



MYCOSES

SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE EN BELGIQUE 2016-17



QUI NOUS SOMMES

SCIENSANO, ce sont plus de 700 collaborateurs qui s'engagent chaque jour au service de notre devise « toute une vie en bonne santé ». Comme notre nom l'indique, la science et la santé sont au coeur de notre mission. Sciensano puise sa force et sa spécificité dans une approche holistique et multidisciplinaire de la santé. Plus spécifiquement, nos activités sont guidées par l'interconnexion indissociable de la santé de l'homme, de l'animal et de leur environnement (le concept « One health » ou « Une seule santé »). Dans cette optique, en combinant plusieurs angles de recherche, Sciensano contribue d'une manière unique à la santé de tous. Issu de la fusion entre l'ancien Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA) et l'ex-Institut scientifique de Santé publique (ISP), Sciensano s'appuie sur plus de 100 ans d'expertise scientifique.

Sciensano

Épidémiologie et santé publique
Épidémiologie des maladies infectieuses

Avril 2019 • Bruxelles • Belgique
Numéro de dépôt : D/2019/14.440/13
<https://doi.org/10.25608/Oeb9-2439>

AUTEURS

DOMINIQUE VAN BECKHOVEN¹

•

ROSALIE SACHELI²

•

SOFIE PATTEET³

•

MARIE-PIERRE HAYETTE²

•

KATRIEN LAGROU³

1. Sciensano
2. Centre national de référence mycoses, CHU Sart Tilman, Liège
3. Centre national de référence mycoses, UZ Leuven, Leuven

REMERCIEMENTS

Nous remercions Amber Litzroth, service Épidémiologie des maladies infectieuses, Sciensano, pour sa contribution à ce rapport, ainsi que Hubert de Krahe pour la relecture attentive.

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION GÉNÉRALE	7
2. SURVEILLANCE DE LA CRYPTOCOCCOSE	9
2.1. INTRODUCTION	9
2.2. MÉTHODES	10
2.3. RÉSULTATS	10
2.4. DISCUSSION	12
3. SURVEILLANCE DES DERMATOPHYTOSES	13
3.1. INTRODUCTION	13
3.2. MÉTHODES	13
3.3. RÉSULTATS	13
4. SURVEILLANCE DE LA SENSIBILITÉ DES LEVURES ET CHAMPIGNONS FILAMEN- TEUX AUX ANTIFONGIQUES	19
4.1. APERÇU DES SOUCHES	19
4.3. DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ DES LEVURES	22
4.4. DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX	28
4.5. DISCUSSION	29
5. CONCLUSION	31
RÉFÉRENCES	33

1. INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'importance grandissante des mycoses au niveau médical est liée à l'incidence croissante des infections fatales causées par celles-ci durant les deux dernières décennies, particulièrement les candidémies et les aspergilloses invasives chez des patients immunodéprimés. Cette augmentation est attribuée à un accroissement du nombre de patients soumis à un traitement immunodépresseur (patients cancéreux, greffés de moelle ou d'organe) et à l'intensification de ce type de traitement. Les patients infectés par le VIH ont également participé à cette augmentation, mais un déclin des infections mycosiques liées au sida a été observé ces dernières années dans les pays bénéficiant d'une couverture en traitement antirétroviral élevée.

Un diagnostic rapide et précis est nécessaire chez ces patients vulnérables de façon à orienter rapidement le clinicien vers une thérapeutique adaptée.

En Belgique, le Centre national de référence (CNR) mycoses a pour mission l'expertise microbiologique des mycoses superficielles et profondes. Il s'agit plus précisément du diagnostic d'infections fongiques basé sur l'examen microscopique, la culture, la détection d'antigène et les techniques moléculaires. L'identification des champignons est basée sur les caractéristiques microscopiques et macroscopiques, l'analyse par MALDI-TOF MS et l'analyse de séquence. En outre, le CNR effectue également des déterminations de sensibilité, y compris la méthode de référence EUCAST. Enfin, les laboratoires du CNR offrent un support dans les investigations d'épidémie.

Ce rapport épidémiologique est rédigé de manière bisannuelle par Sciensano et le CNR mycoses, il est constitué de 3 chapitres décrivant :

- la surveillance de la cryptococcose,
- la surveillance des dermatophytoses,
- la surveillance de la susceptibilité aux antifongiques.

2. SURVEILLANCE DE LA CRYPTOCOCCOSE

VAN BECKHOVEN D, PATTEET S, SACHELI R, HAYETTE MP, LAGROU K.

2.1. INTRODUCTION

La cryptococcose est une mycose de distribution mondiale due à une levure saprophyte encapsulée du genre *Cryptococcus*. La majorité des infections humaines liées au *Cryptococcus* sont causées par les complexes *C. neoformans* et *C. gattii* alors que les infections par d'autres espèces n'ont été rapportées que rarement (1;2). *C. neoformans* est responsable de 82 % des cryptococcoses au niveau mondial (3). Les infections à *C. gattii*, historiquement confinées aux régions tropicales et subtropicales, se rencontrent maintenant en zone tempérée ; des cas ont été identifiés en Europe et dans l'est des États-Unis (4;5). *C. neoformans* se trouve dans les fientes d'oiseaux, les matières organiques en décomposition et les sols. *C. gattii* a été isolé dans certains arbres, particulièrement les eucalyptus, mais ses réservoirs environnementaux ne sont pas encore complètement identifiés et sa distribution est potentiellement en expansion (3;5). Les infections à *Cryptococcus* sont contractées principalement par inhalation et ne se transmettent pas de personne à personne (6).

Chez les personnes en bonne santé, l'infection par *Cryptococcus* est fréquemment asymptomatique. Par contre, les patients atteints de cryptococcose disséminée présentent, en grande majorité, une immunodépression sous-jacente pouvant être liée à un sida, un traitement prolongé aux corticoïdes, une transplantation d'organe, un cancer avancé, un diabète ou une sarcoïdose. Chez 20 % des patients VIH-négatifs atteints de cryptococcose, aucun facteur de risque ni maladie sous-jacente n'est identifié (5). Les localisations les plus fréquentes de l'infection sont les poumons et le système nerveux central, mais tout organe peut être infecté. Les symptômes respiratoires vont de la pneumonie modérée à mortelle. Les infections du système nerveux central se traduisent par une méningite ou une méningo-encéphalite d'évolution subaiguë, dont les symptômes les plus fréquents sont des céphalées et de la confusion (6). La période d'incubation dure généralement de 2 à 11 mois, mais peut être plus longue (4). Les levures de *Cryptococcus* peuvent rester dormantes durant des décennies après inhalation et être réactivées quand le statut immunitaire de l'hôte est affaibli (2). Contrairement à *C. neoformans* qui affecte généralement des individus immunodéprimés, *C. gattii* peut provoquer des infections sévères et difficiles à traiter chez des personnes immunocompétentes (4;7).

Le traitement de la cryptococcose repose actuellement sur 3 molécules : amphotéricine B, flucytosine (5FC) et fluconazole (8;9). Dans les pays développés, le taux de mortalité est de 10 % à 25 % malgré les traitements antifongiques et dans les pays à ressources limitées, sans accès au traitement, la mortalité à 6 mois atteint 100 % (6).

Au cours des dernières décennies, *Cryptococcus* est devenu un agent pathogène opportuniste fréquent à la suite de l'augmentation du nombre de personnes immunodéprimées qui présentent un risque plus élevé de maladie fongique. Une étude de 2009 a estimé que près d'un million de méningites à cryptocoque survenait chaque année au niveau mondial, accompagnées de plus de 600 000 décès (10). Ces estimations ont depuis lors été réduites en conséquence de l'utilisation de plus en plus répandue des traitements antirétroviraux pour le VIH. En 2014, on estimait le nombre de méningites à cryptocoque dans le monde (dont 73 % en Afrique subsaharienne) à environ 220 000 avec 180 000 décès (9;11). En Afrique subsaharienne, la méningite à cryptocoque reste l'une des causes principales de décès liés au sida. La cryptococcose y serait responsable d'autant de décès que la tuberculose (7).

2.2. MÉTHODES

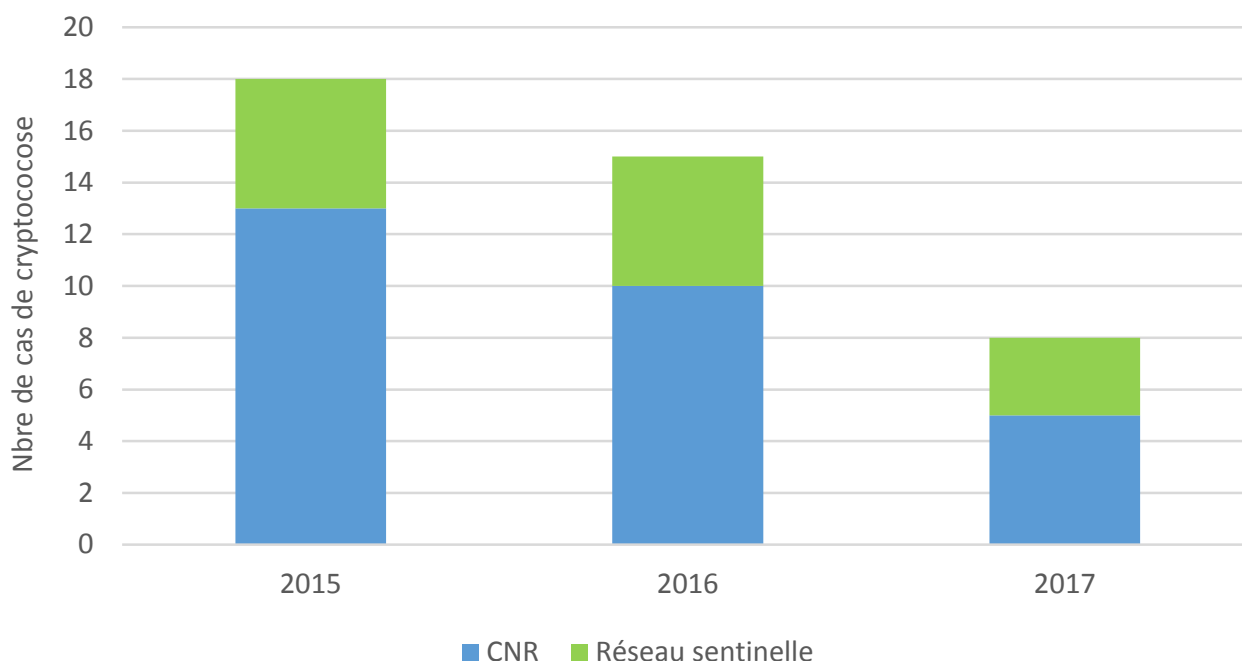
La surveillance épidémiologique des cryptococcoses en Belgique repose sur les données notifiées, depuis 2015, par le centre national de référence (CNR) pour les mycoses, coordonné par l'UZ Leuven en collaboration avec le CHU de Liège, et sur les données de cryptococcose notifiées par le réseau des laboratoires vigies.

Ce chapitre présente les données 2016 et 2017 après validation et élimination des doublons.

2.3. RÉSULTATS

En 2016, 15 patients atteints de cryptococcose ont été déclarés, il s'agissait de 10 cas enregistrés par le CNR et de 5 cas par le réseau des laboratoires vigies. En 2017, 8 patients ont été déclarés, 5 par le CNR et 3 par le réseau des laboratoires vigies (figure 1). Seuls 3 laboratoires du réseau vigie ont déclaré des cas.

Figure 1. Évolution du nombre de cas de cryptococcose rapportés par le CNR* et le réseau sentinelle des laboratoires, 2015-17



* 3 cas rapportés par le laboratoire de mycologie de Sciensano sont inclus dans les données CNR en 2015

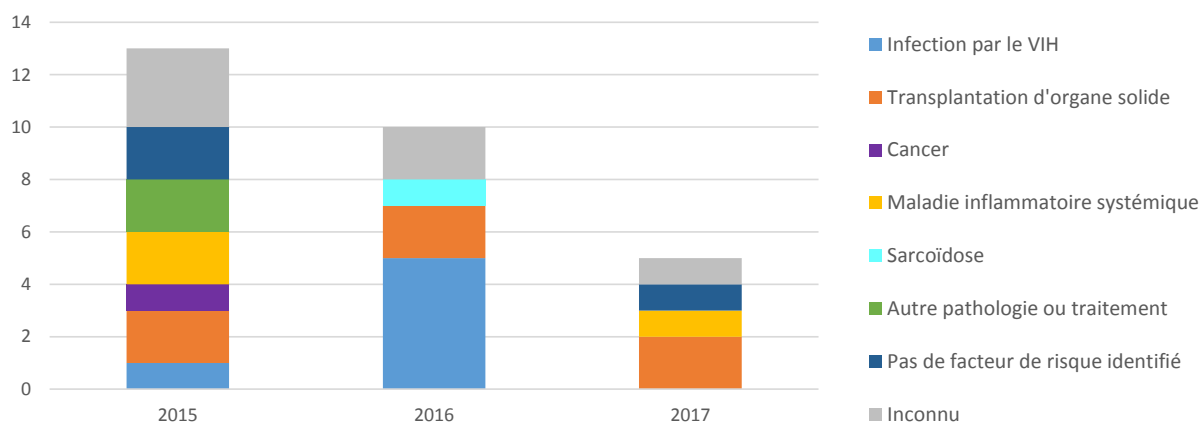
Les hommes représentaient 70 % des patients déclarés en 2016 et 2017. L'âge médian était de 45 ans. Les cas déclarés résidaient dans les 3 régions de Belgique, ils provenaient des provinces/régions suivantes : Bruxelles (n=6), Brabant flamand (n=4), Liège (n=3), Anvers (n=2), Hainaut (n=2), Flandre orientale (n=2), Flandre occidentale (n=1), Limbourg (n=1) et Brabant wallon (n=1). Les caractéristiques démographiques des patients sont présentées dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques des patients diagnostiqués avec une cryptococcose déclarés en 2016 et 2017, Belgique

Caractéristiques	N (%)
Sexe	(N=23)
Homme	16 (70 %)
Femme	7 (30 %)
Âge	(N=23)
0-15 ans	0
16-49 ans	15 (65 %)
50 + ans	8 (35 %)
Région	(N=22)
Bruxelles	6 (27 %)
Wallonie	6 (27 %)
Flandre	10 (45 %)

Les facteurs de risque étaient renseignés pour 12 des 15 patients déclarés par le CNR en 2016-17 : 5 patients étaient infectés par le VIH, 4 avaient subi une transplantation d'organe solide, 1 patient avait une maladie inflammatoire systémique, 1 patient était atteint de sarcoïdose et 1 n'avait pas de facteur de risque identifié (figure 2). L'âge médian des patients infectés par le VIH était de 40 ans, et de 45 ans chez les patients VIH-négatifs.

Figure 2. Distribution des facteurs de risque par année, CNR, 2015-17



Le type d'échantillon utilisé pour le diagnostic des cas ainsi que la méthode de diagnostic sont décrits dans le tableau 2. Certains patients ont eu plus d'un échantillon par année. La majorité des diagnostics étaient fondés sur la détection d'antigènes pour les échantillons de sang et de liquide céphalo-rachidien (LCR), et sur la culture pour les autres types d'échantillons.

Tableau 2. Type d'échantillon et méthode diagnostique pour les cas de *Cryptococcus*, Belgique, 2016-17

Type d'échantillon	N (%)	Culture	Antigène	Culture + Ag	Inconnu
Sang	19 (54 %)	1	15	1	2
LCR	11 (31 %)	1	8	1	1
Autre	5 (14 %)	5	0	0	0
Total	35 (100 %)	7	23	2	3

L'espèce déclarée était *C. neoformans* dans 13 cas et inconnue dans 10 cas. Les résultats des tests de sensibilité *in vitro* sont présentés dans le 4^e chapitre du rapport.

2.4. DISCUSSION

Rapportés à la population belge (12), les 15 et 8 cas de cryptococcose représentent un taux d'incidence de respectivement 0,13 par 100 000 habitants en 2016 et 0,07 par 100 000 habitants en 2017. En France, où la surveillance est établie de longue date, des taux d'incidence de 0,2 cas/100 000/an étaient enregistrés en 2008-2010, avec une diminution continue de l'incidence de cryptococcose de 9,8 % par an, évoluant donc probablement vers des taux similaires à ceux estimés en Belgique. Cette diminution est due à une réduction d'incidence parmi les patients infectés par le VIH, alors qu'aucune réduction n'a été observée chez les patients VIH-négatifs (13). Une évolution similaire est observée dans les pays bénéficiant d'une large couverture antirétrovirale (14). En Belgique, en 2016-17, un tiers de patients déclarés étaient infectés par le VIH et la majorité des cas de cryptococcose se rencontraient chez des patients VIH-négatifs, particulièrement chez les personnes transplantées d'organes solides. Les personnes non infectées par le VIH étaient légèrement plus âgées comme observé dans d'autres pays (5).

Étant donné la mortalité élevée des méningites à cryptocoque chez les patients VIH-négatifs, ce diagnostic doit être évoqué devant tout cas de méningite lymphocytaire, même chez un patient apparemment immunocompétent (15).

Aucun cas de *C. gattii* n'a été déclaré en 2016-17, mais l'espèce était inconnue dans près de la moitié des cas enregistrés.

Les données du CNR sont combinées avec celles du réseau de laboratoires vigies afin d'obtenir une image plus complète de l'épidémiologie de *Cryptococcus* en Belgique et dans les 3 régions. Cependant, la notification par le réseau vigie est volontaire, l'exhaustivité n'est pas garantie et le nombre de cas peut donc être sous-estimé. Environ deux tiers des cas ont été déclarés par le CNR et seulement un tiers des diagnostics a été effectué par des laboratoires de microbiologie générale.

3. SURVEILLANCE DES DERMATOPHYTOSES

SACHELI R, HAYETTE MP.

3.1. INTRODUCTION

Les dermatophytoses sont des champignons filamenteux, souvent contagieux, infectant la peau ou les phanères. Ce sont les agents les plus fréquents de mycoses, affectant de 20 à 25 % de la population mondiale, avec une grande variabilité inter- et intracontinentale (16;17). Les espèces de dermatophytes impliquées sur le plan médical appartiennent aux genres *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton* (18).

Lorsqu'elles ne sont pas diagnostiquées et traitées correctement, les dermatophytoses peuvent devenir chroniques et progressives (16). De plus, les agents responsables de teignes microsporiques (touchant le cuir chevelu), qui atteignent principalement les enfants, peuvent, de par leur potentiel de contagiosité, nécessiter une éviction scolaire, d'où l'importance d'un diagnostic rapide et précis (19;20).

3.2. MÉTHODES

Ce chapitre présente les données des échantillons et souches de dermatophytes analysés par le CNR (CHU de Liège et UZ Leuven) de 2012 à 2017. Ces échantillons rassemblent à la fois les souches envoyées au CNR par d'autres laboratoires pour identification, et les souches isolées par les deux hôpitaux (CHU de Liège et UZ Leuven) à partir de prélèvements de phanères. Le CNR mycoses du CHU de Liège est en charge de la constitution et de l'entretien de la collection de souches de dermatophytes d'intérêt notable.

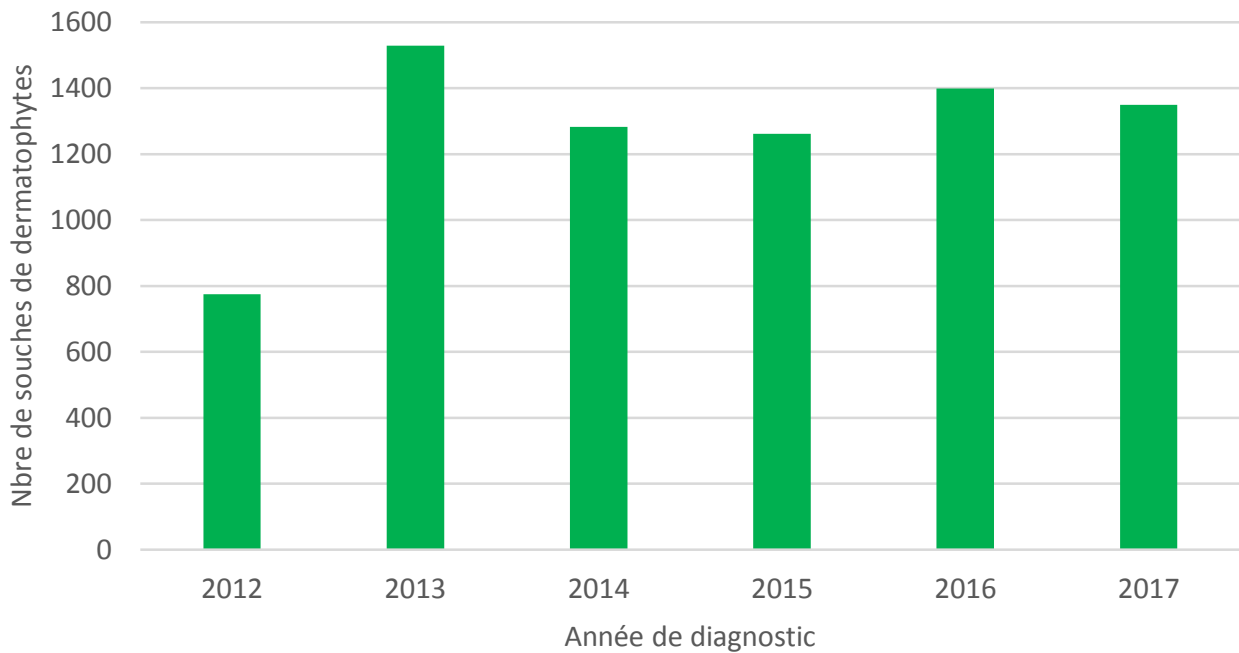
En 2017, une attention particulière a été accordée à l'identification des dermatophytes par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Une base de données a été créée et un total de 134 nouveaux spectres ont été ajoutés par le traitement de souches de dermatophytes dont l'identification avait été préalablement validée par séquençage moléculaire de la région ITS de l'ADN ribosomique. Une comparaison avec la base de donnée MSI (Piarroux-Normand, Paris) a été réalisée (21). Plus d'une centaine de souches de plus de 7 espèces de dermatophytes ont été analysées.

3.3. RÉSULTATS

3.3.1. NOMBRE ET ÉVOLUTION DES ESPÈCES IDENTIFIÉES

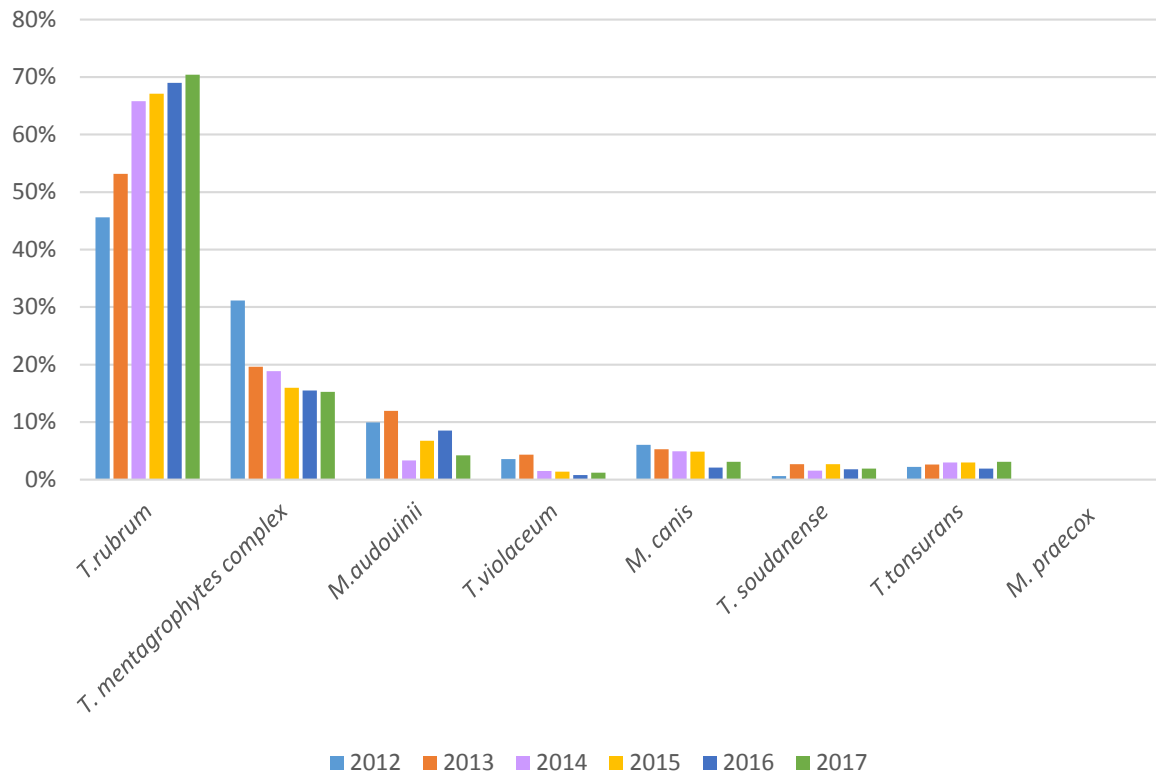
En 2017, 1350 (55,2 %) isolats fongiques envoyés au CNR ont été identifiés comme dermatophyte. Parmi eux, 1248 (92,5 %) isolats ont été identifiés comme faisant partie du genre *Trichophyton*, 101 (7,5 %) comme faisant partie du genre *Microsporum* et 1 (0,07 %) comme faisant partie du genre *Epidermophyton*. La figure 3 illustre le nombre de souches de dermatophytes identifiées par année. On observe une augmentation du nombre de dermatophytes isolés en 2013, à la suite de l'étude nationale sur les infections du cuir chevelu, et une stabilité les années suivantes.

Figure 3. Nombre de souches de dermatophytes identifiées par année, CNR, 2012-2017



L'espèce la plus fréquemment retrouvée est *T. rubrum* qui représente une proportion grandissante des isolats de dermatophytes : 70,4 % des isolats en 2017, alors qu'il en représentait 45,6 % en 2012. On observe une diminution progressive du complexe *T. mentagrophytes* (remodelé depuis 2016 en raison de la modification de la taxonomie et incluant surtout *T. interdigitale* (anthropophile), *T. benhamiae* et *T. mentagrophytes* (zoophiles)(22)). En 2012, il représentait 31,1 % des isolats, et 15,3 % en 2017 (14,3 % *T. interdigitale*, 1,0% *T. benhamiae*). *M. audouinii* était retrouvé en 2017 dans 4,2 % des isolats. Le nombre de *M. audouinii* isolés en 2013 avait augmenté à la suite de l'étude épidémiologique réalisée durant cette année et qui concernait les teignes du cuir chevelu à *M. audouinii* et *T. violaceum*. Ils représentaient 11,9 % des prélèvements en 2013. Entre 2016 et 2017, la proportion de *M. audouinii* a chuté de 8,5 % à 4,2 % des prélèvements. La distribution des espèces les plus fréquemment isolées de 2012 à 2017 est présentée dans la figure 4.

Figure 4. Distribution des principales espèces de dermatophytes isolées, CNR, 2012-17



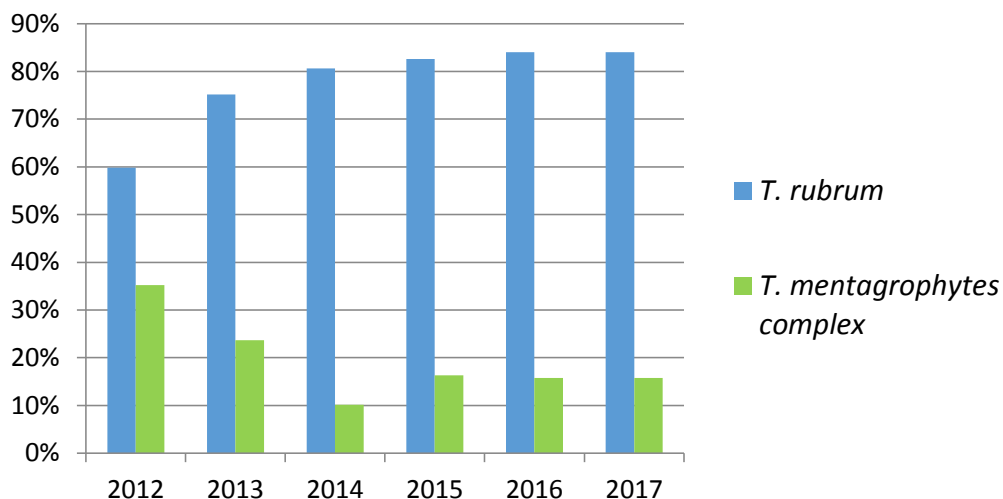
3.2.3. ORIGINE DU PRÉLÈVEMENT

Parmi les isolats de dermatophytes envoyés au CNR en 2017, 934 (69,2 %), provenaient d'ongles, 275 (20,4 %) provenaient de squames ou biopsies de peau, 102 (7,6 %) provenaient de cheveux (inclus cuir chevelu) et 39 (2,9 %) provenaient d'autres sources (œil, oreille).

ONGLES

En 2017, le groupe des dermatophytes responsables d'onychomycoses, comprenait principalement *T. rubrum* (785 ; 84,0 %), et *T. interdigitale* (148 ; 15,8 %). La proportion de *T. rubrum* isolés a augmenté de 2012 à 2014, pour rester stable par la suite (figure 5).

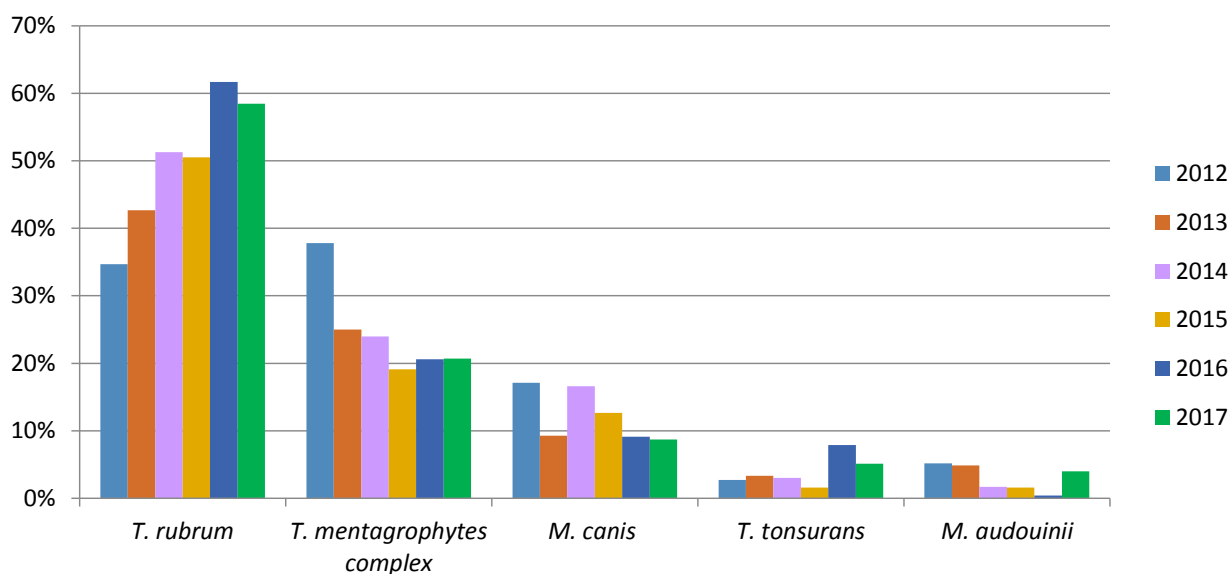
Figure 5. Distribution des principales espèces de dermatophytes isolées de prélèvements d'ongles, CNR, 2012-2017



PEAU

Au niveau de la peau, en 2017, 160 isolats de *T. rubrum* ont été identifiés soit 58,5 % des cas d'infection par un dermatophyte. Les espèces suivantes ont également été isolées : 45 (16,4 %) *T. interdigitale*, 24 (8,7 %) *M. canis*, 14 (5,1 %) *T. tonsurans*, 12 (4,4 %) *T. benhamiae*, 11 (4,0 %) *M. audouinii*, 7 (2,5 %) *T. mentagrophytes*, 7 (2,5 %) *T. soudanense*, 4 *T. violaceum* (1,4 %) et 1 (0,4 %) isolat de chacune des espèces suivantes : *T. erinacei*, *E. floccosum*, *M. persicolor* et *T. verrucosum*. On remarque la résurgence d'espèces zoophiles dans les prélèvements de peau comme *M. canis*, ou *T. mentagrophytes* et l'émergence de *T. benhamiae*. L'évolution des espèces isolées de la peau de 2012 à 2017 est illustrée dans la figure 6 et souligne la fréquence croissante de *T. rubrum* dans ce type de prélèvement depuis 2013, avec un pic en 2016.

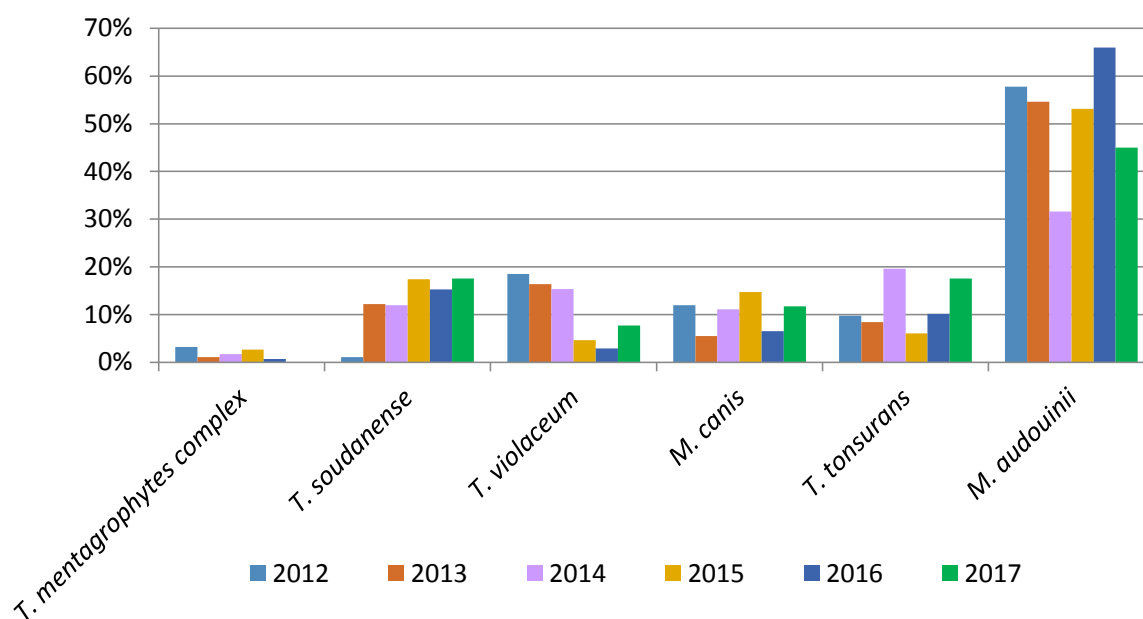
Figure 6. Distribution des principales espèces de dermatophytes isolées de prélèvements de peau, CNR, 2012-17



CHEVEUX

Les dermatophytes responsables de teignes du cuir chevelu en 2017 se répartissent en 6 espèces. *M. audouinii* est la plus fréquente pour ce type de prélèvement et était responsable de 44,1 % (n=45) des cas de teignes du cuir chevelu en 2017. Les autres dermatophytes identifiés sont *T. soudanense* (n=18, 17,6 %), *T. tonsurans* (n=18, 17,6 %), *M. canis* (n=12, 11,8 %), *T. violaceum* (n=8, 7,8 %), *M. ferrugineum* (n=1, 1,0 %). Notre analyse révèle l'importance de l'espèce *M. audouinii* comme agent causal des teignes du cuir chevelu, responsable d'une proportion de cas variant de 30 à 67 % entre 2012 et 2017 (figure 7).

Figure 7. Distribution des espèces de dermatophytes isolées de prélèvements de cheveux, CNR, 2012-2017



3.3. DISCUSSION

T. rubrum reste en Belgique le premier agent responsable de mycoses superficielles, tous prélèvements confondus. Cet agent est le plus souvent associé aux onychomycoses. Le complexe *T. mentagrophytes* est le second agent le plus déclaré, il est fréquemment responsable de mycoses superficielles de la peau et de l'ongle. Depuis 2016, ce complexe est scindé en plusieurs espèces incluant *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* (zoophile) et *T. benhamiae* selon la nouvelle taxonomie proposée par de Hoog et al en 2016 (22). Ces espèces sont également les plus rapportées dans la littérature pour les infections de la peau glabre et des ongles (17).

Concernant les infections du cuir chevelu, *M. audouinii* reste le premier agent responsable de ce type d'infection en Belgique, alors que dans la littérature, *M. canis*, *T. tonsurans* et *T. violaceum* sont aussi des agents fréquemment déclarés mondialement et en Europe. *M. audouinii* avait disparu en Belgique et en Europe durant la deuxième moitié du vingtième siècle et a ressurgi au cours des dernières décennies, probablement en lien avec les mouvements migratoires en provenance d'Afrique, où *M. audouinii* est endémique dans plusieurs pays (17;20). Une étude récente en Belgique, menée par le CNR, a montré que les enfants de 5 à 9 ans étaient les plus touchés par *M. audouinii*, avec une prédominance de garçons (sexe-ratio garçon/fille de 2)(20).

Afin de mettre à jour les données épidémiologiques sur les teignes du cuir chevelu, et de suivre leur évolution, une étude nationale a été conduite en 2018. Cette étude précise l'origine géographique des populations infectées, le mode de contamination le plus probable et en cas de transmission par un animal, le type d'animal impliqué. De plus, une étude moléculaire accompagnera ces données épidémiologiques pour caractériser les souches isolées au sein des plus grands groupes. Ceci permettra la comparaison des données avec les autres pays européens et une éventuelle proposition d'adaptation des mesures préventives.

La situation épidémiologique des dermatophytoses est en constante évolution au niveau mondial. Depuis le milieu du 20^e siècle, la fréquence de *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *T. tonsurans* et *M. canis* a augmenté, et ils sont devenus les plus prévalents de nos jours. L'évolution des dermatophytes dépend de leur écologie, de leur reproduction, de leur adaptation et de leur pathogénicité, mais également de facteurs liés à l'humain tels les migrations, le statut économique, les conditions d'hygiène et les traitements disponibles (16;17). Les systèmes de diagnostic et de notification en place diffèrent entre pays et vont également influencer les données épidémiologiques disponibles, cependant la prévalence réelle des dermatophytoses est probablement nettement plus élevée que celle déclarée (16). Étant donné l'évolution constante des espèces de dermatophytes rencontrées, une identification précise de l'espèce est cruciale afin d'appliquer les mesures thérapeutiques et préventives les plus adaptées. La détermination de leur sensibilité *in vitro* vis-à-vis des antifongiques présente un intérêt grandissant en Europe. Les CNR sont impliqués dans le développement d'une méthode EUCAST pour les dermatophytes.

4. SURVEILLANCE DE LA SENSIBILITÉ DES LEVURES ET CHAMPIGNONS FILAMENTEUX AUX ANTIFONGIQUES

VAN BECKHOVEN D, PATTEET S, SACHELI R, HAYETTE MP, LAGROU K.

4.1. APERÇU DES SOUCHES

Pendant les années 2015, 2016 et 2017, respectivement 643, 793 et 946 souches fongiques ont été envoyées au CNR en vue d'une détermination de la sensibilité. Il s'agissait d'isolats de 2027 levures et 355 champignons filamenteux (tableau 3).

Tableau 3. Aperçu des souches envoyées au CNR pour une détermination de la sensibilité, 2015-2017

Levures	2015	2016	2017	Total
<i>Candida albicans</i>	254	317	426	997
<i>Candida auris</i>	0	1	0	1
<i>Candida blankii</i>	0	0	1	1
<i>Candida dubliniensis</i>	3	13	24	40
<i>Candida glabrata</i>	152	204	212	568
<i>Candida guilliermondii</i>	8	3	3	14
<i>Candida guilliermondii/famata</i>	1	0	0	1
<i>Candida inconspicua</i>	4	1	3	8
<i>Candida kefyr</i>	5	4	10	19
<i>Candida krusei</i>	19	12	18	49
<i>Candida lipolytica</i>	1	0	0	1
<i>Candida lusitaniae</i>	10	10	7	27
<i>Candida norvegensis</i>	0	1	0	1
<i>Candida orthopsilosis</i>	0	0	2	2
<i>Candida palmioleophila</i>	1	0	1	2
<i>Candida parapsilosis</i>	38	38	41	117
<i>Candida pararugosa</i>	0	1	0	1
<i>Candida pelliculosa</i>	1	0	0	1
<i>Candida tropicalis</i>	25	30	47	102
<i>Candida species</i>	2	2	2	6
<i>Cryptococcus neoformans</i>	8	7	4	19
<i>Cyberlindnera fabianii</i>	0	1	0	1
<i>Exophiala dermatitidis</i>	0	0	1	1
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	0	1	0	1
<i>Kodamaea ohmeri</i>	0	2	0	2
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	0	0	1	1
<i>Pichia kluyveri</i>	0	0	1	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6	9	26	41
<i>Trichosporon mucoides</i>	0	1	0	1
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	0	1	0	1
Total	538	659	830	2027

4. SURVEILLANCE DE LA SENSIBILITÉ DES LEVURES ET CHAMPIGNONS FILAMENTEUX AUX ANTIFONGIQUES

Champignons filamenteux	2015	2016	2017	Total
<i>Alternaria alternata</i>	0	1	0	1
<i>Alternaria infectoria</i>	0	0	2	2
<i>Alternaria</i> species	0	2	1	3
<i>Arthrographis kalrae</i>	1	0	0	1
<i>Arthrographis</i> species	1	0	0	1
<i>Aspergillus calidoustus</i>	0	1	0	1
<i>Aspergillus flavus</i> complex	5	10	7	22
<i>Aspergillus fumigatus</i> complex	55	70	70	195
<i>Aspergillus nidulans</i> complex	1	1	0	2
<i>Aspergillus niger</i> complex	1	3	12	16
<i>Aspergillus sydowii</i>	0	0	1	1
<i>Aspergillus terreus</i> complex	4	0	1	5
<i>Aspergillus</i> species	0	3	0	3
<i>Chaetomium</i> species	0	1	0	1
<i>Curvularia</i> species	1	0	0	1
<i>Fusarium oxysporum</i> complex	1	2	1	4
<i>Fusarium solani</i> complex	2	0	1	3
<i>Fusarium</i> species	10	12	5	7
<i>Geotrichum candidum</i>	1	0	0	1
<i>Geotrichum</i> species	1	1	1	3
<i>Madurella mycetomatis</i>	1	0	0	1
<i>Magnusiomyces capitatus</i>	0	1	2	3
<i>Mucor circinelloides</i>	0	3	4	7
<i>Mucor</i> species	0	2	0	2
<i>Myceliophthora verrucosa</i>	1	0	0	1
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	0	0	1	1
<i>Paecilomyces variotii</i>	0	1	0	1
<i>Penicillium marneffei</i>	1	0	0	1
<i>Penicillium</i> species	0	1	0	1
<i>Phialemonium dimorphosporum</i>	0	2	1	3
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	2	1	0	3
<i>Rhizomucor</i> species	0	1	0	1
<i>Rhizopus microsporus</i>	2	0	1	3
<i>Rhizopus</i> species	2	0	0	2
<i>Rhodotorula</i> species	1	0	0	1
<i>Saprochaete clavata</i>	5	8	0	13
<i>Scedosporium apiospermum</i> complexe	4	3	2	9
<i>Scedosporium prolificans</i>	1	2	2	5
<i>Scopulariopsis</i> species	0	1	1	2
<i>Ulocladium</i> species	0	1	0	1
<i>Verticillium</i> species	1	0	0	1
Total	105	134	116	355

4.2. MÉTHODE D'ANALYSE

Pour certains patients, plusieurs isolats de la même espèce ont été envoyés. Ceux-ci sont repris dans l'analyse lorsque plus d'un mois s'est écoulé entre les deux déterminations de la sensibilité étant donné qu'une résistance contre des antifongiques peut se développer en cours de traitement. Par conséquent, en 2015, 562 déterminations de sensibilité à un ou plusieurs antifongiques ont été analysées pour 507 patients ; en 2016, 693 analyses pour 620 patients et en 2017, 769 analyses pour 676 patients.

La détermination de la sensibilité d'un isolat à un antifongique repose sur deux étapes : d'abord la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'isolat et ensuite la comparaison au seuil épidémiologique ou au seuil clinique.

La CMI, concentration minimale inhibitrice, est la concentration minimale d'antifongique nécessaire pour obtenir un effet thérapeutique.

Les seuils épidémiologiques ont été définis sur la base de la distribution des CMI d'un grand nombre de souches pour une espèce donnée et un antifongique donné. A partir de cette distribution, on peut déterminer le seuil épidémiologique qui permet de distinguer les souches sauvages (*wild type*) des souches non sauvages. La population de souches sauvages est composée d'isolats sans résistance détectable - acquise ou liée à une mutation - à l'antifongique étudié. La population non sauvage est composée des isolats présentant un ou plusieurs marqueurs de résistance. Cette méthode ne permet pas de déterminer l'existence ou non d'un effet thérapeutique pour un échantillon testé, mais permet de catégoriser un échantillon comme appartenant à la population sauvage ou non sauvage. Le recours à ces valeurs épidémiologiques permet d'identifier rapidement les changements de sensibilité en cours (23).

Les seuils cliniques de sensibilité sont déterminés par un comité d'experts sur base de facteurs microbiologiques, pharmacologiques et cliniques. Les seuils cliniques définis par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute (23;24)) ont été utilisés¹. Sur cette base, les isolats peuvent être classés en trois catégories :

- « sensible », ci-après abrégé « S » : une souche est classée comme « sensible » si le niveau d'activité antifongique mesuré est associé à une probabilité élevée de succès thérapeutique ;
- « intermédiaire », ci-après abrégé « I » : une souche est classée comme « moyennement sensible » s'il n'est pas certain que le niveau d'activité antifongique mesuré soit associé à un effet thérapeutique ;
- « résistant », ci-après abrégé « R » : une souche est classée comme « résistante » si le niveau d'activité antifongique mesuré est associé à une probabilité élevée d'échec thérapeutique.

Dans ce rapport, les seuils cliniques de sensibilité sont utilisés quand ils sont disponibles. En leur absence, les seuils épidémiologiques sont utilisés.

Dans certains cas exceptionnels (espèces rarement isolées), il n'existe ni seuil clinique ni seuil épidémiologique. Le cas échéant, les valeurs CMI et la CMI₅₀ sont rapportées. La CMI₅₀ représente la concentration à laquelle l'effet thérapeutique est atteint pour 50 % des isolats testés.

1 Depuis Octobre 2017, l'UZ Leuven utilise la méthode de référence EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) pour les champignons filamenteux et les levures non-Candida à la place de la méthode CLSI précédemment utilisée. Afin que les données présentées dans ce rapport soient toutes établies sur la même référence (CLSI), ces échantillons analysés durant les 3 derniers mois de 2017 par l'UZ Leuven ne sont pas inclus dans les résultats présentés (4 échantillons de *saccharomyces cerevisiae* et 2 de *Fusarium species*).

4.3. DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ DES LEVURES

4.3.1. *CANDIDA ALBICANS*

En 2015, 216 souches de *Candida albicans* ont été analysées pour détermination de la sensibilité, 271 en 2016 et 334 en 2017. La sensibilité au fluconazole a été testée dans l'ensemble des souches. L'analyse a révélé que 97,4 % (800/821) des échantillons testés étaient sensibles (S) au fluconazole, 0,7 % (6/821) y était moyennement sensible (I) et 1,8 % (15/821) y étaient résistants (R).

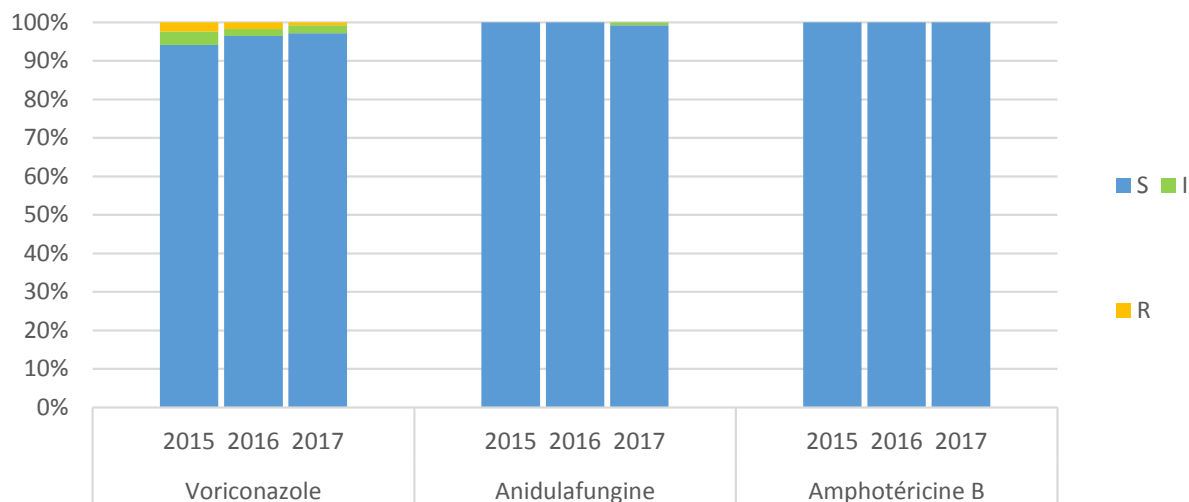
341 souches ont, en outre, fait l'objet d'une détermination de la sensibilité à au moins un autre antifongique (voir tableau 4). Les isolats présentant une sensibilité intermédiaire ou une résistance au fluconazole ont systématiquement été soumis aux autres tests, ainsi que les isolats pour lesquels un fongigramme complet a été demandé par le laboratoire requérant.

Tableau 4. Détermination de la sensibilité des souches de *Candida albicans*, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Fluconazole	S	211/216 (98 %)	260/271 (96 %)	329/334 (99 %)	800/821 (97 %)
	I	2/216 (1 %)	3/271 (1 %)	1/334 (0,3 %)	6/821 (1 %)
	R	3/216 (1 %)	8/271 (3 %)	4/334 (1 %)	15/800 (2 %)
Voriconazole	S	80/85 (94 %)	110/114 (96 %)	137/141 (97 %)	327/340 (96 %)
	I	3/85 (4 %)	2/114 (2 %)	3/141 (2 %)	8/340 (2 %)
	R	2/85 (2 %)	2/114 (2 %)	1/141 (1 %)	5/340 (1 %)
Anidulafungine	S	86/86 (100 %)	114/114 (100 %)	139/140 (99 %)	339/340 (99,7 %)
	I	0/86 (0 %)	0/114 (0 %)	1/140 (1 %)	1/340 (0,3 %)
	R	0/86 (0 %)	0/114 (0 %)	0/140 (0 %)	0/340 (0 %)
Amphotéricine B	S	86/86 (100 %)	114/114 (100 %)	141/141 (100 %)	341/341 (100 %)
	R	0/86 (0 %)	0/114 (0 %)	0/141 (0 %)	0/341 (0 %)

Parmi les 21 souches de *Candida albicans* présentant une sensibilité intermédiaire ou une résistance au fluconazole, 10 (48 %) étaient sensibles au voriconazole, 7 (33 %) présentaient une sensibilité intermédiaire et 4 (19 %) étaient résistantes. Les 11 souches résistantes ou moins sensibles au voriconazole étaient toutes sensibles à l'anidulafungine.

Sur les 86 souches testées pour plusieurs antifongiques (figure 8), seule une présentait une sensibilité intermédiaire à l'anidulafungine, cette souche était néanmoins sensible à la fluconazole, au voriconazole et à l'amphotéricine B. Les 86 souches étaient toutes sensibles à l'amphotéricine B.

Figure 8. Détermination de la sensibilité des souches de *Candida albicans* testées pour plusieurs antifongiques (N=86), 2015-2017

4.3.2. CANDIDA GLABRATA

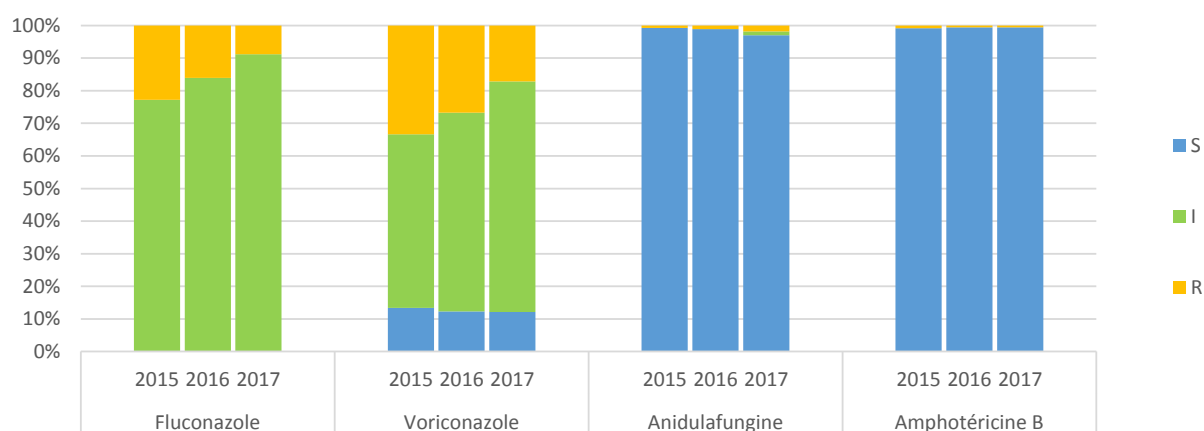
Tableau 5. Détermination de la sensibilité des souches de *Candida glabrata* testées, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Fluconazole	S	0/136 (0 %)	0/187 (0 %)	0/182 (0 %)	0/505 (0 %)
	I	105/136 (77 %)	157/187 (84 %)	166/182 (91 %)	428/505 (85 %)
	R	31/136 (23 %)	30/187 (16 %)	16/182 (9 %)	77/505 (15 %)
Voriconazole	S	18/135 (13 %)	23/187 (12 %)	22/181 (12 %)	63/503 (13 %)
	I	72/135 (53 %)	114/187 (61 %)	128/181 (71 %)	314/503 (62 %)
	R	45/135 (33 %)	50/187 (27 %)	31/181 (17 %)	126/503 (25 %)
Anidulafungine	S	135/136 (99 %)	185/187 (99 %)	164/169 (97 %)	484/492 (98 %)
	I	0/136 (0 %)	0/187 (0 %)	2/169 (1 %)	2/492 (0,4 %)
	R	1/136 (1 %)	2/187 (1 %)	3/169 (2 %)	6/492 (1 %)
Amphotéricine B	S	126/127 (99 %)	182/183 (99 %)	178/179 (99 %)	592/595 (99 %)
	R	1/127 (1 %)	1/183 (1 %)	1/179 (1 %)	3/595 (1 %)

Comme le montre le tableau 5, en 2015, 136 souches de *Candida glabrata* ont fait l'objet d'une analyse de sensibilité aux antimycotiques, 187 en 2016 et 182 en 2017. *Candida glabrata* présente intrinsèquement une sensibilité réduite au fluconazole. En effet aucune des souches testées n'y était sensible, 85 % des souches examinées y présentaient une sensibilité intermédiaire (dose-dépendante) et 15 % une résistance.

La sensibilité au voriconazole n'était que de 13 %, ce n'est donc que rarement une bonne alternative au fluconazole pour le traitement de *Candida glabrata*. Par contre 98 % des souches de *Candida glabrata* étaient sensibles à l'anidulafungine et 99 % à l'amphotéricine B.

L'ensemble des souches de *Candida glabrata* testées étaient au moins sensibles à l'un des antifongiques étudiés. On ne remarque pas d'évolution vers une augmentation de la résistance au cours des 3 années analysées (figure 9).

Figure 9. Détermination de la sensibilité des souches de *Candida glabrata* testées, 2015-2017

4.3.3. CANDIDA PARAPSILOSIS

37 souches de *Candida parapsilosis* ont été soumises à une détermination de la sensibilité au fluconazole en 2015, 35 en 2016 et 36 en 2017. Les tests ont montré que 95 % des souches y étaient sensibles, 1 % de façon intermédiaire et 4 % résistantes.

Plus de la moitié des souches a, en outre, fait l'objet d'une détermination de la sensibilité à d'autres antifongiques (voir tableau 6). Les isolats présentant une sensibilité moyenne ou une résistance au fluconazole ont systématiquement été soumis aux autres tests, ainsi que les isolats pour lesquels un fongigramme complet a été demandé par le laboratoire requérant.

Tableau 6. Détermination de la sensibilité des souches de *Candida parapsilosis*, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Fluconazole	S	35/37 (95 %)	35/35 (100 %)	33/36 (92 %)	103/108 (95 %)
	I	1/37 (3 %)	0/37 (0 %)	0/36 (0 %)	1/108 (1 %)
	R	1/37 (3 %)	0/37 (0 %)	3/36 (8 %)	4/108 (4 %)
Voriconazole	S	20/20 (100 %)	22/22 (100 %)	22/24 (92 %)	64/66 (97 %)
	I	0/20 (0 %)	0/22 (0 %)	2/24 (8 %)	2/66 (3 %)
	R	0/20 (0 %)	0/22 (0 %)	0/24 (0 %)	0/66 (0 %)
Anidulafungine	S	20/20 (100 %)	22/22 (100 %)	23/23 (100 %)	65/65 (100 %)
	I	0/20 (0 %)	0/22 (0 %)	0/23 (0 %)	0/65 (0 %)
	R	0/20 (0 %)	0/22 (0 %)	0/23 (0 %)	0/65 (0 %)
Amphotéricine B	S	19/19 (100 %)	21/22 (95 %)	24/24 (100 %)	64/65 (98 %)
	R	0/19 (0 %)	1/22 (5 %)	0/24 (0 %)	1/65 (2 %)

Sur l'ensemble des souches de *Candida parapsilosis* testées, une présentait une sensibilité intermédiaire et 4 présentait une résistance au fluconazole. Toutes les souches testées étaient sensibles à l'anidulafungine.

Les 5 souches de sensibilité intermédiaire ou résistantes au fluconazole étaient toutes sensibles à l'amphotéricine B, 3 étaient sensibles au voriconazole et 2 y présentaient une sensibilité intermédiaire.

4.3.4. *CANDIDA TROPICALIS*

La sensibilité au fluconazole a été déterminée pour 21 souches de *Candida tropicalis* en 2015, 30 souches en 2016 et 41 souches en 2017.

Plus de la moitié des souches (58/92) a, en outre, fait l'objet d'une détermination de la sensibilité à d'autres antifongiques (tableau 7). Les isolats présentant une sensibilité moyenne ou une résistance au fluconazole ont systématiquement été soumis aux autres tests, ainsi que les isolats pour lesquels un fongigramme complet a été demandé par le laboratoire requérant.

Tableau 7. Détermination de la sensibilité des souches de *Candida tropicalis*, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Fluconazole	S	19/21 (90 %)	26/30 (87 %)	37/41 (90 %)	82/92 (89 %)
	I	0/21 (0 %)	4/30 (13 %)	2/41 (5 %)	6/92 (7 %)
	R	2/21 (10 %)	0/30 (0 %)	2/41 (5 %)	4/92 (4 %)
Voriconazole	S	7/11 (64 %)	14/23 (61 %)	16/24 (67 %)	37/58 (64 %)
	I	2/11 (18 %)	8/23 (34 %)	7/24 (29 %)	17/58 (29 %)
	R	2/11 (18 %)	1/23 (4 %)	1/24 (4 %)	4/58 (7 %)
Anidulafungine	S	11/11 (100 %)	21/22 (95 %)	23/24 (96 %)	55/57 (96 %)
	I	0/11 (0 %)	0/22 (0 %)	0/24 (0 %)	0/57 (0 %)
	R	0/11 (0 %)	1/22 (5 %)	1/24 (4 %)	2/57 (4 %)
Amphotéricine B	S	11/11 (100 %)	23/23 (100 %)	23/23 (100 %)	57/57 (100 %)
	R	0/11 (0 %)	0/23 (0 %)	0/23 (0 %)	0/57 (0 %)

Sur l'ensemble des souches de *Candida tropicalis* testées, 10 (11 %) souches présentaient une sensibilité intermédiaire ou une résistance au fluconazole. Ces souches présentaient également une sensibilité intermédiaire ou une résistance au voriconazole, mais elles étaient toutes sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B.

4.3.5. *CANDIDA KRUSEI*

Candida krusei présente une résistance intrinsèque au fluconazole. Il est donc inutile de réaliser des tests de sensibilité à cet antifongique. Comme le montre le tableau 8, la sensibilité aux autres antifongiques a été testée pour les 41 souches de *Candida krusei*. Toutes étaient sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B. 2 (5 %) souches prélevées en 2016 présentaient une sensibilité intermédiaire au voriconazole, mais tous les autres isolats y étaient sensibles.

Tableau 8. Détermination de la sensibilité des souches de *Candida krusei* testées, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Fluconazole		Résistance intrinsèque			
Voriconazole	S	15/15 (100 %)	8/10 (80 %)	16/16 (100 %)	39/41 (95 %)
	I	0/15 (0 %)	2/10 (20 %)	0/16 (100 %)	2/41 (5 %)
	R	0/15 (0 %)	0/10 (0 %)	0/16 (100 %)	0/41 (0 %)
Anidulafungine	S	15/15 (100 %)	10/10 (100 %)	15/15 (100 %)	40/40 (100 %)
	I	0/15 (0 %)	0/10 (0 %)	0/15 (0 %)	0/40 (0 %)
	R	0/15 (0 %)	0/10 (0 %)	0/15 (0 %)	0/40 (0 %)
Amphotéricine B	S	15/15 (100 %)	10/10 (100 %)	16/16 (100 %)	41/41 (100 %)
	R	0/15 (0 %)	0/10 (0 %)	0/16 (0 %)	0/41 (0 %)

4.3.6. *CANDIDA LUSITANIAE*

La sensibilité au fluconazole a été testée pour les 26 souches de *Candida lusitaniae* : 24 (92 %) y étaient sensibles (tableau 9). Toutes les souches ayant aussi fait l'objet d'une détermination de la sensibilité à l'amphotéricine B (soit 18 sur 26) étaient sensibles à cet antifongique.

Tableau 9. Détermination de la sensibilité des souches de *Candida lusitaniae* testées, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Fluconazole	S	10/10 (100 %)	7/9 (78 %)	7/7 (100 %)	24/26 (92 %)
	I	0/10 (0 %)	0/9 (0 %)	0/7 (0 %)	0/26 (0 %)
	R	0/10 (0 %)	2/9 (22 %)	0/7 (0 %)	2/26 (8 %)
Voriconazole		Aucune valeur critique disponible			
Anidulafungine		Aucune valeur critique disponible			
Amphotéricine B	S	7/7 (100 %)	5/5 (100 %)	6/6 (100 %)	18/18 (100 %)
	R	0/7 (0 %)	0/5 (0 %)	0/6 (0 %)	0/18 (0 %)

4.3.7. *CANDIDA GUILLERMONDII*

Quatorze souches de *Candida guilliermondii* - 8 en 2015, 3 en 2016 et 3 en 2017 - ont été testées pour la sensibilité. 5 (36 %) souches étaient résistantes et une (7 %) présentait une sensibilité intermédiaire au fluconazole. Les 12 souches (y compris les 6 souches à sensibilité diminuée à la fluconazole) également testées pour l'anidulafungine et l'amphotéricine B y étaient toutes sensibles.

4.3.8. *CANDIDA KEFYR*

Une détermination de la sensibilité a été effectuée pour 5 souches de *Candida kefyri* en 2015, 4 souches en 2016 et 8 souches en 2017. 16 (94 %) souches étaient sensibles au fluconazole et une (6 %) présentait une sensibilité intermédiaire. Cette souche ainsi que 9 autres ont, en outre, fait l'objet d'un test de sensibilité à l'amphotéricine B et y étaient toutes sensibles.

4.3.9. *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*

En 2015, 7 isolats ont été analysés pour la sensibilité aux antifongiques, 7 en 2016 et 4 en 2017

Tableau 10. Détermination de la sensibilité des souches de *Cryptococcus neoformans* testées, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Fluconazole	Nbre échantillons testés	6	7	4	17
	CMI minimum (mg/L)	2	2	0,5	0,5
	CMI maximum (mg/L)	8	8	8	8
Amphotéricine B	Nbre échantillons testés	6	7	4	17
	CMI minimum (mg/L)	< 0,12	≤ 0,12	0,094	< 0,12
	CMI maximum (mg/L)	1	1	1	1

Aucune valeur seuil clinique officielle n'existe pour *Cryptococcus neoformans*. L'ensemble des valeurs a donc été comparé aux seuils épidémiologiques (tableau 10). Le seuil épidémiologique indique que 95 % de la population *wild type* est sensible au fluconazole à une concentration ≤ 8 mg/L (25). La comparaison a montré que l'ensemble des souches testées avait une sensibilité comparable à celle de la population *wild type* et pouvaient donc

être considérées comme en faisant partie. L'ensemble des souches peut également être considéré comme faisant partie de la population *wild type* pour la sensibilité à l'amphotéricine B, pour lequel le seuil épidémiologique est de ≤ 1 mg/L (26)..

4.3.10. SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Les isolats de 6 souches de *Saccharomyces cerevisiae* ont été analysés en 2015, 9 en 2016 et 21 en 2017².

Aucune valeur seuil clinique officielle n'existe pour *Saccharomyces cerevisiae*. Le tableau 11 présente l'éventail de valeurs CMI, ainsi que la CMI₅₀ par année.

Tableau 11. Détermination de la sensibilité des souches de *Saccharomyces cerevisiae* testées, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Fluconazole	Nbre échantillons testés	6	6	18	30
	CMI minimum (mg/L)	1	1	0,5	0,5
	CMI ₅₀ (mg/L)	4	16	8	8
	CMI maximum (mg/L)	8	32	≥ 256	≥ 256
Itraconazole	Nbre échantillons testés	3	3	5	11
	CMI minimum (mg/L)	0,06	0,25	0,12	0,06
	CMI ₅₀ (mg/L)	0,25	0,5	0,25	0,25
	CMI maximum (mg/L)	0,5	4	4	4
Voriconazole	Nbre échantillons testés	6	6	10	22
	CM minimum (mg/L)	0,03	0,03	0,015	0,015
	CMI ₅₀ (mg/L)	0,06	0,25	0,06	0,12
	CMI maximum (mg/L)	0,12	0,5	1	1
Caspofungine	Nbre échantillons testés	6	6	11	23
	CMI minimum (mg/L)	0,25	0,03	0,06	0,03
	CMI ₅₀ (mg/L)	0,25	0,12	0,5	0,25
	CMI maximum (mg/L)	0,5	0,5	3	3
Anidulafungine	Nbre échantillons testés	6	6	13	25
	CMI minimum (mg/L)	0,12	0,02	0,002	0,002
	CMI ₅₀ (mg/L)	0,12	0,03	0,12	0,12
	CMI maximum (mg/L)	0,25	0,25	0,25	0,25
Amphotéricine B	Nbre échantillons testés	6	6	19	31
	CMI minimum (mg/L)	< 0,12	0,25	< 0,002	< 0,002
	CMI ₅₀ (mg/L)	0,25	0,5	0,047	0,25
	CMI maximum (mg/L)	1	1	1	1

2 Seuls des échantillons du CNR de l'UZ Leuven ont été inclus dans l'analyse en 2015 et 2016. En 2017, les échantillons inclus proviennent des 2 CNR.

4.4. DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

4.4.1. ASPERGILLUS FUMIGATUS COMPLEXE

Depuis août 2015, au CNR de l'UZ Leuven, tous les isolats d'*Aspergillus fumigatus* sont dépistés par la méthode VIPcheck™ pour la présence de résistance aux azolés. La méthode VIPcheck™ consiste en une plaque à 4 puits contenant de la gélose additionnée de 3 antifongiques azolés (Voriconazole, Itraconazole et Posaconazole) et un témoin de contrôle de croissance. La croissance après 48 heures dans un des puits contenant un azolé indique une résistance potentielle. VIPcheck est un outil simple pour la sélection des colonies qui nécessitent des déterminations supplémentaires de la CMI. La surveillance de la résistance aux triazoles est présentée dans le tableau 12.

Tableau 12. Surveillance de la résistance d'*A. fumigatus* aux triazoles, UZ Leuven, 2015-2017

	Août-Déc 2015		2016		2017		Total		
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Nombre d'isolats dépistés	194	100,0	490	100,0	537	100,0	1221	100,0	
Croissance sur VIP Check	13	6,7	46	9,4	33	6,1	92	7,5	
Détermination de la susceptibilité (CLSI, EUCAST depuis Oct 2017)	R	7	3,6	39	8,0	26	4,8	72	5,9
	S	2	1,0	2	0,4	4	0,7	8	0,7
	Pas effectué	4	2,1	5	1,0	3	0,6	12	1,0
Mécanismes de résistance									
Absence de mutation CYP51A	0	0,0	5	12,8	8	30,8	13	18,1	
Mutation du gène CYP51A	TR34/L98H	3	42,9	29	74,4	14	53,8	46	63,9
	TR34/L98H/S257T/F495I	0	0,0	1	2,6	0	0,0	1	1,4
	TR46/Y121F/T298A	0	0,0	4	10,3	2	7,7	6	8,3
	G54W	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	G54E/G513A	0	0,0	0	0,0	1	3,8	1	1,4
	Autre	0	0,0	0	0,0	1	3,8	1	1,4
Non effectué	4	57,1	0	0,0	0	0,0	4	5,6	

La prévalence de résistance aux triazolés sur les 3 années rapportées est stable avec une moyenne de 5,9 %.

4.4.2. ASPERGILLUS FLAVUS COMPLEXE

Comme le montre le tableau 13, 13 souches d'*Aspergillus flavus* complexe ont fait l'objet d'un test de sensibilité à l'itraconazole, au voriconazole et au posaconazole, : toutes se sont révélées sensibles à l'ensemble des molécules.

Tableau 13. Détermination de la sensibilité des souches de *Aspergillus flavus* complexe testées, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Itraconazole	S	5/5 (100 %)	6/6 (100 %)	2/2 (100 %)	13/13 (100 %)
	R	0/5 (0 %)	0/6 (0 %)	0/2 (0 %)	0/13 (0 %)
Voriconazole	S	5/5 (100 %)	6/6 (100 %)	2/2 (100 %)	13/13 (100 %)
	R	0/5 (0 %)	0/6 (0 %)	0/2 (0 %)	0/13 (0 %)
Posaconazole	S	5/5 (100 %)	3/3 (100 %)	2/2 (100 %)	10/10 (100 %)
	R	0/5 (0 %)	0/3 (0 %)	0/2 (0 %)	0/10 (0 %)

4.4.3. FUSARIUM SPECIES

Aucune valeur seuil clinique officielle et aucun seuil épidémiologique n'existe pour *Fusarium* species. Le tableau 14 présente les valeurs de CMI, ainsi que la CMI₅₀. Les souches de *Fusarium* species sont, par définition, résistantes au fluconazole.

Tableau 14. Détermination de la sensibilité des souches de *Fusarium* species testées, 2015-2017

		2015	2016	2017	Total
Itraconazole	Nbre échantillons testés	9	8	3	20
	CMI minimum (mg/L)	1	0,5	> 8	0,5
	CMI ₅₀ (mg/L)	> 16	> 16	> 16	> 16
	CMI maximum (mg/L)	≥ 32	≥ 32	> 32	> 32
Posaconazole	Nbre échantillons testés	6	4	4	14
	CMI minimum (mg/L)	2	0,25	> 8	0,25
	CMI maximum (mg/L)	> 8	> 8	> 32	> 32
Voriconazole	Nbre échantillons testés	12	13	5	30
	CMI minimum (mg/L)	1	0,12	1,5	0,12
	CMI ₅₀ (mg/L)	4	4	2	4
	CMI maximum (mg/L)	> 32	≥ 32	16	> 32
Amphotéricine B	Nbre échantillons testés	12	12	5	29
	CMI minimum (mg/L)	0,5	0,5	1	0,5
	CMI ₅₀ (mg/L)	2	1	2	2
	CMI maximum (mg/L)	> 32	8	> 32	> 32

4.5. DISCUSSION

Une surveillance continue de la sensibilité des différentes mycoses aux antifongiques est importante afin de suivre les tendances et pouvoir identifier à temps les problèmes de résistance émergente. Des infections résistantes peuvent se rencontrer chez des espèces présentant une résistance intrinsèque ou chez des isolats appartenant à une espèce normalement sensible avec une résistance acquise (27).

Il convient de souligner que les données proviennent exclusivement du centre national de référence conjoint de l'UZ Leuven et du CHU de Liège. Vu que certains échantillons sont uniquement analysés dans des laboratoires périphériques, l'existence d'un biais ne peut être exclue.

4.5.1 CANDIDA

Pour toute candidiase invasive ou cliniquement indiquée, l'espèce doit être identifiée et la souche testée pour la sensibilité au fluconazole. Cependant le traitement doit être initié le plus rapidement possible avant l'obtention de ces résultats (8). En cas de patient instable ou de résistance au fluconazole, un fongigramme complet doit être effectué.

Candida albicans est l'espèce la plus fréquemment isolée en Belgique suivie de *C. glabrata* (28), ce qui est reflété dans la distribution des échantillons analysés pour la sensibilité.

Les souches de *Candida albicans* testées étaient très majoritairement sensibles au fluconazole, cependant 3 % des souches y présentaient une résistance ou une sensibilité intermédiaire et parmi celles-ci la moitié présentaient une résistance croisée au voriconazole. Ces souches étaient cependant toutes sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B.

Les types de *Candida* suivants présentaient une sensibilité limitée au fluconazole (< 90 %) :

- *Candida glabrata* est intrinsèquement moins sensible au fluconazole (l'espèce peut être sensible de façon intermédiaire ou résistante). L'anidulafungine et l'amphotéricine B sont de bonnes solutions de traitement, car respectivement 98 et 99 % des souches étaient sensibles à ces molécules.
- *Candida tropicalis* : 89 % d'échantillons sensibles. La résistance est stable au cours des 3 années analysées, elle n'atteint pas la proportion de 20 % observée dans une étude multicentre menée en 2013-2014, en Belgique (28), mais est similaire aux 9 % de résistance/sensibilité intermédiaire observés dans une très large étude internationale de 1997 à 2007 (29). Les dix souches résistantes au fluconazole étaient toutefois sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B.
- *Candida guilliermondii* : 57 % d'échantillons sensibles. Les six souches résistantes au fluconazole étaient sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B. Ce pourcentage de résistance au fluconazole est élevé par rapport à la littérature (30).
- *Candida krusei* présente une résistance intrinsèque au fluconazole. Toutes les souches ont dès lors été soumises à un test de sensibilité au voriconazole, à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B. Elles se sont toutes révélées sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B et 95 % étaient sensibles au voriconazole.

L'incidence des infections par les différentes espèces de mycose ne fait pas l'objet d'une surveillance nationale en Belgique. Cependant des études rapportent des taux d'incidence croissant de *Candida non albicans*, particulièrement de *C. glabrata*, espèce intrinsèquement résistante au fluconazole, dans l'hémisphère nord (27;29). De nos jours, 20 à 30 % des candidémies impliqueraient des espèces intrinsèquement résistantes au fluconazole ou aux échinocandines (27). En Belgique, la résistance aux échinocandines reste peu élevée dans les souches de *Candida* analysées par les CNR.

4.5.2. ASPERGILLUS

A. Fumigatus est l'espèce d'*Aspergillus* la plus commune dans les infections humaines (27). Sur la base des résultats de l'UZ Leuven, une résistance aux triazolés (Voriconazole, Itraconazole et Posaconazole) a été détectée chez 5,9 % des souches d'*A. fumigatus*. Celle-ci semble stable au cours des années déclarées, ainsi qu'en comparaison des années précédentes (31). Le principal mécanisme de résistance est la mutation TR34/L98H du gène CYP51A.

Toutes les souches d'*Aspergillus flavus* complexe étaient, quant à elles, sensibles à ces trois triazolés.

5. CONCLUSION

Les informations reprises dans ce rapport concernent certains types et aspects de la surveillance des mycoses, mais n'ont pas pour objectif de donner une image exhaustive de l'épidémiologie des mycoses en Belgique.

Une étude récente portant sur la charge liée aux infections fongiques graves en Belgique (32) souligne la charge particulièrement élevée liée aux infections fongiques invasives due, d'une part, à leur mortalité élevée (estimation annuelle de 226 décès liés aux septicémies à *Candida* et 169 décès attribués à des aspergilloses invasives) et, d'autre part, à leur coût élevé. Cette charge est cependant sous-estimée parce que les tests de diagnostic les plus sensibles ne sont pas utilisés systématiquement.

L'épidémiologie des mycoses est en évolution constante. Il est primordial de suivre cette évolution au niveau des tendances dans les incidences des différentes espèces de mycoses et au niveau de l'émergence des résistances (intrinsèques ou acquises) pour fournir les informations nécessaires à une prise en charge adaptée et à jour. Actuellement, on constate une proportion croissante de candidémies non albicans, celles-ci sont potentiellement plus résistantes au fluconazole. On observe également des taux croissants de résistance aux azolés dans les aspergilloses. Les facteurs déterminant cette évolution sont l'utilisation des antifongiques dans les hôpitaux, mais également dans les soins de santé primaires et, en particulier pour l'*aspergillus*, la forte utilisation de pesticides azolés dans l'agriculture (27;33).

RÉFÉRENCES

1. Hagen F, Khayhan K, Theelen B, Kolecka A, Polacheck I, Sionov E, et al. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. *Fungal Genet Biol* 2015 May;78:16-48.
2. Hagen F, Hare JR, Meis JF, Arendrup MC. Molecular epidemiology and in vitro antifungal susceptibility testing of 108 clinical *Cryptococcus neoformans* sensu lato and *Cryptococcus gattii* sensu lato isolates from Denmark. *Mycoses* 2016 Sep;59(9):576-84.
3. Sloan DJ, Parris V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. *Clin Epidemiol* 2014;6:169-82.
4. Espinel-Ingroff A, Kidd SE. Current trends in the prevalence of *Cryptococcus gattii* in the United States and Canada. *Infect Drug Resist* 2015;8:89-97.
5. O'Halloran JA, Powderly WG, Spec A. Cryptococcosis today: It is not all about HIV infection. *Curr Clin Microbiol Rep* 2017 Jun;4(2):88-95.
6. Perfect J. *Cryptococcus neoformans*. In: Mandell G, Bennet J, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 7 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2009. p. 3287-303.
7. Vallabhaneni S, Mody RK, Walker T, Chiller T. The Global Burden of Fungal Diseases. *Infect Dis Clin North Am* 2016 Mar;30(1):1-11.
8. Société Belge d'Infectiologie et de Microbiologie Clinique. *Infectiologiesidids - Guide d'Infectiologie*. Beschikbaar via: <http://www.bvikm.org>. 2018.
9. Perfect JR, Bicanic T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. *Fungal Genet Biol* 2015 May;78:49-54.
10. Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG, Chiller TM. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS* 2009 Feb 20;23(4):525-30.
11. Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis* 2017 Aug;17(8):873-81.
12. Statbel. *Structuur van de bevolking*. 2018. Beschikbaar via: <https://statbel.fgov.be/nl/themas/bevolking/structuur-van-de-bevolking>
13. Bitar D, Lortholary O, Le SY, Nicolau J, Coignard B, Tattevin P, et al. Population-based analysis of invasive fungal infections, France, 2001-2010. *Emerg Infect Dis* 2014 Jul;20(7):1149-55.
14. Cogliati M, Prigitano A, Esposito MC, Romano L, Grancini A, Zani A, et al. Epidemiological trends of cryptococcosis in Italy: Molecular typing and susceptibility pattern of *Cryptococcus neoformans* isolates collected during a 20-year period. *Med Mycol* 2018 Nov 1;56(8):963-71.
15. Williamson PR, Jarvis JN, Panackal AA, Fisher MC, Molloy SF, Loyse A, et al. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. *Nat Rev Neurol* 2017 Jan;13(1):13-24.
16. Razzaghi-Abyaneh M, hams-Ghahfarokhi M, Rai M. *Medical micology. Current trends and future prospects*. Taylor & Francis Group; 2016.
17. Zhan P, Liu W. The Changing Face of Dermatophytic Infections Worldwide. *Mycopathologia* 2017 Feb;182(1-2):77-86.
18. Cafarchia C, Iatta R, Latrofa MS, Graser Y, Otranto D. Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of dermatophytes. *Infect Genet Evol* 2013 Dec;20:336-51.
19. Kelly BP. Superficial fungal infections. *Pediatr Rev* 2012 Apr;33(4):e22-e37.
20. Sacheli R, Adjetey C, Darfouf R, Harag S, Huynen P, Meex C, et al. A one-year survey of *Microsporum audouinii* infections in Belgium: epidemiological and genotypic characterization. *Clin Microbiol Infect* 2016 Mar;22(3):285-17.
21. Normand AC, Becker P, Gabriel F, Cassagne C, Accoceberry I, Gari-Toussaint M, et al. Validation of a New Web Application for Identification of Fungi by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2017 Sep;55(9):2661-70.

22. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, et al. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. *Mycopathologia* 2017 Feb;182(1-2):5-31.
23. Lockhart SR, Ghannoum MA, Alexander BD. Establishment and Use of Epidemiological Cutoff Values for Molds and Yeasts by Use of the Clinical and Laboratory Standards Institute M57 Standard. *J Clin Microbiol* 2017 May;55(5):1262-8.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Fourth Informational Supplement. Document M27-S4. 2012.
25. Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castanon-Olivares LR, Chowdhary A, Cordoba S, et al. *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii* species complex: an international study of wild-type susceptibility endpoint distributions and epidemiological cutoff values for fluconazole, itraconazole, posaconazole, and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 Nov;56(11):5898-906.
26. Espinel-Ingroff A, Chowdhary A, Cuenca-Estrella M, Fothergill A, Fuller J, Hagen F, et al. *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii* species complex: an international study of wild-type susceptibility endpoint distributions and epidemiological cutoff values for amphotericin B and flucytosine. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 Jun;56(6):3107-13.
27. Arendrup MC. Update on antifungal resistance in *Aspergillus* and *Candida*. *Clin Microbiol Infect* 2014 Jun;20 Suppl 6:42-8.
28. Trouve C, Blot S, Hayette MP, Jonckheere S, Patteet S, Rodriguez-Villalobos H, et al. Epidemiology and reporting of candidaemia in Belgium: a multi-centre study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017 Apr;36(4):649-55.
29. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol* 2010 Apr;48(4):1366-77.
30. Pfaller MA, Diekema DJ, Mendez M, Kibbler C, Erzsebet P, Chang SC, et al. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol* 2006 Oct;44(10):3551-6.
31. Poelmans J, Patteet S, Vande Velde G, Himmelreich U, Maertens J, Lagrou K. Azole resistance prevalence and mechanisms in *Aspergillus fumigatus* in a large tertiary care hospital. 2017.
32. Lagrou K, Maertens J, Van EE, Denning DW. Burden of serious fungal infections in Belgium. *Mycoses* 2015 Oct;58 Suppl 5:1-5.
33. van der Linden JW, Arendrup MC, Warris A, Lagrou K, Pelloux H, Hauser PM, et al. Prospective multicenter international surveillance of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Emerg Infect Dis* 2015 Jun;21(6):1041-4.

CONTACT

Dominique Van Beckhoven • dominique.vanbeckhoven@sciensano.be • T +32 2 642 57 09

PLUS D'INFORMATION

Visitez notre site web
www.sciensano.be



Sciensano • rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgique
T +32 2 642 51 11 • T presse +32 2 642 54 20 • info@sciensano.be • www.sciensano.be

Éditeur responsable : Myriam Sneyers, Directeur général • Rue Juliette Wytsman 14 • 1050 Bruxelles • Belgium • D/2018/14.440/29