

> La paroi des levures est une structure complexe dont la variabilité régit les relations avec l'environnement. Les glycannes en sont des composés majeurs. Les anticorps expérimentaux ont permis de caractériser l'expression et le rôle biologique des séquences oligosaccharidiques les constituant et dont on a construit des analogues de synthèse. Ces outils ont été utilisés pour étudier la réponse humorale humaine lors des candidoses invasives déterminées par *C. albicans* et de la maladie de Crohn au cours de laquelle des anticorps anti-*S. cerevisiae* sont présents. Il a été démontré que les biomarqueurs de la maladie de Crohn étaient générés lors d'une candidose invasive, établissant un lien qui n'avait jamais été suspecté entre *C. albicans* et maladie de Crohn. Nous décrivons cette démarche et ses perspectives liées à l'utilisation de la technologie *multiplex* pour une meilleure compréhension et une meilleure prise en charge des candidoses invasives et de la maladie de Crohn. <

## **Glycannes pariétaux de levures et anticorps spécifiques** **Biomarqueurs et outils d'analyse physiopathologique des candidoses et de la maladie de Crohn**

**Boualem Sendid, Thierry Jouault,  
 Annie Vitse, Chantal Fradin,  
 Jean Frédéric Colombel, Daniel Poulain**



B. Sendid, T. Jouault, A. Vitse,  
 C. Fradin, D. Poulain :  
 Inserm U799, Université Lille 2,  
 CHRU de Lille, France.  
<sup>2</sup> J.F. Colombel : Inserm U795,  
 Université Lille 2, CHRU de Lille,  
 1, place Verdun,  
 59037 Lille Cedex, France.  
[dpoulain@univ-lille2.fr](mailto:dpoulain@univ-lille2.fr)

Une des spécificités « historiques » de la mycologie médicale est d'utiliser les anticorps expérimentaux et humains produits contre les molécules fongiques afin de mieux comprendre la biologie des champignons et les processus pathologiques qu'ils induisent, et d'en faciliter le diagnostic [4-6]. Chez les champignons, les « glycannes »<sup>1</sup> représentent jusqu'à 80 % de la paroi [1-3] et il n'est donc pas étonnant que pour les espèces impliquées en pathologie humaine, ils soient la cible privilégiée de la réponse immune. Nous proposons dans cette revue une synthèse des données expérimentales et cliniques démontrant tout l'intérêt des anticorps anti-glycannes pour l'exploration des mécanismes physiopathologiques et pour le diagnostic, et nous l'illustrerons dans deux entités cliniques distinctes, les candidoses et la maladie de Crohn.

<sup>1</sup> Les glycannes comprennent les polysaccharides, les oligosaccharides et les parties saccharidiques des glycoconjugués (où ils sont associés à des protéines ou à des lipides).

### ***C. albicans*, candidoses et maladie de Crohn**

#### **Candida et Candidoses**

*C. albicans* est un hôte naturel du tube digestif et du vagin humain. Si on ne connaît pas le bénéfice de ce portage, on en connaît en revanche les effets néfastes : les candidoses vaginales affectent 75 % des femmes au moins une fois dans leur existence et les candidoses oro-pharyngées 90 % des patients infectés par le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) parvenus au stade SIDA. Ces chiffres attestent l'omniprésence de *C. albicans* sur les muqueuses humaines. Cette colonisation est également à l'origine d'infections profondes survenant en milieu hospitalier chez des patients affaiblis par leur pathologie primaire et les actes médico-chirurgicaux mis en œuvre pour la traiter [7]. L'importance et la gravité des candidoses nosocomiales ont été sous estimées jusqu'à ce que les grandes études épidémiologiques réalisées dans les années 1990 révèlent

que les levures du genre *Candida* occupaient le quatrième rang des agents infectieux en milieu hospitalier pour la fréquence, et le premier pour la mortalité [8]. Malgré le coût sans cesse croissant des traitements antifongiques, qui dépasse celui des antibiotiques antibactériens dans la plupart des hôpitaux universitaires, la maîtrise de ces infections n'est pas acquise. Cela s'explique par les difficultés du diagnostic clinique et biologique dans un contexte physiopathologique complexe, souvent celui d'infections opportunistes provoquées dans la majorité des cas par la souche de levure hébergée par le patient [8].

### La maladie de Crohn

La maladie de Crohn (MC) est une pathologie inflammatoire chronique du tractus gastro-intestinal qui touche plus d'un million de personnes aux États-Unis et en Europe. Son incidence s'est accrue fortement après la seconde guerre mondiale dans les pays occidentaux où elle est maintenant stabilisée. Ce n'est pas le cas en Europe de l'Est, en Asie et dans les pays en voie de développement où elle est en nette augmentation [9]. Ces variations épidémiologiques observées dans le temps et dans l'espace suggèrent l'intervention de facteurs de risques environnementaux, mais seul le rôle du tabac est bien établi. La MC se caractérise par une réponse immunitaire de la muqueuse intestinale non contrôlée dont le déclenchement et/ou la chronicité reposent sur une susceptibilité génétique à divers stimulus environnementaux dont la flore intestinale [10]. Sans que l'on sache s'il s'agit d'une cause ou d'une conséquence, le développement de la MC est associé à l'apparition séquentielle d'anticorps dirigés contre divers antigènes microbiens intestinaux [11].

Bien que le tube digestif soit la niche naturelle de *C. albicans*, les relations entre *C. albicans*, les candidoses et la maladie de Crohn n'avaient paradoxalement jamais été explorées. Nous décrivons ici comment

les données cliniques et expérimentales collectées sur les anticorps anti-glycannes de levures permettent de suggérer un lien entre les deux pathologies.

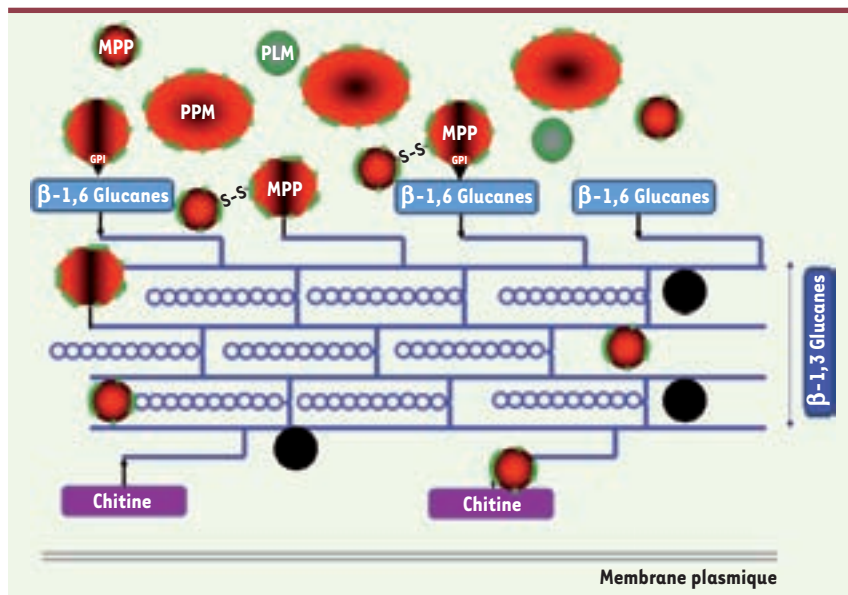
### Distribution des glycannes et de leurs épitopes majeurs dans la paroi des levures

#### Distribution des glycannes dans la paroi de *S. cerevisiae* et de *C. albicans*

La paroi des levures est une structure stratifiée complexe [3]. La Figure 1 en fournit une représentation schématique mais statique. Or cette structure est en perpétuelle évolution : un changement mineur de pH, de température, de sel, d'acide aminé du milieu environnant engendre des modifications de plusieurs centaines de transcrits impliqués dans la biogenèse de la paroi [12] induisant des changements radicaux de forme et *a fortiori* de molécules exprimées.

Ce schéma est dérivé des études sur *S. cerevisiae*, levure sexuée, cellule eucaryote modèle et premier organisme séquencé. *C. albicans*, levure diploïde, volontiers polyploïde, dont on ne connaît pas le cycle sexué, fut le second modèle, ce qui lui permit de devenir également un modèle de recherche fondamentale.

Dans ces deux organismes, ce sont des polysaccharides compacts et fibrillaires, les glucanes et la chitine, qui sont responsables de la résistance de la paroi aux actions mécaniques et aux agents chimiques. Des mannoprotéines insérées dans les mailles de ce réseau contribuent elles aussi à la résistance tout en participant aux relations avec l'environnement. Elles sont



**Figure 1.** Représentation schématique de la paroi de *Candida albicans* (adaptation de [51]). Le squelette microfibrillaire est constitué de  $\beta$ -1,3 glucanes formant un réseau tridimensionnel rattaché à la chitine. Ce squelette contient également des ramifications latérales de  $\beta$ -1,6 glucanes liés aux extrémités non réductrices des  $\beta$ -1,3 glucanes. Différentes mannoprotéines pariétales (MPP) sont liées au squelette microfibrillaire par des liaisons non covalentes comme le phosphopeptidomannane (PPM) ou des liaisons covalentes permettant leur association soit à d'autres protéines pariétales à l'aide de ponts disulfure (S-S), soit aux  $\beta$ -1,6 glucanes par l'intermédiaire d'une ancre GPI partielle ou soit, comme pour les protéines PIR (*proteins with internal repeats*), directement aux  $\beta$ -1,3 glucanes. Ces

différentes mannoprotéines présentent des épitopes  $\alpha$ -Man (rouge) et  $\beta$ -Man (vert). Le phospholipomannane (PLM), glycolipide de surface, ne possède que des épitopes  $\beta$ -Man (vert). Des protéines ou des mannoprotéines comme certaines hydrolases sont également retrouvées dans la paroi.

liées soit aux  $\beta$ -1,3 soit aux  $\beta$ -1,6 glucanes. Dans ce dernier cas, un mode d'association sophistiqué fait intervenir les glycosylphosphatidylinositols (GPI) qui ancrent les protéines dans la membrane plasmique. Chez les levures, certaines mannoprotéines migrent dans la paroi avec une partie de cette ancre qui est alors associée aux glucanes par des transglucosidases [3].

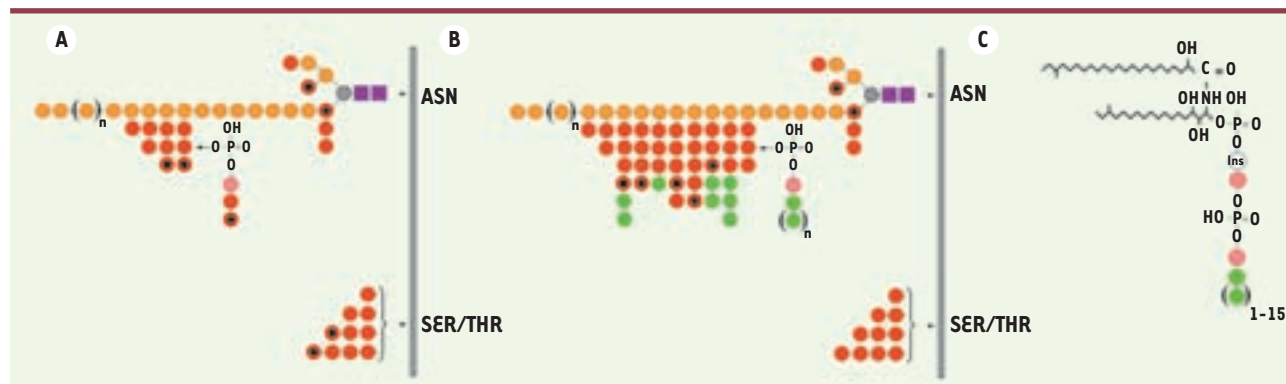
Le phosphopeptidomannane (PPM) (Figure 2), plus communément dénommé mannane, est associé de manière non covalente à la surface de la paroi (Figure 1). Ce haut polymère de mannose (D-mannopyranose) est l'antigène quantitativement et qualitativement majeur des levures [5]. Les résidus mannose sont branchés sur une chaîne protéique soit par liaison N-glycosidique sur une asparagine, soit par liaison O-glycosidique sur une sérine ou une thréonine. L'analyse structurale de ce polymère complexe chez *S. cerevisiae* (Figure 2A) a fourni beaucoup de clefs pour comprendre la glycosylation dans les cellules eucaryotes. Le PPM de *C. albicans* (Figure 2B) diffère de celui de *S. cerevisiae*, par l'existence de chaînes latérales d' $\alpha$  mannosides plus longues ainsi que par la présence de  $\beta$ -mannosides, résidus mannose ayant un mode de liaison relativement rare dans le monde vivant [13].

### Distribution des épitopes oligosaccharidiques sur les molécules pariétales de levures

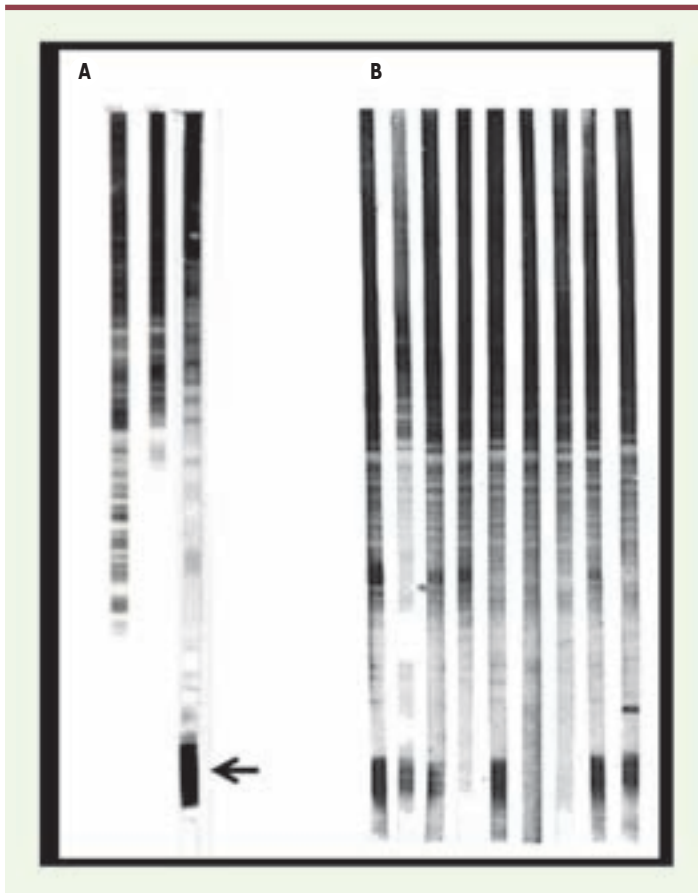
Ce sont les anticorps anti-mannane qui ont été les plus étudiés, notamment par les auteurs japonais qui ont produit des IgG polyclonales de lapin anti-levures, rendues spécifiques de souche ou d'espèce par des adsorptions hétérologues. Les épitopes potentiels reconnus par ces immunoglobulines (Ig) ont été identifiés par des

études en RMN [13]. Ces Ig spécifiques dénommées « facteurs sériques », numérotées au décours d'innombrables travaux, constituent toujours autant de repères pour les glyco biologistes même si leur commercialisation ne semble plus assurée (Tableau 1, colonne 3). Bien que ces règles souffrent de quelques exceptions, on peut considérer que la spécificité des anticorps repose sur la position du carbone sur lequel s'effectue le branchement (2,3,6), l'anométrie de liaison ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) et les longueurs des chaînes oligomannosidiques. Pour les homopolymères, il existe une notion d'épitope minimal (longueur du résidu) au-delà duquel toutes les structures plus longues sont reconnues, mais il existe aussi quelques exceptions. Ces règles, établies avec des Ig polyclonales, se sont avérées exactes pour déterminer les épitopes des nombreuses Ig monoclonales anti-mannane produites à ce jour (Tableau 1, colonne 3).

La diversité des oligomannosides fournit à l'arrivée un répertoire extrêmement important de combinaisons [13]. Lorsqu'un épitope d'Ig a pu être déterminé, il est possible d'établir la cartographie de sa distribution sur les différentes molécules de *C. albicans*. Comme le montre la Figure 3, ce type d'approche permet de révéler une caractéristique importante des séquences oligomannosidiques de levures : elles peuvent être portées par de très nombreuses molécules différentes et non apparentées.



**Figure 2. Représentation schématique de la structure des mannanes (PPM) de *S. cerevisiae* (1) et de *C. albicans* sérotype A (2) et du phospholipomannane (PLM) de *C. albicans* (3).** Ces schémas ont été élaborés progressivement depuis plusieurs décennies à partir d'analyses structurales par résonance magnétique nucléaire, complétant des analyses génétiques et enzymatiques. Ils ont constitué la base de la détermination de la majorité des relations structure/antigénicité des épitopes oligomannosidiques de levures, actuellement complétées par l'utilisation d'oligosaccharides de synthèse. Le mannane de *C. albicans* présente, branchées sur une chaîne linéaire de résidus D-mannopyranose liés en  $\alpha$ -1,6 (●), des chaînes latérales de résidus D-mannopyranose liés en  $\alpha$ -1,2 (●) terminées ou non par un résidu D-mannopyranose lié en  $\alpha$ -1,3 (●), plus longues que celles présentes dans le mannane de *S. cerevisiae*. La particularité de *C. albicans* est la présence de résidus mannose liés en  $\beta$ -1,2 (●) en bout de chaîne latérale (spécifiques du sérotype A), majoritairement attachés à un mannose lié en  $\alpha$ -1,2 mais également, comme montré récemment sur la souche J1012 [50], à un mannose lié en  $\alpha$ -1,3, et sur la partie liée par un phosphomannose (●) (dite acide labile). Les résidus  $\beta$ -Man ont aussi été caractérisés sur le phospholipomannane, également présent dans la paroi. La plupart des enzymes nécessaire à la biosynthèse de ces structures ont été identifiées. Les PPM ainsi que les PLM possèdent des groupements ionisés constitués de ponts phosphodiester.



**Figure 3. Illustration de la distribution des épitopes oligosaccharidiques sur les mannoconjugués de *C. albicans*, en utilisant des anticorps monoclonaux et des anticorps humains.**

Différentes molécules cytoplasmiques et pariétales extraites de la forme levure de *C. albicans* ont été séparées par électrophorèse puis révélées après transfert avec des anticorps monoclonaux (partie A) et des anticorps humains (partie B). *Partie A.* La bande 1 a été révélée avec la Concanavale A (Con A) lectine se fixant aux résidus terminaux  $\alpha$ -Man. La majorité des molécules révélées présente le caractère polydispersé typique des glycoprotéines (contrairement aux protéines qui apparaissent comme de fines bandes bien résolues), cette dispersion est d'autant plus marquée que la masse moléculaire des mannoprotéines est élevée et que l'hétérogénéité de leurs copules saccharidiques est importante. La bande 2 est révélée avec l'AcM CA1 (*Tableau 1*), utilisé dans le test Platelia pour détecter des mannanes circulants dans les sérums de patients candidosiques. L'épitope minimal de cet anticorps déterminé en utilisant le mannane et des oligomannosides de synthèse est un tétramannoside lié en  $\alpha$ -1,2. Il est clair qu'en dehors du mannane, cet épitope est partagé par de très nombreuses mannoprotéines révélées par la ConA. La bande 3 est révélée par l'AcM 5B2 réagissant avec des  $\beta$ -mannosides présentant un degré de polymérisation supérieur ou égal à 2 (*Tableau 1*), de la même façon, cet épitope du mannane est partagé par de très nombreuses mannoprotéines, l'entité réactive de faible masse moléculaire (flèche) n'est pas une mannoprotéine mais le

phospholipomannane (voir *Figures 1 et 2c*) *Partie B.* L'ensemble des bandes a été révélé soit avec des sérums de sujets sains, soit avec des sérums de patients infectés par *C. albicans*. Pour des dilutions faibles de sérum, on constate dans les deux cas une réactivité importante et difficilement différentiable vis-à-vis de la très grande majorité des molécules de *C. albicans* exprimant des épitopes oligomannosidiques. Cette figure illustre la présence d'anticorps « anti-mannane » de *C. albicans* chez la majorité d'entre nous résultant d'une cohabitation plus ou moins maîtrisée. La révélation de différences quantitatives est peu accessible par cette méthode et nécessite des tests immunoenzymatiques dont le caractère analytique sera d'autant plus poussé qu'ils impliqueront des épitopes oligomannosidiques définis (*Tableau 1*).

L'exemple actuellement le plus représentatif est celui d'un glycolipide pariétal de *C. albicans*, dénommé phospholipomannane - PLM - (*Figure 1 et Figure 2c*) dont la structure, suspectée à partir d'analyses immunochimiques, a été confirmée par de nombreuses analyses structurales. Le PLM de *C. albicans* est une molécule unique de la famille des mannoseinositolphosphocéramides membranaires dont la  $\beta$ -mannosylation permet la présence à la surface de la paroi [14] où elle oriente la réponse immunitaire de type innée [15]. Un second exemple récent, concernant également les  $\beta$ -mannosides, suggère que contrairement à une idée établie, toutes les familles de MPP peuvent être  $\beta$ -mannosylées [16] (*Figure 1*). Ainsi, chez *C. albicans*, les  $\beta$ -mannosyl-transférases codées par 9 gènes différents agissent de manière séquentielle et coordonnée pour associer différents  $\beta$ -mannanes au PPM, au PLM et à la vaste

majorité des mannoprotéines de paroi. Les raisons pour lesquelles ce système est aussi complexe restent inconnues, mais son existence suggère une certaine importance biologique pour *C. albicans* [17], d'autant que, selon des mécanismes qui restent obscurs, les anticorps anti- $\beta$ -mannosides protègent des candidoses expérimentales vaginales et systémiques.

### Applications médicales de la détection des anticorps anti-mannane

#### Détection des anticorps anti-mannane et utilisation pour le diagnostic des candidoses

Dans le domaine des candidoses la réponse anticorps dirigée contre le mannane total (*Figure 3B*) a été très étudiée [1, 5]. Une question importante est de rechercher si le taux d'anticorps pourrait discriminer chez le patient une simple colonisation (dont on sait qu'elle augmente en cas d'hospitalisation) d'une invasion [18]. Sa mesure devrait donc



se faire en cinétique, au même titre que celle de l'index de colonisation de sites corporels qui est un facteur de risque reconnu [19], mais c'est rarement le cas. La détection d'antigènes mannane circulants dans le sérum de patients atteints de candidose systémique a été proposée dès le début des années 1970 à des fins diagnostiques, mais il a fallu attendre l'avènement d'anticorps monoclonaux anti-mannane pour disposer de tests spécifiques [20, 21]. Ceux-ci sont peu sensibles notamment en raison de la nature transitoire de l'antigénémie, la présence d'anticorps accélérant la clairance des immunocomplexes. Ainsi, lors de candidoses avérées, la présence d'anticorps à des taux élevés coïncide généralement avec un taux indétectable des antigènes et *vice-versa* (Figure 4A). Ces données justifient la réalisation conjointe d'un test de détection d'anticorps et d'un test de détection d'antigène sur un même sérum, ce qui permet d'accroître la sensibilité, la spécificité et la précocité du sérodiagnostic [22].

La sensibilité de la détection de mannanes circulants peut être améliorée par le suivi du taux des  $\beta$ -mannosides parallèlement à celui des  $\alpha$ -mannosides dans la mesure où la cinétique de leur clairance peut être différente [20]. De la même façon on peut envisager de raffiner les analyses concernant les anticorps anti-mannane. La diversité du répertoire des épitopes du mannane engendre une diversité d'anticorps ayant des significations diagnostiques voire pronostiques différentes. Par exemple, les anticorps anti- $\beta$ -Man sont protecteurs, les anti- $\alpha$ -Man ne le sont pas [1]. Dans ce cadre, l'utilisation d'une banque d'oligomannosides de synthèse mimant les principaux oligomannosides du mannane et couplés à la biotine sulfone permet, au moins en théorie, une véritable « dissection » de la spécificité épitopique (Tableau 1, colonne 2). Ces outils sont adaptés au format *luminex* et permettent la reconnaissance et la quantification simultanée d'immunoglobulines fixées sur différentes classes de microsphères sensibilisées individuellement par un oligomannoside [23]. Nos résultats récents suggèrent qu'en établissant le rapport des spécificités vis à vis d'oligomannosides d'anométrie  $\alpha$  et  $\beta$ , il est possible de distinguer la réponse sérologique de patients infectés par *C. albicans* de celle de patients fortement colonisés (Poulain *et al.* Manuscrit en préparation).

### Détection des anticorps anti-mannane et utilisation pour le diagnostic des MICI

Un second exemple de la diversité de réponse immunopathologique humaine envers les oligomannosides de levures est illustré par la MC, où des anticorps anti-*S. cerevisiae* avaient été décrits [24]. En appliquant une démarche similaire à celle suivie pour le diagnostic des candidoses, nous avons développé un test ELISA standardisé dans lequel le mannane d'une souche sélectionnée de *S. cerevisiae* est utilisé comme appât pour les anticorps associés à la MC que nous avons dénommés ASCA (*Anti-S. cerevisiae antibodies*), par analogie avec les ANCA (*anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*) décrits antérieurement comme marqueurs sérologiques de la rectocolite hémorragique (RCH) [25, 26]. Le test ASCA a permis d'établir la prévalence de ces anticorps à 50-60 % des cas de MC, et de distinguer les formes coliques de la MC et de la RCH lorsqu'il est couplé avec le test ANCA. L'étude des familles

des patients MC a révélé de manière surprenante la présence d'ASCA chez 20-30 % de leurs parents sains au premier degré alors que la prévalence des ASCA dans la population générale n'est que de 0-6 % [27, 28]. Des études complémentaires ont montré que les ASCA étaient associés préférentiellement à des formes iléales sévères de la maladie - nécessitant une intervention chirurgicale -, à des patients jeunes lors de la déclaration de la maladie, et que leur taux restait stable quel que soit le traitement médical ou chirurgical mis en œuvre [11, 25]. Plus récemment il a été montré que les ASCA préexistaient à la symptomatologie clinique de la MC [29]. Nous avons pu identifier précocement l'épitope majeur du mannane de *S. cerevisiae* supportant la réponse ASCA, il s'agit de la séquence Man  $\alpha$ 1,3 (Man  $\alpha$ -1,2 Man)<sub>n</sub> (Tableau 1, colonne 1) [26], puis en construire des analogues de synthèse. La détection d'anticorps envers ces néoantigènes a permis d'accroître la sensibilité du diagnostic sérologique en révélant la présence d'anticorps chez des patients MC, avec des localisations coliques, et qui, paradoxalement, ne présentaient pas d'anticorps envers les antigènes naturels. Un second intérêt de l'utilisation de ces antigènes de synthèse est leur meilleur pouvoir prédictif de l'évolution d'une colite indéterminée vers une MC [30].

### Établissement de relations sérologiques

#### Présence d'ASCA chez les patients atteints de MC et leurs parents

Les oligomannosides ont également permis d'explorer l'hypothèse selon laquelle *C. albicans* pouvait être à l'origine des ASCA. Cette hypothèse se fonde, d'une part, sur la présence de l'équipement enzymatique permettant à *C. albicans* de synthétiser les épitopes ASCA et, d'autre part, sur les nombreuses données liant la régulation de la biosynthèse des oligomannosides aux conditions environnementales. On pouvait dès lors supposer que la forme de *C. albicans* présente dans l'« environnement mammifère » synthétise l'épitope ASCA en plus grande quantité que dans les cultures *in vitro* où c'est au contraire *S. cerevisiae* qui les exprime de manière plus abondante. En d'autres termes, *S. cerevisiae* ne serait que le révélateur d'anticorps induits par *C. albicans*. L'avantage de cette hypothèse est que *C. albicans*, levure endoluminale naturelle extrêmement fréquente (et pathogène opportuniste) est un candidat immunogène plus plausible que *S. cerevisiae*, levure inoffensive présente à des degrés variables dans l'alimentation ou les boissons, ce qui contraste avec la prévalence remarquablement stable selon les pays et les coutumes alimentaires des ASCA chez les patients atteints de MC [31]. De fait, nous avons

Structures	Glycane	Glycoconjugués de <i>C. albicans</i> exprimant les séquences épitopiques	Outils expérimentaux		Biomarqueurs de pathologies humaines		Récepteurs de l'immunité Innée		Réponse	
			Analogues naturels/ de synthèse	Anticorps	Circulation dans les sérums de patients	Anticorps	Famille	Ligands/ interactions avec autres récepteurs	Phago-cytose	Pro-inflam-matoire
	<b>MANNANE</b> de <i>S. cerevisiae</i>		Polyclonaux		Associés à la MC (ASCA)	C-lectines	Mannose récepteur (MR) un seul $\alpha$ -Man terminal (+/- TLR2)	(+)	(+)	[24, 10, 2]
	<b>MANNANE</b> de <i>C. albicans</i>		Polyclonaux	Oui, démontré dès 1970	Augmentent parallèlement à l'intensité de la colonisation et fortement en cas d'infection (seuil discriminant) PlatelialAc®	C-lectines	Mannose récepteur (+/- TLR2) Miniclé (+/- TLR2 ou FcR) un seul $\alpha$ -Man terminal (+/-) DC SIGN : $\alpha$ -Man branchés (+/-) Mannose-Binding Lectin (MBL) : $\alpha$ -Mans (+) TLR4 CD 14 (+TLR4)	(+)	(+)	[1, 5, 17, 2, 42, 43]
	<b>SÉQUENCES</b> <b>Man- (-<math>\alpha</math>-1,2 Man)<sub>n</sub></b>	Toutes les MPP (reconnues par la ConA) Nombre réduit au fur et à mesure que n augmente	Facteur 1: n=2 Présent chez toutes les levures. AcM EBCA1 n=4	Oui, lors des CI, par intermittence, et souvent en l'absence d'anticorps PlatelialAg®	Diminution des anti- $\Sigma$ Man2 durant l'infection	C-Lectine	MR / MBL	(+)	(+)	[12, 10, 2]
	<b>SÉQUENCES</b> <b>Man- <math>\alpha</math>-1,3- (Man-<math>\alpha</math>-1,2)<sub>n</sub></b>	MP 220 kDa les autres à définir, surexpression à pH acide et dans tissus de mammifères	Facteur 34: n=3		Épitopes reconnus par les sérums de patients MC (AMCA, n=1, $\Delta\Sigma$ MA n= 3 et 4)	C-Lectine		(+)	(+)	
	<b>SÉQUENCES</b> <b>Man- (<math>\beta</math>-1,2 Man)<sub>n</sub></b>	Expression réduite à pH acide sur le PPM Régulée par la température, influence l'hydrophobicité. La majorité des MPP ex Hwp1, Hsp90, MP65, Phr1... PLM de sérotype A, n de 1 à 15, PLM de sérotype B, n=2 "Heat Shock Mannoproteins"	Facteur 5: n= 2 AcM 5B2 n= 1 et >1 AcM Bc.1 n = 2	Oui, épitopes 5B2 et AF1, lors des CI par intermittence	Oui IgG3 Augmentation des IgG lors de l'infection (et du ratio dimannoside $\alpha$ /dimannoside $\beta$ )	S-Lectine	Galectine-3 (n=2-3) (+TLR2)	(+)	(+)	[2, 12, 43, 46]
	<b>SÉQUENCES</b> <b>GLUCANE</b> <b>(Glc-<math>\beta</math>-1,3 Glc)<sub>n</sub></b> <b>(Glc-<math>\beta</math>-1,6 Glc)<sub>n</sub></b>	MP65	Facteur 6: n= 1-3 AcM26G7 n= 1	Oui, CI et MC (détection biochimique Fungitel®), dérivé du Limulus test)	Oui. ALCA (n=1) associés aux candidoses invasives et à la MC	C-Lectine	Decitine 1 (+/- TLR2)	(+)	(+)	[2, 33-36]
	<b>SÉQUENCES</b> <b>CHITINE</b> <b>SÉQUENCES</b> <b>(GlcNAc-<math>\beta</math>-1,4 GlcNAc)<sub>n</sub></b>		AcM 1E-12		Oui. ACMA (n=1) associés aux candidoses invasives et à la MC	C-Lectine Autre TLR	MR CD14 TLR2, TLR4	(+)	(+)	[2, 33]

**Tableau 1. Glycannes de levures et leurs analogues de synthèse, propriétés immunologiques et applications diagnostiques.** CI : candidose invasive ; MC : maladie de Crohn ; TLR : Toll like receptors ; AMCA : anti-mannosidase carbohydrate antibodies ;  $\Delta\Sigma$ MA : anti-synthetic mannoside antibodies ; Fc $\gamma$ R : récepteur pour le fragment Fc ;  $\Sigma$ Man : mannosides de synthèse.



pu montrer qu'une candidose systémique humaine ou expérimentale (modèle lapin) entraînait la production d'ASCA, puis, en utilisant des sucres de synthèse pour immunopurifier les anticorps expérimentaux ou humains, que les épitopes spécifiques reconnus étaient effectivement surexprimés par les formes tissulaires de *C. albicans* [32]. Ces données suggérant une relation entre *C. albicans* et inflammation intestinale ont été confirmées dans un modèle murin original ; alors que la souris n'est pas spontanément colonisée par *C. albicans*, l'induction d'une inflammation permettait cette colonisation, qui, en retour, exacerbait les scores cliniques, histologiques et cytokiniques de l'inflammation et entraînait la synthèse des ASCA [33].

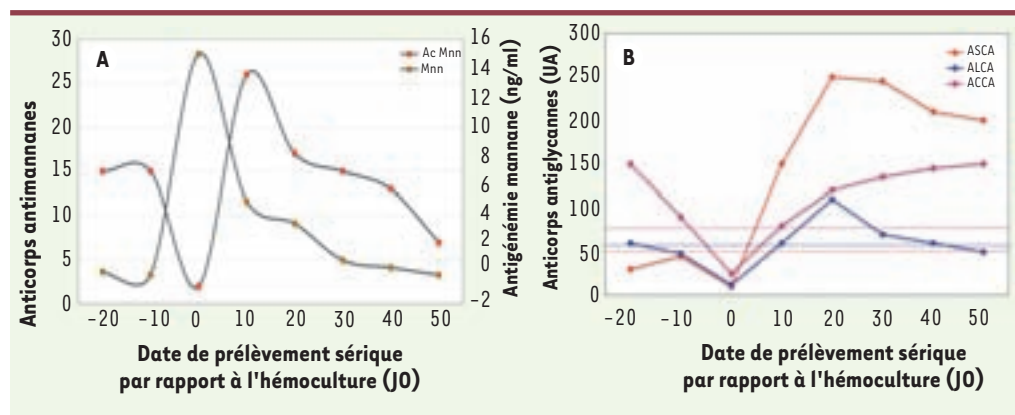
Le lien sérologique entre *C. albicans* et maladie de Crohn a pu être exploré dans le cadre d'une large étude familiale conduite dans le nord de la France et en Belgique. Cette étude a montré pour la première fois une colonisation par *C. albicans* supérieure chez les membres des familles dans lesquelles de multiples cas de MC n'avaient été diagnostiqués que chez les membres des familles témoin, et qu'il existait chez les parents sains une relation entre le portage de *C. albicans* et la présence d'ASCA. Cette observation suggère une possible relation de cause à effet entre *C. albicans* et ASCA et offre en outre une explication partielle à la forte prévalence des ASCA chez les parents sains du premier degré. Ainsi, il semble que dans ces familles, un premier niveau de dérégulation de la « perception de *C. albicans* » chez les parents sains se traduise par la synthèse d'ASCA. Un second niveau, observé chez les malades, se traduit par l'existence de taux stables d'ASCA indépendants de l'intensité du portage de *C. albicans* au moment du prélèvement [34].

## Établissement de relations sérologiques entre MC et Candidose

Parallèlement à nos travaux, une étude a rapporté de nouveaux marqueurs sérologiques de la MC sélectionnés à partir d'un criblage de glycannes de synthèse. Il s'agit de fragments disaccharidiques de  $\beta$ -1,3 glucanes et de  $\beta$ -1-4 glucosamine acétylée. Les anticorps reconnaissant ces épitopes, ALCA et ACCA<sup>2</sup>, sont utilisés en complément des ASCA dans le diagnostic sérologique de la MC (Figure 1) [35]. Il était dès lors logique d'explorer, si, au même titre que les ASCA, la synthèse des ALCA et les ACCA pouvait être induite lors d'une infection par *C. albicans*. De fait, une étude récente vient de démontrer que ces marqueurs sérologiques de la MC s'ajoutaient aux autres tests de détection des candidoses invasives décrits ci-dessus (Figure 4b) [36].

En ce qui concerne les anticorps anti-glucanes dont on a longtemps ignoré l'existence selon le précepte que ce sont des haptènes, certains auraient un rôle protecteur

<sup>2</sup> ALCA : anti-laminarinabioside carbohydrate antibodies - la laminarine, extraite des algues laminaires étant un polymère de  $\beta$ -1,3 glucanes ; ACCA : anti-chitobioside carbohydrate antibodies - le chitobioside étant une unité constitutive de la chitine et un constituant de la liaison des protéines (y compris humaines) à leur copule polysaccharidique. Ces unités saccharidiques composent les constituants majeurs de la paroi des levures que sont les glucanes et la chitine (voir Figure 1).



**Figure 4. Schéma type d'évolution cinétique des anticorps anti-glycannes et de la mannanémie au cours d'une candidose systémique.** La période du suivi sérologique, figurée en abscisse, débute à une période où le patient colonisé présentait des signes d'infection. Le jour 0 correspond à la date à laquelle *C. albicans* a été

isolé d'une hémoculture. **A. Résultats observés avec les tests développés spécifiquement pour le diagnostic des candidoses.** Durant la période qui précède l'isolement de *C. albicans* du sang, les anticorps anti-mannane détectés par le test Platelia Ac (Ac Mnn) sont à la limite du seuil significatif discriminant colonisation et invasion puis baissent parallèlement à la montée de la mannanémie (Mnn) détectée par l'AcM CA1 (Figure 3 et tableau). Dans la majorité des cas, la détection (très spécifique) de cet antigène permet un diagnostic plus précoce que l'hémoculture. La mannanémie se résout lorsque les anticorps anti-mannanes réapparaissent à des taux très significatifs atteignant leur maximum environ 3 semaines après la phase septicémique. Ils décroissent ensuite de manière amortie au fur et à mesure de l'évolution favorable liée au traitement. **Figure B. Résultats observés avec les tests développés spécifiquement pour le diagnostic de la MC.** Lorsque des marqueurs sérologiques de la MC sont appliqués aux mêmes sérums, on constate que les ASCA, les ALCA (anticorps anti-glucanes) et les ACCA (anticorps anti-chitine) ont des évolutions comparables à celle des anticorps anti-mannane de *C. albicans*. Ils sont présents à la phase précoce et atteignent des taux très élevés après l'hémoculture, identiques à ceux observés chez les patients atteints de MC. Comme pour les anticorps anti-mannane on observe leur disparition quasi-totale au moment de la dissémination sanguine de la levure, ce qui suggère la formation de complexes *in vivo* avec des antigènes homologues relargués par *C. albicans* ou une sidération transitoire de la réponse anticorps.

vis-à-vis de ces résidus lors de candidoses expérimentales [37]. C'est le cas d'un anticorps monoclonal qui reconnaît aussi l'antigène ALCA sans que l'on puisse au stade actuel de nos connaissances définir une signification à la présence d'ALCA chez l'homme [36].

Au même titre que les mannanes, les glucanes pariétaux de *C. albicans* circulent dans le sérum de patients atteints de candidoses systémiques et les tests de détection de glucanes sont de plus en plus utilisés pour le diagnostic des candidoses [38]. Une étude utilisant ce test chez des patients atteints de MC a démontré que 30 % d'entre eux présentaient des taux de glucanes sériques identiques à ceux retrouvés lors d'infections profondes à *C. albicans* [39].

### Synthèse et perspectives fondamentales et cliniques concernant les candidoses et la MC

L'ensemble de ces observations expérimentales et cliniques suggère fortement une relation entre candidoses et MC, chacune étant caractérisée par une évolution sérologique particulière. Dans les candidoses, les taux de glycannes circulants de *C. albicans* et de leurs anticorps spécifiques croissent durant la transition saprophyte-pathogène et le développement des processus pathologiques engendrés. Les taux redeviennent identiques à ceux qui sont observés chez les sujets sains en cas d'évolution favorable de l'infection. Dans la MC, ces mêmes anticorps sont stables et, comme dans beaucoup d'affections chroniques ou auto-immunes, sont d'autant plus élevés et nombreux que la pathologie est sévère [11]. Une interprétation possible de ces observations pourrait résider en l'existence d'une « inégalité immunogénétique » vis-à-vis des glycannes de *C. albicans* chez les patients déclenchant une MC, hypothèse compatible avec l'observation de la forte prévalence d'ASCA chez leurs parents sains.

Les pistes génétiques sont explorées aussi bien pour les candidoses que pour la MC. Dans les deux cas, les recherches s'orientent vers les mutations des récepteurs de l'immunité innée susceptibles d'induire des orientations de réponses que l'immunité adaptative ne serait pas à même de compenser. Il est intéressant de constater que les recherches récentes sur les candidoses et la MC convergent sur l'importance de la voie inflammatoire interleukine-23(IL-23)/Th17 [40-42, 52] alors que la conception de la pathogénie des candidoses, jusqu'ici restreinte à des processus purement invasifs, s'oriente vers une réponse inflammatoire excessive pouvant être délétère pour l'hôte [43].

La question est donc d'établir pourquoi tous les individus ne sont pas égaux en termes d'invasion et d'inflammation vis-à-vis de *C. albicans*. Cela repose sur l'exploration de gènes contrôlant à la fois la susceptibilité aux candidoses et la réponse anti-glycannes notamment au cours de la MC.

Des candidats possibles seraient ceux qui codent pour les lectines de l'immunité innée ou les TLR (*Toll like receptors*) qui ont pour ligands tous les glycannes de *C. albicans* décrits dans cet article comme cibles des réponses humorales (Tableau I). Il convient sans doute d'y ajouter les gènes des défensines (peptides antimicrobiens) et notamment *DEFB1* (*defensin beta 1*) dont les mutations affectent la colonisation par *C. albicans* [47] et la réponse humorale anti-glycannes associée à la MC [11].

En termes d'applications cliniques immédiates, la sérologie est déjà utilisée pour la stratification des patients atteints de candidose ou de MC. Cette stratification sera d'autant plus précise que le nombre de cibles antigéniques sera élevé. Les développements actuels reposant sur l'utilisation d'analyseurs multiparamétriques de banques d'épitopes glycaniques de synthèse permettront en un seul passage la définition de profils sérologiques dont les valeurs diagnostiques et pronostiques seront déterminées au moyen d'algorithmes [48].


Les relations actuellement établies entre *C. albicans* et MC ne permettent pas de conclure en termes de cause ou de conséquence. Il est en particulier prématuré d'affirmer que *C. albicans* puisse jouer un rôle dans le déclenchement de la MC. En revanche, les données expérimentales suggérant qu'un processus inflammatoire augmente la colonisation par *C. albicans* et que cette dernière accroît l'inflammation méritent d'être considérées [33]. Il semble rationnel d'explorer si la réduction de la colonisation par des moyens de lutte traditionnels peut améliorer l'état clinique de certains patients atteints de MC. Ces moyens reposent sur les antifongiques (dont l'efficacité a été prouvée au niveau systémique, mais jamais intestinal), les souches probiotiques de *S. cerevisiae* dont il est intéressant de noter, à l'inverse, que leur effet a été rapporté à la fois sur la colonisation par *C. albicans*, sa dissémination et sur l'inflammation. À plus long terme on peut évoquer les vaccins anti-*C. albicans* dont deux au moins ciblent les glycannes que nous avons décrits [37, 49] et arrivent à un stade de développement qui justifiera d'ici peu des études cliniques, tout au moins pour lutter contre les candidoses invasives. Enfin, les résultats négatifs de toutes les études menées à ce jour à la recherche d'autres immunogènes microbiens ou auto-(néo) antigènes à l'origine des anticorps anti-glycannes au cours de la MC n'excluent pas leur existence. ♦

### SUMMARY

#### Anti glycans antibodies establish an unexpected link between *C. albicans* and Crohn disease

Almost 80 % of the dry weight of the yeast cell wall is composed of glycans including mannans, glucans and chitin. Within this variable and complex edifice, glycans play a major role in their relation with the environment. Experimental antibodies allowed to define the localization, the variability of expression and the biological role of numerous natural oligosaccharidic sequences. These glycans and their synthetic analogues were used to study the human humoral response during invasive candidiasis (IC) determined by *Candida albicans* and Crohn's disease (CD) where antibodies against the dietary yeast *Saccharomyces cerevisiae* have been reported. On these bases, it was established experimentally and clinically that a large panel of CD biomarkers consisting in anti glycans antibodies were also generated during IC establishing a link never suspected between *C. albicans* and CD. We describe here the principle of this serological analysis and its



perspectives related to the use of multianalyte profiling technology for a better understanding of IC and CD pathophysiology. This may contribute to improve disease management in terms of diagnosis and therapy. 

## REFERENCES

- Masuoka J. Surface glycans of *Candida albicans* and other pathogenic fungi: physiological roles, clinical uses, and experimental challenges. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17: 281-310.
- Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, Gow NA. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6: 67-78.
- Latge JP. The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell. *Mol Microbiol* 2007; 66: 279-90.
- Biguet J, Tran van Ky P, Andrieu S, Fruit J. Immunoelectrophoretic analysis of fungal antigens and systematic analysis of fungi. Practical repercussions on the diagnosis of mycoses. *Mycopathol Mycol Appl* 1965; 26: 241-56.
- Martinez JP, Gil ML, Lopez-Ribot JL, Chaffin WL. Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 121-41.
- Pitarch A, Jimenez A, Nombela C, Gil C. Decoding serological response to *Candida* cell wall immunome into novel diagnostic, prognostic, and therapeutic candidates for systemic candidiasis by proteomic and bioinformatic analyses. *Mol Cell Proteomics* 2006; 5: 79-96.
- Dumas FR, Bougnoux ME, Zahar JR, Lortholary O. Candidiasis emerging species under antibiotic treatment: clinical impact. *Med Sci (Paris)* 2008; 24: 24-31.
- Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 133-63.
- Loftus EV, Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterol* 2004; 126: 1504-17.
- Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008; 134: 577-94.
- Li X, Conklin L, Alex P. New serological biomarkers of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5115-24.
- Biswas S, Van Dijk P, Datta A. Environmental sensing and signal transduction pathways regulating morphopathogenic determinants of *Candida albicans*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2007; 71: 348-76.
- Suzuki S. Immunochemical study on mannans of genus *Candida*. I. Structural investigation of antigenic factors 1, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 13, 13b and 34. *Curr Top Med Mycol* 1997; 8: 57-70.
- Trinel PA, Maes E, Zanetta JP, et al. *Candida albicans* phospholipomannan, a new member of the fungal mannose inositol phosphoceramide family. *J Biol Chem* 2002; 277: 37260-71.
- Jouault T, Ibatá-Ombetta S, Takeuchi O, et al. *Candida albicans* phospholipomannan is sensed through toll-like receptors. *J Infect Dis* 2003; 188: 165-72.
- Fradin C, Slomianny MC, Mille C, et al. Beta-1,2 oligomannose adhesin epitopes are widely distributed over the different families of *Candida albicans* cell wall mannoproteins and are associated through both N- and O-glycosylation processes. *Infect Immun* 2008; 76: 4509-17.
- Mille C, Bobrowicz P, Trinel PA, et al. Identification of a new family of genes involved in beta-1,2-mannosylation of glycans in *Pichia pastoris* and *Candida albicans*. *J Biol Chem* 2008; 283: 9724-36.
- Sendid B, Tabouret M, Poirot JL, et al. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1510-7.
- Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 1994; 220: 751-8.
- Sendid B, Jouault T, Coudriau R, et al. Increased sensitivity of mannanemia detection tests by joint detection of alpha- and beta-linked oligomannosides during experimental and human systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 164-71.
- Poulain D, Faillie C, Michalski JC, Camus D. Monoclonal antibodies to *Candida albicans*- from cell biology to diagnostic probes. *Med Sci (Paris)* 1990; 6: 526-33.
- Prella M, Bille J, Pugnale M, et al. Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51: 95-101.
- Collot M, Sendid B, Fievez A, et al. Biotin sulfone as a new tool for synthetic oligosaccharide immobilization: application to multiple analysis profiling and surface plasmonic analysis of anti-*Candida albicans* antibody reactivity against alpha and beta (1 → 2) oligomannosides. *J Med Chem* 2008; 51: 6201-10.
- Main J, McKenzie H, Yeaman GR, et al. Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers' yeast) in Crohn's disease. *BMJ* 1988; 297: 1105-6.
- Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* 1998; 42: 788-91.
- Sendid B, Colombel JF, Jacquinet PM, et al. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3: 219-26.
- Poulain D, Sendid B, Fajardy I, Danze PM, Colombel JF. Mother to child transmission of anti-*S cerevisiae* mannan antibodies (ASCA) in non-IBD families. *Gut* 2000; 47: 870-1.
- Sendid B, Quinton JF, Charrier G, et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies in familial Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1306-10.
- Israeli E, Grotto I, Gilburd B, et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. *Gut* 2005; 54: 1232-6.
- Vandewalle-El Khoury P, Colombel JF, Joossens S, et al. Detection of antisynthetic mannoside antibodies (ASigmaMA) reveals heterogeneity in the ASCA response of Crohn's disease patients and contributes to differential diagnosis, stratification, and prediction. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 949-57.
- Hadrich I, Vandewalle P, Cheikhrouhou F, et al. Ethnic and socio-cultural specificities in Tunisia have no impact on the prevalence of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in Crohn's disease patients, their relatives or associated clinical factors. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 717-25.
- Standaert-Vitse A, Jouault T, Vandewalle P, et al. *Candida albicans* is an immunogen for anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody markers of Crohn's disease. *Gastroenterol* 2006; 130: 1764-75.
- Jawahra S, Thuru X, Standaert-Vitse A, et al. Colonization of mice by *Candida albicans* is promoted by chemically induced colitis and augments inflammatory responses through galectin-3. *J Infect Dis* 2008; 197: 972-80.
- Standaert-Vitse A, Sendid B, Joossens M, et al. *Candida albicans* colonization and ASCA in familial Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2009 (sous presse).
- Dotan I, Fishman S, Dgani Y, et al. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterol* 2006; 131: 366-78.
- Sendid B, Dotan N, Nseir S, et al. Antibodies against glucan, chitin and *Saccharomyces cerevisiae* mannan are new biomarkers of *Candida albicans* infection that complement tests based on *C. albicans* mannan. *Clin Vaccine Immunol* 2008.
- Torosantucci A, Bromuro C, Chiani P, et al. A novel glyco-conjugate vaccine against fungal pathogens. *J Exp Med* 2005; 202: 597-606.
- Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1 → 3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 654-9.
- Chiba M, Mikami K, Iizuka M, et al. Elevated plasma (1 → 3)-beta-D-glucan, a fungal cell wall constituent, in a subgroup of Crohn disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 447-8.
- Leung-Thuing-Long S, Guerdier S. Th17 cells, a novel proinflammatory effector CD4 T cell population. *Med Sci (Paris)* 2009; 24: 972-6.
- McGovern D, Powrie F. The IL23 axis plays a key role in the pathogenesis of IBD. *Gut* 2007; 56: 1333-6.
- Palm NW, Medzhitov R. Antifungal defense turns 17. *Nat Immunol* 2007; 8: 549-51.
- Dupont B. Candidose hépatosplénique: un nouveau syndrome inflammatoire de reconstitution immunitaire? *J Mycol Méd* 2007; 17: 155-6.
- Seibold F, Boldt AB, Seibold-Schmid B, et al. Association of deficiency for mannan-binding lectin with anti-mannan antibodies in Crohn's disease: a family study. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1077-82.
- van Till JW, Modderman PW, de Boer M, et al. Mannose-binding lectin deficiency facilitates abdominal *Candida* infections in patients with secondary peritonitis. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15: 65-70.
- Jouault T, El Abed-El Behi M, Martinez-Esparza M, et al. Specific recognition of *Candida albicans* by macrophages requires galectin-3 to discriminate *Saccharomyces cerevisiae* and needs association with TLR2 for signaling. *J Immunol* 2006; 177: 4679-87.
- Jurevic RJ, Bai M, Chadwick RB, White TC, Dale BA. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human beta-defensin 1: high-throughput SNP assays and association with *Candida* carriage in type I diabetics and nondiabetic controls. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 90-6.
- Clancy CJ, Nguyen ML, Cheng S, et al. Immunoglobulin G responses to a panel of *Candida albicans* antigens as accurate and early markers for the presence of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1647-54.
- Xin H, Dziadek S, Bundle DR, Cutler JE. Synthetic glycopeptide vaccines combining beta-mannan and peptide epitopes induce protection against candidiasis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105: 13526-31.
- Shibata N, Suzuki A, Kobayashi H, Okawa Y. Chemical structure of the cell-wall mannan of *Candida albicans* serotype A and its difference in yeast and hyphal forms. *Biochem J* 2007; 404: 365-72.
- Smits GJ, Kapteyn JC, van den Ende H, Klis FM. Cell wall dynamics in yeast. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2: 348-52.
- Peyrin-Biroulet L, Parmentier-Decruq E, Branche J, Desreumaux P. IL-23R, a novel susceptibility gene for inflammatory bowel disease. *Med Sci (Paris)* 2007; 23: 250-2.

TIRÉS À PART

D. Poulain

## Ateliers de formation 2009

Renseignements et inscriptions :  
Ateliers de formation Inserm  
101, rue de Tolbiac  
75654 Paris Cedex 13  
Tél. : 33 (0)1 44 23 62 04 — Fax : 33 (0)1 44 23 62 93  
ateliers@inserm.fr



### ■ Atelier de formation n° 198

## Protocoles récents en épidémiologie

**Organisateurs :** Nadine Andrieu (Inserm U900, Paris), Michel Chavance (Inserm U780, Villejuif), Pascal Wild (Nancy)

### Phase I • Le point sur...

30 septembre-2 octobre 2009

**Objectifs** • Présenter de nouveaux schémas d'enquêtes épidémiologiques développés ces dernières années : études limitées aux cas et plans d'échantillonnage complexe optimisés, expliquer les modèles d'analyse à mettre en œuvre.

**Public** • Épidémiologistes particulièrement intéressés par les problèmes méthodologiques et biostatisticiens débutants ou confirmés. Chercheurs, ingénieurs ou techniciens.

Les présentations seront effectuées en anglais.

**Nombre maximum de participants :** 60

**Programme** • Études limitées aux cas : cas croisés, séries de cas. Double échantillonnage simple ou stratifié : cas-témoins emboîtés dans une cohorte, cas-cohorte, études en deux phases et contre-appariement. Les exemples présentés concerneront en particulier la pharmacoépidémiologie, l'épidémiologie du cancer, l'épidémiologie cardio-vasculaire, l'étude des interactions gènes-environnement.

### Phase II • Maîtrise technique

5-7 octobre 2009 • Villejuif

**Programme** • Présentation et discussion de programmes (SAS, STATA, R...) adaptés à l'analyse d'enquêtes réalisées selon des protocoles présentés en phase I. Analyse de données fournies par les participants.

**Sélection** • 12 personnes seront retenues parmi les participants de la phase I. Deux critères importants seront l'intérêt de leurs données et leur expérience statistique.

---

**Avec la participation de** • Nadine Andrieu (Paris, France), Jonine Bernstein (Yale, USA), Norman Breslow (Seattle, USA), Michel Chavance (Villejuif, France), Paddy Farrington (Milton Keynes, UK), Mounia Hocine (Villejuif, France), Bryan Langholz (Los Angeles, USA), Thomas Lumley (Seattle, USA), Helena Marti (Villejuif, France), Walter Schill (Bremen, Deutschland), Pascal Wild (Nancy, France)

**Date limite d'inscription :** 17 juillet 2009



Tarifs d'abonnement M/S - 2009

**Abonnez-vous  
à Médecine/Sciences**

> Grâce à *m/s*, vous vivez en direct  
les progrès des sciences biologiques  
et médicales

**Bulletin d'abonnement  
page 542 dans ce numéro de *m/s***

