: SAT*Non-resin bottles	Ref	

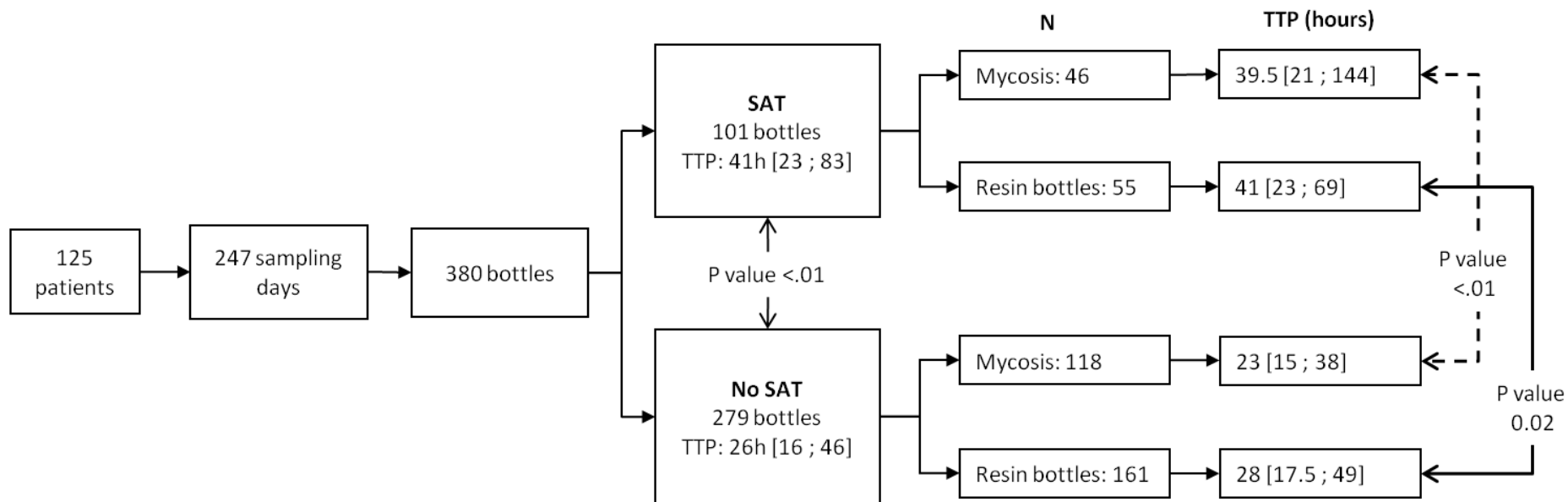
RR>1: increase of the TTP. RR<1: decrease of the TTP.

Figure 1 - Positivity rate: flow chart



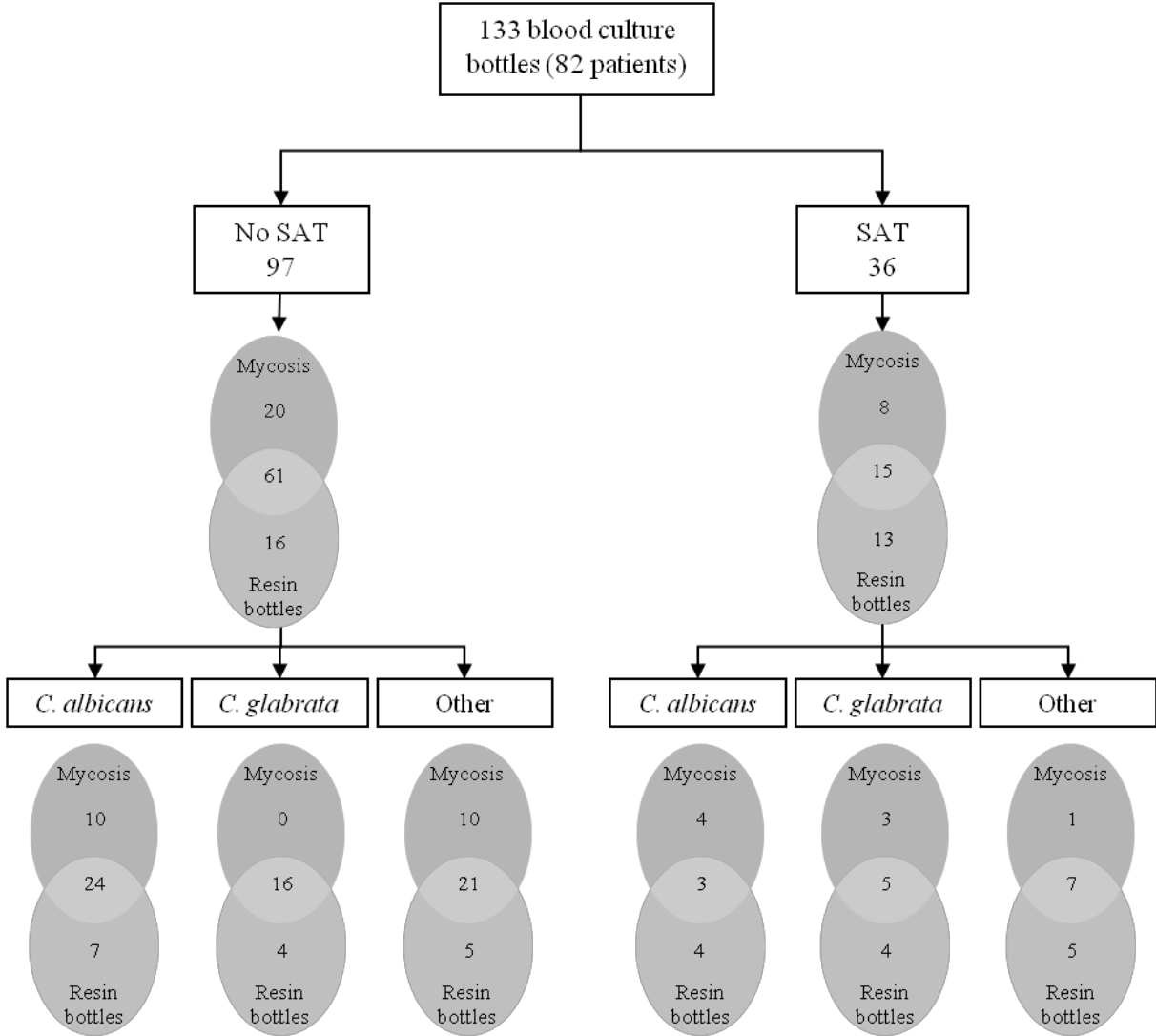
PR: Positivity rate; SAT: Systemic antifungal treatment; Mycosis: non-resin fungal selective bottle; Resin bottles: Aerobic and Anaerobic

Figure 2 - Time to positivity: flow chart



TTP: Time to positivity in hours (median, interquartile range); SAT: Systemic antifungal treatment; Mycosis: non-resin fungal selective bottle; Resin bottles: Aerobic and Anaerobic

Figure 3 - Positive results for pairs composed of resin bottles and Mycosis.



Venn diagrams showing the agreement rate analysis for the pairs composed of one fungal selective bottle (Mycosis) and one couple of resin bottles (Aerobic and Anaerobic). Mycosis zone corresponds to the number of cases with only one positive mycosis bottle. Resin bottles zone corresponds to the number of cases with only one positive resin bottle. The number in the crossing zone corresponds to the number of cases with positive Mycosis and positive resin bottles. SAT: Systemic antifungal therapy.

Supplément électronique

Table E1: Results of the multivariate mixed model for positivity in sub-group analyses (Aerobic vs Mycosis bottles, ICU patients only or SAT treated patients only).

	Aerobic vs Mycosis N bottles = 584		ICU Patients N bottles = 338		SAT Treated patients N bottles = 168	
	OR [95% CI]	P value	OR [95% CI]	P value	OR [95% CI]	P value
Abdominal surgery	0.42 [0.24 ; 0.76]	<.01	0.53 [0.25; 1.16]	0.11	0.56 [0.15; 2.12]	0.4
Broad spectrum antibacterial therapy	0.54 [0.28 ; 1.06]	0.07	0.48 [0.16; 1.42]	0.19	0.54 [0.12; 2.40]	0.42
Hemodialysis	0.36 [0.16 ; 0.82]	0.02	0.42 [0.17; 1.05]	0.07	0.42 [0.05; 3.26]	0.41
Hospital unit: ICU	1.37 [0.75 ; 2.51]	0.30	-	-	-	-
Presence of a catheter	0.78 [0.44 ; 1.37]	0.39	1.00 [0.45; 2.23]	1	0.69 [0.22; 2.16]	0.53
Corticosteroid therapy	1.5 [0.74 ; 3.05]	0.27	1.74 [0.69; 4.41]	0.25	2.41 [0.62; 9.46]	0.21
Candida species						
<i>C. albicans</i>	0.93 [0.49 ; 1.75]	0.82	0.81 [0.36; 1.83]	0.62	0.33 [0.09; 1.19]	0.1
<i>C. glabrata</i>	1.41 [0.66 ; 3.05]	0.38	2.03 [0.70; 5.87]	0.19	0.46 [0.10; 2.09]	0.32
Other	ref		ref			
Systemic antifungal treatment	0.18 [0.09 ; 0.37]	<.01	0.19 [0.07; 0.52]	<.01	-	-
Aerobic bottles	0.96 [0.61 ; 1.51]	0.86	1.05 [0.60; 1.82]	0.87	1.06 [0.47; 2.37]	0.88
Interaction term: Aerobic x SAT	0.94 [0.39 ; 2.25]	0.89	0.95 [0.28; 3.28]	0.94	-	-
SAPS II score						
0	-	-	0.53 [0.22; 1.27]	0.16	-	-
1	-	-	0.42 [0.15; 1.18]	0.1	-	-
ref	-	-	ref		-	-
Type of SAT (Azole vs Fungicids)	-	-	-	-	0.74 [0.25; 2.22]	0.59
Interval from SAT initiation (days)						
[1; 2]	-	-	-	-	0.51 [0.14; 1.83]	0.31
[3; 5]	-	-	-	-	0.24 [0.06; 0.98]	0.05
>5	-	-	-	-	Ref	

OR>1 favor of positivity ; SAT: Systemic antifungal therapy

Table E2 Results of the hierarchical model for sub-group analyses of time to positivity (ICU patients only).

	ICU patients N=338	
	RR [95% CI]	pvalue
Abdominal surgery	0.93 [0.71; 1.22]	0.59
Broad spectrum antibacterial therapy	0.87 [0.61; 1.24]	0.45
Severe sepsis	1.03 [0.79; 1.33]	0.84
Invasive mechanical ventilation	1.22 [0.95; 1.56]	0.11
Presence of a catheter	1.09 [0.83; 1.41]	0.54
Charlson score		0.97
0 – 4	0.96 [0.7; 1.33]	
5 – 7	1 [0.74; 1.35]	
8 - 16	Ref	
Delay from first positive (days)		<.01
0	1.14 [0.9; 1.44]	
1	0.67 [0.5; 0.9]	
>2	ref	
Fungal species		0.07
<i>C. albicans</i>	1.39 [1.05; 1.85]	
<i>C. glabrata</i>	1.27 [0.9; 1.8]	
Other	ref	
Type of blood culture bottle		<.01
Aerobic bottles	1.15 [0.91; 1.45]	
Anaerobic bottles	3.43 [2.66; 4.43]	
Mycosis bottles	ref	
Antifungal treatment	1.92 [1.29; 2.85]	0.05
Interaction: SAT*AE	0.65 [0.41; 1.03]	0.07
Interaction: SAT*ANA	0.51 [0.31; 0.83]	<.01
Interaction: SAT*MY	Ref	
SAPS II score		0.67
0	1.08 [0.8; 1.47]	
1	1.17 [0.82; 1.66]	
ref		

RR>1: increase of TTP. RR<1 : decrease of TTP

AE:Aerobic; ANA: Anaerobic ; MY: Mycosis bottles

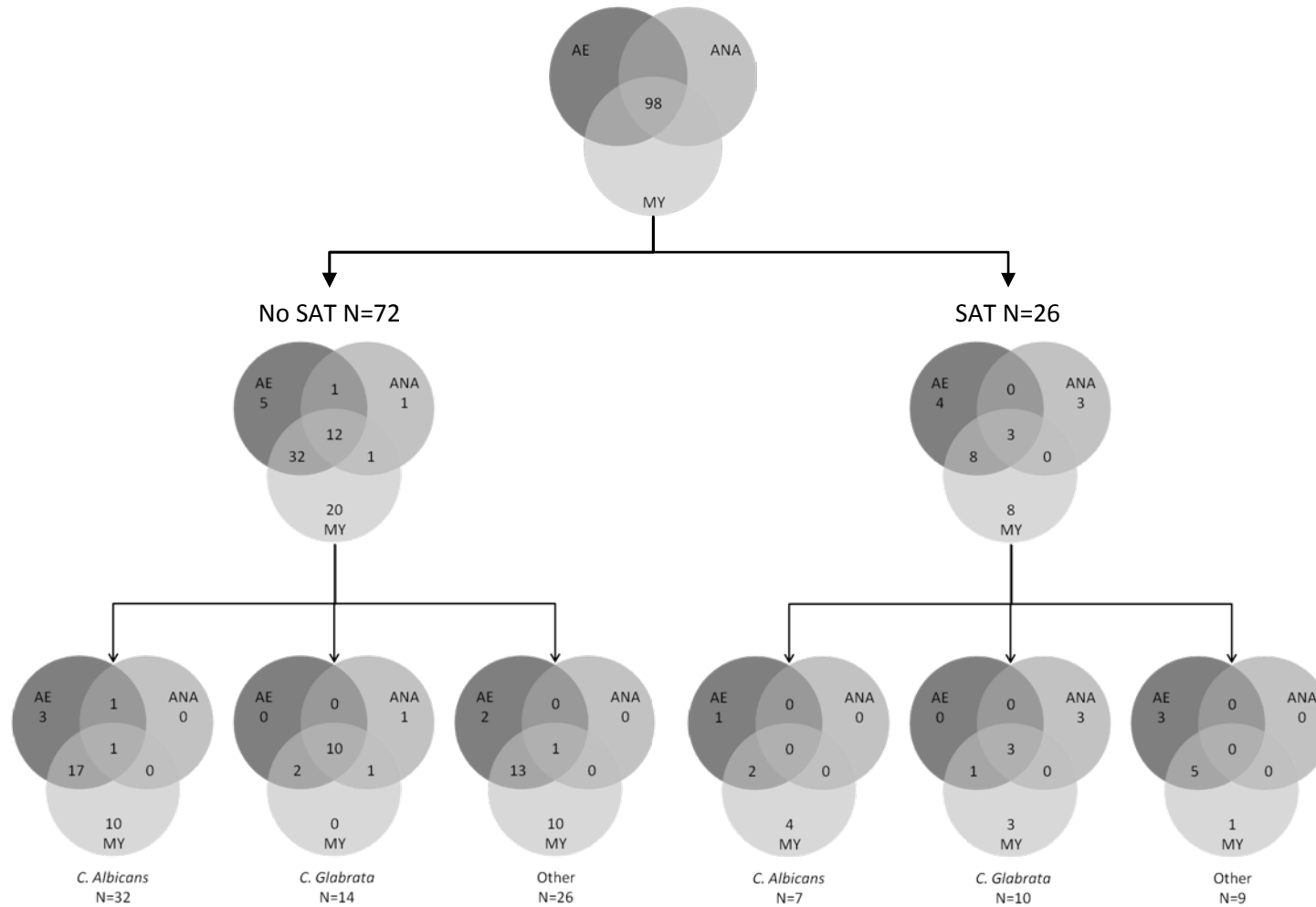
Table E3 Results of the hierarchical model for sub-group analyses of time to positivity (SAT treated patients only).

	SAT treated patients N=168	
	RR [95% CI]	pvalue
Abdominal surgery	0.93 [0.58; 1.50]	0.77
Broad spectrum antibacterial therapy	1.13 [0.68; 1.87]	0.65
Severe sepsis	1.10 [0.73; 1.66]	0.65
Invasive mechanical ventilation	1.04 [0.62; 1.77]	0.87
Presence of a catheter	1.39 [0.89; 2.17]	0.15
Charlson score		0.20
0 – 4	1.49 [0.94; 2.36]	
5 – 7	1.45 [0.88; 2.39]	
8 - 16	ref	.
Fungal species		0.20
<i>C. albicans</i>	1.50 [0.93; 2.42]	
<i>C. glabrata</i>	1.54 [0.92; 2.59]	
Other	ref	
Type of blood culture bottles		
Aerobic bottles	0.84 [0.63; 1.12]	0.25
Anaerobic bottles	1.95 [1.43; 2.66]	<.01
Mycosis bottles	ref	
Type of SAT (Azole vs Fungicidals)	1.14 [0.76; 1.72]	0.53
Interval from SAT initiation (days)		0.28
[1; 2]	0.69 [0.44; 1.09]	
[3; 5]	0.88 [0.56; 1.39]	
>5	Ref	

RR>1: increase of TTP. RR<1 : decrease of TTP

SAT: Systemic antifungal therapy

Figure E1: Description of triplets of Aerobic (AE), Anaerobic (ANA) and Mycosis (MY) flasks.



AE:Aerobic; ANA: Anaerobic ; MY: Mycosis bottles ; SAT : Systemic antifungal therapy

Table E4 Description of positivity rate in triplets according to flask combinations.

	Species	AE	MY	AE+ANA	AE+MY	ANA+MY	P value
SAT	All N=26	15 (58)	19 (73)	18 (69)	23 (88)	22 (85)	0.06
	<i>C. albicans</i> N=7	3 (43)	6 (86)	3 (43)	7 (100)	6 (86)	0.01
	<i>C. glabrata</i> N=10	4 (40)	7 (70)	7 (70)	7 (70)	10 (100)	<.01
No SAT	All N=72	50 (68)	66 (90)	52 (71)	71 (99)	68 (93)	<.01
	<i>C. albicans</i> N=32	22 (69)	28 (88)	22 (69)	32 (100)	29 (91)	<.01
	<i>C. glabrata</i> N= 14	12 (86)	13 (93)	14 (100)	13 (93)	14 (100)	<.01

N: number of positive sample (%) SAT: Systemic Antifungal Treatment – pvalue: Cochran Q test

AE:Aerobic; ANA: Anaerobic ; MY: Mycosis bottles

Table E5: Mcnemar post hoc tests in absence of SAT.

	No SAT	SAT
AE vs MY	<0.01	0.39
AE vs (AE+ANA)	0.50	0.25
AE vs (AE+MY)	<.01	<0.01
AE vs (ANA+MY)	<.01	0.12
MY vs (AE+ANA)	0.012	1
MY vs (AE+MY)	0.03	0.12
MY vs (ANA+MY)	0.50	0.25
AE+ANA vs (AE+MY)	<0.01	0.23
AE+ANA vs (ANA+MY)	<0.01	0.39
AE+MY vs (ANA+MY)	0.22	1

Pvalue threshold was 0.0167 after Bonferroni correction.

In presence or in absence of SAT, the combination AE + MY give the best positive rate for all species (88% for SAT and 99% for NoSAT) and for *C. albicans* (100%). For *C. glabrata*, the combination ANA + MY is more convenient with a positive rate of 100%.

After Bonferroni correction in presence of SAT, only combination AE+MY gave a significant higher positive rate (88%) than AE vials alone (58%). In the absence of SAT, MY vials alone and combination of AE+MY and ANA+MY vials have a significantly higher positivity rate than AE vials alone; combination AE+ANA vials have a significantly higher positivity rate than MY vials alone; and AE+MY or ANA+MY have a significantly higher positivity rate than the combination of AE+ANA vials (resin vials).

Discussion et perspectives

Dans cette étude nous avons montré que, quel que soit le type de flacon d'hémoculture utilisé, le traitement antifongique diminue le taux de positivité et augmente le temps de positivité. Ainsi, la mise en place d'un traitement précoce peut allonger la durée d'identification de l'espèce fongique, nécessaire à la détermination du traitement adéquat, mais peut également entraîner un sous-diagnostic de candidémie en cas d'absence de positivité du flacon. La combinaison de deux types de flacons d'hémoculture, avec et sans résines, apporte une réelle plus-value dans la détection des souches de *Candida* spp. Elle devrait être privilégiée à la fois pour la confirmation du diagnostic chez un patient à risque sous traitement antifongique préemptif ou empirique et pour le suivi des patients ayant une candidose invasive documentée.

Ces résultats ont une importance particulière dans les services de réanimation qui ont le taux le plus élevé de patients sous traitement antifongique à la fois à titre préemptif et à titre curatif. C'est pourquoi les résultats de l'analyse en sous-groupe seront exploités de façon à sensibiliser les cliniciens, notamment par une soumission des résultats au congrès de la Société de Réanimation en Langue Française (SRLF 2016) et présenté en Annexe 1.

Pour confirmer les résultats observés, il sera nécessaire de mettre en place une étude multicentrique prospective permettant d'inclure un plus grand nombre de patients et de prendre compte les différences de pratiques selon les centres. La principale difficulté d'une telle étude est l'harmonisation des différentes bases de données du fait de l'hétérogénéité des modes d'enregistrement des informations sur les systèmes informatiques.

Enfin, à partir de la connaissance des bases de données disponibles concernant les candidoses invasives, et de l'exploration de modèles plus complexes, il sera intéressant de s'intéresser par exemple à l'identification des profils cliniques des patients.

Ces travaux s'appuient sur l'exploitation de bases de données observationnelles longitudinales du CHU de Grenoble. Nous avons utilisé des modèles hiérarchiques bien connus des statisticiens et qui présentent peu d'intérêt d'un point de vue méthodologique. Cependant, les biologistes, les pharmaciens ou les cliniciens qui produisent ces données ne connaissent pas ou peu ces modèles, pourtant très adaptés à leurs problématiques, et ne pensent pas à les utiliser à priori.

C'est pourquoi l'interaction entre statisticiens et professionnels de santé est primordiale afin de mettre en adéquation les méthodes statistiques d'analyse de données et les

problématiques cliniques. Ceci est d'autant plus vrai dans un environnement où la quantité de données recueillies quotidiennement est en constante augmentation et les méthodes de plus en plus complexes.

Conclusion

THÈSE SOUTENUE PAR : Sébastien BAILLY

TITRE : IMPACT DES TRAITEMENTS ANTIFONGIQUES SYSTÉMIQUES SUR LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DES CANDIDEMIES

CONCLUSION :

Les candidoses invasives sont les principales infections fongiques invasives. Leur diagnostic reste difficile et tardif, car les signes cliniques ne sont pas spécifiques et les outils biologiques actuellement disponibles ne sont pas suffisamment performants. En effet, les hémocultures, qui représentent la méthode de référence, ont une sensibilité qui varie entre 50% et 75%. Le retard au diagnostic explique en partie la mortalité élevée associée à ces infections malgré un traitement adapté. Cela conduit à recommander la mise en place d'un traitement antifongique précoce, en l'absence de preuve de l'infection, chez des patients présentant des risques de candidose invasive. L'apparition de nouvelles molécules présentant une meilleure tolérance, notamment les échinocandines, a entraîné un accroissement de la prescription des antifongiques. Cependant face à la sélection de levures résistantes et à l'augmentation des coûts associés à ces traitements, une réflexion s'est imposée sur une utilisation rationnelle de ces molécules.

Un des points soulevés par l'utilisation des traitements antifongiques systémiques est leur impact sur les méthodes de diagnostic des candidoses invasives et tout particulièrement les hémocultures pour le diagnostic des candidémies. Ainsi l'étude présentée ici visait à répondre à deux questions : 1) l'administration d'un traitement antifongique modifie-t-elle la détection et le délai de détection des levures dans les hémocultures, et si c'est le cas, le type de flacon d'hémoculture a-t-il un impact sur cette détection ? et 2) quelle est la réelle valeur ajoutée de chaque type de flacon d'hémoculture dans des conditions cliniques en présence ou en absence d'antifongiques ?

Pour cela nous avons exploité des données observationnelles de façon rétrospective, en utilisant trois bases de données : le système d'information du laboratoire de parasitologie-mycologie, la base de données de la pharmacie centrale et le système d'information hospitalier. L'analyse statistique est basée sur l'utilisation de modèles hiérarchiques permettant de prendre en compte les données répétées pour un même patient.

Les résultats ont montré que la présence d'un traitement antifongique diminue la détection des levures, quel que soit le type de flacon d'hémoculture utilisé, et augmente le temps de

détection. De même, le traitement antifongique reçu par le patient impacte davantage le délai de détection des flacons d'hémocultures sans résine de type Mycosis. Nous avons mis en évidence que le fait d'exclure l'un ou l'autre des flacons entraîne une perte d'information qui peut être préjudiciable pour le diagnostic des candidémies ou le suivi des traitements antifongiques dans le temps.

Bien que nécessitant une confirmation par une approche prospective et multicentrique, les conclusions de cette étude mettent en évidence l'impact d'un traitement antifongique sur le diagnostic des candidémies et soulignent la nécessité de réaliser une hémoculture avant la mise en route d'un traitement systémique. De plus, l'intérêt d'associer les deux types de flacons d'hémocultures doit permettre d'améliorer le diagnostic et le suivi des traitements des patients avec une candidémie.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 23/09/15

LE DOYEN



Pr. Christophe RIBUOT
Directeur UFR Pharmacie
Université Joseph Fourier

LE PRESIDENT DE LA THESE



Pr Christophe RIBUOT

Références bibliographiques

1. Eggimann P, Pittet D, (2014) *Candida* colonization index and subsequent infection in critically ill surgical patients: 20 years later. *Intensive Care Med* 40: 1429-1448
2. Tabah A, Koulenti D, Laupland K, Misset B, Valles J, Bruzzi de Carvalho F, Paiva JA, Cakar N, Ma X, Eggimann P, Antonelli M, Bonten MJ, Csomos A, Krueger WA, Mikstacki A, Lipman J, Depuydt P, Vesin A, Garrouste-Orgeas M, Zahar JR, Blot S, Carlet J, Brun-Buisson C, Martin C, Rello J, Dimopoulos G, Timsit JF, (2012) Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT International Cohort Study. *Intensive Care Med* 38: 1930-1945
3. Eggimann P, Garbino J, Pittet D, (2003) Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 3: 685-702
4. Enoch DA, Ludlam HA, Brown NM, (2006) Invasive fungal infections: a review of epidemiology and management options. *J Med Microbiol* 55: 809-818
5. Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, Eggimann P, Ruef C, Garbino J, Calandra T, Glauser MP, Tauber MG, Pittet D, (2004) Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. *Clin Infect Dis* 38: 311-320
6. Eggimann P, Bille J, Marchetti O, (2011) Diagnosis of invasive candidiasis in the ICU. *Ann Intensive Care* 1: 37
7. Garrouste-Orgeas M, Timsit JF, Tafflet M, Misset B, Zahar JR, Soufir L, Lazard T, Jamali S, Mourvillier B, Cohen Y, De Lassence A, Azoulay E, Cheval C, Descorps-Declere A, Adrie C, Costa de Beauregard MA, Carlet J, (2006) Excess risk of death from intensive care unit-acquired nosocomial bloodstream infections: a reappraisal. *Clin Infect Dis* 42: 1118-1126
8. Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Trucchi C, De Pascale G, Diaz-Martin A, Luzzati R, Rosin C, Lagunes L, Trecarichi EM, Sanguinetti M, Posteraro B, Garnacho-Montero J, Sartor A, Rello J, Rocca GD, Antonelli M, Tumbarello M, (2014) A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med* 40: 839-845
9. Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK, Jr., Calandra TF, Edwards JE, Jr., Filler SG, Fisher JF, Kullberg BJ, Ostrosky-Zeichner L, Reboli AC, Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, (2009) Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 48: 503-535
10. Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, Garbino J, Kullberg BJ, Lortholary O, Meersseman W, Akova M, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, Bille J, Castagnola E, Cuenca-Estrella M, Donnelly JP, Groll AH, Herbrecht R, Hope WW, Jensen HE, Lass-Flörl C, Petrikos G, Richardson MD, Roilides E, Verweij PE, Viscoli C, Ullmann AJ, (2012) ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect* 18 Suppl 7: 19-37
11. Bailly S, Bouadma L, Azoulay E, Garrouste Orgeas M, Souweine B, Schwebel C, Maubon D, Hamidfar-Roy R, Darmon M, Wolff M, Cornet M, Timsit JF, (2015) Failure of Empirical Systemic Antifungal Therapy in Mechanically-ventilated Critically Ill Patients. *Am J Respir Crit Care Med*
12. Fournier P, Schwebel C, Maubon D, Vesin A, Lebeau B, Foroni L, Hamidfar-Roy R, Cornet M, Timsit JF, Pelloux H, (2011) Antifungal use influences *Candida* species distribution and susceptibility in the intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 66: 2880-2886
13. Fekkar A, Dannaoui E, Meyer I, Imbert S, Brossas JY, Uzunov M, Mellon G, Nguyen S, Guiller E, Caumes E, Leblond V, Mazier D, Fievet MH, Datry A, (2014)

- Emergence of echinocandin-resistant *Candida* spp. in a hospital setting: a consequence of 10 years of increasing use of antifungal therapy? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*
14. Alexander BD, Johnson MD, Pfeiffer CD, Jimenez-Ortigosa C, Catania J, Booker R, Castanheira M, Messer SA, Perlin DS, Pfaller MA, (2013) Increasing echinocandin resistance in *Candida glabrata*: clinical failure correlates with presence of FKS mutations and elevated minimum inhibitory concentrations. *Clin Infect Dis* 56: 1724-1732
 15. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC, (1992) Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin Infect Dis* 15: 414-421
 16. Hassan I, Powell G, Sidhu M, Hart WM, Denning DW, (2009) Excess mortality, length of stay and cost attributable to candidaemia. *J Infect* 59: 360-365
 17. Munoz P, Valerio M, Vena A, Bouza E, (2015) Antifungal stewardship in daily practice and health economic implications. *Mycoses* 58 Suppl 2: 14-25
 18. Kock R, Eissing LC, Bosch MG, Ellger B, Horn D, Idelevich EA, Becker K, (2013) Evaluation of bactec mycosis IC/F and Plus Aerobic/F blood culture bottles for detection of *Candida* in the presence of antifungal agents. *J Clin Microbiol* 51: 3683-3687
 19. Jones JM, (1990) Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Microbiol Rev* 3: 32-45
 20. Delaloye J, Calandra T, (2014) Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence* 5: 161-169
 21. Leon C, Ostrosky-Zeichner L, Schuster M, (2014) What's new in the clinical and diagnostic management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive Care Med* 40: 808-819
 22. Tissot F, Lamoth F, Hauser PM, Orasch C, Fluckiger U, Siegemund M, Zimmerli S, Calandra T, Bille J, Eggimann P, Marchetti O, (2013) beta-glucan antigenemia anticipates diagnosis of blood culture-negative intraabdominal candidiasis. *Am J Respir Crit Care Med* 188: 1100-1109
 23. Gow NA, van de Veerdonk FL, Brown AJ, Netea MG, (2012) *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nat Rev Microbiol* 10: 112-122
 24. Samonis G, Gikas A, Anaissie EJ, Vrenzos G, Maraki S, Tselentis Y, Bodey GP, (1993) Prospective evaluation of effects of broad-spectrum antibiotics on gastrointestinal yeast colonization of humans. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 51-53
 25. Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Scarparo C, Antonelli M, Garnacho-Montero J, Diaz-Martin A, Palacios-Garcia I, Luzzati R, Rosin C, Lagunes L, Rello J, Almirante B, Scotton PG, Baldin G, Dimopoulos G, Nucci M, Munoz P, Vena A, Bouza E, de Egea V, Colombo AL, Tascini C, Menichetti F, Tagliaferri E, Brugnaro P, Sanguinetti M, Mesini A, Sganga G, Viscoli C, Tumbarello M, (2015) A multicenter multinational study of abdominal candidiasis: epidemiology, outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med* 41: 1601-1610
 26. Vazquez JA, Sanchez V, Dmuchowski C, Dembry LM, Sobel JD, Zervos MJ, (1993) Nosocomial acquisition of *Candida albicans*: an epidemiologic study. *J Infect Dis* 168: 195-201
 27. Hammarskjold F, Mernelius S, Andersson RE, Berg S, Hanberger H, Lofgren S, Malmvall BE, Petzold M, Matussek A, (2013) Possible transmission of *Candida albicans* on an intensive care unit: genotype and temporal cluster analyses. *J Hosp Infect* 85: 60-65

28. Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, Bearden DT, (2006) Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis* 43: 25-31
29. Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Galvan B, Blanco A, Castro C, Balasini C, Utande-Vazquez A, Gonzalez de Molina FJ, Blasco-Navalproto MA, Lopez MJ, Charles PE, Martin E, Hernandez-Viera MA, (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
30. Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R, (1994) Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 220: 751-758
31. Pfaller MA, Diekema DJ, (2007) Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 20: 133-163
32. Beck-Sague C, Jarvis WR, (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
33. Fridkin SK, Jarvis WR, (1996) Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 9: 499-511
34. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K, (2009) International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama* 302: 2323-2329
35. Arendrup MC, Bruun B, Christensen JJ, Fuursted K, Johansen HK, Kjaeldgaard P, Knudsen JD, Kristensen L, Moller J, Nielsen L, Rosenvinge FS, Roder B, Schonheyder HC, Thomsen MK, Truberg K, (2011) National surveillance of fungemia in Denmark (2004 to 2009). *J Clin Microbiol* 49: 325-334
36. Bitar D, Lortholary O, Le Strat Y, Nicolau J, Coignard B, Tattevin P, Che D, Dromer F, (2014) Population-based analysis of invasive fungal infections, France, 2001-2010. *Emerg Infect Dis* 20: 1149-1155
37. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, Biraghi E, Canton E, Zimmermann K, Seaton S, Grillot R, (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
38. Warnock DW, (2007) Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi* 48: 1-12
39. Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lucking R, Thorsten Lumbsch H, Lutzoni F, Matheny PB, McLaughlin DJ, Powell MJ, Redhead S, Schoch CL, Spatafora JW, Stalpers JA, Vilgalys R, Aime MC, Aptroot A, Bauer R, Begerow D, Benny GL, Castlebury LA, Crous PW, Dai YC, Gams W, Geiser DM, Griffith GW, Gueidan C, Hawksworth DL, Hestmark G, Hosaka K, Humber RA, Hyde KD, Ironside JE, Koljalg U, Kurtzman CP, Larsson KH, Lichtwardt R, Longcore J, Miadlikowska J, Miller A, Moncalvo JM, Mozley-Standridge S, Oberwinkler F, Parmasto E, Reeb V, Rogers JD, Roux C, Ryvarden L, Sampaio JP, Schussler A, Sugiyama J, Thorn RG, Tibell L, Untereiner WA, Walker C, Wang Z, Weir A, Weiss M, White MM, Winka K, Yao YJ, Zhang N, (2007) A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol Res* 111: 509-547
40. Skinner CE, Fletcher DW, (1960) A REVIEW OF THE GENUS CANDIDA. *Bacteriol Rev* 24: 397-416

41. Barnett JA, (2008) A history of research on yeasts 12: medical yeasts part 1, *Candida albicans*. *Yeast* 25: 385-417
42. Spellberg B, Marr K, Filler S (2012) *Candida*: What Should Clinicians and Scientists Be Talking About? In: Calderone RA, C J C (eds) *Candida and Candidiasis*. ASM Press, Washington, DC, pp. 225–242
43. Guinea J, (2014) Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clin Microbiol Infect* 20 Suppl 6: 5-10
44. Pfaller MA, Diekema DJ, (2010) Epidemiology of invasive mycoses in North America. *Crit Rev Microbiol* 36: 1-53
45. Maubon D, Garnaud C, Calandra T, Sanglard D, Cornet M, (2014) Resistance of *Candida* spp. to antifungal drugs in the ICU: where are we now? *Intensive Care Med* 40: 1241-1255
46. Krcmery V, Barnes AJ, (2002) Non-*albicans* *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect* 50: 243-260
47. Paramythiotou E, Frantzeskaki F, Flevari A, Armaganidis A, Dimopoulos G, (2014) Invasive fungal infections in the ICU: how to approach, how to treat. *Molecules* 19: 1085-1119
48. Kim SH, Yoon YK, Kim MJ, Sohn JW, (2013) Clinical impact of time to positivity for *Candida* species on mortality in patients with candidaemia. *J Antimicrob Chemother* 68: 2890-2897
49. Chen LY, Yang SP, Chen TL, Liao SY, Chen YY, Chan YJ, Chen LK, Wang FD, (2015) Clinical significance of time to positivity for yeast in candidemia. *J Microbiol Immunol Infect* 48: 425-430
50. Nunes CZ, Marra AR, Edmond MB, da Silva Victor E, Pereira CA, (2013) Time to blood culture positivity as a predictor of clinical outcome in patients with *Candida albicans* bloodstream infection. *BMC Infect Dis* 13: 486
51. Lai CC, Wang CY, Liu WL, Huang YT, Hsueh PR, (2012) Time to positivity of blood cultures of different *Candida* species causing fungaemia. *J Med Microbiol* 61: 701-704
52. Taur Y, Cohen N, Dubnow S, Paskovaty A, Seo SK, (2010) Effect of antifungal therapy timing on mortality in cancer patients with candidemia. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 184-190
53. Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas ME, (2011) beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 52: 750-770
54. Jaijakul S, Vazquez JA, Swanson RN, Ostrosky-Zeichner L, (2012) (1,3)-beta-D-glucan as a prognostic marker of treatment response in invasive candidiasis. *Clin Infect Dis* 55: 521-526
55. Poissy J, Sendid B, Damiens S, Ichi Ishibashi K, Francois N, Kouv M, Favory R, Mathieu D, Poulain D, (2014) Presence of *Candida* cell wall derived polysaccharides in the sera of intensive care unit patients: relation with candidaemia and *Candida* colonisation. *Crit Care* 18: R135
56. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C, (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
57. Nguyen MH, Wissel MC, Shields RK, Salomoni MA, Hao B, Press EG, Shields RM, Cheng S, Mitsani D, Vadnerkar A, Silveira FP, Kleiboeker SB, Clancy CJ, (2012) Performance of *Candida* real-time polymerase chain reaction, beta-D-glucan assay, and blood cultures in the diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Infect Dis* 54: 1240-1248

58. Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, Groeger JS, Judson MA, Vinagre YM, Heard SO, Zervou FN, Zacharioudakis IM, Kontoyiannis DP, Pappas PG, (2015) T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial. *Clin Infect Dis* 60: 892-899
59. Bidart M, Bonnet I, Hennebique A, Kherraf ZE, Pelloux H, Berger F, Cornet M, Bailly S, Maubon D, (2015) An In-House Assay Is Superior to Sepsityper for Direct Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry Identification of Yeast Species in Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology* 53: 1761-1764
60. Lewis RE, (2011) Current Concepts in Antifungal Pharmacology. *Mayo Clin Proc* 86: 805-817
61. Chen SC, Slavin MA, Sorrell TC, (2011) Echinocandin antifungal drugs in fungal infections: a comparison. *Drugs* 71: 11-41
62. Fera MT, La Camera E, De Sarro A, (2009) New triazoles and echinocandins: mode of action, in vitro activity and mechanisms of resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther* 7: 981-998
63. Odds FC, Brown AJ, Gow NA, (2003) Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends Microbiol* 11: 272-279
64. Bassetti M, Mikulska M, Viscoli C, (2010) Bench-to-bedside review: therapeutic management of invasive candidiasis in the intensive care unit. *Crit Care* 14: 244
65. Ullmann AJ, Akova M, Herbrecht R, Viscoli C, Arendrup MC, Arikian-Akdagli S, Bassetti M, Bille J, Calandra T, Castagnola E, Cornely OA, Donnelly JP, Garbino J, Groll AH, Hope WW, Jensen HE, Kullberg BJ, Lass-Flörl C, Lortholary O, Meersseman W, Petrikos G, Richardson MD, Roilides E, Verweij PE, Cuenca-Estrella M, (2012) ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: adults with haematological malignancies and after haematopoietic stem cell transplantation (HCT). *Clin Microbiol Infect* 18 Suppl 7: 53-67
66. Eggimann P, Pittet D, (2014) *Candida* colonization index and subsequent infection in critically ill surgical patients: 20 years later. *Intensive Care Med* 40: 1429-1448
67. Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Alvarez-Lerma F, Garnacho-Montero J, Leon MA, (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
68. Dupont H, Bourichon A, Paugam-Burtz C, Mantz J, Desmots JM, (2003) Can yeast isolation in peritoneal fluid be predicted in intensive care unit patients with peritonitis? *Crit Care Med* 31: 752-757
69. Azoulay E, Dupont H, Tabah A, Lortholary O, Stahl JP, Francais A, Martin C, Guidet B, Timsit JF, (2012) Systemic antifungal therapy in critically ill patients without invasive fungal infection*. *Crit Care Med* 40: 813-822
70. Lortholary O, Desnos-Ollivier M, Sitbon K, Fontanet A, Bretagne S, Dromer F, (2011) 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
71. Pfaller MA, Castanheira M, Lockhart SR, Ahlquist AM, Messer SA, Jones RN, (2012) Frequency of decreased susceptibility and resistance to echinocandins among fluconazole-resistant bloodstream isolates of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol* 50: 1199-1203
72. Dannaoui E, Desnos-Ollivier M, Garcia-Hermoso D, Grenouillet F, Cassaing S, Baixench MT, Bretagne S, Dromer F, Lortholary O, (2012) *Candida* spp. with acquired echinocandin resistance, France, 2004-2010. *Emerg Infect Dis* 18: 86-90

73. Ostrosky-Zeichner L, Shoham S, Vazquez J, Reboli A, Betts R, Barron MA, Schuster M, Judson MA, Revankar SG, Caeiro JP, Mangino JE, Mushatt D, Bedimo R, Freifeld A, Nguyen MH, Kauffman CA, Dismukes WE, Westfall AO, Deerman JB, Wood C, Sobel JD, Pappas PG, (2014) MSG-01: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of caspofungin prophylaxis followed by preemptive therapy for invasive candidiasis in high-risk adults in the critical care setting. *Clin Infect Dis* 58: 1219-1226
74. Playford EG, Webster AC, Sorrell TC, Craig JC, (2006) Antifungal agents for preventing fungal infections in non-neutropenic critically ill and surgical patients: systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Antimicrob Chemother* 57: 628-638
75. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, Raad, II, Rolston KV, Young JA, Wingard JR, Infectious Diseases Society of A, (2011) Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis* 52: e56-93
76. Deshpande A, Gaur S, Bal AM, (2013) Candidaemia in the non-neutropenic patient: a critique of the guidelines. *Int J Antimicrob Agents* 42: 294-300
77. Fabien L (2011) Evaluation de la pertinence des prescriptions d'antifongiques au centre hospitalier universitaire de Grenoble. In: Editor (ed)^(eds) Book Evaluation de la pertinence des prescriptions d'antifongiques au centre hospitalier universitaire de Grenoble. UJF, City, pp.
78. Valerio M, Rodriguez-Gonzalez CG, Munoz P, Caliz B, Sanjurjo M, Bouza E, (2014) Evaluation of antifungal use in a tertiary care institution: antifungal stewardship urgently needed. *J Antimicrob Chemother* 69: 1993-1999
79. Bailly S, Leroy O, Montravers P, Constantin JM, Dupont H, Guillemot D, Lortholary O, Mira JP, Perrigault PF, Gangneux JP, Azoulay E, Timsit JF, (2015) Antifungal de-escalation was not associated with adverse outcome in critically ill patients treated for invasive candidiasis: post hoc analyses of the AmarCAND2 study data. *Intensive Care Med* 41: 1931-1940
80. Austin PC, Tu JV, Alter DA, (2003) Comparing hierarchical modeling with traditional logistic regression analysis among patients hospitalized with acute myocardial infarction: should we be analyzing cardiovascular outcomes data differently? *Am Heart J* 145: 27-35
81. Leung KM, Elashoff RM, Rees KS, Hasan MM, Legorreta AP, (1998) Hospital- and patient-related characteristics determining maternity length of stay: a hierarchical linear model approach. *Am J Public Health* 88: 377-381
82. Sullivan LM, Dukes KA, Losina E, (1999) Tutorial in biostatistics. An introduction to hierarchical linear modelling. *Stat Med* 18: 855-888

Annexe 1

Résumé soumis pour le congrès 2016 de la Société de Réanimation en Langue Française

Should we need Aerobic-Anaerobic or specific blood culture bottles for diagnosing candidemia in ICU patients?

S. Bailly (1) ; JF. Timsit (2) ; C. Garnaud (3) ; M. Cornet (4) ; P. Pavese (5) ; R. Hamidfar-Roy (6) ; L. Foroni (7) ; S. Boisset (8) ; C. Schwebel (9) ; D. Maubon (10)

(1) Equipe 11, Institut Albert Bonniot - Inserm U823, La Tronche; (2) Réanimation médicale et infectieuse, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris; (3) Laboratoire de parasitologie-mycologie, C.h.u., La Tronche; (4) Laboratoire de parasitologie-mycologie médicale, C.H.U. Grenoble, La Tronche; (5) Maladies infectieuses, C.h.u., La Tronche; (6) Réanimation médicale, C.h.u., La Tronche; (7) Pharmacie, C.H.U. Grenoble, La Tronche; (8) Laboratoire bactériologie-hygiène, C.h.u., La Tronche; (9) Réanimation médicale, C.H.U. Grenoble, La Tronche; (10) Parasitologie-mycologie médicale, C.H.U. Grenoble, La Tronche

Introduction

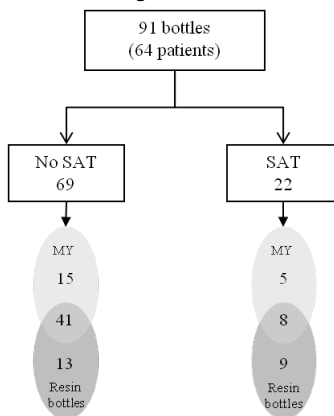
Candidemia has a poor prognosis and is associated with a high mortality in part because of delayed diagnosis. There is no optimal tool and, despite a rather low sensitivity, gold standard for candidemia diagnostic and follow-up still relies on blood cultures. The use of blood culture specific media is not clearly addressed in guidelines. In vitro studies showed that the presence of an antifungal agent can significantly modify the rate and the time to positivity of blood culture not containing adsorbing agents. This can have a direct impact on diagnosis and on candidemia monitoring. Our objective was to study in clinical practice the impact of systemic antifungal therapy on the diagnostic performance of each medium and to highlight their added value in the management of candidemia in intensive care unit patients.

Patients and Methods

All intensive care unit patients experiencing a candidemia in a university hospital, with at least one blood sample collected, in a four-year period (2010 – 2013) were included in a retrospective study. The Bactec Plus TM Aerobic/F (Aerobic) and Bactec Plus TM Anaerobic/F (Anaerobic) bottles, which both contain adsorbing resins, and the non-resin Bactec Mycosis TM IC/F (Mycosis) bottles were compared. The clinical characteristics and the presence of systemic antifungal therapy were recorded for each patient. We analyzed: 1) the positivity rate during candidemia; 2) the time to positivity, and 3) the agreement between bottles. Univariate analyses and multivariate hierarchical model for repeated measures were performed.

Results

A total of 64 patients with candidemia, median age of 61 years (interquartile range: 47 – 74) and a median IGSII score of 47.5 [42 – 57] were considered. Overall, positivity rate was greater in resin bottles (Aerobic and Anaerobic: 56.6%) than in selective Mycosis bottles (43.4%). In the presence of systemic antifungal therapy, the positivity rate decreased significantly (OR: 0.19 (95% confidence interval: [0.07 ; 0.52] $p < 0.01$). This decline was observed with both resin and non-resin Mycosis bottles. Overall, time to positivity was longer in resin bottles (Aerobic and Anaerobic) (30 hours; IQR: 19 ; 60) than in Mycosis bottle (27 hours, IQR: 16-78). Systemic antifungal therapy prolonged time to positivity by a factor 1.92 ([1.29 ; 2.85]; $p = 0.05$). The impact of systemic antifungal therapy on the time to positivity was more pronounced in the Mycosis bottles than in those with resins ($p < 0.01$), however TTP remained longer in resin bottles.



The agreement study showed that when the sampling was done the same day, on both resins and Mycosis blood cultures, in the absence of systemic antifungal therapy, 13 (19%) and 15 (22%) bottles were positive only on resin or only on Mycosis bottles respectively, and in the presence of systemic antifungal therapy, 9 (41%) and 5 (23%) bottles were positive only on resins or only on Mycosis bottle respectively (fig. 1). Thus, systemic antifungal therapy decreased the agreement rate between the bottles.

Fig. 1: Venn diagrams showing the number of agreement or disagreement result between pairs composed of one Mycosis bottle (MY) and one resin bottle (Aerobic and/or Anaerobic).

Discussion

Systemic antifungal therapy modifies significantly the blood culture results independently of the presence of resin in the bottles in intensive care units patients with candidemia. We also demonstrated that there is a clear gain in sensitivity to collect concomitantly resin and Mycosis bottles, especially when systemic antifungal treatment is present. However a comparative multi-centric study would be necessary to confirm these results.

Conclusion

These results encourage clinicians to use only pertinent empirical SAT prescription and to sample BC before any SAT initiation. In the presence of SAT, a systematic sampling of both Mycosis® and resins bottles, may improve not only the primary diagnostic but also the time needed for the step-down or end of therapy.

Number: 000131

Speaker: S. Bailly

Structure : Structure 1

Theme : Infectious diseases

Study type : Clinical

Conflicts of interest : no

Comité de protection des personnes (CPP) : no

Ethics committee : no

Agreement to transfer rights

Updated on: Friday, September 25, 2015 3:38 PM

Serment de Galien



Serment de Galien



« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

Sébastien BAILLY

IMPACT DES TRAITEMENTS ANTIFONGIQUES SYSTEMIQUES SUR LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DES CANDIDEMIES

RESUME : Les objectifs de l'étude étaient d'évaluer, en situation clinique, l'impact d'un traitement antifongique systémique sur la détection des levures dans les flacons hémocultures et d'analyser les performances des différents flacons selon la présence d'un traitement antifongique.

Cent vingt-cinq patients ayant eu une candidémie au CHU de Grenoble pendant 4 ans (2010 – 2013) ont été inclus de façon rétrospective. Nous avons comparé les flacons avec résines adsorbantes (Bactec Plus™ Aérobic et Bactec Anaérobic) avec les flacons sélectifs des levures ne contenant pas de résines (Mycosis) pour : le taux de positivité, le temps de positivité (TTP) et la concordance des flacons positifs, en utilisant pour chaque caractéristique une analyse multivariée avec un modèle hiérarchique à effets mixtes. Le taux de positivité des flacons est diminué par la présence d'un traitement antifongique ($p < 0.01$), une chirurgie abdominale ($p = 0.01$) et une hémodialyse ($p = 0.02$). Le traitement augmente significativement le TTP des deux types de flacons. Même si l'effet du traitement antifongique est significativement plus important pour les flacons sans résines, le TTP reste comparable entre les deux types de flacons. Enfin, le traitement antifongique diminue le taux d'accord observé entre les deux types de flacons. Les résultats montrent que le traitement antifongique modifie le résultat et le temps de détection des deux types de flacons. L'existence d'un traitement antifongique doit être pris en compte lors de l'analyse des résultats biologiques. Cette étude a démontré l'intérêt d'associer deux types de flacons pour optimiser la détection des levures, notamment en présence de traitement antifongique.

ABSTRACT : Objectives: Candidemia diagnosis and follow-up still rely on blood cultures. Here, we present a clinical study of the impact of systemic antifungal therapy (SAT) on yeast detection in blood culture. Methods : Patients ($n = 125$) experiencing candidemia at Grenoble University Hospital (France) were included in a four-year retrospective study. The Plus Aerobic/F (Aerobic) and Plus Anaerobic/F (Anaerobic) bottles, which both contain adsorbing resins, and the non-resin Mycosis IC/F (Mycosis) bottles were compared using multivariate hierarchical models adjusted on clinical characteristics. Results : The positivity rate (PR) was significantly decreased in patients with SAT ($p < 0.01$), abdominal surgery ($p = 0.01$), and hemodialysis ($p = 0.02$). In all bottles, the SAT reduced the PR by a factor of 0.16 (95% CI: [0.08; 0.32]) and increased the time to positivity (TTP) by a factor of 1.76 ([1.30; 2.40]; $p < 0.01$). The impact of SAT on the TTP was higher in non-resin bottles (Mycosis) than in resin bottles (Aerobic and Anaerobic grouped together) (RR=1.76, [1.30; 2.40]); however, the TTPs in non-resin and resin bottles remained comparable. A discordance regarding the PR was observed with and without SAT (37 and 58%, respectively), but the SAT decreased significantly the agreement rate by a factor of 0.29 (CI: [0.12; 0.68]). Conclusion : We showed a significant effect of SAT on blood culture results and a clear benefit from the concomitant use of resin and non-resin bottles, especially in patients receiving SAT. Taking into account the presence of SAT in both the blood culture protocol and the result analysis may improve patient management.

MOTS CLES : Candidémie, antifongiques systémiques, modèles hiérarchiques

ADRESSE : sbailly@chu-grenoble.fr

FILIERE : INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE