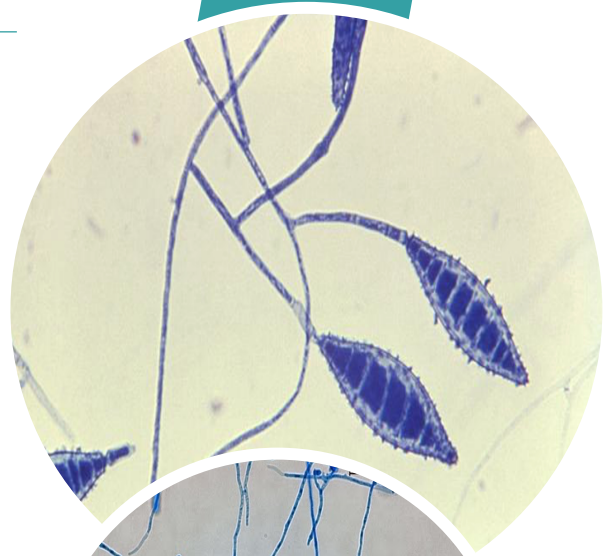


Centre National de Référence mycoses

Rapport d'activité 2020 - 2021



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 2020-2021
 - Activités du CNR/Liège
 - Démarche qualité
 - Accréditation Belac ISO15189
 - Contrôles de qualité externe supranationaux
 - Collection
4. Bilan de 2020 pour les champignons isolés par le CNR
 - Bilan Global
 - Bilan selon l'origine du prélèvement de phanères
 - Cheveux
 - Peau
 - Ongles
5. Bilan de 2021 pour les champignons isolés par le CNR
 - Bilan global
 - Bilan selon l'origine du prélèvement de phanères
 - Cheveux
 - Peau
 - Ongles
6. Comparaison années 2012-2021
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 culturels, 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 et particulièrement les onychomycoses ont une prévalence élevée dans la population générale comme l'atteste une étude portant sur 16 pays européens qui montre une prévalence de 59% (2). 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 (3).

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, rendu 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)
- 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 2020-2021

- **Activités du CNR/Liège**

Au cours de l'année 2020 et 2021, 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. 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 2020 et 2021, une attention particulière a été accordée à l'utilisation du « whole genome sequencing » (WGS) pour le classement phylogénétique et le typage des dermatophytes.

Parmi les outils moléculaires d'identification, 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. En 2021, le CNR a notamment démontré la supériorité du séquençage de Ef1-alpha pour distinguer entre *T. interdigitale*/*T. mentagrophytes* et *T. indotineae* par rapport à la région ITS habituellement utilisée.

- **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. Une non-conformité B a été enregistrée lors de l'audit 2021, sans conséquence majeure sur les activités du CNR. Cette non-conformité a été rapidement résolue.

- 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 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 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 2020 pour les champignons isolés de phanères par les deux CNRs Mycoses

- **Bilan global**

En 2020, un total de 1495 isolats fongiques issus de phanères (ongle/peau/cheveu) ont été traités aux deux CNR « Mycoses » (regroupement des cas isolés à la KU Leuven et au CHU de Liège). Parmi les échantillons, 1024 (68,9%) ont été identifiés comme étant des dermatophytes (y compris ceux détectés uniquement par biologie moléculaire, n=130). Parmi eux, 978 (96,1 %) isolats ont été identifiés comme faisant partie du genre *Trichophyton*, 45 (4,41 %) comme faisant partie du genre *Microsporum* et 1 comme faisant partie du genre *Epidermophyton* (0,09%). Un total de 123 isolats de levures a également été répertorié (considérant uniquement les phanères), soit 8,23% de tous les prélèvements. Le reste des isolats (348 souches, 23,3% 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 (4). 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 2012-2021, **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 récemment été renommée *T. indotineae* (5). 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) est *T. rubrum* (759 isolats, 74,12% des dermatophytes), suivi de *T. interdigitale* (121 isolats, 11,8%), *T. tonsurans* (31 isolats, 3,03%), *T. soudanense* (27 isolats, 2,63%), *M. canis* (23 isolats, 2,25%), *M. audouinii* (22 isolats, 2,15%), *T. mentagrophytes* (16 isolats, 1,56%), *T. benhamiae* (12 isolats, 1,17%), *T. violaceum* (8 isolats, 0,78%), *T. verrucosum* (2 isolats, 0,19%), *E. floccosum* (1 isolat, 0,09%), *T. indotineae* (1 isolat, 0,09%) et *T. quinckeanum* (1 isolat, 0,09%). La **figure 2** représente la répartition des cas de dermatophytoses en 2020. Parmi les autres isolats envoyés au CNR, on retrouve des levures réparties en 12 espèces de *Candida* sp. (91 isolats, 74,1% des levures isolées), *Rhodotorula* sp. (18 isolats, 14,6% des levures isolées), *Trichosporon* sp. (11 isolats, 8,94%), *Geotrichum* sp. (2 isolats, 1,6% des levures isolées) et *Saccharomyces* sp. (1 isolats, 0,81% 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 fréquentes, des *Aspergillus* sp. (73 isolats, 4,9%), *Penicillium* sp. (60 isolats, 4% de tous les prélèvements), *Fusarium* sp. (28 isolats, 1,87%), *Alternaria* sp. (24 isolats, 1,6%), *Scopulariopsis* sp. (17 isolats, 1,14%), *Cladosporium* sp. (11 isolats, 0,74%) *Acremonium* sp. (8 isolats, 0,53%).

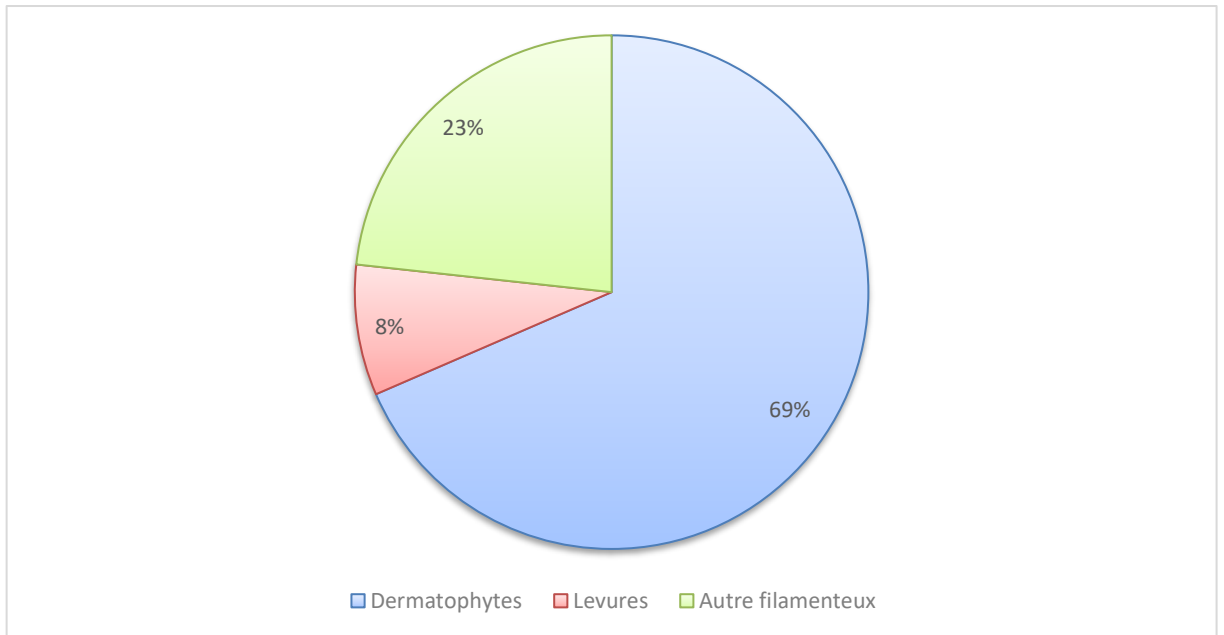


Figure 1 : Répartition des prélèvements reçus en 2020 par les deux CNRs Mycoses.

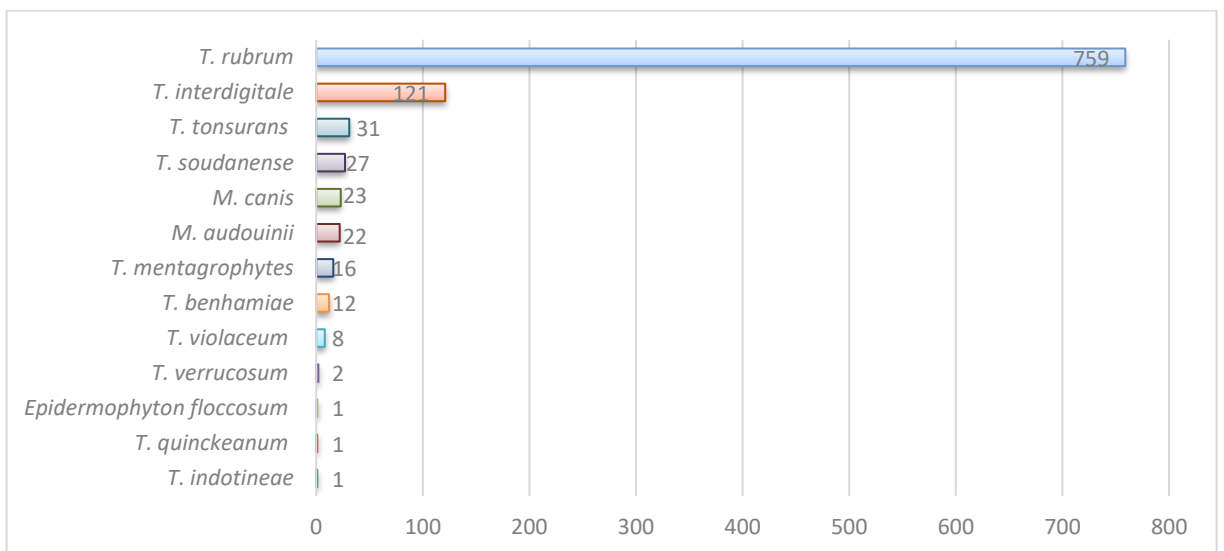


Figure 2 : Répartition des 1024 dermatophytes isolés en 2020 par les 2 CNRs.

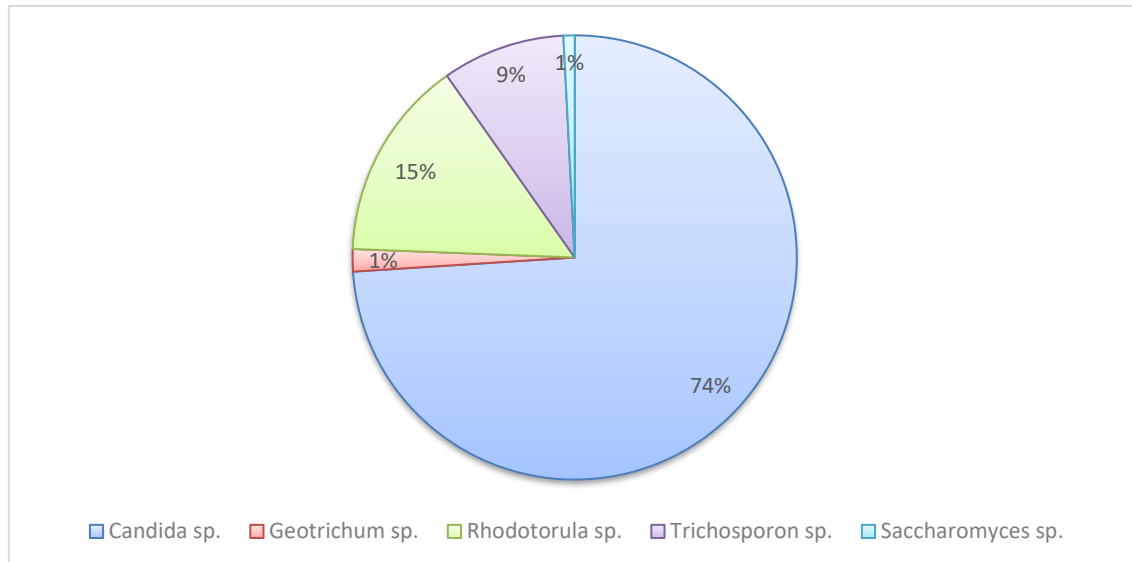


Figure 3 : Représentation graphique de la répartition des espèces de levures isolées de prélèvements de phanères reçus par les deux CNRs en 2020.

○ **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), 1089 (69,4%), provenaient d'ongles, 332 (21,09%) provenaient de squames ou biopsies de peau, 74 (4,69%) provenaient de cheveux (inclus cuir chevelu) et 80 (5,08%) provenaient d'autres sources (œil, oreille, sang, vagin, urine, expectoration) (Voir **figure 4**). Pour rappel, les prélèvements autres que phanères n'ont pas été considérés dans le reste de ce rapport.

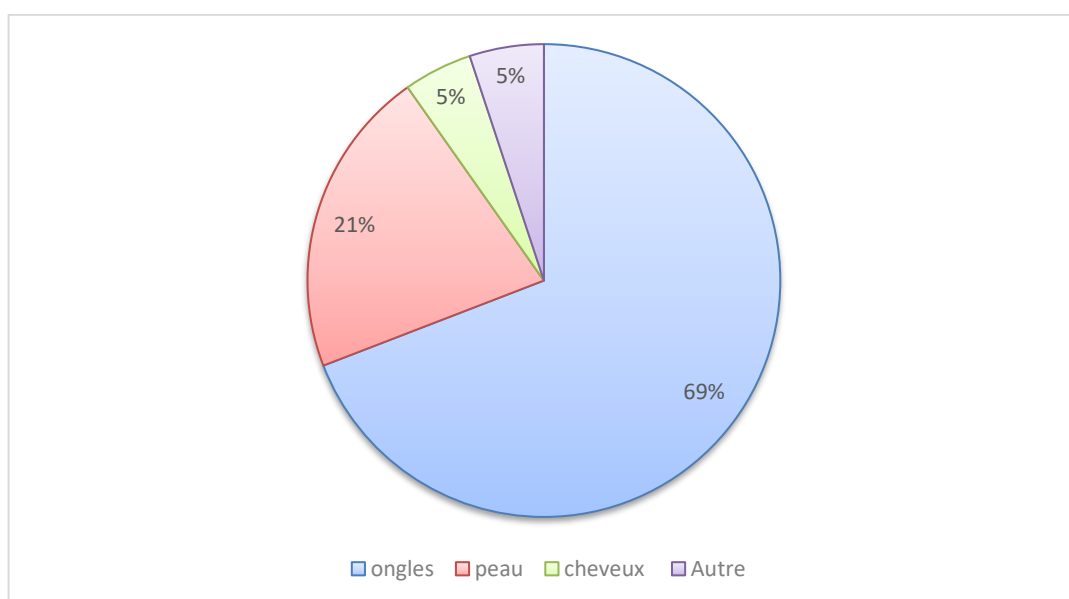


Figure 4: Répartition de l'origine des prélèvements envoyés aux deux CNRs Mycoses en 2020.

- Cheveux

Au total, 74 isolats reçus par le CNR provenaient de cheveux. 70 étaient des dermatophytes. Les dermatophytes responsables de teignes du cuir chevelu se répartissent en 6 espèces. Contrairement aux dernières années 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=19, 27,17%) en 2020. Les autres dermatophytes responsables de teignes du cuir chevelu identifiés, sont *M. canis* (n=16, 23,25%), *M. audouinii* (n=15, 21,45%) *T. tonsurans* (n=15, 21,45%), *T. violaceum* (n=4, 5,71%), et *T. benhamiae* (n=1, 1,4%). (Voir **figure 5**). Les autres espèces cultivées étaient des champignons filamenteux non dermatophytiques, présents dans les échantillons comme contaminants. Notre analyse révèle que *M. audouinii* semble moins présent durant cette année 2020. En effet, il n'est responsable que de 21,45% des cas de teignes alors qu'il était responsable de près de 66% des cas de teignes en 2016 en Belgique. Il est à noter que l'année 2020 a été marquée par la crise Covid19 expliquant le faible nombre d'échantillons récoltés au cours de cette année puisque les consultations en dermatologie ont été interrompues pendant plusieurs mois.

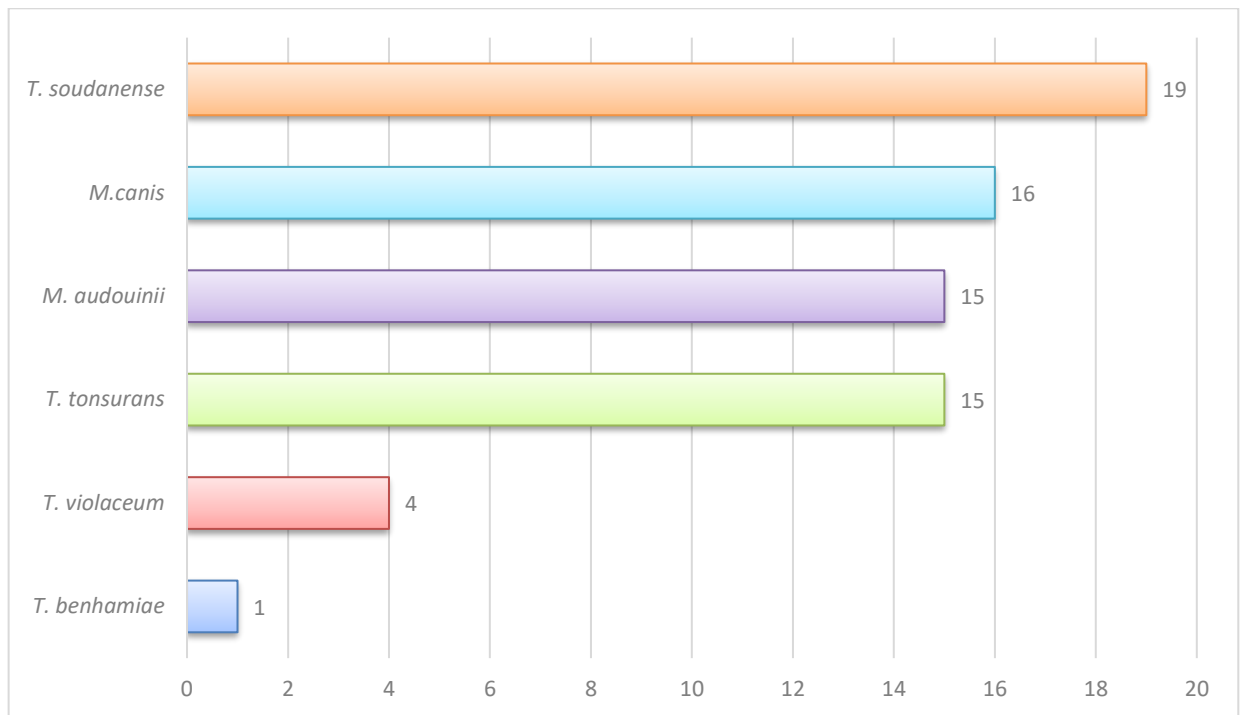


Figure 5 : Répartition des espèces de dermatophytes causant des infections du cuir chevelu en 2020.

- Peau

Au total, 332 isolats cultivés à partir de squames ont été reçus. 215 (64,9%) d'entre eux étaient des dermatophytes. Parmi les dermatophytes, 134 isolats de *T. rubrum* ont été identifiés soit 62,5% des cas d'infection par un dermatophyte. Cet agent est l'agent le plus fréquemment rencontré dans ce type de prélèvements. L'espèce zoophile *T. mentagrophytes* a été isolée de 16 prélèvements (7,44%). *T. tonsurans* a également été retrouvé à raison de 16 souches durant l'année 2020 (7,44%). *T. benhamiae* a été isolé parmi 11 souches (5,12%) alors que *T. interdigitale* a été isolé au sein de 10 prélèvements (4,6%). *M. canis* et *M. audouinii* ont été retrouvés à raison de 7 isolats chacun (3,25%). *T. soudanense* a été quant à lui isolé de 6 prélèvements (2,79%) alors que 3 souches de *T. violaceum* ont été isolées de ces prélèvements de peau (1,39%). Deux souches de *T. verrucosum* (0,92%) ont également été retrouvées ainsi qu'une souche (0,46%) de *T. quinckeanum*, *T. indotineae* et *E. floccosum*. A noter l'**émergence d'espèces zoophiles** dans les

prélèvements de peau comme *T. mentagrophytes* ou *T. benhamiae* (Voir **figure 6** pour la répartition). Cette tendance avait déjà été observée depuis 2017.

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.

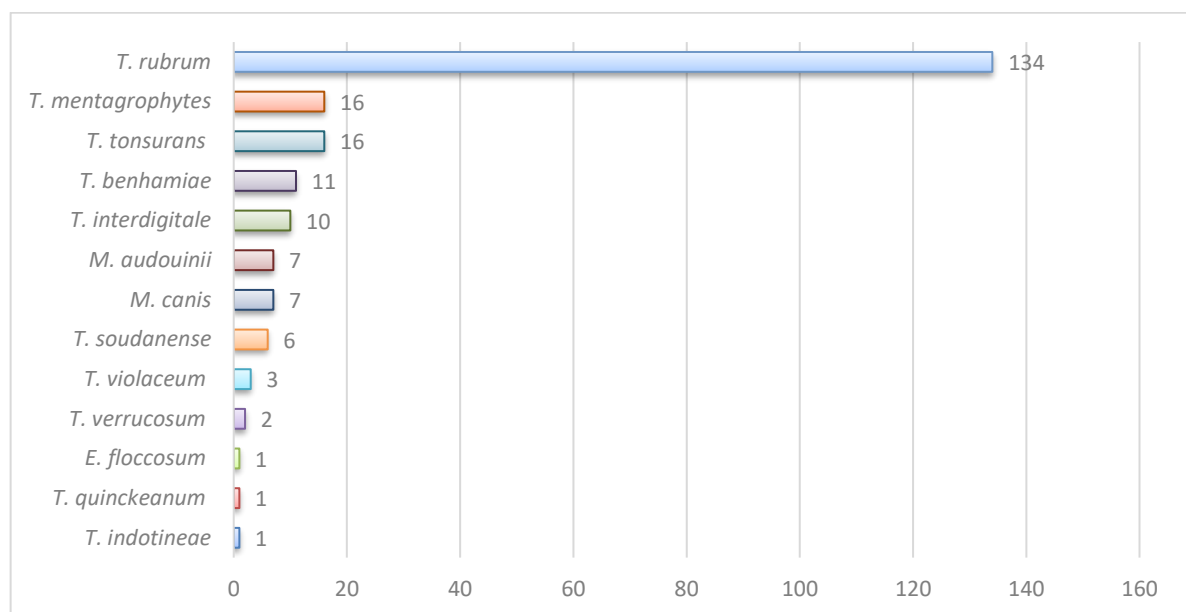


Figure 6 : Répartition des espèces de dermatophytes causant des infections de la peau en 2020.

- Ongles

La majorité des souches reçues par le CNR provenaient d'ongles (1089 isolats). Ceci a conduit à l'identification de 739 dermatophytes (68,08%), 71 levures (6,52%, 49

Candida sp. et 22 autres appartenant aux genres, *Rhodotorula*, *Geotrichum*, *Saccharomyces*, *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 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 625 *T. rubrum* (84,74 %), et 111 *T. interdigitale* (15,03%) (Voir **figure 7**). A noter, la présence de deux prélèvements positifs pour *T. soudanense* et un pour *T. violaceum* dans un ongle. Ces agents sont en effet habituellement responsables de teignes du cuir chevelu. Ces prélèvements ont été séquencés et l'origine du prélèvement vérifiée.

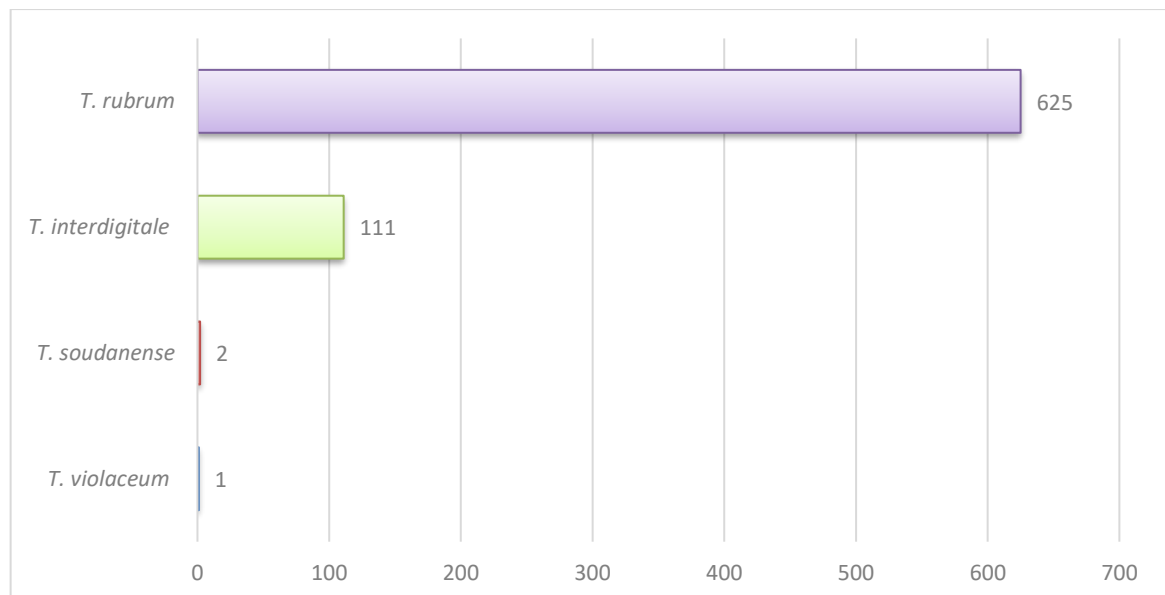


Figure 7: Répartition des espèces de dermatophytes responsables d'onychomycoses en 2020.

5. Bilan de 2021 pour les champignons isolés des phanères par les deux CNR

○ Bilan global

En 2021, un total de 1941 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, 1412 (72,9%) ont été identifiés comme étant des dermatophytes (y compris ceux détectés uniquement par biologie moléculaire, n=272). Parmi eux, 1336 (95%) isolats ont été identifiés comme faisant partie du genre *Trichophyton*, 71 (5,05%) comme faisant partie du genre *Microsporum* et 5 faisant partie du genre *Nannizzia* (0,35%). Un total de 92 isolats de levures a également été répertorié (uniquement phanères considérés dans ce rapport), soit 4,73% de tous les prélèvements. Le reste des isolats (437 souches, 22,52% de tous les prélèvements) correspond à d'autres champignons filamenteux.

Parmi les dermatophytes, l'isolat le plus fréquemment retrouvé (tous prélèvements confondus) est *T. rubrum* (1071 isolats, 75,4 % des dermatophytes), suivi de *T. interdigitale* (180 isolats, 12,74 %), *M. audouinii* (36 isolats, 2,54%), *M. canis* (35 isolats, 2,47%), *T. tonsurans* (29 isolats, 2,05%), *T. soudanense* (17 isolats, 1,2%), *T. benhamiae* (14 isolats, 0,99 %), *T. mentagrophytes* (12 isolats, 0,85%), *T. violaceum* (8 isolats, 0,56%), *T. indotineae* (3 isolats, 0,21%), *T. quinckeanum* (2 isolats, 0,14%), *Nannizzia gypsea* (2 isolats, 0,14%), *N. persicolor* (1 isolat, 0,07%), *N. fulva* (1 isolat, 0,07%) et *N. incurvata* (1 isolat, 0,07%). La **figure 9** représente la répartition des cas de dermatophytoses en 2021. Parmi les autres isolats envoyés au CNR, on retrouve des levures réparties en 14 espèces de *Candida sp.* (57 isolats, 62,11% des levures isolées), *Rhodotorula sp.* (26 isolats, 28,32% des levures isolées), *Trichosporon sp.* (8 isolats, 8,69%) et *Geotrichum sp.* (1 isolat, 1,08% 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%).

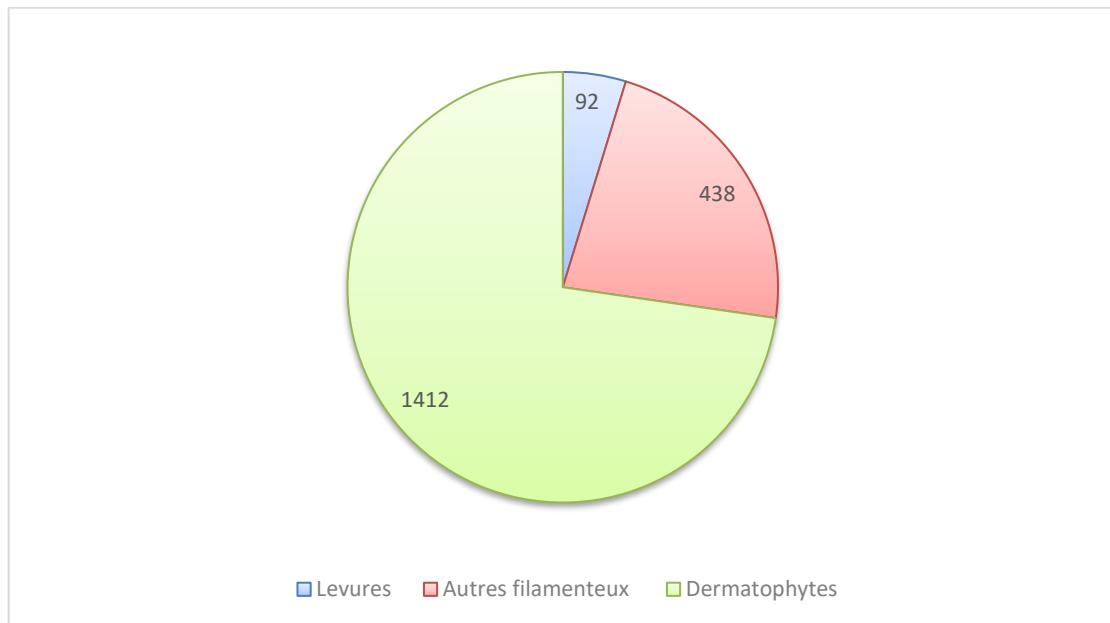


Figure 8 : Répartition des prélèvements reçus en 2021 par les deux CNRs mycoses.

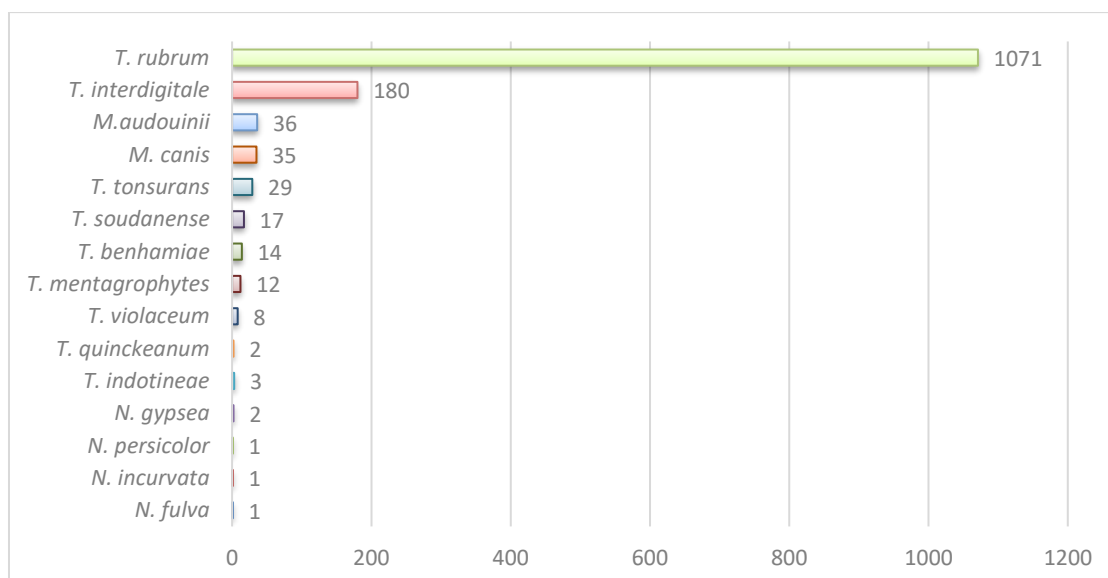


Figure 9 : Répartition des 1412 dermatophytes isolés en 2021 par les 2 CNRs.

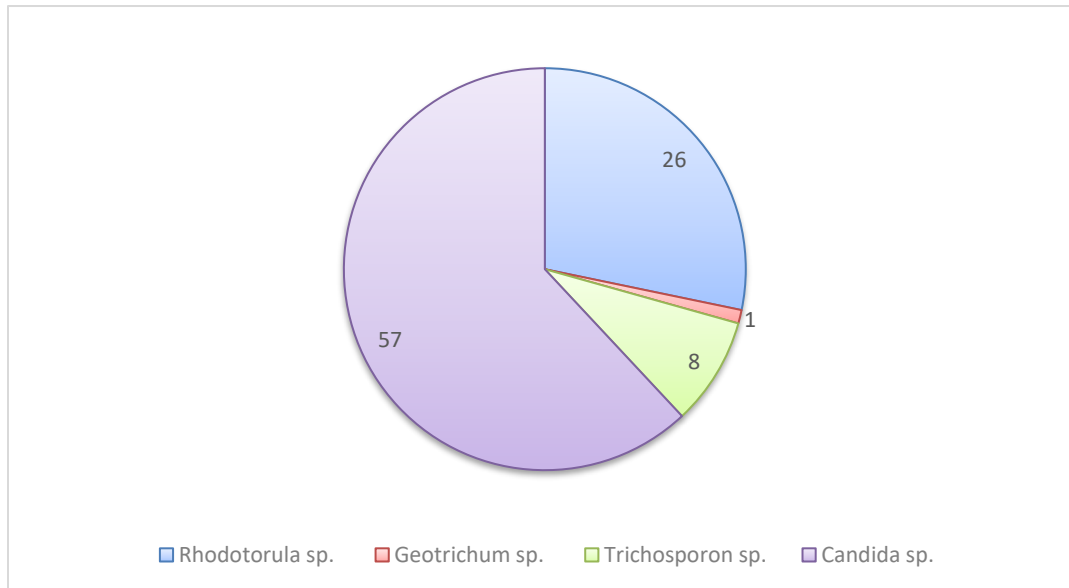


Figure 10 : Représentation graphique de la répartition des espèces de levures retrouvées dans les prélèvements de phanères reçus par les deux CNRs en 2021.

○ **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), 1523 (74,07%), provenaient d'ongles, 342 (16,6%) provenaient de squames ou biopsies de peau, 76 (3,69%) provenaient de cheveux (inclus cuir chevelu) et 117 (5,68%) 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**).

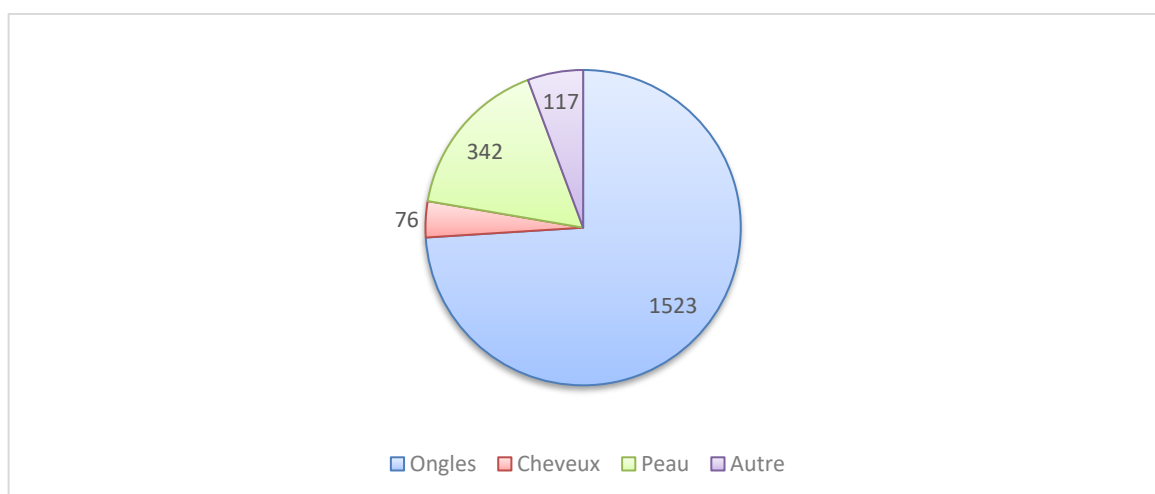


Figure 11: Répartition de l'origine des prélèvements (phanères et autres prélèvement uniquement comptabilisés pour Liège) envoyés aux deux CNRs Mycoses en 2021.

- Cheveux

Au total, 76 isolats reçus par le CNR provenaient de cheveux. 64 (84,7%) étaient des dermatophytes. Les dermatophytes responsables de teignes du cuir chevelu se répartissent en 6 espèces. *M. audouinii* est le pathogène fongique le plus fréquent pour ce type de prélèvement et est responsable de 28,16% des cas de teignes du cuir chevelu (n=18). Les autres dermatophytes identifiés sont *Trichophyton soudanense* (n=15, 23,47%), *Trichophyton tonsurans* (n=15, 23,47%), *Microsporum canis* (n=9, 14,3%), *Trichophyton violaceum* (n=5, 7,81%) et *T. benhamiae* (n=2, 3,1%). (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* revient en 2021 comme 1^{er} agent causal de la teigne. Cependant 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 (Voir **Figure 17**).

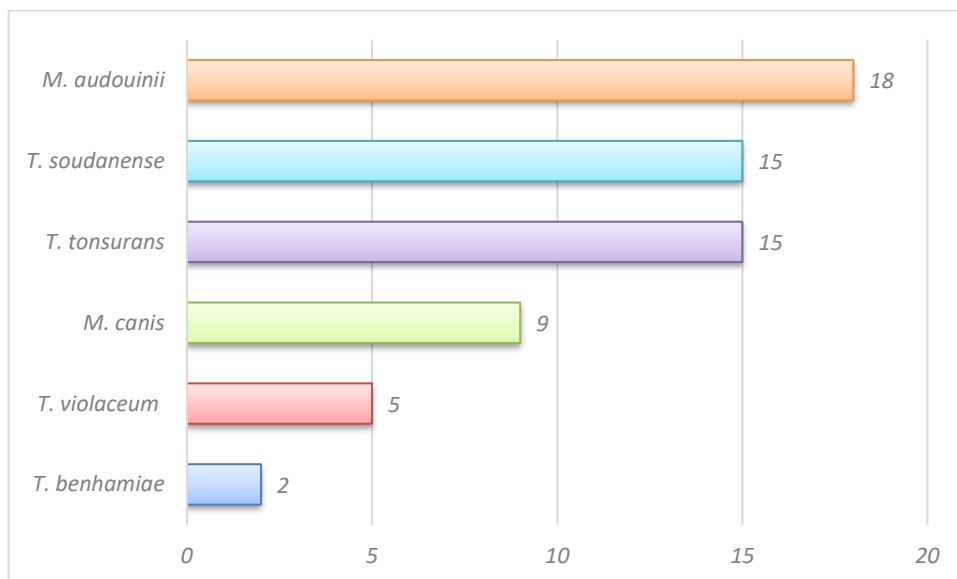


Figure 12 : Répartition des espèces de dermatophytes causant des infections du cuir chevelu en 2021.

- Peau

Au total, 342 isolats cultivés à partir de squames ont été reçus. 268 (787%) d'entre eux étaient des dermatophytes. Parmi les dermatophytes, 157 isolats de *T. rubrum* ont été identifiés soit 58,8% des cas d'infection par un dermatophyte. Cet agent est l'agent le plus fréquemment rencontré dans ce type de prélèvements. L'espèce zoophile *M. canis* a été isolée de 27 prélèvements (10,11 %), *M. audouinii* a été retrouvé dans 18 prélèvements de peau (6,74%), *T. interdigitale* a été retrouvé au sein de 15 isolats, 5,6% des prélèvements de peau en 2021 alors que *T. tonsurans* a été isolé de 14 prélèvements (5,2%). Les deux espèces zoophiles *T. mentagrophytes* et *T. benhamiae* ont été retrouvées au sein de 12 prélèvements chacun (4,42%) alors que ***T. indotineae*** étaient présent au sein de 3 prélèvements (1,12%). *T. violaceum*, *T. soudanense*, *T. quinckeanum* et *N. gypsea* étaient présents au sein de 2 prélèvements chacun (0,74%). Une souche de *N. persicolor* et une souche de *N. incurvata* ont été isolées à partir de peaux en 2021(0,35%), A noter l'émergence d'espèces zoophiles dans les prélèvements de peau comme *M. canis*, *T. mentagrophytes*, *T. quinckeanum*, *T. indotineae* ou *T. benhamiae* (Voir **figure 13** pour la répartition). Cette tendance avait déjà été observée depuis 2017.

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.

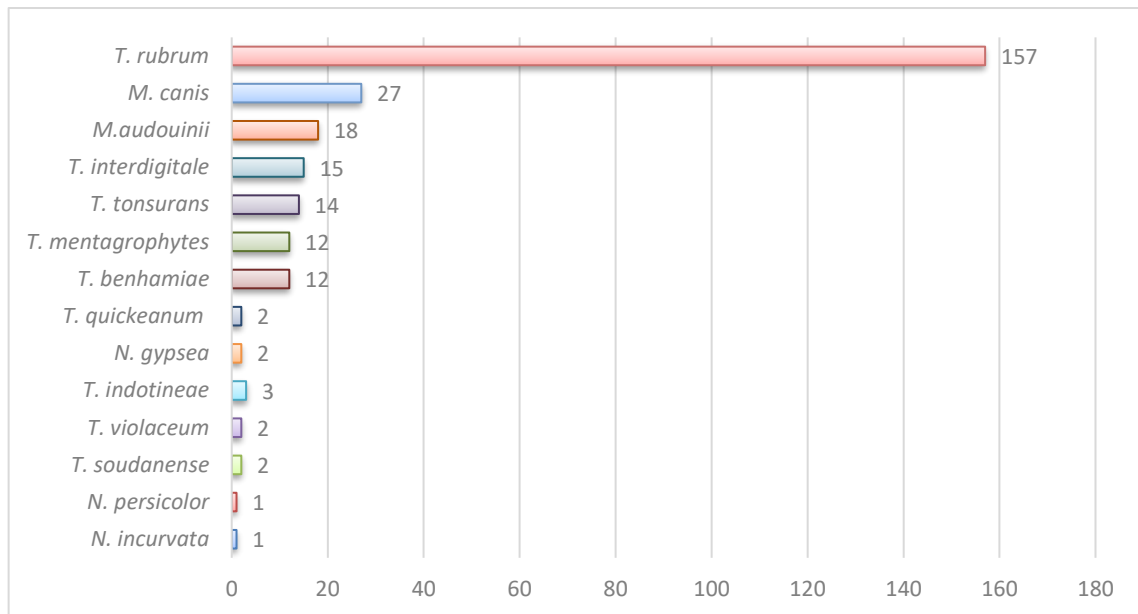


Figure 13 : Répartition des espèces de dermatophytes causant des infections de la peau en 2021.

- Ongles

La majorité des souches reçues par le CNR provenaient d'ongles (1523 isolats). Ceci a conduit à l'identification de 1081 dermatophytes (71,42%), 63 levures (35 *Candida*, 28 appartenant aux genres *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*. 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 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 914 *T. rubrum* (84, 74%), et 165 *T. interdigitale* (15,2%) (Voir **figure 14**). A noter, la présence d'un prélèvement positif pour *T. violaceum* et un pour *N. fulva* dans un ongle. 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.

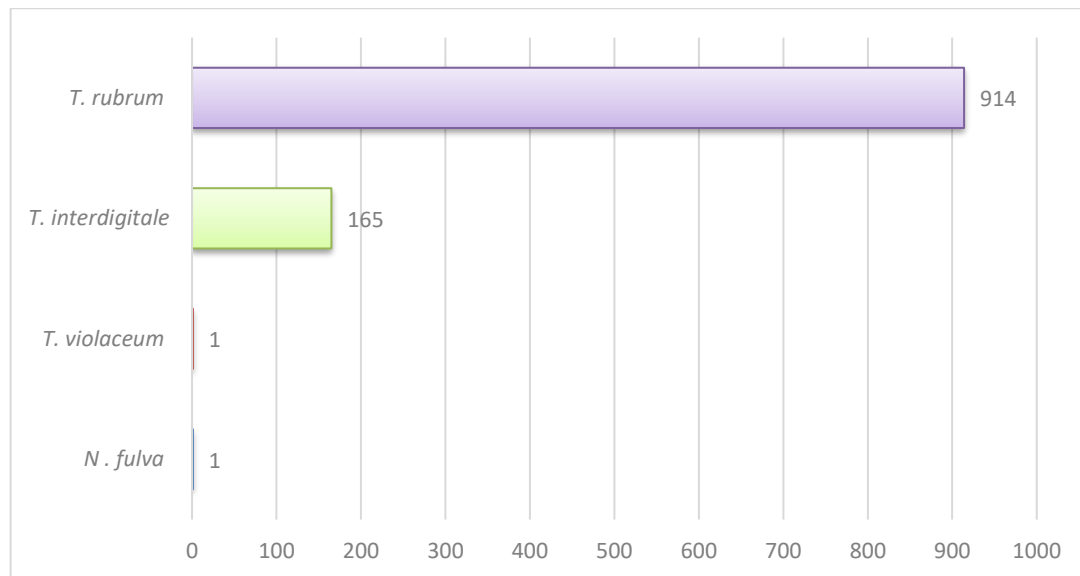


Figure 14: Répartition des espèces de dermatophytes responsables d'onychomycoses en 2021.

○ Antifongigrammes

En 2020 et 2021, un « screening » systématique de la résistance à la terbinafine a été réalisé au sein des souches de *T. rubrum* /*T. interdigitale*/*T. mentagrophytes*/*T. indotineae* en déposant chaque souche reçue sur une gélose contenant 0.02µg/ml de terbinafine comme décrit par Yamada et al (6). En 2021, 3 antifongigrammes ont été réalisés à la suite d'une positivité observée par cette méthode de screening en milieu solide. La méthode Eucast E.Def.11.0 a été utilisée (7). Ci-dessous, la **table 1** résume les concentrations minimales inhibitrices (CMI) observées à la fois pour la terbinafine mais également pour l'amorolfine, l'itraconazole et le voriconazole, testés simultanément sur la plaque. On remarque que les trois souches de *T. indotineae* présentent des CMI élevées pour la terbinafine (Ecoff fixé à 0,125µg/ml, Eucast).

N°	Espèce	CMI Terbinafine(µg/ml)	CMI Itraconazole (µg/ml)	CMI Voriconazole(µg/ml)	CMI Amorolfine (µg /ml)
1	<i>T. indotineae</i>	2	2	1	0,0016
2	<i>T. indotineae</i>	8	0,03	0,5	0,0016
3	<i>T. indotineae</i>	8	0,03	0,5	0,0016

Table1 : Valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) observées pour la terbinafine, l'itraconazole, le voriconazole et l'amorolfine sur 3 souches de *T. indotineae* en 2021.

6. Evolution 2012-2021

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 (pandémie Covid 19 et confinement) et de 1941 en 2021. 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 et 1412 en 2021. 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. Le taux de levures isolées est en baisse. Ce taux d'isolation des levures est 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 par l'utilisation depuis novembre 2016, de la PCR Dermagenius lorsque l'examen direct est positif 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 augmente régulièrement depuis 2012. En 2020 et 2021 *T. rubrum* était présent dans respectivement 74,12% et 75,4% des prélèvements, poursuivant son ascension. En 2018 et 2019, *T. rubrum* représentait respectivement 55,2% et 66,6% des prélèvements. En 2017, il représentait 70,4% des isolats contre 69% en 2016, 67% en 2015, 65, 72% en 2014, 53,2 % en 2013 et 45,6% en 2012. Par contre une diminution progressive du complexe *T. mentagrophytes* est 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 2015, ils ne représentaient plus que 15,94% des prélèvements. En 2016, ce complexe a été scindé selon la nouvelle classification de De Hoog et al, 2016(4) en *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* et *T. benhamiae* et sont systématiquement décrites séparément dans nos rapports depuis 2018. Pour comparaison aux années antérieures, ces espèces regroupées représentaient 15,37% des prélèvements en 2016, 15,27% en 2017. En 2018, *T. interdigitale* représentait 11% des prélèvements alors que *T. benhamiae* et *T. mentagrophytes* représentaient respectivement 1,8% et 0,5% des prélèvements reçus (13,2% des prélèvements lorsqu'on regroupe les espèces comme anciennement). En 2019, les taux étaient assez similaires avec 11,4% de *T. interdigitale*, 3,5% de *T. mentagrophytes* et 2,2% de *T. benhamiae* représentant 17,1% des prélèvements lorsqu'on les regroupe. 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). Le taux de ces espèces de l'ancien complexe *T. mentagrophytes* est donc assez stable par rapport à 2018 et 2019 et ne semble pas poursuivre son déclin observé depuis 2012 ou ce complexe représentait tout de même 31% des prélèvements.

Le nombre de *M. audouinii* isolés en 2013 avait augmenté à la suite de l'étude épidémiologique lancée début 2013, concernant les teignes anthropophiles à *M. audouinii*, ils représentaient 11,9% des prélèvements en 2013. Ce nombre était revu à la baisse en 2014 puisqu'ils représentaient seulement 3,35% des prélèvements. En

2015, ils représentaient 6,73% des prélèvements et ce pourcentage était encore à la hausse en 2016 puisqu'ils représentaient 8,5% des prélèvements. En 2017, on a observé une brusque chute de cette espèce qui ne représentait plus que 4,23% des espèces isolées. En 2018, l'étude sur les teignes du cuir chevelu a induit une augmentation des notifications de teignes à *M. audouinii* qui représentaient 11.1% des prélèvements. En 2019, le **taux de *M. audouinii* redescendait** à 4.9% des prélèvements soit un taux comparable à celui de 2017. En 2020 et 2021 cette espèce représentait respectivement 2,15% et 2,54%, une tendance à la baisse donc pour cette espèce anthropophile. 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 2015, le taux d'infection à ***M. canis* était plutôt stationnaire** avec un taux de 4,85%. En 2016, on notait une diminution de cette espèce puisque seulement 2,07% des prélèvements étaient concernés par cette espèce de dermatophyte. En 2017, un léger accroissement était noté puisque *M. canis* représentait 3,1% des prélèvements. En 2018 et 2019, *M. canis* représentait 3.7% des prélèvements (Voir **figure 16** et **Table 2** pour les détails) et était donc relativement stationnaire. 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. Considérant *T. tonsurans* le taux d'isolement de cette espèce était de 1,93% des prélèvements en 2016 à 3,1% en 2017. En 2018 ce taux était de 5.7% (étude teigne en cause) et de 3.3% en 2019 donc relativement stationnaire également par rapport à 2017. En 2020 et 2021 il était de respectivement 3,03% et 2,05%, une tendance plutôt stationnaire si on considère l'étude teignes réalisée en 2018 et qui a biaisé les résultats pour cette année là.

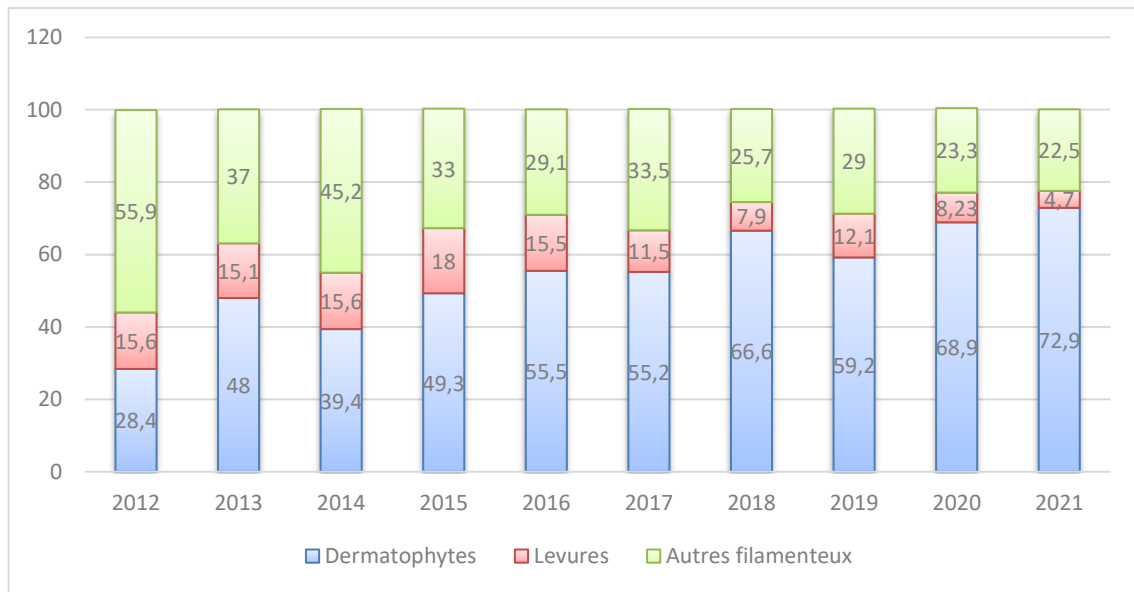


Figure 15 : Répartition des différents groupes d'isolats identifiés entre 2012 et 2021.

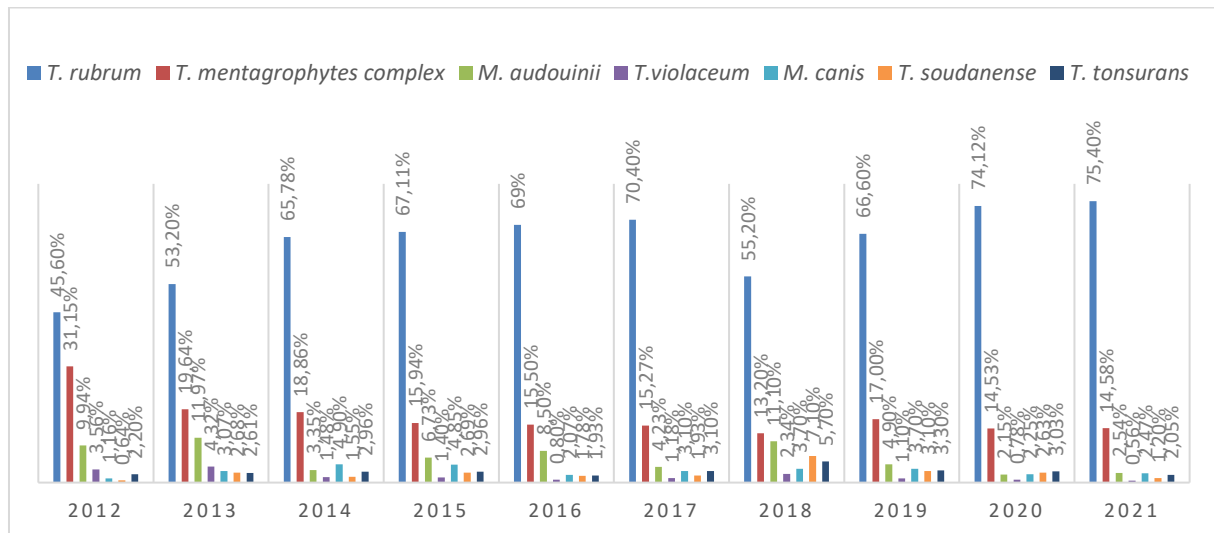


Figure 16 : Répartition des espèces de dermatophytes majoritairement isolées entre 2012 et 2021 par les CNR Mycoses. A noter le regroupement pour comparaison aux années antérieures des espèces *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* et *T. benhamiae* en *T. mentagrophytes complex*.

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

Table 2 : Comparaison des pourcentages des différentes espèces de dermatophytes observées entre 2012 et 2021 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, il 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'est plus le cas en 2020 où *M. audouinii* représente seulement 21,45% des cas de teignes du cuir chevelu et est supplanté par *T. soudanense* qui représente quant à lui 27,17% des cas de teignes et démontre une tendance clairement à la hausse ces dernières années. Cependant en 2021, *M. audouinii* reprend sa place de leader concernant les teignes du cuir chevelu et représente 28,16% des cas. Le taux de *T. soudanense* diminue un peu en 2021 par rapport à 2020(23,47% des cas) et se replace à des niveaux similaires à ceux observés en 2018 et 2019 ou il atteignait respectivement 23,4% des cas et 23,5% des cas en 2019. Il est à noter que l'année 2020 marquée par une restriction des voyages, peut avoir eu une influence sur la circulation de certaines espèces de dermatophytes en Belgique. Le taux

de *T. tonsurans* est en hausse par rapport aux années précédentes, avec un taux de 21,45% des cas en 2020 et 23,47% des cas en 2021. Cette espèce représentait en effet 18% des cas de teignes du cuir chevelu en 2018 et 18,4% des cas en 2019. Le taux de *M. canis* impliqués dans les cas de teignes est plutôt stable par rapport à 2017 même si on note une 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*, il représentait 13,3% des cas de teignes en 2017 contre 9 % en 2018 et 14,7% en 2019. Le taux de *T. violaceum* est relativement bas (5,7% en 2020 et 7,8% en 2021) ainsi que le taux de *T. mentagrophytes complex* (3% en 2018 et 4.4% en 2019) (voir **figure 17**).

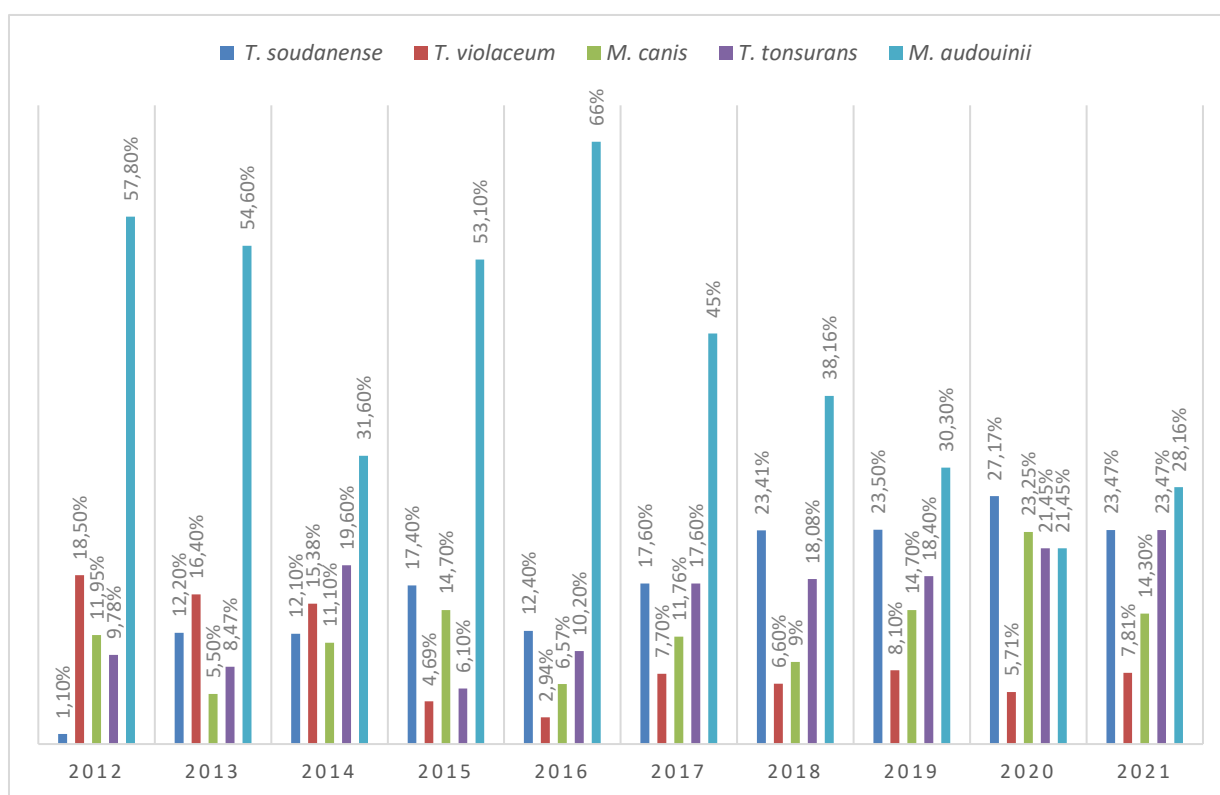


Figure 17 : Répartition des dermatophytes isolés de prélèvements de cheveux/cuir chevelu de 2012 à 2021 par les deux CNRs.

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. Il est de 84,74% en 2020 et 2021. Pour *T. interdigitale*, le taux était de 17.1% en 2018 et 11.9% en 2019, il est de 15,03% en 2020 et 15,2% en

2021, la tendance à la baisse ne semble plus se poursuivre pour cette espèce au sein des prélèvements d'ongles (Voir **Figure 18**).

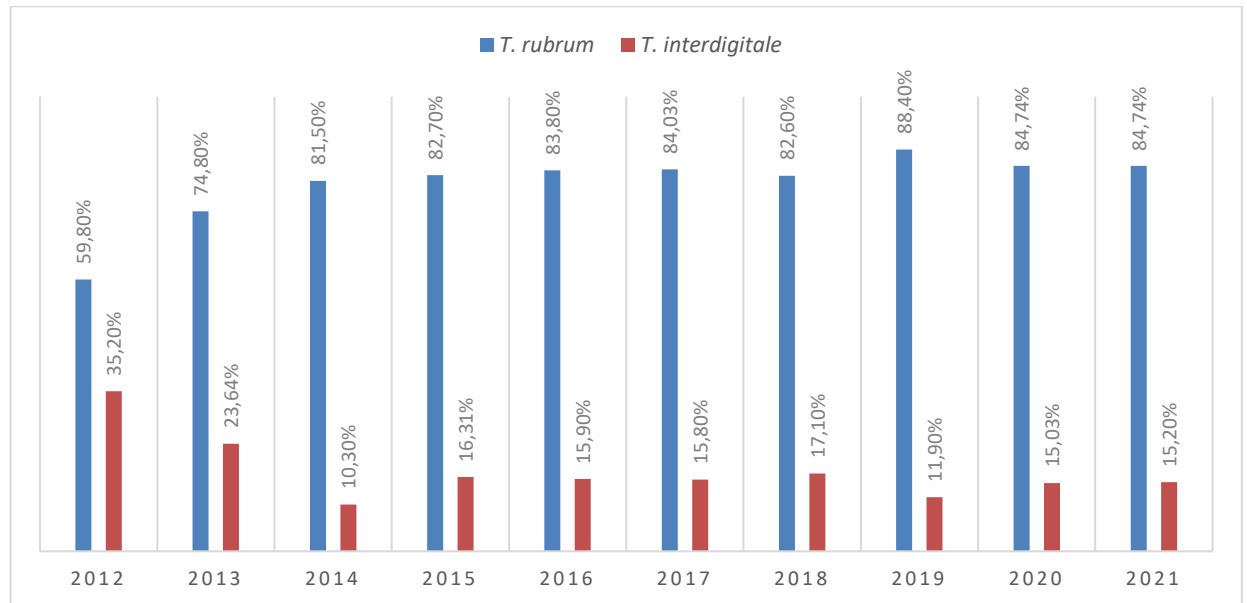


Figure 18 : Répartition des principaux dermatophytes isolés de prélèvements d'ongles de 2012 à 2021.

Pour les prélèvements de peau en 2020 et 2021, *T. rubrum* représente respectivement 62,5% et 58,8% des cas. Les infections à *T. rubrum* sont en légère augmentation par rapport à 2018 et 2019 où le taux d'isolement de cette espèce était respectivement de 54,1% et 52,6% dans les prélèvements de peaux. Le complexe *T. mentagrophytes* est quant à lui assez stationnaire pour ce type d'infections même si une augmentation est notée par rapport à 2017. En 2020 et 2021, l'espèce *T. mentagrophytes* a été isolée à raison de respectivement 7,44% et 4,42% des prélèvements. Cette espèce représentait 6,1% des prélèvements en 2018 et 10,36% en 2019 contre 2,5% en 2017. En 2020 et 2021, l'espèce *T. benhamiae* a 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. Concernant *T. interdigitale* pour les prélèvements de peau, cette espèce représente 4,5% des cas en 2020 et 5,6% des cas en 2021, il était présent dans 3,2% des cas en 2018 et 4,65% des cas en 2019. Pour *M. canis* le taux d'infection par cet agent dans les prélèvements de peaux est 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. On observe un état assez

stationnaire pour *T. tonsurans* et *M. audouinii* en 2020 et 2021. (Voir **Figure 19** pour la répartition).

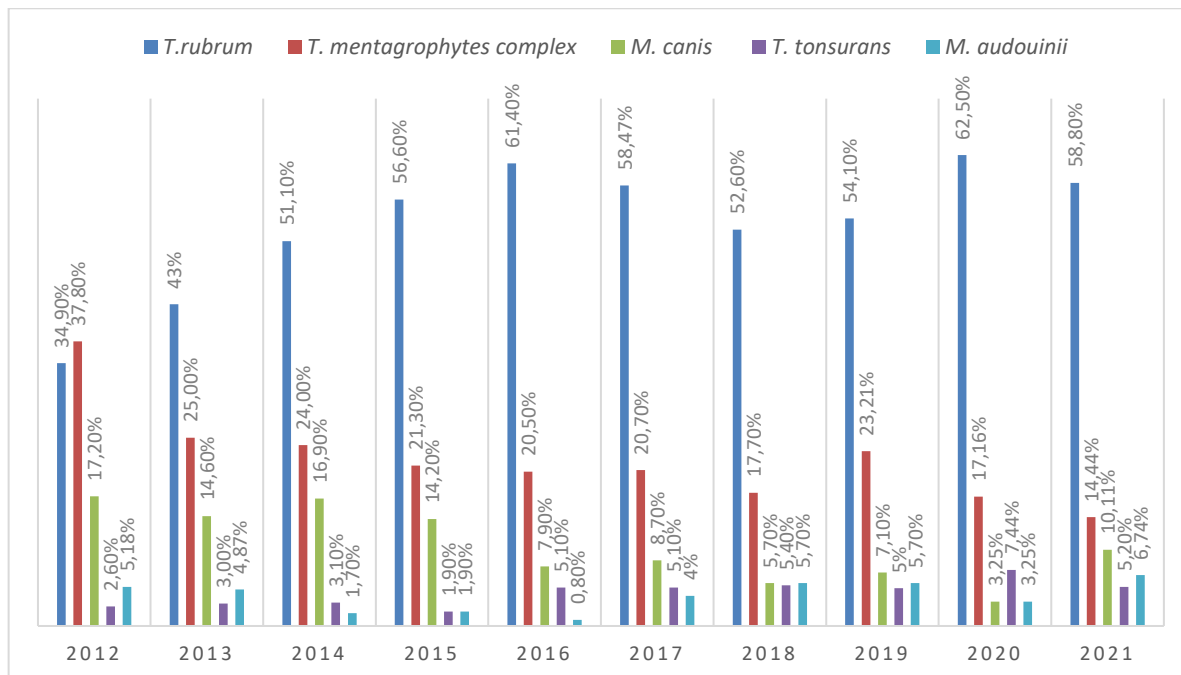


Figure 19 : Répartition des dermatophytes isolés de prélèvements de peau de 2012 à 2021.

7. Enquêtes épidémiologiques

En 2020 et 2021, aucune enquête épidémiologique n'a été réalisée notamment à cause du contexte Covid 19 qui n'était pas propice à ce genre d'investigations mais les résultats de l'étude teignes réalisée en 2018 ont été analysés et publiés.

En 2018, le CNR mycoses a en effet organisé une étude nationale sur les teignes du cuir chevelu. La collaboration des dermatologues de grands centres belges a été requise afin qu'ils nous envoient leurs cas de teignes confirmés par culture de dermatophyte positive. Au total 428 cultures positives ont été récoltées avec des informations épidémiologiques associées et provenaient principalement de 14 laboratoires en Belgique. Ces résultats ont été analysés et ont été publiés dans *Journal of fungi* en 2020. Lors de cette étude le premier cas de *T. indotineae* résistant à la terbinafine a été isolé et caractérisé en Belgique (8).

8. Travaux de recherche, collaborations, publications et communications

En 2020 et 2021, plusieurs études ont été menées par le centre de référence mycoses ou ont été finalisées durant cette période.

- Un nouveau milieu de culture ID-fungi plates de la firme Conidia a été évalué en 2018 et 2019. Ce milieu présente la particularité d'être muni d'une membrane, ce qui permet un dépôt aisé des dermatophytes et autres champignons filamenteux (y compris les *Aspergillus*) sur la cible Maldi-Tof MS puisque ceux-ci n'adhèrent pas ou peu sur le milieu de culture. Une évaluation du rendement d'identification par Maldi-Tof a été réalisée avec plus de 80 souches de référence. Une nouvelle version du milieu de culture contenant du cycloheximide a également été évaluée pour le dépôt direct d'ongles, cheveux et peaux sur ce milieu, suivi d'une identification par Maldi-Tof de dermatophytes essentiellement. Les performances du milieu en termes de sensibilité et spécificité et le rendement obtenu pour l'identification ont été comparés aux méthodes actuelles. Les résultats de ces deux études ont été décrits dans un article publié dans *Mycoses* et ont été présentés à l'ECCMID 2018 et 2019 (9, 10, 11).

- En 2020 et 2021, un « screening » systématique de la résistance à la terbinafine a été réalisé au sein des souches de *T. rubrum* /*T. interdigitale*/*T. mentagrophytes*/*T. indotineae* en déposant chaque souche reçue sur une gélose contenant 0.02µg/ml de terbinafine comme décrit par Yamada et al (6). Si aucun cas de résistance à la terbinafine n'a été détecté parmi *T. rubrum* jusqu'à présent, cette méthode nous a permis de détecter 3 cas de *T. indotineae* résistants à la terbinafine en 2021. Le centre de référence s'est particulièrement intéressé à ce phénomène de résistance à la terbinafine et a notamment réalisé une revue de la littérature décrivant les principaux mécanismes de résistance présents chez les dermatophytes concernant la terbinafine mais également les azolés et les différentes modifications génétiques associées à cette résistance. La présentation clinique des lésions causées par *T. indotineae* a également été discutée afin d'informer au mieux les dermatologues lorsqu'ils sont en présence d'un tel cas. Les alternatives thérapeutiques ont également été abordées dans cette revue publiée dans *Journal of fungi* (12).
- Durant l'année 2021, une description de l'épidémiologie des dermatophytes en Belgique sur une durée de 5 ans a été réalisée et publiée dans *Mycopathologia* (13). Cette description était basée sur les données récoltées par le CNR (Liège et Leuven) entre les années 2012 et 2016.
- L'équipe du CNR de Liège a également participé à l'écriture d'un chapitre d'un E-book « Dermatophytes et dermatophytoses » sur invitation du Pr. Jean-Philippe Bouchara. Le chapitre concerné s'intitulait « Unusual dermatophytoses presentations and new emerging dermatophytes species » et traite donc de présentations cliniques atypiques/rares causées par certaines espèces de dermatophytes et une revue de la littérature de cas cliniques causés par des espèces majoritairement zoophiles et géophiles rarement incriminées en pathologie humaine (14).

- En 2020 et 2021, le CNR s'est également attelé à développer un nouvel outil d'analyse et de typage pour les dermatophytes basé sur les données de NGS (Next Generation Sequencing) et le séquençage entier du génome (WGS). Cet outil a été construit grâce à la collaboration avec une équipe de bioinformaticiens (Hedera22, Liège) qui a permis une simplification du traitement des données de WGS et une présentation des résultats simplifiée adaptée aux besoins du CNR mycoses. Cet outil permet notamment la caractérisation rapide des diverses mutations retrouvées au sein du gène de la squalène époxydase (SQLE) dans le cadre de la recherche de la résistance à la terbinafine, il permet également la recherche de facteurs de virulence comme les métalloprotéases ou les subtilisines. Cet outil permet d'autre part, le typage et la classification des dermatophytes par la génération de dendrogrammes par maximum de vraisemblance, ce qui a notamment permis de distinguer génétiquement parlant les souches de *T. indotineae* majoritairement résistantes à la terbinafine, des autres souches de *T. mentagrophytes/interdigitale*. En parallèle, l'évaluation du marqueur Tef1-alpha a été réalisée en séquençage Sanger associé à la génération d'un arbre phylogénétique avec souches de référence et a permis de démontrer la supériorité de ce marqueur par rapport à la région ITS pour discriminer entre les espèces *T. interdigitale/mentagrophytes/indotineae*. Ce projet a fait l'objet d'un mémoire de fin d'étude en master en sciences biomédicales (Uliege) réalisé par Khalid El Moussaoui (15).

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* reste le premier agent responsable de ce type d'infection, ce qui était également le cas depuis 2012 même s'il a été concurrencé en 2020 par *T. soudanense* et qu'un « shift » semble s'opérer entre ces deux espèces avec une croissance marquée pour *T. soudanense*. Les années 2020 et 2021 ont permis de confirmer l'émergence 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 dans d'autres pays européens, ce phénomène pouvant mener à des échecs thérapeutiques importants et une présentation clinique délicate pour le patient.

10. Références

1. Pagano L, Lumb J. Update on invasive fungal disease. *Future Microbiol.* 2011 Sep;6(9):985-9. doi: 10.2217/fmb.11.85. PMID: 21958139.
2. Burzykowski T, Molenberghs G, Abeck D, Haneke E, Hay R, Katsambas A, Roseeuw D, van de Kerkhof P, van Aelst R, Marynissen G. High prevalence of foot diseases in Europe: results of the Achilles Project. *Mycoses.* 2003 Dec;46(11-12):496-505. doi: 10.1046/j.0933-7407.2003.00933.x. PMID: 14641624.
3. Kelly BP. Superficial fungal infections. *Pediatr Rev.* 2012 Apr;33(4):e22-37. doi: 10.1542/pir.33-4-e22. PMID: 22474120.
4. De Hoog, G. S., K. Dukik, et al. (2017). "Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes." *Mycopathologia* **182**(1-2): 5-31.
5. Kano, R., Kimura, U., Kakurai, M., Hiruma, J., Kamata, H., Suga, Y., & Harada, K. (2020). Trichophyton indotineae sp. nov.: A New Highly Terbinafine-Resistant Anthropophilic Dermatophyte Species. *Mycopathologia*. <https://doi.org/10.1007/s11046-020-00455-8>
6. Yamada T, Maeda M, Alshahni MM, et al. Terbinafine Resistance of Trichophyton Clinical Isolates Caused by Specific Point Mutations in the Squalene Epoxidase Gene. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(7):e00115-17. Published 2017 Jun 27. Doi:10.1128/AAC.00115-17
7. Arendrup MC, Jørgensen KM, Guinea J, Lagrou K, Chryssanthou E, Hayette MP, Barchiesi F, Lass-Flörl C, Hamal P, Dannaoui E, Chowdhary A, Meletiadis J. Multicentre validation of a EUCAST method for the antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes. *J Antimicrob Chemother.* 2020 Jul 1;75(7):1807-1819. doi: 10.1093/jac/dkaa111. PMID: 32303059.
8. Sacheli R, Harag S, Dehavay F, Evrard S, Rousseaux D, Adjetey A, Seidel L, Laffineur K, Lagrou K, Hayette MP. Belgian National Survey on Tinea Capitis: Epidemiological Considerations and Highlight of Terbinafine-Resistant *T. mentagrophytes* with a Mutation on SQLE Gene. *J Fungi (Basel).* 2020 Sep 29;6(4):195. doi: 10.3390/jof6040195.
9. Sacheli, R., Winandy, S., Adjetey Bahun, A., Darfouf, R., Legras, Q., Meex, C., Marechal, L., Arrese Estrada, J., & Hayette, M.-P. (2020, April). Clinical evaluation of the ID-fungi® plates for direct identification of dermatophytes on nail, hair and skin samples by Maldi-Tof MS. Poster session presented at 30th ECCMID, Paris, France
10. Sacheli, R., Henri, A.-S., Detollenaere, L., Meex, C., & Hayette, M.-P. (2019, April). Evaluation of the new Conidia® medium for Maldi-Tof MS identification of filamentous fungi. Poster session presented at 29th ECCMID.
11. Sacheli R, Henri AS, Seidel L, Ernst M, Darfouf R, Adjetey C, Schyns M, Marechal L, Meex C, Arrese J, Hayette MP. Evaluation of the new Id-Fungi plates from Conidia for MALDI-TOF MS identification of filamentous fungi and comparison with conventional methods as identification tool for dermatophytes from nails, hair and skin samples. *Mycoses.* 2020 Oct;63(10):1115-1127. doi: 10.1111/myc.13156.
12. Sacheli R, Hayette MP. Antifungal Resistance in Dermatophytes: Genetic Considerations, Clinical Presentations and Alternative Therapies. *J Fungi (Basel).* 2021 Nov 18;7(11):983. doi: 10.3390/jof7110983. PMID: 34829270; PMCID: PMC8622014.
13. Sacheli R, Cuypers L, Seidel L, Darfouf R, Adjetey C, Lagrou K, Hayette MP. Epidemiology of Dermatophytes in Belgium: A 5 Years' Survey. *Mycopathologia.* 2021 Jun;186(3):399-409. doi: 10.1007/s11046-021-

00542-4. Epub 2021 Apr 26. Erratum in: Mycopathologia. 2021 Dec;186(6):897. PMID: 33900539.

14. Hayette, M-P., & Sacheli, R. (2021). Unusual dermatophytosis presentations and new emerging dermatophytes species. In J. P. Bouchara, P. Nenoff, A. K. Gupta, ... V. Chaturvedi, Dermatophytes and dermatophytoses. Switzerland: Springer. doi:10.1007/978-3-030-67421-
15. El Moussaoui Khalid. Mémoire de fin d'étude en sciences biomédicales, Uliege, 2021-2022. Evaluation du séquençage à haut débit du génome pour le typage moléculaire et la distinction des dermatophytes du complexe *Trichophyton mentagrophytes /interdigitale / indotineae*