

Traitement des infections fongiques nosocomiales les champignons font de la résistance !

Boualem Sendid

**CHU de Lille, Inserm UMR 995-2 Fungal-Associated
Inflammatory & Invasive Diseases,
Université de Lille**



Lille – 18 Avril 2018

Champignons d'intérêt médical

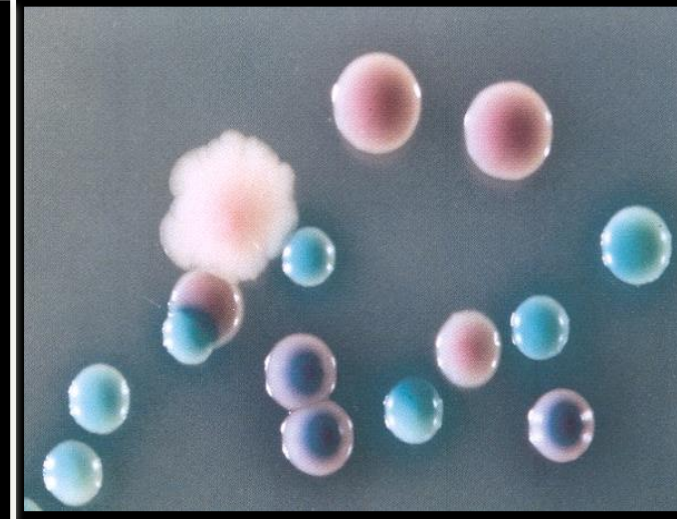
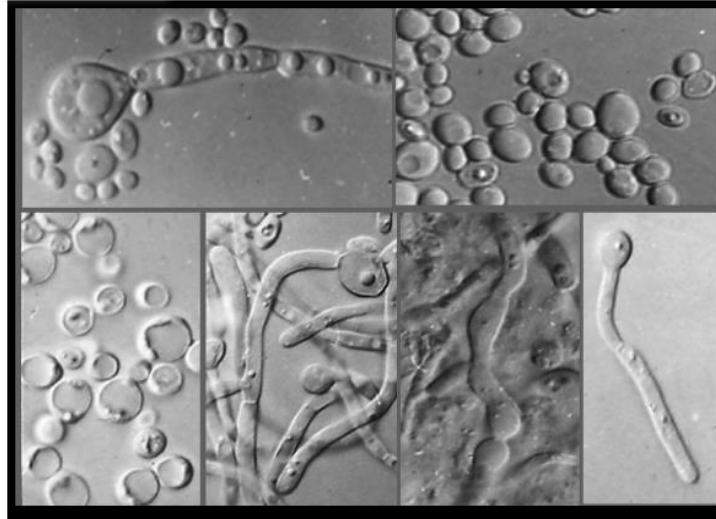
70.000-100.000 espèces, 400-500 espèces en pathologie humaine



Les levures

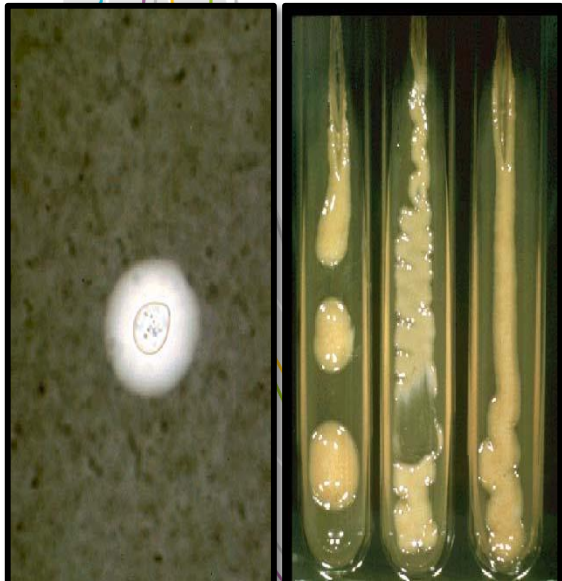
C. albicans
C. glabrata
C. tropicalis
C. parapsilosis
C. krusei

Candida

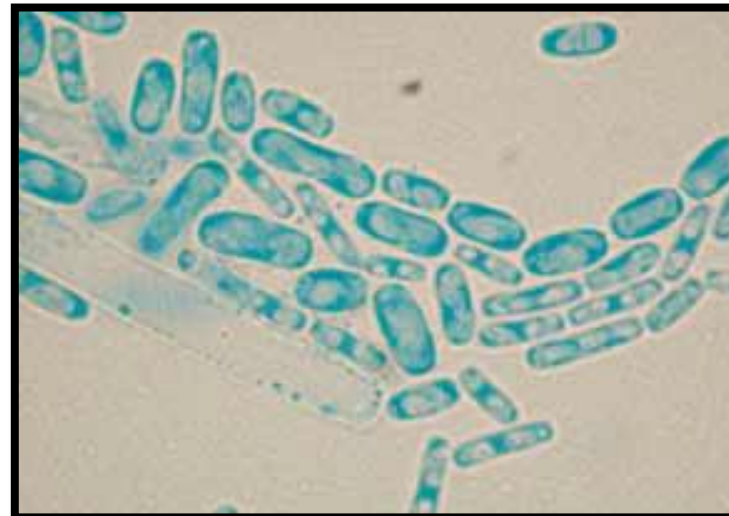


Cryptococcus

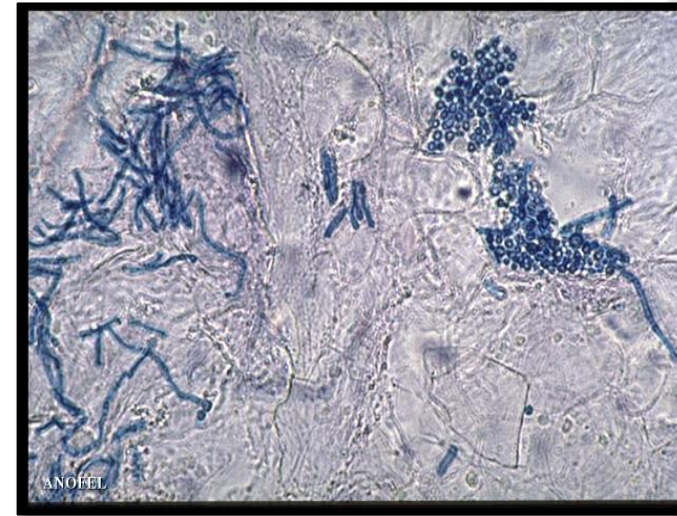
C. neoformans



Trichosporon Geotrichum



Malassezia

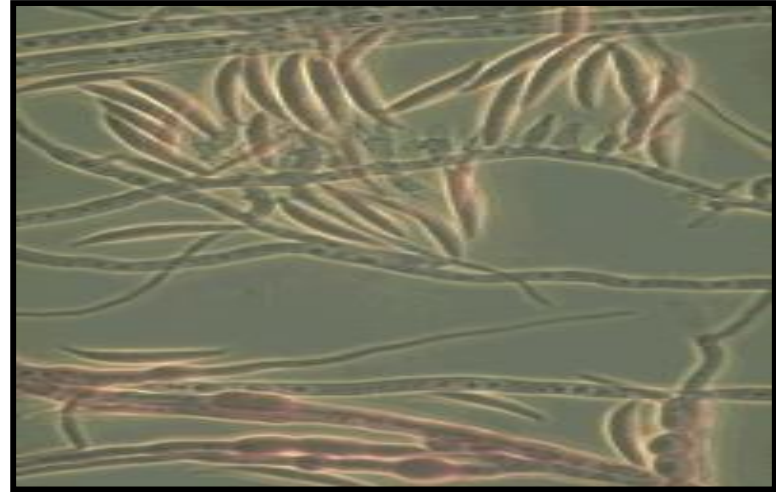


Champignons filamenteux

Aspergillus sp.



Fusarium sp.



Scedosporium sp.

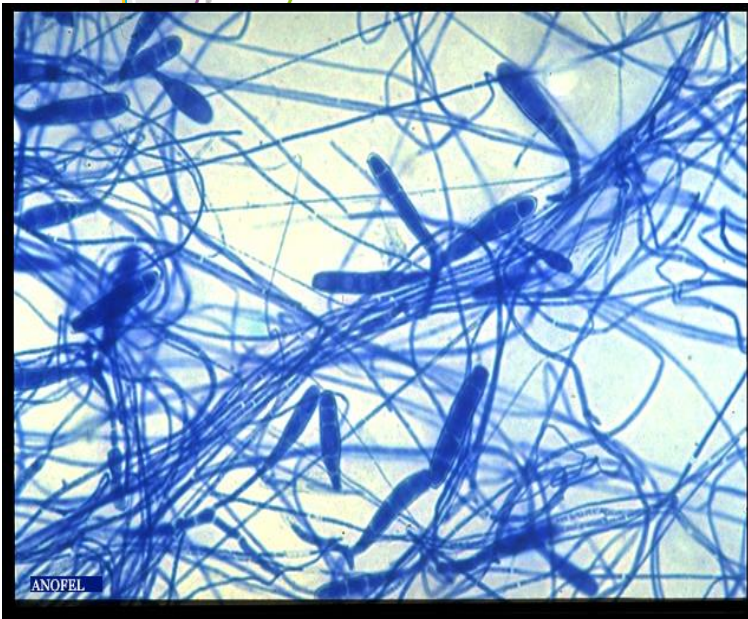


Mucor, Absidia, Rhizopus



Les dermatophytes

Epidermophyton



Trichophyton



Microsporum



Infections fongiques



Mycoses superficielles



Candidose buccale



Candidose interdigito-palmaire



Candidose génitale



Sycosis de la barbe

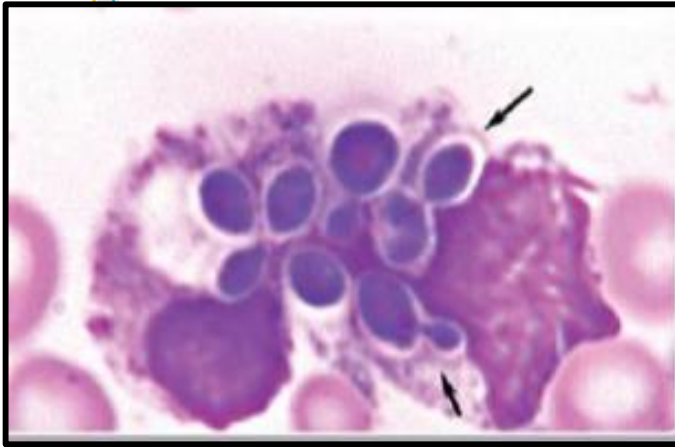


Pityriasis versicolor

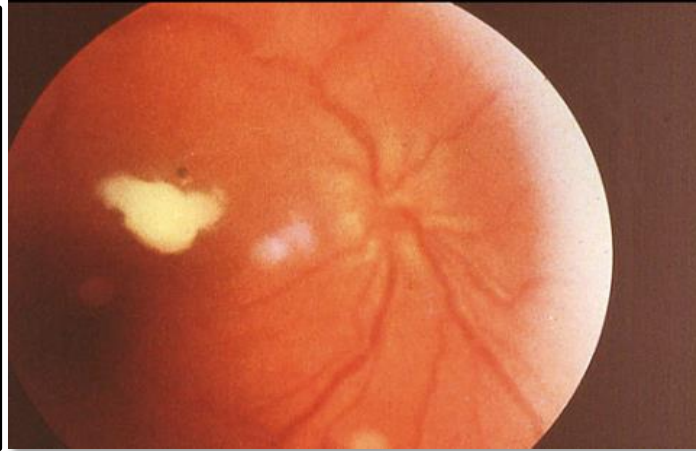


Herpes circiné

Mycoses systémiques/invasives (1)



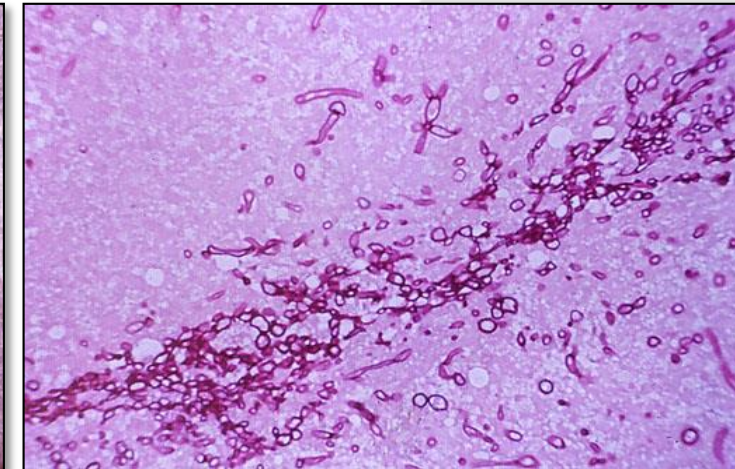
Candidémies



Endophtalmies



Candidoses articulaires



Candidoses hépatiques

Mycoses systémiques/invasives (2)



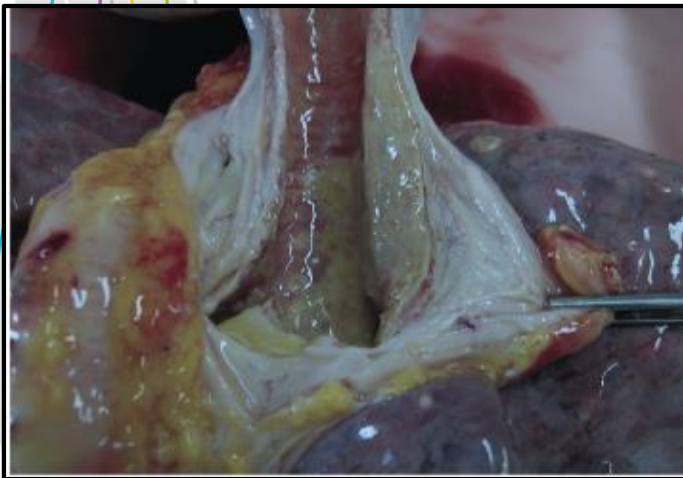
Halo
(valeur majeure)



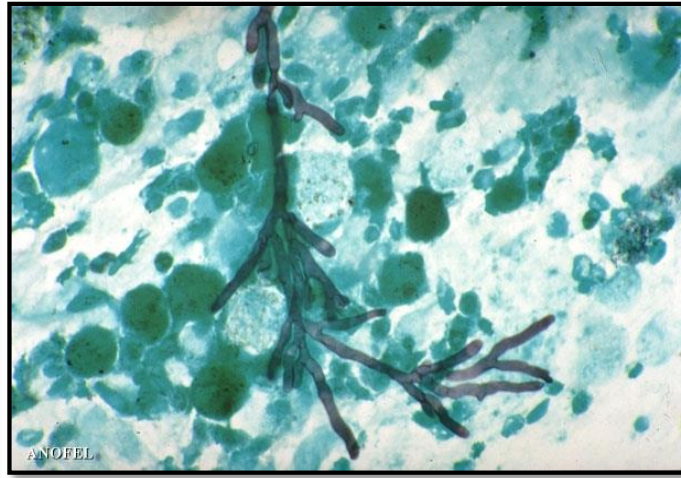
Condensation
(non spécifique)



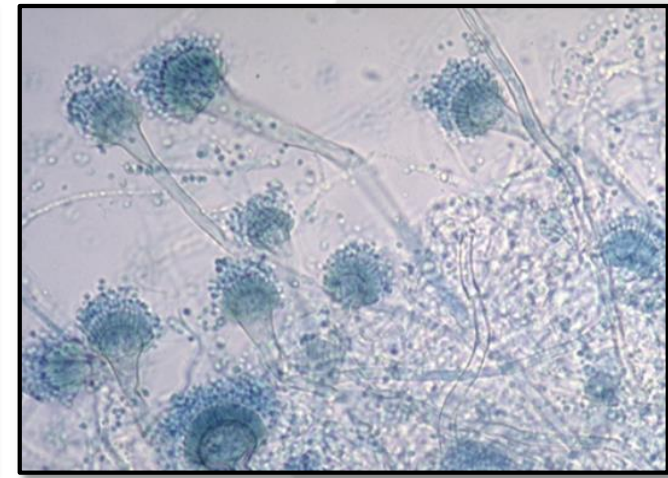
Croissant
(retardé)



Atteinte alvéolaire et bronchique

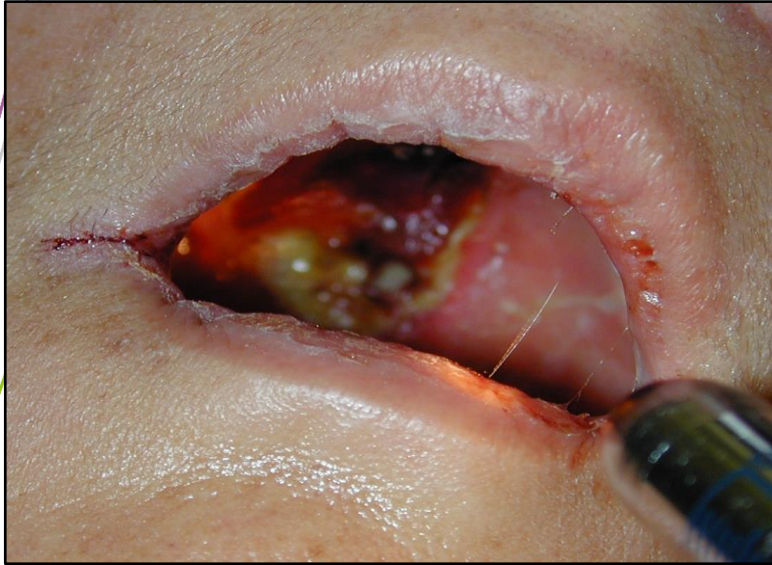


Prélèvement endo-bronchique



Culture d'*Aspergillus fumigatus*

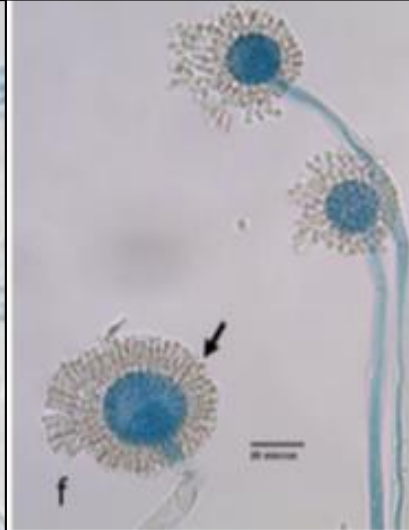
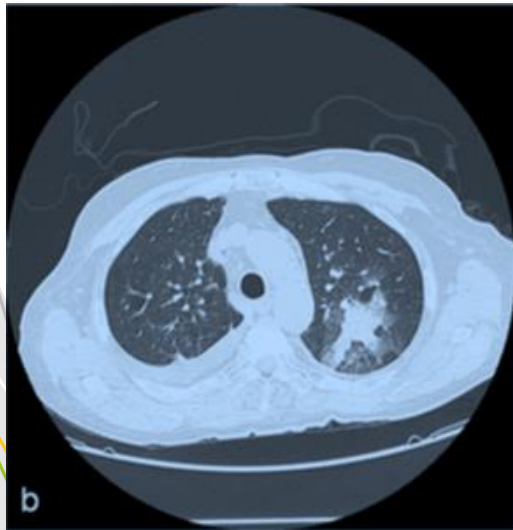
Mycoses systémiques/invasives (3)



Mucormycose rhino-orbito-cérébrales



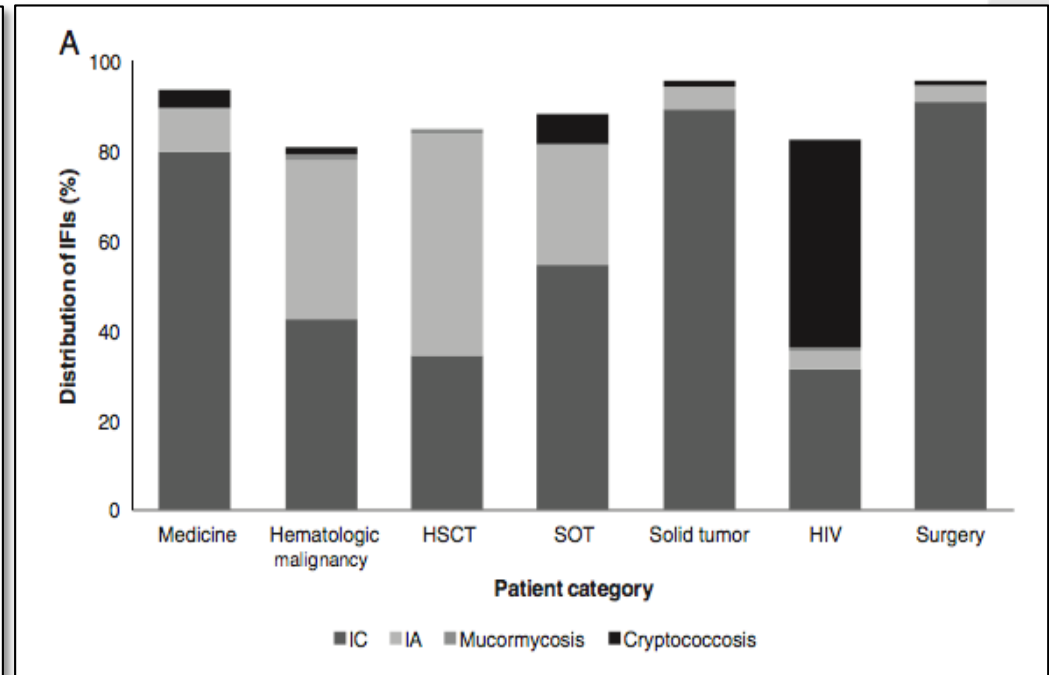
Mucormycose post-traumatique



Mucormycose disséminée

Epidémiologie des infections fongiques invasives

Infections fongiques invasives en USA (PATH ALLIANCE, 6845 cas), 2004-2008 :

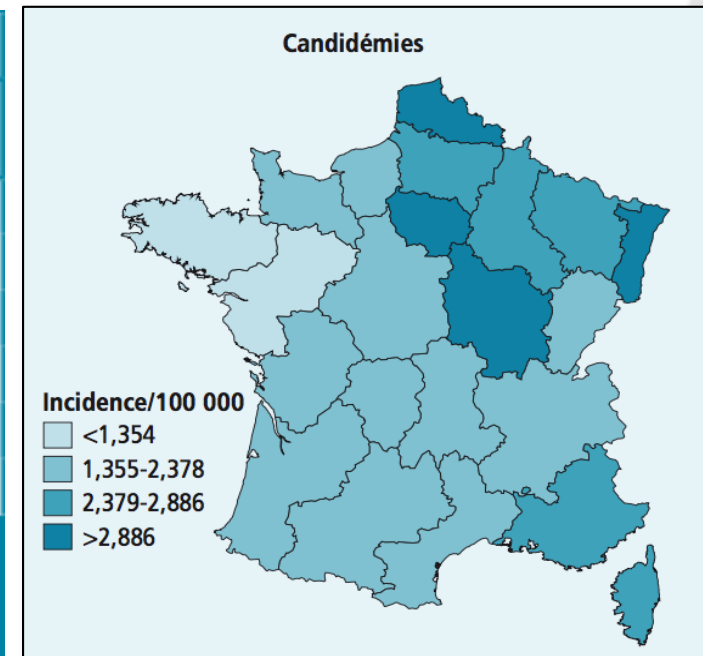


Epidémiologie des infections fongiques invasives

Infections fongiques invasives en France métropolitaine, 2001-2010 :
Cas par type d'infection

	Cas			
	N	Hommes (%)	Âge (ans) Médiane, IQ*	Incidence**
Candidémies	15 559	58,8	64 [51-75]	2,5
Pneumonies à <i>Pneumocystis</i>	9 365	71,3	44 [37-55]	1,5
Aspergilloses invasives ¹	8 563	63,9	58 [45-68]	1,4
Cryptococcoses ²	1 859	72,3	43 [36-55]	0,3
Mucormycoses ³	530	57,7	58 [43-71]	0,1
Total	35 876	63,9	56 [42-70]	5,9

* IQ : intervalle interquartile ; **cas pour 100 000 personnes par an.
¹ Dont 91,7% pulmonaires et 8,3% disséminées.
² Dont 63,8% cérébrales ou disséminées.
³ Dont 50,9% pulmonaires, rhinocérébrales ou disséminées et 16,9% cutanées.



Répartition régionale des candidémies en France métropolitaine, 2001-2010 (moyenne annuelle des taux d'incidence, standardisés selon l'âge et le sexe)

Burden of common life-threatening fungal infections

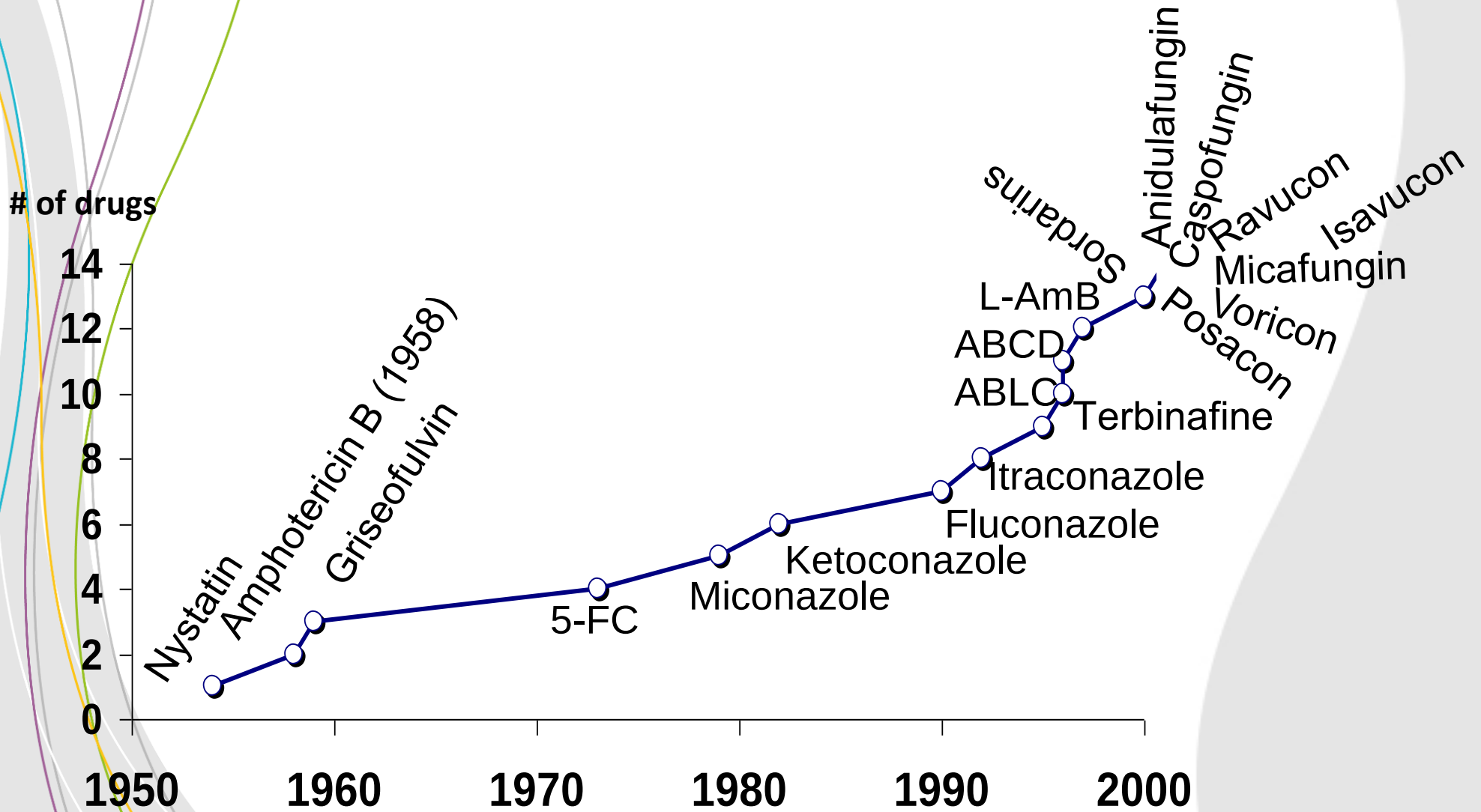
Fungal infection	Number affected	Case fatality rate	Estimated deaths	Comments
Cryptococcal meningitis	370.000 in AIDS	15-20% USA >50% developing world	250.000 in AIDS	CDC estimate
Pneumocystis pneumonia	>400.000 in AIDS >100.000 in non-AIDS	≈15% in AIDS treated ≈50% in non-AIDS	>200.000 in AIDS >50.000 non-AIDS	Most cases in Africa not diagnosed and 100% mortality
Disseminated histoplasmosis	≈100.000	15-30% if diagnosed & treated	>80.000	Most common in the Americas
Invasive aspergillosis	>300.000	≈30% mortality if treated in HIC- in AIDS ≈50% non-AIDS, in HIC	>30.000 in AIDS >125.000 in non-AIDS	Many missed diagnoses globally
Invasive candidiasis	>750.000	≈40% mortality treated	>350.000	
chronic pulmonary aspergillosis	>3.000.000	≈15-40% mortality in HIC ≈ 15% mortality in the developed world	>450.000 in non hospitalized populations	Under-diagnosed and mistaken for tuberculosis
Severe Asthma with fungal sensitisation (SAFS)	>6.500.000	<1% but no good figures	350.000-489.000 ≈50% related to SAFS	Uncertain
Total	≈13.000.000		1.600.000	Probably a significant underestimate



Deaths from fungal infection need to fall

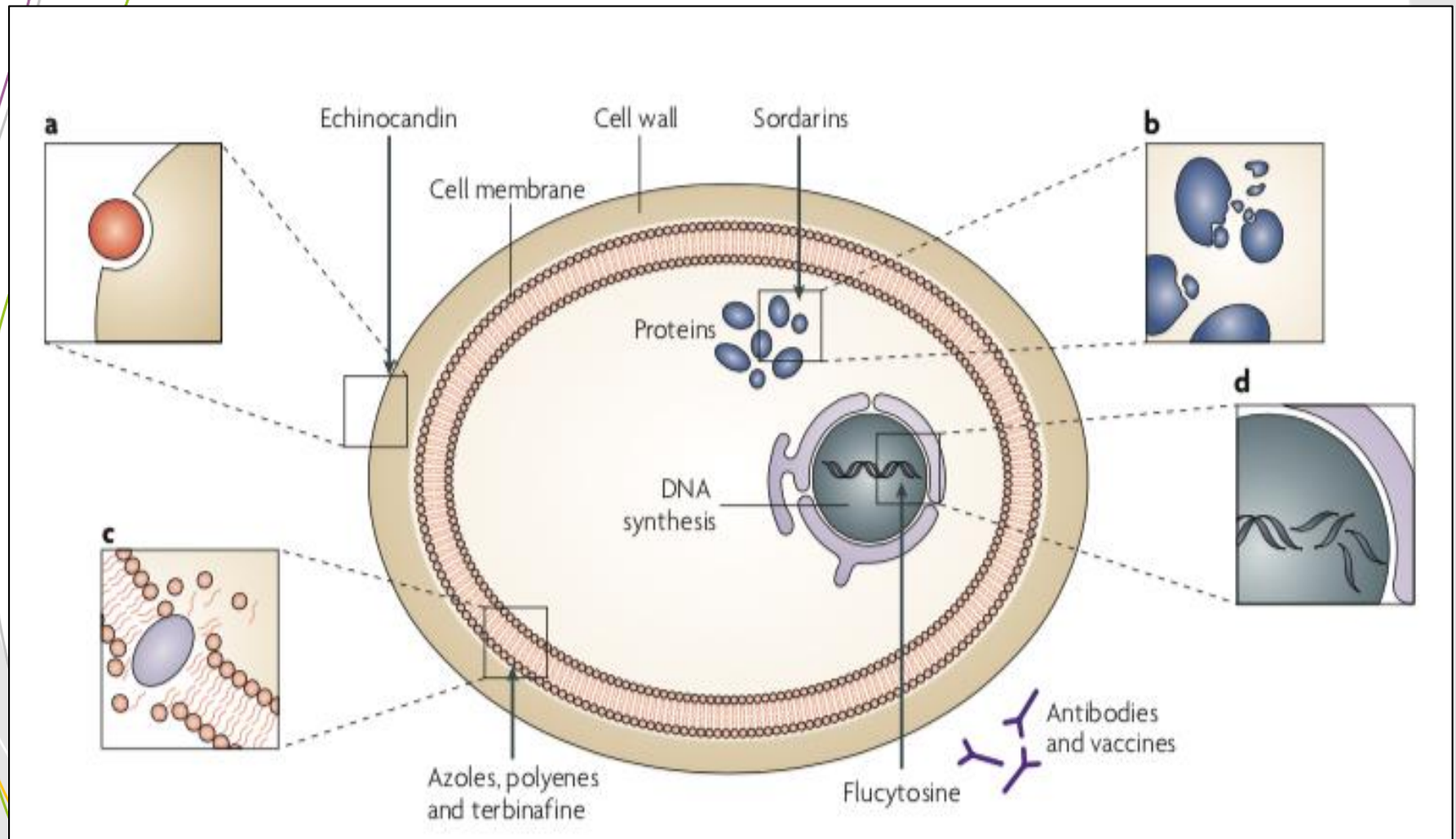
Fungal Infection	TB (2013)	Malaria (2013)
>1,600,000	1,500,000	627,000

Evolution chronologique de l'arsenal antifongique

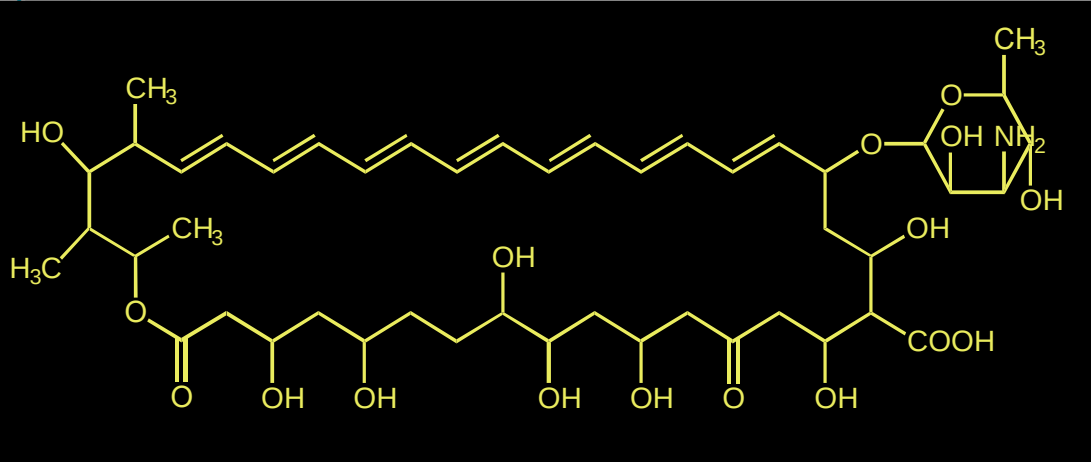


Adapted from Rex JH, ECCMID 2003

Cibles des traitements antifongiques



Adapté de Ostrosky-Zeichner, L Nat Rev Drug Disc, 2010

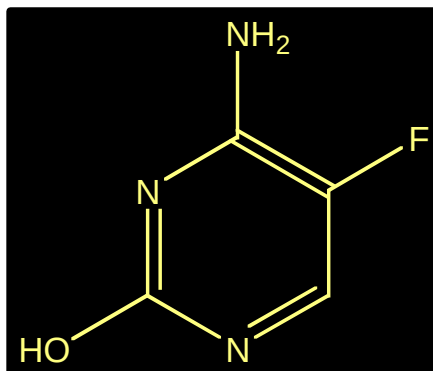


Polyènes – Amphotéricine B

Spectre d'activité très large

Mode d'action	Spectre antifongique	Activité limitée
- Interaction avec l'ergostérol membranaire. Formation de Pores... fuite des électrolytes intracellulaires - Activité de peroxydation des lipides membranaires et Intracellulaires . Fongicide <i>in vitro</i>	<i>Candida</i> spp. ✓ <i>Cryp . neoformans</i> ✓ <i>Aspergillus</i> spp. ✓ Dermatophytes Autres champignons* ✓ * Levures noires, Phaeohyphomycètes Dimorphiques, mucorales	<i>Candida lusitaniae</i> <i>Trichosporon</i> spp. <i>Aspergillus terreus</i> +/- <i>Fusarium</i> spp. +/- <i>Scedosporium</i> spp.

Analogues de pyrimidine- 5-fluorocytosine



Spectre antifongique

<i>Candida</i> spp.	✓
<i>Cryp. neoformans</i>	✓
<i>Aspergillus</i> spp.	
Dermatophytes	
Autres champignons	

Mode d'action

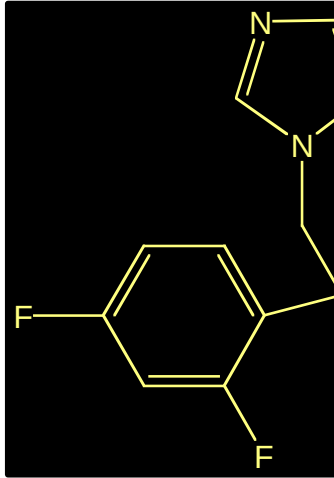
Inhibe la synthèse
d'ADN et d'ARN
(5-fluorouracil)
Fongistatique *in vitro*

Utilisation clinique

Administration orale et IV.
Résistance possible
généralement utilisée en
association avec d'autres
antifongiques

Toxicité médullaire
occasionnelle

Antifongiques Triazolés- Fluconazole



Spectre antifongique

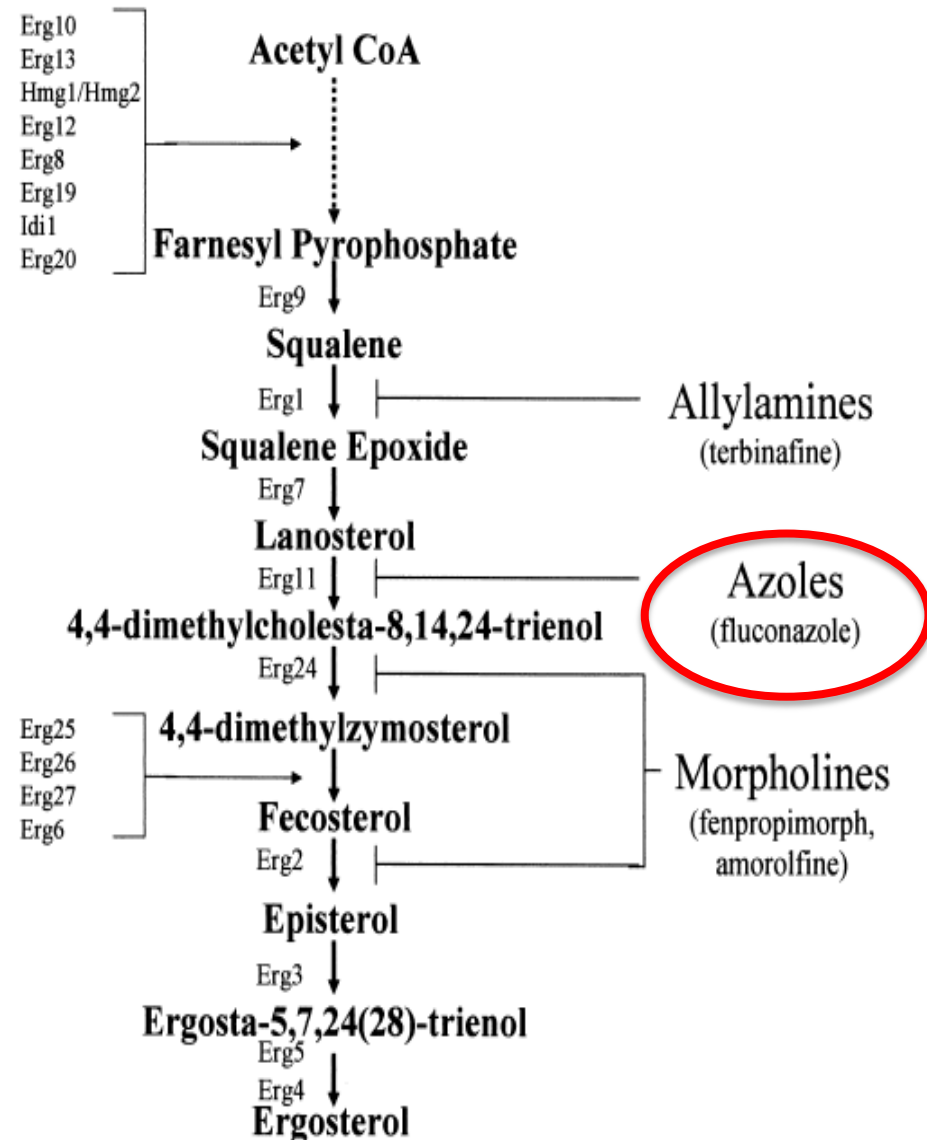
* <i>Candida</i> spp.	✓
<i>Cryp. neoformans</i>	✓
<i>Aspergillus</i> spp.	
Dermatophytes	✓
Autres champignons	?

Mode d

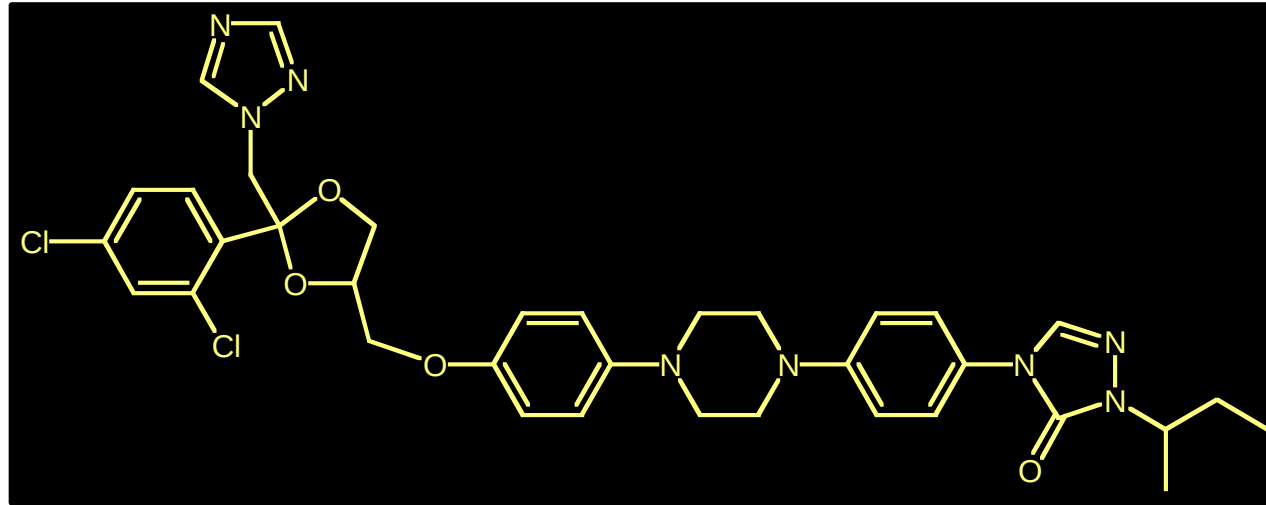
Inhibe 14 α -
demethyla
(cytochrom
Fongistatiqu

*Variable selon l'espèce :

C. albicans, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* (
C. Krusei et certaines souches de *C. glabrata* : ré



Antifongiques Triazolés- Itraconazole



Spectre antifongique

<i>Candida</i> spp.	✓
<i>Cryp. neoformans</i>	✓
<i>Aspergillus</i> spp.	✓
Dermatophytes	✓
Autres champignons	✓

Mode d'action

Inhibe 14 α -sterol
demethylase
(cytochrome P450)
Fongistatique *in vitro*

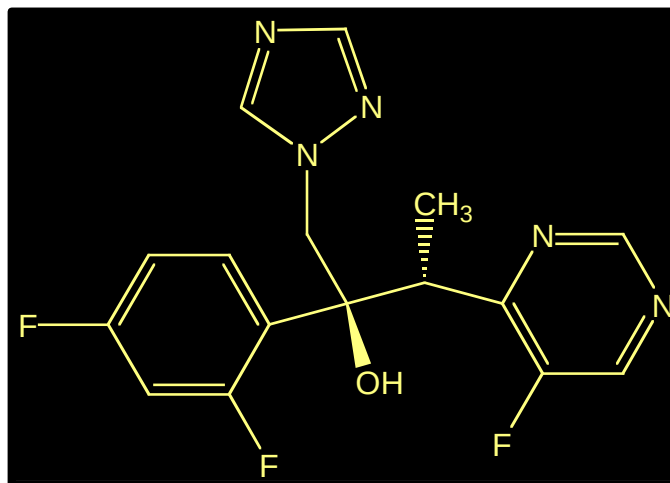
Utilisation clinique

Admin orale

Résistance croisée :
Espèces fluco-R

Pas d'efficacité sur : *Fusarium* spp., Mucorales

Antifongiques Triazolés— Voriconazole



Spectre antifongique

<i>Candida</i> spp.	✓
<i>Cryp. neoformans</i>	✓
<i>Aspergillus</i> spp.	✓
Dermatophytes	✓
Autres champignons	✓

Absence d'efficacité :
Certaines souches de *C. glabrata*
Mucorales

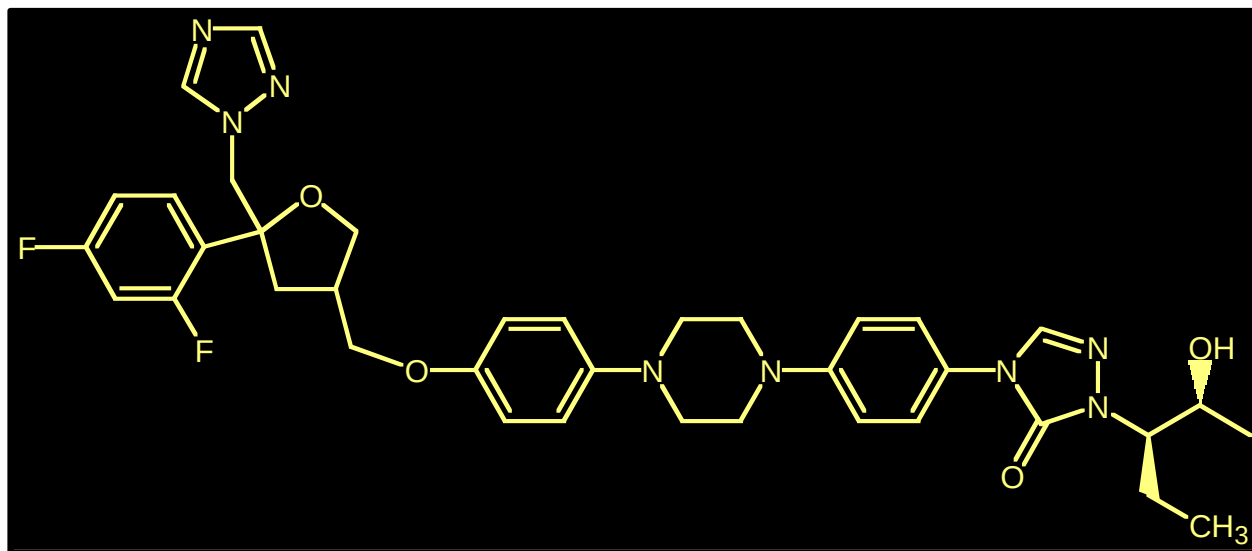
Mode d'action

Inhibe 14 α -sterol
demethylase
(cytochrome P450)
Généralement
Fongistatique *in vitro*
avec une activité
Fongicide *in vivo* vs.
certaines espèces

Utilisation clinique

Admin. Orale, IV
Activité = ou > à celle
de l'itraconazole
Activité sur certains
Fusarium spp.
Qqs troubles visuels
Transitoires,
photosensibilisation

Antifongiques Triazolés— Posaconazole



Spectre antifongique

<i>Candida</i> spp.	✓
<i>Cryp. neoformans</i>	✓
<i>Aspergillus</i> spp.	✓
Dermatophytes	✓
Autres champignons	✓

Abs. d'efficacité : certaines souches de *C. glabrata*.

Mode d'action

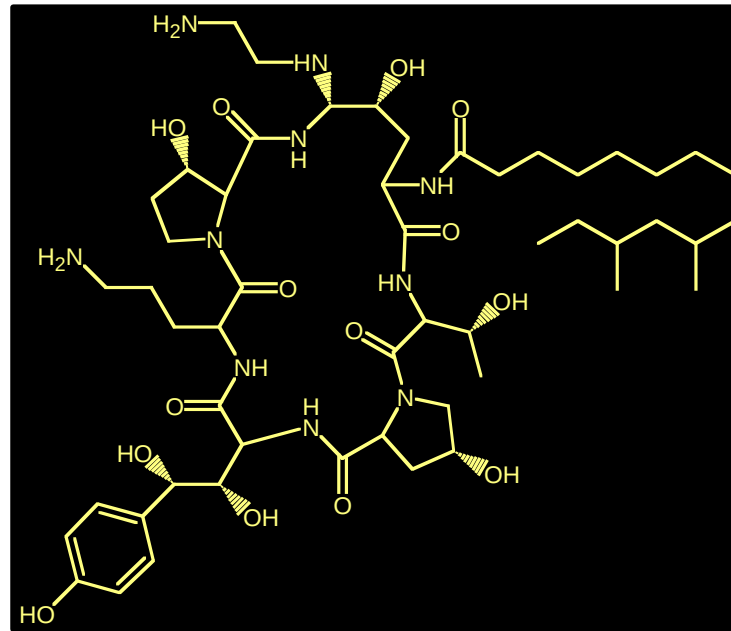
Inhibe 14 α -sterol demethylase (cytochrome P450)

Utilisation clinique

Admin- susp./tablets, IV
Activité +++ contre
Candida fluco-resistant
Alternative contre:
Zygomycoses
Fusarioses

Echinocandines — Caspofongine

Lipopeptide, dérivé
semi- synthétique de
la pneumocandine B,
produit naturel de la
fermentation de
Glarea lozoyensis



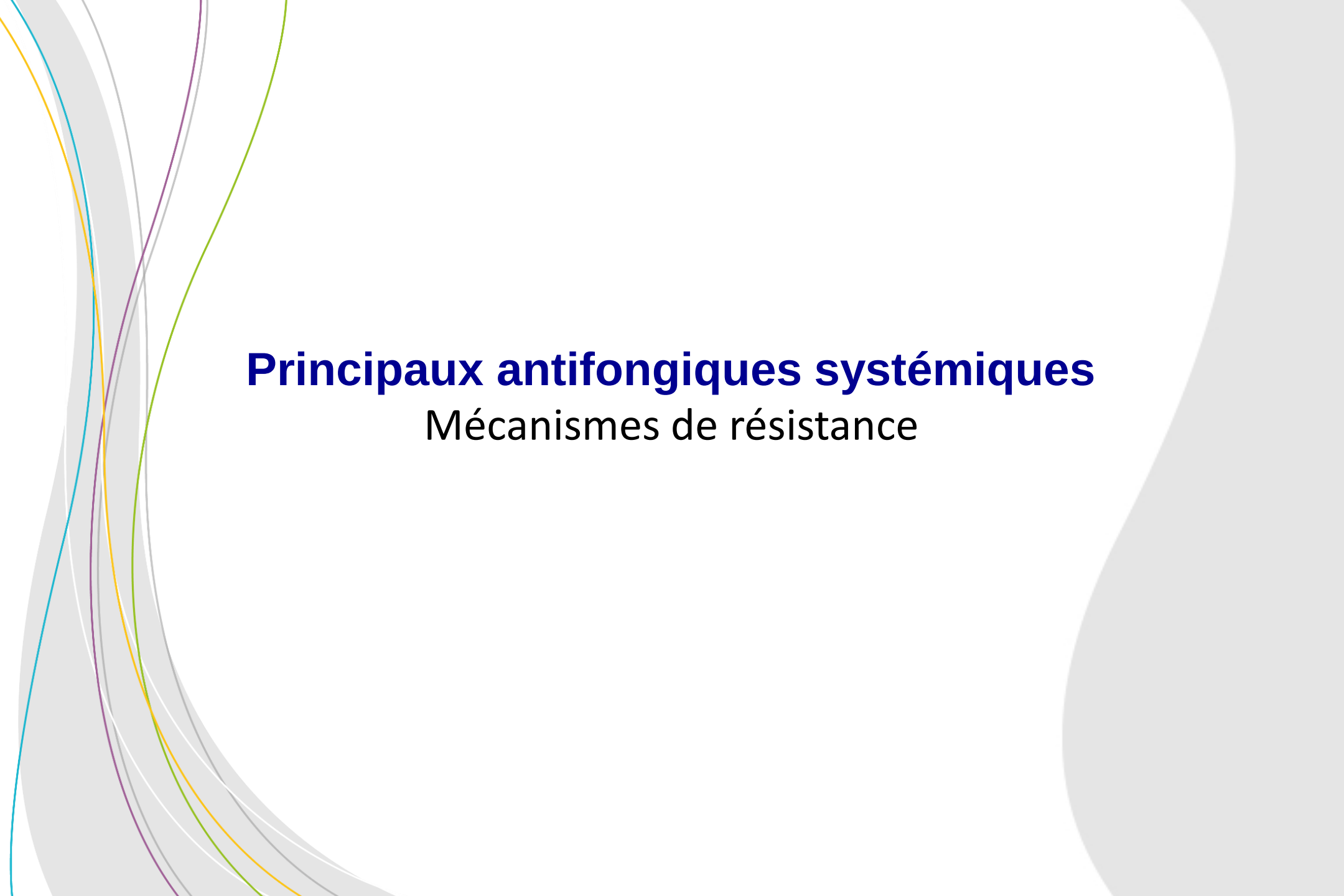
Mode d'action

Inhibe la synthèse
du β -D glucanes de
la paroi

Fongicide vs. levures,
Peut être fongistatique
Contre *Aspergillus* spp.

Utilisation Clinique.

Administration IV Proposé en traitement des aspergillose réfractaire à une 1ère ligne d'antifongique; 1ere ligne : candidose



Principaux antifongiques systémiques

Mécanismes de résistance

Mécanismes de résistance

Amphotéricine B

Résistance rare liée :

- Résistance due à des modifications membranaires (accès à l' ergostérol)
- Diminution de l'ergostérol membranaire;
- Remplacement de l'ergostérol par d'autres stérols, déficit de delta-isomérase

Espèces concernées :

Candida lusitaniae

C. haemulonii et *C. pseudohaemulonii*

C. auris

Trichosporon spp.

Aspergillus terreus

+/- *Fusarium spp.*

+/- *Scedosporium spp.*

Mécanismes de résistance

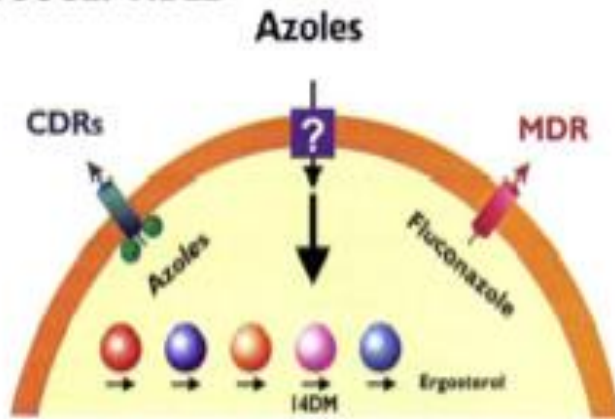
5-FC

- Résistance liée aux mutations de la cytosine perméase (gène FCY1)
- Résistance due aux mutations des gènes codant pour les enzymes qui métabolisent la 5-fluorocytosine (5-fluoro-cytosine désaminase -gène FCY1- ou UMP pyrophosphorylase)
- Espèces concernées :
 - C. krusei*,
 - Candida albicans* sérotype B
 - Candida tropicalis*

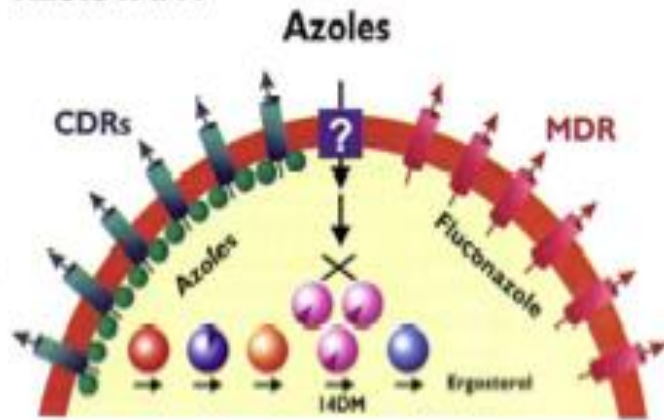
Mécanismes de résistance

TRIAZOLES

SUSCEPTIBLE



RESISTANT



- 1- Surproduction de la cible CYP51 codée par le gène ERG11
 - Augmentation de la transcription de *erg11* surexpression
 - Amplification génique (duplication en plusieurs copies) de ERG11
- 2 - Modification de la cible : diminution de l'affinité pour le triazolé
 - Mutations ponctuelles du gène *erg11*
- 3- Systèmes d'efflux*
 - 2 familles de transporteurs membranaires sont impliqués dans la résistance aux antifongiques azolés CDR, MDR
- 4- Voie de synthèse d'ergostérol
 - diminution de l'affinité de la delta-5,6- désaturase (codée par le gène *erg3*)

Mécanismes de résistance

Echinocandines

Résistance liée aux mutations de la beta-1,3-D-glucane synthase codée par le gène *fks*).

→ Une baisse de l'affinité de l'enzyme
Pour les candines

Espèces concernées :

Résistance et sensibilités diminuées
Intrinsèques décrites chez *C. parapsilosis*,
C. guilliermondii

Plusieurs isolats avec des résistances acquises :

C. glabrata, *C. albicans*, *C. tropicalis*,
C. krusei, *C. lusitaniae*

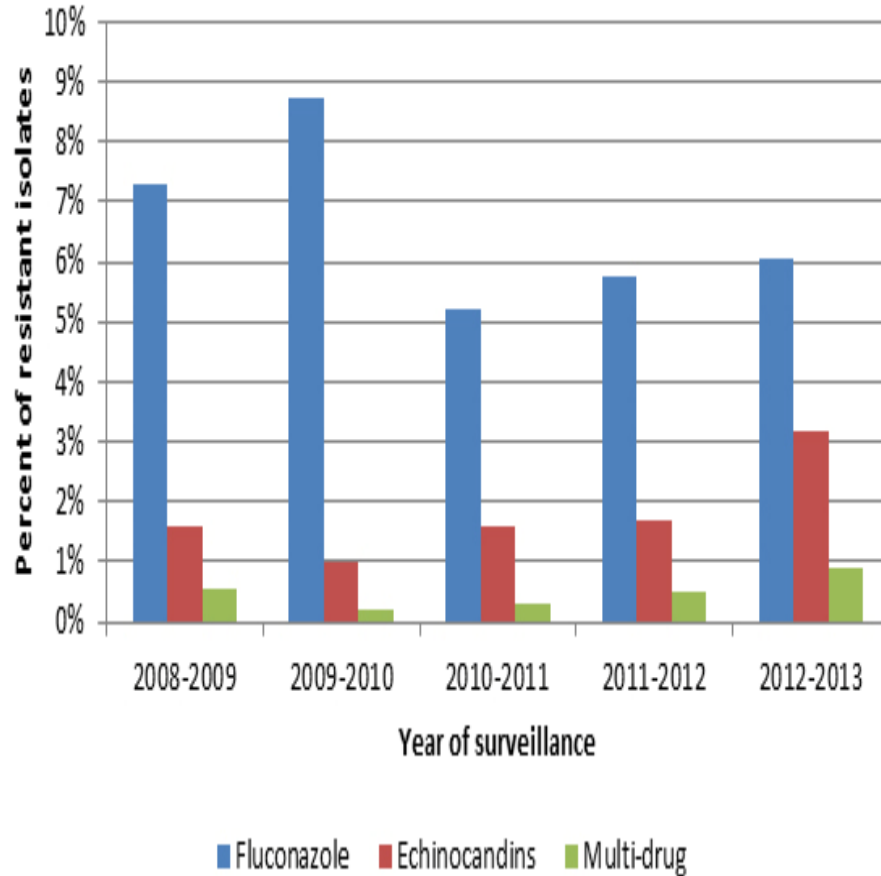
Région de 9 AA du gène *fks*



Hot-spot 1 de *fks1* chez *C. albicans* et
C. Krusei

Hot-spot 1 de *fks1* et *fks2* de *C. glabrata*

Epidémiologie de la résistance – Espèces *Candida*



Resistance au FLUCO se stabilise

Résistance aux échinocandines (+77%)

C. glabrata représente 74% des isolats résistants

Multirésistance = 17 isolats (<1%),
C. glabrata

Attention *C. auris* : résistance panantifongique

Détermination systématique de la sensibilité aux ATF si exposition préalable

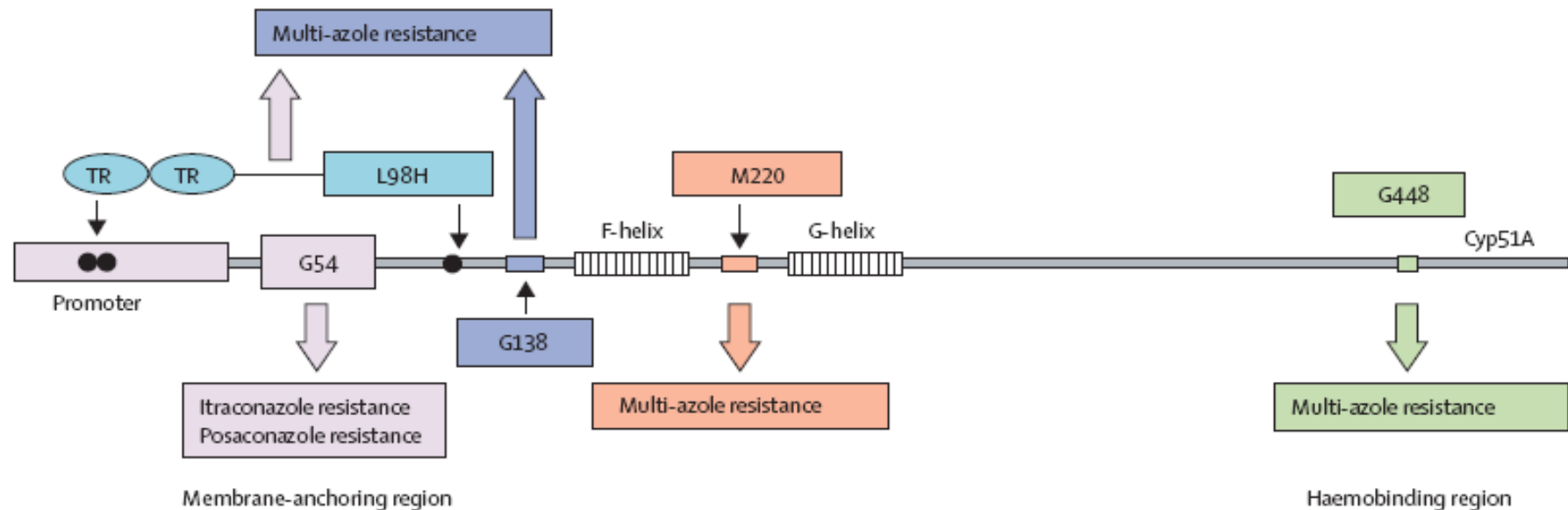
Mécanismes de résistance des *Aspergillus* aux triazolés



Aspergillus – Azole resistance

Verweij, PE., et al. *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 789–95

Mutations au niveau du gène Cyp51 et de son promoteur

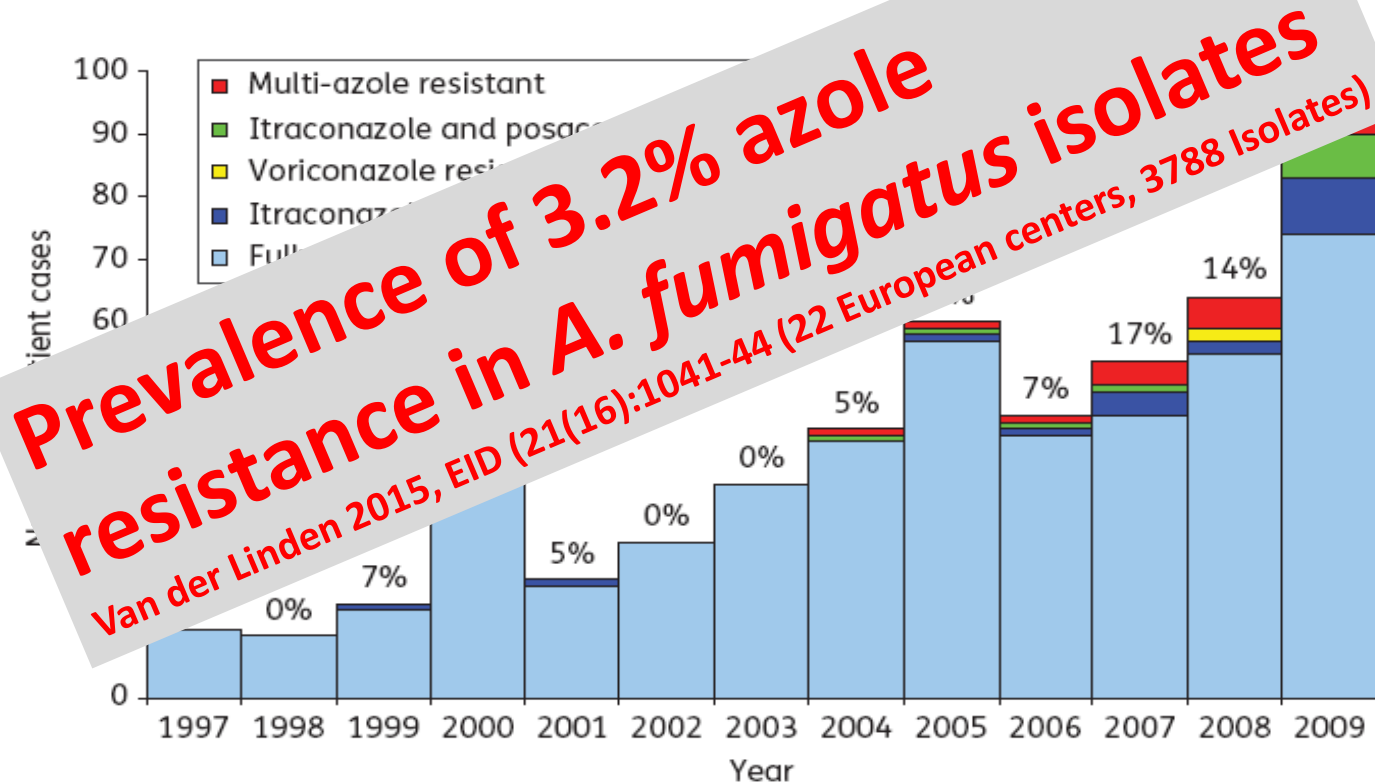


G54: Glycine
M220: Methionine, subs G138C
G448
Tandem repeat TR : transcript. Enhancer

Subst.	ITRA	POSA	VORI
G54W	>16	>16	0,25
G54E	>16	0,25	0,25
M220K	>16	>16	0,25
TR/L98H	>16	1	4
TR46	6	2	32

A. fumigatus – Résistance aux azolés

- ❑ Resistance à l'itraconazole décrite à partir de 1997: US¹, Suède², ...³, Pays Bas⁴, ...
- ❑ Augmentation de la fréquence: UK^{5,6}



1. Denning, D. W., et al. 1997. *AAC* 41:1364-8.

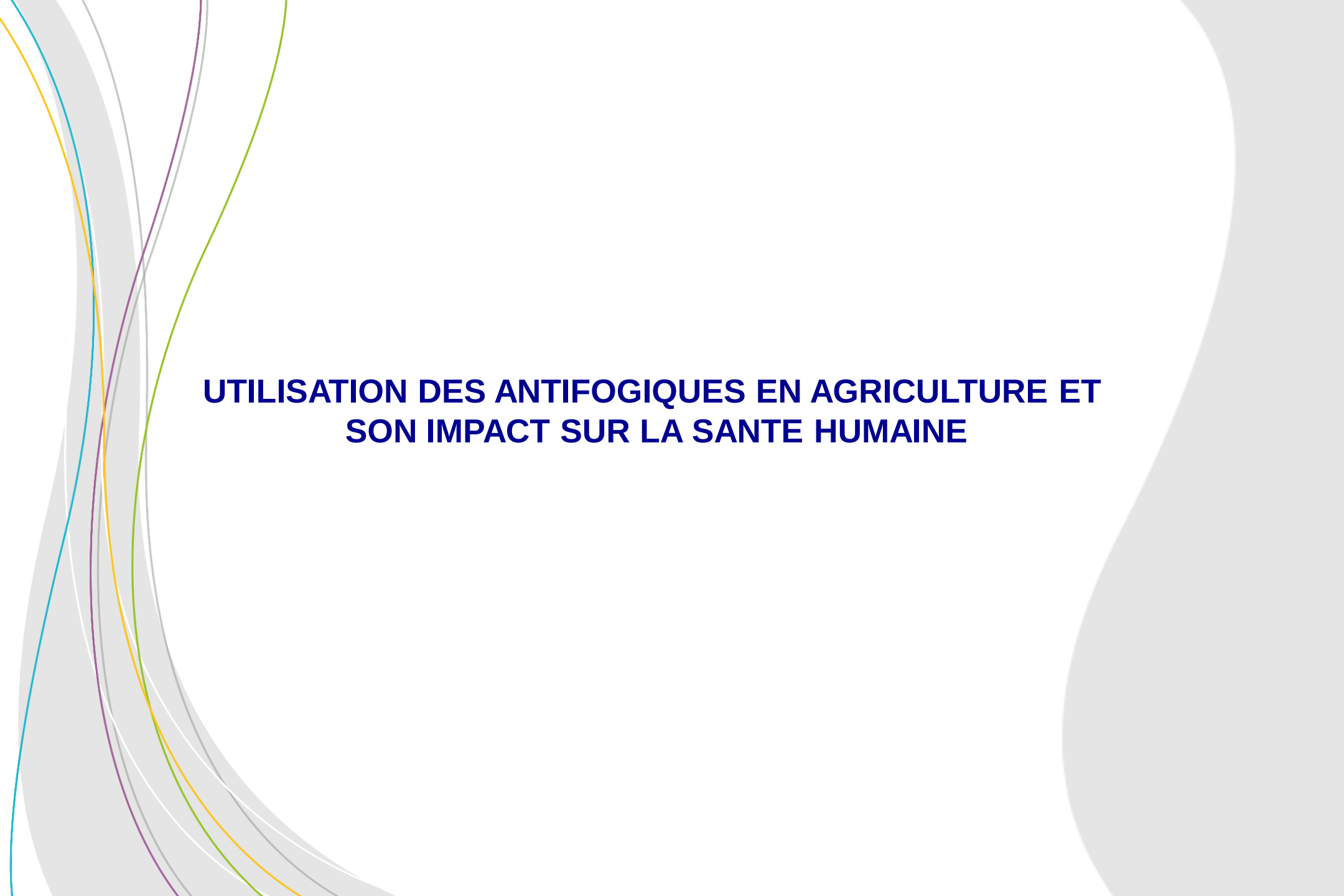
2. Chrysanthou E. *Scand J Infect Dis.* 1997;29:509-12

3. Dannaoui, E., et al. 2001. *JAC* 47:333-40.

4. Warris, A., et al. 2002. *NEJM* 347:2173-4.

5. Bueid, A. et al. 2010. *JAC* 65:2116-8.

6. Howard SJ. Et al. *EID* 2009 15:1068-76

The background features several thin, curved lines in blue, orange, purple, and green on the left side, and a large, light gray organic shape on the right side.

UTILISATION DES ANTIFOGIQUES EN AGRICULTURE ET SON IMPACT SUR LA SANTE HUMAINE

Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use?

Paul E Verweij, Eveline Snelders, Gert H J Kema, Emilia Mellado, Willem J G Melchers

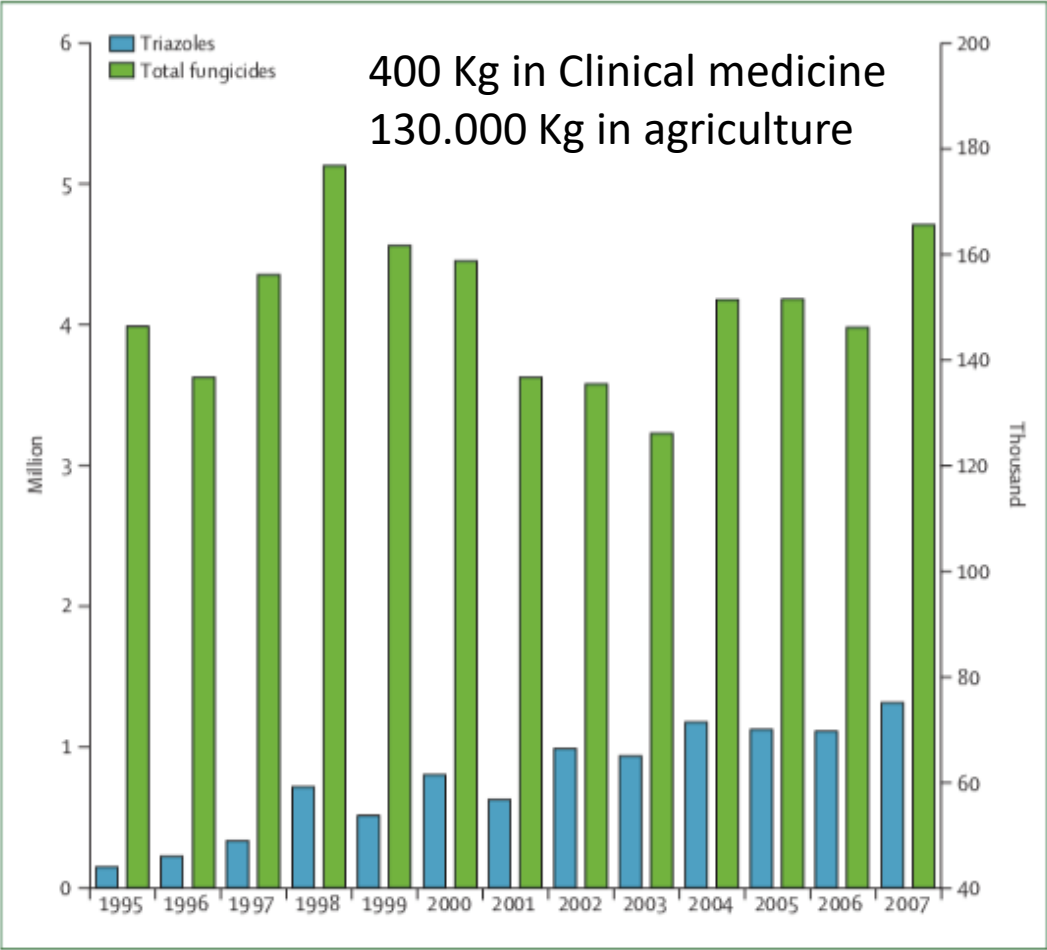
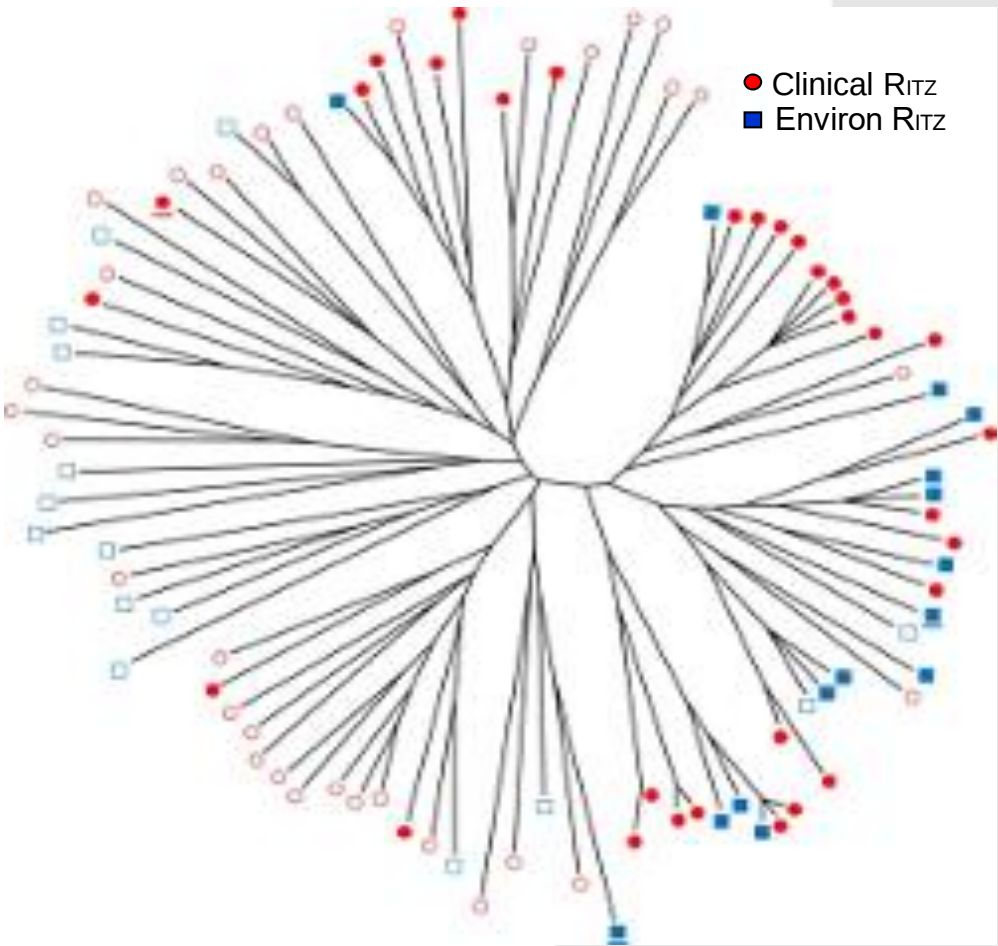


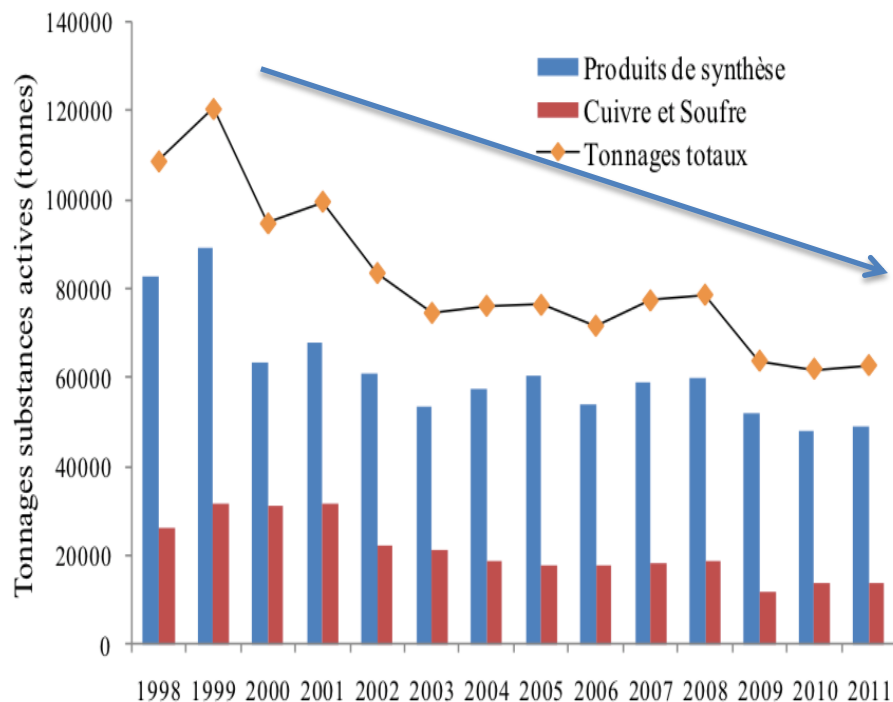
Figure 2: Total volume of fungicides and triazoles sold in the Netherlands between 1995 and 2007
Data from the Dutch Foundation for Phytofarmacy (Nefyto, Nederlandse Stichting voor Fytofarmacie).



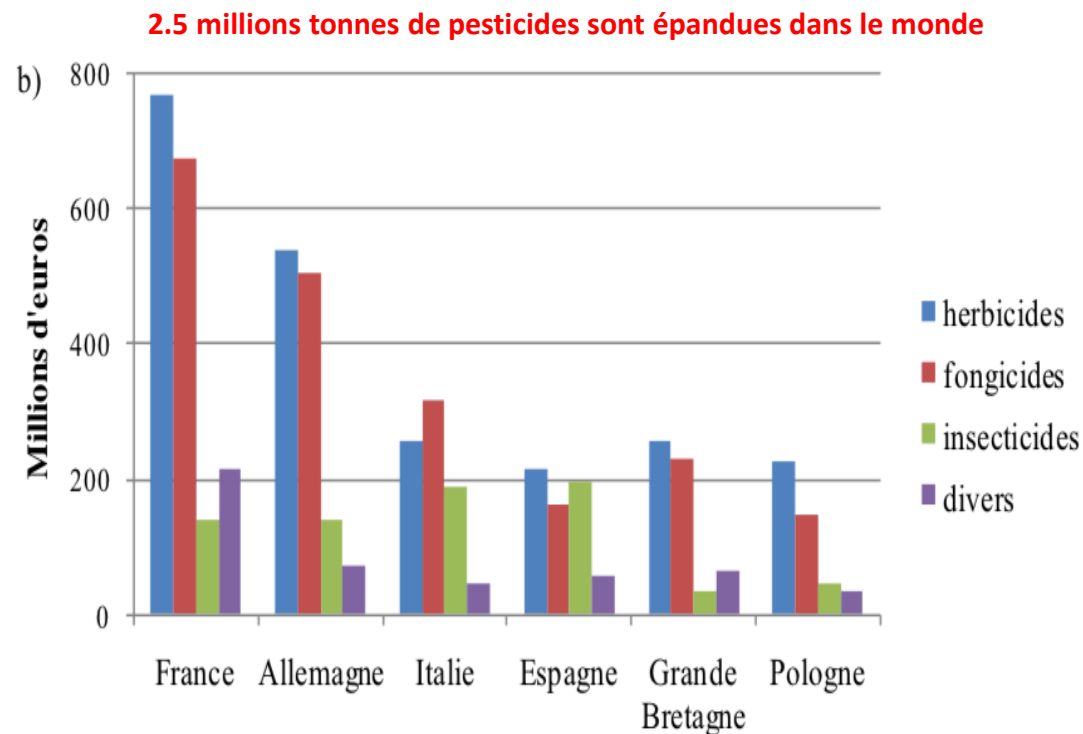
Verweij, PE., et al. 2009. Lancet Infect Dis 9: 789; Snelders E. et al. 2009. Appl. Environ. Microbiol. 75:4053;
Enserink M. 2009. Science 326:1173

Les pesticides en agriculture

La France occupe la première place des pays européens



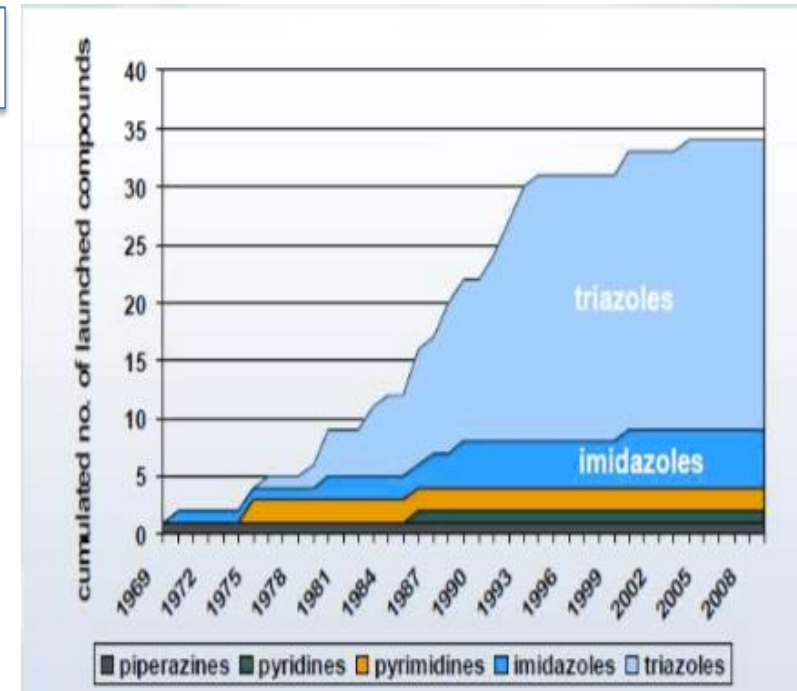
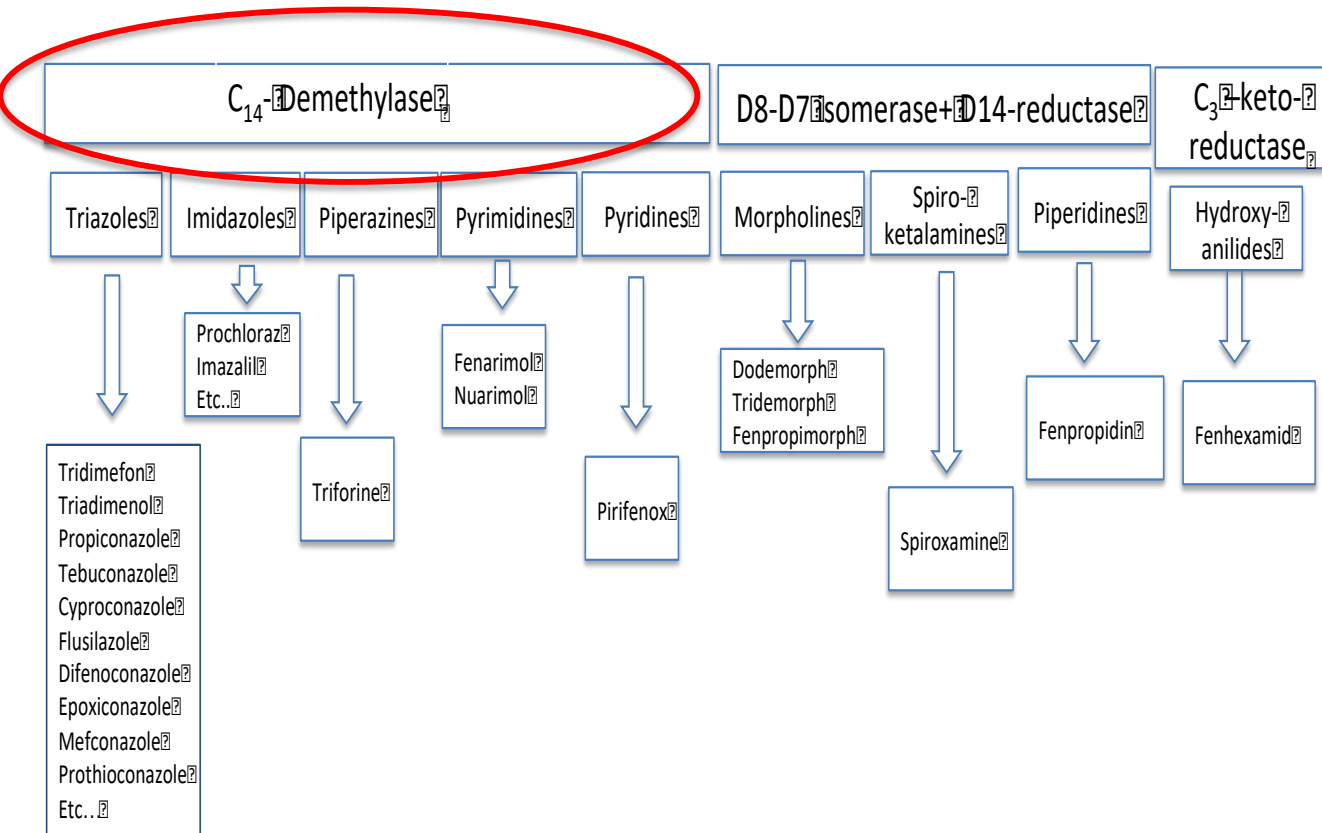
**Tonnages des substances actives vendues
En France de 1998 à 2011 (source UIPP)**



**Etat du marché des pesticides au niveau européen
(source UIPP)**

Les fongicides en agriculture

Les triazolés : Spectre large, bon profil écotoxicologique, usage systémique



25 fongicides triazolés commercialisés entre 1976 et 2004



Résistance aux antifongiques triazolés

La septoriose à *Mycosphaerella graminicola* (*Zymoseptoria tritici*)

Un modèle d'étude

- Première observation de résistance aux azolés en 1993
- Augmentation depuis 2007 vis à vis du tébuconazole
- Profil de résistance variable en fonction du fongicides et déterminé par le type de mutation sur ERG11/CYP51

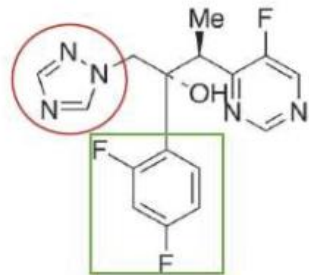
CYP51 variant	Tebuconazole ¹	Epoxiconazole ²	Prochloraz ³
Wild-type	S	S	S
V136A,S188N &Δ	S	I	R
L50S, V136A &Y461H	S	I	R
L50S, S188N, A379G, L381V, Δ & N513K	R	R	S
L50S, 138V & Y461H	I	I	I

¹Leroux *et al.* Pest Management Sciences, 2007

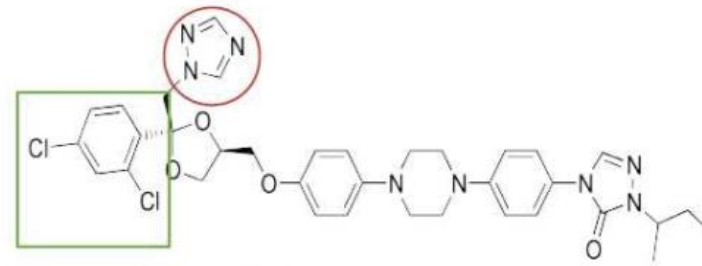
²Leroux *et al.* Pest Management Sciences, 2000

³Cools HJ *et al.* Applied Environmental Microbiol, 2011

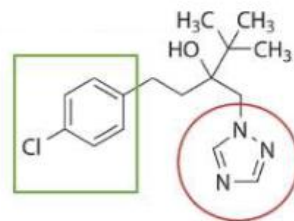
Analogie structurale entre fongicides triazolés utilisés en clinique humaine et en agriculture



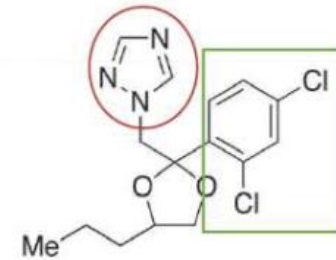
Voriconazole



Itraconazole



Tébuconazole



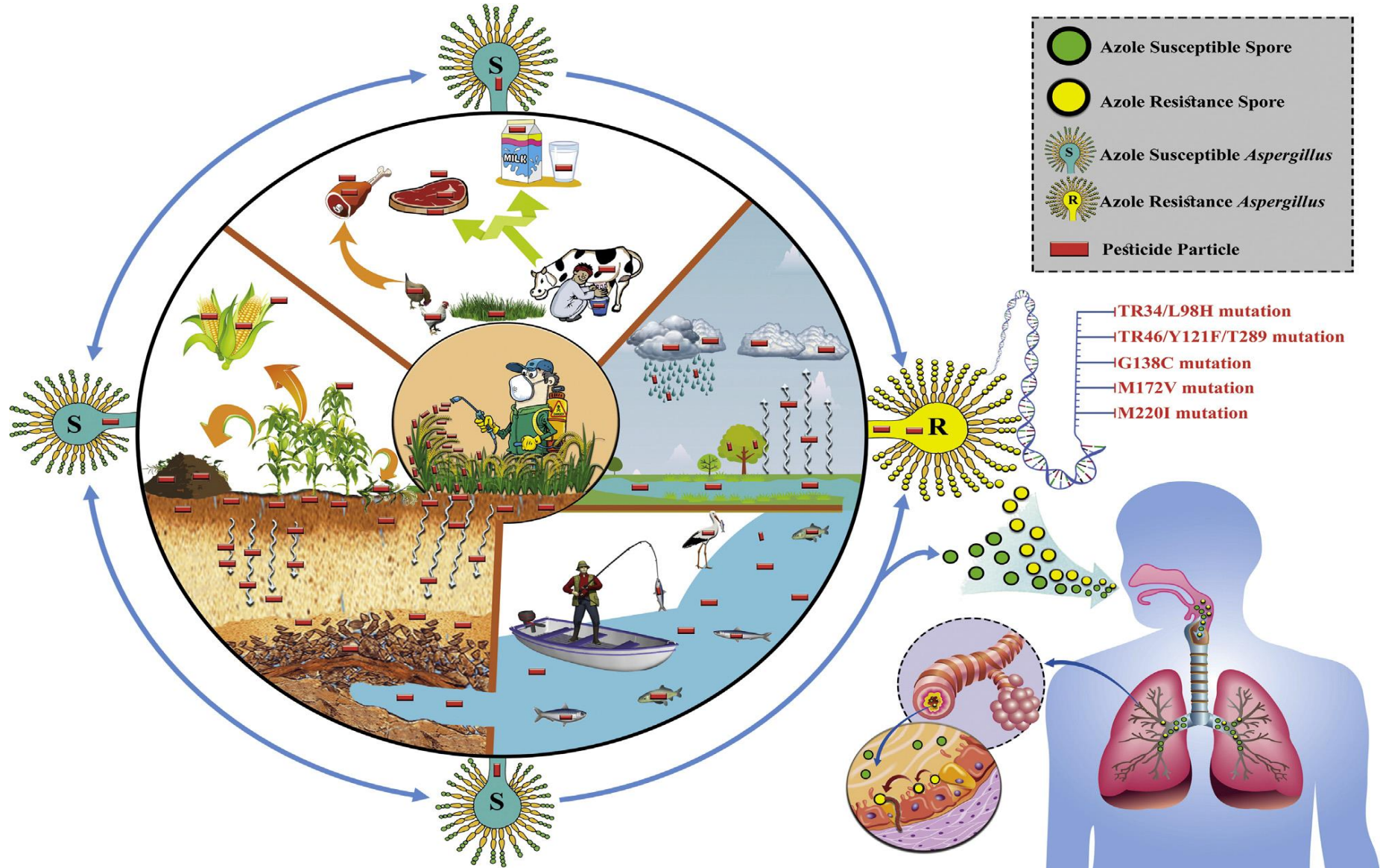
Propiconazole

Analogie structurale à l'origine de résistance croisée entre fongicides cliniques et DMI

Activity of medical triazoles and five DMI against clinical and environmental *A. fumigatus* isolates with different *cyp51A* mediated resistance mechanisms.

Resistance mechanism			Median MIC (mg/l)							
<i>cyp51A</i> gene*		# isolates	Medical triazoles*			DMIs				
Promoter region	Coding region		ITC	VCZ	POS	Bromuconazole	Difenoconazole	Epoxiconazole	Propiconazole	Tebuconazole
34 bp TR	L98H	38	>16	4	0.5	16	16	>16	>16	16
46 bp TR	Y121F, T289A	1	2	>16	0.5	>16	>16	>16	>16	16
53 bp TR	–	1	>16	16	0.25	16	>16	>16	>16	16

The relationship between pesticide residue and development of azole resistance *Aspergillus fumigatus*.
Vaezi et al, J Mycol Med 2017



CONCLUSION

- La résistance aux antifongiques est une réalité clinique et un problème de santé publique
- La résistance acquise chez les levures est souvent le résultat d'une pression de sélection liée à une exposition préalable, d'où l'intérêt de « switcher » de famille si suspicion de résistance
- Les moisissures (*Aspergillus* et les autres) partagent le même environnement que les champignons phyto-pathogènes: attention à l'utilisation abusive des triazolés, responsables de l'émergence de clones cliniques résistants.
- La nécessité de développer de nouvelles stratégies pour lutter contre les champignons phyto-pathogènes pour réduire l'utilisation des fongicides

Remerciements

-Equipe 2, Inserm UMR 995 :



- Dr PM Danzé, AS Drucbert (CHRU de Lille, Plateforme SPR)

- Drs E Maes, B Coddeville, F Krzewinski, N Yamakawa N, Y Guérardel Y (Plateforme PAGés, Université de Lille)

- Dr A SIAH (ISA Lille)



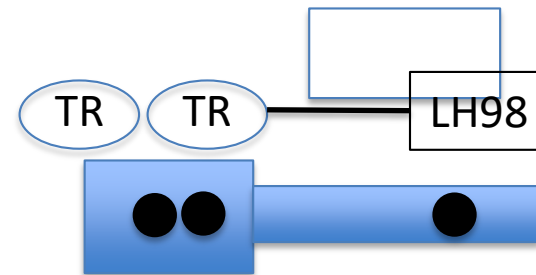
Gembloux Agro-Bio Tech
Université de Liège



Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use ?

- Acquisition de souches résistantes « de novo » à partir d'un réservoir environnemental démontrée

- 90% des isolats résistants possèdent la mutation TR34/LH98



- Localisation de substitutions sur les mêmes acides aminés que *M. Graminicola*

	V101		V121*		G138	Q141	H147	
<i>A. fumigatus</i>	VNAEEVYSPL	TTPVFGSDVV	YDCPNSKLME	QKKFIKYGLT	QSALES	WPL	150	
<i>M. graminicola</i>	VNAEEIYSPL	TTPVFGKDW	YDCPNSKIME	QKKFVKYGLT	TSALQSYVTL			
	S400				E427	G432	G434	
<i>A. fumigatus</i>	AI	SDEHFPNA	GCWDPHRWEN	QATKEQEN..	D	FVVL	YGA	436
<i>M. graminicola</i>	SRMDEHFPDC	LHWEPHRWDE	SPSEKYKHL	PTTALGSIAE	EKEI	YGLV		

Mécanismes de résistance

TRIAZOLES

Espèces concernées :

Fluconazole

Profil de résistance par ordre décroissant :

C. krusei, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*

Pas d'activité sur les champignons filamenteux

Itraconazole

Résistance fréquente chez *Candida non-albicans*

Pas d'activité sur Mucorales et *Fusarium sp.*

Voriconazole

Ne couvre pas les mucorales et certaines souches de *C. glabrata*

Posaconazole

Ne couvre pas certaines souches de *C. glabrata*

Isavuconazole

non rapportée

Aspergillus – résistance aux triazolés

Cyp51 A mutations in Europe : multicenter study involving 22 Centers and 3788 *A. fumigatus* isolates

Table 2. Acquired resistance mechanisms from each country in *cyp51A* gene in 47 *Aspergillus fumigatus* isolates with an azole-resistant phenotype

Country	No. azole-resistant isolates, n = 47	TR ₃₄ /L98H or TR ₄₉ /Y121F/T289A mechanism (no. isolates)	Other mutations (no. isolates)	No. isolates without Cyp51A-mutations
Austria	2	TR ₃₄ /L98H (2)	0	0
Belgium	8	TR ₃₄ /L98H (7)	F46Y/M172G (1)	0
Denmark	6	TR ₃₄ /L98H (6)	0	2
France	4	TR ₃₄ /L98H (1)	G54R (1)	2
Italy	5	TR ₃₄ /L98H (5)	0	0
The Netherlands	7	TR ₃₄ /L98H (4)	0	0
		TR ₄₉ /Y121F/T289A (3)		
Spain	1	No isolates	0	1
Sweden	1	No isolates	F46Y/M172G	0
United Kingdom	3	No isolates	P381R/D481E (1), L329V (1), M220K (1), L77V/L399I/D481E (1), M220I (3), M220R (1), G54R (1), G54E (1), G54W (1)	2
Resistant isolates, %	100	55.3	29.8	14.9

Prevalence of 3.2% azole resistance in *A. fumigatus* isolates
 Van der Linden 2015, EID (21(16): 1041-1044 (22 European centers, 3788 isolates)

Epidémiologie des infections fongiques invasives

The Changing Epidemiology of Invasive Fungal Infections

Table 1
Risk factors associated with invasive fungal infections

<i>Candida</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Scedosporium</i>
• Acute necrotizing pancreatitis • Abdominal surgery; anastomotic leak or repeat laparotomies • Broad-spectrum antibiotics • CVCs • Hemodialysis • HSCT • Immunosuppression including corticosteroids, chemotherapy • Malignancy • Mechanical ventilation >3 d • Multifocal <i>Candida</i> colonization • Neutropenia • Prolonged ICU stay • Prolonged hospitalization • SOT (kidney and liver) • Total parenteral nutrition	• Alemtuzumab • Allogeneic HSCT • Anastomotic complications in lung transplantation • <i>Aspergillus</i> colonization • CMV disease • Corticosteroids • Infliximab • Neutropenia • Older age • Prolonged ICU stay • Renal failure requiring dialysis • Retransplantation • Severe GVHD • T-cell depleting agents	• CMV disease • Corticosteroids • Diabetes mellitus • Echinocandin use • Iron overload • Malnutrition • Myelodysplasia • Neutropenia • Older age • Renal failure • Severe GVHD • Voriconazole use • Trauma • Burns	• Corticosteroid • Myeloma • Severe GVHD	• Corticosteroid • Neutropenia • Severe GVHD