

Résistance aux antifongiques

Sophie HARTUIS

AHU, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie Médicale

CHU de Nantes

UR1155, IICiMed Cibles des médicaments des infections et de l'immunité

Plan

1

- Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)

2

- Définition de la résistance et détection de la résistance

3

- Résistance chez *Candida*

4

- Résistance chez *Aspergillus*

5

- Résistance chez les dermatophytes

6

- Conclusion

Plan

1

- Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)

2

- Définition de la résistance et détection de la résistance

3

- Résistance chez *Candida*

4

- Résistance chez *Aspergillus*

5

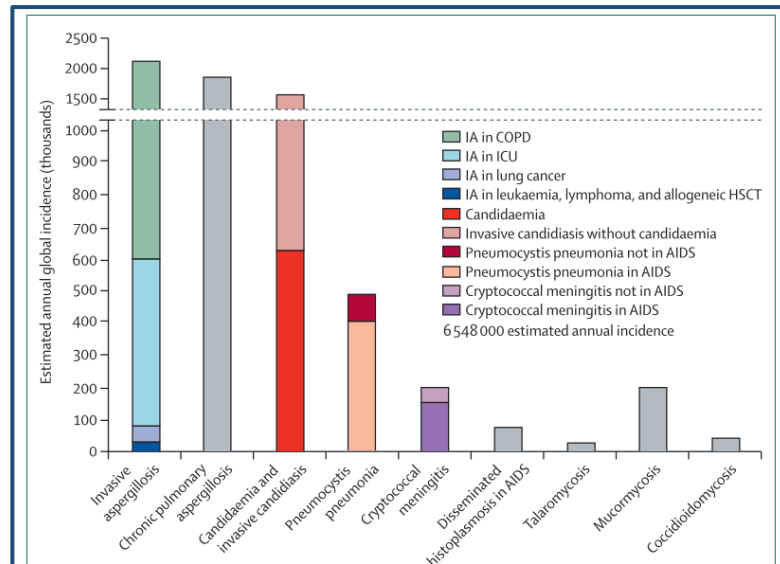
- Résistance chez les dermatophytes

6

- Conclusion

Mycologie médicale

- Différents types d'infections fongiques avec une incidence variable
 - Infections fongiques invasives mais aussi infections fongiques superficielles



Infections fongiques invasives → Mortalité élevée : 35-90% en fonction de l'IFI

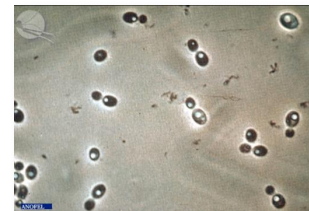
Fungal Disease	Annual Incidence	Global Burden	Comments
Superficial			
Skin, hair, nail		~1,000,000,000	
Fungal keratitis		~1,000,000	
Mucosal			
Oral candidiasis	~2,000,000		HIV only, 90% of those not on ARVs
Oesophageal candidiasis	~1,300,000		HIV only, 20% on those with CD4 counts <200 and 5% of those on ARVs
Vulvovaginal candidiasis episode			70% affected in their lifetime
Recurrent vulvovaginal candidiasis		~134,000,000	Annual prevalence. Nearly 500 million lifetime experience
Allergic			
Allergic bronchopulmonary aspergillosis in asthma		~4,800,000	Adults only, rare in children
Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis		~6675	Adults only, starts from age 4
Severe asthma with fungal sensitisation		~6,500,000	Adults only, probably uncommon in children
Fungal rhinosinusitis		~12,000,000	

- Différents types de champignons impliqués en pathologie humaine :

- Levures
- Champignons filamenteux
- Champignons dimorphiques

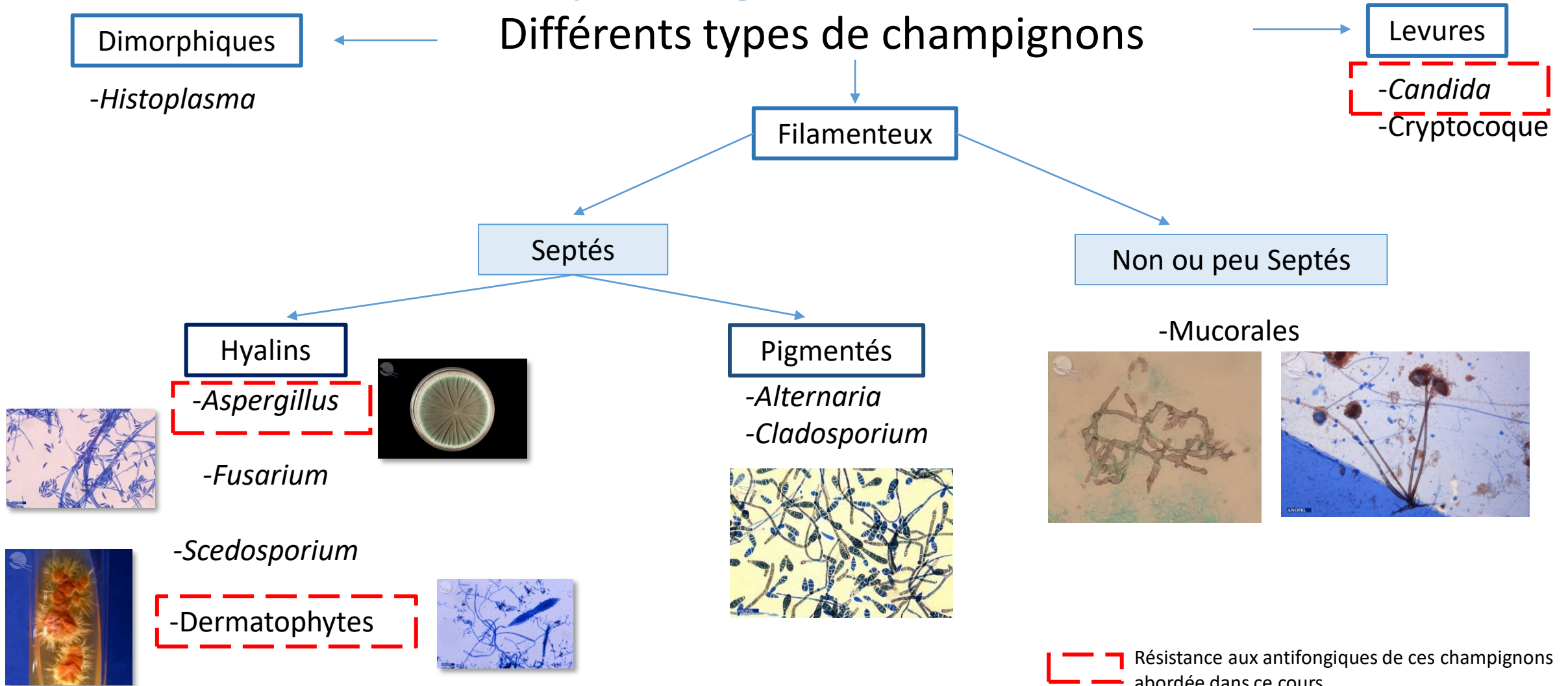
(forme levure chez l'hôte, et forme filamenteuse dans l'environnement)

Micromycètes : organismes eucaryotes



Mycologie médicale

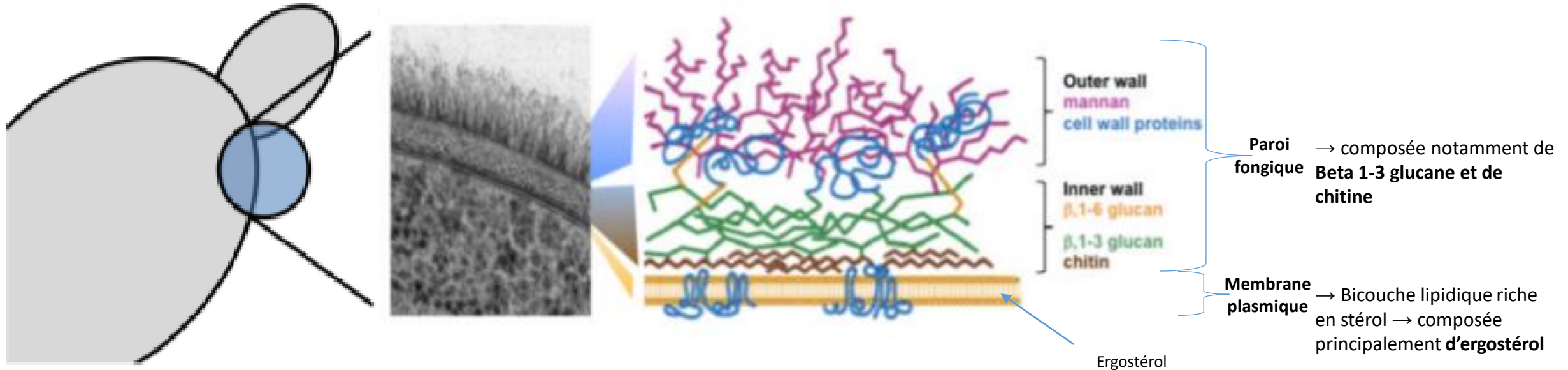
Différents types de champignons



Resistance aux antifongiques de ces champignons abordée dans ce cours

Constitution d'une cellule fongique

Exemple chez *C. albicans* :



Rappel- Antifongiques

Quelles sont les différentes classes d'antifongiques ?



Rappel- Antifongiques

Quelles sont les différentes classes d'antifongiques ?

-
-
-
-



Rappel- Antifongiques

Quelles sont les différentes classes d'antifongiques ?

-
-
-
-

Quelques exemples de molécules ?



Rappel- Antifongiques systémiques

- **4 classes :**

Nombre de cibles limité

- Les azolés

- Fluconazole
- Itraconazole
- Voriconazole
- Posaconazole
- Isavuconazole

- Les échinocandines

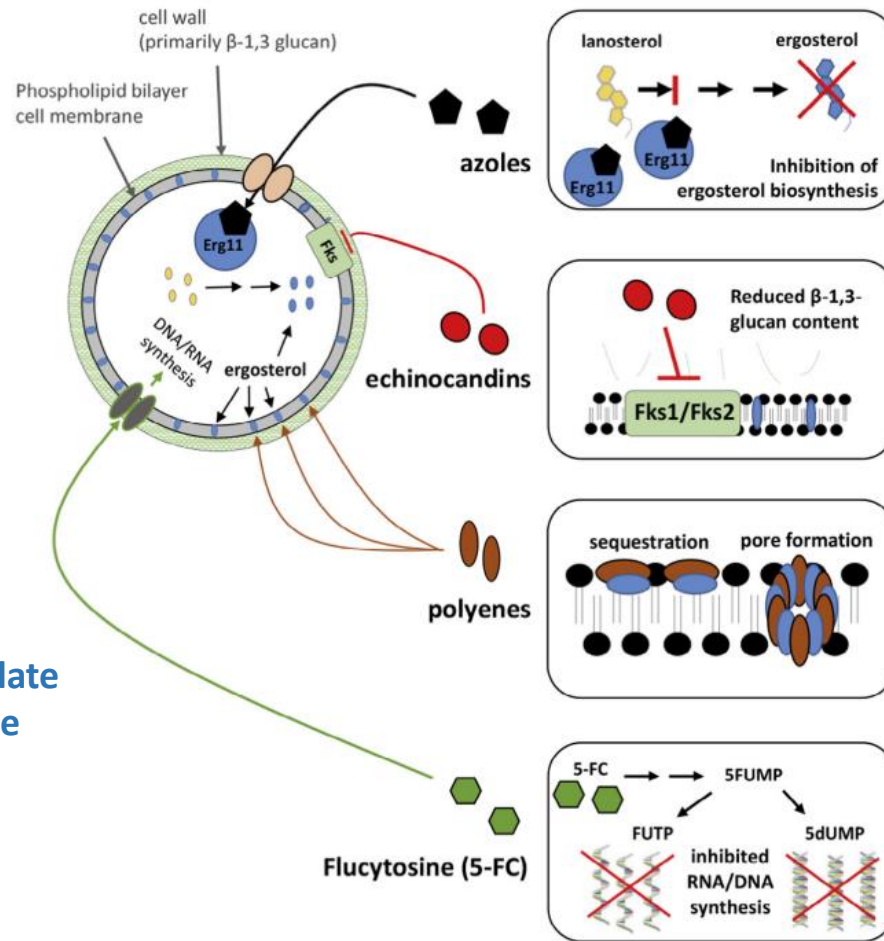
- Micafungine
- Caspofungine
- Anidulafungine

- Les polyènes

- Amphotéricine B déoxycholate
- Amphotéricine B liposomale

- La 5-FC

- Flucytosine

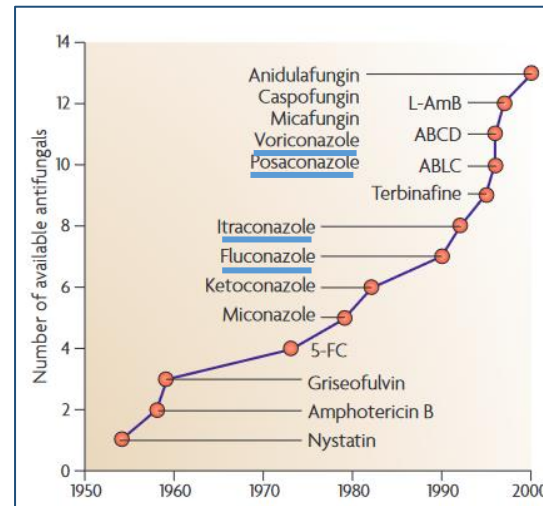


Mécanisme d'action	Cible
Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol : Inhibiteurs de la lanostérol 14 α déméthylase (gène <i>ERG11/CYP51A</i>)	Membrane
Inhibiteur de la β-1-3 glucane synthase (gène <i>FSK1-FSK2</i>)	Paroi
Formation de pores dans la membrane plasmique	Membrane
Inhibition de la synthèse protéique et transcription	Noyau

Rappel- Antifongiques

- **4 classes :**
 - Les azolés : la plus grande classe d'ATFs
 - **Triazolés (ATF systémiques)**

Fongistatique sur *Candida*
Fongicide sur *Aspergillus*

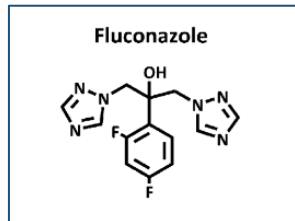
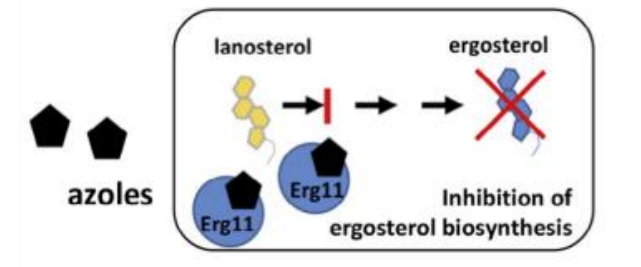


Mécanisme d'action

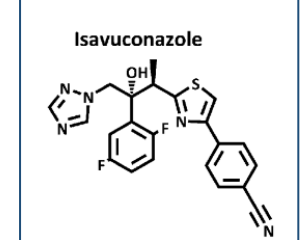
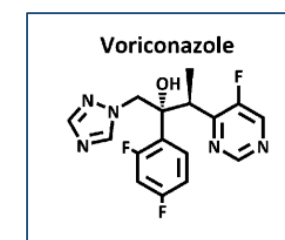
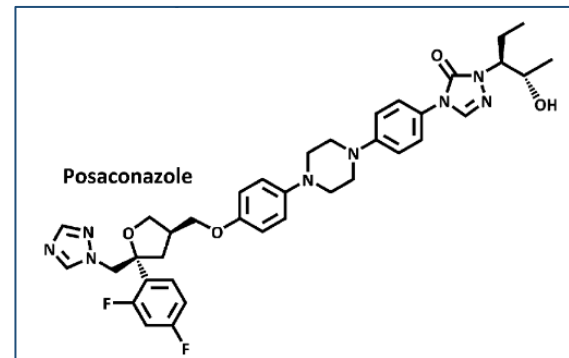
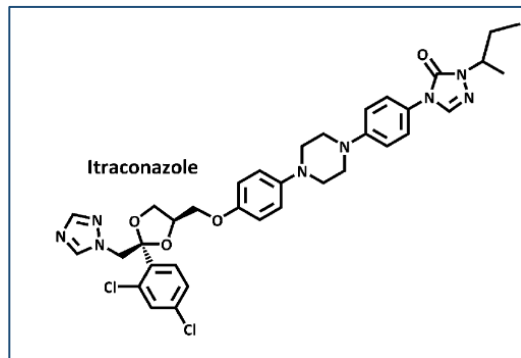
Cible

Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol : Inhibiteurs de la lanostérol 14 α déméthylase (gène *ERG11/CYP51A*)

Membrane



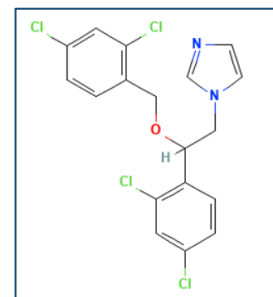
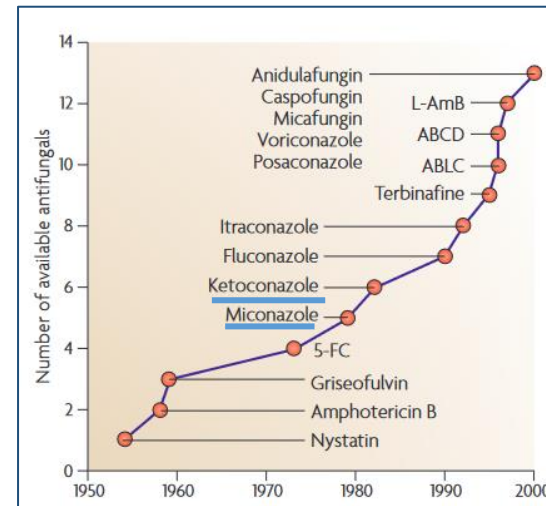
Résistance naturelle à *Aspergillus*



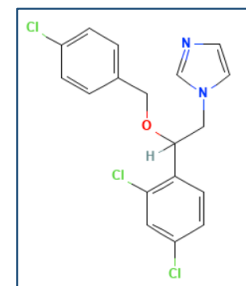
Rappel- Antifongiques

- **4 classes :**

- Les azolés : la plus grande classe d'ATFs
 - **Triazolés (ATF systémiques)**
 - **Imidazolés (ATF topiques)**
 - Clotrimazole
 - Bifonazole
 - Miconazole
 - Econazole
 - Kétoconazole



Miconazole



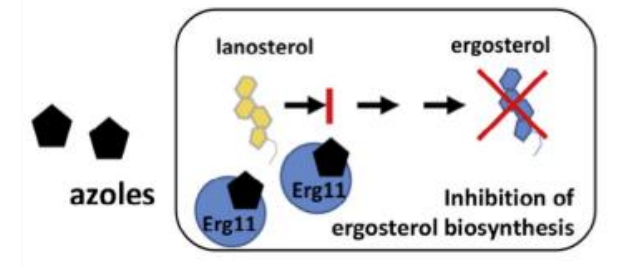
Econazole

Mécanisme d'action

Cible

Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol : Inhibiteurs de la lanostérol 14 α déméthylase (gène *ERG11/CYP51A*)

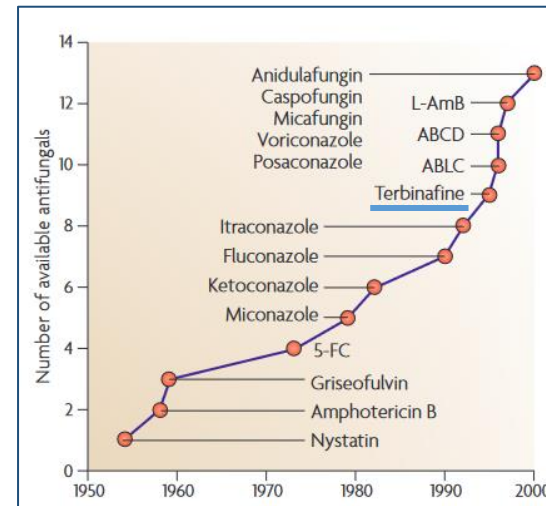
Membrane



Rappel- Antifongiques

- **4 classes :**

- Les azolés : la plus grande classe d'ATFs
 - **Triazolés (ATF systémiques)**
 - **Imidazolés (ATF topiques)**



- Autre antifongique inhibiteur de la biosynthèse de l'ergostérol
 - **Allylamine** → Terbinafine

PO et topique

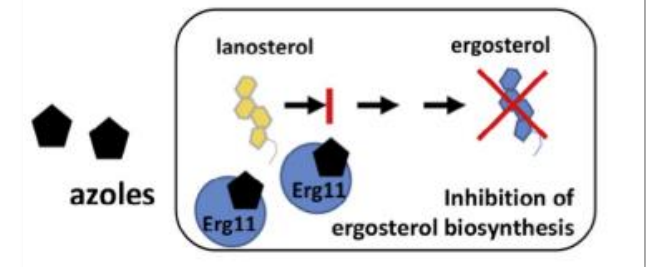
- Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol mais stade plus précoce → inhibition de la squalène époxydase (Erg1) → Traitement des dermatophytoses

Mécanisme d'action

Cible

Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol : Inhibiteurs de la lanostérol 14 α déméthylase (gène *ERG11/CYP51A*)

Membrane



Rappel- Antifongiques

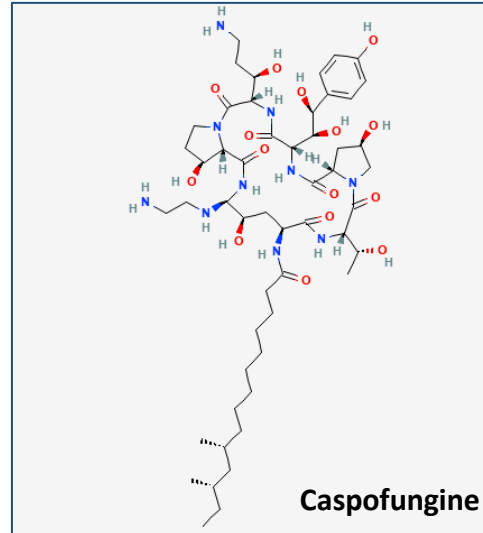
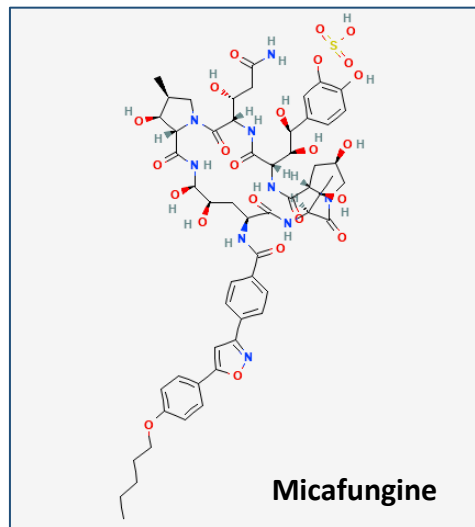
- **4 classes :**

- Les échinocandines

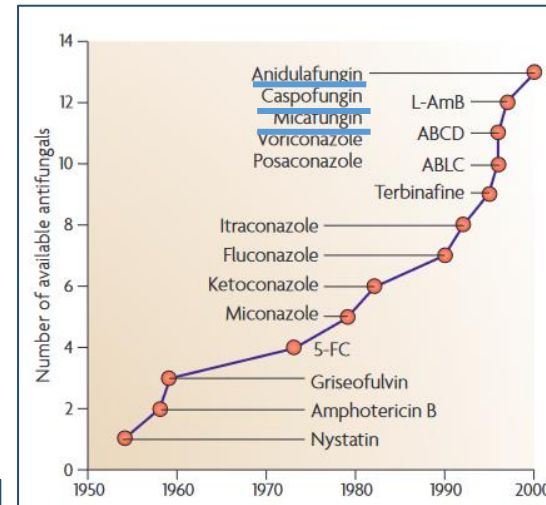
- Lipopeptides cycliques semi-synthétiques
 - Synthèse d'origine fongique
 - Voie d'administration : IV

Fongicide sur *Candida*
Fongistatique sur *Aspergillus*

→ Traitement de 1^{ère} intention des candidémies



+ Anidulafungine

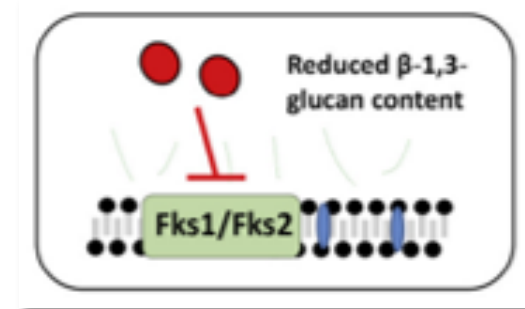


Mécanisme d'action

Cible

Inhibition non compétitive de la β -1-3 glucane synthase (gène *FSK1-FSK2*)

Paroi

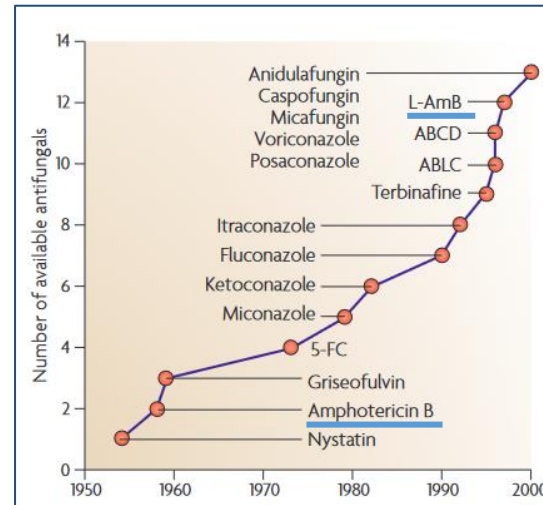
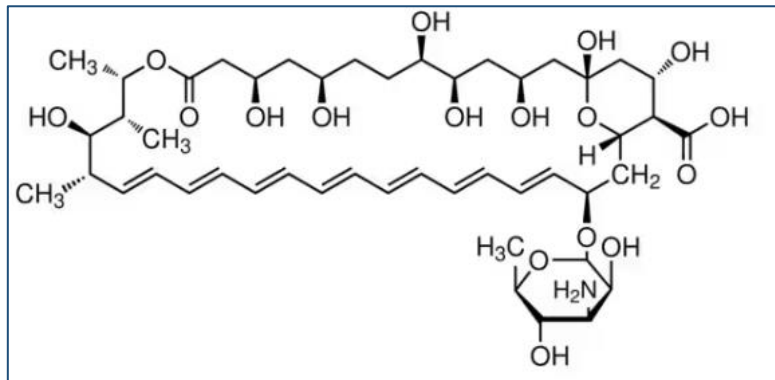


Rappel- Antifongiques

- **4 classes :**

- Les polyènes
 - Macrolactone polyénique
 - Amphotéricine B
 - Amphotéricine B liposomale
 - Amphotéricine B déoxycholate

Fongicide sur *Candida* et sur *Aspergillus*

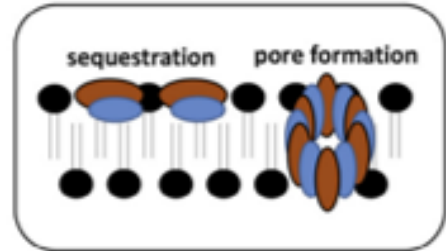


Mécanisme d'action

Cible

Formation de pores dans la membrane plasmique

Membrane



Altération de la perméabilité membranaire → fuite ionique et lyse cellulaire

Rappel- Antifongiques

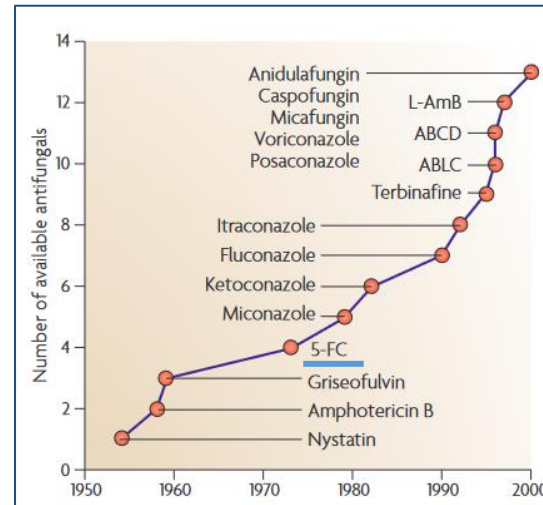
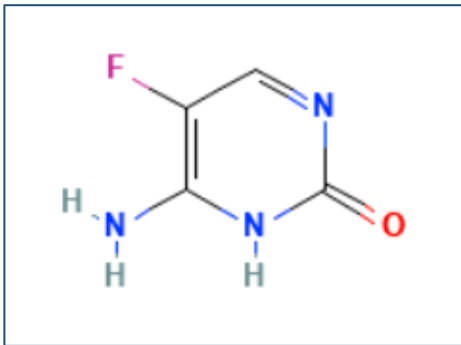
- **4 classes :**

- 5 FC ou Flucytosine

- Toujours en association pour limiter les résistances

→ Utilisé dans le traitement des cryptococcoses neuro-méningées

Fongistatique sur *Candida*

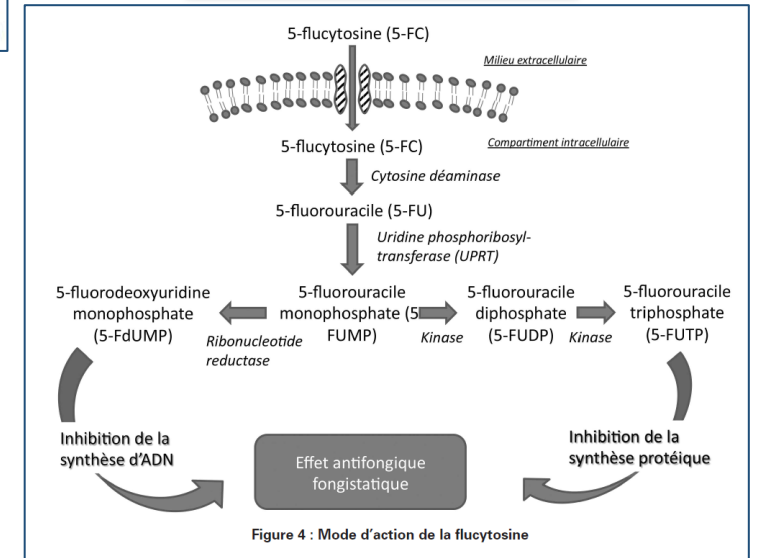
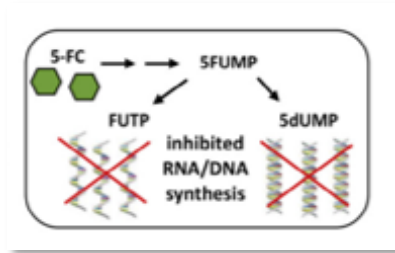


Mécanisme d'action

Cible

Inhibition de la synthèse protéique et transcription

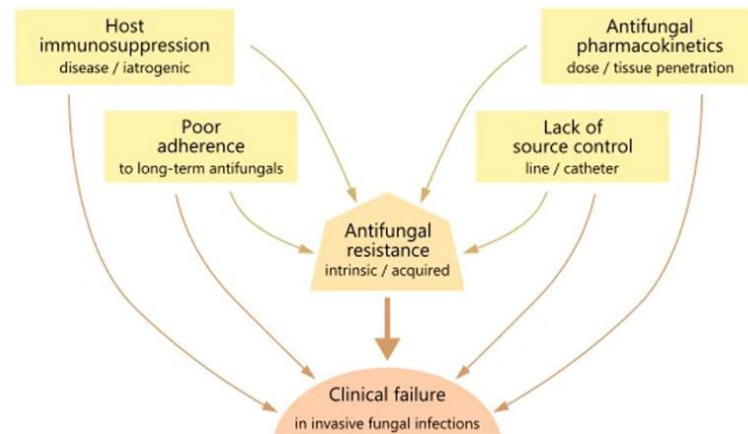
Noyau



Echec thérapeutique

- Différents facteurs impliqués dans un **échec thérapeutique**

Patient	Champignon	Antifongique
<ul style="list-style-type: none">• Mauvaise observance• Site de l'infection• Statut immunitaire	<ul style="list-style-type: none">• Résistance aux antifongiques• Biofilm	<ul style="list-style-type: none">• Interactions médicamenteuses• Posologie• Fongistatique/Fongicide• Pharmacocinétique



Plan

1

- Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)

2

- Définition de la résistance et détection de la résistance

3

- Résistance chez *Candida*

4

- Résistance chez *Aspergillus*

5

- Résistance chez les dermatophytes

6

- Conclusion

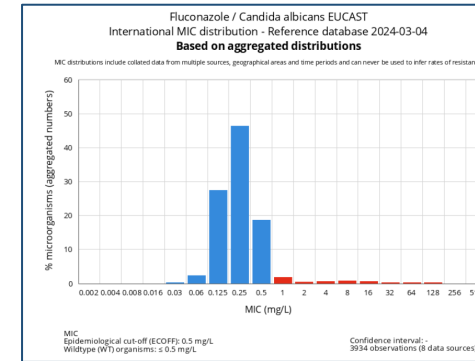
Définition de la résistance

• Résistance innée

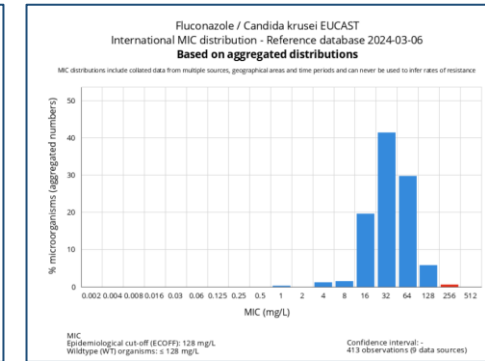
- « Résistance primaire »
- Indépendante de l'exposition aux antifongiques
- Toutes les souches de la même espèce sont touchées
- Ex : *Pichia kudriavzevii* et le fluconazole
(ex: *Candida krusei*)

• Résistance acquise

- « Résistance secondaire »
- Au départ, isolat sensible puis développement de la résistance
- Liée à l'exposition aux antifongiques, à la plasticité du génome
- Seules certaines souches d'une même espèce sont touchées
- Ex : certaines souches de *Candida albicans* et certaines souches d'*Aspergillus fumigatus*



Distribution des CMI au fluconazole pour *C. albicans*



Distribution des CMI au fluconazole pour *P. kudriavzevii*
→ Résistance innée au fluconazole

Table 1
Overview of the intrinsic *in vitro* antifungal susceptibility profiles of the most clinically-relevant yeasts against systemic antifungals.

Yeasts	FLC	VRC	POS	ISA	AMB	ANI	CAS	MIC	SFC
<i>Candida albicans</i>	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
<i>Candida glabrata</i>	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
<i>Candida krusei</i>	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Red
<i>Candida tropicalis</i>	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
<i>Candida parapsilosis</i>	Green	Green	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Green
<i>Candida lusitanae</i>	Green	Green	Green	Green	Green	Yellow	Green	Green	Green
<i>Candida guilliermondii</i>	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
<i>Candida norvegensis</i>	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Red
<i>Candida inconspicua</i>	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Yellow
<i>Candida kefyr</i>	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
<i>Candida auris</i>	Red	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
<i>Rhodotorula spp.</i>	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green
<i>Trichosporon spp.</i>	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Red
<i>Geotrichum spp.</i>	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green

Legend:

- Green: Intrinsically susceptible (S)
- Yellow: Intrinsically intermediately susceptible (I)
- Red: Resistant (R)
- Grey: There is insufficient evidence that this species is a good target for the compound in question

Footnotes: coloring is based on established EUCAST clinical breakpoints when available, and on clinical experience when breakpoints are not yet established.
FLC: fluconazole; VRC: voriconazole; POS: posaconazole; ISA: isavuconazole; AMB: amphotericin B; ANI: anidulafungin; CAS: caspofungin; MIC: micafungin; SFC: flucytosine.

Phénomène dynamique et cumulatif → impact sur la thérapeutique

Détection de la résistance

- Différentes méthodes pour détecter la résistance :
 - Méthode phénotypique :
 - Antifongogramme → détermination CMI → Sensible/ Intermédiaire/ Résistant
 - ↳ Détermination du profil de sensibilité *in vitro*
 - Méthode génotypique :
 - Rechercher mutation ponctuelle
 - sur gène impliqué dans la résistance aux antifongiques



Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques → **Détermination de CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices)**
 - Différentes méthodes :
 - Les méthodes de référence :
 - EUCAST
 - CLSI
 - Les méthodes commerciales :
 - Etest®
 - Sensititre™ Yeast One™

Non utilisée en routine
au laboratoire

Utilisée en routine au
laboratoire

Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques



Détermination de CMI
(Concentrations Minimales Inhibitrices)

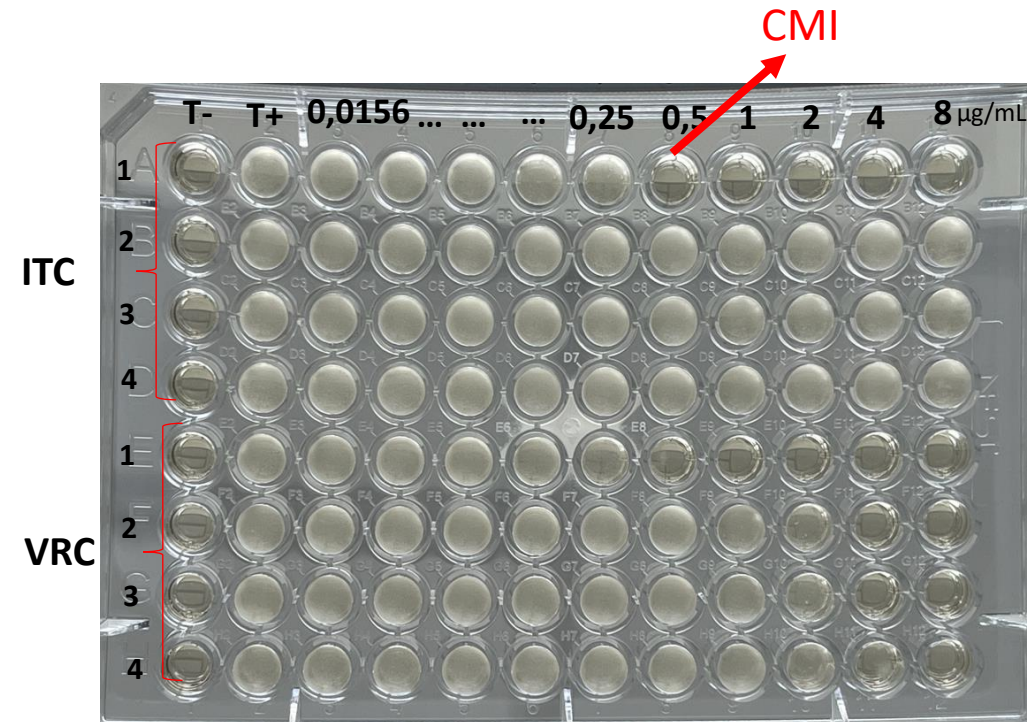
- Différentes méthodes :

- Les méthodes de référence :

- **EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- **CLSI** : Clinical & Laboratory Standards Institute (Américain)

- Détermination des CMI par microdilution en milieu liquide
- Long à réaliser, non adapté pour la routine

Non commercialisées



Exemple de plaque EUCAST
Itraconazole (ITC)/ Voriconazole (VRC)
Souches d'*Aspergillus fumigatus* n°1 à 4

Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques → Détermination de CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices)

- Différentes méthodes :

- Les méthodes commerciales :

- **Sensitre™ Yeast One™** → microdilution en milieu liquide → méthode colorimétrique



- **Etest®** → bandelettes imprégnées d'antifongiques avec un gradient croissant d'antifongique → lecture visuelle



Collection personnelle



Test de la sensibilité au Fluconazole et à la micafungine par bandelette Etest®

Plus facile à réaliser,
commercialisée,
standardisée

Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques



Détermination de CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices)

- Différentes méthodes :

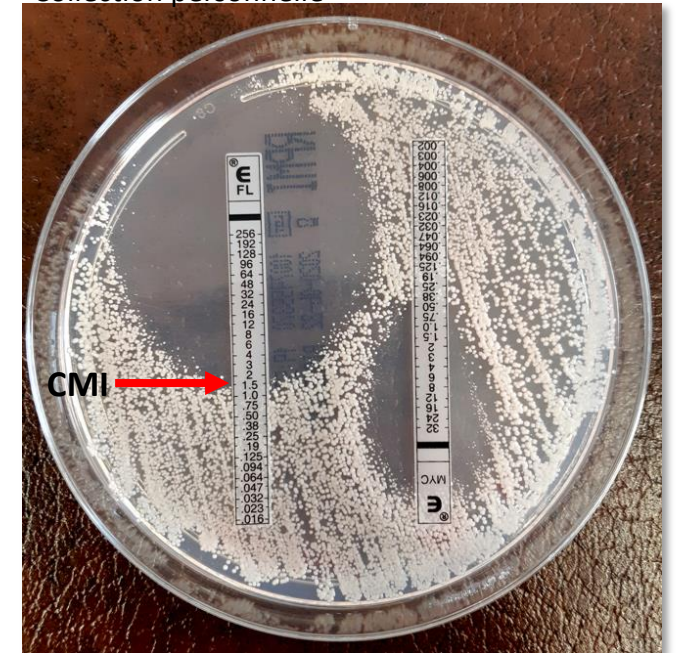
- Les méthodes commerciales :

- **Etest**[®] → bandelettes imprégnées d'antifongiques avec un gradient croissant d'antifongique → lecture visuelle

Plus facile à réaliser,
commercialisée,
standardisée

- ❑ Préparation d'un inoculum standardisé
- ❑ Milieu gélosé RPMI
- ❑ Dépôt de la bandelette imprégné d'antifongiques avec un gradient croissant d'antifongique
- ❑ Incubation à 37°C
- ❑ Lecture à 24h/48h → règles de lecture en fonction champignon et antifongique → nécessite une expertise (Lecture parfois difficile)
- ❑ Règle d'interprétation

Collection personnelle



Test de la sensibilité au Fluconazole et à la micafungine par bandelette Etest[®]

Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques

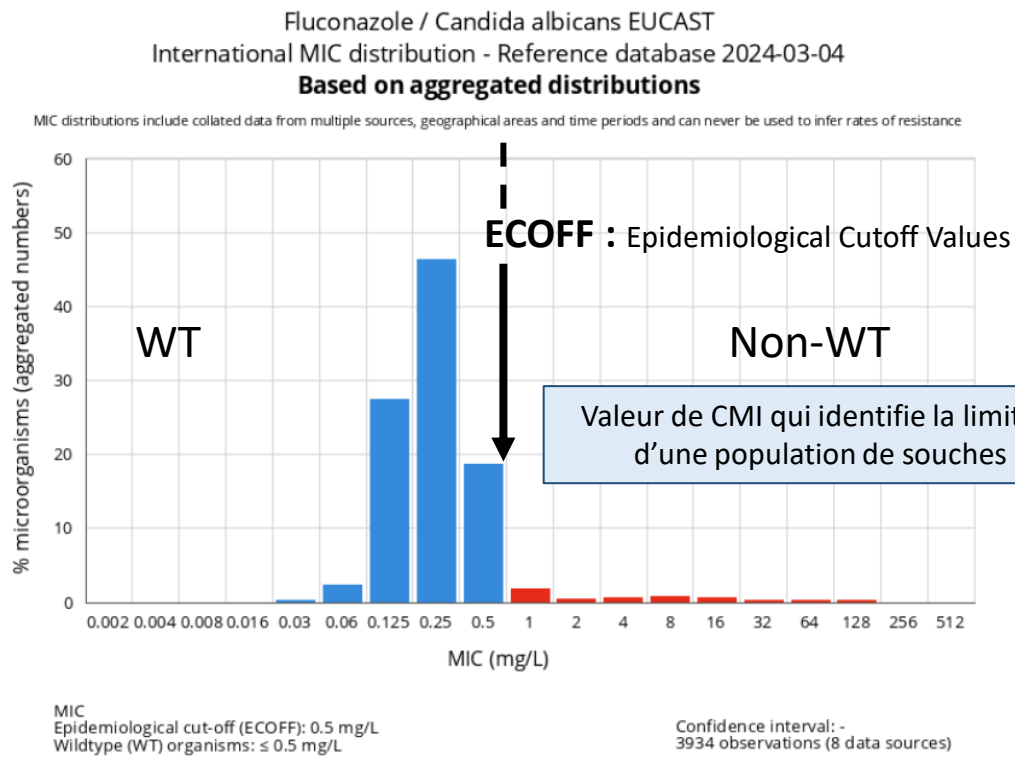
➔ Quand réaliser un antifongigramme ?

- si souche isolée dans un site stérile (ex: hémoculture)
- suspicion d'échec thérapeutique
- patient déjà exposé aux antifongiques
- espèces rares



Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques



Permet la détermination des CB (Clinical Breakpoint) avec prise en compte de d'autres paramètres (PK, études cliniques...)

Analyse de la distribution des CMI pour chaque espèce

- ❑ Détermination de l'ECOFF par méthode statistique

Candida and *Cryptococcus* spp.

MIC method (EUCAST standardised broth microdilution method)
Medium: RPM1640-2% glucose, MOPS buffer
Inoculum: Final 0.5×10^8 - 2.5×10^8 cfu/mL
Incubation: 18-24h
Reading: Spectrophotometric, complete (>90%) inhibition for amphotericin B but 50% growth inhibition for other compounds
Quality control: *C. parapsilosis* ATCC 22019 or *C. krusei* ATCC 6258

Antifungal agent	MIC breakpoint (mg/L)											
	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida dubliniensis</i>		<i>Candida glabrata</i>		<i>Candida krusei</i>		<i>Candida parapsilosis</i>		<i>Candida tropicalis</i>	
	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >
Amphotericin B	1	1			1	1	1	1	1	1	1	1
Anidulafungin	0.03	0.03			0.06	0.06	0.06	0.06	4	4	0.06	0.06
Caspofungin	Note ³	Note ³			Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³
Fluconazole	2	4			0.001 ⁴	16	-	-	2	4	2	4
Isavuconazole	IE	IE			IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
Itraconazole	0.06	0.06			0.06	0.06	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.125	0.125
Micafungin	0.016	0.016	0.03				0.03	0.03	IE ⁵	IE ⁵	2	2
Posaconazole	0.06	0.06			0.06	0.06	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.06	0.06
Voriconazole ⁶	0.06 ⁷	0.25 ⁷			0.06 ⁷	0.25 ⁷	IE	IE	IE	IE	0.125 ⁷	0.25 ⁷

Seuil d'interprétation clinique = CB

Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques

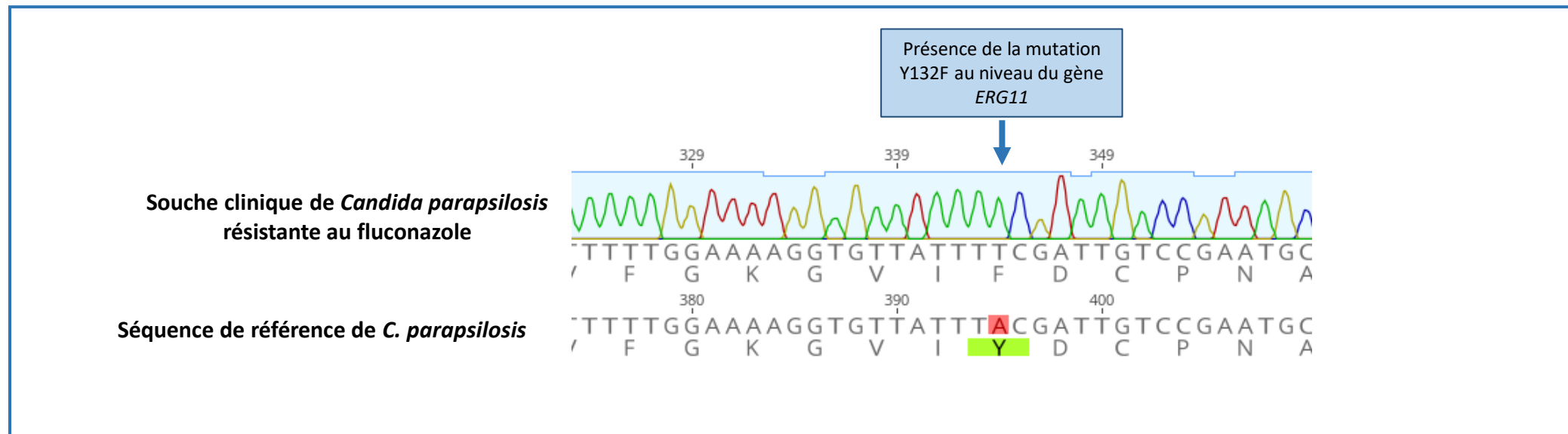
➡ Toutes les souches n'ont pas la même sensibilité

Tableau 5: Profil de sensibilité des levures aux antifongiques (mise à jour le 30/04/2022)

Espèces étudiées	Valeurs des CMI50 / CMI90 mg/L pour les antifongiques*						
Nom d'usage en clinique (nbre d'isolats testés)	AMB	5-FC	Fluco	Vori	Posa	Caspo**	Mica**
➡ <i>Candida albicans</i> (n=3621)	0.06/0.12	≤0.12/0.5	0.25/0.5	≤0.01/≤0.01	≤0.01/0.06	0.03/0.06	0.03/0.03
<i>C. dubliniensis</i> (n=162)	≤0.014/0.03	≤0.12/≤0.12	≤0.12/0.25	≤0.01/≤0.01	0.03/0.06	0.015/0.03	0.015/0.03
➡ <i>C. glabrata</i> (n=1420)	0.12/0.25	≤0.12/≤0.12	16/64	0.25/1	0.5/2	0.06/0.12	0.015/0.03
<i>C. nivariensis</i> (n=17)	0.12/0.25	0.5/1	4/8	0.06/0.12	0.12/0.25	0.03/0.12	0.015/0.03
<i>C. parapsilosis</i> (n=943)	0.06/0.12	≤0.12/0.25	0.5/2	≤0.01/0.06	0.06/0.12	0.25/1	0.25/0.5
<i>C. orthopsilosis</i> (n=70)	0.03/0.06	≤0.12/≤0.12	0.5/8	0.03/1	0.06/0.12	0.06/0.25	0.12/0.25
<i>C. metapsilosis</i> (n=57)	0.06/0.12	≤0.12/≤0.25	1/2	0.03/0.06	0.03/0.12	0.06/0.12	0.12/0.25
<i>C. tropicalis</i> (n=707)	0.06/0.12	≤0.12/32	0.5/4	0.03/0.25	0.06/0.25	0.03/0.06	0.03/0.03
<i>Pichia kudriavzevii</i> (n=376)	0.12/0.25	2/4	32/64	0.25/0.5	0.12/0.25	0.12/0.25	0.06/0.12
<i>P. cactophila</i> (n=51)	0.12/0.25	2/4	16/32	0.12/0.25	0.12/0.12	0.03/0.06	0.015/0.03
<i>Kluyveromyces marxianus</i> (n=185)	0.06/0.12	0.5/8	0.25/1	≤0.01/≤0.01	0.06/0.12	0.015/0.03	0.03/0.06
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> (n=125)	0.03/0.06	≤0.12/0.25	8/64	0.06/0.5	0.25/0.5	0.06/0.25	0.12/0.25
<i>M. caribbica</i> (n=39)	0.12/0.25	≤0.12/≤0.12	4/64	0.12/0.5	0.25/0.5	0.12/0.5	0.12/2
<i>Clavispora lusitanae</i> (n=265)	0.06/0.12	≤0.12/0.5	0.25/0.5	≤0.01/≤0.01	≤0.01/0.06	0.03/0.06	0.03/0.06
<i>C. haemulonii</i> (n=50)	0.5/2	≤0.12/0.5	32/≥64	≥8/≥8	2/≥8	0.03/0.06	0.06/0.06
<i>C. duobushaemulonii</i> (n=47)	2/8	≤0.12/≥64	32/≥64	≥8/≥8	2/≥8	0.015/0.03	0.03/0.06
➡ <i>C. auris</i> (n=17)	0.25/0.5	≤0.12/≥64	32/≥64	0.5/1	≤0.01/0.25	0.03/0.06	0.015/0.03

Détection de la résistance

- Méthodes génotypiques pour détecter la résistance
 - Objectif : rechercher des mutations au niveau des gènes impliqués dans la résistance
 - Séquençage Sanger, NGS ...



Plan

1

- Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)

2

- Définition de la résistance et détection de la résistance

3

- Résistance chez *Candida*

4

- Résistance chez *Aspergillus*

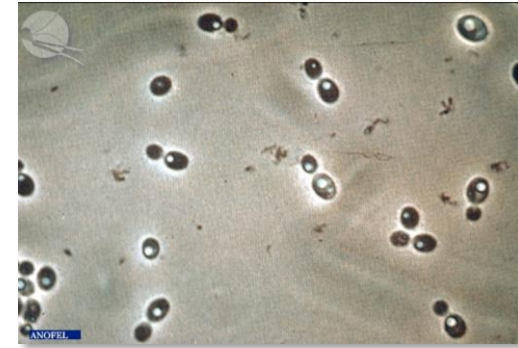
5

- Résistance chez les dermatophytes

6

- Conclusion

Rappel sur le genre *Candida*



- Genre *Candida* → un peu moins de 200 espèces
 - *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Nakaseomyces glabrata* (ex: *C. glabrata*), *Pichia kudriavzevii* (ex: *C. krusei*)
 - Multiplication par bourgeonnement et capable de former des filaments ou non
- Levures ubiquitaires, commensales, opportunistes dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence de facteurs favorisants locaux ou généraux
- Facteurs de risque d'infections à *Candida* :
 - Immunosuppression, soins Intensifs, exposition à des antibiotiques à large spectre, diabète, nutrition parentérale, chirurgie récente, matériel (KT) mais aussi facteurs locaux (humidité, macération)...
- Large spectre clinique :
 - Atteinte invasive : ex : les candidémies
 - Atteinte superficielle ou des muqueuses : ex : les candidoses cutanées ou oro-pharyngées



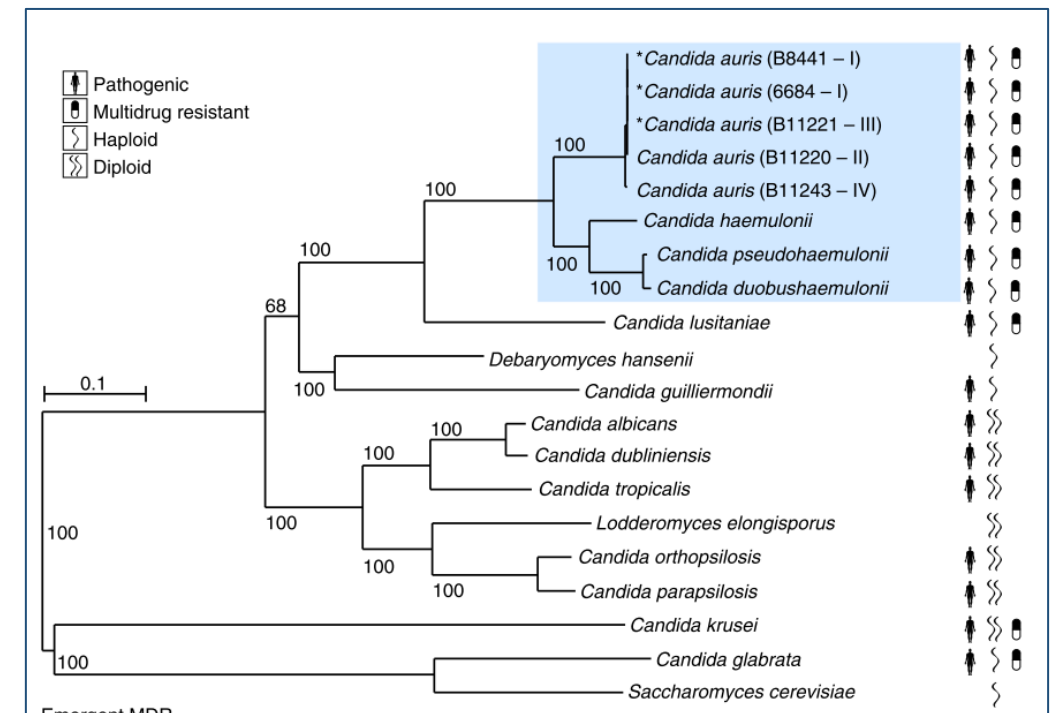
Epidémiologie-*Candida*

- Responsable d'infections invasives (Candidémies), d'infections des muqueuses (Candidoses vulvo-vaginales)

Fungal Disease	Annual Incidence	Global Burden	Comments
Mucosal			
Oral candidiasis	~2,000,000		HIV only, 90% of those not on ARVs
Oesophageal candidiasis	~1,300,000		HIV only, 20% on those with CD4 counts <200 and 5% of those on ARVs
Vulvovaginal candidiasis episode			70% affected in their lifetime
Recurrent vulvovaginal candidiasis		~134,000,000	Annual prevalence. Nearly 500 million lifetime experience
Acute invasive			
Invasive candidiasis	~750,000		Includes 60,000–100,000 cases of <u>intra-abdominal candidiasis</u>

- Différentes espèces de *Candida*
- Certaines espèces → génome haploïde → d'autres espèces génome diploïde
- Existence d'espèces → Multidrug résistante (MDR)

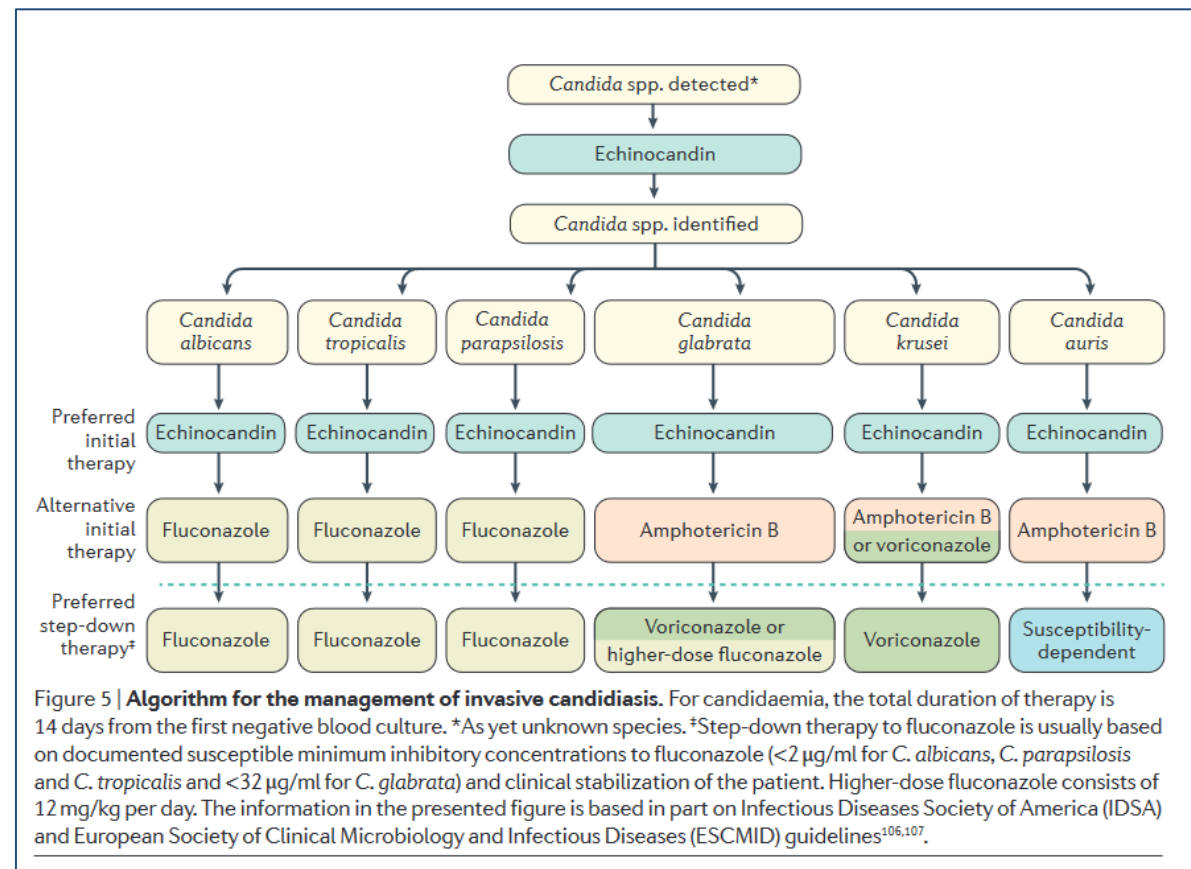
Souche non sensible à un antifongique ou plus dans 2 classes d'antifongiques ou plus



Epidémiologie-*Candida*

- Responsable d'infections invasives (Candidémies), d'infections des muqueuses (Candidoses vulvo-vaginales)

Différents traitements en fonction de l'espèce de *Candida*



Les différents mécanismes de résistance aux antifongiques chez *Candida*

Mécanismes de résistance aux azolés

- Différents mécanismes de résistance aux antifongiques azolés :

Souche sensible

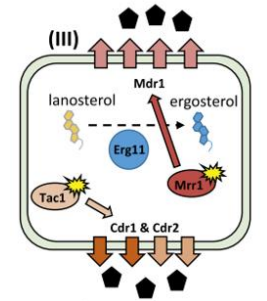
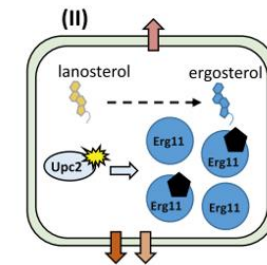
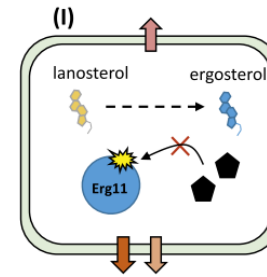
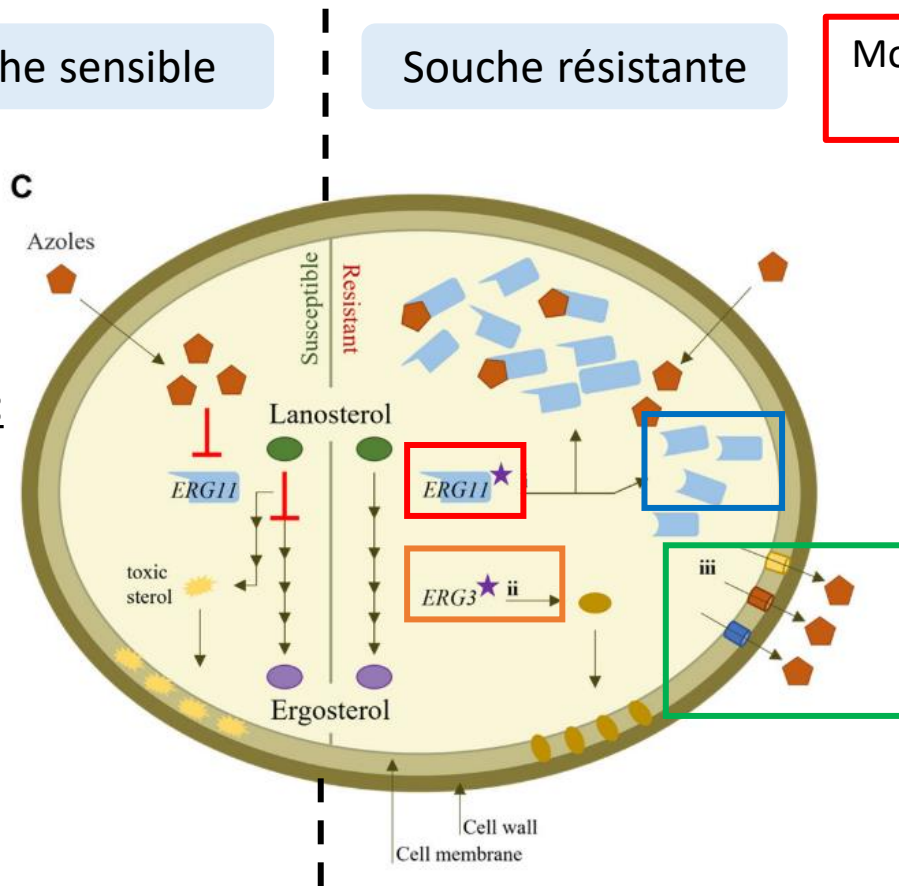
Souche résistante

Modification de la cible (*ERG11*)
→ Mutation

Surexpression de la cible

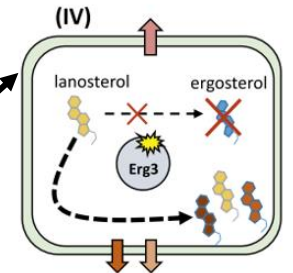
Cible des antifongiques azolés :

Lanostérol 14 α déméthylase (gène *ERG11*) → enzyme impliquée dans la voie de biosynthèse de l'ergostérol



Surexpression des transporteurs d'efflux

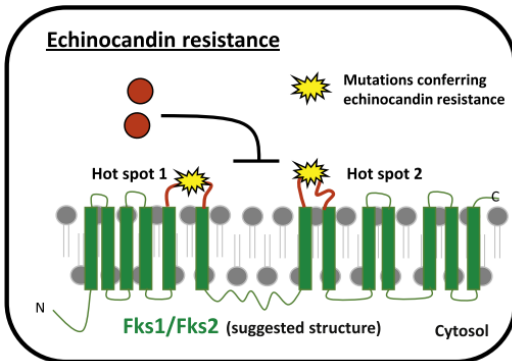
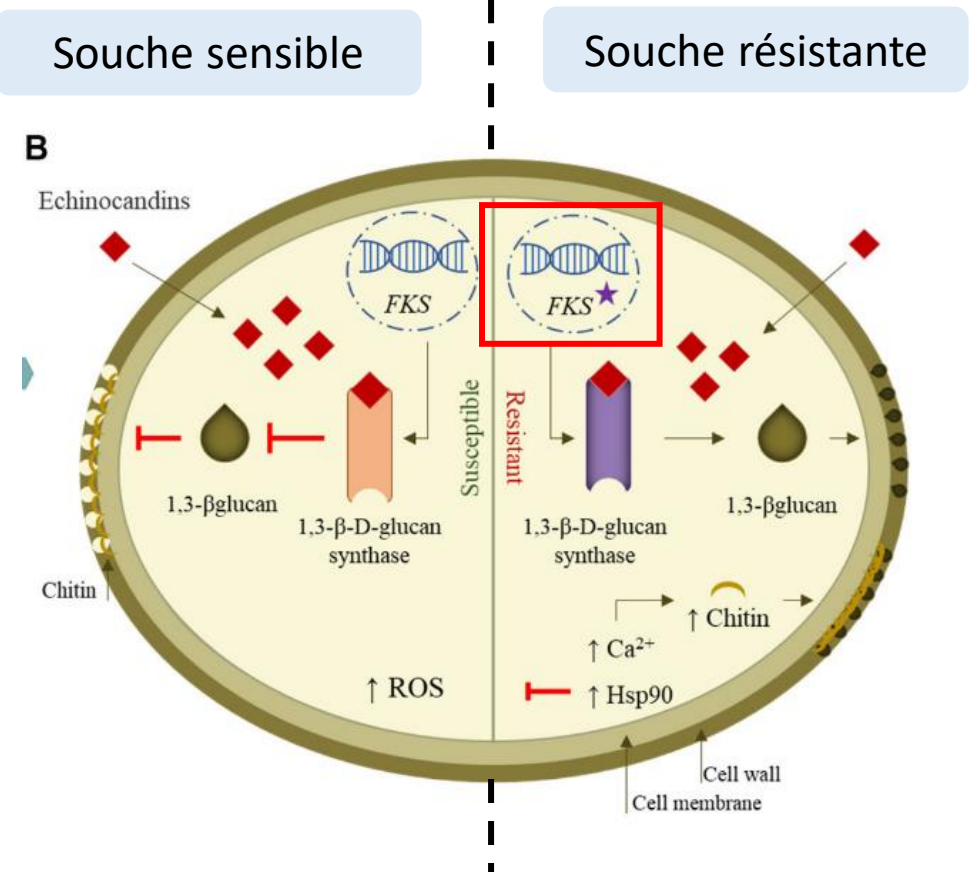
Déviations de la voie de la biosynthèse de l'ergostérol (ex : *ERG3*)



Mécanismes de résistance aux échinocandines

- Mécanismes de résistance aux échinocandines :

Cible des échinocandines :
 β -1-3 glucane synthase (gène *FSK1-FSK2*),
 constituant de la paroi fongique



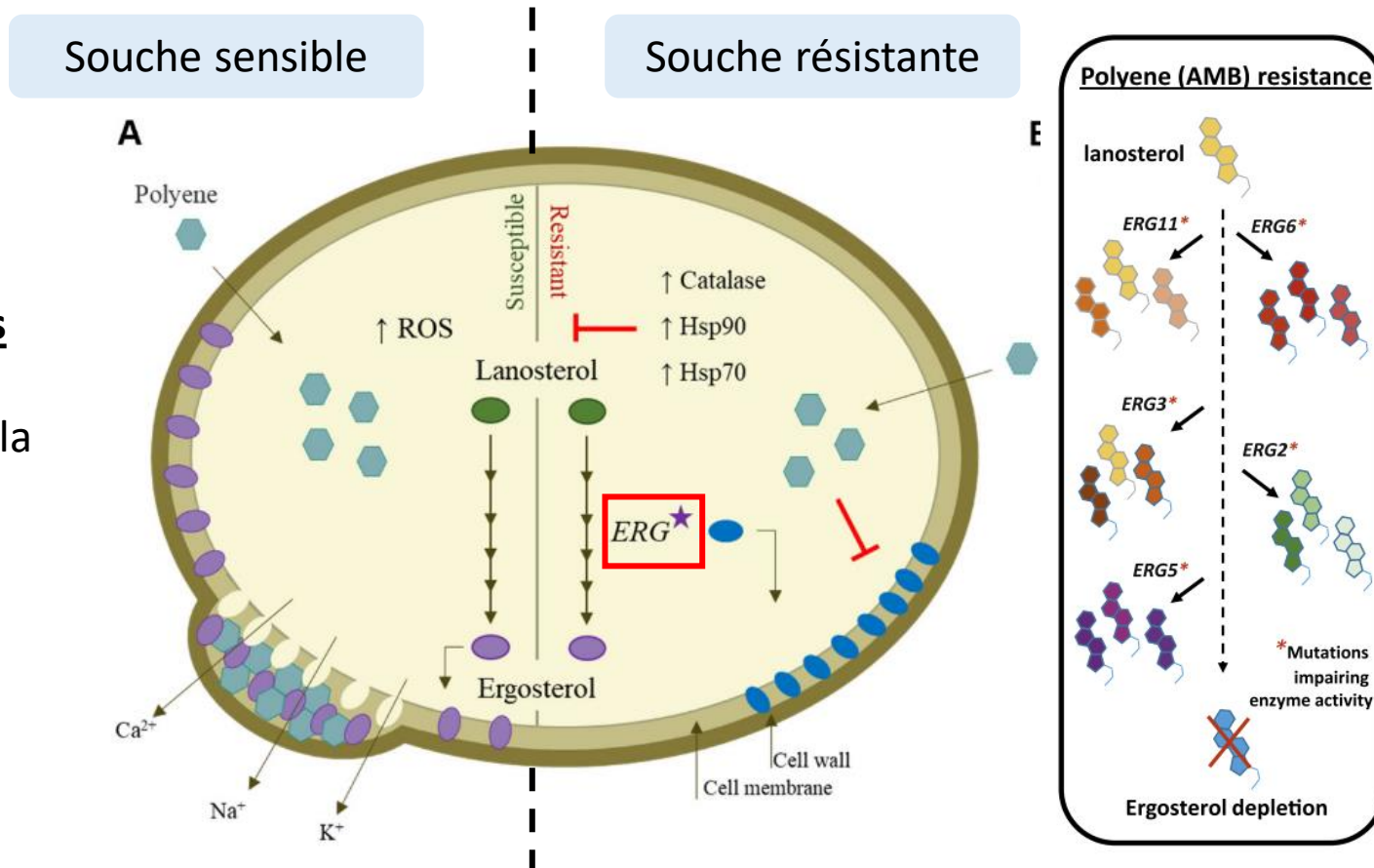
Modification de la cible (*FKS*) → Mutation ponctuelle

Principalement dans 2 régions *FKS1* et *FKS2*

	Anidulafungin (mg/L)	Fks1			
		Hotspot 1		Hotspot 2	
EUCAST		1st AA no.	AA sequence	1st AA no.	AA sequence
<i>C. albicans</i>	0.03	641	FLTL SL RDP	1357	DW IR RYTL
<i>C. auris</i>	NA	635	FLTL S LRDP	1350	DW IR RYTL
<i>C. dubliniensis</i>	0.03	641	FLTL S LRDP	1357	DW IR RYTL
<i>C. glabrata</i> ^a	0.06	625	FL IL SLRDP	1340	DW V RRYTL
<i>C. kefyr</i>	(0.03)	651	L TL S LRDP	1366	DW V RRYTL

Mécanismes de résistance aux polyènes

- Mécanismes de résistance aux polyènes :



Mécanisme d'action des polyènes :

Formation de pores dans la membrane plasmique

Altération de la perméabilité membranaire → fuite ionique et lyse cellulaire

Mutations au niveau des gènes codant pour des enzymes nécessaires à la biosynthèse de l'ergostérol → modification de la composition en stérols

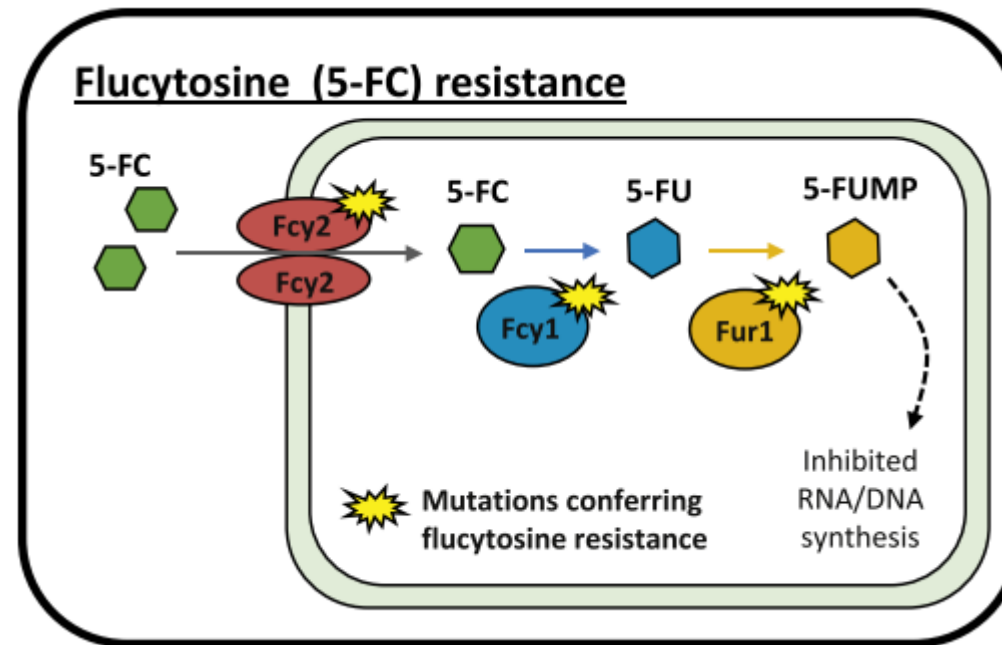
Rare

Mécanismes de résistance à la 5-FC

- Différents mécanismes de résistance à la 5-FC :

Mécanisme d'action de la Flucytosine :

Inhibition de la synthèse protéique et transcription



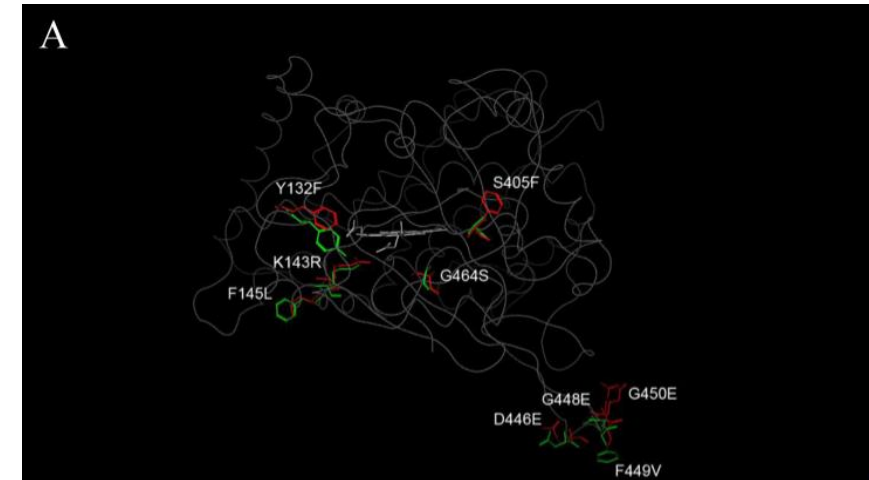
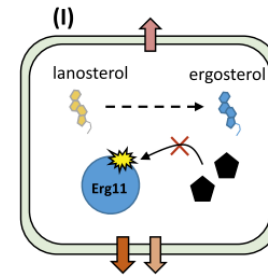
Mutations

- ❑ Modification du gène codant pour le transport de la molécule dans le noyau (FCY2)
- ❑ Modification du gène codant pour des enzymes permettant à la molécule d'être active (FCY1 et FUR1)

Chez *Candida albicans*

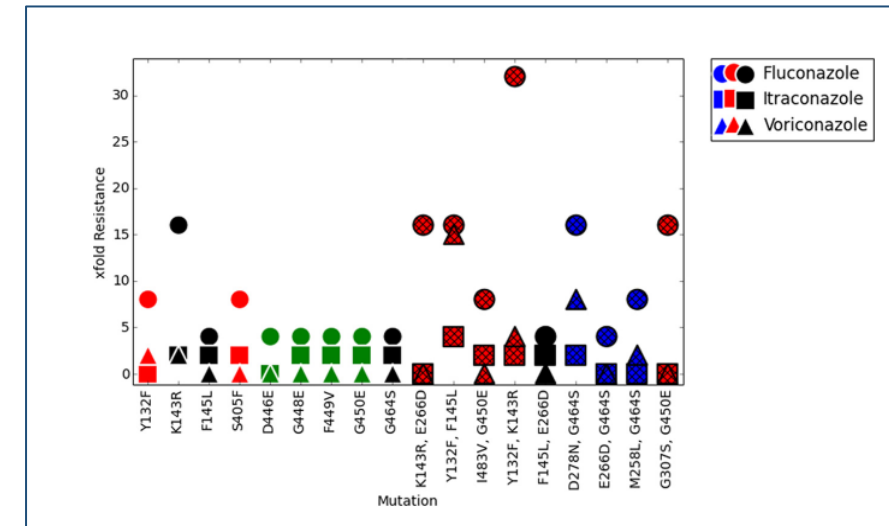
Résistance-*Candida albicans*

- Modification de la cible :
 - Mutations au niveau du gène *ERG11*



Modélisation des mutations sur *ERG11*

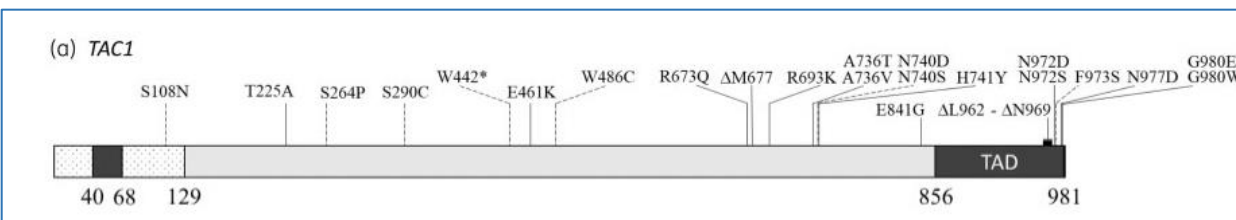
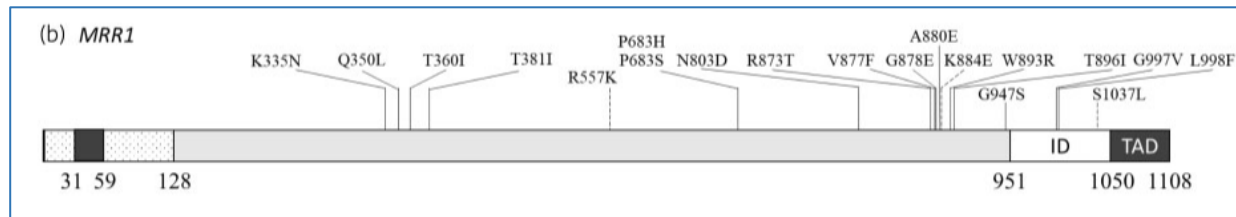
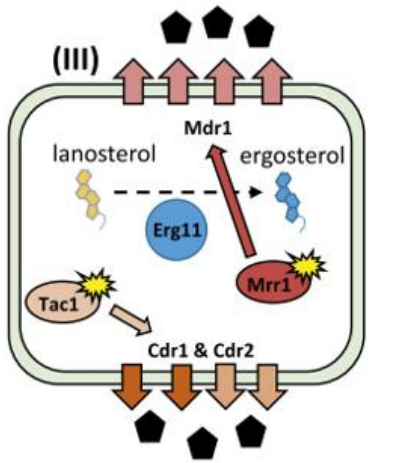
Species	Amino Acid Position																									
	21	114	126	132	143	145	153	229	257	258	266	278	283	307	403	405	437	446	447	448	449	450	464	471	483	488
<i>Candida albicans</i>	Q	A	F	Y	K	F	D	T	Y	M	E	D	H	G	L	S	V	D	Y	G	F	G	G	I	I	V
<i>Candida tropicalis</i>	Q	A	F	Y	K	F	D	T	Y	M	E	D	N	G	L	S	V	D	Y	G	F	G	G	I	I	I
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Q	A	F	Y	K	F	E	T	Y	M	K	D	N	G	L	S	.	D	Y	G	F	G	G	I	L	I
<i>Candida glabrata</i>	Q	A	F	Y	K	F	E	T	Y	M	E	D	N	G	L	S	.	D	Y	G	F	G	G	I	L	I
<i>Candida krusei</i>	.	A	F	Y	K	F	E	T	Y	L	N	D	N	G	L	S	I	D	Y	G	F	G	G	T	.	.
Human (<i>Homo sapiens</i>)	C	A	F	Y	K	M	A	S	F	Y	Q	L	D	A	C	S	G	I	I	L
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	.	Q	F	F	N	L	E	D	V	A	A	D	A	A	A	S	G	V	I	L
Wheat (<i>Triticum aestivum</i>)	.	Q	F	F	T	F	N	L	F	A	A	L	D	A	A	S	G	L	I	L
Observed a.a. substitutions	R	V	L	F	R	L	E	A	H	L	D	N	R	S	F	F	I	E	S	E	I	E	S	M	V	I
		S	H	E							Q	E	D		P		N	G	R	L	R		T		G	
																	G	H	V	S	V		V			
																										Y



Génération de mutants avec différentes mutations décrites chez des souches de *C. albicans* résistantes au fluconazole → profil de sensibilité *in vitro* différent en fonction des mutations et de la combinaison de mutations

Résistance-*Candida albicans*

- Surexpression des pompes d'efflux
 - Nombreux polymorphismes au niveau des gènes codant pour les facteurs de transcription de ces pompes d'efflux



Surexpression de Mdr1

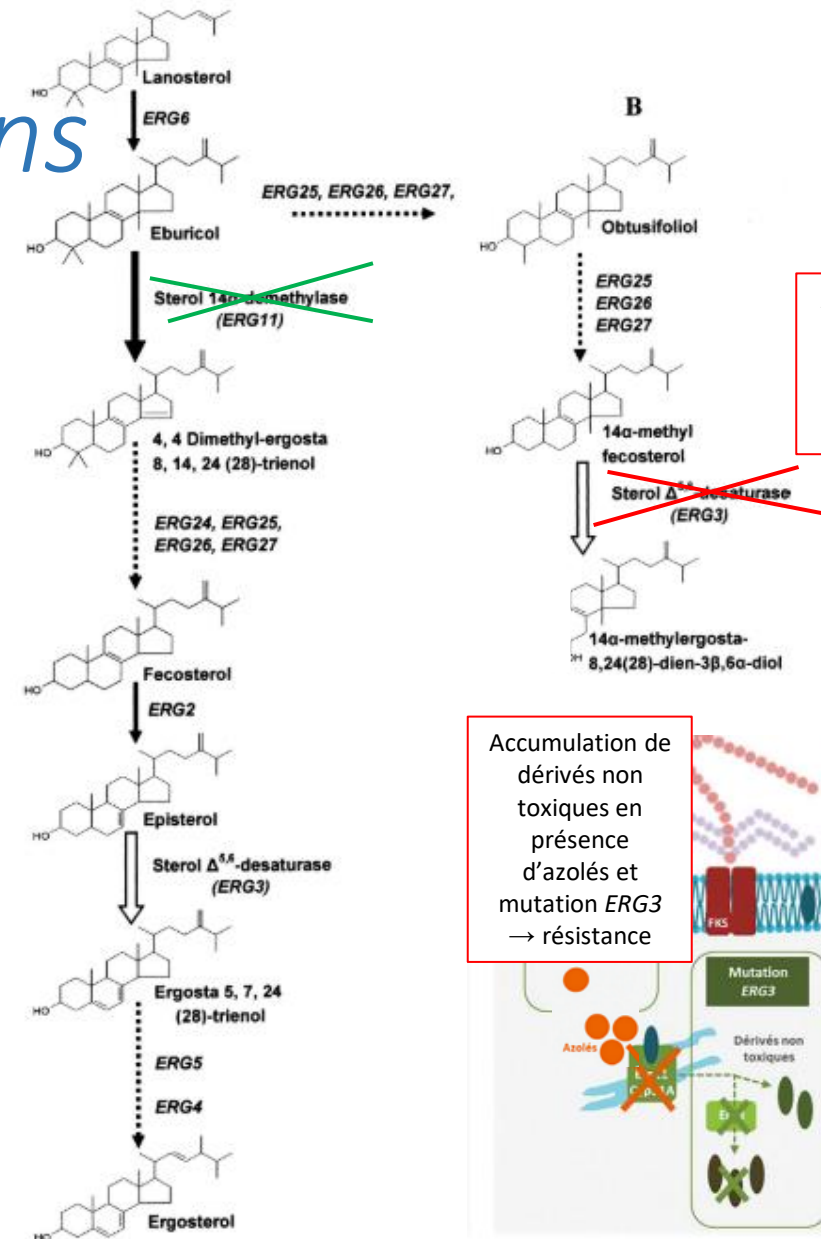
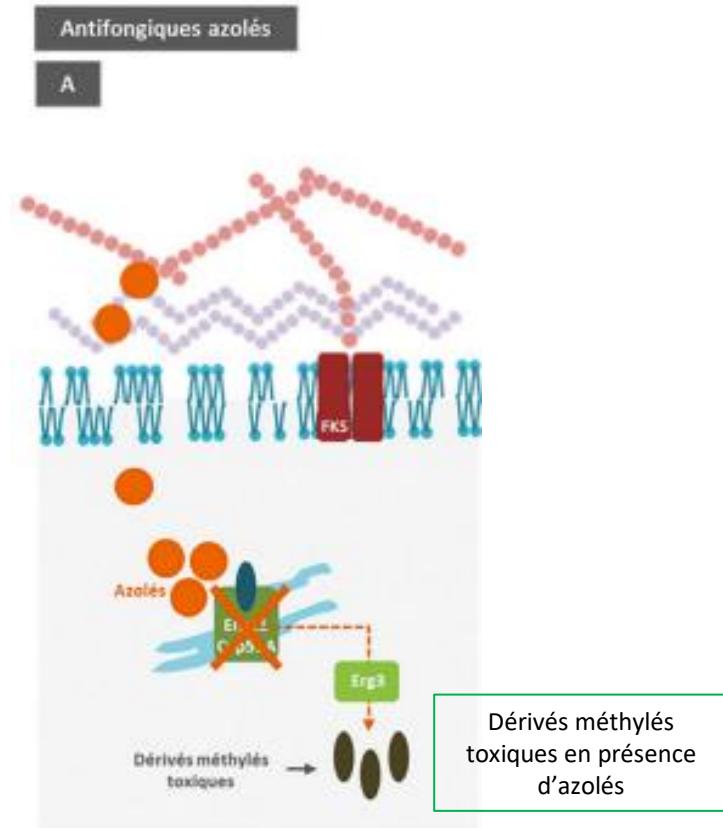
- Famille des transporteurs MFS (Major Facilitator Superfamily)
- Efflux spécifique du fluconazole
- Mutations « gain de fonction » au niveau de **Mrr1** (Facteur de transcription de Mdr1)

Surexpression de Cdr1 et Cdr2

- Famille des transporteurs ABC (ATP Binding Cassette)
- Mutations « gain de fonction » au niveau de **Tac1** (Facteur de transcription de Cdr1 et Cdr2)

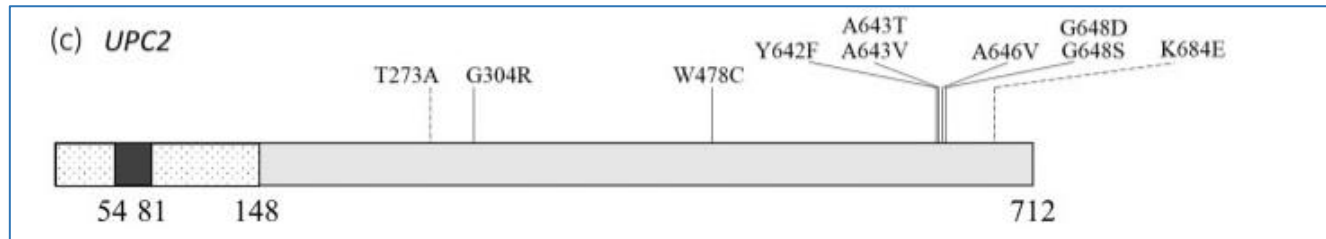
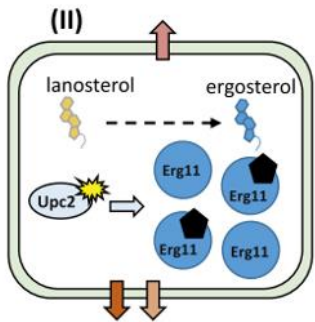
Résistance-*Candida albicans*

- Déviation de la voie de biosynthèse de l'ergostérol



Résistance-*Candida albicans*

- Surexpression de la cible
 - Nombreux polymorphismes au niveau du gène codant pour le facteur de transcription de Erg11



Mutation au niveau du gène *UPC2* (Facteur de transcription du gène *ERG11*)

Résistance-*Candida albicans*

- Combinaison de plusieurs mécanismes chez un même isolat

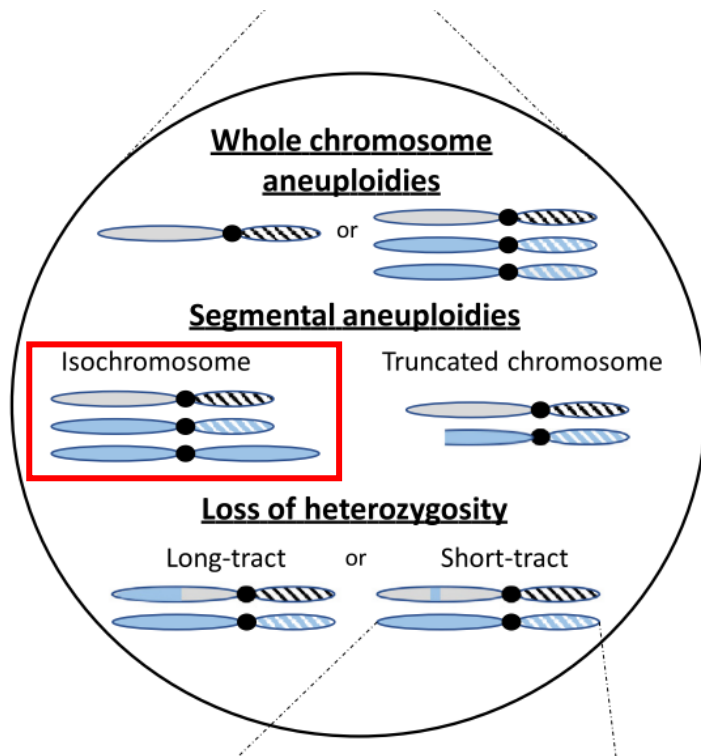
Table 4
Amino acid substitutions in the transcription factors Tac1p, Mrr1p, Upc2p and in Erg11p.^a

Isolate	Amino acid substitutions in Erg11p ^b	Amino acid substitutions in Tac1p	Amino acid substitutions in Mrr1p ^c	Amino acid substitutions in Upc2p
CAAL28	S405F	L47K, F104V, S199N, R206H, V207A, <u>S264P</u> , N396S, D776N, E829Q, <u>N896S</u> , S941P	L248V ^h , V341E ^h , E1020Q	I142S ^h , <u>A451V^h</u>
CAAL37	E266D, G464S , V456I ^h , V488I	L47K, S199N, R206H, V207A, D776N, E829Q, E841G , <u>N896S</u> , S941P	<u>N937K</u> , E1020Q, <u>F1032L</u>	R68K ^h , I142S ^h , S190N ^h , S228N ^h
CAAL61	G307S , Y447H	L47K, <u>K87N^h</u> , <u>M170I^h</u> , <u>N174D^h</u> , F189S ^h , S199N ^h , R206H ^h , V207A ^h , A377V ^h , N396S ^h , N772K ^h , D776N ^h , E829Q ^h , S941P ^h	<u>K884E</u>	I142S, G648S
CAAL67	G450E	L47K, <u>K87N^h</u> , F104V ^h , <u>M170I^h</u> , <u>N174D^h</u> , F189S ^h , S199N, R206H, V207A, T225A^h , N396S, <u>W442stop^h</u> , I558V ^h , N772K ^h , D776N, E829Q, <u>N896S^h</u> , S941P	<u>N937K</u> , E1020Q, <u>F1032L</u> , <u>S1037L</u>	I142S ^h
CAAL74	Y132F , E266D, G448V , V488I	L47K, F104V ^h , S199N ^h , R206H ^h , V207A ^h , N396S ^h , D776N ^h , E829Q ^h , <u>N896S^h</u> , S941P ^h	S171P, <u>R557K</u> , E1020Q	R68K ^h , I142S, S228N ^h , <u>T273A^h</u> , G648S^h , <u>K684E^h</u>
CAAL75	D116E, Y132H , K143R	L47K, F104V, S199N, R206H, V207A, N396S, <u>W486C</u> , D776N, E829Q, <u>N896S</u> , S941P, G980W^h	S171P, E1020Q	R68K ^h , I142S ^h , S228N ^h , <u>T273A^h</u>

Chez des isolats de *C. albicans* résistants au fluconazole → combinaison de plusieurs mécanismes de résistance et de plusieurs mutations au niveau d'un même gène

Résistance-*Candida albicans*

- Plasticité du génome



- ❑ Description de modifications structurales des chromosomes ou du nombre de chromosomes (aneuploidie) → réponse à l'exposition aux antifongiques azolés
- ❑ Formation d'un isochromosome → chromosome 5 i(5L) → Augmentation du nombre de copie des gènes *ERG11* et *TAC1* (gène présent sur chr5)
 - ❑ Rapidement perdu à l'arrêt de l'exposition à l'ATF

Chez *Candida parapsilosis*

Candida parapsilosis

- Levure ascomycète, commensale et saprophyte
- Retrouvée au niveau de la **peau (flore normale)**
- **Transmission horizontale** : cathéters, personnels soignants (infections nosocomiales)
- Espèce de *Candida* la 2^{ème} ou la 3^{ème} plus fréquemment isolée (après *Candida albicans*)
 - Mortalité à 3 mois : 15-20%



Collection personnelle

Epidémiologie de *Candida parapsilosis*

Répartition mondiale

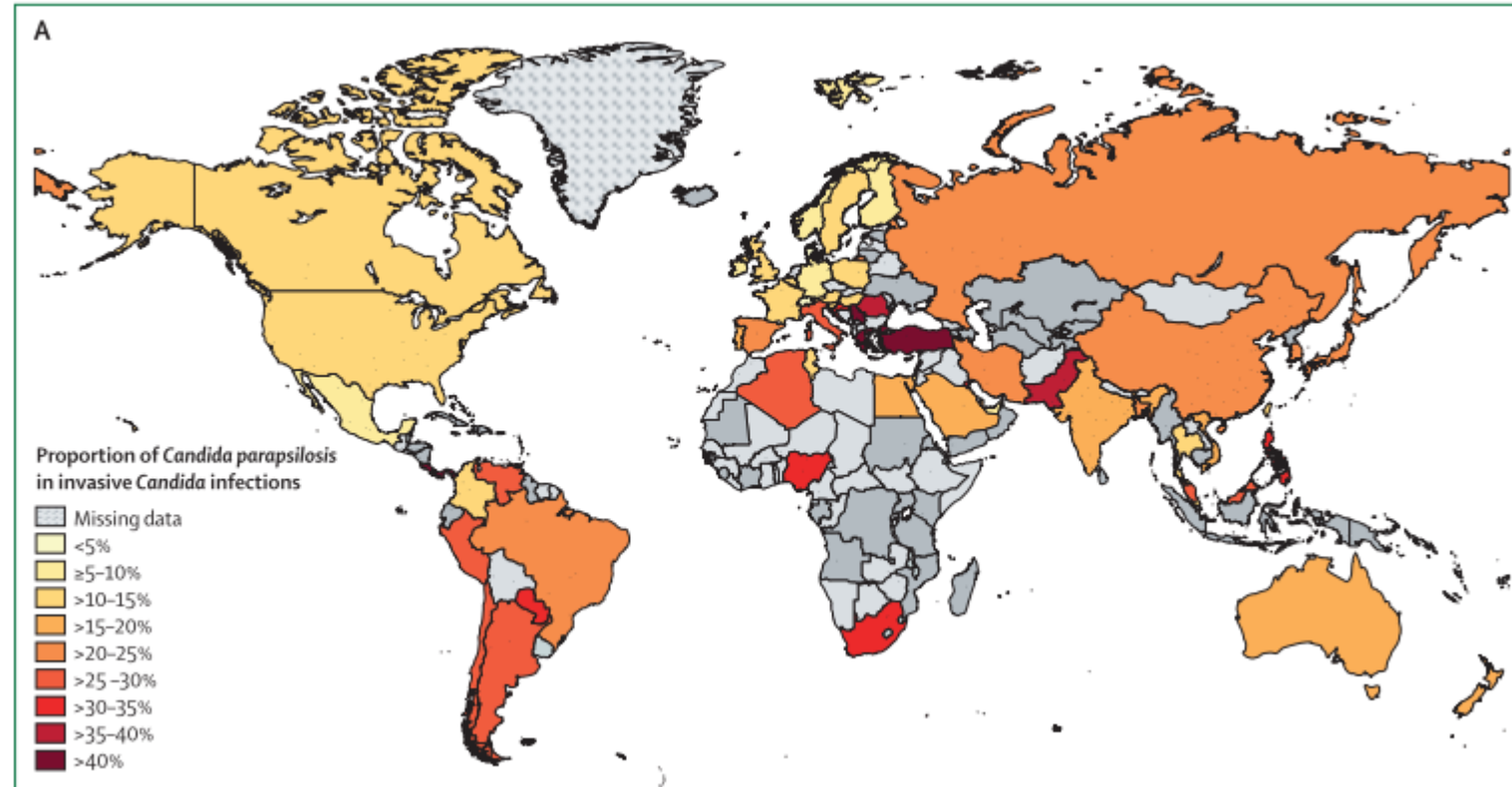


Figure 1: Burden and epidemiology of *C. parapsilosis* worldwide.

Candida parapsilosis

- Levure ascomycète, commensale et saprophyte
- Retrouvée au niveau de la **peau (flore normale)**
- **Transmission horizontale** : cathéters, personnels soignants (infections nosocomiales)
- Espèce de *Candida* la 2^{ème} ou la 3^{ème} plus fréquemment isolée (après *Candida albicans*)
 - Mortalité à 3 mois : 15-20%
- Résistance aux azolés : 2^{ème} espèce après *N. glabrata* (Ex : *C. glabrata*)
 - Description de cas groupés d'infections invasives à l'hôpital
 - Ex : Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris



Collection personnelle

2021  AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY Antimicrobial Agents and Chemotherapy®

Hospital Outbreak of Fluconazole-Resistant *Candida parapsilosis*: Arguments for Clonal Transmission and Long-Term Persistence

Arnaud Fekkar,^{a,b} Marion Blaize,^a Adrien Bouglé,^c Anne-Cécile Normand,^a Audrey Raelina,^a Dimitri Kornblum,^a Laure Kamus,^a Renaud Piarroux,^{a,d} Sébastien Imbert^{a,b}

Candida parapsilosis

- Description de cas groupés d'infections invasives à l'hôpital
 - Ex : Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris
→ Infections fongiques invasives avec des isolats de *C. parapsilosis* (Cp) résistants au fluconazole

Etude entre mars 2012 et octobre 2019 :

- 283 isolats de Cp (240 patients)

- ✓ Test de sensibilité au fluconazole (Etest puis confirmé par EUCAST)
- ✓ Séquençage gène *ERG11*
- ✓ Génotypage



FIG 1 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) dendrogram of 93 *Candida parapsilosis* isolates typed by microsatellite approach. Fluconazole-resistant isolates (n=26) are highlighted in yellow. Isolates from a single intensive care unit are in red. R1 and R2 represent 2 clusters of fluconazole-resistant isolates responsible for 2 outbreaks in 4 and 10 patients, respectively. S1 to S3 represent clusters of susceptible isolates.

Hospital Outbreak of Fluconazole-Resistant *Candida parapsilosis*: Arguments for Clonal Transmission and Long-Term Persistence

Arnaud Fekkar,^{a,b} Marion Blaize,^a Adrien Bouglé,^c Anne-Cécile Normand,^a Audrey Raelina,^a Dimitri Kornblum,^a Laure Kamus,^a Renaud Piarroux,^{a,d} Sébastien Imbert^{a,b}

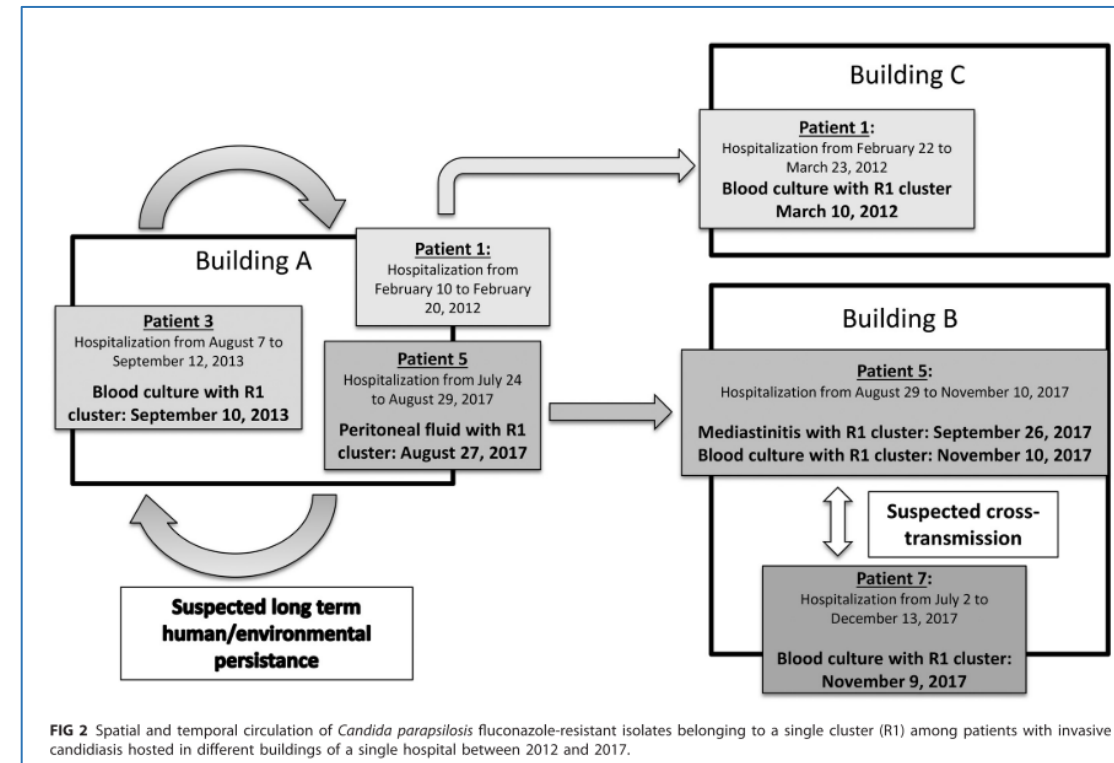


FIG 2 Spatial and temporal circulation of *Candida parapsilosis* fluconazole-resistant isolates belonging to a single cluster (R1) among patients with invasive candidiasis hosted in different buildings of a single hospital between 2012 and 2017.

Enquête sur la circulation des isolats résistants

Même clone → 6 isolats résistants

Un phénomène mondial

Et bien d'autres

frontiers
in Cellular and Infection Microbiology 2020

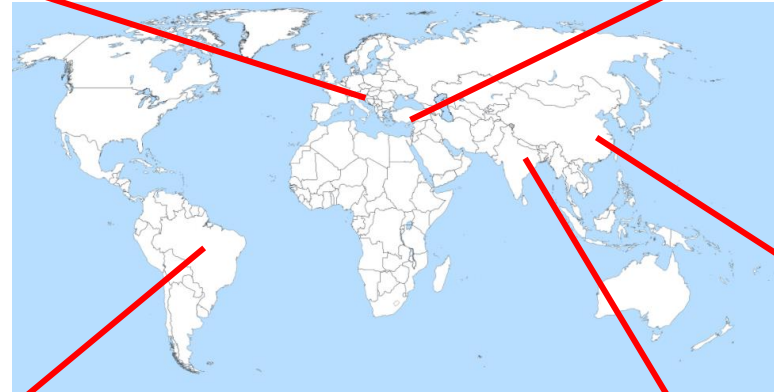
Prevalence and Clonal Distribution of Azole-Resistant Candida parapsilosis Isolates Causing Bloodstream Infections in a Large Italian Hospital

Cecilia Martini¹, Riccardo Torelli², Theun de Groot³, Elena De Carolis², Grazia Angela Morandotti², Giulia De Angelis¹, Brunella Posteraro^{1,4*}, Jacques F. Meis^{3,5,6} and Maurizio Sanguinetti^{1,2}

frontiers
in Cellular and Infection Microbiology 2021

Clonal Candidemia Outbreak by Candida parapsilosis Carrying Y132F in Turkey: Evolution of a Persisting Challenge

Amir Arastehfar^{1††}, Suleyha Hilmioğlu-Polat^{2††}, Farnaz Daneshnia^{1†}, Weihua Pan^{3*}, Ahmed Hafez⁴, Wenjie Fang^{3†}, Wanqing Liao³, Zümrüt Şahbudak-Bal^{5†}, Dilek Yeşim Metin^{2†}, João N. de Almeida Júnior^{6,7†}, Macit Ilkit^{8†}, David S. Perlin^{1*†} and Cornelia Lass-Flörl^{9†}



2023 JAC

Emergence of multiple fluconazole-resistant Candida parapsilosis sensu stricto clones with persistence and transmission in China

Ya-Ting Ning^{1,2,3†}, Tian-Shu Sun^{3,4†}, Rong-Chen Dai[†], Zheng-Yu Luo^{1,2,3}, Shu-Ying Yu^{1,3}, Ge Zhang^{1,3}, Ya-Ning Mei⁵, Yu-Lan Lin⁶, Chao-Lu Hasi⁷, Sharon C.-A. Chen⁸, Fan-Rong Kong⁸, Meng Xiao^{1,3}, Ying-Chun Xu^{1,3} and Li Zhang^{1,3*}

frontiers
in Microbiology 2018

An Azole-Resistant Candida parapsilosis Outbreak: Clonal Persistence in the Intensive Care Unit of a Brazilian Teaching Hospital

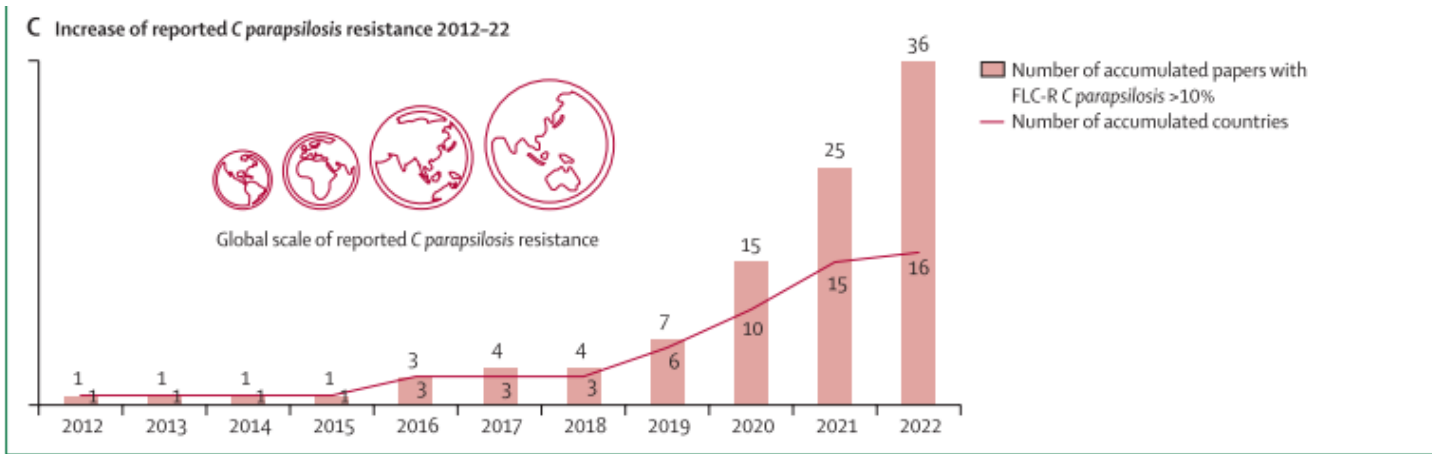
Danilo Yamamoto Thomaz¹, João Nobrega de Almeida Jr.^{1,2}, Glaucia Moreira Espindola Lima³, Maina de Oliveira Nunes³, Carlos Henrique Camargo⁴, Rafaella de Carvalho Grenfell⁵, Gil Benard¹ and Gilda M. B. Del Negro^{1*}

2019 JAC

Emergence of clonal fluconazole-resistant Candida parapsilosis clinical isolates in a multicentre laboratory-based surveillance study in India

Ashutosh Singh¹, Pradeep K. Singh¹, Theun de Groot², Anil Kumar³, Purva Mathur⁴, Bansidhar Taraj⁵, Neelam Sachdeva⁶, Gargi Upadhyaya¹, Smita Sarma⁷, Jacques F. Meis^{2,8} and Anuradha Chowdhary^{1*}

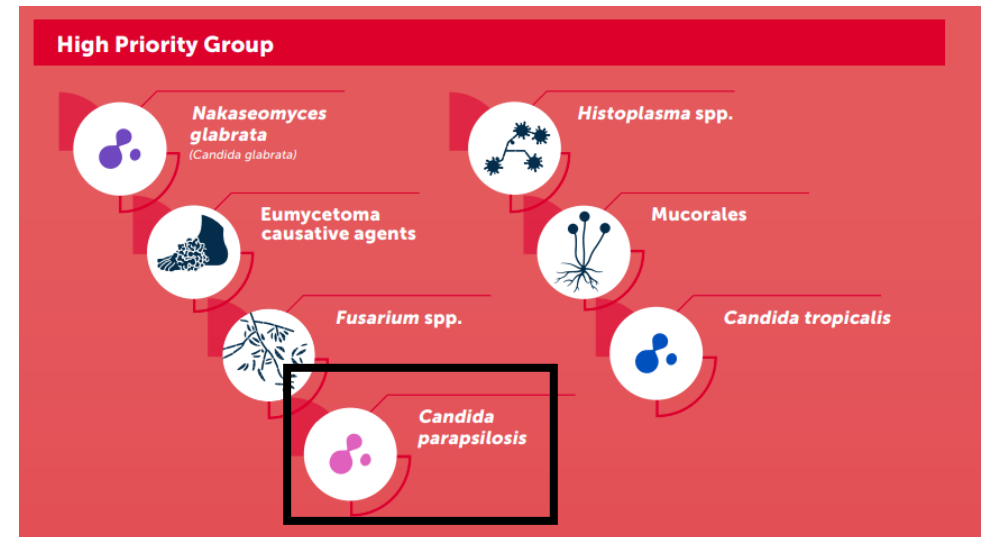
Candida parapsilosis et résistance



Augmentation du nombre d'isolats de *Candida parapsilosis* résistant dans le monde

Figure 1: Burden and epidemiology of *C parapsilosis* worldwide.

WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action



Candida parapsilosis et résistance

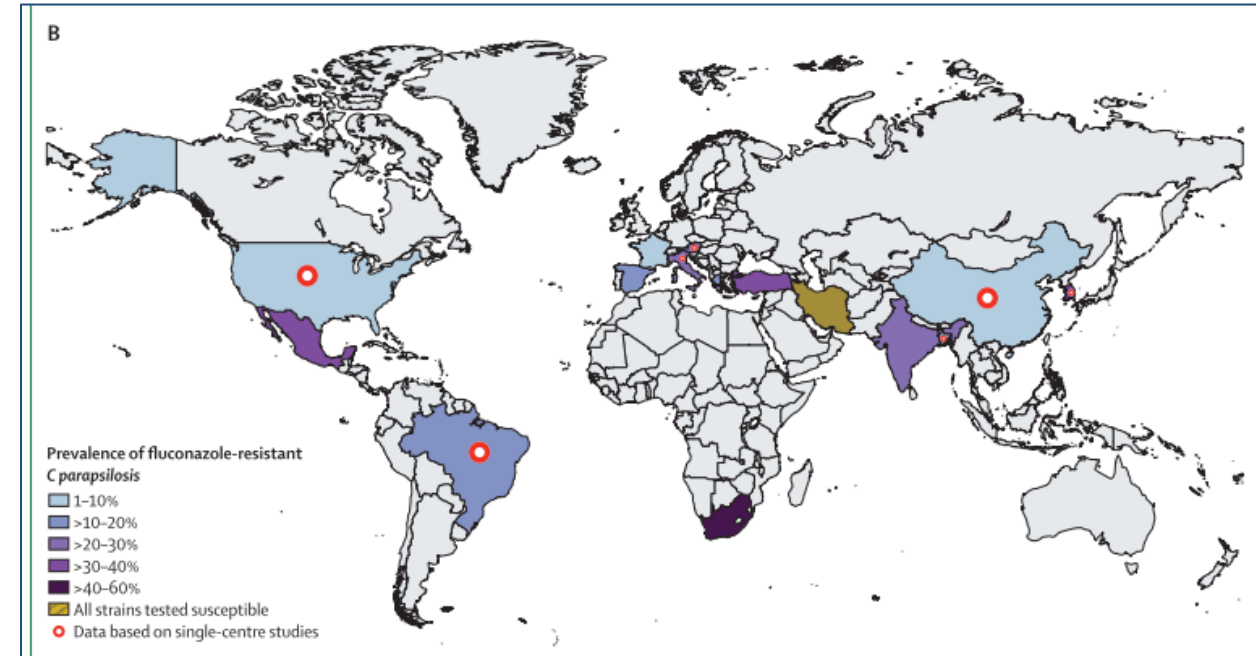


FIGURE 1
Map indicating the countries in which fluconazole-resistant *C. parapsilosis* isolates harbouring the Y132F ERG11p substitution were reported (depicted in red) alongside the year of detection of the first isolate.

Répartition mondiale

Résistance aux antifongiques : état des lieux

- **Différents mécanismes de résistance** aux antifongiques azolés
 - Décrit chez *C. albicans* et *N. glabrata* (ex : *C. glabrata*) → mal connus chez *C. parapsilosis*
 - Résistance = combinaison de différents mécanismes

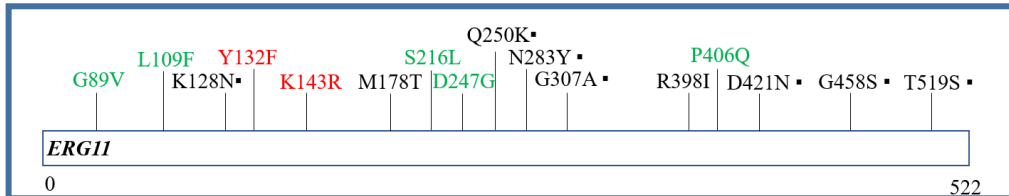
Présentation de mon stage de master 2 et de ma thèse d'Exercice

- **Revue de la littérature** chez *C. parapsilosis* → plus de 80 polymorphismes décrits chez des souches cliniques notamment résistantes au FLC en 2021

- Gène *ERG11* → n=16
- Gène *UPC2* → n=11
- Gène *TAC1* → n=23
- Gène *MRR1* → n=31
- Gène *ERG3* → n=3
- Gène *FKS1* → n=9



Exemple :
gène
ERG11



D'autres polymorphismes décrits depuis...

TABLE 1 ERG11p substitutions reported in *C. parapsilosis* isolates and their fluconazole resistance profile.

ERG11p amino acid substitutions	Expected pattern of azole susceptibility		References
	Fluconazole	Voriconazole	
Y132F*	R	R or I	(Grossman et al., 2015; Souza et al., 2015; Asadzadeh et al., 2017; Magobo et al., 2017; Choi et al., 2018; Thomaz et al., 2018; Alobaid and Khan, 2019; Singh et al., 2019; Arastehfar et al., 2020a, Arastehfar et al., 2020b, Castanheira et al., 2020; Magobo et al., 2020; Martini et al., 2020; Arastehfar et al., 2021; Corzo-Leon et al., 2021; Demirci-Duarte et al., 2021; Fekkar et al., 2021; Thomaz et al., 2021; Alcoceba et al., 2022, Diaz-Garcia et al., 2022a, Hare et al., 2022; Thomaz et al., 2022; Zaragoza et al., 2022)
K143R**	R	S	(Singh et al., 2019, Arastehfar et al., 2020a, Castanheira et al., 2020)
G458S***	R	R or I	(Arastehfar et al., 2020a, Demirci-Duarte et al., 2021, Diaz-Garcia et al., 2022a)
K128N	R	S	(Choi et al., 2018)
D133Y	S	S	(Hare et al., 2022)
D247G	S	S	(Arastehfar et al., 2020b)
G89V	S	S	(Arastehfar et al., 2020b)
I302T	S	S	(Hare et al., 2022)
L109F	S	S	(Arastehfar et al., 2020b)
M178T	SDD or S	S	(Grossman et al., 2015; Asadzadeh et al., 2017)
N283Y	SDD or S	S	(Grossman et al., 2015; Asadzadeh et al., 2017)
P406Q	S	S	(Arastehfar et al., 2020b)

R, resistant; S, susceptible; I, intermediate; SDD, susceptible dose-dependent.
Substitutions in bold have been associated with fluconazole resistance.

Intérêt des techniques d'édition du génome pour mieux comprendre les mécanismes de résistance

Méthode d'édition du génome

- **Avènement de la technique CRISPR-Cas9**
 - Mise en place par l'équipe du Pr. BUTLER (Dublin) chez *C. parapsilosis*



Avantages de la technique :

- **Efficacité élevée**
- **Aucune intégration de marqueurs**
- Pas besoin de souches auxotrophes (utilisable sur des souches cliniques)

Problématique et objectifs

Problématique de la recherche

Phénomène émergent de la résistance aux azolés chez *C. parapsilosis*
→ Approfondir l'étude des mécanismes de résistance en étudiant le polymorphisme génétique sur la sensibilité aux azolés



Objectif

Etudier l'impact de ces mutations du génome sur l'activité *in vitro* des antifongiques afin de corréler le génotype au phénotype de résistance



Méthodologie

- Projet : **Introduction de mutations ponctuelles**
 - à l'état homozygote et hétérozygote
 - sur les gènes *ERG11* et *ERG3*
 - sur les gènes codant pour les facteurs de transcription Tac1 (*TAC1*), Mrr1 (*MRR1*)
 - Sur 2 fonds génétiques distincts (ATCC 22019, STZ5)

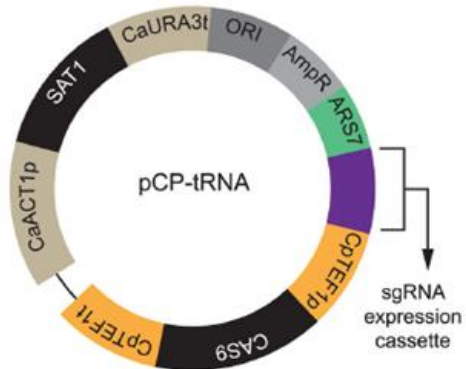
➔ Constitution d'une librairie de mutants

- Evaluer la **sensibilité *in vitro*** des mutants CRISPR-Cas9 aux antifongiques systémiques dont FLC, VRC, POS, ISA (Etest[®], bioMérieux)

Gènes et mutations sélectionnées

Gènes	Mutations
<i>ERG11</i>	A395T (Y132F) A428G (K143R) G1193T (R398I)
<i>TAC1</i>	G1949A (G650E) T2933G (L978W)
<i>MRR1</i>	G1747A (G583R) A2619C (K873N)
<i>ERG3</i>	G331A (G111R)

Edition du génome de *C. parapsilosis* avec CRISPR-Cas9



Plasmide pCP-tRNA

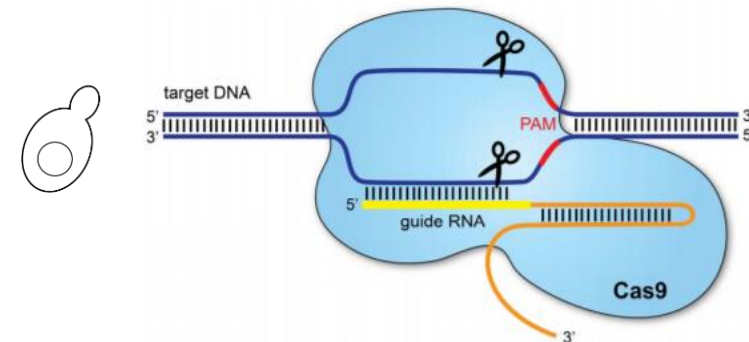
Transformation chez *E. coli* DH5α



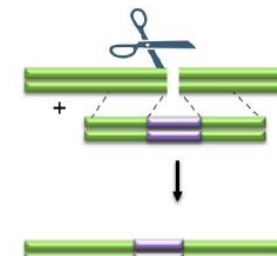
ADN donneur (Repair template)

Génération par PCR

Transformation chimique
chez *C. parapsilosis*
sur milieu YPD+NTC



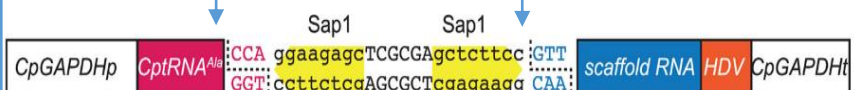
Recombinaison
homologue



Plasmide non intégratif contenant :

- Cassette permettant d'exprimer l'ARN guide
- Gène *CAS 9*
- Gènes de résistance à l'Ampicilline, à la Nourséothricine

Ouverture du plasmide grâce aux sites
de restriction de Sap1



Cassette d'expression de l'ARN guide

Projet : Introduction de mutation ponctuelle (100pb)

- Mutation ponctuelle
- + 2 mutations silencieuses
en amont du PAM

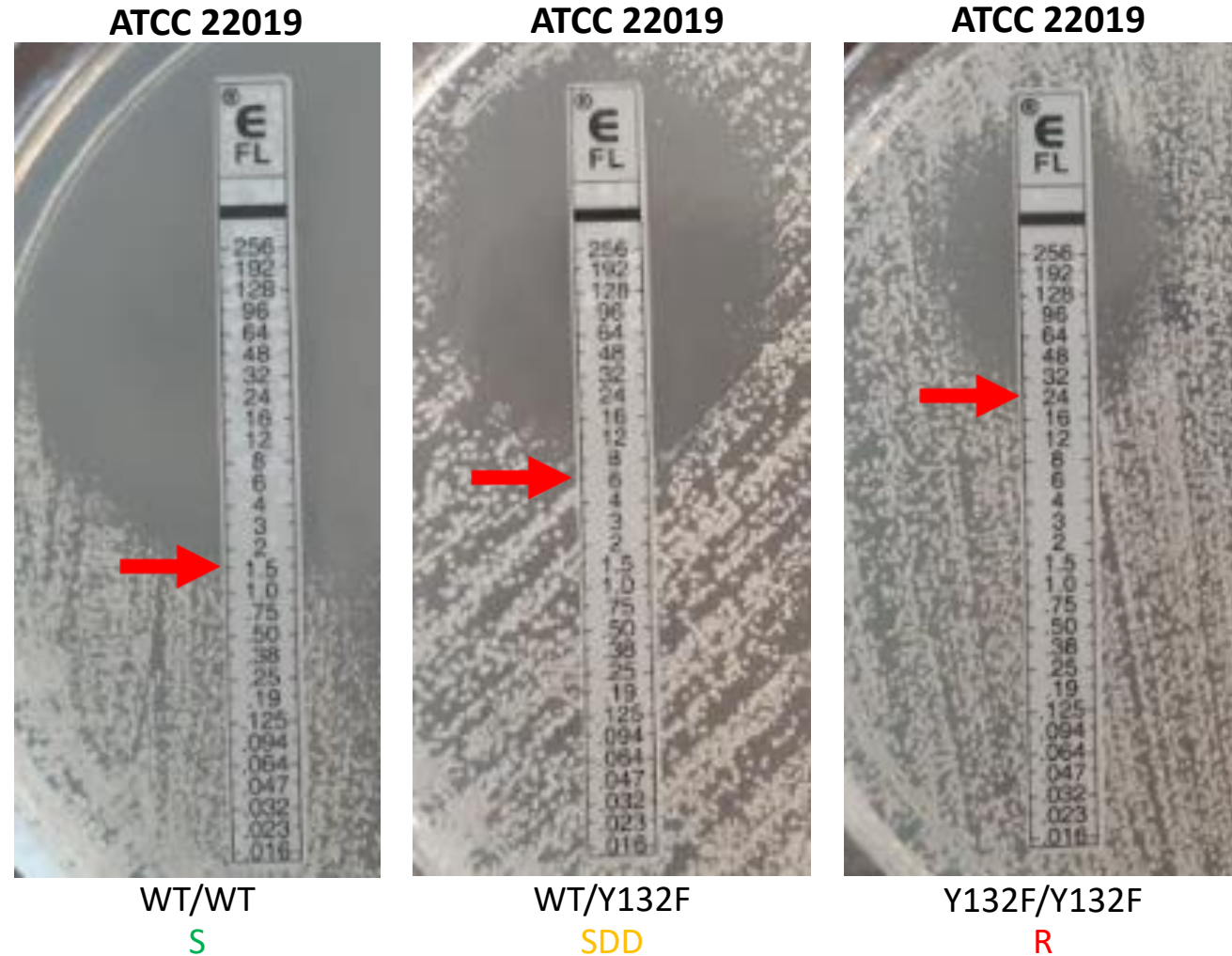


Exemple 1 : Mutant Y132F (*ERG11*)

- Augmentation des CMI_s au FLC avec la présence de la mutation sur 1 ou 2 allèles (x4 et x16 des CMI_s)

→ **Impact du dosage allélique**

- Mutant **hétérozygote non sensible au FLC** (car CMI $\geq 2\mu\text{g/mL}$)
- Mutant **homozygote résistant au FLC** (car CMI $\geq 8\mu\text{g/mL}$) → Echec thérapeutique
- Impact moins important sur la sensibilité au VRC
- Aucun impact sur la sensibilité au POS et ISA
- Même résultat STZ5 (2^{ème} fond génétique)



Mutation Y132F réduit la sensibilité au FLC chez *C. parapsilosis*

Exemple 2 : Mutant G583R (gène *MRR1*)

- La seule mutation **G583R** suffit pour conférer **une résistance de haut niveau** au FLC à l'état homozygote (multiplication de la CMI par 650)
- Echec thérapeutique même si présence de la mutation à l'état hétérozygote (ATCC 22019)
- Aussi augmentation des CMI pour les autres triazolés (VRC, POS, ISA)
- Affecte aussi une autre classe d'antifongique (5-FC)



**Mutation Gain de fonction G583R →
très forte réduction de la sensibilité au FLC**

Chez *Candida auris*

Candida auris et résistance

FAUT-IL AVOIR PEUR DE CANDIDA AURIS, LE CHAMPIGNON RÉSISTANT QUI INQUIÈTE LES ÉTATS-UNIS? **BFMTV.**

24/03/2023

Faut-il avoir peur de Candida auris, ce champignon mortel et résistant qui sévit aux États-Unis ?



MONDE · Ce champignon est responsable d'un nombre croissant d'infections dans les hôpitaux outre-Atlantique

27/03/2023

Doit-on s'inquiéter du «candida auris», le champignon mortel qui se propage aux États-Unis ? **Europe1**

29/03/2023

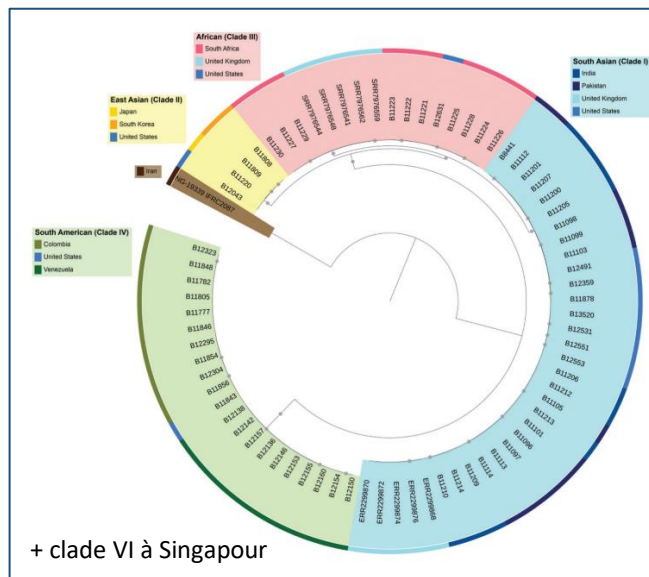
Candida auris

- 1^{ère} description au Japon en 2009
- Levure pathogène émergente
 - Isolée dans tous les continents
- Particularité → Génome Haploïde
- Multi-résistance possible donc impasse thérapeutique
- Niche écologique reste inconnue
 - Colonisation cutanée chez l'Homme
- Thermotolérance et halotolérance
 - Persiste longtemps sur les surfaces
 - Dissémine en milieu hospitalier

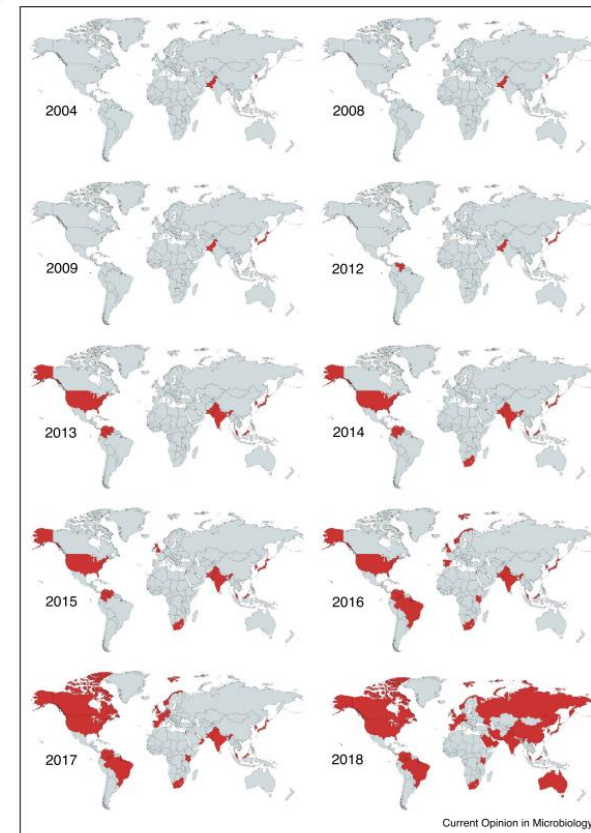


Candida auris sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital

Kazuo Satoh^{1,2}, Koichi Makimura^{1,3}, Yayoi Hasumi¹, Yayoi Nishiyama¹, Katsuhisa Uchida¹ and Hideyo Yamaguchi¹
Microbiol Immunol 2009;



6 clades à ce jour



Augmentation du nombre de cas de *C. auris* dans le Monde



Candida auris – Répartition mondiale

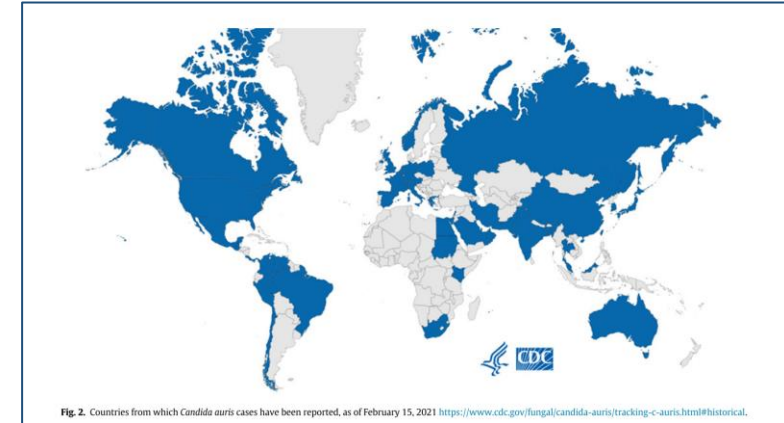
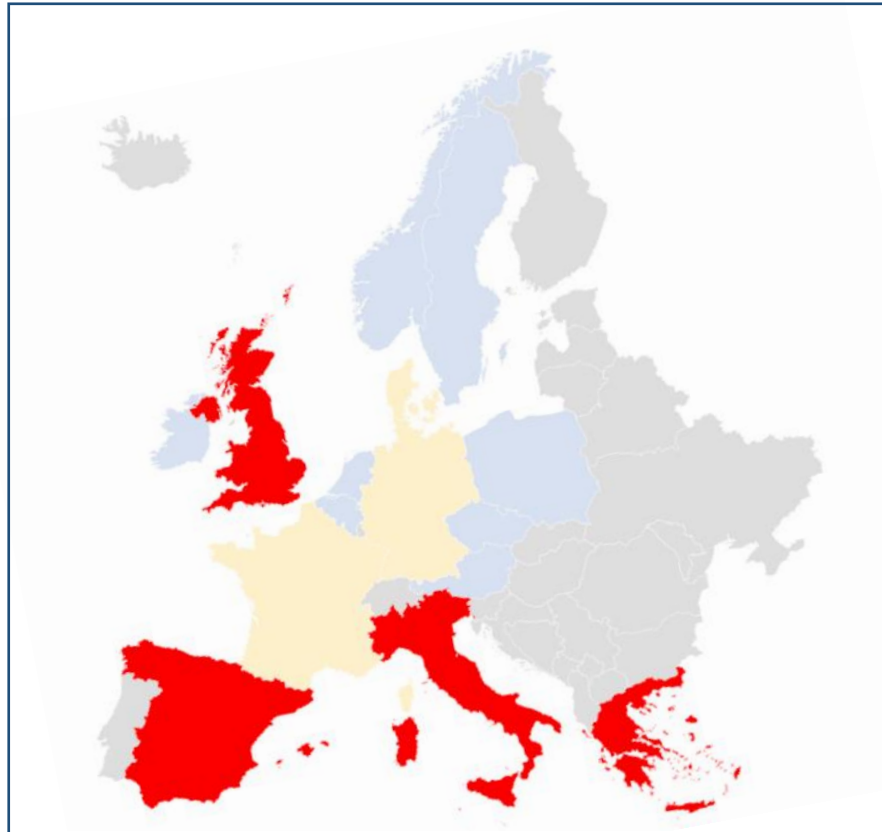


Fig. 2. Countries from which *Candida auris* cases have been reported, as of February 15, 2021 <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/tracking-c-auris.html#historical>.

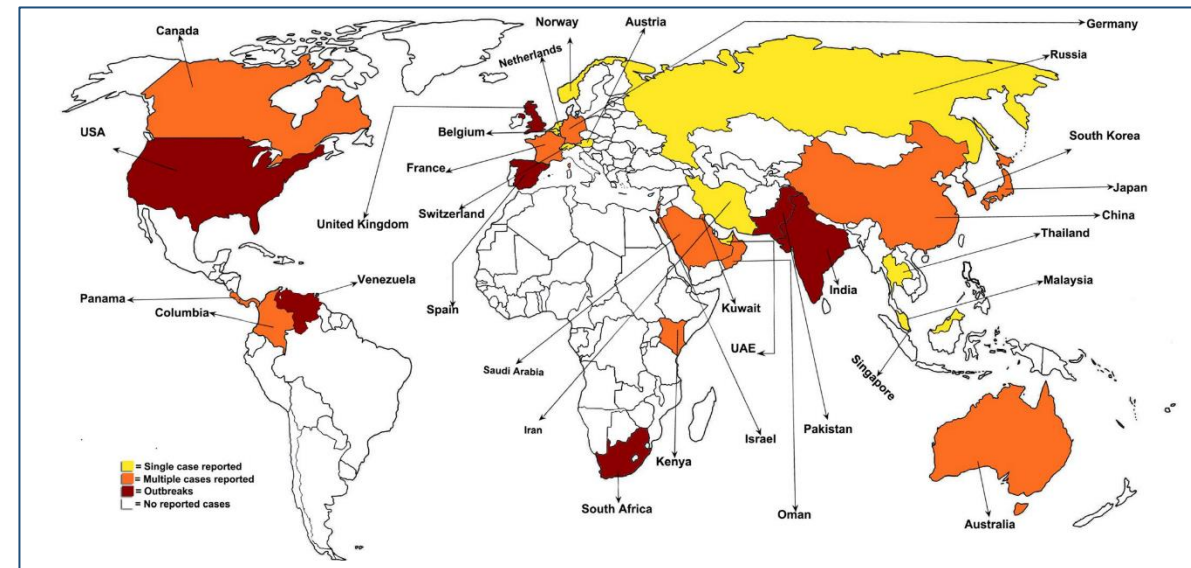
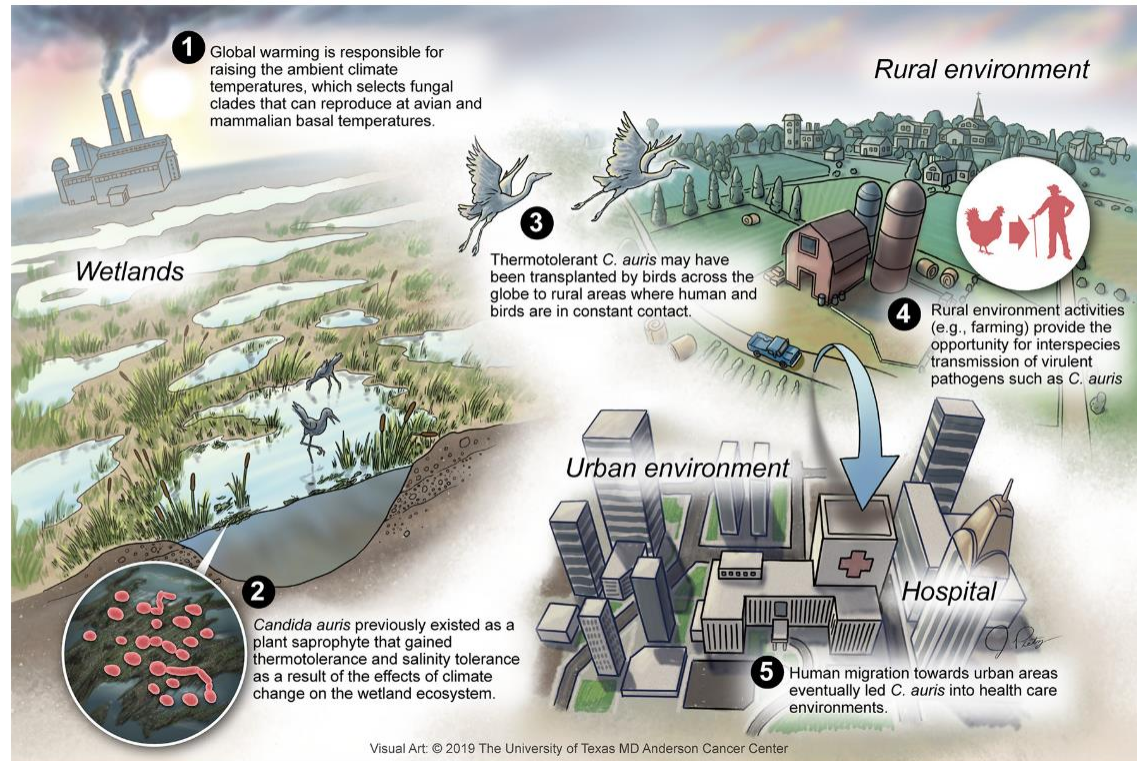


Figure 3. Principal cases of *C. auris* in Europe. In red: detected *C. auris* outbreak countries with inter-facility spreading or endemicity (Spain, Italy, Greece and the UK). In light yellow: country (Germany, France and Denmark) with sporadic outbreaks without or with only limited inter-facility spreading. In light blue: sporadic *C. auris* cases that were locally acquired or an unknown or imported origin [17,32,38].

Candida auris – Emergence

- Emergence de *Candida auris* : plusieurs hypothèses

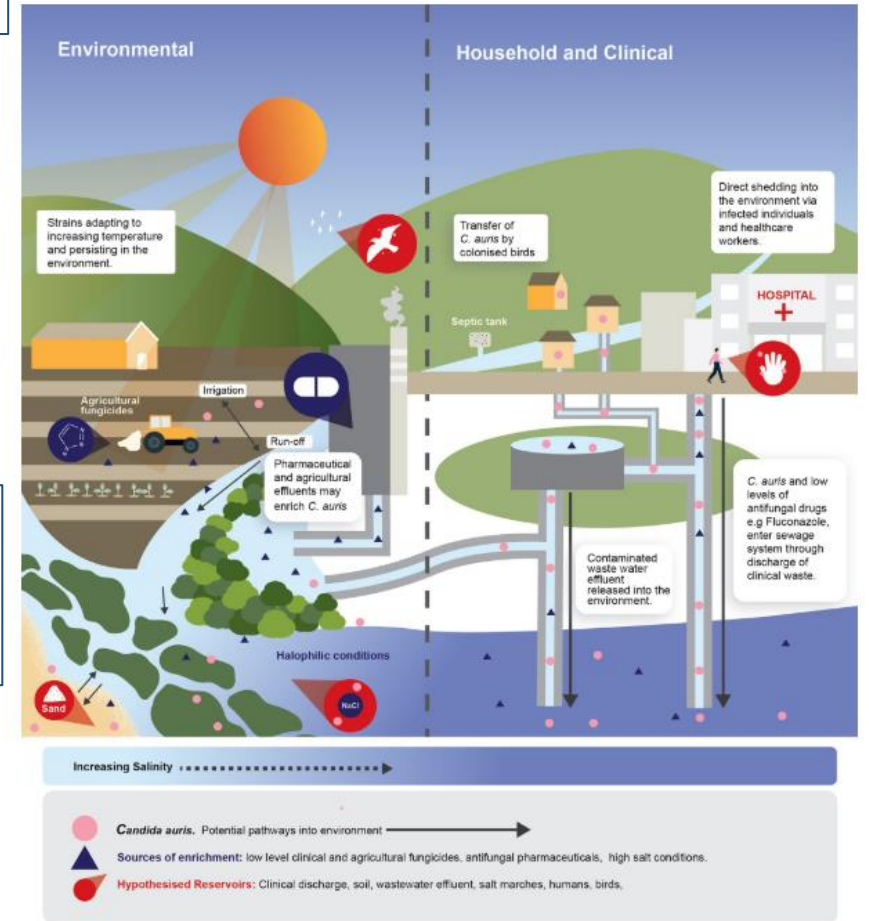


Réchauffement climatique
→ Thermotolérance

Transmission par les oiseaux colonisés ? Réservoir ?

Utilisation de fongicides azolés et antifongiques azolés
→ résistance aux azolés

Présence dans les milieux marins
→ Halotolérance
Réservoir ?

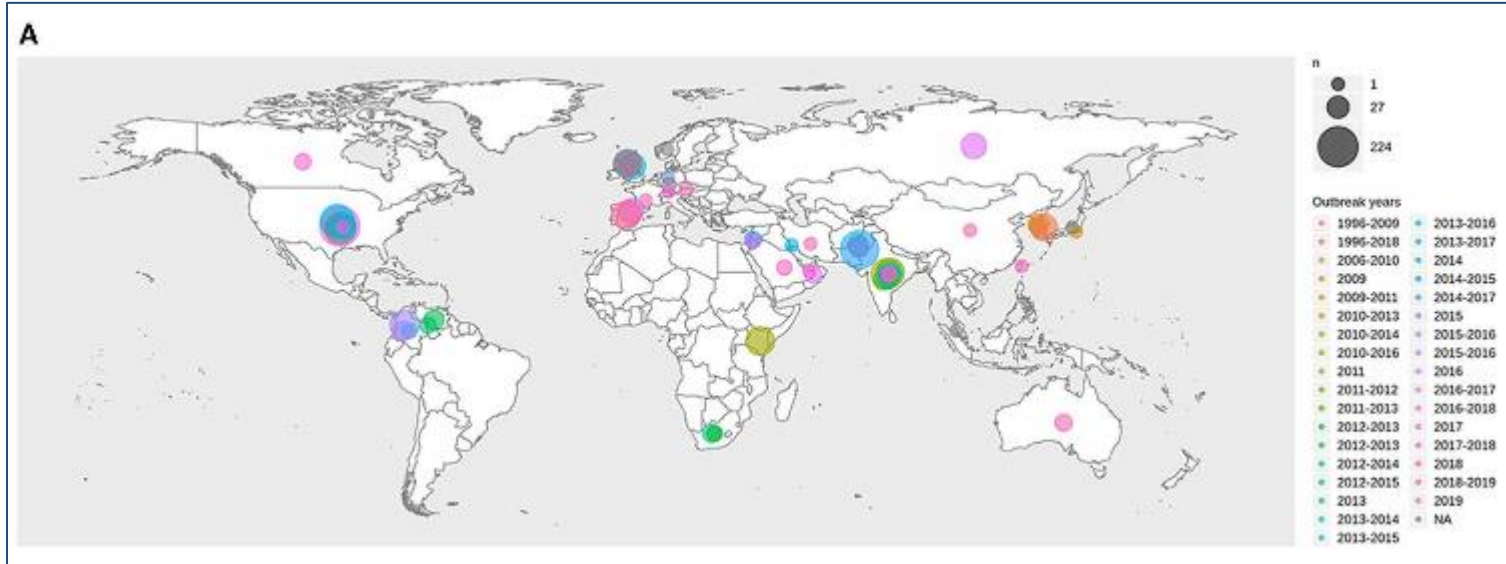


Isolat de *C. auris* sensible aux ATFs retrouvé dans un estuaire en Colombie
C. auris aussi retrouvé en Inde dans des zones marécageuses salines

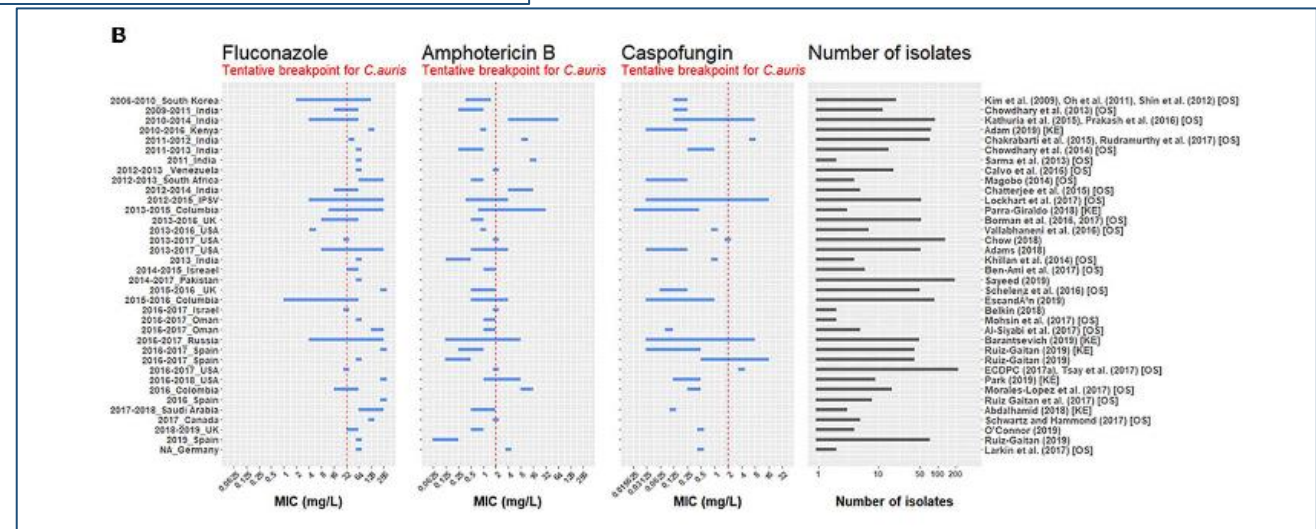
Commentary
Novel Environmental Niches for *Candida auris*: Isolation from a Coastal Habitat in Colombia

Patricia Escandón

Résistance- *Candida auris*



Carte représentant le nombre d'isolats de *C. auris* par épidémies



Distribution variable des CMI en fonction des isolats de *C. auris*

Résistance- *Candida auris*

- Différents mécanisme de résistances

Azolés

Echinocandines

Polyènes

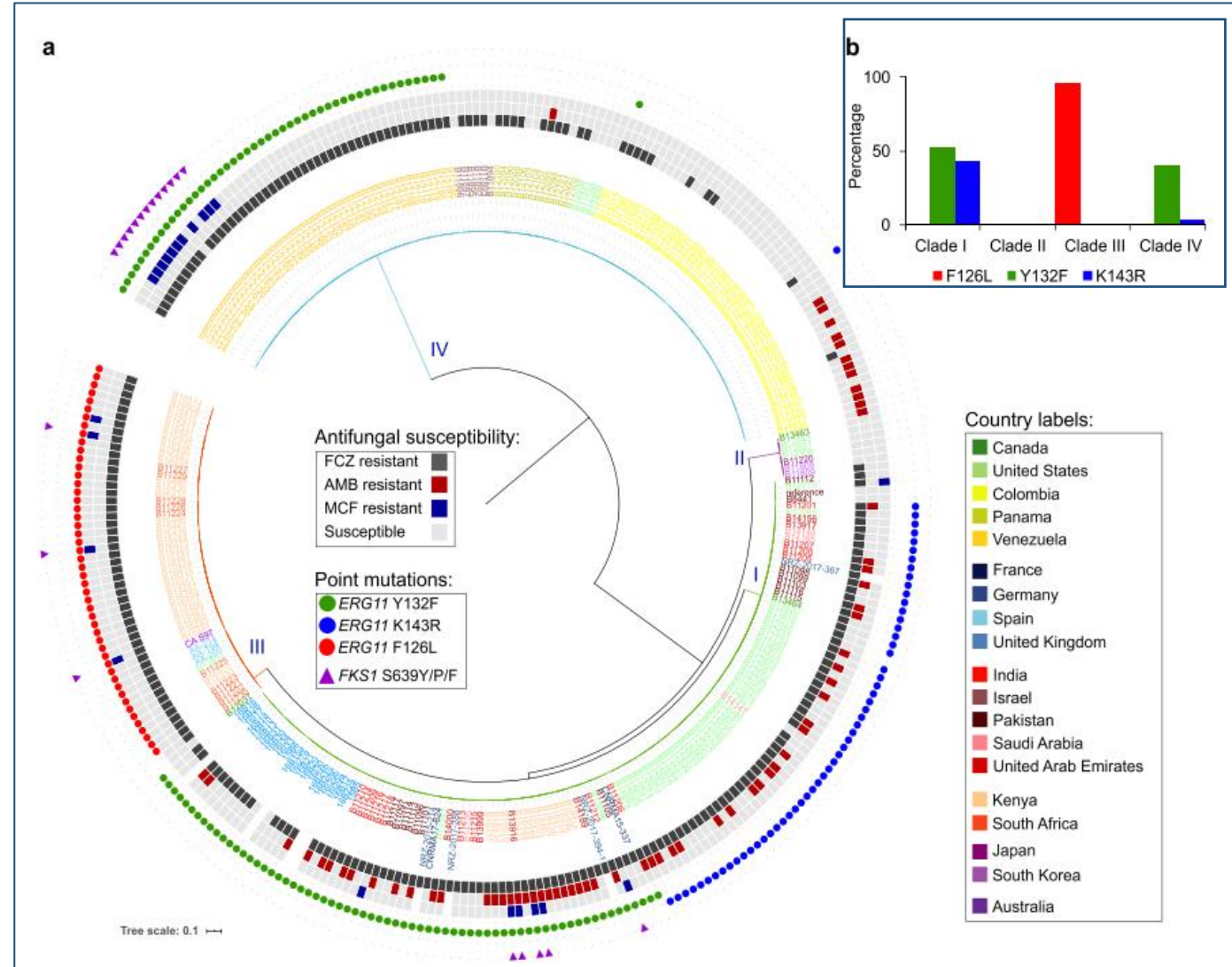
Flucytosine

Resistance mechanism(s) in <i>Candida auris</i>
<p>Presence of MFS efflux pumps genes [b].</p> <p>Higher ABC efflux pumps activity compared to <i>C.glabrata</i>. [c] Significant contribution of <i>CDR1</i> to resistance. [d]</p> <p><i>ERG11</i> point mutation: Y132F [f] K143R [f]</p> <p>Presence of <i>ERG3</i> [e] but no mutation associated with increased resistance reported</p>
<p>Presence of <i>FKS1</i> and <i>FKS2</i></p> <p>In <i>FKS1</i> three mutations linked to increased MIC: S639Y; [a] S639F; [a] S639F; [h]</p>
<p>5 SNPs in different genomic loci associated with reduced sensitivity. [i]</p>
<p>Amino-acid substitution (F211I) in <i>FUR1</i>, a gene involved in 5-FC metabolism found in a single flucytosine-resistant isolate [g]</p>

Surexpression des pompes d'efflux

Modification cible

Modification cible




Chez les autres espèces de *Candida*

Résistance-Chez les autres *Candida*

Rapid detection of ERG11 polymorphism associated azole resistance in *Candida tropicalis*

Janvier 2021
PLOS ONE

Saikat Paul, Rajneesh Dadwal , Shreya Singh, Dipika Shaw, Arunaloke Chakrabarti, Shivaprakash M. Rudramurthy, Anup K. Ghosh *






UPC2A Is Required for High-Level Azole Antifungal Resistance in *Candida glabrata*

Août 2014

Sarah G. Whaley,^{a,c} Kelly E. Caudle,^{a,c*} John-Paul Vermitsky,^d Sean G. Chadwick,^d Geoffrey Toner,^d Katherine S. Barker,^{a,b,c} Scott E. Gyax,^d P. David Rogers^{a,b,c}

Participation of the ABC Transporter CDR1 in Azole Resistance of *Candida lusitanae*

Septembre 2021

Valentin Borgeat ¹ , Danielle Brandalise ¹, Frédéric Grenouillet ^{2,3}  and Dominique Sanglard ^{1,*} 



Plan

1

- Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)

2

- Définition de la résistance et détection de la résistance

3

- Résistance chez *Candida*

4

- Résistance chez *Aspergillus*

5

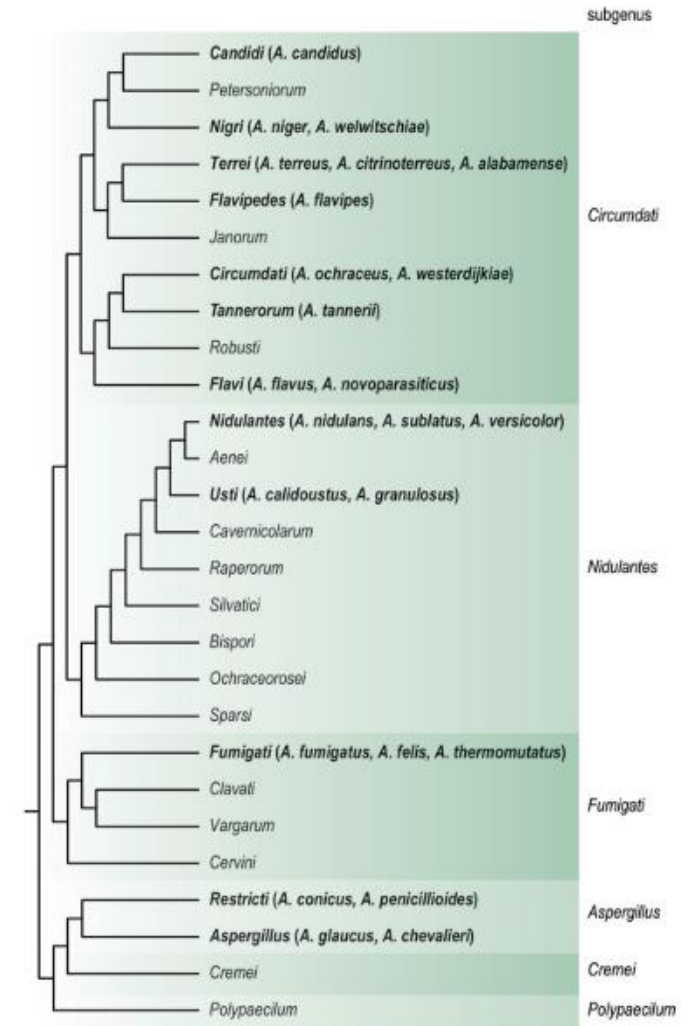
- Résistance chez les dermatophytes

6

- Conclusion

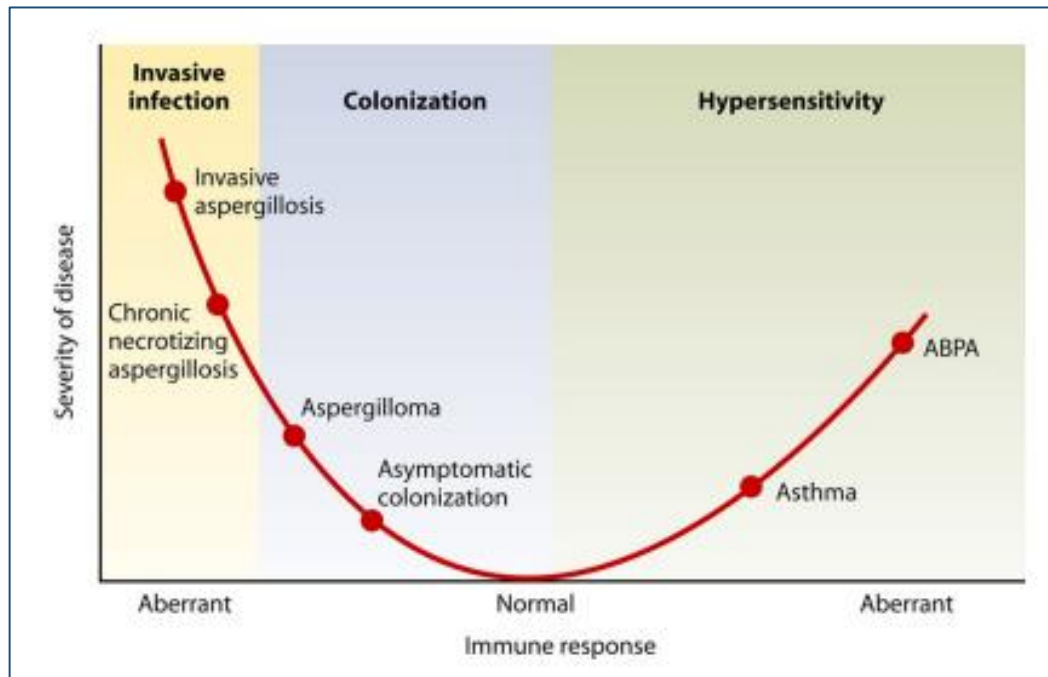
Rappel *Aspergillus* spp.

- *Aspergillus* spp.
 - Moisissures
 - Champignon filamenteux
 - Ubiquitaire, saprophyte
 - Présent dans l'environnement (air, sol, surface, dans l'alimentation)
 - Nombreuses espèces



Aspergillus fumigatus

- Responsable d'un large spectre clinique de pathologies pulmonaires :
→ Aspergillose allergique chez l'immunocompétent à l'aspergillose invasive chez le patient immunodéprimé



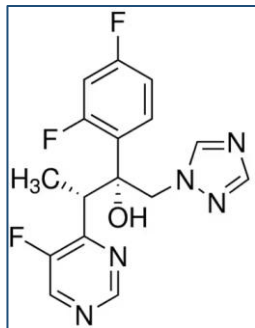
Les différentes pathologies pulmonaires causées par *Aspergillus fumigatus*

Facteurs favorisant le développement d'*Aspergillus*

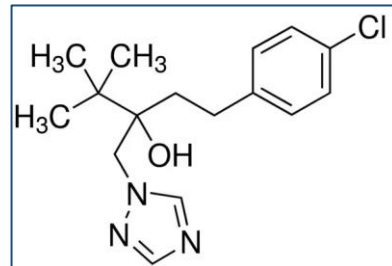
- ❑ **Généraux** : neutropénie, immunosuppression
- ❑ **Locaux** : présence de cavités du parenchyme pulmonaire (ex : post tuberculose)...
- ❑ **Environnementaux** : travaux (favorisent la dissémination des spores)

Aspergillus fumigatus

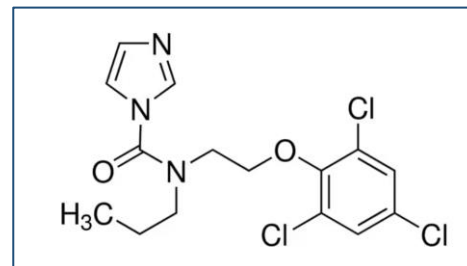
- Traitement de 1^{ère} ligne : les antifongiques azolés
 - Deux origines de la résistance :
 - **Traitement au long cours par des antifongiques azolés** (cas des aspergilloses chroniques ou des aspergilloses allergiques)
 - **Utilisation dans l'environnement de phytosanitaires fongicides** « inhibiteurs de déméthylation » (DMI) contre les champignons phytopathogènes (ex : *Fusarium*)
 - mécanisme d'action et structure similaire aux antifongiques azolés utilisés en clinique



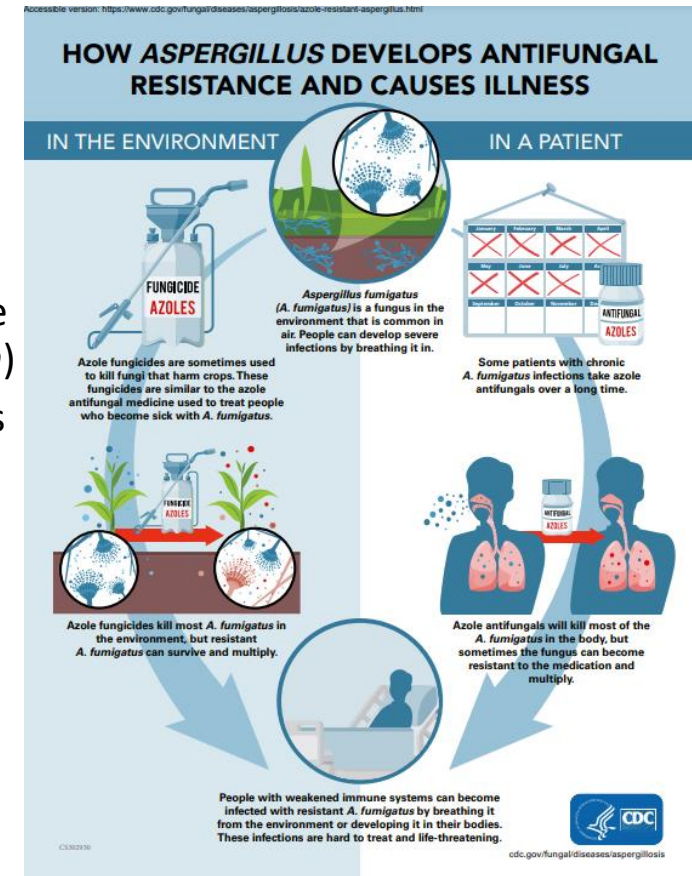
Voriconazole



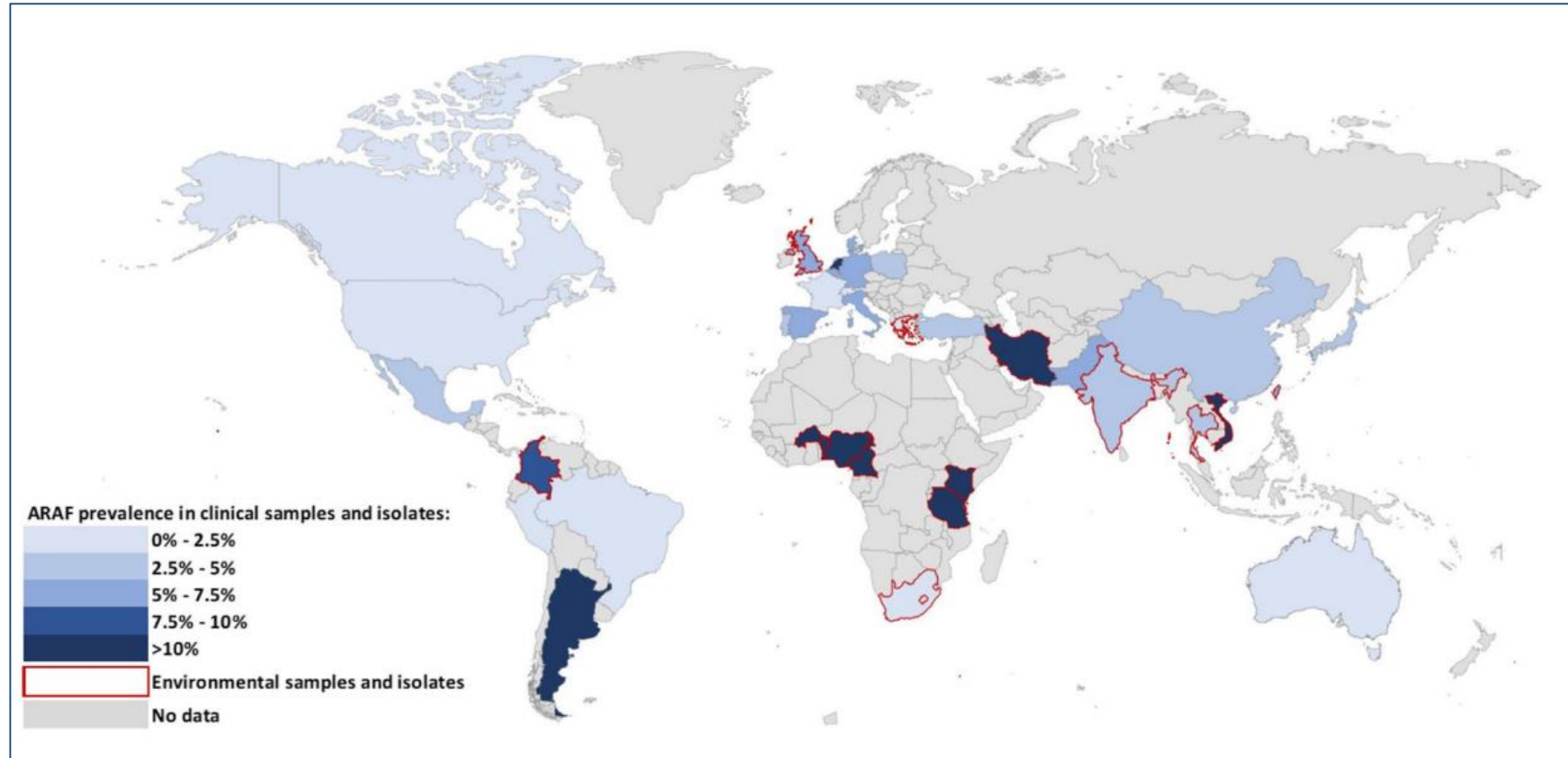
Tébuconazole



Prochloraze



Epidémiologie de la résistance chez *Aspergillus fumigatus*

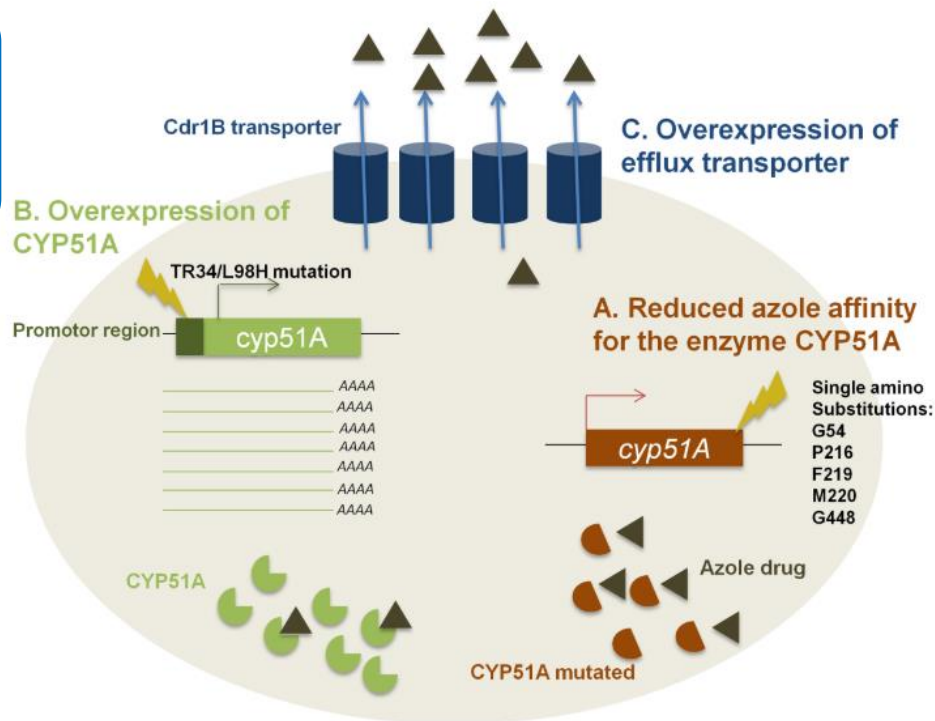


Résistance chez *Aspergillus*

• Les mécanismes de résistance chez *Aspergillus fumigatus*

CYP51A : gène codant pour l'enzyme la lanostérol 14 alpha déméthylase impliquée dans la biosynthèse de l'ergostérol

Mécanisme de résistance majoritaire : altération du gène *CYP51A*



Les principaux mécanismes de résistance chez *A. fumigatus*

Table 1. List of mechanisms associated with clinical triazole resistance in isolates of *A. fumigatus*.

Gene name	Systematic name (description)	Alteration	References
<i>cyp51A</i>	Afu4g06890 (14- α sterol demethylase)	TR34/L98H	Mellado <i>et al.</i> (2007), Snelders <i>et al.</i> (2008), and Gsaller <i>et al.</i> (2016a,b)
<i>cyp51A</i>	Afu4g06890 (14- α sterol demethylase)	TR46/Y121F/T289A	Chowdhary <i>et al.</i> (2014) and Snelders <i>et al.</i> (2015)
<i>cyp51A</i>	Afu4g06890 (14- α sterol demethylase)	G54	Diaz-Guerra <i>et al.</i> (2003)
<i>cyp51A</i>	Afu4g06890 (14- α sterol demethylase)	G138	Manavathu <i>et al.</i> (2000) and Xiao <i>et al.</i> (2004)
<i>cyp51A</i>	Afu4g06890 (14- α sterol demethylase)	M220	Mellado <i>et al.</i> (2004) and Howard <i>et al.</i> (2013)
<i>cyp51A</i>	Afu4g06890 (14- α sterol demethylase)	G448S	Krishnan Natesan <i>et al.</i> (2012) and Bellele <i>et al.</i> (2010)
<i>hapE</i>	Afu2g14720 (sequence-specific CCAAT DNA-binding transcription factor)	P88L	Camps <i>et al.</i> (2012a,b,c)
<i>hmg1</i>	Afu2g03700 [hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase]	S269F	Hagiwara <i>et al.</i> (2018)
<i>hmg1</i>	Afu2g03700 [hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase]	F262 deletion	Rybak <i>et al.</i> (2019a, 2019b)
<i>hmg1</i>	Afu2g03700 [hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase]	S305P	Rybak <i>et al.</i> (2019a, 2019b)
<i>hmg1</i>	Afu2g03700 [hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase]	I412S	Rybak <i>et al.</i> (2019a, 2019b)
<i>cdr1B/abcC</i>	Afu1g14330 (Putative ABC transporter)	Overexpression	Fraczek <i>et al.</i> (2013) and Hagiwara <i>et al.</i> (2016)
<i>atrF</i>	Afu6g04360 (Putative ABC transporter)	Overexpression	Slaven <i>et al.</i> (2002)
<i>mdr1</i>	Afu5g06070 (ABC multidrug transporter)	Overexpression	Fraczek <i>et al.</i> (2013), Nascimento <i>et al.</i> (2003), and Rajendran <i>et al.</i> (2011)
<i>mdr2</i>	Afu4g10000 (ABC multidrug transporter)	Overexpression	Fraczek <i>et al.</i> (2013), Nascimento <i>et al.</i> (2003) and Rajendran <i>et al.</i> (2011)
<i>Mdr3</i>	Afu3g03500 (Putative multidrug resistance protein)	Overexpression	Nascimento <i>et al.</i> (2003)
<i>Mdr4</i>	Afu1g12690 (ABC multidrug transporter)	Overexpression	Nascimento <i>et al.</i> (2003)

D'autres mécanismes sont également décrits

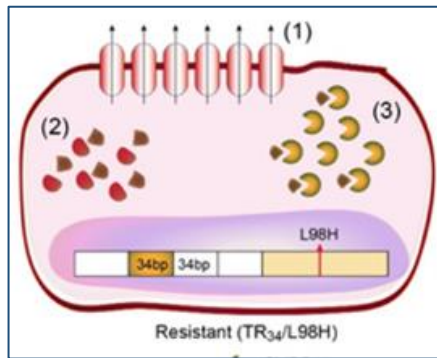
Résistance chez *Aspergillus*

- Deux types d'altérations du gène *CYP51A*

- **Mutations ponctuelles** au niveau du gène *CYP51A* liées à l'exposition aux antifongiques

- **Mutations** au niveau du **promoteur** du gène *CYP51A* (Tandem Repeat (TR) : séquence de nucléotides qui se répètent) associées à des mutations ponctuelles au niveau du gène *CYP51A* : **mutations d'origine environnementale**

Retrouvées chez des isolats cliniques → chez des patients non exposés aux azolés + isolats environnementaux



Promoter
 Coding region
 (1) Overexpression of efflux transporter
 (2) Reduced azole affinity of the enzyme CYP51A
 (3) Overexpression of the enzyme CYP51A
 CYP51A
 CYP51A mutated
 Azole drug

Altération du promoteur du gène *CYP51* aussi décrit chez les champignons phytopathogènes

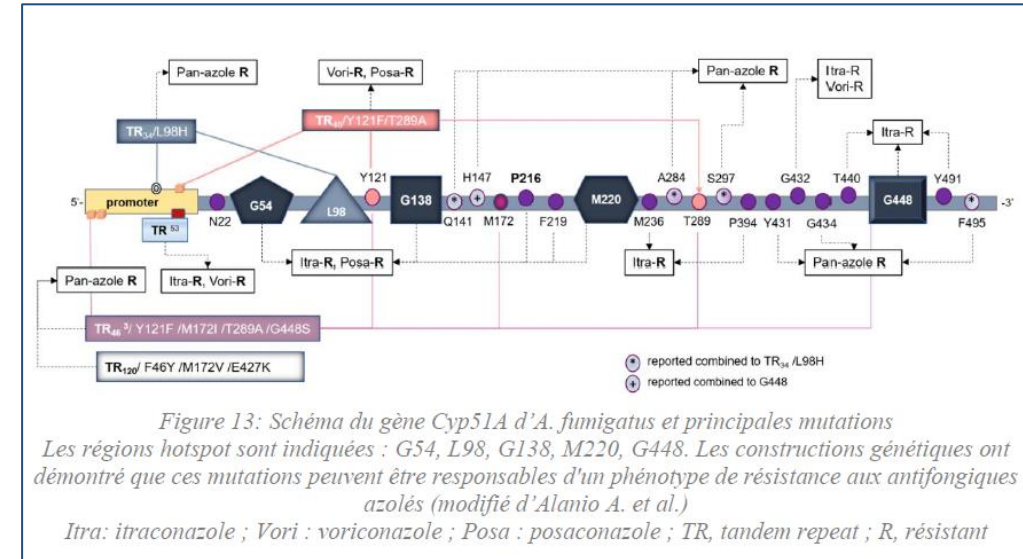


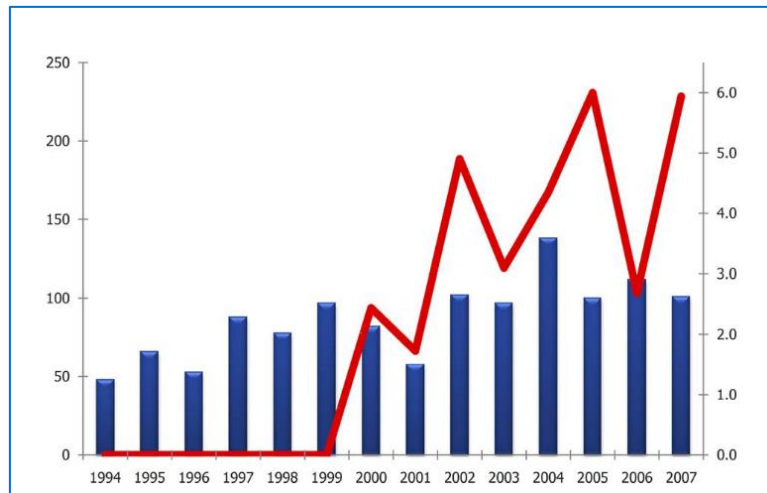
TABLE 1 Main Cyp51 resistance mechanisms to DMIs found in plant pathogens from 2000 to 2020^a

Plant pathogen	DMI resistance	Cyp51 modification(s)	Promoter alteration
<i>Penicillium digitatum</i>	TFZ, FNM, BTN	Absent	126-bp TR
	IMZ	Absent	199-bp TR
<i>Blumeriella jaapii</i>	FBZ	Absent	Truncated retrotransposon
<i>Venturia inaequalis</i>	MCB	Absent	553-bp insertion
	DFZ	Absent	EL3,1,2 repeated element
<i>Monilinia fructicola</i>	PPZ	Absent	Mona genetic element
<i>Ustilagoidea virens</i>	PPZ	Absent	CC insertion
<i>Pyrenopeziza brassicae</i>	TBZ, MTZ, FSZ, PTZ, PRZ	G460S, S508T	151-bp insertion

Résistance chez *Aspergillus*

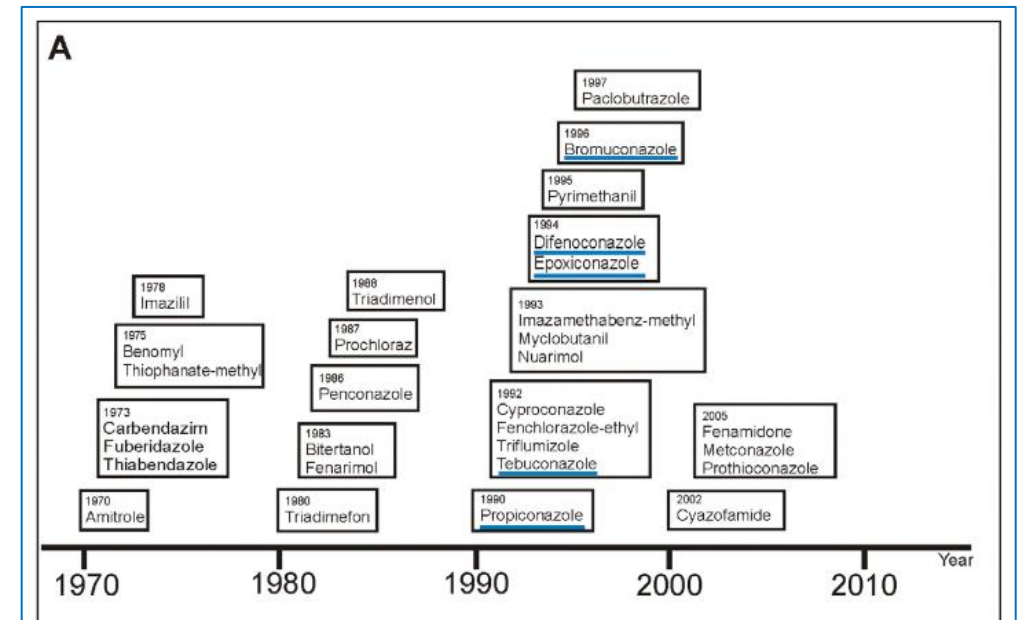
- Focus sur les mutations d'origine environnementale
 - Augmentation de la résistance à partir des années 2000 → utilisation de fongicides azolés

Etude réalisée au Pays-Bas sur collection de 2683 souches d'Af provenant des Pays-Bas et de 4 autres pays (période de 14 ans)



En rouge, % de patients avec souches d'Af R à l'itraconazole ;
nombre de patients avec culture positive à Af

Mutation d'origine
environnementale
majoritaire TR₃₄/L98H



Résistance chez *Aspergillus*

- Différents profils de sensibilité *in vitro* aux azolés en fonction des mutations

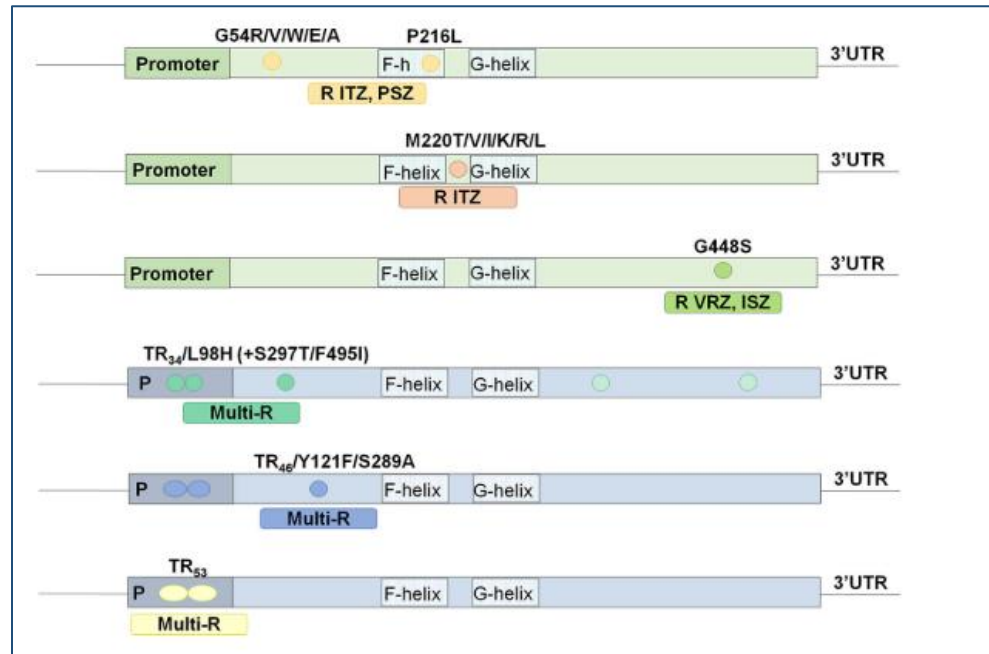


Table 3. *Cyp51* gene-related mutations and corresponding phenotype (EUCAST methodology) in triazole-resistant clinical *A. fumigatus* isolates

Resistance mutation	Phenotype (MIC mg/L) ^a			Comment	References
	Itraconazole	Voriconazole	Posaconazole		
TR ₃₄ /L98H	2->16	0.5->16	0.25-2	A significant trend towards lower VRC MICs was observed between 2013 and 2018 in a national surveillance program ⁴⁹	49-68
TR ₃₄ /R65K/L98H	>16	8	4		69
TR ₃₄ /L98H/S297T	>16	2	0.5	S297T not considered relevant for azole resistance ²⁹	51
TR ₃₄ /L98H/S297T/ F495I	>16	1-8	0.5->8	S297T not considered relevant for azole resistance, ²⁹ F495I associated with imidazole resistance ⁵⁸	51, 54, 58, 60, 67, 71
TR ₃₄ /L98H	>16	4 (-8)	1		87
TR ₄₆ /Y121F/T289A	0.5->16	>16	0.125-2		56, 58-61, 64-68, 72-74
TR ₄₆ /Y121F/M172I/ T289A	1	>16	0.5	M172I is also found in WT isolates ²⁹	75
TR ₄₆ /Y121F/M172I/ T289A/G448S	>16	>16	1	M172I is also found in WT isolates ²⁹	74, 76
TR ₅₃	>16	16	0.25		77
TR ₁₂₀ /F46Y/M172V/ E427K	16->16	4	0.5	In-host selection of TR ₁₂₀ in an isolate harbouring F46Y/M172V/E427K with a triazole WT phenotype	78
F46Y/M172V/E427K	4	0.5-8	1-4	F46Y, M172V and E427K have also been found in WT isolates ²⁹	50, 57, 79
F46Y/M172V/N248T/ D255E/E427K	>8	2	0.5	F46Y, M172V, N248T, D255E and E427K have also been found in WT isolates ²⁹	53, 57, 71
G54W,E,R,V	>16	0.06-2	0.5->8		50, 52, 53, 55, 63
G138C	>8	8->8	1->8		53, 80, 81
P216L	>16	0.5-2	0.25-0.5	POS MIC >16 described in one study, ⁶¹ possibly suggesting accumulation of additional resistance mutations	52, 53, 61, 63, 67
F219L	>16	0.25	0.25		52
M220I,K,L,R,T,V	>16	0.5-4	0.5->8		50, 51, 53, 59, 63
Y431C	>8	2-4	1-2		81
G448S	>8	2-8	0.25-1		53

VRC, voriconazole; POS, posaconazole.

^aMIC ranges may represent a single isolate or the accumulation of MICs of multiple isolates from different studies. Broad MIC ranges could reflect technical variation in MIC determination, factors related to the resistance mechanism detected or the presence of (undetected) additional resistance mutations. Isavuconazole resistance classification is highly similar to that of voriconazole.⁸²

Résistance chez *Aspergillus*

Home Environment as a Source of Life-Threatening Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* in Immunocompromised Patients

Clinical Infectious Diseases

BRIEF REPORT

Janvier 2017

Rose-Anne Lavergne,^{1,2} Taieb Chouaki,^{3,4} Ferry Hagen,⁸ Bénédicte Toubanc,⁶ Hervé Dupont,^{5,7} Vincent Jounieaux,⁶ Jacques F. Meis,^{8,9} Florent Morio,^{1,2} and Patrice Le Pape^{1,2}

Table 1. Description of the Localization of Sampling and Resistance Investigation Results

Location	Sabouraud		Itraconazole 4 mg/L		Voriconazole 4 mg/L		CYP51A Mutations ^a	STRAf Genotyping											
	No. of Samples	No. of Positive Samples	No. of Positive Samples	No. of Colonies	No. of Positive Samples	No. of Colonies		No. of Isolates ^b	2A	2B	2C	3A	3B	3C	4A	4B	4C		
Barley field	2	2	0	>10	1	5	TR ₃₄ /L98H	4	14	20	17	31	11	10	8	14	20		
Corn field	5	5	0	>10	0	0													
Wheat field	6	6	0	>10	0	0													
Garden	11	5	2	>10	2	>10	TR ₄₆ /Y121F/T289A	6	10	20	12	43	8	11	12	9	20		
Living room	3	0	0	>10	0	0													
Bedroom	2	1	1	>10	1	>10	TR ₄₆ /Y121F/T289A	5	10	20	12	43	8	11	12	9	20		
Bathroom	3	1	1	4	1	9	TR ₄₆ /Y121F/T289A	5	10	20	12	43	8	11	12	9	20		
Basement	2	1	1	>10	1	>10	TR ₄₆ /Y121F/T289A	5	10	20	12	43	8	11	12	9	20		
Clinical isolate	1	1	1	>10	1	>10	TR ₄₆ /Y121F/T289A	1	10	20	12	43	8	11	12	9	20		

^a Up to 5 colonies per sample were subjected to CYP51A gene and its promoter sequencing.

^b Genotyping was restricted to isolates growing on Sabouraud agar plates supplemented with voriconazole.

Histoire Clinique :

- Cas d'aspergillose pulmonaire invasive :
 - Chez un agriculteur de 66 ans traité pour une polyarthrite rhumatoïde (ttt par Anticorps monoclonaux)
 - Hospitalisation en soins intensifs pour pneumopathie bilatérale
 - LBA → *Aspergillus fumigatus* (Af) résistant aux azolés → TR₄₆/Y121F/T289A
 - Investigations environnementales au domicile du patient
 - souches d'Af avec la TR₄₆/Y121F/T289A dans son environnement
 - Génotypage réalisé : génotypiquement indistinguable de l'isolat clinique
- Rôle direct de la maison comme source potentielle d'aspergillose invasive résistante aux azolés

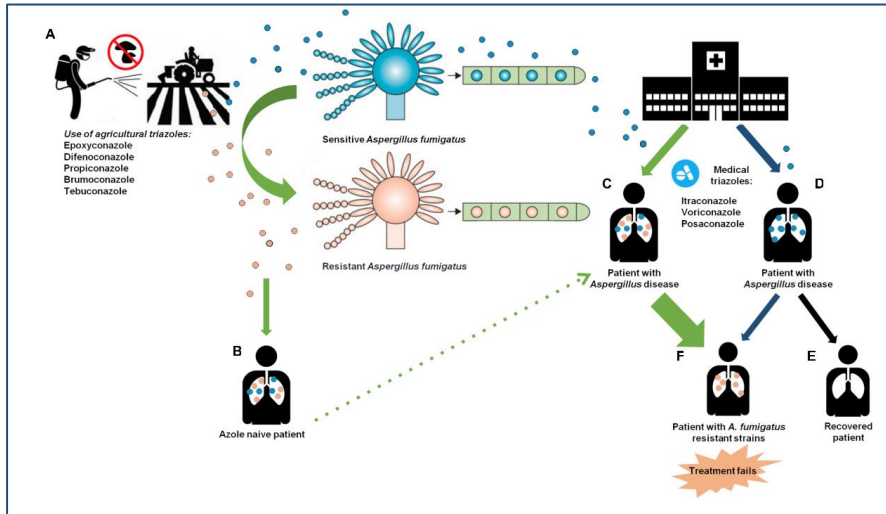
Pas d'exposition aux ATF azolés



Origine de la résistance chez *Aspergillus* ?

- Présence de deux origines de la résistance aujourd'hui fait débat :

Utilisation de fongicides azolés



Utilisation de antifongiques azolés

Mutations ponctuelles décrites chez des souches provenant de patients exposés aux azolés mais aussi retrouvées chez des isolats dans l'environnement

Journal of Global Antimicrobial Resistance 3 (2015) 69–74

Triazole-resistant *Aspergillus fumigatus* harbouring G54 mutation: Is it *de novo* or environmentally acquired?

Cheshta Sharma^a, Ferry Hagen^b, Ruxandra Moroti^c, Jacques F. Meis^{b,d}, Anuradha Chowdhary^{a,*}

- Quels sont les hotspots de la résistance ?

Article
Field-Crop Soils in Eastern France: Coldspots of Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* Journal of Fungi

Chloé Godeau¹, Nadia Morin-Crini¹, Grégoire Crini¹, Jean-Philippe Guillemain², Anne-Sophie Voisin², Sylvie Dousset³ and Steffi Rocchi^{1,4,5,*}

SCIENTIFIC REPORTS
Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* harboring TR₃₄/L98H, TR₄₆/Y121F/T289A and TR₅₃ mutations related to flower fields in Colombia March 2017

Carlos Alvarez-Moreno^{1,2,3}, Rose-Anne Lavergne^{3,4}, Ferry Hagen⁵, Florent Morio^{3,4}, Jacques F. Meis^{3,6} & Patrice Le Pape^{3,4}

Importance d'une approche One Health pour mieux comprendre les origines de la résistance



Plan

1

- Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)

2

- Définition de la résistance et détection de la résistance

3

- Résistance chez *Candida*

4

- Résistance chez *Aspergillus*

5

- Résistance chez les dermatophytes

6

- Conclusion

Dermatophytes (DY)

- Définition : champignons filamenteux hyalins kératinophiles et kératinolytiques
- Responsable d'infections superficielles de la **peau** et des **phanères**
- Large spectre clinique :
 - Atteinte de la peau glabre, des ongles, du cuir chevelu, de la barbe
- Infections fongiques les plus fréquentes : **20 à 25% de la population mondiale**
- Différents types de DY :
 - Espèces anthropophiles
 - Espèces zoophiles
 - Espèces géophiles ou telluriques



Différentes lésions cliniques

- Atteinte des ongles- Onychomycoses (*Tinea unguium*)
- Atteinte des cheveux- Teignes (*Tinea capitis*)
- Atteinte de la barbe-Sycosis (*Tinea barbae*)
- Atteinte de la peau glabre -Dermatophyties de la peau glabre (*Tinea corporis*, *Tinea cruris*, *Tinea pedis*)



Traitement des dermatophytes

- Atteinte des ongles- Onychomycoses (***Tinea unguium***)
 - Sans atteinte matricielle : ttt local sous forme de vernis → **amorolfine** ou **ciclopirox** (solution filmogène)
 - Avec atteinte matricielle : associé ttt local à un ttt par voie générale → **terbinafine**
- Atteinte des cheveux- Teignes (***Tinea capitis***)
 - Par voie locale : antifongique imidazolé (pommade, gel, lotion)
 - Par voie générale :
 - Teigne microsporique → **itraconazole**
 - Teigne trichophytique → **terbinafine**
- Atteinte de la peau glabre -Dermatophyties de la peau glabre (***Tinea corporis*, *Tinea cruris*, *Tinea pedis***)
 - Par voie locale : topiques antifongiques (crème, lotion, gel ou poudre) **azolés** (éconazole ...) ou **terbinafine** ou **ciclopiroxolamine**
 - Par voie générale : **terbinafine** si lésion étendue

Dermatophytes - résistance à la terbinafine

ORIGINAL ARTICLE

mycoses WILEY

Alarming India-wide phenomenon of antifungal resistance in dermatophytes: A multicentre study

Andreas Ebert^{1,2} | Michel Monod³ | Karine Salamin³ | Anke Burmester⁴ |
Silke Uhrlaß² | Cornelia Wiegand⁴ | Uta-Christina Hipler⁴ | Constanze Krüger² |
Daniela Koch² | Franziska Wittig² | Shyam B. Verma⁵ |
Archana Singal⁶ | Sanjeev Gupta⁷ | Resham Vasani⁸ | Abir Saraswat⁹ |
Rengarajan Madhu¹⁰ | Saumya Panda¹¹ | Anupam Das¹¹ | Mahendra M. Kura¹² |
Akshy Kumar¹³ | Shital Poojary¹⁴ | Sibylle Schirm¹⁵ | Yvonne Gräser¹⁶ | Uwe Paasch¹⁷ |
Pietro Nenoff²

Avril 2020

The menace of chronic and recurrent dermatophytosis in India: Is the problem deeper than we perceive?

Mars-Avril 2016 Sunil Dogra, Shraddha Uprety¹

THE LANCET Infectious Diseases

Anuradha Bishnoi,
*Keshavamurthy Vinay, Sunil Dogra

Emergence of recalcitrant dermatophytosis in India

Mars 2018

Janvier 2022 EMERGING INFECTIOUS DISEASES®

Extensive Dermatophytosis Caused by Terbinafine-Resistant *Trichophyton indotineae*, France

Arnaud Jabet,¹ Sophie Brun,¹ Anne-Cecile Normand, Sebastien Imbert,
Mohammad Akhouni, Eric Dannaoui, Laeticia Audiffred, Francois Chasset, Arezki Izri,
Liliane Laroche, Renaud Piarroux, Claude Bachmeyer, Christophe Hennequin, Alicia Moreno Sabater.

Dermatophytes

- résistance à la terbinafine

- Jusqu'en 2015
 - Description de cas d'infections à *Trichophyton* spp. résistants à la terbinafine → *Trichophyton rubrum*
 - Dès 2005, lien entre l'acquisition de la mutation du gène *ERG1* (Leu393Phe) codant pour la squalène époxydase (cible de la terbinafine)

Allylamine → Terbinafine

- Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol → inhibition de la squalène époxydase (Erg1)

Amino Acid Substitution in *Trichophyton rubrum* Squalene Epoxidase Associated with Resistance to Terbinafine

Colin S. Osborne,* Ingrid Leitner, Bertrand Favre,† and Neil S. Ryder‡

Avril 2005



Dermatophytes - une nouvelle espèce

- Depuis 2016
 - Dermatophytoses extensives et difficultés à traiter certains cas de *Tinea corporis* et *cruris* en Inde
 - Profonde modification des dermatophytoses en Inde
 - Remplacement progressif de *T. rubrum* par une espèce à la frontière entre :
 - *T. mentagrophytes* → Lésions très inflammatoires
 - *T. interdigitale* → Caractère anthropophile
 - Principale hypothèse :
 - Utilisation inappropriée de traitements antifongiques couplés à des corticostéroïdes +/- antibiotiques
- Etudes avec différents marqueurs moléculaires :
 - complexe *T. mentagrophytes* (génotype VIII)

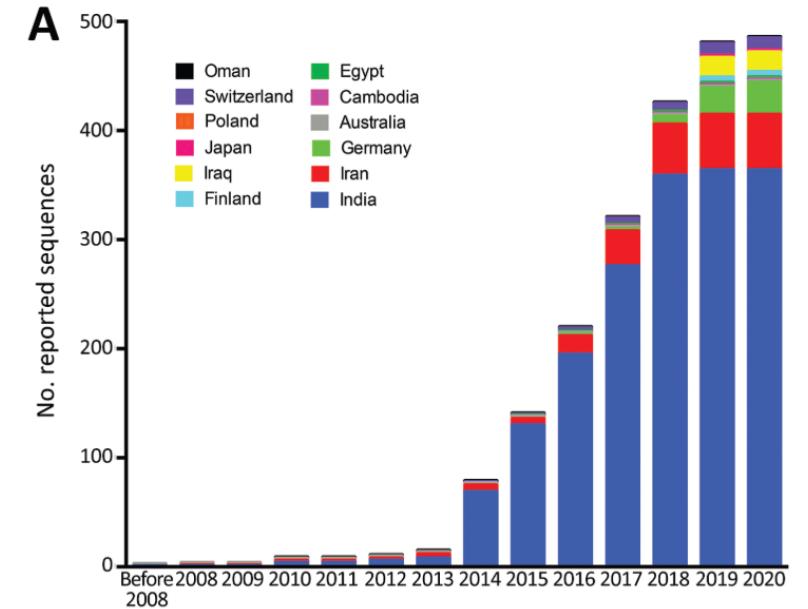


Terbinoforce plus : Terbinafine, ofloxacine, ornidazole, clobetasol propionate

Une nouvelle espèce → *Trichophyton indotineae* en 2020

Dermatophytes

- *Trichophyton indotineae*



Une répartition mondiale mais Inde pays le plus touché

- Inde pays le plus touché
- Cas rapportés en Europe : Pologne, Belgique, Allemagne, Suisse Danemark et aussi en France
- Mais aussi dans le Monde : Vietnam, Brésil, Canada
- Description de résistance à la terbinafine

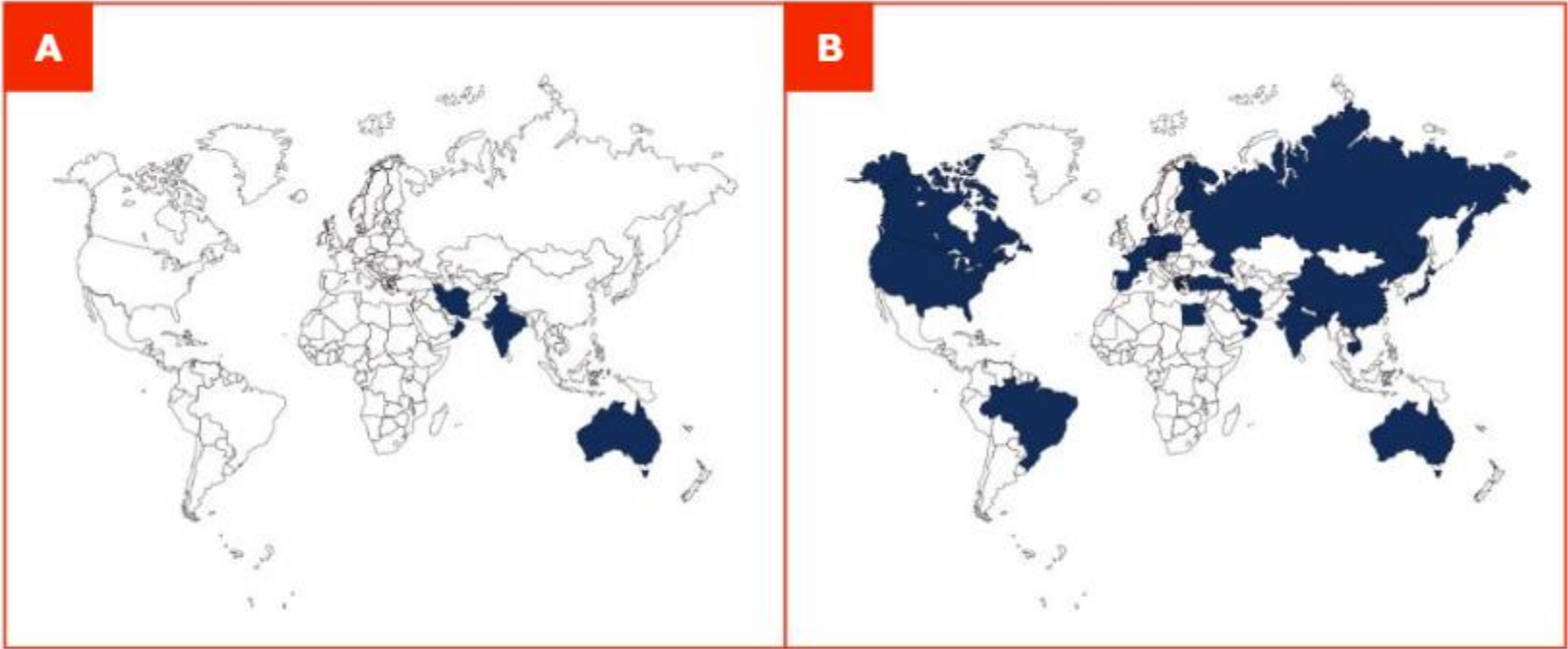


Fig. 3 - Évolution de la propagation mondiale de *T. indotineae*.
 A : pays (en bleu) ayant rapporté *T. indotineae* entre 2008 et 2015.
 B : pays (en bleu) ayant déclaré des cas de *T. indotineae* jusqu'à septembre 2023.

Une nouvelle espèce → *Trichophyton indotineae* en 2020

Dermatophytes

- résistance à la terbinafine

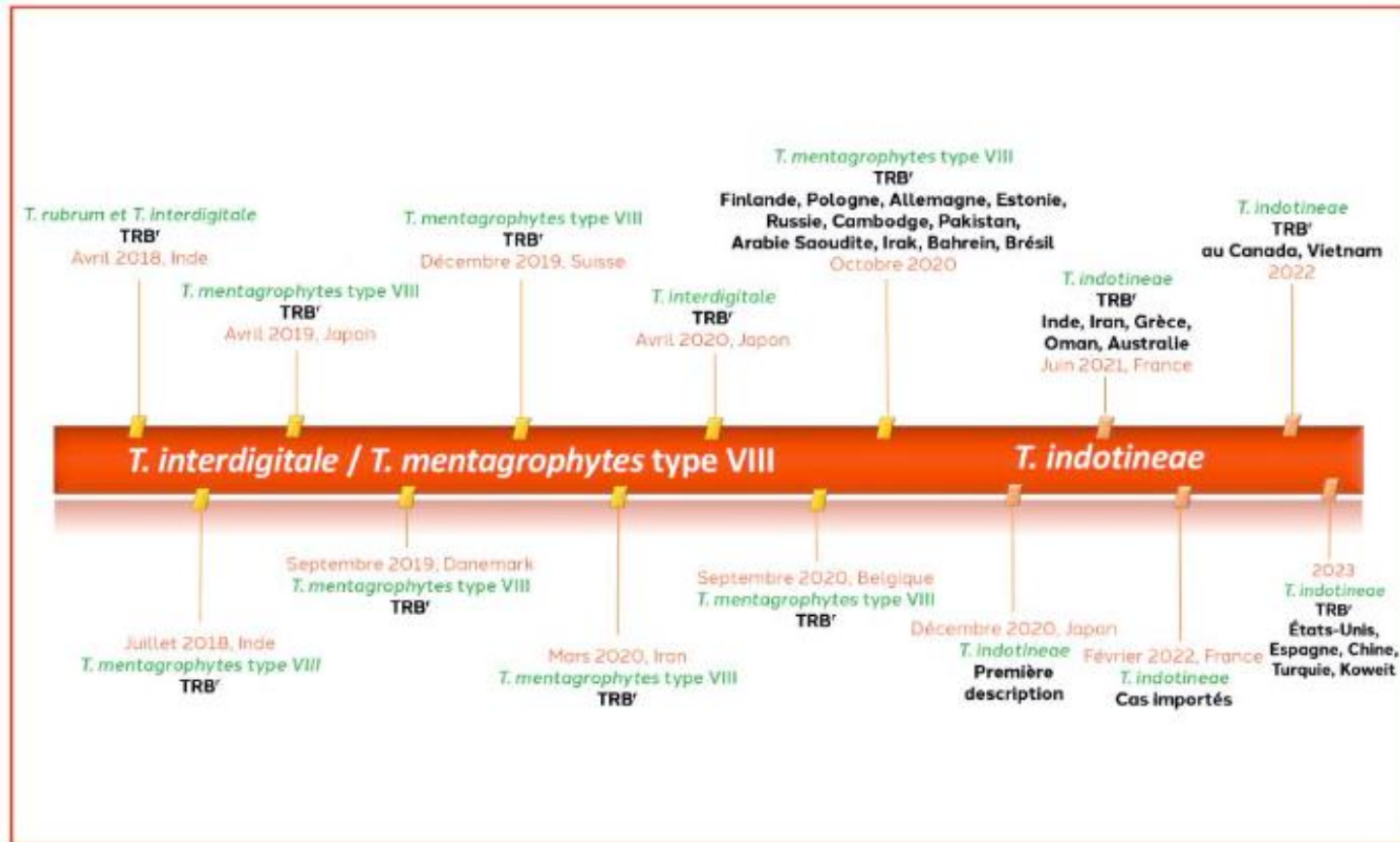
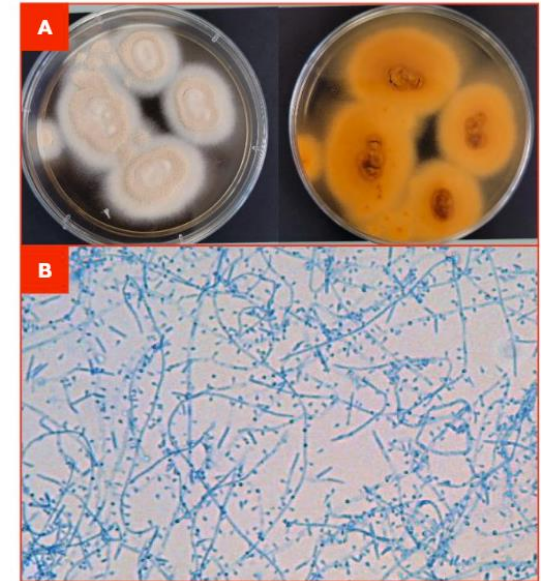


Fig. 2 - Frise chronologique décrivant l'évolution des découvertes de dermatophytoses à *T. Indotineae* résistantes à la terbinafine.

TRB^r : résistant à la terbinafine.



Aspect macroscopique et microscopique de *Trichophyton indotineae*

Une nouvelle espèce
→ *Trichophyton indotineae*
en 2020

Dermatophytes

- résistance à la terbinafine

- Modification de la cible
 - Mutation au niveau du gène codant pour la squalène époxydase (*ERG1*)

Table 5. Overview of mutations in the squalene epoxidase (SQLE) target gene of *T. rubrum* and *T. interdigitale* and their implication for terbinafine susceptibility (for references, see text)

	High-level resistance	Low-level resistance	Unknown impact (Direct sequencing, unable to grow in EUCAST AFST)	Unrelated to resistance
<i>T. rubrum</i>	L437P, L393F, L393S, F397L, F397I	I121M/V237I, F415S, H440Y/F484Y, S443P	Y414C/L438C, F415V	F484Y, I479V
<i>T. indotineae</i> (<i>T. mentagrophytes</i> / <i>T. interdigitale</i>)	L393F, L393S, S395P, F397L, Q408L, H440T	S443P		L335F, A448T

Dermatophytes

- *Trichophyton indotineae* en France

- En France : deux séries de cas rapportés en 2022 (Jabet *et al.*, Emerg Infect Dis 2022, Dellière *et al.*, Emerg Infect Dis 2022)
 - migrants ou voyageurs de retour de zone d'endémie (Inde et Bangladesh)
 - certains patients n'avaient pas quitté la France → transmission autochtone
- Données récemment publiées en Ile de France (Moreno-Sabater A. *et al.*, J Fungi (Basel) 2022)
 - 4,8% de *T. indotineae* (n=125)
 - 16,7% de résistance à la terbinafine (1/6)
- Etude prospective nationale multicentrique en cours
 - Evaluation de la résistance à la terbinafine pour *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale*, *T. indotineae*

Plan

1

- Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)

2

- Définition de la résistance et détection de la résistance

3

- Résistance chez *Candida*

4

- Résistance chez *Aspergillus*

5

- Résistance chez les dermatophytes

6

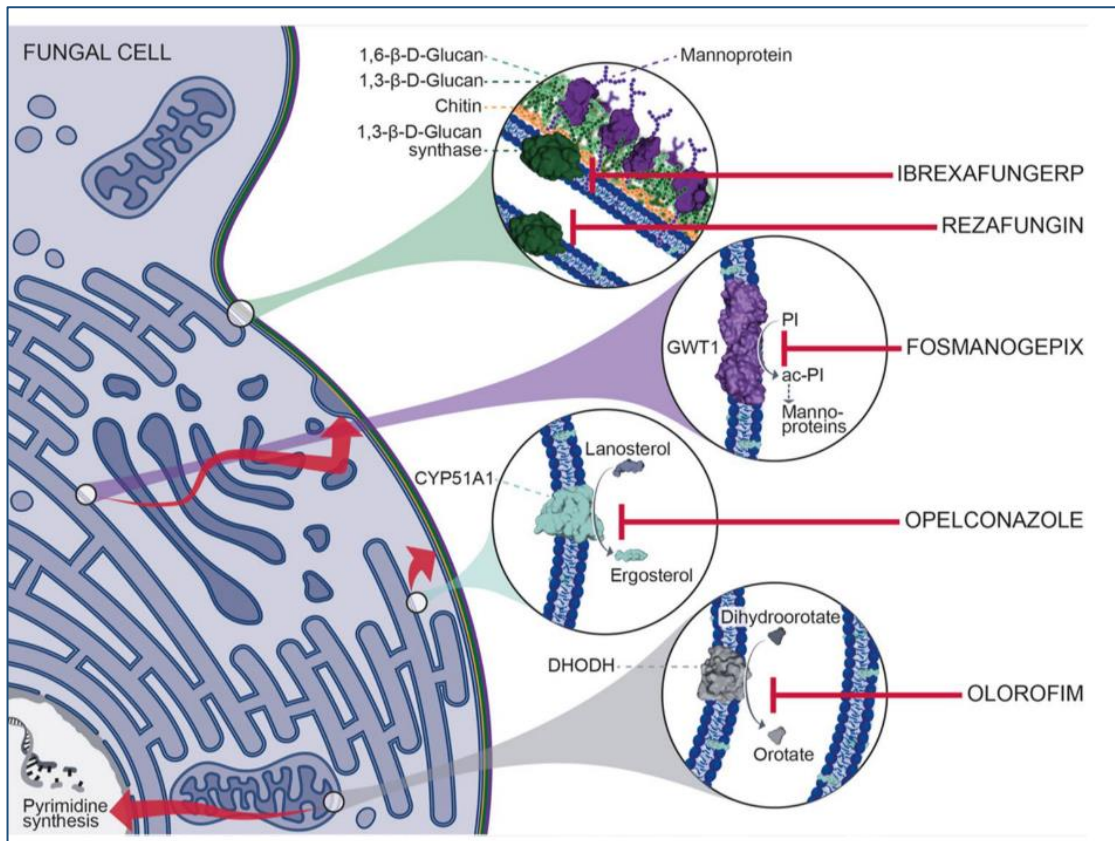
- Conclusion

Conclusion- Résistance aux antifongiques

- Différents mécanismes de résistance acquise :
 - Modification de la cible
 - Surexpression de la cible
 - Surexpression des pompes d'efflux
- ➡ Phénomène dynamique et cumulatif
- Peu de classes d'antifongiques → risque d'impasse thérapeutique si émergence de résistance à une ou deux classes d'antifongiques
- Approche One Health nécessaire pour mieux comprendre les origines de la résistance

Nouveaux Antifongiques

- Nouveaux antifongiques



Antifungal agents	Fosmanogepix	Ibrexafungerp	Olorofim	Opelconazole	Rezafungin
Pathogens					
<i>Aspergillus calidoustus</i>					
<i>Aspergillus fumigatus</i>					
Azole-resistant <i>A. fumigatus</i>					
<i>Aspergillus flavus</i>					
<i>Aspergillus lentulus</i>					
<i>Aspergillus nidulans</i>					
<i>Aspergillus niger</i>					
<i>Aspergillus terreus</i>					
<i>Aspergillus tubingensis</i>					
<i>Candida albicans</i>					
<i>Candida auris</i>					
<i>Candida dubliniensis</i>					
<i>Candida glabrata</i>					
<i>Candida krusei</i>					
<i>Candida lusitanae</i>					
<i>Candida parapsilosis</i>					
<i>Candida tropicalis</i>					

- ❑ Nouvelles classes mais pas que :
(ex: Rezafungin → échinocandines (résistance croisée ?))
- ❑ Olorofim → résistance croisée décrite avec un fongicide utilisée dans l'environnement

nature microbiology

Décembre 2023

***Aspergillus fumigatus* strains that evolve resistance to the agrochemical fungicide ipflufenquin in vitro are also resistant to olorofim**

Norman van Rhijn¹, Isabelle S. R. Storer¹, Mike Birch², Jason D. Oliver², Michael J. Bottery¹ & Michael J. Bromley¹✉

Résistance aux antifongiques

Sophie HARTUIS

AHU, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie Médicale

CHU de Nantes

UR1155, IICiMed Cibles des médicaments des infections et de l'immunité