

MYCOSES

Surveillance épidémiologique en Belgique, 2015

Institut Scientifique de Santé Publique

Direction Opérationnelle Santé publique et Surveillance

Rue Juliette Wytsman 14

1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be

Service Épidémiologie des maladies infectieuses | Mars 2018 | Bruxelles, Belgique

Éditeur : Dr. Ir. Myriam Sneyers | Directeur général

Rapport PH&S : PH&S 2018-019

N° de dépôt : D/2018/2505/18

Auteurs

Van Beckhoven D.¹,

Ost C.¹,

Sacheli R.³,

Patteet S.²,

Hayette MP.³,

Lagrou K.²

Contact

Tél. : +32 (0) 2 642 57 09

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

Remerciements

Le service Epidémiologie des maladies infectieuses du WIV-ISP remercie Ann Packeu, Service de Mycologie et Aérobiologie, WIV-ISP, pour le rapportage de données.

Les auteurs remercient également les collègues, Gaëtan Muyldermans et Tinne Lernout, Service Epidémiologie des maladies infectieuses, WIV-ISP, pour leur collaboration et contribution à ce rapport.

¹ Service Epidémiologie des maladies infectieuses, Direction Opérationnelle Santé Publique et Surveillance, Institut Scientifique de Santé Publique (WIV-ISP)

² Centre national de référence mycoses, UZ Leuven, Leuven

³ Centre national de référence mycoses, CHU Sart Tilman, Liège

TABLE DES MATIÈRES

1. Surveillance de la cryptococcose	5
Introduction	5
Méthodes	5
Résultats	6
Discussion	7
Références	8
2. Surveillance de la sensibilité des levures et champignons filamenteux aux antifongiques.....	9
Aperçu des souches	9
Méthode d'analyse	10
Détermination de la sensibilité des levures	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
Détermination de la sensibilité des champignons filamenteux	15
Aspergillus fumigatus complexe.....	15
Aspergillus flavus complexe	15
Fusarium species.....	16
Discussion	17
Références	18

1. SURVEILLANCE DE LA CRYPTOCOCCOSE

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* cause 82% des cryptococcoses au niveau mondial (3). Les infections à *C. gattii* émergent dans certaines régions du monde ; des cas ont été identifiés en Europe et dans l'Est des Etats-Unis (6). *C. neoformans* se rencontre dans les fientes d'oiseau, les matières organiques en décomposition et les sols. *C. gattii* a été isolé dans certains arbres, les sols, l'air, l'eau douce et l'eau de mer mais ses réservoirs environnementaux ne sont pas encore complètement identifiés et sa distribution est potentiellement en expansion (3). Les infections à *Cryptococcus* sont acquises par inhalation et ne se transmettent pas de personne à personne (4).

L'infection par *Cryptococcus* est fréquemment asymptomatique chez les personnes en bonne santé. La grande majorité des patients atteints de cryptococcose disséminée symptomatique présente une immunodépression sous-jacente pouvant être liée à un sida, un traitement prolongés 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 identifiée. Les localisations les plus fréquentes de l'infection sont les poumons et les 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 (4,5). La période d'incubation dure généralement de 2 à 11 mois, mais peut être plus longue (6). Les levures de *Cryptococcus* peuvent rester dormantes durant des décennies après inhalation et être activées quand le statut immunitaire de l'hôte est affaibli (1). 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 (6,10).

Le traitement de la cryptococcose repose actuellement sur la combinaison de 3 molécules: amphotéricine B, flucytosine (5FC) et fluconazole (7). Dans les pays développés, le taux de mortalité est de 10% à 25% malgré les traitements antifongiques et dans les pays à ressources limités, la mortalité à 6 mois atteint 100% (4).

Au cours des deux dernières décennies, *Cryptococcus* est devenu un agent pathogène opportuniste fréquent suite à l'augmentation de l'espérance de vie et du nombre des 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 (8), ces estimations ont depuis lors été réduites grâce à l'effet des traitements antirétroviraux pour le VIH de plus en plus répandus (7). En France, l'incidence moyenne de cryptococcose pendant la période 2001-2010 était de 0,3 par 100,000 habitants par an avec une diminution de 9,8% par an. Celle-ci 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 (9). En Afrique sub-Saharienne, la méningite à cryptocoque reste l'une des causes principales de décès parmi les patients infectés par le VIH, la cryptococcose y serait responsable d'autant de décès que la tuberculose (5,10).

MÉTHODES

La surveillance épidémiologique des mycoses en Belgique repose sur les données rapportées par le Centre National de Référence (CNR) pour les mycoses coordonné par le CHU de Leuven en collaboration avec le CHU Sart Tilman de Liège, combinées aux données de cryptococcose rapportées par le réseau des laboratoires vigies et par l'Unité de Mycologie et aérobiologie de l'Institut Scientifique de Santé Publique (ISP).

Ce rapport présente les données 2015 après validation et élimination des doublons.

RÉSULTATS

Au total, 19 patients atteints de cryptococcose ont été rapportés en 2015; 10 cas par le CNR, 6 cas par le réseau des laboratoires vigies (seuls 3 laboratoires ont rapporté des cas) et 3 cas par l'Unité de Mycologie de l'ISP. Les caractéristiques des patients sont présentées dans le tableau 1.

Les hommes représentaient 58 % des patients. L'âge médian était de 66 ans. Les cas rapportés résidaient dans les 3 régions de Belgique, ils provenaient des provinces suivantes : Brabant Flamand (n=4), Liège (n=3), Anvers (n=2), Flandre Occidentale (n=2), Flandre Orientale (n=2), Bruxelles (n=2), Hainaut (n=2) et Namur (n=1).

Tableau 1 | Caractéristiques des patients diagnostiqués avec une cryptococcose dans le CNR (et ISP) et le réseau de laboratoires vigies, Belgique, 2015

Caractéristiques	CNR & ISP	Réseau des laboratoires vigies	Total
Sexe	(N=13)	(N=6)	(N=19)
Homme	7 (54%)	4 (67%)	11 (58%)
Femme	6 (46%)	2 (33%)	8 (42%)
Age	(N=13)	(N=5)	(N=18)
0-15 ans	0	0	0
16-49 ans	3 (23%)	4 (80%)	7 (39%)
50 + ans	10 (77%)	1 (20%)	11 (61%)
Région	(N=12)	(N=6)	(N=18)
Bruxelles	0	2 (33%)	2 (11%)
Wallonie	5 (42%)	1 (17%)	6 (33%)
Flandre	7 (58%)	3 (50%)	10 (56%)

Les facteurs de risque ont été collectés pour les 13 patients rapportés par le CNR et l'unité de mycologie de l'ISP: 2 patients avaient une maladie inflammatoire systémique, 2 avaient subi une transplantation d'organe solide, 1 patient était infecté par le VIH, 1 patient avait un cancer, 2 avaient une autre pathologie ou un traitement favorisant, 2 n'avaient pas de facteur de risque identifié et l'information n'était pas rapportée pour 3 patients.

Le type d'échantillons 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 au cours de l'année 2015. La majorité des diagnostics étaient basés sur la détection d'antigènes pour les échantillons de sang et de liquide céphalo-rachidien (LCR), et sur la culture pour les échantillons de pus et de peau.

Tableau 2 | Type d'échantillon et méthode diagnostique pour les cas de *Cryptococcus*, Belgique, 2015

Type d'échantillon	N (%)	Méthode diagnostique			
		Culture	Antigène	Culture + Ag	Inconnu
Sang	12 (48%)	2	7	0	3
LCR	11 (44%)	3	6	2	0
Pus	1 (4%)	1	0	0	0
Peau	1 (4%)	1	0	0	0
TOTAL	25 (100%)	7	13	2	3

L'espèce rapportée était *C. neoformans* dans 12 cas et inconnue dans 7 cas. Les résultats des tests de sensibilité in vitro sont présentés dans la 2ème section du rapport.

DISCUSSION

Rapportés à la population Belge (11), les 19 cas de cryptococcose représentent un taux d'incidence de 0.17 par 100 000 habitant en 2015, similaire au taux d'incidence de 0.2 cas/100 000/an mesuré en France en 2008-2010 (8). En France, la surveillance établie de longue date rapporte une diminution régulière de l'incidence de cryptococcose et ceci particulièrement parmi les patients infectés par le VIH. Dans la surveillance Belge, l'infection par le VIH n'était rapportée que pour un cas de cryptococcose en 2015 alors que d'autres causes d'immunodépression étaient rapportées pour la majorité des cas, plus particulièrement chez les personnes plus âgées.

Aucun cas de *C. gattii* n'a été rapporté en 2015, mais l'espèce était inconnue dans plus d'un tiers des cas enregistrés.

La combinaison de 3 sources de données – le CNR, l'unité de mycologie de l'ISP et le réseau de laboratoires vigies - permet d'obtenir une image fiable de l'épidémiologie de *Cryptococcus* en Belgique, avec une couverture des 3 régions. Environ deux tiers des cas ont été rapportés par les structures spécialisées, le CNR et l'unité de mycologie de l'ISP, et seulement un tiers des diagnostics ont été faits par des laboratoires de microbiologie générale.

RÉFÉRENCES

- (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. Disponible à: <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) Direction générale Statistique - Statistics Belgium. <http://statbel.fgov.be/fr/statistiques/chiffres/population/structure/agesexe/popbel/>

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

APERÇU DES SOUCHES

En 2015, 531 échantillons fongiques ont été envoyés au CNR de l'UZ Leuven en vue d'une détermination de la sensibilité. Il s'agissait d'isolats de 437 levures et 94 champignons filamenteux.

Tableau 3 | Aperçu des souches envoyées au CNR de l'UZ Leuven pour une détermination de la sensibilité, 2015

Levures	N	Champignons filamenteux	N
<i>Candida albicans</i>	210	<i>Arthrographis</i> species	1
<i>Candida dubliniensis</i>	2	<i>Aspergillus flavus</i> complexe	5
<i>Candida glabrata</i>	121	<i>Aspergillus fumigatus</i> complexe	52
<i>Candida guilliermondii</i>	5	<i>Aspergillus nidulans</i> complexe	1
<i>Candida guilliermondii/famata</i>	1	<i>Aspergillus niger</i> complexe	1
<i>Candida inconspicua</i>	2	<i>Aspergillus terreus</i> complexe	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> complexe	1
<i>Candida lusitanae</i>	9	<i>Fusarium solani</i> complexe	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
Levures	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> complexe	2
		<i>Scedosporium prolificans</i>	1
		<i>Verticillium</i> species	1
TOTAL	437	TOTAL	94

MÉTHODE D'ANALYSE

En 2015, l'UZ Leuven a analysé 531 échantillons de champignons qui provenaient de 445 patients, ce qui signifie que plusieurs isolats de la même espèce ont été envoyés pour certains patients. Vu qu'une résistance contre des antifongiques peut se développer, plusieurs isolats d'un même patient sont repris dans l'analyse lorsque plus d'un mois s'est écoulé entre les deux déterminations de la sensibilité. C'était le cas pour 16 isolats. Par conséquent, 461 déterminations de sensibilité à un ou plusieurs antifongiques ont été analysées.

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 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. Le recours à ces valeurs épidémiologiques permet d'identifier rapidement les changements de sensibilité en cours (2-3).

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 (M27S4 (1))) ont été utilisés étant donné que la méthode de détermination de la sensibilité employée dans le CNR (Sensititre) correspond mieux au système CLSI qu'à l'EUCAST. Sur cette base, les isolats peuvent être classés en trois catégories (2):

- « 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 CMI_{50} sont rapportées. La CMI_{50} représente la concentration à laquelle l'effet thérapeutique est atteint pour 50 % des isolats testés.

DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ DES LEVURES

Candida albicans

170 souches de *Candida albicans* ont été analysées pour détermination de la sensibilité. La sensibilité au fluconazole a été testée dans l'ensemble des souches. L'analyse a révélé que 97,6 % (166/170) des échantillons testés étaient sensibles (S) au fluconazole, 0,6 % (1/170) y était moyennement sensible (I) et 1,8 % (3/170) y étaient résistants (R).

Environ un quart des souches ont, en outre, fait l'objet d'une détermination de la sensibilité à d'autres antifongiques (voir Tableau 4). Les isolats présentant une sensibilité intermédiaire ou une résistance au

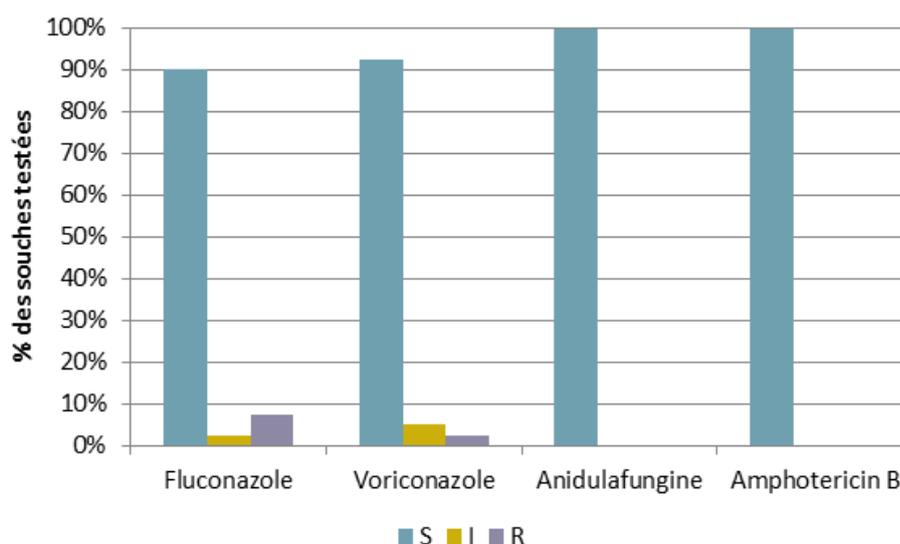
fluconazole ont systématiquement été soumis aux autres tests, ainsi que les isolats pour lesquels un fongigramme complet a été demandé par le laboratoire requérant.

Tableau 4 | Détermination de la sensibilité des souches de *Candida albicans* à différents antifongiques en 2015

	Échantillons testés	Nombre de S	Nombre de I	Nombre de R
Fluconazole	170	166/170 (98 %)	1/170 (1 %)	3/170 (2 %)
Voriconazole	40	37/40 (93 %)	2/40 (5 %)	1/40 (3 %)
Anidulafungine	41	41/41 (100 %)	0/41 (0 %)	0/41 (0 %)
Amphotéricine B	41	41/41 (100 %)	0/41 (0 %)	0/41 (0 %)

L'une des souches de *Candida albicans* présentait une sensibilité intermédiaire au fluconazole et également au voriconazole. Cette souche était néanmoins sensible à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B. Par ailleurs, trois souches de *Candida albicans* étaient résistantes au fluconazole, mais étaient toutes sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B. L'une de ces trois souches était sensible au voriconazole, une y était intermédiairement sensible et la dernière y était résistante.

Figure 1 | Détermination de la sensibilité des souches de *Candida albicans* à plusieurs antifongiques (N=41), 2015



Candida glabrata

Tableau 5 | Détermination de la sensibilité des souches de *Candida glabrata* testées, 2015

	Échantillons testés	Nombre de S	Nombre de I	Nombre de R
Fluconazole	105/105 (100 %)	/	78/105 (74 %)	27/105 (26 %)
Voriconazole	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 %)
Amphotéricine B	97/105 (92 %)	96/97 (99 %)	0/97 (0 %)	1/97 (1 %)

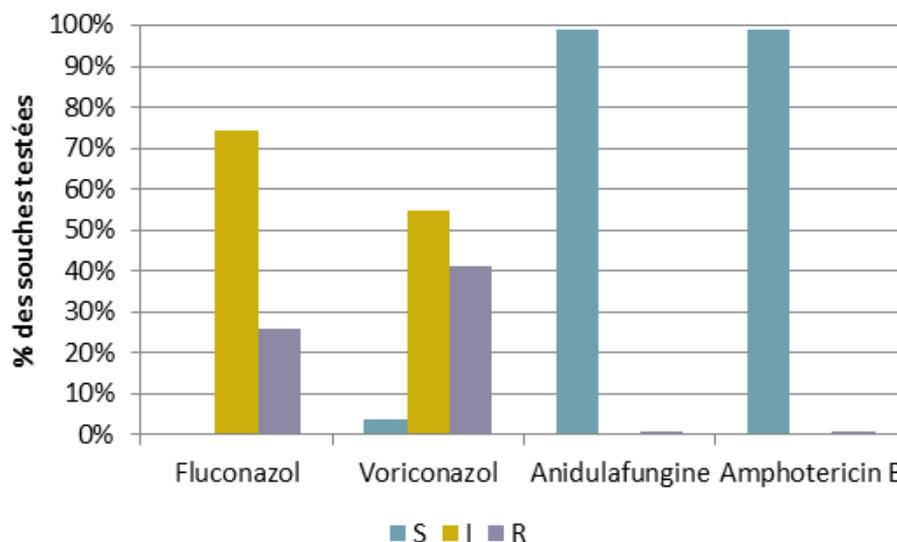
Comme le montre le Tableau 5, 105 souches de *Candida glabrata* ont fait l'objet d'une analyse de sensibilité au fluconazole. Par définition, *Candida glabrata* présente une sensibilité réduite au fluconazole. 74 % des souches examinées y présentaient une sensibilité intermédiaire (dose-dépendante) et 26 % une résistance. En revanche, 99 % des souches de *Candida glabrata* étaient sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B.

Tableau 6 | Détermination de la sensibilité des souches de *Candida glabrata* testées au voriconazole, à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B en fonction de la sensibilité au fluconazole, 2015

	Voriconazole			Anidulafungine			Amphotéricine B		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Fluconazole 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 %)
Fluconazole 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 %)

Le tableau 6 révèle que le voriconazole est rarement une bonne alternative au fluconazole pour le traitement de *Candida glabrata*. Les souches de *Candida glabrata* étaient, en revanche, plus sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B. L'ensemble des souches de *Candida glabrata* testées étaient au moins sensibles à l'un des antifongiques étudiés.

Figure 2 | Détermination de la sensibilité des souches de *Candida glabrata* testées, 2015



Candida parapsilosis

30 souches de *Candida parapsilosis* ont été soumises à une détermination de la sensibilité au fluconazole. Les tests ont montré que 93.3 % (28/30) des souches y étaient sensibles, 3.3 % (1/30) intermédiairement sensibles et 3.3 % (1/30) résistantes.

Une petite moitié des souches a, en outre, fait l'objet d'une détermination de la sensibilité à d'autres antifongiques (voir 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 parapsilosis*, 2015

	Échantillons testés	Nombre de S	Nombre de I	Nombre de R
Fluconazole	30	28/30 (93 %)	1/30 (3 %)	1/30 (3 %)
Voriconazole	13	13/13 (100 %)	0/13 (0 %)	0/13 (0 %)
Anidulafungine	13	13/13 (100 %)	0/13 (0 %)	0/13 (0 %)
Amphotéricine B	12	12/12 (100 %)	0/12 (0 %)	0/12 (0 %)

Sur l'ensemble des souches de *Candida parapsilosis* testées, une présentait une sensibilité moyenne et une présentait une résistance au fluconazole. Ces deux souches étaient, à l'instar de l'ensemble des autres souches de *Candida parapsilosis* testées, sensibles au voriconazole, à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B.

Candida tropicalis

15 souches de *Candida tropicalis* ont été soumises à une détermination de la sensibilité. La sensibilité au fluconazole a été testée sur l'ensemble d'entre elles. L'analyse a révélé que 87 % des échantillons testés y étaient sensibles et 13 % y étaient résistants.

Un tiers des souches (5/15) a, en outre, fait l'objet d'une détermination de la sensibilité à d'autres antifongiques (voir Tableau 8). 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 8 | Détermination de la sensibilité des souches de *Candida tropicalis*, 2015

	Échantillons testés	Nombre de S	Nombre de I	Nombre de R
Fluconazole	15	13/15 (87 %)	0/15 (0 %)	2/15 (13 %)
Voriconazole	5	3/5 (60 %)	0/5 (0 %)	2/5 (40 %)
Anidulafungine	5	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)
Amphotéricine B	5	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)	0/5 (0 %)

Sur l'ensemble des souches de *Candida tropicalis* testées, deux présentaient une résistance au fluconazole, ainsi qu'au voriconazole. Les deux étaient toutefois, à l'instar de l'ensemble des autres souches *Candida tropicalis* testées, sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B.

Candida krusei

Tableau 9 | Détermination de la sensibilité des souches de *Candida krusei* testées, 2015

	Échantillons testés	Nombre de S	Nombre de I	Nombre de R
Fluconazole		Résistance intrinsèque		
Voriconazole	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 %)
Amphotéricine B	11/11 (100 %)	11/11 (100 %)	0/11 (0 %)	0/11 (0 %)

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 9, la sensibilité au voriconazole, à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B a donc été testée pour les 11 souches de *Candida krusei*. Toutes se sont révélées sensibles.

Candida lusitaniae

Tableau 10 | Détermination de la sensibilité des souches de *Candida lusitaniae* testées, 2015

	Échantillons testés	Nombre de S	Nombre de I	Nombre de R
Fluconazole	9/9 (100 %)	9/9 (100 %)	0/9 (0 %)	0/9 (0 %)
Voriconazole		Aucune valeur critique disponible		
Anidulafungine		Aucune valeur critique disponible		
Amphotéricine B	6/9 (67 %)	6/6 (100 %)	0/6 (0 %)	0/6 (0 %)

Comme le montre le Tableau 10, la sensibilité au fluconazole a donc été testée pour les 9 souches de *Candida lusitaniae* : toutes y étaient sensibles selon les analyses. Toutes les souches ayant, en outre, fait l'objet d'une détermination de la sensibilité à l'amphotéricine B (soit 6 sur 9) se sont également révélées sensibles à cet antifongique.

Candida guilliermondii

Quatre souches de *Candida guilliermondii* ont été soumises à une détermination de la sensibilité. La moitié (2/4) étaient résistantes au fluconazole. Ces deux souches étaient toutefois sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B.

Candida kefyr

Quatre souches de *Candida kefyr* ont été soumises à une détermination de la sensibilité. Elles se sont toutes révélées sensibles au fluconazole. Une a, en outre, fait l'objet d'un test de sensibilité à l'amphotéricine B et y était également sensible.

Cryptococcus neoformans

Tableau 11 | Détermination de la sensibilité des souches de *Cryptococcus neoformans* testées, 2015

	Échantillons testés	Minimum (mg/l)	Maximum (mg/l)
Fluconazole	5/6 (83 %)	2,00	8,00
Amphotéricine B	5/6 (83 %)	0,12	0,50

Aucune valeur seuil clinique officielle n'existe pour *Cryptococcus neoformans*. L'ensemble des valeurs a donc été comparé aux seuils épidémiologiques (Tableau 11). Le seuil épidémiologique indique que 95 % de la population WT est sensible au fluconazole à une concentration > 8 µg/ml ou 8 mg/l (3). La comparaison a montré que l'ensemble des souches testées avait une sensibilité comparable à celle de la population WT et pouvaient donc être considérées comme en faisant partie.

Saccharomyces cerevisiae

Tableau 12 | Détermination de la sensibilité des souches de *Saccharomyces cerevisiae* testées, 2015

	Échantillons testés	Minimum (mg/l)	CMI ₅₀ (mg/l)	Maximum (mg/l)
Fluconazole	6/6 (100 %)	1,00	4,00	8,00
Itraconazole	3/6 (50 %)	0,06	0,25	0,50
Posaconazole	3/6 (50 %)	0,12	0,50	0,50
Voriconazole	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
Amphotéricine B	6/6 (100 %)	0,12	0,25	1,00

Aucune valeur seuil clinique officielle n'existe pour *Saccharomyces cerevisiae*. Le tableau 12 présente l'éventail de valeurs CMI, ainsi que la CMI₅₀.

DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

Aspergillus fumigatus complexe

Tableau 13 | Détermination de la sensibilité des souches de *Aspergillus fumigatus* complexe testées, 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 %)

Comme le montre le Tableau 13, 52 souches d'*Aspergillus fumigatus* complexe ont fait l'objet d'un test de sensibilité à l'itraconazole, au voriconazole et au posaconazole. L'analyse a montré que respectivement 92 %, 85 % et 90 % des souches étaient sensibles à ces antifongiques.

Au total, huit souches étaient résistantes au voriconazole, à l'itraconazole et/ou au posaconazole. L'analyse séquentielle du gène CYP51A gen a mis en avant que six souches présentaient une mutation TR34/L98H et une souche une mutation TR46/Y121F/T289A. La dernière n'a pas été soumise à l'examen.

Aspergillus flavus complexe

Tableau 14 | Détermination de la sensibilité des souches de *Aspergillus flavus* complexe testées, 2015

	Échantillons testés	Nombre de S	Nombre de R
Itraconazole	5/5 (100 %)	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)
Voriconazole	5/5 (100 %)	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)
Posaconazole	5/5 (100 %)	5/5 (100 %)	0/5 (0 %)

Comme le montre le Tableau 14, 5 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.

Fusarium species

Tableau 15 | Détermination de la sensibilité des souches de *Fusarium species* testées, 2015

	Échantillons testés	Minimum (mg/l)	CMI ₅₀ (mg/l)	Maximum (mg/l)
Itraconazole	6/9 (67 %)	16	16	16
Posaconazole	3/9 (33 %)	2	8	8
Voriconazole	9/9 (100 %)	4	4	32
Caspofungine	2/9 (22 %)	8	8	8
Anidulafungine	2/9 (22 %)	8	8	8
Amphotéricine B	9/9 (100 %)	0,5	4	32

Aucune valeur seuil clinique officielle et aucun seuil épidémiologique n'existe pour *Fusarium species*. Le tableau 15 présente les valeurs de CMI, ainsi que la CMI₅₀. Les souches de *Fusarium species* sont, par définition, résistantes au fluconazole.

DISCUSSION

Une surveillance continue de la sensibilité des différentes mycoses aux antifongiques est importante afin de pouvoir identifier à temps les problèmes de résistance. Il convient de souligner que les données proviennent exclusivement du centre national de référence de UZ Leuven. Vu que certains échantillons sont uniquement analysés dans des laboratoires périphériques, l'existence d'un biais ne peut être exclue.

Candida :

- Les types de *Candida* suivants présentaient une sensibilité limitée au fluconazole (< 90 %) :
 - *Candida tropicalis* : 87 % (13/15) d'échantillons sensibles. Les deux souches résistantes au fluconazole étaient toutefois sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B. Cette résistance accrue de *Candida tropicalis* au fluconazole a également été observée dans une étude multi-centre en Belgique (4).
 - *Candida guilliermondii* : 50 % (2/4) d'échantillons sensibles. Les deux souches résistantes au fluconazole étaient toutefois sensibles à l'anidulafungine et à l'amphotéricine B. Ce pourcentage de résistance est élevé par rapport à la littérature (5-6).
 - *Candida glabrata* n'est, par définition, pas sensible au fluconazole (l'espèce peut être intermédiairement sensible ou résistante). L'anidulafungine et l'amphotéricine B sont de bonnes solutions de traitement, car 99 % des souches étaient sensibles à ces deux molécules.
 - *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 ces molécules.

Aspergillus :

- L'ensemble des souches d'*Aspergillus fumigatus complexe* et d'*Aspergillus flavus complexe* ont été soumises à un test de résistance à l'itraconazole, au voriconazole et au posaconazole. Chez 15 % des souches d'*Aspergillus fumigatus* une résistance aux triazolés a été détectées. Ce pourcentage est supérieur à la prévalence de la résistance car ce sont les souches positives au dépistage de la résistance au triazole qui sont testées. Une étude de surveillance menée sur l'ensemble des souches de l'UZ Leuven (n = 606) entre août 2015 et novembre 2016 a estimé la prévalence de la résistance au triazole chez *Aspergillus fumigatus* à 4,1% (7).
- Toutes les souches d'*Aspergillus flavus complexe* étaient, quant à elles, sensibles à ces trois triazolés.

RÉFÉRENCES

- (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]. Disponible à : 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, M. P., Jonckheere, S., Patteet, S., Rodriguez-Villalobos, H., ... & Lagrou, K. (2017). Epidemiology and reporting of candidaemia in Belgium: a multi-centre study. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 36(4), 649-655.
- (5) Pfaller, M. A., Diekema, D. J., Mendez, M., Kibbler, C., Erzsebet, P., Chang, S. C., ... & Global Antifungal Surveillance Group. (2006). 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, 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, 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.

© Institut Scientifique de Santé Publique
DIRECTION OPÉRATIONNELLE
SANTÉ PUBLIQUE ET SURVEILLANCE
Rue Juliette Wytzman 14
1050 Bruxelles | Belgique
www.wiv-isp.be

Editeur responsable : Dr Myriam SNEYERS
Numéro de dépôt : D/2018/2505/18