



Montpellier

**JNI** 11<sup>es</sup> Journées  
Nationales  
d'Infectiologie



# **Surveillance des traitements antifongiques: les antifongigrammes et les dosages d'antifongiques sont-ils utiles?**

## **Antifongigrammes**

**Pr. Michèle Mallié**



# Principaux champignons d'intérêt médical responsables d'infections invasives

- **Levures**
  - *Candida albicans*
  - *Candida non-albicans* (*glabrata*, *tropicalis*, *parapsilosis*, *krusei*, *guilliermondii*, ...)
  - *Cryptococcus neoformans*
- **Filamenteux**
  - *Aspergillus* sp.
  - *Fusarium* sp.
  - *Scedosporium* sp.
  - **Mucorales**

d'après de Pauw B.E. et al., *Hématologie*, 2003; 9:3-8  
Pfaller M. et al, *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48:1366-77



Montpellier

**JNI** 11<sup>es</sup> Journées  
Nationales  
d'Infectiologie



## Méthodes utilisées

- **Méthodes de référence**
  - Dilution en milieu liquide
  - Diffusion en milieu solide
- **Méthodes commercialisées**



## Méthodes de référence (1)

- **Dilution en milieu liquide**

- **Standard américain : Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)**

M27-A3: levures (*Candida* sp., *Cryptococcus neoformans*)

M38-A2: champignons filamenteux (*Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus oryzae*....)

-

- **Standard européen : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)**



## Méthodes de référence (1): expression des résultats

**CMI (mg/L) = Concentration Minimale Inhibitrice**

Plus petite concentration d'ATF qui donne une réduction visible de la croissance de l'inoculum / Témoin

**CME (mg/L) = Concentration Minimale Efficace**

**Filamenteux / échinocandines**

Plus petite concentration d'ATF pour laquelle on observe des hyphes courtes, trapues et compactes / Témoin

**CMF(mg/L) = Concentration Minimale Fongicide**

Plus petite concentration d'ATF qui tue  $\geq 99,9\%$  de l'inoculum ou qui diminue de 3 log au moins la densité de l'inoculum / Témoin



## Méthodes de référence (1): Principales valeurs seuils d'interprétation pour *Candida sp.*

### Antifungal

### EUCAST

(Standard européen)

### CLSI

(Standard américain)

Susceptible Intermediate Resistant      Susceptible      S-DD      Resistant

Fluconazole	≤ 2	4	>4	<8	16-32	≥64
Voriconazole	≤ 0.125	-	>0.125	<1	2	≥4
Caspofungine	NE	NE	NE	≤ 2*	NE	NE
Micafungine	NE	NE	NE	≤ 2*	NE	NE
Anidulafungine	NE	NE	NE	≤ 2*	NE	NE

\**Candida* isolates with echinocandines MICs>2mg/L have been defined as nonsusceptible. Breakpoints to define S-DD end R isolates have not yet been established. NE: Not established yet, S-DD Susceptible dependent on dose. Data en mg/L

d'après *Cuenca-Estrella M. et al. Expert Rev. Anti Infect. Ther. 2010;8:267-276.*



Montpellier

**JNI** 11<sup>es</sup> Journées  
Nationales  
d'Infectiologie



## Méthodes de référence (2)

- **Diffusion en milieu solide**
  - **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI):**  
M44-A2: *Candida* sp./ fluconazole, voriconazole  
et caspofungine

Clinical Laboratory Standards Institute, Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard, M44-A2. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2009



## Méthodes de référence (2): valeurs seuils d'interprétation

### Résultats:

### Diamètre d'inhibition de pousse (mm)

### *Valeurs établies M44-A2 vs M27*

	<b>Susceptible</b>	<b>S-DD</b>	<b>Resistant</b>
<b>Fluconazole :</b>	$\geq 19\text{mm}$	15-18mm	$\leq 14\text{mm}$
<b>Voriconazole:</b>	$\geq 17\text{mm}$	14-16mm	$\leq 13\text{mm}$
<b>Caspofungine:</b>	$\geq 11\text{mm}$		

R: Resistant; S: Sensible; S-DD Susceptible dose dependent.

*D'après Canton E. et al. Expert Rev. Anti Infect Ther. 2010; 7:107-119.*



Montpellier

**JNI** 11<sup>es</sup> Journées  
Nationales  
d'Infectiologie



## Cas particulier: amphotéricine B

**Pas de valeurs seuils d'interprétation approuvées par le CLSI ou l'EUCAST**

*Candida* sp : CMI > 1mg/L → R

*Aspergillus* sp : CMI > 1mg/L → R

*Johnson EM. J. Antimicrob. Chemother. 2008; 61: 113-118.*

Clinical Laboratory Standards Institute, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast; Approved Standard, M27-A2. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2008.



## Cas particulier: azolés / filamenteux

**Pas de valeurs seuils d'interprétation approuvées par le CLSI ou l'EUCAST**

**Proposition de valeurs seuils pour les différentes catégories (S, I, R) d'*Aspergillus fumigatus* vis-à-vis des antifongiques azolés actifs**

Drug	Susceptible	Intermediate	Resistant
Itraconazole	<2	2	>2
Voriconazole	<2	2	>2
Posaconazole	<0.5	0.5	>0.5



## Méthodes commercialisées (1)

*Méthodes automatisées ou semi-automatisées,  
validées / méthodes de référence*   
*% corrélation avec les standards (CLSI, EUCAST) .*

- **Etest<sup>®</sup>**
- **Sensititre YeastOne<sup>®</sup>**
- **Vitek<sup>®</sup>2**
- **ATB<sup>™</sup> Fungus 3**
- **Néo-Sensitabs<sup>™</sup> tablet**
- **Fungitest<sup>®</sup>**



## Méthodes commercialisées (2)

- **Avantages / Méthodes de référence :**
  - **Faciles à utiliser en routine**
  - **+ économiques**
  - **Résultats + rapides**
  - **Facilité d'interprétation**
  - **Alternative pour la pratique clinique et screening pour le dépistage des souches avec des CMI hautes**



## Méthodes commercialisées (3)

- **Inconvénients / Méthodes de référence :**
  - N'ont pas développé leurs propres « valeurs seuils d'interprétation » mais proposent des valeurs obtenues par corrélation avec CLSI ou EUCAST
  - L'utilisation des valeurs propres au CLSI et à l'EUCAST n'est pas recommandée



Montpellier

**JNI** 11<sup>es</sup> Journées  
Nationales  
d'Infectiologie



# Quelques applications pratiques



# Sensibilité in vitro de *Candida* sp. au fluconazole et voriconazole

Species	No. of isolates tested	Fluconazole <sup>b</sup>		Voriconazole <sup>b</sup>		
		% S	% R	No. of isolates tested	% S	% R
<i>C. albicans</i>	128,625	98.0	1.4	125,965	98.5	1.2
<i>C. glabrata</i>	23,305	68.7	15.7	22,968	82.9	10.0
<i>C. tropicalis</i>	15,546	91.0	4.1	15,198	89.5	5.4
<i>C. parapsilosis</i>	12,788	93.2	3.6	12,453	97.0	1.8
<i>C. krusei</i>	5,079	8.6	78.3	5,005	83.2	7.6
<i>C. guilliermondii</i>	1,410	73.5	11.4	1,375	90.5	5.7

Les isolats sont testés par la méthode CLSI (M44-A)



## Comparaison de l'activité in vitro de 3 échinocandines vis-à-vis d'isolats cliniques (sang) de *Candida* sp.

Species	No. of isolates tested	Results for: <sup>b</sup>					
		ANID		CASP		MICA	
		MIC <sub>90</sub>	% ≤ 2	MIC <sub>90</sub>	% ≤ 2	MIC <sub>90</sub>	% ≤ 2
<i>C. albicans</i>	2,869	0.06	100	0.06	100	0.03	100
<i>C. glabrata</i>	747	0.12	99.9	0.06	99.9	0.015	100
<i>C. tropicalis</i>	625	0.06	100	0.06	99.8	0.06	100
<i>C. krusei</i>	136	0.06	100	0.25	100	0.12	100
<i>C. parapsilosis</i>	759	2	92.5	1	99.9	2	100
<i>C. guilliermondii</i>	61	2	90.2	1	95.1	1	100
All <i>Candida</i> spp.	5,346	2	98.8	0.25	99.9	1	100

Les isolats sont testés par la méthode CLSI (M27)

<sup>b</sup> % ≤ 2, percentage of isolates for which the MIC was 2mg/l or less



## Activité in vitro de trois échinocandines vis-à-vis d'isolats de *Candida* sp. résistants au fluconazole

Species	No. of isolates tested	Results for: <sup>b</sup>					
		ANID		CASP		MICA	
		MIC <sub>90</sub>	% ≤ 2	MIC <sub>90</sub>	% ≤ 2	MIC <sub>90</sub>	% ≤ 2
<i>C. albicans</i>	41	0.06	100	0.06	100	0.03	100
<i>C. glabrata</i>	110	0.12	100	0.06	100	0.015	100
<i>C. krusei</i>	146	0.12	100	0.25	100	0.06	100
All <i>Candida</i> spp.	315	1	100	0.25	100	0.5	100

**a** MICs were determined in RPMI broth with 24-h incubation and prominent-inhibition endpoint.

**b** % ≤ 2, percentage of isolates for which the MIC was 2mg/l or less

Les isolats sont testés par la méthode CLSI (M27)



## Mise en évidence de l'acquisition de résistance in vitro aux ATF: exemple de *C. parapsilosis*

Isolate	MIC (µg/ml)					
	Fluconazole	Voriconazole	Caspofungin	Micafungin	Anidulafungin	Amphotericin B
1 (1st admission)	1	0.03	2	8	1	0.25
2 (2nd admission)	>64	>16	>16	>16	2	0.5

**1ère admission:** Fongémie à *C. parapsilosis*; **Antifongogramme**; tt: AMB (0.7mg/kg/j) + Flucytosine (25mg/kg) ttes les 6H ; insuffisance rénale; association caspofungine iv (50mg/j) + FCZ iv (400mg/j) pendant 6 semaines; hémoculture négative, mais tt FCZ poursuivi

**2ème admission:** Fongémie à *C. parapsilosis*; arrêt de FCZ; reprise de caspofungine iv (50mg/j) pendant 10j mais hémoculture encore +; **Antifongogramme**; d'où AMB lipid complex iv (Abelcet®, 5mg/kg/j). Hémoculture négative après 1 semaine

Les isolats sont génétiquement identiques et testés par la méthode CLSI (M27)



Montpellier

**JNI** 11<sup>es</sup> Journées  
Nationales  
d'Infectiologie



## Quand demander un antifongogramme ?

- **Devant une infection fongique invasive**
  - D'emblée : en cas de discussion thérapeutique initiale ou à prévoir (échec, toxicité, désescalade...)
  - En cours de traitement si échec clinique et/ou microbiologique
- **Surveillance épidémiologique de résistance**

*Lass-Flörl C. et al. Mycoses 2010; 53:1-11.*



## En conclusion:

### L'antifongigramme :

- peut être utilisé dans le choix et la surveillance du traitement antifongique
- ne permet pas seul de prédire la réponse du traitement chez le patient

#### ⇒ Règle des « 90 - 60 »:

Une infection due à une souche sensible répond au traitement approprié dans 90% des cas

Une infection due à une souche résistante (ou traitée avec une molécule non adaptée) répond dans 60% des cas.