



MYCOSEN

EPIDEMIOLOGISCHE SURVEILLANCE IN BELGIË 2016-17

—

WIE WE ZIJN

SCIENSANO telt meer dan 700 medewerkers die zich elke dag opnieuw inzetten voor ons motto: levenslang gezond. Zoals uit onze naam blijkt, vormen wetenschap en gezondheid de kern van ons bestaan. De kracht van Sciensano ligt in de holistische en multidisciplinaire benadering van gezondheid. Onze aandacht gaat daarbij uit naar het nauwe en onlosmakelijke verband tussen de gezondheid van mensen en die van dieren, en hun omgeving (het "One health" concept). Daarom combineren we meerdere invalshoeken in ons onderzoek om op een unieke manier bij te dragen aan ieders gezondheid. Sciensano kan hiervoor verder bouwen op de meer dan 100 jaar wetenschappelijke expertise van het voormalige Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA) en het vroegere Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid (WIV).

Sciensano

Epidemiologie en volksgezondheid

Epidemiologie van infectieziekten

April 2019 • Brussel • België
Depotnummer: D/2019/14.440/14
<https://doi.org/10.25608/p20w-4803>

AUTEURS

DOMINIQUE VAN BECKHOVEN¹

•

ROSALIE SACHELI²

•

SOFIE PATTEET³

•

MARIE-PIERRE HAYETTE²

•

KATRIEN LAGROU³

1. Sciensano
2. Nationaal referentiecentrum voor mycosen, CHU Sart Tilman, Liège
3. Nationaal referentiecentrum voor mycosen, UZ Leuven, Leuven

DANKWOORD

Wij danken Amber Litzroth, Dienst Epidemiologie van infectieziekten, Sciensano, voor haar bijdrage aan dit rapport.

INHOUDSTAFEL

1. ALGEMENE INLEIDING	7
2. SURVEILLANCE VAN CRYPTOCOCCOSE	9
2.1. INLEIDING	9
2.2. METHODEN	10
2.3. RESULTATEN	10
2.4. BESPREKING	12
3. SURVEILLANCE VAN DERMATOFYTOSEN	13
3.1. INLEIDING	13
3.2. METHODEN	13
3.3. RESULTATEN	13
4. SURVEILLANCE VAN DE GEVOELIGHEID VAN GISTEN EN FILAMENTEUZE FUNGI AAN ANTIFUNGALE MIDDELEN	19
4.1. OVERZICHT VAN DE STAMMEN	19
4.3. GEVOELIGHEIDSBEPALING VAN DE GISTEN	22
4.4. GEVOELIGHEIDSBEPALING VAN DE FILAMENTEUZE FUNGI	28
4.5. BESPREKING	29
5. CONCLUSIE	31
REFERENTIES	33

1. ALGEMENE INLEIDING

Er is vanuit medische hoek steeds meer belangstelling voor mycosen, omdat er in de laatste twee decennia steeds meer fatale infecties voorkomen, vooral candidemie en invasieve aspergillose bij immuungedepri-meerde patiënten. Die toename wordt toegeschreven aan het stijgende aantal patiënten die een im-munosuppressieve behandeling krijgen (kankerpatiënten, beenmerg- of orgaantransplantatie) en aan de intensivering van dit soort behandelingen. Ook hiv-patiënten hebben bijgedragen aan deze toename, maar de laatste jaren zien we een daling van het aantal schimmelinfecties als gevolg van aids in landen waar er een hoge dekking met antiretrovirale middelen is.

Bij kwetsbare personen moet er snel een juiste diagnose worden gesteld, zodat de arts snel een aangepas-te behandeling kan voorschrijven.

In België bundelt het nationale referentiecentrum (NRC) voor mycosen de microbiologische expertise van oppervlakkige en diepe schimmelaandoeningen. Meer bepaald gaat het om de diagnose van schimmelin-fecties op basis van microscopisch onderzoek, cultuur, antigeen detectie en moleculaire technieken. Iden-tificatie van de schimmels gebeurt op basis van microscopische en macroscopische kenmerken, MAL-DI-TOF MS analyse en sequentie-analyse. Daarnaast voert het NRC ook gevoeligheidsbepalingen uit inclusief de EUCAST referentiemethode. De laboratoria van het NRC bieden hulp bij het onderzoek van een uitbraak.

Dit epidemiologische rapport wordt om de twee jaar opgesteld door Sciensano en het NRC mycosen. Het bestaat uit drie hoofdstukken:

- de surveillance van cryptococcose,
- de surveillance van dermatofytosen,
- de surveillance van de gevoeligheid voor schimmelwerende middelen.

2. SURVEILLANCE VAN CRYPTOCOCCOSE

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

2.1. INLEIDING

Cryptococcose is een wereldwijd verspreide schimmelinfectie veroorzaakt door 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 cryptococcosen (3). Infecties door *C. gattii*, die historisch beperkt waren tot tropische en subtropische gebieden worden nu aangetroffen in de gematigde zone. Zo worden tegenwoordig gevallen geïdentificeerd in Europa en het oosten van de Verenigde Staten (4;5). *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, vooral de eucalyptusboom, maar de natuurlijke reservoirs zijn nog niet helemaal geïdentificeerd en de verspreiding neemt mogelijk toe (3;5). Infecties met *Cryptococcus* worden verworven via inhalatie en worden niet van mens op mens overgedragen (6).

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 corticoïden, een orgaantransplantatie, gevorderde kanker, diabetes of sarcoïdose. Bij 20 % van de hiv-negatieve patiënten met cryptococcose is er geen enkele risicofactor of onderliggende ziekte geïdentificeerd (5). 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 een milde tot een dodelijke pneumonie. Infecties ter hoogte van het centraal zenuwstelsel uiten zich in meningitis of meningo-encefalitis met subacute evolutie, waarvan de meest voorkomende symptomen hoofdpijn en verwarring zijn (6). De incubatieperiode duurt doorgaans 2 tot 11 maanden maar kan ook langer duren (4). Na inhalatie kunnen gisten van *Cryptococcus* decennialang blijven sluimeren, en geactiveerd worden wanneer de immuunstatus van de gastheer verzwakt is (2). In tegenstelling tot *C. neoformans*, dat in het algemeen personen met een immunodepressie treft, kan *C. gattii* ook leiden tot ernstige en moeilijk te behandelen infecties bij immunocompetente personen (4;7).

De behandeling van cryptococcose berust op 3 moleculen: amfotericine B, flucytosine (5FC) en fluconazol (8;9). Ondanks de behandeling met antifungale middelen bedraagt de sterfte in de ontwikkelde landen 10 % tot 25 %. In landen met beperkte middelen, zonder toegang tot behandeling, kan de sterfte na zes maanden oplopen tot 100 % (6).

In de loop van de afgelopen decennia is *Cryptococcus* een frequent opportunistisch pathogeen geworden ten gevolge van de toename van het aantal personen met een immunodepressie (die een hoger risico lopen op een schimmelinfectie). Een studie van 2009 raamde het aantal gevallen van cryptococcenmeningitis per jaar wereldwijd op nagenoeg een miljoen, met meer dan 600.000 sterfgevallen (10). Schattingen zijn sindsdien lager dankzij het wereldwijd gebruik van antiretrovirale behandelingen voor hiv. In 2014 waren er wereldwijd naar schatting 220.000 gevallen van cryptococcenmeningitis (waarvan 73 % in Sub-Saharaans Afrika) met 180.000 doden (9;11). In Sub-Saharaans Afrika blijft cryptococcenmeningitis één van de voornaamste oorzaken van sterfte onder de patiënten besmet met hiv. Cryptococcose zou er voor evenveel sterfgevallen verantwoordelijk zijn als tuberculose (7).

2.2. METHODEN

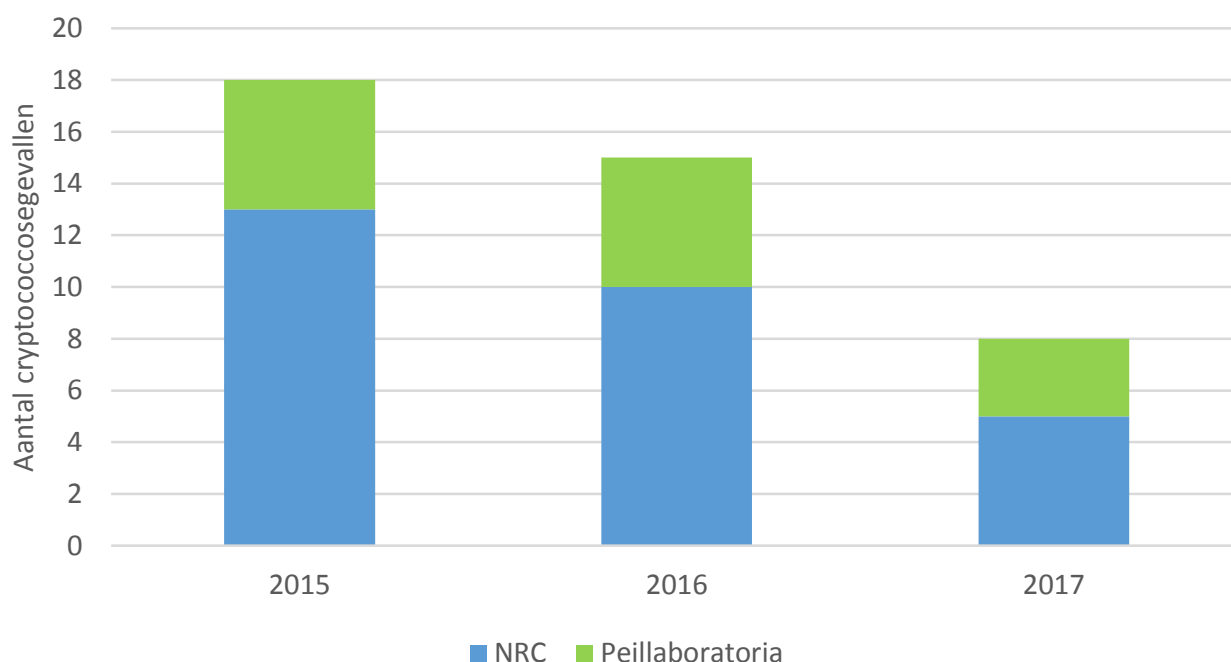
In België berust de epidemiologische surveillance van cryptococcose op de gegevens die worden gerapporteerd door het nationaal referentiecentrum (NRC) voor mycosen, gecoördineerd door het UZ Leuven in samenwerking met UZ Luik, alsook op de cryptococcose-gegevens gerapporteerd door het peillaboratorienetwerk.

Dit rapport bevat de gegevens van 2016 en 2017, na validatie en verwijdering van de duplicaten.

2.3. RESULTATEN

In 2016 zijn er 15 patiënten met cryptococcose gerapporteerd: 10 gevallen door het NRC en 5 door het netwerk van peillaboratoria. In 2017 werden 8 patiënten gerapporteerd, 5 door het NRC en 3 door het netwerk van peillaboratoria (figuur 1). Slechts 3 laboratoria van het netwerk van peillaboratoria hebben gevallen gerapporteerd.

Figuur 1. Evolutie van het aantal cryptococcosegevallen gemeld door het NRC* en het netwerk van peillaboratoria, 2015-17



* 3 gevallen gerapporteerd door het mycologisch laboratorium van Sciensano zijn inbegrepen in de NRC-gegevens in 2015.

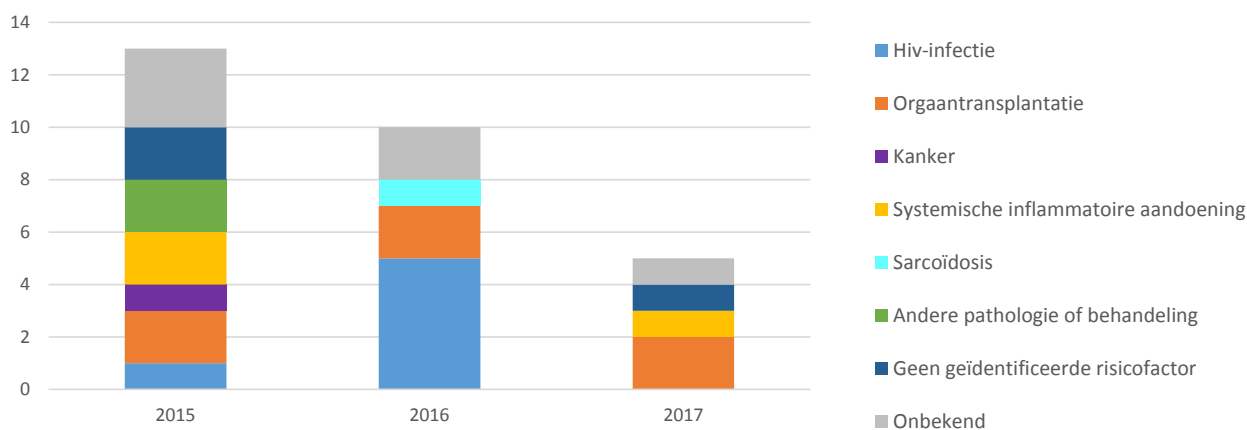
Mannen vertegenwoordigden 70 % van de patiënten gerapporteerd in 2016 en 2017. De mediane leeftijd was 45 jaar. De gerapporteerde gevallen woonden verspreid over de drie gewesten van het land en waren afkomstig van de volgende provincies/regio's: Brussel (n=6), Vlaams-Brabant (n=4), Luik (n=3), Antwerpen (n=2), Henegouwen (n=2), Oost-Vlaanderen (n=2), West-Vlaanderen (n=1), Limburg (n=1) en Waals-Brabant (n=1). De demografische karakteristieken van de patiënten worden in tabel 1 gepresenteerd.

Tabel 1. Karakteristieken van de patiënten gediagnosticeerd met een cryptococcose gerapporteerd in 2016 en 2017, België

Karakteristieken	N (%)
Geslacht	(N=23)
Man	16 (70 %)
Vrouw	7 (30 %)
Leeftijd	(N=23)
0-15 jaar	0
16-49 jaar	15 (36 %)
50 +	8 (35 %)
Gewest	(N=22)
Brussel	6 (27 %)
Wallonië	6 (27 %)
Vlaanderen	10 (45 %)

Voor 12 van de 15 gevallen gerapporteerd door het NRC in 2016-17 was informatie over risicofactoren beschikbaar: 5 patiënten waren besmet met hiv, 4 patiënten hadden een orgaantransplantatie ondergaan, 1 patiënt had een systemische inflammatoire aandoening, 1 patiënt had een sarcoïdosis en 1 had geen geïdentificeerde risicofactor (figuur 2). De mediane leeftijd bij hiv-geïnfekteerde patiënten was 40 jaar tegenover 45 jaar bij hiv-negatieve patiënten.

Figuur 2. Distributie van risicofactoren per jaar, NRC, 2015-17



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 per jaar. De meerderheid van de diagnoses was gebaseerd op de detectie van antigenen in stalen van bloed en cerebrospinaal vocht (CSV), en op culturen in andere typen van stalen.

Tabel 2. Type staal en diagnosemethode voor gevallen van *Cryptococcus*-infecties, België, 2016-17

Type staal	N (%)	Cultuur	Antigen	Cultuur + Ag	Onbekend
Bloed	19 (54 %)	1	15	1	2
CSV	11 (31 %)	1	8	1	1
Anderen	5 (14 %)	5	0	0	0
Totaal	35 (100 %)	7	23	2	3

Het gerapporteerde species was *C. neoformans* in 13 gevallen en was onbekend in 10 gevallen. De resultaten van de in-vitrogevoeligheidstests worden in het vierde hoofdstuk van het rapport gepresenteerd.

2.4. BESPREKING

In verhouding tot de Belgische bevolking (12) vertegenwoordigen de 15 en 8 gerapporteerde gevallen van cryptococcose een incidentie van respectievelijk 0,13 per 100.000 inwoners in 2016 en 0,07 per 100.000 inwoners in 2017. In Frankrijk, waar de surveillance reeds langs bestaat, bedroeg de incidentie 0,2 gevallen per 100.000 inwoners per jaar tijdens de periode 2008-2010, met een continue daling van de incidentie van cryptococcose van 9,8 % per jaar. De incidentie in Frankrijk evolueert dus waarschijnlijk naar een incidentie vergelijkbaar met die geschat in België. Deze evolutie wordt veroorzaakt door een daling van de incidentie onder de patiënten besmet met hiv, terwijl er geen daling is waargenomen bij hiv-negatieve patiënten (13). Een vergelijkbare trend wordt waargenomen in landen met een brede antiretrovirale dekking (14). In de Belgische surveillance werd er in 2016 en 2017 bij een derde van de gevallen van cryptococcose een hiv-infectie gerapporteerd. De meerderheid van de infecties werden dus vastgesteld bij hiv-negatieve personen, in het bijzonder bij patiënten die een orgaantransplantatie hadden ondergaan. Hiv-negatieve patiënten waren iets ouder, zoals ook waargenomen wordt in andere landen (5).

Gezien de hoge mortaliteit van cryptococccenmeningitis bij hiv-negatieve patiënten, dient deze diagnose te worden overwogen in geval van lymfocytische meningitis, zelfs bij een schijnbaar immunocompetente patiënt (15).

In 2016-17 is er geen enkel geval van *C. gattii* gerapporteerd, maar het species was onbekend in bijna de helft van de geregistreerde cryptococcosegevallen.

De gegevens van het NRC zijn gecombineerd met die van het netwerk van peillaboratoria om een betrouwbaarder beeld te krijgen van de *Cryptococcus*-epidemiologie in België en per gewest. Rapportage in het peilnetwerk is echter vrijwillig, volledigheid is niet gegarandeerd en het aantal gevallen kan dus worden onderschat. Ongeveer twee derden van de gevallen zijn door het NRC gerapporteerd en slechts een derde van de diagnosen is gesteld door laboratoria voor algemene microbiologie.

3. SURVEILLANCE VAN DERMATOFYTOSEN

SACHELI R, HAYETTE MP.

3.1. INLEIDING

Dermatofytosen zijn filamenteuze schimmels, die de huid of de huidaansluitingen infecteren en vaak besmettelijk zijn. Het zijn de vaakst voorkomende mycosen en treffen 20 tot 25 % van de wereldbevolking, met grote inter- en intracontinentale variabiliteit (16;17). De soorten dermatofyten die medisch een rol spelen, maken deel uit van de geslachten *Trichophyton*, *Microsporum* en *Epidermophyton* (18).

Wanneer ze niet op een correcte manier worden gediagnosticeerd en behandeld, kunnen dermatofytosen chronisch en progressief worden (16). Bovendien worden de ziektekiemen die verantwoordelijk zijn voor tinea capitis, dat de schedel aantast en vooral kinderen treft, makkelijk overgedragen, waardoor er een verbod op schoolbezoek nodig kan zijn. Daarom is een snelle en juiste diagnose noodzakelijk (19;20).

3.2. METHODEN

In dit hoofdstuk presenteren we de gegevens die het resultaat zijn van de monsters en stammen van dermatofyten die het NRC (CHU Luik en UZ Leuven) van 2012 tot 2017 heeft verzameld. Die monsters omvatten zowel de stammen die andere laboratoria ter identificatie naar het NRC stuurden, als de stammen die de twee ziekenhuizen (CHU van Luik en UZ Leuven) isoleerden in monsters van huidaansluitingen. Het NRC mycosen van het CHU in Luik is verantwoordelijk voor de samenstelling en het onderhoud van de verzameling stammen van belangrijke dermatofyten.

In 2017 werd er bijzondere aandacht besteed aan de identificatie van dermatofyten met MALDI-TOF-massaspectrometrie. Er werd een databank gecreëerd en er werden in totaal 134 nieuwe spectra toegevoegd door de behandeling van stammen van dermatofyten waarvan de identificatie vooraf was gevalideerd door moleculaire sequencing van de ITS-regio van de ribosomaal DNA. Er werd een vergelijking gemaakt met de MSI-gegevensbasis (Piarroux-Normand, Parijs) (21). Er werden ruim honderd stammen van meer dan 7 soorten dermatofyten geanalyseerd.

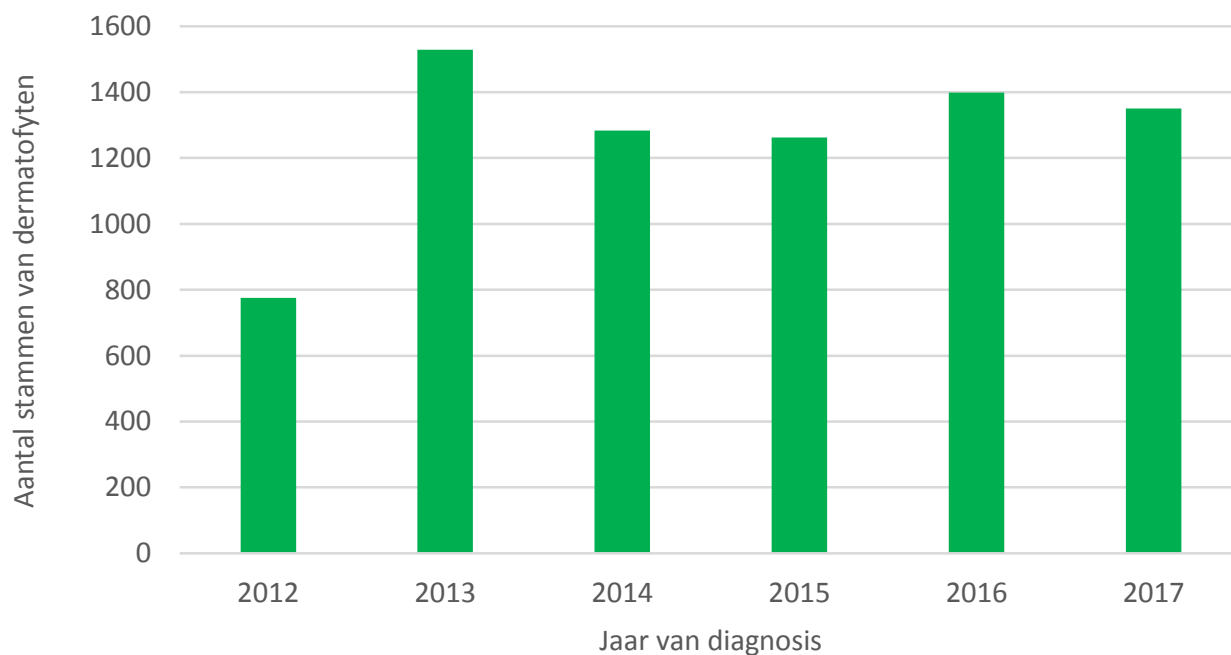
3.3. RESULTATEN

3.3.1. AANTAL EN EVOLUTIE VAN DE GEÏDENTIFICEERDE SOORTEN

In 2017 werden 1350 (55,2 %) schimmel isolaten die naar het NRC werden gestuurd geïdentificeerd als een dermatofyt. Daarvan waren er 1248 (92,5 %) isolaten die tot het geslacht *Trichophyton* behoorden, 101 (7,5 %) die tot het geslacht *Microsporum* behoorden en 1 (0,07 %) dat tot het geslacht *Epidermophyton* be-

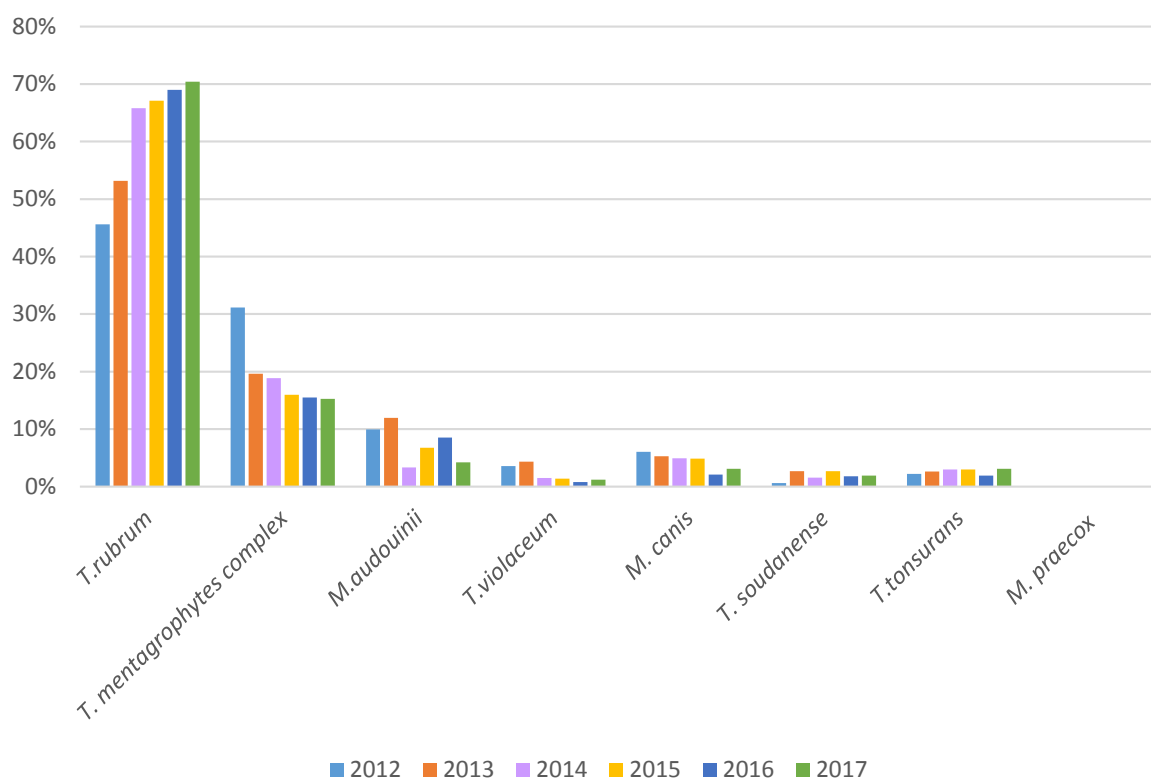
hoorde. In figuur 3 zien we het aantal stammen van dermatofyten die jaarlijks worden geïdentificeerd. In 2013 was er een stijging van het aantal geïsoleerde dermatofyten, als gevolg van het nationale onderzoek naar opperhuidinfecties, en de daaropvolgende jaren zagen we een stabilisatie.

Figuur 3. Aantal stammen van dermatofyten die jaarlijks worden geïdentificeerd, NRC, 2012-2017



Het species dat het vaakst wordt aangetroffen is *T. rubrum*, dat een groeiend aandeel van de isolaten van dermatofyten uitmaakt: 70,4 % van de isolaten in 2017, tegenover 45,6 % in 2012. We zien een geleidelijke vermindering van het *T. mentagrophytes*-complex (sinds 2016 na de wijziging van de taxonomie herzien, vooral *T. interdigitale* (antropofiel), *T. benhamiae* en *T. mentagrophytes* (zoöfielen) maken er deel van uit (22)). In 2012 vertegenwoordigde het 31,1 % van de isolaten, en in 2017 15,3 % (14,3 % *T. interdigitale*, 1,0 % *T. benhamiae*). *M. audouinii* werd in 2017 in 4,2 % van de isolaten gevonden. In 2013 was het aantal *M. audouinii*-isolaten gestegen ten gevolge van het epidemiologisch onderzoek dat in dat jaar werd uitgevoerd naar tinea capitis door *M. audouinii* en *T. violaceum*. In 2013 was het goed voor 11,9 % van de monsters. Tussen 2016 en 2017 daalde het aandeel van *M. audouinii* van 8,5 % naar 4,2 % van de monsters. In figuur 4 ziet u de verdeling van de soorten die van 2012 tot 2017 het vaakst werden geïsoleerd.

Figuur 4. Verdeling van de voornaamste soorten geïsoleerde dermatofyten, NRC, 2012-17



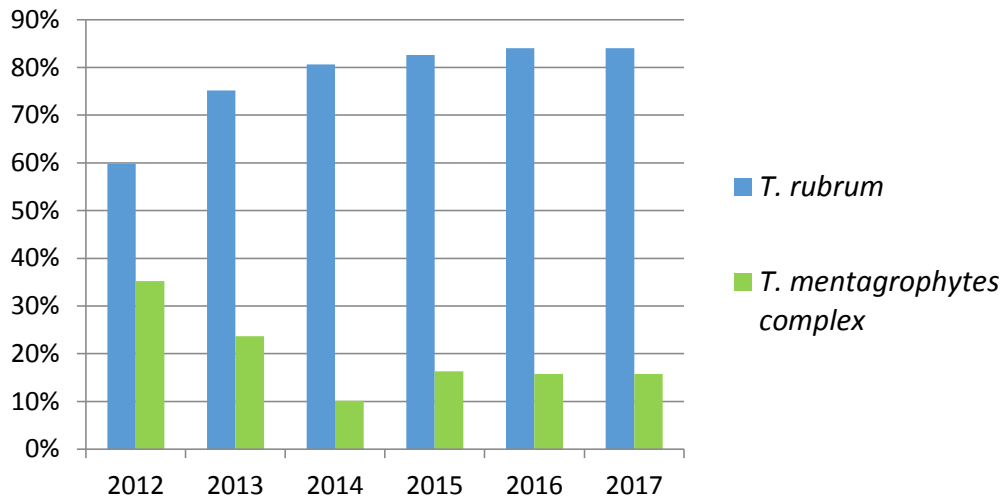
3.2.3. OORSPRONG VAN HET MONSTER

Van de isolaten van dermatofyten die in 2017 naar het NRC werden gestuurd waren er 934 (69,2 %) afkomstig van nagels. 275 (20,4 %) kwamen van huidschilfers of huidbiopten, 102 (7,6 %) van haar (met inbegrip van het hoofdhaar) en 39 (2,9 %) waren afkomstig van andere bronnen (oog, oor).

NAGELS

In 2017 omvatte de groep van dermatofyten die verantwoordelijk zijn voor onychomycose vooral *T. rubrum* (785 of 84,0 %), en *T. interdigitale* (148 of 15,8 %). Het aandeel van *T. rubrum*-isolaten is van 2012 tot 2014 gestegen en is nadien stabiel gebleven (figuur 5).

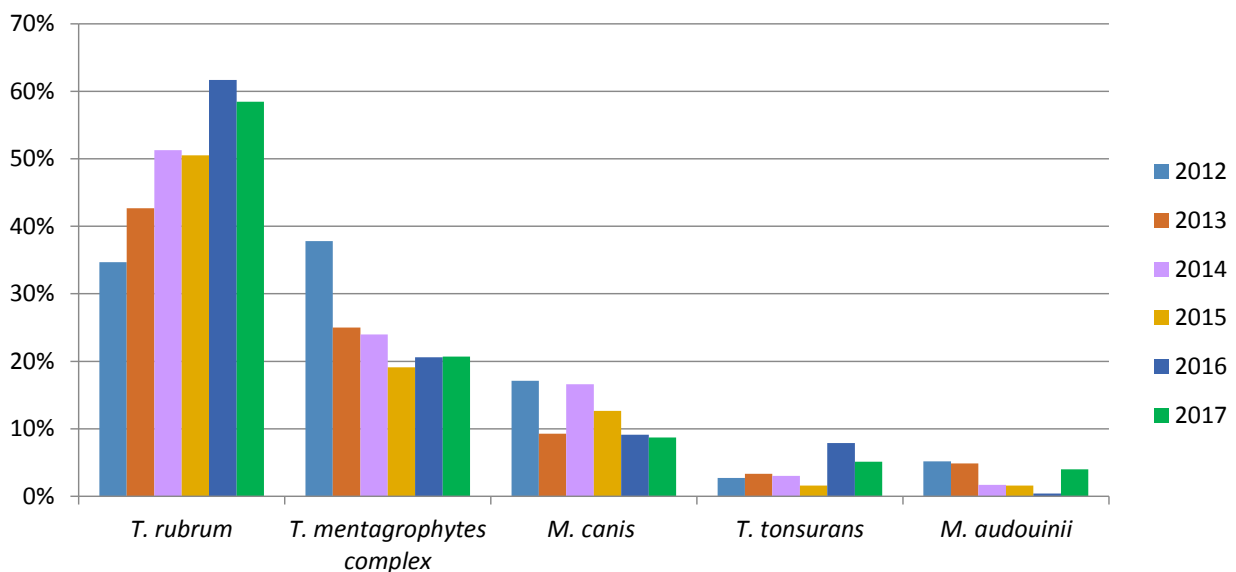
Figuur 5. Verdeling van de voornaamste soorten geïsoleerde dermatofyten uit nagelmonsters, NRC, 2012-2017



HUID

In 2017 werden op de huid 160 isolaten van *T. rubrum* geïdentificeerd, wat neerkomt op 58,5 % van de gevallen van infectie door een dermatofyte. De volgende soorten werden ook geïsoleerd: 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 (1,4 %) *T. violaceum* en 1 (0,4 %) isolaat van elk van de volgende soorten: *T. erinacei*, *E. floccosum*, *M. persicolor* en *T. verrucosum*. We merken dat er weer zoöfiele soorten opduiken in huidmonsters, zoals *M. canis*, of *T. mentagrophytes* en dat *T. benhamiae* opduikt. De evolutie van 2012 tot 2017 van de soorten geïsoleerd op de huid wordt geïllustreerd in figuur 6 en onderstreept dat *T. rubrum* sinds 2013 steeds vaker voorkomt bij dit soort monsters, met een piek in 2016.

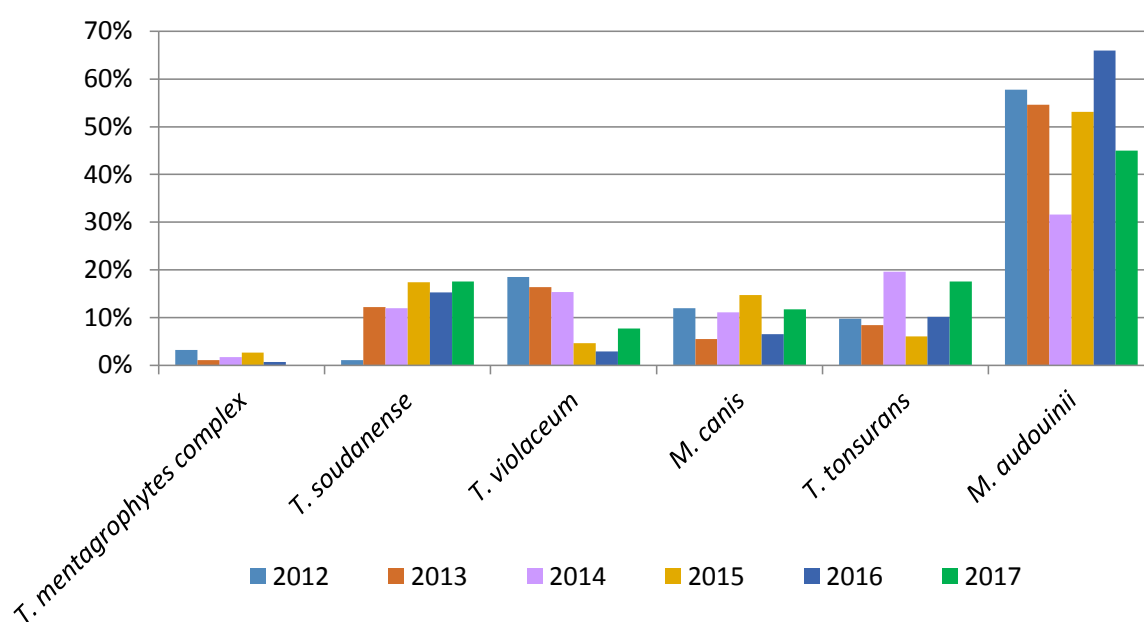
Figuur 6. Verdeling van de voornaamste soorten geïsoleerde dermatofyten uit huidmonsters, NRC, 2012-17



HAAR

Er waren in 2017 6 soorten dermatofyten verantwoordelijk voor tinea capitis. Bij dit soort monster komt *M. audouinii* het vaakste voor. Het was in 2017 verantwoordelijk voor 44,1 % (n=45) van de gevallen van tinea capitis. De andere geïdentificeerde dermatofyten zijn *T. soudanense* (n=18, 17,6 %), *T. tonsurans* (n=18, 17,6 %), *M. canis* (n=12, 11,8 %) en *T. violaceum* (n=8, 7,8 %) en *M. ferrugineum* (n=1, 1,0 %). Uit onze analyse blijkt dat *M. audouinii* belangrijk is als agens voor tinea capitis. *M. audouinii* was tussen 2012 en 2017 verantwoordelijk voor 30 tot 67 % van de gevallen (figuur 7).

Figuur 7. Verdeling van de voornaamste soorten geïsoleerde dermatofyten uit haarmonsters, NRC, 2012-2017



3.3. BESPREKING

T. rubrum blijft in België de ziektekiem die het grootste aantal oppervlakkige mycosen veroorzaakt, los van de plaats waar het monster is genomen. Dit agens is het vaakst verantwoordelijk voor onychomycosen. Het op één na meest gemelde agens is het *T. mentagrophytes*-complex. Het veroorzaakt vaak oppervlakkige huid- en nagelmycosen. Sinds 2016 wordt dit complex onderverdeeld in verschillende soorten, met *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* (zoöfiel) en *T. benhamiae*, volgens de nieuwe taxonomie die in 2016 door de Hoog werd voorgesteld (22). Deze soorten worden in de literatuur ook het vaakst gemeld voor infecties van de onbehaarde huid en de nagels (17).

De voornaamste veroorzaker van hoofdhuidinfecties in België is *M. audouinii*. Wereldwijd en in Europa worden in de literatuur ook vaak *M. canis*, *T. tonsurans* en *T. violaceum* genoemd. In het tweede deel van de twintigste eeuw was *M. audouinii* in België en Europa verdwenen. In de laatste decennia is het weer opgedoken, waarschijnlijk ten gevolge van de migratie uit Afrika, waar *M. audouinii* in verschillende landen endemisch is (17;20). Uit een recente Belgische studie van het NRC blijkt dat de leeftijden die het vaakst wordt getroffen door *M. audouinii* de kinderen van 5 tot 9 jaar zijn, met een overwicht voor jongens (sex ratio jongen/meisje van 2) (20).

In 2018 werd er een nationaal onderzoek gevoerd om de epidemiologische gegevens over tinea capitis bij te werken en de evolutie te volgen. In deze studie wordt de geografische oorsprong van de geïnfecteerde populaties, de meest waarschijnlijke manier van besmetting en, in geval van besmetting door een dier, het soort dier opgetekend. Naast deze epidemiologische studie zal ook een moleculaire studie worden uitgevoerd om de geïsoleerde stammen in de grootste groepen te identificeren. Dit zal een vergelijking van de gegevens met andere Europese landen mogelijk maken en informatie verschaffen voor een voorstel of aanpassing van preventieve maatregelen.

De epidemiologische situatie van dermatofyten is op wereldvlak voortdurend aan het evolueren. Sinds het midden van de 20ste eeuw is de frequentie van *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *T. tonsurans* en *M. canis* toegenomen, en momenteel zijn dat de meest voorkomende soorten. De evolutie van de dermatofyten hangt af van hun ecologie, hun voortplanting, hun aanpassing en hun pathogeniciteit, maar eveneens van menselijke factoren, zoals de migratie, het economische statuut, de hygiënische omstandigheden en de beschikbare behandelingen (16;17). De systemen om te diagnosticeren en te rapporteren verschillen van land tot land, en dat heeft ook een invloed op de beschikbare epidemiologische gegevens. Nochtans komen dermatofyten waarschijnlijk veel meer voor dan gemeld (16). Gezien de voortdurende evolutie van de gevonden soorten dermatofyten, is het cruciaal om de soort precies te identificeren, om zo de best aangepaste therapeutische en preventieve maatregelen te kunnen toepassen. In Europa neemt de belangstelling toe voor de bepaling van hun in-vitrogevoeligheid voor schimmelwerende middelen. De NRC's zijn betrokken bij de op punt stelling van een EUCAST methode voor dermatofyten.

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

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

4.1. OVERZICHT VAN DE STAMMEN

In 2015, 2016 en 2017 werden respectievelijk 643, 793 et 946 isolaten opgestuurd naar het NRC voor een gevoeligheidsbepaling, waaronder 2027 gisten en 355 filamenteuze fungi (tabel 3).

Tabel 3. Overzicht van de stammen die werden opgestuurd naar het NRC voor een gevoeligheidsbepaling, 2015-2017

Gisten	2015	2016	2017	Totaal
<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 lusitanae</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
Totaal	538	659	830	2027

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

Filamenteuze fungi	2015	2016	2017	Totaal
<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
Totaal	105	134	116	355

4.2. ANALYSEMETHODE

Voor sommige patiënten werden meerdere isolaten van hetzelfde species opgestuurd. Deze isolaten werden meegenomen in de analyse wanneer zich meer dan één maand bevond tussen beide gevoeligheidsbepalingen aangezien resistentie tegen antifungale middelen tijdens de behandeling kan ontwikkelen. Daarom werden in 2015 562 isolaten geanalyseerd van 507 patiënten, in 2016 693 isolaten van 620 patiënten en in 2017 769 isolaten van 676 patiënten.

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 kunnen epidemiologische drempels bepaald worden die het mogelijk maken om wilde stammen (WT voor wild type) van niet-wilde (non-WT voor non-wild type) stammen te onderscheiden. De wilde stammen populatie bestaat uit isolaten zonder een detecteerbare verworven of mutatie-gerelateerde resistentie tegen het bestudeerde antifungaal middel. De non-WT-populatie bestaat uit isolaten met één of meerdere markers van resistentie. Deze methode zegt niets over het al dan niet aanwezig zijn van een therapeutisch effect. Het gebruik van epidemiologische drempels laat een snelle detectie toe van in ontwikkeling zijnde veranderingen in gevoeligheid (23).

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 het CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute (23;24)) werden gebruikt¹. Op basis hiervan kunnen de isolaten geclassificeerd worden in drie categorieën:

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

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 noch klinische, noch 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 bij 50 % van de geteste isolaten een therapeutisch effect bereikt wordt.

1 Sinds oktober 2017 gebruikt UZ Leuven de EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) referentiemethode voor filamenteuze fungi en niet-*Candida*-gisten in plaats van de eerder gebruikte CLSI-methode. Om ervoor te zorgen dat de gegevens in dit rapport allemaal gebaseerd zijn op dezelfde referentie (CLSI), zijn deze monsters die gedurende de laatste 3 maanden van 2017 door UZ Leuven geanalyseerd waren, niet opgenomen in de gepresenteerde resultaten (4 stalen van *Saccharomyces cerevisiae* en 2 van *Fusarium* species).

4.3. GEVOELIGHEIDSBEPALING VAN DE GISTEN

4.3.1. CANDIDA ALBICANS

In 2015, werden er 216 *Candida albicans* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling, 271 in 2016 en 334 in 2017. Alle stammen werden getest voor hun gevoeligheid aan fluconazol. Hieruit blijkt dat 97,4 % (800/821) van de geteste *Candida albicans* stammen gevoelig is aan fluconazol, 0,7 % (6/821) is hieraan intermediair gevoelig en 1,8 % (15/821) bleek resistent.

Voor 341 stammen werd naast de gevoeligheid aan fluconazol ook de gevoeligheid aan andere antifungale middelen getest (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 refererend lab een volledig fungigram aanvraagt.

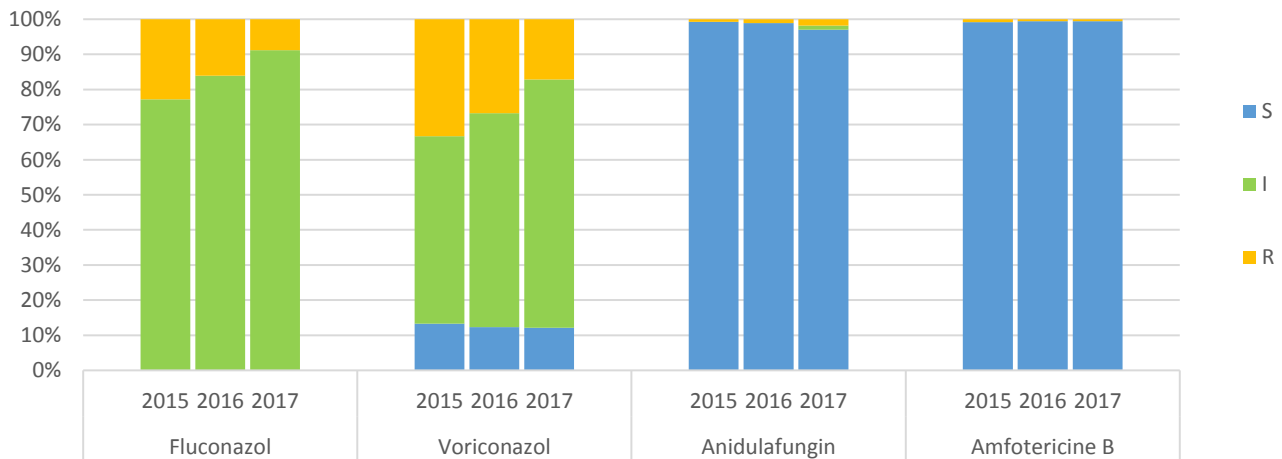
Tabel 4. Gevoeligheidsbepaling voor de *Candida albicans* stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Fluconazol	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 %)
Voriconazol	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 %)
Anidulafungin	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 %)
Amfotericine 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 %)

Van de 21 stammen van *Candida albicans* met intermediaire gevoeligheid of resistentie tegen fluconazol, waren 10 (48 %) gevoelig aan voriconazol, 7 (33 %) hadden een intermediaire gevoeligheid en 4 (19 %) waren resistent. De 11 stammen die resistent of minder gevoelig waren voor voriconazol waren allemaal gevoelig voor anidulafungine.

Van de 86 stammen getest voor verschillende antifungale middelen (figuur 8), had slechts één een intermediaire gevoeligheid voor anidulafungine, maar deze stam was gevoelig voor fluconazol, voriconazol en amfotericine B. De 86 stammen waren allemaal gevoelig voor amfotericine B.

Figuur 8. Gevoelighedsbepaling voor de *Candida albicans* stammen die gelijktijdig getest werden voor meerdere antifungale middelen (N=86), 2015-2107



4.3.2. CANDIDA GLABRATA

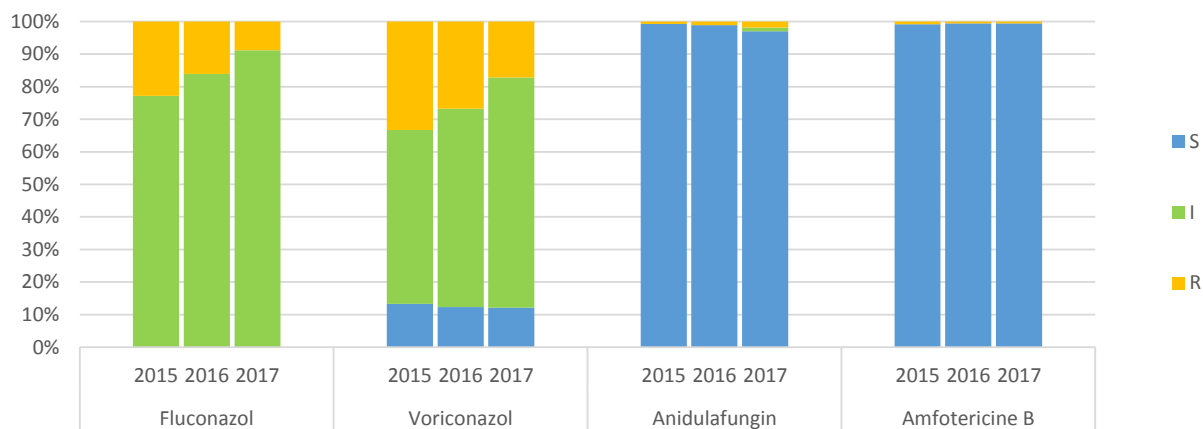
Tabel 5. Gevoelighedsbepaling voor de geteste *Candida glabrata* stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
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 %)
Voriconazol	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 %)
Anidulafungin	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 %)
Amfotericine 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 %)

Zoals aangegeven in tabel 5 werden in 2015 136 *Candida glabrata* stammen getest voor hun gevoeligheid aan fluconazol, 187 stammen werden getest in 2016 en 182 in 2017. *Candida glabrata* is intrinsiek verminderd gevoelig voor fluconazol. Onze gegevens toonden dus ook aan dat geen van de geteste stammen gevoelig was, 85 % bleek intermediair gevoelig (dosis-afhankelijke gevoeligheid) en 15 % bleek resistent aan fluconazol.

De gevoeligheid voor voriconazol was slechts 13 %, dus het is zelden een goed alternatief voor fluconazol voor de behandeling van *Candida glabrata*. Daarentegen was 98 % van de *Candida glabrata* stammen gevoelig voor anidulafungin en 99 % voor amfotericine B.

Alle geteste stammen van *Candida glabrata* waren op zijn minst gevoelig voor een van de onderzochte antifungale middelen. Er is geen bewijs van een toename in resistentie gedurende de geanalyseerde 3 jaar (figuur 9).

Figuur 9. Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Candida glabrata* stammen, 2015-2017

4.3.3. CANDIDA PARAPSILOSIS

Er werden 37 *Candida parapsilosis* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling aan fluconazol in 2015, 35 in 2016 en 36 in 2017. Hieruit bleek dat 95 % van de stammen gevoelig was aan fluconazol, 1 % was intermediair gevoelig en nog eens 4 % was resistent tegen fluconazol.

Voor meer dan de helft van de stammen werd naast de gevoeligheid aan fluconazol ook de gevoeligheid aan andere antifungale middelen getest (tabel 6). 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 refererend lab een volledig fungigram aanvraagt.

Tabel 6. Gevoeligheidsbepaling voor de *Candida parapsilosis* stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Fluconazol	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 %)
Voriconazol	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 %)
Anidulafungin	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 %)
Amfotericine 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 %)

Van de geteste *Candida parapsilosis* stammen was één stam intermediair gevoelig en 4 stammen resistent voor fluconazol. Alle stammen bleken gevoelig te zijn aan anidulafungin.

De 5 stammen die intermediair gevoelig of resistent waren voor fluconazol waren allemaal gevoelig voor amfotericine B, 3 waren gevoelig en 2 hadden een intermediaire gevoeligheid voor voriconazol.

4.3.4. CANDIDA TROPICALIS

Er werden 21 *Candida tropicalis* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling in 2015, 30 stammen in 2016 en 41 stammen in 2017.

Voor meer van de helft van de stammen (58/92) werd naast de gevoeligheid aan fluconazol ook de gevoeligheid aan andere antifungale middelen getest (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 tropicalis* stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Fluconazol	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 %)
Voriconazol	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 %)
Anidulafungin	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 %)
Amfotericine 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 %)

Van de geteste *Candida tropicalis* stammen waren er 10 (11 %) stammen met intermediaire gevoeligheid of resistent voor fluconazol. Deze stammen waren eveneens resistent of met intermediair gevoeligheid voor voriconazol maar alle stammen bleken wel gevoelig te zijn aan anidulafungin en amfotericine B.

4.3.5. CANDIDA KRUSEI

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 8 werd de gevoeligheid voor andere antifungale middelen getest voor 41 stammen van *Candida krusei*. Alle stammen waren gevoelig voor anidulafungin en amfotericine B. Twee (5 %) stammen, verzameld in 2016, hadden een intermediaire gevoeligheid voor voriconazol, maar alle andere isolaten waren gevoelig.

Tabel 8. Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Candida krusei* stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Fluconazole		Intrinsieke resistentie			
Voriconazol	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 %)
Anidulafungin	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 %)
Amfotericine 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*

Zoals aangegeven in tabel 9 werden 26 *Candida lusitaniae* stammen getest voor hun gevoeligheid aan fluconazol: 24 (92 %) van deze stammen bleken gevoelig. Alle *Candida lusitaniae* stammen waarvoor de gevoeligheid aan amfotericine B bepaald werd (18 van 26), bleken hieraan gevoelig te zijn.

Tabel 9. Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Candida lusitaniae* stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Fluconazol	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 %)
Voriconazol		Geen officiële breekpunten beschikbaar			
Anidulafungin		Geen officiële breekpunten beschikbaar			
Amfotericine 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*

Er werden 14 *Candida guilliermondii* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling, 8 in 2015, 3 in 2016 en 3 in 2017. Vijf (36 %) stammen bleken resistent en één had een intermediaire gevoeligheid voor fluconazol. De 12 stammen (inclusief de 6 stammen met verminderde gevoeligheid voor fluconazol) ook getest voor anidulafungin en amfotericine B waren allemaal gevoelig.

4.3.8. *CANDIDA KEFYR*

Er werden vijf *Candida kefyri* stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling in 2015, 4 stammen in 2016 en 8 stammen in 2017. 16 (94 %) stammen bleken gevoelig te zijn aan fluconazol en één (6 %) bleek intermediair gevoelig. Voor deze stam en 9 andere werd bijkomend de gevoeligheid voor amfotericine B bepaald, deze stam bleek hieraan eveneens gevoelig te zijn.

4.3.9. *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*

In 2015 werden 7 stammen aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling, 7 in 2016 en 4 in 2017.

Tabel 10. Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Cryptococcus neoformans* stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Fluconazol	Stalen getest	6	7	4	17
	Minimum MIC (mg/L)	2	2	0,5	0,5
	Maximum MIC (mg/L)	8	8	8	8
Amfotericine B	Stalen getest	6	7	4	17
	Minimum MIC (mg/L)	< 0,12	≤ 0,12	0,094	< 0,12
	Maximum MIC (mg/L)	1	1	1	1

Voor *Cryptococcus neoformans* zijn er nog geen officiële klinische breekpunten beschikbaar, daarom wordt hier de range van de waarden (tabel 10) vergeleken met de epidemiologische breekpunten. Het epidemiologisch breekpunt geeft aan dat 95 % van de wild type-populatie gevoelig is aan een fluconazol concentratie ≤ 8 mg/L

(25). Hieruit blijkt dat alle geteste stammen een vergelijkbare gevoeligheid voor fluconazol vertonen als de wild type-populatie en dus tot deze laatste populatie behoren. Alle stammen blijken ook te behoren tot de wild type-populatie voor amfotericine B, waarvoor het epidemiologische breekpunt ≤ 1 mg/L is (26).

4.3.10. SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Zes stammen van *Saccharomyces cerevisiae* werden aangeboden voor een gevoeligheidsbepaling in 2015, 9 in 2016 en 21 in 2017².

Voor *Saccharomyces cerevisiae* zijn er nog geen officiële klinische of epidemiologische breekpunten beschikbaar, daarom wordt in tabel 11 de range van de MIC-waarden samen met de MIC50 weergegeven.

Tabel 11. Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Saccharomyces cerevisiae* stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Fluconazol	Aantal geteste stammen	6	6	18	30
	Minimum MIC (mg/L)	1	1	0,5	0,5
	MIC50 (mg/L)	4	16	8	8
	Maximum MIC (mg/L)	8	32	≥ 256	≥ 256
Itraconazol	Aantal geteste stammen	3	3	5	11
	Minimum MIC (mg/L)	0,06	0,25	0,12	0,06
	MIC50 (mg/L)	0,25	0,5	0,25	0,25
	Maximum MIC (mg/L)	0,5	4	4	4
Voriconazol	Aantal geteste stammen	6	6	10	22
	Minimum MIC (mg/L)	0,03	0,03	0,015	0,015
	MIC50 (mg/L)	0,06	0,25	0,06	0,12
	Maximum MIC (mg/L)	0,12	0,5	1	1
Caspofungine	Aantal geteste stammen	6	6	11	23
	Minimum MIC (mg/L)	0,25	0,03	0,06	0,03
	MIC50 (mg/L)	0,25	0,12	0,5	0,25
	Maximum MIC (mg/L)	0,5	0,5	3	3
Anidualfungine	Aantal geteste stammen	6	6	13	25
	Minimum MIC (mg/L)	0,12	0,02	0,002	0,002
	MIC50 (mg/L)	0,12	0,03	0,12	0,12
	Maximum MIC (mg/L)	0,25	0,25	0,25	0,25
Amfotericine B	Aantal geteste stammen	6	6	19	31
	Minimum MIC (mg/L)	$< 0,12$	0,25	$< 0,002$	$< 0,002$
	MIC50 (mg/L)	0,25	0,5	0,047	0,25
	Maximum MIC (mg/L)	1	1	1	1

² Alleen stammen van de NRC van UZ Leuven werden opgenomen in de analyse in 2015 en 2016. In 2017 zijn de opgenomen stammen afkomstig van de 2 NRC's.

4.4. GEVOELIGHEIDSBEPALING VAN DE FILAMENTEUZE FUNGI

4.4.1. ASPERGILLUS FUMIGATUS COMPLEX

Sinds augustus 2015 zijn aan het NRC van UZ Leuven alle isolaten van *Aspergillus fumigatus* door de VIP-check™-methode gescreend op de aanwezigheid van azoolresistentie. De VIPcheck™-methode bestaat uit een plaat met 4 putjes met agar aangevuld met 3 azool-antifungale middelen (voriconazol, itraconazol en posaconazol) en een groeicontrole. Groei na 48 uur in een van de putjes met azool duidt potentieel op resistentie aan. VIPCheck is een eenvoudig hulpmiddel voor het selecteren van kolonies waarvoor aanvullende bepalingen van de MIC nodig zijn. De resultaten van de toezicht van de resistentie voor triazoles is worden gerepresenteerd in tabel 12.

Tabel 12. Toezicht van de resistentie voor triazoles, UZ Leuven, 2015-2017

	Aug-Dec 2015		2016		2017		Totaal	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Aantal gescreende stammen	194	100,0	490	100,0	537	100,0	1221	100,0
Groei op VIP Check	13	6,7	46	9,4	33	6,1	92	7,5
Gevoeligheidsbepaling (CLSI, EUCAST sinds Okt 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
Niet gedaan	4	2,1	5	1,0	3	0,6	12	1,0
Resistentiemechanisme								
Geen mutatie in CY-P51A-gen	0	0,0	5	12,8	8	30,8	13	18,1
Mutatie in CYP51A-gen								
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
Andere	0	0,0	0	0,0	1	3,8	1	1,4
Niet uitgevoerd	4	57,1	0	0,0	0	0,0	4	5,6

De prevalentie van triazolresistentie over de 3 gerapporteerde jaren is stabiel met een gemiddelde van 5,9 %.

4.4.2. ASPERGILLUS FLAVUS COMPLEX

Zoals aangegeven in tabel 13 werden 13 *Aspergillus flavus* complex stammen getest voor hun gevoeligheid aan itraconazol, voriconazol en posaconazol: alle stammen bleken gevoelig te zijn aan al deze moleculen.

Tabel 13. Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Aspergillus flavus* complex stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Itraconazol	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 %)
Voriconazol	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 %)
Posaconazol	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

Voor *Fusarium* species zijn er nog geen officiële klinische of epidemiologische breekpunten beschikbaar, daarom wordt in tabel 14 de range van de MIC-waarden samen met de MIC50 weergegeven. *Fusarium* species zijn per definitie resistent tegen fluconazol.

Tabel 14. Gevoeligheidsbepaling voor de geteste *Fusarium* species stammen, 2015-2017

		2015	2016	2017	Totaal
Itraconazol	Aantal geteste stammen	9	8	3	20
	Minimum MIC (mg/L)	1	0,5	> 8	0,5
	CMI50 (mg/L)	> 16	> 16	> 16	> 16
	Maximum MIC (mg/L)	≥ 32	≥ 32	> 32	> 32
Posaconazol	Aantal geteste stammen	6	4	4	14
	Minimum MIC (mg/L)	2	0,25	> 8	0,25
	CMI50 (mg/L)	> 8	1	> 8	> 8
	Maximum MIC (mg/L)	> 8	> 8	> 32	> 32
Voriconazol	Aantal geteste stammen	12	13	5	30
	Minimum MIC (mg/L)	1	0,12	1,5	0,12
	CMI50 (mg/L)	4	4	2	4
	Maximum MIC (mg/L)	> 32	≥ 32	16	> 32
Amfotericine B	Aantal geteste stammen	12	12	5	29
	Minimum MIC (mg/L)	0,5	0,5	1	0,5
	CMI50 (mg/L)	2	1	2	2
	Maximum MIC (mg/L)	> 32	8	> 32	> 32

4.5. BESPREKING

Een continue opvolging van de gevoeligheid van de verschillende mycosen voor antifungale middelen is belangrijk om trends te volgen en om ontwikkelende resistentieproblemen tijdig in kaart te kunnen brengen. Resistente infecties kunnen voorkomen bij species met intrinsieke resistentie of in isolaten die behoren tot een normaal gevoelige soort met verworven resistentie (27).

Er dient te worden opgemerkt dat de data enkel afkomstig zijn van het gezamenlijke nationale referentiecentrum van UZ Leuven en CHU Luik. Omdat sommige stalen enkel getest worden in perifere laboratoria kan dit leiden tot een bias.

4.5.1 CANDIDA

Voor alle invasieve of klinisch relevante candidiasis dient de soort te worden geïdentificeerd en de stam op gevoeligheid voor fluconazol te worden getest. De behandeling dient echter zo snel mogelijk te worden gestart, nog voor deze resultaten worden verkregen (8). In geval van een onstabiele patiënt of fluconazolresistentie, moet een volledig fongigram worden uitgevoerd.

Candida albicans is de meest geïsoleerde soort in België gevolgd door *C. glabrata* (28), hetgeen tot uiting komt in de verdeling van stalen geanalyseerd op gevoeligheid.

De stammen van *Candida albicans* die werden getest waren grotendeels gevoelig voor fluconazol, maar 3% van de stammen vertoonden resistentie of intermediaire gevoeligheid, en hiervan had de helft kruisresistentie tegen voriconazol. Deze stammen waren echter allemaal gevoelig voor anidulafungin en amfotericine B.

De volgende *Candida*'s bleken een beperkte gevoeligheid te hebben aan fluconazol (< 90 %):

- *Candida glabrata* is intrinsiek minder gevoelig aan fluconazol (kan enkel intermediair gevoelig of resistent zijn). Goede alternatieven zijn anidulafungine en amphotericin B met een gevoeligheid van respectievelijk 98 % en 99 % van de stammen.
- *Candida tropicalis*: 89 % is gevoelig. De resistentie is stabiel gedurende de geanalyseerde 3 jaar en haalt niet het percentage van 20 % dat werd waargenomen in een multicentrum studie in België, uitgevoerd in 2013-2014 (28), maar is vergelijkbaar met de 9 % resistentie/intermediaire gevoeligheid waargenomen in een zeer grote internationale studie van 1997 tot 2007 (29). De tien stammen resistent voor fluconazol waren echter gevoelig voor anidulafungine en amfotericine B.
- *Candida guilliermondii*: 57 % is gevoelig. De zes stammen die resistent bevonden werden, waren wel gevoelig aan anidulafungin en amfotericine B. Dit percentage van resistentie is hoog in vergelijking met de literatuur (30).
- *Candida krusei* is intrinsiek resistent aan fluconazol. De gevoeligheid voor voriconazol, anidulafungin en amfotericine B werd bepaald voor alle *Candida krusei* stammen en deze bleken allen gevoelig aan anidulafungin en amfotericine B en 95 % waren gevoelig voor voriconazol.

De incidentie van infecties door verschillende mycosen wordt niet nationaal gemonitord in België. Studies rapporteren echter toenemende incidentie van non-*albicans Candida*, met name *C. glabrata*, een soort die intrinsiek resistent is tegen fluconazol, op het noordelijk halfrond (27;29). Tegenwoordig heeft 20 tot 30 % van de candidemias betrekking op soorten die intrinsiek resistent zijn tegen fluconazol of echinocandinen (27). In België blijft de resistentie tegen echinocandines laag in de *Candida* stammen die door de NRC's werden geanalyseerd.

4.5.2. ASPERGILLUS

A. fumigatus is de meest voorkomende soort van *Aspergillus* bij menselijke infecties (27). Op basis van de resultaten van UZ Leuven werd resistentie tegen triazolen (voriconazol, itraconazol en posaconazol) gedetecteerd in 5,9 % van de stammen van *A. fumigatus*. Het lijkt stabiel over de gerapporteerde jaren, evenals in vergelijking met voorgaande jaren (31). Het belangrijkste resistentiemechanisme is de TR34 / L98H-mutatie van het CYP51A-gen.

Alle *Aspergillus flavus* complex stammen waren gevoelig aan deze drie triazolen.

5. CONCLUSIE

De informatie in dit rapport heeft betrekking op bepaalde soorten en aspecten van de surveillance van mycosen, maar is niet bedoeld als een exhaustief beeld van de epidemiologie ervan in België.

Een recent onderzoek naar de belasting van ernstige schimmelinfecties in België (32) belicht de bijzonder hoge last van invasieve schimmelinfecties die aan de ene kant te wijten zijn aan hun hoge mortaliteit (jaarlijkse schatting van 226 sterfgevallen gerelateerd aan *Candida*-septicemie en 169 sterfgevallen toegeschreven aan invasieve aspergillose) en, aan de andere kant, hun hoge kosten. Deze last wordt echter onderschat omdat de meest gevoelige diagnostische tests niet systematisch worden gebruikt.

De epidemiologie van mycosen evolueert voortdurend. Het is essentieel om deze evolutie te volgen in termen van trends in de incidentie van verschillende schimmelsoorten en in de opkomst van resistentie (intrinsiek of verworven) om zo de nodige informatie te verschaffen voor een passende en actuele behandelingsmethoden. Momenteel is er een toenemend proportie van non-albicans *Candida* species, deze zijn potentieel meer resistent tegen fluconazol. Ook, stijgende percentages van resistentie tegen azolen bij aspergillose gedetecteerd worden. De factoren die deze trends bepalen zijn het gebruik van antifungale middelen in ziekenhuizen, maar ook in de eerstelijnsgezondheidszorg en, in het bijzonder voor aspergillus, het hoge gebruik van azoolpesticiden in de landbouw (27;33).

REFERENTIES

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 Phy-

- logenetic 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

MEER INFORMATIE

Afspraak op onze webpagina
www.sciensano.be



Sciensano • Juliette Wytzmanstraat 14 • 1050 Brussel • België
T +32 2 642 51 11 • T pers +32 2 642 54 20 • info@sciensano.be • www.sciensano.be

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