

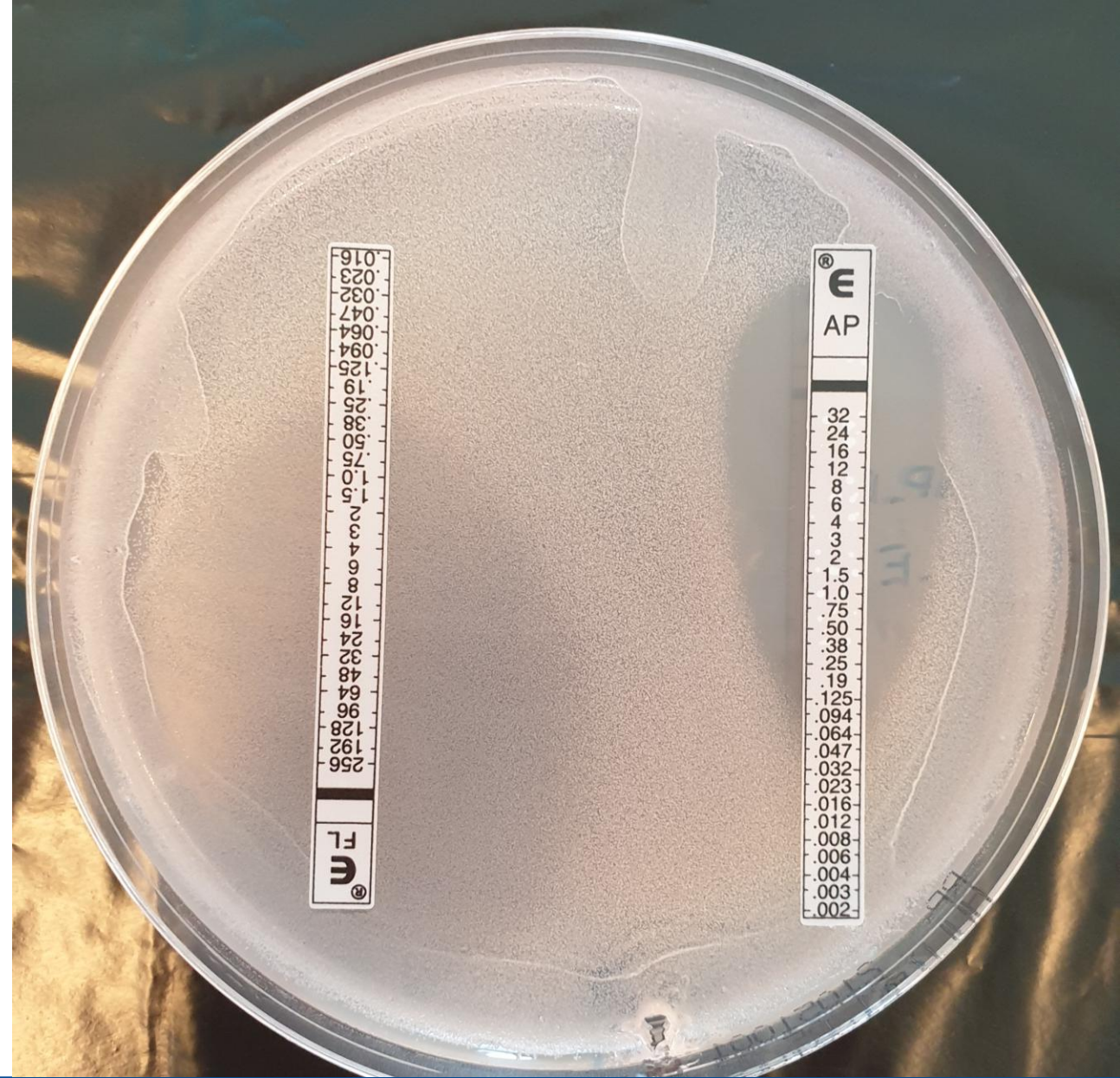
AFA kurset 2026

Resistensbestemmelse av sopp

Cecilie Torp Andersen

overlege

Nasjonalt referanselaboratorium for medisinske soppsykdommer



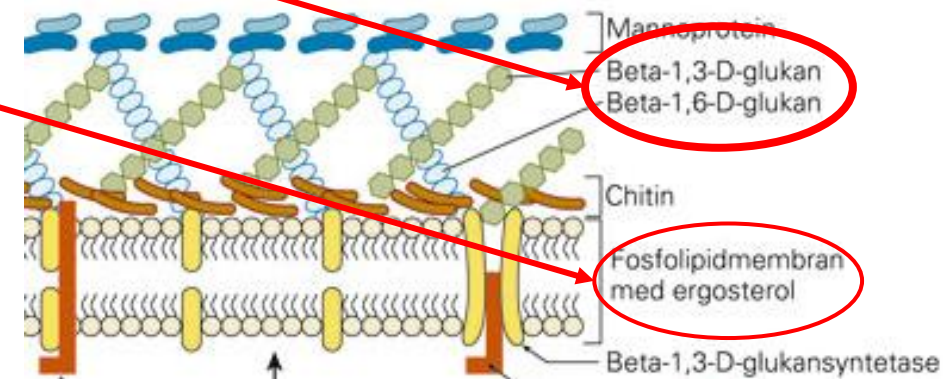
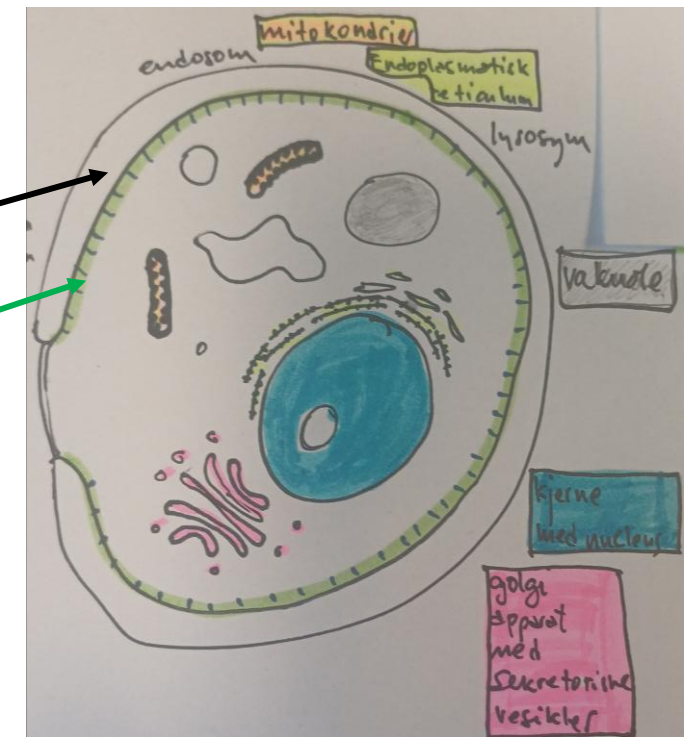
Disposisjon

- Sopp vs bakterier med angrepspunkter for soppmidler
- Bruk av soppmidler og seleksjon
- Resistensmekanismer hos sopp
- Resistensbestemmelse av sopp
 - Når, hvor og hvordan
- Følsomhetskategorisering
 - CLSI vs EUCAST
- Gjennomgang av oppgaver
- Oppsummering

AMR bakterier vs sopp

- Det har vært liten oppmerksomhet på sopp...
- Økende resistensproblem; også innen mykologien;
 - *Multiresistent C.auris* med utbruddspotensial og MSIS meldeplikt
 - Azolresistent *A.fumigatus*
 - Terbinafinresistent *Trichophyton sp*
- *Bare 3 antifungale klasser + uregistrerte nukleosidanalogen flucytocin for behandling av invasiv sykdom*

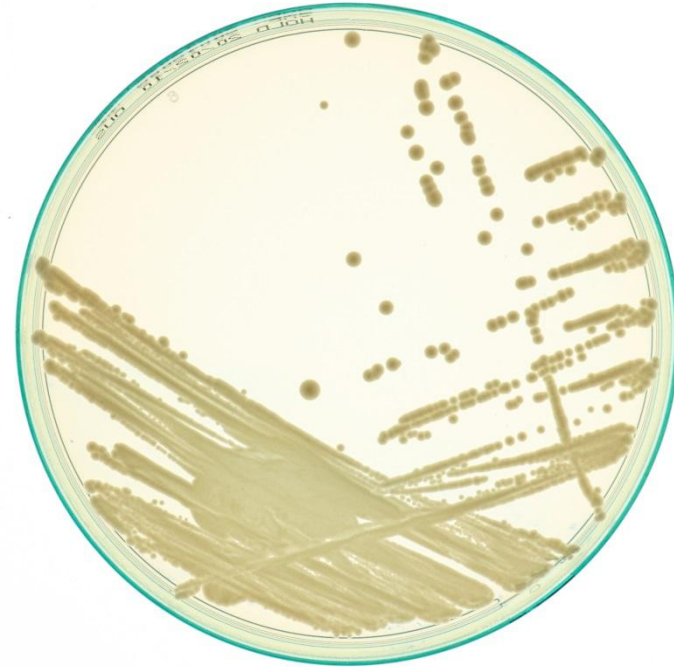
	BAKTERIER	SOPP
	Prokaryote	Eukaryote
Størrelse	< 2 µm	> 5µm
Kapsel	Mange ulike arter	Kun kryptokokker
Cellevegg	Peptidoglykan	Bla, glukaner* kitiner mannan
Cytoplasma- membran	Sterollignende molekyler	Ergosterol*
Cytoplasma -innhold	Ingen kjerne eller endoplasmatisk reticulum	Kjerne med membran Mitokondrier Golgiapparat med vesikler Endoplasmatisk reticulum



*Viktige angrepspunkt for soppmidler; finnes ikke i humane celler

Invasive Candidainfeksjoner

- Candida forårsaker ca 80% av alle invasive soppinfeksjoner
- Høy sykighet og høy dødlighet
 - > 200 candidemier pr.år i Norge (ca 4/100 000)
 - Artsdistribusjon; (2004-2024)
 - *C.albicans* 74.9 → 56.3 %
 - *C.glabrata* 10.6 → 15,5 %
 - Nedsatt følsomhet for flukonazol, obs echinocandinresistens
 - *C.parapsillosis*, *C.tropicalis* og *C.dubliniensis* varierende mellom 5-10%
 - Andre Candidaarter 4-5%

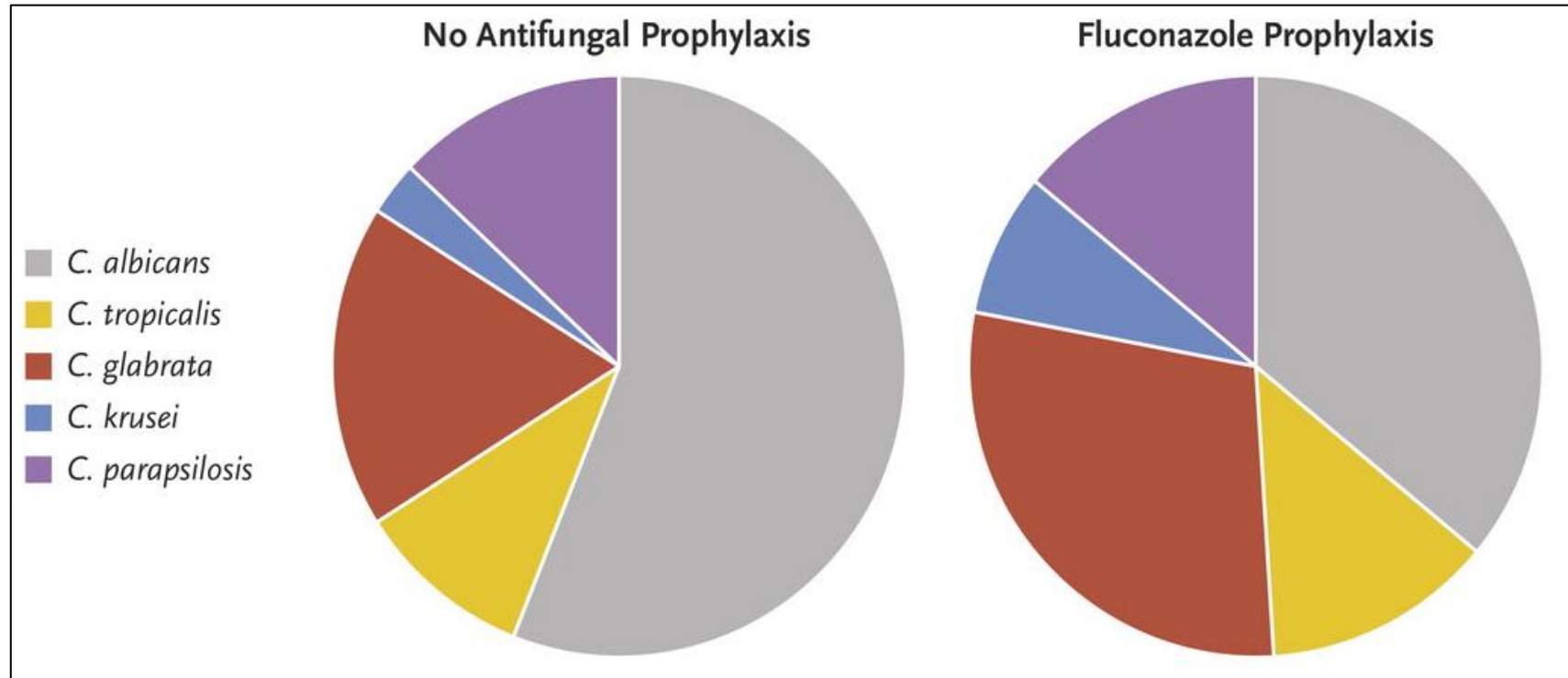


Seleksjon

Økt forbruk av soppmidler

- Behandling *og* profylakse medfører
 - *Seleksjon* av naturlig resistente stammer
 - Medfører endret epidemiologi
 - Terapisvikt
 - Langvarig behandling medfører fare for *ervertet resistens*
 - Echinocandiner
 - Mindre utbredt for flukonazol og andre azoler
 - Terapisvikt

Distribution of Candida Species in Blood According to Antifungal Agent Used for Prophylaxis.



Antimicrob Agents Chemother 2011;55:532-538

Forbruk av systemiske soppmidler 2012-2024

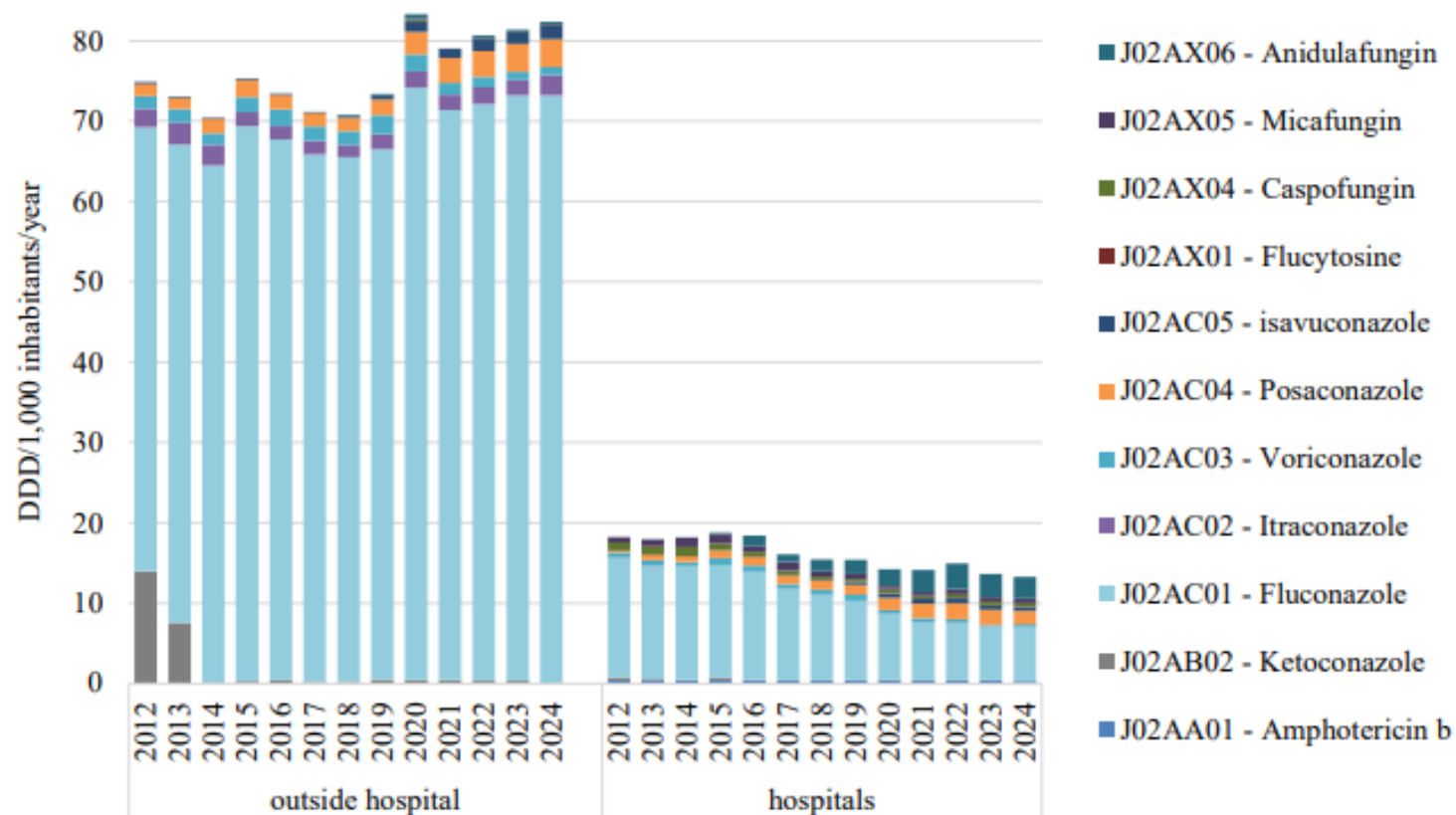
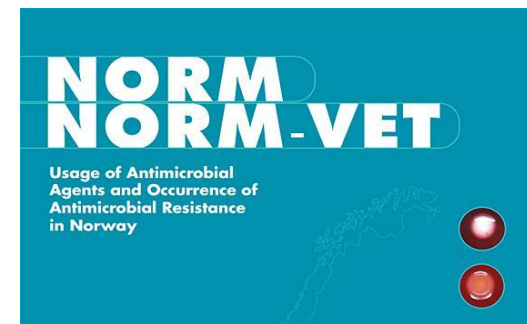


FIGURE 42. Sales of antimycotics for systemic use (ATC group J02) in Norway for ambulatory care and hospitals 2012-2024, measured in DDD/1,000 inhabitants/year.



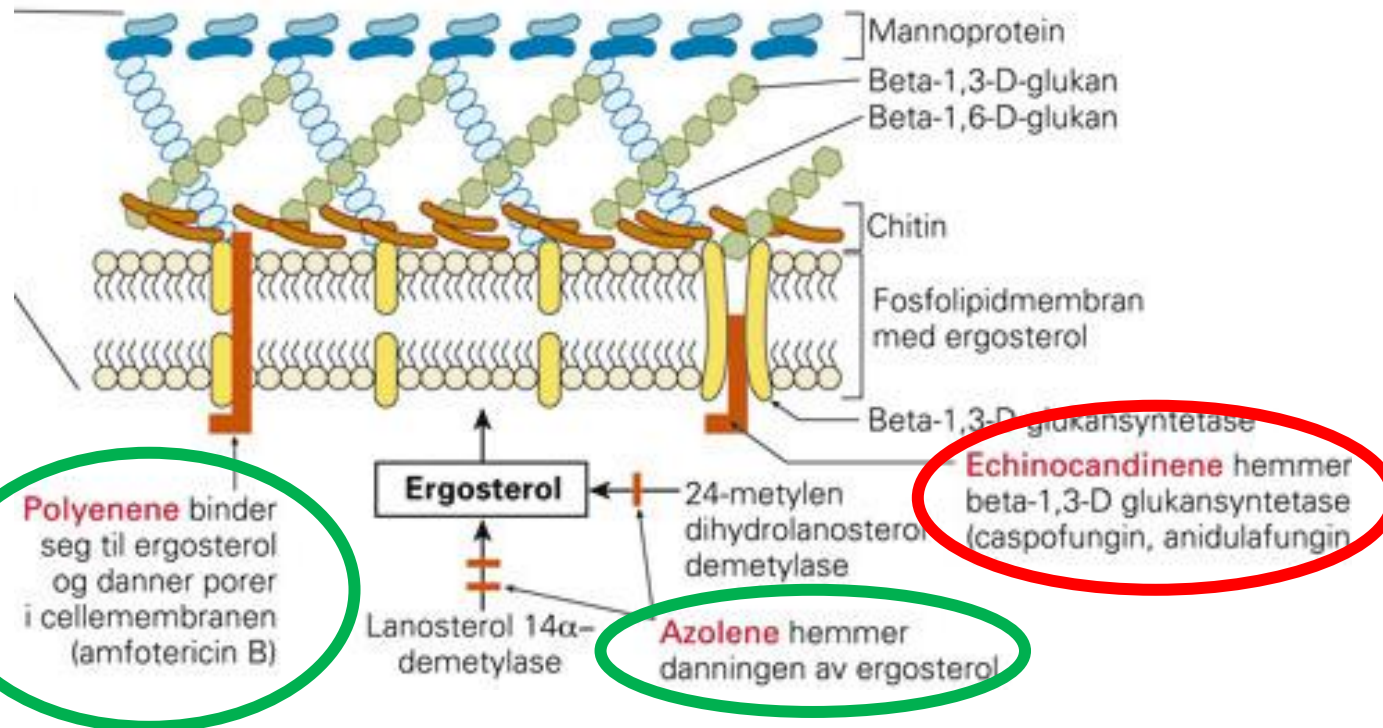
Høyest forbruk av flukonazol utenfor sykehus

Antimykotika til behandling av invasiv sykdom

*Bare 3 antifungale klasser
+ den uregistrerte
nukleosidanalogen flucytocin*

1. Polyener
 - Amphotericin B (ulike formuleringer)
2. Azoler
 - Itrakonazol
 - Flukonazol
 - Vorikonazol
 - Posakonazol
 - Isavukonazol
3. Echinocandiner
 - Caspofungin
 - Micafungin
 - Anidulafungin
 - Rezafungin

Antimykotika



Antimykotiske midler

- interfererer med soppens stadige vedlikehold eller nydanning av
 1. **cellemembranen**
 2. eller **celleveggen**
- Målet for moduleringen:
 1. **Ergosterolsyntesen** for oppbygging av soppens cellemembran
 2. **Beta-1,3-D-glukan** i celleveggen
- Resultatet blir
 1. drap av soppen (fungicid effekt)
 2. eller hemming av videre vekst (fungistatisk effekt)

Resistensmekanismer hos sopp

- I prinsippet de samme som dem man ser hos bakteriene
- Soppen kan
 - endre målmolekylet
 - nedsette permeabiliteten i cellemembranen
 - oppregulere efflukspumper
- Men produksjon av enzymer som inaktiverer medikamenter er foreløpig *ikke* dokumentert hos sopp

Flukonazol

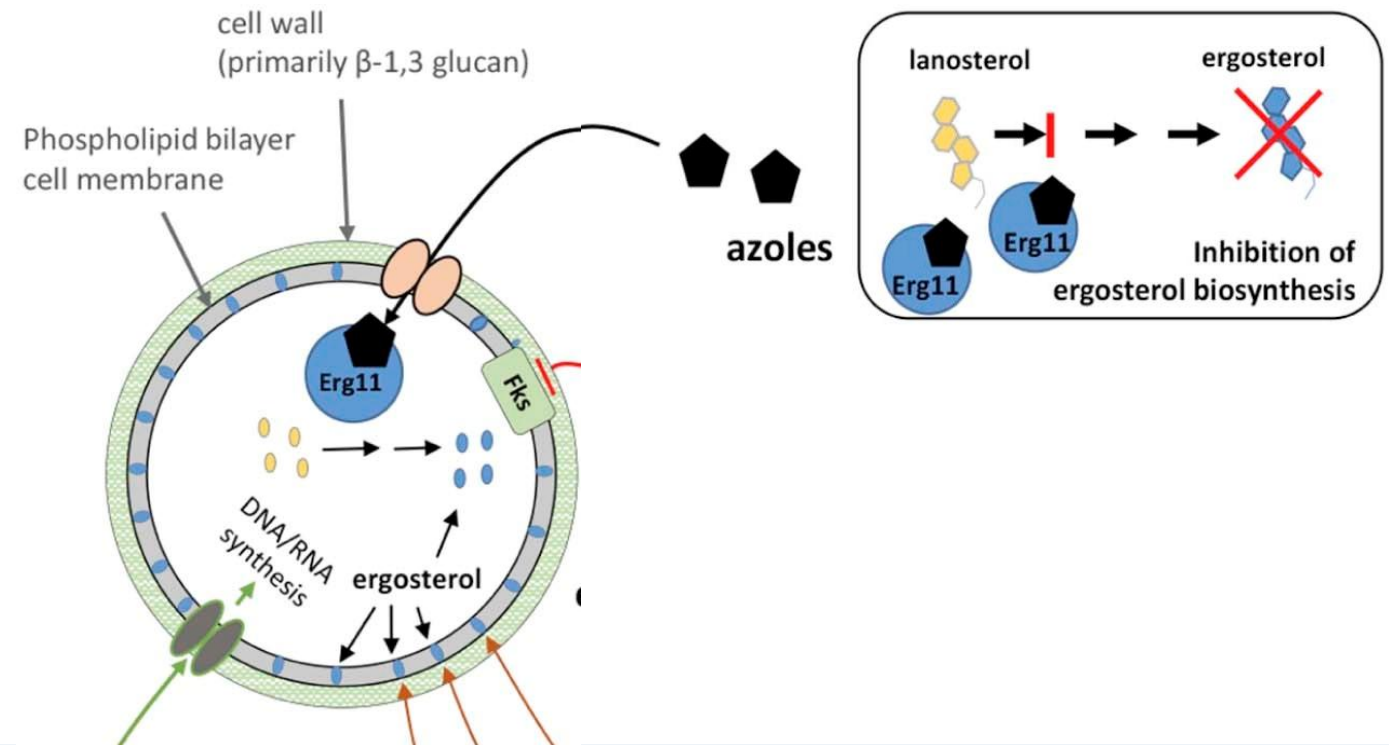
- Fungistatisk effekt på mange gjærsopp
- Flere candidaarter er naturlig azolresistente
 - *C.krusei*, *C.guilliermondii*, *C.norvegiensis* og *C.inconspicua*
 - *C glabrata* har redusert følsomhet eller er resistent mot flukonazol
- Alle muggsopp er resistente mot flukonazol

Ervervet flukonazolresistens

- Beskrevet etter gjentatt eller langvarig behandling med flukonazol hos pasienter med AIDS (øsofagitt)
- Sjelden ved candidemi
 - Mister "fitness"
- 3 hovedgrupper av resistensmekanismer mot azoler hos *Candida*:
 - endring eller overekspresjon av målmolekyl
 - nedsatt permeabilitet i cellemembranen
 - oppregulering av efflukspumper
- Ofte er flere resistensmekanismer involvert samtidig

Azolresistens

- Endring i gener;
 - Erg11 gen
- Poreendringer
- Inhibering av RNA/DNA syntesen

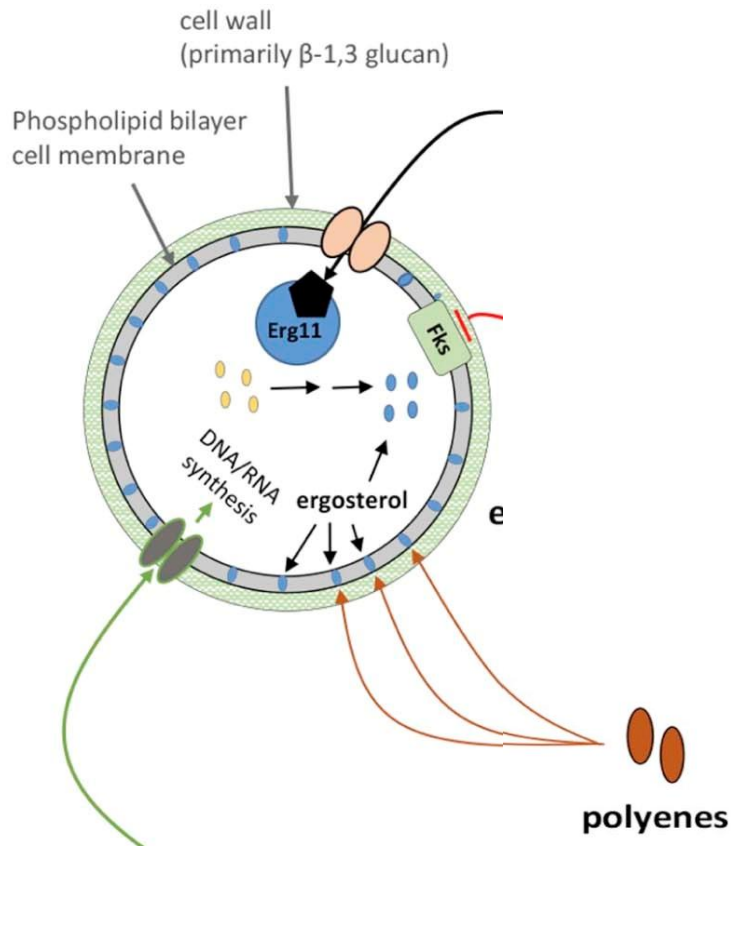


International Journal of Antimicrobial Agents 50 (2017) 599–606

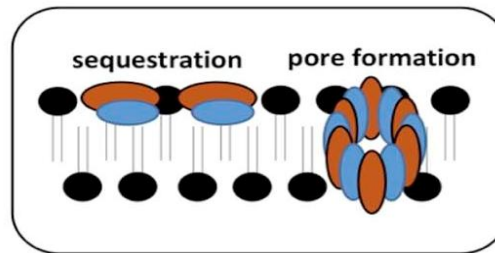
Bredspektrede azoler

- Vorikonazol
 - Fungistatisk mot gjærsopp
 - Fungicid mot *Aspergillus* arter
 - *Mucorales* arter er resistente
 - Ikke definerte brytningspunkt for Candidaarter som er naturlig flukonazolresistente
- Posakonazol
 - bredere spektrum, benyttes mest i profylakse
- Isavuconazol
 - Ingen brytningspunkt for gjærsopp

Amfotericin B



- Midlet binder seg til **ergosterol i soppens fosfolipidmembran**
- Medfører endring i membranpermeabiliteten og lekkasje av celleinnhold
- Fungistatisk eller fungicid effekt avhengig av konsentrasjonen
 - Konvensjonell formulering
 - Liposomal formulering (små fosfolipid«kuler»)



Amfotericin B

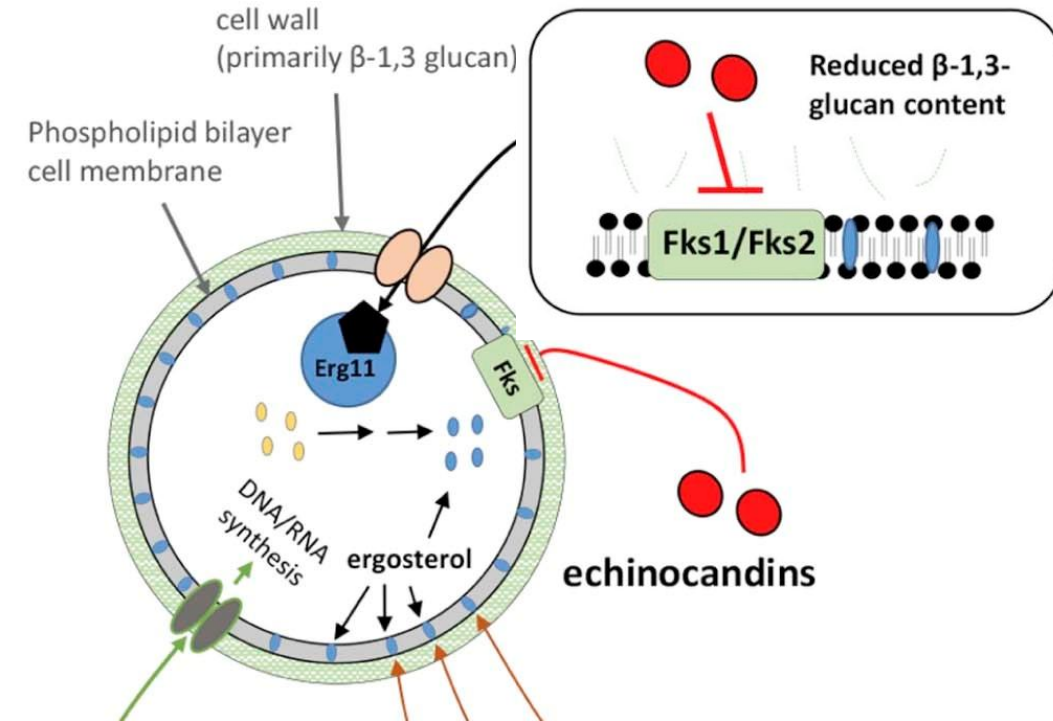
- Antimykotisk spektrum
 - De fleste stammene av *Candida*, *Aspergillus* og kryptokokker har MIC ≤ 1 mg/l
 - *C.auris* MIC >1 mg/l = I; krever høyere dose ved behandling
 - Bredeste spekter
- Resistens
 - Primært resistente stammer forekommer sjelden
 - *C.lusitaniae*
 - *A.terreus*
 - Resistens kan utvikles under behandling, men selv det er sjeldent

Echinocandiner

- Hemmer syntesen av beta-1,3-D-glukan som finnes i celleveggen i de fleste sopparter
- Midlene har fungicid effekt på candidaarter og fungistatisk effekt på *Aspergillus* og noen andre sopper.
 - Anidulafungin
 - Micafungin
 - Caspofungin
 - Rezafungin (fortsatt uregistrert i Norge)
- Kryptokokker og *Mucorales*-arter er naturlig resistente
 - (har lite betaglukan i celleveggen)

Echinocandinresistens

- Echinocandiner får ikke festet seg på målmolekylet
- Hos Candida;
 - mutasjoner i FSK1 eller FKS2-genet, som koder for en subenhet av glukansyntetase
- Avhengig av mutasjon pan-echinocandinresistens (vanligst) eller resistens mot enkeltmidler



Hvilke isolat skal resistensbestemmes?

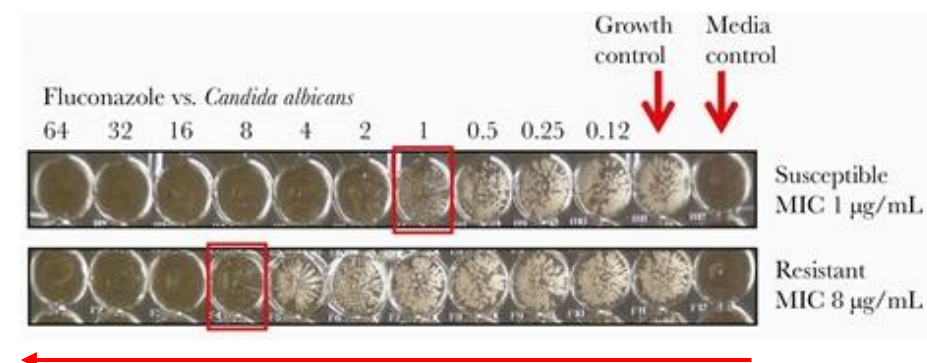
- *Gjærsoppisolat fra normalt sterile områder og blod*
- I tillegg anbefales å vurdere resistensbestemmelse av
 - Koloniserende flora ved invasive infeksjoner uten oppvekst i blod
 - Gjærsopp ved slimhinneinfeksjoner *ved behandlingssvikt*
 - Gjærsoppisolat som vurderes som *klinisk relevante hos pasienter eksponert for antifungale midler*
- *Muggsoppisolat fra pasienter med invasiv infeksjon eller som skal settes på soppbehandling*

Metoder

- Referansemetode = Gullstandard
 - Buljongfortynning i mikrotiterplate
 - EUCAST
 - CLSI
- Kommersielle
 - Agarbaseret
 - Disk diffusjon med lapper
 - Agardiffusjon med MIC gradient test
 - Mikrodilusjon/Buljongfortynning

Referansemetodene

- EUCAST og CLSI buljongfortynning er IKKE identiske
 - Ulik glukosekonsentrasjon, ulikt inokulat, ulik form på brønn, ulik definisjon MIC/endepunktavlesning
 - Ulike brytningspunkt
- Det har foregått et omfattende harmoniseringsarbeid
- **Resultatet** av resistensbestemmelsen/den **endelige følsomhetskategoriseringen** er, med noen unntak, **uavhengig av hvilken av de 2 referansemetodene som benyttes**



Konsentrasjon µg/mL

CLSI metoden for flukonazol

Øverst flukonazol følsom *C. albicans*

Nederst flukonazol resistent *C. albicans*

EUCAST referansemetode

- Buljongfortynning i mikrotiterplate
- Visuell eller automatisert avlesning
- Metoden er arbeidsintensiv og lite hensiktsmessig til bruk i rutinelaboratoriene
- Ikke brytningspunkt for caspofungin (i motsetning til CLSI metoden) og midlet er nå fjernet fra EUCAST oppsettet
- Endepunktavlesning
 - Amfotericin B ≥ 90 % (CLSI 100 %) reduksjon av vekst
 - Azoler , echinocandiner og flucytocin ≥ 50 %



MIC range fra okt 2023;

Amfotericin B 0.004-4 (mg/L)

Flukonazol 0.03-32

Itrakonazol 0.004-4

Vorikonazol 0.004-4

Posakonazol 0.004-4

Anidulafungin 0.004-4

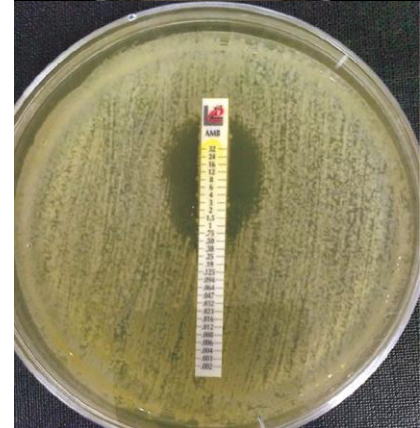
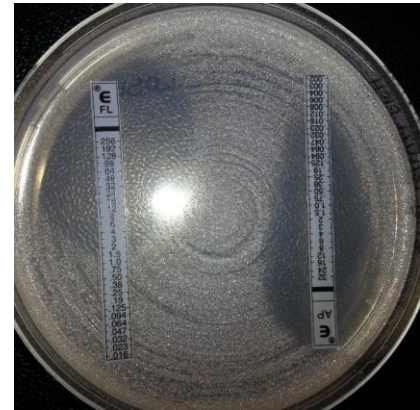
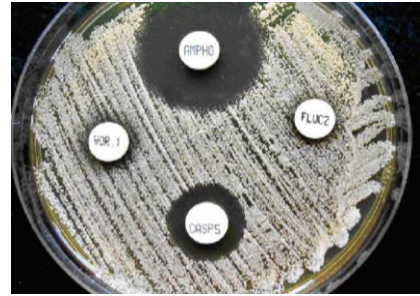
Micafungin 0.004-4

Rezafungin" 0.008-8 + 0.0002-0.25 (to rader)

Flucytosin 0.016-16

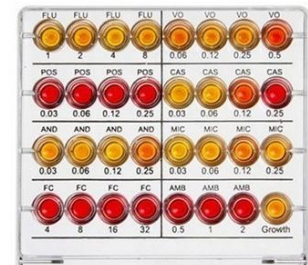
Kommersielle

- Kommersielle metoder for resistensbestemmelse av sopp er stort sett gode til å påvise resistens
 - men det er vanligvis få resistente stammer i utprøvingen av testene
- Agarbaserte
 - Disk diffusjon med lapper
 - NeoSensitabs®
 - ROSCO brukes lite eller ikke i Norge
 - Agardiffusjon med MIC gradient test
 - E-Test® bioMérieux
 - MIC strips® Liofilchem



Kommersielle testsystem basert på buljongfortynning

- Inkorporert fargeomslag i mediet for visuell eller spektrometrisk avlesning
 - Semi-automatisert avlesning reduserer problemet med subjektiv vurdering av endepunkt
 - Utvalget av antifungale midler og MIC "range" er gitt, men noen produsenter tilbyr å lage etter behov)
 - For noen drug-bug kombinasjoner er det, avhengig av hvilket testsystem som benyttes, ikke i harmonisert med aktuelle EUCAST brytningspunkt
 - Ulik grad av utprøving/publikasjoner for ulike tilbydere.
-
- **Sensititre YeastOne®** (TREK Diagnostic Systems)
 - Fungitest® (BioRad)
 - Micronaut® (MERLIN Diagnostika)
 - SensiQuattro Candida EU® (Liofilchem)
 - Vitek® (BioMérieux)



CLSI “oppskrift” og brytningspunkt

Sensititre YeastOne®



Anidulafungin konsentrasjon µg/mL
MIC=1 µg/mL

Sensititre YeastOne CE YO10**** Plate					
Code	Antimicrobial	Range	Code	Antimicrobial	Range
AND	Anidulafungin	0.015-8	IZ	Itraconazole	0.015-16
AB	Amphotericin B	0.12-8	MF	Micafungin	0.008-8
CAS	Caspofungin	0.008-8	PZ	Posaconazole	0.08-8
FZ	Fluconazole	0.12-256	VOR	Voriconazole	0.008-8
FC	5-Flucytosine	0.06-64			

Resistensbestemmelse av sopp

- **Ulike faktorer kan influere på resultatet**
 - Valg av medium
 - Glukosekonsentrasjon, tykkelse og pH på mediet
 - Oppbevaring av medier/strips/mikrotiterplater
 - Tillaging av inokulat
 - Inokulatets tetthet
 - Inkubasjonstid
 - Inkubasjonstemperatur
 - Valg av kriterium for avlesning av endepunkt
 - Visuell vs spektrometrisk avlesning
 - «Trailing»
 - Valg av brytningspunkt CLSI/EUCAST

Naturlig (primær) resistens hos *Candida spp* overfor midler til systemisk bruk

	Flukonazol	Vorikonazol	Amfotericin B	Anidulafungin	Micafungin
<i>C. albicans</i>	S	S	S	S	S
<i>C. glabrata</i>	I	IE	S	S	S
<i>C. parapsilosis</i>	S	S	S	S	S
<i>C. tropicalis</i>	S	S	S	S	IE
<i>C. dubliniensis</i>	S	S	S	S	S
<i>C. krusei</i>	R*	IE	S	S	IE

IE; Det er ikke satt brytningspunkt pga manglende evidens.

* EUCAST anbefaler ikke testing

Brytningspunkt for sopp

Antifungal agent	MIC breakpoint (mg/L)																		Doses for the I category	
	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida auris</i>		<i>Candida dubliniensis</i>		<i>Candida glabrata</i>		<i>Candida krusei</i>		<i>Candida parapsilosis</i>		<i>Candida tropicalis</i>		<i>Candida guilliermondii</i>		<i>Cryptococcus neoformans</i>			
	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >		
Amphotericin B	1	1	0.001 ¹	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5 mg/kg
Anidulafungin	0.016	0.016	0.25	0.25	0.03	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	4	4	0.06	0.06	IE	IE	-	-		
Caspofungin	Note ²	Note ²	IE	IE	IE	IE	Note ²	Note ²	Note ²	Note ²	Note ²	Note ²	Note ²	Note ²	IE	IE	-	-		
Fluconazole	2	4	Note ³	Note ³	2	4	0.001 ⁴	16	-	-	2	4	2	4	IE ⁵	IE ⁵	IE	IE	800 mg x 1 iv/oral (or 12 mg/kg)	
Isavuconazole	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE		
Itraconazole	0.06	0.06	IE	IE	0.06	0.06	IE ⁵	IE ⁵	IE ⁵	IE ⁵	0.125	0.125	0.125	0.125	IE ⁵	IE ⁵	IE	IE		
Micafungin	0.03	0.03	0.25	0.25	0.06	0.06	0.06	0.06	IE ⁶	IE ⁶	4	4	0.06	0.06	IE ⁵	IE ⁵	-	-		
Posaconazole	0.06	0.06	IE	IE	0.06	0.06	IE ⁵	IE ⁵	IE ⁵	IE ⁵	0.06	0.06	0.06	0.06	IE ⁵	IE ⁵	IE	IE		
Rezafungin⁷	0.008	0.008	IE	IE	0.016	0.016	0.016	0.016	0.03	0.03	4	4	0.03	0.03	IE	IE	-	-		
Voriconazole	0.06	0.25 ⁷	IE	IE	0.06 ⁷	0.25 ⁷	IE ⁵	IE ⁵	IE ⁵	IE ⁵	0.125	0.25	0.125 ⁸	0.25 ⁸	IE	IE	IE	IE	4 mg/kg iv twice daily	

EUCAST har etablert brytningspunkt for de hyppigst forekommende gjærsopp og de fleste soppmidler

-unntatt isavukonazol

[Clinical breakpoints for fungi v. 12.0](#) valid from 26 June, 2025

Nye navn på flere *Candida* spp er foreløpig ikke implementert

Følsomhetskategorisering

- EUCAST eller CLSI?
- Sjekk drug-bug kombinasjoner med den testen dere velger
 - Før en kommersiell test tas i bruk må den valideres!
 - ikke alle "drug-bug" kombinasjoner fungerer like godt for alle testene
 - Godt beskrevet i *C.auris* artikkelen
 - The modal MICs for all six species should be within ± 1 dilution of the mode for each drug-bug combination found in the EUCAST rationale documents, available on the EUCAST website (https://www.eucast.org/astoffungi/rationale_documents_for_antifungals/).

Hva når det *ikke* foreligger brytningspunkt?

- [Overview of antifungal ECOFFs and clinical breakpoints for yeasts and moulds](#) - valid from 26 June 2025.
- [Interpretation of MICs for rare yeast without breakpoints in breakpoint tables](#) valid from 19 Sept. 2024
- Ligger MIC verdien over den som er angitt i tabellen må stammen antas å være og rapporteres som resistent mot det aktuelle middel

Table 2. Alphabetic species-specific recommendation for EUCAST MIC interpretation for rare yeast without breakpoints. Provided the MIC is confirmed to be below the value indicated the report should be as indicated according to colour below the table, whereas values above should be reported as R.

	Amphotericin B	Anidulafungin	Fluconazole	Voriconazole
<i>Arxula (Blastobotrys)</i>				
<i>A. adenivorans</i> , (<i>B. adenivorans</i>)	≤ 1	≤ 0.5	R	R
<i>Candida</i>				
<i>C. bovina</i>	≤ 1		≤ 16	
<i>C. fermentati</i>	≤ 1	≤ 1?	≤ 16	≤ 0.125
<i>C. guilliermondii</i>	≤ 1	≤ 1?	≤ 16	≤ 0.125
<i>C. inconspicua</i>	≤ 1	≤ 0.06	R	≤ 1?
<i>C. intermedia</i>	≤ 1	≤ 0.125 [^]	≤ 2	≤ 0.03
<i>C. kefyr</i>	≤ 1	≤ 0.125 [^]	≤ 2	≤ 0.03
<i>C. lipolytica</i>	≤ 1	≤ 0.5	R	≤ 0.125
<i>C. lusitaniae</i>	R	≤ 0.125 [^]	≤ 2	≤ 0.03
<i>C. magnoliae</i>	≤ 1	≤ 0.5	R	
<i>C. metapsilosis</i>	≤ 1	≤ 0.5	≤ 2	≤ 0.03
<i>C. nivariensis</i>	≤ 1	≤ 0.06	≤ 16	≤ 0.125
<i>C. norvegensis</i>	≤ 1	≤ 0.06	R	≤ 1?
<i>C. orthopsilosis</i>	≤ 1	≤ 0.5	≤ 2	≤ 0.03
<i>C. palmioleophila</i>	≤ 1	≤ 0.125 [^]	≤ 16	≤ 0.125
<i>C. pararugosa</i>	≤ 1	≤ 0.5	≤ 16	
<i>C. pelliculosa</i>	≤ 1	≤ 0.06	≤ 16	≤ 0.125
<i>C. utilis</i>	≤ 1	≤ 0.06	≤ 2	≤ 0.125
<i>Cryptococcus</i>	≤ 1	R		
<i>C. neoformans</i>	≤ 1	R	≤ 16*	≤ 0.5
<i>Geotrichum</i>	≤ 1	R		
<i>G. candidum</i>	≤ 1	R	R	≤ 1? "
<i>L. elongisporus</i>	≤ 1	≤ 0.06	≤ 2	≤ 0.03
<i>Magnusiomyces</i>	≤ 1	R		
<i>M. capitatus</i> , <i>M. clavatus</i>	≤ 1	R	R	≤ 1? "
<i>Pichia kluyveri</i>	≤ 1	≤ 0.06	R	≤ 1?
<i>Rhodotorula</i>	≤ 1	R		
<i>R. mucilaginosa</i>	≤ 1	R	R	R
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	≤ 1	≤ 0.5	≤ 16	≤ 0.125
<i>Trichosporon</i>	R *	R		
<i>T. asahii</i>	R *	R	≤ 16"	
<i>T. dermatis</i>	R *	R	≤ 16'	≤ 0.125 '

[^]Repeat MIC ≤ 0.125 or absence of *fkS* mutations

'1st line (guideline recommendation [1,2])

"1st line alternative (guideline recommendation [1,2])

*2nd line therapy (guideline recommendations [1,2])

"?" Formal categorising of the susceptibility of the organism is not possible. An MIC below the indicated value suggests the organism is wild-type, but there is insufficient data allow susceptibility interpretation.

Formal categorising of the susceptibility of the organism is not possible. A cautious interpretation suggests that the agent may be considered for therapy

Formal categorising of the susceptibility of the organism is not possible. A cautious interpretation suggests that the agent may be considered for therapy for the following situations: 1) non-severe infection, 2) elevated dose, 3) oral consolidation, 4) no better option

"R": report as R (resistant).

Hvordan rapportere når S-I-R ikke er definert?

- Referanselaboratoriet svarer ut aktuell MIC verdi med kommentar
 - «Det er ikke etablert brytningspunkter for denne gjærsoppen og følsomhetskategorisering er ikke mulig».
 - Så i hht tabell punkt 1-4;

1. Erfaring tilsier at stamme med aktuell MIC verdi kan behandles med
2. Erfaring tilsier at følgende midlerkan vurderes i følgende situasjoner;
i. ved behandling av ikke- alvorlige infeksjoner ii. med økt dosering iii. som oral konsolidering iv. dersom ikke andre muligheter foreligger.
3. Isolatet tolkes som resistent (R) mot..... Eller
4. Aktuell MIC verdi tilsier at isolatet tilhører vill-typen, men den ligger høyere enn for vanlige Candidaarter og tolkning og behandlingsanbefaling med følgende midler..... er ikke mulig.

Table 1. Overview of interpretation of MICs for rare yeast sorted by susceptibility group.

Amphotericin B	Anidulafungin	Fluconazole	Voriconazole
REPORT: "Formal categorising of the susceptibility of the organism is not possible. A cautious interpretation suggests that the agent may be considered for therapy" when...			
<u>Confirmed MIC ≤1:</u> <i>Candida</i> spp. except <i>C. lusitaniae</i>	<u>Confirmed MIC ≤ 0.06:</u> <i>C. inconspicua</i> <i>C. nivariensis</i> <i>C. norvegensis</i> <i>C. pelliculosa</i> <i>C. utilis</i> <i>L. elongisporus</i> <i>P. kluyveri</i>	<u>Confirmed MIC ≤2:</u> <i>C. intermedia</i> <i>C. kefyr</i> [MIC ≤1] <i>C. lusitaniae</i> <i>C. metapsilosis</i> <i>C. orthopsilosis</i> <i>C. utilis</i> <i>L. elongisporus</i>	<u>Confirmed MIC ≤0.03:</u> <i>C. intermedia</i> <i>C. kefyr</i> <i>C. lusitaniae</i> <i>C. metapsilosis</i> <i>C. orthopsilosis</i> <i>L. elongisporus</i>
Rare yeasts <i>Trichosporon</i> spp. (2 nd line)	<u>Repeat MIC ≤ 0.125 or absence of <i>fks</i> mutations</u> <i>C. intermedia</i> <i>C. lusitaniae</i> <i>C. palmioleophila</i> <i>C. kefyr</i>		
REPORT: "Formal categorising of the susceptibility of the organism is not possible. A cautious interpretation suggests that the agent may be considered for therapy for the following situations: 1) non-severe infection, 2) elevated dose, 3) oral consolidation, 4) no better option" When ...			
	<u>Confirmed MIC 0.125 -0.5:</u> →consider use in some situations (for ex. less severe infections, when no better option is available) <i>C. lipolytica</i> <i>C. magnoliae</i> <i>C. metapsilosis</i> <i>C. orthopsilosis</i> <i>C. pararugosa</i> <i>S. cerevisiae</i> <i>A. adenivorans</i>	<u>Confirmed MIC 2-16:</u> →consider use in some situations (increased dosage and less severe infections) <i>C. fermentati</i> <i>C. nivariensis</i> <i>C. pararugosa</i> <i>C. pelliculosa</i> <i>C. guilliermondii</i> <i>C. palmioleophila</i> <i>C. bovina</i> <i>T. dermatitis</i> (1 st line Alt) <i>Cr. neoformans</i> (2 nd line) <i>S. cerevisiae</i> <i>T. asahii</i> (1 st line Alt)	<u>Confirmed MIC 0.06-0.125:</u> →consider use in some situations (TDM confirmed sufficient exposure, less severe infections or when no better option is available) <i>C. fermentati</i> <i>C. guilliermondii</i> <i>C. lipolytica</i> <i>C. nivariensis</i> <i>C. palmioleophila</i> <i>C. pelliculosa</i> <i>C. utilis</i> <i>S. cerevisiae</i> <i>Cr. neoformans</i> [MIC ≤0.5] <i>T. dermatitis</i> (1 st line)
REPORT: "R" when indicated below. For the others, report: "Formal categorising of the susceptibility of the organism is not possible. An MIC in the indicated range suggests the organism is wild-type, but MICs are higher than for common <i>Candida</i> spp. and there is insufficient data to allow interpretation.			
<u>Confirmed MIC >1:</u> Any isolate →regard resistant	<u>Repeat MIC 0.5-1</u> No evidence that allows recommendation <i>C. fermentati</i> <i>C. guilliermondii</i> <u>Repeat MIC ≥1:</u> →Report as R <i>Cryptococcus</i> <i>Trichosporon</i> , <i>Magnusiomyces</i> , <i>Geotrichum</i> and <i>Rhodotorula</i> (Against due to intrinsic resistance)	<u>Confirmed MIC >16</u> →Report as R <i>C. inconspicua</i> <i>C. lipolytica</i> <i>C. magnoliae</i> <i>C. palmioleophila</i> <i>C. norvegensis</i> <i>P. kluyveri</i> <i>G. candidum</i> <i>R. mucilaginosa</i> <i>M. capitatus</i> <i>M. clavatus</i> <i>A. adenivorans</i>	<u>Confirmed MIC 0.25-1:</u> No evidence that allows recommendations <i>C. inconspicua</i> <i>C. norvegensis</i> <i>P. kluyveri</i> <i>M. capitatus</i> (1 st line Alt) <i>G. candidum</i> (1 st line Alt) <u>Confirmed MIC testing ≥ 2</u> →Report as R <i>A. adenivorans</i> <i>R. mucilaginosa</i> (Against)

Recommendations in parenthesis derive from the clinical guidelines [1,2]. Alt: alternative.



Resistant *Candida (Candidozyma) auris*

NARRATIVE REVIEW [Volume 32, Issue 1](#) P56-61 January 2026

- Merk ingen anbefaling for Flukonazol
 - de fleste stammer vil ha MIC >16 mg/L og flere resistensmekanismer påvist
- Amfotericin villtype = I og må behandles med høyere dose (5 mg/kg)

Table 2
European committee on antimicrobial susceptibility testing breakpoints for *C auris*

	S: ≤	R: >
Amphotericin B	0.001 ^a	2
Anidulafungin	0.25	0.25
Micafungin	0.25	0.25
Rezafungin	IE ^b	IE
Flucytosine	IE ^b	IE

Narrative review

How to interpret MICs of amphotericin B, echinocandins and flucytosine against *Candida auris* (*Candidozyma auris*) according to the newly established European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) breakpoints

Maiken Cavling Arendrup^{1,2,3,*}, Jesus Guinea^{4,5,6,7}, Sevtap Arikan-Akdagli⁸, Eelco F.J. Meijer^{9,10,11}, Jacques F. Meis^{10,12}, Jochem B. Buil^{10,11}, Eric Dannaoui^{13,14}, Christian G. Giske^{15,16}, Pavlina Lyskova¹⁷, Joseph Meletiadis¹⁸ on behalf of the Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing*

¹ Unit of Mycology, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark

² Department of Clinical Microbiology, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark

³ Department of Clinical Medicine, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark

⁴ Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁵ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁶ CIBER Enfermedades Respiratorias-CIBERES, Madrid, Spain

⁷ HM Hospitals, Universidad Camilo José Cela, Madrid, Spain

⁸ Department of Medical Microbiology, Mycology Unit, Hacettepe University Medical School, Ankara, Türkiye

⁹ Department of Medical Microbiology and Immunology, Canisius-Wilhelmina Hospital (CWZ)/Dicon, Nijmegen, The Netherlands

¹⁰ Radboudumc-CWZ Center of Expertise for Mycology, Nijmegen, The Netherlands

¹¹ Department of Medical Microbiology, Radboud University Medical Center, Nijmegen, The Netherlands

¹² Institute of Translational Research, Excellence Center for Medical Mycology, University of Cologne, Cologne, Germany

¹³ Parasitology-Mycology Unit, Department of Microbiology, Necker Enfants-Malades Hospital, APHP, Paris, France

¹⁴ Paris-Cité University, Paris, France

¹⁵ Division of Clinical Microbiology, Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

¹⁶ Department of Clinical Microbiology, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

¹⁷ Department of Medical Microbiology Prague and Kladno, Public Health Institute in Ústí nad Labem, Prague, Czech Republic

¹⁸ Clinical Microbiology Laboratory, Attikon University Hospital, National & Kapodistrian University of Athens, Greece

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 March 2025

Received in revised form

23 May 2025

Accepted 3 July 2025

Available online 11 July 2025

Editor: A. Alastruay-Izquierdo

Keywords:

Amphotericin B

Antifungal

Breakpoint

Candida

Candida auris

Echinocandins

ABSTRACT

Background: *Candida auris* (*Candidozyma auris*) has emerged as an important pathogen across all continents, with clonal outbreaks and hospital transmissions. Most isolates are fluconazole resistant, and variable resistance rates are reported for amphotericin B and echinocandins.

Objectives: This study aimed to present an overview of the newly established epidemiological cut-off values (ECOFFs) and antifungal breakpoints against *C. auris* and the supporting evidence.

Sources: This document is based on the recently updated European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rationale documents, clinical breakpoint, and ECOFF documents.

Content: An alternative approach was adopted for ECOFF setting of *C. auris* to avoid MIC distributions dominated by isogenic outbreak strains. A carefully selected strain collection of 30 isolates from 11 countries, representing five clades and 21 unique genotypes, was shared among five individual laboratories. MICs were determined with the EUCAST E.Def 7.4 methodology, providing five non-clonal datasets well above the required ≥100 total MICs per drug. Available PK-PD and clinical data were reviewed.

Implications: The following ECOFFs and breakpoints were established for *C. auris*: amphotericin B: ECOFF: 2 mg/L, S: ≤0.001 mg/L, R: >2 mg/L; implying that the entire wild-type distribution is sus-

Corresponding author: Maiken Cavling Arendrup, Unit for Mycology, Statens Serum Institut, Building 45/112, Artillerivej 5, DK-2300, Copenhagen S, Denmark.

E-mail address: maca@ssi.dk (M.C. Arendrup).

* Full list of the members of the Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) in the Appendices.

<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2025.07.002>

1198-743X/© 2025 The Authors. Published by Elsevier Ltd on behalf of European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Følsomhetskategorisering

- EUCAST eller CLSI?
- Sjekk drug-bug kombinasjoner med den testen dere velger
 - Før en kommersiell test tas i bruk må den valideres!
 - ikke alle "drug-bug" kombinasjoner fungerer like godt for alle testene
 - Godt beskrevet i *C.auris* artikkelen
 - The modal MICs for all six species should be within ± 1 dilution of the mode for each drug-bug combination found in the EUCAST rationale documents, available on the EUCAST website (https://www.eucast.org/astoffungi/rationale_documents_for_antifungals/).

På kurset demonstrasjon av MIC gradient test avlesning

Materiale

Gjærsoppisolat fra SAB-agar.

Reagenser

Saltvann (0,85% NaCl)

RPMI-skåler

MIC gradienttest stimler (Etest AB BioMerieux)

Utstyr

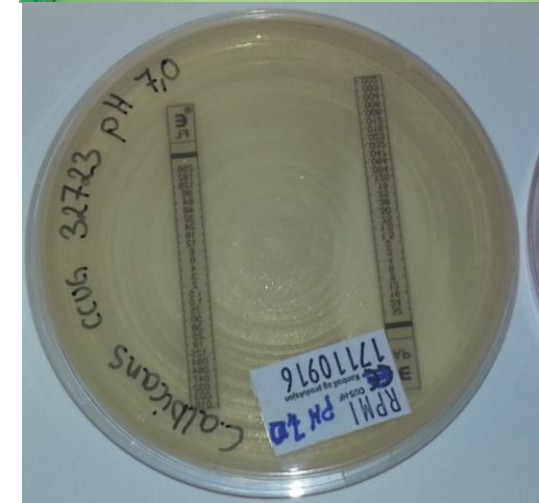
Sterile bomullspensler

Sterile reagensrør

Sterile engangspipetter

Densichek

Rotator

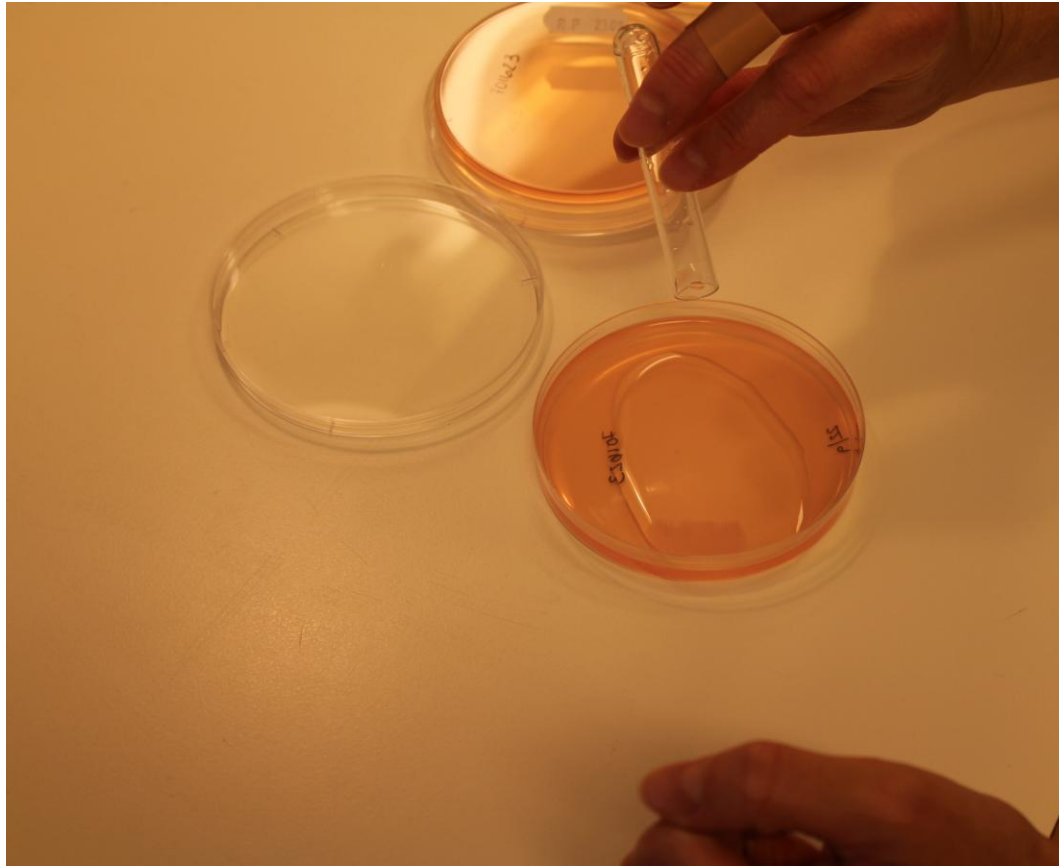


Resistensbestemmelse av gjærsopp



- RPMI skål
- 5 kolonier fra SAB
- suspensjonen justeres ved hjelp av densichek
 - Candida 0.5 McF
 - Cryptokokker: 1 McF

Resistenbestemmelse av sopp



- Suspensjonen helles utover en temperert RPMI skål.
- Overskytende væske suges opp.
- **(OBS Produsenten anbefaler swabbing)**
- La skålen stå med lokket av til overflaten er tørr, ca 10-15 min.

Resistenbestemmelse av sopp



- Skålen må være tørr før e-testene legges på.
- Inkuber skålene i 24-48 timer ved 35°C i aerob atmosfære i skap med vannbad
- Kontroller settes opp 1 gang/uke

Inkubering

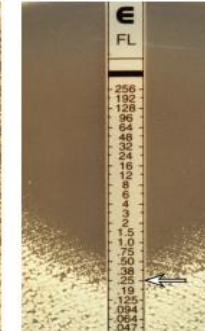
- *Candida* sp. inkuberes i 24-48 t.
 - *Rhodotorula* sp vokser som regel best ved 28 °C.
- Ved god vekst etter 24 timer leses MIC-verdier av
- Skålene reinkuberes i ytterligere 24 timer for å se etter
 - Heteroresistens mot azoler
 - Innvekst av store kolonier i sonene
- Ved svak vekst etter 24 timer leses MIC-verdier av først etter 48 timer.
- *Cryptococcus neoformans* inkuberes i 48-72 t.

Avlesning

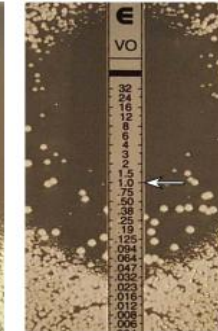
- Se egen avlesningsmanual: "*Etest technical guide 4*"
 - Flukonazol, Vorikonazol, Itrakonazol, Posakonazol leses av ved 80 % hemning.
 - Caspofungin, Anidulafungin og Micafungin leses av ved 80 % hemning.
 - Amfotericin B leses av ved 100 % hemning.
 - Det skal ikke være innvekst av noen kolonier i sonen
- Stammer med sterk innvekst i sonen (trailing) kan lett tolkes som resistente.
- Ved store endringer i MIC-verdi ved kontrollavlesning dag 2 bør man vurdere buljongfortynning



C. albicans – ignore lawn of microcolonies, read at 80% inhibition; 0.19 µg/mL.



C. parapsilosis – trailing microcolonies; 0.25 µg/mL.



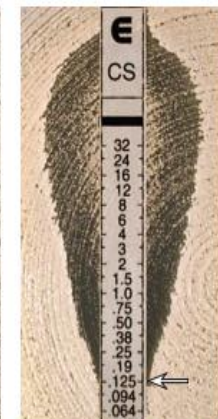
Candida spp. – read all macrocolonies in the ellipse, (potential hetero-resistance); 1 µg/mL.



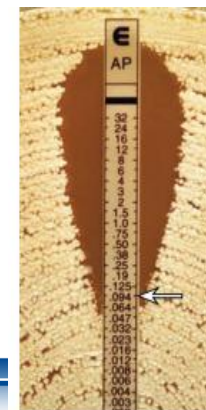
Candida spp. – 80%, ignore microcolonies; 0.012 µg/mL.



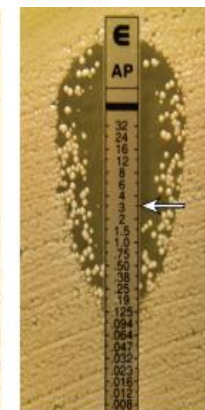
C. albicans – "dip effect" read MIC at bottom of the dip; 0.064 µg/mL.



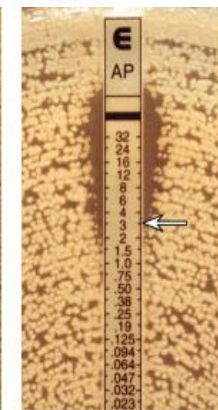
C. tropicalis – ignore regrowth at higher concentrations; 0.125 µg/mL.



Candida spp. – clear endpoint; 0.094 µg/mL.

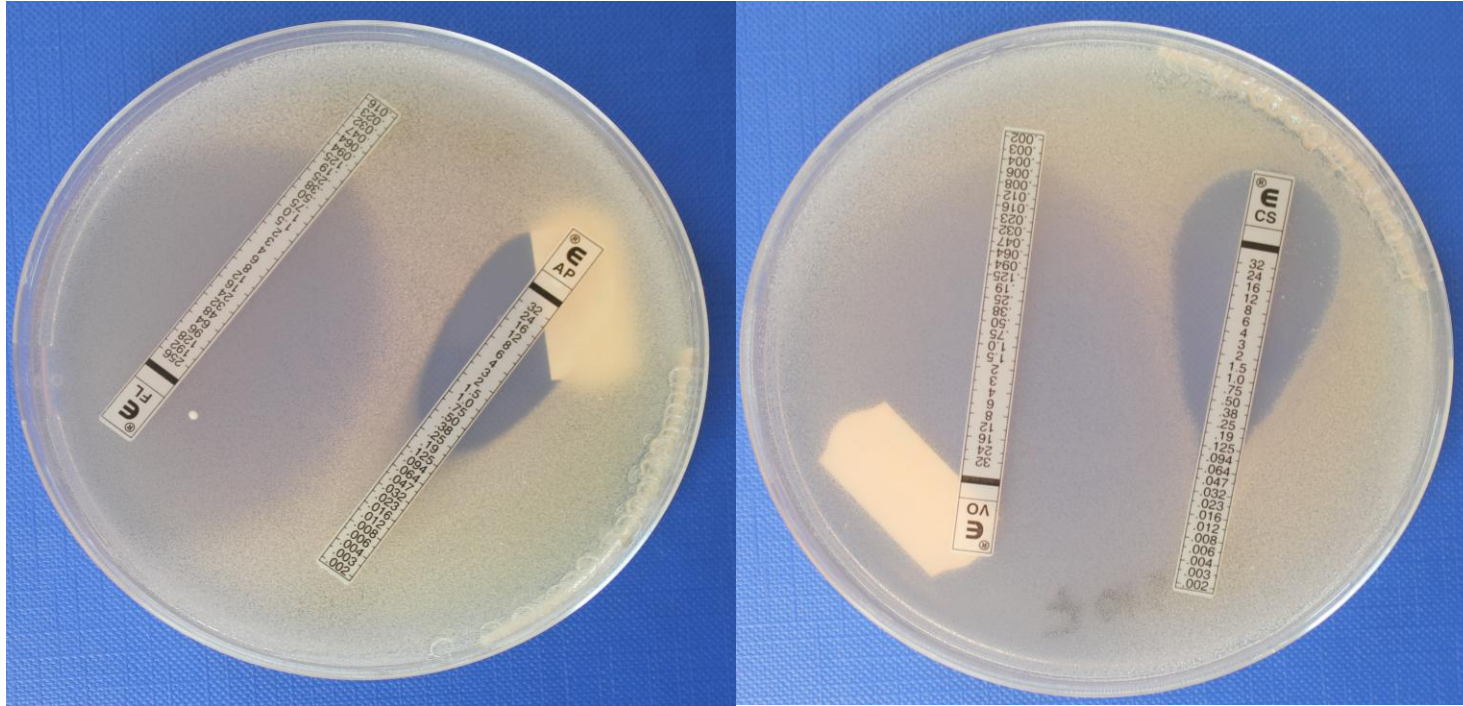


Candida spp. – read at complete inhibition of growth; 3 µg/mL.



Candida spp. – slim ellipse, read all growth and microcolonies; 3 µg/mL.

Avlesning resistensbestemmelse av gjærsopp

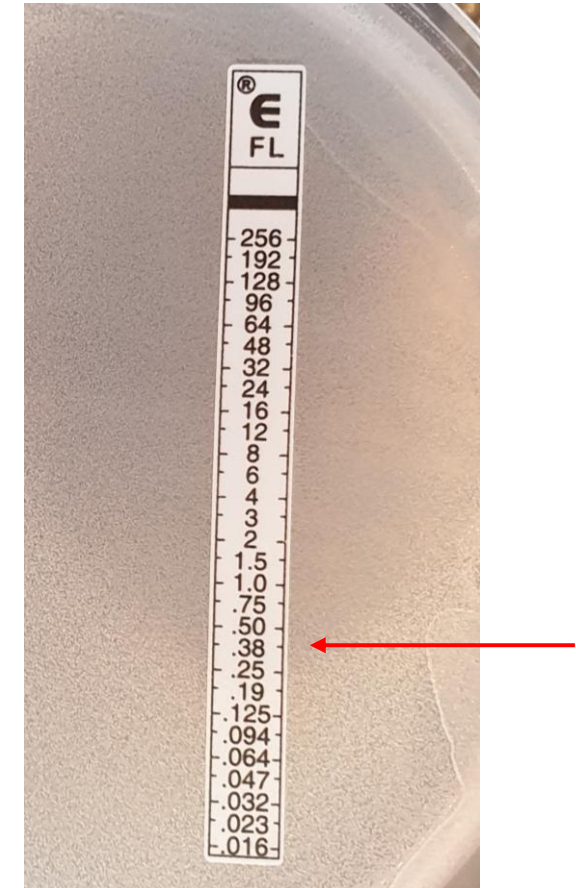


På kurset

- Sammenligne resultatet av resistensbestemmelse med fasit
 - *C.albicans* og *C.krusei*
- Lese av MIC
 - *C.glabrata*
- Beregne *S-I-R*
 - For *C.glabrata*
 - dersom dette var en *C.nivariensis*

Flukonazol

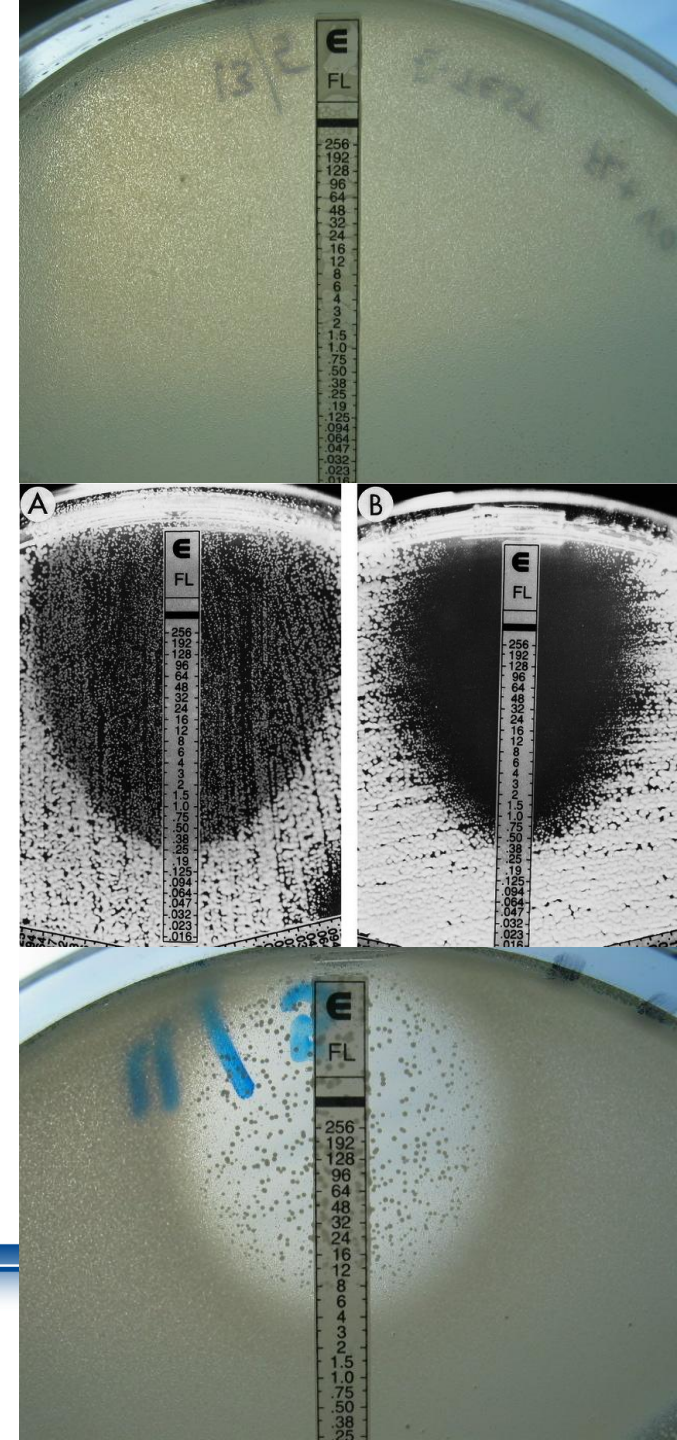
- 80% hemning
- Ulik grad av vekst i sonen
- Sjekk overgangen til mindre vekst
- Sammenlign avlesning med oppgitt fasit for *C.albicans*
- *C.albicans* CCUG 32723 er en stamme med mye "trailing", som benyttes til avlesningskontroll av flukonazol



C.albicans CCUG 32723

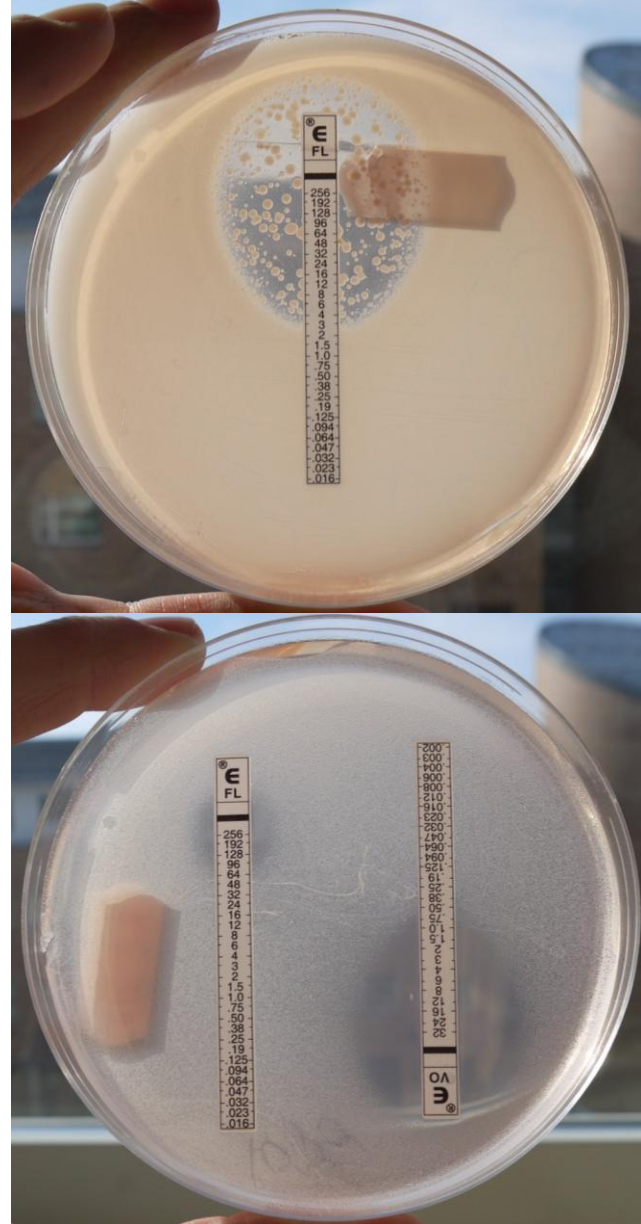
Utfordringer AZOLER

- Resistent?
- "Trailing"?
- Heteroresistens?
- Uren resistensbestemmelse?



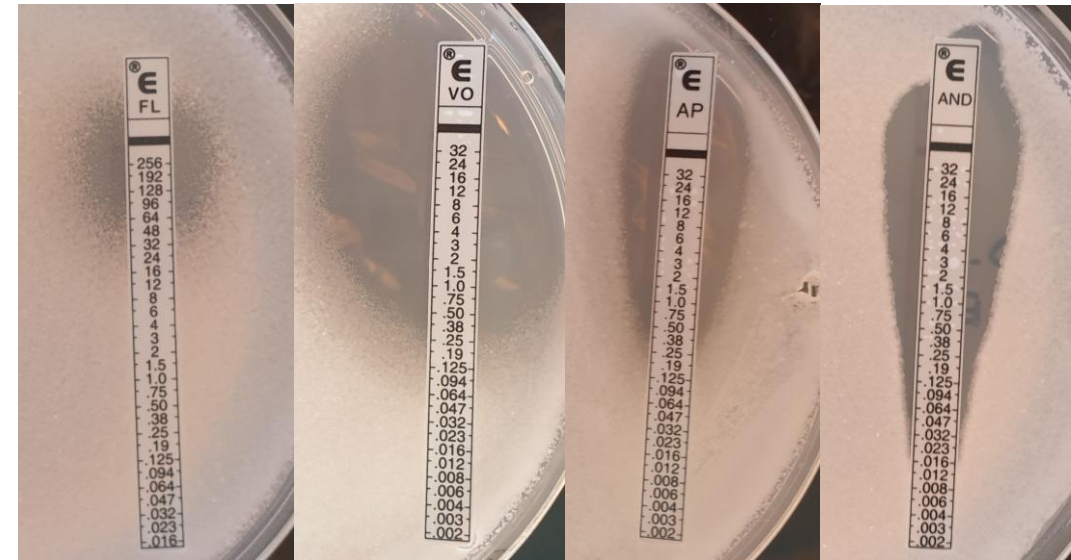
Uren res??

- Hva vokser i sonen?
- Man må gjøre ny ID og ny resistensbestemmelse dersom blandingskultur



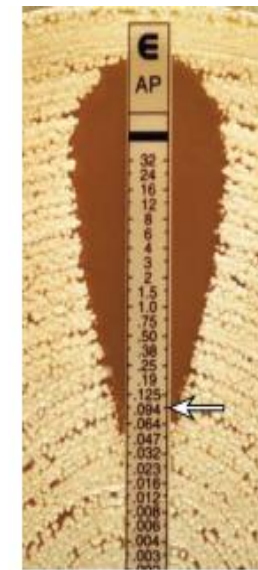
C.krusei

- Alltid Flukonazol R
- Kan være kraftig vekst etter 24 timer
- Ingen brytningspunkt for vorikonazol
- OBS Amfotericin B kan bli >1 dvs «resistent» hvis kraftig vekst
 - Metodebetinget, verifiseres sjelden
- Sammenlign avlesning med oppgitt fasit

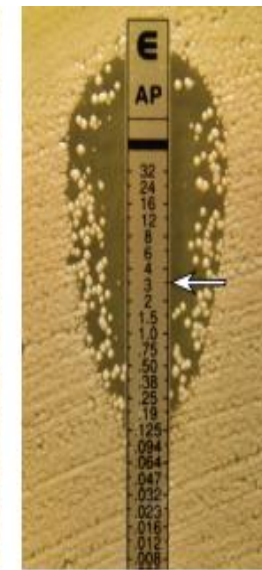


Amfotericin B

- 100% hemming
- Feilkilder
 - Inokulat
 - pH
 - Agardybde
 - Inkubasjonstid
- *C.krusei* MIC ofte nær BP



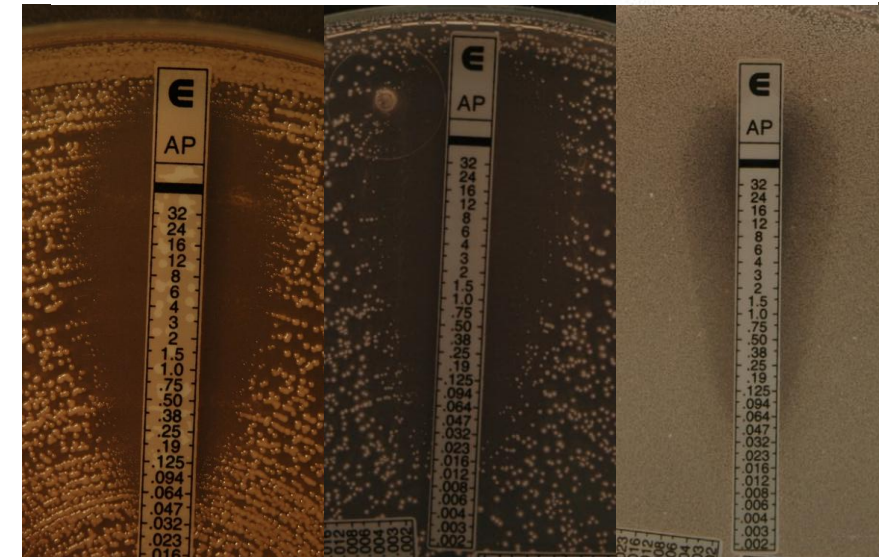
Candida spp. – clear endpoint;
0.094 µg/mL.



Candida spp. – read at complete
inhibition of growth; 3 µg/mL.

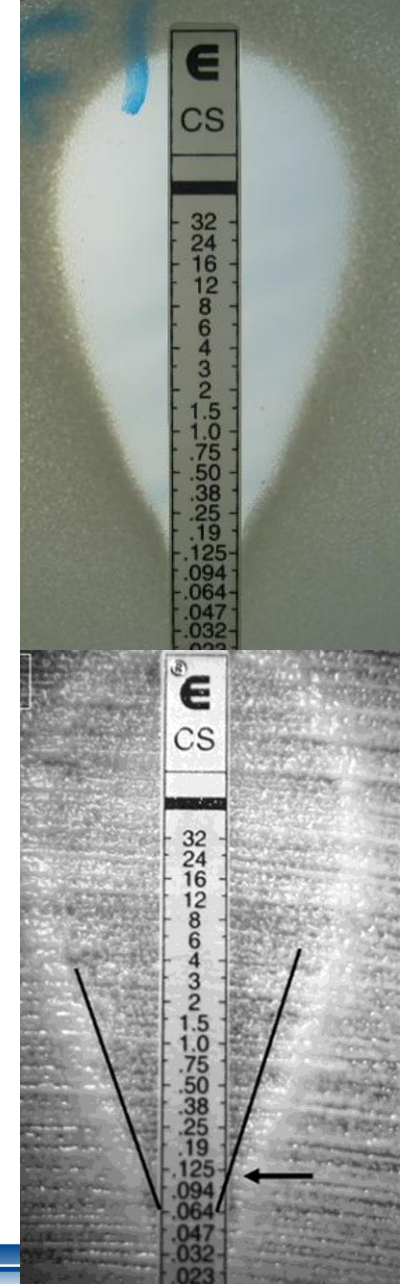


Candida spp. – slim ellipse, read
all growth and microcolonies;
3 µg/mL.



Echinocandiner

- Leser bare av Anidulafungin (ikke caspofungin som avbildet her) på kurset
- 80% hemning
- Ulik grad av vekst i sonen
- OBS pasienter som har stått på 2-3 ukers behandling
- MIC kan da «snike» seg over BP
- Resistens med kommersiell metode må verifiseres



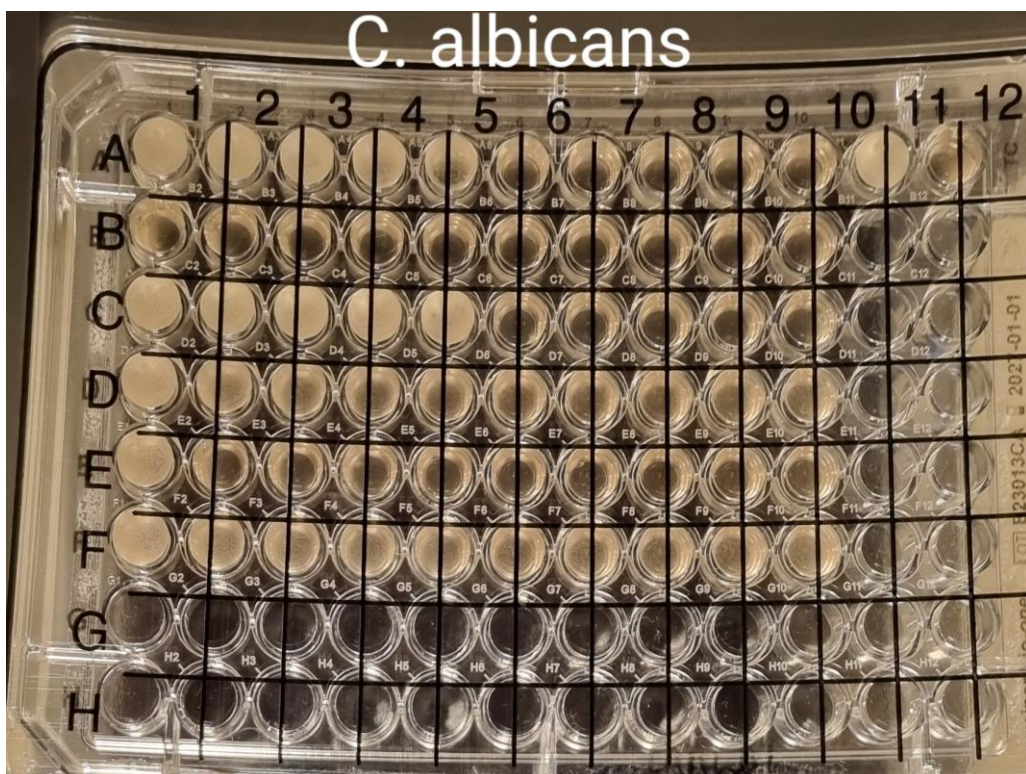
C.glabrata og *C.nivariensis*

<i>C. glabrata</i>	Flukonazol		Vorikonazol		Amfotericin B		Anidulafungin	
EUCAST MIC (mg/L)	S≤0,0001	R>16	S IE	R IE	S≤1	R >1	S≤0,06	R >0,06
MIC								
S-I-R								
S-I-R hvis <i>C.nivariensis</i>								

1. Les av resistensbestemmelsen for *C.glabrata*, og svar på spørsmål.
2. Hvordan vurderes S-I-R dersom identifisert som *C.nivariensis* istedenfor *C.glabrata* ?
 - se; [Interpretation of MICs for rare yeast without breakpoints in breakpoint tables](#)
3. Fasit bak i heftet

Demonstrasjon

EUCAST Buljongfortynning *C. albicans* 32723



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Amfotericin B	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4	Pos	Neg
Anidulafungin	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4		
Caspofungin	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4		
Flukonazol	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64		
Micafungin	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4		
Vorikonazol	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125	0,25	0,5	1	2	4		

Vi benytter Sensititre® for resistensbestemmelse av visse bakterier og har valgt samme *retning* på konsentrasjonene i våre EUCAST plater (denne platen er laget før okt 2023)

Endepunktavlesning

- Amfotericin B ≥ 90 % reduksjon av vekst
- Azoler, echinocandiner (og flucytocin) ≥ 50 % reduksjon av vekst

Oppsummering

- Resistensbestemmelse er ikke *alltid* nødvendig
- Det er lite *ervert* resistens i Norge
- Identifikasjon til artsnivå er derfor viktig
- Veiledende resistensbestemmelse av invasive isolat og isolat fra pasienter som får systemisk soppbehandling bør gjøres lokalt
- Invasive isolat sendes også til referanselaboratoriet
- NORM innsamling av candida fra blodkultur
- Resistens påvist med en kommersiell metode MÅ verifiseres med EUCAST buljongfortynning og genetisk påvisning, foreløpig sender vi til ssi i København, men metoden er under etablering.
- Økende resistensproblematikk også innen mykologien;
 - *C.auris*, *A.fumigatus* samt terbinafinresistent *Trichophyton sp*
- *Bare 3 antifungale klasser for systemisk behandling + uregistrert nukleosidanalogue flucytocin*