

MYCOSES

Epidemiologische surveillance in België, 2015

Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid

Operationele Directie Volksgezondheid & Surveillance

J. Wytsmanstraat 14

1050 Brussel | België

www.wiv-isp.be

Dienst Epidemiologie van infectieziekten | Maart 2018 | Brussel, België

Verantwoordelijke uitgever: Dr. Ir. Myriam Sneyers | Algemeen directeur

PH&S Report: PH&S 2018-018

Depotnummer: D/2018/2505/19

Auteurs

Van Beckhoven D.¹,

Ost C.¹,

Sacheli R.³,

Patteet S.²,

Hayette MP.³,

Lagrou K.²

Contact

Tel.: +32 (0) 2 642 57 09

E-mail: dominique.vanbeckhoven@wiv-isp.be

Dankwoord

De dienst Epidemiologie van infectieziekten van het WIV-ISP dankt Ann Packeu, Dienst Mycologie en Aerobiologie, WIV-ISP, voor het rapportering van cryptokokkose gegevens.

De auteurs danken ook de collega's Gaëtan Muyldermans en Tinne Lernout, Dienst Epidemiologie van infectieziekten, WIV-ISP, voor hun medewerking en hun bijdrage aan dit rapport.

¹ Dienst Epidemiologie van infectieziekten, Operationele directie Volksgezondheid en surveillance, Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV-ISP)

² Nationaal referentiecentrum voor mycose, UZ Leuven, Leuven

³ Nationaal referentiecentrum voor mycose, UZ Sart Tilman, Liège

INHOUDSTAFEL

1. Surveillance van cryptokokkose	5
Inleiding	5
Methoden.....	5
Resultaten	6
Bespreking.....	7
Referenties	8
2. Surveillance van de gevoeligheid van gisten en filamenteuze fungi aan antifungale middelen	9
Overzicht van de stammen	9
analyse Methode	10
Gevoeligheidsbepaling van de gisten	10
Candida albicans.....	10
Candida glabrata	11
Candida parapsilosis	12
Candida tropicalis.....	13
Candida krusei.....	13
Candida lusitaniae.....	14
Candida guilliermondii	14
Candida kefyr.....	14
Cryptococcus neoformans	14
Saccharomyces cerevisiae	15
Gevoeligheidsbepaling van de filamenteuze fungi.....	15
Aspergillus fumigatus complex.....	15
Aspergillus flavus complex	15
Fusarium species.....	16
Discussie	17
Referenties	18

1. SURVEILLANCE VAN CRYPTOKOKKOSE

INLEIDING

Cryptokokkose is een wereldwijd verspreide schimmelinfectie te wijten aan een ingekapselde saprofytische gist van het geslacht *Cryptococcus*. De meerderheid van de humane cryptococcose infecties worden veroorzaakt door de complexen *C. neoformans* en *C. gattii*. Er worden zelden infecties met andere species gerapporteerd (1,2). *C. neoformans* veroorzaakt wereldwijd 82 % van de cryptokokkosen (3). Infecties door *C. gattii* komen voor in bepaalde regio's van de wereld, zoals Europa en het oosten van de Verenigde Staten (6). *Cryptococcus neoformans* wordt aangetroffen in de uitwerpselen van vogels, organisch materiaal in ontbinding en in de grond. *C. gattii* is al geïsoleerd uit bepaalde bomen, grond, lucht, zoet water en zeewater maar de natuurlijke reservoirs zijn nog niet helemaal geïdentificeerd en de verspreiding breidt mogelijk uit (3). Infecties met *Cryptococcus* worden verworven via inhalatie en worden niet van mens op mens overgedragen (4).

Een infectie met *Cryptococcus* is bij personen in goede gezondheid vaak asymptomatisch. De grote meerderheid van de patiënten met een symptomatische gedissemineerde cryptococcose heeft een onderliggende immunodepressie die verband kan houden met aids, een langdurige behandeling met corticoiden, een orgaantransplantatie, gevorderde kanker, diabetes of sarcoidose. Bij 20 % van de hiv-negatieve patiënten met cryptokokkose is er geen enkele risicofactor of onderliggende ziekte geïdentificeerd. De infectie treedt het frequentst op ter hoogte van de longen en het centraal zenuwstelsel maar alle organen kunnen worden aangetast. De respiratoire symptomen gaan van matige tot dodelijke pneumonie. Infecties ter hoogte van het centraal zenuwstelsel uiten zich in meningitis of meningo-encefalitis met subacute evolutie, waarvan de frequentste symptomen hoofdpijn en verwarring zijn (4,5). De incubatieperiode duurt doorgaans 2 tot 11 maanden maar kan ook langer duren (6). Gisten van *Cryptococcus* kunnen decennia na inhalatie blijven sluimeren en geactiveerd worden wanneer de immuunstatus van de gastheer verzwakt is (1). In tegenstelling tot *C. neoformans*, dat in het algemeen personen met een immunodepressie treft, kan *C. gattii* leiden tot ernstige infecties die moeilijk te behandelen zijn bij immunocompetente personen (6,10).

De behandeling van cryptokokkose berust op de combinatie van 3 moleculen: amfotericine B, flucytosine (5FC) en fluconazol (7). Ondanks de behandeling met antifungale middelen bedraagt de sterfte in de ontwikkelde landen 10 % tot 25 %. In de landen met beperkte middelen kan de sterfte na zes maanden oplopen tot 100 % (4).

In de loop van de afgelopen twee decennia is *Cryptococcus* een frequente opportunistische pathogeen agens geworden ten gevolge van de toename van de levensverwachting en het aantal personen met een immunodepressie, die een hoger risico lopen op een schimmelinfectie. Een studie van 2009 raamde het aantal gevallen van meningitis met *cryptococcus* per jaar wereldwijd op nagenoeg een miljoen zijn, met meer dan 600.000 sterfgevallen (8). Deze ramingen zijn sindsdien verminderd dankzij het effect van de steeds meer verspreide gebruik van antiretrovirale behandelingen voor hiv (7). In de periode 2001-2010 bedroeg de gemiddelde jaarlijkse incidentie van cryptokokkose in Frankrijk 0,3 per 100.000 inwoners met een daling van 9,8 % per jaar. Deze is het gevolg van een daling van de incidentie onder de patiënten besmet met hiv terwijl er geen daling is waargenomen bij hiv-negatieve patiënten (9). In Sub-Saharaans Afrika blijft meningitis met *cryptococcus* één van de voornaamste oorzaken van sterfte onder de patiënten besmet met hiv. Cryptokokkose zou er voor evenveel sterfgevallen verantwoordelijk zijn als tuberculose (5,10).

METHODEN

In België berust de epidemiologische surveillance van schimmels op de gegevens die worden gerapporteerd door het nationaal referentiecentrum (NRC) voor schimmels, gecoördineerd door het UZ Leuven, in samenwerking met het Luikse CHU Sart Tilman, alsook op de cryptokokkose-gegevens gerapporteerd door het peillaboratorienetwerk en de eenheid Mycologie en Aerobiologie van het Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV).

Dit rapport bevat de gegevens van 2015, na validatie en verwijdering van de duplicaten.

RESULTATEN

In 2015 zijn er in totaal 19 patiënten met cryptokokkose gerapporteerd: 10 gevallen door het NRC, 6 door het netwerk van peillaboratoria (slechts 3 laboratoria hebben gevallen gerapporteerd) en 3 gevallen door de eenheid Mycologie van het WIV. Tabel 1 geeft de karakteristieken van de patiënten.

Iets meer dan de helft (58%) van de patiënten zijn mannen. De mediane leeftijd was 66 jaar. De gerapporteerde gevallen woonden verspreid over de drie gewesten van het land en waren afkomstig van de volgende provincies: Vlaams-Brabant (n=4), Luik (n=3), Antwerpen (n=2), West-Vlaanderen (n=2), Oost-Vlaanderen (n=2), Brussel (n=2), Henegouwen (n=2) en Namen (n=1).

Tabel 1 | Karakteristieken van de patiënten gediagnosticeerd met een cryptokokkose in het NRC (en het WIV) en het netwerk van peillaboratoria, België, 2015

Karakteristieken	NRC & WIV	Peillaboratorienetwerk	Totaal
Geslacht	(N=13)	(N=6)	(N=19)
Man	7 (54%)	4 (67%)	11 (58%)
Vrouw	6 (46%)	2 (33%)	8 (42%)
Leeftijd	(N=13)	(N=5)	(N=18)
0-15 jaar	0	0	0
16-49 jaar	3 (23%)	4 (80%)	7 (39%)
50 +	10 (77%)	1 (20%)	11 (61%)
Gewest	(N=12)	(N=6)	(N=18)
Brussel	0	2 (33%)	2 (11%)
Wallonië	5 (42%)	1 (17%)	6 (33%)
Vlaanderen	7 (58%)	3 (50%)	10 (56%)

Voor de 10 van de 13 gevallen gerapporteerd door het NRC en de eenheid Mycologie van het WIV was informatie over risicofactoren beschikbaar: 2 patiënten hadden een systemische inflammatoire aandoening, 2 patiënten hadden een belangrijke orgaantransplantatie ondergaan, 1 patiënt was besmet met hiv, 1 patiënt leed aan kanker, 2 patiënten hadden een andere pathologie of behandeling en 2 patiënten hadden geen geïdentificeerde risicofactor.

Het type staal gebruikt voor de diagnose van de gevallen evenals de diagnosemethoden zijn beschreven in tabel 2. Voor sommige patiënten werden er meerdere stalen opgestuurd in 2015. De meerderheid van de diagnoses was gebaseerd op de detectie van antigenen in stalen van bloed en cerebrospinaal vocht (CSV) en op culturen van etter- en huidstalen.

Tabel 2 | Type staal en diagnosemethode voor gevallen van *Cryptococcus* infecties, België, 2015

Type staal	N (%)	Diagnosemethode			
		Cultuur	Antigen	Cultuur + Ag	Onbekend
Bloed	12 (48%)	2	7	0	3
CSV	11 (44%)	3	6	2	0
Etter	1 (4%)	1	0	0	0
Huid	1 (4%)	1	0	0	0
TOTAAL	25 (100%)	7	13	2	3

Het gerapporteerde species was *C. neoformans* in 12 gevallen en was onbekend in 7 gevallen. De resultaten van de in-vitrogevoeligheidstests worden in het tweede deel van het rapport gepresenteerd.

BESPREKING

In verhouding tot de Belgische bevolking (11) vertegenwoordigen de 19 gerapporteerde gevallen van cryptokokkose een incidentiecijfer van 0,17 per 100.000 inwoners in 2015, wat vergelijkbaar is met het incidentiecijfer van 0,2 gevallen/100.000/jaar in Frankrijk, gemeten in de periode 2008-2010 (8). In Frankrijk, waar de surveillance reeds lang bestaat, ziet men een regelmatige daling van de incidentie van cryptokokkose, in het bijzonder onder patiënten besmet met hiv. In de Belgische surveillance werd er in 2015 bij slechts één geval van cryptokokkose cryptococcose een hiv-infectie gerapporteerd, terwijl voor de meerderheid van de overige gevallen andere oorzaken van immunodepressie werden beschreven, in het bijzonder bij personen op leeftijd.

In 2015 is er geen enkel geval van *C. gattii* gerapporteerd maar het species was onbekend in meer dan een derde van de geregistreerde gevallen.

De combinatie van 3 gegevensbronnen -NRC, de eenheid Mycologie van het WIV en het netwerk van peilaboratoria- maakt het mogelijk om een betrouwbaar beeld te krijgen van de *Cryptococcus*-epidemiologie voor de 3 gewesten van ons land. Ongeveer twee derden van de gevallen zijn door de gespecialiseerde structuren, het NRC en de eenheid Mycologie van het WIV gerapporteerd en slechts een derde van de diagnoses is gesteld door laboratoria voor algemene microbiologie.

REFERENTIES

- (1) Hagen F, Jensen R, Meis J, Arendrup M. 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. doi: 10.1111/myc.12507.
- (2) Hagen F, Khayhan K, Theelen B, Kolecka A, Polacheck I, Sionov E, et al. 2015. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. *Fungal Genet Biol.* 78:16–48. doi: 10.1016/j.fgb.2015.02.009.
- (3) Sloan D, Parris V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. *Clinical Epidemiology* 2014;6: 169–182
- (4) Perfect J. *Cryptococcus neoformans*. In: Mandell G, Bennet J, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 7th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2009. p 3287-303
- (5) Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. Cryptococcal meningitis: a deadly fungal disease among people living with HIV/AIDS. Beschikbaar via: <http://www.cdc.gov/fungal/pdf/at-a-glance-508c.pdf>
- (6) Espinel-Ingroff A, Kidd A. Current trends in the prevalence of *Cryptococcus gattii* in the United States and Canada. *Infection and Drug Resistance* 2015;8: 89–97
- (7) Perfect J, Bicanic T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. *Fungal Genetics and Biology* 78 (2015) 49–54
- (8) Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS* 2009;23(4):525–30
- (9) Bitar D, Lortholary O, Le Strat Y, Nicolau J, Coignard B, Tattevin P. Population-Based Analysis of Invasive Fungal Infections, France, 2001–2010. *Emerging Infectious Diseases* 2014;20(7):1149-55
- (10) Vallabhaneni S, Mody R, Walker T, Chiller T. The global burden of fungal diseases. *Infect Dis Clin N Am* 30 (2016) 1–11
- (11) Algemene Directie Statistiek - Statistics Belgium <http://statbel.fgov.be/nl/statistieken/cijfers/bevolking/structuur/leeftijdgeslacht/belgie/>

2. SURVEILLANCE VAN DE GEVOELIGHEID VAN GISTEN EN FILAMENTEUZE FUNGI AAN ANTIFUNGALE MIDDELEN

OVERZICHT VAN DE STAMMEN

In 2015 werden 531 fungi opgestuurd naar het NRC van het UZ Leuven voor een gevoeligheidsbepaling, waaronder 437 gist isolaten en 94 filamenteuze fungi.

Tabel 3 | Overzicht van de stammen die werden opgestuurd naar het NRC van het UZ Leuven voor een gevoeligheidsbepaling, 2015

Gisten	N	Filamenteuze fungi	N
<i>Candida albicans</i>	210	<i>Arthrographis</i> species	1
<i>Candida dubliniensis</i>	2	<i>Aspergillus flavus</i> complex	5
<i>Candida glabrata</i>	121	<i>Aspergillus fumigatus</i> complex	52
<i>Candida guilliermondii</i>	5	<i>Aspergillus nidulans</i> complex	1
<i>Candida guilliermondii/famata</i>	1	<i>Aspergillus niger</i> complex	1
<i>Candida inconspicua</i>	2	<i>Aspergillus terreus</i> complex	4
<i>Candida kefyr</i>	4	<i>Curvularia</i> species	1
<i>Candida krusei</i>	15	<i>Fusarium</i> species	9
<i>Candida lipolytica</i>	1	<i>Fusarium oxysporum</i> complex	1
<i>Candida lusitanae</i>	9	<i>Fusarium solani</i> complex	1
<i>Candida palmiophila</i>	1	<i>Geotrichum candidum</i>	1
<i>Candida parapsilosis</i>	32	<i>Geotrichum</i> species	1
<i>Candida pelliculosa</i>	1	<i>Madurella mycetomatis</i>	1
<i>Candida species</i>	1	<i>Myceliophthora verrucosa</i>	1
<i>Candida tropicalis</i>	19	Omgevingscontaminant	2
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6	<i>Penicillium marneffeii</i>	1
Gisten	1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6	<i>Rhizopus microsporus</i>	2
		<i>Rhizopus</i> species	2
		<i>Rhodotorula</i> species	1
		<i>Scedosporium apiospermum</i> complex	2
		<i>Scedosporium prolificans</i>	1
		<i>Verticillium</i> species	1
TOTAAL	437	TOTAAL	94

ANALYSE METHODE

In 2015 werden in het UZ Leuven 531 fungi geanalyseerd van 445 patiënten, voor sommige patiënten werden dus meerdere isolaten van hetzelfde species opgestuurd. Aangezien resistentie tegen antifungale middelen kan ontwikkelen, werden meerdere isolaten per patiënt meegenomen in de analyse wanneer zich meer dan één maand bevond tussen beide gevoeligheidsbepalingen. Dit laatste was het geval voor 16 isolaten, wat resulteert in een totaal van 461 gevoeligheidsbepalingen voor één of meerdere antifungale middelen die werden geanalyseerd.

De gevoeligheidsbepaling van een isolaat voor een antifungaal middel is gebaseerd op twee stappen: ten eerste, de bepaling van de minimale inhibitorische concentratie (MIC) van het isolaat en vervolgens de vergelijking met de epidemiologische of de klinische drempel.

MIC staat voor de minimale inhibitorische concentratie of de minimale concentratie van het antifungaal middel dat nodig is om een therapeutisch effect te bereiken.

Epidemiologische drempels werden gedefinieerd op basis van de MIC-distributie van een groot aantal stammen voor een bepaalde soort en een bepaald antifungaal middel. Aan de hand van deze verdeling kan een epidemiologische drempels bepaald worden die het mogelijk maakt om wilde stammen (wild type) van niet-wilde stammen te onderscheiden. De wild type (WT) populatie bestaat uit isolaten zonder een detecteerbare verworven of mutatie-gerelateerde resistentie tegen het antifungaal middel onder studie. De non-WT populatie bestaat uit isolaten met één of meerdere merkers van resistentie. Deze methode zegt niets over de al dan niet aanwezigheid van een therapeutisch effect. Het gebruik van epidemiologische drempels laat een snelle indicatie van in ontwikkeling zijnde veranderingen in gevoeligheid toe (2-3).

De klinische drempels voor gevoeligheid worden bepaald door een comité van experts op basis van microbiologische, farmacologische en klinische factoren. De klinische drempels bepaald door de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute (M27S4 (1))) werden gebruikt aangezien de gebruikte methode (Sensititre) voor de gevoeligheidsbepaling in het NRC beter correleert met CLSI dan met EUCAST. Op basis hiervan kunnen de isolaten geënclassificeerd worden in drie categorieën (2):

- “gevoelig”, verder in de tekst afgekort als “S”. Een stam wordt geënclassificeerd als “gevoelig”, wanneer het niveau van de gemeten antifungale activiteit geassocieerd is met een grote kans op therapeutisch succes (2);
- “intermediair”, verder in de tekst afgekort als “I”. Een stam wordt geënclassificeerd als “intermediair gevoelig”, wanneer het onzeker is of het niveau van de gemeten antifungale activiteit geassocieerd is met een therapeutisch effect (2);
- “resistent”, verder in de tekst afgekort als “R”. Een stam wordt geënclassificeerd als “resistent”, wanneer het niveau van de gemeten antifungale activiteit geassocieerd is met een grote kans op therapeutisch falen (2).

In dit rapport worden klinische drempels voor gevoeligheid gebruikt wanneer deze beschikbaar zijn. Zo niet worden epidemiologische drempels gebruikt.

In een aantal uitzonderlijke gevallen (zelden geïsoleerde soorten) zijn zowel geen klinische, als epidemiologische breekpunten beschikbaar. In een dergelijk geval zal de range van de MIC-waarden, samen met de MIC₅₀ worden gerapporteerd. MIC₅₀ staat voor de concentratie waarbij 50% van de geteste isolaten een therapeutisch effect bereikt.

GEVOELIGHEIDSBEPALING VAN DE GISTEN

Candida albicans

Er werden 170 *Candida albicans* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling, alle stammen werden getest voor hun gevoeligheid aan fluconazol. Hieruit blijkt dat 97.6% van de geteste *Candida albicans* stammen gevoelig is aan fluconazol, 0.6% is hieraan intermediair gevoelig en 1.8% bleek resistent.

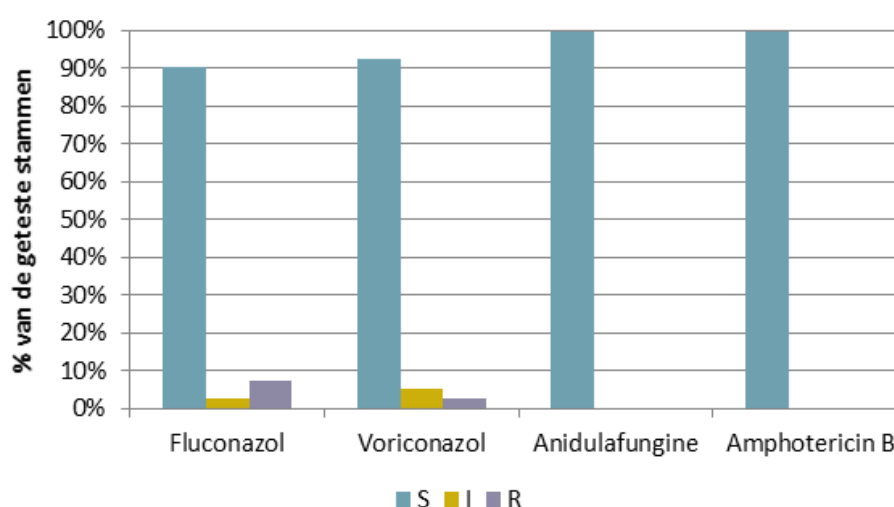
Voor ongeveer één vierde van de stammen werd naast de gevoeligheid aan fluconazol ook de gevoeligheid aan andere antifungale middelen getest, zie tabel 4. Voor isolaten met een intermediair gevoelig of een resistent resultaat tegen fluconazol wordt sowieso de gevoeligheid aan de andere antifungale middelen geëvalueerd alsook voor de stammen waarvoor het doorsturend lab een volledig fungigram aanvraagt.

Tabel 4 | Gevoeligheidsbepaling voor de *Candida albicans* stammen, 2015

	Stalen getest	Aantal S	Aantal I	Aantal R
Fluconazol	170	166/170 (98 %)	1/170 (1 %)	3/170 (2 %)
Voriconazol	40	37/40 (93 %)	2/40 (5 %)	1/40 (3 %)
Anidulafungine	41	41/41 (100 %)	0/41 (0 %)	0/41 (0 %)
Amphotericin B	41	41/41 (100 %)	0/41 (0 %)	0/41 (0 %)

Eén van de *Candida albicans* stammen was intermediair resistent tegen fluconazol, deze stam was eveneens intermediair resistent tegen voriconazol. Deze stam was daarentegen wel gevoelig aan anidulafungine en amphotericin B. Daarnaast bleken drie *Candida albicans* stammen resistent te zijn tegen fluconazol, deze stammen waren allen gevoelig aan anidulafungine en amphotericin B. Eén van deze drie stammen was eveneens gevoelig aan voriconazol, één was intermediair gevoelig aan voriconazol en één was eveneens resistent tegen voriconazol.

Figuur 1 | Gevoeligheidsbepaling voor de *Candida albicans* stammen die gelijktijdig getest werden voor meerdere antifungale middelen (N=41), 2015



Candida glabrata

Tabel 5 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Candida glabrata* stammen, 2015

	Stalen getest	Aantal S	Aantal I	Aantal R
Fluconazol	105/105 (100 %)	/	78/105 (74 %)	27/105 (26 %)
Voriconazol	104/105 (99 %)	4/104 (4 %)	57/104 (59 %)	43/104 (41 %)
Anidulafungine	105/105 (100 %)	104/105 (99 %)	0/105 (0 %)	1/105 (1 %)
Amphotericin B	97/105 (92 %)	96/97 (99 %)	0/97 (0 %)	1/97 (1 %)

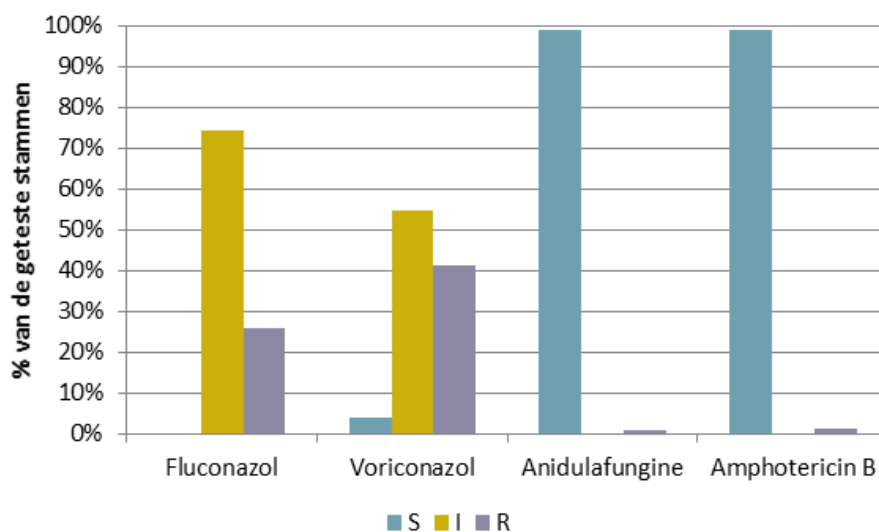
Zoals aangegeven in tabel 5 werden 105 *Candida glabrata* stammen getest voor hun gevoeligheid aan fluconazol. *Candida glabrata* is per definitie niet gevoelig aan fluconazol, 74% van de geteste stammen bleek intermediair gevoelig (dosis afhankelijke gevoeligheid) en 26% van de stammen bleek resistent aan fluconazol. Tegelijk bleek dat 99% van de *Candida glabrata* stammen gevoelig was aan anidulafungine en amphotericin B.

Tabel 6 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Candida glabrata* stammen aan voriconazol, anidulafungine en amphotericin B in functie van de gevoeligheid aan fluconazol, 2015

	Voriconazol			Anidulafungine			Amphotericin B		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Fluconazol I (78)	5/78 (6 %)	56/78 (72 %)	17/78 (22 %)	78/78 (100 %)	0/78 (0 %)	0/78 (0 %)	77/78 (99 %)	0/78 (0 %)	1/78 (1 %)
Fluconazol R (27)	0/27 (0 %)	1/27 (4 %)	26/27 (96 %)	26/27 (96 %)	0/27 (0 %)	1/27 (4 %)	27/27 (100 %)	0/27 (0 %)	0/27 (0 %)

Uit tabel 6 blijkt dat voor de behandeling van *Candida glabrata* voriconazol zelden een goed alternatief is voor fluconazol. De *Candida glabrata* stammen blijken wel een hogere gevoeligheid te hebben aan anidulafungine en amphotericin B. Elke geteste *Candida glabrata* stam was gevoelig aan minstens één van de onderzochte antifungale middelen.

Figuur 2 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Candida glabrata* stammen, 2015



Candida parapsilosis

Er werden 30 *Candida parapsilosis* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling die allen werden getest voor hun gevoeligheid aan fluconazol. Hieruit bleek dat 93.3% van de stammen gevoelig was aan fluconazol, 3.3% was intermediair gevoelig en nog eens 3.3% was resistent tegen fluconazol.

Voor een kleine helft van de stammen werd naast de gevoeligheid aan fluconazol ook de gevoeligheid aan andere antifungale middelen getest, zie tabel 7. Voor isolaten met een intermediair gevoelig of een resistent resultaat tegen fluconazol wordt sowieso de gevoeligheid aan de andere antifungale middelen geëvalueerd alsook voor de stammen waarvoor het doorsturend lab een volledig fungigram aanvraagt.

Tabel 7 | Gevoeligheidsbepaling voor de *Candida parapsilosis* stammen, 2015

	Stalen getest	Aantal S	Aantal I	Aantal R
Fluconazol	30	28/30 (93 %)	1/30 (3 %)	1/30 (3 %)
Voriconazol	13	13/13 (100 %)	0/13 (0 %)	0/13 (0 %)
Anidulafungine	13	13/13 (100 %)	0/13 (0 %)	0/13 (0 %)
Amphotericin B	12	12/12 (100 %)	0/12 (0 %)	0/12 (0 %)

Van de geteste *Candida parapsilosis* stammen was één stam intermediair gevoelig aan en één stam resistent tegen fluconazol. Beide stammen bleken, net als alle andere geteste *Candida parapsilosis* stammen, wel gevoelig te zijn aan voriconazol, anidulafungine en amphotericin B.

Candida tropicalis

Er werden 15 *Candida tropicalis* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling die allen werden getest voor hun gevoeligheid aan fluconazol. Hieruit bleek dat 87% van de stammen gevoelig is aan en 13% resistent is tegen fluconazol.

Voor een derde van de stammen (5/15) werd naast de gevoeligheid aan fluconazol ook de gevoeligheid aan andere antifungale middelen getest, zie tabel 8. Voor isolaten met een intermediair gevoelig of een resistent resultaat tegen fluconazol wordt sowieso de gevoeligheid aan de andere antifungale middelen geëvalueerd alsook voor de stammen waarvoor het doorsturend lab een volledig fungigram aanvraagt.

Tabel 8 | Gevoeligheidsbepaling voor de *Candida tropicalis* stammen, 2015

	Stalen getest	Aantal S	Aantal I	Aantal R
Fluconazol	15	13/15 (87 %)	0/15 (0 %)	2/15 (13 %)
Voriconazol	5	3/5 (60 %)	0/5 (0 %)	2/5 (40 %)
Anidulafungine	5	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)
Amphotericin B	5	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)

Van de geteste *Candida tropicalis* stammen waren er twee stammen resistent tegen fluconazol, beide stammen waren eveneens resistent tegen voriconazol. Beide stammen bleken, net als alle andere geteste *Candida tropicalis* stammen, wel gevoelig te zijn aan anidulafungine en amphotericin B.

Candida krusei

Tabel 9 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Candida krusei* stammen, 2015

	Stalen getest	Aantal S	Aantal I	Aantal R
Fluconazol		Intrinsiek resistent		
Voriconazol	11/11 (100 %)	11/11 (100 %)	0/11 (0 %)	0/11 (0 %)
Anidulafungine	11/11 (100 %)	11/11 (100 %)	0/11 (0 %)	0/11 (0 %)
Amphotericin B	11/11 (100 %)	11/11 (100 %)	0/11 (0 %)	0/11 (0 %)

Candida krusei is intrinsiek resistent tegen fluconazol, het heeft dus geen zin een gevoeligheidsbepaling voor dit antifungaal middel uit te voeren. Zoals aangegeven in tabel 9 werd de gevoeligheid voor voriconazol, anidulafungine en amphotericin B getest voor alle 11 aangeboden *Candida krusei* stammen. Al deze testen hadden "gevoelig" als uitkomst.

Candida lusitaniae

Tabel 10 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Candida lusitaniae* stammen, 2015

	Stalen getest	Aantal S	Aantal I	Aantal R
Fluconazol	9/9 (100 %)	9/9 (100 %)	0/9 (0 %)	0/9 (0 %)
Voriconazol		Geen officiële breekpunten beschikbaar		
Anidulafungine		Geen officiële breekpunten beschikbaar		
Amphotericin B	6/9 (67 %)	6/6 (100 %)	0/6 (0 %)	0/6 (0 %)

Zoals aangegeven in tabel 10 werden 9 *Candida lusitaniae* stammen getest voor hun gevoeligheid aan fluconazol: 100% van deze stammen bleek gevoelig. Alle *Candida lusitaniae* stammen waarvoor de gevoeligheid bepaald werd aan amphotericin B bleken hieraan gevoelig te zijn.

Candida guilliermondii

Er werden vier *Candida guilliermondii* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling. De helft van de stammen (2/4) bleek resistent tegen fluconazol. Beide stammen waren wel gevoelig aan anidulafungine en amphotericin B.

Candida kefyr

Er werden vier *Candida kefyr* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling. Alle stammen bleken gevoelig te zijn aan fluconazol. Voor één stam werd bijkomend de gevoeligheid voor amphotericin B bepaald, deze stam bleek hieraan eveneens gevoelig te zijn.

Cryptococcus neoformans

Tabel 11 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Cryptococcus neoformans* stammen, 2015

	Stalen getest	Minimum MIC (mg/l)	Maximum MIC (mg/l)
Fluconazol	5/6 (83 %)	2.00	8.00
Amphotericin B	5/6 (83 %)	0.12	0.50

Voor *Cryptococcus neoformans* zijn er nog geen officiële klinische breekpunten beschikbaar, daarom wordt hier de range van de waarden (tabel 11) vergeleken met de epidemiologische breekpunten. Het epidemiologisch breekpunt geeft aan dat 95% van de WT-populatie gevoelig is aan een fluconazol concentratie > 8 µg/ml of 8 mg/l (3). Hieruit blijkt dat alle geteste stammen een vergelijkbare gevoeligheid voor fluconazol vertonen als de WT-populatie en dus tot deze laatste populatie behoren.

Saccharomyces cerevisiae

Tabel 12 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Saccharomyces cerevisiae* stammen, 2015

	Stalen getest	Minimum MIC (mg/l)	MIC50 (mg/l)	Maximum MIC (mg/l)
Fluconazol	6/6 (100%)	1.00	4.00	8.00
Itraconazol	3/6 (50%)	0.06	0.25	0.50
Posaconazol	3/6 (50%)	0.12	0.50	0.50
Voriconazol	6/6 (100%)	0.03	0.06	0.12
Caspofungine	6/6 (100%)	0.25	0.25	0.50
Anidulafungine	6/6 (100%)	0.12	0.12	0.25
Amphotericin B	6/6 (100%)	0.12	0.25	1.00

Voor *Saccharomyces cerevisiae* zijn er nog geen officiële klinische of epidemiologische breekpunten beschikbaar, daarom wordt in tabel 12 de range van de MIC-waarden samen met de MIC₅₀ weergegeven.

GEVOELIGHEIDSBEPALING VAN DE FILMANTEUZE FUNGI

Aspergillus fumigatus complex

Tabel 13 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Aspergillus fumigatus complex* stammen, 2015

	Échantillons testés	Nombre de S	Nombre de R
Itraconazole	52/52 (100 %)	48/52 (92 %)	4/52 (8 %)
Voriconazole	52/52 (100 %)	44/52 (85 %)	8/52 (15 %)
Posaconazole	52/52 (100 %)	47/52 (90 %)	5/52 (10 %)

Zoals aangegeven in tabel 13 werden 52 *Aspergillus fumigatus complex* stammen getest voor hun gevoeligheid aan itraconazol, voriconazol en posaconazol: respectievelijk 92%, 85% en 90% van deze stammen bleek hieraan gevoelig.

In totaal waren er 8 stammen resistent voor voriconazol, itraconazol en/of posaconazol. Bij sequentie-analyse van het CYP51A gen hebben 6 stammen een TR34/L98H mutatie, 1 stam een TR46/Y121F/T289A mutatie en 1 stam werd niet getest.

Aspergillus flavus complex

Tabel 14 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Aspergillus flavus complex* stammen, 2015

	Stalen getest	Aantal S	Aantal R
Itraconazol	5/5 (100 %)	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)
Voriconazol	5/5 (100 %)	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)
Posaconazol	5/5 (100 %)	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)

Zoals aangegeven in tabel 14 werden 5 *Aspergillus flavus complex* stammen getest voor hun gevoeligheid aan itraconazol, voriconazol en posaconazol: alle stammen bleken gevoelig te zijn aan al deze moleculen.

Fusarium species

Tabel 15 | Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Fusarium species* stammen, 2015

	Stalen getest	Minimum MIC (mg/l)	MIC ₅₀ (mg/l)	Maximum MIC (mg/l)
Itraconazol	6/9 (67 %)	16	16	16
Posaconazol	3/9 (33 %)	2	8	8
Voriconazol	9/9 (100 %)	4	4	32
Caspofungine	2/9 (22 %)	8	8	8
Anidulafungine	2/9 (22 %)	8	8	8
Amphotericin B	9/9 (100 %)	0.5	4	32

Voor *Fusarium species* zijn er nog geen officiële klinische of epidemiologische breekpunten beschikbaar, daarom wordt in tabel 15 de range van de MIC-waarden samen met de MIC₅₀ weergegeven. *Fusarium species* zijn per definitie resistent tegen fluconazole.

DISCUSSIE

Een continue opvolging van de gevoeligheid van de verschillende mycoses aan antifungale middelen is belangrijk, om zich ontwikkelende resistentieproblemen tijdig in kaart te kunnen brengen. Er dient opgemerkt te worden dat de data enkel afkomstig zijn van het nationaal referentiecentrum van UZ Leuven. Omdat sommige stalen enkel getest worden in perifere laboratoria kan dit leiden tot een bias.

Candida :

- De volgende *Candida*'s bleken een beperkte gevoeligheid te hebben aan fluconazol (<90%):
 - *Candida tropicalis*: 87% (13/15) gevoelig. De twee stammen die resistent zijn tegen fluconazol zijn wel beiden gevoelig aan anidulafungine en amphotericin B. Deze hogere resistentie van *Candida tropicalis* tegen fluconazol werd ook teruggevonden in een multi-centrum studie in België (4).
 - *Candida guilliermondii*: 50% (2/4) gevoelig. De twee stammen die resistent bevonden werden, waren wel gevoelig aan anidulafungine en amphotericin B. Dit percentage is hoog in vergelijking met de literatuur (5-6).
 - *Candida glabrata* is per definitie niet gevoelig aan fluconazol (kan enkel intermediair gevoelig of resistent zijn). Goede alternatieven zijn anidulafungine en amphotericin B, aan beide moleculen was 99% van de stammen gevoelig.
 - *Candida krusei* is intrinsiek resistent aan fluconazol. De gevoeligheid voor voriconazol, anidulafungine en amphotericin B werd bepaald voor alle *Candida krusei* stammen en deze bleken allen gevoelig aan al deze moleculen.

Aspergillus :

- Alle *Aspergillus fumigatus* complex stammen en alle *Aspergillus flavus* complex stammen werden getest voor hun gevoeligheid aan itraconazol, voriconazol en posaconazol. Bij 15% van de *Aspergillus fumigatus* stammen werd resistentie tegen triazolen gedetecteerd. Dit percentage ligt hoger dan de resistentie prevalentie aangezien er vaak voorafgaandelijk een screening op triazole resistentie wordt uitgevoerd en enkel de screeningstest positieve stammen verder worden getest. Uit een surveillance studie die werd uitgevoerd op alle UZ Leuven stammen (n=606) tijdens de periode augustus 2015 – november 2016 bleek dat de triazole resistentie prevalentie bij *Aspergillus fumigatus* 4,1% bedroeg (7).
- Alle *Aspergillus flavus* complex stammen waren gevoelig aan deze drie triazolen.

REFERENTIES

- (1) Clinical and Laboratory Standards Institute. "Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Fourth Informational Supplement. Document M27-S4." (2012).
- (2) EUCAST definitions of clinical breakpoints and epidemiological cut-off values [document on the Internet]. Clinical breakpoints: EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing); 2013 [cited: 14 Jul 2017]. Beschikbaar via: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/.
- (3) Espinel-Ingroff A, 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." Antimicrobial agents and chemotherapy 2012; AAC-01115.
- (4) Trouvé C, Blot S, Hayette MP, Jonckheere S, Patteet S, Rodriguez-Villalobos H, et al. (2017). Epidemiology and reporting of candidaemia in Belgium: a multi-centre study. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 2017; 36(4): 649-655.
- (5) 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. Journal of clinical microbiology 2017; 44(10): 3551-3556.
- (6) Cheng, J. W., Yu, S. Y., Xiao, M., Wang, H., Kudinha, T., Kong, F., & Xu, Y. C. (2016). Identification and antifungal susceptibility profile of Candida guilliermondii and Candida fermentati from a multicenter study in China. Journal of clinical microbiology 2016; 54(8): 2187-2189.
- (7) 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. 27th ECCMID, Vienna 22-25 April 2017, Poster P0993.

© Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid
OPERATIONELE DIRECTIE
VOLKSGEZONDHEID EN SURVEILLANCE
Juliette Wytsmanstraat 14
1050 Brussel | België
www.wiv-isp.be

Verantwoordelijke uitgever: Dr Myriam SNEYERS
Depotnummer: D/2018/2505/18