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

13 mars 2025

Plan

1. • **Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)**
2. • **Définition et détection de la résistance**
3. • **Résistance chez *Candida***
4. • **Résistance chez *Aspergillus***
5. • **Résistance chez les dermatophytes**
6. • **Conclusion**

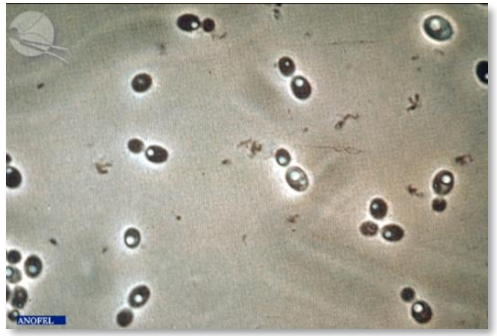
Plan

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 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

Dimorphiques

-Histoplasma

Levures

-Candida

-Cryptocoque

Filamenteux

Septés

Non ou peu Septés

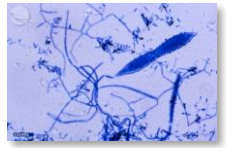
Hyalins

-Aspergillus

-Fusarium

-Scedosporium

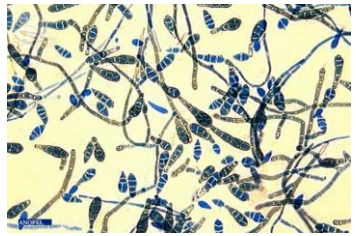
-Dermatophytes



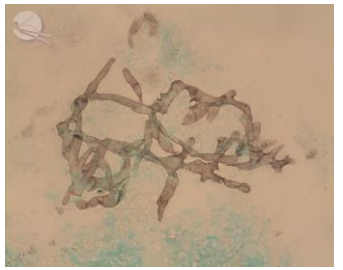
Pigmentés

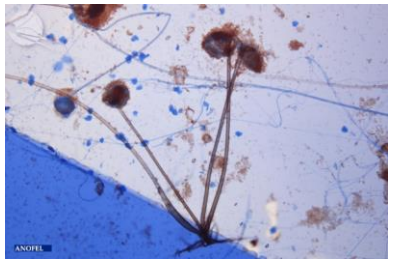
-Alternaria

-Cladosporium



-Mucorales



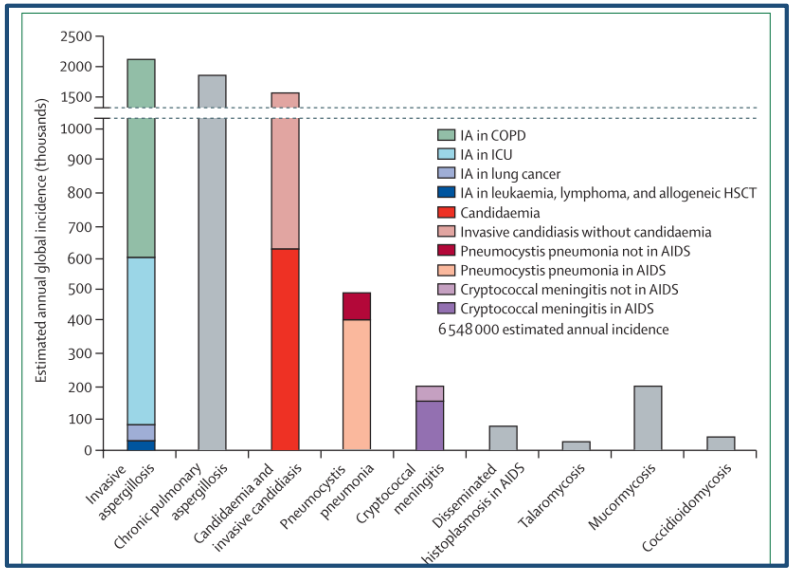


Résistance aux antifongiques de ces champignons abordée dans ce cours

Mycologie médicale

- Différents types d'infections fongiques avec une incidence variable
  - Epidémiologie des infections fongiques

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



Infections fongiques invasives

Fongémie

Aspergillose pulmonaire invasive

Cryptococcose

Mucormycose

Pneumocystose

Mycologie médicale

- Différents types d'infections fongiques avec une incidence variable
  - Epidémiologie des infections fongiques

Onychomycose à *Candida*

Intertrigo à dermatophytes

Candidose buccale

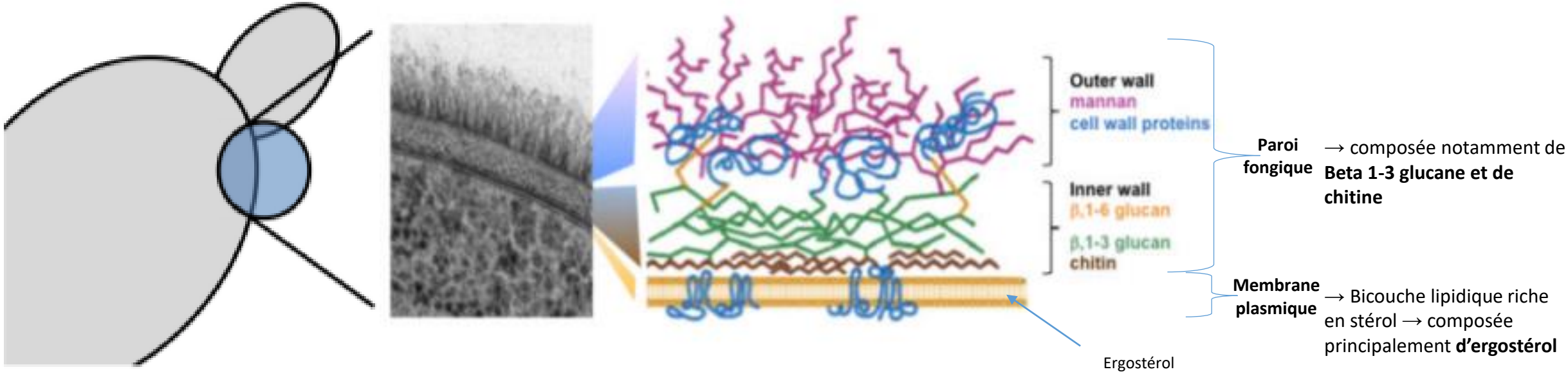
Candidose des plis sous-mammaires

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	

Infections fongiques superficielles

Constitution d'une cellule fongique

Exemple chez *C. albicans :*



Paroi fongique → composée notamment de **Beta 1-3 glucane et de chitine**

Membrane plasmique → Bicouche lipidique riche en stérol → composée principalement **d'ergostérol**

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 ?

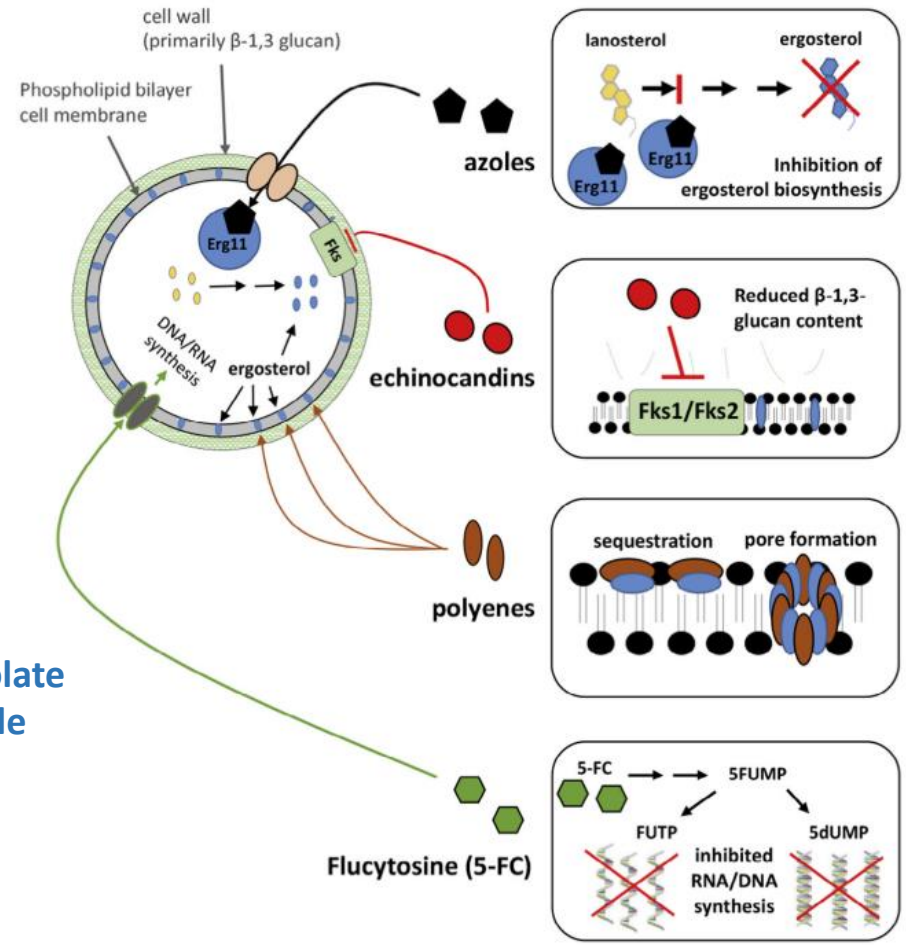
-
-
-
-

Quelques exemples de molécules ?

Rappel- Antifongiques systémiques

Nombre de cibles limité

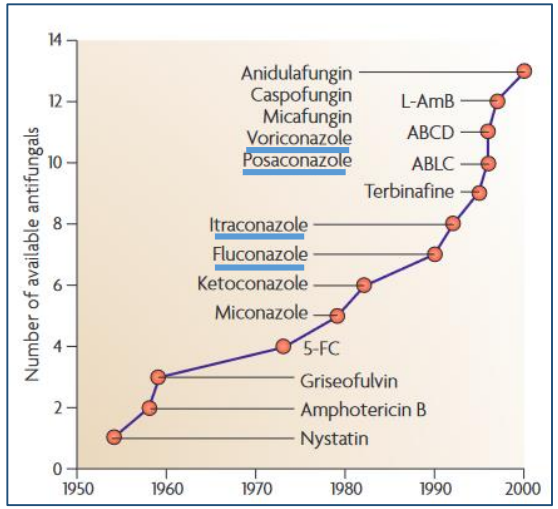
- **4 classes :**
  - **Les azolés**
    - Fluconazole
    - Itraconazole
    - Voriconazole
    - Posaconazole
    - Isavuconazole
  - **Les échinocandines**
    - Micafungine
    - Caspofungine
    - Anidulafungine
  - **Les polyènes**
    - Amphotéricine B déoxycholate
    - Amphotéricine B liposomale
  - **La 5-FC**
    - Flucytosine



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

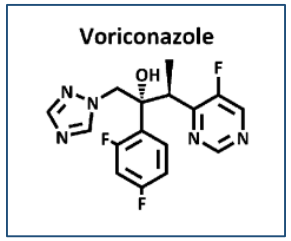
Rappel- Antifongiques

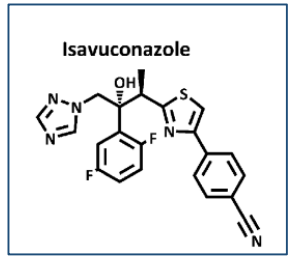
- **4 classes :**
  - Les azolés : la plus grande classe d'ATFs
    - **Triazolés (ATF systémiques)**

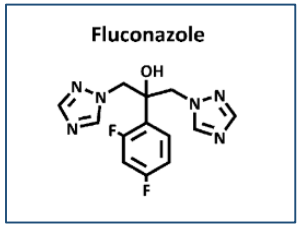


Mécanisme d'action	Cible
Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol : Inhibiteurs de la lanostérol 14 α déméthylase (gène *ERG11/CYP51A*)	Membrane

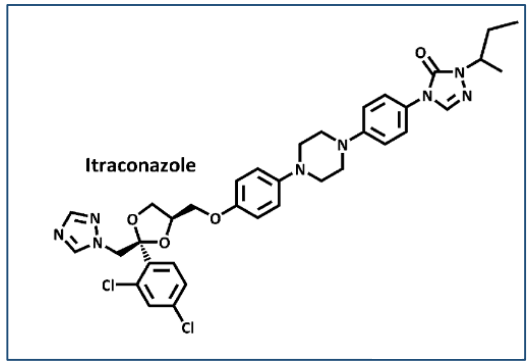
Fongistatique sur *Candida*
Fongicide sur *Aspergillus*

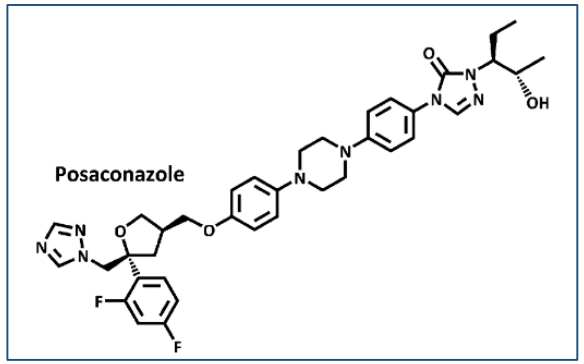


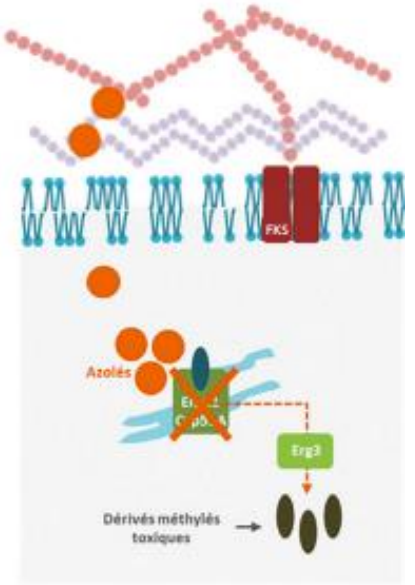


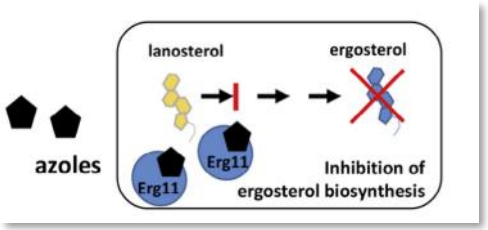


Résistance naturelle à *Aspergillus*



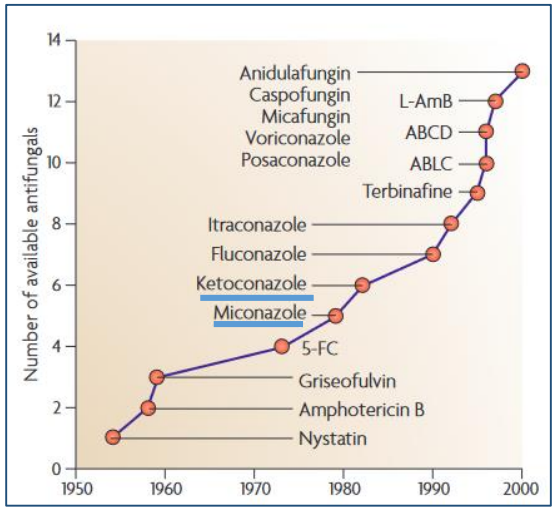


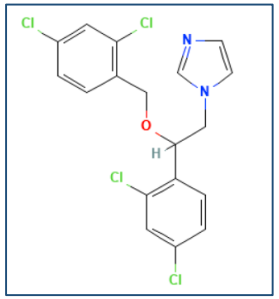




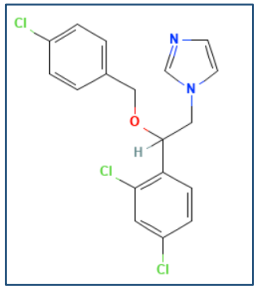
Rappel- Antifongiques

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



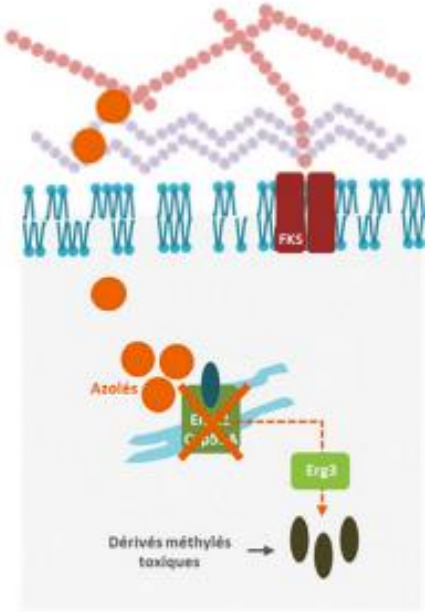


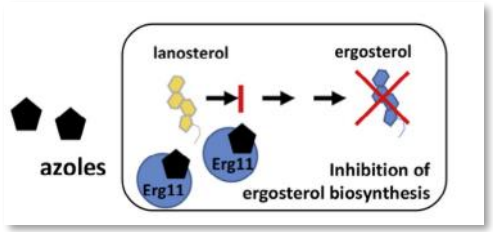
Miconazole



Econazole

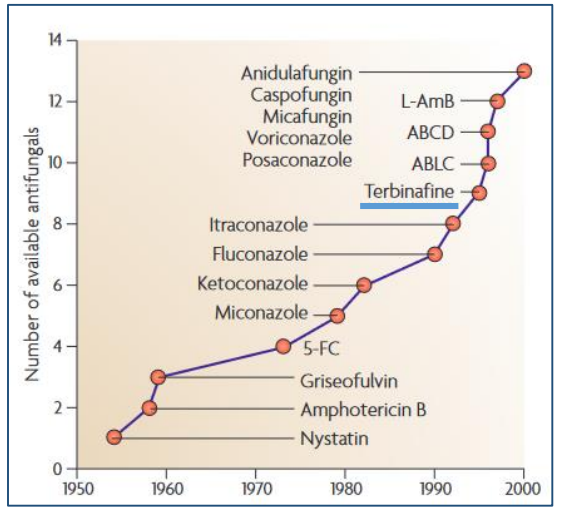
Mécanisme d'action	Cible
Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol : Inhibiteurs de la lanostérol 14 α déméthylase (gène *ERG11/CYP51A*)	Membrane





Rappel- Antifongiques

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

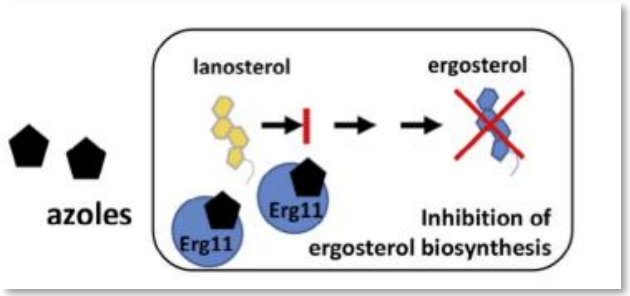


Mécanisme d'action

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

Cible

Membrane



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

PO et topique

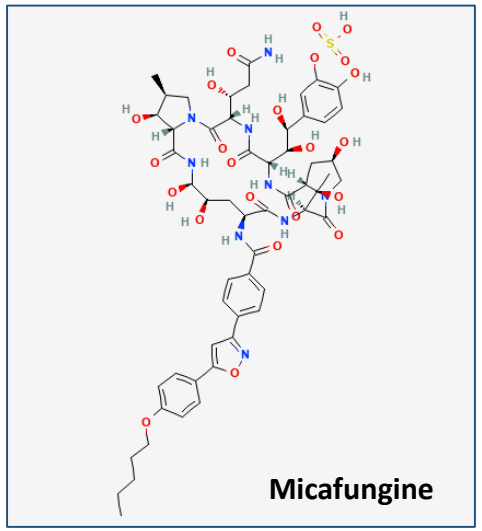
- Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol mais stade plus précoce → inhibition de la squalène époxydase (Erg1)
  →Traitement des dermatophytoses

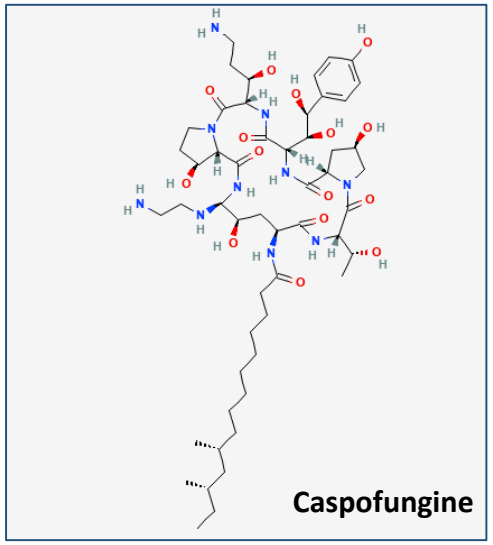
Rappel- Antifongiques

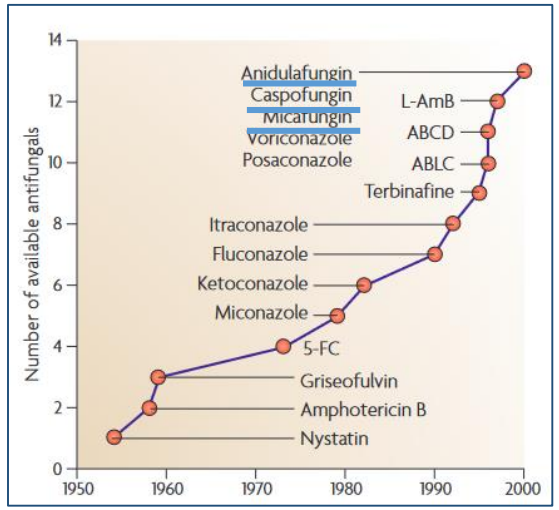
- **4 classes :**
  - Les échinocandines
    - Lipopeptides cycliques semi-synthétiques
    - Synthèse d'origine fongique
    - Voie d'administration : IV

Fongicide sur *Candida*
Fongistatique sur *Aspergillus*

→Traitement de 1ère intention des candidémies

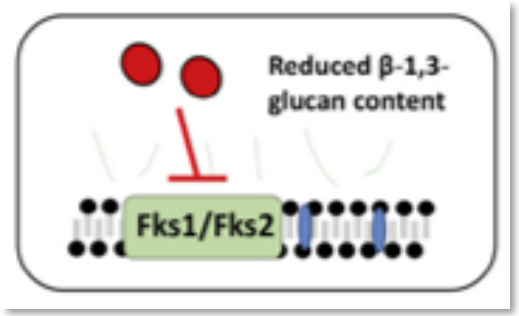






+ Anidulafungine

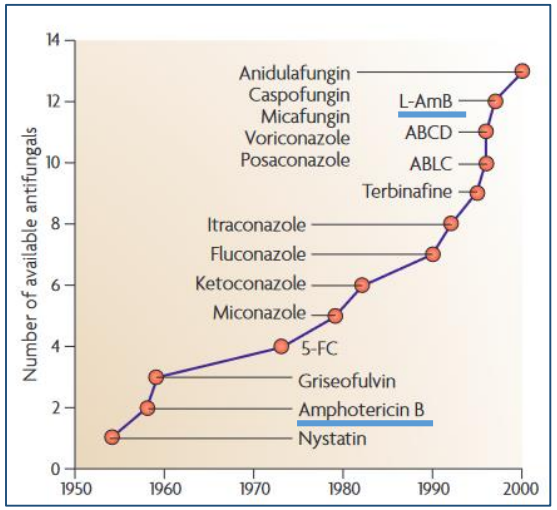
Mécanisme d'action	**Cible**
Inhibition non compétitive de la ß-1-3 glucane synthase (gène *FSK1-FSK2*)	Paroi

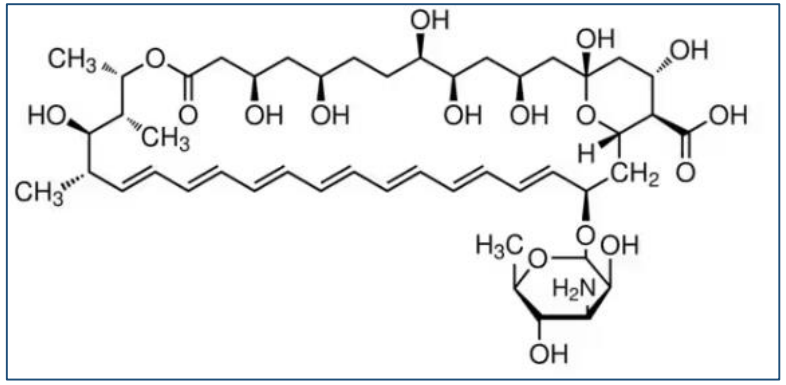


Rappel- Antifongiques

- **4 classes :**
  - Les polyènes
    - Macrolactone polyénique
      - Amphotéricine B
      - Amphotéricine B liposomale
      - Amphotéricine B déoxycholate

Fongicide sur *Candida* et sur *Aspergillus*



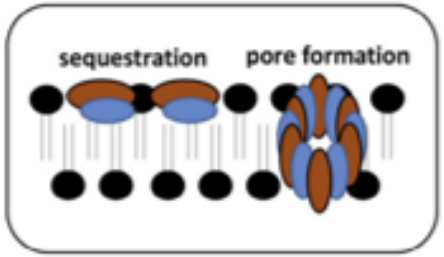


Mécanisme d'action

Formation de pores dans la membrane plasmique

Cible

Membrane



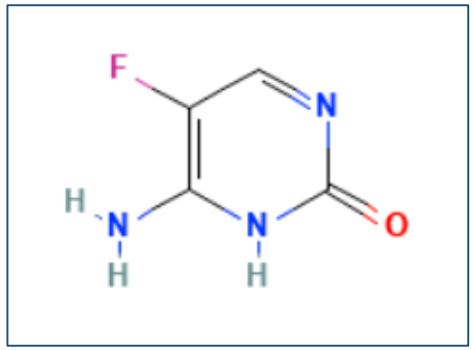
Altération de la perméabilité membranaire → fuite ionique et lyse cellulaire

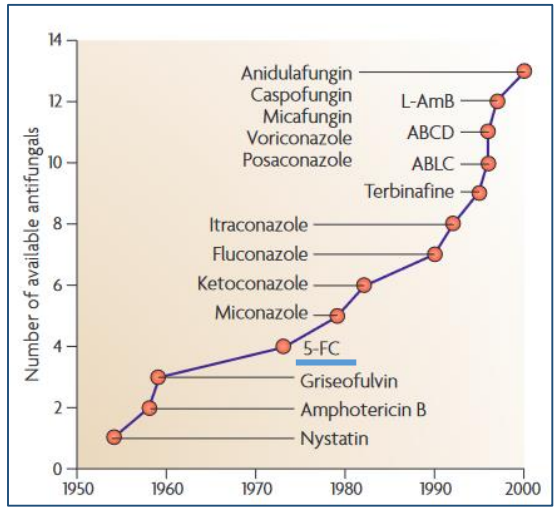
Morio *et al.,* International Journal of Antimicrobial Agents 2017; Ostrosky-Zeichner *et al.*, Nat Rev Drug Discov. 2010 ; https://www.sigmaaldrich.com/FR/fr/product/sigma/a4888

Rappel- Antifongiques

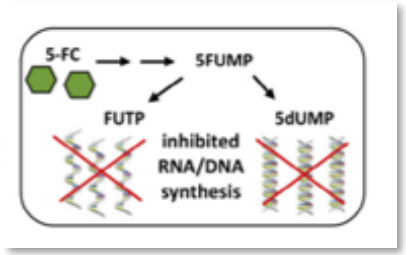
- **4 classes :**
  - 5 FC ou Flucytosine
    - Toujours en association pour limiter les résistances

      → Utilisé dans le traitement des cryptococcoses neuro-méningées





Mécanisme d'action	Cible
Inhibition de la synthèse protéique et de l'ADN	Noyau



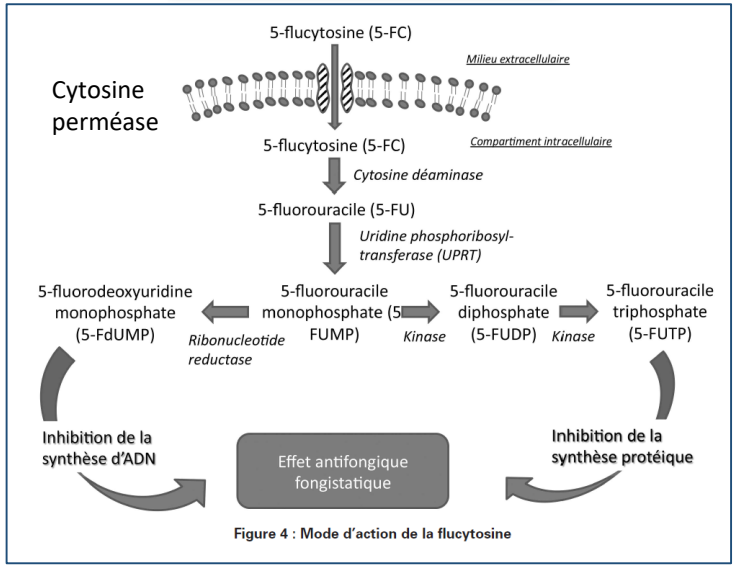


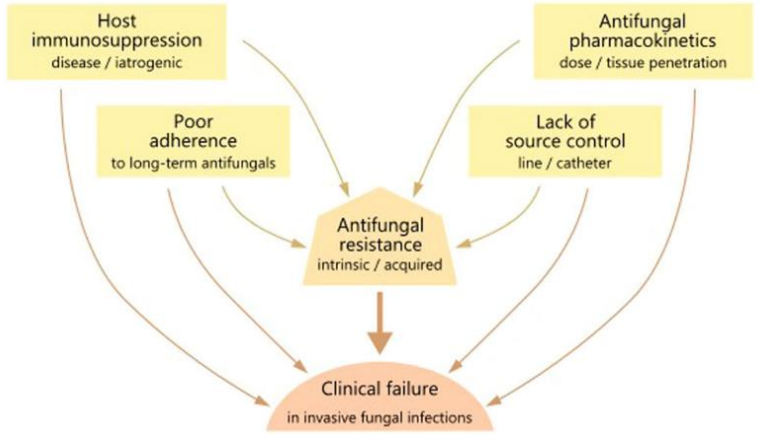
Figure 4 : Mode d'action de la flucytosine

Morio *et al.,* International Journal of Antimicrobial Agents 2017; https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ ; Morio et Le Pape Actualités Permanentes en Microbiologie Clinique 2014 ; Ostrosky-Zeichner *et al*., Nat Rev Drug Discov. 2010

Echec thérapeutique

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

Patient	Champignon	Antifongique
• Mauvaise observance • Site de l'infection • Statut immunitaire	• **Résistance aux antifongiques** • Biofilm	• Interactions médicamenteuses • Posologie • Fongistatique/Fongicide • Pharmacocinétique



Plan

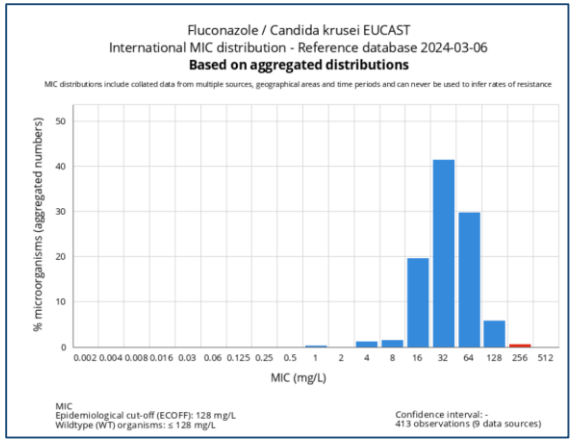
1. • **Quelques rappels (Mycologie Médicale et Antifongiques)**
2. • **Définition de la résistance et détection de la résistance**
3. • **Résistance chez *Candida***
4. • **Résistance chez *Aspergillus***
5. • **Résistance chez les dermatophytes**
6. • **Conclusion**

Définition de la résistance

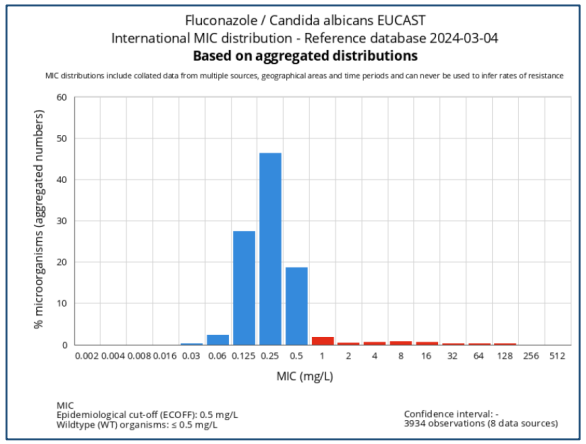
- **Résistance innée**
  - « Résistance primaire »
  - Indépendante de l'exposition aux antifongiques
  - Toutes les souches de la même espèce sont touchées
  - Ex : *Pichia kudriavzevii* et le fluconazole
    (ex: *Candida krusei*)

- **Résistance acquise**
  - « Résistance secondaire »
  - Au départ, souche sensible
  - Puis développement de la résistance liée à l'exposition aux antifongiques, à la plasticité du génome

  → sélection des souches résistantes
  - 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 *P. kudriavzevii*
→Résistance innée au fluconazole



Distribution des CMI au fluconazole pour *C. albicans*

Phénomène dynamique et cumulatif → impact sur la thérapeutique

EUCAST : https://www.eucast.org/ast_of_fungi

Définition de la résistance

Comment détecter la résistance au laboratoire ?

-

-

Définition de la résistance

Comment détecter la résistance au laboratoire ?

-

-

Détection de la résistance

- Différentes méthodes pour détecter la résistance :
  - **Méthode phénotypique** :
    - **Antifongigramme** → détermination CMI → Sensible/ Intermédiaire/ Résistant

      ↳ Détermination du profil de sensibilité *in vitro*

  - **Méthode génotypique** :
    - **Rechercher mutation ponctuelle** → séquençage

      →sur gène impliqué dans la résistance aux antifongiques
      - Ex : gène codant pour des cibles des antifongiques

CMI : concentration minimale inhibitrice

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

      Non utilisées en routine au laboratoire
    - Les méthodes commerciales :
      - Etest®
      - Sensititre™ Yeast One™

      Utilisées en routine au laboratoire

Détection de la résistance

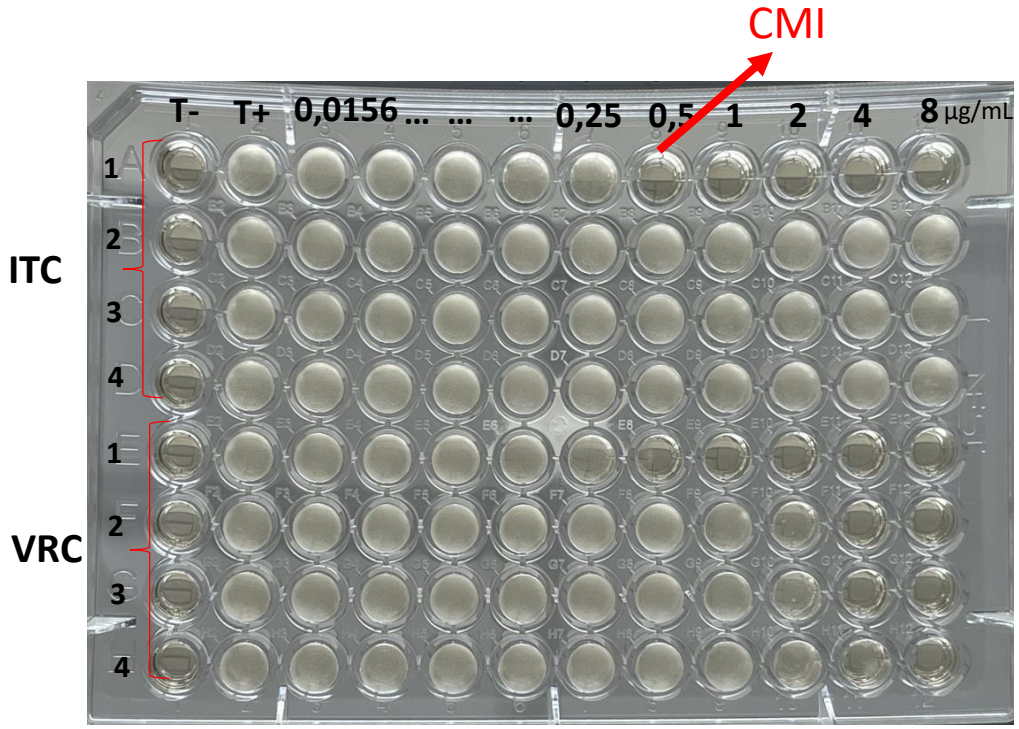
- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques

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)

Non commercialisées

- ❑ Détermination des CMI par microdilution en milieu liquide
- ❑ Longues à réaliser, non adaptées pour la routine
- ❑ Utilisées en recherche et pour l'épidémiologie



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 :
      - **Sensititre™ Yeast One™** → microdilution en milieu liquide → méthode colorimétrique → lecture visuelle

Plus facile à réaliser, technique commercialisée et standardisée

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

Utilisé en routine au laboratoire

Collection personnelle

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

https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/YO9

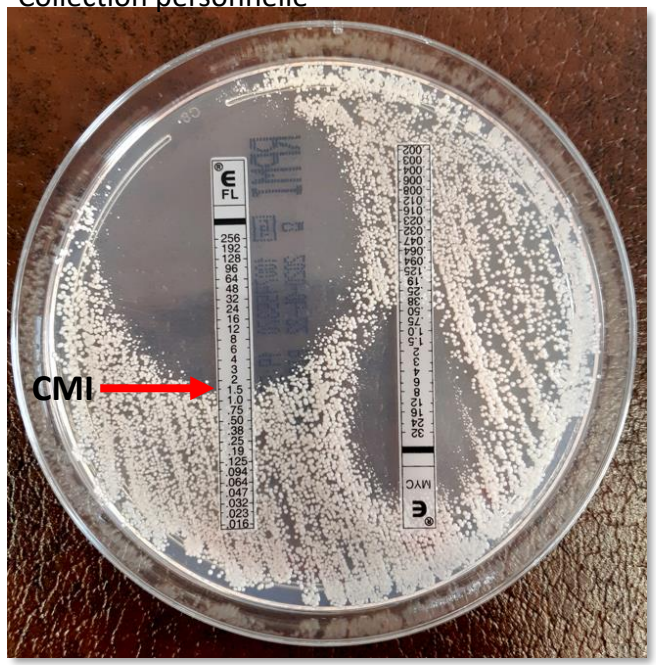
Détection de la résistance

- 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, technique commercialisée et 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 ®

Définition de la résistance

Quand réaliser un antifongigramme ?

-

-

-

-

Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques

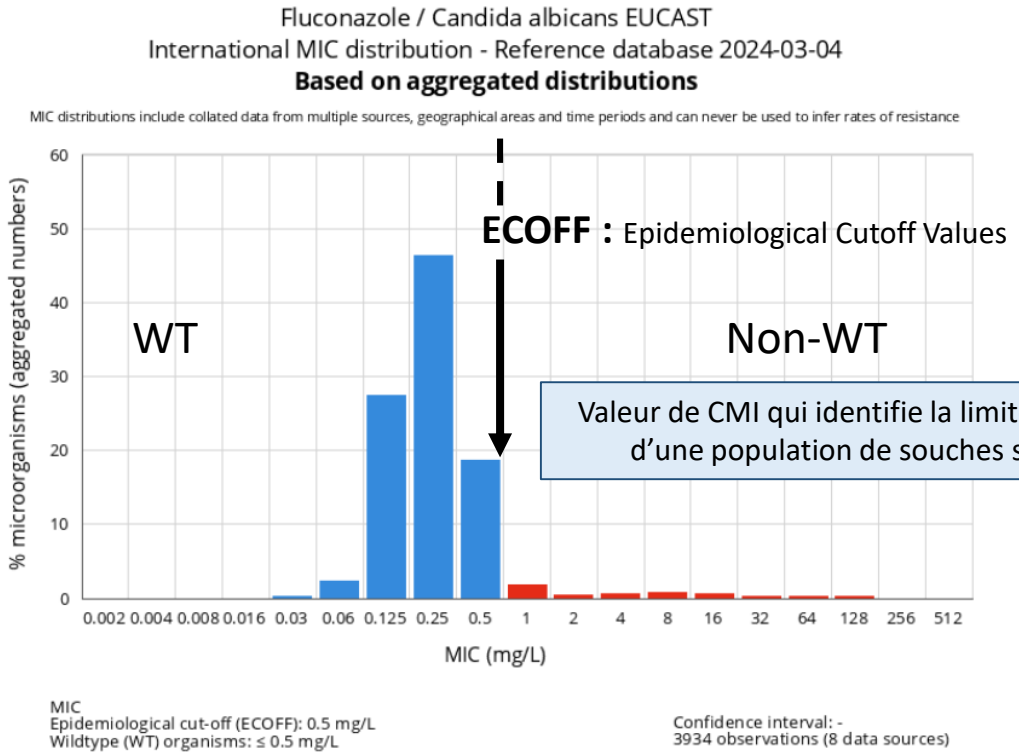
  ➡ Quand réaliser un antifongigramme ?

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

  + certaines situations particulières

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…)

Valeur de CMI qui identifie la limite supérieure d'une population de souches sauvages

***Candida* and *Cryptococcus* spp.**

MIC method (EUCAST standardised broth microdilution method)
Medium: RPMI1640-2% glucose, MOPS buffer
Inoculum: Final $0.5x10^5$ – $2.5x10^5$ 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)												
	Candida albicans			*Candida dubliniensis*		*Candida glabrata*		*Candida krusei*		*Candida parapsilosis*		*Candida tropicalis*	
	S ≤	R >	ATU	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >
Amphotericin B	1	1		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		2	4	0.001[4]	16	-	-	2	4	2	4
Isavuconazole	IE	IE		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	0.125	0.125
Micafungin	0.016	0.016	0.03			0.03	0.03	IE[5]	IE[5]	2	2	IE[5]	IE[5]
Posaconazole	0.06	0.06		0.06	0.06	IE[2]	IE[2]	IE[2]	IE[2]	0.06	0.06	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]	0.125[7]	0.25[7]

Analyse de la distribution des CMI pour chaque espèce
- ❑ Détermination de l'ECOFF par méthode statistique

Seuil d'interprétation clinique = CB

EUCAST : https://www.eucast.org/ast_of_fungi ; Kahlmeter *et al.,* Clin Microbiol Rev. 2023 ; Dannaoui, Journal de Mycologie Médicale 2013

Détection de la résistance

- Test de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques

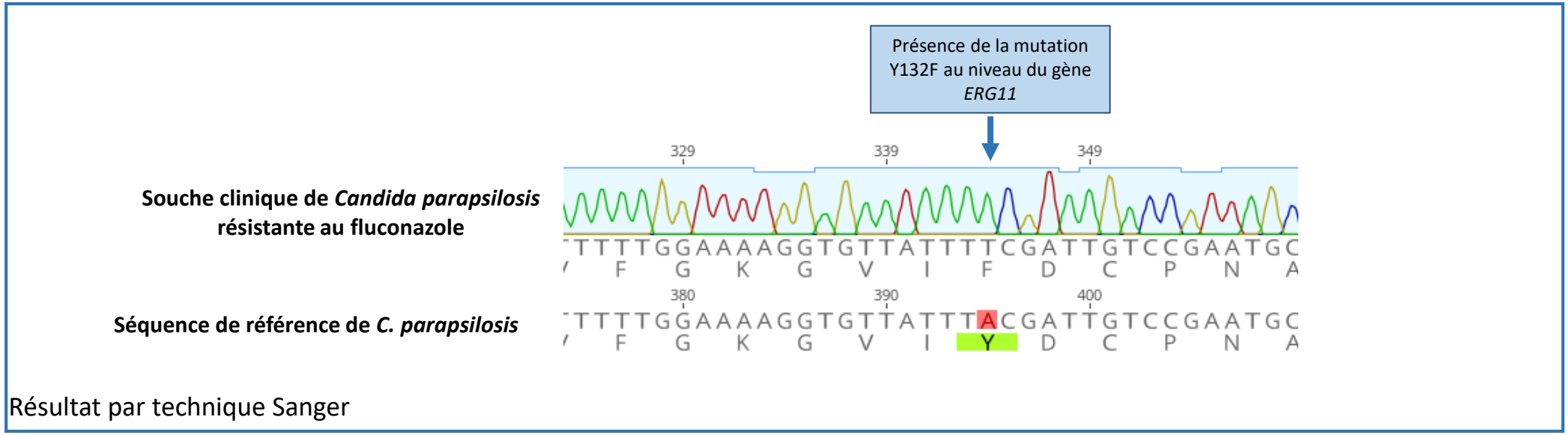
  ➡ **Toutes les souches n'ont pas le même profil de sensibilité *in vitro***

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**
Candida albicans (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
C. dubliniensis (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
C. glabrata (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
C. nivariensis (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
C. parapsilosis (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
C. orthopsilosis (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
C. metapsilosis (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
C. tropicalis (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
Pichia kudriavzevii (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
P. cactophila (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
Kluyveromyces marxianus (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
Meyerozyma guilliermondii (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
M. caribbica (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
Clavispora lusitaniae (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
C. haemulonii (n=50)	0.5/2	≤0.12/0.5	32/≥64	≥8/≥8	2/≥8	0.03/0.06	0.06/0.06
C. duobushaemulonii (n=47)	2/8	≤0.12/≥64	32/≥64	≥8/≥8	2/≥8	0.015/0.03	0.03/0.06
C. auris (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 …)

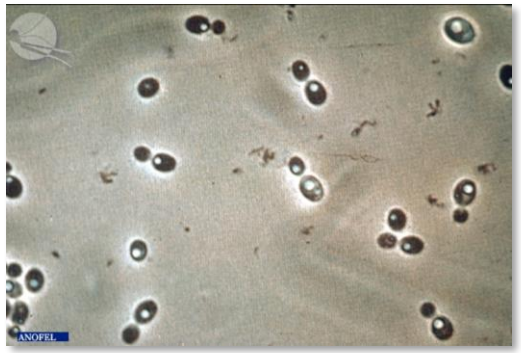


Résultat par technique Sanger

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

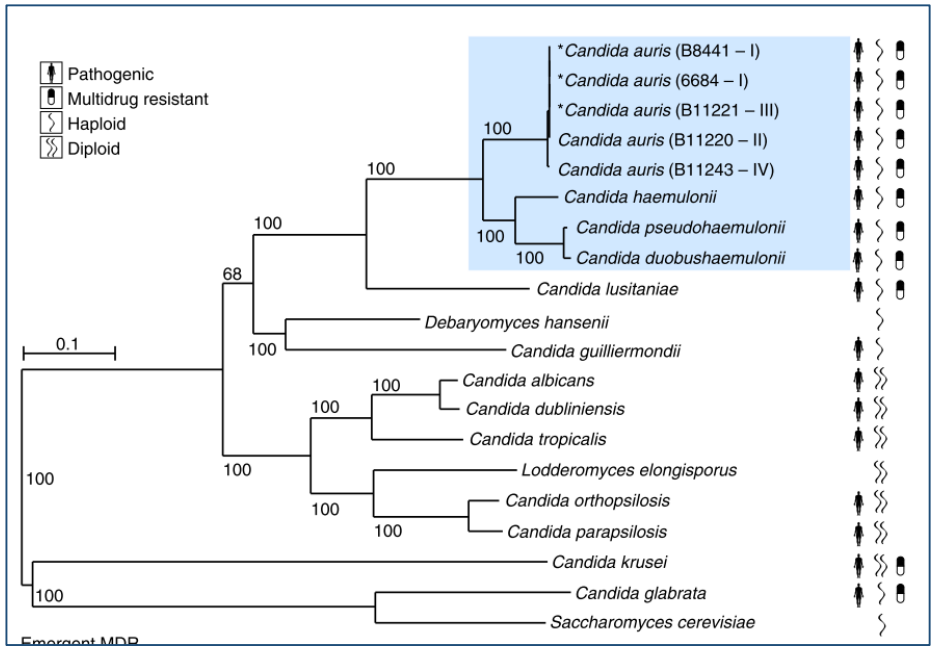
Epidémiologie-*Candida*

- 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 intra-abdominal candidiasis

- Différentes espèces de *Candida*
- Génome haploïde ou génome diploïde en fonction des espèces
- Existence d'espèces → souche Multidrug résistante (MDR)

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



Muñoz *et al.,* Nat Commun. 2018 ; Arendrup. J Infect Dis. 2017 ; Bongomin *et al.*, J Fungi (Basel). 2017

Epidémiologie-*Candida*

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

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

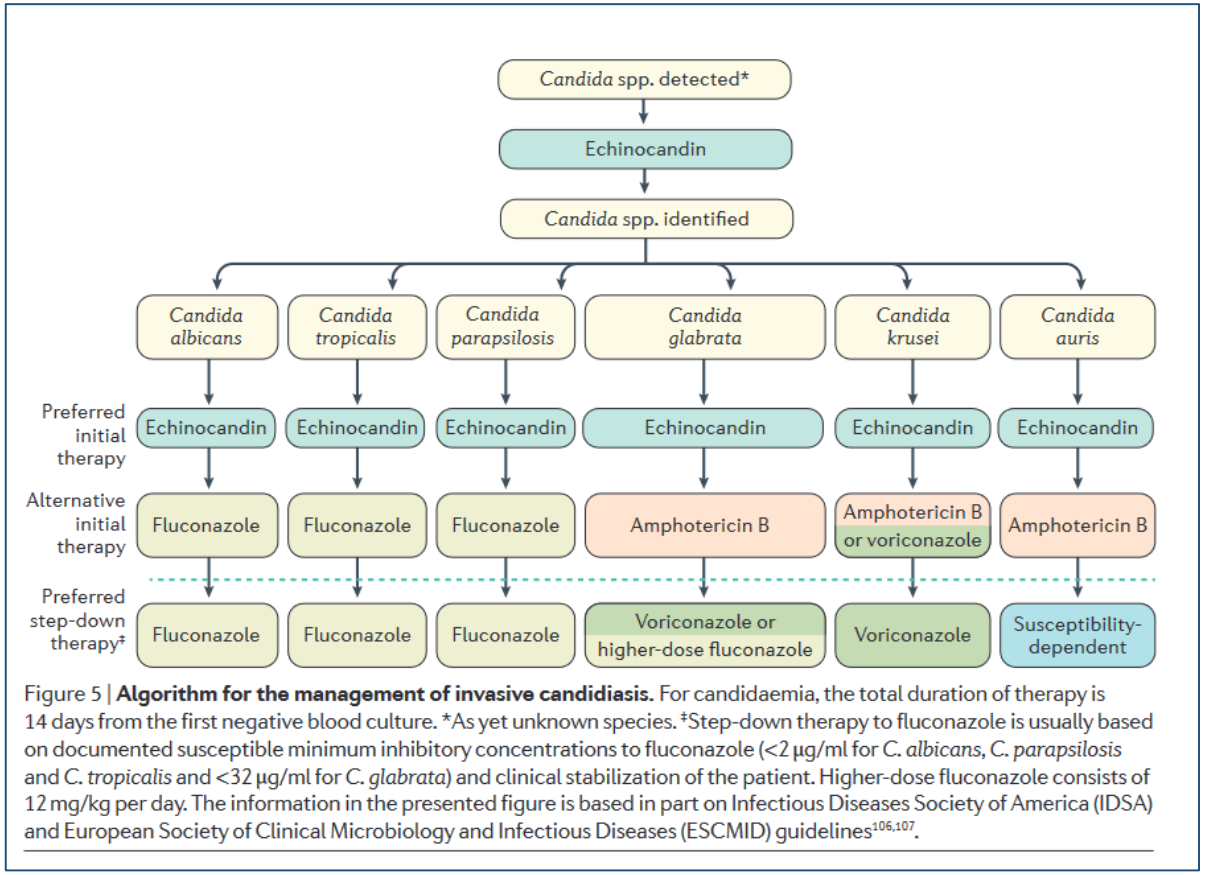


Figure 5 | **Algorithm for the management of invasive candidiasis.** For candidaemia, the total duration of therapy is 14 days from the first negative blood culture. *As yet unknown species. ‡Step-down therapy to fluconazole is usually based on documented susceptible minimum inhibitory concentrations to fluconazole (<2 µg/ml for *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis* and <32 µg/ml for *C. glabrata*) and clinical stabilization of the patient. Higher-dose fluconazole consists of 12 mg/kg per day. The information in the presented figure is based in part on Infectious Diseases Society of America (IDSA) and European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines[106,107].

Pappas *et al.*, Nat Rev Dis Primers. 2018

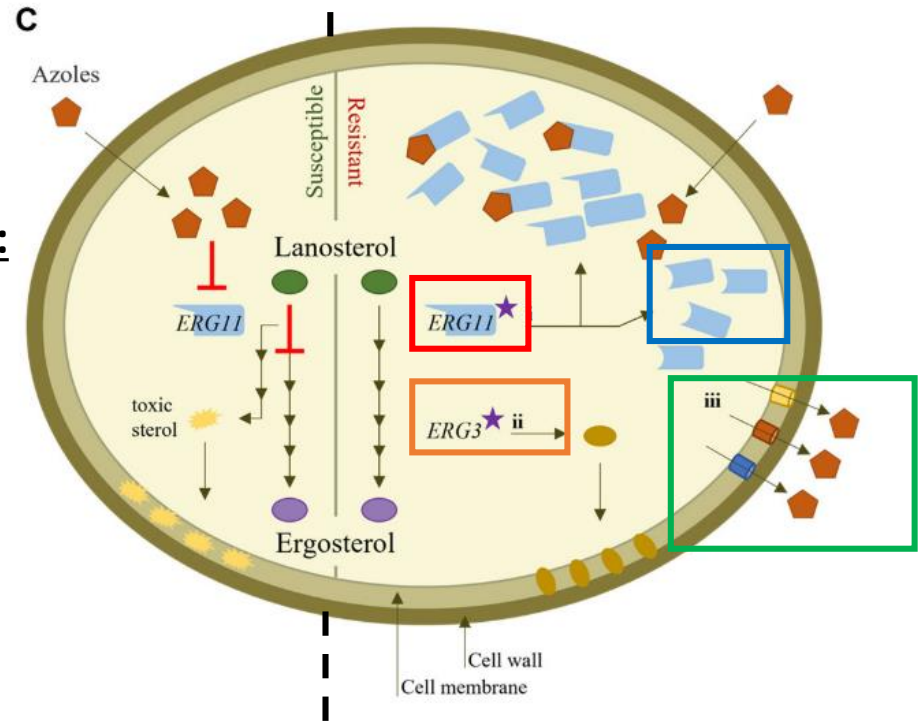
Les différents mécanismes de résistance aux antifongiques chez *Candida*

Mécanismes de résistance aux azolés

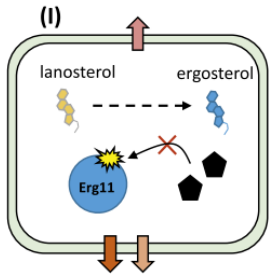
- Différents mécanismes de résistance aux antifongiques azolés :

<u>Cible des antifongiques azolés :</u>
Lanostérol 14 α déméthylase (gène *ERG11*) ⟶ enzyme impliquée dans la voie de biosynthèse de l'ergostérol

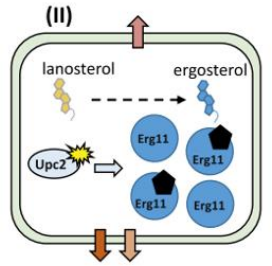
Souche sensible | Souche résistante

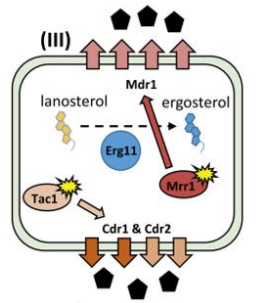


Modification de la cible *(ERG11)* ⟶ Mutation



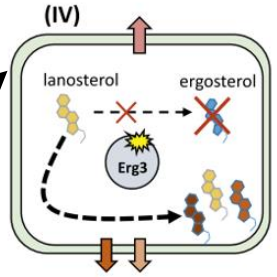
Surexpression de la cible





Surexpression des transporteurs d'efflux

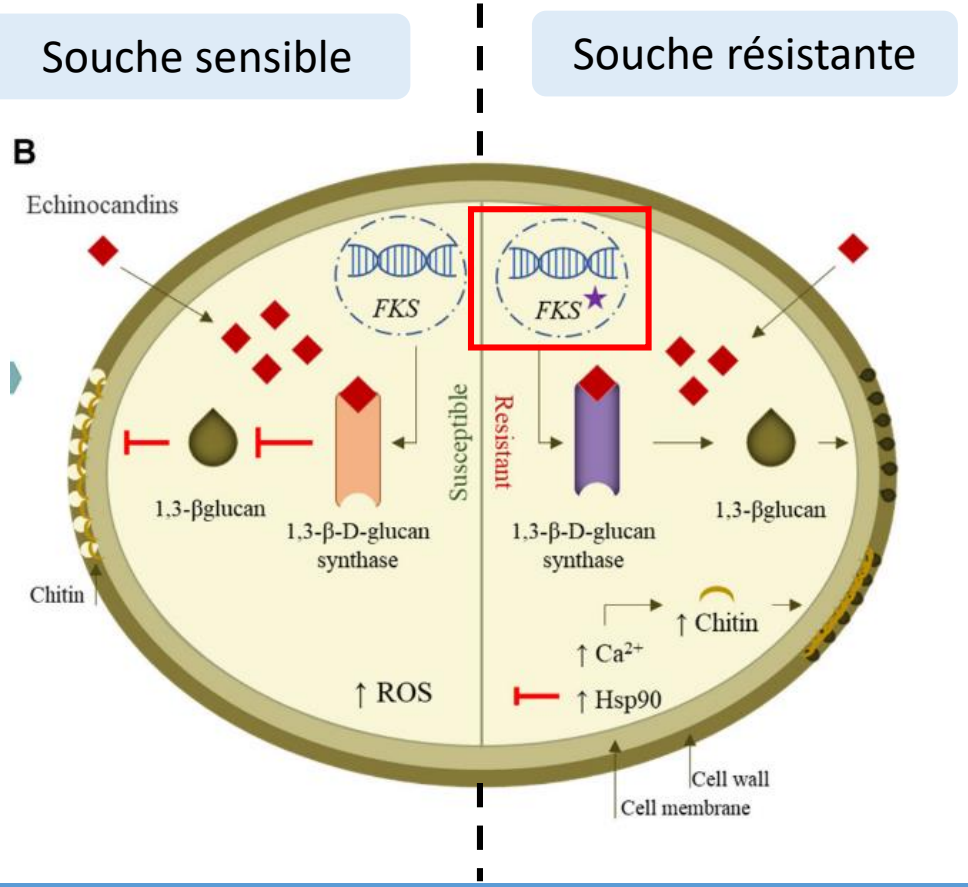
Déviation de la voie de la biosynthèse de l'ergostérol (ex : *ERG3*)

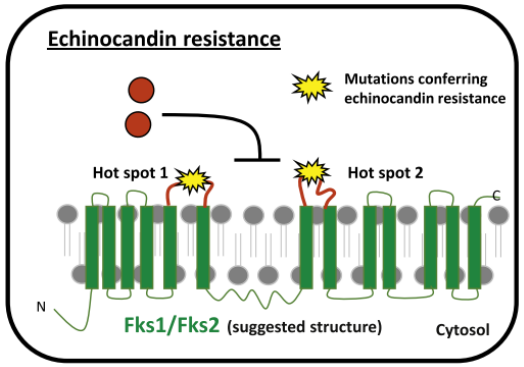


Mécanisme de résistance aux échinocandines

- Mécanisme de résistance aux échinocandines :

Cible des échinocandines :
ß-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	Fks1			
	EUCAST	Hotspot 1		Hotspot 2	
	ECOFF				
	(mg/L)	1st AA no.	AA sequence	1st AA no.	AA sequence
C. albicans	0.03	641	FLTLSLRDP	1357	DWIRRYTL
C. auris	NA	635	FLTLSLRDP	1350	DWIRRYTL
C. dubliniensis	0.03	641	FLTLSLRDP	1357	DWIRRYTL
C. glabrata[a]	0.06	625	FLILSLRDP	1340	DWVRRYTL
C. kefyr	(0.03)	651	FLTLSLRDP	1366	DWVRRYTL

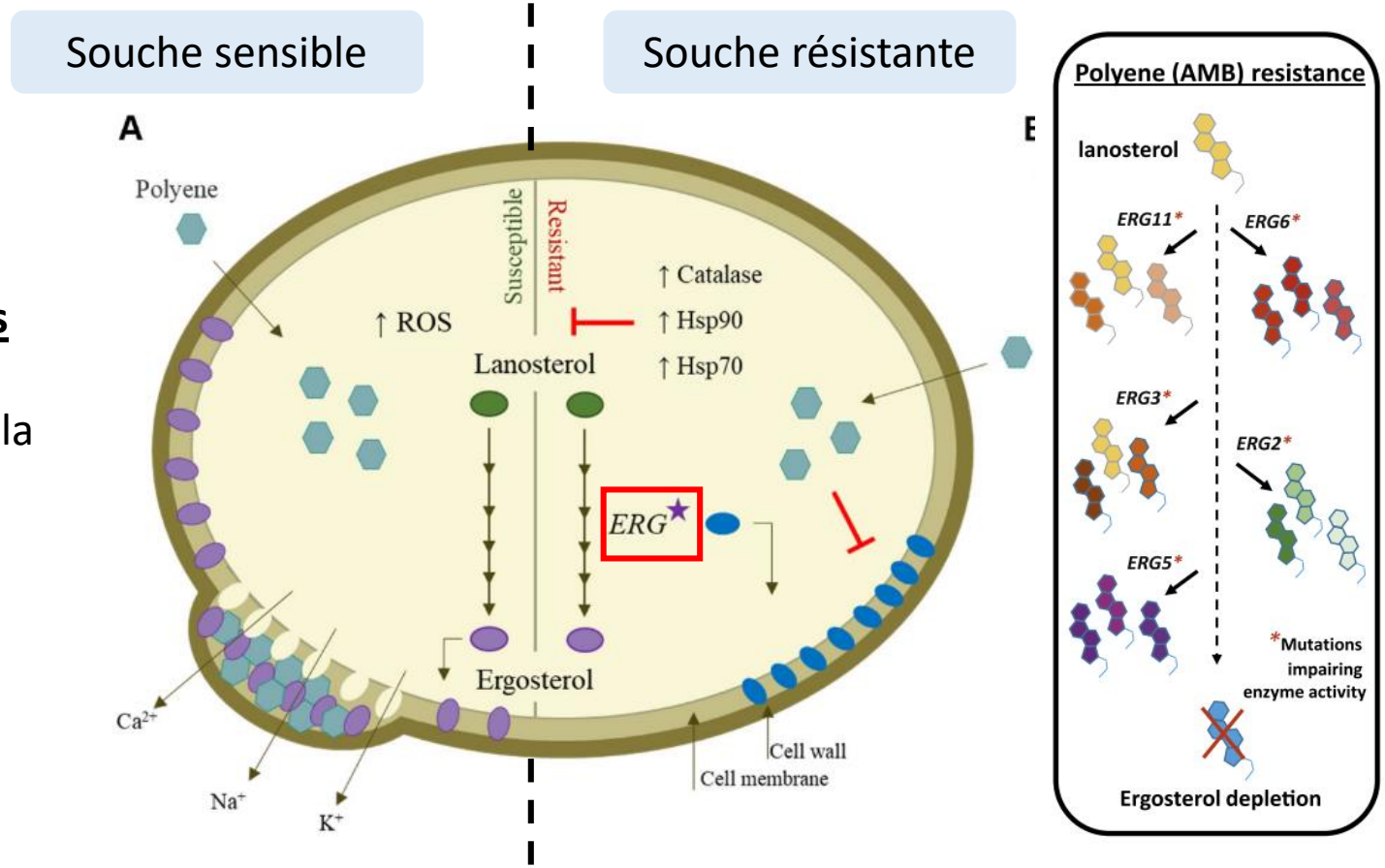
Branco *et al.,* Journal of Fungi 2023 ; Morio *et al.,* International Journal of Antimicrobial Agents 2017 ; Rogers, et al., JAC 2022

Mécanisme de résistance aux polyènes

- Mécanisme 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

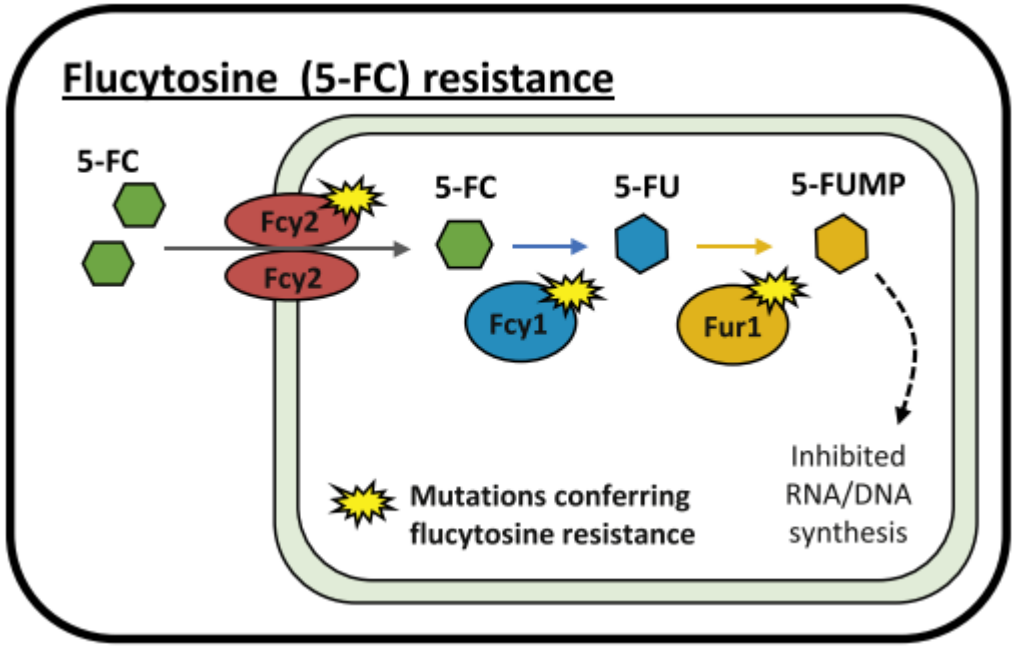
Rare

Branco *et al.*, Journal of Fungi 2023 ; Morio *et al.*, International Journal of Antimicrobial Agents 2017

Mécanismes de résistance à la 5-FC

- Différents mécanismes de résistance à la 5-FC :

<u>Mécanisme d'action de la Flucytosine :</u>
Inhibition de la synthèse protéique et de l'ADN



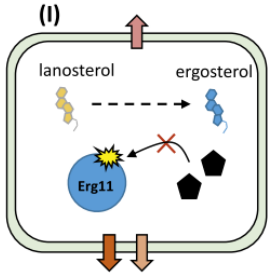
Mutations

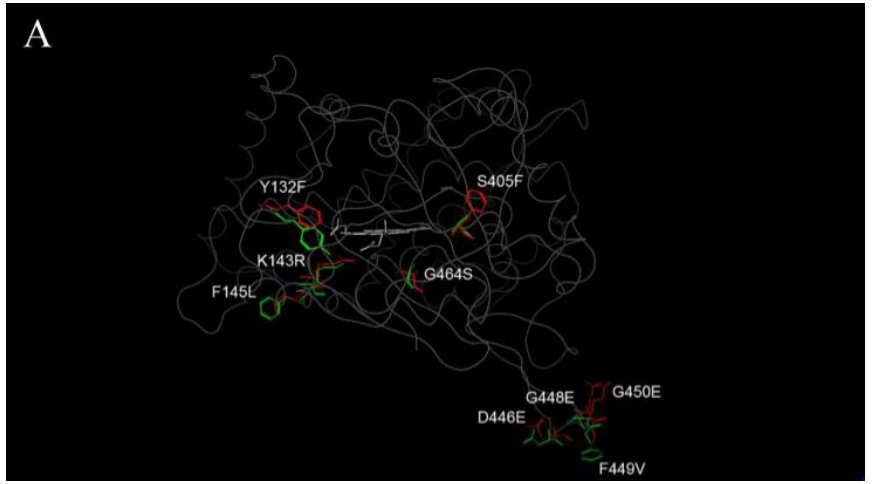
- ❑ Modification du gène codant pour le transport de la molécule dans la cellule fongique (FCY2)
- ❑ Modification du gène codant pour des enzymes permettant à la molécule d'être active (FCY1 et FUR1)

Chez *Candida albicans*

Résistance-*Candida albicans*

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



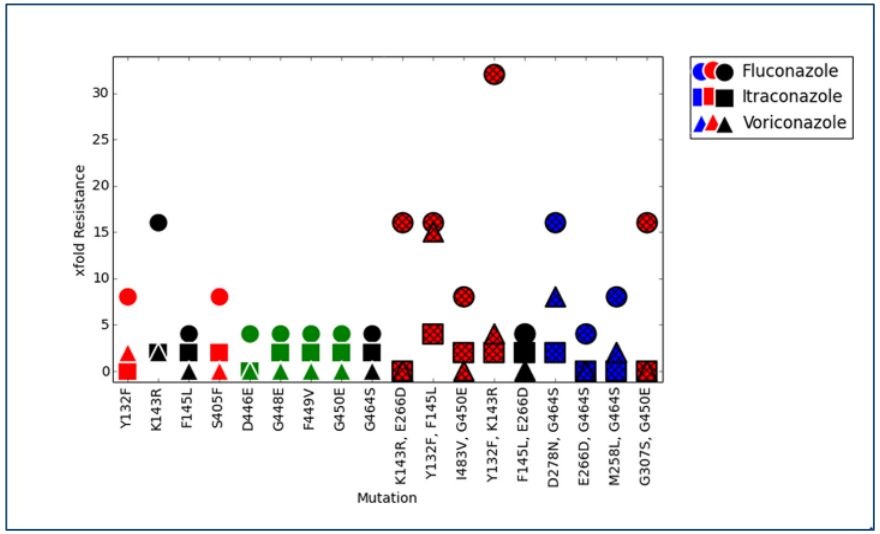


Modélisation des mutations sur *ERG11*

Amino Acid Position

Species	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
Candida albicans	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
Candida tropicalis	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
Saccharomyces cerevisiae	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
Candida glabrata	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
Candida krusei	.	A	F	Y	K	F	E	T	Y	L	N	D	N	G	L	S	I	D	Y	G	F	G	G	T	.	.
Human (*Homo sapiens*)	C	A	F	Y	K	M	A	S	F	Y	Q	L	D	A	C	S	.	.	.	.	.	.	G	I	I	L
Mycobacterium tuberculosis	.	Q	F	F	N	L	E	D	V	A	A	D	A	A	A	S	.	.	.	.	.	.	G	V	I	L
Wheat (*Triticum aestivum*)	.	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		
																					V					
																					Y					

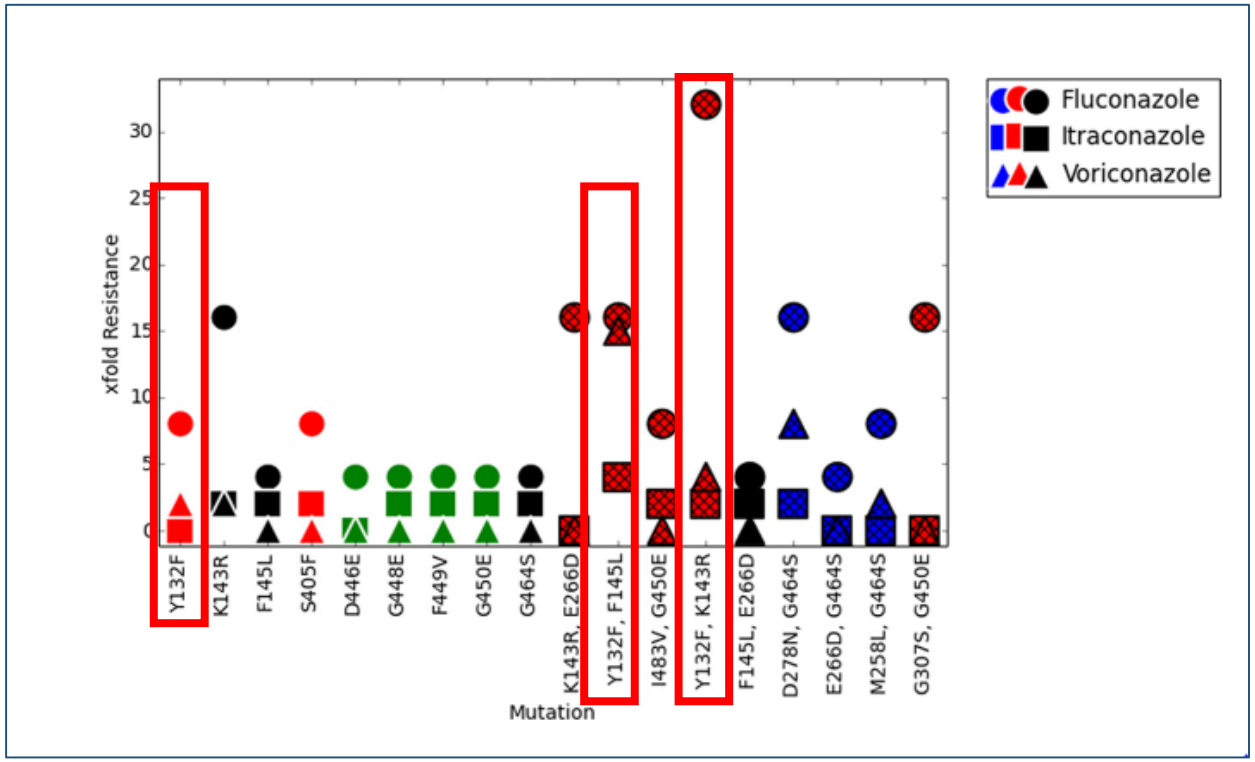
Reference

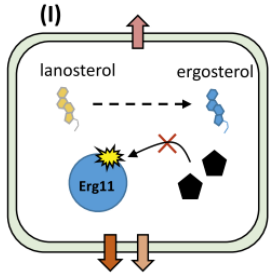


Génération de mutants avec différentes mutations décrites chez des souches de *C. albicans* résistantes au fluconazole → profil de sensibilité *in vitro* différent en fonction des mutations et de la combinaison de mutations

Résistance-*Candida albicans*

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



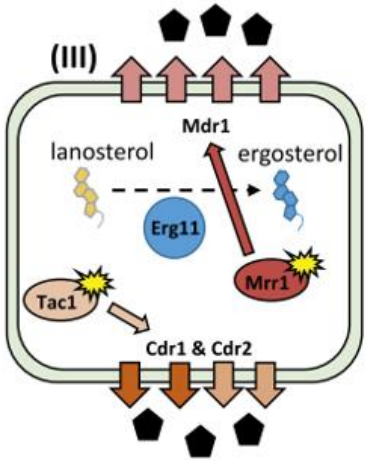


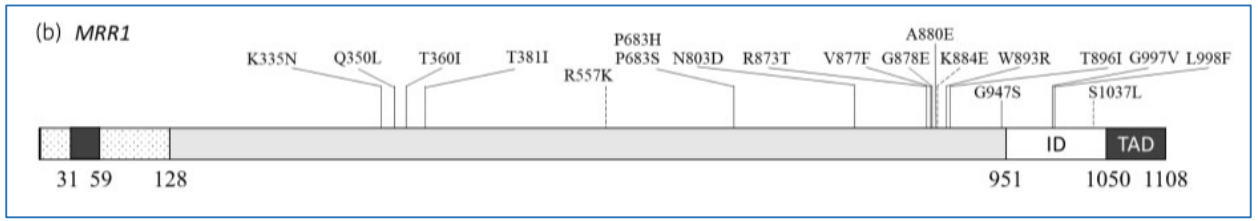
Génération de mutants avec différentes mutations décrites chez des souches de *C. albicans* résistantes au fluconazole → profil de sensibilité *in vitro* différent en fonction des mutations et de la combinaison de mutations

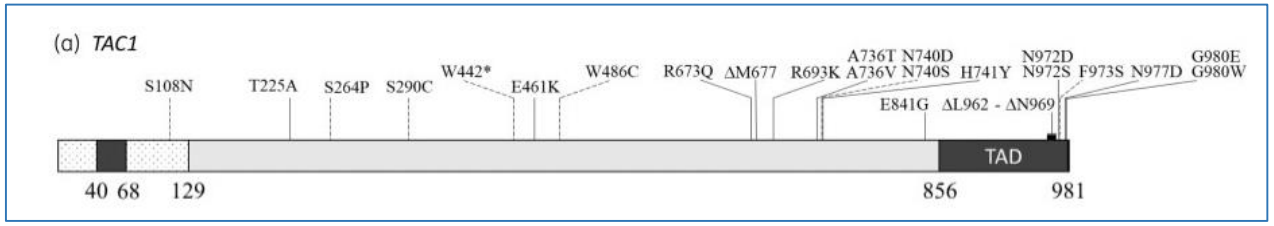
Flowers *et al.*, AAC 2015

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





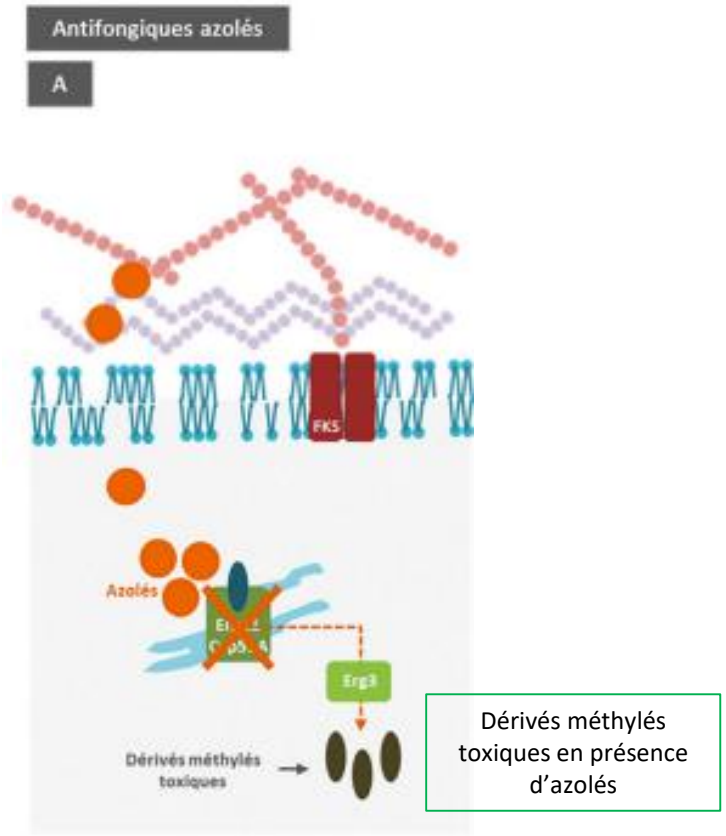


Surexpression de Mdr1
→ Famille des transporteurs MFS (Major Facilitator Superfamily)
→ Efflux spécifique du fluconazole
→ Mutations « gain de fonction » au niveau de **Mrr1** (Facteur de transcription de Mdr1)

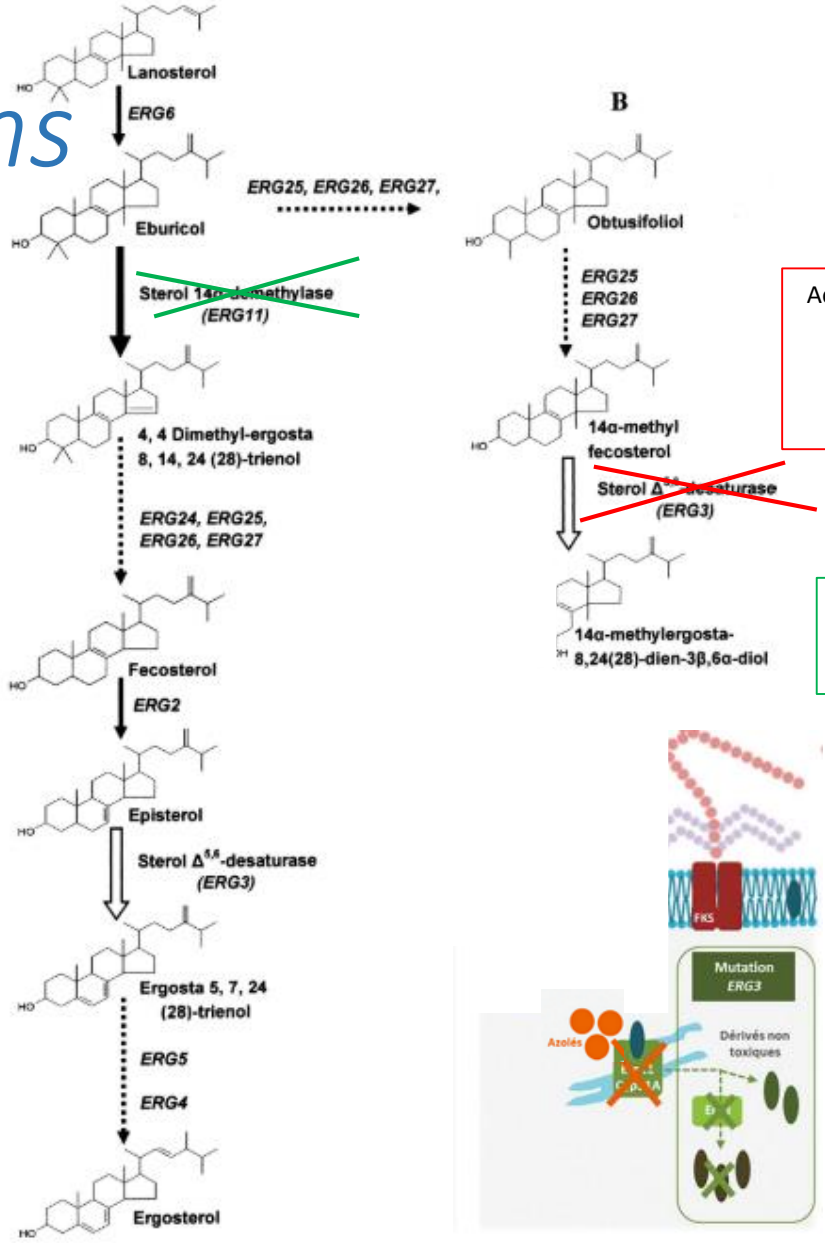
Surexpression de Cdr1 et Cdr2
→ Famille des transporteurs ABC (ATP Binding Cassette)
→ Mutations « gain de fonction » au niveau de **Tac1** (Facteur de transcription de Cdr1 et Cdr2)

Résistance-*Candida albicans*

- Déviation de la voie de biosynthèse de l'ergostérol



Dérivés méthylés toxiques en présence d'azolés

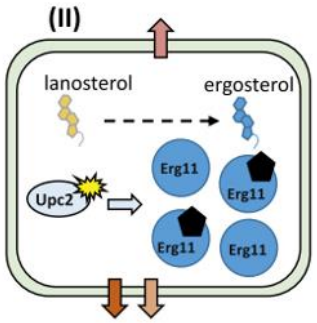


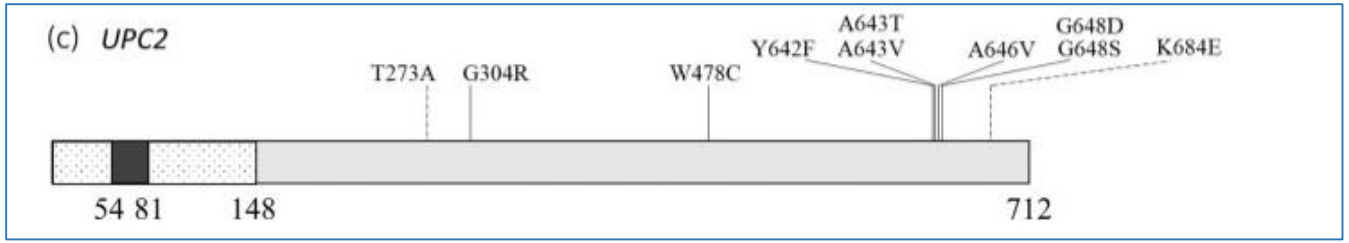
Accumulation de dérivés non toxiques en présence d'azolés et mutation *ERG3* → résistance

Dérivés méthylés toxiques en présence d'azolés

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 de résistance chez un même isolat

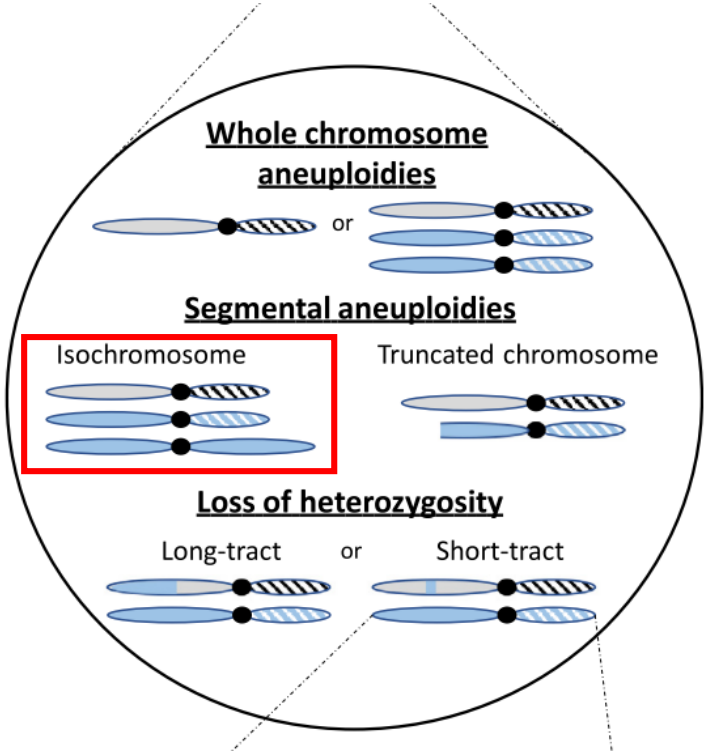
Table 4
Amino acid substitutions in the transcription factors Tac1p, Mrr1p, Upc2p and in Erg11p.[a]

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, S264P, N396S, D776N, E829Q, N896S, S941P	L248V[h],V341E[h], E1020Q	I142S[h], A451V[h]
CAAL37	E266D, **G464S**, V456I[h], V488I	L47K, S199N, R206H, V207A, D776N, E829Q, **E841G**, N896S, S941P	N937K, E1020Q, F1032L	R68K[h], I142S[h], S190N[h], S228N[h]
CAAL61	**G307S**, **Y447H**	L47K, K87N[h], M170I[h], N174D[h], F189S[h], S199N[h], R206H[h], V207A[h], A377V[h], N396S[h], N772K[h], D776N[h], E829Q[h], S941P[h]	K884E	I142S, **G648S**
CAAL67	**G450E**	L47K, K87N[h], F104V[h], M170I[h], N174D[h], F189S[h], S199N, R206H, V207A, **T225A**[h], N396S, W442stop[h], I558V[h], N772K[h], D776N, E829Q, N896S[h], S941P	N937K, E1020Q, F1032L, S1037L	I142S[h]
CAAL74	**Y132F**, E266D, **G448V**, V488I	L47K, F104V[h], S199N[h], R206H[h], V207A[h], N396S[h], D776N[h], E829Q[h], N896S[h], S941P[h]	S171P, R557K, E1020Q	R68K[h], I142S, S228N[h], T273A[h], **G648S**[h], K684E[h]
CAAL75	D116E, **Y132H**, **K143R**	L47K, F104V, S199N, R206H, V207A, N396S, W486C, D776N, E829Q, N896S, S941P, **G980W**[h]	S171P, E1020Q	R68K [h], I142S [h], S228N [h], T273A [h]

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 (aneuploïdie) ⟶ 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

Schéma adapté de Legrand *et al.,* Trends Genet. 2019 ; Selmecki *et al.*, Eukaryot Cell. 2010 ; Selmecki *et al.*, *Science* 2006

Chez *Candida parapsilosis*

Candida parapsilosis

Collection personnelle

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

Epidémiologie de *Candida parapsilosis*

Répartition mondiale

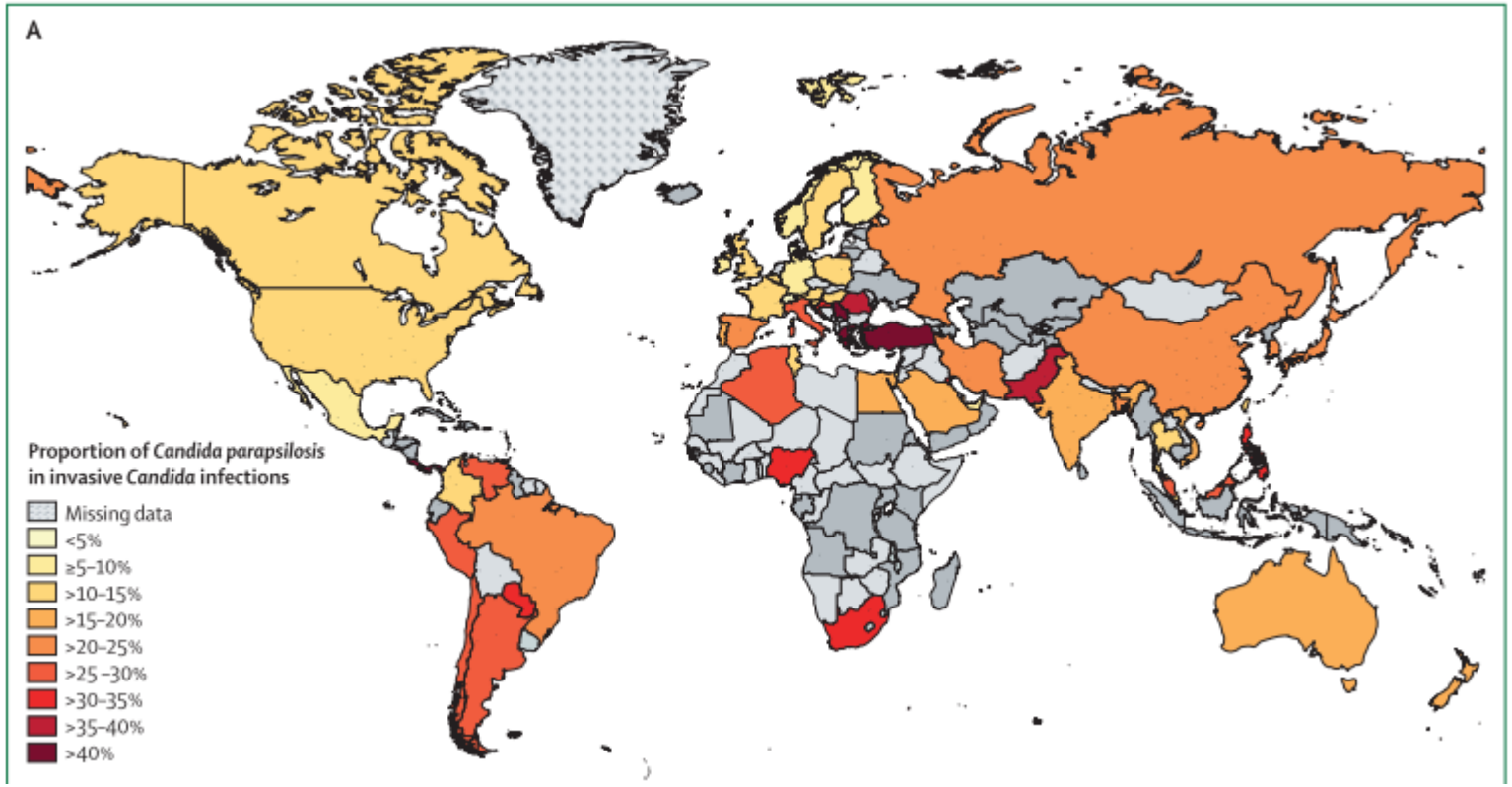


Figure 1: Burden and epidemiology of C parapsilosis worldwide.

Candida parapsilosis

Collection personnelle

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

2021 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 Raoelina,[a] Dimitri Kornblum,[a] Laure Kamus,[a] Renaud Piarroux,[a,d] Sébastien Imbert[a,b]

Butler *et al.,* Nature 2009 ; Tóth *et al.,* Clin Microbiol Rev 2019

2021 American Society for Microbiology | Antimicrobial Agents and Chemotherapy®

Candida parapsilosis

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 Raoelina,[a] Dimitri Kornblum,[a] Laure Kamus,[a] Renaud Piarroux,[a,d] Sébastien Imbert[a,b]

- 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 *in vitro* au fluconazole (Etest puis confirmé par EUCAST)
- ✓ Séquençage gène *ERG11*
- ✓ Génotypage

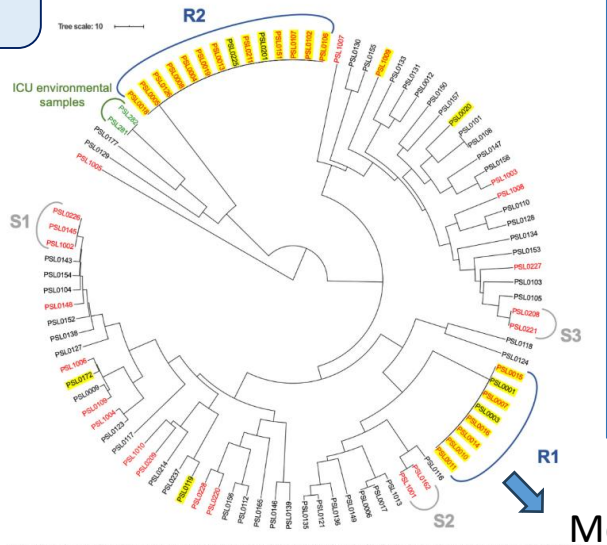


FIG 1 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) dendrogram of 93 *Candida parapsilosis* isolates typed by microsatellite approach. Fluconazole-resistant isolates ($n = 26$) are highlighted in yellow. Isolates from a single intensive care unit are in red. R1 and R2 represent 2 clusters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

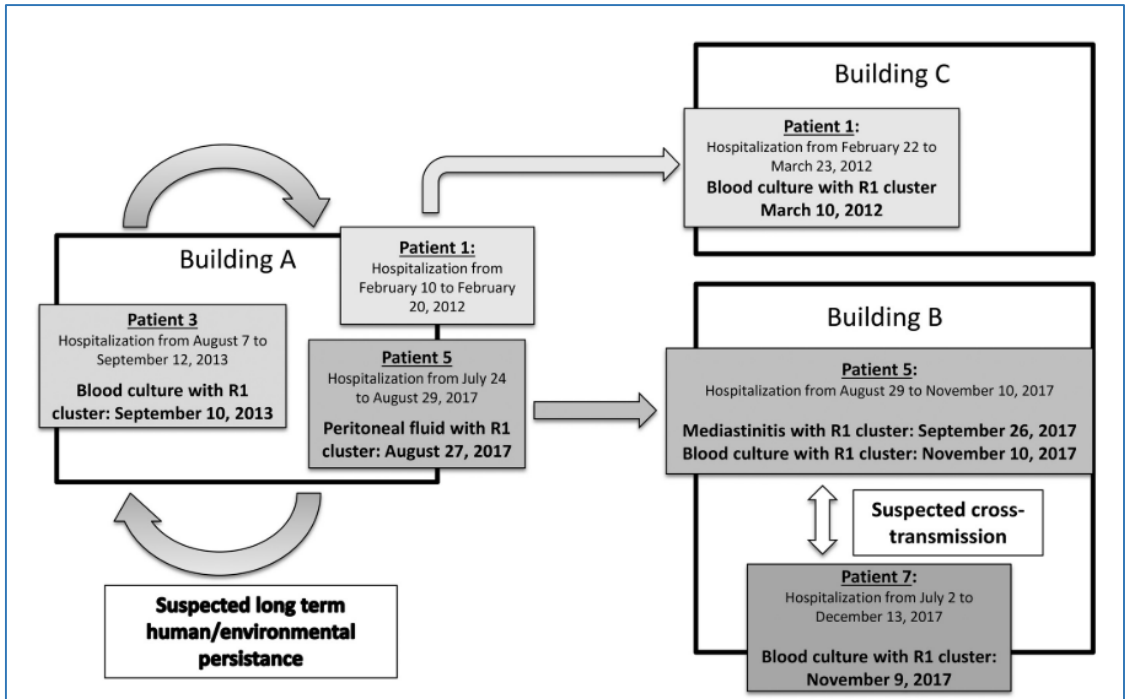


FIG 2 Spatial and temporal circulation of *Candida parapsilosis* fluconazole-resistant isolates belonging to a single cluster (R1) among patients with invasive candidiasis hosted in different buildings of a single hospital between 2012 and 2017.

Enquête sur la circulation des isolats résistants

Même clone → 6 isolats résistants

Butler *et al.*, Nature 2009 ; Tóth *et al.*, Clin Microbiol Rev 2019

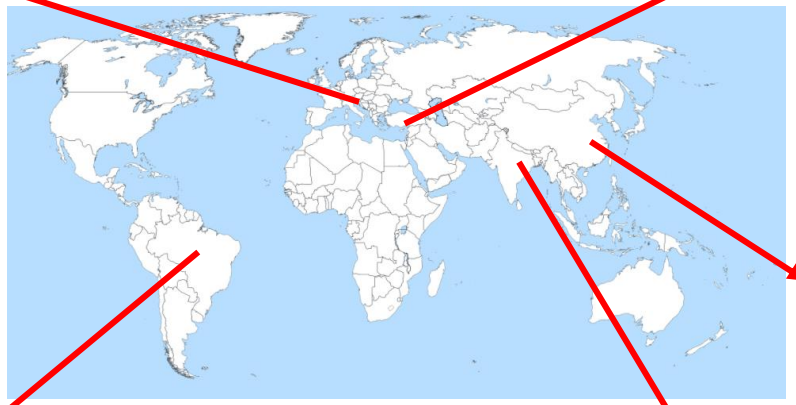
Un phénomène mondial

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 Martini[1], Riccardo Torelli[2], Theun de Groot[3], Elena De Carolis[2], Grazia Angela Morandotti[2], Giulia De Angelis[1], Brunella Posteraro[1,4], Jacques F. Meis[3,5,6] and Maurizio Sanguinetti[1,2]*

Et bien d'autres ….



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 Hafez[4], Wenjie Fang[3†], Wanqing Liao[3], 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[1]†, Zheng-Yu Luo[1,2,3], Shu-Ying Yu[1,3], Ge Zhang[1,3], Ya-Ning Mei[5], Yu-Lan Lin[6], Chao-Lu Hasi[7], Sharon C.-A. Chen[8], Fan-Rong Kong[8], 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 Thomaz[1], João Nobrega de Almeida Jr.[1,2], Glaucia Moreira Espindola Lima[3], Maina de Oliveira Nunes[3], Carlos Henrique Camargo[4], Rafaella de Carvalho Grenfell[5], Gil Benard[1] 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 Singh[1], Pradeep K. Singh[1], Theun de Groot[2], Anil Kumar[3], Purva Mathur[4], Bansidhar Tarai[5], Neelam Sachdeva[6], Gargi Upadhyaya[1], Smita Sarma[7], Jacques F. Meis[2,8] and Anuradha Chowdhary[1]*

Candida parapsilosis et résistance

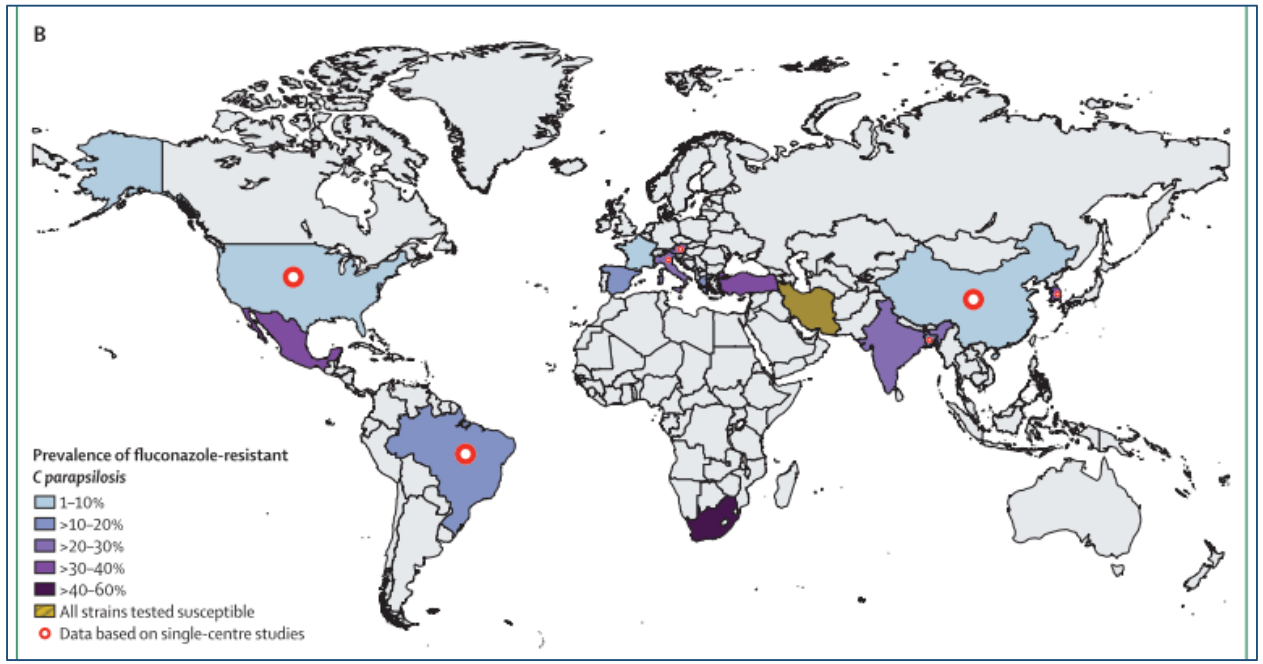


FIGURE 1
Map indicating the countries in which fluconazole-resistant *C. parapsilosis* isolates harbouring the Y132F ERG11p substitution were reported (depicted in red) alongside the year of detection of the first isolate.

Répartition mondiale

Daneshnia *et al.,* The Lancet Microbe 2023 ; Escribano *et al.,* Frontiers in Fungal Biology 2022

Candida parapsilosis et résistance

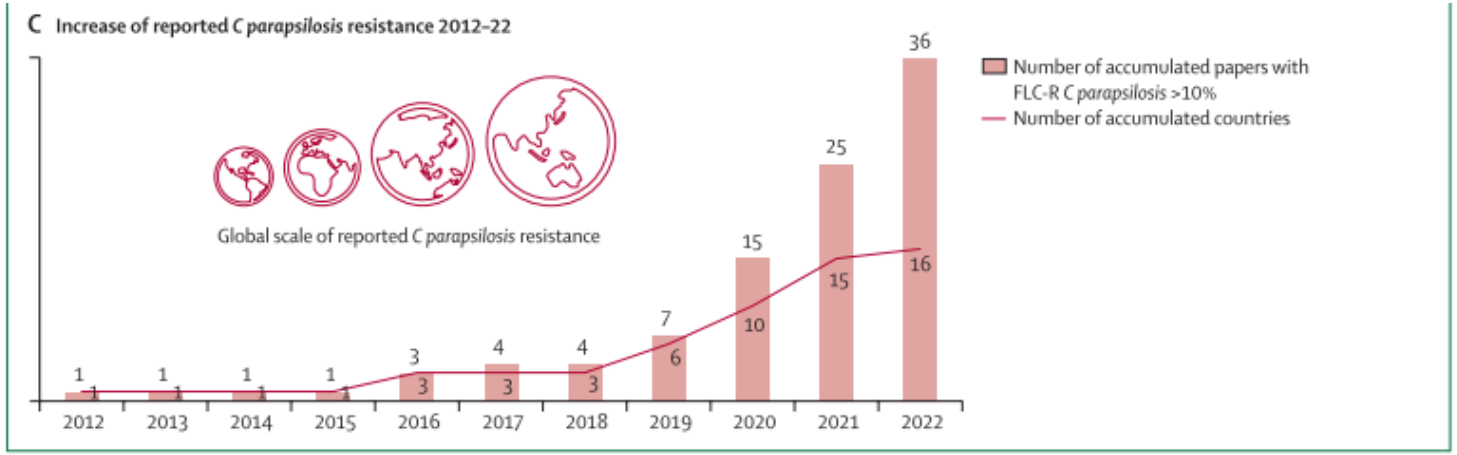
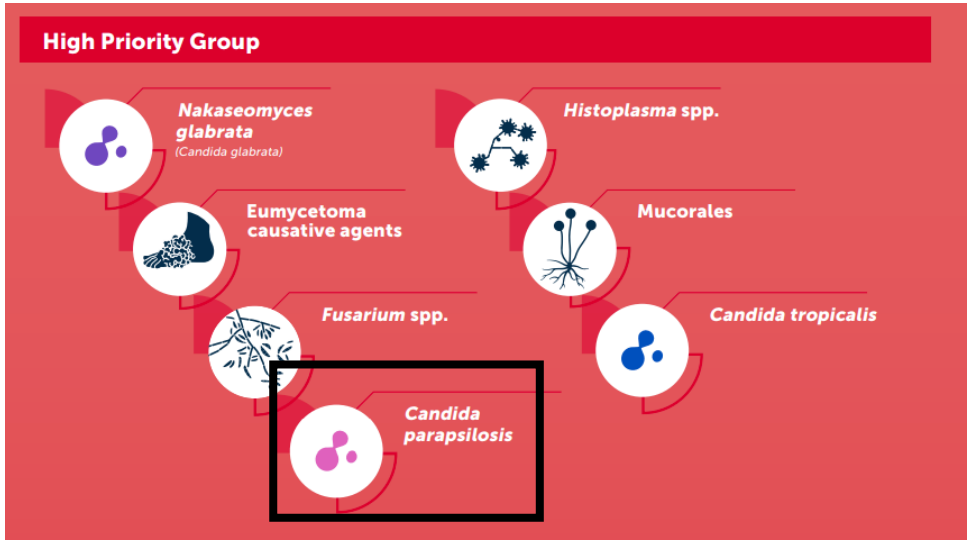


Figure 1: Burden and epidemiology of C parapsilosis worldwide.

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

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

World Health Organization



Daneshnia *et al.*, The Lancet Microbe 2023

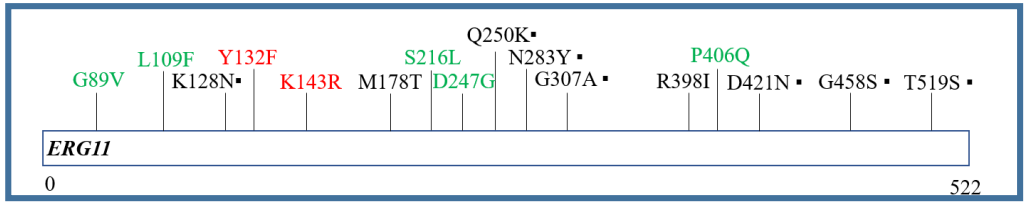
Résistance aux antifongiques : état des lieux

- **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 mémoire de 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*

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Gene editing in clinical isolates of *Candida parapsilosis* using CRISPR/Cas9

Lisa Lombardi, Siobhán A. Turner, Fang Zhao & Geraldine Butler

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY | mSphere®

Plasmid-Based CRISPR-Cas9 Gene Editing in Multiple *Candida* Species

Lisa Lombardi,[a] João Oliveira-Pacheco,[a] Geraldine Butler[a]

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)

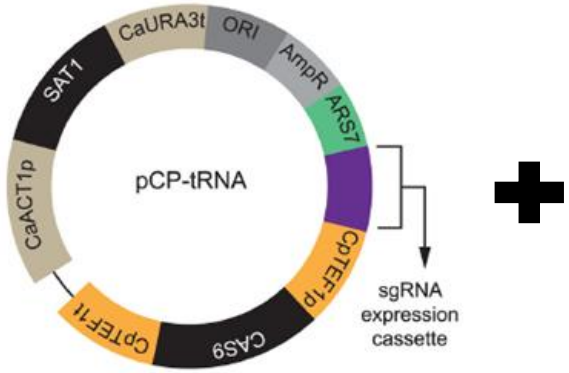
➡ Constitution d'une librairie de mutants

Gènes et mutations sélectionnées

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

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

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



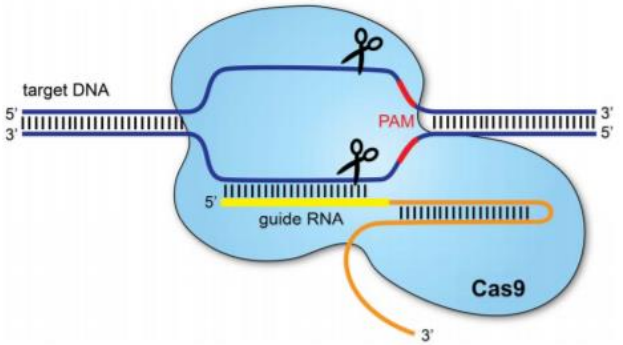
Plasmide pCP-tRNA

Transformation chez *E. coli* DH5α

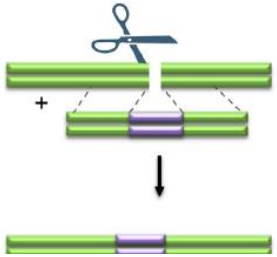
ADN donneur
(Repair template)

Génération par PCR

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



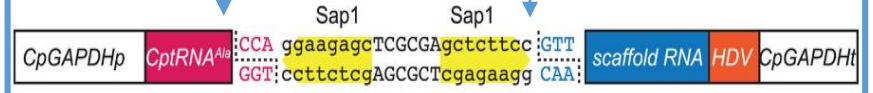
Recombinaison homologue



Plasmide non intégratif contenant :

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

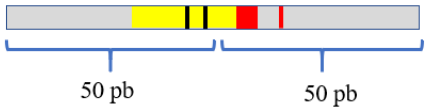
Ouverture du plasmide grâce aux sites de restriction de Sap1



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 CMIs au FLC avec la présence de la mutation sur 1 ou 2 allèles (X4 et X16 des CMIs)

  → **Impact du dosage allélique**

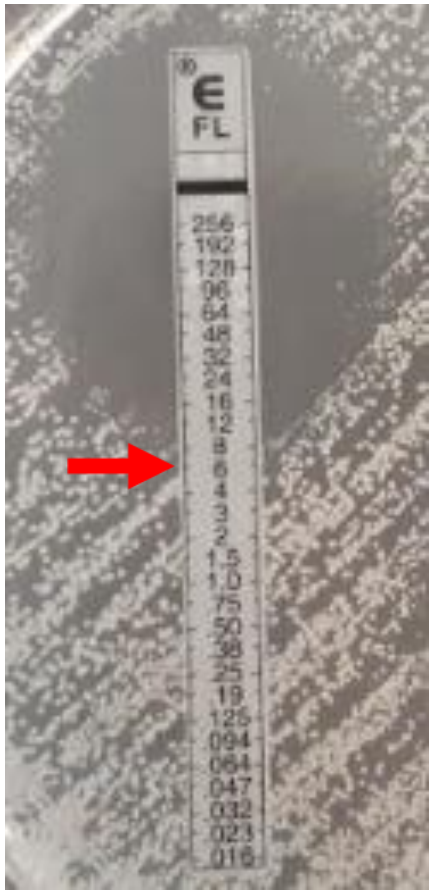
- Mutant **hétérozygote non sensible au FLC** (car CMI ≥ 2µg/mL)
- Mutant **homozygote résistant au FLC** (car CMI ≥ 8µg/mL) → Echec thérapeutique

- Impact moins important sur la sensibilité au VRC
- Aucun impact sur la sensibilité au POS et ISA
- Même résultat STZ5 (2ème fond génétique)

ATCC 22019

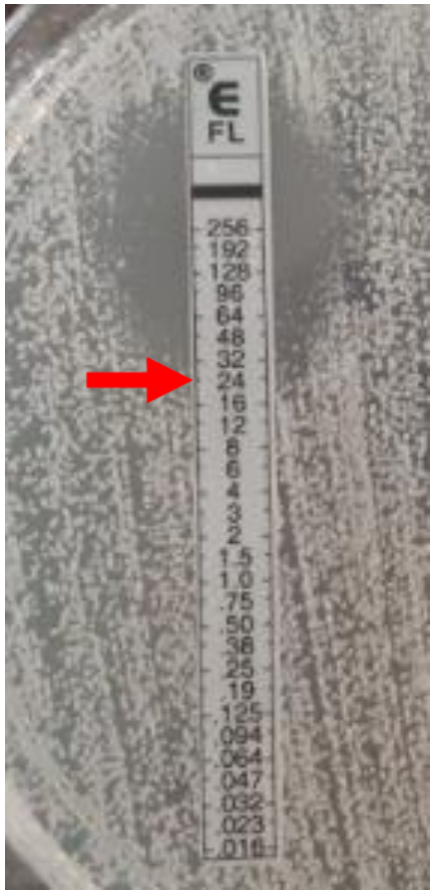
WT/WT
S

ATCC 22019



WT/Y132F
SDD

ATCC 22019



Y132F/Y132F
R

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 CMIs pour les autres triazolés (VRC, POS, ISA)
- Affecte aussi une autre classe d'antifongique (5-FC)

WT/WT
S

G583R/G583R
R

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 Etats-Unis ? 20 minutes

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 ? Europe 1

29/03/2023

Candida auris

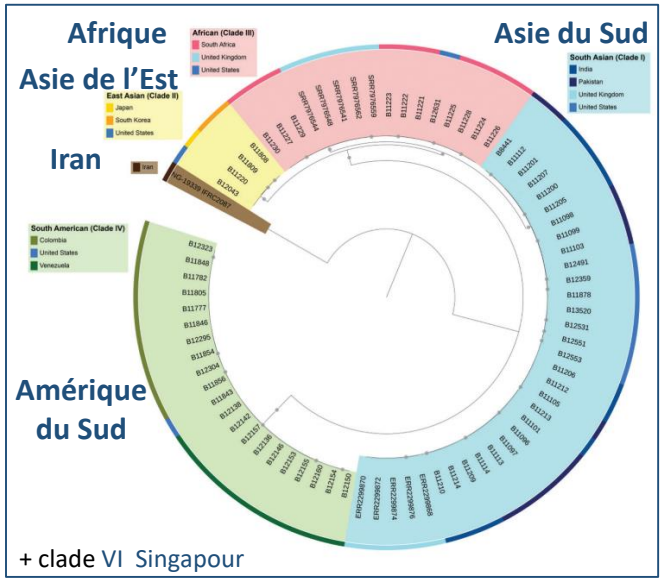
- 1ère description au Japon en 2009
- Levure pathogène émergente
  - Isolée dans tous les continents
- Particularité ⟶ Génome Haploïde
- Multi-résistance possible donc impasse thérapeutique
- Niche écologique reste inconnue
  - Colonisation cutanée chez l'Homme
- Thermotolérance et halotolérance
  -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

    ⟹ Epidémies hospitalières

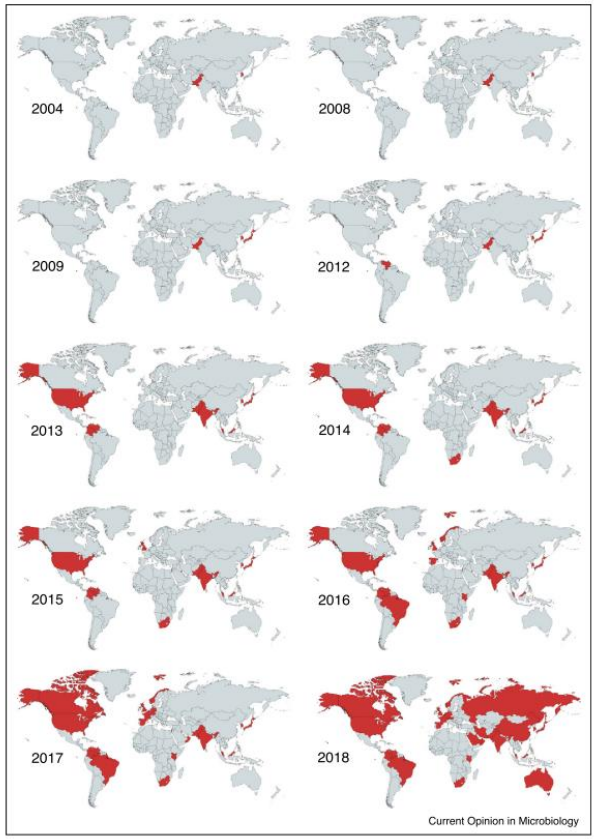
Candida auris sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital

Kazuo Satoh[1,2], Koichi Makimura[1,3], Yayoi Hasumi[1], Yayoi Nishiyama[1], Katsuhisa Uchida[1] and Hideyo Yamaguchi[1]

Microbiol Immunol 2009;



6 clades à ce jour



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

Candida auris –Répartition mondiale

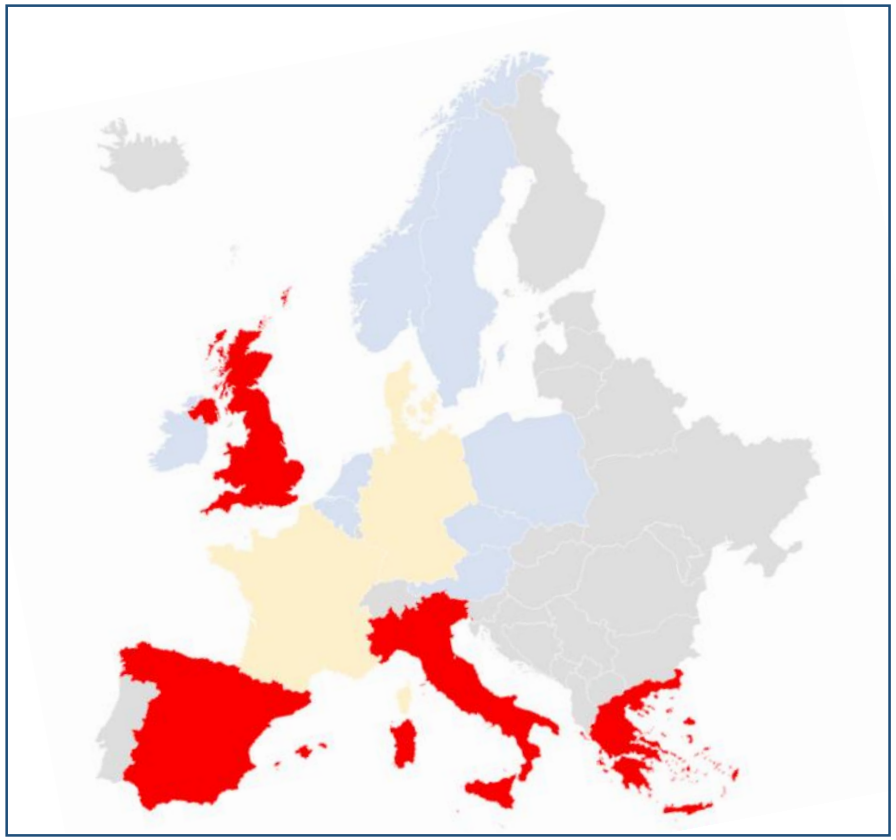


Figure 3. Principal cases of *C. auris* in Europe. In red: detected *C. auris* outbreak countries with inter-facility spreading or endemicity (Spain, Italy, Greece and the UK). In light yellow: country (Germany, France and Denmark) with sporadic outbreaks without or with only limited inter-facility spreading.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

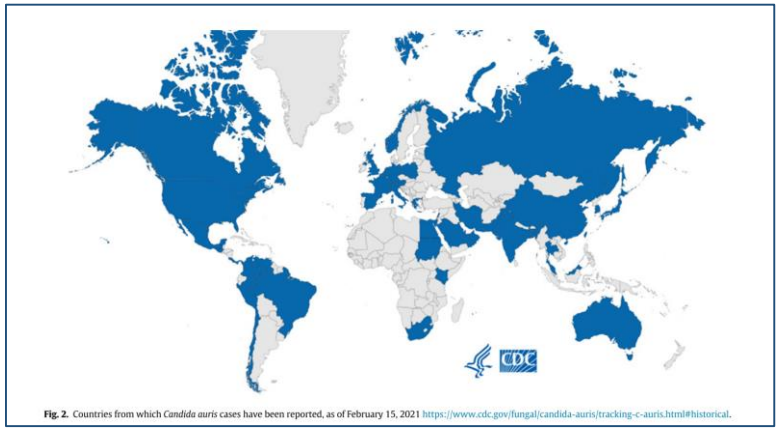
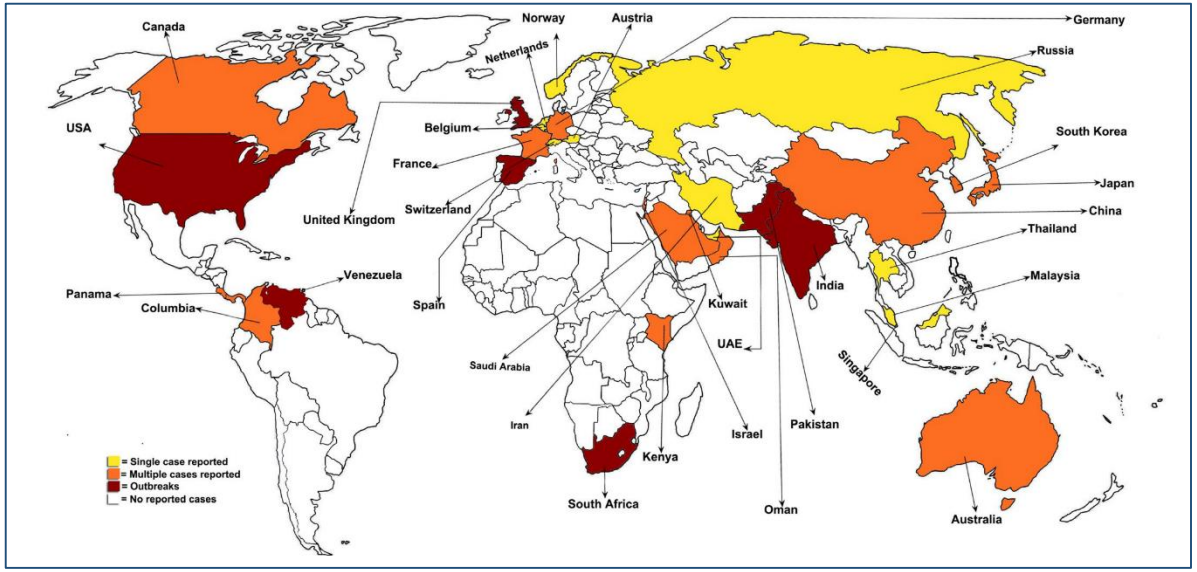
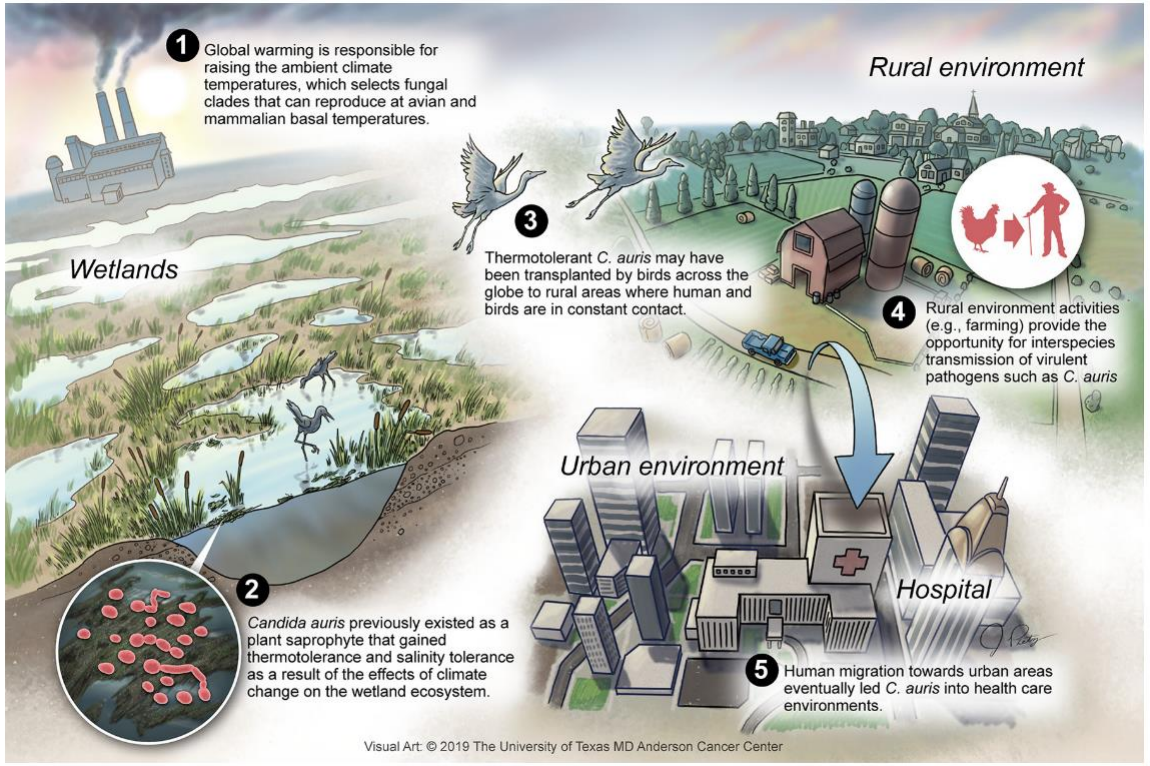


Fig. 2. Countries from which *Candida auris* cases have been reported, as of February 15, 2021 https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/tracking-c-auris.html#historical.



Candida auris –Emergence

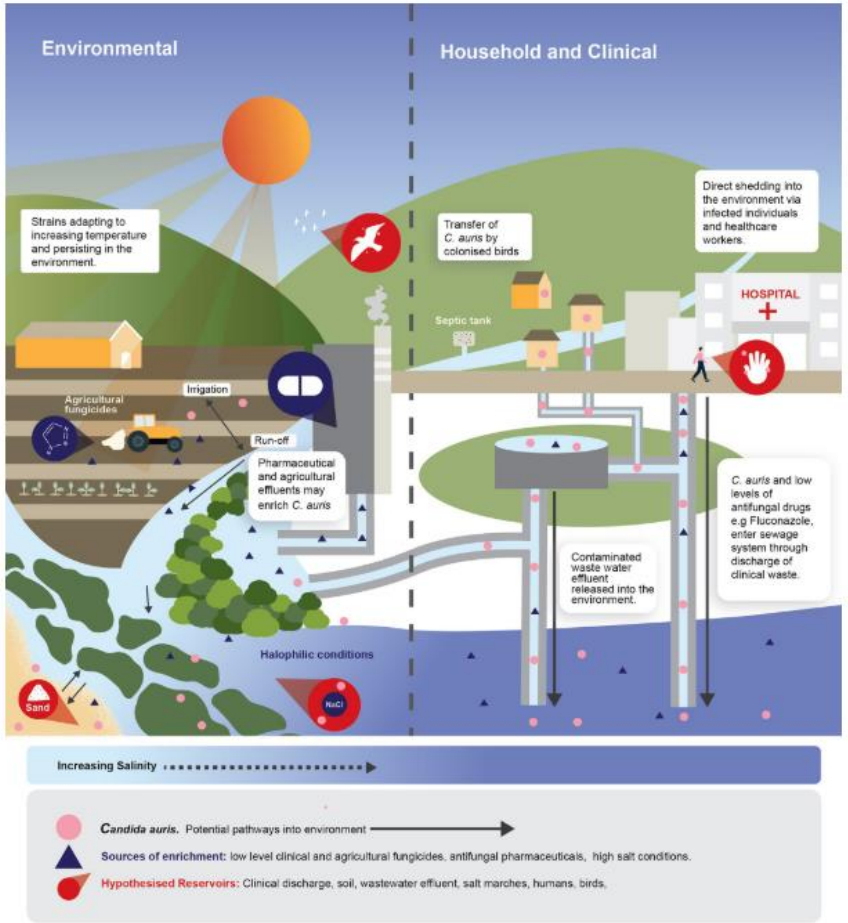
- Emergence de *Candida auris* : plusieurs hypothèses



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

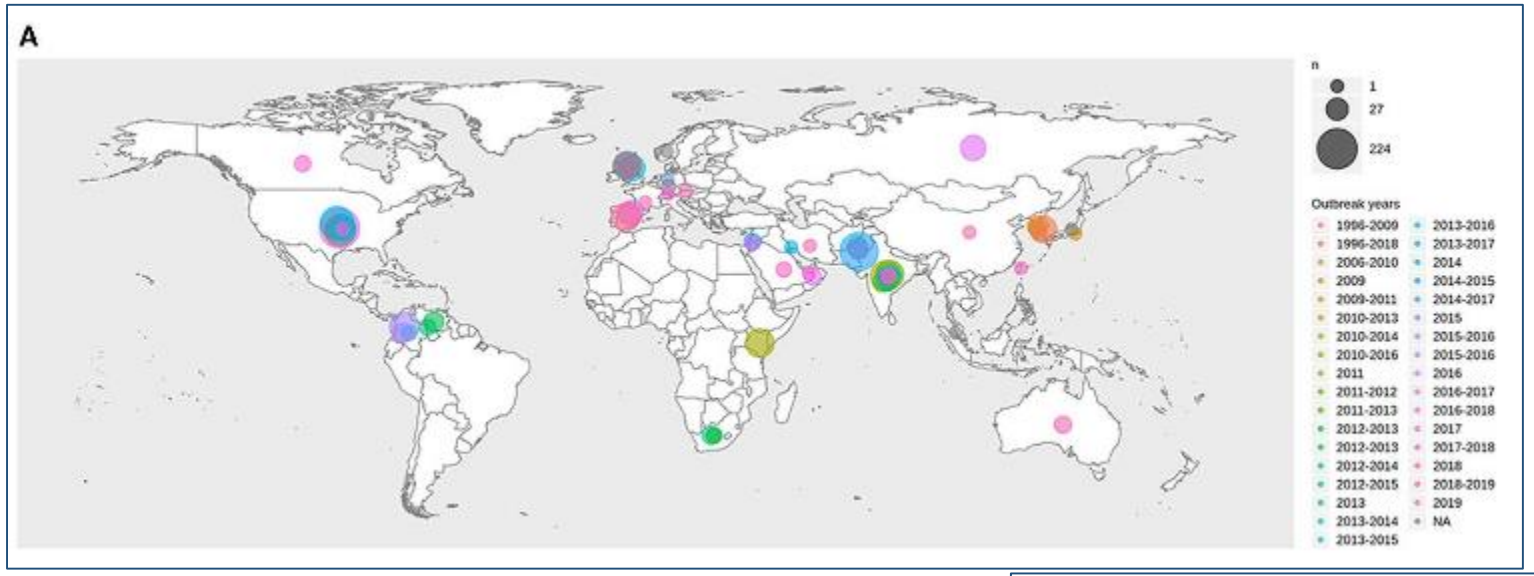
Commentary

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

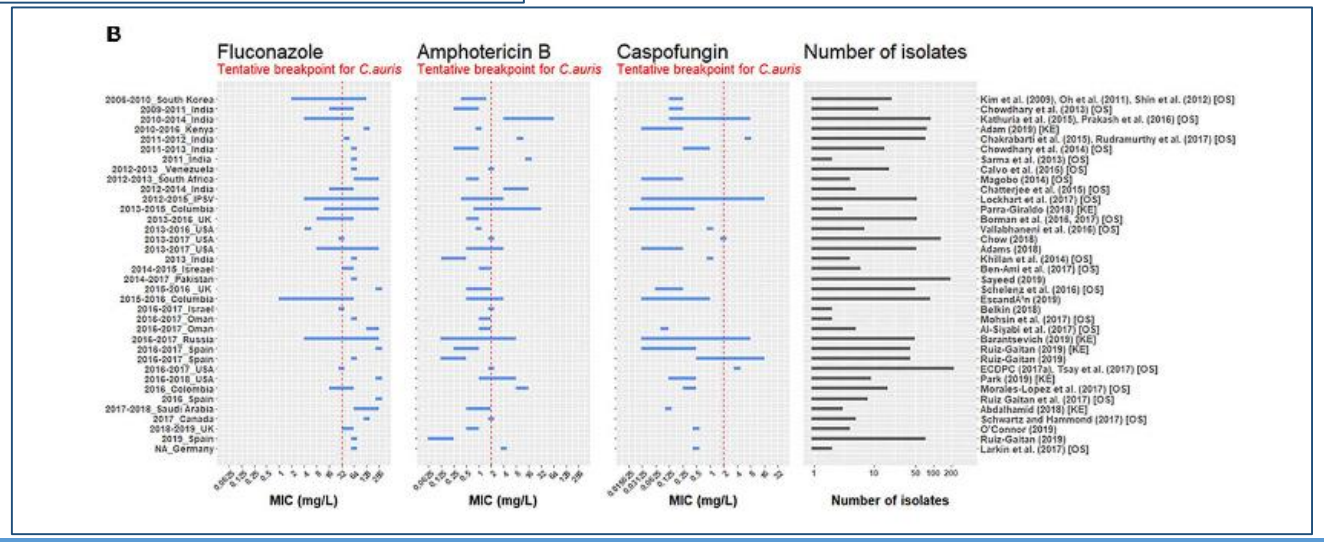
Patricia Escandón

Casadevall *et al.,* mBio 2019 ; Akinbobola PLoS Pathog. 2023 ; Escandón P. J Fungi (Basel). 2022

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 mécanismes de résistances

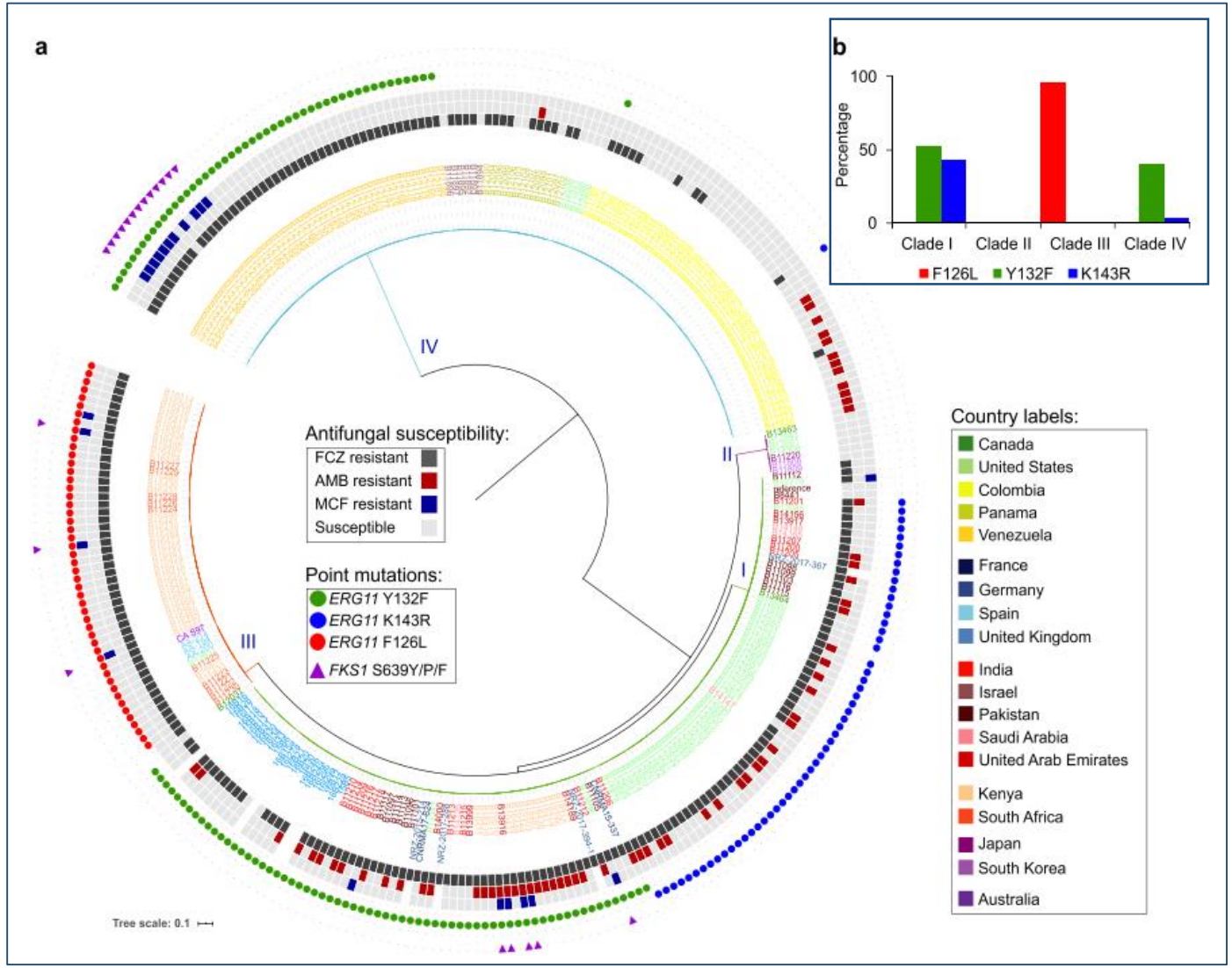
Azolés

Echinocandines

Polyènes

Flucytosine

Resistance mechanism(s) in *Candida auris*	
Presence of MFS efflux pumps genes [b]. Higher ABC efflux pumps activity compared to *C.glabrata*. [c] Significant contribution of *CDR1* to resistance. [d] *ERG11* point mutation : Y132F ; [f] K143R [f] Presence of *ERG3* [e] but no mutation associated with increased resistance reported	Surexpression des pompes d'efflux Modification cible
Presence of *FKS1* and *FKS2* In *FKS1* three mutations linked to increased MIC: S639Y; [g] S639P; [g] S639F. [h]	Modification cible
5 SNPs in different genomic loci associated with reduced sensitivity. [i]	
Amino-acid substitution (F211I) in *FUR1*, a gene involved in 5-FC metabolism found in a single flucytosine-resistant isolate [g]	



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*

AAC Journals.ASM.org

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. Gygax,[d] P. David Rogers[a,b,c]

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

Septembre 2021

Valentin Borgeat [1], Danielle Brandalise [1], Frédéric Grenouillet [2,3] and Dominique Sanglard [1,*]

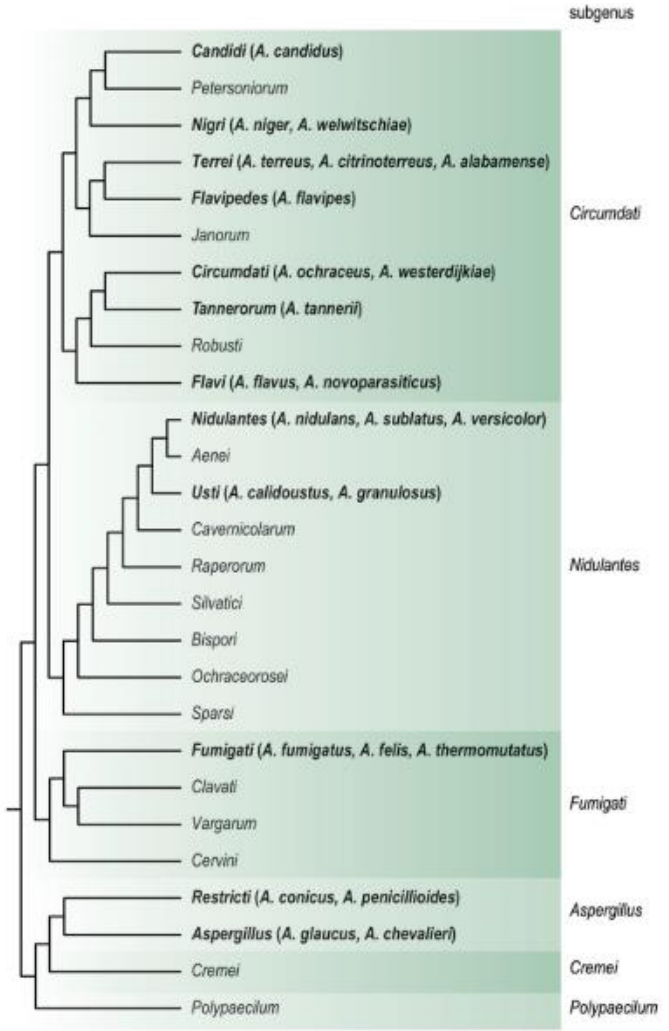
Journal of *Fungi*

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.

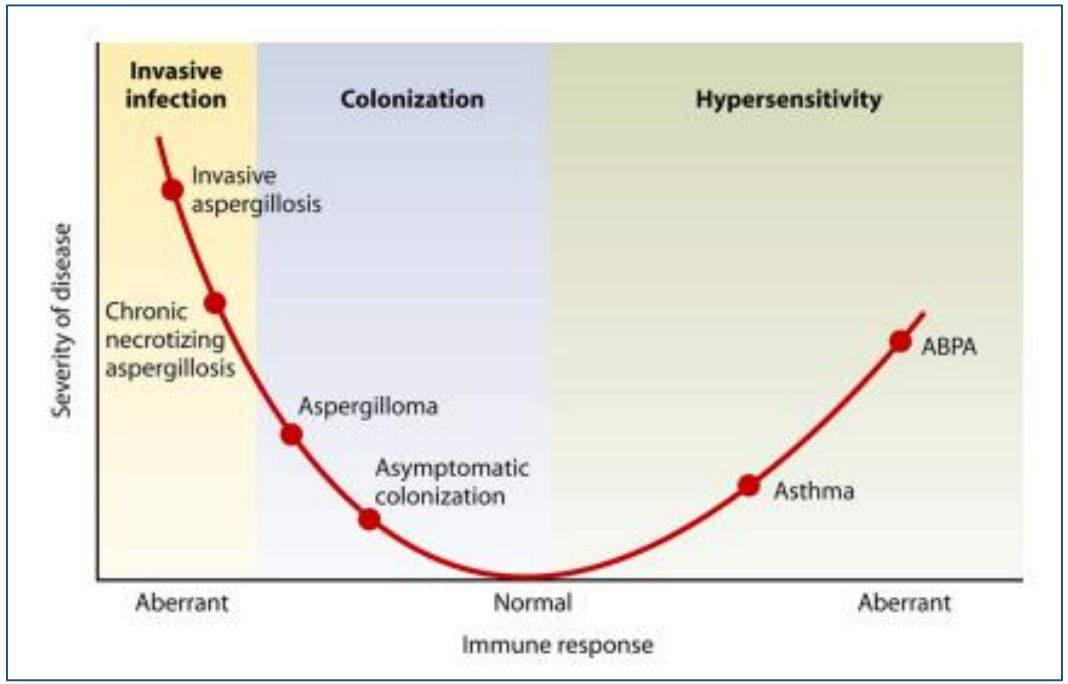
- *Aspergillus* spp.
  - Moisissures
  - Champignons filamenteux
  - Ubiquitaire, saprophyte
  - Présent dans l'environnement (air, sol, surface, dans l'alimentation)
  - Nombreuses espèces



Aspergillus fumigatus

- Responsable d'un large spectre clinique de pathologies pulmonaires :

  → Aspergillose allergique chez l'immunocompétent à l'aspergillose invasive chez le patient immunodéprimé



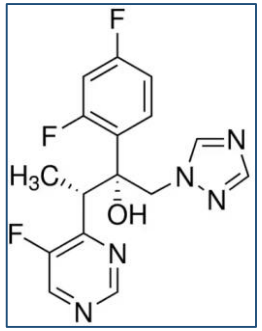
Les différentes pathologies pulmonaires causées par *Aspergillus fumigatus*

Facteurs favorisant le développement d'*Aspergillus*

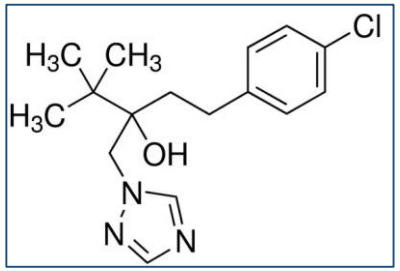
- ❑ **Généraux** : neutropénie, immunosuppression
- ❑ **Locaux** : présence de cavités du parenchyme pulmonaire (ex : post tuberculose)…
- ❑ **Environnementaux** : travaux (favorisent la dissémination des spores)

Aspergillus fumigatus

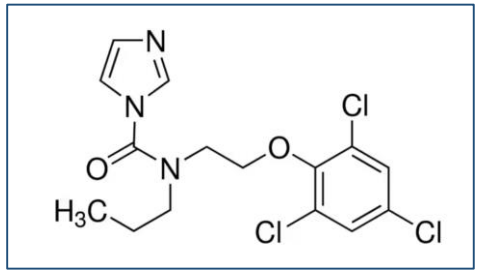
- Traitement de 1ère ligne : les antifongiques azolés
  - Deux origines de la résistance :
    - **Traitement au long cours par des antifongiques azolés** (cas des aspergilloses chroniques ou des aspergilloses allergiques)
    - **Utilisation dans l'environnement de phytosanitaires fongicides** « inhibiteurs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



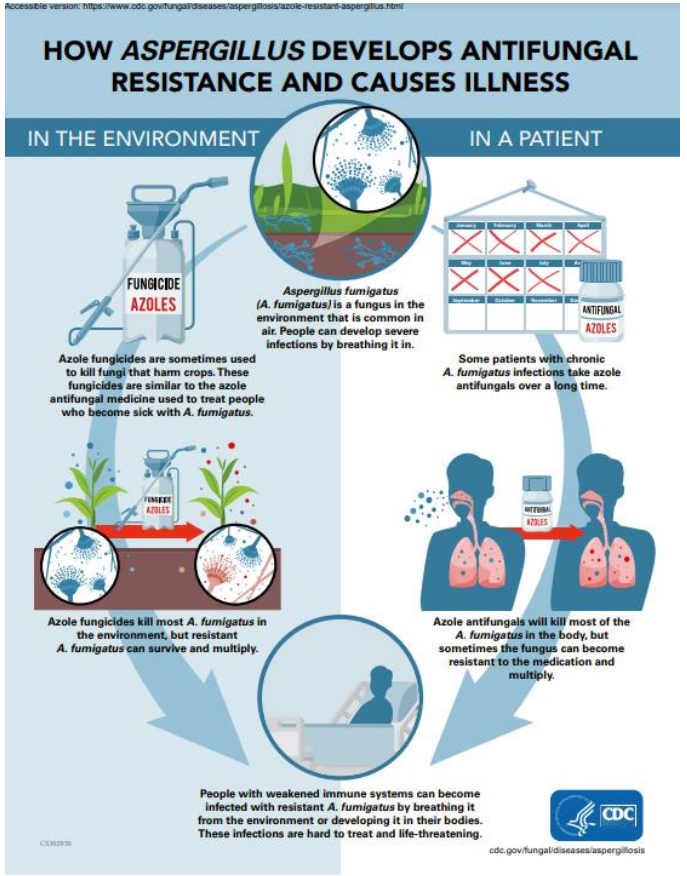
Voriconazole



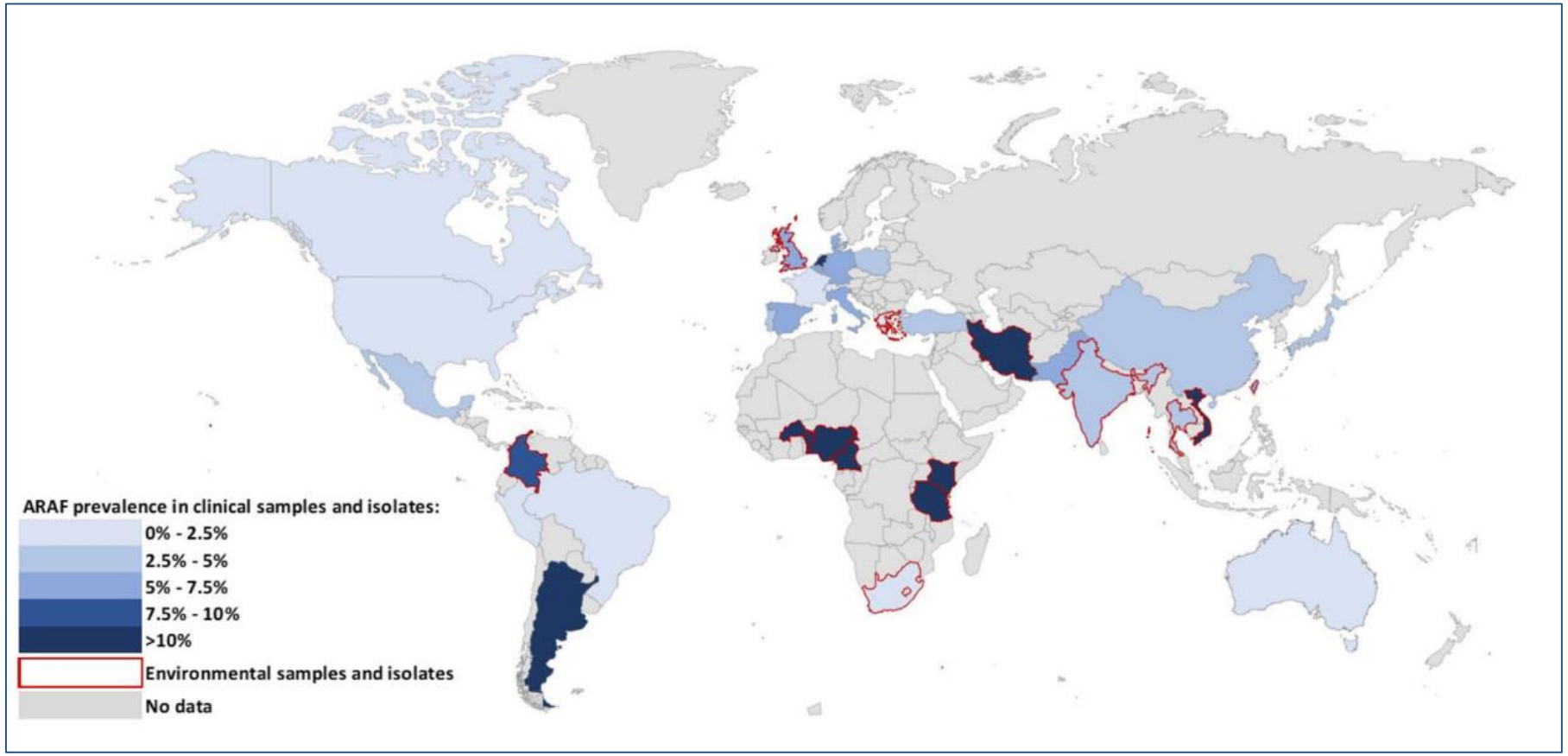
Tébuconazole



Prochloraze



Epidémiologie de la résistance chez *Aspergillus fumigatus*



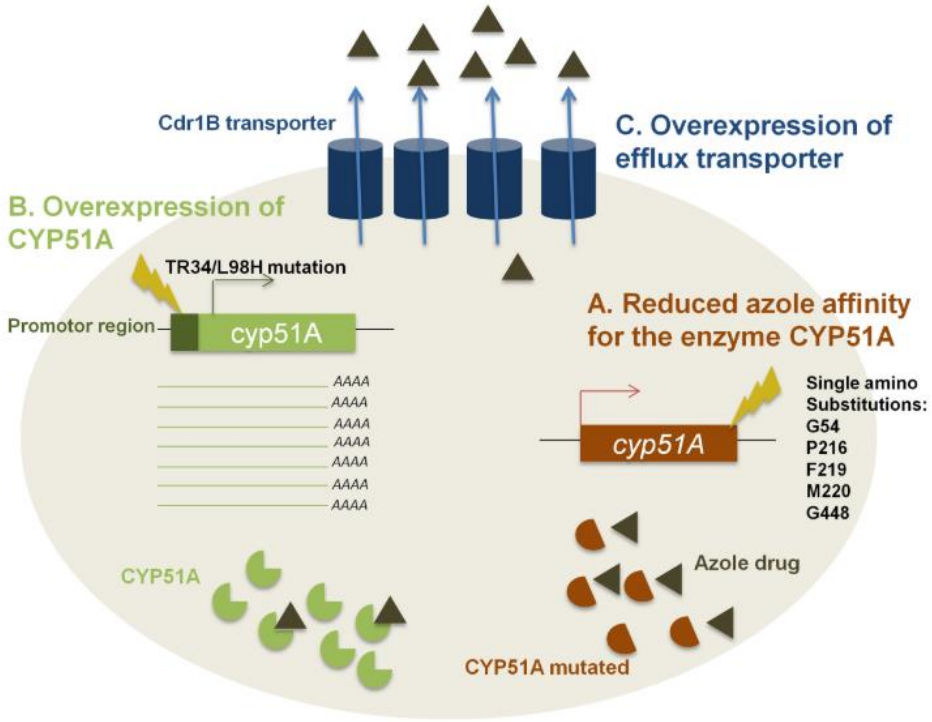
Bosetti *et al.*, Curr Fungal Infect Rep. 2023

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

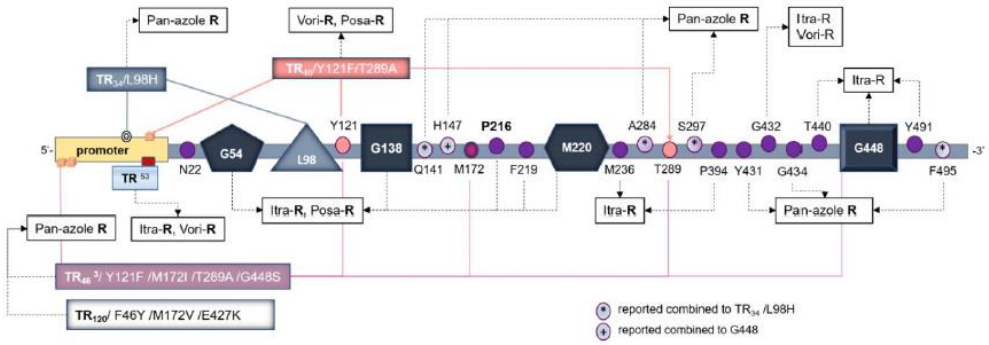
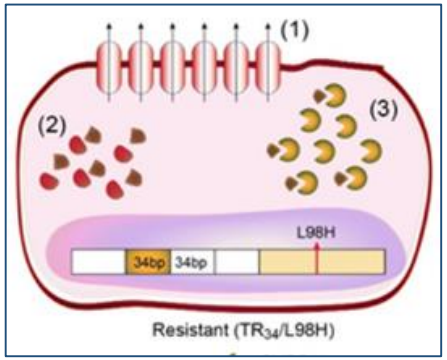
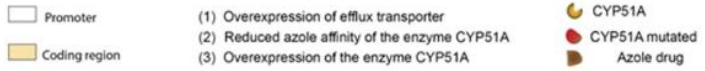


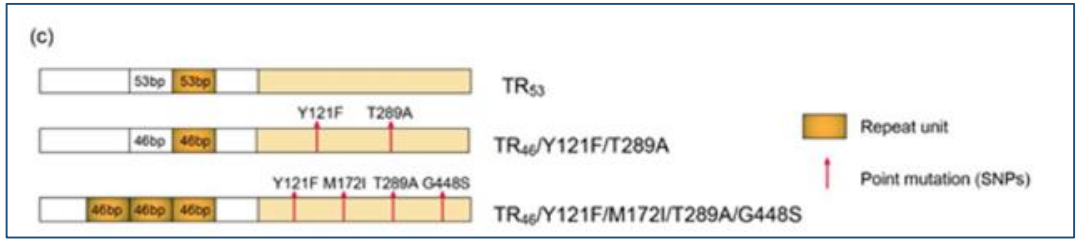
Figure 13: Schéma du gène Cyp51A d'A. fumigatus et principales mutations
Les régions hotspot sont indiquées : G54, L98, G138, M220, G448. Les constructions génétiques ont démontré que ces mutations peuvent être responsables d'un phénotype de résistance aux antifongiques azolés (modifié d'Alanio A. et al.)
Itra: itraconazole ; Vori : voriconazole ; Posa : posaconazole ; TR, tandem repeat ; R, résistant

- **Mutations** au niveau du **promoteur** du gène *CYP51A* (**T**andem **R**epeat (**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







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]

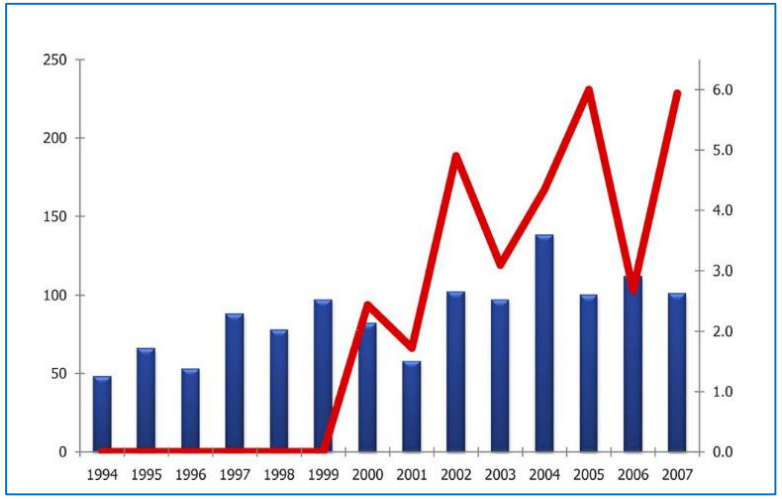
Plant pathogen	DMI resistance	Cyp51 modification(s)	Promoter alteration
Penicillium digitatum	TFZ, FNM, BTN	Absent	126-bp TR
	IMZ	Absent	199-bp TR
Blumeriella jaapii	FBZ	Absent	Truncated retrotransposon
Venturia inaequalis	MCB	Absent	553-bp insertion
	DFZ	Absent	EL3,1,2 repeated element
Monilinia fructicola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

Résistance chez *Aspergillus*

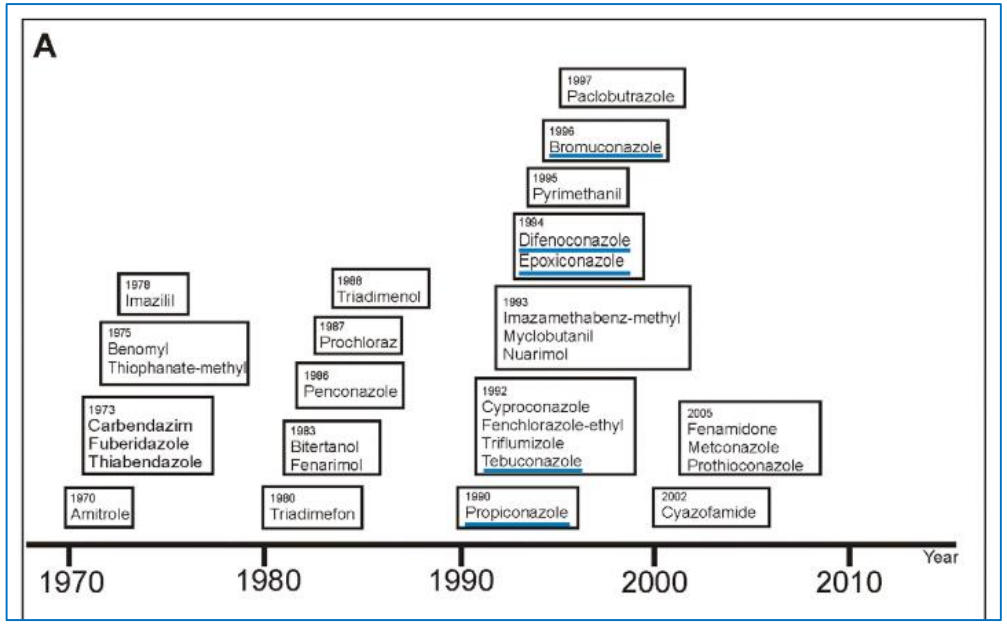
- Focus sur les mutations d'origine environnementale
  - Augmentation de la résistance à partir des années 2000 → utilisation de fongicides azolés

Mutation d'origine environnementale majoritaire TR_{34}/L98H

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*



Résistance chez *Aspergillus*

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

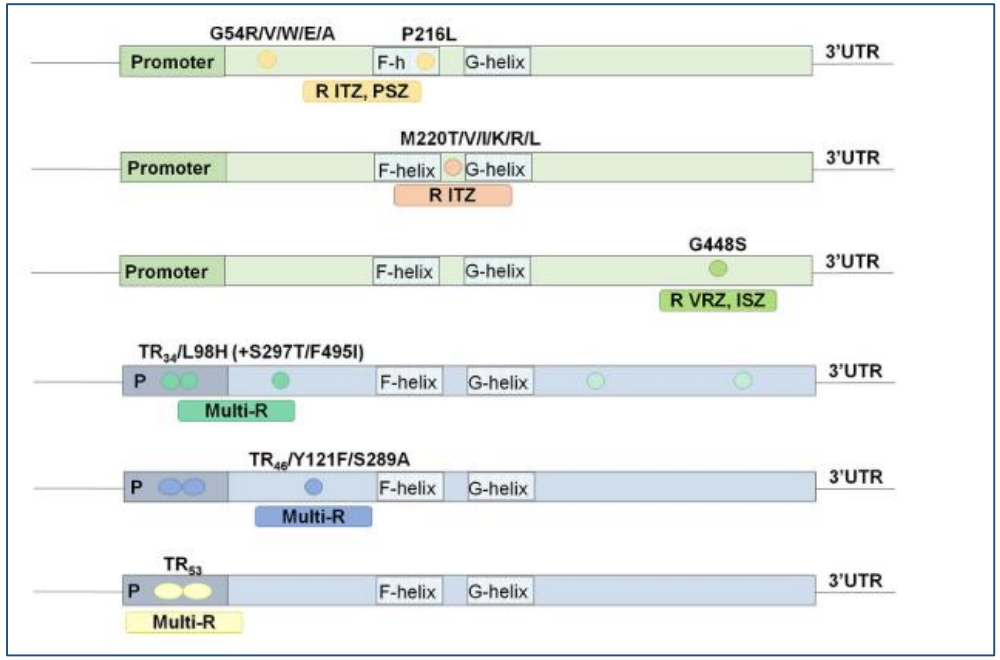


Table 3. *Cyp51* gene-related mutations and corresponding phenotype (EUCAST methodology) in triazole-resistant clinical *A. fumigatus* isolates

	Phenotype (MIC mg/L)[a]				
Resistance mutation	Itraconazole	Voriconazole	Posaconazole	Comment	References
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^{3}_{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^{3}_{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.
[a]MIC 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 Toublanc,[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

	Sabouraud		Itraconazole 4 mg/L		Voriconazole 4 mg/L			STR*Af* Genotyping								
Location	No. of Samples	No. of Positive Samples	No. of Positive Samples	No. of Colonies	No. of Positive Samples	No. of Colonies	*CYP51A* Mutations[a]	No. of Isolates[b]	2A	2B	2C	3A	3B	3C	4A	4B	4C
Barley field	2	2	0		1	5	TR_{34}/L98H	4	14	20	17	31	11	10	8	14	20
Corn field	5	5	0		0												
Wheat field	6	6	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															
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						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 :

Pas d'exposition aux ATF azolés

- 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

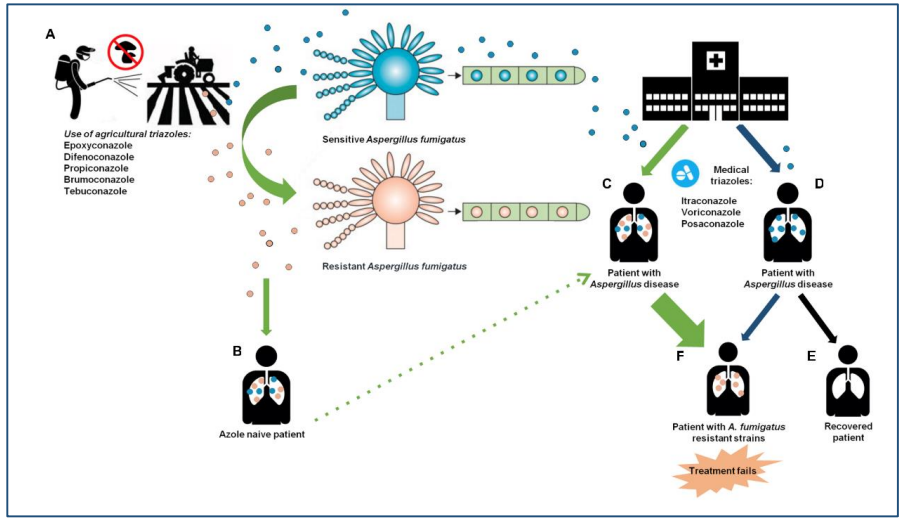
  - LBA → *Aspergillus fumigatus* (Af) résistant aux azolés ⇒ TR_{46}/Y121F/T289A
    - Investigations environnementales au domicile du patient
      → souches d'Af avec la TR_{46}/Y121F/T289A dans son environnement
      → Génotypage réalisé : génotypiquement indistinguable de l'isolat clinique

⇒ Rôle direct de l'environnement du patient (maison + jardin) comme source potentielle d'aspergillose invasive résistante aux 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 Godeau [1], Nadia Morin-Crini [1], Grégorio Crini [1], Jean-Philippe Guillemin [2], Anne-Sophie Voisin [2], Sylvie Dousset [3] and Steffi Rocchi [1,4,5,*]

SCIENTIFIC REPORTS

Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* harboring TR_{34}/L98H, TR_{46}/Y121F/T289A and TR_{53} mutations related to flower fields in Colombia March 2017

Carlos Alvarez-Moreno[1,2,3], Rose-Anne Lavergne[3,4], Ferry Hagen[5], Florent Morio[3,4], Jacques F. Meis[5,6] & Patrice Le Pape[3,4]

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

Berger *et al.,* Front Microbiol. 2017 ; Godeau *et al.,* Journal of fungi 2023 ; https://www.cdc.gov/onehealth/resource-library/one-health-graphics.html

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)

- <u>Définition</u> : 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

- En fonction de l'atteinte clinique +/- l'étendue des lésions :
  - Exemple :

  <u>Les teignes</u>
    - Par voie locale : antifongique imidazolé (pommade, gel, lotion)
    - Par voie générale :
      - Teigne microsporique → **itraconazole**
      - Teigne trichophytique → **terbinafine**

  <u>Dermatophyties de la peau glabre</u>
  - 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

- 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

AAC

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 Monod[3] | Karine Salamin[3] | Anke Burmester[4] | Silke Uhrlaß[2] | Cornelia Wiegand[4] | Uta-Christina Hipler[4] | Constanze Krüger[2] | Daniela Koch[2] | Franziska Wittig[2] | Shyam B. Verma[5] | Archana Singal[6] | Sanjeev Gupta[7] | Resham Vasani[8] | Abir Saraswat[9] | Rengarajan Madhu[10] | Saumya Panda[11] | Anupam Das[11] | Mahendra M. Kura[12] | Akshy Kumar[13] | Shital Poojary[14] | Sibylle Schirm[15] | Yvonne Gräser[16] | Uwe Paasch[17] | Pietro Nenoff[2]

Avril 2020

Publication of IADVL

Indian Dermatology Online Journal

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

Mars-Avril 2016

Sunil Dogra, Shraddha Uprety[1]

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 Akhoundi, Eric Dannaoui, Laeticia Audiffred, Francois Chasset, Arezki Izri, Liliane Laroche, Renaud Piarroux, Claude Bachmeyer, Christophe Hennequin, Alicia Moreno Sabater.

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)

Terbinaforce plus : Terbinafine, ofloxacine, ornidazole, clobetasol propionate

Une nouvelle espèce → *Trichophyton indotineae* en 2020

Dermatophytes
- *Trichophyton indotineae*

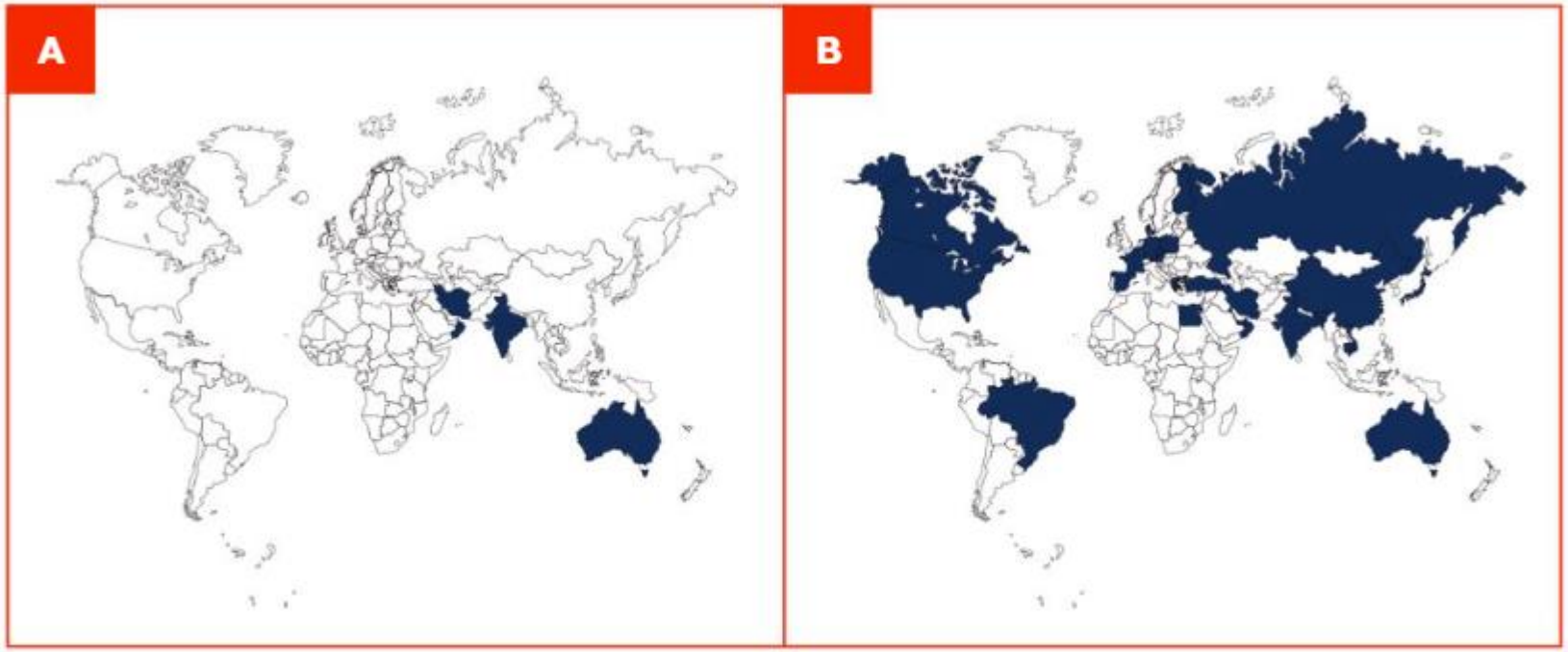
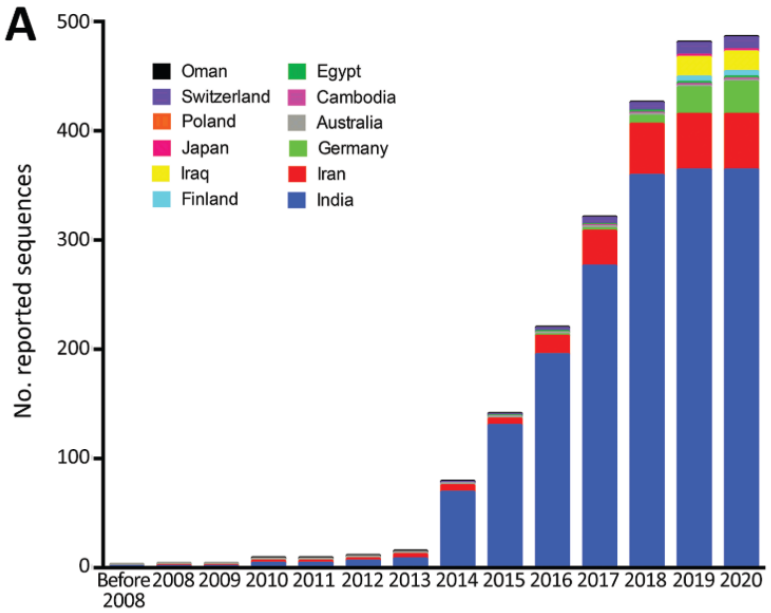


Fig. 3 - Évolution de la propagation mondiale de *T. indotineae*.
A : pays (en bleu) ayant rapporté *T. indotineae* entre 2008 et 2015.
B : pays (en bleu) ayant déclaré des cas de *T. indotineae* jusqu'à septembre 2023.

Une nouvelle espèce → *Trichophyton indotineae* en 2020



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

Dermatophytes
- résistance à la terbinafine

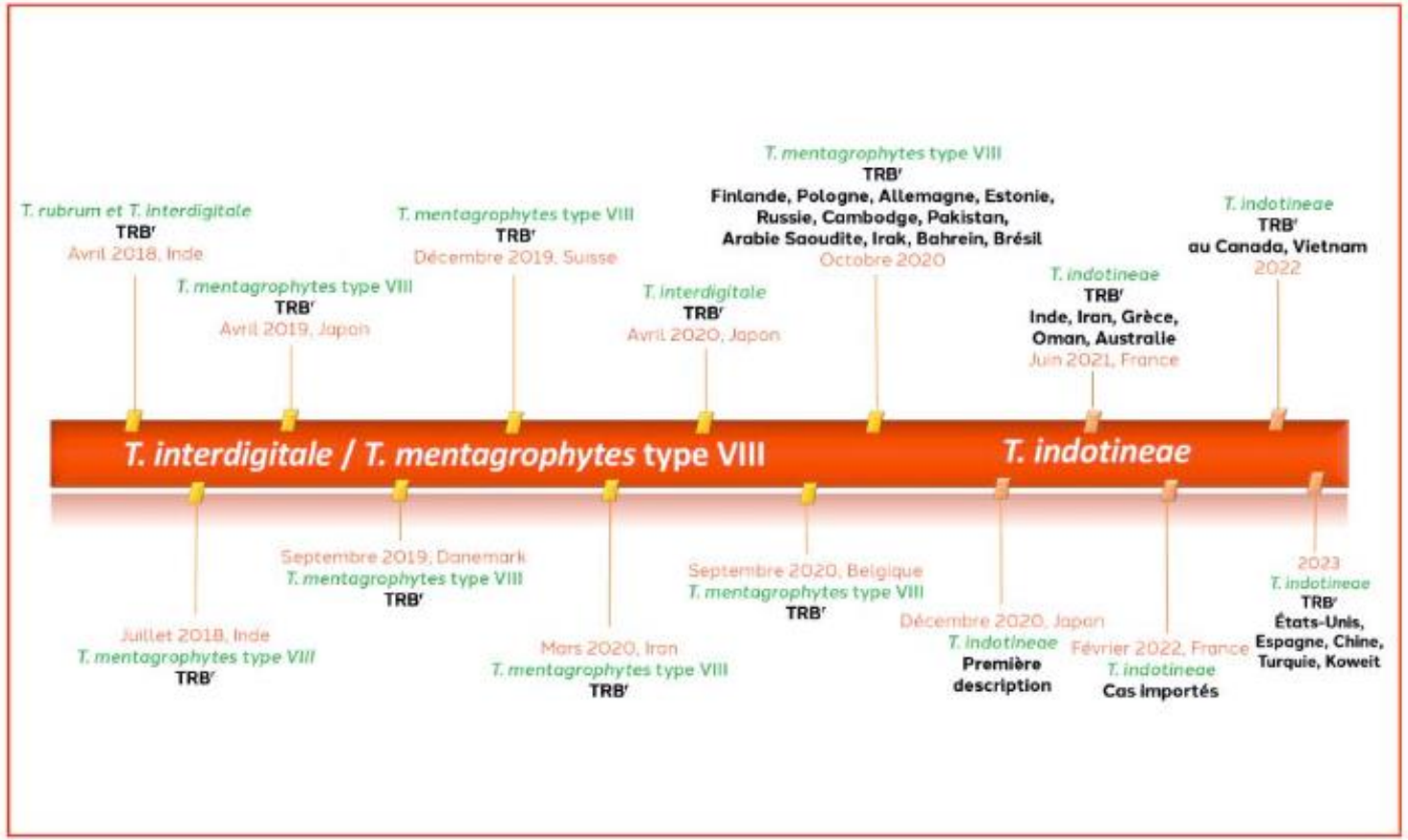
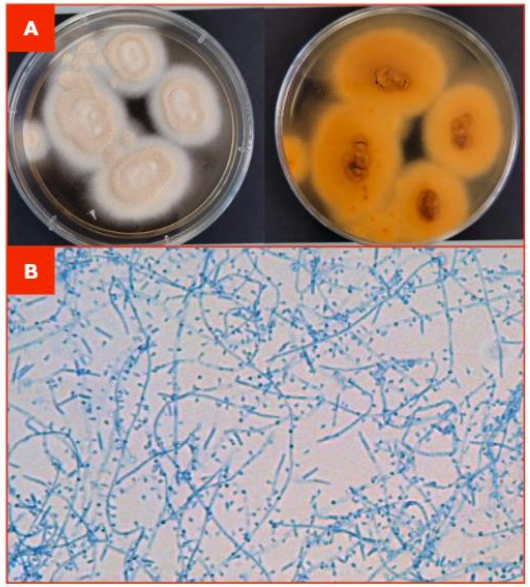


Fig. 2 - Frise chronologique décrivant l'évolution des découvertes de dermatophytoses à *T. indotineae* résistantes à la terbinafine.
TRBr : résistant à la terbinafine.



Aspect macroscopique et microscopique de *Trichophyton indotineae*

Une nouvelle espèce
→ *Trichophyton indotineae*
en 2020

Dermatophytes - résistance à la terbinafine

- Modification de la cible
  - Mutations 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
T. rubrum	L437P, L393F, L393S, F397L, F397I	I121M/V237I, F415S, H440Y/F484Y, S443P	Y414C/L438C, F415V	F484Y, I479V
T. indotineae (*T. mentagrophytes*/ *T. interdigitale*)	L393F, L393S, S395P, F397L, Q408L, H440T	S443P		L335F, A448T

Rogers *et al.*, JAC 2022

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

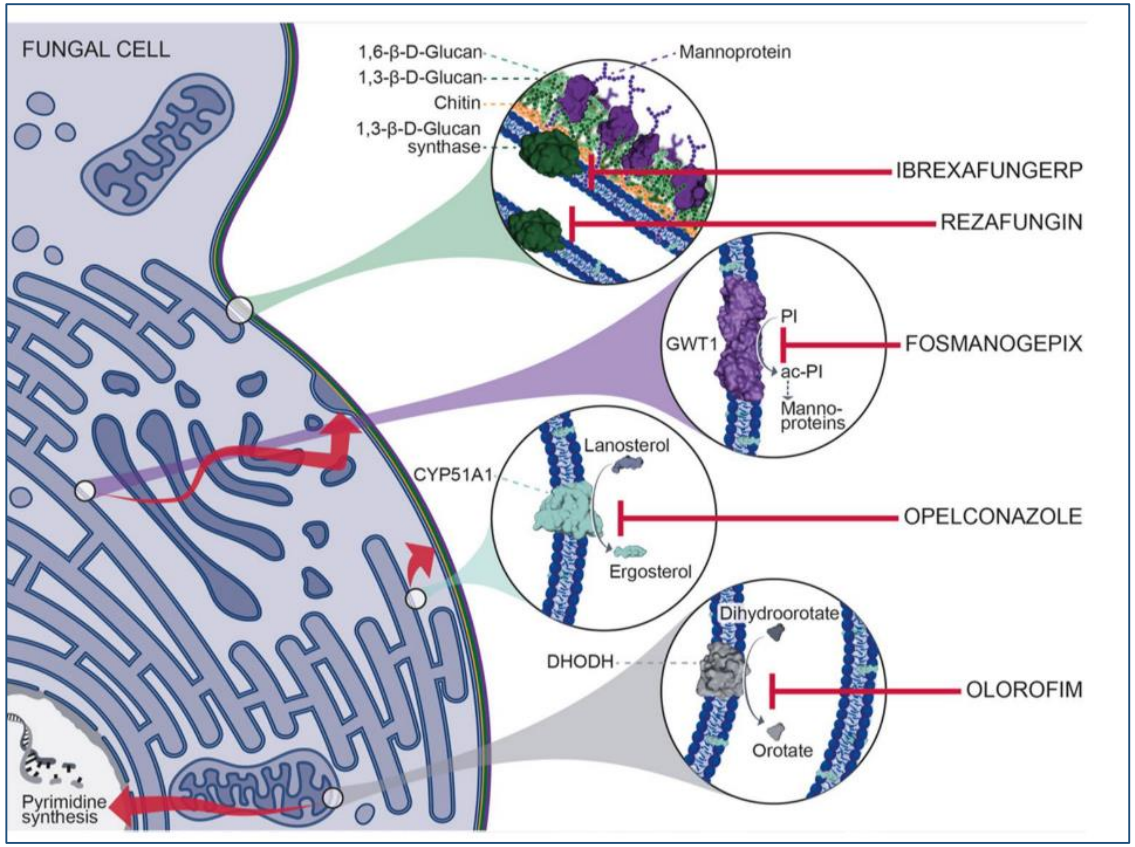
  ⇨ Phénomène dynamique et cumulatif

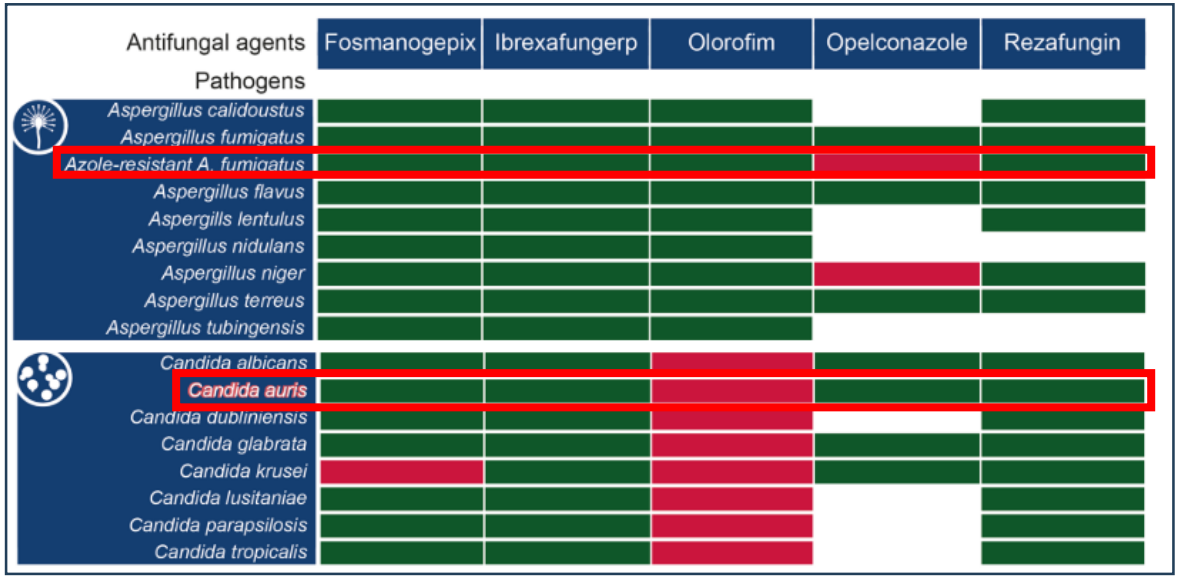
- Peu de classes d'antifongiques → risque d'impasse thérapeutique si émergence de résistance à une ou deux classes d'antifongiques

- Approche One Health nécessaire pour mieux comprendre les origines de la résistance

Nouveaux Antifongiques

- Nouveaux antifongiques





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

nature microbiology **Décembre 2023**

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

Norman van Rhijn[1], Isabelle S. R. Storer[1], Mike Birch[2], Jason D. Oliver[2], Michael J. Bottery[1] & Michael J. Bromley[1]

Hoenigl *et al.*, Drugs 2021

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

13 mars 2025