

# Journée de l'Hôpital Claude Bernard

## Actualités en Infectiologie



Epidémiologie de la résistance des champignons: impact de nos prescriptions d'antifongiques

**Stéphane Bretagne**

Hôpital St Louis

Université Paris Diderot

CNR Mycoses Invasives & Antifongiques, Institut Pasteur

56<sup>ème</sup> Journée de l'hôpital Claude Bernard, 14 novembre 2013

# ODL



Les fongémies à levures : données de  
l'Observatoire des Levures  
(Ile-de-France, 2002-2010)

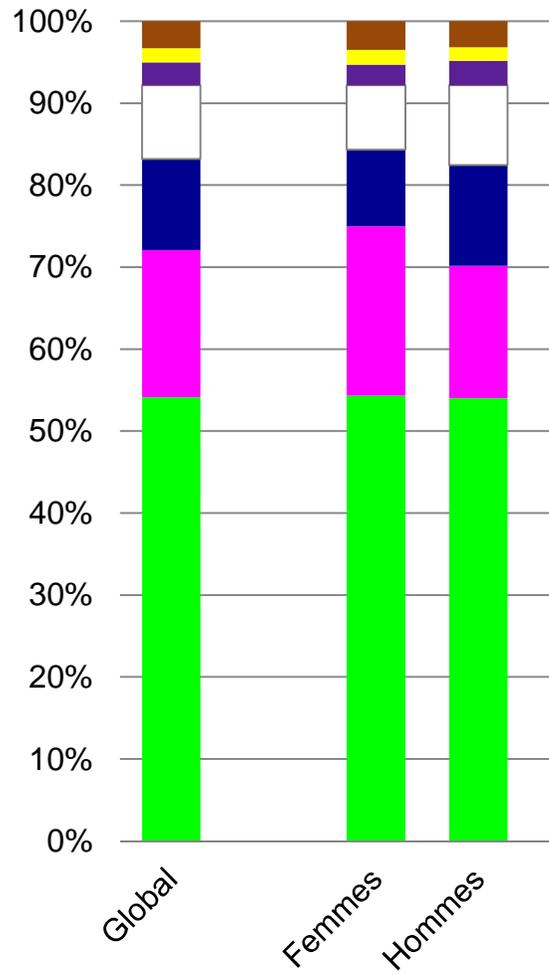


# Population

- 3870 isolats, 3552 patients
  - 95% *Candida* spp. dont 95% d'espèces communes
  - 5% d'espèces non *Candida*
- Espèces fréquentes ou non-rares (>1.5%)
- Espèces rares



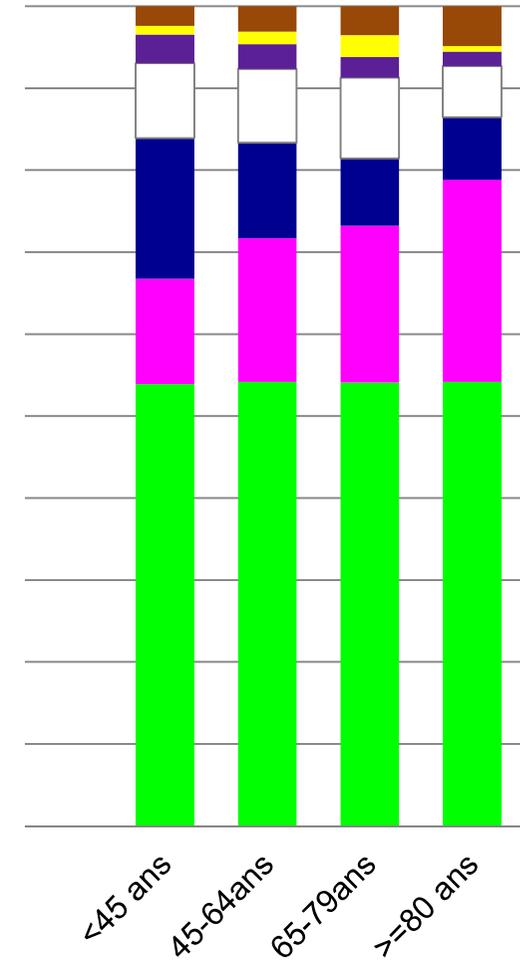
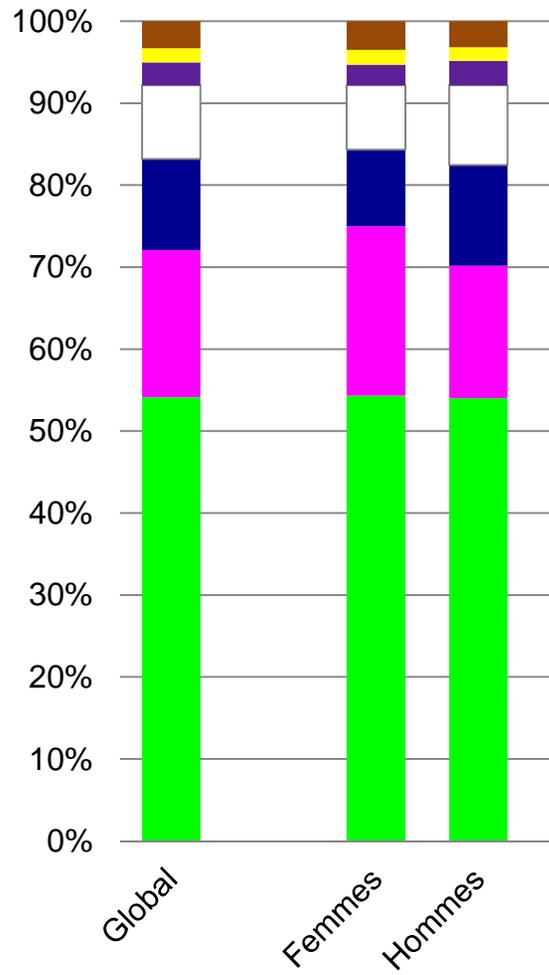
# Distribution des espèces non rares



■ C. albicans ■ C. glabrata ■ C. parapsilosis □ C. tropicalis ■ C. krusei ■ C. kefyr ■ Infections mixtes



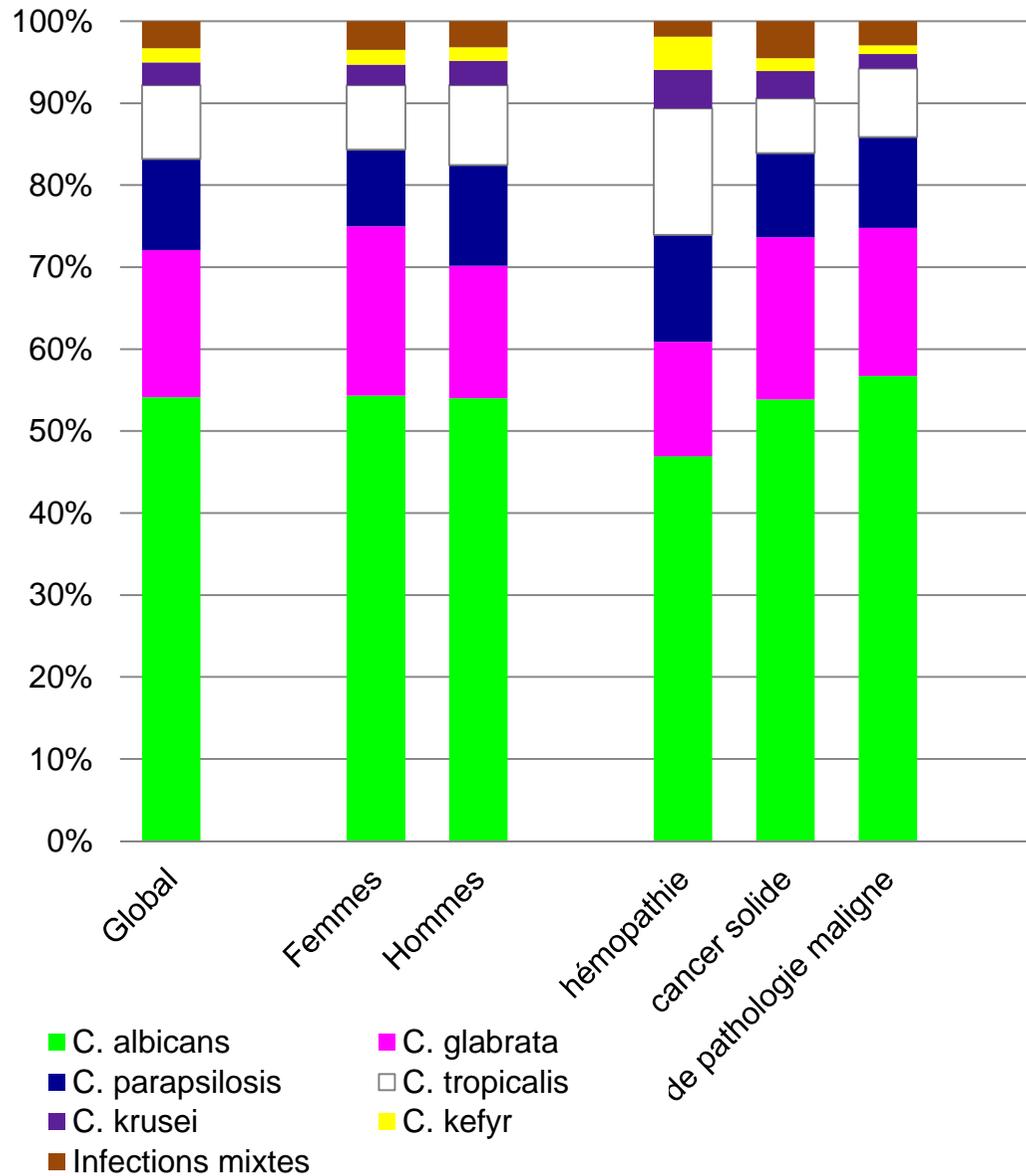
# Distribution des espèces non rares



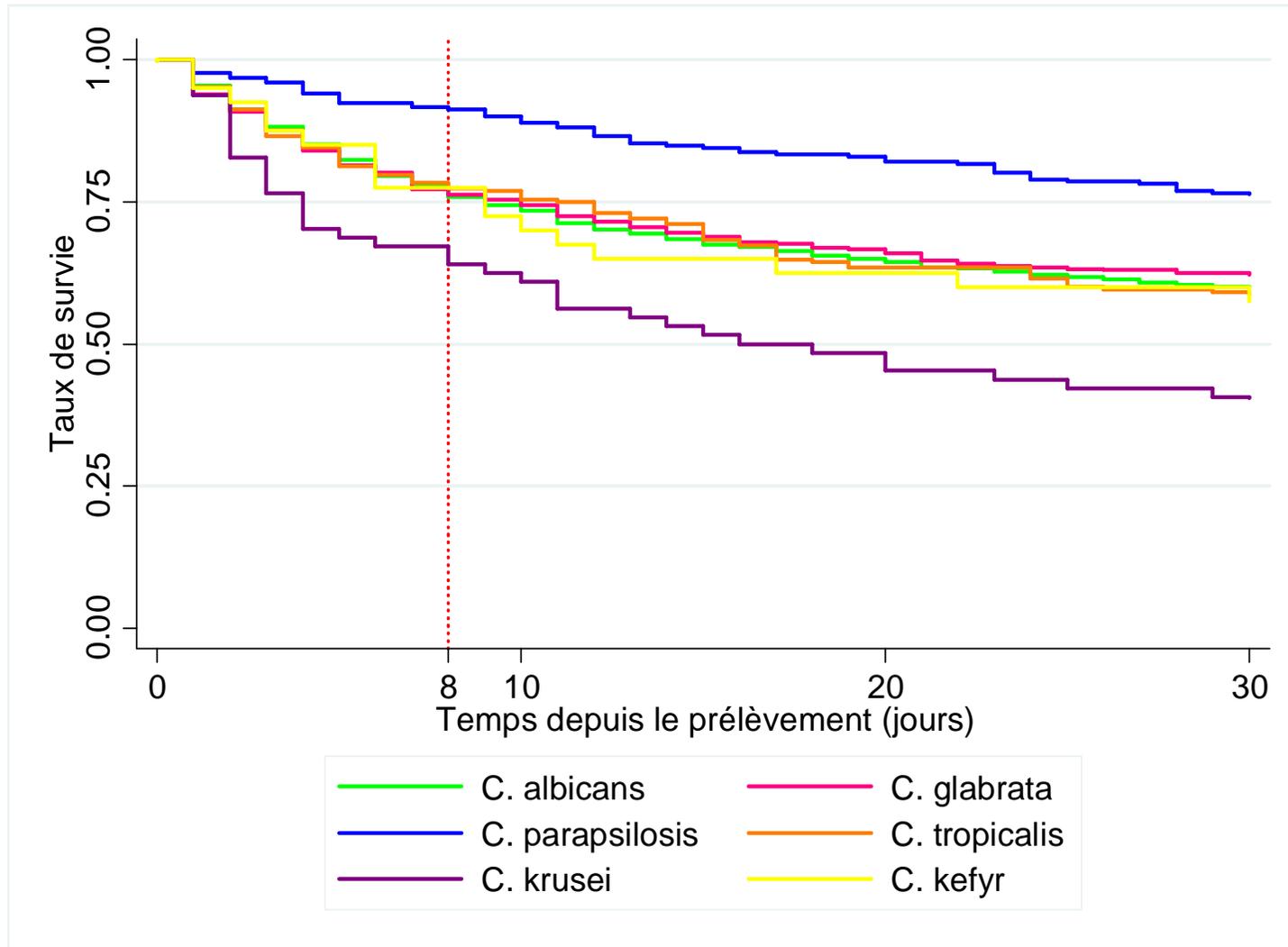
■ C. albicans ■ C. glabrata ■ C. parapsilosis □ C. tropicalis ■ C. krusei ■ C. kefyr ■ Infections mixtes



# Distribution des espèces non rares

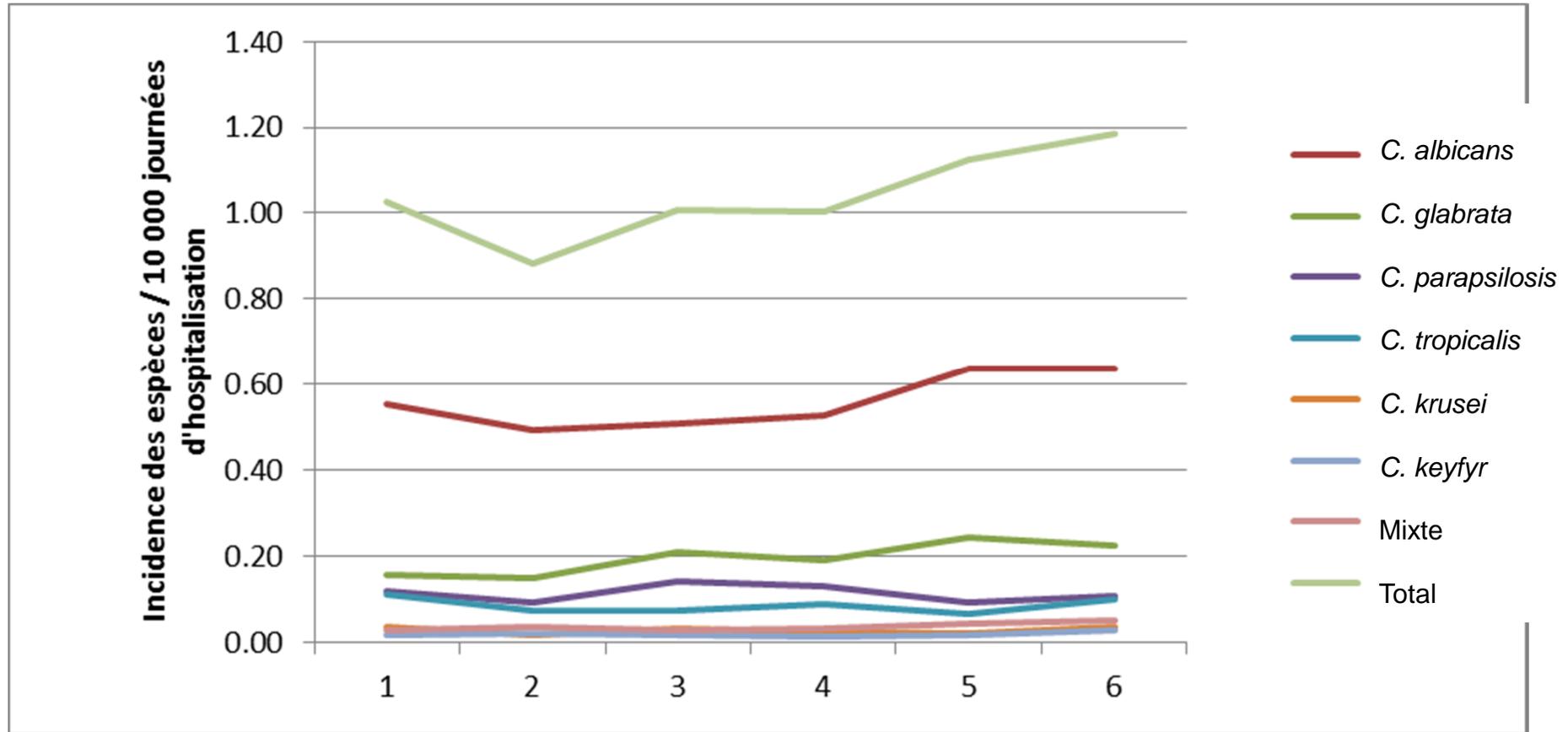


# Mortalité en fonction de l'espèce responsable de la fongémie



**LES TENDANCES ...**  
**années 2004-2009**

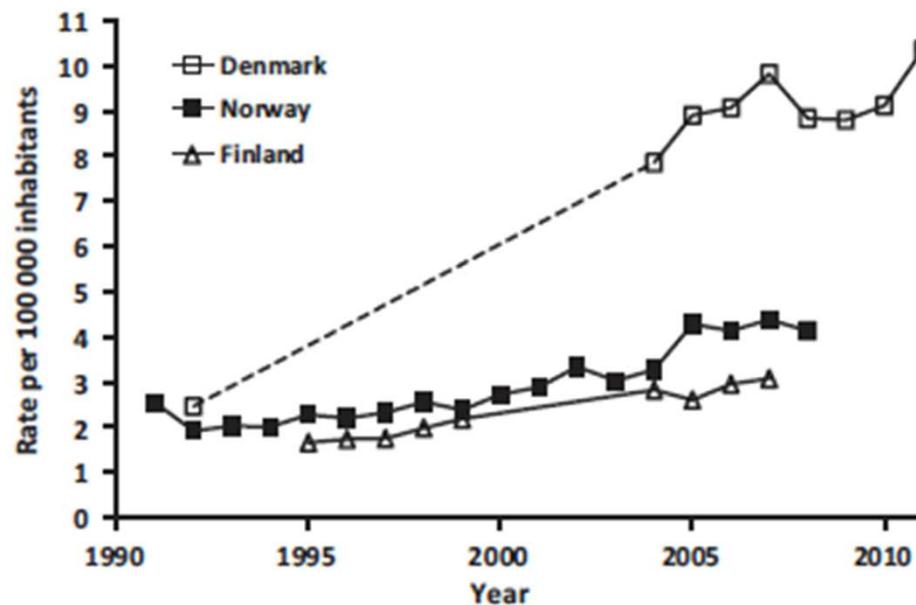
# Evolution de l'incidence par espèce *Candida* non-rares ODL 2004-2009



Augmentation globale de l'incidence ( $p < 0.001$ ) essentiellement due à *C. albicans* ( $p = 0.02$ ) et *C. glabrata* ( $p = 0.01$ ). Stabilité des autres espèces

## Epidemiological changes with potential implication for antifungal prescription recommendations for fungaemia: data from a nationwide fungaemia surveillance programme

M. C. Arendrup<sup>1</sup>, E. Dzajic<sup>2,3</sup>, R. H. Jensen<sup>1</sup>, H. K. Johansen<sup>4</sup>, P. Kjældgaard<sup>5</sup>, J. D. Knudsen<sup>6</sup>, L. Kristensen<sup>7</sup>, C. Leitz<sup>8</sup>, L. E. Lemming<sup>9</sup>, L. Nielsen<sup>10</sup>, B. Olesen<sup>11</sup>, F. S. Rosenvinge<sup>12</sup>, B. L. Røder<sup>13</sup> and H. C. Schönheyder<sup>14</sup>



**FIG. 1.** Incidence rate of unique fungal blood stream isolates per 100 000 inhabitants (1992–2011) compared with similar figures from

**TABLE 1.** Epidemiology and species distribution of fungaemia in Denmark in 2010 and 2011 compared with the previous 6-year period.

	2004-09 <sup>a</sup>	2010	2011	In total 2010-11
Fungal isolates (no.)	2901	505	576	1081
Episodes (no.)	2820	488	559	1047
Patients (no.)	2694	467	528	995
Median age (years (range and interquartile ages))	66 (0-98 and 55;74)	67 (0-96 and 55;75)	66 (0-105 and 57;75)	66 (0-105 and 56;75)
Gender (% males)	56.5	59.6	59.4	59.5
Episode rate per 100 000 inhabitants	8.6	8.8	10.1	9.4
Episode rate per 10 000 discharges	4.1	4.1	4.6	4.4
Species distribution				
<i>Candida albicans</i>	57.1%	52.9%	51.4%	52.1%
<i>Candida dubliniensis</i>	2.6%	1.8%	1.7%	1.8%
<i>Candida glabrata</i>	21.1%	26.9%	29.0%	28.0%
<i>Candida krusei</i>	4.1%	5.0%	4.7%	4.8%
<i>Candida parapsilosis</i>	3.7%	5.1%	3.3%	4.2%
<i>Candida tropicalis</i>	4.8%	4.0%	4.2%	4.1%
<i>Candida</i> species <sup>b</sup>	2.7%	2.4%	4.2%	3.3%
Non- <i>C. albicans</i> spp. not referred for ID <sup>c</sup>	2.4%	0.0%	0.0%	0.0%
Other fungi <sup>d</sup>	1.6%	2.0%	1.6%	1.8%

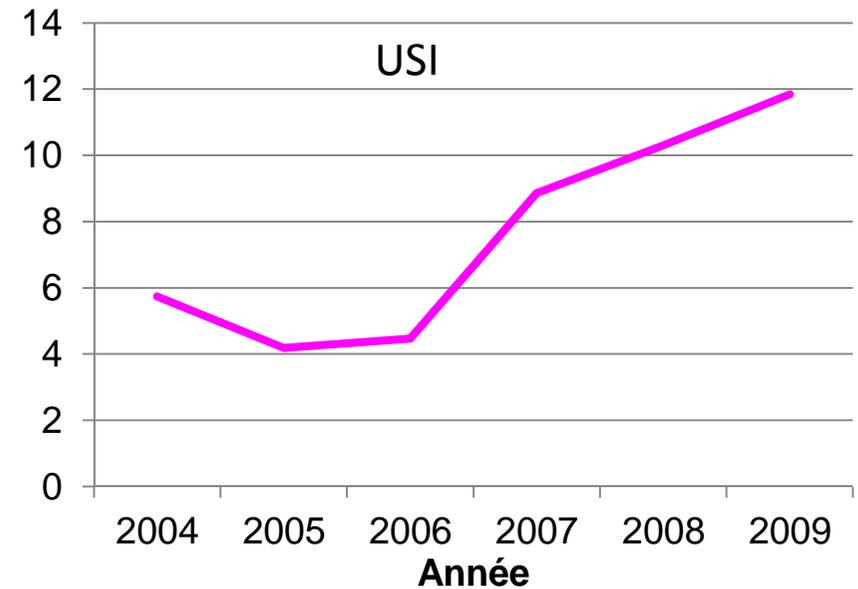
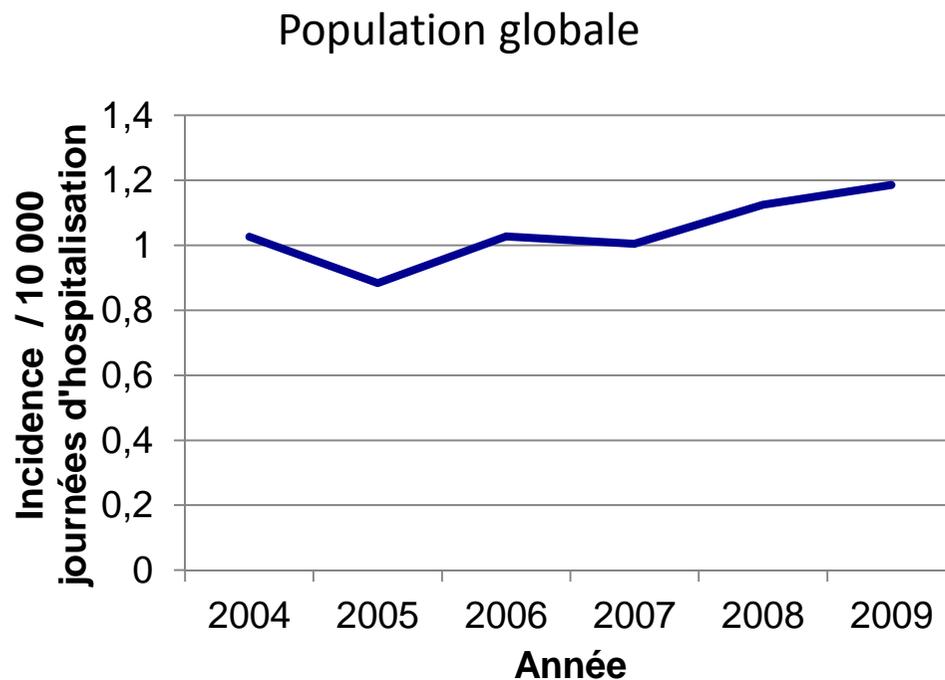
<sup>a</sup>Compiled from Arendrup et al. [1]

<sup>b</sup>*Candida* spp. includes the following species in 2010-11: *C. guilliermondii* 6, *C. inconspicua* 1, *C. kefyr* 6, *C. lambica* 1, *C. lusitanae* 11, *C. magnolia* 1, *C. norvegensis* 4, *C. orthopsilosis* 2, *C. palmioteophila* 2 and *C. pelliculosa* 2.

<sup>c</sup>Non-*albicans* denotes isolates that were not *C. albicans* but not referred to the mycology reference laboratory for species identification.

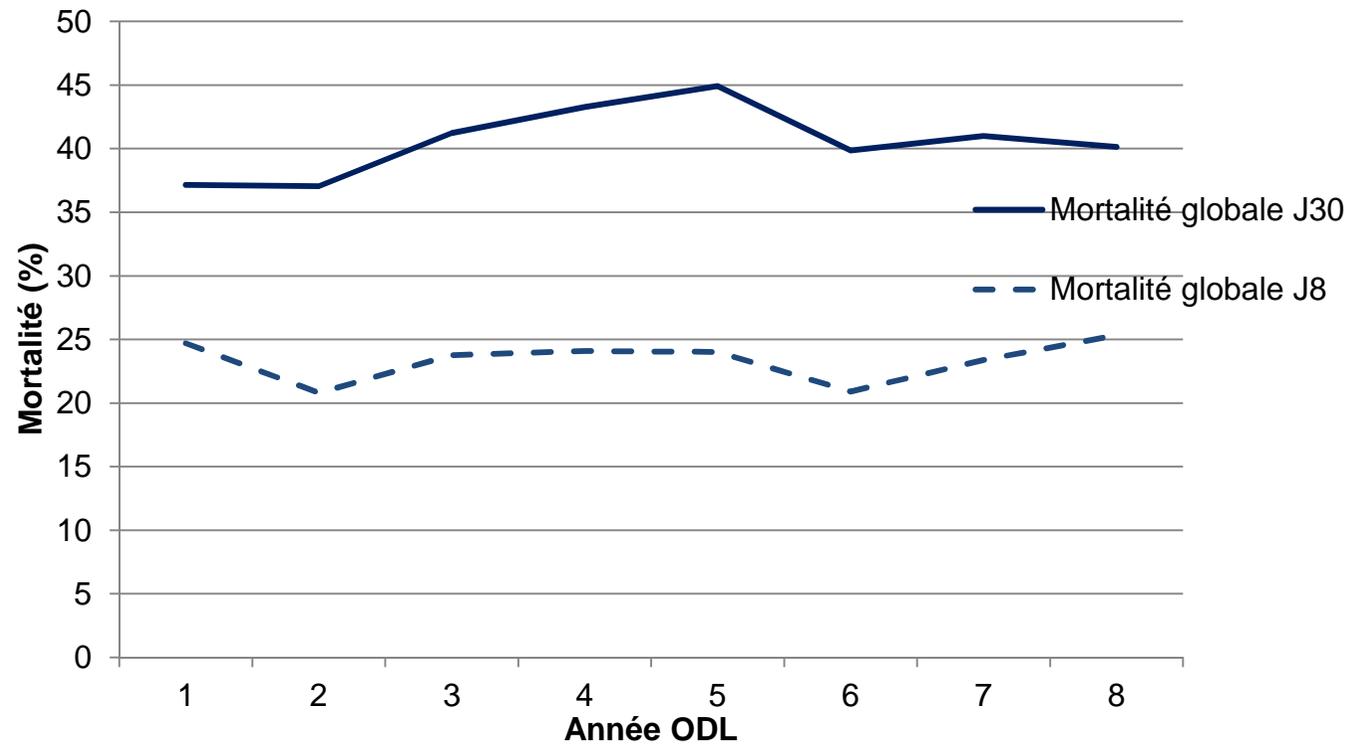
<sup>d</sup>Other fungi includes: *Cryptococcus neoformans* 4, *Fusarium oxysporum* 1, *Fusarium proliferatum* 2, *Fusarium solani* 2, *Fusarium* sp. 1, *Geotrichum candidum* 1, *Rhodotorula glutinis* 1, *Saccharomyces boulardii* 1 and *Saccharomyces cerevisiae* 6.

# Evolution de l'incidence *Candida* non-rares



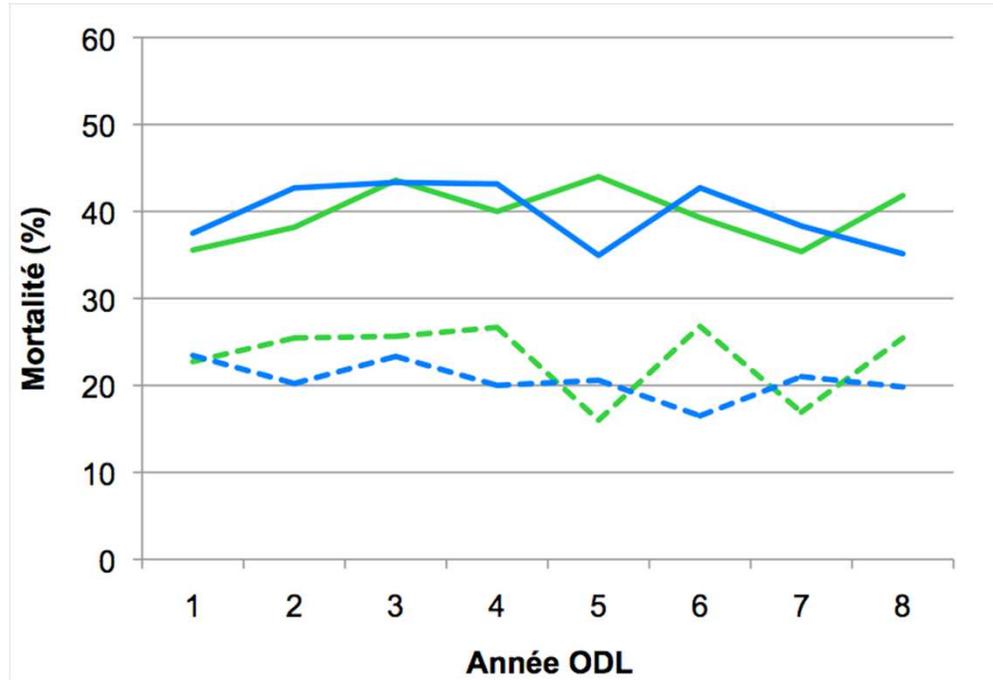
Augmentation sur la période  
Globale :  $p = 0.013$   
USI :  $p = 0.0001$

# Evolution de la mortalité

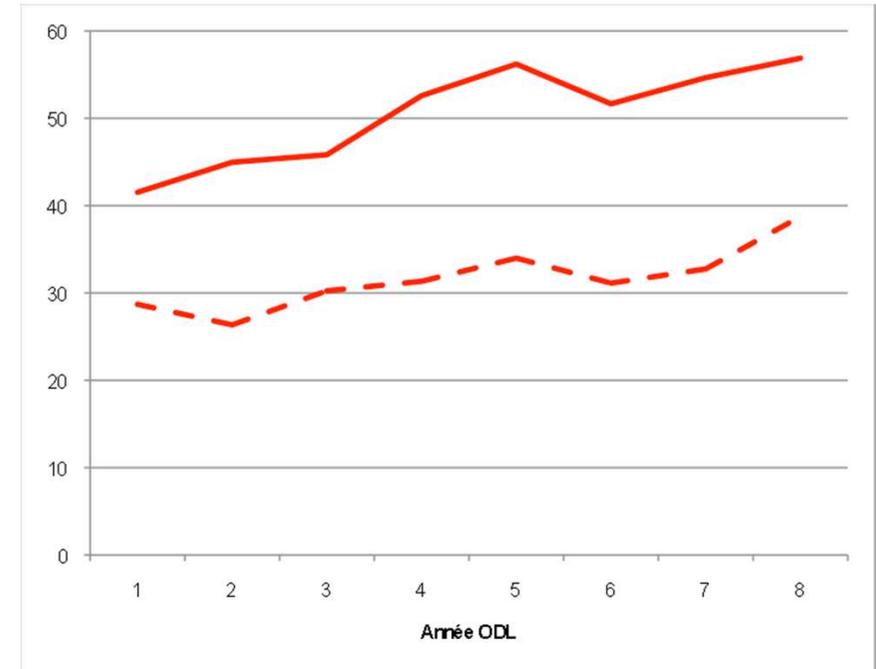


# Evolution de la mortalité – épisodes incidents / ODL

## Pathologies malignes



## USI



	Hémopathie	Cancer
J30	—	—
J8	- - -	- - -

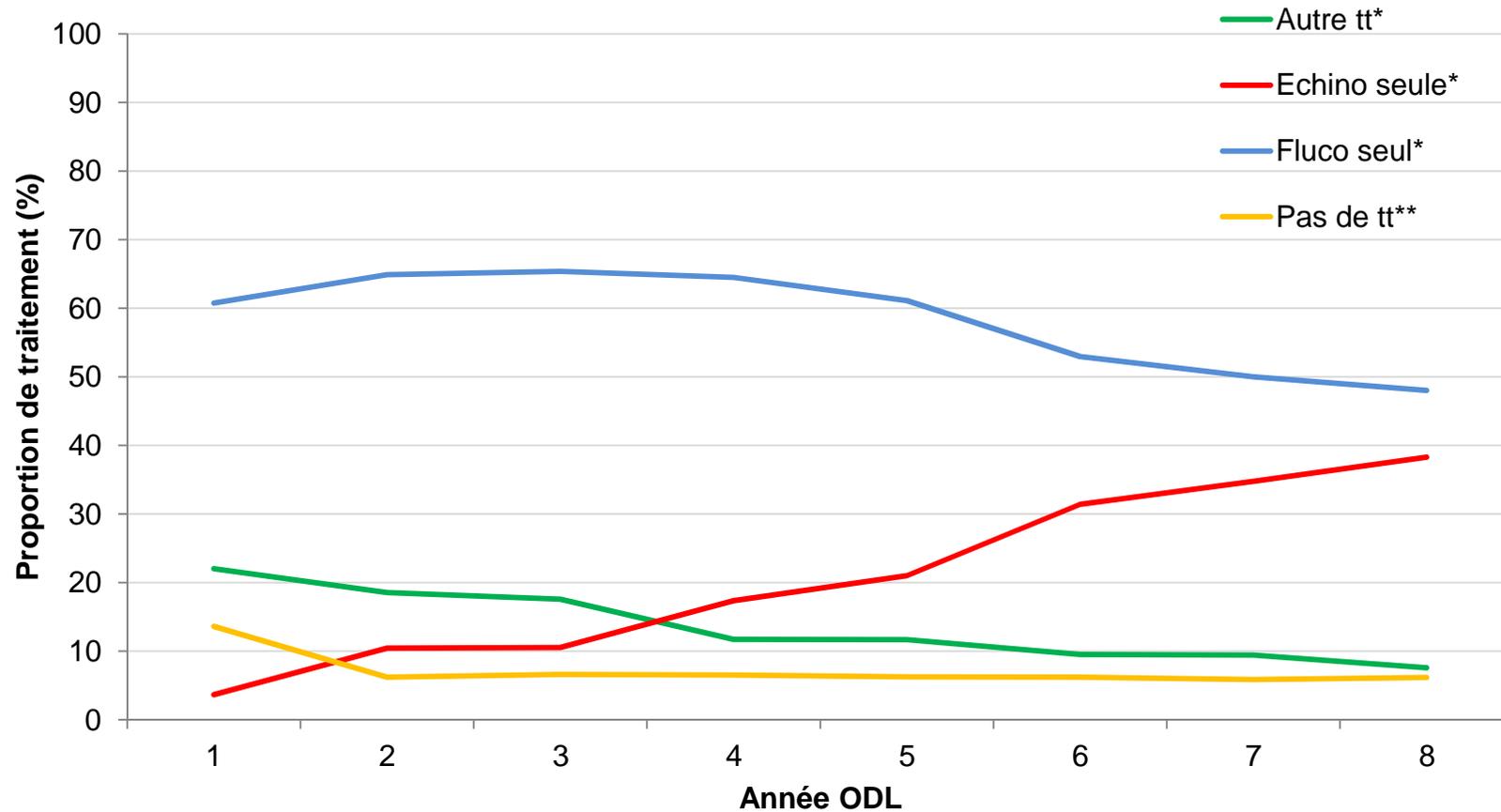
USI
—
- - -

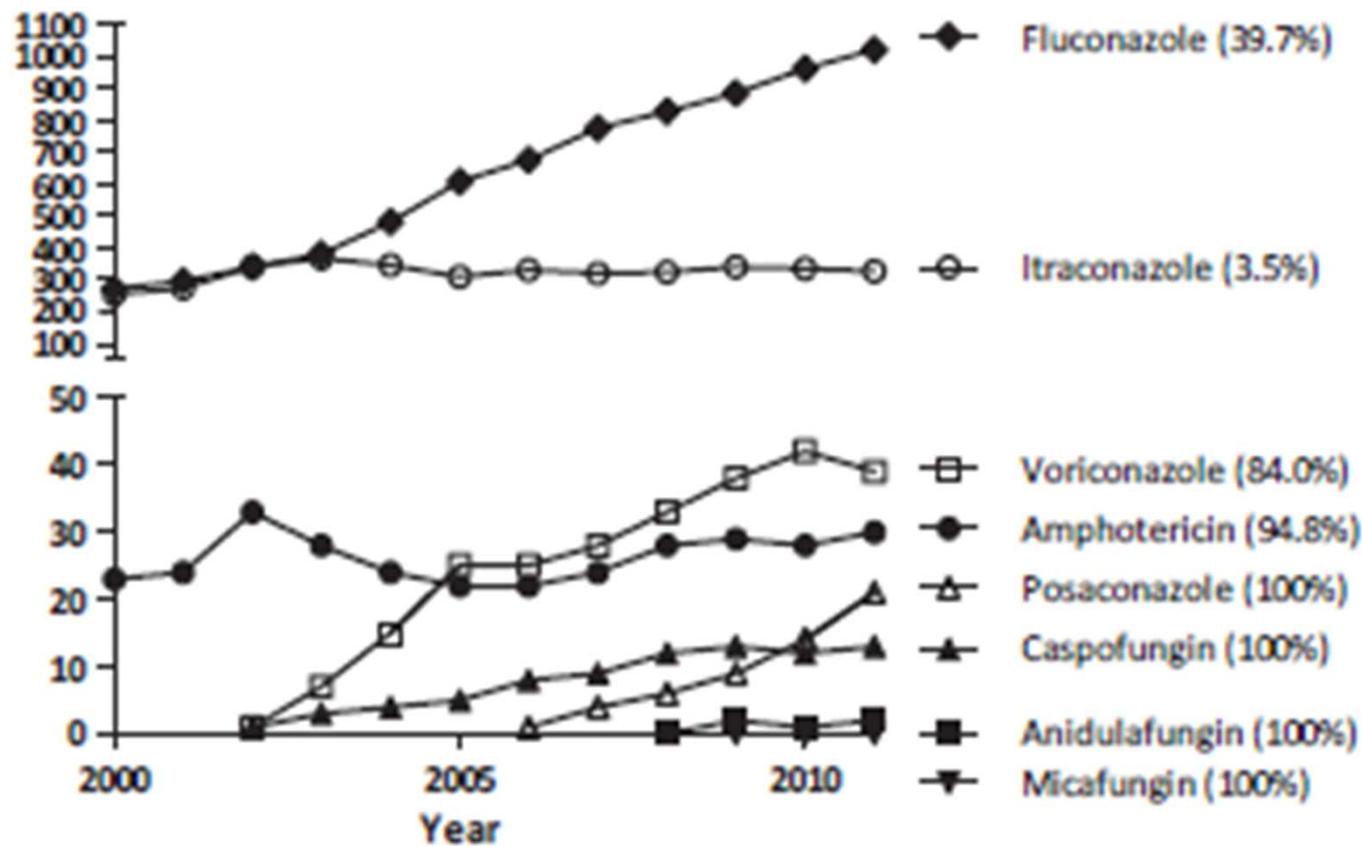
# Prescription d'antifongiques



# Evolution de la prescription d'antifongiques première ligne

## Candidémies non rares, ODL



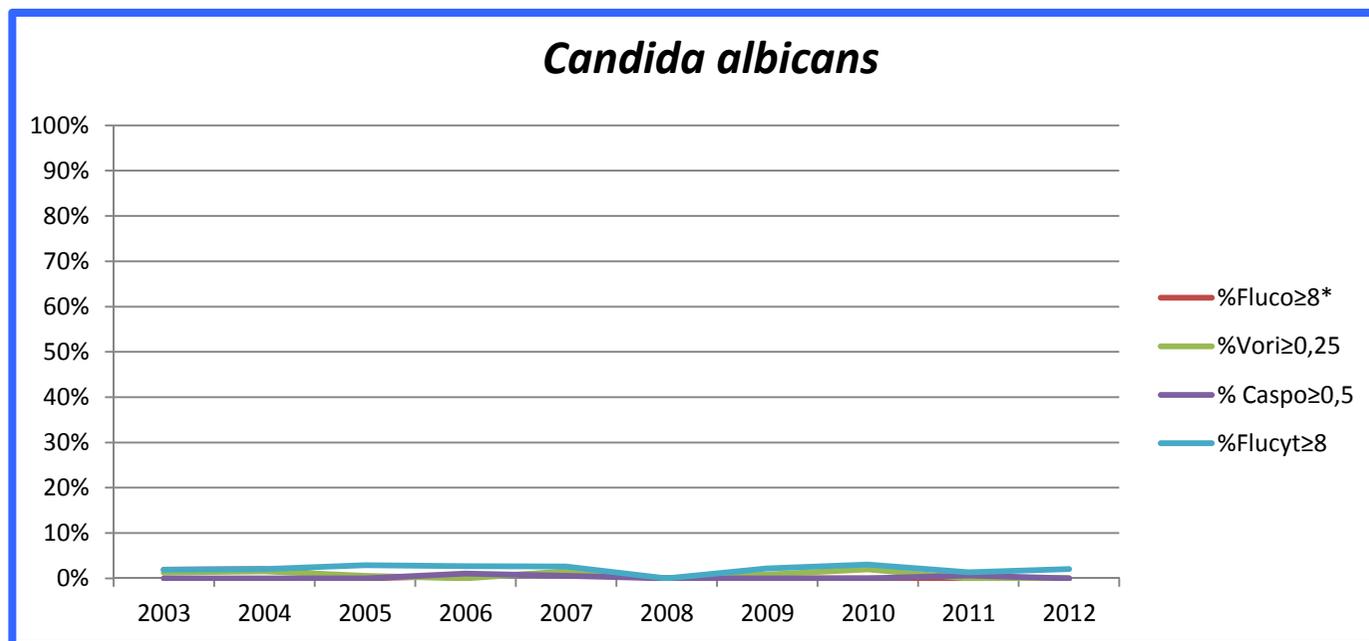


Consommation globale d'antifongiques (Danemark; /1000 DDDs)

*Arendrup MC et al CMI 2013 , 19 E343-353*



# Evolution des CMI des espèces fréquentes



FCZ ≥ 8

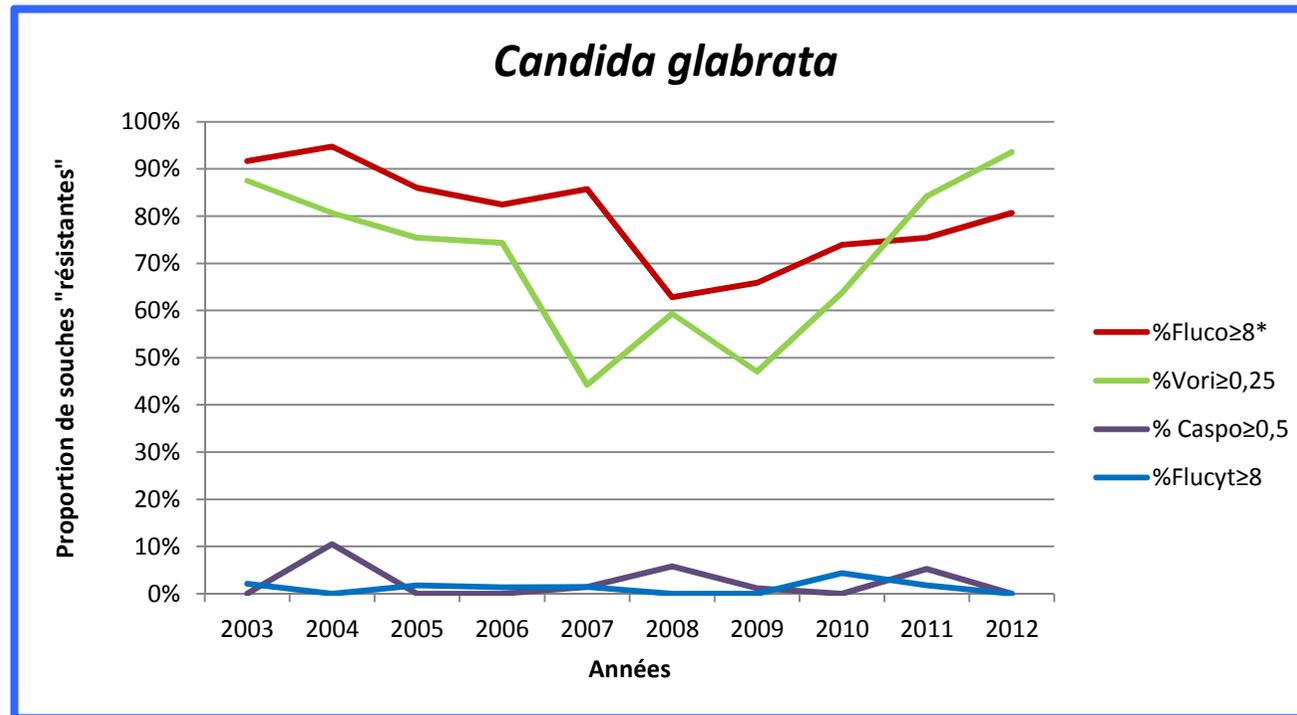
VRZ ≥ 0,25

CAS ≥ 0,5

5FC ≥ 8



# Evolution des CMI des espèces fréquentes

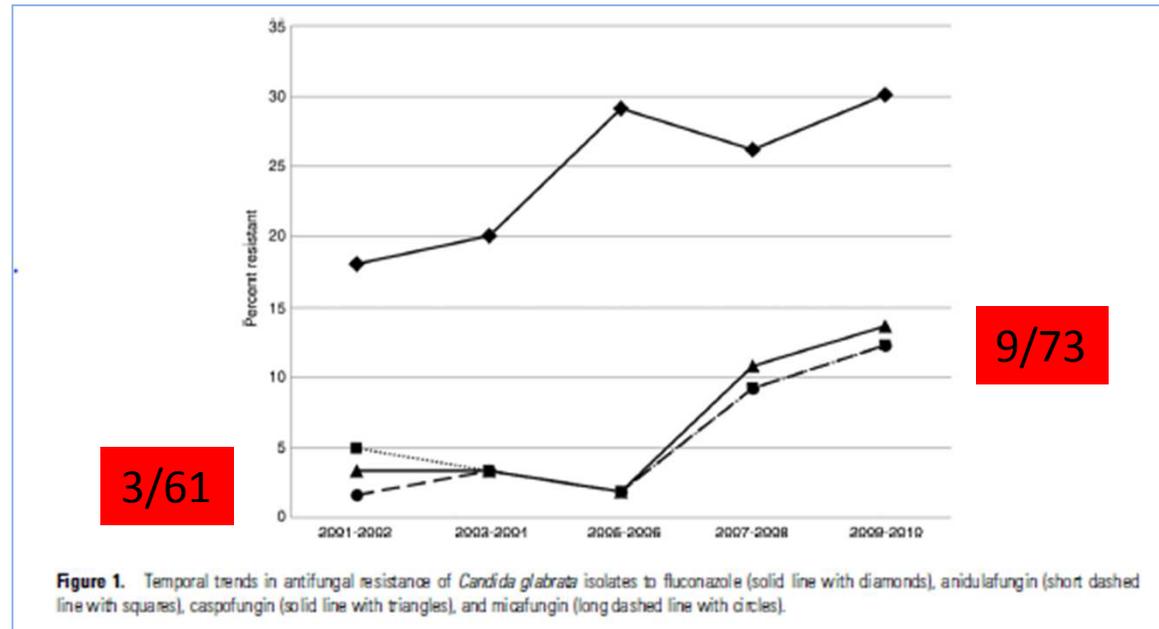


FCZ ≥ 8  
VRZ ≥ 0,25  
CAS ≥ 0,5  
5FC ≥ 8

# Increasing Echinocandin Resistance in *Candida glabrata*: Clinical Failure Correlates With Presence of *FKS* Mutations and Elevated Minimum Inhibitory Concentrations

Barbara D. Alexander,<sup>1</sup> Melissa D. Johnson,<sup>1</sup> Christopher D. Pfeiffer,<sup>1,a</sup> Cristina Jiménez-Ortigosa,<sup>3</sup> Jelena Catania,<sup>1</sup> Rachel Booker,<sup>2</sup> Mariana Castanheira,<sup>4</sup> Shawn A. Messer,<sup>4</sup> David S. Perlin,<sup>3</sup> and Michael A. Pfaller<sup>4</sup>

- 313 isolats *C. glabrata* issus d'hémoculture
- Augmentation de la résistance aux échinocandines de 4.9% à 12.3%
  - 25 des 313 (7.9%) ont une mutation dans le gène *fks*



Traitement par échinocandines: 175/257 (68.1%)

8/10 des patients avec une mutation FKS avec CMI élevées en échec thérapeutique



## Caractéristiques des patients selon la pathologie sous-jacente, Candidémies non rares, ODL

	Hémopathie (N= 422)	Cancer (N=839)	Aucune (N= 1 246)	p
Age moyen $\pm$ écart type	55 $\pm$ 17	63 $\pm$ 13	59 $\pm$ 19	0,0001
Chirurgie récente (< 30 jours)	<b>7,8%</b>	40,4%	48,7%	<0,001
Cathéter veineux central	84,1%	80,2%	66,4%	<0,001
<b>Pré-exposition ATF</b>				
Tous	<b>20,4%</b>	6,1%	8,0%	<0,001
Fluconazole	7,6%	4,8%	5,1%	NS
Caspofungine	<b>6,6%</b>	0,7%	1,5%	<0,001



# Caractéristiques des patients en USI vs. hors USI

## Candidémies non rares, ODL

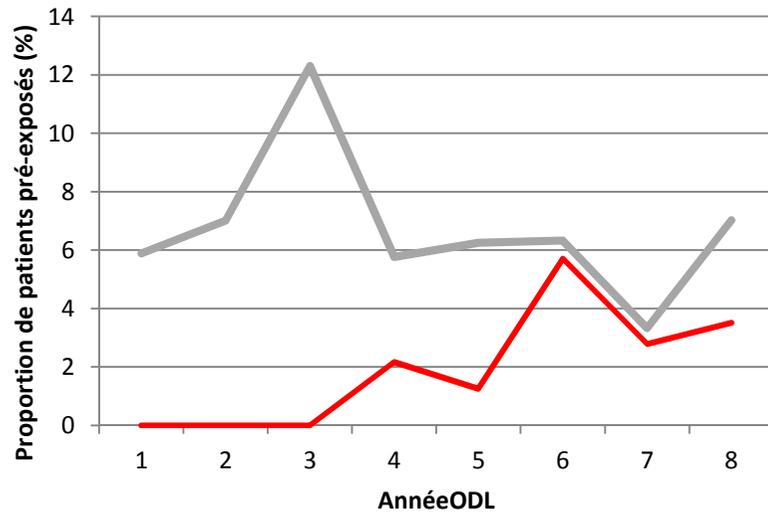
	USI	Hors USI	p
	(N= 1206)	(N= 1301)	
Age moyen $\pm$ écart type	60 $\pm$ 17	60 $\pm$ 17	NS
Chirurgie récente (< 30j)	<b>48,4%</b>	30,2%	<0,001
Cathéter veineux central	<b>77,6%</b>	70,6%	<0,001
<b>Pré-exposition AFG</b>			
Tous	10,6%	8,4%	NS
Fluconazole	<b>6,6%</b>	4,3%	0,013
Caspofungine	2,1%	2,2%	NS



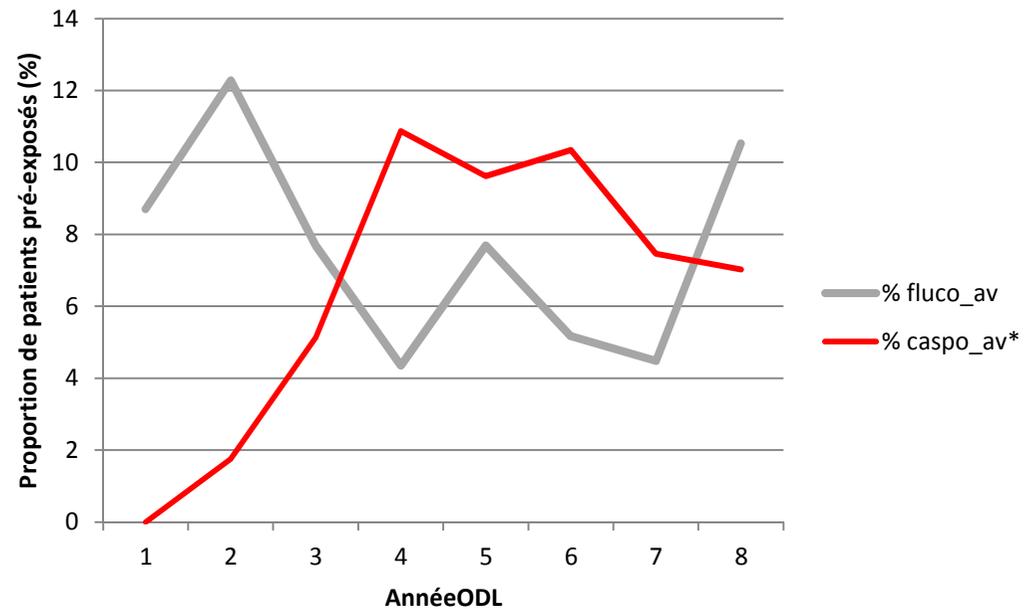
# Evolution de la pré-exposition aux antifongiques

(épisodes incidents, Candidémies non rares, ODL)

## USI



## Hémopathie

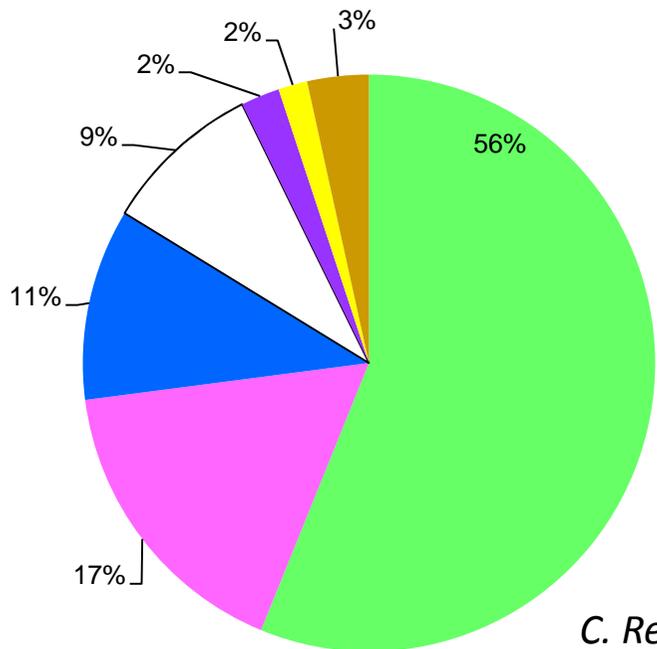


Conséquence de cette  
pré-exposition aux antifongiques?

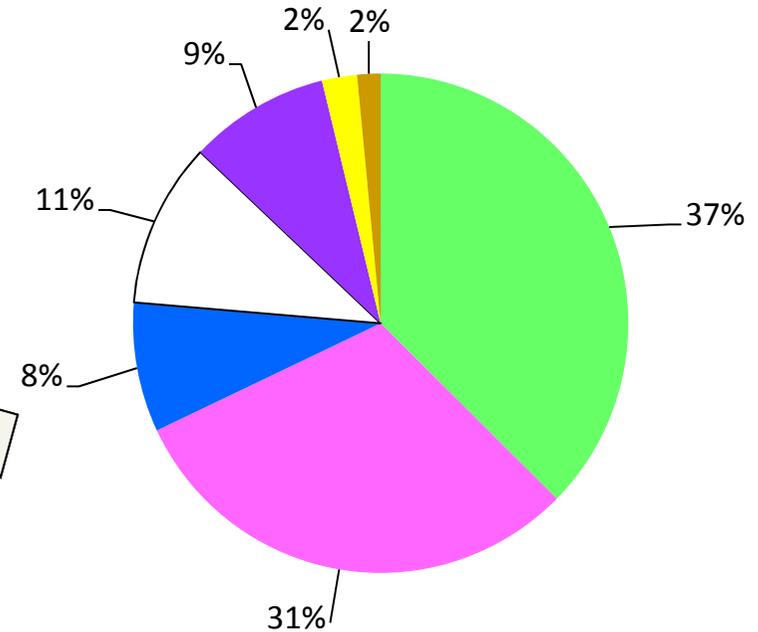


# Influence de la pré-exposition aux antifongiques sur la distribution des espèces – épisodes incidents / ODL

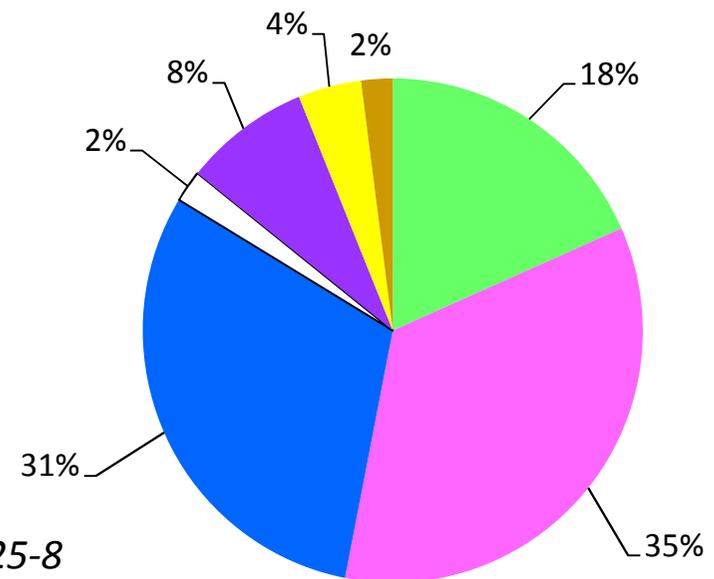
Aucune pré-exposition Antifongique (n=2270)



Pré-exposition au Fluconazole (n=131)



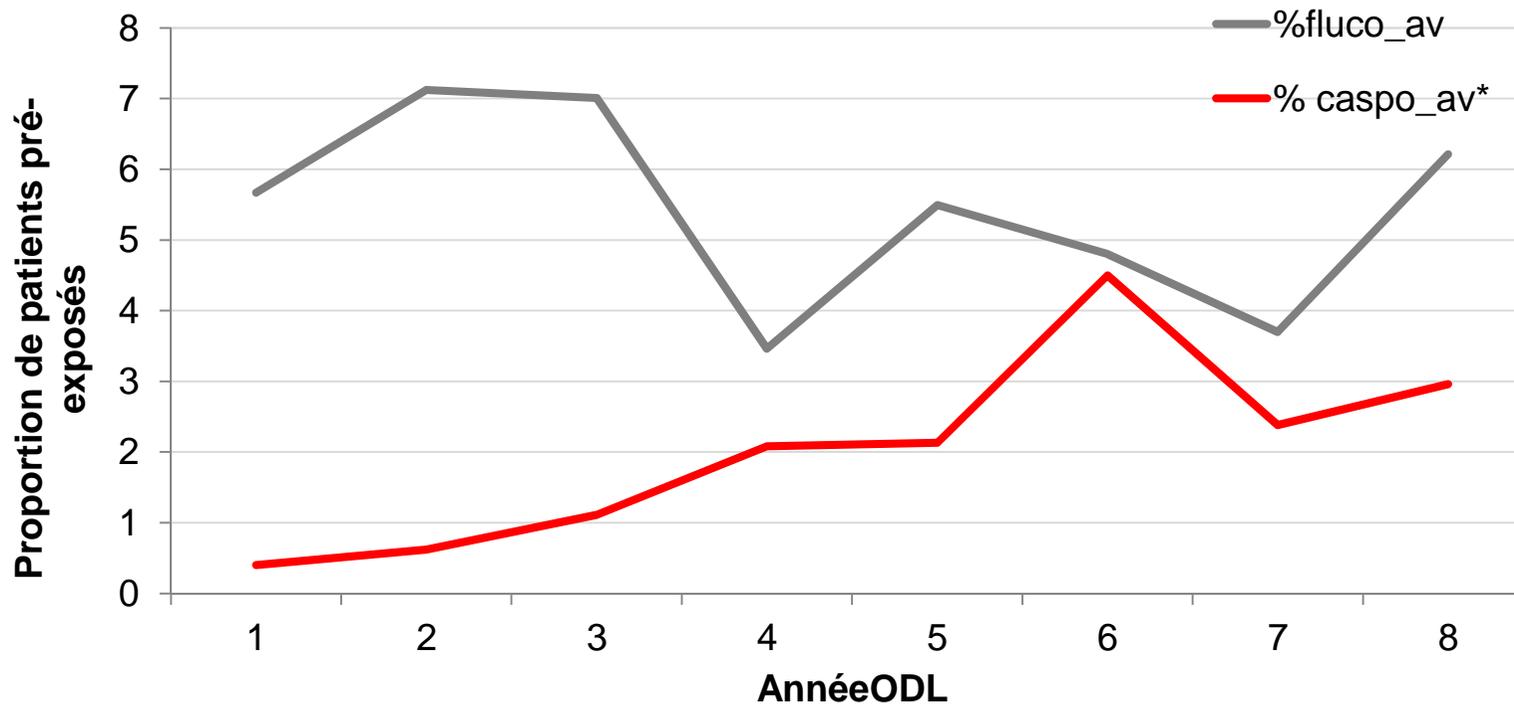
Pré-exposition à la Caspofungine (n=49)



- C. albicans
- C. glabrata
- C. parapsilosis
- C. tropicalis
- C. krusei
- C. kefyr
- Infection mixte



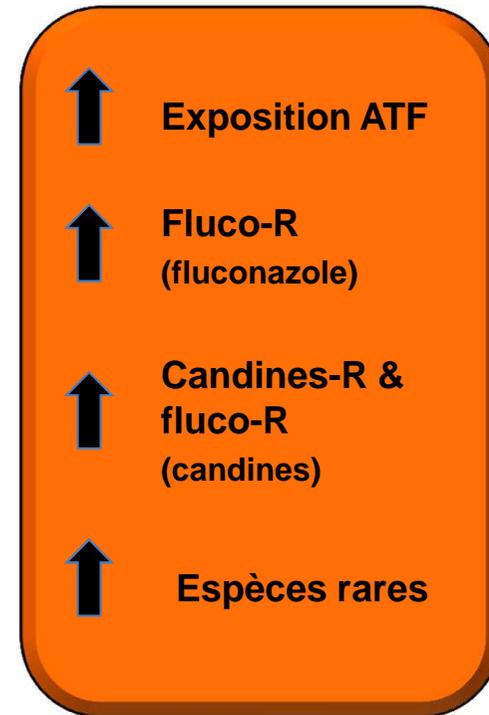
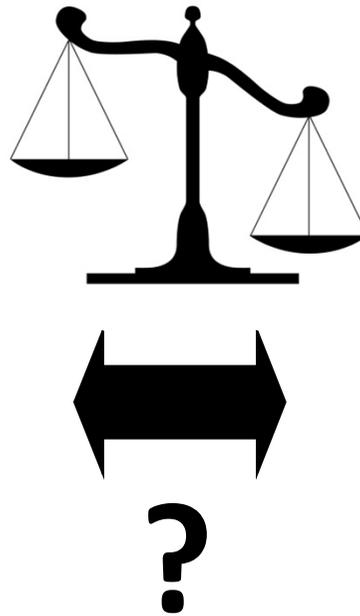
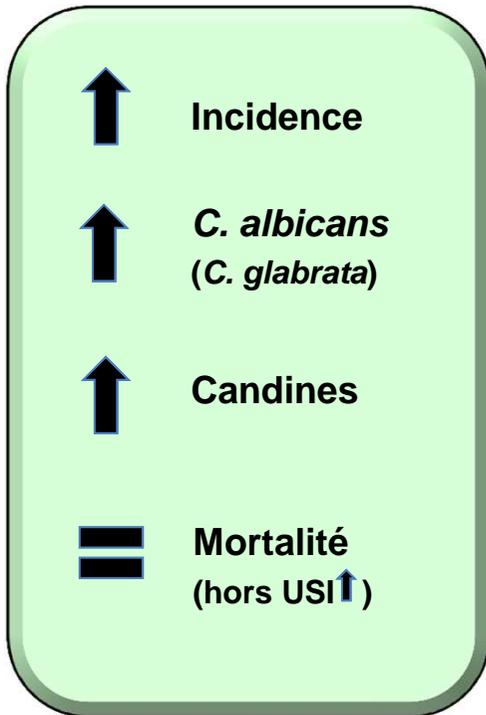
Préexposition à un antifongique (30j)	
Tous	9,5%
Fluconazole	5,4%
Echinocandines	2,1%



*Lortholary O. et al Antimicrob. Agents Chemother. 2011, 55(2):532-8*

*Blanchard E. et al Antimicrob. Agents Chemother. 2011, 55(11): 5358-61*

# Conclusion provisoire



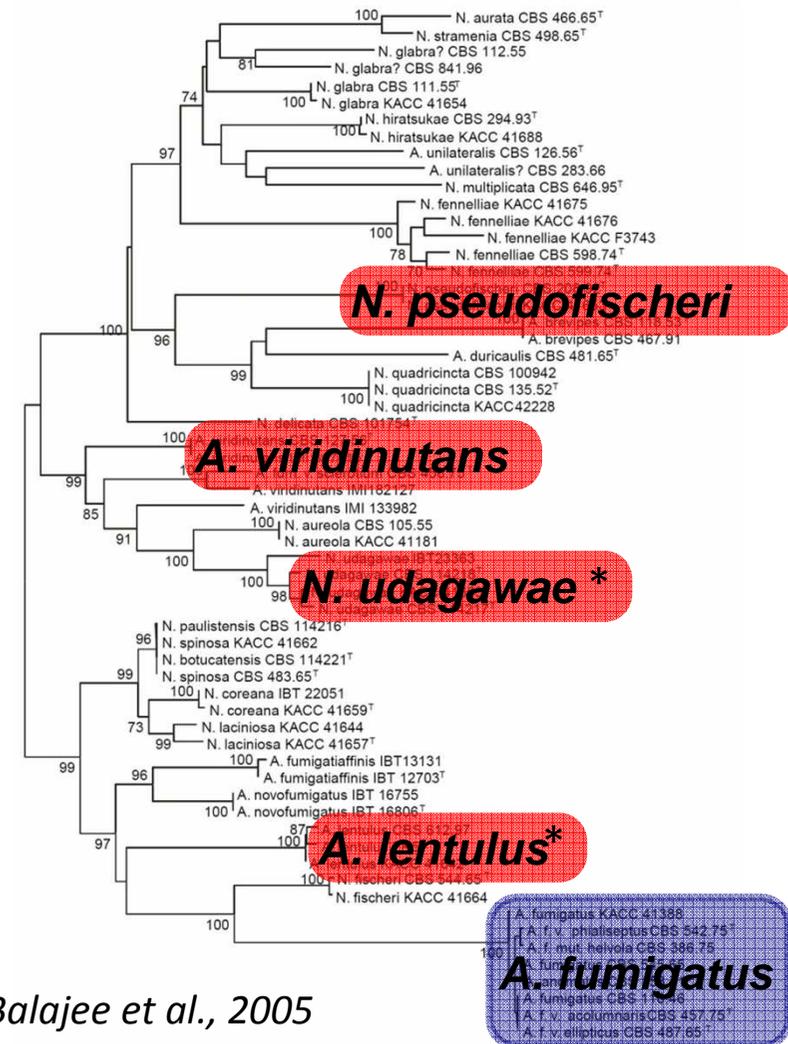
**et les *Aspergillus*?**

# Taxonomie récente des Aspergilli

Résistance naturelle aux azolés

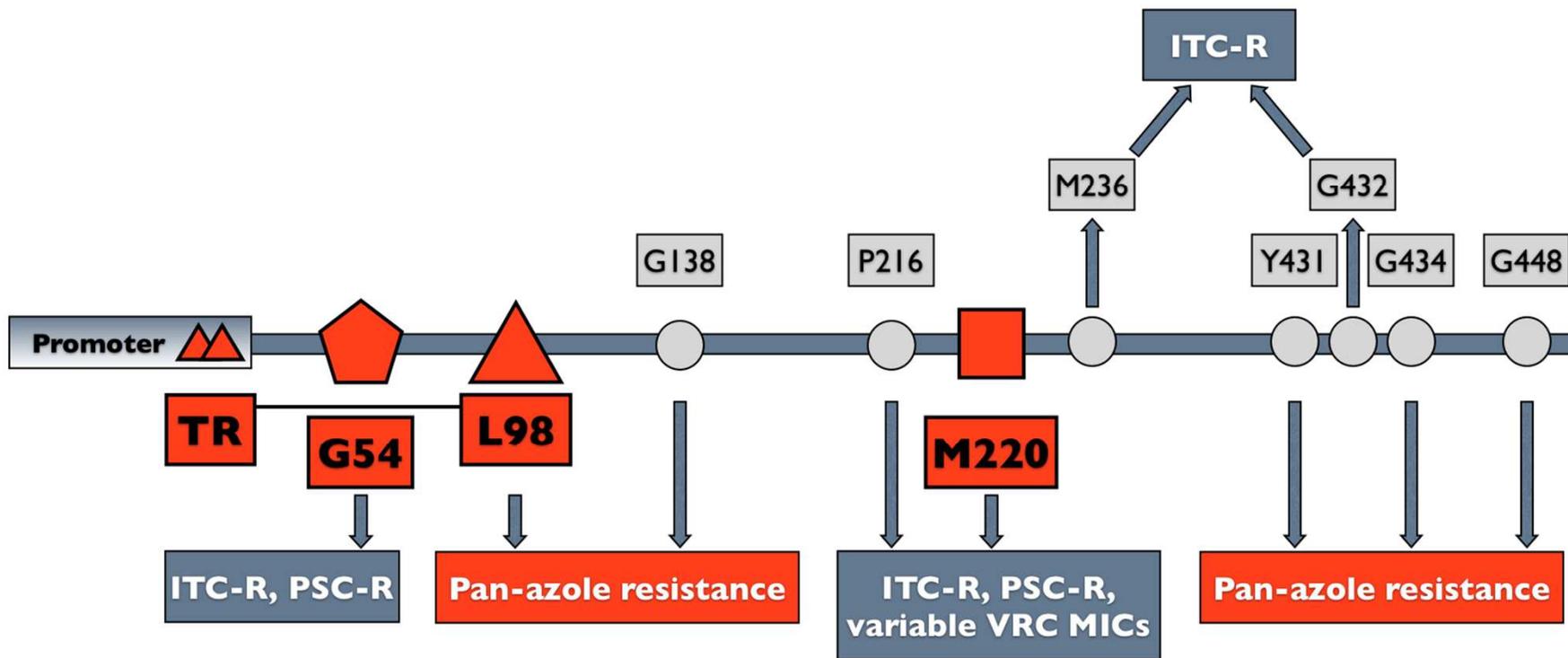
Sensibilité aux azolés

Espèces (35)



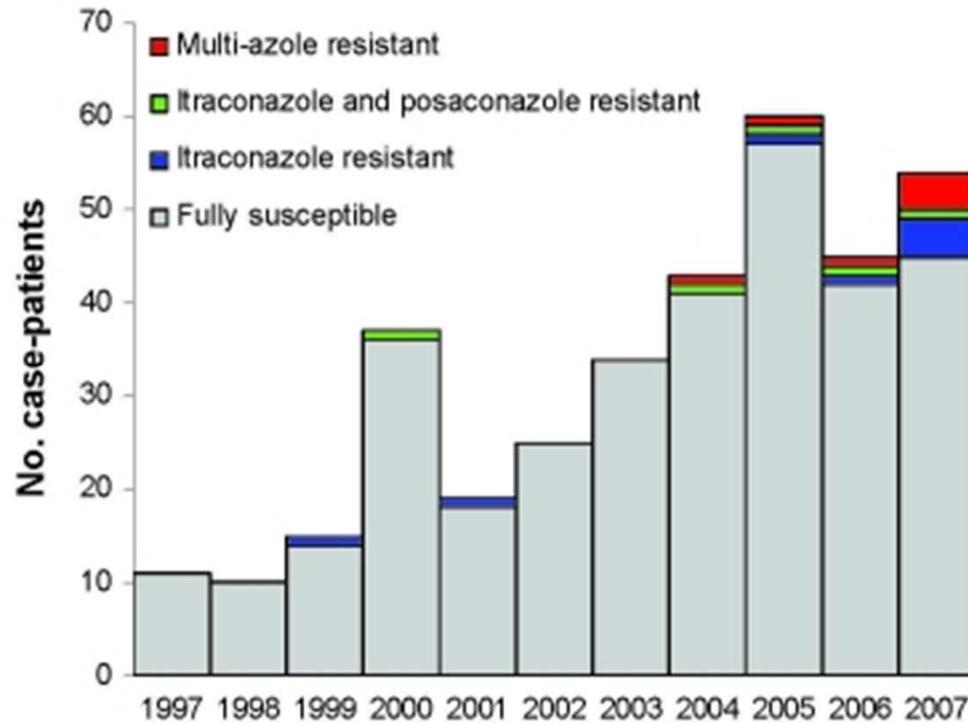
Balajee et al., 2005

# Mutations du *cyp51A*



Alanio A, Cordonnier C. & Bretagne S., *Current Fungal Infection Reports* 2012; 5(3):168-178.  
Alanio A & Bretagne S, *Antibiotiques*, 2010, 12, 114-119

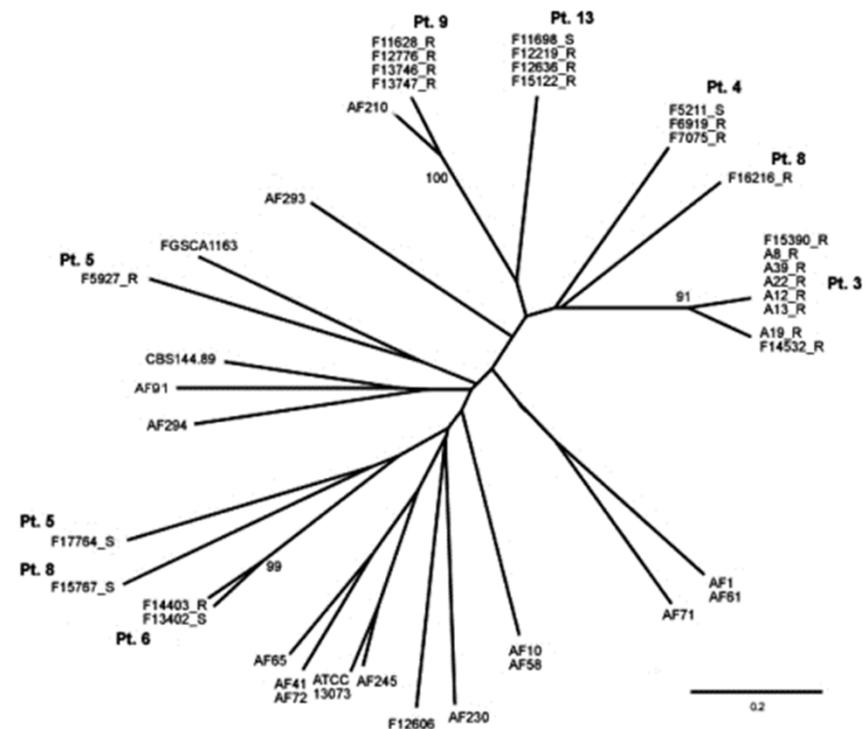
# Pression de sélection chez l'hôte



Howards et al. *Emerg. Infect. Dis.* 2009, 15(7):1068-76

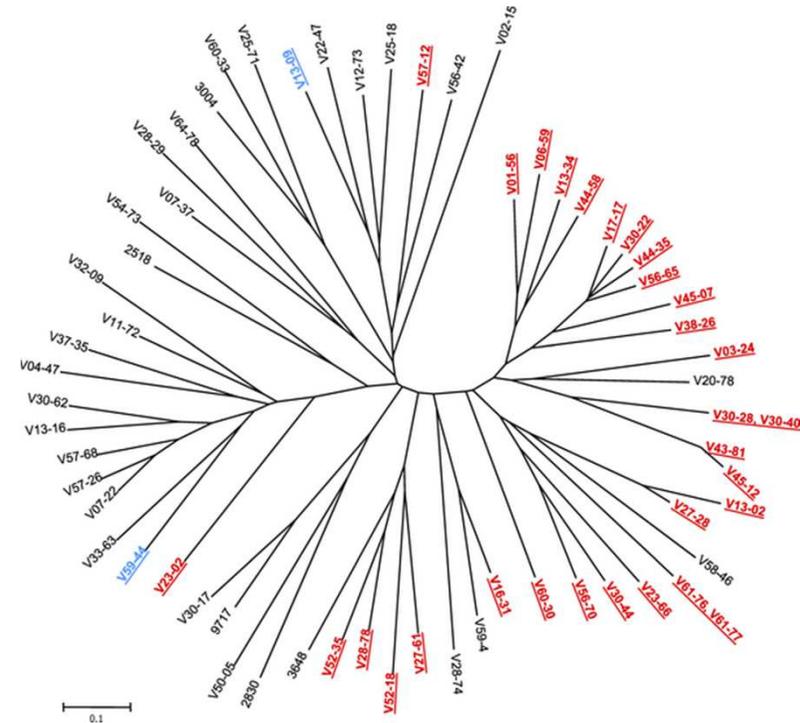
# Pas de mécanisme univoque

- 34 isolats résistants à l'ITZ
- 22 résistances croisées avec le VRZ
- 13/14 patients évaluables avaient reçu des azolés
  - 8 avec évolution défavorable
  - 5 non améliorations
- 18 mutations décrites dont 4 nouvelles dans Cyp51A
- Analyse de marqueurs microsatellites
  - Évolution chez un même patient d'un génotype unique



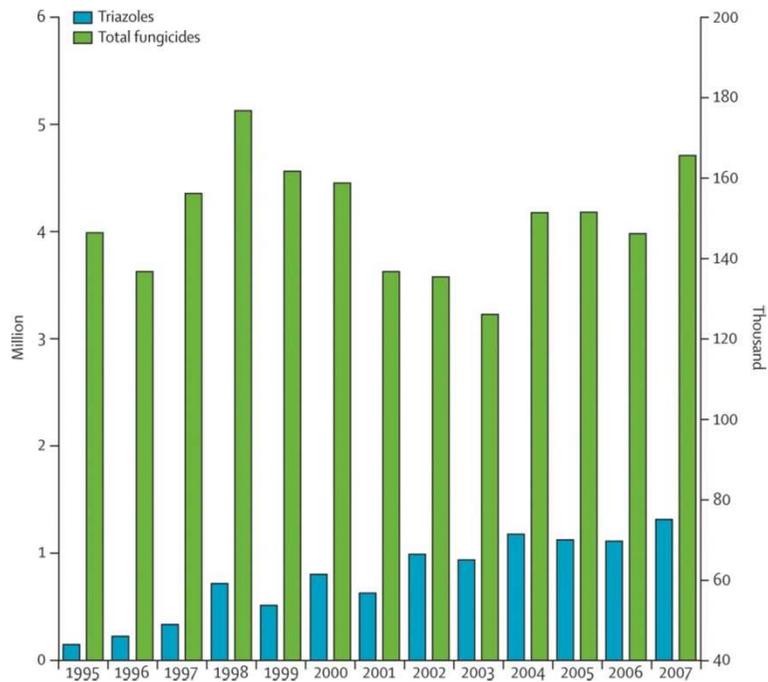
# La résistance d'*A. fumigatus* sans pré-exposition médicale aux antifongiques

- Acquisition de la résistance dans le milieu extérieur
  - Mécanisme de résistance unique (MRT + L98H)
  - Génotypes groupés avec des isolats résistants de l'environnement
- Sélection d'isolats résistants chez le patient sous azolés



Hétérogénéité des isolats mais proximité  
des isolats résistants

# Epondage de fongicides



*Data from the Dutch Foundation for Phytofarmacy (Nefyto, Nederlandse Stichting voor Fytofarmacie).*

*Snelders et al, Plos Medicine 2008,  
Verweij P et al, Lancet Inf Dis 2009*

# Alignement des séquences de CYP51A de différents champignons

-  Substitution
-  Région conservée
-  Isolot résistant aux azolés

## Pathogènes humain

Aspergillus fumigatus CYP51A WT (AAK73659.1)	428	D	E	V	V	D	Y	G	Y	G	A	V	438	S	K	G	T	S	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	448
A. fumigatus CYP51A G432S (AF070 strain) ●	428	D	E	V	V	D	Y	S	Y	G	A	V	438	S	K	G	T	S	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	448
A. fumigatus CYP51A Y431C (Howard et al. 2009) ●	428	D	E	V	V	D	C	G	Y	G	A	V	438	S	K	G	T	S	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	448
A. fumigatus CYP51A G434C (Howard et al. 2009) ●	428	D	E	V	V	D	Y	G	Y	C	A	V	438	S	K	G	T	S	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	448
A. fumigatus CYP51A G448S (ACL83619) ●	428	D	E	V	V	D	Y	G	Y	G	A	V	438	S	K	G	T	S	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	448
Candida albicans CYP51A WT (ACF70738.1)	444	S	D	E	V	D	Y	G	F	G	K	V	454	S	K	G	V	S	S	P	Y	L	P	F	G	G	G	464
C. albicans CYP51A G448E (Kamai et al. 2004) ●	444	S	D	E	V	D	Y	E	F	G	K	V	454	S	K	G	V	S	S	P	Y	L	P	F	G	G	G	464
C. albicans CYP51A F449L (Marichal et al. 1999) ●	444	S	D	E	V	D	Y	G	L	G	K	V	454	S	K	G	V	S	S	P	Y	L	P	F	G	G	G	464
C. albicans CYP51A G450E (Marichal et al. 1999) ●	444	S	D	E	V	D	Y	G	F	E	K	V	454	S	K	G	V	S	S	P	Y	L	P	F	G	G	G	464
Saccharomyces cerevisiae CYP51A (AAA34547.1)	429	G	E	E	V	D	Y	G	F	G	A	I	439	S	K	G	V	S	S	P	Y	L	P	F	G	G	G	449
Ajellomyces capsulatus CYP51A (EER42982.1)	429	E	D	M	V	D	Y	G	Y	G	A	I	439	S	K	G	T	S	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	449

## Phytopathogènes

Mycosphaerella graminicola CYP51A WT (AAP79601.1)	456	E	E	K	E	D	Y	G	Y	G	L	V	466	S	K	G	A	A	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	476
M. graminicola CYP51A G460D (ABO93365.1) ●	456	E	E	K	E	D	Y	D	Y	G	L	V	464	S	K	G	A	A	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	474
M. graminicola CYP51A Δ459/460 (ABO93371.1) ●	443	E	E	K	E	D	-	-	Y	G	L	V	453	S	K	G	A	A	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	463
Ucinula necator CYP51A (AAC49812)	441	D	E	K	Y	D	Y	G	Y	G	L	T	451	S	T	G	A	S	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	461
Blumeria graminis CYP51A (CAE18091.1)	434	D	E	K	F	D	Y	G	Y	G	L	I	444	S	T	G	A	A	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	454
Penicillium digitatum CYP51A WT (CAD27793.1)	434	S	D	T	V	D	Y	G	Y	G	A	V	444	S	K	G	T	R	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	454
P. digitatum CYP51A G438R (ABC87815.1) ●	432	S	D	T	V	D	Y	R	Y	G	A	V	442	S	K	G	T	R	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	452
Botryotinia fuckeliana CYP51A WT (AAK26388.1)	432	E	E	F	Q	D	Y	G	Y	G	M	I	442	S	K	G	A	S	S	P	Y	L	P	F	G	A	G	452

Alanio A, Cordonnier C. & Bretagne S., *Current Fungal Infection Reports* 2012; 5(3):168-178.

Alanio A & Bretagne S, *Antibiotiques*, 2010, 12, 114-119

# Spread of TR/L98H in Europe

UK: 2001?  
Clinical: +++  
Environment: +

France: 2011  
Clinical: +

Spain: 2003  
Clinical: +  
Environment: -

Italy: 2011  
Clinical: +

Norway: 2001  
Clinical: -  
Environment: +

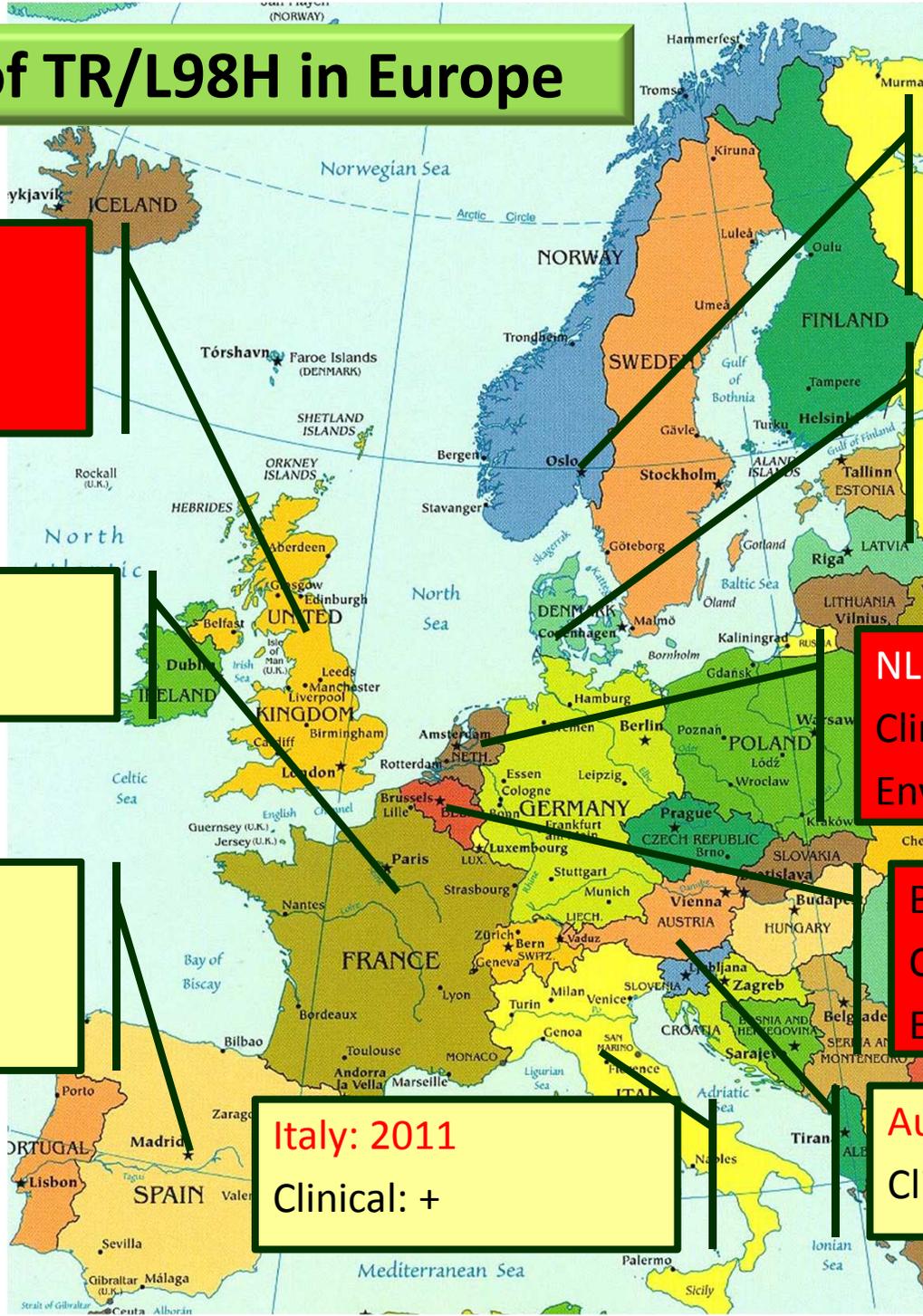
Denmark: 2009  
Clinical: +  
Environment: +

NL: 1998  
Clinical: +++  
Environment: +++

Belgium: 2006  
Clinical: +++  
Environment: +

Austria: 2011  
Clinical: +++

*vd Linden et al,  
2013: submitted*



# Fréquence

- Rare chez les patients d'hématologie
  - 1-2% (1)
- Fréquent chez les patients pneumologiques (mucoviscidose)
  - 8% (2)
  - 4,6% (3)

(1) *Alanio A. et al J Antimicrob Chemother 2011; 66: 371–374*

(2) *Morio F. et al J Antimicrob Chemother 2012; 67: 1870–1873*

(3) *Burgel PR et al Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56 :869–874*

# **Clinical Implications of Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus*, the Netherlands, 2007–2009**

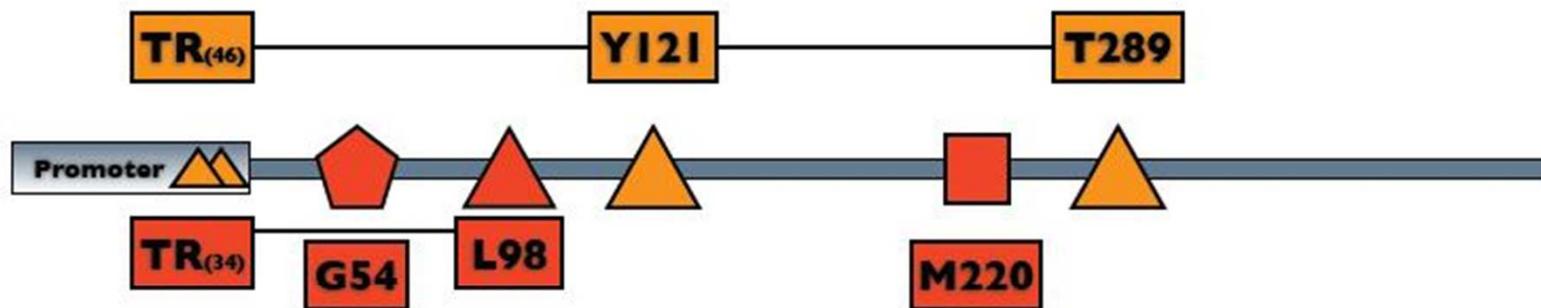
Jan W.M. van der Linden, Eveline Snelders, Greetje A. Kampinga, Bart J.A. Rijnders, Eva Mattsson, Yvette J. Debets-Ossenkopp, Ed J. Kuijper, Frank H. Van Tiel, Willem J.G. Melchers, and Paul E. Verweij

than were other patient groups ( $p < 0.05$ ). Most patients (64.0%) from whom a resistant isolate was identified were azole naive, and the case-fatality rate of patients with azole-resistant invasive aspergillosis was 88.0%. Our study found that multiazole resistance in *A. fumigatus* is widespread in the Netherlands and is associated with a high death rate among patients with invasive aspergillosis.

# Aspergillosis due to Voriconazole Highly Resistant *Aspergillus fumigatus* and Recovery of Genetically Related Resistant Isolates From Domiciles

## Results

Eight patients presented with invasive aspergillosis due to TR<sub>46</sub>/Y121F/T289A, and treatment failed in all 5 patients receiving primary therapy with voriconazole. TR<sub>46</sub>/Y121F/T289A *Aspergillus fumigatus* was recovered from 6 of 10 sampled environmental sites.



Site	Fungal culture result	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) (classification) <sup>b</sup>		
		ITZ	VCZ	POS
Abscess	<i>A. fumigatus</i>	2 (I)	>16 (R)	0.5 (I)
Kidney (swab)	<i>A. fumigatus</i>	1 (S)	>16 (R)	0.5 (I)
Kidney (tissue)	<i>A. fumigatus</i>	1 (S)	>16 (R)	0.5 (I)
Renal fat tissue	<i>A. fumigatus</i>	1 (S)	>16 (R)	0.25 (S)

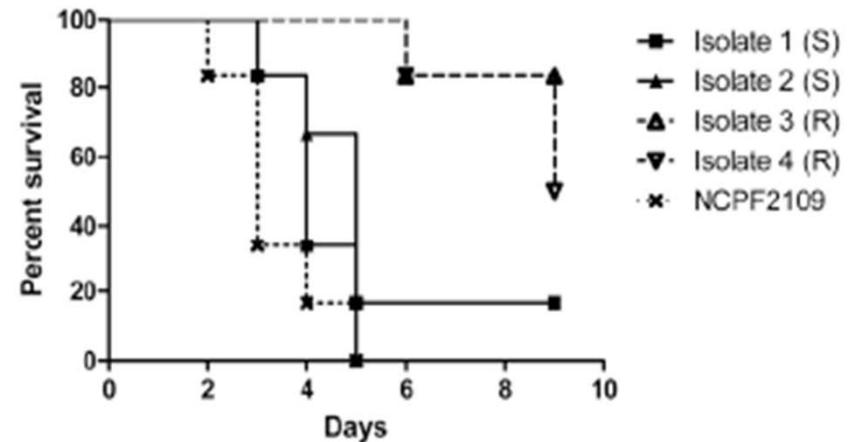
Adapté de Alanio A. et al. *Curr. Fungal Infect. Rep.* 2011.

Kuipers et al *AAC* 2011

vd Linden et al *Clin. Inf. Dis.* 2013 57(4) 513-20

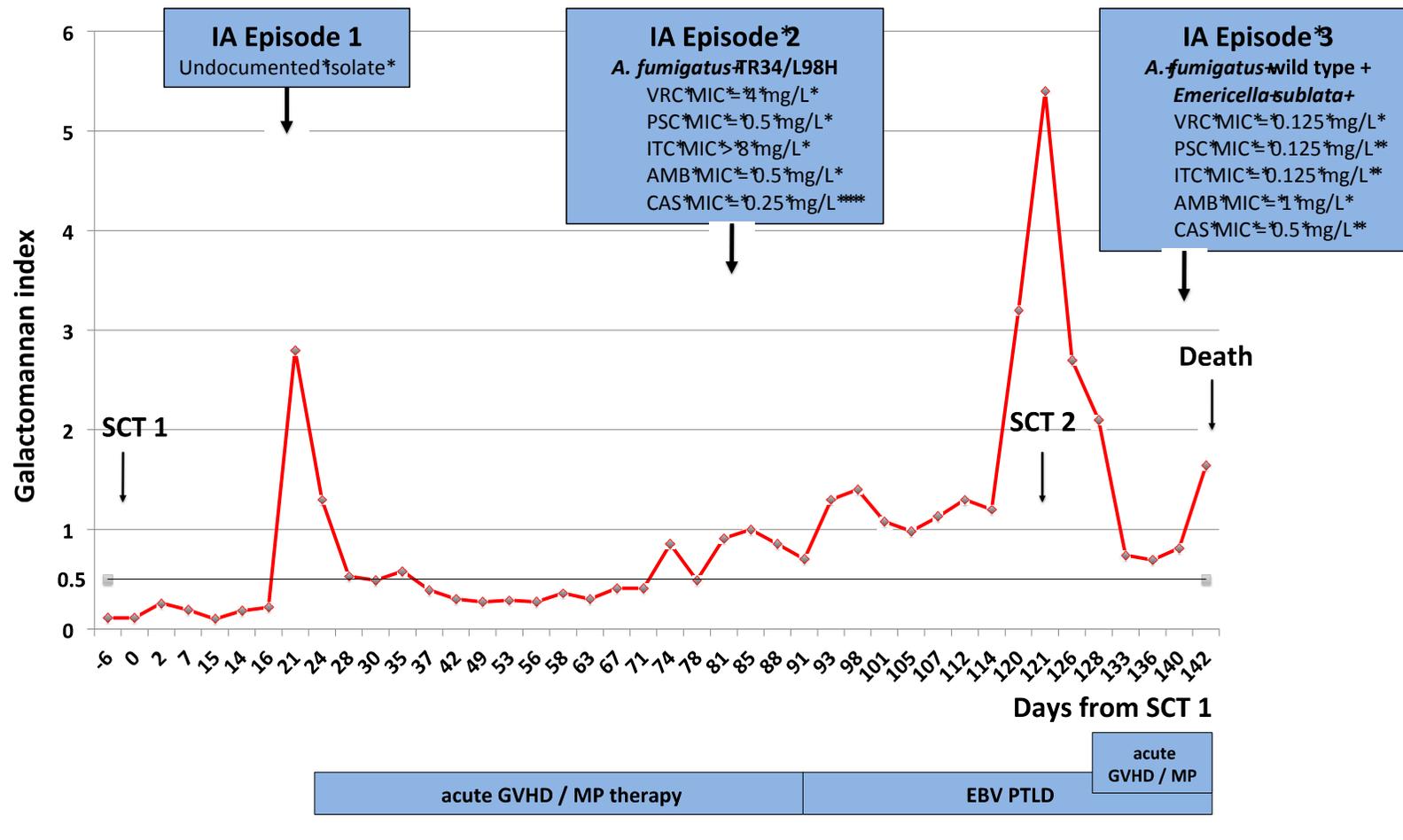
# Conséquence clinique?

- Fitness des isolats d'*A. fumigatus*?
- Virulence diminuée chez la souris

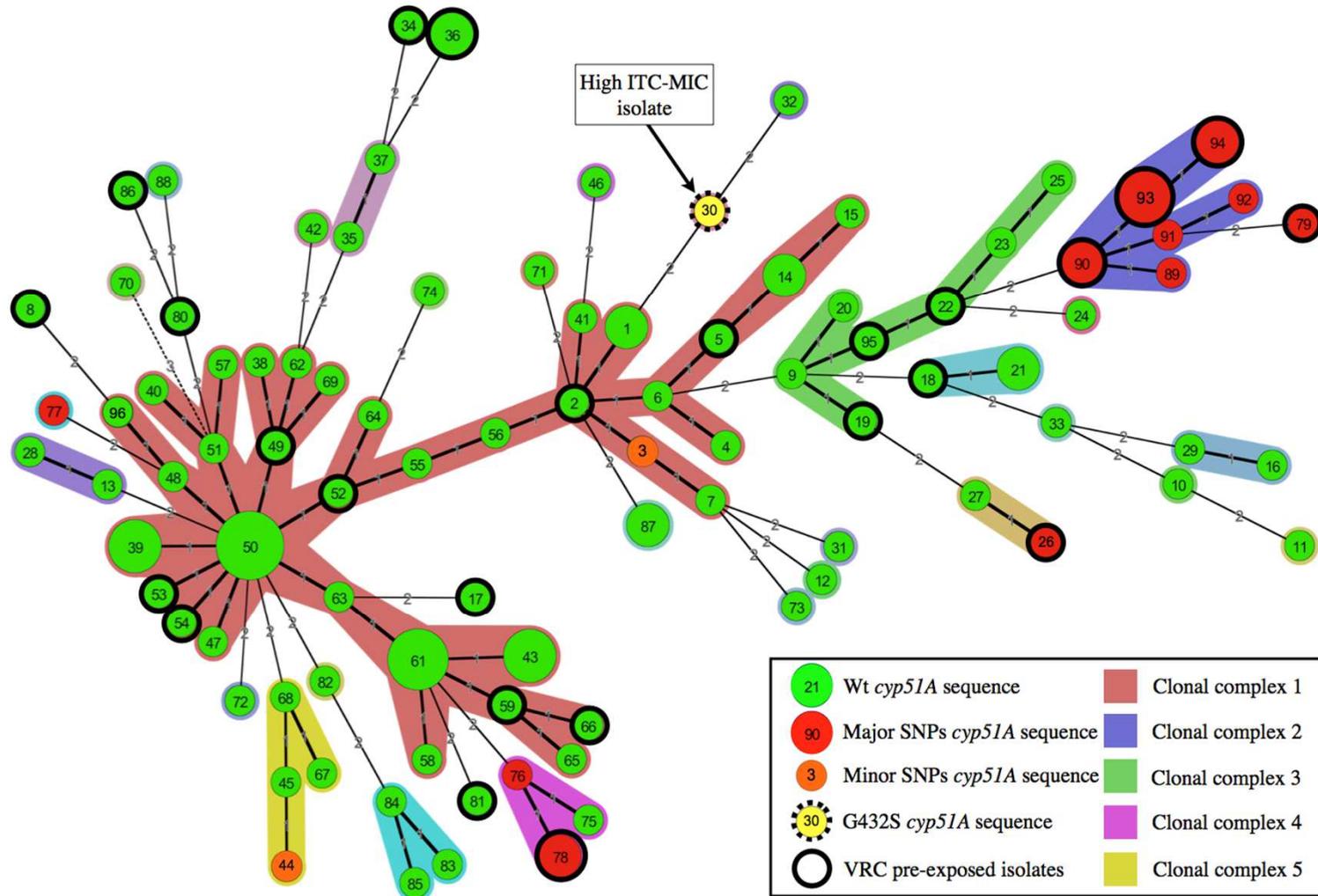


**Figure 3. In vivo virulence of sequential isolates of *A. fumigatus* in immunosuppressed mice.** Survival of mice in groups of six challenged with each of the four sequential isolates (1–4) or a control isolate (NCPF2109), respectively, is shown. The survival data was combined per isolate, thus each survival curve displays the mortality of six mice challenged with the indicated isolate, two of which were challenged with a high inoculum ( $5 \times 10^4$  CFU/ml), two with an intermediate inoculum ( $10^4$  CFU/ml) and two with a low inoculum ( $2 \times 10^3$  CFU/ml).

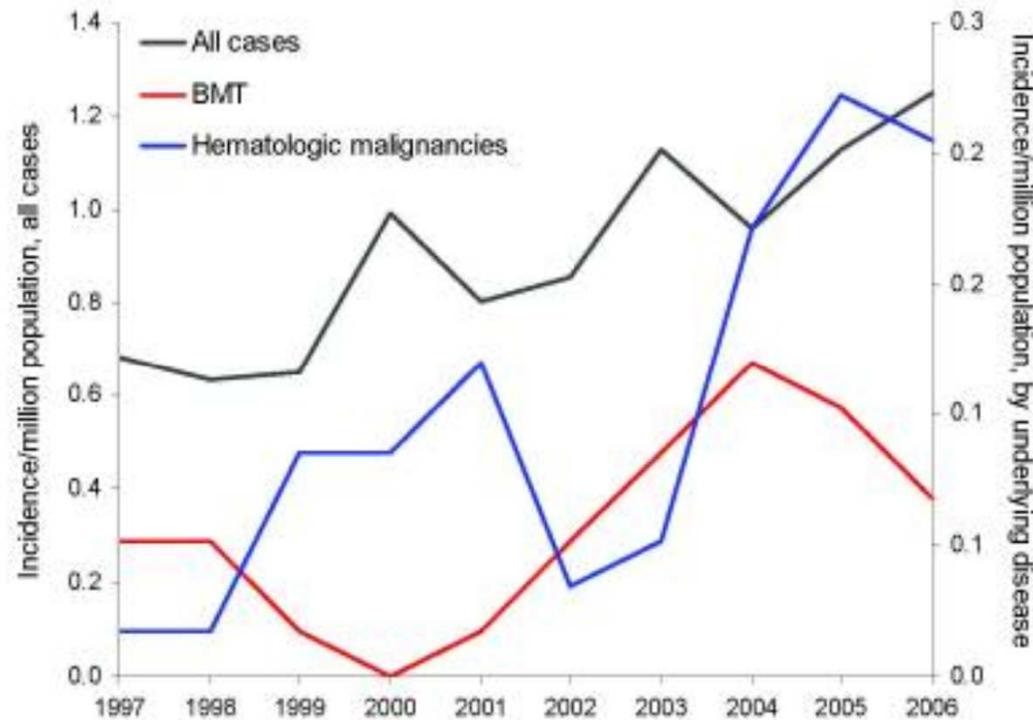
# Patient greffé de moelle



# Sélection de génotypes sous voriconazole



# Emergence des Zygomycoses?



- Certes en augmentation mais incidence <1.4 /millions

# Conclusion provisoire



Résistance  
encore rare en  
hématologie  
(recherche  
systématique)



Voriconazole  
1<sup>ère</sup> ligne



Impact clinique  
(?)



Résistance dans  
environnement



*A. fumigatus*  
azole-R



Espèces rares

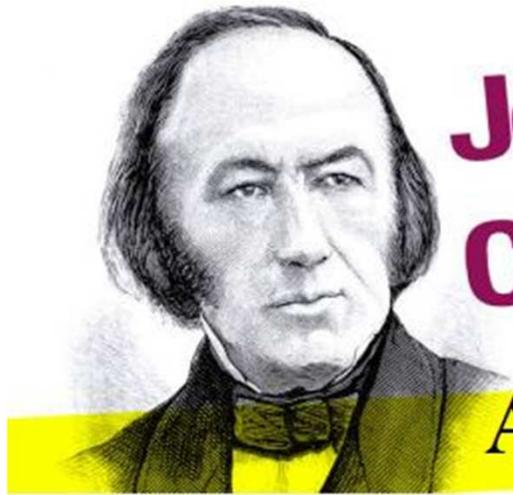


Posaconazole  
en prophylaxie

# MERCI aux membres de l'ODL

**Participants de l'ODL** : C. Bouges-Michel, S. Brun (Bobigny), I. Poilane (Bondy), J. Dunan (Boulogne-Billancourt), G. Galeazzi (Colombes), S. Bretagne, F. Botterel (Créteil), N. Fauchet (Créteil), E. Forget (Clichy), C. Lawrence (Garches), C. Bonnal, A. Angoulvant (Kremlin Bicêtre), O. Eloy (Le Chesnay), M-F. David, N. Khassis, L. Milhaila, E. Chachaty (Villejuif), et à Paris : C. Chochillon (Bichat), A. Paugam, M-T. Baixench, F. Lesle (Cochin), M. Cornet (Hôtel Dieu), M-C. Escande (Institut Curie), M-E. Bognoux, Y. Sterckers, S. Challier (Necker-Enfants Malades), E. Dannaoui, V. Lavarde (Hôpital Européen Georges Pompidou), A. Datry, B. Lmimouni, A. Fekkar (Pitié-Salpêtrière), J-L. Poirot (Saint-Antoine), C. Lacroix, A. Alanio (Saint-Louis), D. Moissenet (Trousseau), M. Develoux (Tenon), S. Bonacorsi (Robert Debré).

**Personnel du CNRMA** : F. Dromer (directrice), O. Lortholary et S. Bretagne (directeurs adjoints), M. Desnos-Ollivier et D. Garcia-Hermoso (ingénieurs), K. Sitbon (médecin d'études cliniques), C. Renaudat (biostatisticienne), D. Raoux-Barbot, D. Hoinard, C. Blanc (techniciens) et R. Bouyssié (secrétaire).



# Journée de l'Hôpital Claude Bernard

Actualités en Infectiologie



**MERCI DE VOTRE ATTENTION**

56<sup>ème</sup> Journée de l'hôpital Claude Bernard, 14 novembre 2013