



JNI 15^{es} Journées
Nationales
d'Infectiologie

Bordeaux
et l'interrégion Aquitaine & Limousin



du mercredi 11 au vendredi 13 juin 2014
Palais des Congrès de Bordeaux

Quoi de neuf dans la prise en charge des infections fongiques à levures ? Apport de la mycologie

Isabelle Accoceberry
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie
Hôpital Pellegrin
CHU de Bordeaux



15^{es} JNI, Bordeaux
du 11 au 13 juin 2014

Apport du laboratoire

Augmentation de l'incidence des IFI, des patients à risque et de la consommation des antifongiques

Candidose 80-90% IFI, prévalence candidémies de 6,9/1000 Pts en Réa (EPIC II)

Stratégie de diagnostic chez Patient à risque

Diagnostic Mycologique conventionnel

Hémocultures +++

Sites périphériques : cathéters, urines, peau, expectorations, muqueuses ...

→ colonisation ?

Sites profonds (points d'appel) : LCR, biopsies organes, LBA, sinus

→ invasion ?

- Documentation IFI , isolement et identification rapide et précise de l'espèce
→ traitement adapté et le plus efficace
- Sensibilité *in vitro* aux ATF

Méthodes non basées sur la culture

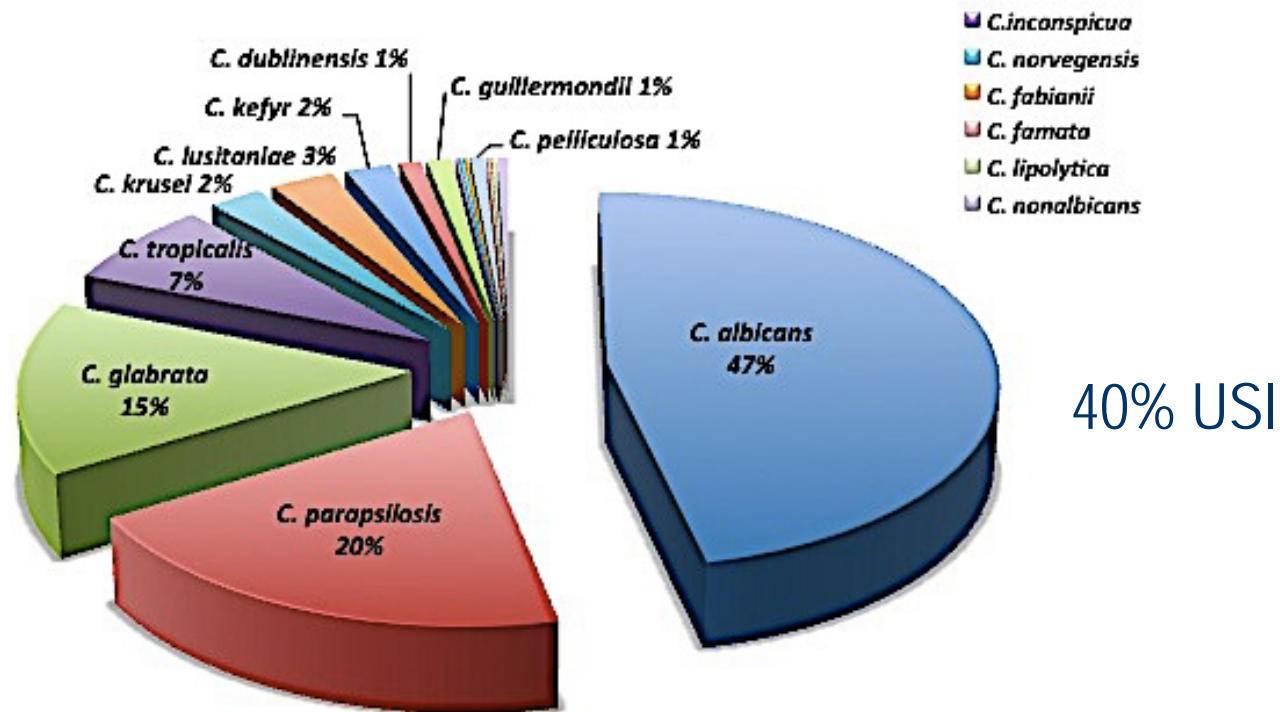
Recherche de marqueurs précoces de l'infection

Sérum

- Mannanes/ AC anti-Mannanes
- β -D-glucane
→ traitement pré-emptif ?

Candidémies CHU Bordeaux 2005-2012

607 candidémies

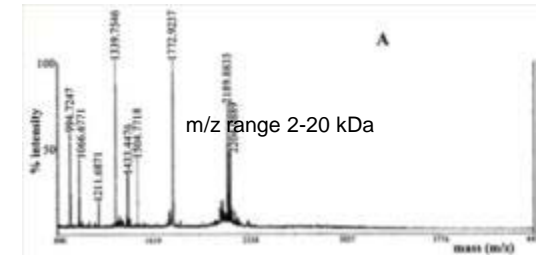
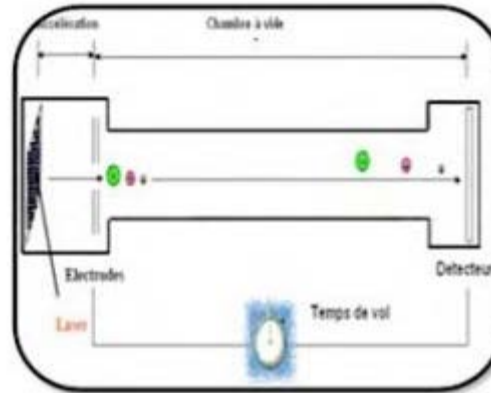
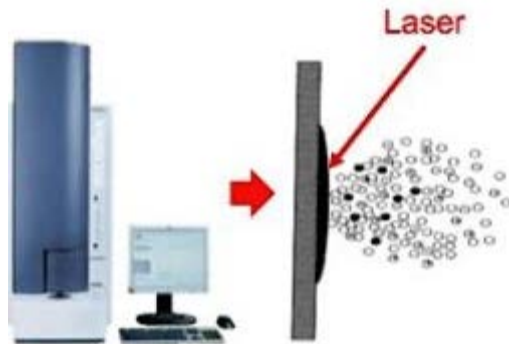


- proportion des *Candida non albicans*
 - USI FDR : chir gastrointestinale récente, exposition récente ATF systémiques, exposition récente au fluconazole pour espèces résistantes
- Emergence d'espèces rares
- Autres levures : *Trichosporon spp*, *Geotrichum spp*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Saccharomyces spp*, *Cryptococcus neoformans*, *Malassezia spp* ...

Playford EG et al., Crit Care Med 2008
Arendrup MC et al., CMI 2013

Spectrométrie de masse

La Désorption Ionisation Laser Assistée par Matrice : le MALDI-TOF



- Validé pour l'identification des levures : ID simple précise au niveau de l'espèce en 5 minutes !
- Identification directe à partir du flacon d'hémoculture

- Performance > ID conventionnelle
 - Discrimination complexe espèces
 - C. parapsilosis* / *C. orthopsilosis* / *C. metapsilosis*
 - C. glabrata* / *C. bracarensis* / *C. nivariensis*
 - C. norvegensis* / *C. inconspicua*
 - ID espèces rares émergentes
 - C. palmioleophila* CMI FCZ 8 à 16 g/mL

1ère ligne traitement : Candines ou Fluconazole

Spectre des antifongiques *in vitro*

Espèces	AMB	CAS ¹	Fluco	Vori ²
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+
<i>C. tropicalis</i>	AMB +/- : <i>C. lusitaniae</i> <i>C. ciferrii</i> Fluco +/- : <i>C. guilliermondii</i> , <i>C. inconspicua</i> , <i>C. norvegensis</i> , <i>C. magnolae</i> , <i>C. lipolytica</i> , <i>C. palmiophila</i> , <i>C. rugosa</i> CAS +/- : <i>C. orthopsilosis</i> , <i>C. metapsilosis</i> , <i>C. guilliermondii</i>			
<i>C. parapsilosis</i>				
<i>C. glabrata</i>				
<i>C. krusei</i>				
<i>C. kefyr</i>				
<i>Trichosporon/G</i> <i>eotrichum</i>				
biofilms				

1 Spectre de sensibilité similaire pour toutes les échinocandines

2 Spectre de sensibilité posocanazole = voriconazole mais pas de formulation IV

3 Espèces avec CMI en échinocandines intrinsèquement plus élevées

Résistance acquises rares mais ...

Résistance aux azolés

Cible = CYP51 codée par gène *ERG11*

Surexpression cible, mutation ponctuelle gène *ERG11*, Transport d'efflux (*MDR*, *CDR*)

256 882 *Candida* spp, 41 pays, 10 ans

CMI Fluco \geq 16 mg/L

2% *C. albicans*, 3,9% *C. dublinensis*

6,8% *C. parasilosis*, 9% *C. tropicalis*

2 centres anti-cancéreux, 243 *Candida* spp candidémies, USA

19% (45/243) CMI Fluco \geq 16 mg/L

36% cas résistance acquise

C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis

Résistance aux candines

Cible = paroi, β -(1-3) glucane synthase

mutations HS FKS1 (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*) FKS1/FKS2 (*C. glabrata*)

1,8% Pts (12/649) CI sous traitement

Espèces

5 *C. glabrata*

2 *C. tropicalis*

5 *C. parapsilosis*

} mutations *FKS*

Durée TT MICA 5-165 j – moy. 33 j

669 *C. glabrata*, candidémies 2006-2010

162 R Fluco (CMI \geq 64 mg/L) dont 18

mutants *FKS* R candines (0 entre 2001-04)

ID espèce pas suffisante pour choix traitement

Pourquoi tester *in vitro* la sensibilité aux ATF ?

- Détecter les résistances : ATF actif / ATF non actif
 - Résistance intrinsèque (naturelle)
 - Certaines espèces sont moins sensible à un ATF donné
 - Caractère d'espèce
 - ➔ isolats non identifiés ou difficiles à identifier
 - Résistance acquise (secondaire)
 - Une souche appartenant à une espèce sensible devient résistante, avant ou pendant le traitement ATF
 - Caractère de souche
 - ➔ non prédite par l'identification de l'espèce

Comment ? détermination CMI mg/L

Méthodes de référence

Méthode de micro dilution en milieu liquide

- CLSI (Clinical Institute)
- EUCAST (European Antimicro

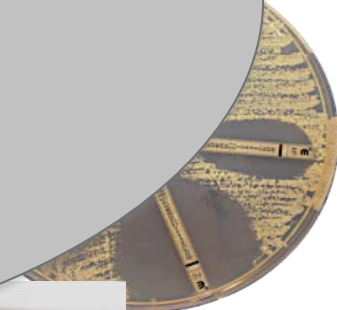
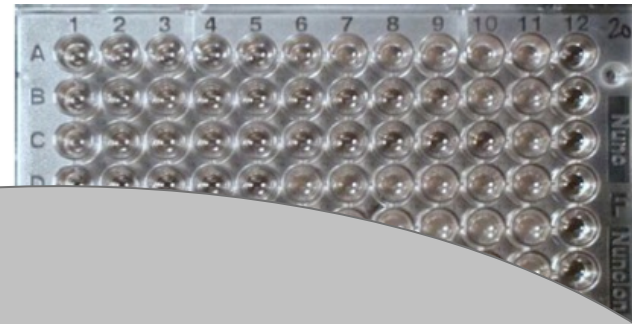
Définition des valeurs seuils critiques d'interprétation clinique ou Breakpoints (BPs)

Catégorisation : S, S-DD ou I, R

S-DD = succès thérapeutique imprévisible
Concentration élevée de l'ATF au site infection
ou utilisation dose plus élevée d'ATF

Méthodes «validées», e

- Etest[®] bioMérieux
Yeastone[®] Trek Diagnostic
systems, Vitek[®] 2 bioMérieux



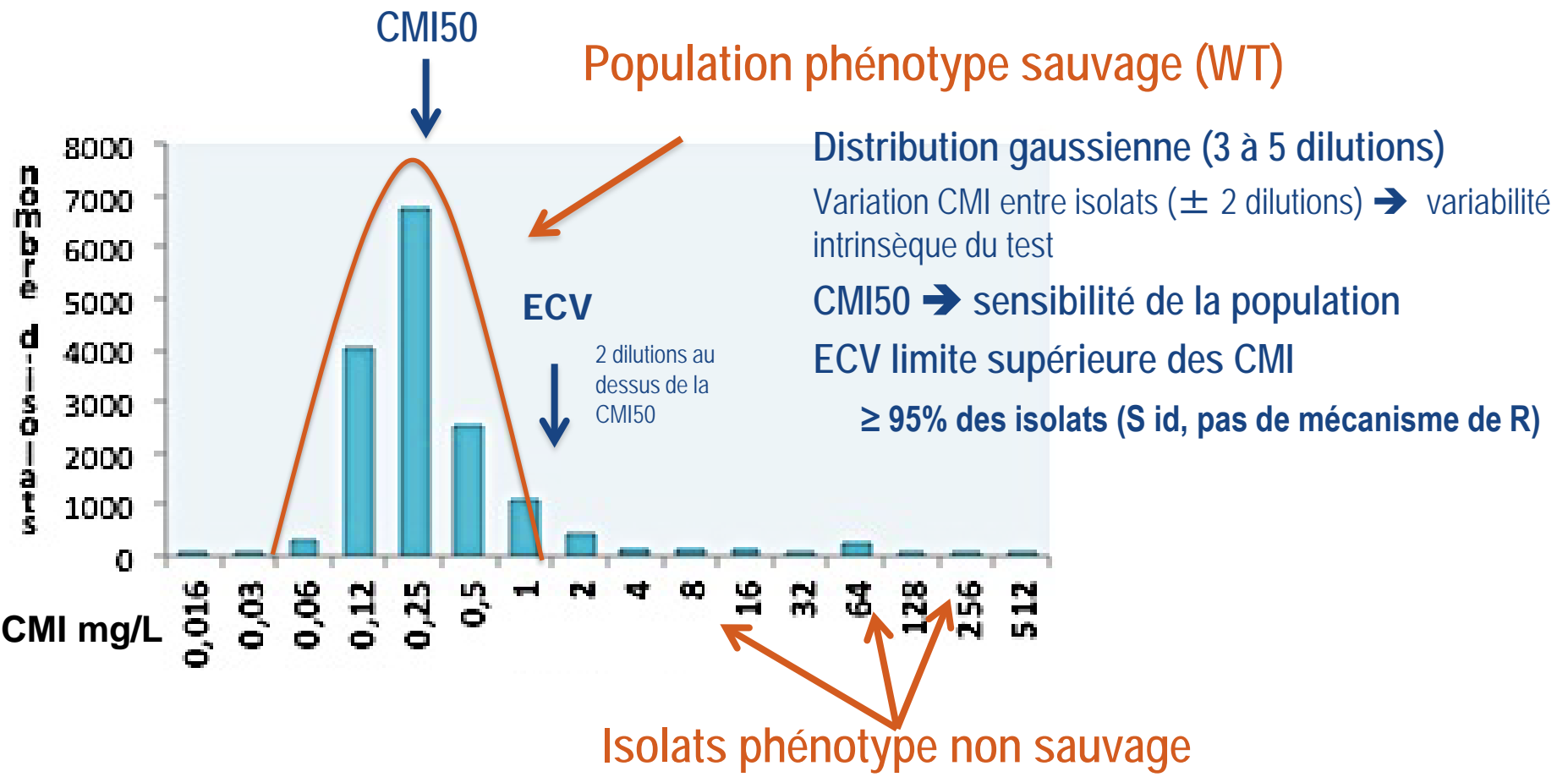
Procédures pour établir les BPs

	CLSI	EUCAST
Distribution des CMI	<p>% cumulé 13338 <i>Candida spp</i> (CI) , 91% CMI FCZ \leq 8 mg/L 5346 <i>Candida spp</i> , 99,9% CMI CAS \leq 2 mg/L,</p>	<p>Plusieurs séries de données valeur seuil épidémiologique (ECV) par espèce</p>
PK/PD	<p>modèles animaux, chez l'homme FLUCO : AUC/CMI = 25 (dose/CMI) Candines : Cmax/CMI et AUC/CMI</p>	<p>simulation de Montecarlo Cmax/CMI, AUC/CMI</p>
Relation CMI et évolution clinique	<p>Règle des « 90- 60 » 90% PTS infectés avec isolats S répondent 60% PTS infectés avec isolats R répondent Peu de souches avec CMI élevées</p>	<p>« Data mining » (arbre décisionnel, régression linéaire, algorithmes Naïves Bayes)</p> <p>Par espèce (bonne cible pour l'ATF) Pour souches « phénotype sauvage et non sauvage »</p> <p>BP jamais plus élevé que ECV sauf si données cliniques (<i>Candida</i> et <i>Fluco</i>)</p>



Rex JH *et al.*, CID 1997
 Rex JH et Pfaller MA CID 2002
 Pfaller MA *et al.*, JCM 2006 et 2008

Distribution CMI Fluconazole / *C. albicans*



Arendrup MC *et al.*, AAC 2009 et 2010
 Turnidge *et al.*, CMI 2006
 Turnidge et Pterson Clin Microbiol Rev 2007

Résistance microbiologique (pas due à variation du test)
Mécanismes de résistance

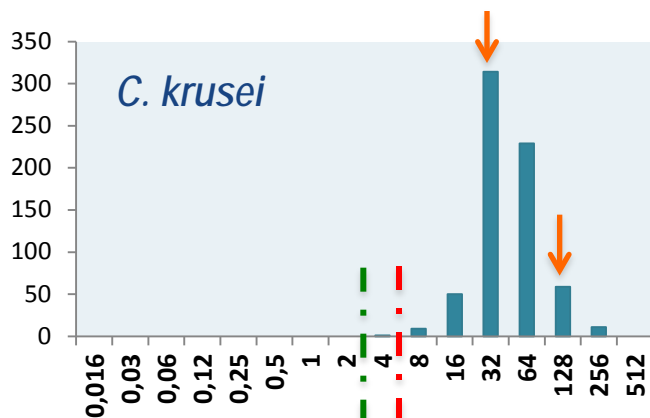
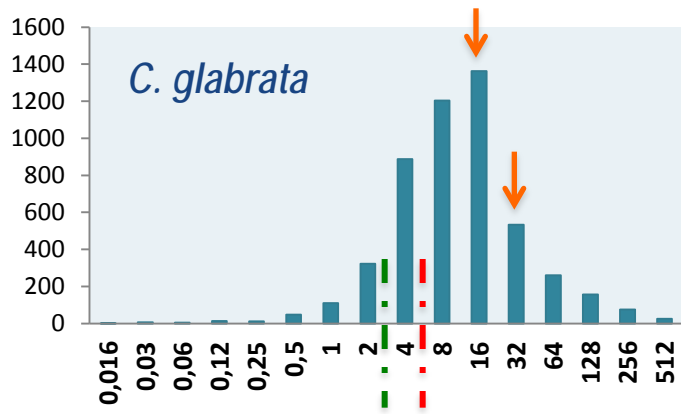
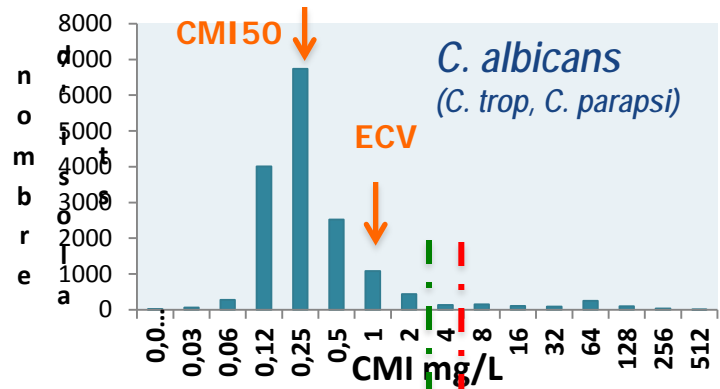


Nouveaux BPs adaptés à l'espèce

ATF	CLSI M27-S3 Anciens BPs	CLSI M27-S4	EUCAST (EDEF 7.2)	S ≤ ; R >
AMB	≤ 1 ; > 1	ECV = 2	≤ 1 ; > 1	
FLUCO	≤ 8 ; ≥ 64 <i>Candida spp</i>	≤ 2 ; > 4 ≤ 0,002 ; > 32 mauvaise cible	≤ 2 ; > 4 ≤ 0,002 ; > 32 mauvaise cible	<i>C.albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. krusei</i>
VORI	≤ 1 ; ≥ 4 <i>Candida spp</i>	≤ 0,125 ; > 0,5 ECV = 0,5 ≤ 0,5 ; > 1	≤ 0,125 ; > 0,125	<i>C.albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. krusei</i>
ITRA	≤ 0,125 ; ≥ 1 <i>Candida spp</i>	≤ 0,125 ; > 0,5	≤ 0,06 ; > 0,006 ≤ 0,125 ; > 0,125 IE	<i>C. albicans, C. dublinensis</i> <i>C. tropicalis, C. parapsilosis, C. lusitaniae</i> <i>C. glabrata, C. krusei</i>
POSA			≤ 0,06 ; > 0,006 IE	<i>C.albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis</i> <i>C. glabrata, C. krusei</i>

Application possible des ECVs pour les espèces sans BPs établis pour détecter les isolats de sensibilité diminuée à l'ATF testé (phénotype non sauvage) (Ex Fluco : *C. lusitaniae* et *C. kefyr* ≤ 1 et ≥ 2 g/ml ; *C. guilliermondii* ≤ 8 et ≥ 16 g/ml)

Pourquoi BPs adaptés à l'espèce EX FLUCO



128 candidémies 58% C.alb, 133 Candidoses muqueuses

MIC (mg/liter)	All doses		All cases % réponse
	Candidemia	OPC	
≤0.5	91 (98/107)	100 (26/26)	93 (124/133)
1	100 (6/6)	100 (4/4)	100 (10/10)
2	100 (1/1)	100 (1/1)	100 (2/2)
4	100 (3/3)	69 (5/9)	66 (8/12)
8	40 (2/5)	26 (7/32)	24 (9/37)
≥16	75 (3/4)	2 (0/60)	4 (3/64)

EUCAST EDEF 7.1 : BPs *C.alb*, *C. trop*, *C. parapsilosis*

S ≤ 2 mg/L; // S-DD = 4 mg/L; R > 4 mg/L

FLUCO : ECV vs BPs

- *C. krusei* mauvaise cible
- *C. glabrata* BPs divisent la population WT
 - S ≤ 32 mg/L ?? pas de données cliniques
 - → S-DD 0,002-32 mg/L

Nouveaux BPs adaptés à l'espèce

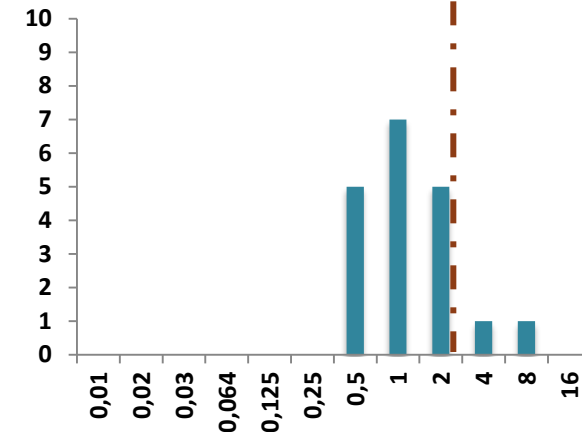
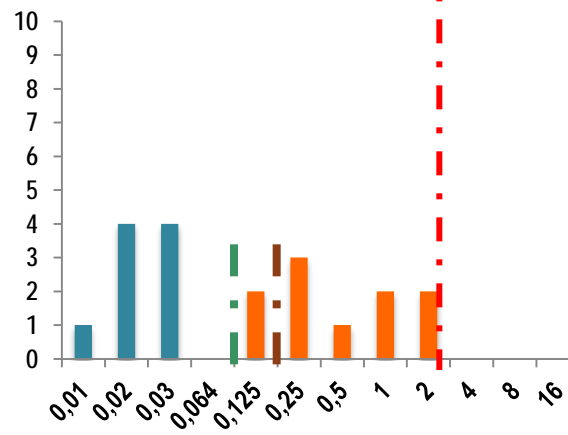
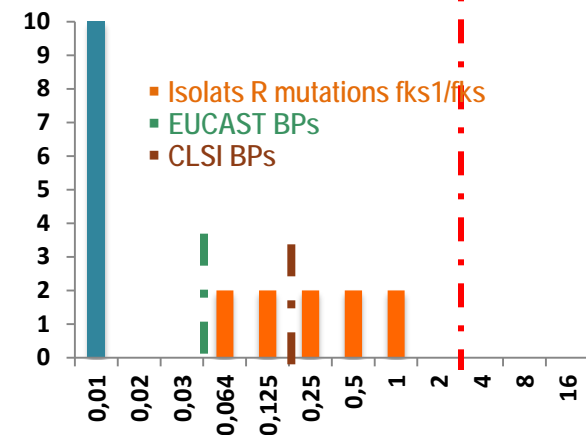
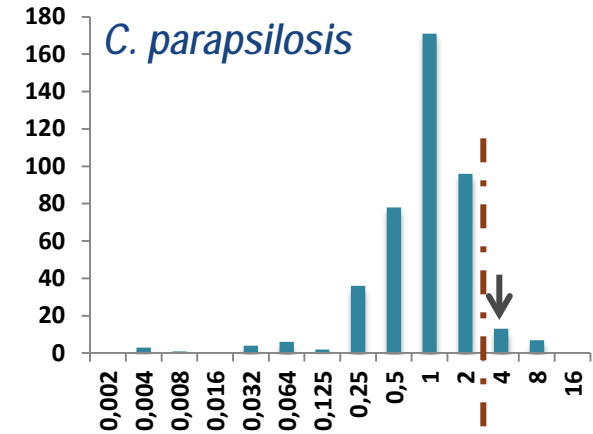
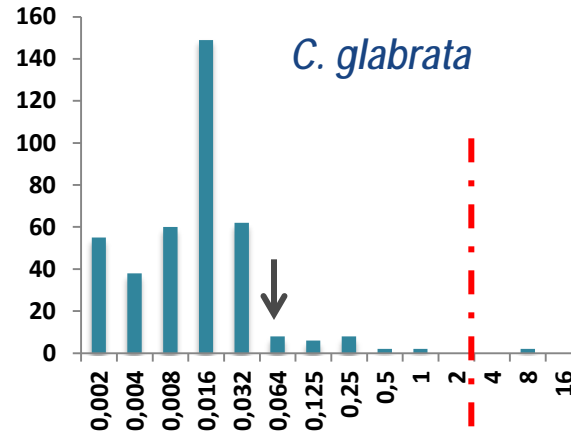
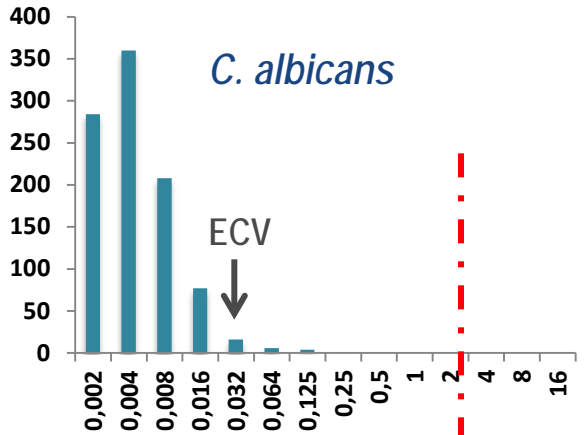
ATF	CLSI M27-S3 Anciens BPs	CLSI M27-S4	EUCAST (EDEF 7.2)	S ≤ ; R >
ANI	≤ 2 ; > 2 (NS) <i>Candida spp</i>	≤ 0,25 ; > 0,5 ≤ 0,125 ; > 0,25 ≤ 0,25 ; > 0,5 ≤ 2 ; > 4	≤ 0,03 ; > 0,03 ≤ 0,06 ; > 0,06 ≤ 0,06 ; > 0,06 ≤ 0,002 ; > 4	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i> , <i>C. krusei</i> <i>C. parapsilosis</i>
MICA	≤ 2 ; > 2 (NS) <i>Candida spp</i>	≤ 0,25 ; > 0,5 ≤ 0,06 ; > 0,125 ≤ 0,25 ; > 0,5 ≤ 2 ; > 4	≤ 0,016 ; > 0,016 ≤ 0,03 ; > 0,03 ≤ 0,03 ; > 0,03	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i> , <i>C. krusei</i> <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. guilliermondii</i>
CAS	≤ 2 ; > 2 (NS) <i>Candida spp</i>	≤ 0,25 ; > 0,5 ≤ 0,12 ; > 0,25	Pas de BPs	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>

Interlaboratory Variability of Caspofungin MICs for *Candida* spp. Using CLSI and EUCAST Methods: Should the Clinical Laboratory Be Testing This Agent? Catégorisation de souches S en I voire R (*C. glabrata* et *C. krusei*)

Pourquoi BPs adaptés à l'espèce

Candines, Ex Anidulafungine

Arendrup MC *et al.*, AAC 2010
 Reboli AC *et al.*, NEJM 2007
www.eucast.org



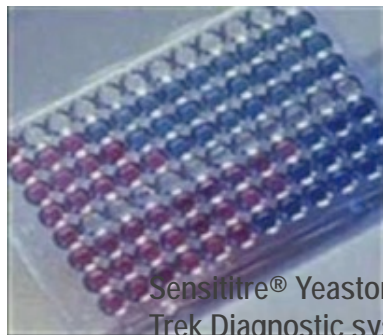
EUCAST → BPs = ECV *C. albicans* *C. glabrata*

→ *C. parapsilosis* S-DD 0,002-2 mg/L

ANF/ REBOLI : Succès clinique 64% *C. parapsilosis* vs 81% *C. albicans*



Méthodes commerciales «validées»



Sensititre® Yeastone®
Trek Diagnostic systems



E-test® bioMérieux



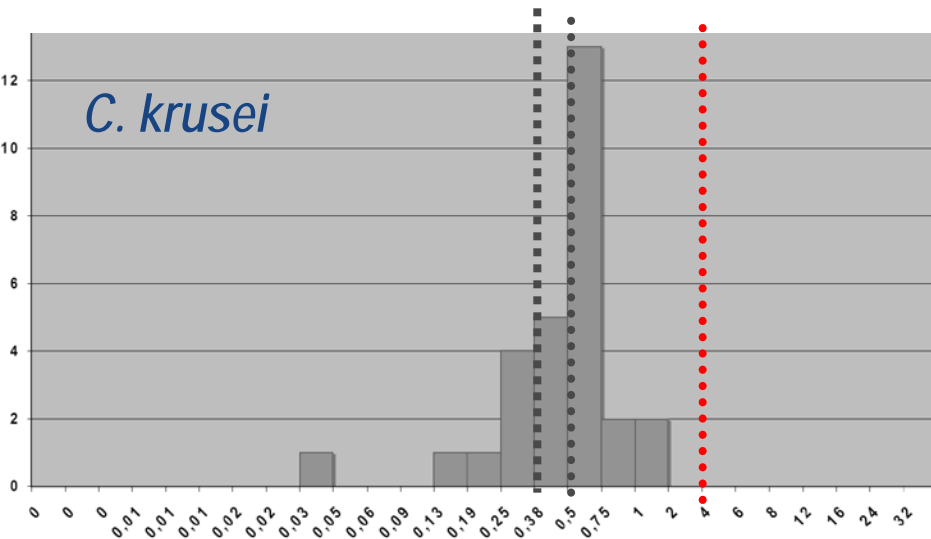
Vitek®2 bioMérieux

Les plus largement utilisées en routine

- **Corrélation avec méthodes de référence** (distribution des CMI en miroir)
 - Choix approprié des BPs
- **Détection des isolats R et pas de mauvaise catégorisation des isolats S en R** → impact patient
- **Reproductibilité intra et inter laboratoires (CQ, CMI50)**

Pfaller MA *et al.*, JCM 2014 et 2008 ; Pfaller MA *et al.*, Diagn Microbiol Infect Dis 2012 et 2013 ; Ranque S *et al.*, JCM 2012 ; Peterson JF *et al.*, JCM 2011 ; Cuenca-estrella M *et al.*, JCM 2010 ; Dannaoui E *et al.*, CMI 2010 ; Posteraro B *et al.*, JCM 2009

Etude observationnelle multicentrique EPICANDI, 8 CHU 1329 *Candida spp*



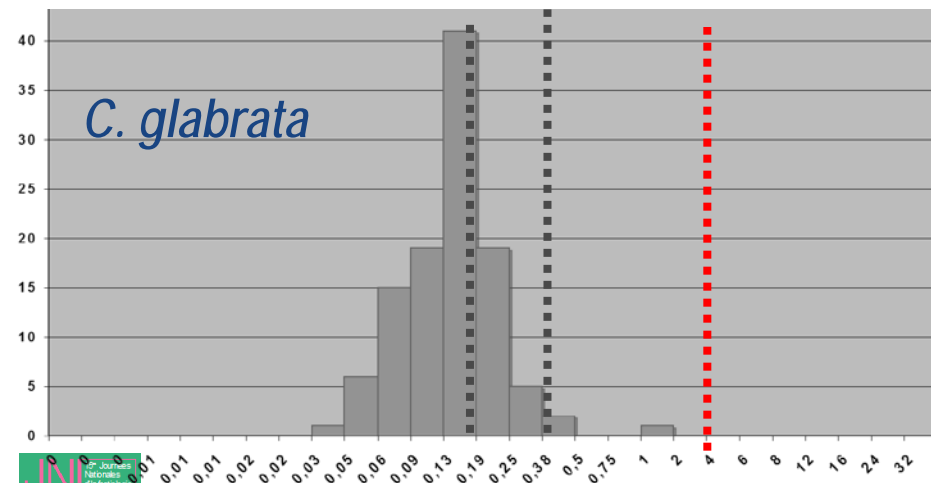
**Etest CMI CAS, 831 *Candida spp*
Application des nvx BPS CLSI**

C. krusei (n=29)

24% CMI \leq 0,25 mg/L

17 isolats CMI $>$ 0,5 mg/L

0 isolat CMI $>$ 2 mg/L



C. glabrata (n=112)

75% CMI \leq 0,125 mg/L

2 isolats CMI $>$ 0,25 mg/L

0 isolat CMI $>$ 2 mg/L

**Etest : nouveaux BPs de S divisent
la courbe de distribution des CMI's !**

CMI's candines et méthodes commerciales

- **Etest** Arendrup MC and Pfaller MA, AAC 2012 → 497 isolats candidémies,
EUCAST ANI «gold standard»: 496 S et 1 R (séquençage gènes *FKS*)
Etest CAS Catégorisation 13,1% isolats S comme I (73,1% *C. krusei*, 31,6% *C. glabrata*) ou R (1,5% *C. glabrata*, 0,4% *C. albicans*)

Etest CAS avec seuil sensibilité $\leq 0,5$ mg/L ou Etest ANI avec BPs EUCAST pour sensibilité aux candines

- **Sensititre** Eschenauer *et al.*, AAC 2014 → 2005-13, 2897 isolats candidémies

20% *C. glabrata* et 40% *C. krusei* ANI S ou MICA S / CAS NS

→ signification clinique ?

certaines mutations fks confèrent des niveaux de résistance différents aux 3 candines corrélés avec réponse au traitement dans modèle souris

- **Vitek2** Astad KM *et al.*, AAC 2013 → 98 *Candida spp* / 31 mutants *fks* HS

Uniquement CAS et gamme de dilution tronquée $\leq 0,25$ - > 4 mg/L !

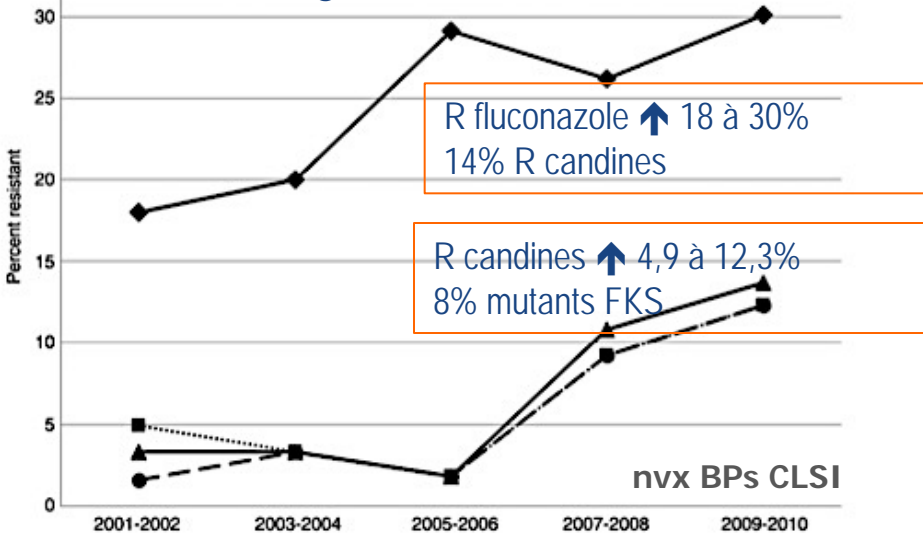
Pour *C. glabrata* au dessus du BP de S ($\leq 0,12$) CLSI !

Pas de \neq des isolats S des isolats I - 19,4% mutants *FKS* → S

When is antifungal susceptibility testing recommended for patient management and when for epidemiological reasons?

Isolated from	FOR patient management	FOR epidemiology
Blood and other deep sites	<p>All isolates and particularly:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Strains from patients exposed to antifungal agents 2. Clinical failures 3. Rare and emerging species 4. Species that are known to be resistant or less susceptible to antifungal drug(s) in clinical use 	<ul style="list-style-type: none"> • All isolates should be tested using a reference method
Superficial sites	<ul style="list-style-type: none"> • Failed to respond or relapsing infection • Surveillance cultures from patients exposed to antifungal agents 	<ul style="list-style-type: none"> • Periodical epidemiological studies should be done

313 isolats *C. glabrata* Candidémies



80% patients infectés avec mutant *FKS*
→ CMI I ou R et échec thérapeutique ou récurrence infection

Alexander BD *et al.*, CID 2013

Facteurs prédictifs échec thérapeutique

- Infection mutant *FKS* (pas de caractérisation moléculaire en routine)
- Pré-exposition aux candines



⇒ ID rapide au niveau de espèce

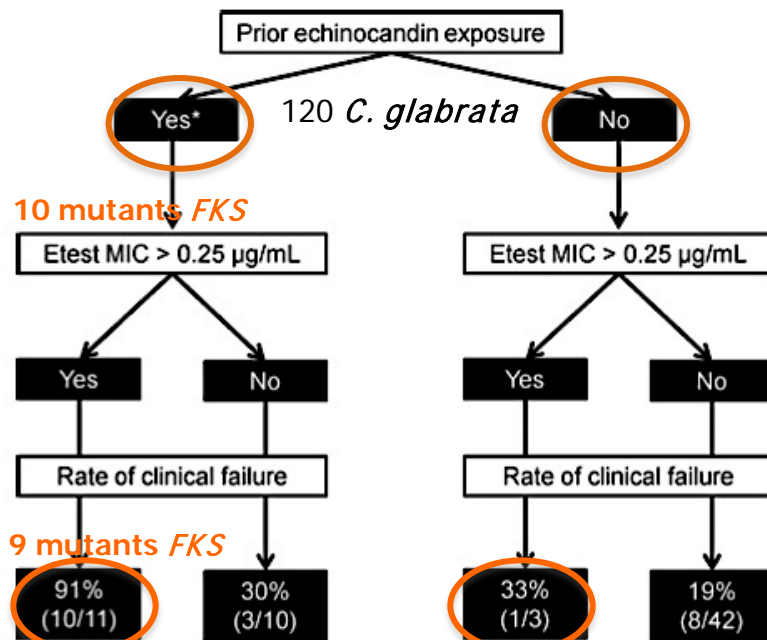
⇒ **Faire CMI**

Exposition préalable ATF

Durée pré-exposition ?? (7-184 j)

Pas pré-exposition, R rare et **règle**

« **90-60** » (60% isolats R *in vitro* répondent au TT)



Conclusion

- **Documentation infection, sensibilité in vitro aux ATF**
 - **Intérêt +++ connaître épidémiologie locale et épidémiologie de la résistance aux ATF**
 - Effort de standardisation des tests et établissement des ECVs et de nouveaux BPs
 - ⇒ meilleure utilité clinique
 - ⇒ outil plus sensible pour détection de émergence de résistance
 - Même si optimisation nécessaire ...
 - **Réflexion locale sur bon usage des ATF**

Conclusion

