

# **CANDIDOSES SYSTEMIQUES ET TECHNIQUES D'ANTIFONGIQUES**

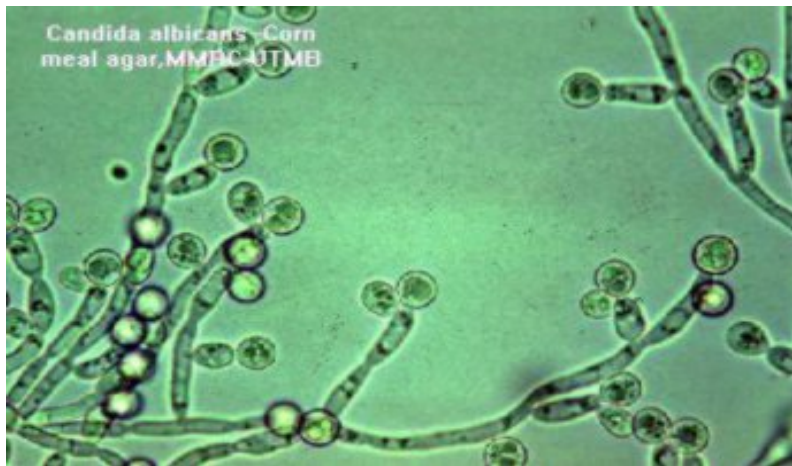
© Nathalie Friberg, 2004



# Candidoses systémiques

- Définition: infections fongiques opportunistes à levures du genre *Candida* aboutissant à l'envahissement des organes profonds.
- Le genre *Candida* comprend environ 20 espèces incriminées en pathologie humaine. L'espèce la plus fréquente est *Candida albicans*. Les autres espèces fréquemment rencontrées sont: *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. krusei*.

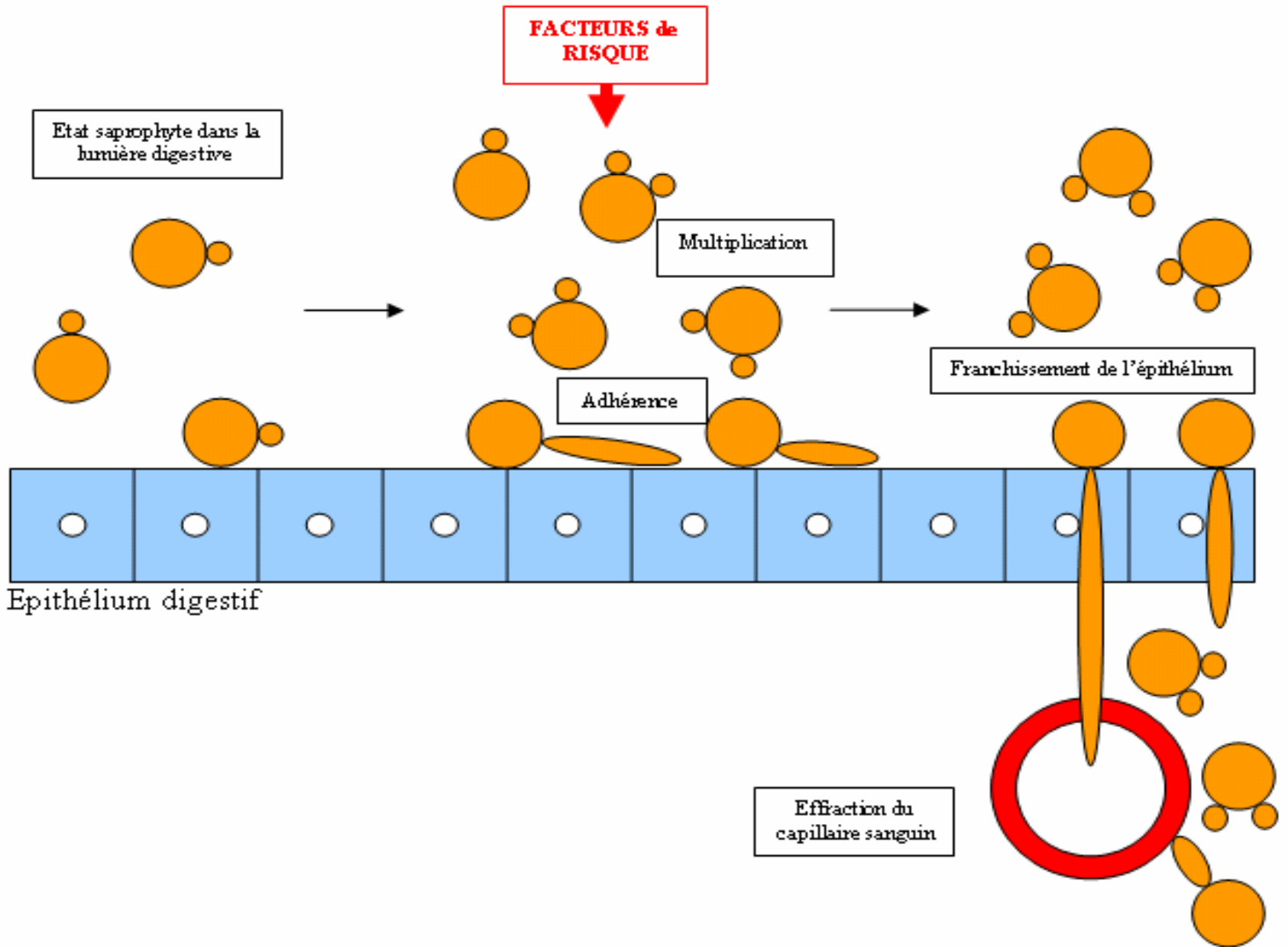
## Aspects microscopiques de *C. albicans*



# Epidémiologie

- Difficile à évaluer car diagnostic peut être complexe du vivant des patients. Peu d'études autopsiques.
- Etude autopsique sur 4096 patients atteints de tumeurs solides, d'hémopathies malignes ou transplantés: incidence des candidoses chez ces patients est de 6,5 %.
- Les candidoses systémiques sont les affections fongiques les plus fréquentes (58% des mycoses profondes).
- Depuis 20 ans augmentation importante de l'incidence des candidoses systémiques (liée à l'augmentation des facteurs de risques)
- Modification de la répartition des espèces: sélection d'espèces naturellement moins sensibles au fluconazole et développement de résistances.

# Physiopathologie



## Facteurs de risques

- Neutropénies profondes et prolongées: polynucléaires neutrophiles  $< 0,5$  G/l durant plus de 7 jours.
- Les voies veineuses centrales et / ou périphériques
- La colonisation par un Candida s.p. d'un patient présentant d'autres facteurs de risques.
- L'antibiothérapie à large spectre.
- La corticothérapie au long cours.
- La chirurgie digestive ou cardiaque.
- Le polytraumatisme
- L'hémodialyse

## Clinique

- **Les candidémies:** sont les fréquentes. Recherche de la porte d'entrée+++
- **Les candidoses viscérales aiguës:** les localisations primitives correspondent à des infections au niveau des sites de portage, leur extension se fait par contiguïté (candidoses péritonéales, infection du tractus urinaire par voie ascendante). Les localisations secondaires correspondent à des embols septiques secondaires à une candidémie: les localisations sont diverses: oculaires, endocardites, ostéoarticulaires, urinaires hautes, pulmonaires, etc...
- **Les candidoses hépatospléniques chroniques:** microabcès disséminés dans le parenchyme hépatique et splénique.

## Diagnostic

- Prélèvements: effectués stérilement, de préférence effectuer des prélèvements profonds, rapidement acheminés au laboratoire, accompagnés d'une feuille de demande d'examens mycologique avec renseignements cliniques.
- Examen direct: entre lame et lamelle. Présence ou non de levures, polynucléaires, hématies...
- Culture/isolement: sur milieux chromogènes
- Identification: par aspect des colonies, galeries d'identification (explore métabolisme de la levure), critères morphologiques microscopiques en culture.
- Antifongigramme: étape ultime...



**Boîte de culture Candiselect® avec différentes espèces de  
*Candida s.p.***



## Galerie d'identification auxacolor®



## Indications des antifongigrammes

- Sur toutes souches isolées dans une hémoculture, prélèvements profonds (LBA, peropératoire, biopsie, ponctions...)
- En cas d'échec thérapeutique chez un patient sous traitement antifongique correctement mené
- Sur les souches isolées de sites de colonisations des patients présentant des facteurs de risques.
- Exceptionnellement, sur les souches impliquées chez l'immunocompétent dans des candidoses superficielles récidivantes et rebelles aux traitements

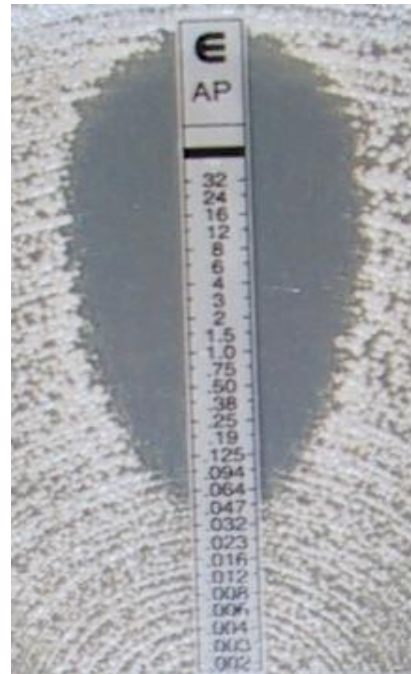
## Techniques d'antifongigramme

- Technique de référence en microdilution: technique lourde non utilisée en routine
- Techniques en milieu liquide ou semi gélosé: faciles d'utilisation, standardisées, fiables et très utilisées en routine. Inconvéniant: donne résultats non chiffrés (S/I/R).
- Techniques en milieu gélosé: techniques en disques ou en bandelettes. Utilisées en routine, donnent des valeurs chiffrées de CMI.

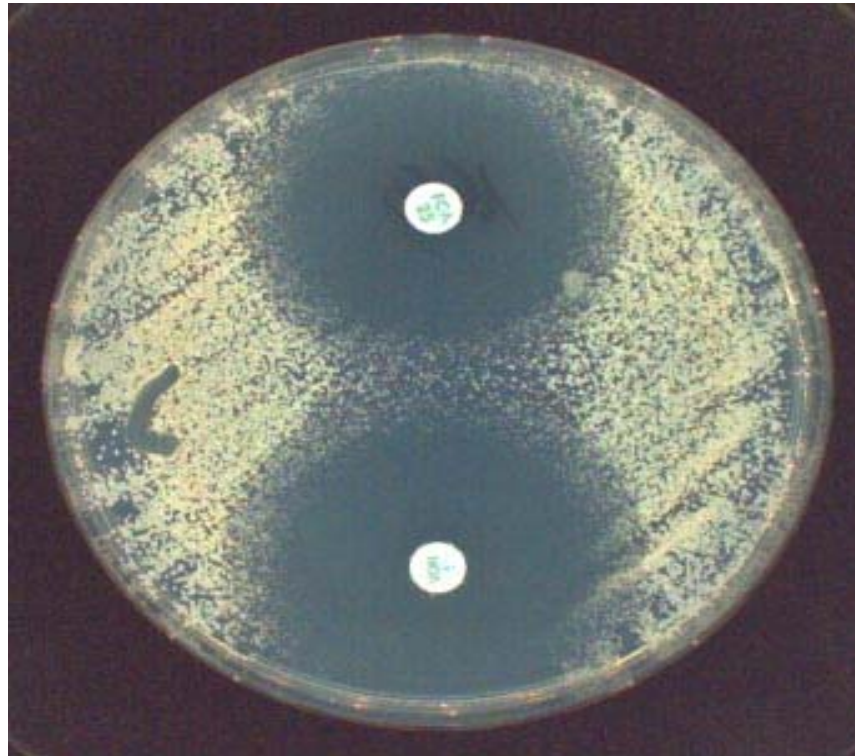
## Technique de référence en microdilution.



## Technique en milieu gélosé avec bandelettes E-test®

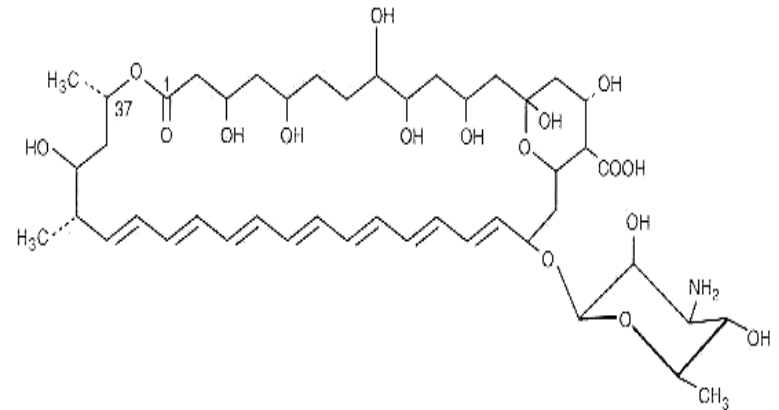


## Technique en milieu gélosé avec disques Biomic®



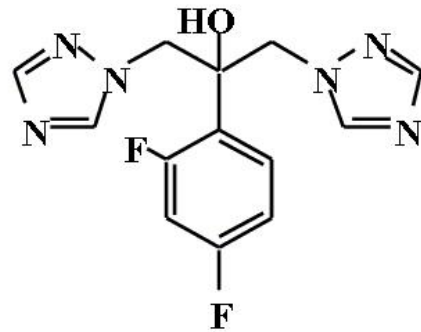
## Antifongiques étudiés: antifongiques systémiques

- Amphotéricine B: molécule de référence. Contraintes à utiliser et effets secondaires+++ . Résistances exceptionnelles.
- Antifongiques azolés: le fluconazole est très utilisé. Administration IV et per os possibles. Bonne tolérance. Traitement curatif et préventif. Acquisition de plus en plus de résistances. L'itraconazole proche du fluconazole. Inactifs sur le *C. krusei* naturellement résistant.

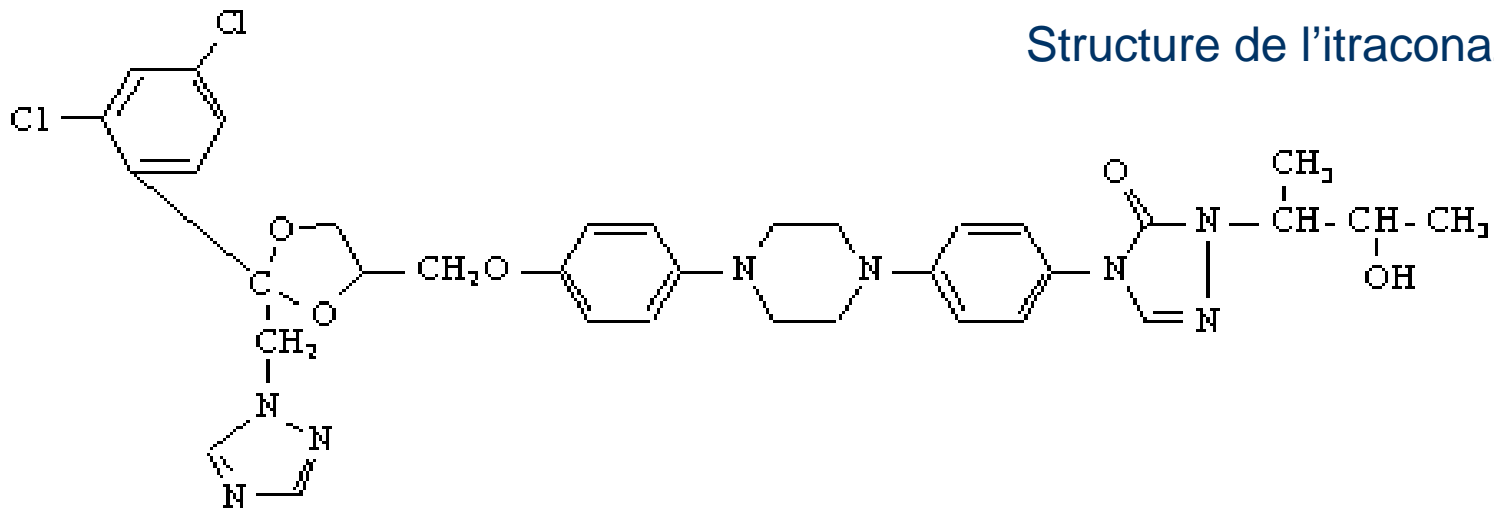




## Structures du fluconazole et de l'itraconazole



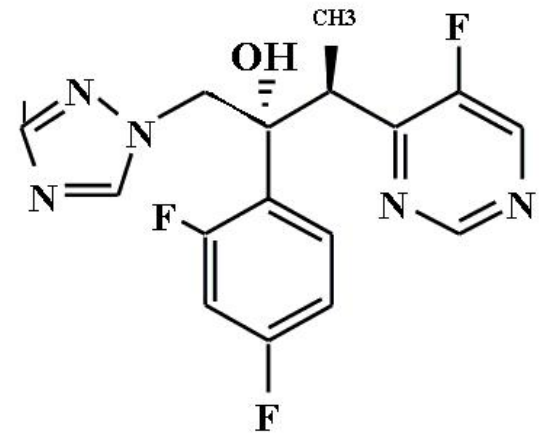
Structure du fluconazole



Structure de l'itraconazole

# Voriconazole

Nouvel antifongique azolé. Spectre d'action élargi par rapport aux autres antifongiques azolés en particulier actif sur *C. krusei*.



# Travail personnel

- Recrutement souches
- Inclusion des souches dans le protocole NRA1500003 « Evaluation en France de l'activité in vitro du voriconazole et d'autres antifongiques par méthode E-test® ». Détermination des CMI du voriconazole, de l'itraconazole, du fluconazole et de l'amphotéricine B par une méthode en milieu gélosé. Avantage: utilisation d'un milieu de culture standardisé.
- Inclusion des mêmes souches dans le protocole « Artemis Disk Protocol of a Global Antifungal Program ». Détermination des CMI du voriconazole et du fluconazole par une technique en milieu gélosé utilisant des disques imprégnés d'antifongiques. Avantage: lecture standardisée grâce à une caméra digitale et un logiciel d'exploitation.

## Objectifs

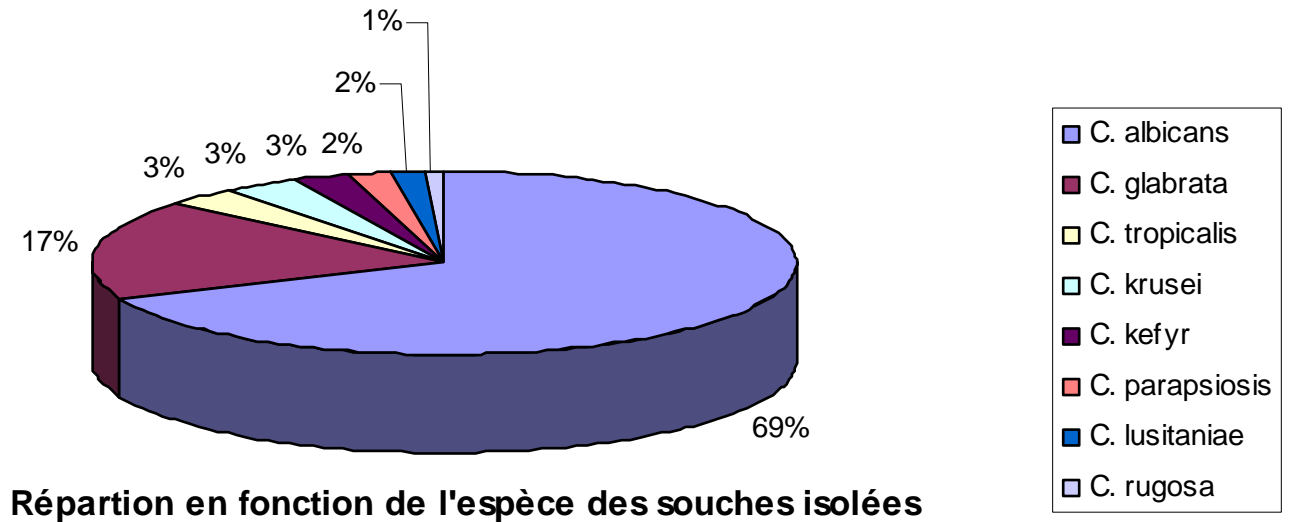
- Epidémiologie: répartition des espèces à Strasbourg, services concernés, évaluation in vitro par méthode E-test® de la sensibilité du voriconazole et comparaison avec les autres antifongiques.
- Technique: comparaison de la technique E-test® avec la technique Biomic® dans la détermination des CMI du voriconazole et du fluconazole. Critères de comparaison: praticabilité, résultats, coût.

## Recrutement des souches

- Recrutement sur trois mois de janvier 2002 à mars 2002.
- Recrutement des souches pour lesquelles une indication d'antifongogramme avait été posée, dans l'ordre d'arrivée au laboratoire. **115 souches** de *Candida s.p.* manipulées.
- Fin des manipulations: fin octobre 2002.

## Epidémiologie: répartition des espèces.

- Répartition globale: 69 % *C. albicans* et 31 % d'espèces non albicans.
- Répartition par services: en oncohématologie, 53 % de *C. albicans*.

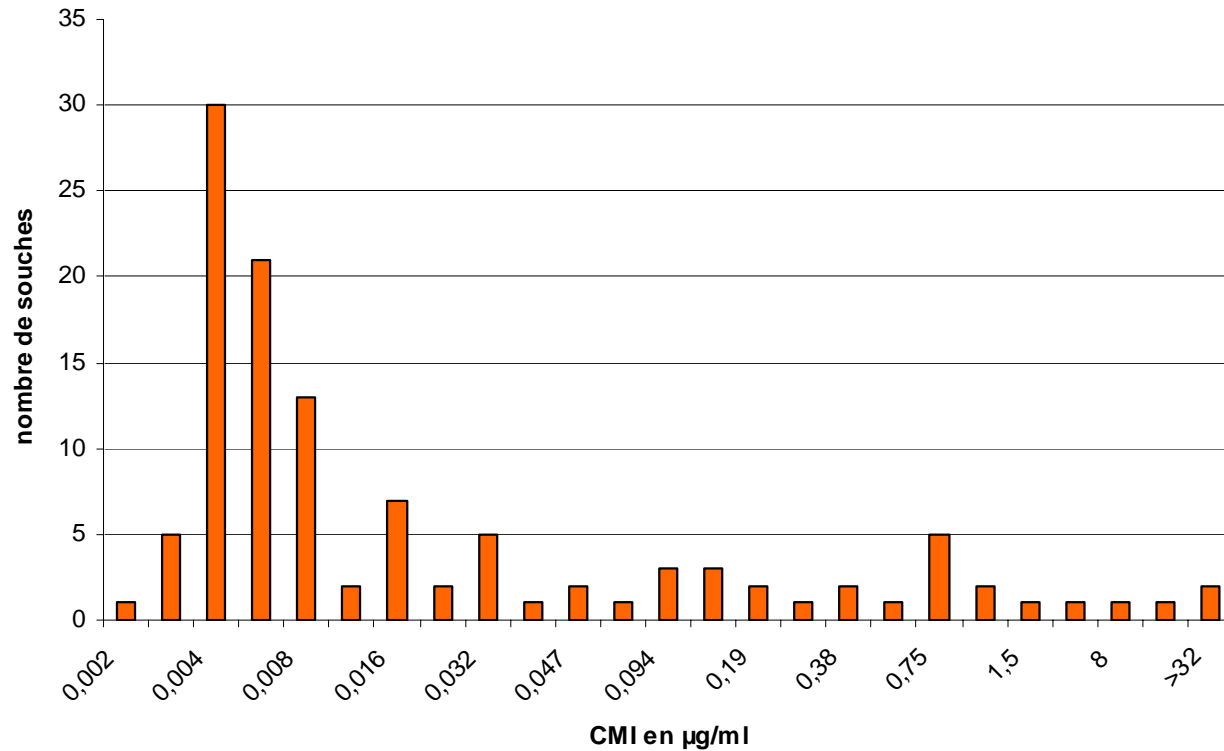


## Epidémiologie: services concernés



Les services les plus concernés dans l'ordre décroissant sont: **réanimations, onco-hématologie, chirurgies, pneumologie.**

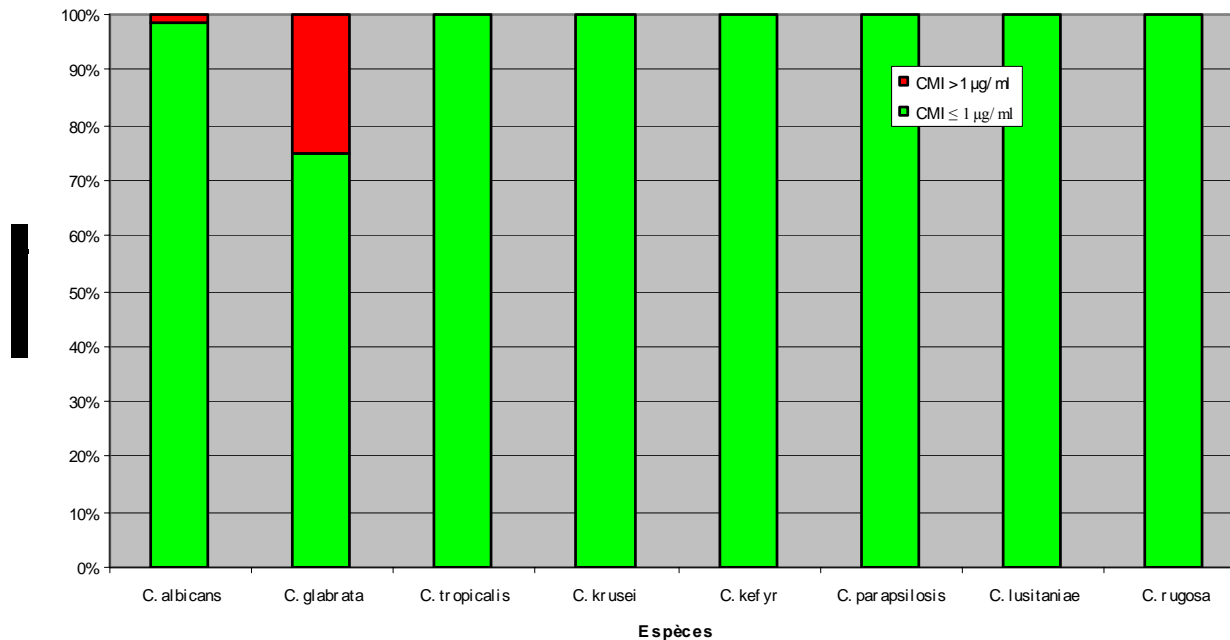
## Epidémiologie: répartition des CMI du voriconazole



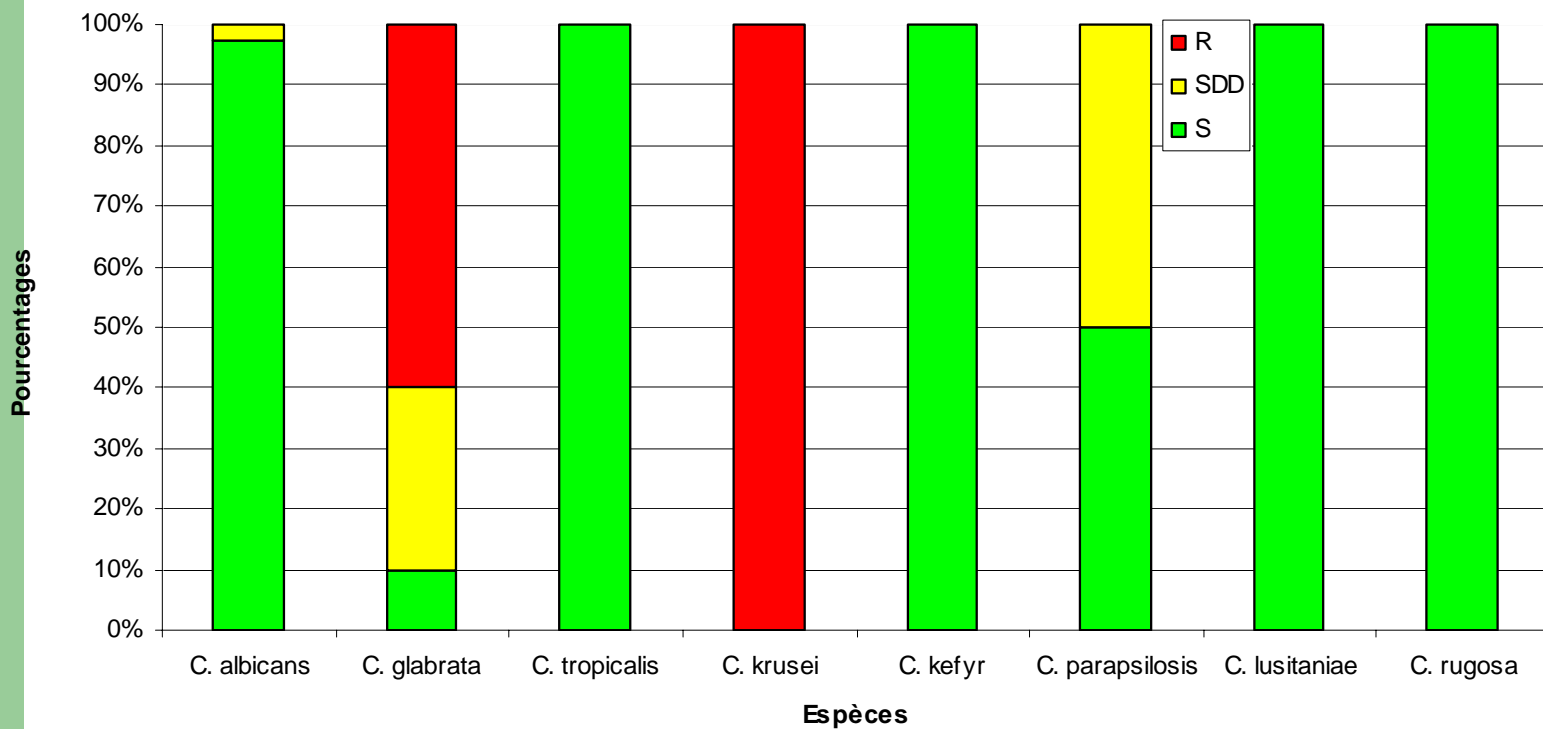


## Epidémiologie: répartition de la sensibilité du voriconazole

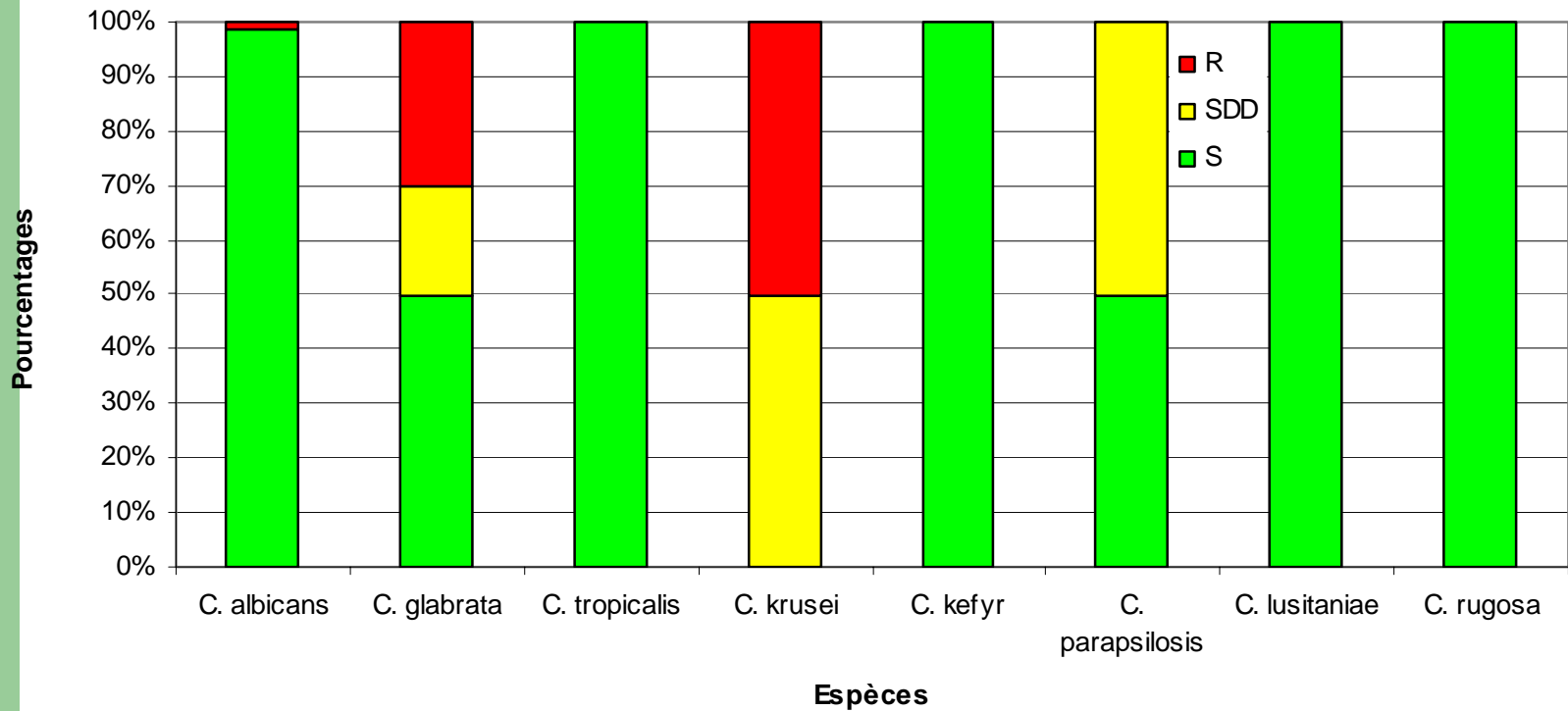
- Seules 6 souches sur 115 sont résistantes.
- Par souches: 1 souche de *C. albicans* et 5 de *C. glabrata* sont résistantes.
- Par de différences significative entre les services.



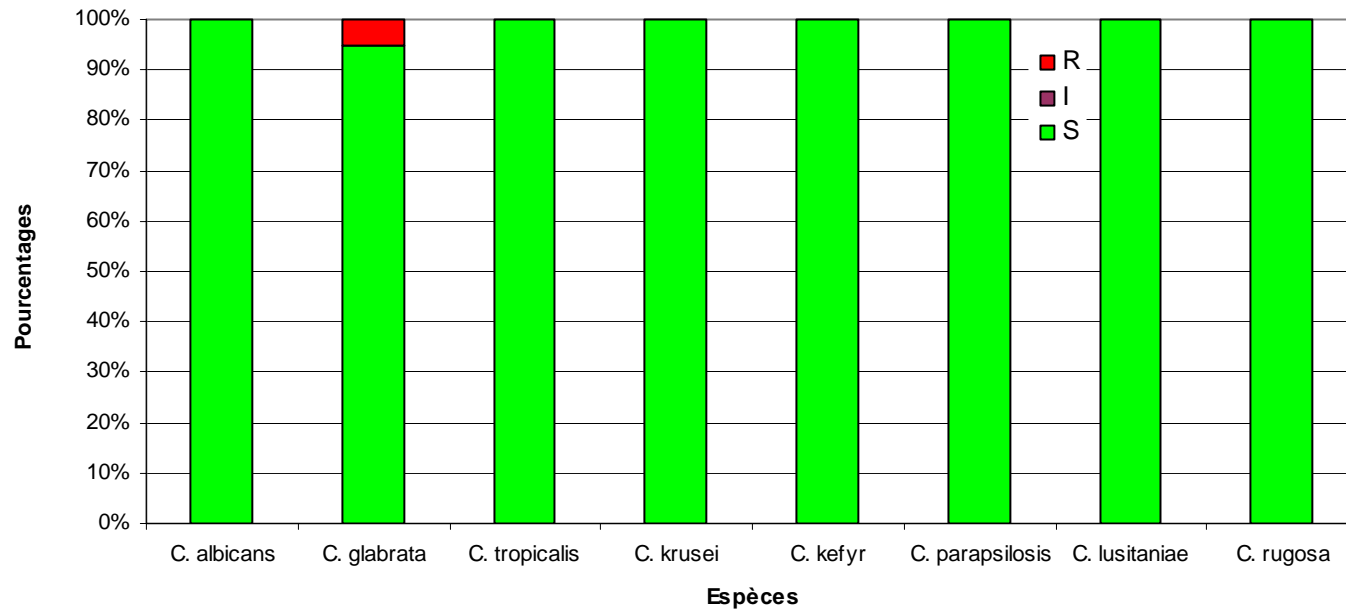
## Epidéiologie: répartition de la sensibilité à l'itraconazole.



# Epidémiologie: répartition de la sensibilité au fluconazole



# Epidémiologie: répartition de la sensibilité à l'amphotéricine B



## Epidémiologie: comparaison avec les autres antifongiques

- Voriconazole semble plus efficace que les autres antifongiques azolés et ce sur toutes les espèces y compris *C. glabrata* et *C. krusei*.
- Les valeurs des CMI du voriconazole sont globalement très basses et plus basses que celles des autres azolés.
- On note plus de souches résistantes au voriconazole qu'à l'amphotéricine B: seule une souche est résistante à l'amphotéricine B contre 6 pour le voriconazole.

## Epidémiologie: résistances croisées

- 17 souches présentent une résistance à au moins deux des antifongiques étudiés: 11 *C. glabrata*, 1 *C. albicans*, 1 *parapsilosis* et 4 *C. krusei*.
- Toutes les souches présentant de sensibilité diminuée ou résistantes au fluconazole, le sont aussi pour l'itraconazole
- 6 souches présentent une résistance ou une sensibilité diminuée aux trois antifongiques azolés. Il s'agit de 1 *C. albicans* et de cinq *C. glabrata*.
- Pour *C. krusei*: les souches sont résistantes au fluconazole et à l'itraconazole, mais sont toutes sensibles au voriconazole.
- Une souche de *C. glabrata* est résistante à l'amphotéricine B et à l'itraconazole. Les mécanismes de résistance sont indépendants.

## Comparaison des techniques: résultats

- Résultats sont concordants entre les deux techniques à 90 %. Il existe de petites discordances dans les valeurs basses de CMI, considérées comme discordances mineures. Milieu RPMI??
- Discordances: 10 %. Il s'agit surtout de *C. glabrata*. Les techniques sont mises au point pour *C. albicans*: problèmes techniques posé par *C. glabrata*.
- Ces deux techniques sont corrélées à la technique de référence à 90 %.

## Comparaison des techniques: Praticabilité

- Les techniques ne posent pas de problèmes de réalisation.
- Pour la technique E-test®, le dépôt des bandelettes est un peu délicat car la bandelette ne doit absolument pas glisser sur la gélose au cours de cette opération. La lecture peu être délicate et nécessite un entraînement (pièges de lecture+++)
- Pour la technique Biomic®, le dépôt des disques est facile. La lecture s'effectuant grâce à une caméra, cette étape ne pose pas de problèmes.



## Comparaison des techniques: Coût

- La technique Biomic® est beaucoup plus coûteuse: l'achat de la caméra et du programme d'exploitation coûtent 28 000 USD, puis passée la première année, 1 500 USD par an. Les disques d'antifongiques ainsi que le milieu sont à un faible coût.
- La technique E-test® ne nécessite pas d'achat de gros matériel. Les bandelettes d'antifongiques sont d'un coût un peu supérieur des disques, mais reste abordable.

## Conclusion

- Répartition des espèces à Strasbourg a un peu changé (surtout en onco hématologie) au cours des dernières années, mais *C. albicans* reste largement majoritaire.
- Voriconazole, nouvel antifongique est plus actif que les autres antifongiques azolés.
- La comparaison des deux techniques aboutit à une préférence pour la technique E-test® dans un laboratoire de routine. La technique Biomic® restant préférentiellement utilisée dans des études épidémiologiques.

## Mycologie amateur: applications actuelles...

