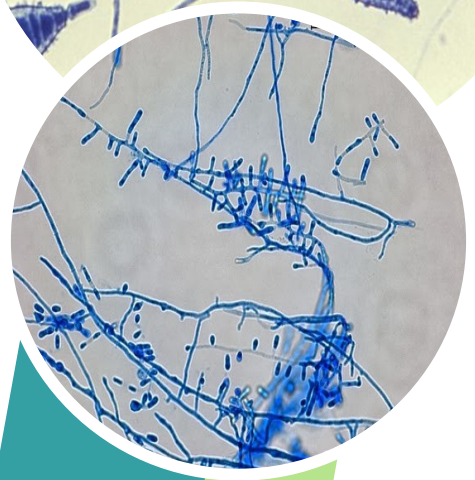
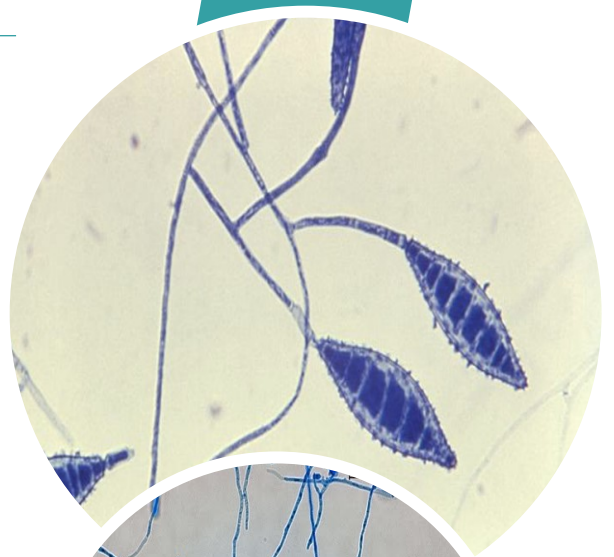


Centre National de Référence mycoses

Rapport d'activité 2022 – 2023



Marie-Pierre HAYETTE
Rosalie SACHELI



Centre hospitalier universitaire de Liège
Laboratoire de Microbiologie Clinique

1. Introduction
2. Missions spécifiques du CNR mycoses
3. Résumé des activités de 2022-2023
 - Activités du CNR/Liège
 - Démarche qualité
 - Accréditation Belac ISO15189
 - Contrôles de qualité externe supranationaux
 - Collection
4. Bilan de 2022 pour les champignons isolés par le CNR
 - Bilan Global
 - Bilan selon l'origine du prélèvement de phanères
 - Cheveux
 - Peau
 - Ongles
5. Bilan de 2023 pour les champignons isolés par le CNR
 - Bilan global
 - Bilan selon l'origine du prélèvement de phanères
 - Cheveux
 - Peau
 - Ongles
6. Evolution 2012-2023
7. Enquêtes épidémiologiques
8. Travaux de recherche et collaborations
9. Conclusions
10. Références

1. Introduction

Le CNR mycoses a pour mission l'expertise et la surveillance épidémiologique et microbiologique des mycoses superficielles et profondes. L'importance grandissante tenue par les mycoses au niveau médical est sans nul doute liée à l'incidence croissante des infections fatales causées par celles-ci chez des patients immunodéprimés durant les deux dernières décennies(1). Cette augmentation est attribuée à un accroissement du nombre de patients soumis à un traitement immunodépresseur (patients cancéreux, greffés de moelle ou d'organe, corticoïdes au long cours, anticorps monoclonaux), à l'intensification de ce type de traitement mais aussi à l'accroissement du nombre de patients infectés par le VIH.

Un diagnostic rapide et précis est nécessaire chez ces patients vulnérables. Dans ces cas, il est important de connaître les aspects cultureux, macroscopiques et microscopiques des agents fongiques de façon à orienter rapidement le clinicien vers une thérapeutique adaptée.

A côté des mycoses invasives, les mycoses superficielles ont une prévalence élevée dans la population générale estimée autour de 20-25%(2). Les onychomycoses chez le sujet âgé peuvent atteindre une prévalence supérieure à 50%(3). De plus, les agents responsables de teignes microsporiques (touchant le cuir chevelu), peuvent se révéler contagieux d'où l'importance d'un diagnostic rapide et précis (4,5).

Le centre national de référence (CNR) a pour mission principale l'identification des champignons qui lui sont adressés de façon à confirmer un diagnostic jusqu'au niveau de l'espèce. Une confirmation ou détermination de la sensibilité *in vitro* des champignons vis-à-vis des antifongiques adaptés peut également être réalisée si nécessaire. D'autre part dans le cadre d'épidémies, les laboratoires de référence offrent une aide dans la caractérisation phénotypique et génotypique des souches impliquées, rendue possible ces dernières années par l'utilisation du « Next Generation Sequencing » permettant le séquençage entier du génome fongique.

2. Missions spécifiques du CNR Mycoses

Les missions du CNR mycoses sont les suivantes :

- Identification des champignons filamenteux et de levures adressés par les laboratoires belges. Réalisation d'antifongigrammes dans le cas d'infection profonde ou d'infection superficielle récidivante
- Constitution et entretien de la collection de souches de dermatophytes (CNR Mycoses Liège) et de souches d'intérêt particulier
- Mise au point et développement de nouvelles méthodes de diagnostic, d'identification et de typage moléculaire des champignons, telles que les méthodes d'amplification génique et de séquençage moléculaire incluant le séquençage entier du génome (WGS) et des études phylogénétiques
- Alerte des autorités sanitaires à l'exemple de l'émergence de nouvelles résistances aux antifongiques ou de l'apparition d'une souche épidémique dans une population particulière
- Activité de conseil auprès des autorités sanitaires, des médecins et des biologistes
- Participation à des groupes d'experts à travers l'Europe
- Valorisation des travaux par des publications, articles scientifiques, guide de prescription, formation continue
- Activités de recherches et d'études en collaboration avec d'autres équipes scientifiques
- Participation à des contrôles de qualité externe

3. Résumé des activités de 2022-2023

- **Activités du CNR/Liège**

Au cours de l'année 2022 et 2023, tous les aspects des missions attribuées au CNR ont été couverts, comme l'identification d'isolats de levures et champignons filamenteux, l'aide au diagnostic de mycoses rares, la détermination de la sensibilité aux antifongiques et l'amélioration de techniques de typage et d'identification moléculaire, notamment le WGS et le développement d'outils pour l'étude phylogénétique. Le CNR de Liège se focalise principalement sur l'identification des mycoses superficielles isolées de phanères et c'est ce qui fera l'objet du présent rapport.

Parmi les techniques d'identification des levures, l'identification par spectrométrie de masse (Maldi-tof) est l'outil n°1 qui est utilisé. Les résultats sont confirmés par séquençage moléculaire si nécessaire.

En ce qui concerne l'identification des dermatophytes, l'identification peut se faire par des méthodes conventionnelles comme la microscopie. Ces dernières années la biologie moléculaire tend à remplacer progressivement les méthodes conventionnelles. Parmi les outils moléculaires d'identification des dermatophytes disponibles, une approche polyphasique est utilisée par PCR et séquençage Sanger. La région ciblée en premier lieu dans le cas de l'identification d'une espèce est tout ou partie de la région ITS1-5,8S-ITS2 de l'ARN ribosomique (ARNr). Trois cibles complémentaires sont disponibles à savoir la région D1-D2 de la partie LSU (28S) de l'ARNr, Ef1-alpha et la bêta-tubuline. Ces autres cibles sont utilisées en cas de nécessité de confirmation de l'identification d'une espèce rare ou en cas de réponse non satisfaisante après une première amplification. Ces dernières années, le CNR a notamment démontré la supériorité du séquençage de Ef1-alpha couplé à une analyse phylogénétique pour distinguer entre *T. interdigitale*/*T. mentagrophytes* et *T. indotineae* par rapport à la région ITS habituellement utilisée. En 2022 et 2023, une attention particulière a été accordée à l'utilisation du « whole genome sequencing » (WGS) pour le classement phylogénétique et le typage des dermatophytes. Cet outil permet une identification affinée des dermatophytes.

- **Démarche de qualité**

- Accréditation Belac ISO 15189

Le laboratoire de Microbiologie clinique du CHU de Liège a mis en place une démarche d'accréditation du laboratoire depuis quelques années. La mise en place du système qualité du CNR mycoses de Liège a été initiée en 2012 et l'audit d'accréditation a eu lieu en mai 2013. La démarche retenue pour mettre en conformité le CNR avec la norme ISO 15189 est fondée sur la rédaction de procédures pour chaque analyse proposée par le CNR, la création d'un dossier de validation complet pour chacune de ces techniques et un état des lieux des procédures et protocoles existants. La démarche consiste également en la mise en conformité des locaux et appareillages dédiés aux activités du CNR. La gestion du matériel permet en outre de garantir l'utilisation d'équipements fiables, appropriés aux besoins et surveillés en temps réel. La gestion des réactifs et consommables (sélection et évaluation des fournisseurs, distribution et évaluation des produits) est assurée également ainsi que le suivi des compétences du personnel. L'accréditation ISO 15189 a été octroyée au CNR mycoses à la suite de l'audit BELAC de mai 2013. En 2023, un audit de surveillance a eu lieu sans non-conformités pour le CNR.

- Contrôles de qualité externes supranationaux

Le CNR Mycoses participe à un contrôle de qualité externe tri-annuel, concernant la détermination de la sensibilité de souches de levures/filamenteux à différents antifongiques et l'identification de cultures de levures/champignons filamenteux issus d'échantillons cliniques. Ces contrôles sont proposés par l'UK NEQAS.

Parallèlement à cela, le CNR mycose organise et /ou participe annuellement à des « ring tests » inter-laboratoires afin de valider les analyses pour lesquelles il n'existe pas de contrôle proposé par un organisme externe.

- **Collection**

Tous les isolats cliniques de levures et de dermatophytes adressés au CNR sont systématiquement conservés et congelés à -80°C excepté les isolats de champignons contaminants, sauf intérêt particulier. La pureté des souches est préalablement vérifiée et des techniques d'identification (y compris le séquençage moléculaire) et de détermination de la sensibilité aux antifongiques (selon la demande) sont réalisées préalablement à la congélation. Les souches sont référencées, étiquetées et stockées au sein de la « champithèque » du CNR.

4. Bilan de 2022 pour les champignons isolés de phanères par les deux CNRs Mycoses

- **Bilan global**

En 2022, un total de 1677 **cultures positives** issues de phanères (ongle/peau/cheveu) ont été traitées aux deux CNR « Mycoses » (regroupement des cas isolés à la KU Leuven et au CHU de Liège). Parmi les échantillons, 1081 (64,5%) ont été identifiés comme étant des dermatophytes. 233 dermatophytes ont été détectés uniquement par biologie moléculaire (PCR réalisée directement sur ongle sans culture positive, 30 *T. interdigitale*, 203 *T. rubrum*, n=1314 pour les statistiques dermatophytes globales). Parmi les 1081 dermatophytes **isolés en culture**, 1020 (95,23 %) isolats ont été identifiés comme faisant partie du genre *Trichophyton*, 55 (5,37 %) comme faisant partie du genre *Microsporum*, 5 comme faisant partie du genre *Nannizzia* (0,18%) et 1 comme faisant partie du genre *Epidermophyton* (0,09%). Un total de 125 isolats de levures a également été répertorié (considérant uniquement les phanères, 97 *Candida* sp., 19 d'autres genres), soit 7,46% de tous les prélèvements. Le reste des isolats (471 souches, 28,1% de tous les prélèvements) correspond à d'autres champignons filamenteux (Voir **figure 1**).

En 2017, une modification de la taxonomie des dermatophytes a été réalisée par De Hoog et al (6). Alors que *Trichophyton interdigitale* et *Arthroderma benhamiae* étaient auparavant regroupés dans le complexe *T. mentagrophytes*, ces deux espèces font désormais partie de deux « séries » différentes respectivement la série *T.*

mentagrophytes et la série *T. benhamiae*. *Arthroderma benhamiae* a été de plus renommé en *Trichophyton benhamiae*. Dans la suite de ce rapport (hormis pour la comparaison 2012-2023, **point 6**), ces deux espèces seront donc considérées comme deux espèces bien distinctes. Nous distinguerons également sur ce rapport les *T. mentagrophytes* zoophiles des *T. interdigitale*, *T. quinckeanum* et *T. indotineae*. En effet, l'espèce zoophile *T. mentagrophytes* anciennement de type VIII, a été renommée *T. indotineae* (7). Cette espèce présente la particularité d'être résistante à la terbinafine dans 50-70% des cas. Le CNR teste systématiquement toutes les souches de *T. indotineae* isolé pour recherche de résistance à la terbinafine. Parmi les dermatophytes, l'isolat le plus fréquemment retrouvé (tous prélèvements confondus, inclus les 233 ongles positifs à la PCR uniquement, soit n=1314) est *T. rubrum* (915 échantillons, 69,9% des dermatophytes), suivi de *T. interdigitale* (217 échantillons, 16,5%), *M. canis* (34 isolats, 2,58%), *T. mentagrophytes* (34 isolats, 5,58%) *T. tonsurans* (31 isolats, 2,35%), *T. soudanense* (23 isolats, 1,75%), *M. audouinii* (21 isolats, 1,59%), *T. benhamiae* (17 isolats, 1,29 %), *T. violaceum* (6 isolats, 0,45%), *N. gypsea* (5 isolats, 0,38%), *T. verrucosum* (4 isolats, 0,38%), *T. indotineae* (4 isolats, 0,38%), *E. floccosum* (1 isolat, 0,08%), *T. erinacei*, (1 isolat, 0,08%) et *T. quinckeanum* (1 isolat, 0,08%). La **figure 2** représente la répartition des cas de dermatophytoses en 2022. Parmi les autres isolats envoyés au CNR, on retrouve des levures réparties en plusieurs espèces de *Candida sp.* (81 isolats, 65% des levures isolées), *Rhodotorula sp.* (31 isolats, 25% des levures isolées), *Trichosporon sp.* (9 isolats, 7%), *Geotrichum sp.* (3 isolats, 2% des levures isolées) et *Saccharomyces sp.* (1 isolat, 1% des levures isolées). Pour rappel, uniquement les prélèvements de phanères ont été considérés dans ce rapport. La **figure 3** décrit en détail la répartition des levures isolées par le CNR mycoses.

Parmi les autres souches reçues par le CNR, on retrouve, entre autres et parmi les plus fréquents, des *Aspergillus sp.* (55 isolats, 3,27% de tous les prélèvements isolés en culture), *Penicillium sp.* (54 isolats, 3,22%), *Alternaria sp.* (48 isolats, 2,86%), *Fusarium sp.* (37 isolats, 2,2%), *Scopulariopsis sp.* (30 isolats, 1,77%), *Cladosporium sp.* (10 isolats, 0,59%) *Acremonium sp.* (7 isolats, 0,41%).

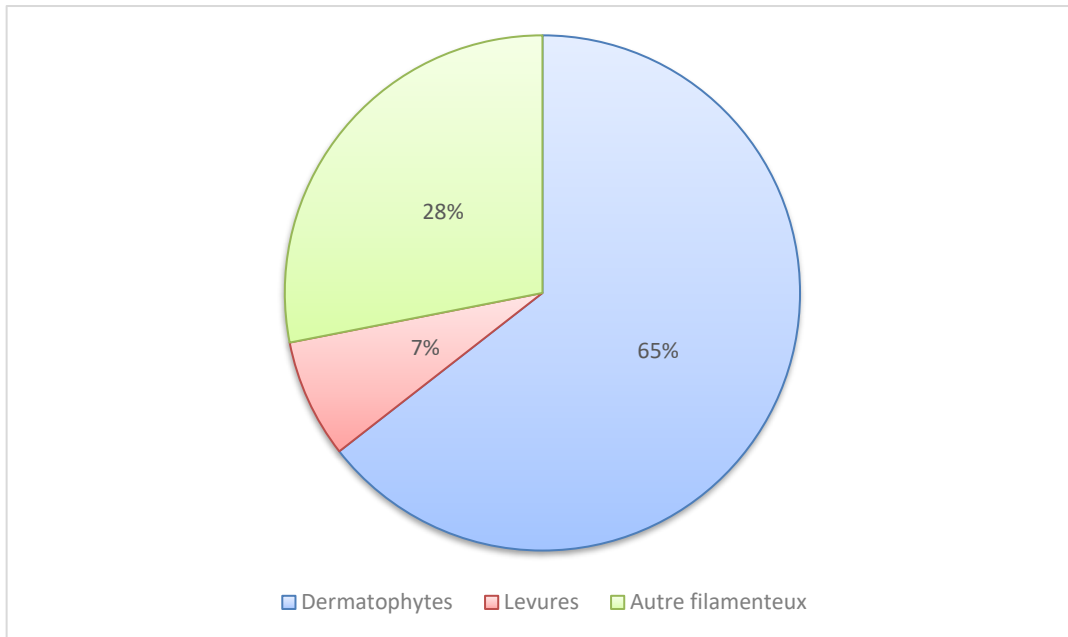


Figure 1 : Répartition des prélèvements (culture +) reçus en 2022 par les deux CNRs Mycoses.

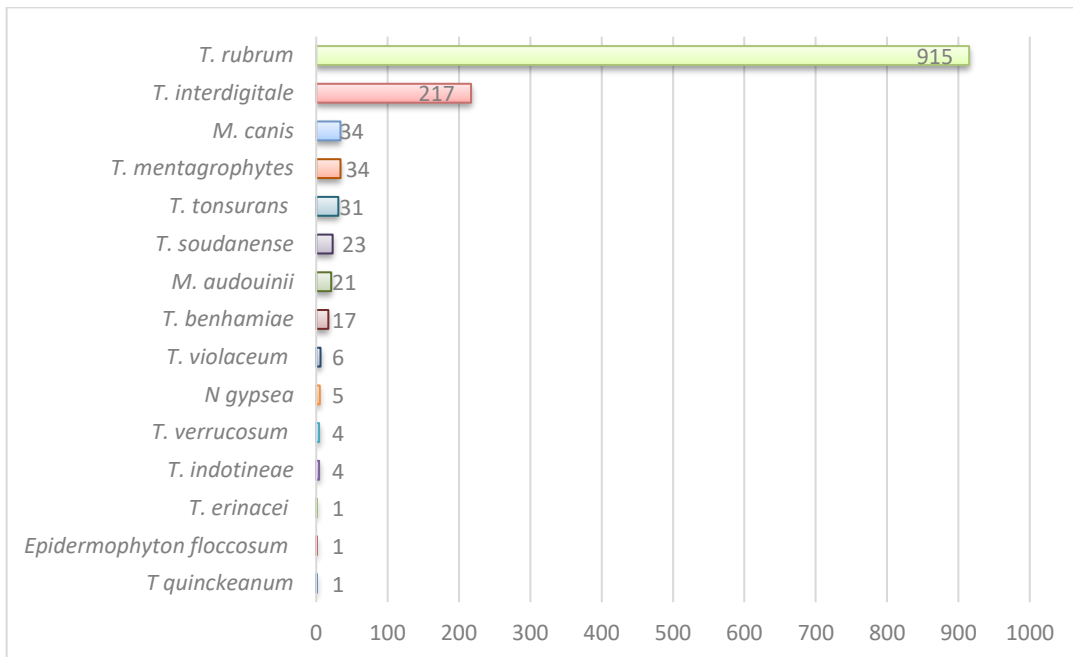


Figure 2 : Répartition des 1081 dermatophytes isolés en culture en 2022 par les 2 CNRs + les 233 prélèvements d'ongles positifs en PCR (n=1314).

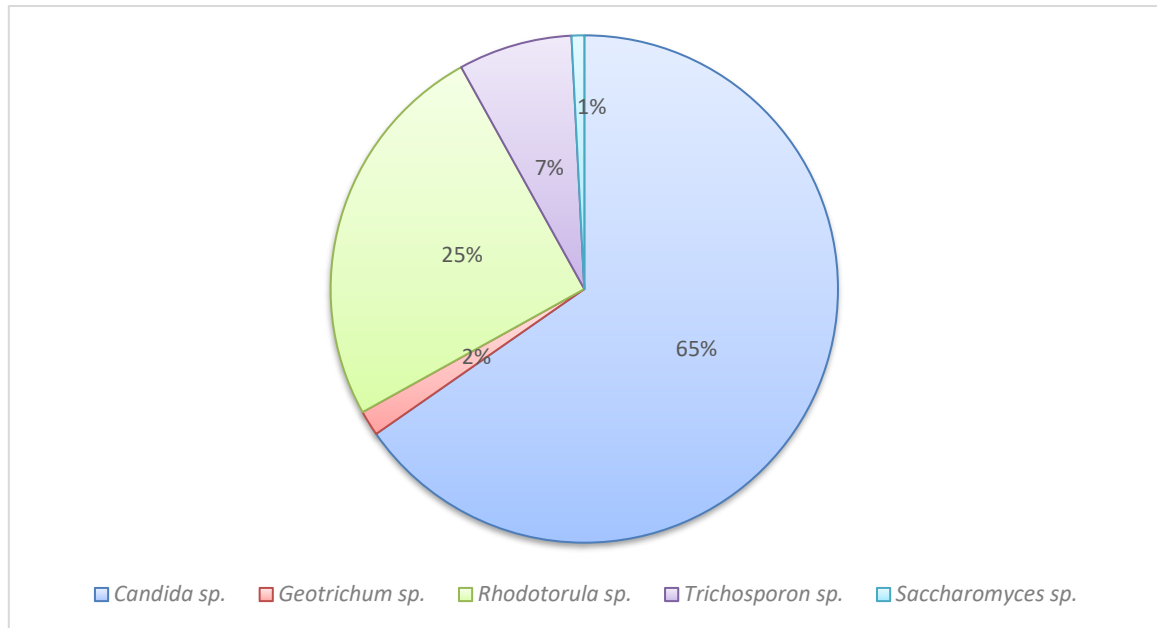


Figure 3 : Représentation graphique de la répartition des espèces de levures isolées de prélèvements de phanères reçus par les deux CNRs en 2022.

○ Bilan selon l'origine du prélèvement

Parmi les échantillons envoyés au CNR de Liège (et avec en sus les prélèvements de phanères du CNR de la KUL) **avec une culture positive**, 1163 (64,93%), provenaient d'ongles (+233 ongles positifs pour dermatophytes en PCR uniquement, n=1396), 450 (25%) provenaient de squames ou biopsies de peau, 64 (3,55%) provenaient de cheveux (inclus cuir chevelu) et 124 (6,88%) provenaient d'autres sources (œil, oreille, sang, vagin, urine, expectoration, ...) (Voir **figure 4**). Pour rappel, les prélèvements autres que phanères reçus par le CNR(n=124) n'ont pas été considérés dans le reste de ce rapport.

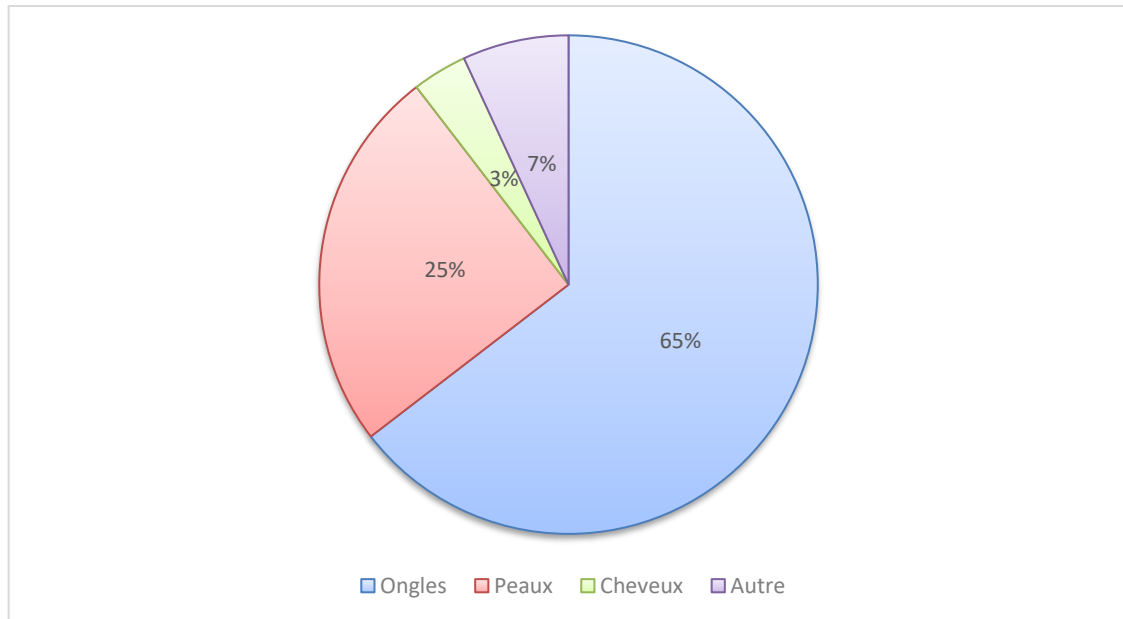


Figure 4: Répartition de l'origine des prélèvements envoyés aux deux CNRs Mycoses en 2022.

- Cheveux

Au total, 64 isolats reçus par les CNR provenaient de cheveux. 53 étaient des dermatophytes. Les dermatophytes responsables de teignes du cuir chevelu se répartissent en 8 espèces. Contrairement aux années 2012-2019 où *M. audouinii* était l'espèce prédominante pour les cas de teignes du cuir chevelu, *T. soudanense* est le pathogène fongique le plus fréquent pour ce type de prélèvement (n=16, 30,3%) en 2022. Les autres dermatophytes responsables de teignes du cuir chevelu identifiés, sont *M. audouinii* (n=14, 26,4%), *M. canis* (n=10, 18,86%), *T. tonsurans* (n=7, 13,2%), *T. violaceum* (n=2, 3,77%), *T. mentagrophytes* (n=2, 3,77%), *T. verrucosum* (n=1, 1,88%) et *T. benhamiae* (n=1, 1,88%). (Voir **figure 5**). Les autres espèces cultivées étaient des champignons filamenteux non dermatophytes, présents dans les échantillons comme contaminants. Notre analyse révèle que *M. audouinii* semble moins présent durant cette année 2022. En effet, il n'est responsable que de 26% des cas de teignes alors qu'il était responsable de près de 66% des cas de teignes en 2016 en Belgique.

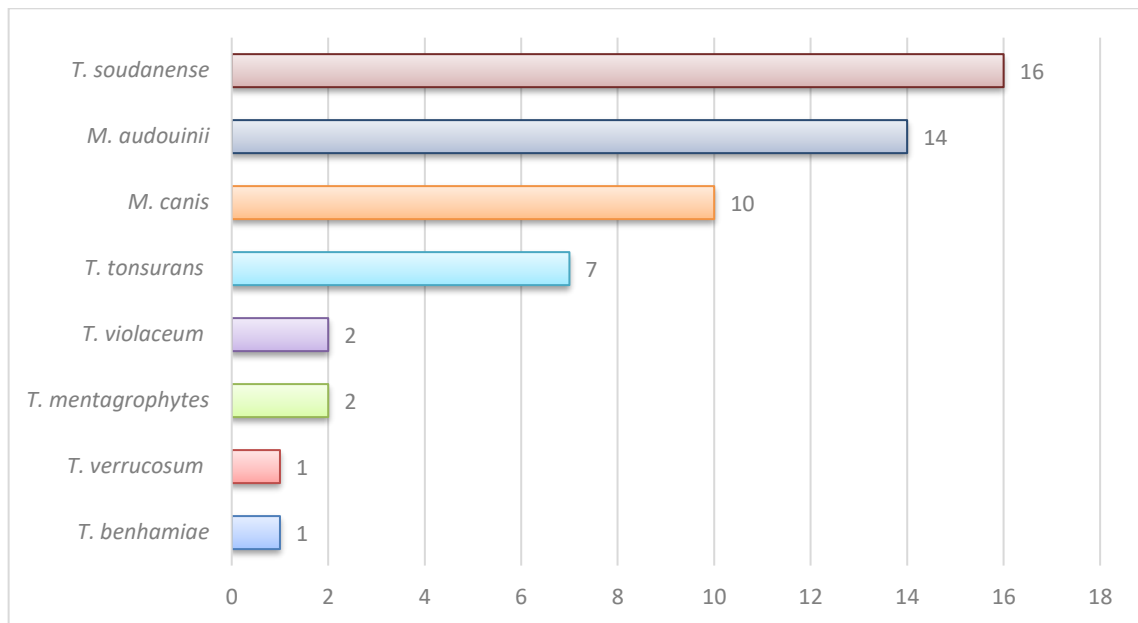


Figure 5 : Répartition des espèces de dermatophytes causant des infections du cuir chevelu en 2022.

- Peau

Au total, 450 isolats cultivés à partir de squames ont été reçus. Le nombre de prélèvements de peaux est plus élevé que les autres années car en 2022 a débuté une **étude nationale** focalisée sur la recherche de souches de *T. interdigitale/mentagrophytes/indotineae* résistantes à la terbinafine au sein de prélèvements de peaux (93 souches issues de peaux envoyées pour l'étude en 2022). La tendance épidémiologique est de ce fait biaisée en faveur des espèces *T. interdigitale/mentagrophytes/indotineae*. 339 (75,75%) des prélèvements de peaux reçus étaient des dermatophytes. Parmi les dermatophytes, 147 isolats de *T. rubrum* ont été identifiés soit 43,47% des cas d'infection par un dermatophyte. Cet agent est l'agent le plus fréquemment rencontré dans ce type de prélèvements. Il est suivi par *T. interdigitale* n=75, soit 22,12% des prélèvements. L'espèce zoophile *T. mentagrophytes* a été isolée de 32 prélèvements de peaux (9,44%). *M. canis* autre espèce zoophile est représenté à raison de 22 souches (6,49%). *T. tonsurans* a également été retrouvé au sein de 18 prélèvements de peaux durant l'année 2022 (5,33%). *T. benhamiae* a été isolé parmi 15 prélèvements (4,42%). *M. audouinii* a été isolé de 8 échantillons (2,35%). *T. soudanense*, *T. indotineae*, *T. violaceum* et *N.*

gypsea ont été retrouvés à raison de 4 prélèvements de peaux chacun (1,17%). Trois souches de *T. verrucosum* (0,92%) ont également été retrouvées ainsi qu'une souche (0,29%) de *T. quinckeanum*, *E. floccosum* et *T. erinacei*. A noter l'**émergence d'espèces zoophiles** dans les prélèvements de peau comme *T. mentagrophytes*, *M. canis* ou *T. benhamiae* (Voir **figure 6** pour la répartition). Cette tendance avait déjà été observée ces dernières années.

Le groupe des non-dermatophytes contient des genres différents tels que des *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Penicillium*. Parmi ceux-ci, certains peuvent être à l'origine d'infection chez les patients dont l'immunité est diminuée ou en cas de blessure non correctement prise en charge. Il est important de considérer chaque agent fongique en fonction du patient (patient à risque de développer une infection superficielle ou invasive en fonction de son degré d'immunodépression ou de facteurs locaux). C'est pour cela que le remplissage du formulaire mis à disposition par le CNR est essentiel dans la prise en charge de l'échantillon.

Par ailleurs, la présence de contaminants de l'environnement au moment du prélèvement ou de l'ensemencement conduit à la culture de champignons non significatifs pouvant empêcher la culture du véritable pathogène. Il est important de rappeler que la prise de squames doit être précédée par la désinfection de la peau avec de l'alcool à 70% pour réduire au maximum le risque de contamination.

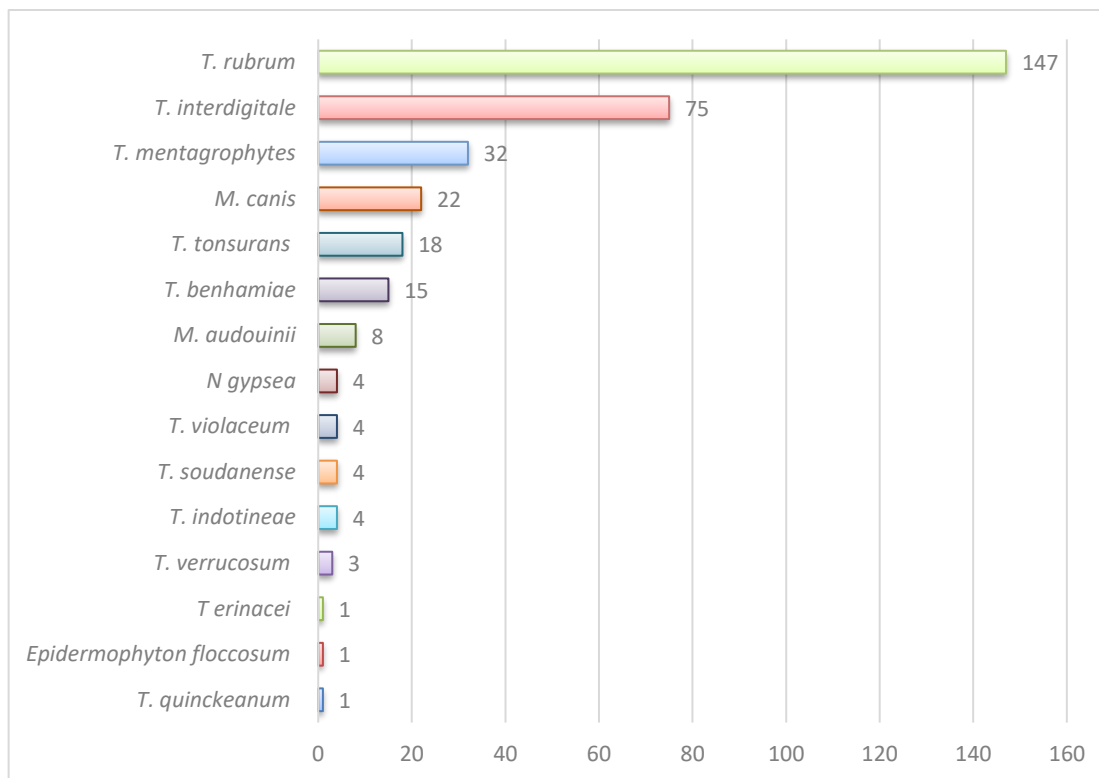


Figure 6 : Répartition des espèces de dermatophytes causant des infections de la peau en 2022.

- Ongles

La majorité des souches reçues par le CNR provenaient d'ongles (1163 cultures positives). Deux cent trente-trois ongles positifs pour les dermatophytes ont été obtenus uniquement par PCR, et 9 ongles étaient positifs pour *C. albicans* uniquement par PCR. L'observation des cultures a conduit à l'identification de 689 dermatophytes (+233 par PCR), 91 levures (57 *Candida sp.* +9 détectés uniquement par PCR) et 34 autres appartenant aux genres *Rhodotorula*, *Geotrichum*, *Trichosporon*) et des champignons non-dermatophytes, considérés souvent comme contaminants où l'on retrouve des genres tels que les *Alternaria*, *Scopulariopsis*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Aspergillus* ou encore *Fusarium*. Il est important de mettre l'accent sur le fait que la présence de champignons non-dermatophytes qui sont potentiellement pathogènes, tels que *Fusarium spp* ou *Scopulariopsis spp*, doit être confirmée sur base de la positivité de l'examen direct et également d'un second échantillon positif en culture pour le même agent, avant de le juger responsable de la symptomatologie. En effet, la présence d'un dermatophyte peut être gênée par la croissance de tels contaminants.

Le groupe des dermatophytes responsables d'onychomycoses, comprend principalement 768 *T. rubrum* (83,33 %), et 142 *T. interdigitale* (15,4%) (Voir **figure 7**). A noter, la présence de six prélèvements positifs pour *T. tonsurans*, 3 prélèvements positifs pour *T. soudanense*, 2 pour *M. canis* et 1 pour *T. benhamiae* dans des ongles. Ces agents sont habituellement responsables de teignes du cuir chevelu/infections de la peau. Ces isolats ont été séquencés et l'origine du prélèvement vérifiée.

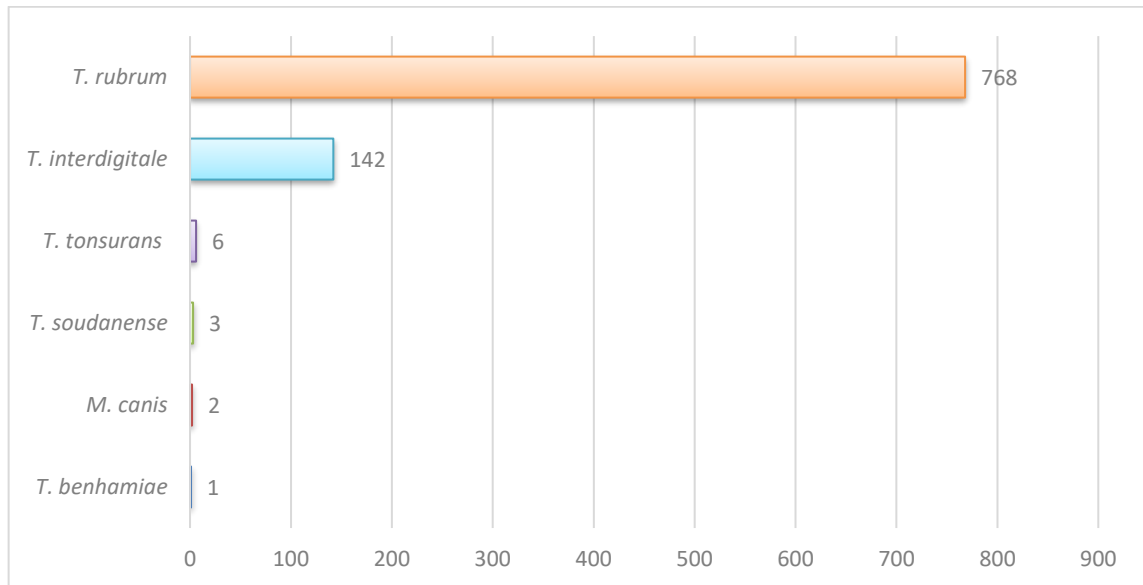


Figure 7: Répartition des espèces de dermatophytes responsables d'onychomycoses en 2022(incluant les 233 ongles + uniquement par PCR).

5. Bilan de 2023 pour les champignons isolés des phanères par les deux CNR

○ Bilan global

En 2023, un total de 1565 isolats fongiques issus de phanères ont été envoyés aux deux CNR « Mycoses » (regroupement des cas isolés de phanères isolés à la KU Leuven et au CHU de Liège). Parmi les échantillons, 1006 (64,5%) ont été identifiés comme étant des dermatophytes avec une culture positive (**Figure 8**). Pour certains échantillons d'ongles, les dermatophytes ont été détectés uniquement par biologie moléculaire, n=290. Parmi les 1006 isolats identifiés en culture, 950 (94,5%) isolats ont été identifiés comme faisant partie du genre *Trichophyton*, 53 (5,26%) comme faisant partie du genre *Microsporum* et 3 faisant partie du genre *Nannizzia* (0,29%). Un total de 168 isolats de levures (133 *Candida* sp., 35 autres) a également été répertorié (uniquement phanères considérés dans ce rapport), soit 10,7% de tous les prélèvements. Le reste des isolats (391 souches, 25% de tous les prélèvements) correspond à d'autres champignons filamenteux.

Parmi les dermatophytes (inclus les 290 dermatophytes détectés uniquement par PCR), l'isolat le plus fréquemment retrouvé (tous prélèvements confondus) est *T. rubrum* (928 isolats, 71,94 % des dermatophytes), suivi de *T. interdigitale* (173 isolats, 13,35 %), *T. tonsurans* (52 isolats, 4%), *M. canis* (29 isolats, 2,24%), *M. audouinii* (24 isolats, 1,85%), *T. mentagrophytes* (23 isolats, 1,77%), *T. soudanense* (21 isolats, 1,6%), *T. indotineae* (20 isolats, 1,5%), *T. benhamiae* (16 isolats, 1,23 %), *T. violaceum* (6 isolats, 0,46%), *Nannizzia gypsea* (2 isolats, 0,15%), *T. quinckeanum* (1 isolat, 0,08%), et *N. fulva* (1 isolat, 0,08%). La **figure 9** représente la répartition des cas de dermatophytoses en 2023. Parmi les autres isolats envoyés au CNR, on retrouve des levures réparties en différentes espèces de *Candida* sp. (133 isolats, 81,3% des levures isolées), *Rhodotorula* sp. (26 isolats, 15,87% des levures isolées), *Trichosporon* sp. (5 isolats, 3,04%) et *Geotrichum* sp. (4 isolats, 2,43% des levures isolées). Ces levures ne concernent que les prélèvements de phanères dans le présent rapport. Les autres types de prélèvements font l'objet d'un rapport différent

axé sur les sensibilités aux différents antifongiques. La **figure 10** décrit en détail la répartition des levures isolées de phanères par les deux CNR mycoses.

Parmi les autres souches reçues par le CNR, au sein des phanères, on retrouve, entre autres, des *Penicillium sp.* (125 isolats, 21.7% parmi les filamenteux non dermatophytes), *Aspergillus sp.* (113 isolats, 19.26%), *Fusarium sp.* (42 isolats, 7.2%), *Scopulariopsis sp.* (34 isolats, 5.8%), *Alternaria sp.* (32 isolats, 5.46%), *Cladosporium sp.* (11 isolats, 1.9 %), *Acremonium sp.* (7 isolats, 1,19%).

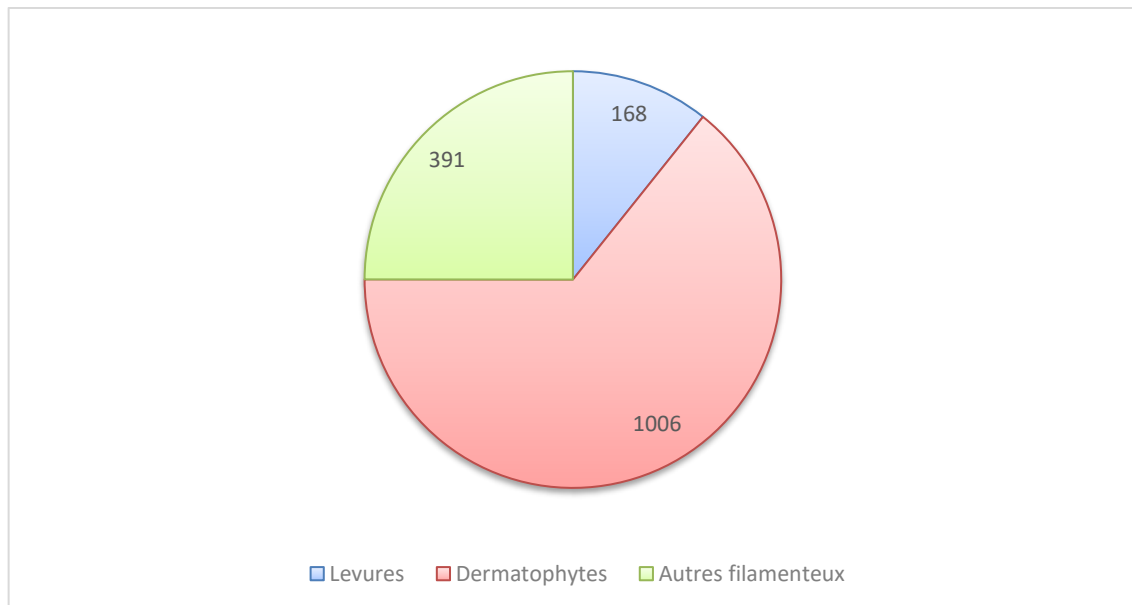


Figure 8 : Répartition des prélèvements (uniquement culture +) reçus en 2023 par les deux CNRs mycoses (phanères uniquement).

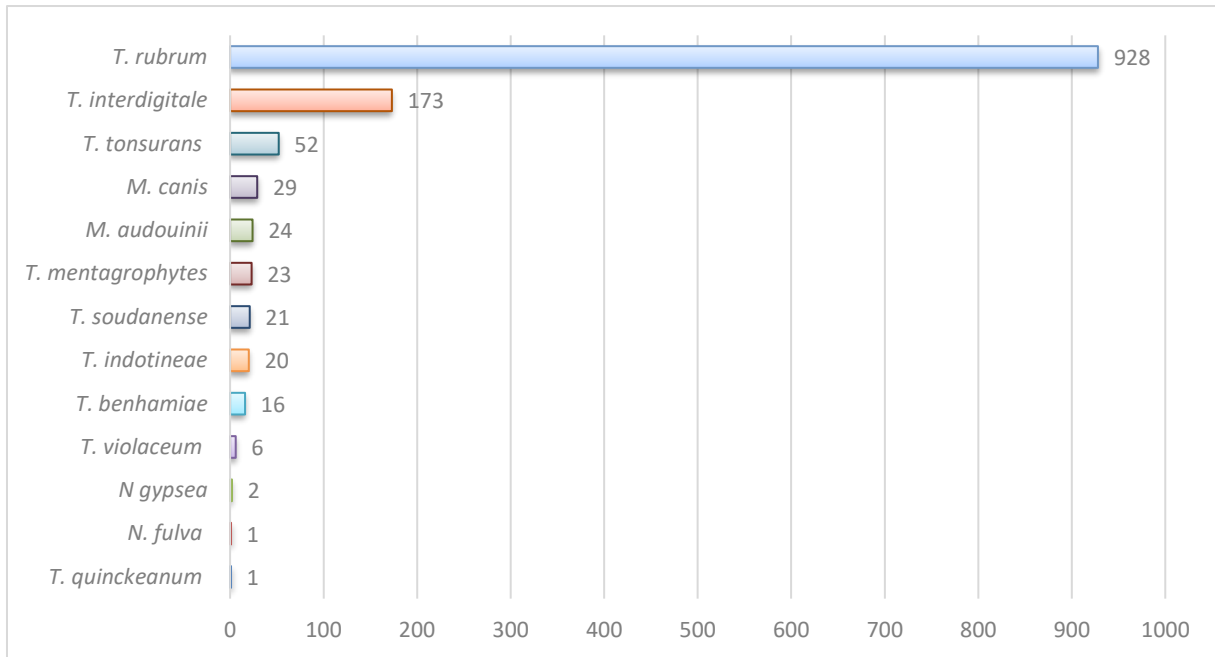


Figure 9 : Répartition des 1296 dermatophytes (inclus 290 dermatophytes détectés uniquement par PCR) isolés en 2023 par les 2 CNRs.

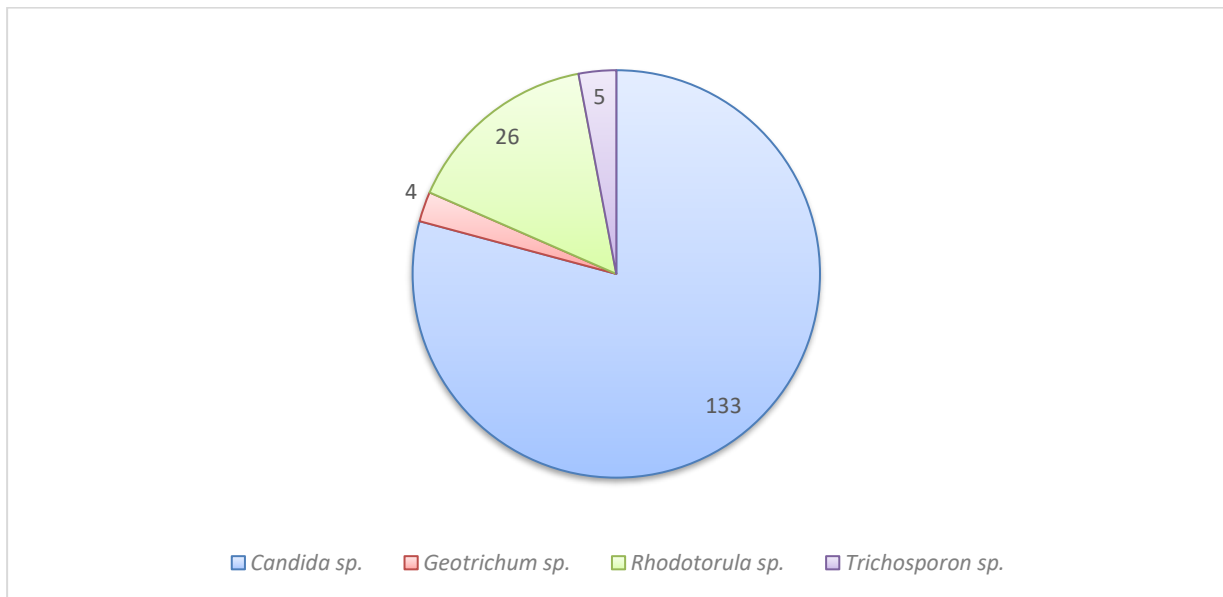


Figure 10 : Représentation graphique de la répartition des espèces de levures retrouvées dans les prélèvements de phanères reçus par les deux CNRs en 2023.

○ **Bilan selon l'origine du prélèvement**

Parmi les isolats envoyés au CNR de Liège (et avec en sus les prélèvements de phanères du CNR de la KUL), 1046 (62,8%), provenaient d'ongles, 452 (27,1%) provenaient de squames ou biopsies de peau, 67 (4%) provenaient de cheveux (inclus

cuir chevelu) et 105 (6,2%) provenaient d'autres sources (œil, oreille, sang, vagin, urine, expectoration, uniquement pour le CNR de Liège) qui n'ont pas été considérés dans le présent rapport. (Voir **figure 11**).

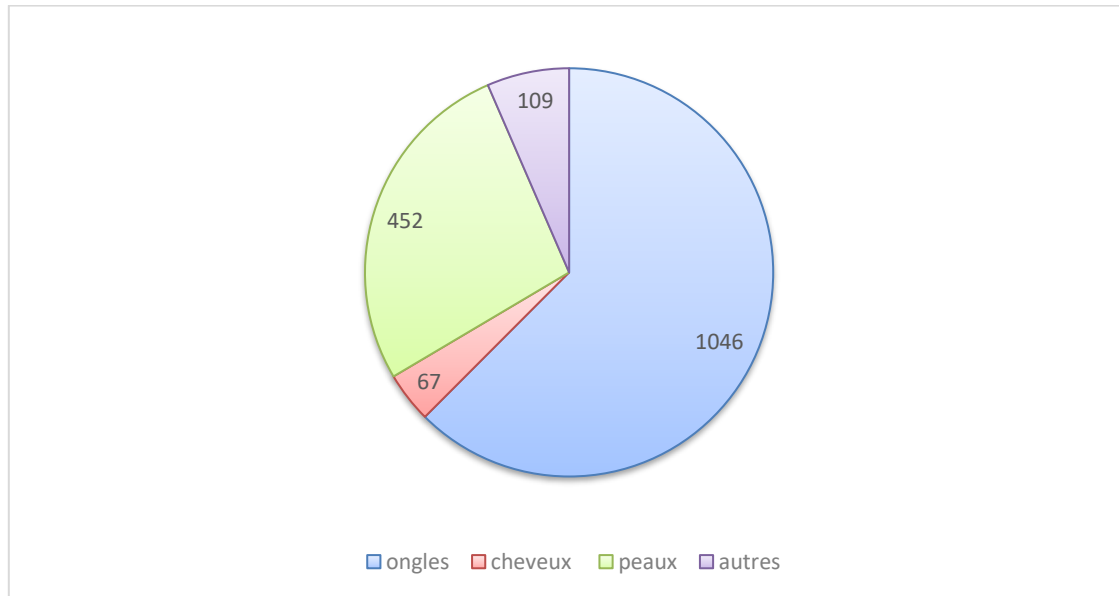


Figure 11: Répartition de l'origine des prélèvements (phanères et autres prélèvements uniquement comptabilisés pour Liège) envoyés aux deux CNRs Mycoses en 2023.

- Cheveux

Au total, 67 isolats reçus par le CNR provenaient de cheveux. 60 (90,1%) étaient des dermatophytes. Les dermatophytes responsables de teignes du cuir chevelu se répartissent en 6 espèces. *T. tonsurans* est le pathogène fongique le plus fréquent pour ce type de prélèvement en 2023 et est responsable de 28,4% des cas de teignes du cuir chevelu (n=17). Ceci représente un changement dans l'épidémiologie des teignes du cuir chevelu. En effet ces dernières années, *M. audouinii* et *T. soudanense* étaient les agents majeurs responsables de teigne du cuir chevelu. Ces deux espèces restent toutefois bien représentées car les autres dermatophytes identifiés sont *M. audouinii* (n=16, 26,6%), *Trichophyton soudanense* (n=11, 18,34%), *Microsporum canis* (n=8, 13,3%), *Trichophyton violaceum* (n=5, 8,3%) et *T. mentagrophytes* (n=3, 5%). (Voir **figure 12**). Les autres espèces cultivées étaient des champignons filamenteux non dermatophytes, présents dans les échantillons comme contaminants. Notre analyse révèle que l'espèce *M. audouinii* perd un peu de son importance comme agent responsable de teignes du cuir chevelu et suit une tendance décroissante puisque cette espèce était responsable de 66,6% des cas

de teignes en 2016, 45% en 2017, 38% en 2018, 30.3% en 2019, 21,45% en 2020 (année Covid) et 28,16% en 2021. En 2023, cette espèce n'est plus responsable que de 26,6% des cas de teigne. (Voir **Figure 17**).

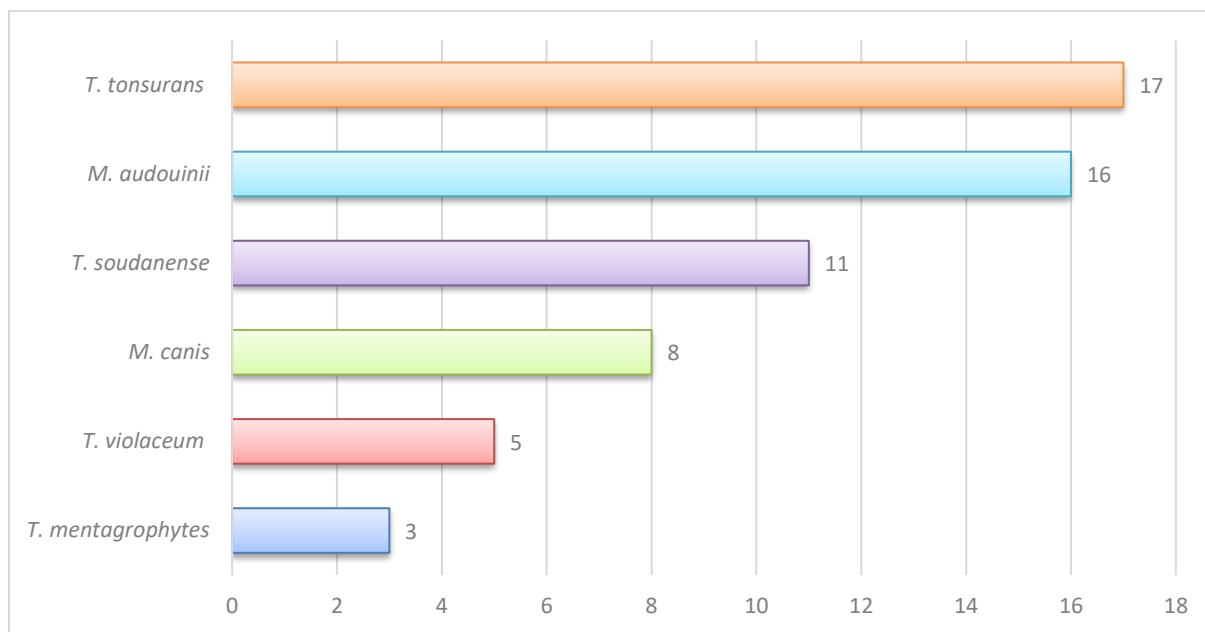


Figure 12 : Répartition des espèces de dermatophytes causant des infections du cuir chevelu en 2023.

- Peau

Au total, 452 isolats cultivés à partir de squames ont été reçus. 313 (69,4%) d'entre eux étaient des dermatophytes. Parmi les dermatophytes, 159 isolats de *T. rubrum* ont été identifiés soit 51,02% des cas d'infection par un dermatophyte. Cet agent est l'agent le plus fréquemment rencontré dans ce type de prélèvements (Voir **figure 13** pour la répartition). L'espèce anthropophile *T. tonsurans* a été isolée de 33 prélèvements (10.54 %). Comme pour les prélèvements du cuir chevelu, on observe une croissance des infections de peau à *T. tonsurans*. *T. interdigitale* a été retrouvé dans 27 prélèvements de peau (8,62%), *M. canis* a été retrouvé au sein de 21 isolats, 6,7% des prélèvements de peau en 2023 alors que *T. indotineae* et *T. mentagrophytes* ont été isolés de 20 prélèvements chacun (6,38%). On observe une émergence claire de *T. indotineae* au sein des prélèvements de peaux en Belgique. *T. benhamiae* a été isolé de 15 prélèvements de peaux (4,87%). *M. audouinii* et *T. soudanense* ont été isolés de 7 prélèvements chacun (2,2%). *T. violaceum*, *N. fulva*, *T. quinckeanum* et *N. gypsea* étaient présents au sein d'1 prélèvement chacun (1,1%).

Le groupe des non-dermatophytes contient des genres différents tels que des *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Penicillium*. Parmi ceux-ci, certains peuvent être à l'origine d'infection chez les patients dont l'immunité est diminuée ou en cas de blessure non correctement prise en charge. Il est important de considérer chaque agent fongique en fonction du patient (patient à risque de développer une infection superficielle ou invasive en fonction de son degré d'immunodépression ou de facteurs locaux). C'est pour cela que le remplissage du formulaire mis à disposition par le CNR est essentiel dans la prise en charge de l'échantillon.

Par ailleurs, la présence de contaminants de l'environnement au moment du prélèvement ou de l'ensemencement conduit à la culture de champignons non significatifs pouvant empêcher la culture du véritable pathogène. Il est important de rappeler que la prise de squames doit être précédée par la désinfection de la peau avec de l'alcool à 70% pour réduire au maximum le risque de contamination.

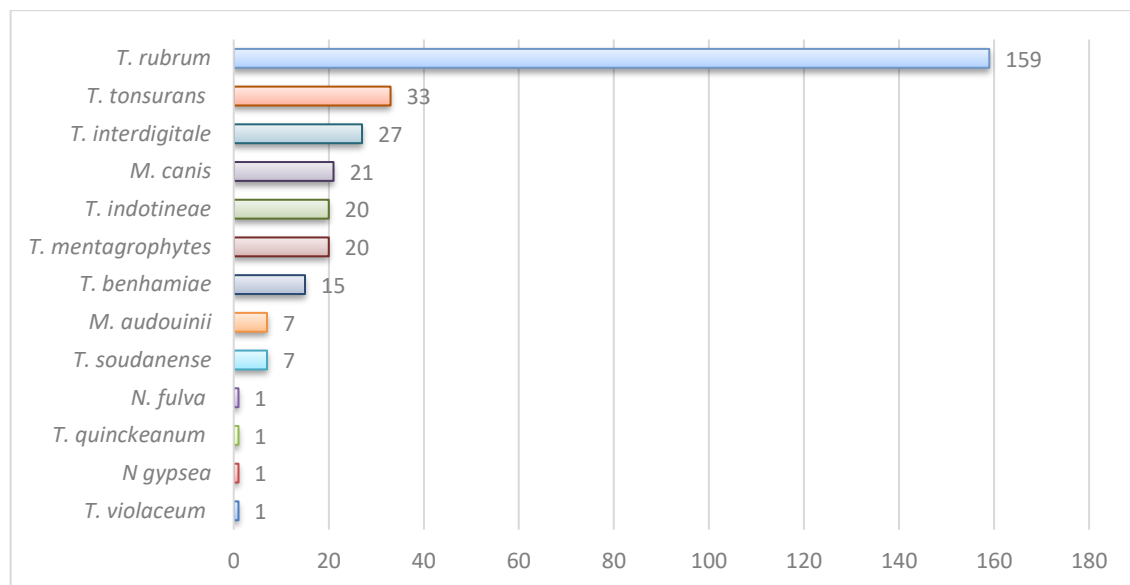


Figure 13 : Répartition des espèces de dermatophytes causant des infections de la peau en 2023.

- Ongles

La majorité des souches reçues par le CNR provenaient d'ongles (1046 isolats+ 305 ongles positifs pour dermatophytes ou *C. albicans* en PCR). Ceci a conduit à l'identification de 923 dermatophytes (68,49%), 126 levures (100 *Candida*, 26 appartenant aux genres *Geotrichum*, *Rhodotorula* et *Trichosporon*) et des

champignons non-dermatophytes, considérés souvent comme contaminants où l'on retrouve des genres tels que les *Alternaria*, *Scopulariopsis*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Aspergillus* ou encore *Fusarium*.

Le groupe des dermatophytes responsables d'onychomycoses, comprend principalement 769 *T. rubrum* (83,3%), et 146 *T. interdigitale* (15,2%) (Voir **figure 14**). A noter, la présence de quelques prélèvements positifs pour d'autres dermatophytes dans les ongles comme *T. soudanense* (n=3), *T. tonsurans* (n=2), *N. gypsea* (n=1), *M. audouinii* (n=1) et *T. benhamiae* (n=1). Ces agents sont en effet habituellement responsables de teignes du cuir chevelu/tinea corporis. Ces prélèvements ont été séquencés et l'origine du prélèvement vérifié.

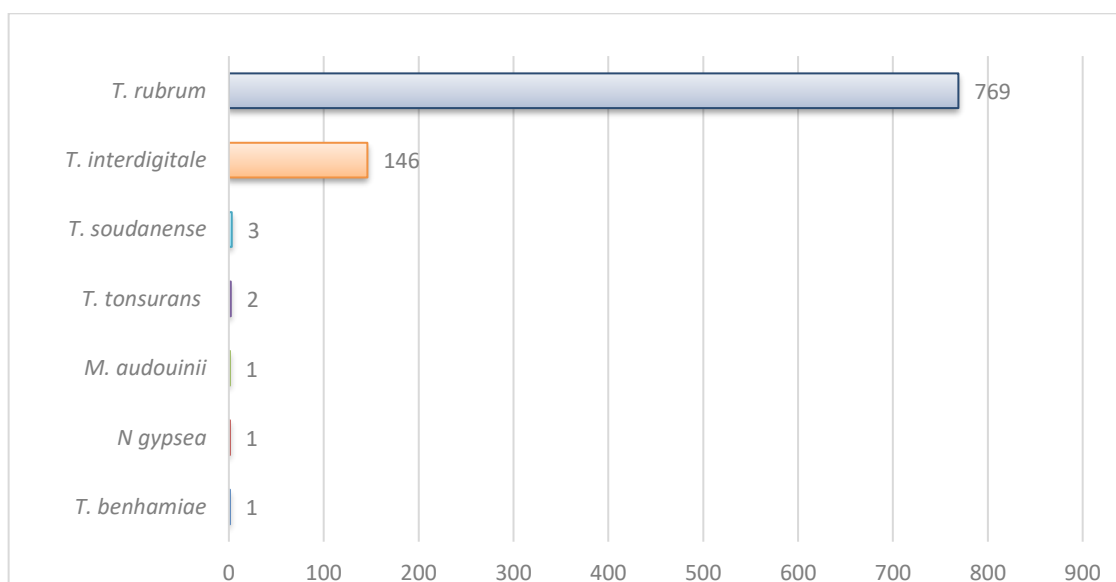


Figure 14: Répartition des espèces de dermatophytes responsables d'onychomycoses en 2023.

○ Antifongigrammes 2022-2023

Ci-dessous, la **table 1** résume les concentrations minimales inhibitrices (CMI) observées à la fois pour la terbinafine mais également pour l'itraconazole et le voriconazole, testés simultanément sur la plaque durant les années 2022 et 2023. Les antifongigrammes sont réalisés sur demande du laboratoire, en cas de suspicion de résistance et systématiquement si l'isolat est identifié comme *T. indotineae*. Sur les 24 souches de *T. indotineae* identifiées en 2022-2023, 22 ont pu être caractérisées par antifongigramme (2 isolats de la KU Leuven non testés par ATF à Liège). On remarque que les souches de *T. indotineae* présentent des CMI élevées pour la terbinafine (Ecoff fixé à 0,125µg/ml, EUCAST). En effet

16/22 (72,2%) souches présentent des CMI supérieures à l'Ecoff défini par l'EUCAST. 2/22 (9,09%) souches présentent également des CMI élevées pour l'itraconazole.

	Terbinafine (µg/ml)	Itraconazole (µg/ml)	Voriconazole (µg/ml)
1	2.0	1.0	1.0
2	0.5	< 0.008	0.06
3	2.0	0.016	0.25
4	8.0	0.016	0.5
5	0.016	0.016	0.125
6	8.0	0.06	0.25
7	4.0	4.0	1.0
8	4.0	0.06	0.5
9	8.0	0.5	1.0
10	4.0	0.008	0.25
11	4.0	0.008	0.06
12	4.0	0.125	1.0
13	<= 0.008	0.016	0.25
14	<= 0.008	0.125	1.0
15	0.03	0.06	0.5
16	8.0	0.008	0.06
17	1.0	0.125	0.25
18	2	0,06	0,5
19	4	0,03	0,25
20	2	0,03	0,5
21	0.008	0.03	0.125
22	0.016	0.06	0.25

Table1 : Concentrations minimales inhibitrices(µg/ml) de 22 souches de *T. indotineae* identifiées en 2022-2023 pour la terbinafine, l'itraconazole, le voriconazole. En rouge, les valeurs au-dessus de l'Ecoff défini par l'EUCAST. Les antifongigrammes réalisés dans le cadre de l'étude nationale sur la résistance à la terbinafine, ne sont pas inclus dans le présent rapport car ceux-ci feront l'objet d'un rapport séparé.

6. Evolution 2012-2023

En 2012, un total de 2733 prélèvements de phanères avait été traité par les CNR. En 2013, ce nombre était de 3185, il était de 3264 en 2014, de 2563 en 2015, 2526 en 2016, 2450 en 2017, 2254 en 2018, 2027 en 2019, de 1495 en 2020, de 1941 en 2021, de 1677 en 2022 et 1565 en 2023. Parmi ces échantillons, 775 ont été identifiés comme étant des dermatophytes en 2012 contre 1529 en 2013, 1283 en 2014, 1262 en 2015, 1399 en 2016, 1350 en 2017, 1497 en 2018, 1196 en 2019, 1024 en 2020, 1412 en 2021, 1081 en 2022 et 1006 en 2023. Comme le montre la **figure 15**, l'année 2013 a vu une recrudescence des dermatophytes isolés puisqu'ils représentent 48% des prélèvements en 2013 contre 28,4% en 2012 et 39,37% en 2014. En 2015, la proportion de dermatophytes isolés avait encore augmenté puisqu'ils représentaient 49,26% des échantillons. Cette croissance se confirme en 2016 et 2017 puisque 55% des prélèvements concernaient des dermatophytes. En 2018 et 2019, la tendance se poursuit car 66,6% des prélèvements sont des dermatophytes en 2018 et 59,2% en 2019. En 2020 et 2021 le pourcentage de dermatophytes isolés s'élevait respectivement à 68,9% et 72,9%, taux toujours en hausse donc. En 2022 et 2023, le taux de dermatophytes isolés se stabilise à 64,5%. Le taux de levures isolées était en baisse ces dernières années mais semble se stabiliser. En 2022 et 2023 elles sont retrouvés à raison de 7,46% et 10,7%. Ce taux était de 8,23% en 2020 et 4,73% en 2021. En 2018 et 2019, elles comptaient respectivement pour 7,9% et 12,1% des souches isolées, en 2017 elles représentaient 11,5% des prélèvements contre 15,5% en 2016 et 18% en 2015. Ce nombre était de 15,6% en 2014, 15,06% en 2013 et 10,6% en 2012. L'augmentation de la détection des dermatophytes peut s'expliquer partiellement par l'utilisation depuis novembre 2016, de la PCR DermaGenius lorsque l'examen direct est positif sur un ongle et que la culture est négative ou contaminée.

En ce qui concerne les dermatophytes *T. rubrum* reste le pathogène prédominant. Le taux de *T. rubrum* isolé augmentait régulièrement depuis 2012. En 2022 et 2023, *T. rubrum* représentait 69,9% et 71,94% des prélèvements. En 2020 et 2021 *T. rubrum* était présent dans respectivement 74,12% et 75,4% des prélèvements. On observe donc une légère baisse de ce dermatophyte. Par contre une diminution progressive du complexe *T. mentagrophytes* était observée depuis 2012. Ce

complexe comprenait *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* et *T. benhamiae* jusqu'il y a quelques années. En 2012, 2013 et 2014, ils représentaient respectivement 31,1%, 19,6%, et 18,86% des prélèvements. En 2016, ce complexe a été scindé selon la nouvelle classification de De Hoog et al, 2016(6) en *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* et *T. benhamiae* et sont systématiquement décrites séparément dans nos rapports depuis 2018. En 2020, *T. interdigitale* représentait 11,8% des prélèvements, *T. mentagrophytes* 1,56% et *T. benhamiae* 1,17% des prélèvements (14,53% des prélèvements si on les regroupe). En 2021, *T. interdigitale* a été isolé de 12,74% des prélèvements alors que *T. mentagrophytes* et *T. benhamiae* représentaient respectivement 0,85% et 0,99% des prélèvements (14,58% des prélèvements si on les regroupe). En 2022, *T. interdigitale* représentait 16,5% des prélèvements, *T. mentagrophytes* était en hausse avec 5,58% des prélèvements. *T. benhamiae* et *T. indotineae* représentaient respectivement 1,29% et 0,38% des prélèvements. En 2023, *T. interdigitale* représentait 13,35% des prélèvements, *T. mentagrophytes* 1,77% des prélèvements. *T. benhamiae* et *T. indotineae* représentaient respectivement 1,23% et 1,5% des prélèvements. On peut observer qu'en général ce complexe est stable, la légère augmentation observée en 2022-2023 peut être attribué à l'étude nationale focalisée sur les espèces *T. interdigitale/mentagrophytes/indotineae*. On note cependant tout de même une augmentation de ***T. indotineae* en 2023** indépendamment de l'étude qui s'est terminée en mars 2023.

Le nombre de ***M. audouinii*** isolés en 2013 avait augmenté à la suite de l'étude épidémiologique sur les teignes à *M. audouinii* et *T. violaceum* lancée début 2013, concernant les teignes anthropophiles à *M. audouinii*, elles représentaient 11,9% des cas en 2013. Ce nombre était revu à la baisse en 2014 puisqu'ils représentaient seulement 3,35% des prélèvements. En 2018, l'étude nationale sur les teignes du cuir chevelu a induit une augmentation des notifications de teignes à *M. audouinii* qui représentaient 11,1% des prélèvements reçus au CNR. En 2020 et 2021 cette espèce représentait respectivement 2,15% et 2,54% des prélèvements reçus, une tendance à la baisse donc pour cette espèce anthropophile qui se poursuit en 2022 et 2023 ou l'espèce représente respectivement 1,59% et 1,85% des prélèvements. Les infections à *M. canis* suivaient un accroissement lent mais constant entre 2012 et 2014 (1,16% en, 2012, 3,07% en 2013, 4,96% en 2014). En 2020 et 2021 cette

espèce représentait respectivement 2,25% et 2,47% des prélèvements, une tendance légèrement à la baisse pour cette espèce zoophile qui se stabilise en 2022-2023 avec respectivement 2,58% et 2,24% des prélèvements positifs pour *M. canis*. Considérant *T. tonsurans* le taux d'isolement de cette espèce était de 1,93% des prélèvements en 2016. En 2018 ce taux était de 5.7% (étude teigne en cause). En 2020 et 2021 il était de respectivement 3,03% et 2,05%, une tendance plutôt stationnaire. En 2022 le taux de prélèvements positifs pour *T. tonsurans* était de 2,35% et de 4% en 2023. Une légère hausse de cette espèce est donc observée en 2023.

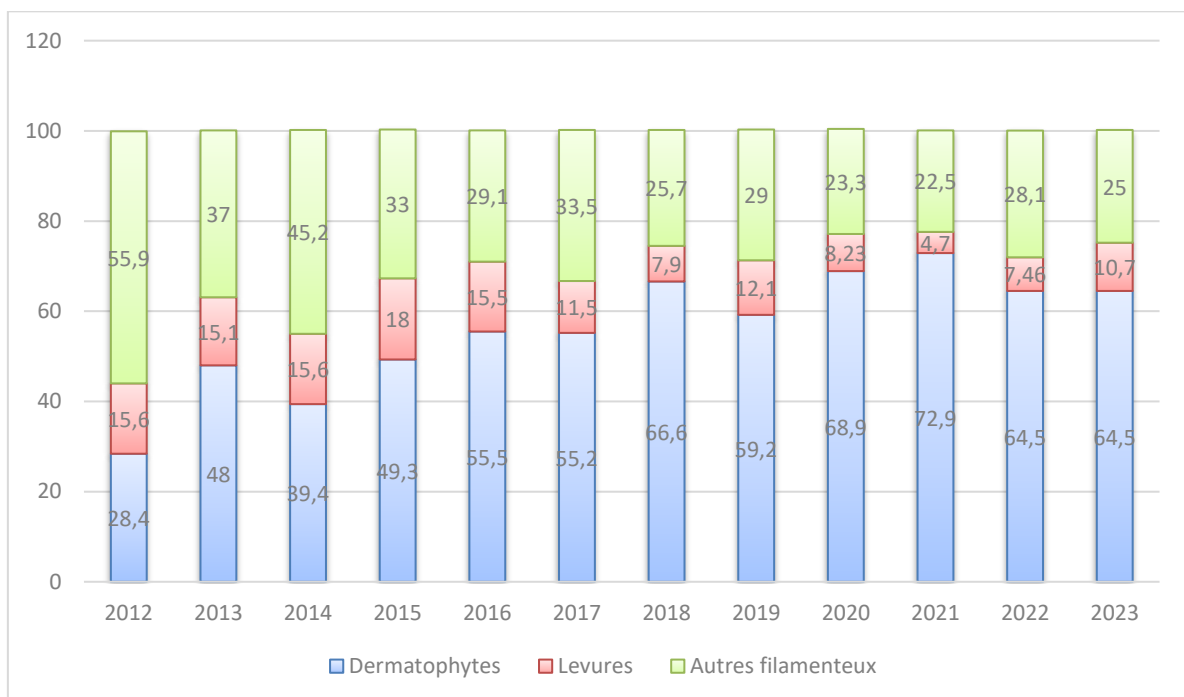


Figure 15: Répartition des différents groupes d'isolats identifiés entre 2012 et 2023.

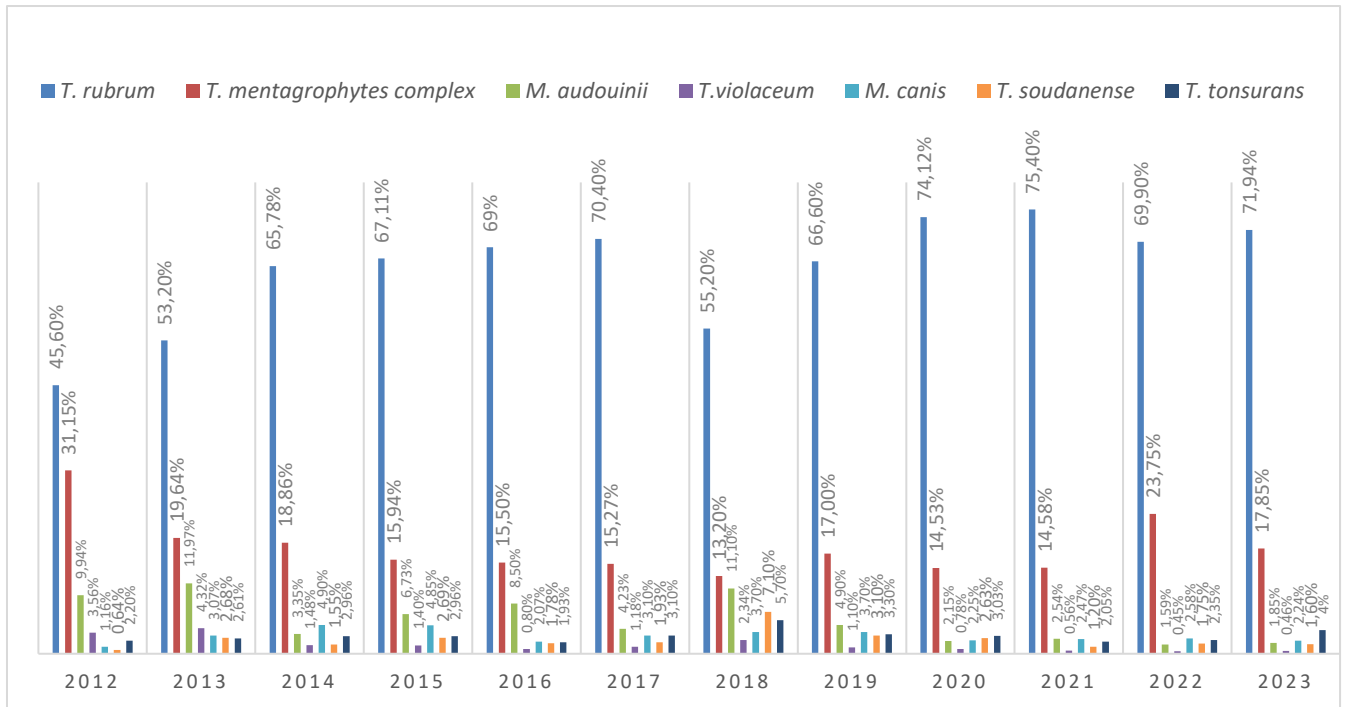


Figure 16 : Répartition des espèces de dermatophytes majoritairement isolées entre 2012 et 2023 par les CNR Mycoses. A noter le regroupement pour comparaison aux années antérieures des espèces *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* et *T. benhamiae* en *T. mentagrophytes complex*.

Espèce	2012(%)	2013(%)	2014(%)	2015(%)	2016(%)	2017(%)	2018(%)	2019(%)	2020(%)	2021(%)	2022(%)	2023(%)
<i>T.rubrum</i>	45,60	53,20	65,78	67,11	69	70,40	55,20	66,60	74,12	75,40	69,90	71,94
<i>T. mentagrophytes complex</i>	31,15	19,64	18,86	15,94	15,50	15,27	13,20	17,00	14,53	14,58	23,75	17,85
<i>M.audouinii</i>	9,94	11,97	3,35	6,73	8,50	4,23	11,10	4,90	2,15	2,54	1,59	1,85
<i>T.violaceum</i>	3,56	4,32	1,48	1,40	0,80	1,18	2,34	1,10	0,78	0,56	0,45	0,46
<i>M. canis</i>	1,16	3,07	4,90	4,85	2,07	3,10	3,70	3,70	2,25	2,47	2,5	2,24
<i>T. soudanense</i>	0,64	2,68	1,55	2,69	1,78	1,93	7,10	3,10	2,63	1,20	1,75	1,60
<i>T.tonsurans</i>	2,20	2,61	2,96	2,96	1,93	3,10	5,70	3,30	3,03	2,05	2,35	4
<i>N. praecox</i>	4,90	1,31	0,07	0,08	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E.floccosum</i>	0,90	0,39	0,07	0,23	0,14	0,07	0,13	0	0,09	0	0,08	0
<i>T. schoenleinii</i>	0	0,33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>N. gypsea</i>	0	0,13	0,21	0	0,07	0	0,07	0	0	0,14	0,38	0,15
<i>N. persicolor</i>	0,07	0,06	0,21	0	0	0,07	0,20	0,16	0	0,07	0	0
<i>T. terrestre complex</i>	0	0,06	0	0	0,07	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. verrucosum</i>	0	0,06	0,14	0,23	0,1	0,07	0,26	0,16	0	0	0,38	0
<i>M. ferrugineum</i>	0	0	0,14	0	0	0,07	0,26	0	0	0	0	0
<i>M. racemosum</i>	0	0	0	0,08	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. megnini</i>	0	0	0	0,08	0,14	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. erinacei</i>	0	0	0	0	0	0,07	0	0	0	0	0,08	0
<i>N.fulva</i>	0	0	0	0	0	0	0	0,08	0	0	0	0,08
<i>T. quinckeanum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,09	0,14	0,08	0,08
<i>T. indotineae</i>	0	0	0	0	0	0	0,06	0,09	0,09	0,21	0,38	1,50
<i>N. incurvata</i>	0	0	0	0	0	0	0,07	0	0	0,07	0	0

Table 2 : Comparaison des pourcentages des différentes espèces de dermatophytes observées entre 2012 et 2023 par les CNR. A noter le regroupement pour comparaison aux années antérieures des espèces *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* et *T. benhamiae* en *T. mentagrophytes complex*.

En ce qui concerne les prélèvements de cheveux, la proportion de *M. audouinii* isolés diminue puisque cette espèce représentait 45% des cas de teignes en 2017, elle représentait respectivement 38,16% et 30,3% des prélèvements issus de cheveux en 2018 et 2019, mais restait tout de même l'agent n°1 des teignes du cuir chevelu en Belgique. Ce n'était plus le cas en 2020 où *M. audouinii* représentait seulement 21,45% des cas de teignes du cuir chevelu et était supplanté par *T. soudanense* qui représentait quant à lui 27,17% des cas de teignes. Cependant en 2021, *M. audouinii* reprenait sa place de leader concernant les teignes du cuir chevelu et représentait 28,16% des cas. Le taux de *T. soudanense* diminuait un peu en 2021 par rapport à 2020(23,47% des cas) et se replaçait à des niveaux similaires à ceux observés en 2018 et 2019. En 2022, *T. soudanense* est à nouveau l'agent majeur responsable de teignes du cuir chevelu représentant 30,3% des cas, il est toutefois suivi par *M. audouinii* avec 26,4% des cas. En 2023, on observe une croissance importante des teignes à *T. tonsurans* puisque cette espèce est l'espèce majoritaire pour les cas de tinea capitis avec 28,4% des cas. Elle est suivie par *M. audouinii*

avec 26% des cas et *T. soudanense* avec 18,34% des cas. Le taux de *M. canis* impliqués dans les cas de teignes est en décroissance ces dernières années même si on notait une petite hausse en 2020 (23,25% des cas) probablement due au confinement et à la diminution des espèces comme *M. audouinii* fréquemment importés de zones endémiques d’Afrique de l’Ouest. En 2021, 14,3% des cas étaient imputables à *M. canis*, ce taux était de 18,86% et 13,3% en 2022 et 2023. Le taux de *T. violaceum* est relativement bas ces dernières années (5,7% en 2020, 7,8% en 2021, 3,77% en 2022 et 8,3% en 2023)

(Voir **figure 17**).

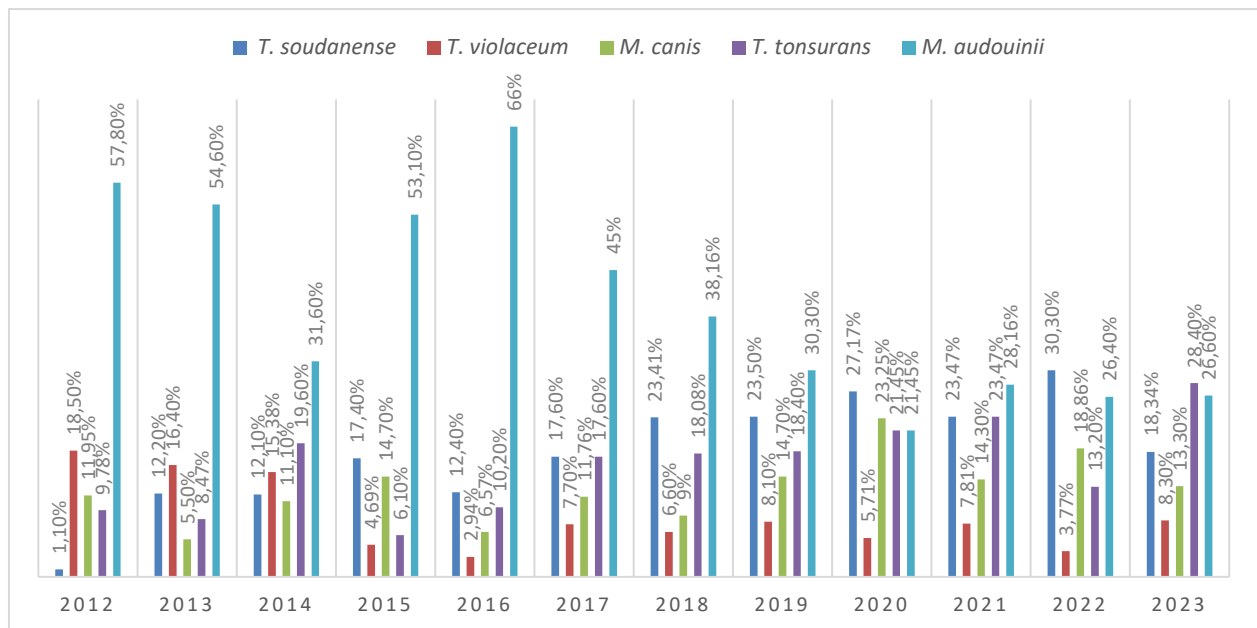


Figure 17 : Répartition des dermatophytes isolés de prélèvements de cheveux/cuir chevelu de 2012 à 2023 par les deux CNRs.

En ce qui concerne les prélèvements d’ongles, le taux d’infections à *T. rubrum* sont comparables aux taux enregistrés précédemment. Ce taux était de 82,6% en 2018 et 88,4% en 2019, de 84,74% en 2020 et 2021. En 2022 et 2023, *T. rubrum* représente 83,3% des cas au sein des onychomycoses. Pour *T. interdigitale*, le taux était de 17,1% en 2018 et 11,9% en 2019, de 15,03% en 2020 et 15,2% en 2021. En 2022, 15,4% des prélèvements étaient des *T. interdigitale*, ce taux est de 15,2% en 2023. Le taux est donc stable pour cette espèce au sein des prélèvements d’ongles (Voir **Figure 18**).

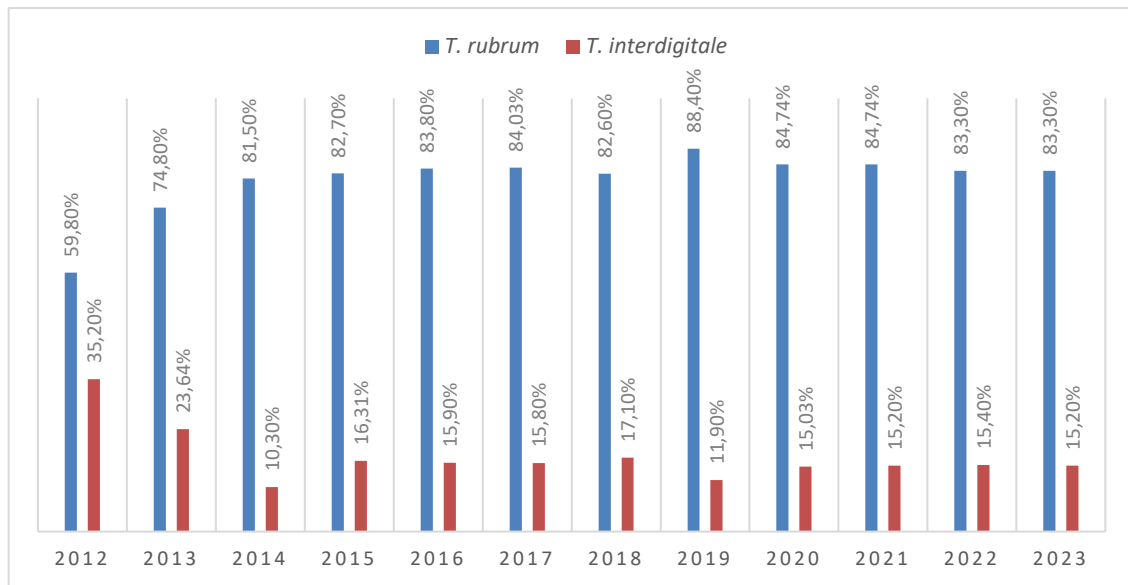


Figure 18 : Répartition des principaux dermatophytes isolés de prélèvements d'ongles de 2012 à 2023.

Pour les prélèvements de peau en 2022 et 2023, *T. rubrum* représente respectivement 43,47% et 51,02% des cas. Ce taux est stable ces dernières années. Le complexe *T. mentagrophytes* est quant à lui en augmentation en 2022 et 2023 par rapport aux dernières années, l'étude nationale sur les résistances à la terbinafine se focalisait sur *T. interdigitale/mentagrophytes/indotineae* et peut clairement expliquer l'augmentation observée au sein de ce complexe. En 2020 et 2021, l'espèce *T. mentagrophytes* avait été isolée à raison de respectivement 7,44% et 4,42% des prélèvements. Ce taux est de 9,44% et 6,38% en 2022 et 2023. Cette espèce représentait 6.1% des prélèvements en 2018 et 10.36% en 2019 contre 2.5% en 2017. En 2022 et 2023, *T. benhamiae* a été isolé de respectivement 4,42% et 4,87% des cas. En 2020 et 2021, l'espèce *T. benhamiae* avait été isolée à raison de respectivement 5,12% et 4,42% des cas. Cette espèce a été isolée dans 8.2% des cas en 2018 et 8.3% en 2019 contre 5.1% en 2017, elle reste donc stable. Concernant *T. interdigitale* pour les prélèvements de peau, cette espèce représente 22,12% des cas en 2022 et 8,62% des cas en 2023. Un taux de 4,5% avait été observé en 2020 et 5,6% en 2021, alors qu'il était présent dans 3,2% des cas en 2018 et 4,65% des cas en 2019. En 2023, on observe une augmentation du taux d'infections de peaux causée par *T. tonsurans*, ce taux est de 10,5% en 2023 alors qu'il était de 5,33% en 2022. Pour *M. canis* le taux d'infection par cet agent dans les prélèvements de peaux

était en augmentation en 2021 par rapport à 2020 puisque cette espèce représentait 3,25% des cas en 2020 et 10,11% des cas en 2021. Cette espèce représentait 5.7% des cas en 2018 et 7.1% en 2019. En 2022 et 2023, cette espèce représente 6,49% des cas et 6,7% des cas et est donc en diminution par rapport à 2021. On observe une décroissance pour *M. audouinii* en 2022 et 2023 par rapport à 2021. (Voir **Figure 19** pour la répartition).

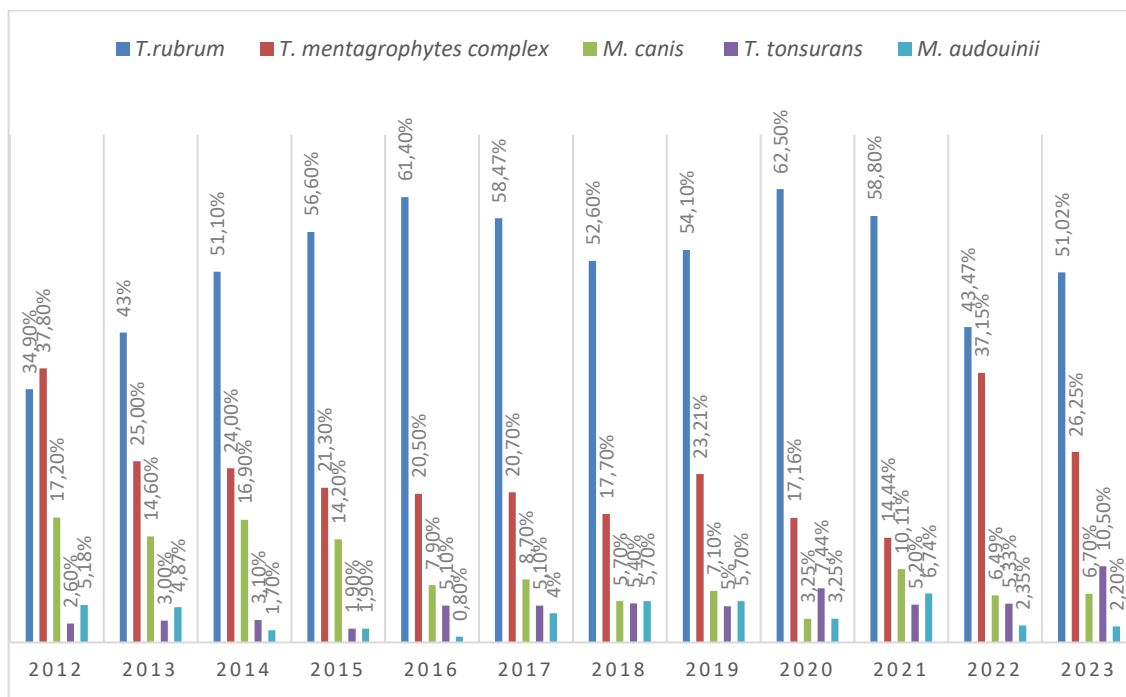


Figure 19 : Répartition des dermatophytes isolés de prélèvements de peau de 2012 à 2023.

7. Enquêtes épidémiologiques

En 2022 et 2023, le CNR mycose de Liège a lancé une étude sur la résistance à la terbinafine au sein des espèces *T. interdigitale/mentagrophytes/indotineae*. En effet, ces dernières années, une espèce de dermatophyte apparentée à *T. interdigitale/mentagrophytes* a induit une épidémie de *tinea corporis* notamment en Inde et dans les environs(8,9). Cette espèce renommée *T. indotineae* présente la caractéristique d'être particulièrement résistante à la terbinafine, qui est le traitement de première intention en cas de *tinea corporis*. Dans un but de veille sanitaire, le Centre National de Référence des Mycoses de Liège a donc jugé pertinent d'investiguer le sujet des dermatophytes résistants à la terbinafine en Belgique en menant une étude au niveau national. La participation de tous les

laboratoires belges a été sollicitée via une lettre d'information envoyée par Sciensano, demandant l'envoi de toute culture positive pour *T. interdigitale/mentagrophytes/indotineae* au sein de prélèvements de peaux. Un total de 175 prélèvements a été reçu au CNR à cette fin. Certains prélèvements ont été exclus de l'étude car ne répondaient pas aux critères d'inclusion. L'objectif principal de cette étude était d'établir la prévalence et la distribution de l'espèce *T. indotineae* en Belgique entre mars 2022 et mars 2023. Le second volet de cette étude concernait quant à lui le typage moléculaire des souches récoltées par séquençage à haut débit (WGS). Toutes les souches reçues identifiées comme *T. interdigitale/mentagrophytes/interdigitale* ont été caractérisées par la méthode de screening Dermacheck, par antifongogrammes EUCAST E.Def 11.0, ainsi que par « whole genome sequencing » avec un focus sur le gène codant pour la squalène epoxydase (SQLE) et la génération d'un dendrogramme pour l'identification. En effet, la résistance à la terbinafine est principalement causé par des substitutions au niveau de la SQLE (10–12). Les résultats de cette étude seront bientôt publiés.

8. Travaux de recherche, collaborations, publications et communications

En 2022 et 2023, les activités du CNR se sont focalisées sur l'étude nationale terbinafine. D'autres projets ont également été menés en parallèle.

En 2022-2023, une validation complète de la méthode EUCAST E.DEF.11.0 a été réalisée selon les guidelines de l'ASM dans l'objectif d'une accréditation du test au laboratoire selon la norme ISO15189.

Toujours en 2023, une comparaison de quatre méthodes permettant la détection de souches résistantes à la terbinafine a été réalisée par le CNR. Actuellement, les tests de sensibilité aux antifongiques pour les dermatophytes ne sont pas systématiquement réalisés dans les laboratoires cliniques. Compte tenu de la situation actuelle en Inde concernant la résistance à la terbinafine, l'extension de *T. indotineae* en Europe et des préoccupations de santé publique associées, il est en effet urgent de détecter de manière précise et rapide la résistance à la terbinafine au laboratoire. Par conséquent, le CNR a évalué différentes méthodes actuellement disponibles pour la détection de la résistance à la terbinafine chez les dermatophytes. Vingt-huit souches, précédemment identifiées comme *T. indotineae/mentagrophytes/interdigitale*, ont été caractérisées en parallèle en utilisant des bandelettes de gradient de terbinafine (HiMedia), la microdilution EUCAST E.Def 11.0, un test PCR DermaGenius® resistance(PathoNostics) et un séquençage de SQLE (par la méthode Sanger). Ces quatre méthodes ont été comparées à la caractérisation de la résistance à la terbinafine obtenue par séquençage complet du génome (WGS). Le résultat de cette évaluation a été présenté lors d'une présentation orale à l'ECCMID 2024 à Barcelone(13) et est en cours d'écriture pour soumission dans une revue scientifique.

En 2023, le séquençage de la région ITS complète, associé à la génération d'un arbre phylogénétique a été mis à profit pour identifier les *Trichophyton mentagrophytes* de type VII, nouvelle sous espèce émergente, responsable de dermatophytoses sexuellement transmissible essentiellement au sein de la population homosexuelle masculine (14,15). En 2022 et 2023, 9 souches ont été

identifiées rétrospectivement comme des *T. mentagrophytes* de type VII parmi les *T. mentagrophytes* de notre collection. Une collaboration Franco-Belge future avec l'équipe d'Arnaud Jabet (Sorbonne, Paris) pour la surveillance de ces cas, est prévue durant l'année 2025.

En 2022-2023, le CNR a collaboré avec l'équipe du Pr. De Hoog (Pays-Bas) pour clarifier la relation évolutive entre les trois espèces de la série *Microsporium* (*M. canis*, *M. audouinii* et *M. ferrugineum*) et explorer leur processus potentiel de changement d'hôte. Cette étude a utilisé des analyses phylogénétiques, une analyse de la structure des populations, des analyses de coalescence multi-espèces, la détermination de la distribution des idiomorphes MAT, des croisements sexuels, ainsi que des caractéristiques macromorphologiques et physico-chimiques. Les résultats ont été publiés dans IMA fungus(16) .

9. Conclusions

Les activités du CNR Mycoses ont permis de mettre en évidence que *T. rubrum*, reste dans nos régions le premier agent responsable de mycoses superficielles, tous prélèvements confondus, cet agent étant le plus souvent associé aux onychomycoses. Les espèces *T. mentagrophytes/interdigitale/benhamiae* sont également fréquemment responsables de mycoses superficielles de la peau et de l'ongle (principalement *T. interdigitale* pour l'ongle et *T. mentagrophytes/benhamiae* pour les infections de peau). Concernant les infections du cuir chevelu, *M. audouinii* n'est plus le premier agent responsable de ce type d'infection car supplanté par *T. soudanense* en 2022 et par *T. tonsurans* en 2023. Cette tendance est à surveiller durant les prochaines années afin d'informer la communauté sur un changement éventuel de l'épidémiologie des teignes du cuir chevelu en Belgique. Les années 2022 et 2023 ont permis de confirmer la circulation de souches de *T. indotineae* résistantes à la terbinafine en Belgique. La résistance à la terbinafine chez *T. rubrum* et *T. indotineae* est à contrôler au sein des souches belges étant donné l'émergence de ce type de résistances un peu partout dans le monde, ce phénomène pouvant mener à des échecs thérapeutiques importants et une présentation clinique délicate pour le patient. Des souches de *T. mentagrophytes* de type VII ont également été identifiées rétrospectivement en 2022 et 2023 parmi les

souches récoltées par le CNR notamment dans le cadre de l'étude nationale. L'émergence de cette espèce sera surveillée durant les prochaines années surtout au sein de la population homosexuelle.

10. Références

1. Pagano L, Lumb J. Update on invasive fungal disease. In: Future Microbiology. 2011.
2. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. Mycoses. 2008.
3. Thomas J, Jacobson GA, Narkowicz CK, Peterson GM, Burnet H, Sharpe C. Toenail onychomycosis: An important global disease burden. Vol. 35, Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics. 2010.
4. Rodríguez-Cerdeira C, Martínez-Herrera E, Szepietowski JC, Pinto-Almazán R, Frías-De-León MG, Espinosa-Hernández VM, et al. A systematic review of worldwide data on tinea capitis: analysis of the last 20 years. Vol. 35, Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2021.
5. Müller VL, Kappa-Markovi K, Hyun J, Georgas D, Silberfarb G, Paasch U, et al. Tinea capitis et barbae caused by *Trichophyton tonsurans*: A retrospective cohort study of an infection chain after shavings in barber shops. Mycoses. 2021;64(4).
6. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, et al. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. Mycopathologia. 2017 Feb 1;182(1-2):5-31.
7. Kano R, Kimura U, Kakurai M, Hiruma J, Kamata H, Suga Y, et al. *Trichophyton indotineae* sp. nov.: A New Highly Terbinafine-Resistant Anthropophilic Dermatophyte Species. Mycopathologia. 2020;
8. Ebert A, Monod M, Salamin K, Burmester A, Uhrlaß S, Wiegand C, et al. Alarming India-wide phenomenon of antifungal resistance in dermatophytes: A multicentre study. Mycoses. 2020;

9. Verma SB, Panda S, Nenoff P, Singal A, Rudramurthy SM, Uhrlas S, et al. The unprecedented epidemic-like scenario of dermatophytosis in India: II. Diagnostic methods and taxonomical aspects. Vol. 87, Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology. 2021.
10. Khurana A, Masih A, Chowdhary A, Sardana K, Borker S, Gupta A, et al. Correlation of invitro susceptibility based on MICs and SQLE mutations with clinical response to terbinafine in patients with tinea corporis/cruris. bioRxiv. 2018;
11. Hsieh A, Quenan S, Riat A, Toutous-Trellu L, Fontao L. A new mutation in the SQLE gene of Trichophyton mentagrophytes associated to terbinafine resistance in a couple with disseminated tinea corporis. J Mycol Med. 2019;
12. Sacheli R, Harag S, Dehavay F, Evrard S, Rousseaux D, Adjetey A, et al. Belgian national survey on tinea capitis: Epidemiological considerations and highlight of terbinafine-resistant T. mentagrophytes with a mutation on SQLE gene. Journal of Fungi. 2020;
13. Sacheli R. et al. Evaluation of four different laboratory methods to detect terbinafine resistant dermatophytes including a newly commercialized terbinafine gradient strip, EUCAST microdilution E.Def 11.0, a commercial PCR detecting terbinafine resistant strains and squalene epoxidase sequencing . 34th ECCMID, Barcelona, Spain . 2024.
14. Jabet A, Dellière S, Seang S, Chermak A, Schneider L, Chiarabini T, et al. Sexually Transmitted Trichophyton mentagrophytes Genotype VII Infection among Men Who Have Sex with Men. Emerg Infect Dis. 2023;29(7).
15. Jabet A, Dellière S, Seang S, Barete S, Nouchi A, Brin C, et al. Une série de 21 cas d'infections causées par Trichophyton mentagrophytes génotype VII diagnostiquées chez des hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes. Annales de Dermatologie et de Vénérologie - FMC. 2023;3(8).
16. Zhou X, Ahmed SA, Tang C, Grisolia ME, Warth JFG, Webster K, et al. Human adaptation and diversification in the Microsporum canis complex. IMA Fungus. 2023;14(1).