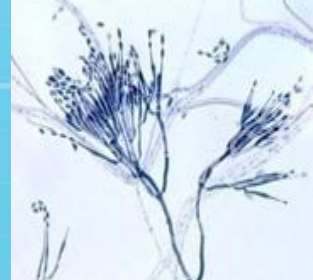




RICAI 2018

38ème Réunion Interdisciplinaire
de Chimiothérapie Anti-Infectieuse



Caractérisation moléculaire de *Paecilomyces spp*: étude française multicentrique

L. Monpierre, N. Aït Ammar, A. C. Normand, J. Guitard, A. Riat, A. Huguenin,
C. Bonnal, B. Sendid, L. Hasseine, H. Raberin, L. Favennec, S. Ranque,
R. Piaffroux, E. Dannaoui, F. Botterel

Dynamyc



© RICA 2018 Tous droits réservés.

Paecilomyces spp.

- **Moisissures cosmopolites**
- Isolées de l'environnement
 - Sols, matières organiques, insectes...
- Plus de 100 espèces décrites

- **Pathogènes émergents**
 - Hyalohyphomycoses, rares
 - Plusieurs espèces incriminées chez l'Homme

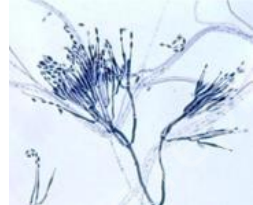
***P. variotii* +++**

P. variotii = complexe d'espèces

***P. lilacinus* +++**

Reclassé en *Purpureocillium lilacinum*

- *P. variotii sensu stricto*
- *P. formosus*
 - * *type formosus*
 - * *type lecythydis*
 - * *type maximus*
- *P. dactylethromorphus*
- *P. brunneolus*
- *P. divariticus*



Walsh *et al.*, 2004
RA Samson *et al.*, 2009
Houbraeken *et al.*, 2010
Luangsa-Ard *et al.*, 2011

Infections à *Paecilomyces* spp.

Case reports +++

- Patients immunodéprimés

Transplantés d'organes solides

Patients d'hématologie

Cancers...

- Atteintes profondes ou superficielles

Des formes localisées aux formes disséminées

- Patients immunocompétents

- Facteurs favorisants ++

Kératites, endophtalmies

» Port de lentilles de contact+++

» Chirurgie oculaire

Infections cutanées

» Traumatismes cutanés+++

Paecilomyces variotii central nervous system infection in a patient with cancer.

Ayşe Serda Kantarcioğlu, Gülen Hatemi, Ayhan Yücel, Gert Sybren de Hoog, Nil Molinas Mandel *et al.*
Published 2003 in *Mycoses*

Perit Dial Int. 2012 May-Jun;32(3):364-5.

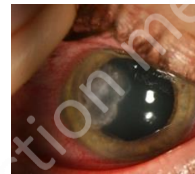
Paecilomyces lilacinus peritonitis in a peritoneal dialysis patient.

Wolley M, Collins J, Thomas M.

Mycopathologia (2017) 182:761–765
DOI 10.1007/s11046-017-0131-y

Paecilomyces variotii Fungemia in a Patient with Lymphoma Needing Liver Transplant

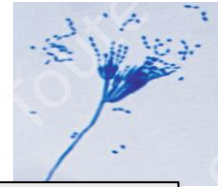
A. P. Bellanger · J. P. Cervoni · J. F. Faucher · D. Weil-Verhoeven · M. Ginet · E. Deconinck · F. Grenouillet



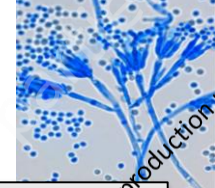
Raghavan *et al.*, 2018
Zunoglu *et al.*, 2017
Morres *et al.*, 2014
Steiner *et al.*, 2013
Kantarcioğlu *et al.*, 2003
Bellanger *et al.*, 2017
Polat *et al.*, 2015
Feldman *et al.*, 2016
Swami *et al.*, 2016
Pastor *et al.*, 2006

Diagnostic difficile...

- **Microscopie confondante**
 - *Penicillium/Talaromyces sp.?*
 - *Rasamsonia sp.?*
- **Valeur des bases de données du MALDI-TOF?**
- **Valeur clinique?**
 - Colonisation? Co-colonisation?
 - Contamination de laboratoire?
 - Infection? Co-infection?



Rasamsonia sp.



Penicillium sp.



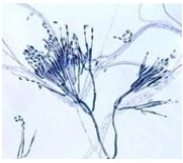
Paecilomyces sp.

Objectifs de l'étude

Souches de *Paecilomyces* isolées de prélèvements respiratoires

- 1. Distribution des espèces (BM)
- 2. Evaluation de l'identification par MALDI-TOF
- 3. Sensibilité *in vitro* aux antifongiques (EUCAST/E-test®)





Matériel et méthodes

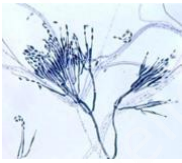
Recueil de souches de *Paecilomyces*

- ✓ Souches identifiées morphologiquement comme *Paecilomyces* sp.
2002 – 2017 : HEGP, HMN, SAT



- ✓ Souches de la base de données MSI (R. Piarroux & AC. Normand)
2014 – 2018 : multicentrique



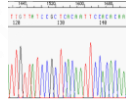
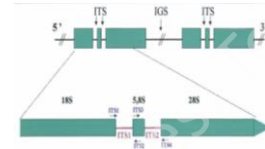


Matériel et méthodes

Outils

• Identification moléculaire

- Séquençage Sanger ITS (*Internal Transcribed Spacer*)



White *et al.*, 1990
Barker *et al.*, 2014

• Identification MALDI-TOF

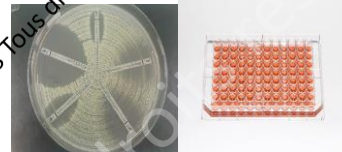
- 2 instruments, 3 bases de données
 - **LT2-Andromas**[®] (Andromas SAS, Paris, France)
 - Base de donnée Andromas
 - **Maldi Biotyper Microflex LT**[®] (Bruker Daltonics, Germany)
 - Base de donnée MSI (*Mass spectrometry identification*, Piarroux *et al.*, France)
 - Base de donnée Biotyper (Bruker Daltonics, Germany)

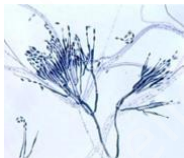


• Etude de la sensibilité aux antifongiques

Techniques E-test[®] et FIC-CAST

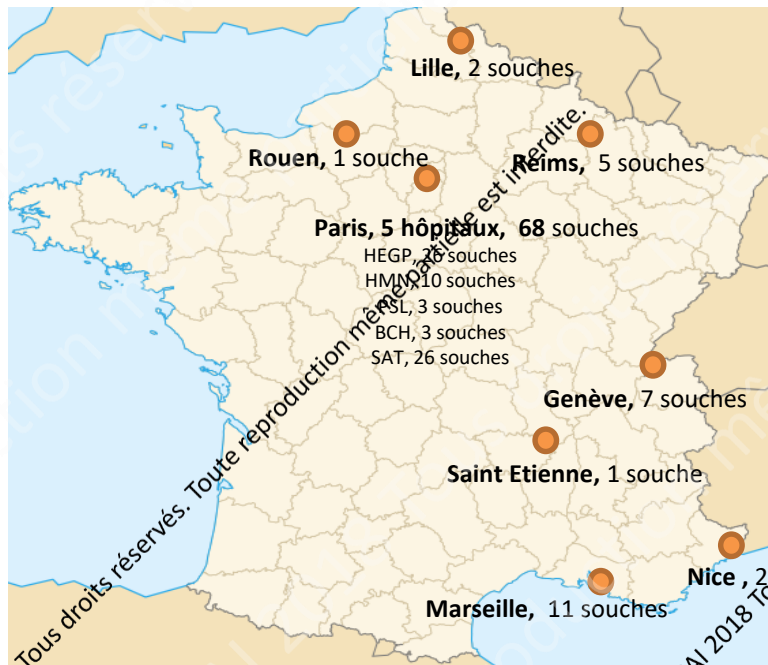
- **Echinocandines** : caspofungine, micafungine, anidulafungine
- **Azoles** : voriconazole, itraconazole, posaconazole, isavuconazole
- **Polyène** : amphotéricine B





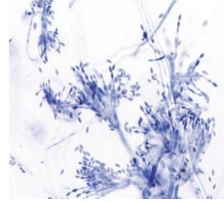
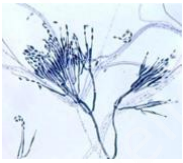
Résultats

Provenance des souches



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

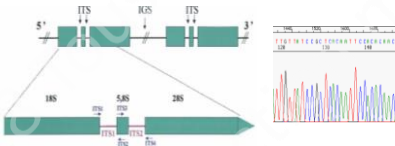


Résultats

Souches étudiées

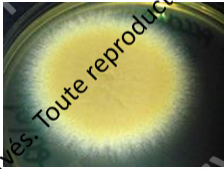
97 souches recueillies

Séquençage ITS



20 (21%) *Penicillium /Talaromyces*
2 (2%) *Rasamsonia*
3 (3%) *A. fumigatus*
1 (1%) *A. sydowi*

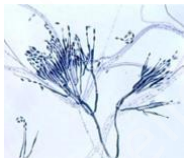
70 (72%)
Paecilomyces sp.



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

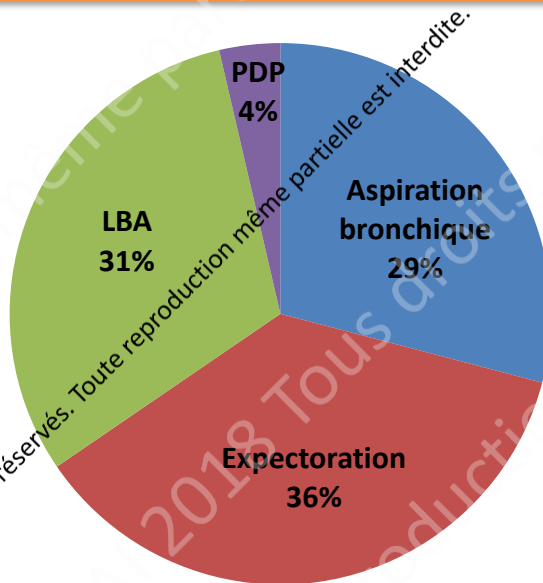
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



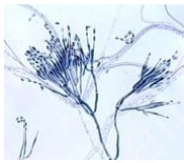
Résultats

Origine des prélèvements respiratoires

70 souches de *Paecilomyces sp.*
identifiées par biologie moléculaire

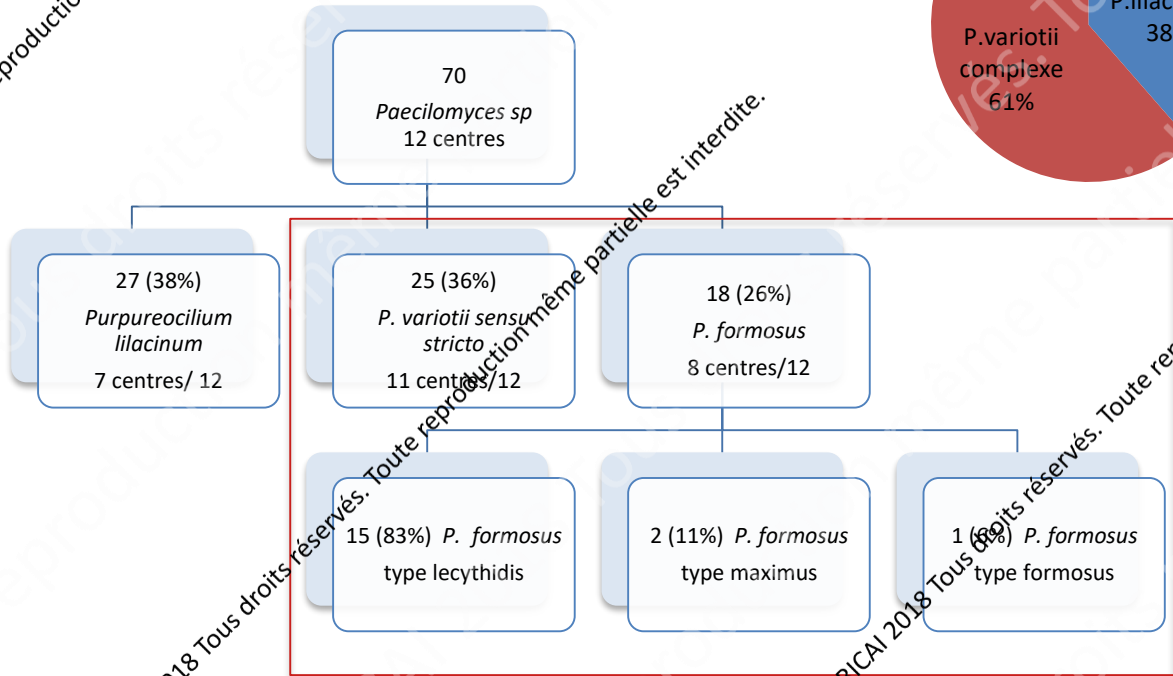
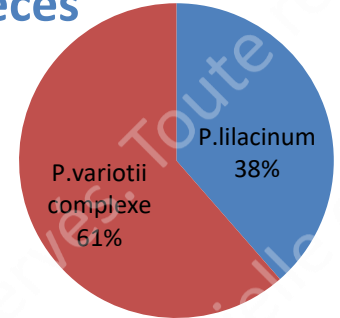


Patients colonisés

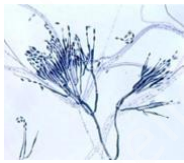


Résultats

Identification moléculaire des espèces



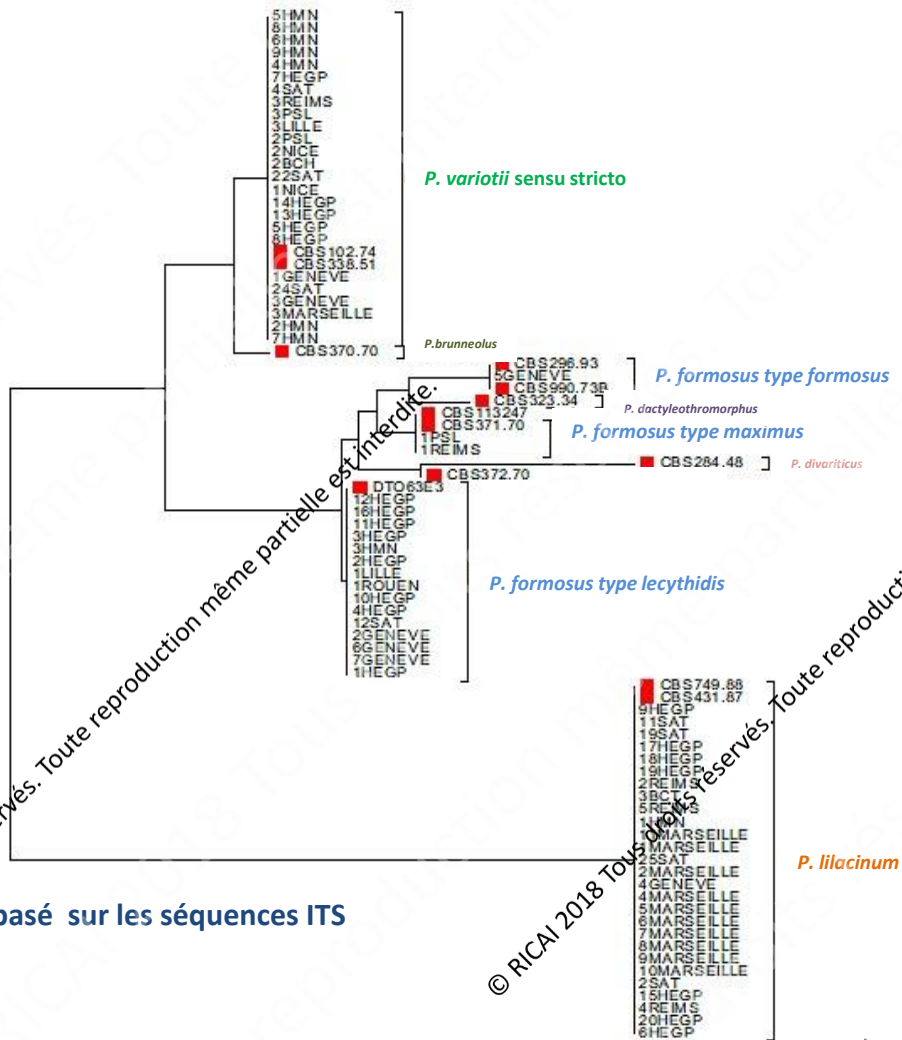
P. variotii complexe



Résultats

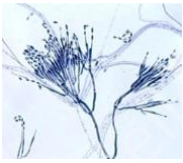
Arbre phylogénétique ITS

Arbre Neighbor-joining basé sur les séquences ITS



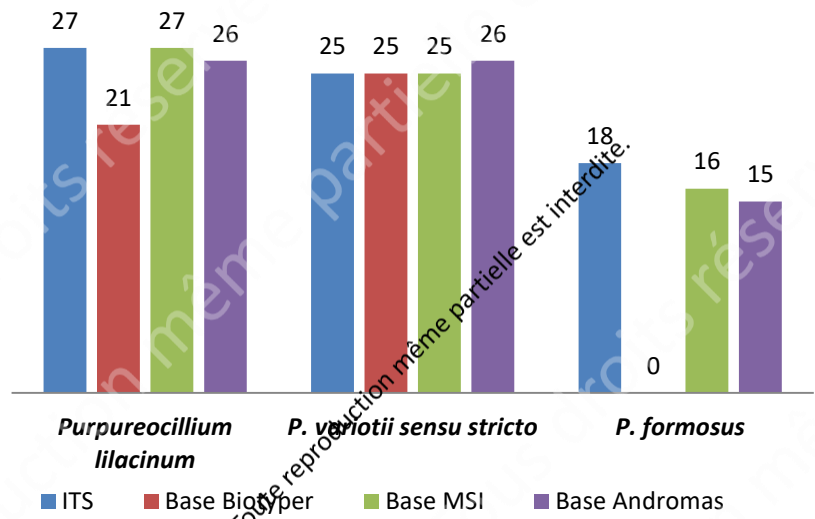
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

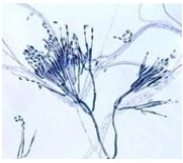


Résultats

Spectrométrie de masse MALDI-TOF

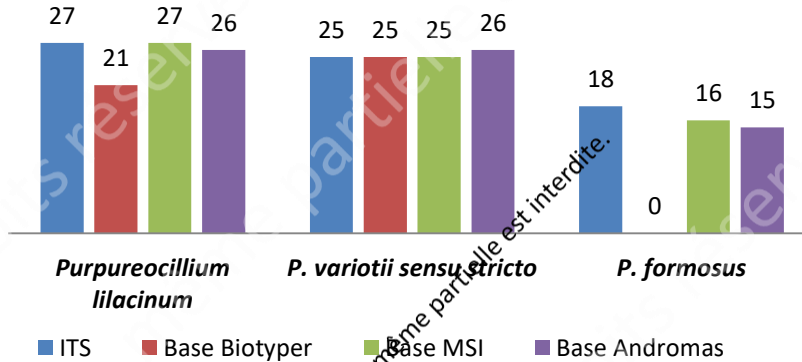


Base de données	Biotyper	MSI	Andromas
% concordance avec ITS	66% (n = 46)	97% (n = 68)	91% (n = 64)



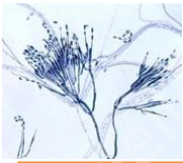
Résultats

Spectrométrie de masse MALDI-TOF



Principales discordances observées

- **Base Biotyper**
 - Pas d'identification des *P. formosus*
 - Pas d'identification pour certains *P. lilacinum*
- **Base MSI**
 - Pas d'identification des *P. formosus* type *maximus*
- **Base Andromas**
 - Inversion *P. formosus* et *P. variotii sensu stricto*



Résultats

Détermination des CMI

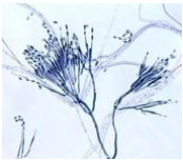
P. variotii sensu stricto

		CAS	MYCA	AND	VO	POSA	ISA	ITRA	AMP
E-Test	Moyenne (mg/L)	0,388	0,003	0,002	3,244	0,015	3,303	0,021	0,050
	Range (mg/L)	0,012-8	0,002-0,047	0,002-0,032	0,008-32	0,002-0,064	0,032-32	0,002-0,25	0,012-0,125
EUCAST	Moyenne (mg/L)	1,767	0,047	0,068	5,179	0,100	4,888	0,574	0,379
	Range (mg/L)	0,003-8	0,015-0,5	0,015-0,5	0,003-8	0,015-8	0,006-8	0,006-8	0,006-8

CMI élevées pour voriconazole et isavuconazole

Traitement à utiliser:

- **Amphotéricine B+++**, **AIII** selon recommandations ESCMID et ECMM 2014
- **Amphotéricine B + itraconazole**, **CIII** selon recommandations ESCMID et ECMM 2014
- **Intérêt des azolés ?** (sauf voriconazole et isavuconazole)
 - Itraconazole + chirurgie : traitement d'une sinusite invasive (Swami *et al.*, 2016)
 - Itraconazole : traitement d'une infection cutanée (Vasudevan *et al.*, 2013)
- **Intérêt des échinocandines?**
 - Aucune donnée dans la littérature



Résultats

Détermination des CMI

P. formosus

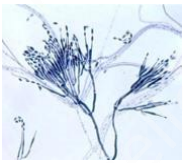
		CAS	MYCA	AND	VO	POSA	ISA	ITRA	AMP
E-Test	Moyenne (mg/L)	0,013	0,003	0,002	19,653	0,032	11,724	0,051	0,043
	Range (mg/L) 0,002-32	0,002-0,125	0,002-0,008	0,002-0,003	3-32	0,008-0,19	0,75-32	0,004-0,38	0,004-0,19
EUCAST	Moyenne (mg/L)	0,955	0,097	0,077	7,127	0,052	7,698	0,760	0,381
	Range (mg/L) 0,015-8	0,03-1	0,015-8	0,015-8	1-8	0,015-2	4-8	0,03-8	0,12-8

CMI élevées pour voriconazole et isavuconazole

Traitement à utiliser:

→ Pas de recommandations spécifiques mais traitement identique que pour *P. variotii sensu stricto*

- Micafungine: traitement d'une infection cutanée à *P. formosus* chez un prématuré (Kubois *et al.*, 2016)



Résultats

Détermination des CMI

P. marneffei

		CAS	MYCA	AND	VO	POSA	ISA	JTRA	AMP
Test	Moyenne (mg/L)	32	32	10,308	0,711	1,1442	2,277	6,948	32
	Range (mg/L)	32-32	32-32	2-32	0,094-4	0,064-32	0,38-16	0,75-32	2-32
EUCAST	Moyenne (mg/L)	8	8	8	0,449	0,615	2,475	6,817	8
	Range (mg/L)	8-8	8-8	8-8	0,12-8	0,015-8	0,5-8	0,5-8	8-8

CMI élevées pour échinocandines, amphotéricine B, itraconazole+/-isavuconazole

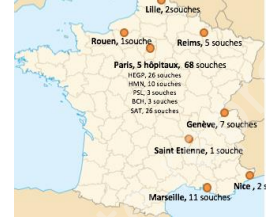
Traitement à utiliser:

→ voriconazole ou posaconazole, pas de niveau de preuve selon recommandations ESCMID et ECMM 2014

- Efficacité dans la prise en charge des infections à *P. marneffei*

(Yoshida *et al.*, 2018; Trinh *et al.*, 2017; Chew *et al.*, 2016; Todokoro *et al.*, 2014; Pastor *et al.*, 2006...)

Discussion/conclusion



✓ **Première étude collaborative sur des isolats cliniques de *Paecilomyces spp.***

✓ **Trois principales espèces**

- *P. variotii sensu stricto*,
- *P. formosus*,
- *Purpureocillium lilacinum ex P. lilacinum*

Données cohérentes avec la littérature:
P. variotii et *P. lilacinum*+++

Houbraken *et al.*, 2010
Luangsa-ard *et al.*, 2011

✓ **Bonne corrélation des bases de données MSI et Andromas avec les ITS (respectivement 97% et 91 %)**

- Nécessité d'enrichir la base de donnée Biotyper (corrélation 66%)
=>MALDI-TOF permet une bonne identification des *Paecilomyces spp.*

✓ **Sensibilité aux antifongiques variables en fonction des espèces**

- Résultats similaires entre E-test® et EUCAST
- *P. lilacinum* très résistant vs *P. variotii* et *P. formosus*

L'identification des espèces reste indispensable



RICAI 2018

38ème Réunion Interdisciplinaire
de Chimiothérapie Anti-Infectieuse

Remerciements

- Dr Françoise Botterel (HMN), Dr Eric Dannaoui (HEGP)
- Equipe HMN : Dr Nawel Aït Ammar, Dr Cécile Angebault, Dr Françoise Foulet
- Autres centres participants:
 - Bichat : Dr Christine Bonnal
 - Saint Antoine : Dr Juliette Guitard
 - Pitié Salpêtrière : Dr Anne-Cécile Normand, Pr Renaud Piarroux
 - Marseille : Pr Stéphane Ranque
 - Lille : Pr Boualem Senni
 - Rouen : Pr Loïc Favennec
 - Reims : Dr Antoine Huguenin
 - Genève : Dr Arnaud Riat
 - Saint-Etienne : Dr Hélène Raberin
 - Nice : Dr Lilia Hasseine

