



Aspergillus et résistance aux azolés : faut-il faire un antifongogramme systématique ?

Dr Alexandre Alanio

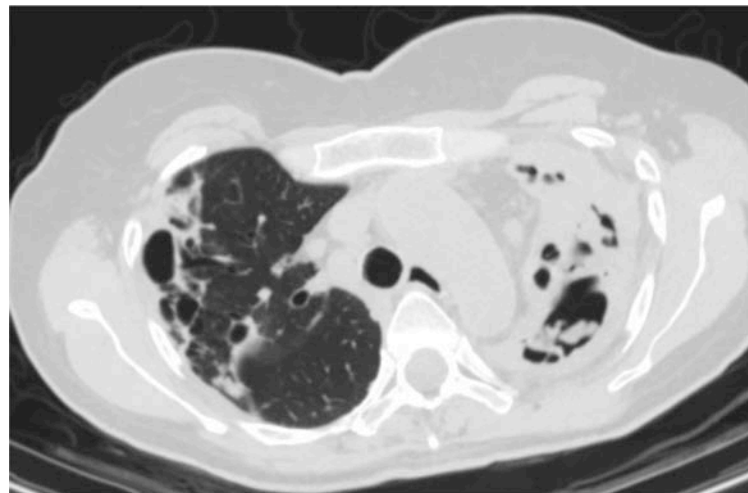
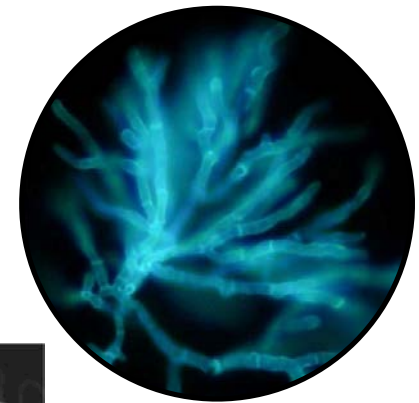
Laboratoire de parasitologie-mycologie

Hôpital Saint-Louis, Université Paris VII

Institut Pasteur

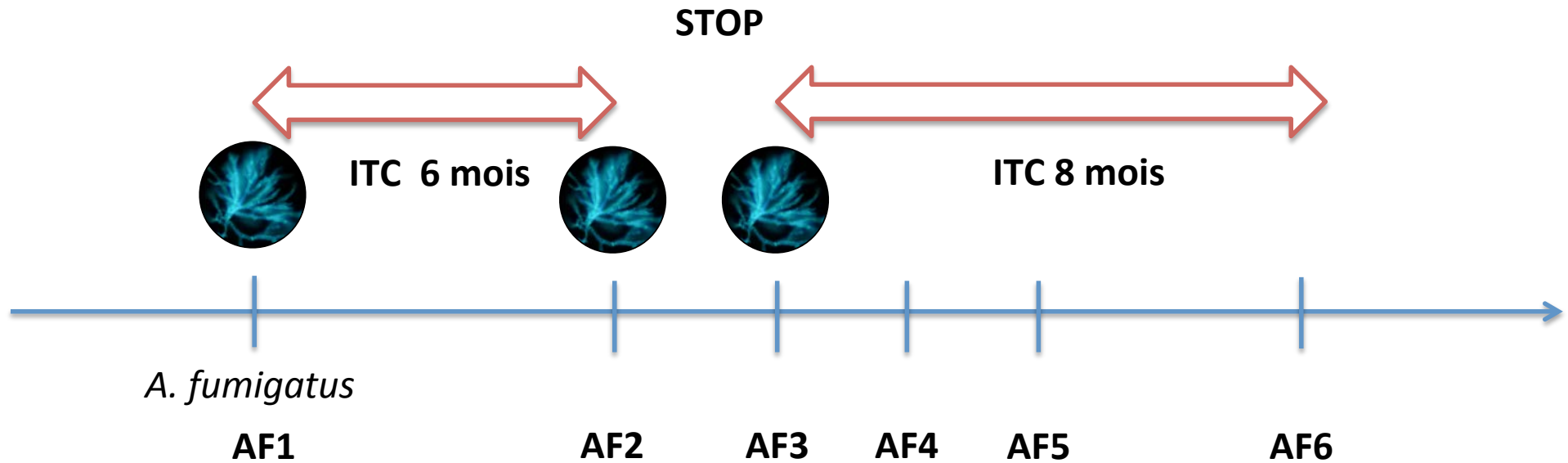
Cas clinique

- Femme 46 ans, ATCD de tuberculose traitée avec cavités séquellaires
- Hémoptysie, toux, dyspnée
- Crachat: Filaments septés de type aspergillaire
- Culture : *Aspergillus fumigatus*
- Scanner thoracique



- Le diagnostic d'aspergillose chronique cavitaire est posé

Cas clinique

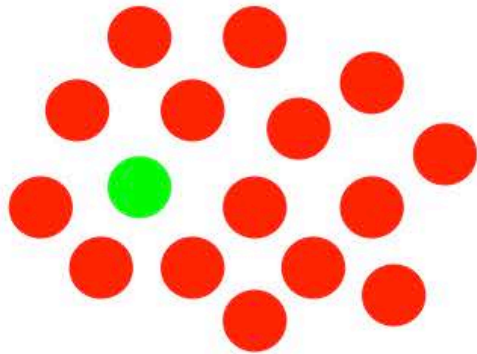


Isolate	MIC (mg/L)	
	itraconazole	voriconazole
AF1	0.25	0.25
AF2	>16	1
AF3	0.5	0.5
AF4	>16	0.5
AF5	>16	0.5
AF6	>16	0.5

**Génotype identique
(même individu fongique)**

La résistance et champignons

Résistance naturelle

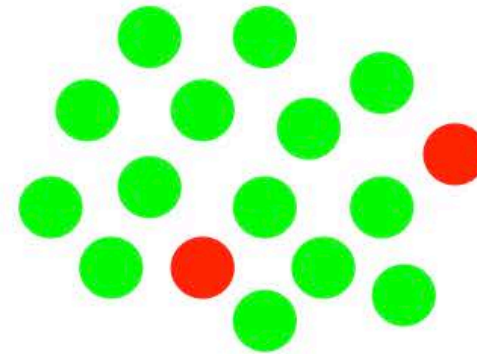


Modification intrinsèque de la cible

Candida krusei et azolés
Aspergillus terreus et AMB
Mucorales et azolés
Cryptococcus et échinocandines

Arendrup et al. BMT 2012

Résistance acquise



Pré-exposition aux azolés

Candida glabrata et échinocandines
A. fumigatus et azolés

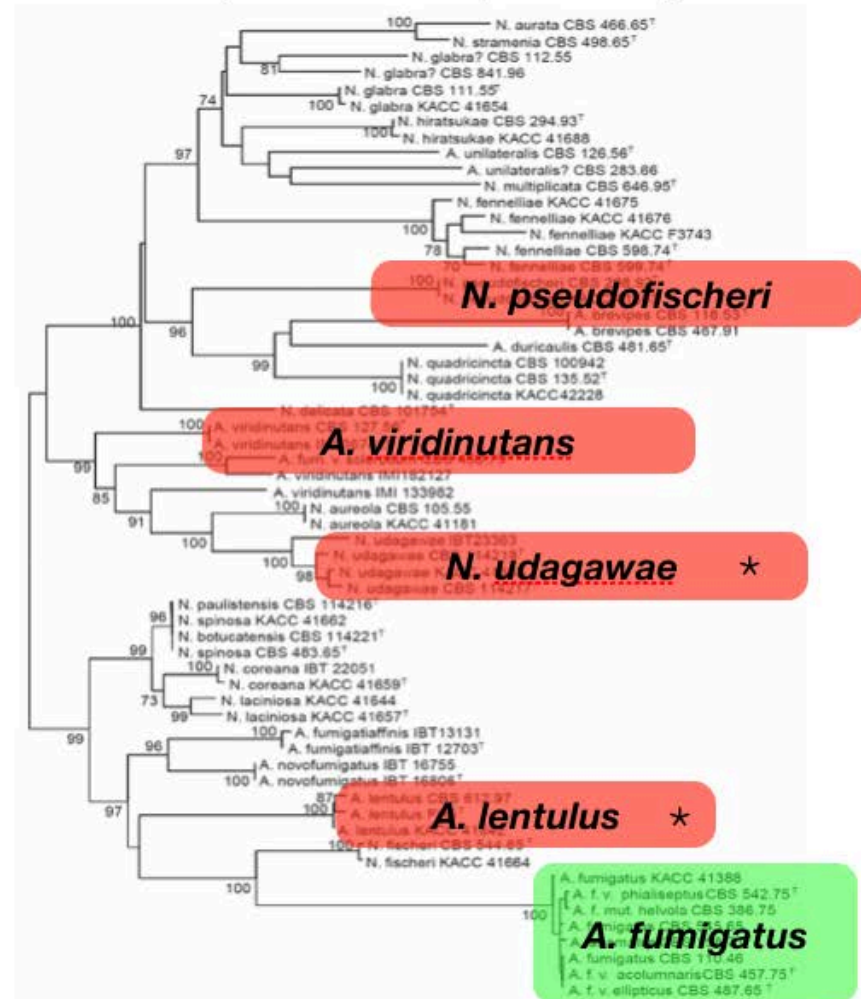
Denning et al. 1997, Dannaoui et al. 1999,
Snelders et al. 2008

La résistance naturelle et *Aspergillus*

Azole resistant *in vitro*

Azole susceptible

species (n>35)



Balajee et al., 2005, Hong et al. 2008

La résistance naturelle et *Aspergillus*

Espèces	Section	AmB	Azolés	Cas
<i>A. fumigatus</i>	<i>Fumigati</i>	Vert	Vert	Vert
<i>A. lentulus</i>		Rouge	Rouge	Rouge
<i>A. fumigatiaffinis</i>		Rouge	Vert	Vert
<i>A. viridinutans</i>		Vert	Rouge	Vert
<i>A. fumisynnematus</i>		Vert	Vert	Vert
<i>N. fischeri</i>		Vert	Vert	Vert
<i>N. pseudofischeri</i>		Vert	Rouge	Vert
<i>N. udagawae</i>		Rouge	Rouge	Vert
<i>N. fennelliae</i>		Vert	Vert	Vert
<i>N. hiratsukae</i>		Vert	Vert	Vert
<i>N. spinosa</i>		Vert	Vert	Vert

Alcazar-Fuoli et al. 2008, Balajee et al. 2006

La résistance naturelle et *Aspergillus*

Espèces	Section	AmB	Azolés	Cas
<i>A. flavus</i>	Flavi	Non	Oui	Oui
<i>A. oryzae</i>		Oui	Oui	Oui
<i>A. tamarii</i>		Oui	Oui	Non
<i>P. alliaceus</i>		Non	Oui	Non
<i>A. terreus</i>	Terrei	Non	Oui	Oui
<i>A. niveus</i>		Non	Oui	Oui
<i>E. nidulans</i>	Nidulantes	Non	Oui	Oui
<i>E. quadrilineata</i>		Oui	Oui	Non
<i>A. versicolor</i>		Non	Oui	Oui
<i>A. sydowii</i>		Oui	Oui	Oui

Hedayani et al. 2005, Auberger et al. 2008,
Kontoyannis et al. 2002, Verweij et al. 2008

La résistance naturelle et *Aspergillus*

Espèces	Section	Amb	Azolés	Cas
<i>A. ustus</i>	<i>Usti</i>			
<i>A. calidoustus</i>				
<i>A. pseudodeflectus</i>				
<i>A. insuetus</i>				
<i>A. granulosis</i>				
<i>A. niger</i>	<i>Nigri</i>			
<i>A. tubingensis</i>				
<i>A. foetidus</i>				

La résistance acquise et *Aspergillus fumigatus*

Résistance acquise

- Polyenes?

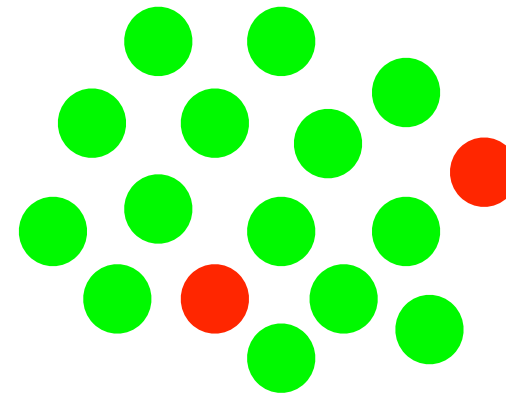
Chamilos G. et al. *Drug Resist Updat.* 2005 ;
Chandrasekar P.H. et al. *Med Mycol.* 2005.

- Echinocandines? 1 clinical isolate described

Arendrup et al. *AAC* 2008

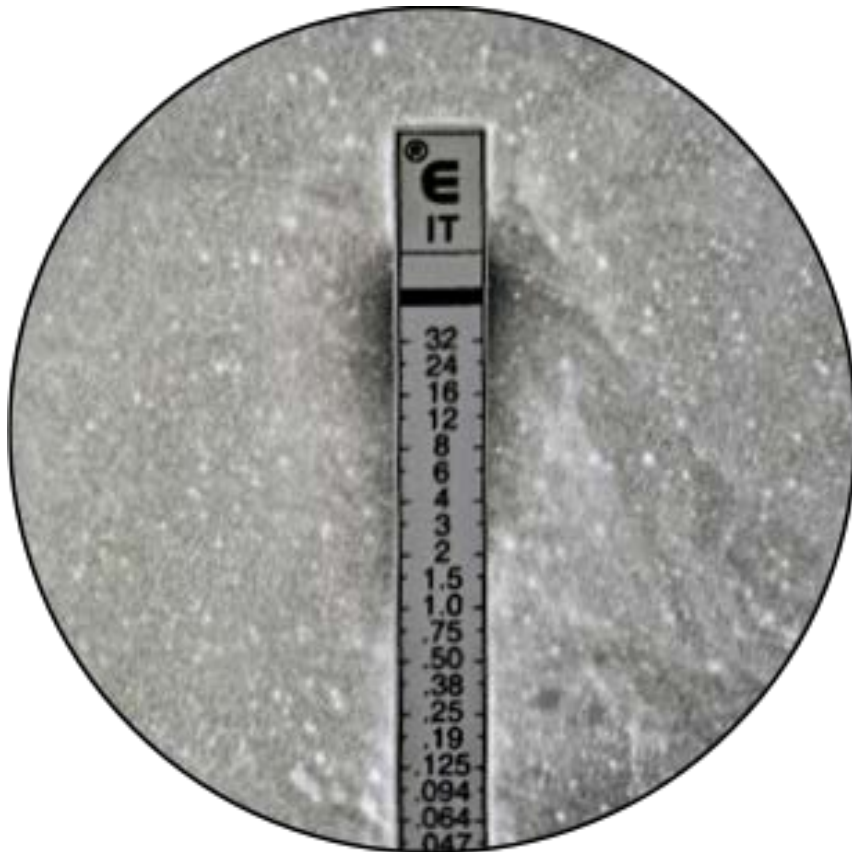
- Azoles: *A. fumigatus* +++

Howard et al. *Med Mycol.* 2011



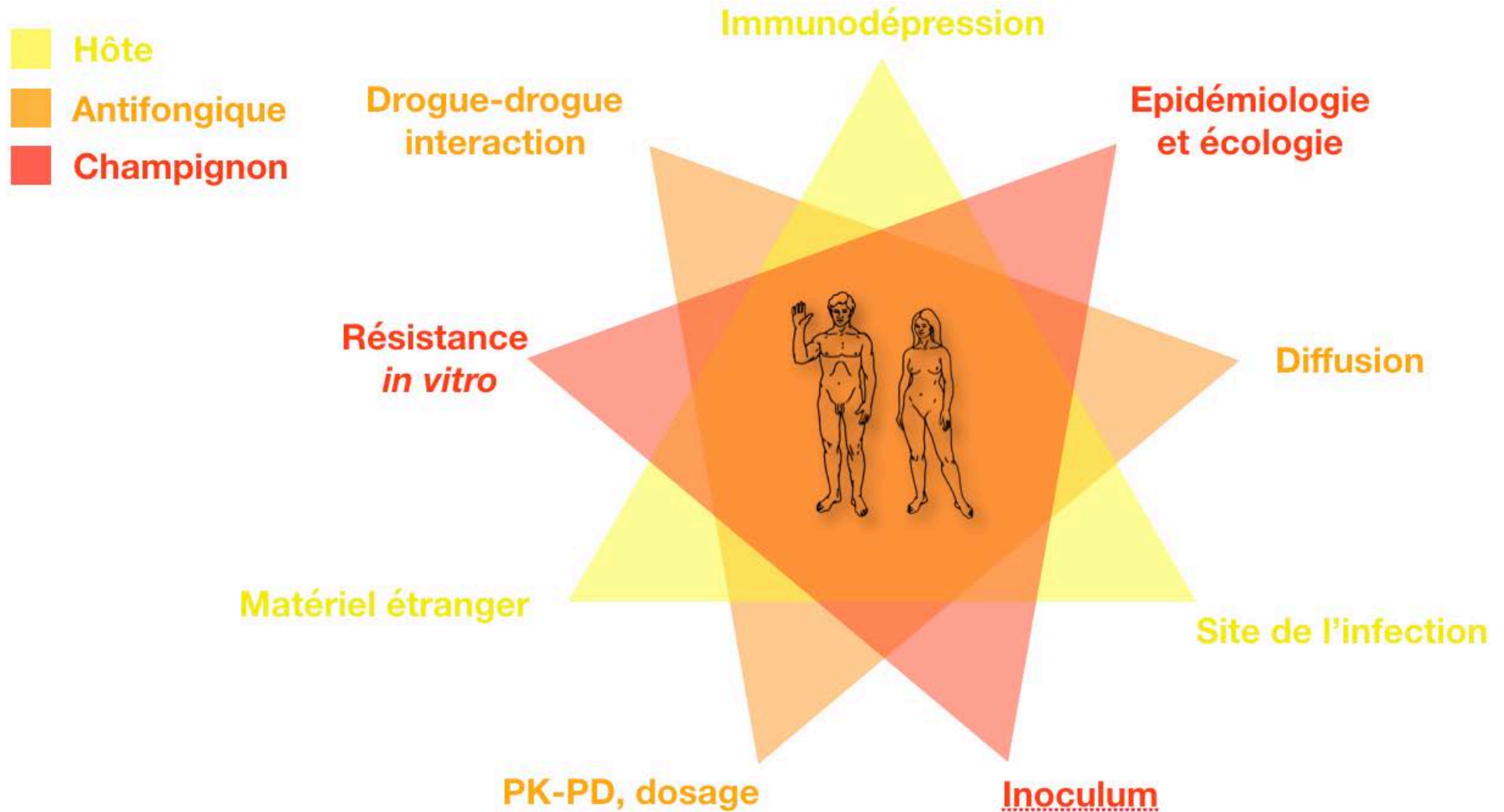
Antifungal selection pressure

Les tests de sensibilité utilisés en routine



- Etest[®] = comparable aux méthodes de références
- Milieux spécifiques
- Réponse 48h après la culture positive

Echec thérapeutique et champignons



Echec thérapeutique et *A. fumigatus* résistant aux azolés

Denning et al.	AAC	1997
Chryssanthou et al.	SJID	1997
Dannaoui et al.	JAC	2001
Howard et al.	IJAA	2006
Verweij et al.	NEJM	2007
Snelders et al.	PloS Med	2008
Van der Linden et al.	CID	2009
Howard et al.	EID	2009
Bueid et al.	JAC	2010
Arendrup et al.	Plos One	2010
Kuispers et al.	AAC	2011
Van der Linden et al.	EID	2011

Modèles animaux et *A. fumigatus* résistant aux azolés

Denning et al.	JAC	1997
Dannaoui et al.	JAC	2001
Warn et al.	IJAA	2010
Mavridou et al.	AAC	2010
Mavridou et al.	AAC	2010

- * Survie diminuée chez les souris traitée par ITC infectée par un isolat résistant à l'ITC
- * Idem pour le PSC
- * Plus les CMI aux VRC ↗, plus la dose de VRC doit être importante pour traiter la maladie



QUESTION

Question 1

Quelle est la prévalence de la résistance d'*Aspergillus fumigatus* aux azolés en France?

1. 0%
2. 1%
3. 6%
4. 15%
5. 40%

Question 1

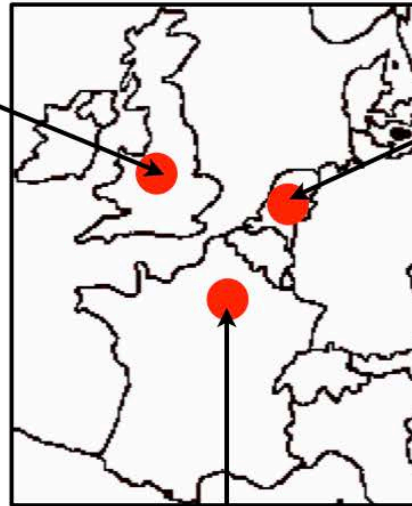
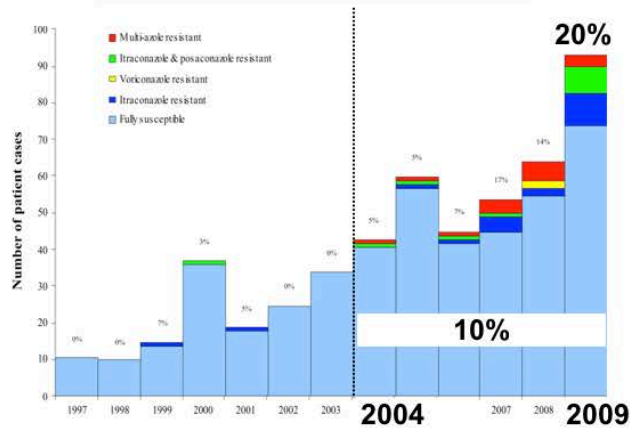
Quelle est la prévalence de la résistance d'*Aspergillus fumigatus* aux azolés en France?

1. 0%
- 2. 1%**
- 3. 6%**
4. 15%
5. 40%

La résistance acquise et *Aspergillus fumigatus*

Manchester

The Netherlands



20 months (2007-09)
1782 isolats/1192 patients

5,3 % [0.8-9.5]

Van der Linden et al. *EID* 2011

France

Bueid et al. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010

Cystic fibrosis

6-8% resistance in France

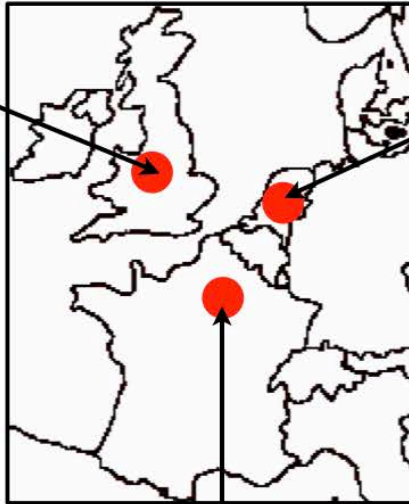
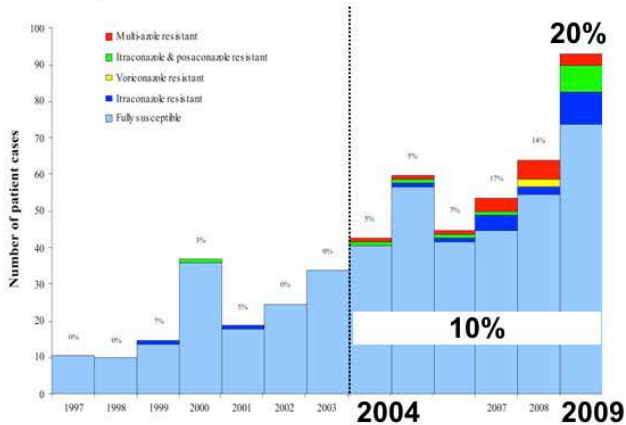
Burgel et al. *AAC* 2012

Morio et al. *JAC* 2012

La résistance acquise et *Aspergillus fumigatus*

Manchester

The Netherlands



France

20 month (2007-09)
1782 isolats/1192 patients

5,3 % [0.8-9.5]

Van der Linden et al. *EID* 2011

Bueid et al. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010

CHU Henri Mondor

2006-2009

118 isolats/89 patients (hematologie)

1 isolat resistant (<1%)

Alanio et al. *J Antimicrob Chemother* 2010

CHU Saint Louis

2013-2014

152 episodes/148 patients (hematologie)

1 isolat resistant (0,7%)

Alanio et al. *Emerg Infect Dis* 2016

La résistance acquise et *Aspergillus fumigatus*

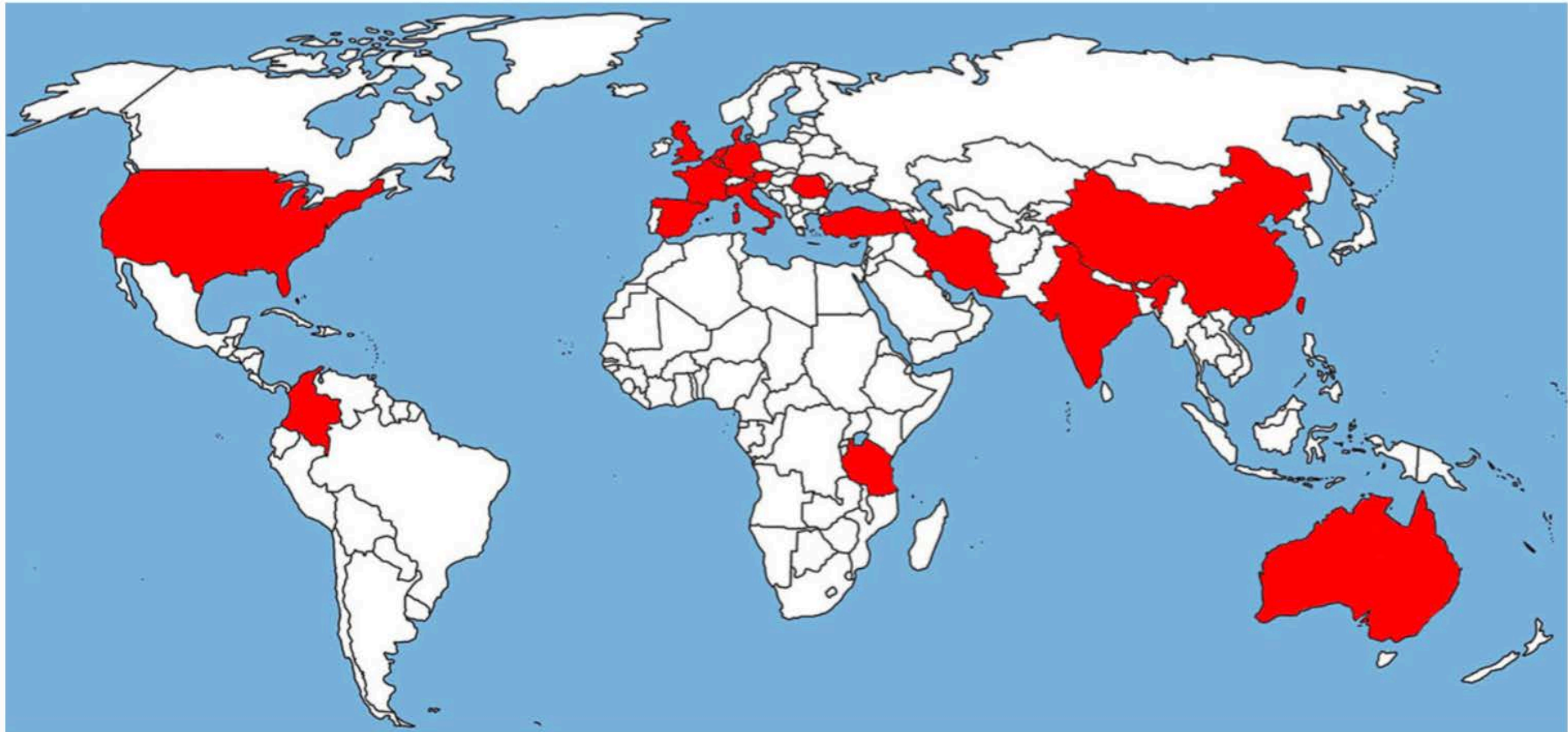


Figure 1. Shaded areas show countries that have reported the TR₃₄/L98H and TR₄₆/Y121F/T289A resistance mechanism in clinical or environmental *Aspergillus fumigatus* isolates.

La résistance acquise et *Aspergillus fumigatus*

Manchester

Patient-Acquired Resistance

Chronic pulmonary aspergillosis with cavitory lesion or aspergilloma

Previous or ongoing azole therapy in all patients

Clinical failures to azole therapy

Multiple resistance mutations may be present in a single clinical sample

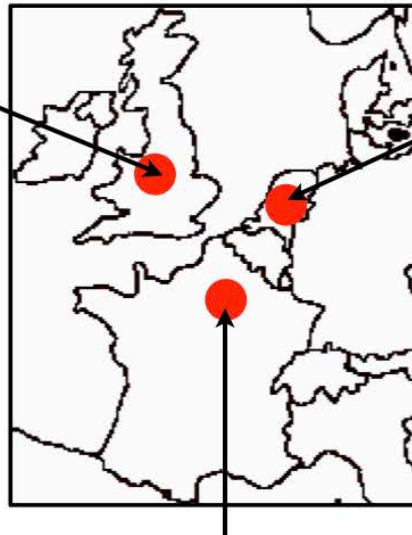
Both azole-susceptible and azole-resistant phenotypes simultaneously present in culture

Multiazole and panazole resistance phenotypes

Point mutations in the *Cyp51A* gene, including substitutions at G54, P216, F219, M220, G138, Y431, and G448 non-*Cyp51A*-mediated resistance mechanisms: HapE unknown resistance mechanisms

High genetic diversity between azole-resistant isolates from unrelated patients

Aspergillus fumigatus colonies may show an abnormal colony morphology, lack of sporulation or reduced growth rate



The Netherlands

Environmental Resistance

All *Aspergillus* diseases, including allergic bronchopulmonary aspergillosis, acute invasive aspergillosis, chronic colonization in cystic fibrosis

Two-thirds of patients have no history of azole therapy

Clinical failures to azole therapy

Only 1 azole resistance mechanism present in most patients

Both azole-susceptible and azole-resistant phenotypes simultaneously present in culture

Multiazole and panazole resistance phenotypes

Mutations in the *Cyp51A* gene in combination with a transcriptional enhancer (tandem repeat) in the promoter region of the gene: TR₃₄/L98H, TR₅₃, and TR₄₆/Y121F/T289A^a

Low genetic diversity between azole-resistant isolates from unrelated patients

No apparent fitness cost

Verweij PE, CID 2016



QUESTION

Question 2

Quelle est le principal mécanisme induisant la résistance d'*A. fumigatus* aux azolés?

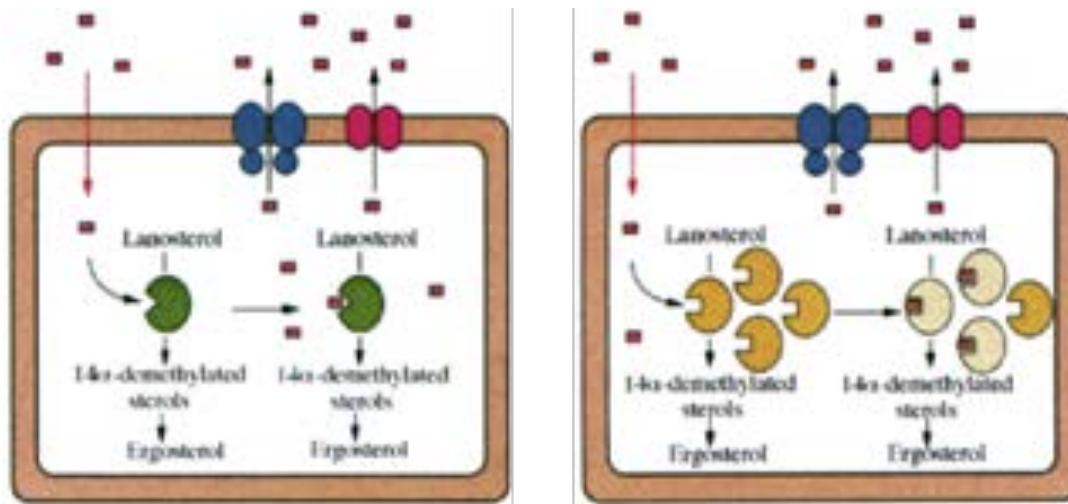
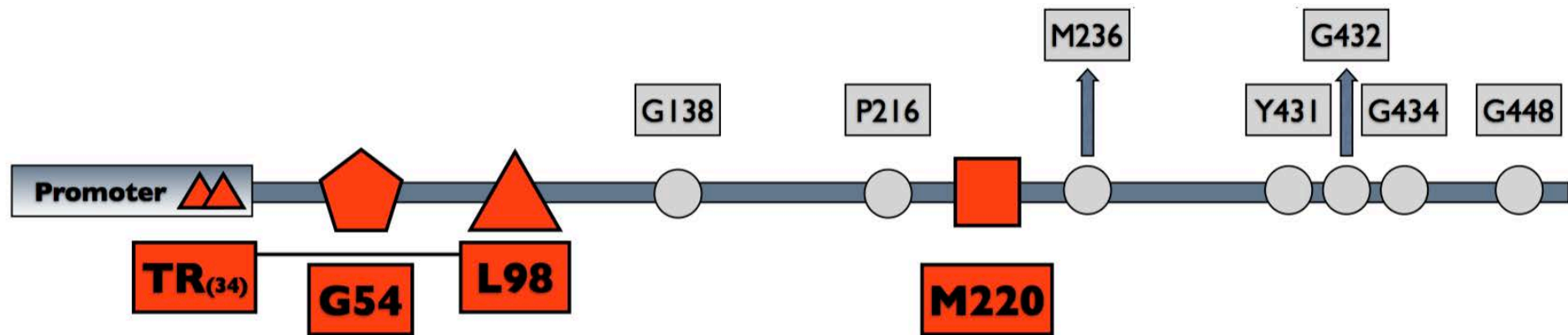
- 1. Hyperexpression de Cyp51A**
- 2. Mutation de Cyp51A**
- 3. Hyperexpression des pompes à efflux**
- 4. Mutation de hapE**
- 5. Inconnu**

Question 2

Quelle est le principal mécanisme induisant la résistance d'*A. fumigatus* aux azolés?

1. **Hyper-expression de Cyp51A**
2. **Mutation de Cyp51A**
3. Hyper-expression des pompes à efflux
4. Mutation de hapE
5. Inconnu

La résistance acquise et *Aspergillus fumigatus*



Adapté de Alanio A. et al. *Curr. Fungal Infect. Rep.* 2011.
Howard et al. *Med Mycol* 2011, Denning et al. *CID* 2011

La résistance acquise et *Aspergillus fumigatus*

Manchester

Patient-Acquired Resistance

Chronic pulmonary aspergillosis with cavitory lesion or aspergilloma

Previous or ongoing azole therapy in all patients

Clinical failures to azole therapy

Multiple resistance mutations may be present in a single clinical sample

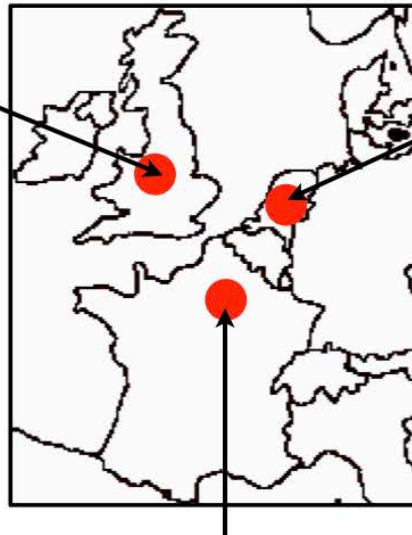
Both azole-susceptible and azole-resistant phenotypes simultaneously present in culture

Multiazole and panazole resistance phenotypes

Point mutations in the *Cyp51A* gene, including substitutions at G54, P216, F219, M220, G138, Y431, and G448 non-*Cyp51A*-mediated resistance mechanisms: HapE unknown resistance mechanisms

High genetic diversity between azole-resistant isolates from unrelated patients

Aspergillus fumigatus colonies may show an abnormal colony morphology, lack of sporulation or reduced growth rate



The Netherlands

Environmental Resistance

All *Aspergillus* diseases, including allergic bronchopulmonary aspergillosis, acute invasive aspergillosis, chronic colonization in cystic fibrosis

Two-thirds of patients have no history of azole therapy

Clinical failures to azole therapy

Only 1 azole resistance mechanism present in most patients

Both azole-susceptible and azole-resistant phenotypes simultaneously present in culture

Multiazole and panazole resistance phenotypes

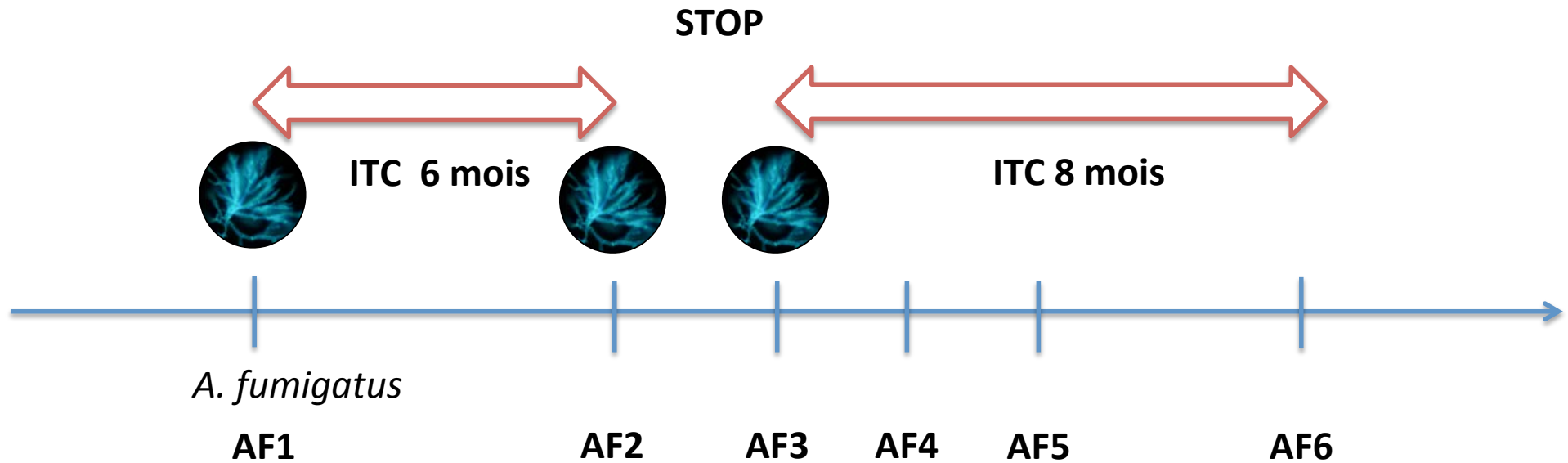
Mutations in the *Cyp51A* gene in combination with a transcriptional enhancer (tandem repeat) in the promoter region of the gene: TR₃₄/L98H, TR₅₃, and TR₄₆/Y121F/T289A^a

Low genetic diversity between azole-resistant isolates from unrelated patients

No apparent fitness cost

Verweij PE, CID 2016

Cas clinique



Isolate	MIC (mg/L)		Mutation in <i>cyp51A</i>
	itraconazole	voriconazole	
AF1	0.25	0.25	–
AF2	>16	1	M220I
AF3	0.5	0.5	–
AF4	>16	0.5	G54R
AF5	>16	0.5	G54R
AF6	>16	0.5	G54R



QUESTION

Question 3

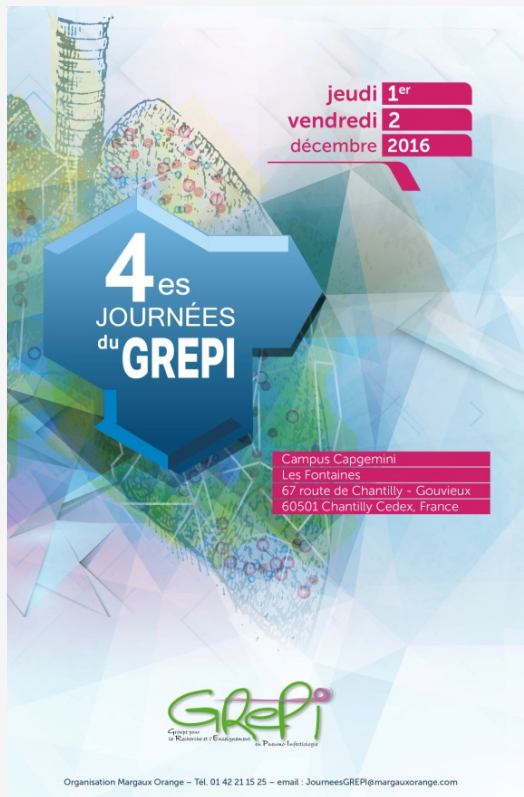
Comment peut-on prévenir la survenue de d'A. *fumigatus* résistant aux azolés?

- 1. On ne peut pas !**
- 2. Limiter la durée de traitement par azolés**
- 3. Surveiller l'environnement hospitalier**
- 4. Eviter la prophylaxie par les azolés**
- 5. Traiter par d'autres classes d'antifongiques**

Question 3

Comment peut-on prévenir la survenue de d'A. *fumigatus* résistant aux azolés?

- 1. On ne peut pas !**
- 2. Limiter la durée de traitement par azolés**
3. Surveiller l'environnement hospitalier
4. Eviter la prophylaxie par les azolés
5. Traiter par d'autres classes d'antifongiques

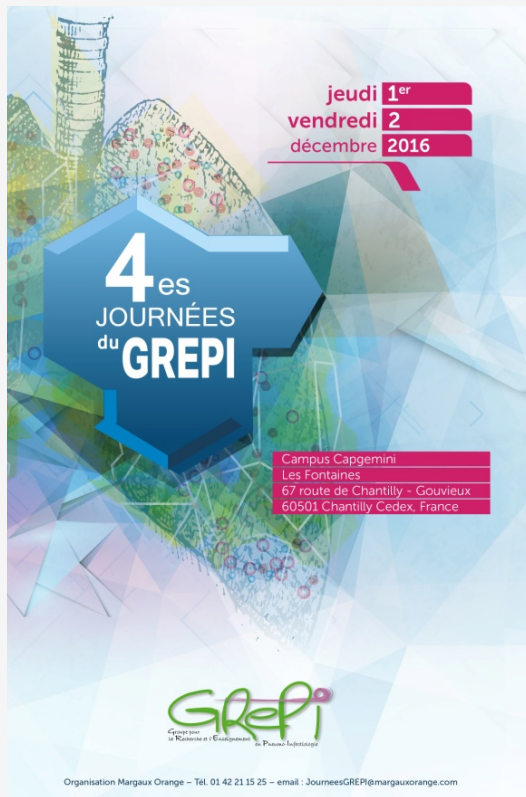


Aspergillus et résistance aux azolés : faut-il faire un antifongogramme systématique ?

OUI

Au début

et après une "certaine" période de traitement
ou évolution défavorable



Aspergillus et résistance aux azolés : faut-il faire un antifongogramme systématique ?

Merci de votre attention