

# Colonisation fongique et mucoviscidose

Période : novembre 2010 à février 2011

**Francis DEROUIN**

Hôpital Saint-Louis, Université Paris Diderot – Laboratoire de Parasitologie-Mycologie – Paris

Mots clés : **ABPA, *Aspergillus*, Colonisation, Mucoviscidose, Scedosporium**

La mucoviscidose est une maladie génétique à transmission autosomique récessive. Elle est liée à des mutations du gène CFTR<sup>(1)</sup> (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) entraînant une altération d'une protéine dont la fonction est de réguler le transport du chlore à travers les membranes cellulaires. Son dysfonctionnement provoque une augmentation de la viscosité du mucus et son accumulation dans les voies respiratoires et digestives.

La forme clinique la plus fréquente associe des troubles respiratoires, digestifs et des troubles de la croissance staturo-pondérale. Les complications infectieuses pulmonaires sont fréquentes, à la fois bactériennes et fongiques, contribuant à l'altération progressive de la fonction respiratoire.

Levures et champignons filamenteux sont fréquemment isolés dans les prélèvements respiratoires des patients atteints de mucoviscidose, avec une fréquence qui augmente avec l'âge. Parmi les levures, *Candida* est le plus représenté, retrouvé dans près de 15 % des prélèvements chez l'enfant, mais dont le rôle pathogène n'est pas clairement établi (Müller et Seidler, 2010). Parmi les champignons filamenteux, figurent principalement *Aspergillus fumigatus*, de loin le plus fréquent, responsable de l'Aspergillose Broncho Pulmonaire Allergique (ABPA<sup>(2)</sup>) (Moss, 2010) et *Scedosporium* dont le rôle pathogène est connu chez les patients immunodéprimés (Cortez *et al.* 2008) mais encore mal caractérisé au cours de la mucoviscidose. Rappelons que *Scedosporium* (principalement *S. apiospermum*, forme asexuée de *Pseudallescheria apiosperma* appartenant au complexe *P. boydii*) est une moisissure ubiquitaire trouvée dans le sol et les végétaux en cours de putréfaction, avec des concentrations de spores pouvant atteindre 1 000 UFC<sup>(7)</sup>/g en milieu urbain ou industriel (Harun *et al.* 2010, Kaltseis, Rainer et de Hoog, 2009).

## Caractérisation et conséquences de la colonisation des voies aériennes par des champignons filamenteux chez 201 adultes atteints de mucoviscidose en France

Paugam A, Baixench MT, Demazes-Dufeu N, Burgel PR, Sauter E, Kanaan R, Dusser D, Dupouy-Camet J, Hubert D. Characteristics and consequences of airway colonization by filamentous fungi in 201 adult patients with cystic fibrosis in France. *Med Mycol.* 2010; 48: 532-36

### Analyse

Cette étude rétrospective porte sur la caractérisation et la prévalence des champignons filamenteux dans les prélèvements respiratoires de 201 patients atteints de mucoviscidose suivis pendant une période de 2 ans au CRCM<sup>(3)</sup> de l'hôpital Cochin à Paris. Tous les prélèvements respiratoires (expectorations) ont fait l'objet d'une culture sur milieu Sabouraud-chloramphénicol-gentamicine et les résultats ont été analysés comparativement aux données bactériologiques et à l'incidence de l'ABPA. La présence d'un ou plusieurs champignons filamenteux a été relevée chez 132 patients (65,6 %) et 28 % d'entre eux présentaient une colonisation par plusieurs espèces. *Aspergillus fumigatus* a été retrouvé chez 56,7 % des patients et d'autres espèces d'*Aspergillus* dans 10,4 %. *Scedosporium apiospermum* était présent chez 3,4 % des patients. L'analyse de la fréquence des *Aspergillus* par rapport aux manifestations pathologiques associées à la mucoviscidose ne montre pas d'association significative avec la présence d'une pancréatite, d'une cirrhose mais elle est moins fréquente chez les patients atteints de diabète.

L'analyse comparative avec la prévalence des infections bactériennes montre que les patients présentant une culture positive à *Aspergillus* ont une plus forte prévalence de contamination par des mycobactéries (hors *M. tuberculosis*) et par *Stenotrophomonas maltophilia* ainsi qu'une tendance vers une association plus fréquente avec *Pseudomonas aeruginosa* ( $p = 0,07$ ). L'analyse par régression logistique montre que les patients colonisés par *S. apiospermum* ont un risque significativement plus élevé d'ABPA (RR = 13,04)

### Commentaire

Cette étude vient confirmer des données antérieures sur la forte prévalence des colonisations par *Aspergillus* et *Scedosporium* chez les patients atteints de mucoviscidose, en France (Pihet *et al.*, 2008) et l'émergence d'infections par *Scedosporium* (Grenouillet *et al.*, 2009). Cette fréquence élevée pourrait être liée à l'âge des patients étudiés (17 - 65 ans, médiane 26 ans). Il montre également la complexité des interactions entre des manifestations associées à la mucoviscidose et les colonisations ou les infections bactériennes associées, sans qu'il soit clairement possible d'identifier un facteur de co-morbidité. L'association significative entre colonisation par *Scedosporium* et ABPA incite à prendre en compte plus particulièrement l'isolement de ce champignon comme facteur de risque d'aggravation des fonctions respiratoires. Une confirmation de ces résultats par une étude prospective est actuellement en cours dans le cadre d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC 1902 « Mucofung » coordinatrice, L. Delhaes, CHRU de Lille) (Van Grunderbeeck *et al.*, 2010).

## Colonisation par *Aspergillus fumigatus* au cours de la mucoviscidose : quelles conséquences sur la fonction respiratoire ?

RK, Willems RJ, Bonten MJ, Wolfs TF. *Aspergillus fumigatus* colonization in cystic fibrosis: implications for lung function? Clin Microbiol Infect. 2010 Nov 18. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03429.x

### Analyse

Les auteurs ont examiné les conséquences de la colonisation sur la fonction respiratoire chez des patients qui ne présentaient pas d'ABPA, dans le but de bien différencier les éventuelles conséquences sur la fonction respiratoire de la simple colonisation par *A. fumigatus*.

Réalisée à Utrecht (Pays-Bas) l'étude a comporté une analyse transversale des données puis une analyse longitudinale réalisée sur une période d'au moins 4 ans pour identifier les conséquences à terme de la colonisation.

L'analyse par régression logistique simple (335 patients) montre une association significative entre la colonisation par *A. fumigatus* et l'âge, la diminution du VEMS<sup>(4)</sup>, l'infection chronique par *P. aeruginosa*, l'augmentation du nombre d'hospitalisations et de traitements par inhalation d'antibiotiques et par la DNase<sup>(5)</sup>. En analyse multi-variée seuls l'âge et l'utilisation d'antibiotiques inhalés restent significativement associés à la colonisation par *A. fumigatus*. L'étude longitudinale portant sur 163 patients suivis sur une durée d'au moins 4 ans ne montre pas d'altération significative de la fonction respiratoire chez les patients colonisés. La conclusion de cette étude est que, en l'absence d'ABPA, la colonisation prolongée par *A. fumigatus* n'altère pas les fonctions respiratoires.

### Commentaire

Cette étude reste difficile à analyser, bien qu'elle aborde le problème de la colonisation par une méthodologie et une durée d'analyse satisfaisante, car les facteurs de confusion sont assez nombreux dans la survenue des altérations des fonctions respiratoires au cours de la mucoviscidose. Ce qui semble ressortir le plus clairement est que la colonisation *stricto sensu* sans ABPA n'est pas associée à une altération des fonctions respiratoires.

## Prévalence de *Scedosporium* spp. et manifestations cliniques associées chez des patients Australiens atteints de mucoviscidose : identification d'un nouveau facteur de risque ?

Blyth CC, Middleton PG, Harun A, Sorrell TC, Meyer W, Chen SC. Clinical associations and prevalence of *Scedosporium* spp. in Australian cystic fibrosis patients: identification of novel risk factors? Med Mycol. 2010; 48: S37-44

### Analyse

Devant l'émergence des isollements de *Scedosporium* chez les patients atteints de mucoviscidose cette équipe australienne a entrepris une étude prospective d'un an sur une cohorte de 69 patients suivis à Sydney dans un centre de référence

sur la mucoviscidose. L'analyse microbiologique comportait un isolement bactériologique, des cultures mycologiques réalisées avec un milieu conventionnel et un milieu sélectif pour *Scedosporium*, ainsi qu'une PCR<sup>(6)</sup> multiplex identifiant les principales espèces de *Scedosporium*. Une colonisation par *Aspergillus* a été observée dans 69,6 % des cas et dans 17,4 % des cas par *Scedosporium*.

L'analyse comparée des données mycologiques, bactériologiques et cliniques montre que les sujets colonisés par *Scedosporium* sont moins fréquemment colonisés par *P. aeruginosa* et qu'il existe une association forte entre l'administration de traitements anti-staphylococciques par une pénicilline et la colonisation chronique par *Scedosporium*. Le faible effectif n'a pas permis de mettre en évidence un lien significatif entre colonisation et manifestation cliniques ou altérations des fonctions respiratoires (VEMS), pancréatiques ou digestives.

### Commentaire

Cette étude met en avant l'intérêt des milieux sélectifs pour isoler *Scedosporium* dont la croissance lente peut être gênée par d'autres champignons plus fréquemment retrouvés chez les patients atteints de mucoviscidose (tels qu'*Aspergillus*).

### CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces trois articles ont en commun de vouloir estimer la prévalence des infections fongiques par des champignons filamenteux au cours de la mucoviscidose et de tenter d'établir un lien entre colonisation et altération des fonctions respiratoires. Autant, il semble assez clair que l'ABPA est un facteur de morbidité reconnu, autant il est difficile d'établir un lien significatif entre la colonisation et morbidité, et ceci pour plusieurs raisons: divergences techniques d'une part, en raison des différentes modalités d'isollements de champignons souvent associés sur un même prélèvement et difficiles à identifier lorsqu'une espèce masque la présence d'une autre comme c'est le cas pour *Aspergillus* et *Scedosporium*; problème de définition de la colonisation d'autre part, conduisant suivant les études, à différencier colonisation simple, transitoire et chronique. L'apport des techniques récentes de génotypage devrait également permettre de mieux caractériser les isolats pour différencier la colonisation persistante par une même souche, de contaminations répétées par différentes souches.

Ces articles montrent également la multiplicité et l'interaction des facteurs de co-morbidité au cours de la mucoviscidose, dont il est difficile d'extraire la colonisation fongique comme facteur indépendant. Il n'en reste pas moins que plusieurs espèces de champignons filamenteux présents dans l'environnement sont fréquemment isolées chez ces patients, au premier rang desquels figurent *A. fumigatus*

et, de façon émergente, *Scedosporium*. Le lien avec la contamination environnementale (parfois importante) par ces champignons a été évoqué par plusieurs auteurs mais reste à établir par des études quantifiant l'exposition des patients et l'analyse moléculaire des isolats collectés chez les patients et dans leur environnement. Enfin, ces articles soulignent l'importance du dépistage et du suivi de la colonisation, le dernier article montrant clairement l'apport des techniques moléculaires pour la mise en évidence et l'identification de certaines espèces fongiques.

## Lexique

- (1) CFTR: Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator.
- (2) ABPA: aspergillose broncho-pulmonaire allergique.
- (3) CRCM: Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose.
- (4) VEMS: Volume Expiratoire Maximal par Seconde (test d'exploration fonctionnelle respiratoire).
- (5) DNase: enzyme capable de couper l'ADN. Utilisé comme médicament dans la mucoviscidose pour réduire la viscosité des sécrétions bronchiques.
- (6) PCR: polymérase chain reaction, ou réaction biologique permettant d'amplifier des fragments d'ADN. Très utilisé pour le diagnostic biologique.
- (7) UFC: unité formant colonie.

## Publications de référence

**Cortez KJ, Roilides E, Quiroz-Telles F et al.** Infections caused by *Scedosporium* spp. Clin Microbiol Rev. 2008; 21: 157-197.

**Grenouillet F, Botterel F, Cruzet J et al.** *Scedosporium prolificans*: an emerging pathogen in France? Med Mycol. 2009; 47: 343-350.

**Harun A, Gilgado F, Chen SC et al.** Abundance of *Pseudallescheria Scedosporium* species in the Australian urban environment suggests a possible source for scedosporiosis including the colonization of airways in cystic fibrosis. Med Mycol. 2010; 48 Suppl 1: S70-76.

**Kaltseis J, Rainer J, de Hoog GS.** Ecology of *Pseudallescheria* and *Scedosporium* species in human-dominated and natural environments and their distribution in clinical samples. Med Mycol. 2009; 47: 398 - 405.

**Moss RB.** Allergic bronchopulmonary aspergillosis and *Aspergillus* infection in cystic fibrosis. Curr Opin Pulm Med. 2010; 16: 598-603.

**Pihet M, Carrere J, Cimon B et al.** Occurrence and relevance of filamentous fungi in respiratory secretions of patients with cystic fibrosis--a review. Med Mycol. 2009; 47: 387-397.

**Van Grunderbeeck N, Conseil V, Leroy S et al.** Le risque fongique dans la mucoviscidose: étude pilote. Ann Biol Clin 2010; 68: 157-162.

## Revue de la littérature

**Müller FM, Seidler M.** Characteristics of pathogenic fungi and antifungal therapy in cystic fibrosis. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010; 8: 957-964.

## Autres publications identifiées

**McMahon MA, Chotirmall SH, McCullagh B et al.** Radiological abnormalities associated with *Aspergillus* colonization in a cystic fibrosis population. Eur J Radiol. 2011 Feb 22.

*Étude radiologique et fonctionnelle montrant une plus grande fréquence des lésions bronchiques chez les patients atteints de mucoviscidose et colonisés par Aspergillus, comparativement aux patients non colonisés.*

**Baxter CG, Jones AM, Webb K et al.** Homogenisation of cystic fibrosis sputum by sonication - An essential step for *Aspergillus* PCR. J Microbiol Methods. 2011 Jan 28.

*Étude technique des conditions de traitement des expectorations de patients atteints de mucoviscidose pour améliorer le diagnostic des infections/colonisations par Aspergillus. En raison de la viscosité des expectorations, un prétraitement de l'échantillon par le dithiothreitol et par sonication augmente significativement la sensibilité de la PCR.*

**Harun A, Gilgado F, Chen SC et al.** Abundance of *Pseudallescheria Scedosporium* species in the Australian urban environment suggests a possible source for scedosporiosis including the colonization of airways in cystic fibrosis. Med Mycol. 2010; 48: S70-76.

*Cette étude environnementale réalisée en milieu urbain, semi urbain et rural proche de Sydney (Australie) a pour objectif d'étudier la prévalence des différentes espèces de Scedosporidium dans le sol. Les plus fortes concentrations ont été retrouvées en environnement urbain (905 UFC/g $\pm$ ) et semi urbain (260 UFC/g $\pm$ ). Les auteurs évoquent un lien possible entre cette contamination environnementale et la colonisation fongique par Scedosporium chez les patients atteints de mucoviscidose.*

**Numéro spécial de Medical Mycology 2010; 48: Suppl 1: Fungal respiratory infections in Cystic Fibrosis.** Eds: Jean-Philippe Bouchara, Françoise Symoens, Laurence Delhaes and Regine Horr. *Ce numéro spécial fait suite au premier symposium du groupe de travail « Fungal respiratory infections in Cystic Fibrosis » de l'ISHAM, organisé à Angers en juin 2009 [First Meeting of the ISHAM Working Group « Fungal respiratory infections in Cystic Fibrosis », June 7<sup>th</sup> - 8<sup>th</sup> 2009 in Angers, France].*

*Il regroupe 1 éditorial et 16 articles traitant des aspects fondamentaux, diagnostic, épidémiologiques et cliniques des infections et colonisations fongiques au cours de la mucoviscidose, soulignant l'émergence de nouvelles espèces fongiques impliquées, en particulier Scedosporidium.*

## Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

ABPA, *Aspergillus*, Colonization, Cystic fibrosis, Fungal infection, *Scedosporium*.