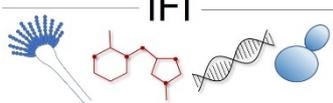


CNRMA

IFI



RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2025

Année d'exercice 2024
CNR Mycoses invasives et antifongiques

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire CNR	<u>Institut Pasteur</u>	Fanny Lanternier
Laboratoire Associé - AspCNord	CHU Rennes	Jean-Pierre Gangneux
Laboratoire Associé - AspCSud	CHU Bordeaux	Laurence Delhaes
Laboratoire Associé - INUSUAL	CHU de la Pitié Salpêtrière - Paris	Arnaud Fekkar

GUIDE DE REMPLISSAGE

Conformément à l'arrêté du 2 mars 2022 fixant leur cahier des charges, les Centres Nationaux de Référence (CNR) sont tenus de transmettre chaque année un rapport annuel portant sur l'activité du CNR pour l'année « N » à Santé publique France avant la fin du premier semestre de l'année « N+1 ». Ce rapport doit être conforme au rapport-type national défini par le Comité des CNR aux fins de définir un cadre de présentation homogène des activités du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.

Si le CNR comporte un ou plusieurs laboratoires associés, le CNR – Laboratoire coordonnateur doit présenter un rapport commun faisant la synthèse des activités des laboratoires concourant aux missions du CNR.

Ce rapport décrit les activités du CNR et produit une analyse des données recueillies au cours de l'année « N ». Il doit être concis, éviter les redondances, privilégier les illustrations pour les résultats (graphes, cartes, tableaux). Il s'agit de fournir un travail de synthèse mettant en exergue les points forts du bilan d'activité de l'année.

Ce rapport doit inclure un résumé analytique, en français et en anglais, de 300 mots maximum (2700 caractères) destiné à être publié sur le site de Santé publique France.

Ce rapport comporte 3 annexes, regroupées à la fin du document :

- Les annexes 1 et 2 ont pour objet de rappeler les missions et l'organisation du CNR d'une part, ses capacités techniques d'autre part. Ces éléments sont pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature. Seuls les éléments nouveaux (changement d'organisation, de locaux, nouvelles capacités ...) doivent figurer dans le corps du rapport.
- L'annexe 3 regroupe des informations confidentielles, à l'attention de Santé publique France et de son Comité des CNR, non destinées à être rendues publiques : permanence du CNR, détenteurs d'autorisations MOT (Micro-Organismes et Toxines), détenteurs d'autorisations d'exercer la biologie médicale (AEBM), résultats de recherche non encore publiés ou sous embargo, difficultés rencontrées, liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR (cf déclarations d'intérêts et engagement déontologique signé par les responsables des CNR (en précisant la nature des activités, les financements éventuels obtenus et la destination de ces financements). Cette annexe 3 doit figurer dans un document PDF distinct ou être détachable de la version papier fournie.

Il vous est demandé de respecter rigoureusement ce plan-type qui concorde avec celui de la grille d'évaluation utilisée par les experts du Comité. A l'exception de son annexe 3, ce rapport annuel d'activité a vocation à être publié sur le site web du CNR.

NB : Les contrôles de contenus insérés dans la matrice du document sont supprimés dès que vous commencez la saisie, ils rappellent ce qui est attendu par les experts du Comité des CNR

Guide de remplissage.....	2
Résumé analytique.....	7
Executive summary.....	8
Highlights	8
1.A Missions et organisation du CNRMA – IFI	9
1.1 Organigramme.....	9
1.2 Mission et Organisation.....	10
1.3 Démarche Qualité.....	11
1.B Missions et organisation des laboratoires associés Aspergilloses Chroniques	11
1.1 Organigramme.....	11
1.2 Mission et Organisation.....	11
1.3 Démarche Qualité.....	11
1.C Missions et organisation du laboratoire associé INUSUALE	12
1.1 Organigramme.....	12
1.2 Mission et Organisation.....	12
1.3 Démarche Qualité.....	12
2.A Activités d’expertise du CNRMA-IFI	13
2.1 Évolution des techniques.....	13
2.2 Travaux d’évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	13
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	14
2.4 Collections de matériel biologique.....	15
2.5 Activités d'expertises.....	16
2.6 Activités de séquençage.....	20
2.7 Partage de séquences produites par les CNR.....	22
2.B Activités d’expertise des laboratoires associés Aspergilloses Chroniques	23
2.1 Evolution des techniques.....	23
2.2 Travaux d’évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	23
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	24
2.4 Collections de matériel biologique.....	24
2.5 Activités d'expertises.....	24
2.6 Activités de séquençage.....	25
2.7 Partage de séquences produites par les CNR.....	26
2.C Activités d’expertise du laboratoire associé INUSUALE	26
2.1 Evolution des techniques.....	26
2.2 Travaux d’évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	27
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	27
2.4 Collections de matériel biologique.....	28
2.5 Activités d'expertises.....	28
2.6 Activités de séquençage.....	29
2.7 Partage de séquences produites par les CNR.....	29
3.A Activités de surveillance du CNRMA-IFI	30

3.1 Description du réseau de partenaires	30
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	33
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	39
CHAMPIGNONS FILAMENTEUX	46
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	52
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	52
3.B Activités de surveillance des laboratoires associés Aspergilloses chroniques	54
3.1 Description du réseau de partenaires	54
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	54
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	54
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	55
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	55
3.C Activités de surveillance du laboratoire associé INUSUALE	56
3.1 Description du réseau de partenaires	56
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	58
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	59
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	59
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	59
4.A Alertes (CNRMA-IFI)	61
4.B Alertes (Laboratoires associés Aspergilloses Chroniques)	64
4.C Alertes (Laboratoire associé INUSUALE)	64
5.A. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil au CNRMA-IFI	65
5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé	65
5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires	66
5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	66
5.B. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil dans les laboratoires associés Aspergilloses chroniques	67
5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé	67
5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires	67
5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	67
5.C. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil dans le laboratoire associé INUSUALE	68
5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé	68
5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires	68
5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	68
6.A. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR (CNRMA-IFI) ..	69
6.1. Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	69
6.2. Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	69

6.B. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR (Laboratoires associés Aspergillose chroniques)	74
6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	74
6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	75
6.C. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR (Laboratoire associé INUSUALE)	78
6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	78
6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	78
7.A. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux (CNRMA-IFI)	79
7.B. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux (Laboratoires associés Aspergillose chroniques)	80
7.C. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux (Laboratoire associé INUSUALE)	80
8.A. Programme d'activité pour les années suivantes au CNRMA-IFI	81
8.B Programme d'activité pour les années suivantes des laboratoires associés Aspergillose chroniques	82
8.C Programme d'activité pour les années suivantes du laboratoire associé INUSUALE	83
Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	84
1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	84
1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	84
1.3 Locaux et équipements.....	86
1.4 Collections de matériel biologique	90
1.5 Démarche qualité du laboratoire.....	90
Annexe 2.A : Capacités techniques du CNRMA	92
2.1 Liste des techniques de référence	92
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR.....	93
Annexe 2.B : Capacités techniques des laboratoires associés Aspergillose Chroniques	95
2.1 Liste des techniques de référence	95
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR.....	96
Annexe 2.C : Capacités techniques du laboratoire associé INUSUALE	96
2.1 Liste des techniques de référence	96
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR.....	96

RESUME ANALYTIQUE

FAITS MARQUANTS

En 2024, le CNRMA a poursuivi ses missions sur les infections fongiques invasives (IFI) avec deux laboratoires associés : AspC (aspergilloses chroniques) et InuSuAle.

Le CNRMA-IFI a animé le réseau de surveillance SINFONI (60 centres métropolitains et ultramarins), le conseil scientifique multidisciplinaire intégrant des aspects de santé globale, organisé des réunions avec les vétérinaires et projets de surveillance liés à la résistance dans l'environnement. La journée annuelle du réseau a été organisée, complétée d'une journée avec les collaborateurs des DOM-TOM.

Le nombre de déclarations (3500) et d'isolats (1120) a augmenté de manière significative, générant une charge de travail supplémentaire conséquente ainsi que de séquençage génome entier (200). Depuis janvier 2023, 7389 cas ont été déclarés avec une mortalité globale stable à 40% à 3 mois : 56% de fongémies, 17% de pneumocystoses, 15% d'aspergilloses et 4% de mucormycoses ; 5% des patients avaient une infection virale associée. Les patients avec hémopathies et tumeur solides restent majoritaires (35%) ; pas de surrisque évident lié aux nouvelles thérapeutiques.

La résistance aux échinocandines des candidoses reste faible (<1%), le pourcentage de *C. parapsilosis* et *C. glabrata* résistants au fluconazole est de 6% et 10-13%. 9% d'*Aspergillus fumigatus* sont résistants aux azolés dans les aspergilloses invasives.

La surveillance de *C. auris* se poursuit (4 infections et 13 colonisations), en augmentation. Des infections invasives à *Wickerhamomyces anomalus* en lien avec l'usage de drogue par voie intraveineuse sont en cours d'exploration.

Le LA-INuSuAle assure la surveillance des pathogènes fongiques émergents avec un système d'alerte automatique par mail et 230 000 identifications fongiques ont été obtenues via MSI-2 comprenant 115 utilisateurs (+20).

Le LA-AspC a (i) expertisé 21 isolats d'aspergillose chronique dont 3 isolats d'*A. fumigatus* avec des CMI hautes in vitro aux azolés, (ii) développé une stratégie d'analyse de génome entier et (iii) expertisé environ 400 sérologies aspergillaires.

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

In 2024, the CNRMA continued its work on invasive fungal infections in France with two associated laboratories: AspC (chronic aspergillosis) and INUSUale.

This year, key activities for CNRMA-IFI, included coordinating the new national surveillance network SINFONI, involving 60 metropolitan and overseas hospital centers; conducting the multidisciplinary scientific advisory board integrating global health aspects, and organizing meetings with veterinarians and surveillance projects linked to resistance in the environment. The network's annual day was organized, along with a half-day with collaborators from French overseas departments and territories.

There was a sharp increase in case declarations (3,500) and isolates received (1,120), adding significant workload. From January 2023, 7,389 cases were reported, with a stable 3-month 40% mortality rate: fungemias (56%), pneumocystosis (17%), aspergillosis (15%), and mucormycosis (4%). Five percent of patients had concurrent influenza or SARS-CoV-2 infection. Patients with hematologic malignancies or solid tumors were most affected (35%), with no clear increased risk related to newly monitored therapies.

Candida resistance to echinocandins remained low (<1%). The percentage of *C. parapsilosis* and *C. glabrata* isolates resistant to fluconazole is 6% and 10-13%. Nine percent of *Aspergillus fumigatus* strains are resistant to azoles.

Surveillance of *Candida auris* colonizations and infections continued to rise: 4 infections and 13 colonizations reported in 2024. Invasive infections with *Wickerhamomyces anomalus*, strongly linked to intravenous drug use, have been identified and are under investigation.

INUSUal implemented an automatic email alert system to monitor emerging fungal pathogens, with 230,000 fungal identifications performed using MSI-2, now used by 115 users (+20 compared to 2023).

AspC (i) analyzed 21 *Aspergillus* isolates from chronic aspergillosis cases, including 3 *A. fumigatus* isolates with high azole MICs and mutations on the CYP51A gene (G54E, M220V, and TR46/Y121F/T289A); (ii) launched a whole genome sequencing strategy; and (iii) analyzed approximately 400 aspergillus serologies.

1.A Missions et organisation du CNRMA – IFI

Aucun changement n'est intervenu au cours de l'année 2024 concernant les missions et l'organisation du CNRMA (Figure 1). Des changements au-niveau du personnel sont intervenus depuis le début de l'année (Tableau 1). Nous indiquons ici l'organigramme du CNRMA-IFI actuel (Figure 2). Depuis le 1er janvier 2023, le CNRMA est rattaché au Département de Mycologie de l'Institut Pasteur et comprend dans sa structure un groupe de recherche intitulé Mycologie Translationnelle. De plus, trois laboratoires associés ont également été créés. Le laboratoire associé des Aspergilloses Chroniques (LA-AspC) est proposé par les services de Parasitologie-Mycologie des CHU de Bordeaux et de Rennes, adossés à l'équipe 2 de l'U1045 (Inserm Bordeaux) et l'équipe 2 de l'Irset (UMR S_1085 Inserm) à Rennes; et le laboratoire associé Identification Numérique, Surveillance épidémiologique, Alerte (LA-INuSuAle) est proposé par le service de Parasitologie-Mycologie du CHU de La Pitié-Salpêtrière (AP-HP, Sorbonne Université), adossé à l'Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique (iPLESP, UMR_S 1136 INSERM/UPMC), et au centre de recherche SCAI - Sorbonne Center for Artificial Intelligence (Sorbonne Université). L'activité de ces laboratoires pour l'année 2023 est rapportée indépendamment pour chaque laboratoire.

1.1 Organigramme

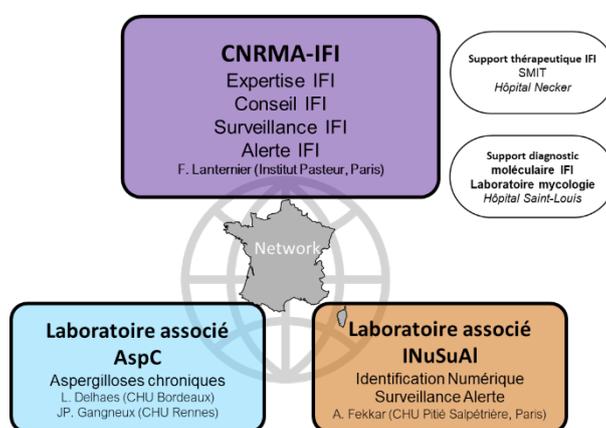


Figure 1 : Structuration du CNRMA et des laboratoires associés

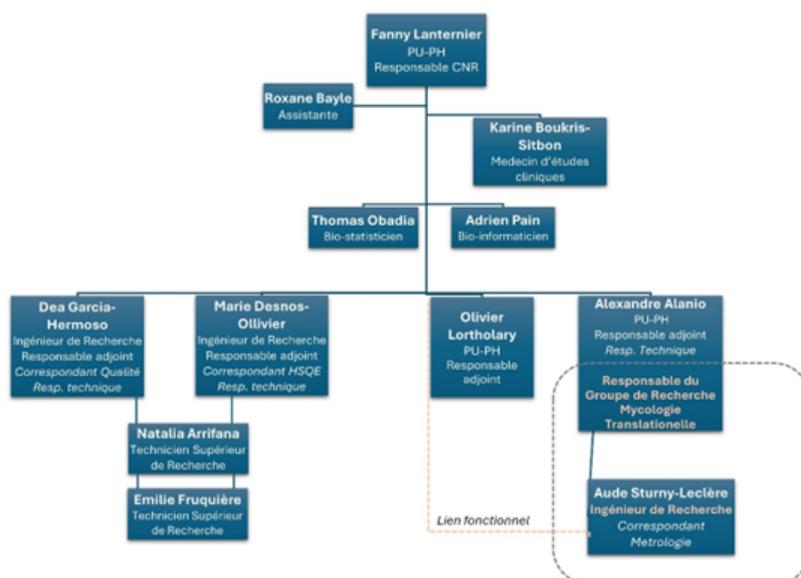


Figure 2 Organigramme du CNRMA-IFI

Tableau 1. Liste du personnel travaillant au CNRMA entre janvier et décembre 2024

Nom	Fonction	ETP	Qualification/statut	Organisme payeur
Alexandre Alanio	Responsable adjoint/ Responsable groupe de recherche Mycologie Translationnelle	20%	Docteur en médecine, Thèse d'université / PU- PH Hôpital Saint Louis	AP-HP / Université Paris Cité
Natalia Arrifana (depuis 02/10/2024)	Technicienne	100%	BTS/Technicien supérieur de laboratoire	Institut Pasteur
Roxane Bayle	Assistante	40%	Technicienne administrative de gestion	Institut Pasteur
Karine Boukris- Sitbon	Médecin d'Etudes Cliniques	50% puis 60% depuis 01/09/2023	Docteur en Médecine / Cadre Administratif et Technique	Institut Pasteur
Marie Desnos- Ollivier	Responsable adjoint	100%	Thèse d'université / Ingénieur	Institut Pasteur
Sandrine Favre- Rochex (du 01/06/2023 au 15/10/2024)	Technicienne	100%	BTS / Technicien supérieur de laboratoire	Institut Pasteur
Emilie Fruquière	Technicienne	100%	BTS / Technicien supérieur de laboratoire	Institut Pasteur
Dea Garcia-Hermoso	Responsable adjoint	100% puis 80% depuis 01/11/2023	Thèse d'université / Ingénieur	Institut Pasteur
Fanny Lanternier	Responsable du CNRMA	50%	Docteur en médecine, Thèse d'université / PU- PH Hôpital Necker- Enfants Malades	AP-HP / Université Paris Cité
Olivier Lortholary	Responsable adjoint	20%	Docteur en Médecine, Thèse d'université / PUPH Hôpital Necker-Enfants Malades	AP-HP / Université Paris Cité
Thomas Obadia	Ingénieur Biostatistiques	25%	Thèse d'université / Ingénieur	Institut Pasteur
Adrien Pain (depuis 02/11/2024)	Bio-informaticien	30%		Institut Pasteur
Aude Sturny-Leclère	Ingénieur de recherche	100% (Groupe de recherche attaché au CNRMA-IFI)	Ingénieur	Institut Pasteur

1.2 Mission et Organisation

Les missions, les locaux et équipements, les collections et la démarche qualité sont détaillés en Annexe 1

1.3 Démarche Qualité

Le CNRMA a été accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 en mars 2015 (n°8-2588). La portée d'accréditation est visible sur le site du COFRAC. Le CNR poursuit la démarche d'accréditation selon les conditions imposées par la Loi du 30 mai 2013 (2013-442).

Ci-après le récapitulatif des analyses réalisées en 2024 déclaré à l'ARS

CNR	Famille	Sous famille	Activités de biologie médicale	Nb analyses 2024	Accrédité A ou Non Accrédité NA
CNR Mycoses invasives & Antifongiques	Microbiologie	Parasito-Mycologie	Distinction moléculaire entre <i>Candida albicans</i> et <i>C. dubliniensis</i>	76	A

La dernier audit COFRAC a eu lieu le 27 juin 2022 et aucune fiche d'écart n'a été établie par l'auditrice.

1.B Missions et organisation des laboratoires associés Aspergilloses Chroniques

1.1 Organigramme

Pas de changement par rapport à 2023, voir en annexe 1.

1.2 Mission et Organisation

En 2024, les laboratoires associés LA-AspC Nord et Sud ont déployé leurs sites internet :

- [LA-AspC Nord](#)
- [LA-AspC Sud](#)

1.3 Démarche Qualité

Le LA AspC-Nord est labélisé LBMR (Laboratoire de Biologie Médicale de Référence) pour le « Diagnostic des infections pulmonaires fongiques » depuis 2021, et labélisé Centre d'Excellence Européen en Mycologie Médicale (ECMM-EC) depuis 2023.

Le LA AspC-Sud a été reconnu en 2024 LBMR (Laboratoire de Biologie Médicale de Référence) pour le « Diagnostic des infections fongiques ». Il a également été audité en décembre 2024 pour l'identification fongique moléculaire par séquençage Sanger, et la demande d'accréditation est en cours

1.C Missions et organisation du laboratoire associé INUSUALE

1.1 Organigramme

Organigramme inchangé

1.2 Mission et Organisation

Missions et organisation inchangées.

De nombreux utilisateurs ont rejoint le réseau INuSuAle avec un total de 115 comptes actifs répartis sur le territoire national, métropole et outre-mer, soit 20 sites supplémentaire par rapport à 2023.

1.3 Démarche Qualité

Le CNR INUSUALe est situé dans le périmètre du service de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris.

Ce service a été reconnu en 2024 Laboratoire de Biologie Médicale de Référence (LBMR) pour les activités suivantes :

- « Identification des espèces fongiques rares et des espèces cryptiques »
- « Caractérisation des mécanismes de résistance et analyse génotypique des agents fongiques »
- « Diagnostic de l'histoplasmosis »
- « Diagnostic des dermatophyties et infections apparentées »

Par ailleurs, ce service est accrédité pour toutes les familles d'analyses ayant trait aux actes de mycologie médicale. Des visites du COFRAC sont régulièrement effectuées ; une visite s'est tenue du 18 au 21 novembre 2024 ; les évaluateurs n'ont relevé aucun écart par rapport à la norme ISO 15189 dans le cadre de l'accréditation du Pôle de biologie du CHU La Pitié-Salpêtrière (supervision : Dr Ferial Touafek, responsable assurance qualité dans le service). Ainsi, en 2024, le laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'hôpital de La Pitié-Salpêtrière a été confirmé dans son accréditation pour les méthodes reconnues, adaptées ou développées (portée B) pour la recherche et l'identification d'agents fongiques en microscopie optique, culture, spectrométrie de masse et biologie moléculaire. N° accréditation COFRAC : 8-3253, portée flexible. Date de validité du 01/05/2023 au 31/03/2028 : liste des sites et portées disponibles sur le site du Cofrac - <https://www.cofrac.fr>.

2.A Activités d'expertise du CNRMA-IFI

Les techniques disponibles au CNRMA sont détaillées en Annexe 2.

2.1 Évolution des techniques

Listez ici les nouvelles techniques développées ou en développement.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Intérêt du beta-D-glucane dans le diagnostic des IFI

Récemment, une évaluation de l'intérêt du BDG a été mise en place dans le contexte des recommandations européennes de l'ECIL-9 (A. Alanio) avec l'analyse bibliographique des performances du BDG dans les fusarioses et les scedosporioses. Notre évaluation de la littérature (nombre de cas analysable restreints) a abouti à des valeurs de sensibilité de 76,7% et 81,5% pour le diagnostic des fusarioses et des scedosporioses, respectivement ¹.

Développement d'un test rapide de diagnostic de la cryptococcose

Une évaluation du test dans le sérum chez des patients asymptomatiques à risque a montré un taux de faux positif important qui a pu être diminué avec l'utilisation d'un protocole de chauffage simple (100°C 5 min) avec un impact existant mais minime sur la sensibilité. Par ailleurs, ce test a montré des limites en termes de sensibilité pour le diagnostic des cryptococcoses liés à *C. gattii complex*².

Cryptococcose, histoplasmosse et talaromyose : Évaluation et implémentation de nouveaux outils de diagnostic rapides pour les IFI sur le terrain

Afin d'étudier le poids de l'histoplasmosse en Afrique chez les patient VIH (PVVIH), nous avons initié un premier travail de recherche à partir d'une bio-banque d'échantillons de patients pris en charge pour une tuberculose (STATIS ANRS-12290), l'étude EVADIAG-Histo. Nous avons bénéficié un contrat d'initiation ANRS en janvier 2023. Les objectifs d'EVADIAG-Histo sont les suivants : (I) évaluation de deux nouveaux tests antigéniques rapides pour le diagnostic de l'histoplasmosse et, (II) étude de prévalence de l'histoplasmosse sur deux sites d'Afrique Sub-saharienne (Abidjan en Côte d'Ivoire et Mbarara en Ouganda). Le projet STATIS 2014-2017, a pris en charge des patients ambulatoires (CD4+ <100 cells) dans deux bras de traitement antituberculeux. Sur l'année 2023, en parallèle des démarches juridiques et administratives (dossiers IRB, CESREES, CNIL et Comité Ethique Abidjan), au travers d'une première mission sur site (juillet 2023) nous avons déterminé les indices de performances de ces nouveaux TDRs (sensibilité et spécificité) et étudié la prévalence de l'histoplasmosse sur un premier groupe de patients à risques (patients décédés durant l'étude et patients sans preuve microbiologique de tuberculose) sur le site d'Abidjan (site I). Aux vues de résultats très satisfaisants, nous avons fait une demande d'extension de budget à l'ANRS pour évaluer la prévalence de la co-infection histoplasmosse tuberculose, sur l'intégralité de la cohorte STATIS de la Côte d'Ivoire (accepté en décembre 2023). La seconde mission s'est déroulée à Abidjan en février 2024. Les analyses sont en cours. Les démarches juridiques sur le site de l'Ouganda (site II) sont encore en cours et la mission pour Mbarara se profile pour juin 2024. Dans la continuité d'EVADIAG-Histo, nous avons décidé de poursuivre ce travail sur la même bio banque

¹ Med Mycol 2023, doi: 10.1093/mmy/myad061

² Med Mycol 2022, doi: 10.1093/mmy/myac078

d'échantillons (STATIS) sur le site du Cambodge, également partenaire de cette étude (199 patients inclus), avec l'Institut Pasteur de Phnom Penh (FUNgi-Cam). Nous étudierons la prévalence de la cryptococcose, de l'histoplasmose et de la talaromycose, trois infections fongiques invasives insuffisamment diagnostiquées chez les PVVIH, par manque de connaissances et de méthodes diagnostiques locales. Nous avons obtenu une subvention de recherche par l'ANRS (2024-2026) à la suite du dépôt du projet aux appels d'offres du printemps 2023. Grâce aux données satisfaisantes obtenues sur les sites Africains, nous avons sélectionné le test MiraVista, pour la méthode de diagnostic rapide pour l'histoplasmose. Les tests antigéniques utilisés pour le diagnostic de la talaromycoses (test rapide et ELISA) sont encore en cours de validation. Les données obtenues pour *Talaromyces* participeront à finaliser une évaluation en cours avec un collègue chercheur de Duke University.

En combinant les nouveaux outils de diagnostic, la formation appropriée des cliniciens et des équipes de laboratoire et l'accessibilité aux traitements, la mortalité liée à la cryptococcose, à l'histoplasmose et à la talaromycose, pourrait être réduite. Dans les zones à forte prévalence du VIH et de la tuberculose, nous pensons qu'il est essentiel de mettre ces stratégies pour une meilleure prise en charge des PVVIH.

A noter, grâce aux performances obtenus sur les tests rapides de l'antigène *Histoplasma* urinaire dans l'étude EVADIAG-Histo, le test rapide MiraVista sera mise en place en 2024 au laboratoire de mycologie de l'hôpital Saint-Louis.

Mucormycose

Nous avons évalué le kit MucorGenius comparé à la qPCR utilisée à l'Hôpital Saint-Louis. Un total de 25 échantillons de sérum (13 échantillons de cas de mucormycoses prouvée ou probable) a été évalué. Les résultats montrent que le kit MucorGenius est moins sensible (4/13, 31% positif uniquement) que la PCR locale (9/13, 69%) en particulier avec une diminution importante de la sensibilité pour le genre *Lichtheimia*³.

Identification de l'espèce par test multiplex dans les hémocultures

Nous avons évalué le panel BCID 2 méthode Biofire (Biomérieux) pour l'identification des *Candida* dans les hémocultures. Sur les 3 hémoculture à *Candida albicans* incluse dans cette étude, seules 2 (66%) ont pu être détectées par la méthode BCID2⁴.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

PCR *auris*

La qPCR en temps réel *C. auris* spécifique permet une détection moléculaire rapide de *C. auris* aussi directement dans les échantillons cliniques. Elle est indiquée lors des phases de screening à l'hôpital après la détection d'un cas fortuitement ou directement en dépistage à l'arrivée à l'hôpital à la place ou en complément de la culture fongique. Ces dernières années plusieurs méthodes ont été développées en particulier dans les pays où des épidémies ont lieu régulièrement. A l'hôpital Saint-Louis, à l'occasion d'un cas de transmission en réanimation brûlés, nous avons mis en place une qPCR *C. auris* spécifique permettant de détecter au minimum une CFU. Elle est actuellement utilisée en routine pour cribler les patients à risque des Hôpitaux Saint-Louis Lariboisière Bichat Beaujon Louis Mourier et Robert Debré. Un protocole standardisé en termes de méthode d'extraction et d'amplification a été rédigé et partagé avec les centres du réseau SINFONI. A ce jour, le protocole a été partagé avec 4 centres (Nantes, Strasbourg, Nancy et Amiens) qui sont en train de l'implémenter localement. D'autres centres utilisent des kits commerciaux qui sont par définition plus onéreux.

Le protocole d'extraction et le protocole de qPCR *histoplasma* permettant le diagnostic moléculaire de l'histoplasmose⁵ a été transféré au CHU de la Martinique (Pr Nicole Desbois) permettant le diagnostic fiable et rapide des histoplasmoses en zone de forte endémie.

³ Journal of Fungi 2022, doi: 10.3390/jof8080786

⁴ Microbial Spectr 2023, doi: 10.1128/spectrum.02547-22

⁵ J Mol Diagn, doi: 10.1016/j.jmoldx.2021.02.007

2.4 Collections de matériel biologique

=> Cf Annexe 4 pour 2024

L'organisation, les conditions de stockage et de mise à disposition des collections de matériel biologique du CNR sont détaillées en **annexe 4**. Tous les isolats reçus au CNRMA pour expertise ou dans le cadre des surveillances sont stockés selon les conditions détaillées dans cet annexe.

Au cours de l'année 2024 : 1122 isolats ou prélèvements ont été reçus, 888 ont été analysés et stockés au CNRMA (détails dans le chapitre 2.5) et 6 ont été transférés directement au laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'hôpital Saint Louis à Paris pour diagnostic.

De plus, à la demande de certains laboratoires nous avons transmis des isolats cliniques, après accords des correspondants expéditeurs et signature d'un MTA et selon les normes de sécurité en vigueur (Tableau 2).

Tableau 2. Matériel biologique distribué par le CNRMA en 2024

Nature du matériel biologique	Quantité	Destinataire
souche	1	Laboratoire Parasitologie-Mycologie, CHU Strasbourg
souche	1	Laboratoire d'hydrologie de Nancy, ANSES
souche	2	University of Stellenbosch, Afrique du Sud
souche	34	Laboratoire Parasitologie-Mycologie, CHU Bordeaux
souche	43	Laboratoire Parasitologie-Mycologie, CHU Besançon
ADN	16	Hôpital Saint Louis, Paris

2.5 Activités d'expertises

Le CNRMA a reçu 1122 échantillons en 2024 dont 12% n'étaient pas conformes soit en-dehors des missions (espèces fréquentes ne nécessitant pas un envoi n=28; ou espèces hors mission (mycoses superficielles) n=32) soit acheminés par erreur sur le site de l'Institut Pasteur pour le laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital Saint Louis (n=6) . Cette proportion plus importante de non-conformité par rapport aux années antérieures s'explique par l'augmentation du nombre de nouveaux centres correspondants qui n'étaient pas habitués aux conditions d'envoi des échantillons.

Des avis concernant la prise en charge diagnostique et thérapeutiques des infections fongiques sont réalisés par les Pr Fanny Lanternier et Olivier Lortholary en collaboration avec l'ensemble des cliniciens du service de maladies infectieuses et tropicales de l'hôpital Necker Enfants malades via une ligne téléphonique dédiée et l'adresse générique cnrma@pasteur.fr, en particulier le Dr Perrine Parize et le Dr Alexandra Serris. Par ailleurs a été mise en place une RCP nationale par visioconférence avec des mycologues, infectiologues et pharmacologues ainsi que le support du secrétariat du service de maladies infectieuses et tropicales de l'Hôpital Necker Enfants Malades. Un compte rendu résumant les recommandations est envoyé par mail aux médecins ayant sollicités l'avis. Nous avons donné 271 avis par la RCP en 2024 ainsi qu'environ 5 à 7 avis téléphoniques ou par mail chaque semaine pour la prise en charge d'infections invasives complexes.

Le bilan pour l'année 2024 est présenté dans le tableau 3.

Tableau 3 : Bilan des expertises pour l'année 2024

	NOMBRE DE SOUCHES CONCERNEES			
	TOTAL	levures	filamenteux	Classe 3
Nombre d'avis donnés dans le cadre de la RCP nationale	271			
Nombre d'avis cliniques donnés en dehors de la RCP	>800			
Nombre de fiches de déclarations monitorées	4513	-	-	-
Nombre de souches expertisées	888/1122*	591	297	11
Nombre de souches testés en technique MALDI-Tof	591	591	-	-
Détermination de la sensibilité aux antifongiques (EUCAST, nombre de souches)	888	591	297	-
Amplification PCR et Séquençage Sanger (nombre de souches)	621	295	315	11
Sérotypage <i>C. neoformans</i> complex par PCR triplex (nombre de souches)	55	55	-	-
Génotypage par MLST (nombre souches)	7	7	-	-
Génotypage par microsatellites (nombre souches)	51	51	-	-
Détection mutation liée à la résistance (nombre souches)				
- <i>FKS</i>	38	38		-
- <i>CYP51A/ERG11</i>	76	59	17	-
Séquençage génome entier (nombre souches)	201	169	32	-
Diagnostic moléculaire échantillons biologiques (envoi CNRMA=> SLS)	6	2	-	4

*certaines souches ne sont pas expertisées car soit annulées soit aucune croissance et donc analyse complète impossible

Nous indiquons dans la Figure 3 le détail pour chaque technique. Pour la détermination de la sensibilité aux antifongiques : 888 échantillons ont été testés nécessitant la préparation de 923 plaques selon le protocole standardisé EUCAST pour tester 8 ou 9 antifongiques par souche. De même pour le séquençage Sanger, plusieurs loci peuvent être amplifiés par PCR puis séquencés afin de permettre la détermination de l'espèce ou le génotypage donc le nombre d'échantillons testés indiqués dans le tableau 3 ne reflète pas forcément le nombre d'expériences mises en œuvre.

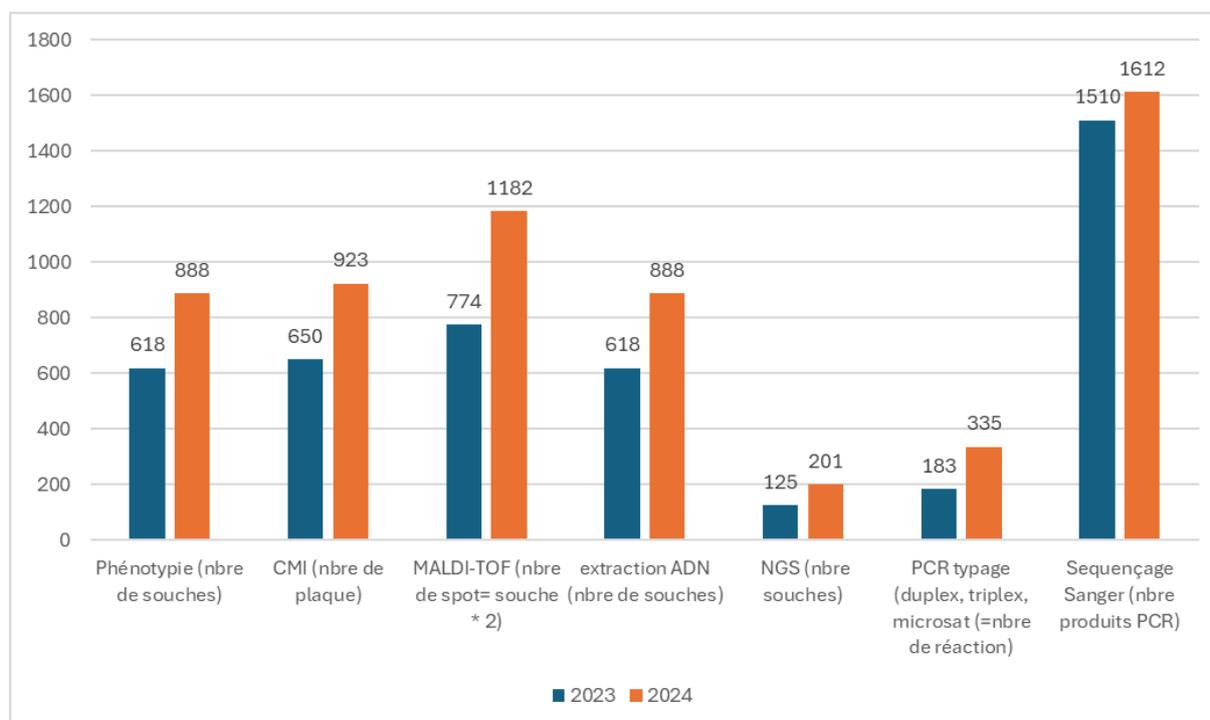


Figure 3 : Total des activités techniques réalisées au CNRMA en 2023 et 2024.

Expertise 2024 sur les levures

En 2024, 591 isolats de levures ont été analysés au CNRMA-IFI. Ces isolats appartenaient à 48 espèces distinctes appartenant à 20 genres différents, principalement des espèces ascomycètes (n=39). Les espèces principalement reçues correspondent aux espèces majoritairement responsables d'infections fongiques invasives (*Candida albicans*, *Nakaseomyces glabratus*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ...), d'après les données de surveillance, mais également à des espèces impliquées dans des cas groupés et/ou des études spécifiques (*Wickerhamomyces anomalus*, *Candidozyma auris*, *Trichosporon austroamericanum*) (Figure 4).

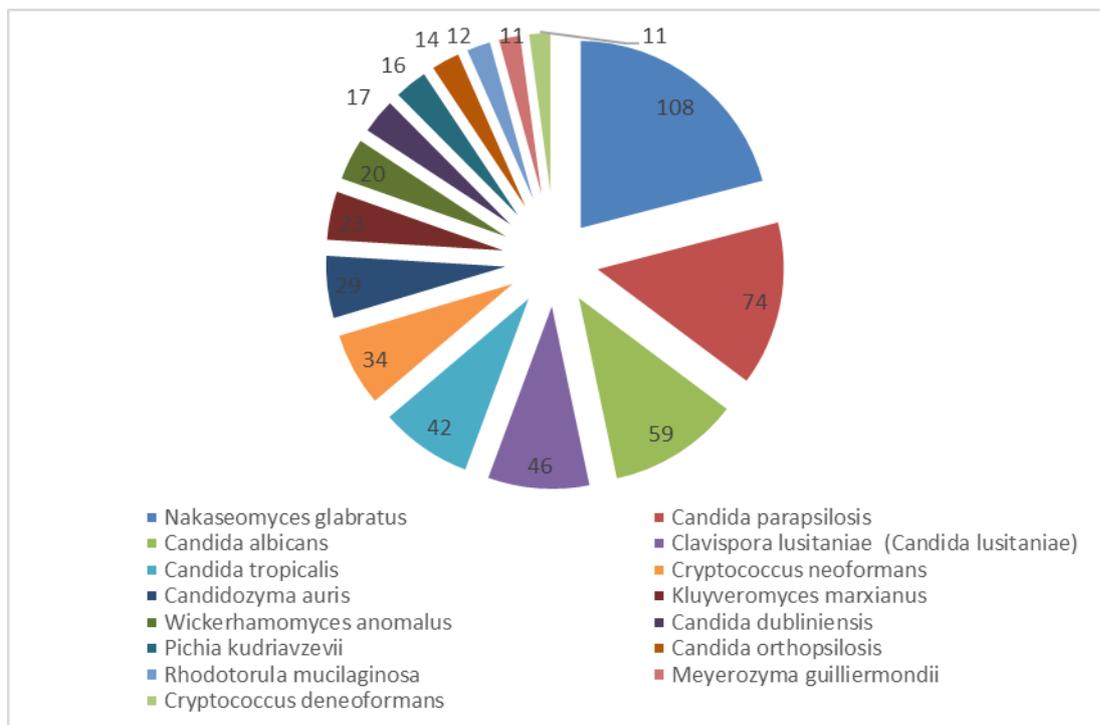


Figure 4 : Répartition des espèces de levures pour lesquelles plus de 10 isolats ont été analysés au CNRMA-IFI en 2024

Cependant la répartition des espèces de levures reçues pour analyse au CNRMA, dans le cadre de la surveillance, ne reflète pas la répartition des espèces responsables d'infections invasives, qui elle, est détaillée dans le chapitre sur la surveillance épidémiologique. En effet, les espèces les plus fréquentes (*C. albicans*, *C. parapsilosis stricto sensu*, *C. tropicalis*, *N. glabratus*, *Pichia kudriavzevii*, *Kluveromyces marxianus*), pour lesquelles il n'y a pas de risque de mauvaise identification avec les techniques utilisées par les laboratoires faisant partie du réseau SINFONI, ne sont pas envoyées au CNRMA sauf si leur profil de sensibilité aux antifongiques est inhabituel pour l'espèce (suspicion de résistance). Cette liste d'espèces a été modifiée durant l'année aux vues des données microbiologiques (bonne identification par MALDI-Tof) : nous avons également ajouté *Clavispora lusitaniae*, *Saccharomyces cerevisia*. Les modifications sont notifiées par email à l'ensemble des correspondants SINFONI et indiquées sur le site web du CNRMA dans la fiche guide de déclaration (https://www.pasteur.fr/sites/default/files/guide_de_declaration_sinfoni.pdf).

En 2024, 20 isolats de l'espèce *W. anomalus* (syn. *C. pelliculosa*) ont été reçus car un épisode de cas groupés a été notifié au CNRMA-IFI et une étude comparative des souches de cette espèce a été mise en place. De même 29 isolats de *Candidozyma auris* (syn. *Candida auris*) ont été reçus correspondant principalement à des cas de transmission avec de nombreux isolats provenant d'un même patient.

Une surveillance des infections et colonisations à *Candida auris* est recommandée en France. Une note (https://www.pasteur.fr/sites/default/files/note_cauris_juin_2023.pdf) a été réalisée entre le CNRMA, la SFMM et la SF2H pour proposer des mesures de dépistage ainsi que recommander la déclaration des cas d'infections et colonisations par e-sin auprès de Santé Publique France ainsi que la réalisation d'une déclaration des données épidémiologiques auprès du CNRMA ainsi que l'envoi de la souche pour antifongigramme en EUCAST et l'analyse des données de génome entier (cf : Chapitre 4).

Expertise 2024 sur les champignons filamenteux

En 2024, les champignons filamenteux reçus au CNRMA-IFI étaient isolés principalement des poumons (48%), de la peau (15%), du sang (9%), des os (9%), de la sphère ORL (6%) et de l'œil (3%). Nous avons également reçu des souches isolées des articulations, du cerveau, du cœur et de l'appareil digestif avec 2 ou 3 isolats pour chacun des sites (≈1%).

Nous avons caractérisé cette année plus de 320 champignons filamenteux et avons identifié 93 espèces de 40 genres différents appartenant aux 12 Ordres (Figure 5). Dans l'ordre des *Eurotiales* comme chaque année le genre *Aspergillus* était majoritaire avec plus de 150 espèces appartenant à sept sections différentes. Les membres de la section *Fumigati* étaient les plus fréquents (41%) suivi de la section *Nigri* (21%), *Flavi* (17%), *Nidulantes* (10%) et *Terrei* (8%) majoritairement (Figure 6).

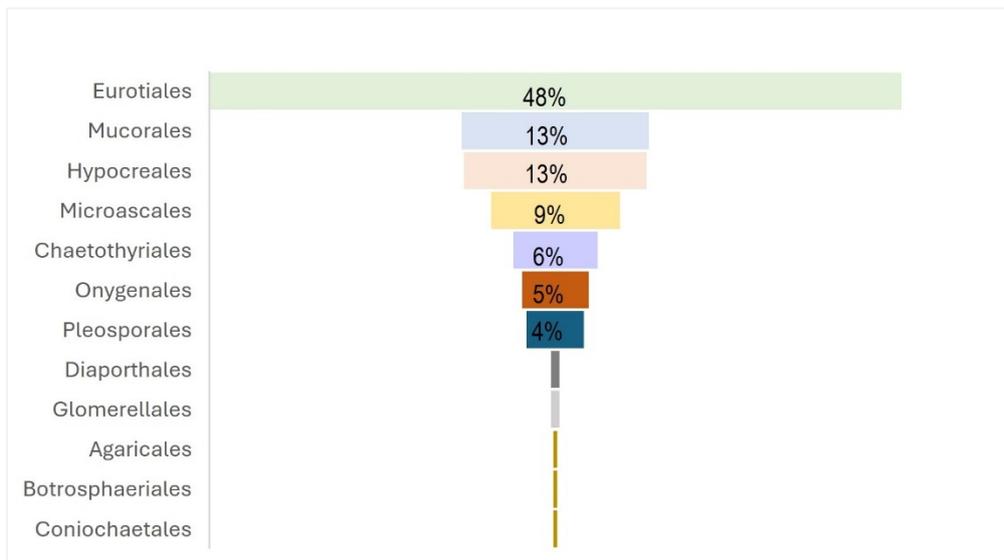


Figure 5 : Répartition des espèces de champignons filamenteux identifiées en 2024 selon l'Ordre correspondant

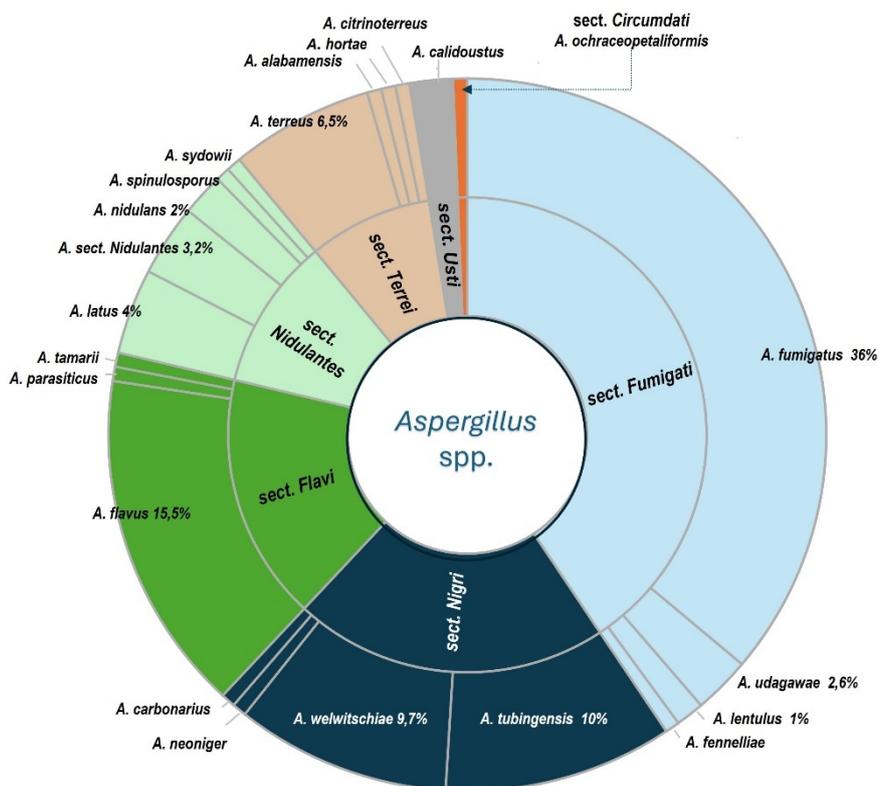


Figure 6 : Distribution des 155 souches d'Aspergillus identifiées en 2024 par espèce et par section

Les genres *Mucor* et *Rhizopus* dans l'ordre des *Mucorales* ont représenté 38% des espèces respectivement. Plus de 70% des espèces identifiées dans l'ordre d'*Hypocreales* appartiennent aux genres *Fusarium* et *Neocosmospora*. Dans l'ordre de *Chaetothyriales*, l'espèce prédominante était *Exophiala dermatitidis* représentant 36% des cas, suivi de près par *Fonsecaea nubica* qui en constituait 31%. Concernant les champignons de classe 3, nous avons reçu onze souches d'*Histoplasma capsulatum* en 2024.

Expertise diagnostique et moléculaire à l'Hôpital Saint-Louis

La généralisation de la PCR quantitative (qPCR) avec les optimisations et les contrôles adéquats permet de multiplier les tests diagnostic, de remplacer certaines méthodes, comme la microscopie, et d'en compléter d'autres, comme les recherches d'antigènes. Ces tests qPCR ont été optimisés dans le laboratoire de Mycologie-Parasitologie de l'hôpital St Louis en insistant sur les étapes pré-analytiques. Ces tests pratiqués en routine concernent l'aspergillose invasive, la pneumocystose, les mucormycoses, la fusariose et l'histoplasme. Pour l'aspergillose invasive et la pneumocystose, l'immense majorité des laboratoires hospitaliers réalisent ces examens. La question est donc l'harmonisation des pratiques. Ces demandes ont principalement concerné les diagnostics d'histoplasme et des fusarioses.

Le diagnostic d'histoplasme a donc été possible à partir de prélèvement invasifs (biopsies de tissu pathologique), superficiel (e.g. écouvillons cutané/buccal) et à partir de sang prélevé sur anticoagulant. Un total de 30 prélèvements de 24 patients a été détecté positif sur 1265 tests réalisés en 2024 chez 961 patients. Les données de l'évaluation, de cette qPCR ont été publiées et la qPCR développée rendue publique à travers un programme de validation de contrôle externe européen (Dr Dunja Wilmes, Berlin)⁶.

Le diagnostic moléculaire de coccidioïdomycose a été réalisé à partir de tout type de prélèvement invasif ou sanguin chez des patients à risque. Un total de 2 prélèvements respiratoires chez 2 patients a été détecté positif sur 205 tests réalisés en 2024 chez 151 patients. Les données de l'évaluation, de cette qPCR ont été publiées et la qPCR développée rendue publique à travers un programme de validation de contrôle externe européen (Dr Dunja Wilmes, Berlin)⁷.

Après avoir développé une qPCR *Fusarium spp.*, nous proposons cet examen pour les centres français depuis 2022. En 2024, nous avons réalisés 479 tests chez 219 patients avec 93 prélèvements positifs (19%).

2.6 Activités de séquençage

En 2024, le total des produits PCR est de 1947 (1612 produits envoyés pour séquençage par la technique Sanger et 335 produits de PCR point final pour analyse microsatellites ou lecture direct sur gel d'électrophorèse) pour 407 isolats de levures et 217 isolats de champignons filamenteux. Le nombre d'isolats dont le génome entier a été séquencé est de 201 en 2024.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Le séquençage Sanger est réalisé par la société EUROFINS, situé à Cologne. Le séquençage en urgence par la technique Sanger peut être demandé et effectué par le pôle génotypage de la CIBU sur le site de l'Institut Pasteur. L'Institut Pasteur est doté d'une plateforme dite Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) pour le séquençage génome entier, qui est ouverte à l'ensemble des CNRs ainsi qu'aux laboratoires de référence dans le Réseau International des Instituts Pasteur et instituts associés.</p> <p>La technologie utilisée par P2M est la technologie Illumina (fabrication des librairies + séquençage). Les banques sont préparées avec le kit Nextera XT et engagées sur le séquenceur NextSeq 500. Une série de matériels est également utilisée pour réaliser les contrôles de qualité tout au long du processus de fabrication de séquence. Des robots pipeteur et extracteur permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN et amplicons avant d'entrer dans le pipeline de production.</p>

⁶ Mycoses 2023, doi: 10.1111/myc.13603

⁷ Mycoses 2023, doi: 10.1111/myc.13603

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Le CNRMA ne dispose pas de bioinformaticien dans l'équipe, mais les ingénieurs sont autonomes pour l'analyse des données de séquençage Sanger, génotypage par microsatellites et se forment pour travailler en collaboration avec les bioinformaticiens du HUB à l'analyse des données NGS. Le CNR a la possibilité de faire appel à une expertise bio-informatique, en sollicitant les services supports en interne à l'Institut Pasteur. Ils ont actuellement l'aide du bio-informaticien de P2M, qui qualifie et réalise une analyse de premier niveau (contaminations, qualité, assemblage) sur les données sortantes. Les bioinformaticiens du HUB peuvent également apporter leur aide aux CNRs, pour le développement de méthodes de génotypage et d'autres pipelines d'analyses des séquences, y compris en cas d'épidémie. Malheureusement, la demande est très supérieure à l'offre. Depuis le 15 novembre, un bio-informaticien du HUB (Adrien Pain) a été détaché à 30% à l'activité du CNRMA-IFI, pour une durée d'un an.</p> <p>Les outils pour l'édition et l'analyse des données de séquençage Sanger sont des licences de Geneious, Sequencher. Les analyses phylogénétiques sont effectuées avec Geneious, Mega. Les données de génotypage par microsatellites sont analysées avec le logiciel d'accès gratuit PeakScanner et Bionumerics.</p> <p>Les données de génome entier sont analysées sur le cluster de l'Institut Pasteur avec des outils en accès libre : modules samtools, minimap, bwa, freebayes, vcftools, IQtree, et/ou mis au point par des bio-informaticiens du HUB : SAM2MSA. Les comparaisons de données SNPs et les métadonnées sont analysées également avec iTol, Microreact.</p>

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Dans le cas de la surveillance et comme détaillé dans l'annexe 2, nous faisons du séquençage multi-locus pour l'ensemble des champignons filamenteux et des levures rares. De plus, dans le cas d'épidémies nous faisons selon le groupe fongique du séquençage multilocus et/ou génome complet.

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Les analyses bio-informatiques utilisés au CNRMA consistent principalement en des analyses phylogénétiques et cgMLST. La majorité des analyses sont faites dans le cadre de l'activité d'expertise ou de surveillance et ne sont donc pas faites en première ligne. Cependant, certaines analyses sont réalisées selon la procédure d'urgence au CNR (première ligne), généralement pour des agents pathogènes de classe 3.

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

En 2024, le séquençage génome entier de 116 souches a été réalisé dans des investigations de cas groupés pour des souches de *Candida auris* (n=26), *Wickerhamomyces anomalus* (n=52), *Trichosporon austroamericanum* (n=31), *Saprochaete clavata* (n=3) et *Magnusiomyces capitatus* (n=4). De plus, le génotypage par MLST a été fait pour 7 souches de *N. glabratus* et *C. tropicalis*

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

	Nbre d'espèces concernées	Nbre d'isolats
Séquençage Sanger pour identification	48 levures, 93 champignons filamenteux	295 levures + 321 filamenteux
Séquençage NGS	5	85
Séquençage <i>FKS</i>	6	38
Séquençage <i>CYP51A/ERG11</i>	2	59 levures + 21 <i>A. fumigatus</i>
Génotypage microsatellites	1	51

Pour l'identification au niveau de l'espèce dans le cadre de la surveillance, toutes les souches, en dehors des espèces fréquentes de levures (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. dubliniensis*) sont identifiées par séquençage Sanger d'un ou plusieurs loci (détails des loci en annexe 1). Le génotypage par MLST ainsi que la détection de mutation liée à la résistance aux antifongiques sont réalisés par séquençage Sanger dans le cadre de la surveillance en cas de profil de résistance in vitro et/ou d'isolats provenant d'un même patient ou recueillis lors de suspicion de cas groupés.

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génômes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées : Toutes les données de séquences issues du séquençage Sanger ainsi que les données de génotypage sont stockées dans notre base de données fermée Biolomics et une grande partie est consultable en ligne sur le site Institut Pasteur-FungiBank dont le CNRMA-IFI est le responsable et le curateur.

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : Les données de séquençage génome entier (données brutes, fastq files) ainsi que les séquences issues du séquençage Sanger (fasta files) sont déposées dans les bases de données publiques, généralement NCBI, lorsque ces données sont utilisées pour des publications dans des journaux à comité de lecture. Les données de séquences correspondant aux séquences MLST sont déposées régulièrement dans les bases de données accessibles en ligne existantes (pour *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. neoformans*).

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Toutes les données de séquences issues du séquençage Sanger ainsi que les données de génotypage sont stockées dans notre base de données fermée Biolomics dont une grande partie est consultable en ligne sur le site Institut Pasteur-FungiBank dont le CNRMA est le responsable et le curateur. La base de données est gérée en collaboration avec la société Bioaware qui a créé le logiciel Biolomics. Elle est constituée des séquences nucléotidiques et protéiques des souches fongiques expertisées au CNRMA, associées aux données de CMI et éventuellement de génotypage. Cette base est publique. Les données mises sur Institut Pasteur FungiBank <https://fungibank.pasteur.fr/> sont également accessibles pour l'alignement de séquences (pairwise alignment) sur le site MycoBank https://www.mycobank.org/Pairwise_alignment. La base contient actuellement 2392 séquences (ITS, 26S, IGS, actine, RPBI, FKS) pour 2313 souches de levures et 2671 séquences (18S, 28S, ITS, calmoduline, actine, beta-tubuline, EF1-alpha, RPB1, RPB2, CYP51A) pour 1273 souches de champignons filamenteux.

2.B Activités d'expertise des laboratoires associés

Aspergilloses Chroniques

2.1 Evolution des techniques

Les deux LA associés AspC-Nord et -Sud ont mis en place la détermination de sensibilité aux antifongiques (ATFs) par méthode EUCAST pour l'amphotéricine B, le voriconazole, l'isavuconazole, l'itraconazole, le posaconazole en systématique et la terbinafine, l'olorofim, et le tébuconazole en fonction du contexte. Un CIL a été mis en place entre les deux LA AspC.

MIC en mg/L du CIL <i>A. fumigatus</i> (Isolat 3083819649 – Rennes)	Valeurs obtenues à Rennes	Valeurs obtenues à Bordeaux
Amphotéricine B	0,25	0,25
Voriconazole	4	4
Isavuconazole	8-16	>4
Itraconazole	>8	>4
Posaconazole	1-2	1

Mise en place de géloses de criblage de la résistance aux antifongiques azolés, contenant une concentration fixe d'itraconazole (4 mg/L), de voriconazole (2 mg/L) et de terbinafine (1 mg/L)¹

Consolidation et optimisation du séquençage du gène *cyp51a*, codant pour l'enzyme éponyme qui est la cible des antifongiques azolés, notamment pour les espèces de la section *Terrei* en continuité de ce qui avait été fait en 2023, pour les autres sections (*Fumigati*, *Flavi*, *Nidulantes*, *Usti*).

Standardisation de la technique d'extraction d'ADN d'isolats d'*Aspergillus* pour le WGS entre les 2 sites AspC-Nord et -Sud

Développement du WGS pour le genre *Aspergillus* (39 souches d'*Aspergillus* sp pour les 2 sites).

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

- Lab-AspC-Nord:

1. Detection of Specific IgE against Molds Involved in Allergic Bronchopulmonary Mycoses in Patients with Cystic Fibrosis. Barrera C, Schwarz C, Delhaes L, Le Gal S, Ramel S, Gangneux JP, Guitard J, Hoffmann C, Bellanger AP, Bouchara JP, Millon L. Mycopathologia. 2024 Jul 18;189(4):68.
2. Sensitivity and specificity of LDBio Aspergillus ICT lateral flow assay for diagnosing allergic bronchopulmonary aspergillosis in adult asthmatics. Sehgal IS, Muthu V, Dhooria S, Prasad KT, Rudramurthy SM, Aggarwal AN, Garg M, Gangneux JP, Chakrabarti A, Agarwal R. Mycoses. 2024 Feb;67(2):e13700.
3. EQUAL ABPA Score 2024: A Tool to Measure Guideline Adherence for Managing Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. Sehgal IS, Muthu V, Seidel D, Sprute R, Armstrong-James D, Asano K, Chalmers JD, Gangneux JP, Godet C, Salzer HJF, Cornely OA, Agarwal R. Mycoses. 2024 Oct;67(10):e13810.

- Lab-AspC-Sud:

Detection of Specific IgE against Molds Involved in Allergic Bronchopulmonary Mycoses in Patients with Cystic Fibrosis. Barrera C, Schwarz C, Delhaes L, Le Gal S, Ramel S, Gangneux JP, Guitard J, Hoffmann C, Bellanger AP, Bouchara JP, Millon L. Mycopathologia. 2024 Jul 18;189(4):68.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

- Transferts depuis le Lab-AspC-Nord :

1. Détection rapide d'IgG anti-aspergillaires par la technique ICT LD Bio (Lyon, France) au laboratoire de mycologie de l'Université de Lagos (Nigeria)
2. Culture et identification microscopique d'*Aspergillus* au laboratoire de microbiologie de Bahir Dar University (Ethiopie)
3. Détermination de la sensibilité in vitro d'*Aspergillus* aux antifongiques au laboratoire de parasitologie-mycologie du Centre Hospitalier Universitaire de Sousse (Tunisie)
4. Identification de mutation du gène *cyp51a* associées à la résistance aux azoles sur des isolats du Burkina Faso.

2.4 Collections de matériel biologique

En 2024 Le LA-AspC-Sud a mis en collection 5 souches aspergillaires envoyées par des laboratoires extérieurs, 3 souches provenant de patient suivis au CHU de Bordeaux pour APC, et 16 souches provenant de patients ou de l'environnement, pour la diversité des espèces en vue du séquençage Sanger des *cyp51a* et du WGS, soit un total de 24 souches. L'ADN génomique des 24 souches a été conservé. De même le sérum d'un patient reçu pour expertise a été mis en collection.

2.5 Activités d'expertises

En 2024, les activités d'expertises des LA AspC-Nord et -Sud ont porté sur :

- Sérologie aspergillaire (ELISA et confirmation par Western Blot ou IEP) :

1. Environ 400 sérums de routine (Nord + Sud) reçus dans le cadre des activités du CNR
 2. 253 sérums analysés par le LA Asp-Nord comme laboratoire d'expertise centralisé dans le cadre du PHRC National sur l'aspergillose pulmonaire chronique (CPAAARI, CHU Poitiers)
- Réception de 22 isolats d'*Aspergillus* (Nord + Sud) avec confirmation de l'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF, base de données MSI2 (LA-INuSuAI) et caractérisation moléculaire par séquençage partiel Sanger des régions ITS1-2, et des gènes codants pour la calmoduline et la β -tubuline
- Détermination de la sensibilité aux ATFs par méthode EUCAST pour 18 (Nord et Sud) isolats d'*Aspergillus* des sections *Usti*, *Fumigati* et *Nigri*
- Séquençage du gène *cyp51a* de 15 (Nord et Sud) isolats d'*Aspergillus* des sections *Usti*, *Fumigati* et *Nigri* présentant *in vitro* des CMI élevées pour les antifongiques azolés.
- Analyse en cours pour 31 (nord + sud) isolats d'*Aspergillus* séquencés en WGS
- Expertise phénotypique (identification et sensibilité in vitro, LA AspC-Nord) de 50 isolats d'*Aspergillus* responsables d'otite chronique en collaboration avec la Tunisie.
- Les LA Asp-C participent à plusieurs RCP pour prodiguer des conseils et centraliser des analyses d'expertise pour l'identification d'*Aspergillus* et la sérologie aspergillaire. Le nombre de dossiers discutés étaient pour 2024 :
1. RCP nationale « Aspergilloses pulmonaires Chroniques » - Pr C. Godet/Pr JP. Gangneux, CHU Tenon-Paris et CHU de Rennes, ont abordé 43 dossiers complexes d'APC.
 2. RCP nationale « Aspergilloses Chroniques et Infection à mycobactérie atypique » - Pr C. Andrejak/Pr JP. Gangneux, CHU Amiens et CHU de Rennes, ont abordé 115 dossiers complexes d'APC + associés à des mycobactéries atypiques.
 3. RCP région Aquitaine « Aspergilloses Chroniques et Infection à mycobactérie atypique » - Dr E. Blanchard/Pr L. Delhaes, CHU de Bordeaux, ont abordé environ 70 dossiers dont environ 1/3 ayant nécessité

une expertise sérologique.

2.6 Activités de séquençage

En 2024, le LA-AspC-Sud a réalisé :

- 6 séquençages Sanger partiel du gène codant pour la calmoduline, du gène codant pour la β -tubuline et/ou des régions ITS¹⁻⁴
- 24 séquençages Sanger du gène complet cyp51a dont 8 pour patients APC avec CMI aux azolés élevées et le reste pour optimisation de la technique sur des souches provenant de différentes sections (18 isolats de patients et 6 provenant de l'environnement).

En 2024, le LA-AspC-Nord a réalisé :

- 12 séquençages Sanger partiels du gène codant pour la calmoduline¹, β -tubuline² et ITS³⁻⁴
- 7 séquençages Sanger du gène complet cyp51a.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Interne (de niveau élémentaire) et externe (PGTB et cellule de Bioinformatique des 2 CHUs)
	Outils open source de type MiniMap2, Blast NCBI, Clustal Omega Outil commercial Sequencher

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Externe - Plateforme : PGTB-NGS pour les 2 LA-AspC-Sud et -Nord
	Technologies Illumina (MiSeq, Iseq et NextSeq 2000) et ONT (GridION)

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<ul style="list-style-type: none">- Investigation dans le cadre de la surveillance de la résistance aux azolés chez <i>Aspergillus</i> sp. : 15 caractérisations du gène cyp51 plus analyse bioinformatiques réalisées sur données de séquençage Sanger pour caractérisation taxonomique et étude phylogénique (sous Sequencher, MEGAX)- Analyses bioinformatiques réalisées sur données de séquençage NGS en cours
---	--

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

- Séquençage Sanger du Cyp51a de 15 patients présentant des CMI élevées aux azolés ainsi qu'une sélection de 14 isolats aspergillaires d'intérêt clinique, notamment résistants in vitro aux antifongiques et/ou issus de différentes formes cliniques d'aspergillose, ainsi que des souches issues de l'environnement (7 isolats du LA AspC-Nord ; 8 isolats du LA AspC-Sud)
- 31 souches envoyées séquencées en WGS par technique Illumina (12 isolats du LA AspC-Nord ; 19 isolats du LA AspC-Sud)

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Séquences conservées sur des disques partagés sur le réseau interne des CHU de Rennes et Bordeaux

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

- Le LA-Asp-C Sud a partagé avec le LA-INuSuA le la séquence d'un *Aspergillus pseudodeflectus* identifié par séquençage Sanger et dont l'identification diffèrait de celle obtenue par spectrométrie de masse MALDI-TOF, base de données Msi2. La souche correspondante a été envoyée au LA-INuSuA le pour implémenter la base MSI2.

- Il est également prévu que les LA AspC-Nord et -Sud partagent des séquences obtenues en WGS pour les souches d'*Aspergillus fumigatus* résistantes aux antifongiques azolés avec le CNRMA-IFI.

2.C Activités d'expertise du laboratoire associé INUSUALE

L'expertise du CNR INuSuA le consiste à rendre l'identification d'un agent fongique à partir d'un spectre de masse soumis à l'application MSI-2 par le laboratoire partenaire. Cette expertise est produite en temps réel pour l'ensemble des utilisateurs. En 2024, 20 utilisateurs supplémentaires se sont agrégés au réseau national et ont utilisé l'application pour un total de 230 343 spectres identifiés.

2.1 Evolution des techniques

L'expertise du CNR INuSuA le consiste à rendre l'identification d'un agent fongique à partir d'un spectre de masse soumis à l'application MSI-2 ; elle est produite en temps réel pour l'ensemble des utilisateurs.

En 2024, nous avons fait évoluer les activités de surveillance en mettant en place un système d'alerte automatique par mail dès qu'un pathogène fongique d'intérêt est identifié par un membre du réseau.

Ce système permet d'entrer en contact en temps réel avec le centre à l'origine de l'identification, ce qui facilite le recueil des informations de base, notamment l'imputabilité de l'isolat dans un processus infectieux invasif. A ce jour, le nombre de laboratoires utilisant le système de codage de la nature du prélèvement étant limité, INuSuA le procède en premier lieu à une vérification du caractère clinique et de la nature de l'isolat identifié et adresse un message type au membre du réseau.

Exemple type de message d'alerte adressé :

“ Cher utilisateur de MSI-2, cher membre du réseau INuSuA le,

Vous avez identifié ce jour (références XXXX) par spectrométrie de masse la levure pathogène émergente *Candida auris* (*Candidozyma auris*).

Dans le cadre des activités de surveillance du CNRMA-laboratoire associé INUSUALE, pourriez-vous nous indiquer s'il s'agit d'un patient présentant une infection ou une colonisation ou s'il s'agit d'une autre circonstance d'identification (souche de contrôle, EEQ, etc) ? Le cas échéant, nous vous laissons prendre contact avec le CNRMA-IFI pour la notification du cas ”.

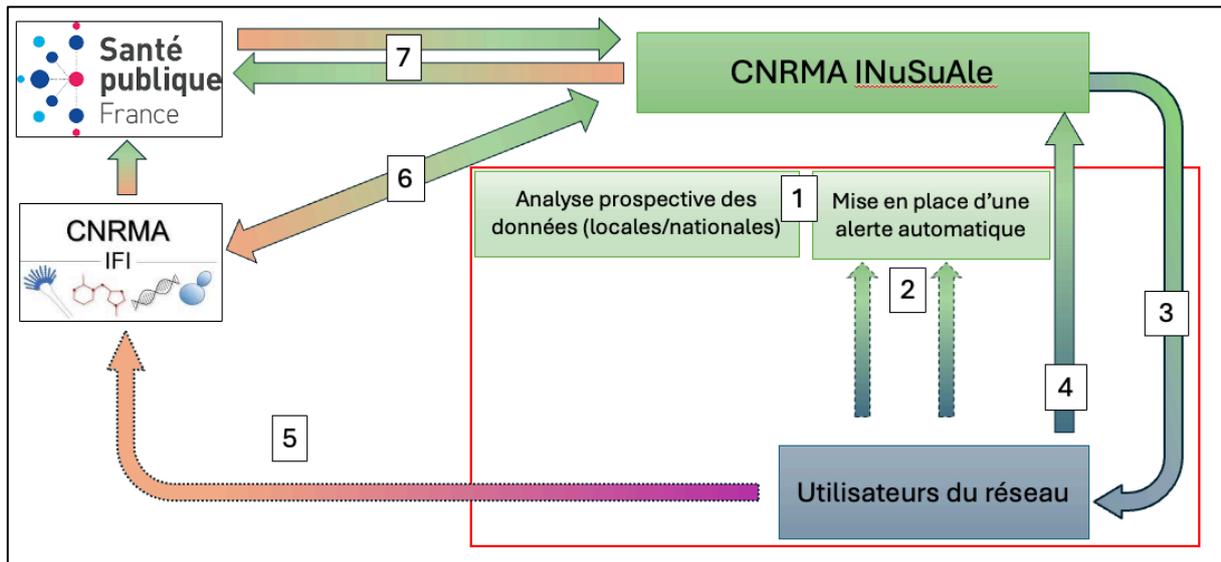


Figure 7 : principe du signalement automatique pour la surveillance des agents fongiques « critiques »

1. Mise en place d'une alerte : un mail automatique est généré à chaque identification de *C. auris* (un mail par projet soumis à MSI-2)
2. Remontée passive d'information par les laboratoires utilisant MSI-2 et identifiant un *C. auris*
3. Prise de contact avec le laboratoire pour i. déterminer l'origine de l'identification (prélèvement clinique/isolat environnemental/EEQ ou autre) et l'imputabilité dans un processus invasif et ii. inciter le cas échéant à prendre contact avec le CNRMA-IFI (numéro 5)
4. Remontée active d'informations complémentaires
6. Partage d'informations entre CNRMA INuSuAle et CNRMA-IFI
7. Transmission de données agrégées à SPF (rapport annuel)

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

En 2024, le CNR INuSuAle / service de Parasitologie-Mycologie hôpital de La Pitié-Salpêtrière a procédé à une évaluation des performances comparées de 2 spectromètres de masse nouvelle génération dans le cadre d'un appel d'offre APHP coordonné par l'AGEPS (Agence Générale des Équipements et Produits de Santé) pour le renouvellement du parc des spectromètres de masse à l'APHP.

Nous avons été sollicités pour évaluer les capacités des différents appareils du marché à acquérir des spectres de masse permettant l'identification des champignons filamenteux et des levures via l'application MSI-2. Nous avons testé 94 isolats fongiques dont 30 isolats de levures (18 espèces), 54 moisissures (35 espèces) et 10 dermatophytes (6 espèces). Les performances de MSI-2 étaient différentes en fonction de l'agent fongique, du type de cible utilisée (pour Bruker), de la méthode d'extraction et de l'appareil testé.

Succinctement, les résultats obtenus avec l'automate Bruker concordaient d'avantage (80 à 94% de concordance pour Bruker vs 62 à 85% pour Biomérieux pour l'extraction en tube) avec comme référence l'identification par séquençage ITS. Les extractions directes étaient plus performantes si une cible BioTarget de Bruker était utilisée. Ces résultats nous permettent d'orienter les membres du réseau vers les méthodes optimales pour obtenir des résultats fiables d'identification via notre application.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Le CNR INuSuAle a répondu à divers besoins exprimés par les laboratoires rencontrant des difficultés pour l'identification des agents fongiques par spectrométrie de masse. Des tutoriels ont été mis à disposition en lignes pour les aspects techniques et d'autres seront ajoutés en 2025.

2.4 Collections de matériel biologique

Le CNR INuSuAle reçoit des isolats pour expertise qui sont conservés en cryobilles à -80°C dans une mycothèque dédiée.

L'intégralité des spectres générés par les membres du réseau et soumis à MSI-2 est conservée sur un serveur numérique et sur un disque dur sécurisé. Le cas échéant, ces spectres sont disponibles pour être réanalysés (e.g. en cas d'évolution taxonomique, d'implémentation de la base, etc...)

2.5 Activités d'expertises

Pour le CNRMA INuSuAle, l'expertise est produite en temps réel pour l'ensemble des utilisateurs.

En 2024, 115 laboratoires ont utilisé l'application pour un total de 230 343 spectres identifiés.

Les utilisateurs produisant le plus d'analyses (en nombre de spectres soumis) sont les laboratoires spécialisés en mycologie médicale/microbiologie des CHU/CH et des structures hospitalières à but non lucratif (86,6%), puis les laboratoires d'analyses de biologie médicales d'exercice libéral (12,3%). Le reste (1,1%) correspond à une activité de biologie vétérinaire.

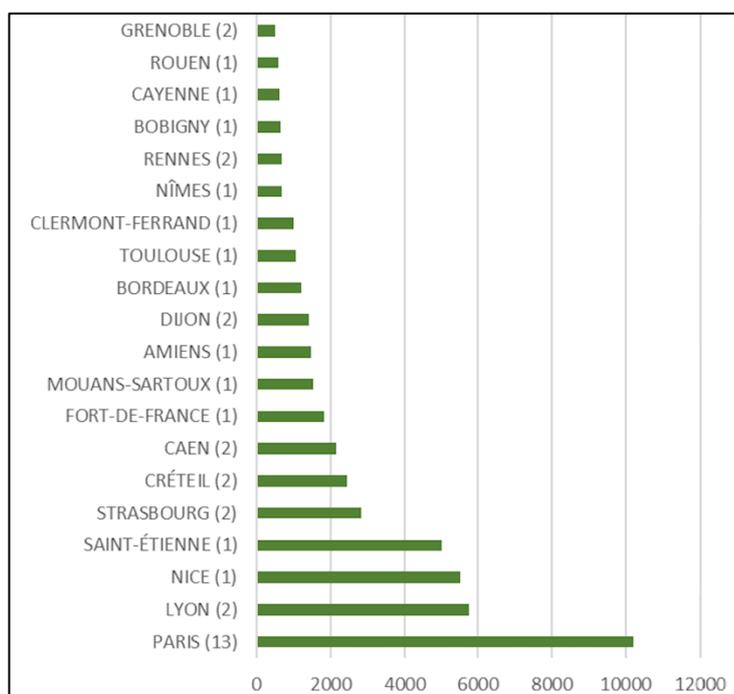


Figure 8 : nombre de spectres de levures identifiés par l'application MSI-2 par les utilisateurs du CNR INuSuAle pour l'année 2024 par ville

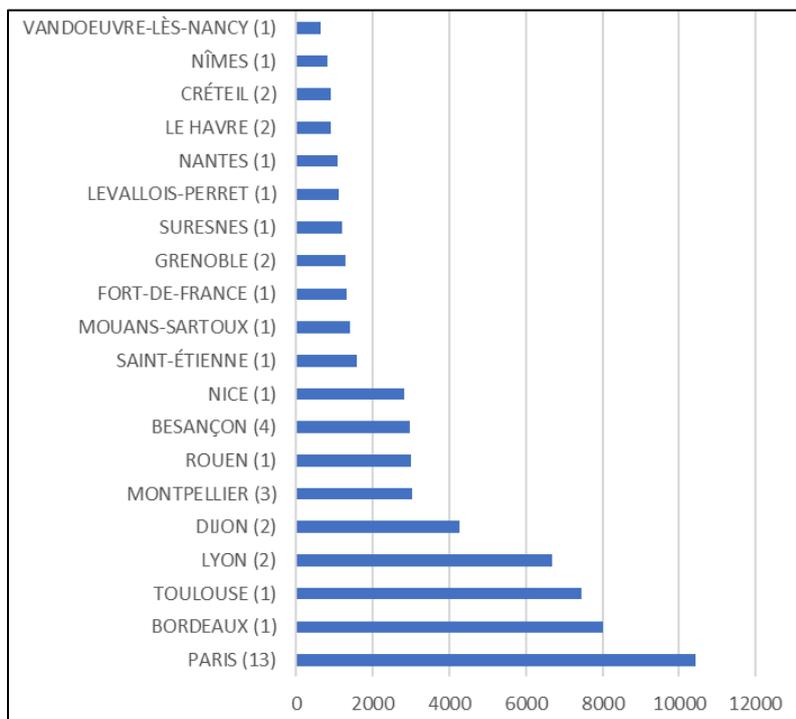


Figure 9 : Nombre de spectres de filamenteux identifiés par l'application MSI-2 par les utilisateurs du CNR INuSuAle pour l'année 2024 par ville (entre parenthèse, nombre de laboratoires pour une ville)

2.6 Activités de séquençage

En 2024, le CNRMA-INuSuAle a réalisé une approche de séquençages (ITS et/ou IGS et/ou betatubuline et/ou calmoduline et/ou EF) pour caractériser moléculairement une vingtaine d'isolats pour lesquels l'identification par spectrométrie de masse et l'application MSI-2 avaient été en échec.

Parmi les isolats identifiés par séquençage, certaines espèces ne figuraient pas dans la base et ont donc été ajoutées : *Cadophora fastigiata*, *Kuraisha cidri*, *Chlonostrachys rosea*, *Ophidiomyces ophidricola*, *Veronaea botryosa*.

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Séquences conservées sur le cloud du CHU de La Pitié-Salpêtrière

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

(Non concerné)

3.A Activités de surveillance du CNRMA-IFI

60 centres hospitaliers français (hexagone et DOM-TOM) ont participé activement à la surveillance nationale des infections fongiques invasives en déclarant en 2024 des épisodes pour 3605 patients (62.9% d'hommes). Les données cliniques ont été complétées et monitorées pour tous les dossiers dans le questionnaire SINFONI via le serveur RedCap. La majorité des épisodes correspondaient à des cas de fongémies hors cryptococcoses (59%), suivi par des aspergillooses invasives (17%), aspergillooses (13%), mucormycoses (3%). En 2024, 1122 isolats cliniques ont été reçus au CNRMA-IFI dans le cadre de la surveillance ou pour expertise.

3.1 Description du réseau de partenaires

L'activité de surveillance mise en place par le CNRMA-IFI s'appuie sur l'interaction entre le réseau des correspondants hospitaliers, détaillé ensuite, ainsi que les laboratoires associés et les services hospitaliers du SMIT de l'hôpital Necker et du laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'hôpital Saint Louis, ayant une activité de support.

Nous avons également mis en place depuis janvier 2023 des comités et conseils organisationnels :

(i) Un comité scientifique qui a pour but notamment de valider les propositions d'études ponctuelles et qui permet d'avoir une vision transversale des problèmes liées aux champignons, par exemple en termes d'hygiène hospitalière, d'agronomie, de santé vétérinaire, de pharmacologie. En effet ce comité comprend les membres cadres du CNRMA-IFI, les collaborateurs hospitalo-universitaires, les responsables des laboratoires associés, la présidente de la Société Française de Mycologie Médicale, le directeur scientifique de l'Institut Pasteur, deux vétérinaires spécialisés dans les infections fongiques, un pharmacien hospitalier, un hygiéniste hospitalier, un chercheur agronome. Le comité scientifique s'est réuni 2 fois au cours de l'année 2024, en avril et en novembre 2024.

(ii) Un comité de coordination, comprenant les membres cadre du CNRMA-IFI, les collaborateurs hospitalo-universitaires, un comité constitué de trois correspondants hospitaliers. Ce comité a pour but de valider les projets d'études rétrospectives utilisant les données de surveillance du CNRMA-IFI, proposés par les correspondants du réseau et de veiller au respect des règles de publication et de diffusion des informations. L'accord du comité est sollicité soit par email soit lors d'une réunion organisée par le CNRMA-IFI en visio ou en présentiel. Lors des sollicitations, une demande détaillée est fournie par le correspondant demandeur, comportant un synopsis expliquant les renseignements souhaités et le but de l'étude.

Le comité de coordination a été sollicité pour 4 projets au cours de l'année 2024 pour une étude sur les cas de cryptococcose pédiatrique, un projet sur les infections invasives dues aux espèces *Penicillium like*, une étude sur les infections dues à l'espèce *Wickerhamomyces anomalus* et une étude sur les infections abdominales à champignons filamenteux. Les premières données de certains travaux ont été présentées lors de la réunion annuelle SINFONI.

Animation du réseau

Le CNRMA-IFI a organisé une deuxième Journée SINFONI le 19/12/2024, sur le campus de l'Institut Pasteur. Durant cette journée nous avons comptabilisé 58 participants en présentiel et 26 participants à distance correspondants à 59 centres collaboratifs du réseau de surveillance. Lors de cette journée 15 présentations ont été proposées, présentant des données de surveillance du CNRMA-IFI, des laboratoires associés, des retours d'expériences de collaborateurs concernant des problèmes de santé liées aux champignons. De plus la matinée du 20/12/2024 nous avons organisés une réunion avec nos correspondants des DOM-TOM afin de discuter des difficultés qu'ils pouvaient rencontrer en tant que laboratoires du fait de leur isolement et également des particularités épidémiologiques de chaque région, nous avons invités en présentiel 3 correspondants (Nouvelle Calédonie, Saint Laurent du Maroni, la Réunion) et 2 correspondants étaient en visioconférence (Martinique et Guyane).

Le réseau de surveillance des infections fongiques invasives que nous avons mis en place en janvier 2023 (SINFONI) comprend actuellement 61 centres. Deux nouveaux correspondants nous ont rejoints en 2024 : Saint

Laurent du Maroni et Nouvelle Calédonie (description Figures 10,11,12, et liste détaillée ci-après).



Figure 10 : Répartition des 35 centres hospitaliers de métropole participant à la surveillance SINFONI en 2024

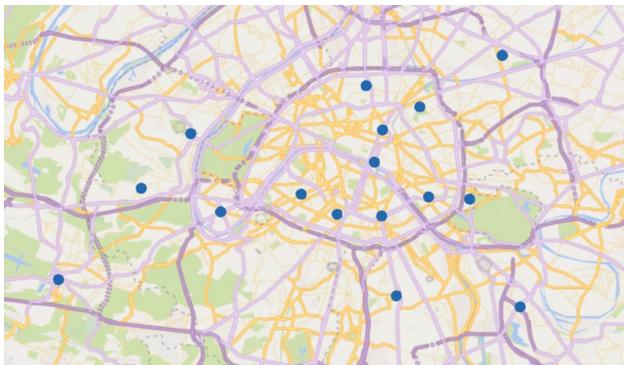


Figure 11 : Répartition des 19 centres hospitaliers de la région Ile de France participant à la surveillance SINFONI en 2024

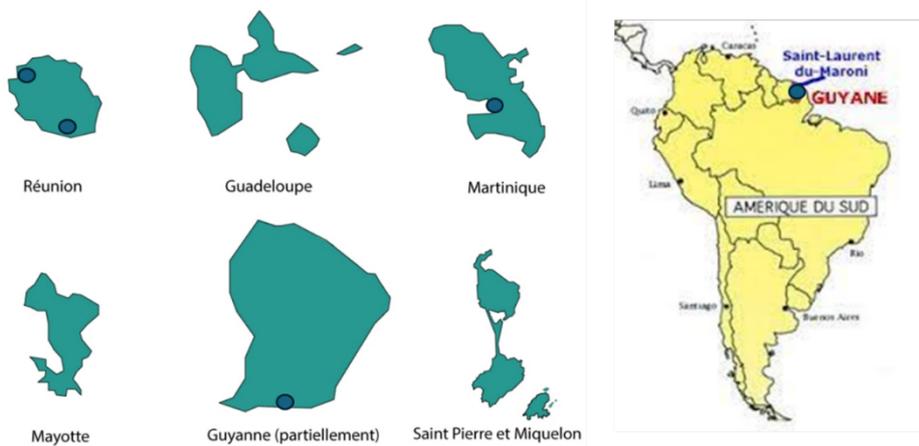


Figure 12: Répartition des 5 centres hospitaliers des DOM-COM participant à la surveillance SINFONI en 2024

Tableau 4 : Liste des centres participant à la surveillance SINFONI

Outre-mer	Ile de France	
Guadeloupe	Paris Bichat	Ajaccio Corse
Guyane/St Laurent du Maroni	Paris Cochin	Amiens
La Réunion Nord / St Denis	Paris HEGP	Angers
La Réunion Sud/ St Pierre	Paris Lariboisière	Antibes
Martinique	Paris Marie Lannelongue- St Joseph	Besançon
Nouvelle Calédonie	Paris Necker	Bordeaux
Saint Laurent du Maroni	Paris Pitié-Salpêtrière	Brest
	Paris Robert Debré	Caen
	Paris St Antoine	Chalon sur Saône
	Paris St Louis	Clermont
	Bobigny Avicenne	Dijon
	Boulogne Ambroise Paré	Grenoble
	Créteil Henri Mondor	Lille
	Garches (RPC)	Limoges
	St Denis	Marseille (IPC)
	St Mandé Begin	Montpellier
	Suresnes (Foch)	Nancy
	Versailles	Nantes
	Villejuif IGR	Nevers
		Nice
		Nîmes
		Orleans
		Périgueux
		Poitiers
		Reims
		Rennes
		Rouen
		St Etienne
		Strasbourg
		Toulon
		Toulouse
		Tourcoing
		Tours
		Valence
		Valencienne
		Vannes

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

Données épidémiologiques années 2023 et 2024 SINFONI

Les données de surveillance des infections fongiques invasives de l'année 2024 ont été générées par le réseau SINFONI. L'analyse des données ayant été faite en mars 2025, des données de mortalité sont manquantes pour 508 patients. En 2024, des infections fongiques invasives ont été déclarées chez 3605 patients par les 60 centres participant à la surveillance dont 52 centres actifs ; les centres de Bichat et de la Pitié Salpêtrière ayant interrompu leur participation à la surveillance en 2024. Concernant l'année 2023, 3776 déclarations ont été complétées. Seules 88 données sont manquantes pour la mortalité à 3 mois.

Données 2024

L'âge médian des patients au diagnostic était de 64 ans. 188 cas (5.2%) ont été rapportés chez des enfants de moins de 15 ans et 274 (7.6%) chez des patients de 80 ans et plus. Une majorité de patients (62.9%) étaient des hommes. 34% des patients étaient hospitalisés en réanimation au moment du diagnostic, 10% en chirurgie et les autres patients dans des secteurs de médecine.

Répartition des infections

La répartition des infections fongiques invasives principales dans SINFONI en 2024 (Figure 13) était la suivante : 2117 fongémies hors cryptococcoses (59%), 618 aspergilloses invasives (17%), 484 aspergilloses (13%), 118 mucormycoses (3%), 93 candidoses (2%), 67 cryptococcoses (1.9%), 30 fusarioses (0.8%), 20 scedosporioses, 22 phaeohyphomycoses (0.6%), 18 mycoses exotiques. La comparaison du nombre d'infection par rapport à 2023 est représentée sur la figure 14.

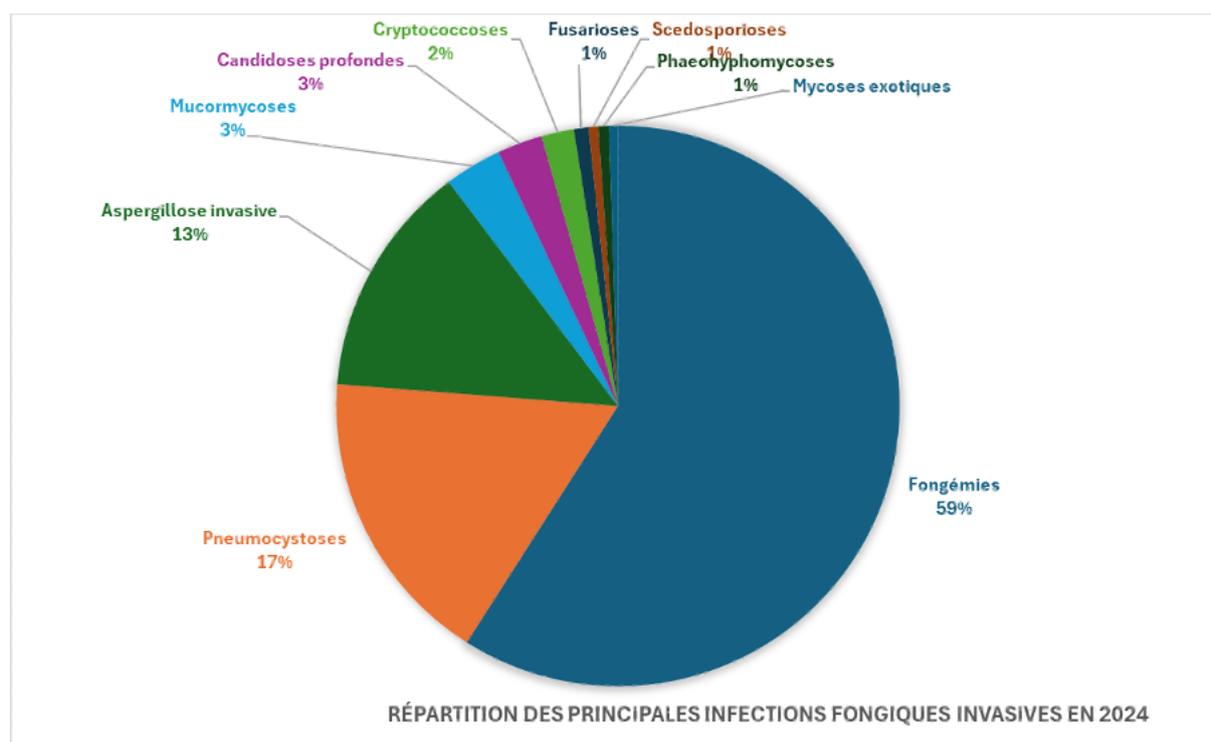


Figure 13: Répartition des infections fongiques invasives en 2024

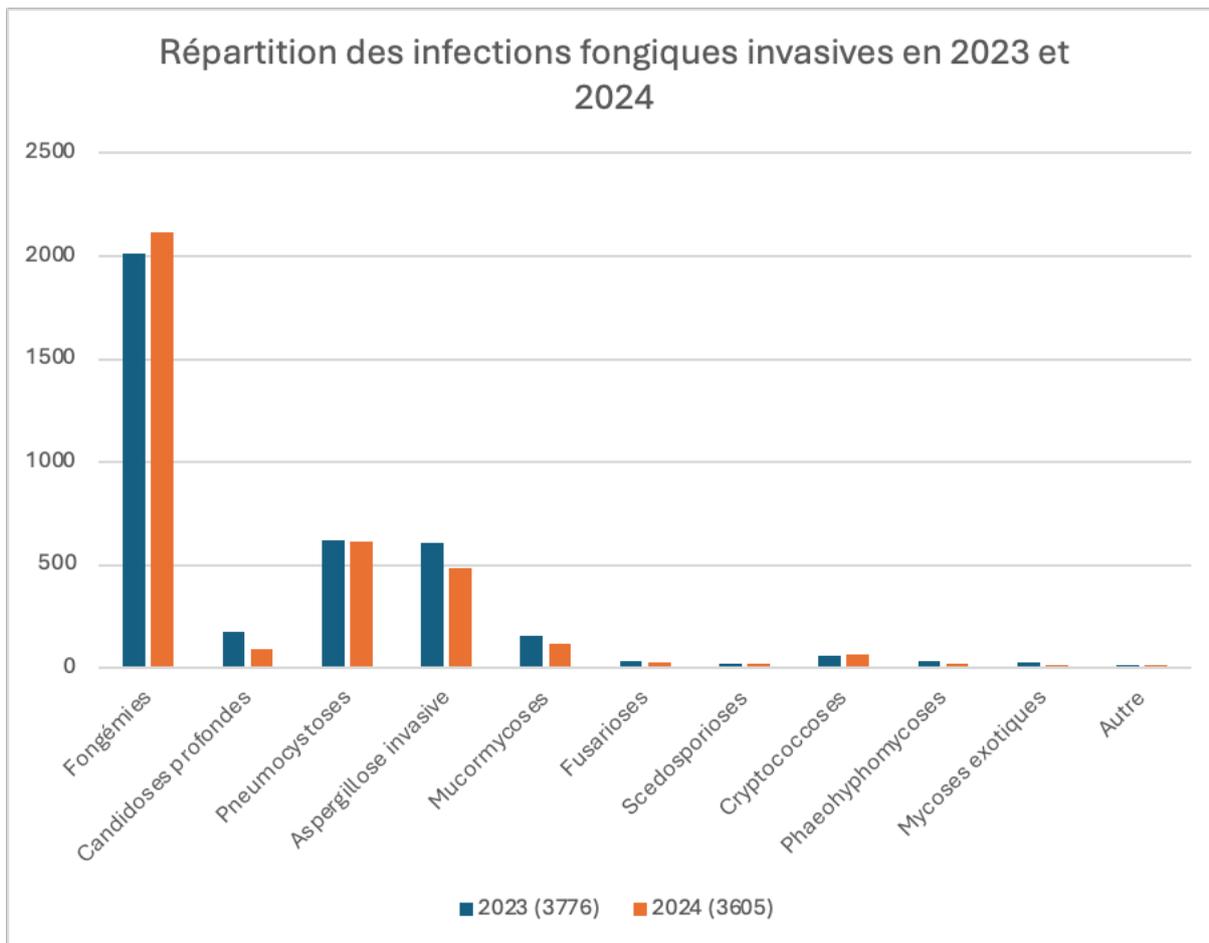


Figure 14 : Répartition des infections fongiques invasives en 2023 et 2024

Répartition des infections par centre et sur le territoire

Le nombre d'infections fongiques invasives par région et la répartition des infections par région est représenté sur la figure 15

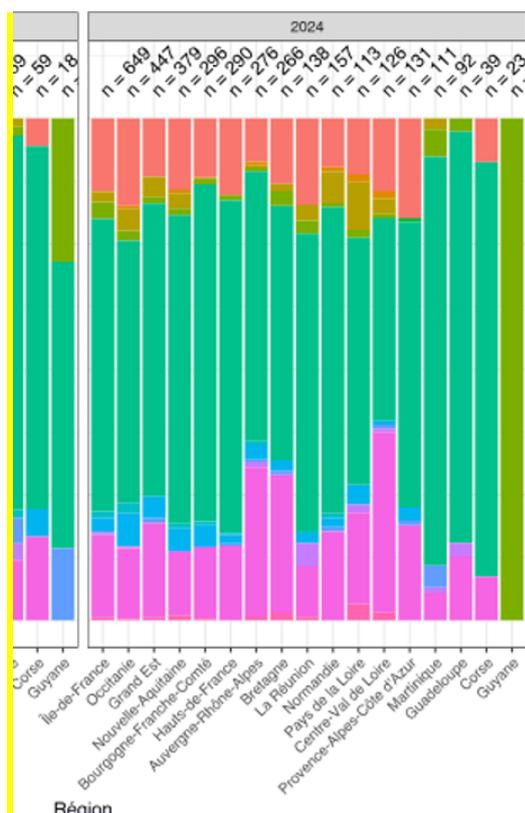


Figure 15 : Répartition du nombre d'infections fongiques déclarées dans SINFONI en 2023-2024 selon la région

Caractéristiques des patients avec les principales infections fongiques invasives dans SINFONI en 2024

Les facteurs de risque principaux des patients étaient les suivants :

- Hémopathie maligne 22%, tumeur solide en cours de traitement 20%, transplantation d'organe solide 9%, maladie de système 6%, VIH 4%. 21% des patients avaient eu une chirurgie récente et 3.2% un traumatisme ou des brûlures
- Parmi les patients d'hématologie la majorité étaient en cours de traitement d'une leucémie aiguë myéloïde (30%) ou d'un lymphome (31%). 50% étaient neutropéniques. 21% étaient allogreffés
- 15% des patients avaient un diabète et 5% une cirrhose
- Les risques bénéficiant d'une surveillance particulière sont indiqués dans le tableau 5
 - 18 patients sous ibrutinib, 4 sous acalabrutinib
 - 46 après CAR T cell
 - 7 après anticorps bispécifiques
 - 21 CAPA ont été rapportées vs 50 en 2023 et 41 IAPA vs 28 l'année précédente. Ceci pourrait être en rapport avec l'épidémiologie des infections virales associées

Tableau 5 Caractéristiques des principales IFI selon les facteurs prédisposants surveillés en 2024

	Fongémie à levure N = 2,117	Pneumocystose N = 618	Aspergillose invasive N = 484	Mucormycose N = 118	Fusariose N = 30	Scedosporiose N = 24	Cryptococcose N = 67
Hommes	1,337.0 (63.2%)	374.0 (60.5%)	305.0 (63.0%)	78.0 (66.1%)	17.0 (56.7%)	17.0 (70.8%)	46.0 (68.7%)
Age au moment du diagnostic	65.0 (52.0, 74.0)	63.0 (52.0, 72.0)	63.0 (52.0, 70.0)	59.5 (49.0, 68.0)	49.5 (15.0, 60.0)	66.5 (58.0, 73.0)	60.0 (47.0, 69.0)
Age inférieur à 15 ans	125.0 (5.9%)	17.0 (2.8%)	21.0 (4.3%)	5.0 (4.2%)	8.0 (26.7%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)
Age supérieur à 80 ans	206.0 (9.7%)	32.0 (5.2%)	25.0 (5.2%)	3.0 (2.5%)	0.0 (0.0%)	2.0 (8.3%)	2.0 (3.0%)
Vivant à 3 mois	863.0 (40.8%)	316.0 (51.1%)	204.0 (42.1%)	56.0 (47.5%)	13.0 (43.3%)	14.0 (58.3%)	30.0 (44.8%)
Données manquantes	273.0 (12.9%)	104.0 (16.8%)	80.0 (16.5%)	6.0 (5.1%)	4.0 (13.3%)	4.0 (16.7%)	17.0 (25.4%)
CAR Tcells	20.0 (0.9%)	2.0 (0.3%)	16.0 (3.3%)	6.0 (5.1%)	1.0 (3.3%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)
Ibrutinib	4.0 (0.2%)	4.0 (0.6%)	8.0 (1.7%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	2.0 (3.0%)
Acalabrutinib	0.0 (0.0%)	2.0 (0.3%)	1.0 (0.2%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)
Fingolimod	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	2.0 (3.0%)
Bispécifiques	4.0 (0.2%)	1.0 (0.2%)	2.0 (0.4%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)
COVID récent	36.0 (1.7%)	21.0 (3.4%)	21.0 (4.3%)	2.0 (1.7%)	1.0 (3.3%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)
Grippe récente	14.0 (0.7%)	6.0 (1.0%)	41.0 (8.5%)	3.0 (2.5%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)	0.0 (0.0%)

Devenir :

- Les données de mortalité à 3 mois sont encore manquantes pour 508 patients pour 2024, les analyses ayant été faites en mars 2025. Pour 2023 ; seules 88 données sont manquantes
- En 2023 la mortalité à 3 mois est 36% pour l'ensemble des IFI (Figure 16)
 - 40% pour les fongémies
 - 13% pour les candidoses profondes
 - 23% pour les pneumocystoses
 - 44% pour les aspergilloses invasives
 - 47% les mucormycoses
 - 34% les fusarioses
 - 17% les scedosporioses
 - 12% les cryptococcoses

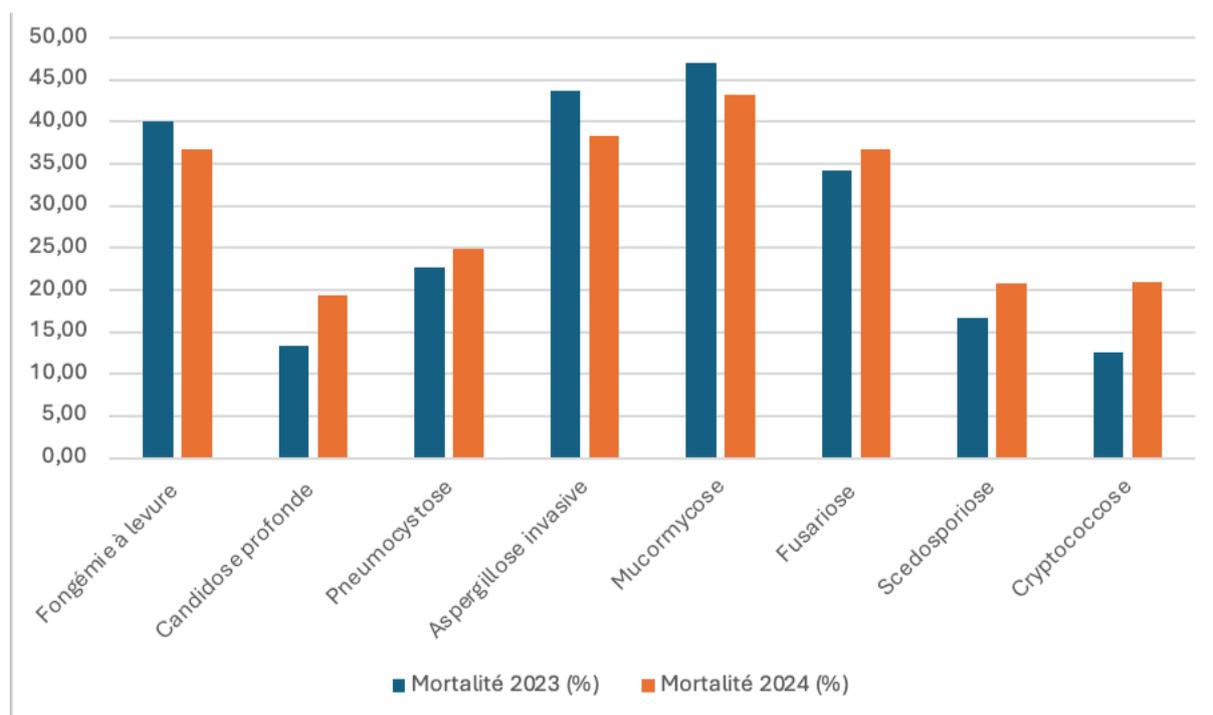


Figure 16 : Mortalité à 3 mois des principales infections fongiques invasives en % en 2023 et 2024

Fongémies

L'âge moyen des patients avec fongémie était de 65 ans. 125 épisodes sont survenus chez des enfants et 206 chez des patients de plus de 80 ans, 63% d'hommes. 37% des patients étaient hospitalisés en réanimation et 13% en chirurgie. 25% des patients avaient un cancer solide, 14% une hémopathie maligne, 3.7% étaient transplantés et 5% avaient une MICI ou une maladie de système. 32% des patients avaient eu une chirurgie récente. La répartition des principales espèces de l'ensemble des fongémies et en fonction de la pré exposition aux antifongiques est représentée sur la figure 17.

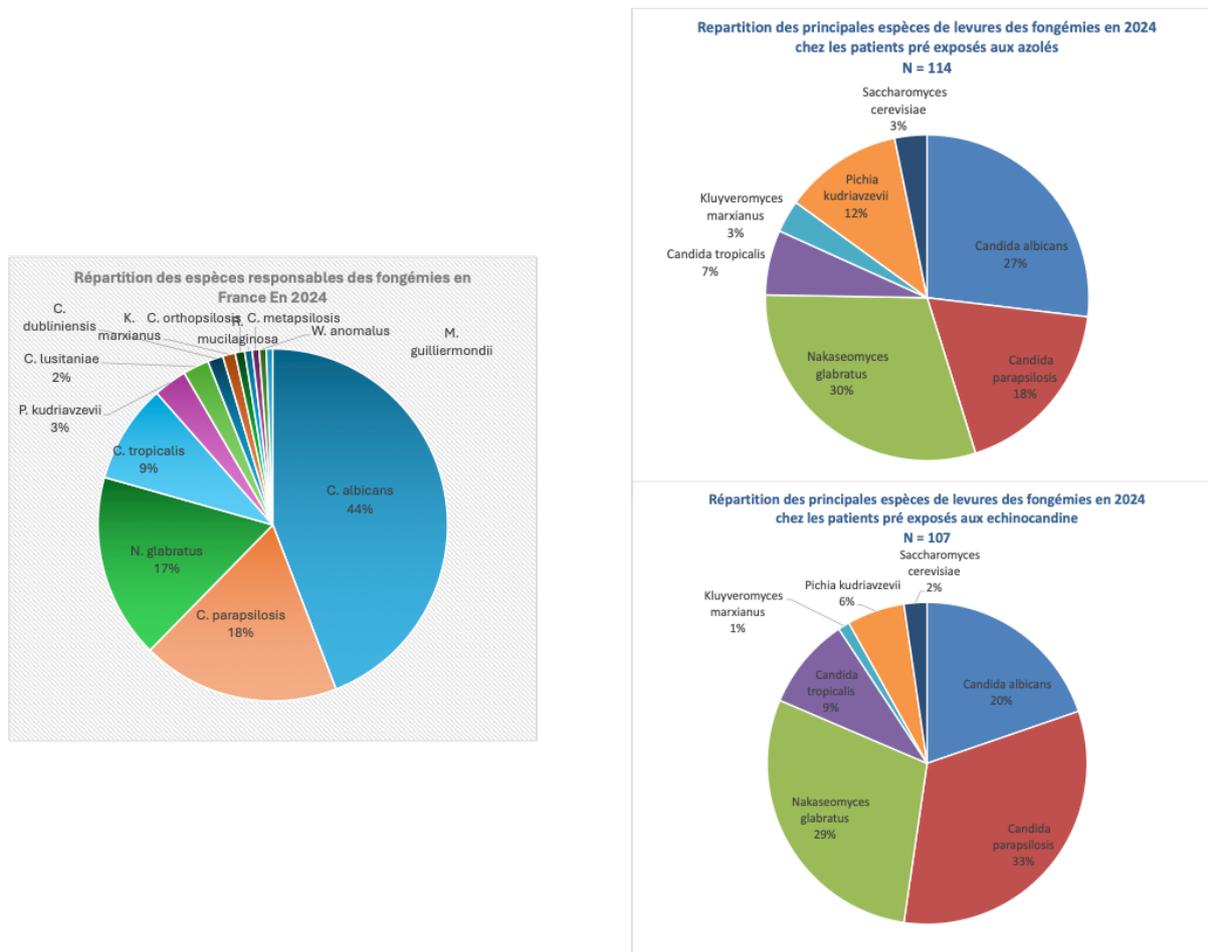


Figure 17 : Répartition des principales espèces responsables de fongémies à levure et en fonction de la pré exposition aux azolés ou aux echinocandines en 2024.

Pneumocystoses

618 épisodes de pneumocystoses ont été rapportés, 60% chez des hommes, d'âge moyen 63 ans. 17 cas chez des enfants et 32 chez des patients de plus de 80 ans. La mortalité à 3 mois était de 22.7% en 2023 et est de 25% cette année sous réserve des données manquantes. 25% des patients étaient hospitalisés en réanimation. Seuls 15% étaient des PVVIH. 22.7% avaient une tumeur solide en cours de traitement 19.4% une hémopathie maligne et 17.8 une transplantation d'organe. 16.7% une maladie de système.

Aspergillose invasive

484 épisodes ont été rapportés, 63% chez des hommes, 21 chez des enfants, âge de 63 ans en moyenne. 40% des patients étaient hospitalisés en réanimation au moment du diagnostic. 49% des patients avaient une hémopathie maligne, 15% étaient transplantés d'organe, 7% avaient une tumeur solide en cours de tt et 6% une maladie de système, 5% avaient une cirrhose. 21 aspergilloses survenaient dans les 30 jours après un épisode de COVID et 41 après un épisode de grippe. En 2024; 230 patients avaient une culture négative (47%) ; parmi les 253 épisodes avec une culture positive 78% étaient liés à des *Aspergillus fumigatus* et 22% à des non *fumigatus*. Les

patients infectés avec des non *fumigatus* n'étaient pas plus pré-exposés aux antifongiques. La figure 18 représente la répartition des principales espèces d'*Aspergillus* isolées des aspergilloses invasives en 2023 et 2024.

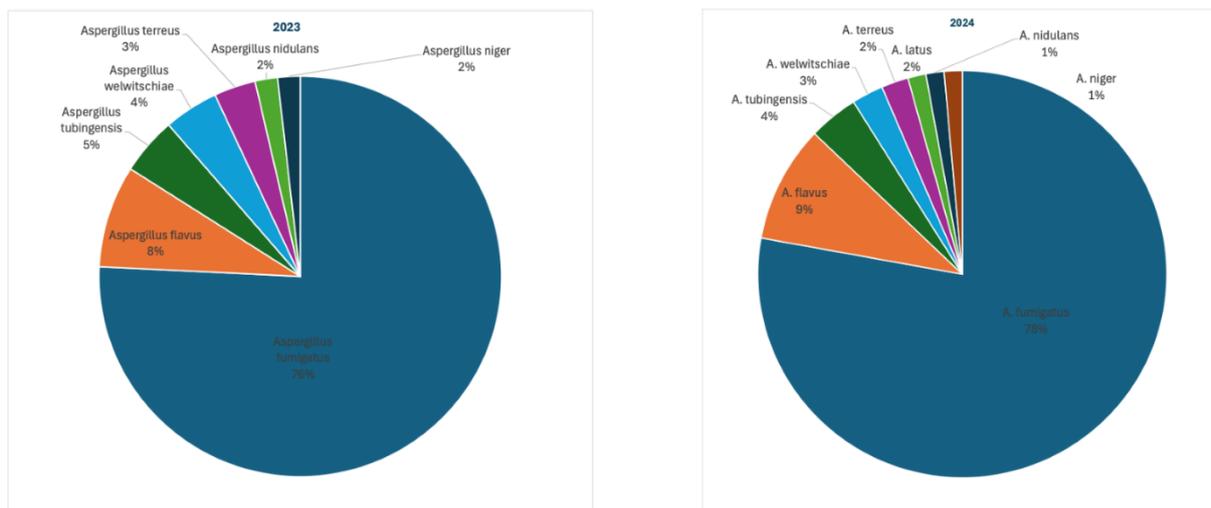


Figure 18 : Répartition des espèces d'*Aspergillus* déclarés en 2023 et 2024

Tableau 6 : Répartition des espèces d'*Aspergillus* des souches isolées des aspergilloses invasives (identification au CNRMA quand elle est faite ou dans les centres quand elle n'est pas faite au CNRMA)

genre	Nombre de cas en 2023	Nombre de cas en 2024
<i>Aspergillus fumigatus</i>	294	218
<i>Aspergillus flavus</i>	32	26
<i>Aspergillus tubingensis</i>	18	11
<i>Aspergillus welwitschiae</i>	17	7
<i>Aspergillus terreus</i>	13	6
<i>Aspergillus nidulans</i>	7	4
<i>Aspergillus niger</i>	7	4
<i>Aspergillus lateralis</i>	5	4
<i>Aspergillus felis</i>	3	0
<i>Aspergillus calidoustus</i>	2	2
<i>Aspergillus citrinoterreus</i>	2	1
<i>Aspergillus iizukae</i>	2	0
<i>Aspergillus sydowii</i>	2	2
<i>Aspergillus udagawae</i>	2	2
<i>Aspergillus alabamensis</i>	1	1
<i>Aspergillus lentulus</i>	1	1
<i>Aspergillus carbonarius</i>	1	0
<i>Aspergillus creber</i>	1	0
<i>Aspergillus fennelliae</i>	1	0
<i>Aspergillus jensenii</i>	1	0
<i>Aspergillus neoniger</i>	1	0
<i>Aspergillus parasiticus</i>	1	0
<i>Aspergillus hortae</i>	0	1
<i>Aspergillus pseudonomius</i>	0	1
<i>Aspergillus spinulosporus</i>	0	1
<i>Aspergillus tamarii</i>	0	1

Mucormycoses

Parmi les 118 épisodes de mucormycoses 66% étaient chez des hommes, 5 chez des enfants. 47% décédés à 3 mois en 2023. 63% avaient une hémopathie maligne dont 54% avaient une LAM, 23% allogreffés, 76% étaient neutropéniques, 6 avaient reçu des CAR T cell. 5 patients étaient pré-exposés à l'isavuconazole et 15 au posaconazole.

Tableau 7 : Répartition des espèces de Mucorales des souches isolées des mucormycoses (identification au CNRMA quand elle est faite ou dans les centres quand elle n'est pas faite au CNRMA)

	2023	2024
<i>Rhizopus arrhizus</i>	13	8
<i>Rhizopus microsporus</i>	12	4
<i>Mucor circinelloides</i>	10	9
<i>Lichtheimia ramosa</i>	4	4
<i>Mucor sp.</i>	4	0
<i>Rhizopus sp.</i>	3	0
<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	2	1
<i>Actinomucor elegans</i>	1	0
<i>Mucor janssenii</i>	1	0
<i>Mucor racemosus</i>	1	0
<i>Rhizomucor miehei</i>	1	1
<i>Rhizomucor sp.</i>	1	0
<i>Saksenaea sp.</i>	1	0
<i>Rhizomucor pusillus</i>	0	4
<i>Mucor velutinosus</i>	0	3
<i>Lichtheimia corymbifera</i>	0	1
<i>Mucor indicus</i>	0	1
<i>Rhizopus delemar (syn. Rhizopus arrhizus var. de)</i>	0	1

Cryptococcoses

67 patients ont développé une cryptococcosse en 2024, 27% des patients vivaient avec le VIH. Deux cas d'infection à *Cryptococcus gattii* ont été diagnostiqués.

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Toutes les souches de levures et champignons filamenteux reçues au CNRMA sont testées pour leur sensibilité aux antifongiques par la méthode standardisée de la technique EUCAST.

Définitions utilisées pour exprimer la résistance

Nous retranscrivons ici les seuils établis par le comité EUCAST pour *Candida* et *Cryptococcus* spp. (Tableau 8) et *Aspergillus* spp. (Tableau 9).

Tableau 8 : valeurs des seuils (breakpoints) établis par l'EUCAST pour les levures des espèces fréquentes (d'après le document EUCAST v11.0)

Antifungal agent	MIC breakpoint (mg/L)																			
	Candida albicans			Candida dubliniensis		Candida glabrata		Candida krusei		Candida parapsilosis		Candida tropicalis		Candida guilliermondii		Cryptococcus neoformans		Non-species related breakpoints for Candida ¹		
	S ≤	R >	ATU	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	
Amphotericin B	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Anidulafungin	0.016	0.016		0.03	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	4	4	0.06	0.06	IE	IE	-	-	IE	IE	
Caspofungin	Note ³	Note ³		IE	IE	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	Note ³	IE	IE	-	-	IE	IE	
Fluconazole	2	4		2	4	0.001 ⁴	16	-	-	2	4	2	4	IE ²	IE ²	IE	IE	2	4	
Isavuconazole	IE	IE		IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	
Itraconazole	0.06	0.06		0.06	0.06	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.125	0.125	0.125	0.125	IE ²	IE ²	IE	IE	IE	IE	
Micafungin	0.03	0.03		0.06	0.06	0.03	0.03	IE ⁵	IE ⁵	4	4	0.06	0.06	IE ⁵	IE ⁵	-	-	IE	IE	
Posaconazole	0.06	0.06		0.06	0.06	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.06	0.06	0.06	0.06	IE ²	IE ²	IE	IE	IE	IE	
Rezafungin	0.008	0.008		0.016	0.016	0.016	0.016	0.03	0.03	4	4	0.03	0.03	IE	IE	-	-	IE	IE	
Voriconazole ⁶	0.06	0.25 ⁷		0.06 ⁷	0.25 ⁷	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.125 ⁷	0.25 ⁷	0.125 ⁷	0.25 ⁷	IE	IE	IE	IE	IE	IE	

Tableau 9: Valeurs des seuils (breakpoints) établis par l'EUCAST pour les souches de certaines espèces d'Aspergillus (d'après le document EUCAST v11.0)

Antifungal agent	MIC breakpoint (mg/L)														Non-species related breakpoints ¹	Comments on the I category	
	A. flavus			A. fumigatus			A. nidulans			A. niger		A. terreus					
	S ≤	R >	ATU	S ≤	R >	ATU	S ≤	R >	ATU	S ≤	R >	S ≤	R >	ATU			
Amphotericin B	-	-		1	1		-	-		1	1	-	-		IE	IE	No data to support an "I" category according to the new definition of "I"
Anidulafungin	IE	IE		IE	IE		IE	IE		IE	IE	IE	IE		IE	IE	
Caspofungin	IE	IE		IE	IE		IE	IE		IE	IE	IE	IE		IE	IE	
Fluconazole	-	-		-	-		-	-		-	-	-	-		-	-	
Isavuconazole	1	2	2	1	2	2	0.25	0.25		IE ²	IE ²	1	1		IE	IE	Isavuconazole MIC = 2 mg/L should not be interpreted as I but only followed up as an ATU
Itraconazole ⁴	1	1		1	1		1	1		IE ^{2.5}	IE ^{2.5}	1	1		IE ⁵	IE ⁵	
Micafungin	IE	IE		IE	IE		IE	IE		IE	IE	IE	IE		IE	IE	
Posaconazole ⁴	IE ²	IE ²		0.125	0.25	0.25	IE ²	IE ²		IE ²	IE ²	0.125	0.25	0.25	IE	IE	Posaconazole MIC = 0.25 mg/L should not be interpreted as I but only as ATU
Voriconazole ⁴	IE ²	IE ²		1	1		1	1		IE ²	IE ²	IE ²	IE ²		IE	IE	

Validation des seuils d'alerte de CMI pour l'envoi des souches au CNRMA

Dans le cadre de la validation des seuils d'alerte de CMI déclenchant l'envoi des souches au CNRMA, une comparaison des résultats de CMI déterminées par méthode Etest, utilisées dans les centres, et EUCAST, utilisée au CNRMA, a été réalisée. Cette analyse porte exclusivement sur des espèces rares de levures ou de champignons filamenteux. Pour les espèces fréquentes, seules les souches présentant des profils de sensibilité anormaux ont été étudiées.

L'analyse des données a révélé certaines discordances récurrentes entre les méthodes Etest et EUCAST dans des cas spécifiques, notamment :

- *C. glabrata* et la caspofungine : Des souches présentant une CMI de 0.125 µg/ml en Etest déclenchaient un envoi au CNRMA, mais n'étaient pas confirmées comme anormales par EUCAST. Afin d'éviter ces

faux positifs, le seuil d'alerte a été révisé et augmenté de >0.125 µg/ml à >0.25 µg/ml.

- *C. parapsilosis* et la micafungine : De manière similaire, le seuil d'alerte a été ajusté de >2 µg/ml à >4 µg/ml pour limiter les envois non justifiés.

Dans d'autres situations, les discordances entre Etest et EUCAST étaient non orientées : certaines souches étaient résistantes en Etest mais sensibles en EUCAST, et inversement. C'est le cas, par exemple, de la sensibilité de *C. glabrata* au fluconazole. Dans ces situations, les seuils d'alerte n'ont pas été modifiés.

Par ailleurs, certains seuils ont été ajustés en fonction des ECOFF spécifiques Etest publiés dans la littérature, afin d'améliorer la pertinence des classifications de sensibilité.

Enfin, une analyse plus approfondie de la comparaison entre les méthodes Etest et EUCAST pourra être réalisée lors des enquêtes Flash, afin de continuer à affiner les seuils d'alerte et garantir une meilleure détection des résistances.

Tableau 10 : Valeurs seuils de CMI (mg/L) au-dessus desquelles les correspondants sont invités à envoyer la souche au CNRMA-IFI pour confirmation par technique EUCAST. Ces valeurs ont été déterminées à partir des données des fournisseurs et de la littérature (Breakpoint, ECOFF) mise à jour du 03/03/2025.

Etest	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida kefyr</i>	<i>Candida lusitanae</i>	<i>S. cerevisiae</i>
AmphoB	1	1	1	1	1	1	1	1	2
5FC		16	0,25	1	1	256	1		
Fluconazole		1	32	2	2		1	1	64
Itraconazole	1								
Voriconazole	1	0,125	1	0,125	0,25	0,5	0,03	0,03	0,5
Posaconazole	0,25	0,06		0,06	0,25	1	0,06	0,06	
Caspofungine	0,25	0,25	0,25	2	0,25	0,25	0,25	1	1
Micafungine	0,016	0,25	0,06	4	0,25	0,25	0,25	0,25	
Anidulafungine	0,016	0,25	0,125		0,25	0,25	0,06		

Sensititre	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida kefyr</i>	<i>Candida lusitanae</i>	<i>S. cerevisiae</i>
AmphoB	1	2	2	1	2	4	1	1	2
5FC		1	0,25	0,5	0,5	256	1		
Fluconazole		1	32	2	2		1	1	64
Itraconazole	1								
Voriconazole	1	0,016	2	0,03	0,5	1	0,03	0,03	0,5
Posaconazole	0,06	0,06		0,25	1	1	0,06	0,06	
Caspofungine	0,125	0,25	0,25	2	0,25	1	0,03	1	1
Micafungine	0,016	0,06	0,03	4	0,06	0,25	0,03	0,25	
Anidulafungine	0,016	0,125	0,125		0,5	0,25	0,016		

Lors de la déclaration de l'épisode d'infections invasives sur le portail REdCap, les correspondants sont invités à compléter les valeurs de CMI qu'ils ont obtenus dans leur centre par la technique Etest ou Sensititre. Si une valeur est au-dessus des valeurs seuils décrites dans le tableau 10, un message d'alerte s'affiche dans la déclaration, invitant le correspondant à envoyer l'isolat au CNRMA-IFI pour confirmation du profil inhabituel de sensibilité par la technique EUCAST. Des modifications de valeurs seuils ont été faites selon les résultats des analyses effectuées basées sur les données générées au CNRMA-IFI. Les valeurs actuelles sont mises à jour sur le site web du CNRMA-IFI (https://www.pasteur.fr/sites/default/files/guide_de_declaration_sinfoni.pdf).

LEVURES

Pour les levures, depuis 2003 nous utilisons la technique standardisée définie par l'EUCAST pour déterminer la sensibilité aux azolés et à la 5-fluorocytosine. Depuis 2015 nous testons également l'isavuconazole.

Depuis 2005, nous avons modifié la technique en utilisant le milieu AM3 au lieu du milieu RPMI pour la caspofungine, et établi qu'une CMI de la caspofungine au-dessus de 0,25 mg/L pour une espèce de *Candida* autre que celles du complexe *C. parapsilosis/orthopsilosis/metapsilosis*, était habituellement associée à une mutation dans le hot spot d'un ou plusieurs gènes Fks.

Jusqu'en mars 2023, nous utilisons également une version modifiée de la technique pour la micafungine et l'amphotéricine B. Nous avons décidé de suivre la technique standardisée pour la micafungine et l'amphotéricine B afin de pouvoir utiliser les valeurs seuils établies pour définir la résistance des espèces fréquentes et pouvoir plus facilement comparer les données générées au CNRMA avec les données généralement décrites dans la littérature.

Étant donné que les isolats d'espèces fréquentes nous sont envoyés dans le cadre de la surveillance, uniquement si leur profil de sensibilité aux antifongiques semble inhabituel, nous ne recevons pas de façon systématique les isolats de cette espèce et ne pouvons présenter des données de sensibilité pour ces espèces. Nous présenterons donc ici les données de sensibilité aux azolés, à la 5-fluorocytosine et à la caspofungine pour les isolats des espèces « rares » testés entre 2005 et 2024 (Tableau 11) et uniquement depuis le 1er mars 2023 pour la micafungine et l'amphotéricine B (Tableau 12). Les souches des espèces rares étaient envoyées au CNRMA par les centres hospitaliers dans le cadre majoritairement de la surveillance nationale des infections fongiques invasives, de façon exhaustive et sans biais de sélection. Les données de CMI50 et CMI90 représentent donc le profil habituellement observé pour les isolats cliniques de ces espèces. Seules les espèces pour lesquelles au moins 10 isolats ont été testés sont présentées ici.

Tableau 11 : Profil de sensibilité des levures aux azolés, flucytosine et caspofungine pour les isolats des espèces rares testés entre 01/01/2005 et 28/02/2025

Espèces étudiées		Valeurs des CMI50 / CMI90 mg/L pour les antifongiques*					
Nom d'usage en clinique (nbre d'isolats testés)	Nom actuel	5-FC	Fluco	Vori	Posa	Isavu	Caspo
<i>C. dubliniensis</i> (n=185)		≤0.12/≤0.12	≤0.12/0.25	≤0.01/≤0.01	0.03/0.06	≤0.007/≤0.007	0.015/0.03
<i>C. nivariensis</i> (n=20)		0.5/1	2/4	0.06/0.12	0.12/0.25	0.03/0.06	0.03/0.12
<i>C. orthopsilosis</i> (n=91)		≤0.12/≤0.12	0.5/16	0.03/1	0.06/0.12	0.015/0.25	0.06/0.12
<i>C. metapsilosis</i> (n=74)		≤0.12/0.12	1/2	0.03/0.06	0.03/0.06	0.015/0.015	0.06/0.12
<i>C. inconspicua</i> (n=60)	<i>Pichia cactophila</i>	2/2	16/32	0.12/0.25	0.06/0.12	0.12/0.25	0.03/0.06
<i>C. guilliermondii</i> (n=149)	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	≤0.12/0.25	8/64	0.12/0.25	0.25/0.5	0.25/4	0.06/0.12
<i>C. fermentati</i> (n=48)	<i>Meyerozyma caribbica</i>	≤0.12/≤0.12	4/16	0.12/0.5	0.12/0.5	0.25/4	0.12/0.5
<i>C. lusitaniae</i> (n=352)	<i>Clavispora lusitaniae</i>	≤0.12/0.5	0.25/0.5	≤0.01/≤0.01	≤0.01/0.03	≤0.007/0.015	0.03/0.06
<i>C. haemulonii</i> (n=52)	<i>Candidozyma haemulonii</i>	≤0.12/0.5	32/64	>8/8	4/8	>4/4	0.03/0.06
<i>C. haemulonii</i> type II (n=53)	<i>Candidozyma duobushaemulonii</i>	≤0.12/64	32/64	>8/8	2/8	0.25/4	0.015/0.03
<i>C. auris</i> (n=67)	<i>Candidozyma auris</i>	≤0.12/16	>64/64	1/2	0.03/0.12	0.06/0.25	0.03/0.03
<i>C. palmiophila</i> (n=19)		≤0.12/0.5	8/32	0.12/0.25	0.12/0.25	-/-	0.06/0.25
<i>Pichia jadinii</i> (n=28)	<i>Cyberindnera jadinii</i>	≤0.12/0.5	1/4	0.06/0.25	0.12/0.25	0.03/0.12	0.015/0.12
<i>Pichia fabianii</i> (n=17)	<i>Cyberindnera fabianii</i>	≤0.12/≤0.12	0.5/1	0.03/0.03	0.12/0.25	0.01/0.12	0.03/0.06
<i>C. pelliculosa</i> (n=63)	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	≤0.12/0.12	2/4	0.12/0.25	0.25/0.5	0.06/0.12	0.03/0.06
<i>Pichia ohmeri</i> (n=42)	<i>Kodamaea ohmeri</i>	≤0.12/1	4/16	0.03/0.12	0.03/0.12	0.015/0.03	0.06/4
<i>Pichia norvegensis</i> (n=24)		4/8	16/64	0.5/0.5	0.12/0.12	0.12/0.5	0.03/0.06
<i>S. cerevisiae</i> (n=86)		≤0.12/≤0.12	4/16	0.12/0.25	0.5/1	0.06/0.25	0.12/0.25
<i>C. pararugosa</i> (n=14)	<i>Wickerhamiella pararugosa</i>	0.25/16	8/16	0.06/0.25	0.12/0.25	0.12/0.25	0.06/0.12
<i>C. lipolytica</i> (n=35)	<i>Yarrowia lipolytica</i>	32/64	4/16	0.06/0.25	0.25/1	0.12/2	0.12/0.5
<i>Geotrichum candidum</i> (n=40)	<i>Galactomyces candidus</i>	0.25/1	16/64	0.25/1	0.25/1	0.5/2	1/4
<i>G. capitatum</i> (n=70)	<i>Magnusiomyces capitatus</i>	≤0.12/0.25	8/16	0.06/0.5	0.12/0.5	2/4	>4/4
<i>G. clavatum</i> (n=223)	<i>Magnusiomyces clavatus</i>	0.25/0.5	16/32	0.25/1	0.5/1	2/4	>4/4
<i>Cr. neoformans</i> var. <i>grubii</i> (n=1066)	<i>Cr. neoformans</i>	4/16	4/8	0.06/0.12	0.06/0.25	0.12/0.25	>4/4
<i>Cr. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> (n=233)	<i>Cr. deneoformans</i>	4/16	1/4	0.03/0.06	0.03/0.12	0.06/0.25	>4/4
<i>Cr. neoformans</i> hybrides AD (n=186)		4/16	4/8	0.03/0.12	0.06/0.12	0.06/0.25	>4/4
<i>Cr. gattii</i> (n = 33)	<i>Cr. gattii</i> complex	4/8	8/16	0.12/0.5	0.25/0.5	0.25/0.5	>4/4
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (n=88)		0.25/1	>64/64	2/4	0.5/2	1/2	>4/4
<i>Trichosporon asahii</i> (n=85)		64/64	4/8	0.06/0.25	0.25/0.5	0.5/1	>4/4
<i>Trichosporon inkin</i> (n=17)		>64/64	1/4	0.06/0.25	0.25/0.5	0.5/1	>4/4
<i>Trichosporon austroamericanum</i> (n=26)		>64/64	0.5/4	0.03/0.06	0.06/0.25	0.03/0.12	4/4

* 5-FC (5-fluorocytosine), Fluco (fluconazole), Vori (voriconazole), Posa (posaconazole), Isavu (Isavuconazole, testé depuis 2015), Caspo (caspofungine)

Tableau 12 : Profil de sensibilité des levures à la micafungin et l'amphotéricin B pour les isolats des espèces rares testés au CNRMA, entre le 30/03/2023 et 28/02/2025. Les espèces pour lesquelles au moins 10 isolats ont été testés sont présentées ici.

Espèces étudiées		Valeurs des CMI50 / CMI90 mg/L pour les antifongiques*	
Nom d'usage en clinique (nbre d'isolats testés)	Nom actuel	AMB	Mica
<i>C. dubliniensis</i> (n=15)		0.25/0.5	0.03/0.06
<i>C. orthopsilosis</i> (n=13)		0.5/1	0.5/1
<i>C. metapsilosis</i> (n=27)		0.5/1	0.5/1
<i>C. lusitaniae</i> (n=56)	<i>Clavispora lusitaniae</i>	0.25/0.5	0.12/0.25
<i>C. guilliermondii</i> (n=18)	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	0.5/1	0.5/1
<i>S. cerevisiae</i> (n=14)		0.5/0.5	0.25/0.5
<i>C. pelliculosa</i> (n=25)	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	0.5/1	0.03/0.06
<i>C. auris</i> (n=38)	<i>Candidozyma auris</i>	1/1	0.25/0.5
<i>G. clavatum</i> (n=11)	<i>Magnusiomyces clavatus</i>	½	>4/>4
<i>Cr. neoformans</i> var. <i>grubii</i> (n=69)	<i>Cryptococcus neoformans</i>	0.5/1	>4/>4
<i>Cr. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> (n=19)	<i>Cryptococcus deneoformans</i>	0.5/1	4/>4
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (n=18)		0.5/0.5	>4/>4
<i>Trichosporon asahii</i> (n=13)		8/8	>4/>4

* AMB (amphotéricine B), Mica (micafungine).

Les données de sensibilités des espèces dites fréquentes déterminées entre 2003 et 2023 sont également présentées dans le tableau 13. Ces souches étant envoyées sans biais de sélection, les profils correspondent au profil « classique » de ces espèces.

Tableau 13 : Profil de sensibilité des levures pour les isolats d'espèces fréquentes testés entre 01/01/2003 et 30/03/2023

Espèces étudiées		Valeurs des CMI50 / CMI90 mg/L pour les antifongiques*							
Nom d'usage en clinique (nbre d'isolats testés)	Nom actuel	AMB	5-FC	Fluco	Vori	Posa	Isavu	Caspo	Mica
<i>C. albicans</i> (n=3732)		0.06/0.12	≤0.12/0.5	0.25/0.5	≤0.01/≤0.01	≤0.01/0.06	≤0.007/≤0.007	0.03/0.06	0.015/0.03
<i>C. glabrata</i> (n=1486)	<i>Nakaseomyces glabratus</i>	0.12/0.25	≤0.12/≤0.12	16/64	0.25/1	0.5/2	0.12/0.5	0.06/0.12	0.015/0.03
<i>C. parapsilosis</i> (n=986)		0.06/0.12	≤0.12/0.25	0.5/4	≤0.01/0.06	0.06/0.12	0.015/0.03	0.25/1	0.25/0.5
<i>C. tropicalis</i> (n=728)		0.06/0.12	≤0.12/32	0.5/4	0.03/0.25	0.06/0.12	≤0.007/0.03	0.03/0.06	0.03/0.03
<i>C. krusei</i> (n=385)	<i>Pichia kudriavzevii</i>	0.12/0.25	2/4	32/64	0.25/0.5	0.12/0.25	0.12/0.25	0.12/0.25	0.06/0.12
<i>C. kefyr</i> (n=190)	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	0.06/0.12	0.5/8	0.25/1	≤0.01/≤0.01	0.06/0.12	≤0.007/≤0.007	0.015/0.03	0.03/0.06

* AMB (amphotéricine B), 5-FC (5-fluorocytosine), Fluco (fluconazole), Vori (voriconazole), Posa (posaconazole), Isavu (Isavuconazole, testé depuis 2015), Caspo (caspofungine), Mica (micafungine).

Profil de sensibilité des espèces et détection des résistances

La surveillance des fongémies à levures en Ile de France (Observatoire Des Levures, ODL) mise en place depuis octobre 2002 a pris fin le 31 décembre 2022. Cette surveillance impliquait pour les centres participants l'envoi systématique de tous les isolats de levures isolés des hémocultures, associés à une fiche de déclaration particulière. Ces isolats étaient reçus au CNRMA et la détermination de la sensibilité aux antifongiques était effectuée sans biais de sélection, nous permettant d'avoir un aperçu pour la région Parisienne des profils de

sensibilité des espèces de levures fréquentes et de l'éventuelle augmentation ou apparition de phénomènes de résistance. Nous avons cessé cette surveillance car la participation de certains centres semblait diminuée au fil des années et l'augmentation du nombre de centres participants dans le nouveau système de surveillance SINFONI risquait d'augmenter considérablement le nombre d'isolats de toutes les espèces reçus au CNRMA. Nous avons choisi à la place de prévoir d'une part que les centres participants à SINFONI complètent les données de sensibilité aux antifongiques obtenues dans leur centre pour tous les isolats responsable d'infection fongique invasive (ces données sont majoritairement déterminées par des techniques non standardisées types Etest, Sensititre, Micronaut) et d'autre part d'organiser une enquête ponctuelle (FlashMIC), sur un mois, durant laquelle tous les centres participants feront parvenir leur isolats de levures responsables d'infections invasives quelle que soit l'espèce et le profil de sensibilité. Cette étude a débuté le 1^{er} mars 2025. Les isolats reçus seront donc testés de façon standardisée et nous permettrons d'avoir une vision globale des profils de sensibilité des espèces fréquentes de levures au niveau national.

Résistance au fluconazole

Parmi les souches de *C. parapsilosis* ou *N. glabratus* responsables de fongémies en 2024 déclarées dans le cadre de la surveillance SINFONI, certaines souches ont été identifiées comme ayant des CMI élevées au fluconazole par les techniques de bandelettes Etest ou la technique en milieu liquide colorimétrique Sensititre. La résistance au fluconazole par la technique standardisée en milieu liquide EUCAST, a été confirmée pour la majorité des souches de *N. glabratus* testées à ce jour (93.1%). Seulement 50% des cas de résistance au fluconazole pour les souches de *C. parapsilosis* a été confirmée, mais seules 16 souches sur les 53 ont été à ce jour reçues et testées au CNRMA (Tableau 14). En 2023 76.9% des souches identifiées avec une valeur haute au fluconazole en technique bandelettes avaient été confirmées par EUCAST, et 46.2% pour les souches de *C. parapsilosis*. Les souches de la surveillance n'étant pas envoyées en temps réel par les centres participants, l'estimation exacte de la résistance parmi les isolats cliniques en France est difficile et ne pourra se faire que de façon rétrospective. Aux vues des résultats des deux dernières années nous pouvons seulement estimer à environ 6% le nombre d'isolats de *C. parapsilosis* résistant au fluconazole parmi les isolats responsables de candidémies et entre 10 et 13% pour *N. glabratus*.

Tableau 14. Proportion des isolats résistants au fluconazole responsables de fongémies en 2024 et en 2023

2024	Nbre de cas de fongémies diagnostiquées en 2024	Nbre de souches ayant des valeurs de CMI élevée (>32mg/L ou >2mg/L) au fluconazole	Nbre de souches reçues au CNRMA-IFI	Nbre de souches confirmées résistantes au fluconazole par EUCAST/nbre de souches testées
<i>N. glabratus</i>	361	52	35	27/29
<i>C. parapsilosis</i>	388	53	37	8/16
2023	Nbre de cas de fongémies diagnostiquées en 2023	Nbre de souches ayant des valeurs de CMI élevée (>32mg/L ou >2mg/L) au fluconazole	Nbre de souches reçues au CNRMA-IFI	Nbre de souches confirmées résistantes au fluconazole par EUCAST/nbre de souches testées
<i>N. glabratus</i>	365	51	40	30/39
<i>C. parapsilosis</i>	338	48	26	12/26

Résistance aux échinocandines

En 2024, le nombre d'isolats responsables de fongémies à levures résistants aux échinocandines reste faible et majoritairement associé à une préexposition ou un traitement à la micafungin ou à la caspofungine.

Seulement trois souches de *C. albicans* sur les 943 épisodes de fongémies rapportées ont été identifiés comme ayant un profil de résistance à un antifongique de la classe des échinocandines. Les 3 isolats ont été envoyés au CNRMA et la résistance a été confirmée par technique EUCAST et identification d'une modification en acide aminé

dans la région codant pour l'enzyme cible. Dans un seul cas, la notion de préexposition ou de traitement aux échinocandines n'a pas été retrouvée.

Parmi les 26 cas déclarés de fongémie à *C. dubliniensis* diagnostiquées en 2024, 15 isolats ont été envoyés au CNRMA, 1 seul cas de résistance *in vitro* associé à la mutation F641S dans le gène *Fks* a été identifié chez un patient après un traitement par la micafungine. De même pour *C. tropicalis*, un seul isolat parmi les 180 cas rapportés en 2024 présente une mutation S645S/P chez un patient pré-exposé à la caspofungin.

Le séquençage des gènes *Fks* a été effectué pour 12 isolats de *N. glabratus* parmi les 361 cas diagnostiqués en 2024. Pour 4 isolats, la valeur de CMI était basse et les séquences obtenues correspondent à des isolats sauvages. Pour 8 isolats présentant des CMI élevées à la caspofungin et/ ou à la micafungine, 5 mutations différentes ont été identifiées et 7 des 8 patients concernés avaient été pré-exposés ou recevaient un traitement aux échinocandines au moment du diagnostic de fongémie.

CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

Depuis 2003, le CNRMA-IFI a déterminé la sensibilité à 8 antifongiques (ATF) systémiques de plus de 3900 isolats de champignons filamenteux (Tableau 16). Les données sur l'isavuconazole (testé depuis 2015) sont présentées plus loin dans un tableau séparé (Tableau 17) car le nombre de souches est plus limité. Ces isolats nous sont envoyés pour de multiples raisons : principalement dans le cadre de la surveillance nationale mais également pour des raisons de difficulté d'identification requérant notre expertise, difficulté de prise en charge thérapeutique en raison de la rareté de l'espèce, de la localisation, de l'immunodéficience de l'hôte ou de l'absence d'efficacité sous traitement.

Depuis 2023, nous avons substitué le milieu AM3 utilisé pour tester la sensibilité à l'amphotéricine B par le milieu RPMI qui est préconisé dans la méthode de référence EUCAST https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Files/EUCAST_EDef_9.4_method_for_sceptibility_testing_of_moulds.pdf

De plus, nous avons modifié la lecture des plaques. Nous considérons désormais pour l'ensemble des molécules, que la plus faible concentration entraînant une réduction $\geq 90\%$ de la densité optique (DO) par rapport à celle du témoin sans antifongique est la valeur de la CMI.

Détection des résistances champignons filamenteux aux antifongiques

Nous présentons dans le Tableau 15, les profils de sensibilité déterminés en 2023 avec les modifications mentionnées ci-dessus pour lesquels plus de 5 isolats ont été testés.

L'analyse précise de la résistance aux azolés en France pour les souches d'*A. fumigatus* se fera via une enquête « flash » prévue dans ce mandat. Au cours de cette étude qui aura lieu sur une période limitée nous souhaitons recevoir tous les isolats d'*A. fumigatus* responsables d'infections invasives déclarés dans le cadre de SINFONI et déterminer les CMI aux azolés. Dans le cadre de la surveillance SINFONI nous recevons les isolats de champignons filamenteux responsables d'infections invasives. Dans le cas particulier des isolats d'*Aspergillus fumigatus* seuls ceux ayant un profil de sensibilité inhabituel (CMI élevées aux azolés ou autres ATF) sont envoyés au CNRMA-IFI pour confirmation de la résistance. Ceci nous permettra d'évaluer le pourcentage de résistance chez cette espèce. Nous avons séparé, dans les tableaux 15 et 16, les souches pour lesquelles les CMI de l'itraconazole étaient élevées ($>1\text{mg/L}$), avec parfois une résistance croisée pour le voriconazole et le posaconazole, de façon à mieux mettre en évidence le profil des souches sauvages.

A travers la détermination des profils de sensibilité nous observons des "résistances" qui font partie du profil naturel des certaines espèces et qui ne représentent pas des résistances acquises sous traitement antifongique.

Parmi les espèces cryptiques d'*Aspergillus* section *Fumigati*, nous retrouvons *Aspergillus lentulus* qui se caractérise par des CMI très élevées à l'amphotéricine B. Nous avons séparé les espèces majoritaires d'*Aspergillus* section *Nidulantes* telles qu'*A. nidulans* et *A. quadrilineatus* qui diffèrent dans leurs profils de sensibilité à l'amphotéricine B et à la caspofungine. Certaines espèces émergentes, comme les *Aspergillus* de la section *Usti*, particulièrement *Aspergillus calidoustus* (l'espèce la plus fréquemment rencontrée en clinique) ont des profils de sensibilité particuliers avec des CMI élevées pour tous les azolés et les échinocandines. Les membres du genre *Fusarium*, à l'exception du complexe d'espèces *Fusarium dimerum* pour l'amphotéricine B, sont caractérisés par une résistance à la plupart des antifongiques systémiques, y compris les nouveaux azolés et les échinocandines.

Les espèces *Lomentospora prolificans*, *Scopulariopsis brevicaulis* et *Microascus cirrosus* ont des profils multirésistants.

Pour les *Mucorales*, nous retrouvons une bonne activité *in vitro* de l'amphotéricine B et une activité du posaconazole variable selon les espèces, et l'absence d'activité du voriconazole et des échinocandines.

Les champignons mélanisés ont globalement une bonne sensibilité à l'amphotéricine B et aux azolés. On peut remarquer que l'activité des différents azolés n'est pas toujours équivalente, au sein d'une même espèce. Certaines espèces ont des CMI basses pour l'itraconazole et le posaconazole et des CMI hautes pour le voriconazole (*Mucorales*, *Exophiala dermatitidis*, ou la forme mycélienne de *Sporothrix schenckii*). A l'inverse, des CMI basses pour le voriconazole et hautes pour l'itraconazole et le posaconazole sont observées pour d'autres espèces (*Trichoderma* spp.).

Pour l'isavuconazole, les *Mucorales* et les espèces du genre *Fusarium*, ont des CMI très élevées et comparables à celles du voriconazole et de l'itraconazole. Pour les autres espèces testées, les CMI de l'isavuconazole sont la plupart du temps plus hautes que pour les autres azolés, ce qui, rappelons-le, ne préjuge pas de l'activité *in vivo* de cet antifongique étant données les différences pharmacologiques entre les triazolés.

Pour les isolats testés à partir de 2023, nous intégrons dans un même tableau les CMI d'isavuconazole en raison de la modification dans la technique (Tableau 15).

L'ensemble des résultats souligne l'intérêt de l'identification des champignons filamenteux au niveau de l'espèce et de la détermination centralisée des sensibilités *in vitro* aux antifongiques (même pour plusieurs antifongiques d'une même famille pharmacologique).

Tableau 15 : Profil de sensibilité des champignons filamenteux aux antifongiques pour les espèces pour lesquelles au moins 5 isolats ont été testés à partir de 2023 (MAJ 8/03/2025).

Espèce (nombre d'isolats testés)	Valeurs des CMI50 / CMI90 (mg/L) pour les antifongiques*							
	AMB ^a	Itra	Vori	Posa	Isavu	Caspo	Mica	Terbi
<i>Cunninghamella bertholletiae</i> (n=6)	2/-	>8/-	>8/-	1/-	>4/-	>4/-	>4/-	0.5/-
<i>Rhizopus arrhizus</i> (n=20)	0.25/0.5	8/≥8	>8/>8	1/>8	>4/>4	>4/-	>4/-	>8/>8
<i>Rhizopus microsporus</i> (n=16)	0.5/2	4/>4	>8/-	1/	2/4	>4/-	>4/-	1/-
<i>Rhizomucor pusillus</i> (n=5)	0.25/-	1/-	>8/-	0.5/-	4/-	>4/-	>4/-	0.5/-
<i>Lichtheimia ramosa</i> (n=5)	0.25/-	1/-	>8/-	0.5/-	4/-	>4/-	>4/-	1/-
<i>Mucor circinelloides</i> (n=20)	0.125/0.25	>8/>8	>8/>8	1/>8	>4/-	>4/-	>4/-	>8/>8
<i>Aspergillus fumigatus</i> S (n=42)	0.5/1	0.25/0.5	0.5/0.5	0.06/0.25	0.5/1	0.5/1	0.015/0.03	2/2
<i>Aspergillus fumigatus</i> R (n=31)	0.5/1	>8/>8	2/4	0.5/0.5	4/8	0.5/8	0.015/0.06	1/4
<i>Aspergillus udagawae</i> (n=7)	>4/-	0.5/-	2/-	0.25/-	1/-	0.5/-	0.03/-	0.5/-
<i>Aspergillus flavus</i> (n=35)	4/>4	0.25/0.5	1/>1	0.25/0.5	1/2	0.5/0.5	0.03/0.03	0.06/0.125
<i>Aspergillus welwitschiae</i> (n=22)	0.5/0.5	1/2	1/-	0.25/0.5	2/2	0.5/0.5	0.015/0.015	0.25/0.5
<i>Aspergillus tubingensis</i> (n=22)	0.25/0.5	4/>4	2/-	0.5/0.5	4/8	0.5/0.5	0.015/0.015	0.25/0.5
<i>Aspergillus terreus</i> (n=14)	2/4	0.25/0.5	1/>1	0.125/0.5	0.5/1	0.5/1	0.007/0.007	0.125/-
<i>Aspergillus latus</i> (n=7)	1/-	0.5/-	0.25/-	0.25/-	0.25/-	2/-	0.03/-	0.25/-
<i>Neocosmospora solani</i> (n=9)	>2/-	>8/-	8/-	>8/-	>4/-	>4/-	>4/-	>8
<i>Neocosmospora falciformis</i> (n=6)	0.5/-	>8/-	>8/-	>8/-	>4/-	>4/-	>4/-	>4/-
<i>Neocosmospora petroliphila</i> (n=9)	1/2	>8/-	>8/-	>8/-	>4/-	>4/-	>4/-	>4/-
<i>Fusarium veterinarianium</i> (n=6)	1/-	>8/-	4/-	>8/-	>4/-	>4/-	>4/-	4/-
<i>Fusarium annulatum</i> (n=14)	>4/>4	>8/>8	8/8	>8/>8	>4/>4	>4/>4	>4/>4	2/-
<i>Scedosporium apiospermum</i> (n=25)	>4/>4	>8/>8	1/1	2/>8	>4/8	2/8	1/4	>8/>8
<i>Scedosporium boydii</i> (n=7)	>4/-	4/-	0.5/-	1/-	4/-	2/-	1/-	>8/-
<i>Scedosporium ellipsoideum</i> (n=5)	>4/-	8/-	1/-	2/-	>4/-	2/-	2/-	>8/-

<i>Lomentospora prolificans</i> (n=6)	>4/-	>8/-	>8/-	>8/-	>8/-	>4/-	>4	>8/-
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (n=5)	>4/-	4/-	0.25/-	0.125/-	0.5/-	>4/-	2/-	0.25/-
<i>Fonsecaea monophora</i> (n=5)	0.5/-	0.03/-	0.125/-	0.03/-	0.125/-	1/-	0.25/-	0.03/-
<i>Fonsecaea nubica</i> (n=5)	0.5/-	0.125/-	0.25/-	0.06/-	0.125/-	1/-	1/-	0.03/-

^a valeurs de CMI en milieu RPMI avec lecture de $\geq 90\%$ d'inhibition

AMB (amphotéricine B), Itra (itraconazole), Vori (voriconazole), Posa (posaconazole), Isavu (Isavuconazole), Caspo (caspofungine), Mica (micafungine), Terbi (terbinafine). Les valeurs de CMI50 sont déterminées pour les espèces pour lesquelles au moins 5 isolats ont été testés. Les valeurs de CMI90 sont calculées pour les espèces pour lesquelles au moins 10 isolats ont été testés.

TABLEAUX CMI 2003 à 2022

Tableau 16 Profil de sensibilité des champignons filamenteux aux antifongiques de 2003 à 2022

Espèce (nombre d'isolats testés)	Valeurs des CMI50 / CMI90 (mg/L) pour les antifongiques						
	AMB	Itra	Vori	Posa	Caspo	Mica	Terbi
<i>Cunninghamella bertholletiae</i> (n=20)	0.5/1	8/≥8	≥8/≥8	0.5/1	≥4/≥4	≥4/≥4	0.12/0.25
<i>Cunninghamella</i> spp. (n=8)	4/-	2/-	≥8/-	1/-	≥4/-	≥4/-	0.12/-
<i>Lichtheimia corymbifera</i> (n=81)	0.5/0.5	1/4	≥8/≥8	0.5/0.5	≥4/≥4	≥4/≥4	0.5/1
<i>Lichtheimia ornata</i> (n=7)	0.25/-	0.5/-	≥8/-	0.5/-	≥4/-	≥4/-	0.5/-
<i>Lichtheimia ramosa</i> (n=79)	0.12/0.25	2/≥8	≥8/≥8	0.5/1	≥4/≥4	≥4/≥4	1/2
<i>Mucor circinelloides</i> (n=87)	0.06/0.12	≥8/≥8	≥8/≥8	1/≥8	≥4/≥4	≥4/≥4	≥8/≥8
<i>Mucor velutinosus</i> (n=16)	0.06/0.25	≥8/≥8	≥8/≥8	0.5/2	≥4/≥4	≥4/≥4	≥8/≥8
<i>Mucor indicus</i> (n=16)	0.06/0.12	≥8/≥8	≥8/≥8	1/2	≥4/≥4	≥4/≥4	≥8/≥8
<i>Mucor</i> spp. (n=12)	0.12/0.25	≥8/≥8	≥8/≥8	2/≥8	≥4/≥4	≥4/≥4	≥8/≥8
<i>Rhizomucor pusillus</i> (n=62)	0.06/0.12	0.5/1	≥8/≥8	0.25/0.5	≥4/≥4	≥4/≥4	0.25/0.5
<i>Rhizomucor miehei</i> (n=11)	0.03/0.06	0.06/0.12	2/-/≥8	0.06/0.12	≥4/≥4	2 /≥4	0.25/0.5
<i>Rhizopus arrhizus</i> (n=128)	0.12/0.25	1/≥8	≥8/≥8	0.5/2	≥4/≥4	≥4/≥4	≥8/≥8
<i>Rhizopus microsporus</i> (n=85)	0.06/0.25	2/≥8	≥8/≥8	0.5/2	≥4/≥4	≥4/≥4	0.5/1
<i>Saksenaia vasiformis</i> complex (n=5)	8/-	0.25/-	8/-	0.12/-	≥4/-	≥4/-	0.25/-
<i>Syncephalastrum racemosum</i> (n=6)	0.03/-	1/-	≥8/-	0.5/-	≥4/-	≥4/-	0.5/-
<i>Aspergillus fumigatus</i> (n=356)	0.25/0.5	0.25/0.5	0.25/0.5	0.06/0.12	0.5/0.5	0.015/0.03	1/2
<i>Aspergillus fumigatus</i> CMI itra>1mg/L (n=133)	0.25/0.5	≥8/≥8	2/4	0.5/2	0.5/0.5	≤0.007/0.03	1/4
<i>Aspergillus lentulus</i> (n=6)	>4/-	1/-	1/-	0.25/-	2/-	≤0.007/-	0.25/-
<i>Aspergillus hiratsukae</i> (n=7)	0.5/-	0.25/-	0.5/-	0.06/-	0.5/-	≤0.007/-	0.125/-
<i>Aspergillus flavus</i> (n=216)	1/4	0.12/0.25	0.5/0.5	0.12/0.25	0.25/0.5	≤0.007/0.03	0.03/0.06
<i>Aspergillus parasiticus</i> (n=7)	2/-	0.125/-	0.5/-	0.06/-	0.25/-	≤0.007/-	0.015/-
<i>Aspergillus tamaris</i> (n=10)	0.5/1	0.06/0.25	0.25/0.5	0.06/0.12	0.25/0.5	≤0.007/0.01	≤0.01/0.03
<i>Aspergillus</i> section <i>Nidulantes</i> (n=14)	1/2	0.25/1	0.25/0.5	0.12/0.25	0.5/2	≤0.007/-	0.06/0.25
<i>Aspergillus nidulans</i> (n=38)	2/>4	0.12/0.5	0.12/0.25	0.06/0.25	0.5/4	0.015/0.06	0.12/0.5
<i>Aspergillus quadrilineatus</i> (n=17)	0.5/1	0.12/0.25	0.12/0.25	0.12/0.25	2/2	≤0.007/0.03	0.12/0.12
<i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> (n=24)	0.25/0.5	1/4	0.5/1	0.25/0.5	0.25/0.5	0.01/0.25	0.12/0.25
<i>Aspergillus tubingensis</i> (n=35)	0.25/0.5	1/8	1/2	0.25/0.5	0.25/0.5	≤0.007/0.015	0.25/0.25
<i>Aspergillus welwitschiae</i> (n=29)	0.5/1	1/2	0.5/1	0.25/0.5	0.25/0.5	0.007/0.015	0.12/0.25
<i>Aspergillus</i> section <i>Usti</i> (n=28)	0.5/1	2/≥8	4/8	≥8/≥8	2/≥4	0.25/4	0.25/0.5
<i>Aspergillus calidoustus</i> (n=29)	1/2	≥8/≥8	4/8	≥8/≥8	0.5/4	0.015/0.06	0.25/0.5
<i>Aspergillus terreus</i> (n=62)	4/>4	0.06/0.25	0.5/1	0.06/0.12	0.5/1	≤0.007/0.03	0.06/0.12
<i>Aspergillus sydowii</i> (n=8)	2/-	0.5/-	0.5/-	0.25/-	0.12/-	≤0.007/-	0.06/-
<i>Aspergillus versicolor</i> (n=9)	1/-	0.25/-	0.25/-	0.12/-	0.5/-	0.03/-	0.25/-
<i>Penicillium</i> spp. (n=30)	0.5/4	1/≥8	8/≥8	1/≥8	2/≥4	0.12/2	0.25/1

<i>Penicillium chrysogenum</i> (n=8)	0.5/-	0.25/-	1/-	0.25/-	0.5/-	0.03/-	0.25/-
<i>Paecilomyces variotii</i> (n=16)	0.06/0.5	0.12/0.5	8/≥8	0.12/0.5	2/4	0.03/0.25	1/8
<i>Fusarium solani</i> complex (n=255)	4/>4	≥8/≥8	8/≥8	≥8/≥8	≥4/≥4	≥4/≥4	≥8/≥8
- <i>Neocosmospora falciformis</i> (n=17)	2/>4	8/≥8	8/≥8	≥8/≥8	≥4/≥4	≥4/≥4	≥8/≥8
<i>Fusarium oxysporum</i> complex (n=186)	2/4	≥8/≥8	2/8	2/≥8	≥4/≥4	≥4/≥4	2/4
<i>Fusarium proliferatum</i> (n=138)	4/>4	≥8/≥8	4/8	8/≥8	≥4/≥4	≥4/≥4	1/2
<i>Fusarium verticillioides</i> (n=23)	>4/>4	≥8/≥8	2/4	0.5/1	≥4/≥4	≥4/≥4	0.5/1
<i>Bisifusarium dimerum</i> (n= 35)	0.25/0.5	≥8/≥8	2/4	≥8/≥8	≥4/≥4	≥4/≥4	0.5/1
<i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> complex (n=6)	1/-	≥8/-	2/-	1/-	≥4/-	≥4/-	4/-
<i>Sarocladium kiliense</i> (n=11)	>4/>4	≥8/≥8	0.5/1	1/≥8	4/≥4	4/≥4	0.5/0.5
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (n=58)	>4/>4	2/≥8	0.25/0.5	0.25/0.5	≥4/≥4	2/≥4	0.25/0.5
<i>Trichoderma orientale</i> (n=5)	1/-	≥8/-	1/-	1/-	0.5/-	0.03/-	0.5/-
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (n=26)	1/2	≥8/≥8	0.5/1	1/2	0.5/1	0.06/0.25	1/2
<i>Phaeoacremonium parasiticum</i> (n=27)	0.5/2	≥8/≥8	0.25/0.25	0.25/0.5	≥4/≥4	≥4/≥4	0.12/0.5
<i>Pleurostoma richardsiae</i> (n=7)	0.25/-	0.25/-	0.5/-	0.25/-	4/-	1/-	1/-
<i>Coniochaeta hoffmannii</i> (n=7)	0.25/-	0.25/-	1/-	0.12/-	2/-	2/-	0.25/-
<i>Thermothelomyces thermophilus</i> (n=10)	1/2	0.12/-	0.12/-	0.06/-	4/-	0.5/-	2/-
<i>Sporothrix schenckii</i> (n=20)	1/2	0.5/1	8/≥8	0.5/1	≥4/≥4	≥4/≥4	0.06/0.12
<i>Sporothrix globosa</i> (n=6)	8/-	1/-	≥8/≥8	1/2	≥4/-	1/-	0.25
<i>Scedosporium apiospermum</i> (n=124)	>4/>4	1/8	0.5/1	0.5/1	1/2	0.25/1	≥8/≥8
<i>Scedosporium boydii</i> (n=48)	>4/>4	0.5/8	0.25/0.5	0.25/1	1/2	0.25/1	≥8/≥8
<i>Scedosporium ellipsoideum</i> (n=9)	>4/-	1/-	0.5/-	1/-	0.5/-	0.25/-	≥8/-
<i>Scedosporium aurantiacum</i> (n=10)	>4/>4	4/≥8	0.5/1	1/2	8/8	8/8	≥8/≥8
<i>Scedosporium dehoogii</i> (n=12)	>4/>4	0.5/1	0.25/0.5	0.5/1	2/2	0.25/0.5	≥8/≥8
<i>Scedosporium minutisporum</i> (n=5)	8/-	0.5/-	0.25/-	0.5/-	2/-	0.25/-	≥8/-
<i>Lomentospora prolificans</i> (n=43)	>4/>4	≥8/≥8	8/≥8	≥8/≥8	4/≥4	4/≥4	≥8/≥8
<i>Microascus cirrosus</i> (n=11)	>4/>4	≥8/-	≥8/-	≥8/-	4/-	≥4/-	2/-
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (n=22)	>4/>4	≥8/≥8	8/≥8	≥8/≥8	1/4	0.25/1	2/8
<i>Doratomyces</i> spp. (n=5)	2/-	≥8/-	4/-	1/-	1/-	0.12/-	2/-
<i>Chaetomium globosum</i> . (n=6)	4/-	0.06/-	0.25/-	0.12/-	0.5/-	0.12/-	8/-
<i>Chaetomium</i> spp. (n=7)	1/-	0.25/-	0.25/-	0.25/-	1/-	0.25/-	1/4
<i>Curvularia spicifera</i> (n=8)	0.06/-	0.25/	0.5/-	0.06/-	0.5/-	0.06/-	0.5/-
<i>Alternaria infectoria</i> complex (n=28)	0.25/0.5	0.5/1	4/≥8	0.12/0.5	0.5/1	0.06/0.12	0.5/1
<i>Alternaria alternata</i> complex (n=39)	0.5/1	1/8	2/4	0.25/0.5	0.5/≥4	0.25/≥4	4/≥8
<i>Medicopsis romeroi</i> (n=7)	0.5/-	4/-	0.5/-	1/-	4/-	2/-	0.12/-
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i> (n=7)	0.12/-	≥8/-	0.12/-	0.5/-	0.5/-	0.12/-	0.5/-
<i>Aureobasidium</i> spp. (n=8)	0.25/-	0.03/-	0.12/-	0.06/-	1/-	1/-	1/-
<i>Exophiala dermatitidis</i> (n=37)	0.12/0.25	0.5/1	0.06/0.5	0.12/0.5	4/≥4	1/≥4	0.06/0.25
<i>Exophiala jeanselmei</i> (n=11)	0.5/1	0.25/0.5	0.25/0.5	0.25/-	1/-	2/-	0.06/-
<i>Exophiala oligosperma</i> (n=6)	0.25/-	0.25/-	0.25/-	0.25/-	≥4/-	2/-	0.03/-
<i>Exophiala spinifera</i> (n=14)	0.12/0.25	0.03/0.05	0.12/0.25	0.03/0.25	2/2	0.25/2	0.06/0.25
<i>Fonsecaea monophora</i> (n=13)	0.5/2	≤0.01/-	0.06/0.12	0.01/0.06	0.5/-	0.5/1	0.03/0.12
<i>Fonsecaea pedrosoi</i> (n=11)	0.25/1	0.12/0.25	0.06/0.25	0.06/0.12	0.5/1	1/-	0.03/0.12
<i>Fonsecaea nubica</i> (n=20)	0.5/1	≤0.01/0.5	0.06/0.12	0.03/0.25	1/2	0.5/4	0.03/0.25
<i>Hormographiella aspergillata</i> (n=6)	0.06/-	≥8	1/-	2/-	4/-	4/-	8/-

Tableau 17. Profil de sensibilité des filamenteux à 4 azolés, dont l'*isavuconazole* pour les espèces pour lesquelles au moins 5 isolats ont été testés depuis janvier 2015 jusqu'à 2022

Espèce (nbre d'isolats)	Valeurs des CMI50/CMI90 (mg/L) pour les azolés			
	Posaconazole	Itraconazole	Voriconazole	Isavuconazole
<i>Cunninghamella bertholletiae</i> (n=14)	1/1	≥8/≥8	≥8/≥8	>4/>4
<i>Lichtheimia corymbifera</i> (n=37)	0.5/0.5	0.5/2	≥8/≥8	4/>4
<i>Lichtheimia ramosa</i> (n=29)	0.5/1	1/≥8	≥8/≥8	>4/>4
<i>Mucor circinelloides</i> (n=53)	2≥8	≥8/≥8	≥8/≥8	>4/>4
<i>Mucor indicus</i> (n=13)	1/2	≥8/≥8	≥8/≥8	>4/>4
<i>Mucor velutinosus</i> (n=10)	1/-	≥8/-	≥8/-	>4/-
<i>Rhizopus arrhizus</i> (n=69)	0.5/4	4/≥8	≥8/≥8	4/>4
<i>Rhizopus microsporus</i> (n=50)	1/≥8	≥8/≥8	8/≥8	4/>4
<i>Rhizomucor pusillus</i> (n=18)	0.25/0.25	0.5/0.5	≥8/≥8	4/>4
<i>Rhizomucor miehei</i> (n=6)	0.06/0.125	0.06/0.125	2/≥8	0.5/1
<i>Aspergillus fumigatus</i> (n=163)	0.06/0.12	0.25/0.5	0.25/1	0.5/1
<i>Aspergillus fumigatus</i> itraR (CMI>1mg/L, n=70)	0.5/2	≥8/≥8	4/4	4/>4
<i>Aspergillus lentulus</i> (n=6)	0.25/-	1/-	1/-	1/-
<i>Aspergillus flavus</i> (n=121)	0.125/0.125	0.125/0.25	0.5/1	0.5/1
<i>Aspergillus parasiticus</i> (n=5)	0.06/-	0.125/-	1/-	0.5/-
<i>Aspergillus nidulans</i> (n=12)	0.06/0.25	0.125/0.25	0.125/0.25	0.125/0.5
<i>Aspergillus quadrilineatus</i> (n=7)	0.125/-	0.125/-	0.12/-	0.125/-
<i>Aspergillus tubingensis</i> (n=22)	0.25/0.5	1/≥8	1/2	4/>8
<i>Aspergillus welwitschiae</i> (n=21)	0.25/0.5	1/2	0.5/1	2/2
<i>Aspergillus calidoustus</i> (n=20)	≥8/≥8	≥8/≥8	4/8	2/4
<i>Aspergillus terreus</i> (n=27)	0.06/0.12	0.06/0.125	0.5/1	0.5/1
<i>Fusarium solani</i> complex (n=106)	≥8/≥8	≥8/≥8	8/≥8	>4/>4
<i>Fusarium oxysporum</i> complex (n=77)	2/≥8	≥8/≥8	2/4	>4/>4
<i>Fusarium proliferatum</i> (n=65)	2/≥8	≥8/≥8	4/8	>4/>4
<i>Fusarium verticillioides</i> (n=7)	0.25/-	16/-	1/-	>4/-
<i>Fusarium dimerum</i> complex (n=19)	≥8/≥8	≥8/≥8	2/4	>4/>4
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (n=30)	0.25/0.5	4/≥8	0.25/0.5	1/4
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> (n=9)	1/-	≥8/-	0.5/-	>4/-
<i>Phaeoacremonium parasiticum</i> (n=17)	0.25/0.5	≥8/≥8	0.25/0.5	2/4
<i>Scedosporium apiospermum</i> (n=56)	0.5/1	0.5/8	0.25/0.5	2/4
<i>Scedosporium boydii</i> (n=16)	0.25/1	1/≥8	0.25/0.5	2/>4
<i>Lomentospora prolificans</i> (n=16)	≥8/≥8	≥8/≥8	8/≥8	>4/>4
<i>Microascus cirrosus</i> (n=5)	2/-	≥8/≥8	4/≥8	>4/>4
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (n=9)	≥8/-	≥8/-	8/-	4/-
<i>Alternaria alternata</i> complex (n=12)	0.25/0.5	1/8	2/4	4/8
<i>Exophiala dermatitidis</i> (n=10)	0.03/0.25	0.06/0.5	0.25/4	0.5/4
<i>Fonsecaea pedrosoi</i> (n=5)	0.06/ -	0.125/ -	0.06/-	0.125/-
<i>Fonsecaea monophora</i> (n=8)	≤0.01/-	0.015/-	0.06/-	0.03/-
<i>Fonsecaea nubica</i> (n=12)	0.03/0.12	0.015/0.25	0.06/0.12	0.06/0.25

Détermination des profils de sensibilité des champignons filamenteux d'intérêt médicale au nouvel antifongique Olorofim

Les maladies fongiques invasives (MFI) sont en constante augmentation et les options thérapeutiques sont limitées. Pour améliorer le traitement des espèces résistantes, de nouvelles molécules antifongiques ont été développées. L'olorofim est la molécule la plus représentative de la classe chimique des orotomides. Bien qu'inactif contre les membres des *Mucorales* et les levures, l'olorofim a montré une bonne activité *in vitro* contre les champignons dimorphiques (*Histoplasma* spp., *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides* spp, *Talaromyces marneffe*), mais également contre de nombreuses espèces des genres *Penicillium*, *Rasamsonia*, *Scedosporium*, *Lomentospora*, *Fusarium*, *Trichophyton*, *Madurella mycetomatis* ainsi que les espèces d'*Aspergillus* cryptiques et résistantes aux azolés.

Nous sommes conscients du défi que représente la gestion des espèces difficiles à traiter ou des nouvelles espèces. Nous continuons donc de déterminer la sensibilité à l'olorofim pour ces souches. Nous avons expertisé en 2024 une collection d'une soixantaine d'isolats cliniques identifiés par séquençage. Nous avons obtenu des résultats reproductibles pour les valeurs basses de CMI pour des isolats d'*A. fumigatus* résistants aux azolés et plusieurs isolats multi-résistants tels que le complexe d'espèces *Fusarium fujikuroi* et *F. oxysporum*; *Microascus* et *Scopulariopsis*. Notre objectif est de constituer une base de données qui sera un atout majeur pour les cliniciens et mycologues.

Recherche des mutations dans le gène *CYP51A*

En 2024, nous avons recherché des mutations se trouvant dans le gène *CYP51A* de 21 isolats d'*A. fumigatus* ayant des CMI élevés aux azolés. La mutation la plus fréquente était TR34/L98H (16 souches) suivi de G448S (2 souches). Les mutations G54R, M220I et Y207C ont été identifiés dans le reste des isolats

Dans la Figure 19 sont représentées les principales substitutions non synonymes décrites pour le gène cible et son promoteur. Les souches résistantes aux azolés portent des mutations ponctuelles dans la région codante soit en combinaison ou en absence de répétitions en tandem dans le promoteur. Les mécanismes pouvant expliquer la résistance sont connus pour un certain nombre des mutations.

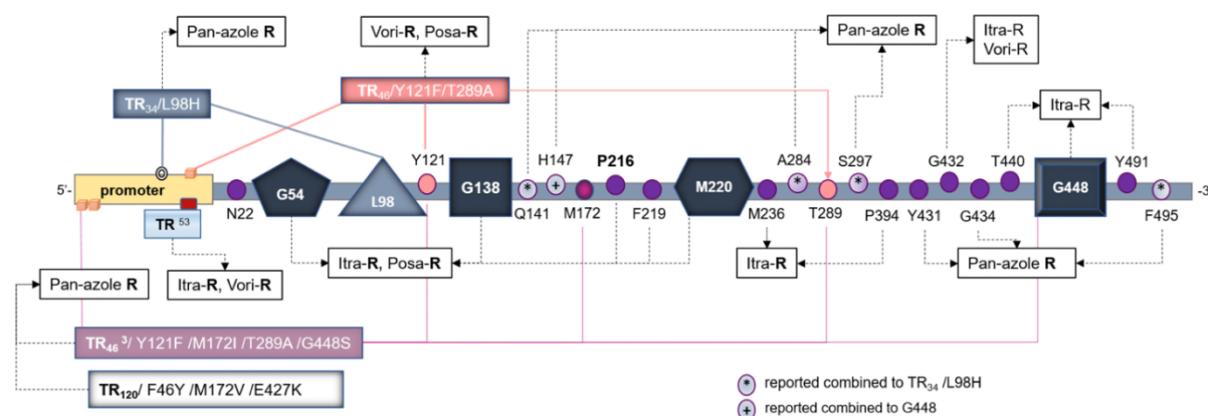


Figure 19. Schéma du gène *Cyp51A* d'*A. fumigatus* et principales mutations. Les régions hotspot sont indiquées : G54, L98, G138, M220, G448. Les constructions génétiques ont démontré que ces mutations peuvent être responsables d'un phénotype de résistance aux antifongiques azolés (modifié d'Alanio A. et al.) Itra: itraconazole ; Vori : voriconazole ; Posa : posaconazole ; TR, tandem repeat ; R, résistant

Aspergillus résistants aux azolés

La résistance aux azolés chez certaines espèces d'*Aspergillus* est de plus en plus fréquente dans certaines régions, ce qui a parfois entraîné des modifications des lignes directrices locales ou nationales pour le traitement initial de l'aspergillose invasive. Dans le cadre du réseau SINFONI, nous cherchons à évaluer la prévalence de la résistance aux azolés chez *Aspergillus fumigatus sensu stricto* responsable d'aspergilloses invasives. En 2023, nous avons analysés 550 cas d'aspergillose invasive déclarés par 49 centres hospitaliers actifs. Le taux global de cultures positives pour les espèces d'*Aspergillus* était de 62% (341/550), dont 80% (274/341) ont été déclarés comme étant *A. fumigatus*. Les centres ont rapporté des profils de sensibilité aux antifongiques pour 217 des 274 *A. fumigatus* déclarés. Trente-cinq isolats d'*A. fumigatus* résistants aux azolés ont été reçus au CNRMA et pour deux d'entre eux (2/35), l'identification polyphasique a permis d'identifier *Aspergillus felis*, une espèce cryptique de la section *Fumigati*. La résistance aux azolés a été confirmée par la détermination des CMI par la technique EUCAST dans 20 des 33 isolats d'*A. fumigatus sensu stricto* représentant des souches de 14 centres, indiquant une prévalence de 9,2% (20/217) pour l'année 2023. Un centre du nord de la France comptait 4 cas sur 29 (13 %). En région parisienne, cinq hôpitaux étaient concernés.

Ce taux global de 9.2% de résistance aux azolés parmi les isolats d'*A. fumigatus* est un chiffre inquiétant qui dépasse les rapports précédents en France. Cette augmentation justifie l'attention des professionnels de santé et des décideurs politiques. La prédominance de la mutation TR34/L98H plaide en faveur d'une origine environnementale de la résistance, car ces mutations sont souvent associées à l'utilisation de fongicides dans l'agriculture. Le taux de mortalité élevé associé à ces infections nécessite une approche proactive du diagnostic et du traitement précoces. Ces résultats soulignent la nécessité d'une vigilance accrue et de procédures de diagnostic actives, y compris la culture au sein des populations immunodéprimées plus exposées au risque d'aspergillose invasive.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Le CNRMA participe à la surveillance européenne concernant les infections à *Candida auris* mis en place par l'ECDC, *Candida auris* survey collaborative group.

Une alerte européenne via l'eCDC a également été mise en place concernant les médiastinites à *Trichosporon* spp. en juin 2023.

Nous sommes co-responsables d'un réseau de surveillance européen de la résistance financé par le programme JPIAMR. (PI Paul Verweij TN, Co-PI: Ana Alastruey (ES), Lewis White (UK), Alexandre Alanio (FR)). L'objectif de ce réseau est de mettre en place en 2025 un protocole standardisé de surveillance épidémiologique de la résistance aux antifongiques focalisé sur *Aspergillus fumigatus* et *Candida* spp.. Une grande réunion sera mise en place en 2025 impliquant les centres du réseau européen (4 centres Français inclus), les représentants des institutions impliqués dans la lutte contre la résistance aux antifongiques (OMS, ECDC), des représentants des sociétés savantes internationales (ISHAM, ECMM) permettant d'aboutir à un consensus en termes de protocole épidémiologiques et de stratégie de travail pour le futur.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Enquête de pratiques SINFONI

En mars 2024, une enquête a été menée afin de recenser les pratiques et méthodes disponibles dans l'ensemble des centres participant à la surveillance prospective des infections fongiques invasives (centres SINFONI).

Nous avons mis en place ce questionnaire en utilisant l'application RedCap que nous utilisons pour la surveillance nationale SINFONI. Les correspondants avaient accès au questionnaire avec les mêmes identifiants et nous pourrions réutiliser le modèle du questionnaire pour une enquête ultérieure, en modifiant ou ajoutant des items, afin de pouvoir suivre l'évolution des pratiques dans les laboratoires hospitaliers de mycologie.

Les premiers résultats de l'analyse ont été présentés lors de la réunion annuelle du 18 décembre 2024. Sur les 58 centres sollicités, 48 ont répondu à l'enquête, soit 94 % des CHU français, et 100 % des centres ayant déclaré plus de 10 cas, attestant ainsi de la représentativité du réseau, tant sur le plan géographique qu'en termes d'activités cliniques à risque d'IFI. Cette étude met en lumière des données particulièrement intéressantes concernant l'utilisation des biomarqueurs, désormais incontournables dans le diagnostic des infections fongiques invasives. Ainsi, le dosage de l'antigène galactomannane (dépistage très majoritairement bihebdomadaire) et celui de l'antigène glucuronoxylomannane sont disponibles sur site dans la majorité des centres (n = 39 et 43, respectivement), tandis que le BDG reste le marqueur le moins répandu, bien qu'il soit accessible dans 26 centres. Concernant le diagnostic moléculaire des mycoses, la majorité des centres ont désormais recours à ces techniques pour les aspergilloses et la pneumocystose (n = 40 et 42, respectivement). L'analyse souligne également l'essor de la PCR pour le diagnostic des mucormycoses (n = 23), ainsi que le développement ponctuel de nouvelles méthodes pour le diagnostic des IFI, en particulier pour les mycoses exotiques et le dépistage de *Candida auris* (n = 8). À ce sujet, l'enquête met en évidence la mise en place progressive du dépistage de *C. auris* dans les établissements de santé du réseau (30 centres au moment de l'enquête), principalement réalisé par culture. Enfin, cette étude illustre également la large disponibilité des tests de détermination de la sensibilité aux antifongiques, tant pour les levures (n = 47) que pour les champignons filamenteux (n = 37).

Ces données constituent un état des lieux des pratiques diagnostiques en 2024 et serviront de référence pour suivre l'évolution de l'implantation de ces méthodes en France dans les années à venir. Elles mettent également en évidence la spécificité du paysage français en Europe, notamment en matière d'accès aux techniques diagnostiques indispensables au diagnostic des IFI.

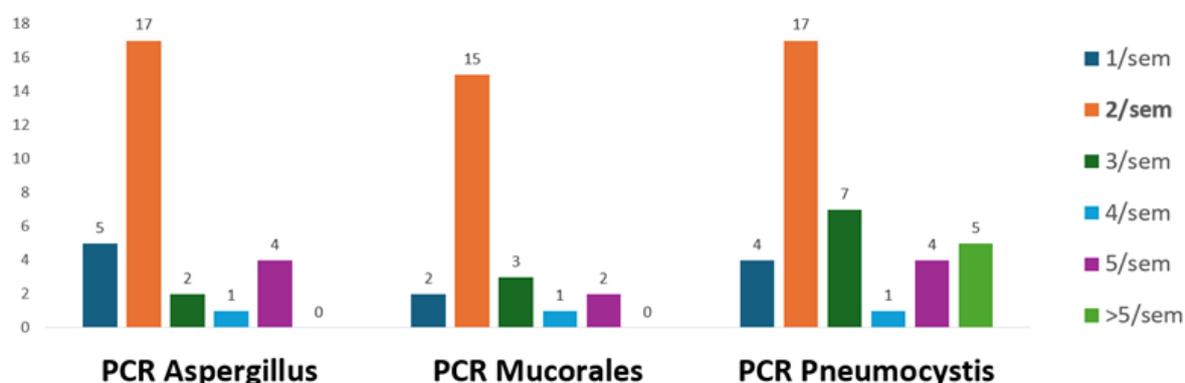


Figure 20 : Fréquence de réalisation des techniques PCR pour le diagnostic des IFIs dans les centres SINFONI

***Wickerhamomyces anomalus* : infection et toxicomanie intraveineuse (WAIT-IV)**

Wickerhamomyces anomalus (*Candida pelliculosa*) est une levure rarement responsable d'infection fongique invasive chez l'Homme. Néanmoins, plusieurs cas groupés d'infections ont été rapportés récemment, notamment en néonatalogie et en pédiatrie, suggérant un potentiel épidémique. L'étude rétrospective des données RESSIF et SINFONI du CNRMA a permis d'identifier au niveau national 43 cas d'infections invasives à *W. anomalus* chez 34 patients, déclarés par 16 centres hospitaliers différents entre 2013 et 2024, avec un fort lien avec l'usage de drogue par voie intraveineuse, puisque 24/34 (70,1%) patients étaient des toxicomanes IV. Les données de génotypage des isolats par STR et WGS ont montré une diversité génétique importante, mais surtout des génotypes identiques partagés par plusieurs patients et/ou retrouvés sur le matériel d'injection. Ces données suggèrent donc une source d'infection commune exogène et/ou associée à des mauvaises pratiques. Une enquête environnementale est en cours. Ces résultats seront présentés à l'ESCMID et au TIMM et feront l'objet d'une publication 2025.

Dans le cadre de la surveillance des infections et colonisations à *C. auris*, nous avons mis en place un questionnaire spécifique permettant aux mycologues et microbiologistes déclarant de préciser des données microbiologiques et cliniques associées aux cas déclarés. Cela permettra de collecter des informations cliniques et de suivi microbiologique spécifiques aux contaminations à *C. auris* et ainsi mieux comprendre les événements de transmission et la persistance de *C. auris* chez le patient. Les données collectées jusqu'à ce jour seront analysées courant 2025.

L'étude CANDIKTHEMOC est une étude ponctuelle pilotée par Alexandre Alanio (IP), Marie Desnos-Ollivier (IP), Florent Morio (Nantes), Frederic Dalle (Dijon) et Brigitte Lamy (Paris Avicenne) et impliquant la plupart des centres participant à SINFONI et visant à déterminer le différentiel de croissance et le temps de positivité des candidémies chez les patients avec et sans cathéters. Cette étude permettra d'affiner les critères permettant d'interpréter l'origine de la contamination fongique lors d'une candidémie (KT infecté ou origine digestive ou autre). Elle nécessite la mise en place d'un questionnaire spécifique. Le questionnaire est finalisé et les aspects techniques liés à la plate-forme REDCAP que le CNRMA utilise sont en cours de résolution. L'étude débutera au premier septembre 2025.

Des PCR diagnostiques permettant le diagnostic des talaromycoses, paracoccidioidomycoses, sporotrichoses, emergomycoses vont être mises en place en 2026 à l'hôpital Saint-Louis dans le cadre du support diagnostic associé au CNR.

3.B Activités de surveillance des laboratoires associés Aspergilloses chroniques

3.1 Description du réseau de partenaires

Le réseau de partenaire est inchangé par rapport à l'année 2023.

L'échantillonnage reçu des partenaires correspond à plusieurs types d'entités :

- des isolats d'*Aspergillus* responsables d'aspergillose chronique
- des isolats d'*Aspergillus* pour étude de la sensibilité in vitro
- des sérums pour expertise sérologique aspergillaire

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

En 2024, 5 demandes ont été reçues au LA AspC-Sud, concernant une souche de la section *Nigri*, et 4 souches de la section *Fumigati* ; 3 cas d'APC du CHU de Bordeaux ont également été expertisés par le LA-AspC et concernaient des souches de la section *Fumigati*. Les demandes traitées concernaient une majorité d'hommes, avec un âge moyen de 62,5 ans.

Le LA AspC-Nord a identifié parmi l'ensemble des isolats responsables d'aspergilloses chroniques pulmonaires ou d'otites. Tous les cas d'APC étaient dus à *A. fumigatus*. Les cas d'otite chronique étaient dus à la section *Flavi* (n=38) et à la section *Nigri* (n=12).

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Les souches aspergillaires reçues par les LA-AspC sont testées pour leur sensibilité aux antifongiques par la méthode standardisée de la technique EUCAST (Tableau 18)

Tableau 18. Profil de sensibilité des souches aspergillaires analysées par le LA-AspC-Sud en 2024 (CMI en mg/L)

Espèce	Amphotéricine B	Itraconazole	Voriconazole	Posaconazole	Isavuconazole
<i>A. tubingensis</i>	0,063	4	2	1	>4
<i>A. udagawae</i>	1	1	1	0.5	2
<i>A. fumigatus</i>	0,25	2	>4	1	>4
<i>A. fumigatus</i>	0,25	0,25	0,25	0,125	0,5
<i>A. fumigatus</i>	0,125	>4	2	>1	>4
<i>A. fumigatus</i>	0,25	>4	0,125	2	0.125
<i>A. fumigatus</i>	0,25	>4	4	1	>4
<i>A. lentulus</i>	4	0,5	2	0.25	4
<i>A. calidoustus</i>	0,5	>4	4	>1	>4
<i>A. pseudodeflectus</i>	0.063	>4	>4	>1	4

Les données de séquençage du gène *syp51a* sont les suivantes :

LA AspC-Sud : Dans 8 cas de résistance, des mutations du *cyp51a* connues pour entraîner des résistances aux azolés ont été trouvées : TR46/Y121F/T289A ; M220V ; TR34/L98H ; et G54E.

LA AspC-Nord : Sur les 7 cas de résistance, 5 présentaient des mutations (TR34/L98H ; G54R, M220 and F46Y/M172V/E427K) et 2 isolats n'ont pas présenté de mutations et la résistance était donc associée à d'autres mécanismes.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

À la suite de la mise en place des sites internet des deux laboratoires associés en 2024, des fiches permettant les déclarations des cas d'APC et les demandes d'expertises sont disponibles au format PDF sur ces sites pour tous les professionnels. Cela s'est accompagné de présentations en congrès nationaux et réunions régionales de pneumologie et de mycologie pour sensibiliser les professionnels.

Le LA AspC contribue également au réseau européen des aspergilloses chroniques CPANet, et au groupe de travail des CRCM des pathologies aspergillaires dans la mucoviscidose.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

1. Performances et cinétique de la sérologie aspergillaire au cours de l'aspergillose pulmonaire chronique (Étude ancillaire du PHRC National CPAAARI)

(i) Objectifs.

Nous analysons les valeurs respectives des différentes techniques sérologiques de détection d'anticorps anti-aspergillaire au cours de l'APC et la cinétique des anticorps sous traitement.

(ii) Partenaires.

- Investigateur principal du PHRC CPAAARI : Pr Cendrine Godet, CHU Paris-Tenon/CHU Poitiers + 25 investigateurs associés dans des centres partenaires
- Investigateur principal de l'étude ancillaire sérologique : Pr Jean-Pierre Gangneux, CHU de Rennes

(iii) Contribution du CNR.

Le CNR LA AspC Nord centralise l'ensemble des sérologies de patients inclus pour réaliser une détection d'anticorps anti-aspergillaires à l'inclusion, à 6 mois, à 9 mois et à 12 mois par les techniques de dépistage (ELISA Platelia IgG Biorad) et de confirmation (précipitines par immuno-électrophorèse et western blot).

(iv) État d'avancement.

Le nombre de patients inclus dans le PHRC CPAAARI est actuellement de 89, dont 59 sont inclus dans l'étude ancillaire sérologique. Les inclusions sont encore en cours.

(v) Résultats attendus.

L'analyse des résultats pourra avoir lieu lorsque la phase d'inclusion sera close et tous les échantillons reçus testés pour les différentes techniques. Nous étudierons les performances respectives des différentes techniques et l'évolution des anticorps sous traitement.

2. Séoprévalence aspergillaire dans la population saine

(i) Objectifs.

Aucune donnée à grande échelle n'est disponible dans la littérature sur le niveau d'anticorps naturels anti-aspergillaires dans la population saine. Or cette donnée est majeure pour pouvoir interpréter la valeur d'un résultat sérologique chez un patient suspect d'aspergillose chronique.

(ii) Partenaires.

- Investigateur principal : Pr Jean-Pierre Gangneux, CHU de Rennes
- EFS : mise à disposition de dons du sang

(iii) Contribution du CNR.

Le CNR LA AspC-Nord a réalisé l'ensemble des techniques de dépistage (ELISA Platelia *Aspergillus* IgG Biorad). Les CNR LA AspC-Nord et -Sud ont réalisé les confirmations par immunoélectrophorèse et western blot

(iv) État d'avancement.

Le travail est finalisé, avec 1995 sérums provenant de donateurs de sang analysés. Il s'agit de 997 femmes et 998 hommes, répartis également sur tout le territoire.

(v) Résultats.

Les résultats montrent que : 98,6% des sérums étaient négatifs (<5UA/mL) (M=0,3 UI/mL ; ET=0,5 UI/mL ; [0-4,9; med 0,2]), 0,75% intermédiaires (entre 5 et 10 UA/mL)(M=7,1 UI/m ; ET=1,5 UI/mL ; [5,1-9,8; med 7,2]) et 0,65% positifs (>10 UA/mL)(M=33,2 UI/mL ; ET=49,5 UI/mL ; [12,5-188,3; med 16,3]). Il n'y avait pas de différence selon le sexe, l'âge ou la résidence du domicile.

Ces résultats sur un nombre conséquent de données permettent d'identifier le seuil de significativité dans une population saine (et sans pathologie aspergillaire) (m+3 ET) de 1,8 UI/mL Il convient maintenant de déterminer le seuil dans une population avec maladie respiratoire chronique sans APC pour parfaire ce travail.

3.C Activités de surveillance du laboratoire associé INUSUALE

3.1 Description du réseau de partenaires

Le réseau du CNR INuSuAle comprend 20 utilisateurs supplémentaires par rapport à 2023, pour un total de 115 utilisateurs.

De ce fait le nombre d'identification fournie par INuSuAle a progressé en 2024 (Figure 21) :

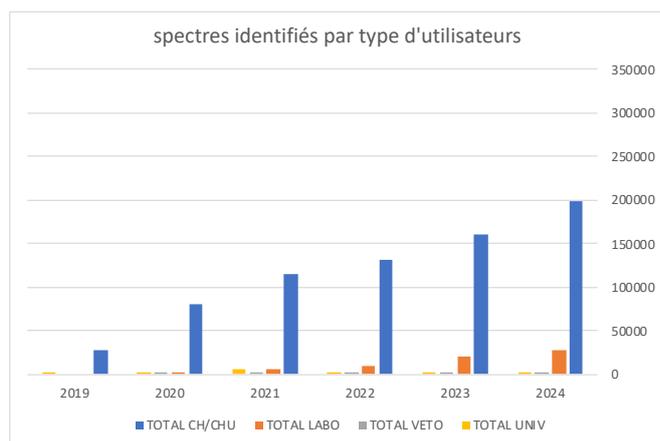


Figure 21 : évolution du nombre de spectres identifiés par MSI-2 entre 2019 et 2024

Les membres du réseau se répartissent en

- Laboratoires spécialisés en mycologie médicale des CHU et laboratoires de microbiologie polyvalents des hôpitaux ou structures hospitalière à but non lucratif (=85 ; 74%)
- Laboratoires d'analyses de biologie médicales d'exercice libéral (n=28 ; 24,3%)
- Laboratoire (0,6%) avec activité de biologie vétérinaire (n=2 ; 1,7%)

La couverture du territoire métropolitain en nombre d'utilisateurs et de spectres identifiés est présentée aux figures 22 et 23.

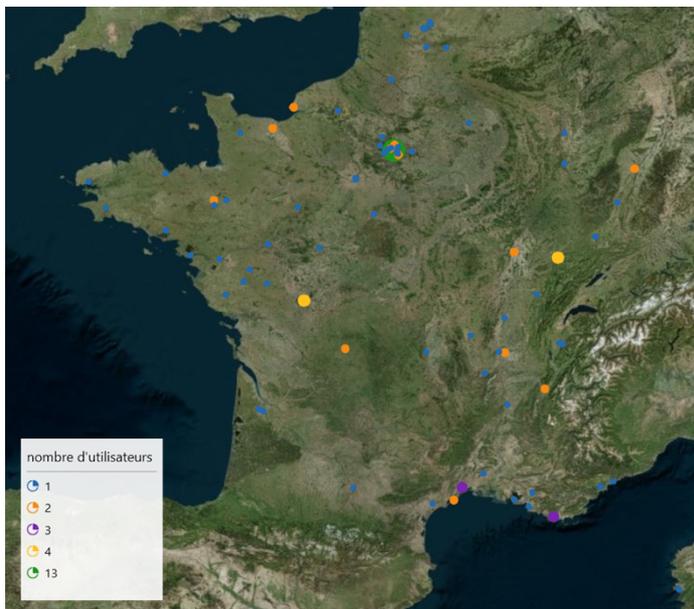


Figure 22 : répartition territoriale (France métropolitaine) des laboratoires partenaires du CNR INuSUAle utilisant la spectrométrie de masse MALDI-TOF couplée à l'utilisation de l'application MSI-2 pour l'identification des pathogènes fongiques (nombre d'utilisateur par commune)

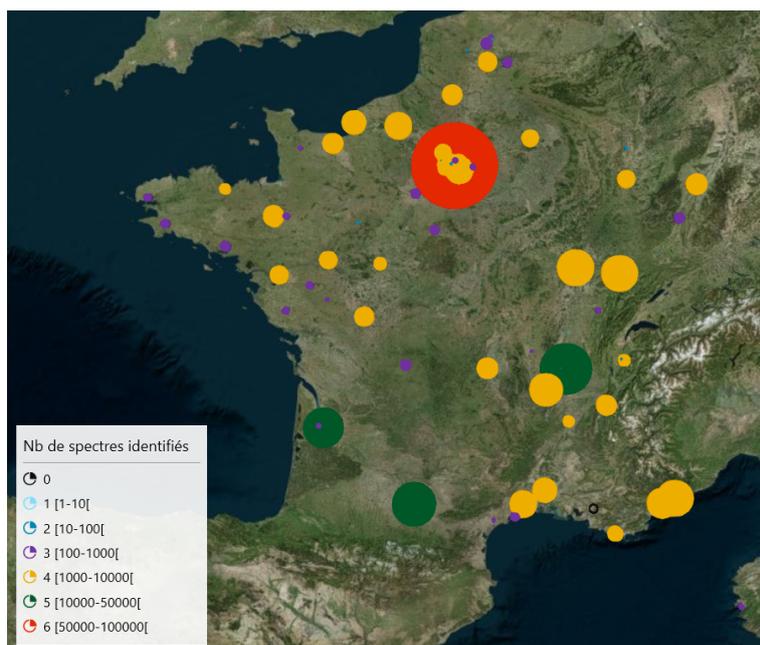


Figure 23: répartition territoriale (France métropolitaine) du nombre de spectres d'agents fongiques identifiés en 2024 par les communes abritant au moins un laboratoire partenaire du CNR INuSUAle.

Les utilisateurs se répartissent en utilisateurs réguliers et en utilisateurs occasionnels. La couverture épidémiologique va dépendre de l'utilisation que fait chaque utilisateur de la spectrométrie de masse pour d'identification des divers pathogènes fongiques ; avec deux variables principales : 1. La nature de l'agent pathogène : levures ou champignon filamenteux et 2. L'exhaustivité des agents fongiques identifiés par MSI-2, sachant que d'autres méthodes d'identification restent utilisées par les centres (base de données MALDI-TOF « constructeur », macro-microscopie, milieu chromogène, séquençage moléculaire).

Nous avons mis en place un système de codage permettant de caractériser la nature du prélèvement et de pouvoir générer des données épidémiologiques plus pertinentes. A ce jour, ce système est utilisé par 11 centres (Figure 24).



Figure 24 : répartition territoriale des 11 laboratoires membres du réseau INuSuAle et ayant une activité de codage de la nature des prélèvements

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

A ce jour, les missions du CNR INuSuAle n'impliquent pas la collecte des données patients tels que l'âge, le sexe ou le type d'infection

De façon globale, nous proposons des analyses de données par spectre.

Pour les centres qui ont une utilisation large à exhaustive, nous sommes en mesure de réaliser une analyse par isolats en « dédoublonnant » les spectres.

Aspergillus spp.

Une analyse globale des spectres soumis montre un nombre relativement stable et homogène des *Aspergillus spp* identifiés sur le territoire national. Le genre *Aspergillus* est dominé par la section *Fumigati*, puis les sections *Flavi* et *Nigri*. Parmi les *Fumigati*, on observe une nette prédominance d'*Aspergillus fumigatus* stricto sensu et une minorité d'espèce présentant naturellement un profil de sensibilité altérée aux azolés tels que *A. lentulus*, *A. udagawae* ou *A. hiratsukae*. La section *Flavi* est quant à elle dominée par l'espèce *A. flavus*.

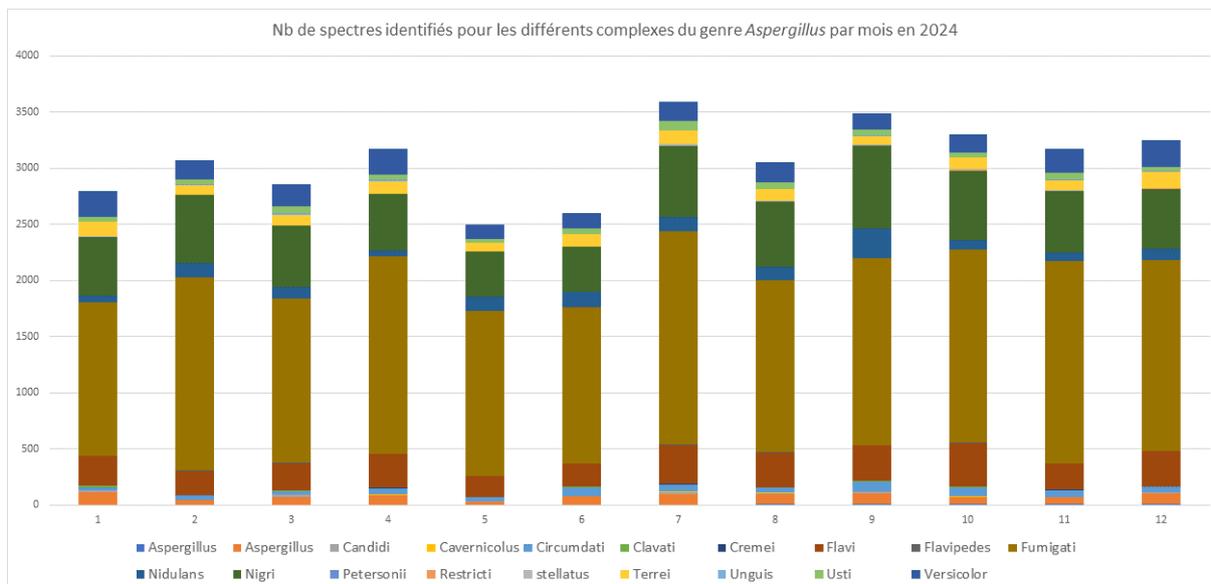


Figure 25 : Nombre de spectres identifiés pour les différents complexes du genre *Aspergillus* par mois en 2024

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Le CNR INuSuAle assure la surveillance des espèces naturellement résistante et des espèces sujettes à la pan-résistance, notamment celles à potentiel épidémique émergent appartenant à la famille des *Metchnikowiaceae*. Cette dernière appartient au clade CTG et comprend des espèces actuellement sous surveillance en raison de leur capacité à produire des cas groupés ou à acquérir plus facilement que les autres espèces des résistances aux antifongiques. Les espèces d'importance en pathologie humaine sont *Clavispora lusitanae*, les espèces du clade « *Haemulonii* » (*Candida haemulonii*, *C. duobushaemulonii*, *Candida haemulonii* var. *vulnera*) *Candida vulturna* et surtout les différents clades de l'espèce *Candidozyma auris*.

Pour l'année 2024, on observe une augmentation du nombre d'identification de *C. auris* avec 102 identifications correspondant après vérification auprès des centres à des prélèvements cliniques (versus 40 identifications pour 2023).

Les autres espèces restent stables, avec toujours une répartition géographique propre à certaines d'entre elles qui sont isolées préférentiellement dans les Caraïbes. Ainsi, *C. haemulonii* est principalement identifié à Cayenne et en Martinique et *C. vulturna* qui présente des CMI très élevées aux différents antifongiques de la classe des azolés ainsi qu'à l'amphotéricine B est retrouvée à Cayenne.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Nous collaborons avec le BCCM/IHEM : Belgian Coordinated Collections of Micro-organisms / Institute of Hygiene and Epidemiology-Myology Laboratory (Belgique) dans le cadre du développement de la base MSI-2 pour l'identification des spectres de masses issus de champignons. Cette collaboration fait l'objet d'une convention de partenariat signée par SCIENSANO, Sorbonne Université, INSERM et APHP.

Nous collaborons avec le CDC, le laboratoire de référence en mycologie d'Espagne (Centre National pour la Microbiologie, Institut de Santé Carlos III, Madrid) pour le partage d'isolats fongiques présentant des mécanismes de résistances et/ou impliqués dans des cas groupés/phénomènes émergents.

Nous collaborons avec le Radboudumc-CWZ Center of Expertise for Mycology (National Expertise Center for Rare Mycoses; Reference Center Invasive Mycoses; registered center for Rare and Severe Mycoses)

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Dans le cadre du projet « WAIT-IV » *Wickerhamomyces anomalus* : Infections et Toxicomanie intraveineuse (co-

porteurs du projet : Dr Sébastien Imbert & Dr Maxime Lefranc ; Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Bordeaux), nous avons mis en place afin d'optimiser les inclusions une alerte automatique pour la levure rare *Wickerhamomyces anomalus*. Les membres du réseau identifiant cette espèce sont invités « en temps réel » à prendre contact avec les responsables scientifiques de l'étude ainsi qu'avec le CNRMA-IFI. Nous avons également fourni une analyse rétrospective de l'identification de cette levure à l'échelle internationale sur la période 2022-2024.

Débuté fin novembre 2024, le suivi a permis de détecter 3 identifications (une hémoculture positive chez un nouveau-né, un écouvillon de langue chez un patient âgé, un portage cutané) et de solliciter les centres pour qu'ils prennent contact avec le porteur de l'étude et avec le CNRMA-IFI.

4.A Alertes (CNRMA-IFI)

Le CNRMA-IFI peut être informé par plusieurs voies d'alertes (Figure 26). Les actions menées à la suite d'une alerte sont présentées dans la Figure 27.

How the NRCMA becomes aware of an outbreak or unusual phenomenon?

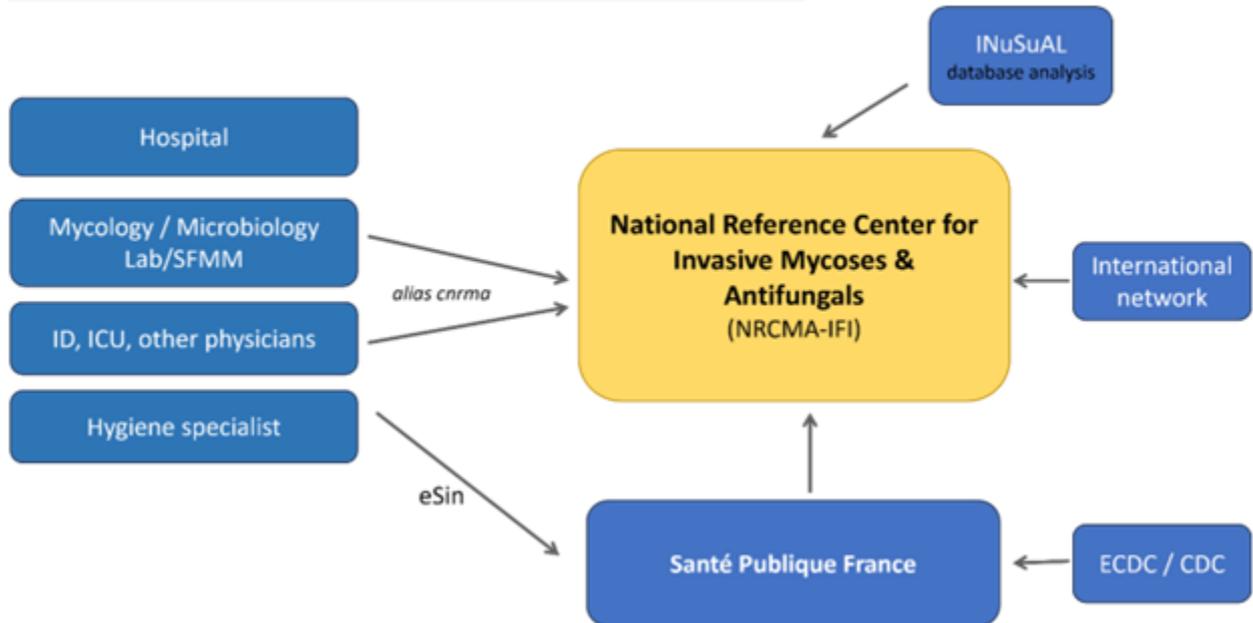


Figure 26 : Système d'informations pour les alertes

Actions taken following detection of an alert

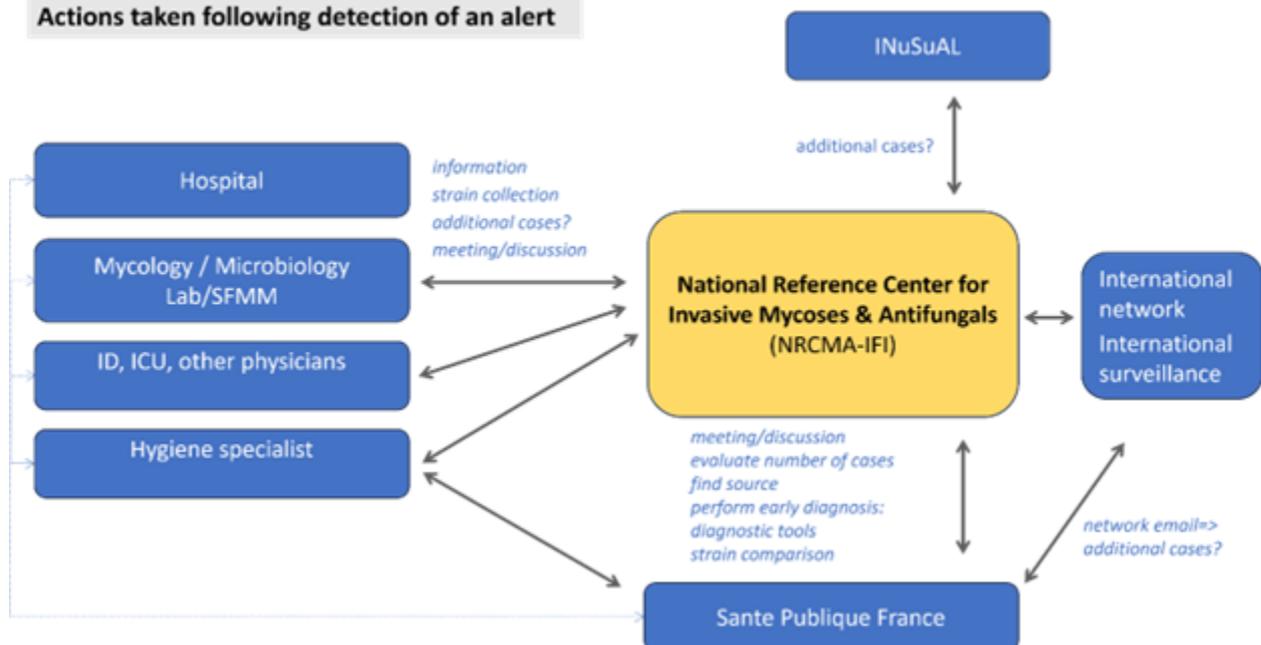


Figure 27: Diagramme décisionnel en cas d'alerte

Le CNRMA-IFI a participé à la Journée Signalement des infections associées aux soins (Réunion des responsables du signalement des CPIas du 4 juin 2024).

Au cours de l'année 2024, nous avons été informés de 21 signalements e-sin par Santé Publique France et/ou les correspondants mycologues et/ou hygiénistes de 14 centres hospitaliers. Les signalements concernaient majoritairement des cas d'infections et/ou colonisations à *Candida auris* (n=14), 2 cas d'infections à *Trichosporon spp.*, 2 cas d'infection à *Magnusiomyces clavatus* (syn. *Geotrichum clavatum*) dans un même hôpital, 1 infection à *Candida albicans*, 1 infection à *Mucor indicus*, 1 infection à *Rhizopus sp* et 1 infection à *Rhizomucor sp*.

Pour les infections à *M. clavatus* les deux souches nous ont été envoyées et le séquençage génome entier a permis de comparer les séquences de ces souches avec les séquences des souches précédemment analysées au CNRMA-IFI. Les deux cas étaient dus à des souches génétiquement différentes.

Le CNRMA fait partie du groupe européen de surveillance des infections et colonisations à *C. auris* (*Candida auris* survey) et a participé à l'analyse des données européennes de l'eCDC.

***Candidozyma auris* (syn. *Candida auris*)**

Parmi les 17 cas (4 infections et 13 colonisations) de *C. auris* en 2024 que nous avons recensés, des souches nous ont été envoyées pour expertise pour 15 cas. Nous avons pu effectuer le séquençage génome entier pour la détermination du clade géographique et le génotypage. La majorité des cas (11/15) étaient dus à des souches du Clade I (initialement le Clade Indien) et 4 autres cas à des souches du Clade III correspondant à une même épidémie avec un premier cas de colonisation chez un patient rapatrié d'Ukraine en janvier 2024 puis des cas de transmission avec des épisodes de colonisations (n=3) et infection (n=1) chez des patients hospitalisés dans le même hôpital au cours de l'année (janvier puis décembre). L'épidémie est toujours en cours avec des nouveaux cas en 2025 de colonisation et infections en janvier et février. Toutes les souches impliquées dans cette épidémie appartiennent au clade III et correspondent à un même cluster génétique.

Nous avons mis en place depuis septembre 2023, un questionnaire en ligne sur le serveur RedCap afin de suivre les cas de colonisations à *C. auris* en France et également le suivi des patients au cours du temps et les éventuels cas contact. Nous avons également ajouté une page concernant les actualités épidémiologiques sur le site web du CNRMA-IFI (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/centres-nationaux-referenc/cnr/mycoses-invasives-antifongiques/actualites-epidemiologiques>) (Figure 28).

En collaboration avec la Société Française de Mycologie Médicale (SFMM), la Société Française d'Hygiène Hospitalière (SF2H) et le laboratoire associé du CNRMA-UNUSAL nous avons publié, en juin 2023, une note sur les données épidémiologiques des infections/colonisations à *C. auris* et les modalités de surveillance et de dépistage (https://www.pasteur.fr/sites/default/files/note_cauris_juin_2023.pdf).

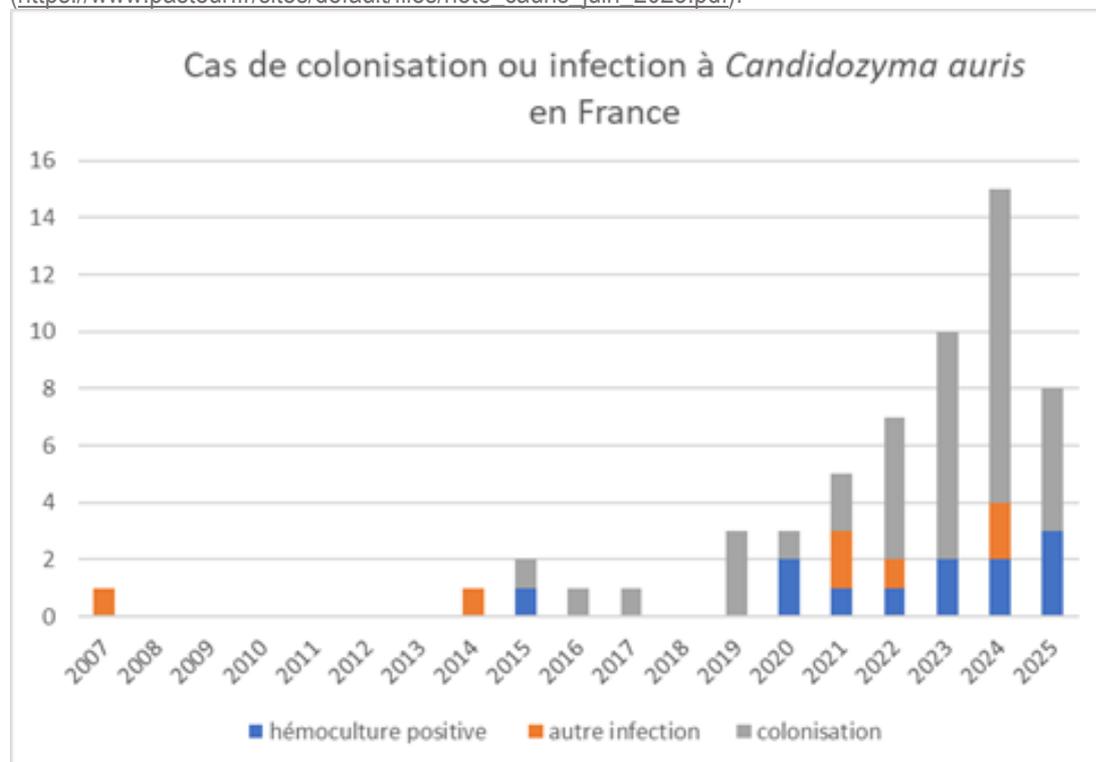


Figure 28 : évolution au cours des années des nombres de cas de colonisations et infections à *C. auris* en France

Trichosporon austroamericanum sp. novo

Un signalement concernant des cas de médiastinites à *Trichosporon inkin* nous avait été fait en décembre 2021 dans un hôpital. Le séquençage de la région IGS1 puis du génome entier a permis de confirmer que ces isolats appartenaient en fait à une espèce proche de *T. inkin* que nous avons décrite, en collaboration avec Elaine Cristina de Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Brésil et de Ferry Hagen du Westerdijk Fungal Biodiversity Institute à Utrecht aux Pays-Bas, sous le nom de *Trichosporon austroamericanum* (doi: 10.1007/s11046-024-00851-4). Des nouveaux cas ont également été reportés au cours de l'année 2022 puis en 2023 et 2024.

En 2023, 3 cas chez des patients greffés rénaux ont été également rapportés dans un autre hôpital. La comparaison des données de génome entier suppose que les trois souches ne sont pas liées génétiquement.

D'autre part, nous avons reçu des souches de l'hôpital nous ayant signalé les premiers cas en 2021, correspondant à 8 souches isolées en 2023 mais aussi 11 isolées entre 2015 et 2022 et à 2 souches environnementales isolées en 2023 dans 2 blocs opératoires. La comparaison des SNPs sur la totalité du génome suggère que les isolats retrouvés dans l'environnement hospitaliers ne semblent pas avoir de lien génétique avec les isolats cliniques. De même les isolats cliniques ne semblent pas tous liés entre eux, certains clusters de 2-3 isolats sont possiblement identifiés. Le génome de référence de cette nouvelle espèce n'étant pas actuellement disponible nous avons fait l'analyse en prenant un assemblage de novo d'un isolat clinique séquençé avec la technique Illumina. Nous espérons optimiser l'extraction de l'ADN pour pouvoir faire un séquençage génome entier longreads par exemple avec nanopore et un assemblage de novo plus précis pour affiner l'analyse des SNPs. Actuellement nous supposons que plusieurs souches multiclones sont présentes dans l'environnement hospitalier et/ou possiblement sur la peau de certains patients et que certaines souches ont pu provoquer une infection chez certains patients principalement des patients ayant subi des chirurgies cardio-vasculaires.

En 2024, 5 cas nous ont été rapportés dans 3 hôpitaux (Figure 29). Les déclarations avant 2012 des cas d'infections fongiques invasives (en dehors des cas de candidémies dans la surveillance ODL et des cas de cryptococcose) n'étaient généralement pas faites de façon exhaustive par les centres collaborateurs mais généralement dans le cadre d'une demande d'expertise.

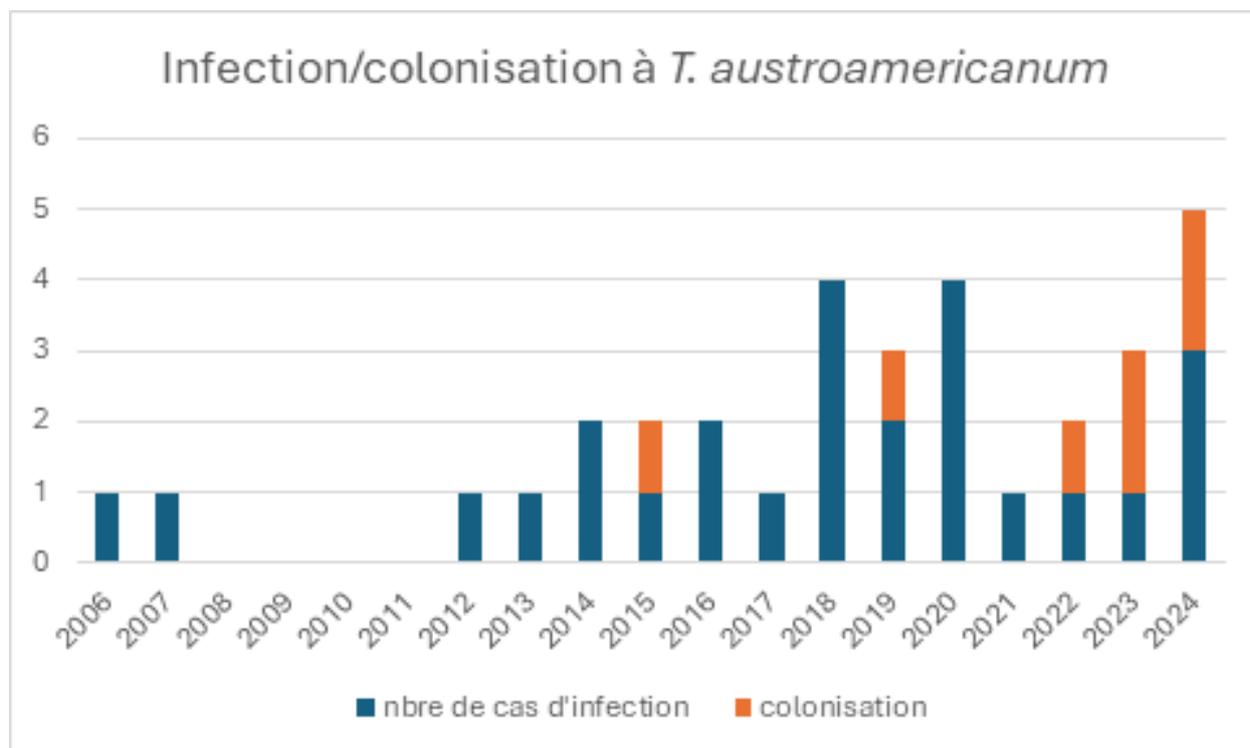


Figure 29 : Nombre de cas d'infections et de colonisations à *Trichosporon austroamericanum* déclarés au CNRMA depuis 2006.

Une déclaration sin nous a été rapportée en 2024 et une en 2025.

Wickerhamomyces anomalus

Wickerhamomyces anomalus (syn. *Candida pelliculosa*, *Pichia anomala*) est une levure de l'environnement, retrouvée principalement dans les milieux hydriques mais également utilisés dans certains processus de biotechnologies, et rarement impliquée en pathologie humaine. Cependant quelques cas d'infections notamment chez les enfants (néonatalogie et pédiatrie) ont été rapportés.

Entre janvier 2021 et décembre 2023, le service de Parasitologie-Mycologie du CHU de Bordeaux a recensé 8 cas d'infections invasives à cette espèce chez 7 patients. Parmi ces patients, 6 étaient des patients toxicomanes IV. En début d'année 2024, une collaboration a donc été mise en place entre le service de Bordeaux et le CNRMA-IFI afin d'étudier cette espèce. Les isolats recueillis lors des surveillances nationales et conservées au CNRMA depuis 2002 ont été envoyés au CHU de Bordeaux pour génotypage par microsatellites et une analyse des données de génome entier a été initiée également. Les données préliminaires indiquent que les isolats ne font pas partie d'un même cluster et l'hypothèse d'origine multiple dans l'environnement semble se confirmer. Cependant, une analyse des données cliniques des cas d'infections invasives à *W. anomalus*, issues de la surveillance RESSIF entre 2012 et 2022 et SINFONI entre 2023 et 2024, montrent une prévalence de cette espèce chez les patients toxicomanes IV. Une lettre d'information a été envoyée aux mycologues via la mailing list de la Société Française de Mycologie Médicale (SFMM) en novembre 2024, pour les informer. De plus, un signalement a été fait de notre part auprès de Santé Publique France. Un message d'alerte automatique a également été mis en place, en décembre 2024, par le laboratoire associé au CNRMA, Unusuale sur la plateforme de MALDI-TOF, MS12 afin d'inciter les correspondants identifiant cette espèce à éventuellement signaler leur cas auprès du CNRMA-IFI. D'après les données enregistrées dans la surveillance SINFONI, nous n'avons pas remarqué de nouveaux cas groupés ou d'augmentation significative des infections invasives à *W. anomalus*.

4.B Alertes (Laboratoires associés Aspergillose Chroniques)

Aucune alerte en 2024 concernant les aspergillose chroniques

4.C Alertes (Laboratoire associé INUSUALE)

Cas groupés d'infections invasives à *Trichosporon inkin*/*Trichosporon austroamericanum*.

Dans le cadre de l'investigation de cas groupés d'infections invasives à *Trichosporon inkin*/*Trichosporon austroamericanum* en lien avec le CNRMA-IFI (site Pasteur), SPF, l'APHP (Service Prévention du Risque Infectieux), l'équipe PCI (Prévention & Contrôle de l'Infection) de La Pitié-Salpêtrière, le CPIAS d'Île-de-France, nous avons mis une alerte pour ce pathogène rare.

Nous avons mis en évidence à partir de fin août 2024 un problème de contamination par *Aspergillus hiratsukae* de différents milieux de culture commercialisés par Biomérieux. Nous avons entamé un suivi sur ce pathogène ce qui nous a permis d'émettre une alerte de réactovigilance ciblée auprès de 25 centres. Parmi les milieux incriminés, on trouvait :

- Des géloses de type "Malt" lot 2364340 ; date de péremption 09/09/2024 (>40% des géloses contaminées) et lot 238270 ; date de péremption le 21/10/2024
- Des géloses CAN2
- Des géloses habituellement utilisées par les services de bactériologie : gélose au sang COS lot 1010848790 ; péremption 28/10/204 ; gélose chocolat PVX lot 1010823100 ; péremption le 12/11/2024.

5.A. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil au CNRMA-IFI

Ce chapitre concerne principalement les activités à destination des professionnels de santé (notamment formation aux techniques de laboratoire) ; les activités liées à l'enseignement et la formation universitaires sont exclues.

5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé

Une activité importante de conseils thérapeutiques est réalisée par les Pr. Fanny Lanternier et Olivier Lortholary pour la prise en charge d'infections fongiques complexes documentées ou des suspicions d'infections fongiques invasives. Cette activité est faite sur sollicitation de collègues mycologues, infectiologues, hématologues, pédiatres, transplantateurs, réanimateurs, chirurgiens, pneumologues des différents centres hospitaliers français universitaires et généraux. Nous sommes sollicités soit par l'adresse email générique du CNRMA, soit par téléphone au service de maladies infectieuses de l'hôpital Necker. Les avis concernant des infections fongiques sont réalisés par les Pr Fanny Lanternier et Olivier Lortholary en collaboration avec l'ensemble des cliniciens du service de maladies infectieuses et tropicales de l'hôpital Necker Enfants malades via une ligne téléphonique dédiée et l'adresse générique cnrma@pasteur.fr, en particulier le Dr Perrine Parize et le Dr Alexandra Serris...

Par ailleurs a été mise en place une RCP nationale par visioconférence avec des mycologues, infectiologues et pharmacologues ainsi que le support du secrétariat du service de maladies infectieuses et tropicales de l'Hôpital Necker Enfants Malades. Un compte rendu résumant les recommandations est envoyé par mail aux médecins ayant sollicités l'avis. Nous avons donné 271 avis au cours de la RCP en 2024.

Les réponses sont faites soit directement par téléphone, soit en réponse aux courriels soit par une RCP pour les questions plus complexes avec un compte-rendu écrit. Cette activité clinique n'est pas quantifiable mais les cliniciens sont sollicités au moins 5/7 fois par jour. Le nombre de réponses via la RCP hebdomadaire est de l'ordre de 5 demandes par semaine.

L'activité de conseil concerne aussi un aspect microbiologique et diagnostic. Généralement, le CNRMA est sollicité via son adresse email générique au moins 1-2 fois par semaine.

Nous sommes intervenus auprès de plusieurs centres avec des cas de colonisations à *C. auris* pour conseil sur le diagnostic des cas contacts et le suivi (Cf. Chapitres 2.3 concernant le transfert de technique et chapitre 4 réponse aux alertes).

Formation en mycologie médicale

En décembre 2024, Olivier Lortholary et Dea Garcia-Hermoso ont organisé un cours de mycologie médicale en Algérie en collaboration avec l'Institut Pasteur d'Alger. Cette formation théorique-pratique d'une semaine, qui a compté avec des intervenants de l'équipe du CNRMA (Aude Sturny-Leclère, Fanny Lanternier, Alexandre Alanio) et du laboratoire de Parasito-Mycologie de l'hôpital Saint Louis (Samia Hamane), a réuni 14 étudiants dont la plupart étaient pharmaciennes ou médecins biologistes.

5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Nous avons piloté et participé aux recommandations infections associées au VIH, recommandations HAS qui ont été finalisées en 2024 et participons aux recommandations internationales sur la prise en charge de l'aspergillose et de la cryptococcose

Olivier Lortholary : Co-auteur senior des recommandations internationales de prise en charge de la cryptococcose

5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Nous avons été sollicités par plusieurs médias au cours de l'année 2024 :

- le Quotidien du Médecin
- France culture (émission CQFD)
- le journal de l'INSERM
- le journal du CNRS

5.B. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil dans les laboratoires associés Aspergilloses chroniques

5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé

Le LA-AspC-Sud est joignable préférentiellement par mail à l'adresse cnr-aspc-sud@chu-bordeaux.fr ou par téléphone au 0556795667

- ⇒ RCP nationale « Aspergillose Chronique » (CHU Tenon-Paris/CHU Rennes) : 43 dossiers discutés
- ⇒ RCP nationale (CHU Amiens/CHU Rennes) + RCP CHU Bordeaux « Mycobactéries non tuberculeuses et *Aspergillus* » : 185 dossiers discutés
- ⇒ RCP nationale mucoviscidose : Environ 10 dossiers de mycologie discutés

Site internet des LA-AspC-Sud et -Nord

5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Ministère de la santé : retour des données préliminaires du PHRC ECENVIR sur l'évaluation médico-économique des conseillers médicaux en environnement intérieur (CMEI) pour diminuer l'exposition des asthmatiques aux allergènes fongiques et autres, coordonné par JP Gangneux, promotion par le CHU de Rennes.

5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Site internet et mise en place d'une newsletter semestrielle

Rédaction du chapitre de l'EMC « Diagnostic biologique des aspergilloses pulmonaires chroniques »

Présentation du LA AspC et des enjeux de santé publique des aspergilloses chroniques

- . Congrès annuel de la SFMM en octobre 2024 « La mycologie à l'ère du OneHealth »
- . Mycocercle Bretagne, Mycocercle Fongiloire
- . Staffs multidisciplinaires dans les CH de Rennes, Saint-Malo, Quimper et CHU de Bordeaux
- . Journée Grand Ouest des internes en pneumologie ; Intervention dans le DES de pneumologie de Bordeaux
- . Session Les incontournables en mycologie pour les pneumologues du Grand Ouest
- . Session « Fungal Risk in CF » Angers 2024
- . Symposium EcoHealth de Nouvelle Aquitaine Bordeaux, Mai 2024
- . Colloque du PSGAR-MIE de Nouvelle Aquitaine, Bordeaux Octobre 2024
- . Congrès de la société algérienne de Pneumo-physiologie (en distanciel)

5.C. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil dans le laboratoire associé INUSUALE

5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé

(Non concerné)

5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Comme indiqué au paragraphe 2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse, en 2024, le CNR INuSuAle / service de Parasitologie-Mycologie hôpital de La Pitié-Salpêtrière a procédé à l'expertise de 2 spectromètres de masse nouvelle génération dans le cadre d'un appel d'offre AHP coordonné par l'AGEPS (Agence Générale des Équipements et Produits de Santé) pour le renouvellement du parc des spectromètres de masse à l'AHP.

5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

(Non concerné)

6.A. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR (CNRMA-IFI)

Ne mentionnez ici que les nouveaux éléments, ne figurant pas déjà dans le dossier de candidature du CNR ou dans le rapport de l'année précédente.

6.1. Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Plusieurs activités de recherches ont été menées ou sont en cours, nous listons ici les titres, les données étant en cours de publications, un résumé de chaque analyse est donné en Annexe 3, chapitre 3.4

- Human Infection by Penicillium-like: 10-year experience of *Paecilomyces*, *Purpureocillium*, *Penicillium*, *Rasamsonia* and *Talaromyces* infections in France (PenIFI)
- ODL pédiatrique
- Epidémiologie des fongémies à levure chez les usagers de drogues intraveineuses.
- Impact de la préexposition aux antifongiques sur la répartition des infections fongiques à filamenteux et levures.
- Emulation d'essais cibles pour optimiser les stratégies thérapeutiques dans l'aspergillose invasive.
- Epidémiologie des candidémies dans la population générale hospitalière et chez les patients immunodéprimés à la Réunion.

6.2. Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Publications internationales:

1. Dudoignon E, Chevret S, Tsague S, Hamane S, Chaouat M, Plaud B, Vicault E, Mebazaa A, Legrand M, Alanio A, Denis B, Dépret F, Dellière S. Risk factors and outcome associated with fungal infections in patients with severe burn injury: 10-year retrospective IFI-BURN study. Clin Infect Dis. 2024;ciae337.
2. Rocchi S, Scherer E, White PL, Guitton A, Alanio A, Botterel F, Bougnoux ME, Buitrago MJ, Cogliati M, Cornu M, Damiani C, Denis J, Dupont D, Fuchs S, Gorton R, Haas PJ, Hagen F, Hare R, Iriart X, Klaassen CHW, Lackner M, Lengerova M, Melchers WJG, Morio F, Poirier P, Springer J, Valot S, Willinger B, Mazzi C, Cruciani M, Barnes R, Donnelly JP, Loeffler J, Millon L. Interlaboratory assays from the fungal PCR Initiative and the Modimucor Study Group to improve qPCR detection of Mucorales DNA in serum: one more step toward standardization. J Clin Microbiol. 2024;63(2):e01525-24.
3. Bertagnolio S, Dobrova Z, Centner CM, Olaru ID, Donà D, Burzo S, Huttner BD, Chaillon A, Gebreselassie N, Wi T, Hasso-Agopsowicz M, Allegranzi B, Sati H, Ivanovska V, Kothari KU, Balkhy HH, Cassini A, Hamers RL, Weezenbeek KV, Collaborators WRA for A in HH (coll. A Alanio), WHO global research priorities for antimicrobial resistance in human health. Lancet Microbe. 2024;100902.
4. Lortholary O, Garcia-Hermoso D, Sturny-Leclère A, Sitbon K, Nourrisson C, Letscher-Bru V, Desbois-Nogard N, Bani-Sadr F, Bastides F, Bienvenu B, Cordier C, Coste A, Danion F, Dégot T, Delarbre D, Fekkar A, Garcia C, Garrouste C, Gits-Muselli M, Guemas E, Huguenin A, Janvier F, Kamar N, Kervinio C, Gal SL,

- Lesens O, Machouart M, Persat F, Picot S, Rouze A, Ranque S, Ruch Y, Saada M, Stabler S, [Alanio A](#), [Lanternier F](#), Desoubeaux G. Reappraising *Cladophialophora bantiana* phaeoerythromycosis in France: retrospective nation-based study. *Lancet Microbe*. 2024;5(11):100907.
5. Denis B, Resche-Rigon M, Raffoux E, Ronchetti AM, Dudoignon E, Verillaud B, Valade S, Lorillon G, Rabian F, Xhaard A, Touratier S, Hamane S, [Alanio A](#), Castro ND. Epidemiology, Clinical Manifestations, Treatment, and Outcome of Mucormycosis: A Review of 77 Cases From a Single Center in France. *Open Forum Infect Dis*. 2024;11(8):ofae426.
 6. Euzen V, Ghelfenstein-Ferreira T, Benhadid-Brahmi Y, Teboul A, Dellière S, Benderdouche M, Charlier V, [Desnos-Ollivier M](#), Hamane S, [Alanio A](#). Evaluation of an in-house pan-*Malassezia* quantitative PCR in human clinical samples. *Med Mycol*. 2024;62(10):myae095.
 7. Chang CC, Harrison TS, Bicanic TA, Chayakulkeeree M, Sorrell TC, Warris A, Hagen F, Spec A, Oladele R, Govender NP, Chen SC, Mody CH, Groll AH, Chen YC, Lionakis MS, [Alanio A](#), Castañeda E, Lizarazo J, Vidal JE, Takazono T, Hoenigl M, Alffenaar JW, Gangneux JP, Soman R, Zhu LP, Bonifaz A, Jarvis JN, Day JN, Klimko N, Salmanton-García J, Jouvion G, Meya DB, Lawrence D, Rahn S, Bongomin F, McMullan BJ, Sprute R, Nyazika TK, Beardsley J, Carlesse F, Heath CH, Ayanlowo OO, Mashedi OM, Filho FQT, Hosseiniour MC, Patel AK, Temfack E, Singh N, Cornely OA, Boulware DR, [Lortholary O](#), Pappas PG, Perfect JR. Global guideline for the diagnosis and management of cryptococcosis: an initiative of the ECMM and ISHAM in cooperation with the ASM. *Lancet Infect Dis*. 2024;
 8. Steenwyk JL, Knowles S, Bastos RW, Balamurugan C, Rinker D, Mead ME, Roberts CD, Raja HA, Li Y, Colabardini AC, Castro PA de, Reis TF dos, Gumilang A, Almagro-Molto M, [Alanio A](#), [Garcia-Hermoso D](#), Delbaje E, Pontes L, Pinzan CF, Schreiber AZ, Canóvas D, Luperini RS, Lagrou K, Torrado E, Rodrigues F, Oberlies NH, Zhou X, Goldman GH, Rokas A. Evolutionary origin and population diversity of a cryptic hybrid pathogen. *Nat Commun*. 2024;15(1):8412.
 9. Almeida M de A, Baeza LC, Silva LBR, Bernardes-Engemann AR, Almeida-Silva F, Coelho RA, Andrade IB de, Corrêa-Junior D, Frases S, Zancopé-Oliveira RM, [Alanio A](#), Taborda CP, Almeida-Paes R. Auranofin is active against *Histoplasma capsulatum* and reduces the expression of virulence-related genes. *PLOS Neglected Trop Dis*. 2024;18(10):e0012586.
 10. Mbangiwa T, Sturny-Leclère A, Lechiile K, Kajanga C, Boyer-Chammard T, Hoving JC, Leeme T, Moyo M, Youssouf N, Lawrence DS, Mwandumba H, Mosepele M, Harrison TS, Jarvis JN, [Lortholary O](#), [Alanio A](#). Development and validation of quantitative PCR assays for HIV-associated cryptococcal meningitis in sub-Saharan Africa: a diagnostic accuracy study. *Lancet Microbe*. 2024;5(3):e261–71.
 11. Paccoud O, [Desnos-Ollivier M](#), Persat F, Demar M, [Boukris-Sitbon K](#), Bellanger AP, Bonhomme J, Bonnal C, Botterel F, Bougnoux ME, Brun S, Cassaing S, Cateau E, Chouaki T, Cornet M, Dannaoui E, Desbois-Nogard N, Durieux MF, Favennec L, Fekkar A, Gabriel F, Gangneux JP, Guitard J, Housseine L, Huguenin A, Gal SL, Letscher-Bru V, Mahinc C, Morio F, Nicolas M, Poirier P, Ranque S, Roosen G, Rouges C, Roux AL, Sasso M, [Alanio A](#), [Lortholary O](#), [Lanternier F](#), Group for the FMS, Brieu N, Durand C, Bertei D, Bouchara JP, Pihet M, Bland S, Bru JP, Pulik M, Turdu FL, C HL, Ferrand M, Larrouy M, Millon L, Delhaes L, Imbert S, Accoceberry I, Bachelier MN, Nevez G, Quinio D, Coustumier AL, Carmagnol F, Rivière B, Boex P, Podac B, Moniot M, Nourrisson C, Augereau O, Emond JP, Belkacem-Belkaki G, Bacri JL, Berthelot G, Dalle F, Vallee E, Bizet J, Noussair L, Herrmann JL, Maubon D, Brocard C, Guiffault P, Layet A, Morel A, Angoulvant A, Penn P, Gigandon A, Sendid B, Cornu M, Darde ML, Jaccard A, Bouteille B, Azjenberg D, Prades N, Bienvenu AL, Benoit-Cattin T, Fiacre A, Levy S, Pitsch A, Kiefer MH, Debourgogne A, Moquet O, Colot J, Courtellemont L, Poisson D, Laurens V, Kauffmann-Lacroix C, Martres P, Gargala G, Godineau N, Picot S, Chassagne C, Djibo N, Devallière R, Sabou M, Camin-Ravenne AM, Bissuel F, Janvier F, Aubert X, Chadapaud S, Delbeck X, Lafeuillade A, Raoult X, Baclet V, Coignard C, Mouton Y, Ravaux I, Eloy C, Fur A, Rezzouk L, Mazards E, Eloy O, Chachaty E, Mihaila L, Dellion S, Patey O, Thouvenot A, Limousin L, Paugam A, Desplaces N, Raguin G, Sitterlé E, Blaize M, Gits-Muselli M, Hennequin C, Poirot JL, Bretagne S, Lacroix C, Hamane S. Features of cryptococcosis among 652 HIV-seronegative individuals in France: a cross-sectional observational study (2005-2020). *Clin Microbiol Infect*. 2024;30(7):937–44.
 12. Trecourt A, Rabodonirina M, Donzel M, Chapey-Picq E, Bentaher A, Dupont D, Miossec C, Persat F, Wallon M, Lemoine JP, Tirard-Collet P, Baltrès A, [Alanio A](#), Devouassoux-Shisheboran M, Menotti J. *Cryptococcus*

- neoformans/gattii and *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* infections on tissue sections: Diagnostic pitfalls and relevance of an integrated histomolecular diagnosis. *Med Mycol.* 2024;63(1):myae126.
13. Brown L, [Alanio A](#), Cruciani M, Barnes R, Donnelly JP, Loeffler J, Rautemaa-Richardson R, White PL. Strengths and limitations of molecular diagnostics for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia. *Expert Rev Mol Diagn.* 2024;ahead-of-print(ahead-of-print):1–13.
 14. Mhenni R, Dellière S, Maaouia CB, Hamane S, Deniau B, Mahévas T, Chaussard M, Coutrot M, Guillemet L, Cupaciu A, Pharaboz A, Walter T, Boutin L, Benyamina M, Corte H, Delale C, Chaouat M, Guihot A, [Lanternier F](#), [Alanio A](#), Dépret F, Serris A, Dudoignon E. Combined antifungal therapy with immunostimulation for refractory cutaneous and peritoneal mucormycosis caused by *Rhizopus microsporus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2024;116653.
 15. Brown L, Rautemaa-Richardson R, Mengoli C, [Alanio A](#), Barnes RA, Bretagne S, Chen SCA, Cordonnier C, Donnelly JP, Heinz WJ, Jones B, Klingspor L, Loeffler J, Rogers TR, Rowbotham E, White PL, Cruciani M. Polymerase Chain Reaction on Respiratory Tract Specimens of Immunocompromised Patients to Diagnose *Pneumocystis* Pneumonia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2024;ciae239.
 16. Agrawal R, [Sturny-Leclère A](#), Castro RJA de, [Alanio A](#). Induction of Dormancy in *Cryptococcus neoformans* In Vitro: The HypNOS Protocol. *Methods Mol Biol.* 2024;2775:349–58.
 17. Ghelfenstein-Ferreira T, Serris A, Salmona M, [Lanternier F](#), [Alanio A](#). Revealing the hidden interplay: The unexplored relationship between fungi and viruses beyond HIV, SARS-CoV-2, and influenza. *Med Mycol.* 2024;62(4):myae021.
 18. Baron A, Hamane S, Gits-Muselli M, Legendre L, Benderdouche M, Mingui A, Ghelfenstein-Ferreira T, [Alanio A](#), Dellière S. Dual quantitative PCR assays for the rapid detection of *Trichophyton indotineae* from clinical samples. *Med Mycol.* 2024;myae067.
 19. Hommel B, [Sturny-Leclère A](#), [Alanio A](#). In Vitro Titan Cell Generation in *Cryptococcus neoformans* and Automated Cell Size Measurements. *Methods Mol Biol.* 2024;2775:385–91.
 20. Lafont E, [Sturny-Leclère A](#), Coelho C, [Lanternier F](#), [Alanio A](#). Assessing Phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* Cells in Human Monocytes or the J774 Murine Macrophage Cell Line. *Methods Mol Biol.* 2024;2775:157–69.
 21. Millon L, Botterel F, Bonhomme J, Valot S, Poirier P, Durieux MF, Bigot J, Desoubeaux G, Chesnais A, Morio F, Pihet M, Brunet K, Bellanger AP, Imbert S, Nevez G, Gal SL, Bourgeois N, Debourgogne A, Cornu M, Persat F, Hasseine L, Bougnoux ME, Brun S, Cornet M, Favennec L, Gargala G, Bonnal C, Gangneux JP, [Alanio A](#), Iriart X, Mahinc C, Chouaki T, Paugam A, Letscher-Bru V, Dannaoui E. Laboratory practices for the diagnosis and management of mucormycosis in France, 2024. *J Méd Mycol.* 2024;101520.
 22. Marina CL, Castro RJA de, Bellozi P, Cruz AM, Bürgel PH, Potter PGW, Beall C, Tavares AH, Bem AD, [Alanio A](#), Coelho C, Bocca AL. Immunometabolic reprogramming in macrophages infected with active and dormant *Cryptococcus neoformans* : differential modulation of respiration, glycolysis, and fatty acid utilization. *Infect Immun.* 2024;e0048724.
 23. Gouzien L, Che D, Cassaing S, [Lortholary O](#), Letscher-Bru V, Paccoud O, Obadia T, Morio F, Moniot M, Cateau E, Bougnoux ME, Chouaki T, Hasseine L, Desoubeaux G, Gautier C, Mahinc-Martin C, Huguenin A, Bonhomme J, Sitbon K, Durand J, [Alanio A](#), Millon L, [Garcia-Hermoso D](#), [Lanternier F](#), Group the FMS. Epidemiology and prognostic factors of mucormycosis in France (2012–2022): a cross-sectional study nested in a prospective surveillance programme. *Lancet Reg Heal - Eur.* 2024;45:101010.
 24. Guitard J, Bellanger AP, Dorin J, Cassaing S, Capitaine A, Gabriel F, Nicolas M, Coron N, Penn P, Moniot M, Quinio D, Ranque S, Sasso M, Lepape P, Dannaoui E, Brun S, Lacroix C, Cornu M, Debourgogne A, Durieux MF, Laurent G, Bru V, Bourgeois N, Brunet K, Chouaki T, Huguenin A, Hasseine L, Maubon D, Gangneux JP, Desbois-Nogard N, Houze S, Dalle F, Bougnoux ME, [Alanio A](#), Costa D, Botterel F, Hennequin C. Current knowledge and practice of *Candida auris* screening in France: A nationwide survey from the French Society of Medical Mycology (SFMM). *J Méd Mycol.* 2024;34(3):101490.
 25. Agrawal R, Castro RJA de, [Sturny-Leclère A](#), [Alanio A](#). Population heterogeneity in *Cryptococcus neoformans*: Impact on pathogenesis. *PLOS Pathog.* 2024;20(7):e1012332.

26. El Ghalid M, Chiarelli A, Brisse S, Betsou F, [Garcia-Hermoso D](#). Stability and Qualification of a Legacy Fungal Collection. *Biopreserv Biobank*. 2024. doi: 10.1089/bio.2023.0154. PubMed PMID: 38686572.
27. Hatmaker EA, Barber AE, Drott MT, Sauters TJC, Alastruey-Izquierdo A, [Garcia-Hermoso D](#), Kurzai O, Rokas A. Pathogenicity is associated with population structure in a fungal pathogen of humans. *bioRxiv*. 2024. doi: 10.1101/2024.07.05.602241. PubMed PMID: 39026826; PMCID: PMC11257439.
28. Vignals C, Emmerich J, Begueret H, [Garcia-Hermoso D](#), Martin-Blondel G, Angoulvant A, Blez D, Bruneval P, Cassaing S, Catherinot E, Cahen P, Molucon-Chabrot C, Chevenet C, Delhaes L, Escaut L, Faruch M, Grenouillet F, Larosa F, Limousin L, Longchamp E, Mellot F, Nourrisson C, Bougnoux ME, [Lortholary O](#), Roux A, Rozenblum L, Puges M, [Lanternier F](#), Bronnimann D. Deciphering Unexpected Vascular Locations of *Scedosporium* spp. and *Lomentospora prolificans* Fungal Infections, France. *Emerg Infect Dis*. 2024;30(6):1077-87.
29. Teston E, Sautour M, Boulnois L, Augey N, Dighab A, Guillet C, [Garcia-Hermoso D](#), [Lanternier F](#), Bougnoux ME, Dalle F, Basmaciyan L, Blot M, Charles PE, Quenot JP, Podac B, Neuwirth C, Boccara C, Boccara M, Thouvenin O, Maldiney T. Label-Free Optical Transmission Tomography for Direct Mycological Examination and Monitoring of Intracellular Dynamics. *J Fungi (Basel)*. 2024 Oct 26;10(11):741. doi: 10.3390/jof10110741. PMID: 39590661
30. Giannella M, [Lanternier F](#), Dellière S, Groll AH, Mueller NJ, Alastruey-Izquierdo A, Slavin MA; Invasive fungal disease in the immunocompromised host: changing epidemiology, new antifungal therapies, and management challenges. ECCMID study groups on Invasive Fungal Infection and Infection in Immunocompromised Hosts. *Clin Microbiol Infect*. 2025 Jan;31(1):29-36. doi: 10.1016/j.cmi.2024.08.006. Epub 2024 Aug 12. PMID: 39142631
31. Alastruey-Izquierdo A, Hammarström H, Seidel D, Styczynski J, Sabino R, Lamoth F, Prattes J, Warris A, Porcher R, [Lanternier F](#); ESCAI Study Group. European Serris A, Rautemaa-Richardson R, Laranjinha JD, Candoni A, Garcia-Vidal C, Study of Cerebral Aspergillosis treated with Isavuconazole (ESCAI): A study by the ESCMID Fungal Infection Study Group. *Clin Infect Dis*. 2024 Oct 15;79(4):936-943. doi: 10.1093/cid/ciae371. PMID: 39076104.
32. Cachera L, Oehler E, Abdelmoumen K, Tardieu L, Thomas I, Lagrange M, Manaquin R, Quirin N, Sidibe M, Gbaguidi T, Davodoun T, Claudeon J, Vacher H, Roger PM, Markowicz S, Cabié A, Scemla A, Manchon R, Paccoud O, Pilmis B, [Lanternier F](#), [Lortholary O](#), Epelboin L. Prevention and management of infectious and tropical diseases in kidney transplant recipients residing in European outermost and overseas territories. *Transpl Infect Dis*. 2024 Dec;26(6):e14386. doi: 10.1111/tid.14386
33. Francisco EC, [Desnos-Ollivier M](#), Dieleman C, Boekhout T, Santos DWCL, Medina-Pestana JO, Colombo AL, Hagen F. Unveiling *Trichosporon austroamericanum* sp. nov.: A Novel Emerging Opportunistic Basidiomycetous Yeast Species. *Mycopathologia*. 2024 May 6;189(3):43. doi: 10.1007/s11046-024-00851-4.
34. Moussiegt A, Donald SM, Bougnoux ME, Van Eer M, Vreden S, Chiller T, Caceres DH, Gomez BL, Nacher M, [Lortholary O](#), Adenis A. Fungal biomarkers in HIV-associated disseminated histoplasmosis: a multicenter diagnostic accuracy study on the Guiana shield. *Int J Infect Dis*. 2025 Apr;153:107360. doi: 10.1016/j.ijid.2024.107360. Epub 2024 Dec
35. Sabourin E, Porte des Vaux C, Veluppillai N, Bougnoux ME, Dannaoui E, [Lortholary O](#). Case report: *Candida blankii* osteo-articular infection in a patient with Chronic Granulomatous Disease. *Med Mycol Case Rep*. 2024 Oct 31;46:100682. doi: 10.1016/j.mmcr.2024.100682. eCollection 2024 Dec.
36. Neofytos D, Pagliuca A, Houghton K, Broughton E, de Figueiredo Valente MLN, Jiang L, Enoch DA, Gruener B, Herbrecht R, Lahmer T, [Lortholary O](#), Melenotte C, De Rosa FG, Garcia-Vidal C, Jimenez M, Fernandez M, Cornely O. Effectiveness, Safety, and Patterns of Real-World Isavuconazole Use in Europe (2015-2019). *Infect Dis Ther*. 2024 Dec;13(12):2527-2543. doi: 10.1007/s40121-024-01064-4. Epub 2024 Oct 24

Publications nationales :

Ghelfenstein-Ferreira T, Alanio Alexandre. Nouveaux outils de diagnostic des infections fongiques en 2024. Médecine et Maladies Infectieuses Formation [Internet]. 2024 Sep;7622(1):1. Available from: [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772-7432\(24\)00552-X](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772-7432(24)00552-X)

Publications mentionnant les financements de SPF : Ref 4,11 et 23

Communications invitées nationales :

Fanny Lanternier :

- SFMM Journée mucormycoses 2024 : Clinique et traitement de la mucormycose
- AGIT 2024 Cayenne congrès d'infectiologie : Cryptococcose
- AER (Actualités en Réanimation) 2024 : nouveautés infections fongiques
- SFMM 2024 : Actualités CNRMA

Alexandre Alanio :

- Journée Françaises d'Hygiène Hospitalières. Strasbourg. Dec 2024. *Candida auris*, diagnostic
- Journée Claude Bernard. Paris. Nov 2024. Epidémiologie de la pneumocystose
- REMIC webinar. Sept 2024. La cryptococcose et ces outils

Olivier Lortholary

- Rencontre clinico-biologique de l'Institut Cochin, Septembre 2024 : infections en hématologie
- Réunion de Chimiothérapie anti-infectieuse, décembre 2024, Paris : Réchauffement climatique, catastrophes naturelles et émergence de la coccidioidomycose

Dea Garcia-Hermoso

- SFMM Journée *Mucorales* et mucormycoses mars 2024 : Taxonomie des *Mucorales*

Communication invitées congrès internationaux :

Fanny Lanternier

- ECCMID 2024 (Barcelona) : *Scedosporiosis*
- AMPIC (Congres International Marocain Maladies infectieuses) 2024 : épidémiologie et surveillance infections fongiques
- Société belge et Française de mycologie (2024 Lille) : Nouveaux antifongiques
- FEBS 2024 (La Colle sur Loup) : Epidemiology of invasive fungal diseases

Olivier Lortholary

- Trinity College, Dublin, Ireland, Juin 2024, update on cryptococcosis
- Congrès international de transplantation d'organe, Septembre 2024, Varèse, Italie : Fungal infections in solid organ transplant recipients

Alexandre Alanio :

- Asia Pasific Medical Mycology Society Meeting. Kyoto. Nov 2024. Fungal outbreaks
- Asia Pasific Medical Mycology Society Meeting. Kyoto. Nov 2024. Pneumocystis pneumonia
- CapeCOd webinar. Nov 2024. BetaDGlucan detection in non-Candida infections.
- Dutch Medical Mycology meeting. Driebergen. Oct 2024. Pneumocystis diagnosis.
- German Mycology society meeting webinar. Jun 2024. Pneumocystis seminar
- ECHO AIDS webinar. Jun 2024. PCP, current and future diagnosis.

- Immy antifungal webinar. March 2024. Antifungal resistance mechanisms
- QCMD annual meeting, Edinburg March 2024: P jirovecii qPCR 2019-2023
- Fungal Update Mycology 2024. March 2024. London. PCP diagnosis, the past.
- Seminar at University of Brasilia, March 2024. Brasilia. Dormancy in *Cryptococcus neoformans*
- Brazilian medical mycology meeting (Belo Horizonte, Feb 2024: unraveling deep mycoses: advance in molecular diagnosis (AA)

Marie Desnos-Ollivier :

AMR Symposium, Institut Pasteur Paris, 9-10 décembre 2024-

Dea Garcia-Hermoso:

INFOCUS Medellin, Colombie 20-23 novembre 2024—A Comprehensive Approach to Pathogenic Mold Identification

6.B. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR (Laboratoires associés Aspergilloses chroniques)

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Plusieurs projets initiés en 2023 ont été poursuivis en 2024 et continueront en 2025 :

- Le projet EMERG coordonné par D. Malvy et L. Delhaes (2023-2027) dont l'objectif est d'établir une cartographie des moisissures du genre *Aspergillus* et leur résistance aux antifongiques, notamment aux azolés, en Nouvelle Aquitaine. En 2024, des prélèvements environnementaux ont permis l'identification de 1626 micromycètes cultivables dont 31 isolats du genre *Aspergillus*. Parmi ces isolats, 11 *Aspergillus fumigatus* ont été isolés et montré une sensibilité conservée aux antifongiques azolés testés. Les 20 autres isolats étaient de différentes sections, montraient une sensibilité moindre aux azolés.

- L'étude ancillaire du protocole MyCADO (coordonné par S. Imbert, promotion CHU de Bordeaux), visait à caractériser l'exposome fongique de patients asthmatiques sévères traités par biothérapie, grâce au déploiement à leur domicile de collecteurs à poussières au cours des 4 saisons. En 2024, 49 des 172 collecteurs de poussière analysés étaient positifs pour des espèces du genre *Aspergillus*, soit 28,5 %. Au total 59 isolats aspergillaires ont été collectés et étudiés : 19 isolats d'*Aspergillus fumigatus* (tous sensibles aux antifongiques azolés), 22 isolats de la section *Nigri*, et 18 isolats d'autres sections.

- Le PHRC National ECENVIR (Evaluation médico-économique des conseillers médicaux en environnement intérieur (CMEI) pour diminuer l'exposition des asthmatiques aux allergènes fongiques et autres) coordonné par JP Gangneux, promotion CHU de Rennes. Cent quatre patients ont été inclus et randomisés pour bénéficier de la visite de CMEI. L'analyse statistique montre que les patients ayant bénéficié d'une visite de CMEI ont 1,5 fois plus de chance d'avoir une stabilisation de leur asthme et une diminution significative de leur consommation d'antibiotiques. L'analyse médico-économique sur le suivi à 2 ans après l'intervention est en cours de finalisation.

- L'étude ancillaire sur la sérologie au cours de l'Aspergillose chronique traitée (PHRC CPAAARI) est présentée plus haut.

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

(i) Publications nationales

1. Gangneux JP, Imbert S, Guegan H, Delhaes L. Diagnostic biologique des aspergilloses pulmonaires chroniques. Encyclopédie Médico-chirurgicale / Biologie. 2024 sous presse.

(ii) Publications internationales

1. Jaggi TK, Agarwal R, Tiew PY, Shah A, Lydon EC, Hage CA, Waterer GW, Langelier CR, Delhaes L, Chotirmall SH. Fungal lung disease. Eur Respir J. 2024 Nov 28;64(5):2400803. doi: 10.1183/13993003.00803-2024.
2. Lussac-Sorton F, Charpentier É, Imbert S, Lefranc M, Bui S, Fayon M, Berger P, Enaud R, Delhaes L. The gut-lung axis in the CFTR modulator era. Front Cell Infect Microbiol. 2023 Sep 15;13:1271117. doi: 10.3389/fcimb.2023.1271117
3. Imbert S, Revers M, Enaud R, Orieux A, Camino A, Massri A, Villeneuve L, Carrié C, Petit L, Boyer A, Berger P, Gruson D, Delhaes L, Prével R. Lower airway microbiota compositions differ between influenza, COVID-19 and bacteria-related acute respiratory distress syndromes. Crit Care. 2024 Apr 22;28(1):133. doi: 10.1186/s13054-024-04922-2.
4. Djenontin E, Debourgogne A, Mousavi B, Delhaes L, Cornet M, Valsecchi I, Adebo M, Guillot J, Botterel F, Dannaoui E. Azole resistance in Aspergillus flavus and associated fitness cost. Mycoses. 2024 Jul;67(7): e13766. doi:10.1111/myc.13766.
5. Imbert S, Revers M, Enaud R, Orieux A, Delhaes L, Prével R. Sampling and processing matter in airway microbiota discovery. Crit Care. 2024 May 31;28(1):188. doi: 10.1186/s13054-024-04971-7.
6. Gangneux JP, Brandao J, Segal E; ECMM/ISHAM MYCOSANDS study group. Knowledge and regulation on fungal contamination of sand and water: Progress report and perspectives. Med Mycol. 2024 Jan 27;62(2): myad137. doi: 10.1093/mmy/myad137.
7. Djenontin E, Costa JM, Mousavi B, Nguyen LDN, Guillot J, Delhaes L, Botterel F, Dannaoui E. The Molecular Identification and Antifungal Susceptibility of Clinical Isolates of *Aspergillus* Section *Flavi* from Three French Hospitals. Microorganisms. 2023 Sep 28;11(10):2429. doi: 10.3390/microorganisms11102429.
8. Delcourte L, Berbon M, Rodriguez M, Subban K, Lends A, Grélard A, Morvan E, Habenstein B, Saupe SJ, Delhaes L, Aimanianda V, Daskalov A, Loquet A. Magic- angle spinning NMR spectral editing of polysaccharides in whole cells using the DREAM scheme. Methods. 2024 Oct;230:59-67. doi: 10.1016/j.ymeth.2024.07.003.Epub 2024 Jul 22.
9. Barrera C, Schwarz C, Delhaes L, Le Gal S, Ramel S, Gangneux JP, Guitard J, Hoffmann C, Bellanger AP, Bouchara JP, Millon L. Detection of Specific IgE against Molds Involved in Allergic Bronchopulmonary Mycoses in Patients with Cystic Fibrosis. Mycopathologia. 2024 Jul 18;189(4):68. doi: 10.1007/s11046-024-00870-1.
10. de Hoog S, Walsh TJ, Ahmed SA, Alastruey-Izquierdo A, Arendrup MC, Borman A, Chen S, Chowdhary A, Colgrove RC, Cornely OA, Denning DW, Dufresne PJ, Filkins L, Gangneux J-P, Gené J, Groll AH, Guillot J, Haase G, Halliday C, Hawksworth DL, Hay R, Hoenigl M, Hubka V, Jagielski T, Kandemir H, Kidd SE, Kus JV, Kwon-Chung J, Lockhart SR, Meis JF, Mendoza L, Meyer W, Nguyen MH, Song Y, Sorrell TC, Stielow JB, Vilela R, Vitale RG, Wengenack NL, White PL, Ostrosky-Zeichner L, Zhang SX; ISHAM/ECMM/FDLC Working Group Nomenclature of Clinical Fungi. Nomenclature for human and animal fungal pathogens and diseases: a proposal for standardized terminology. J Clin Microbiol. 2024 Dec 11;62(12): e0093724. doi: 10.1128/jcm.00937-24. Epub 2024 Nov 11. PMID: 39526838; PMCID: PMC11633119.
11. Sehgal IS, Muthu V, Seidel D, Sprute R, Armstrong-James D, Asano K, Chalmers JD, Gangneux JP, Godet C, Salzer HJF, Cornely OA, Agarwal R. EQUAL ABPA Score 2024: A Tool to Measure Guideline Adherence for Managing Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. Mycoses. 2024 Oct;67(10): e13810. doi: 10.1111/myc.13810. PMID: 39462638.

12. Quelven Q, Grégoire M, Coirier V, Gacouin A, Le Gallou S, Cattoir V, Cogné M, Guegan H, Gangneux JP, Roussel M, Tarte K, Tadié JM, Lesouhaitier M. Neutrophil phenotype, effector functions, and microbicidal activity in patients with SARS- CoV-2-associated ARDS. *J Leukoc Biol.* 2024 Dec 31;117(1):qiae195. doi: 10.1093/jleuko/qiae195. PMID: 39268804.
13. Feys S, Carvalho A, Clancy CJ, Gangneux JP, Hoenigl M, Lagrou K, Rijnders BJA, Seldeslachts L, Vanderbeke L, van de Veerdonk FL, Verweij PE, Wauters J. Influenza-associated and COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in critically ill patients. *Lancet Respir Med.* 2024 Sep;12(9):728-742. doi: 10.1016/S2213-2600(24)00151-6. Epub 2024 Jul 15. PMID: 39025089.
14. Prattes J, Giacobbe DR, Bassetti M, Gangneux JP, Hoenigl M; POSACOVID Study Group. Antifungal prophylaxis of COVID-19 associated pulmonary aspergillosis in ventilated patients: one solution does not fit all. *Intensive Care Med.* 2024 Aug;50(8):1375-1377. doi: 10.1007/s00134-024-07542-0. Epub 2024 Jul 9. PMID:38980361.
15. Yerbanga IW, Lagrou K, Merckx R, Nakanabo Diallo S, Gangneux JP, Delabarre A, Denis O, Rodriguez-Villalobos H, Montesinos I, Bamba S. First detection of triazole-resistant *Aspergillus fumigatus* harbouring the TR34/L98H Cyp51A mutation in Burkina Faso. *Mycoses.* 2024 May;67(5):e13732. doi:10.1111/myc.13732. PMID: 38712846.
16. Reizine F, Tadié JM, Grégoire M, Tarte K, Gangneux JP. Assessing the entire landscape of antifungal immune response to COVID-19-associated pulmonary aspergillosis. *Lancet Microbe.* 2024 Aug;5(8):100861. doi: 10.1016/S2666-5247(24)00076-4. Epub 2024 Apr 23. PMID: 38670134.
17. Hoenigl M, Arastehfar A, Arendrup MC, Brüggemann R, Carvalho A, Chiller T, Chen S, Egger M, Feys S, Gangneux J-P, Gold JAW, Groll AH, Heylen J, Jenks JD, Krause R, Lagrou K, Lamoth F, Prattes J, Sedik S, Wauters J, Wiederhold NP, Thompson GR 3rd. Novel antifungals and treatment approaches to tackle resistance and improve outcomes of invasive fungal disease. *Clin Microbiol Rev.* 2024 Jun 13;37(2):e0007423. doi: 10.1128/cmr.00074-23. Epub 2024 Apr 11. PMID: 38602408; PMCID: PMC11237431.
18. Elhaj Mahmoud D, Hérivaux A, Morio F, Briard B, Vigneau C, Desoubeaux G, Bouchara JP, Gangneux JP, Nevez G, Le Gal S, Papon N. The epidemiology of invasive fungal infections in transplant recipients. *Biomed J.* 2024 Jun;47(3):100719. doi: 10.1016/j.bj.2024.100719. Epub 2024 Apr 4. PMID: 38580051; PMCID: PMC11220536.
19. Davies AA, Adekoya AO, Balogun OJ, Osaigbovo II, Nwosu A, Gbaja-Biamila T, Osinupebi O, Gangneux JP, Oladele RO. Prevalence of Chronic Pulmonary Aspergillosis in Two (2) Tuberculosis Treatment Clinics in Lagos, Nigeria: A Prospective Longitudinal Study. *Open Forum Infect Dis.* 2024 Feb 15;11(4):ofae090. doi: 10.1093/ofid/ofae090. PMID: 38567195; PMCID: PMC10986852.
20. Seidel D, Wurster S, Jenks JD, Sati H, Gangneux JP, Egger M, Alastruey- Izquierdo A, Ford NP, Chowdhary A, Sprute R, Cornely O, Thompson GR 3rd, Hoenigl M, Kontoyiannis DP. Impact of climate change and natural disasters on fungal infections. *Lancet Microbe.* 2024 Jun;5(6):e594-e605. doi: 10.1016/S2666-5247(24)00039-9. Epub 2024 Mar 19. PMID: 38518791.
21. Agarwal R, Sehgal IS, Muthu V, Denning DW, Chakrabarti A, Soundappan K, Garg M, Rudramurthy SM, Dhooria S, Armstrong-James D, Asano K, Gangneux JP, Chotirmall SH, Salzer HJF, Chalmers JD, Godet C, Joest M, Page I, Nair P, Arjun P, Dhar R, Jat KR, Joe G, Krishnaswamy UM, Mathew JL, Maturu VN, Mohan A, Nath A, Patel D, Savio J, Saxena P, Soman R, Thangakunam B, Baxter CG, Bongomin F, Calhoun WJ, Cornely OA, Douglass JA, Kosmidis C, Meis JF, Moss R, Pasqualotto AC, Seidel D, Sprute R, Prasad KT, Aggarwal AN. Revised ISHAM-ABPA working group clinical practice guidelines for diagnosing, classifying and treating allergic bronchopulmonary aspergillosis/mycoses. *Eur Respir J.* 2024 Apr 4;63(4):2400061. doi: 10.1183/13993003.00061-2024. PMID: 38423624; PMCID: PMC10991853.
22. Ravenel K, Guegan H, Gastebois A, Bouchara JP, Gangneux JP, Giraud S. Fungal Colonization of the Airways of Patients with Cystic Fibrosis: the Role of the Environmental Reservoirs. *Mycopathologia.* 2024 Feb 26;189(2):19. doi: 10.1007/s11046-023-00818-x.
23. Sehgal IS, Muthu V, Dhooria S, Prasad KT, Rudramurthy SM, Aggarwal AN, Garg M, Gangneux JP, Chakrabarti A, Agarwal R. Sensitivity and specificity of LDBio *Aspergillus* ICT lateral flow assay for diagnosing allergic bronchopulmonary aspergillosis in adult asthmatics. *Mycoses.* 2024 Feb;67(2):e13700.

doi:10.1111/myc.13700. PMID: 38369615.

(i) *Conventions nationales sur invitation*

3 en congrès nationaux (JNI et RESPIRnet) et 6 en congrès internationaux (AAAM et Isham/FRI-C)

6.C. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR (Laboratoire associé INUSUALE)

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

- Projet Epiblackii : « Étude multicentrique de l'épidémiologie de *Tardiomyces blankii* (*Candida blankii*) et des espèces apparentées ». Dans le cadre des activités du CNR-INuSuAle, nous sollicitons les membres du réseau MSI-2 en France et à l'étranger ayant identifié au moins un isolat de *Candida blankii* entre 2021 et 2024 (partie rétrospective) ainsi que les centres identifiant cette levure (partie prospective). Le nombre de centres participants est estimé à entre 15 et 20. Le nombre d'isolats attendus est compris entre 55 et 65.

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

1. De Paepe R, Normand AC, Uhrlaß S, Nenoff P, Piarroux R, Packeu A. Mycopathologia. Resistance Profile, Terbinafine Resistance Screening and MALDI-TOF MS Identification of the Emerging Pathogen *Trichophyton indotineae*. 2024 Mar 14;189(2):29. doi: 10.1007/s11046-024-00835-4. PMID: 38483637
 2. Grandhay C, Prétot E, Klabá V, Celle H, Normand AC, Bertrand X, Grenouillet F. Yeast Biodiversity of Karst Waters: Interest of Four Culture Media and an Improved MALDI-TOF MS Database. Microb Ecol. 2024 Jan 4;87(1):26. doi: 10.1007/s00248-023-02336-1. PMID: 38175217
 3. Mohammad N, Huguenin A, Lefebvre A, Menvielle L, Toubas D, Ranque S, Villena I, Tannier X, Normand AC, Piarroux R. Nosocomial transmission of *Aspergillus flavus* in a neonatal intensive care unit: Long-term persistence in environment and interest of MALDI-ToF mass-spectrometry coupled with convolutional neural network for rapid clone recognition. Med Mycol. 2024 Jan 9;62(1):myad136. doi: 10.1093/mmy/myad136. PMID: 38142226
- Communication orale internationale
 - Anne-Cécile Normand, Marion Blaize, Grégoire Pasquier, Christophe Hennequin, Sébastien Imbert, Françoise Botterel, Sophie Cassaing, Florent Morio, Jean Menotti, Solène Le Gal, Frédéric Dalle, Boualem Sendid, Marie-Elisabeth Bougnoux, Christine Bonnal, Milène Sasso, Antoine Huguenin, Danièle Maubon, Renaud Piarroux, Arnaud Fekkar. The ReCap study, a French nationwide multicenter prospective study of azole resistance in *Candida parapsilosis*. 34th ECCMID (European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), 27-30 avril 2024, Barcelone, Espagne)

7.A. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux (CNRMA-IFI)

C. auris et eaux usées

En 2024, le CNRMA a collaboré avec l'ANSES (laboratoire d'hydrologie de Nancy, Benoit Gassilloud) et en lien avec Frédéric Jourdain (SPF), pour optimiser la recherche de *C. auris* dans les boues de collectes d'eaux usées avec des outils de biologie moléculaire. La méthode optimale d'extraction des acides nucléiques a pu être sélectionnée parmi 3 méthodes testées de protocoles déjà utilisés dans le domaine de la microbiologie appliquée à l'hydrologie. Elle permet la détection d'un minimum de 10^3 cellules de *Candida auris* dans 50 mL de boues. Les premiers essais de screening d'échantillons de boues collectés à Nancy pendant un épisode de transmission hospitalière de *C. auris* à Nancy n'ont pas permis la détection de *C. auris*.

Il est envisagé de répondre dans le futur proche à des appels d'offres spécifiques pour envisager un travail à plus large échelle de collection d'échantillons de boues pour connaître dans des contextes de détection hospitalière la prévalence de l'excrétion de *C. auris* dans les eaux usées et les points de traitement des eaux.

Il est à noter que qu'un pourcentage important d'échantillons de collectes d'eaux usées sont positifs à *Fusarium*, champignon filamenteux connu en milieu hospitalier pour coloniser les environnements humides tels que les siphons, tuyauterie, cuvettes de toilettes.

Mucorales et environnement

Nous avons établi une collaboration avec Pr. Laurence Million responsable du laboratoire de Mycologie du CHU de Besançon, UMR CNRS 6219, dans le cadre du projet « Envimucor » (Facteurs environnementaux influençant la distribution spatiale des *Mucorales* et incidence des mucormycoses). Ce travail vise à analyser la distribution spatiale, à l'échelle nationale, des espèces de *Mucorales* responsables de mucormycoses, et d'étudier les corrélations avec la répartition des cas de mucormycoses diagnostiqués dans les hôpitaux français, et recensés par le CNRMA. Pour cela, la distribution des principales espèces de *Mucorales* sera cartographiée grâce à l'utilisation de capteurs environnementaux déposés sur 300 sites en France, en milieu extérieur et en milieu intérieur (logements). Les analyses mycologiques seront réalisées par le laboratoire de Mycologie, UMR CNRS 6249. La distribution géographique des espèces de *Mucorales* dans l'environnement extérieur et intérieur sera mise en lien avec la distribution des cas de mucormycoses issus des données de surveillance nationale générées par le CNRMA. Les analyses statistiques seront réalisées avec l'appui du référent statisticien du CNRMA.

Ce projet apportera donc les premières données sur la répartition nationale de ces pathogènes. A l'issue du projet, nous espérons apporter de nouvelles connaissances sur les facteurs influençant la distribution des *Mucorales* en milieu extérieur et intérieur, qui pourraient permettre de mettre en œuvre des moyens de prévention mieux ciblés pour la protection des patients à risques.

Réseau vétérinaire

Nous sommes en lien et réalisons des réunions avec des vétérinaires en particulier le Pr Grégory Jouvion (Maison Alfort) et le Pr Jacques Guillot (Nantes) experts en mycologie animale afin d'échanger sur l'épidémiologie des mycoses chez l'animal et sur le potentiel lien avec les animaux des épidémies ou émergences en cours. Nous avons également fait une réunion avec Pascal Arné, directeur du CHU vétérinaire-Faune Sauvage (centre d'accueil et de soins d'animaux sauvages) qui accueille plus de 7 000 animaux sauvages (dont 80% d'oiseaux).

7.B. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux (Laboratoires associés Aspergilloses chroniques)

Le PHRC ECENVIR est une étude co-financée par la DGOS, le Ministère de la Santé et le Ministère de l'Écologie car analyse l'impact de l'exposition environnementale aux moisissures et allergènes et son impact sur la santé respiratoire. A travers le programme PSGAR-MIE de Nouvelle Aquitaine (projet EMERG, L. Delhaes & D. Malvy), la coopération avec l'ANSES (LNR), l'INRAE, les écoles de vétérinaire de Maison Alfort et Toulouse et les écologues de l'université de La Rochelle ayant été initiée en 2023 continue en 2024.

7.C. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux (Laboratoire associé INUSUALE)

Des collaborations ont été établies avec le Pr Jacques Guillot, du laboratoire Oniris (École Nationale Vétérinaire) de Nantes.

8.A. Programme d'activité pour les années suivantes au CNRMA-IFI

Données épidémiologiques en temps réel et incidence

L'objectif de l'année 2025 est de mettre en place une analyse systématique des données épidémiologiques et des tendances tous les 6 mois et de rendre de manière annuelle à chaque centre ses données épidémiologiques ainsi que la comparaison aux données nationales.

Le deuxième objectif est de travailler sur le dénominateur des infections déclarées par le réseau de surveillance afin de pouvoir générer des données d'incidence.

FlashMIC

Afin de répondre à nos engagements, nous avons mis en place une enquête ponctuelle (étude FlashMIC) pour la surveillance de la sensibilité aux antifongiques systémiques des espèces les plus fréquentes. En effet, le réseau SINFONI mis en place depuis le 1^{er} janvier 2023 permet de centraliser les isolats et de déterminer les profils de CMI en technique standardisée EUCAST des espèces rares et, des espèces fréquentes quand celle-ci présentent un profil de sensibilité inhabituel dans les laboratoires. Or ces laboratoires utilisent des techniques commerciales, ciblant un nombre restreint d'antifongiques. L'objectif de cette étude ponctuelle est donc d'évaluer, par la méthode standardisée EUCAST, la sensibilité aux antifongiques de tous les isolats responsables d'IFIs, des espèces les plus fréquentes (*C. albicans*, *N. glabratus*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *P. kudriavzevii* et *A. fumigatus*) isolées dans les centres du réseau SINFONI, sur une période d'un mois (1^{er} au 31 mars 2025).

Les objectifs de cette étude sont les suivants : i) Suivre l'évolution des profils de sensibilité à un large spectre d'antifongiques, incluant l'olorofim, un nouvel agent antifongique issu du pipeline de développement, et détecter l'émergence éventuelle de résistances à certains antifongiques au niveau national ; ii) Générer des données de génotypage afin d'explorer la diversité génétique des espèces fréquentes responsables de mycoses invasives en France et les comparer aux données internationales ; iii) Comparer les valeurs de CMI obtenues par la méthode EUCAST à celles issues des techniques de routine utilisées dans les centres du réseau SINFONI.

Surveillance de la résistance d'*Aspergillus fumigatus*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* aux azolés

L'émergence de la résistance aux azolés pour les isolats d'*A.fumigatus*, *C. parapsilosis* et *N. glabratus* chez les patients n'ayant pas été pré-exposés aux antifongiques est un problème de santé globale mondiale. Le calcul détaillé de l'incidence des isolats cliniques résistants aux azolés est impossible à estimer en temps réel avec des techniques standardisées, en effet les centres participant à la surveillance nationale SINFONI n'envoient pas systématiquement leurs isolats résistants. La proportion des isolats résistants ne peut donc se faire précisément que de façon rétrospective. Nous souhaitons récupérer de façon exhaustive les isolats identifiés comme résistants en 2023 et 2024 afin de définir leur profil de sensibilité aux antifongiques et les mutations éventuellement liées à cette résistance.

Evaluation de la sensibilité aux nouveaux antifongiques

Nous allons également mettre en place l'étude de la sensibilité aux nouveaux antifongiques en particulier la rezafungin, le fosmanogepix et implémenter en routine l'étude de la sensibilité à l'olorofim de certaines espèces.

Utilisation des données WGS en routine

Au cours de l'année 2024, nous avons augmenté la quantité de souches pour lesquelles nous avons séquencé le génome complet du fait notamment de l'augmentation des isolats de *Candidozyma auris* responsable de colonisation et d'infections. Pour cette espèce la détermination du clade et la comparaison des SNPs à partir des données de génome entier est nécessaire pour identifier les cas de transmission ainsi que pour la surveillance épidémiologique. Nous avons également dû séquencer de nombreux isolats de l'espèce *Wickerhamomyces anomalus* impliqués dans des cas groupés d'infections, cette espèce étant peu étudiée nous avons dû effectuer une comparaison des données de génome sur les isolats cliniques impliqués dans les infections en cours mais également les isolats conservés au CNRMA depuis 2002 afin d'étudier la diversité génétique de l'espèce et le lien génétique potentiel entre les isolats.

Avec l'arrivée en novembre 2024, d'un bioinformaticien du Hub de l'Institut Pasteur; travaillant à 30% pour le CNRMA-IFI, nous souhaitons améliorer nos capacités d'analyse des données de génome entier afin de (i) mettre en place des pipelines d'analyse pour le génotypage des souches d'espèces fréquentes afin de connaître la diversité génétique de ces espèces dans les IFD sur le territoire français et de pouvoir répondre rapidement à la demande de certains hôpitaux concernant des possibles cas groupés ou contamination de matériel médical notamment à *C. parapsilosis*; (ii) étudier la phylogénie de certaines espèces rares et décrire des espèces émergentes (*Histoplasma capsulatum*, *Nannizziopsis obscura*, *Trichosporon* sp.); (iii) rechercher les mutations dans les gènes impliqués dans la résistance aux antifongiques (*A. fumigatus*, *C. parapsilosis*, *N. glabratus*) afin de pouvoir améliorer les connaissances sur les mécanismes de résistance. L'utilisation des données de génome entier pour l'étude des cas groupés, des espèces émergentes et des résistances aux antifongiques est devenue indispensable pour les infections fongiques invasives, l'augmentation récente des cas de colonisation et infections à *C. auris* nous avons aussi forcé à augmenter significativement le nombre d'isolats à séquencer.

Nous avons défini comme autres projets prospectifs :

- des projets prospectifs nationaux sur les mucormycoses et les histoplasmoses
- les candidémies à point de départ du cathéter en analysant les délais de pousse et différentiel de pousse (KT-périph)

Un travail sur l'analyse des données thérapeutiques à partir des données de la surveillance sera mis en place.

Nous réaliserons des réunions de travail régulières avec les vétérinaires pour la surveillance des zoonoses fongiques possibles ainsi qu'avec les médecins d'hygiène hospitalière pour le suivi et l'analyse des infections

Nous poursuivrons la collaboration sur les *Mucorales* présents dans l'environnement ainsi que leur résistance aux antifongiques

8.B Programme d'activité pour les années suivantes des laboratoires associés Aspergilloses chroniques

Pour le LA-AspC :

- Étude clinico-biologique :
 - o Mise en place d'une étude sur les co-infections *Aspergillus* / mycobactéries
- Études de sérologie :
 - o Évaluation de kits sérologiques : Comparaison de différents kits ELISA versus Western blot et immunodiffusion
 - o Analyse des résultats du PHRC CPAAARI : valeur diagnostique et pronostique de la sérologie dans les APC (PI C. Godet/Tenon – PI sérologie JP. Gangneux/Rennes)
 - o Enquête internationale sur la sérologie aspergillaire : techniques et interprétation
 - o Enquête nationale sur la sérologie aspergillaire : étude des pratiques à l'occasion de la Journée SFMM
- Études de biologie moléculaire :
 - o Analyse des résultats de WGS, et séquençage de nouvelles souches
 - o Comparaison génotypique et phénotypique d'isolats d'APC, d'AI et d'ABPA
- Étude sur la sensibilité aux ATF :
 - o Poursuite de la datathèque des marqueurs de résistance aux azolés notamment sur le gène *cyp51a* en continuant d'agréger les données notamment pour les *Aspergillus* non *fumigatus* / non *Fumigati*
- Étude sur l'exposition environnementale :
 - o Enquête européenne sur la surveillance environnementale fongique hospitalière pour la prévention des infections fongiques nosocomiales

- Enquête européenne sur le niveau d'humidité et de contamination fongique des domiciles : « How damp is my home ? »

8.C Programme d'activité pour les années suivantes du laboratoire associé INUSUALE

Finalisation d'un site internet dédié aux activités d'INuSuAle permettant notamment

- De formaliser tout en les simplifiant les procédures d'envoi des isolats adressés pour expertise par spectrométrie de masse
- D'informer sur les alertes en cours et le suivi des pathogènes émergents
- De diffuser l'avancée des études collaboratives en cours

Des tutoriels supplémentaires diffusant des conseils techniques pour les différentes étapes clés de la réalisation d'une analyse par spectrométrie de masse seront réalisés et mis en ligne ; l'objectif étant d'optimiser les scores d'identification pour les centres qui ont actuellement un pourcentage d'identification et/ou un score moyen d'identification inférieur à la moyenne observée, y compris pour les espèces banales.

Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

L'activité d'expertise comprend l'identification phénotypique et génotypique des isolats de champignons filamenteux et de levures, avec détermination de leur sensibilité à tous les antifongiques systémiques utilisables, détection reproductible des isolats de moindre sensibilité ou résistants et recherche de mutations dans les gènes avec mise en collection de tous les isolats. Le génotypage de certaines levures fait appel à plusieurs méthodes suivant les espèces (MLST et marqueurs microsatellites essentiellement) réalisé en fonction des questions posées (investigations épidémiologiques, caractérisation d'isolats résistants).

L'activité de conseil pour la prise en charge diagnostique et/ou thérapeutique de patients suspects ou atteints de mycoses invasives est importante et croît régulièrement avec des sollicitations quotidiennes. Tout clinicien ou microbiologiste/mycologue peut solliciter l'expertise du CNRMA.

En ce qui concerne l'activité de surveillance, la diversité des genres et espèces fongiques en cause et la complexité des pathologies engendrées et des populations à risque compliquent le recueil des données. Nous continuons la surveillance passive de toutes les mycoses invasives, ainsi que la surveillance active via un nouveau réseau SINFONI mis en place au 1er janvier 2023 dont l'objectif est l'exhaustivité de déclarations aussi bien des pathogènes fongiques rares que fréquents. Nous avons ajouté un questionnaire pour la surveillance des infections et colonisations à *Candida auris*, disponible depuis septembre 2023. Ces surveillances sont microbiologiques et épidémiologiques.

CNR INuSuAle :

Nos activités d'identification des agents fongiques et de surveillance épidémiologique sont intimement liées, et ce par l'existence d'un outil unique : l'application MSI-2 d'identification des agents fongiques par spectrométrie de masse MALDI-ToF, accessible en ligne au plus grand nombre.

La surveillance épidémiologique que nous mettons en place permet d'obtenir des informations sur la circulation des espèces qui présentent naturellement des sensibilités diminuées aux antifongiques, telles que les espèces cryptiques d'*Aspergillus*, les champignons du genre *Fusarium spp.* ou encore les moisissures de l'ordre des Mucorales. La surveillance inclut également des espèces à potentiel épidémique tel que *Candidozyma auris* ou *Trichosporon austroamericanum*.

Dans le cadre d'une contribution aux réseaux de surveillance européens et internationaux et de réalisation de projets d'enquêtes concourant à la surveillance, l'application MSI-2, par sa capacité à identifier sur une aire géographique extrêmement vaste toute sorte de champignons filamenteux et de levures, y compris les espèces rares, peut aider à la constitution de séries et à la mise en relation de centres souhaitant travailler sur un pathogène commun.

L'application MSI-2 est désormais capable de générer des signalements automatiques lorsque le spectre d'une espèce donnée est soumis à l'application.

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

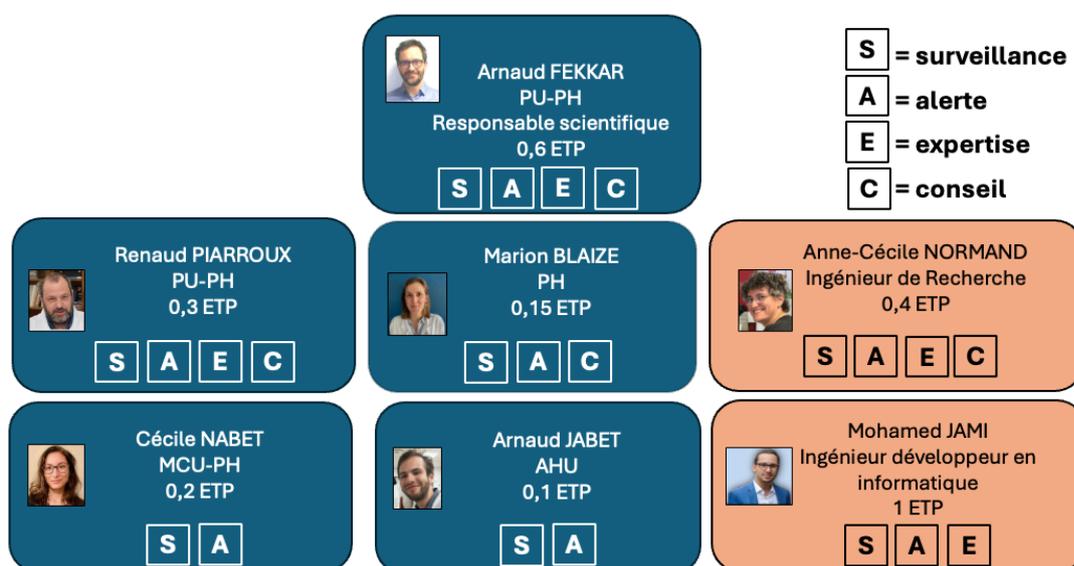
En 2024, le CNRMA était rattaché directement au Département de Mycologie de l'Institut Pasteur, comprend un groupe de recherche intitulé Mycologie Translationnelle, et avait 3 laboratoires associés, l'organigramme du CNRMA-IFI et le détail des personnels sont présentés dans le chapitre 1.

Les équipes des LA-AspC restent inchangées par rapport à l'année précédente (Tableau 19 : Composition et implication du personnel dans le LA des Aspergilloses Chroniques)

Nom Prénom	Qualification (ETP)	Appartenance administrative
LA-AspC-Sud		
DELHAES Laurence	PU-PH (0,10)	Université & CHU de Bordeaux
IMBERT Sébastien	MCU-PH (0,10)	Université & CHU de Bordeaux
Biologistes du service	AHU, MCU-PH ou PH (0,05)	Université & CHU de Bordeaux
RODRIGUEZ Marion	Ingénieure de recherche (1,00)	LA-AspC-Sud, CHU de Bordeaux
LA-AspC-Nord		
GANGNEUX Jean-Pierre	PU-PH (0,10)	Université & CHU de Rennes
GUEGAN Hélène	MCU-PH (0,05)	Université & CHU de Rennes
Biologistes du service	AHU, MCU-PH ou PH (0,10)	Université & CHU de Rennes
POMMERON Clémence	Technicienne de laboratoire (1,00)	CHU de Rennes
BRAULT Géraldine	Technicienne de laboratoire qualicienne (0,2))	CHU de Rennes

CNRMA LA INuSuAle

Responsable scientifique : Pr Arnaud Fekkar, PU-PH



Équipe

- Biologistes mycologues

- Pr Arnaud Fekkar, PU-PH (Sorbonne Université – APHP – CIMI-Paris [Sorbonne Université UMRS CR7, INSERM U1135, CNRS ERL8255]).

Responsable scientifique, animateur du réseau, participe à la surveillance épidémiologique (environ 60% de son activité hospitalière). Développement de projets, étude de cohorte, analyse des indicateurs de surveillance en fonction des espèces ciblées.

- Dr Marion Blaize, PH (Sorbonne Université – APHP – CIMI-Paris [Sorbonne Université UMRS CR7, INSERM U1135, CNRS ERL8255]), (environ 15% de son activité hospitalière). Participe à la surveillance épidémiologique, interlocutrice avec les mycologues, mise en place et analyse hebdomadaire des indicateurs de surveillance.

- Dr Cécile Nabet, MCU-PH (Sorbonne Université – APHP - UMRS 1136 IPLESP), (environ 30% de son activité hospitalière). Participe à la surveillance épidémiologique, interlocutrice avec les mycologues, mise en place et analyse hebdomadaire des indicateurs de surveillance.

- Dr Arnaud Jabet, AHU (Sorbonne Université – APHP - UMRS 1136 IPLESP), (environ 10% de son activité hospitalière). Participe à la surveillance épidémiologique, mise en place et analyse hebdomadaire des indicateurs de surveillance.

- Biologiste et épidémiologiste

- Pr Renaud Piarroux, PU-PH (Sorbonne Université – APHP - UMRS 1136 IPLESP), chef du service de Parasitologie-Mycologie. Conception des algorithmes, supervision du développement de l'application et des travaux en IA, extraction et analyse des données issues de l'application (environ 30% de son activité hospitalière)

- Ingénieure de recherche

Dr Anne-Cécile Normand (ingénieure APHP temps plein), assure la maintenance de la base de données MSI-2, la supervision des manipulations de spectrométrie de masse, la préparation des manipulations (environ 40% de son activité)

- Ingénieur développeur en informatique

Mohamed Jami (ingénieur APHP temps plein), développeur en informatique pour faire l'interface, écrire les scripts nécessaires à la récupération des données épidémiologiques. Amélioration des performances de la base. Veille et mise à jour des évolutions taxonomiques. Analyse des données issues de l'application. Développement de programmes pour le tri des spectres de masse en fonction de leur catégorie. Développement de signalements et d'alerte automatiques et de leur suivi.

1.3 Locaux et équipements

CNRMA-IFI :

Des locaux, ont été attribués au **CNRMA-IFI** dans le bâtiment Duclaux (rez-de-chaussée haut, aile Fourneau) au 28 rue du Dr. Roux. Ils comprennent pour l'année 2024 (Figure 30) :

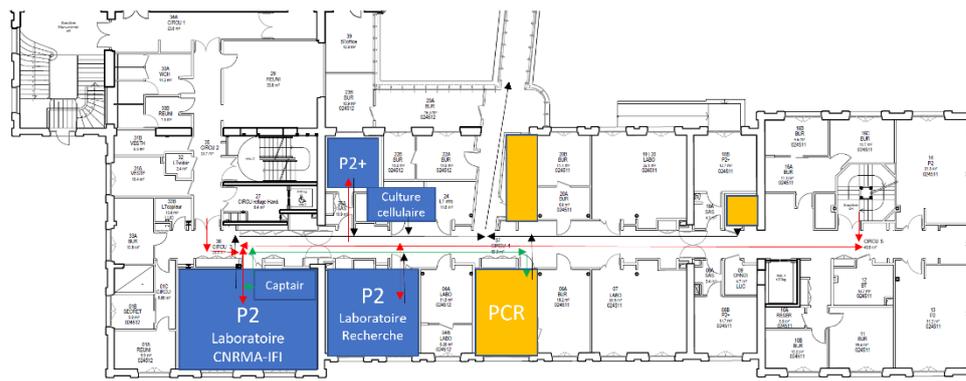
-Des locaux dédiés à l'activité du CNRMA-IFI : un laboratoire P2, 1 bureau séparé, 2 espaces de bureaux partagés, des placards fermés à clés pour les dossiers du CNR.

-Des locaux partagés avec le groupe de recherche Mycologie Translationnelle: un laboratoire P2 et un laboratoire P2+, 2 espaces de bureaux partagés, 1 bureau partagé pour le secrétariat avec la secrétaire du département Biologie Cellulaire et Infection.

-Des locaux partagés avec le CNR Listeria au même étage : pièce PCR, pièce d'incubateurs, pièce de pesée, ou dans le même bâtiment : chambre froide.

-Des locaux partagés avec d'autres unités : pièce de congélateurs à -80°C, pièce de containers à azote (03SS01, bâtiment Sergent), laboratoire P3, pièce MALDI-Tof.

-Des locaux partagés avec d'autres structures impliquées dans le diagnostic (CIBU, les CNR Bordetella et Corynébactéries) et respectant la « marche en avant », situés à l'étage inférieur du même bâtiment.



- Pièces CNRMA
- Pièces partagées avec UBI
- Circuit mix PCR
- Circulation produits biologiques
- Evacuation déchets

Figure 30 : Principaux locaux d'activité du CNRMA-IFI, localisés dans le bâtiment Duclaux, aile Fourneaux, rez-de-chaussée haut, au 28 rue du Docteur Roux, Institut Pasteur, Paris

Les équipements principaux propres et/ou partagés comprennent :

- PSM2 et incubateurs à CO₂, hottes chimiques
- Thermocycleurs (iCycler et C1000 de Bio-Rad et LCR480 de Roche)
- MagNAlyser
- Extracteur semi-automatique KingFisher
- QUBit (fluoromètre pour quantification d'ADN, ARN et protéines)
- Nanodrop 1000
- Caméras numériques, appareil photo Reflex
- Lecteur de plaques par spectrométrie (Tecan)
- Compteur de cellules (Luna)
- Microscopes : optiques, contraste interférentiel, inversé, à épifluorescence
- Loupe binoculaire
- Ordinateurs
- Containers d'azote
- Congélateurs à -20°C, à -80°C et réfrigérateurs
- Enceintes thermostatées et incubateurs agités et non agités
- Enceinte illuminée Memmert
- Bioscreen
- Cytométrie en flux (Guava)
- Ph mètre
- Zone de travail pour PCR
- Centrifugeuses

Certains appareils nécessitent un étalonnage et/ou une maintenance régulières obligatoires effectuées par des sociétés extérieures dans le cadre de l'accréditation COFRAC (pipettes, congélateurs, réfrigérateurs, appareils de PCR, extracteur).

Certains appareils sont mutualisés avec l'unité de Biologie des Infections / CNR Listeria (Multitron Pro – INFORS, G:Box Syngène).

Les logiciels suivants sont utilisés sous licences propres pour :

- l'édition, l'analyse des séquences, la construction des arbres :Sequencher, Geneious Prime, Bionumerics
- La gestion des bases de données microbiologiques, le monitoring des données cliniques: BioloMICS (BioAware®), Lagon et VOOZANOO® (EpiConcept)
- l'analyse statistiques des données épidémiologiques: Stata®
- l'analyse des données, la rédaction des articles, des rapports, des présentations, compte-rendu: GraphPrism,

Adobe Acrobat, BioRender, ACDsee, EndNote

Des logiciels en accès libre sont également utilisés pour :

- l'analyse des séquences, la construction d'arbres : Galaxy, MEGA, IQTREE, Archeopteryx, iTol
- l'analyse des données de microsatellites : PeakScanner
- le monitoring des données de surveillance du réseau SINFONI: RedCap
- l'analyse statistiques des données épidémiologiques: R

Par ailleurs, le CNRMA utilise un laboratoire de type P2+ dès lors qu'un isolat est annoncé comme ou suspect d'être un pathogène de classe 3. Le séquençage de routine est assuré par le prestataire Eurofins Genomics à Cologne. Le CNRMA bénéficie des "services" disponibles sur le campus de l'Institut Pasteur au sein de la Coordination des Centres Nationaux de Référence (CCR), des animaleries A2 et A3, la plateforme milieu de l'Institut Pasteur (préparation des tampons et milieux), la plateforme « matériels » et la plateforme de microbiologie mutualisée (P2M) pour le séquençage génome entier. Un spectromètre de masse Sirius de chez Bruker pour le MALDI-TOF est également disponible. En cas d'urgence, le séquençage est assuré par le pôle de génotypage des pathogènes (PGP) de la CIBU (ABIPrism 3600).

Laboratoires associés Aspergillose chroniques :

Les surfaces de travail mises à disposition du LA-AspC dans chacun des 2 CHU sont de trois ordres : des surfaces dédiées au CNR, des surfaces mutualisées entre la mycologie de routine et le CNR et des surfaces mutualisées entre la microbiologie et le CNR (Figures 31 et 32). Elles sont inchangées par rapport à l'année d'exercice précédente.

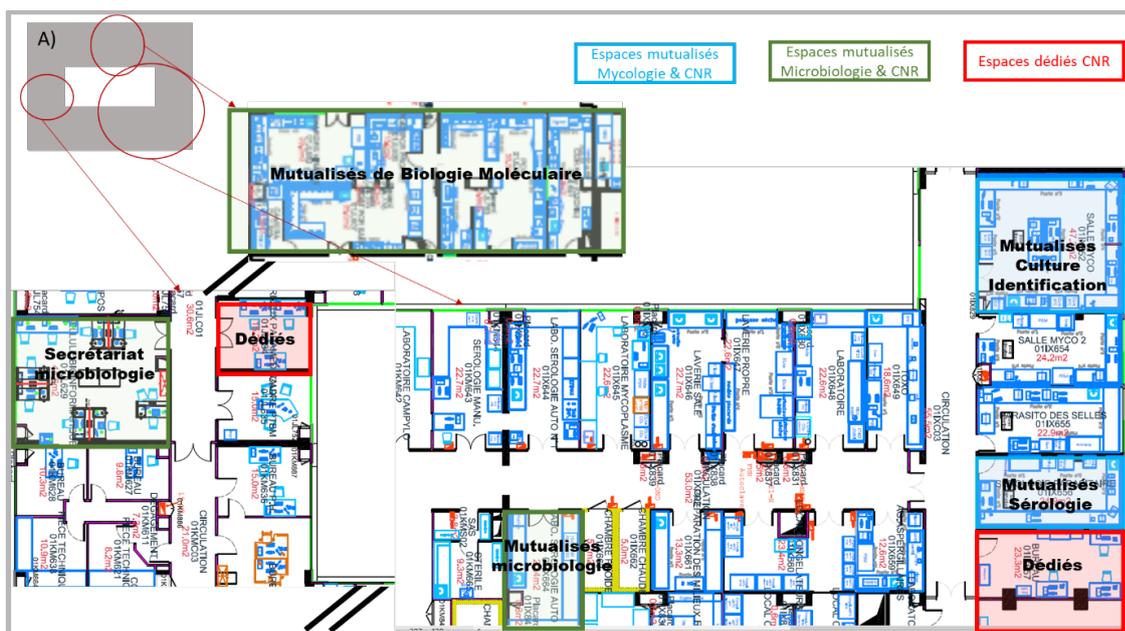


Figure 31 : présentation des locaux du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Bordeaux

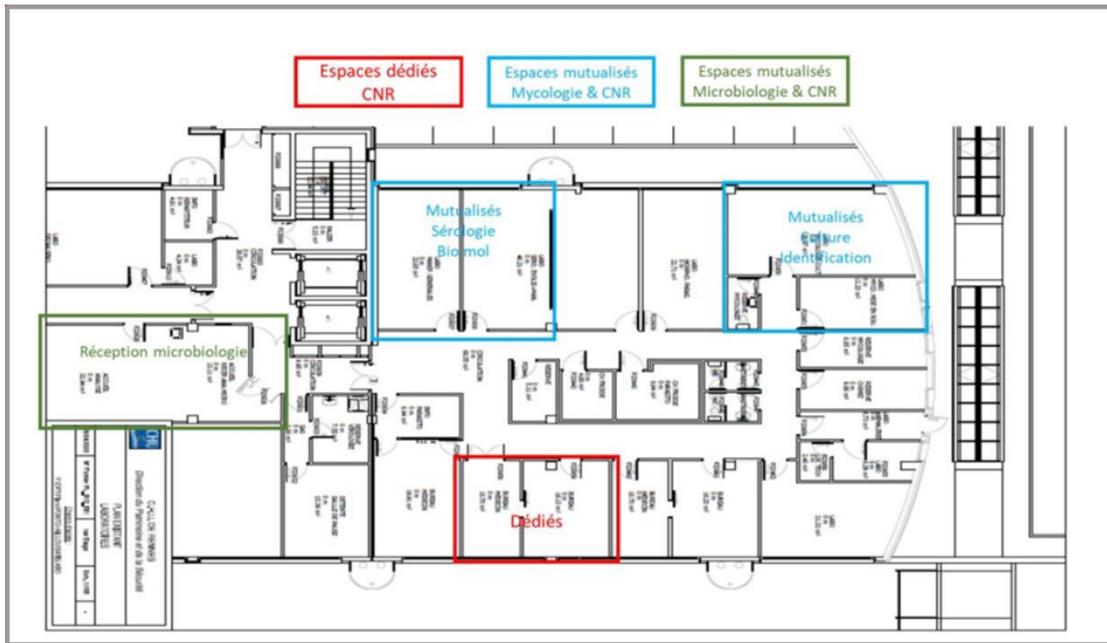
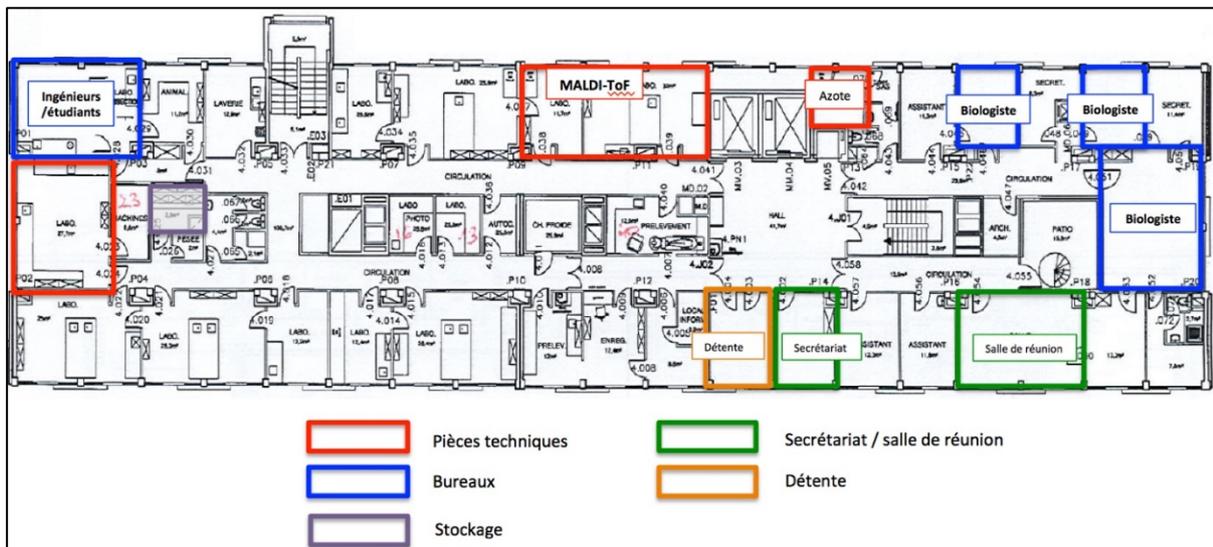


Figure 32 : Présentation des locaux du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Rennes

CNRMA LA INuSuAle

Localisation : service de Parasitologie-Mycologie, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Pavillon Laveran 4^{ème} étage



Pièces techniques et bureaux

Spectromètre de masse MALDI-TOF Bruker

Matériel informatique et logiciels (6 postes), disque de sauvegarde, connexions internet sécurisées

1.4 Collections de matériel biologique

=> Renseigner pour l'année 2024 l'annexe 4

1.5 Démarche qualité du laboratoire

Pour le CNRMA-IFI : Le CNRMA fait partie des Centres Nationaux de Référence placés sous la responsabilité de l'Institut Pasteur qui sont au nombre de 15. Ils sont organisés en multisite et constituent, avec la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU), le Laboratoire de Référence et d'Expertise Multisite (LREMS). Le LREMS est sous démarche d'accréditation.

Cette accréditation répond à l'ordonnance du 13 janvier 2010 et à la loi du 30 mai 2013 relative aux activités de biologie médicale.

Le projet d'accréditation ISO 15189 de l'Institut Pasteur est une démarche dynamique pilotée par :

- la Direction de la Responsabilité Sociétale et Environnementale et des Ressources Techniques et son Service Qualité, qui apportent ses ressources et son expertise dans l'accompagnement du projet d'accréditation ISO 15189 du LREMS (certifié ISO 9001 v 2015)
- la Direction Médicale ;
- la Coordination des Centres Nationaux de Référence de l'Institut Pasteur.

Les services supports de l'Institut Pasteur participent également à la démarche d'accréditation du LREMS en apportant les ressources nécessaires au bon déroulement des activités. Les services supports critiques sont régulièrement audités dans le cadre de leurs activités en interne mais également par les organismes de certification et d'accréditation. Le LREMS est accrédité selon la norme ISO 15189 version 2012 sous le n° 8-2588, Examens Médicaux. L'annexe d'accréditation ainsi que les sites et la portée sont disponibles sur le site du COFRAC www.cofrac.fr.

L'ensemble des CNR/CIBU participent annuellement à des contrôles externes de la qualité. Ceux-ci n'étant pas des programmes pérennes, lorsque ces CQE sont suspendus ou ne sont pas organisés annuellement, les CNR organisent/participent à des essais inter laboratoires avec des laboratoires homologues ou confrères européens ou mondiaux. Dans le cas où cette organisation annuelle est impossible, le CNR organise en interne des exercices à l'aveugle afin de maintenir les compétences du personnel et du laboratoire ou une revue poussée des contrôles qualité interne comme peut l'indiquer la procédure générale de gestion des contrôles externes et internes des CNR de l'Institut Pasteur.

L'année qualité 2024 du CNR s'est organisée comme suit

Etapes clés LRE-MS	Périodes de réalisation
Revue qualité	04/03/2024
Revue de direction LREMS	24 juin 2024
Audits internes qualité et technique	06/09/2024 et 20/12/2024
Audit de surveillance COFRAC	Pas d'évaluation en 2024

Lors de l'évaluation COFRAC de novembre 2023, les évaluateurs ont accordé leur confiance au LREMS qui a démontré lors de son évaluation une réponse aux exigences qualité et techniques de la norme ISO 15189 v 2012.

Perspectives 2025 :

Depuis 2024, le LREMS effectue sa transition vers la version 2022 de la norme ISO 15189. Un plan de transition a été établi par le service Qualité et il a été déployé tout au long de l'année 2024 et début d'année 2025 au sein des CNR.

Etapes clés	Prévision de réalisation
Revue qualité LRE	Janvier-avril 2025

Audits internes qualité et technique	Juin - décembre 2025
Revue de direction LRE-MS	à planifier
Audit de renouvellement, de transition et d'extension COFRAC	du 14 au 18 avril 2025 sur les sites de Paris et Lyon

Pour le LA AspC-Sud : les activités de mycologie : Examen direct, ensemencement, culture et identification des levures et champignons filamenteux (en dehors des dermatophytes) avec identification phénotypique (macro- & microscopique) et identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Bruker) sont accréditées COFRAC (<https://tools.cofrac.fr/annexes/sect8/8-3455.pdf>) (Tableau 20).

Les sérologies incluant la sérologie aspergillaire ont été accréditées par extension des dosages de Galactomannane faisant l'objet d'un suivi sur l'audit de décembre 2022. Un dossier de validation de méthode est en cours de réalisation pour la technique du Western Blot aspergillaire qui sera ajoutée au COFRAC pour 2025.

Notre laboratoire a également été audité en interne en décembre 2024 pour l'identification fongique moléculaire par séquençage Sanger, et la demande d'accréditation est en cours.

La grande majorité de nos analyses bénéficie d'un programme de CQI et EEQ (Tableau 21)

Tableau 20 : Liste des lignes de portées auditées et accréditées du LA-AspC-Sud par le COFRAC en 2023

Examen mycologique direct	Sang et dérivés	Examen direct après coloration (imprégnation argentique selon Musto)
	Liquides biologiques	
	Biopsies et tissus	
Examen mycologique direct	Biopsies et tissus	Examen direct après coloration MGG
	Liquides biologiques	
	Sang et dérivés	
Examen mycologique sur flacon d'hémoculture	Liquides biologiques	Détection colorimétrique de croissance
	Sang et dérivés	
Recherche de Pneumocystis jirovecii	Prélèvements respiratoires	PCR en temps réel
Recherche et identification de champignons filamenteux (hors dermatophytes)	Biopsies et tissus	Mise en culture manuel, examen morphologique macro- et microscopique des cultures, identification des champignons filamenteux par spectrométrie de masse
	Sang et dérivés	
	Liquides biologiques	
Recherche et identification des levures	Biopsies et Tissus	Mise en culture manuelle, examen direct après culture, identification des levures par spectrométrie de masse

Tableau 21 : Liste des analyse et techniques du LA-AspC bénéficiant d'un programme de CQI et/ou EEQ

Analyses et Techniques	CIL / EEQ
ED, coloration, cultures et identification MALDI-TOF	Bordeaux : Kalidiv, CTCB Rennes : Biologie prospective
Antifongigramme	Bordeaux : Aglae Rennes : Aglae
PCR <i>Aspergillus</i> et <i>A. fumigatus</i>	Bordeaux : QCMD Rennes : QCMD
Galactomannane (dosage dans le surnageant des prélèvements respiratoires)	Bordeaux : Probioqual Rennes : Probioqual
Sérologie aspergillaire : Screening en ELISA (BioRad)	Bordeaux : Probioqual Rennes : Probioqual
Sérologie aspergillaire : Confirmation en Western Blot (WB, LDBio / immunoelectrophorèse)	Bordeaux : Probioqual Rennes : Probioqual
Séquençage fongique	Bordeaux CIQ Rennes : CIL

Le CNR INuSUAle est situé dans le périmètre du service de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris. Ce service est accrédité pour toutes les familles d'analyses ayant trait aux actes de mycologie médicale. Des visites du COFRAC sont régulièrement effectuées ; une visite s'est tenue du 18 au 21 novembre 2024 ; les évaluateurs n'ont relevé aucun écart par rapport à la norme ISO 15189 dans le cadre de l'accréditation du Pôle de biologie du CHU La Pitié-Salpêtrière (supervision : Dr Feriel Touafek, responsable assurance qualité dans le service). Ainsi, en 2024, le laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'hôpital de La Pitié-Salpêtrière a été confirmé dans son accréditation pour les méthodes reconnues, adaptées ou développées (portée B) pour la recherche et l'identification d'agents fongiques en microscopie optique, culture, spectrométrie de masse et biologie moléculaire. N° accréditation COFRAC : 8-3253, portée flexible. Date de validité du 01/05/2023 au 31/03/2028 : liste des sites et portées disponibles sur le site du Cofrac - <https://www.cofrac.fr>.

Annexe 2.A : Capacités techniques du CNRMA

2.1 Liste des techniques de référence

Techniques pour le diagnostic, l'identification et l'évaluation de la sensibilité aux antifongiques

*Identification phénotypique complète des levures et des champignons filamenteux avec profils protéiques par spectrométrie de masse, croissance sur milieux spéciaux, réalisation de cultures "3 points", de cultures sur lames, détermination des vitesses et des températures maximales de croissance.

* Détermination de la sensibilité aux antifongiques par une technique en milieu liquide standardisée par le comité européen (EUCAST). Les antifongiques testés sont le fluconazole (Triflucan®), l'itraconazole (Sporanox®), la 5-fluorocytosine (Ancotil®), l'amphotéricine B (Fungizone®), le voriconazole (V-fend®), le posaconazole (Noxafil®), l'isavuconazole (Cresemba®), la terbinafine (Lamisil®), la caspofungine (Cancidas®), et la micafungine (Mycamine®). A noter que le protocole standardisé est modifié pour la caspofungine pour les levures.

* Identification des isolats d'espèces communes de champignons par MALDI-TOF (Sirius Bruker)

* Extraction et dosage d'ADN pour les levures et les champignons filamenteux selon des protocoles optimisés.

* Séquençage nucléotidique des régions ITS et de la région variable de la grande sous-unité 28S de l'ADN ribosomique pour l'identification moléculaire de tous les champignons, hors espèces fréquentes de levures identifiées par MALDI-ToF, et, pour certaines espèces, séquençage d'autres loci (voir plus loin).

* Identification de *Candida dubliniensis* par PCR duplex en utilisant les amorces spécifiques d'une partie du gène de l'actine et les amorces universelles ITS1/ITS4 (technique accréditée COFRAC selon la norme 15189). * Génotypage

par marqueurs microsatellites, ou MLST ou séquençage génome entier pour les espèces *Nakaseomyces glabratus* *, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. auris*, *M. capitatus*, *C. neoformans/C. gattii* et *A. fumigatus* : * Pour *Nakaseomyces glabratus*, 6 loci MLST (FKS1, LEU2, NMT1, TRP1, UGP1, URA3)
 * Pour *C. parapsilosis*, 4 séquences microsatellites (CP1, CP4, CP6, B5)
 * Pour *Aspergillus fumigatus*, 4 séquences microsatellites A, B, C et D
 * Pour *C. auris*, séquençage génome entier et comparaison de SNPs
 * Pour *C. tropicalis*, 6 loci MLST (MDR1, XYR1, SAPT4, SAPT2, ZWF1a, ICL1)
 * Pour *Cr. neoformans*, sérotypage par PCR spécifiques (Pak1 et Gpa1)) et typage par la technique MLST (7 loci : CAP59, URA5, LAC1, IGS1, GPD1, PLB1 et SOD1)
 * Pour *C. krusei*, 6 loci MLST (ADE2, LYS2, HIS3, LEU2, TRP1 et MPD1)
 * Pour *Cr.gattii*, 7 loci MLST (IGS1, CAP59, URA5, PLB1, GPD1, SOD1, LAC1)
 * PCR diagnostique histoplasmosse, coccidioidomycose, mucormycose, pneumocystose, fusariose, *C.auris*, *Cryptococcus* (site hôpital Saint-Louis du CNRMA)
 * Détection des mutations dans le gène Cyp51A pour les isolats d'*A. fumigatus* résistants aux antifongiques azolés
 * Détection des mutations dans le gène CYP51B pour les isolats d'*A. fumigatus* résistants aux antifongiques azolés
 * Détection des mutations dans les gènes FKS pour les isolats d'*A.fumigatus* ayant un profil élevé à la *casprofungine*
 * Détection des mutations dans le gène ERG11 pour les isolats de *C. parapsilosis* résistant au fluconazole * Détection des mutations dans les gènes FKS pour les isolats de *C. albicans*, *Nakaseomyces glabratus*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. kefyri* ayant des profils de sensibilité anormaux pour les échinocandines.

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Nous nous sommes attachés depuis plusieurs années à améliorer l'identification phénotypique des champignons (ajout de nouveaux milieux, amélioration des images numériques, développement des cultures sur lame). Cette étape phénotypique est primordiale pour éviter les erreurs d'attribution de séquences déposées dans les banques publiques (on estime à au moins 20% les erreurs d'identification dans GenBank, et probablement plus pour les germes rares comme les champignons filamenteux). De plus, en raison des ambiguïtés non levées par les séquences ITS et 28S de l'ADNr généralement utilisées en taxonomie, nous avons multiplié, selon les genres étudiés, les gènes cibles et les amorces pour une identification moléculaire polygénique. Le Tableau 22 récapitule les principales cibles utilisées et les références correspondantes, sachant que certains genres nécessitent une analyse multigénique. Il faut aussi savoir que les changements taxonomiques rendent parfois difficiles les identifications. Il peut être utile pour suivre ces changements de se référer par exemple au site Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>). La base de données est consultable gratuitement en ligne et fournit la liste des espèces dans chaque genre, avec pour chacune d'elle le taxon correct, la citation d'auteur, la date et le support de publication, voire une image de celui-ci, ainsi qu'un rappel de la position de l'espèce dans la classification traditionnelle.

Tableau 22 : Principales cibles et amorces utilisées pour l'identification de certains groupes fongiques

Espèce	Gène	Amorces
Complexe d'espèces <i>A. fumigatus</i>	β -tubuline	Bt2a/ Bt2b ⁸
Espèces d' <i>Aspergillus</i> autres que section <i>Fumigati</i>	β -tubuline	Bt2a/ Bt2b
	Calmoduline	CL1/CL2a ⁹ Cmd5/cmd6
Complexe d'espèces <i>Fusarium spp</i>	Factor d'élongation (TEF1- α)	EF1 / EF2 ¹⁰
	RNA polymérase II (RPB2)	5F2/ 7CR ¹¹

⁸ Glass NL et al (1995) Development of primer sets designed for use with the PCR to amplified conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl Environ Microbiol*.61:1323–1330..

⁹ O'Donnell K et al (2000) A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience* 41, 61–78

¹⁰ O'Donnell K. et al (2007) Phylogenetic diversity and microsphere array-based genotyping of human pathogenic *Fusaria*, including isolates from the multistate contact lens-associated U.S. keratitis outbreaks of 2005 and 2006. *J Clin Microbiol* 45:2235-48.

¹¹ O'Donnell K, Cigelnik E (1997) Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Mol Phylogenet Evol* 7:103-16.

<i>Scedosporium</i> spp.	β -tubuline	TUB-F/ TUB-R ¹²
<i>Phaeoacremonium</i> spp	β -tubuline	T1 /Bt2b ¹³
<i>Sporothrix</i> spp.	Calmoduline	CL1/CL2a
<i>Trichoderma</i> spp.	Factor d'élongation (TEF1- α)	EF1 / EF2
Coelomycètes	β -tubuline	TUB2-F / TUB4-R ¹⁴
<i>Trichosporon</i> spp.	IGS1 / ADNr	26SF/5SR
<i>Debaryomyces</i> spp.	actine	CA21/CA15R Error! Bookmark not defined.
<i>Clavispora lusitanae</i>	actine	CA16mod/CA5 ¹⁵
<i>Arthrographis</i> spp.	actine	Act1/Act4R
Complexe <i>M. guilliermondii</i>	RPBI	McRPBF/McRPBR

Diagnostic des mycoses endémiques

La sérologie par électro-synérèse a définitivement été abandonnée par le CNRMA en raison de ses mauvaises performances en particulier chez le patient VIH. Il s'agissait d'une technique "maison" utilisant des réactifs (antigènes et sérums de référence) commercialisés qui sont de qualité inconstante, obligeant à des mises au point répétées lors des changements de lot. Par ailleurs, la reproductibilité des résultats, indépendamment de ces problèmes de réactifs, est très mauvaise. La contribution de la sérologie au diagnostic des mycoses exotiques est très faible. Ainsi, sur les 3500 sérologies enregistrées dans la base de données du CNRMA en 9 ans, moins de 8% étaient positives, mais avec de grandes différences en fonction du contexte clinique (<4% de positivité de la sérologie histoplasmosse chez les patients VIH positif vs. 14% chez les sujets séronégatifs pour le VIH par exemple). C'est donc beaucoup plus le contexte épidémiologique et clinique ainsi que les examens mycologiques (examen direct, histologie, culture et détection du galactomannane) qui ont permis dans le passé d'établir le diagnostic.

La PCR quantitative pour le diagnostic des mycoses endémiques se fait sur échantillons frais ou fixés en routine au laboratoire expert site Saint-Louis. La technique permet la recherche sur le sang (tube EDTA), la moelle et tout autre liquide ou biopsie. Des lésions cutanées ou des ulcérations buccales peuvent être prélevées par écouvillonnage, les écouvillons secs ou dans un milieu de préservation peuvent être alors envoyés. Tout échantillon doit être envoyé à 4°C accompagné d'un mail à cnrma@pasteur.fr ou d'une fiche de demande d'expertise au site SLS du CNRMA (fiche sur le site web du CNRMA-IFI) :

Pr. Alexandre Alanio
Laboratoire de Parasitologie- Mycologie
Plot B, 1er étage
Hôpital Saint-Louis
1 avenue Claude Vellefaux
75475 Paris Cedex 10

Détermination de la sensibilité aux antifongiques des isolats de champignons pathogènes

La réalisation et l'interprétation des techniques disponibles ne sont pas évidentes. En effet, les techniques standardisées en Europe (EUCAST) ou aux Etats-Unis (CLSI) ne sont pas commercialisées et sont de réalisation difficile en routine. Le CNRMA ne peut donc qu'encourager les centres à utiliser des techniques standardisées et validées, telles les bandelettes E-test. Cependant, la réalisation pratique demande une certaine habitude (en particulier dans la préparation de l'inoculum, et pour les champignons filamenteux) et la lecture des résultats n'est pas toujours simple, rendant compte des différences de résultats en fonction du lecteur, voire du technicien. De plus, l'interprétation des résultats est difficile car les seuils de sensibilité et de résistance publiés ne s'appliquent qu'à certaines espèces et certains antifongiques et ne sont valables que pour des isolats testés avec l'une ou l'autre des techniques de référence (l'interprétation étant différente pour chacune de ces techniques).

¹² Cruse M, et al (2002) Cryptic species in *Stachybotrys chartarum*. *Mycologia* 94:814-22.

¹³ Mostert L, et al (2005) Species of *Phaeoacremonium* associated with infections in humans and environmental reservoirs in infected woody plants. *J Clin Microbiol* 43:1752-67.

¹⁴ Aveskamp MM, et al (2009) DNA phylogeny reveals polyphyly of *Phoma* section *Peyronellaea* and multiple taxonomic novelties. *Mycologia* 101:363-82.

¹⁵ Guzman et al (2013) Phylogenetic analysis of the angiosperm-floricolous insect-yeast association: Have yeast and angiosperm lineages co-diversified? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 68:161-175

La meilleure solution est toujours de bien identifier l'espèce, car les CMI des isolats sauvages d'une espèce donnée ont une distribution particulière à l'espèce. Il faut donc considérer qu'en l'absence de pression antifongique, les isolats d'une même espèce ont un profil sauvage.

Annexe 2.B : Capacités techniques des laboratoires associés Aspergilloses Chroniques

2.1 Liste des techniques de référence

Tableau 23 : Listes des techniques disponibles au sein du LA-AspC et état de leur accréditation à échéance de l'année 2023

Analyses et Techniques	Bordeaux / Accréditation	Rennes / Accréditation	Commentaires
ED, coloration et cultures	OUI / OUI	OUI	Activités quotidiennes
Identification par MALDI-ToF	OUI / OUI	OUI / En cours	Activités quotidiennes
Antifongigramme	OUI	OUI / En cours	Méthode Etest® en routine Méthode EUCAST pour l'expertise
PCR multiplexe ciblant <i>Aspergillus</i> et les mucorales	OUI (PCR multiplexe)	OUI (plusieurs PCR simples)	Activités trihebdomadaires
PCR ciblant <i>A. fumigatus</i>	OUI	OUI	Activités trihebdomadaires
Identification moléculaire par séquençage de gènes d'intérêt : ITS, beta-tubuline, calmoduline, elongation factor, 28S, Cyp51s...	OUI/ En cours	OUI	Au cas par cas
Galactomannane (dosage dans le surnageant des prélèvements respiratoires)	OUI / OUI	OUI	Intérêt à déterminer dans les APC
Sérologie aspergillaire : Screening en ELISA (BioRad)	OUI / OUI	OUI	Activités hebdomadaires Spécifique du genre
Sérologie aspergillaire : Confirmation en Western Blot (WB,LDBio)	OUI / OUI	NON	Spécifique d' <i>A. fumigatus</i>
Sérologie aspergillaire : Confirmation en Immuno-électrophorèse avec détection de l'activité catalasique (IEP)	NON	OUI	Méthode maison, non spécifique d' <i>A. fumigatus</i> donc permettant de couvrir non seulement les réponses sérologiques des APC et complémentaire de celles par WB
NGS	OUI	En cours	Activité réalisable au cas par cas

Tableau 24 : Liste des amorces sélectionnées pour le séquençage du promoteur et du gène *cyp51a*

section terrei	<i>Ter 1F</i>	<i>GGTTATATGTACCTCCCTCCT</i>	<i>LA-ASPc-Sud</i>
	<i>Cyp-AT-5</i>	<i>CGAGTTTGCCGACCTCTAC</i>	<i>Arendrup 2012</i>
	<i>Cyp-AT-7</i>	<i>CCAGAATGTCGTCAAGGAGA</i>	<i>Arendrup 2012</i>
	<i>Cyp-AT-4</i>	<i>ACGGCAGCATGAAGTTGAT</i>	<i>Arendrup 2012</i>
	<i>Cyp-AT-6</i>	<i>AGCGGGTCTTCACCTTG</i>	<i>Arendrup 2012</i>
	<i>Cyp-AT-8</i>	<i>GCCGTTCTTACGCCTTGT</i>	<i>Arendrup 2012</i>
section fumigati	<i>GAT10-F</i>	<i>TDGGCCTTAAGGAATCCRKT</i>	<i>LA-ASPc-Sud</i>
	<i>P-A7-F</i>	<i>TCATATGTTGCTCAGCGG</i>	<i>Mellado 2001</i>
	<i>P-A5-R</i>	<i>TCTCTGCACGCAAAGAAGAAC</i>	<i>Mellado 2001</i>

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le LA-AspC recommande les techniques suivantes :

- Examen direct et culture pour l'obtention d'Aspergillus : ED entre lame et lamelles ou après coloration par MGG ou Gomori-Grocott - deux cultures sur milieu Sabouraud incubées à 30+2°C et à 35+2°C) pendant 15 jours.
- Identification des cultures par analyse macroscopique et microscopique, associée à une identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF (en utilisant préférentiellement la base de données académiques MSI-2, Lab-INUSUAL).
- Séquençage moléculaire pour identification d'Aspergillus au rang d'espèce (b-tubuline et/ou calmoduline) ou pour caractériser le gène cyp51a porteur de mutations éventuellement associées à la résistance in vitro d'Aspergillus aux azolés.
- Détermination de la sensibilité d'Aspergillus aux antifongiques par la méthode de bandelette de gradient antifongique sur gélose (en routine) ou selon la méthode EUCAST (en expertise)
- Sérologie aspergillaire : dépistage des IgG par technique ELISA ; technique de confirmation des IgG par immunoelectrophorèse ou par western blot.

Annexe 2.C : Capacités techniques du laboratoire associé INUSUALE

2.1 Liste des techniques de référence

Analyses et Techniques	Niveau d'accréditation
Identification des pathogènes fongiques par spectrométrie de masse MALDI-ToF	Accrédité
Antifongigramme Etest/EUCAST	Accrédité
Identification moléculaire par séquençage de gènes d'intérêt : ITS, beta-tubuline, calmoduline, elongation factor	Accrédité
Identification d'agents fongiques en microscopie optique et culture	Accrédité
Recherche de mécanismes de résistance par séquençage de gènes d'intérêt : erg11, Cyp51a, FKS	Accrédité
Typage par analyse de microsatellites	Non accrédité

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le LA-INuSuAle recommande pour l'identification des agents fongiques par spectrométrie de masse MALDI-TOF les approches suivantes:

Pour les levures :

Privilégier une extraction complète (éthanol, acide formique, acétonitrile, matrice)

Une méthode d'extraction directe sur la plaque avec acide formique peut être envisagée.

Les dépôts sont faits en simplicate ou duplicate.

Pour les filamenteux et les dermatophytes :

Privilégiez une méthode d'extraction complète (éthanol, acide formique, acétonitrile, matrice) et un dépôt en duplicate ou quadriplicate

Les dépôts directs sans extraction sont à proscrire

