



Les mucormycoses

L. Carton, Matthieu Juste, Guillaume Desoubieux

► To cite this version:

L. Carton, Matthieu Juste, Guillaume Desoubieux. Les mucormycoses. Feuillet de biologie, 2014, 319, pp.15-26. hal-02630944

HAL Id: hal-02630944

<https://hal.inrae.fr/hal-02630944>

Submitted on 27 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Les mucormycoses

L. CARTON¹, M. JUSTE², G. DESOUBEAUX^{1,3}

RÉSUMÉ

Les mucormycoses sont des maladies fongiques dues à des champignons filamenteux de l'ordre des Mucorales (classe des Zygomycètes). Il s'agit de moisissures terrestres cosmopolites, caractérisées notamment par la production de spores par l'intermédiaire desquelles l'homme se contamine. L'incidence de ces infections fongiques ne cesse d'augmenter (+7,3 % par an en France entre 2001 et 2010). Fatales en l'absence de traitement approprié, les mucormycoses occupent aujourd'hui le troisième rang des infections fongiques opportunistes dans les pays occidentaux, derrière les candidoses et les aspergilloses. Actuellement, seuls l'amphotéricine B et le posaconazole, associés à un acte chirurgical, font l'objet de recommandations dans la prise en charge de ces infections. Les autres antifongiques ne sont pas utilisables du fait de leur absence d'activité sur ces champignons filamenteux. D'autres approches thérapeutiques se développent depuis quelques années et sont en cours d'évaluation : oxygénothérapie hyperbare, association de plusieurs molécules antifongiques ou antibiotiques, utilisation des statines ou de chélateurs du fer, etc.

MOTS-CLÉS : mucormycoses, *Rhizopus*, *Lichtheimia*, *Mucor*, amphotéricine B, posaconazole.

I. - INTRODUCTION

Les mucormycoses sont des infections opportunistes, cosmopolites, rares et souvent fatales dues à des champignons filamenteux de l'ordre des Mucorales. Leur fréquence augmente régulièrement depuis quelques années. En France, les mucormycoses constituent actuellement les troisièmes infections fongiques après les candidoses et les aspergilloses (1). Elles sont à l'origine d'atteintes superficielles et profondes. Le pronostic vital dépend principalement de la précocité du diagnostic et de la mise en place du traitement.

II. - ÉPIDÉMIOLOGIE EN FRANCE

Peu de données sont disponibles à l'échelle nationale. Le bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH) du 16 avril 2013 consacré aux infections fongiques invasives (IFI) a recensé les cas de mucormycoses en France entre 2001 et 2010 en s'aidant du Programme de médicalisation des systèmes d'information (PMSI). Les mucormycoses représentaient 530 cas sur 35 976 cas d'infections fongiques (~1,5 %), dont 89 cas mortels (16,8 %) ; 57,7 % des sujets atteints étaient de sexe masculin. Pendant cette période, l'incidence et la létalité ont augmenté, respectivement, de 7,3 % et de 9,3 % par an. Les régions pour lesquelles l'incidence est la plus élevée sont la région Île-de-France et le grand quart Est et Nord-Est du pays (2) (Figure 1).

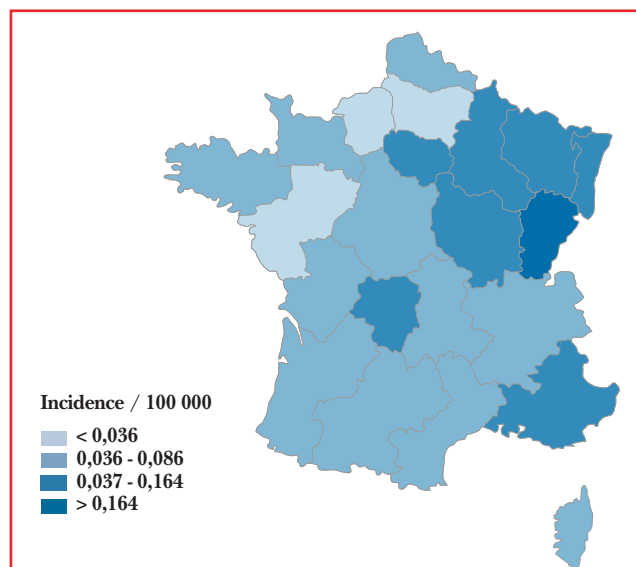


Fig. 1 - Répartition régionale des cas de mucormycoses en France métropolitaine entre 2001 et 2010 (moyenne annuelle des taux d'incidence standardisés selon l'âge et le sexe) (d'après (2)).

¹ Service de Parasitologie - Mycologie - Médecine tropicale, CHU de Tours.

² Laboratoire d'Immunologie Parasitaire, Vaccinologie et Biothérapies Anti-Infectieuses, UMR ISP1282, Université François-Rabelais, Tours.

³ Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires, INSERM U1100/EA6305, Université François-Rabelais, Tours.

Tableau I - Principales espèces de Mucorales rencontrées en pathologie humaine (adapté de (6)).

Famille	Genre	Espèces
Mucoraceae, Absidiaceae	<i>Lichtheimia (Absidia)</i>	<i>Lichtheimia (Absidia) corymbifera</i>
	<i>Apophysomyces</i>	<i>Apophysomyces elegans</i>
	<i>Mucor</i>	<i>Mucor circinelloides</i> <i>Mucor hiemalis</i> <i>Mucor racemosus</i> <i>Mucor rouxianus</i> <i>Mucor ramocissimus</i>
	<i>Rhizomucor</i>	<i>Rhizomucor pusillus</i>
	<i>Rhizopus</i>	<i>Rhizopus oryzae</i> <i>Rhizopus azygosporus</i> <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Rhizopus schipperae</i> <i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>microsporus</i> <i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>oligosporus</i> <i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>rhizopodiformis</i>
Cunninghamellaceae	<i>Cunninghamella</i>	<i>Cunninghamella bertholletiae</i>
Mortierellaceae	<i>Mortierella</i>	<i>Mortierella wolfii</i>
Saksenaceae	<i>Saksenaea</i>	<i>Saksenaea vasiformis</i>
Syncephalastraceae	<i>Syncephalastrum</i>	<i>Syncephalastrum racemosum</i>
Thamnidaceae	<i>Cokeromyces</i>	<i>Cokeromyces recurvatus</i>

III. - ESPÈCES RESPONSABLES

De nombreuses espèces de Mucorales ont été décrites comme responsables de mucormycoses.

Rhizopus est le genre le plus fréquemment retrouvé, et serait impliqué dans la moitié des infections (3, 4). *Rhizopus oryzae*, également dénommé *Rhizopus arrhizus* dans la littérature, est l'espèce la plus souvent incriminée tandis que *Rhizopus microsporus* est plus sporadiquement en cause (5). *Lichtheimia corymbifera* (antérieurement *Absidia corymbifera*), qui a été la première espèce isolée, se situerait actuellement au deuxième rang des espèces les plus courantes (4). Cependant, pour d'autres auteurs, les espèces du genre *Mucor* (ex. : *Mucor circinelloides*) figureraient en réalité en seconde position (3). *Rhizomucor pusillus* est la seule espèce du genre *Rhizomucor* à être pathogène pour l'homme. Enfin, *Cunninghamella bertholletiae* et *Apophysomyces elegans* peuvent également être isolées ; elles représentaient, respectivement, 7,3 % et 5,8 % dans la série de Roden *et al.* (3).

Le centre national de référence Mycologie et Antifongiques (CNRMA) recense principalement les cinq espèces suivantes dans son rapport d'activité de 2011 : *L. corymbifera*, *R. oryzae*, *R. pusillus*, *R. microsporus*, et *M. circinelloides*. Arrivent ensuite de façon beaucoup plus sporadique *C. bertholletiae* et *A. elegans*, ainsi que l'espèce *Saksenaea vasiformis*. Il convient donc de se concentrer sur ces espèces, tout en rappelant l'importance de ne pas négliger les autres Mucorales, d'incidence beaucoup plus rare (Tableau I).

IV. - FORMES CLINIQUES

Le premier cas de mucormycose a été décrit en 1885 par Paltauf, médecin et bactériologiste autrichien (10). Depuis, il a été clairement démontré que les Mucorales se développaient généralement aux dépens d'hôtes fragilisés, bien que plusieurs cas concernant des personnes immunocompétentes ont été rapportés.

Deux formes cliniques sont principalement décrites dans la littérature : la forme rhino-orbito-cérébrale et la forme pulmonaire. Les autres formes sont plus rares.

A) La forme rhino-orbito-cérébrale

La forme rhino-orbito-cérébrale représente 30 à 50 % des cas de mucormycoses (3). Le diabète représente la pathologie sous-jacente la plus souvent en cause dans cette forme (66 % dans la série de Roden *et al.* (3)), surtout en cas de déséquilibre glycémique, et particulièrement chez les patients en décompensation acido-cétosique (11, 12). Cependant, la forme rhino-orbito-cérébrale peut aussi être retrouvée plus sporadiquement chez des patients atteints d'hémopathies malignes ou chez des patients immunodéprimés, mais aussi chez des patients immunocompétents suite à des accidents traumatiques (13). Mise à part cette dernière situation, la porte d'entrée la plus fréquente reste la voie inhalée (12). L'infection débute donc par l'inhalation de spores qui se déposent au niveau des muqueuses nasales et/ou sinusiennes. Dans des contextes de réceptivité accrue, comme ceux décrits ci-dessus, les spores vont

germer et filamenter, pour entamer ensuite un processus invasif loco-régional. Le sinus le plus couramment touché est le maxillaire (85 % des cas), suivi de l'ethmoïde (65 à 70 % des cas), puis du frontal (30 à 35 % des cas) et du sphénoïde (15 à 20 % des cas) (11). Les Mucorales ayant un fort tropisme vasculaire, elles vont peu à peu infecter les tissus voisins et entraîner des nécroses ischémiques suite à des phénomènes de thromboses artériolaires (10), expliquant alors la couleur violacée de la peau en regard.

Les signes cliniques sont souvent évocateurs d'une sinusite grave. Dans la plupart des cas, l'infection débute par un œdème et un érythème de la face associés à des douleurs (14). Fièvre, céphalées et altération de l'état général accompagnent le tableau clinique (15). D'autres troubles sont parfois retrouvés : sécrétions nasales purulentes, paresthésies, troubles de la vision, ulcérations, escarres (12, 16).

La nécrose touche peu à peu l'extérieur de la face mais aussi l'intérieur et notamment les orbites par une extension périorbitale (11). Les signes oculaires tels qu'une diminution de l'acuité visuelle, une exophtalmie ou une ophtalmoplégie, témoignent d'une atteinte de l'œil et de ses différentes structures (18). La mucormycose peut s'étendre au palais (17), aux structures osseuses sous-jacentes et parfois même à l'hypophyse (12) et au cerveau (11). La progression au niveau de l'encéphale peut se faire par voie vasculaire ou via l'ethmoïde (12). Elle se traduit généralement par un état confusionnel, des troubles neurologiques voire un coma. À noter que la forme cérébrale isolée reste très rare ; elle se définit par une atteinte cérébrale n'ayant pas débuté au niveau des sinus et qui ne touche aucun autre organe (13). Dans l'ensemble, le pronostic des mucormycoses avec atteinte cérébrale est sombre. Malgré un traitement médicochirurgical agressif, le taux de mortalité reste proche de 85 % (12).

Actuellement, ce sont les examens radiologiques qui permettent de mettre en évidence l'étendue de l'infection, surtout le scanner tomodensitométrique (TDM) (Figure 2), qui renseigne sur un éventuel comblement des sinus et permet la mise en évidence de l'extension au niveau du crâne (14).

B) La forme pulmonaire primitive

La mucormycose pulmonaire survient principalement chez les patients atteints d'hémopathies malignes (60 % dans la série de Roden *et al.* (3)), et notamment dans le cadre de leucémies aiguës myéloïdes (19, 20, 21). Elle apparaît chez des patients dont les fonctions immunitaires sont largement diminuées : neutropénie, traitement par chimiothérapie, greffe de moelle osseuse, etc. (22). La mucormycose pulmonaire est actuellement la deuxième cause de mycoses pulmonaires (après l'aspergillose) chez les patients subissant des greffes de cellules souches hématopoïétiques (23). Même si son incidence est plus faible dans ce contexte, la forme pulmonaire peut aussi être retrouvée en cas de diabète (24). On a également décrit des cas de mucormycose pulmonaire chez des patients atteints

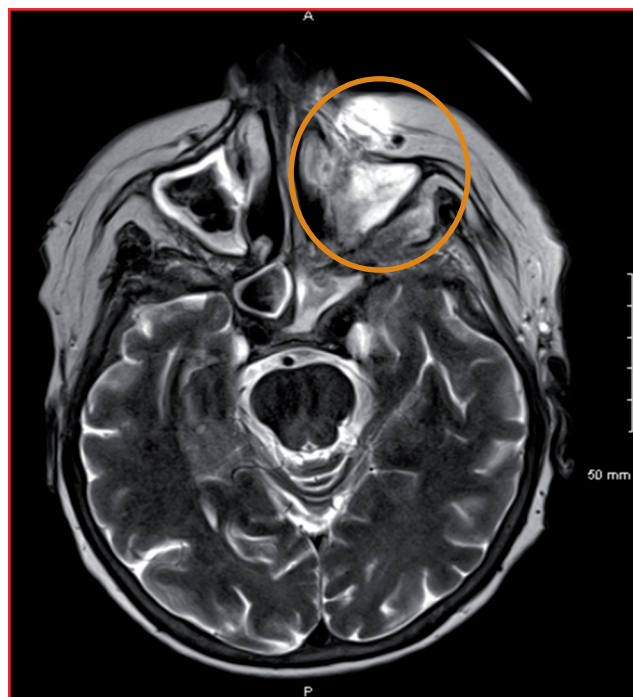


Fig. 2 - Tomodensitométrie axiale (séquence T2) chez un patient atteint de mucormycose rhino-orbito-cérébrale (Service d'Imagerie, CHRU de Tours).

de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) traités par corticothérapie au long cours (26).

La contamination se produit par l'inhalation des spores, qui atteignent les poumons et commencent à y bourgeonner (25). La mucormycose pulmonaire primitive est à différencier de la mucormycose pulmonaire secondaire qui fait suite à une dissémination sanguine à partir d'un autre site d'infection. Les signes cliniques de l'atteinte pulmonaire sont peu spécifiques des mucormycoses, comme en témoignent de nombreux articles qui relatent un fort mimétisme avec les pneumonies bactériennes, la tuberculose ou bien encore l'aspergillose pulmonaire invasive (22, 25, 26). Sont classiquement décrites une fièvre élevée (supérieure à 38 °C) et une toux sèche ou productive. Les douleurs thoraciques, la dyspnée, la fatigue, l'hémoptysie, les râles crépitants sont inconstants et variables d'un individu à l'autre. À partir de ce foyer pulmonaire, la mucormycose peut s'étendre aux tissus et organes adjacents tels que le médiastin, le péricarde et la paroi thoracique (22). Dans de rares cas, la mucormycose pulmonaire se présente comme une lésion trachéale ou endobronchique pouvant entraîner une obstruction au passage de l'air avec collapsus pulmonaire. Elle peut s'associer à une invasion des vaisseaux sanguins adjacents, se traduisant par une hémoptysie sévère. Globalement, la mucormycose pulmonaire survient de façon aiguë puis progresse rapidement (25), aboutissant au décès de 65 à 75 % des patients dans les deux années suivant le diagnostic (27, 28).

Les clichés radiologiques ne permettent pas de diagnostiquer la mucormycose pulmonaire, car les signes sont comparables à ceux de l'aspergillose, même si on observe une tendance à l'existence de lésions uniques et à l'homo-

latéralité (29). Sur les clichés scannographiques, on peut observer, entre autres, des opacités, des atelectasies par obstruction bronchique, des infiltrations, un épanchement pleural. Ces lésions pulmonaires correspondent à une inflammation aiguë et à l'envahissement du tissu bronchique par les Mucorales, qui peuvent être sources de nécrose et de suppuration (25). Le signe du halo inversé ou « *reversed halo sign* », visible grâce à l'examen tomodensitométrique, est très évocateur de mucormycose pulmonaire. Il s'agit d'une image nodulaire dense, correspondant à l'amas mycélien, entourée d'une couronne de plus faible densité correspondant à une zone d'infarctissement hémorragique (30).

C) La forme cutanée primitive

La mucormycose cutanée primitive est la troisième forme clinique la plus commune après la forme rhino-orbito-cérébrale et la forme pulmonaire primitive (19 % des cas dans la série de Roden *et al.*, dont la moitié chez des patients immunocompétents (3)).

Cette atteinte peut se déclarer en cas de brûlures (31), de plaies souillées, d'escarres (7) ou encore de fractures ouvertes (32), qu'il y ait immunodépression ou non. Même si les Mucorales peuvent être transmises par des piqûres d'insectes, morsures d'araignées et même picorements d'oiseaux, ou encore par voie injectable via du matériel souillé, les accidents traumatiques restent la cause majeure des mucormycoses cutanées (9). Toute zone du revêtement cutané peut être infectée. Il est important de différencier les formes primitives des formes secondaires, qui font suite à une dissémination hématogène du champignon (9).

Dans l'atteinte cutanée primitive, les spores des champignons pénètrent à travers la brèche cutanée. S'ensuit un envahissement local du tissu cutané adjacent, du tissu sous-cutané voire même des os sous-jacents (33). La dissémination et la rapidité de l'extension de l'infection dépend, bien évidemment, des fonctions immunitaires des patients (7).

Les signes cliniques peuvent varier d'un individu à l'autre, ressemblant globalement à ceux d'infections bactériennes. Le début se caractérise par un érythème et une induration de la zone cutanée infectée, puis s'ensuit un processus de suppuration et de nécrose des tissus cutanés (Figure 3). Les notions de fasciite nécrosante (infection de la peau et des tissus sous-cutanés se propageant le long des fascias et du tissu adipeux) et de gangrène extensive sont souvent rapportées dans la littérature (33).

D) La forme gastro-intestinale

Cette forme de mucormycose est peu fréquente (7 % des cas dans la série de Roden *et al.* (3)).

La contamination se fait par ingestion de spores par voie alimentaire (7, 9). L'infection se déclare lorsqu'il y a présence de facteurs prédisposants, notamment une malnutrition ou une altération de l'intégrité des muqueuses



Fig. 3 - Mucormycose cutanée avec nécrose du membre supérieur gauche (Service de Parasitologie et Mycologie, CHRU de Tours).

digestives (ex. : entérite à cytomégalovirus, shigellose, fièvre typhoïde, etc.). Les enfants prématurés, les patients sous dialyse péritonéale, ceux atteints de déficits immunitaires, sont également à risque. L'infection touche de façon préférentielle l'estomac (67 % des cas), le côlon (21 %), plus rarement l'intestin grêle (4 %) et l'œsophage (2 %) (9). Elle se caractérise par des ulcérations de la muqueuse, suivies de nécroses localisées (7). Ces ulcérations peuvent être uniques ou non, et peuvent conduire à une péritonite par perforation, de pronostic très sévère (9, 34).

E) La forme invasive

La mucormycose invasive apparaît chez des sujets fortement immunodéprimés (7). Elle est dite disséminée lorsqu'elle atteint au moins deux organes non contigus. Dans la plupart des cas, la porte d'entrée est rhino-sinusienne ou pulmonaire (15), mais en théorie, elle peut débuter à partir de n'importe quel site d'infection (34). Ceci est fonction des caractéristiques de l'hôte, notamment de son âge et de son statut immunitaire. La dissémination s'opère classiquement par voie hématogène (3). Les signes cliniques de la mucormycose profonde sont ceux d'un sepsis (fièvre élevée, tachycardie, polypnée, etc.) ; la clinique et la radiologie ne sont pas spécifiques (35). Lors d'une forme disséminée, les organes les plus fréquemment touchés sont le cerveau, la rate, le cœur, les reins, le foie et le tractus digestif (7, 15).

Le caractère invasif de la mucormycose reste heureusement assez rare (2,7 % des cas dans la série de Roden *et al.* (3)) ; la mortalité est quasi constante en l'absence de traitement (34).

F) Autres formes

Les Mucorales peuvent infecter n'importe quel site de l'organisme (5). Les atteintes cérébrales en l'absence d'atteinte rhino-orbitale sont possibles, par exemple à la suite d'un traumatisme crânien (7). Une mucormycose cardiaque peut venir compliquer une maladie disséminée ou

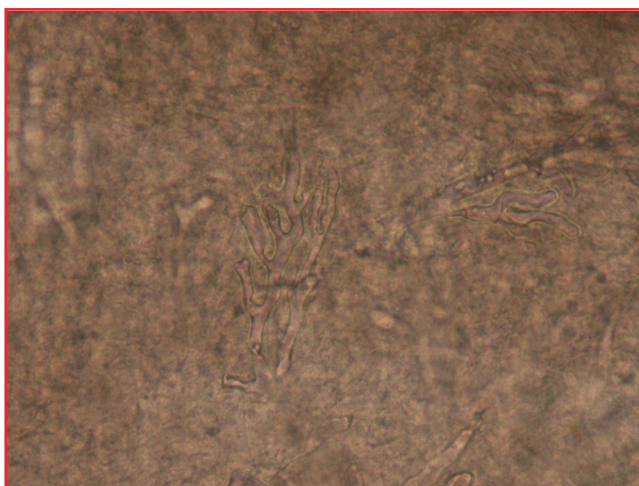


Fig. 4 - État frais montrant des filaments de type Mucorales (gros-sissement x100) (Service de Parasitologie et Mycologie, CHRU de Tours).

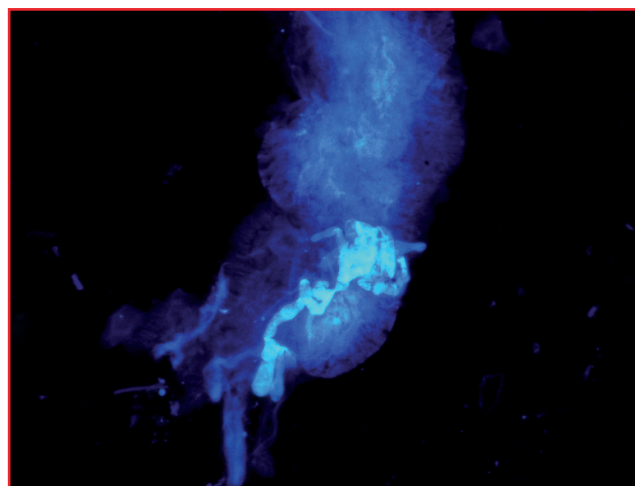


Fig. 5 - Fluorescence directe montrant des filaments de type Mucorales (Uvitex 2B®, grossissement x100) (Service de Parasitologie et Mycologie, CHRU de Tours).

survenir sous forme d'endocardite après chirurgie vasculaire ; environ 10 % des infections cardiaques de nature fongique seraient dues à des Mucorales (5). Une atteinte de la cavité péritonéale peut faire suite à une dialyse péritonéale (7, 34). D'autres infections primitives d'organes profonds sans dissémination hématogène sont également décrites dans la littérature (7). Des cas d'onychomycoses à *M. circinelloides* et d'otites externes provoquées par *Mucor sp.* et *L. corymbifera* ont ainsi été rapportés par Ribes *et al.* (5). La mucormycose rénale isolée est une manifestation rare qui est généralement confirmée par autopsie (34).

V. - DIAGNOSTIC

Le diagnostic de mucormycose est posé sur un ensemble d'approches qui, réunies, permettent de constituer un faisceau d'arguments (36). Face à la gravité potentielle de ces infections, la précocité du diagnostic et la rapidité de mise en place du traitement sont primordiales.

A) Diagnostic direct

Il est important de différencier les infections provoquées par des champignons de l'ordre des Mucorales des infections fongiques à *Aspergillus sp.*, car leur prise en charge est totalement différente (37).

L'examen mycologique constitue la méthode diagnostique de référence, bien que la culture ne soit pas toujours contributive ; l'approche anatomopathologique (ou histopathologique) vient en complément pour apporter la preuve du caractère invasif de la mycose (38, 39).

1) Examen direct mycologique

C'est une méthode diagnostique simple et rapide se faisant à partir de tout prélèvement considéré par le biologiste comme pertinent en fonction des données cliniques (ex. : biopsie cutanée, aspiration sinusienne, liquide de lavage broncho-alvéolaire, etc.) (38, 39).

L'examen à l'état frais (examen direct réalisé sans préparation préalable) (Figure 4) est réalisé systématiquement sur chaque prélèvement (38) grâce à une solution d'hydroxyde de potassium qui joue le rôle d'agent éclaircissant. L'utilisation d'un fluorochrome (Uvitex 2®, Calcofluor®) qui s'intercale dans la chitine permet de visualiser plus nettement les structures pariétales du champignon (Figure 5), mais nécessite d'être équipé d'un microscope à fluorescence.

Classiquement, les filaments de Mucorales sont larges, mesurant de 6 à 15 µm de diamètre (40), et apparaissent non septés, clairs et parfois distordus. À ce stade, la seule observation microscopique de filaments évocateurs (Figures 4 et 5) ne reste que présomptive d'infection à Mucorales (40). Aucune identification d'espèce n'est bien sûr possible en l'absence de culture.

2) Histopathologie

L'examen histopathologique permet de mettre en évidence les filaments du champignon au sein-même des tissus, et de confirmer ainsi sans ambiguïté son caractère invasif. Il pose donc à lui seul le diagnostic de mycose invasive, même si les examens cultureux sont nécessaires pour aller jusqu'au diagnostic de genre et d'espèce fongique (41). Considéré isolément, l'examen histopathologique est en faveur d'une mucormycose lorsqu'il révèle de larges filaments mycéliens de diamètre compris entre 5 et 20 µm, irréguliers, non cloisonnés, et en forme de ruban avec des bifurcations à angle droit (7). Les filaments mycéliens apparaissent parfois endommagés, et d'allure boursouflée (40).

En pratique, le produit pathologique issu de biopsie ou de ponction est fixé (ex. : formol), inclus en paraffine, puis des coupes de 2 à 7 µm d'épaisseur sont réalisées à l'aide d'un microtome. Ces différentes coupes de tissus sont traitées par diverses colorations anatomopathologiques, les unes permettant de visualiser l'ensemble de l'environnement cellulaire, les autres étant « spécifiques » des champignons (38).

La coloration à l'hémalum-éosine-safran (HES) permet d'apprécier la réaction de l'hôte vis-à-vis du pathogène, comme par exemple la présence de granulomes inflammatoires, de nécrose, de fibrose (38, 40) (Figure 6A), tout en visualisant les structures fongiques.

L'imprégnation argentique selon Gomori-Grocott colore normalement en sombre la paroi chitineuse de tout genre fongique. L'oxydation des groupements hydroxyles des polysaccharides fongiques pariétaux et leur « complexation » avec le réactif argentique fait apparaître les champignons en brun-noir sur le fond vert de la préparation. Les filaments de Mucorales sont parfois difficiles à visualiser avec cette coloration, et se repèrent en négatif (Figure 6B).

Bien que non spécifique des champignons (38, 40), la coloration à l'acide périodique de Schiff (PAS) colore en rouge-violet les éléments osidiques, dont la paroi fongique (Figure 6C).

3) Culture

Leurs filaments étant par nature fragiles, les Mucorales sont des champignons difficiles à cultiver (40). Cependant, leur isolement *in vitro* revêt une certaine importance car il permet d'identifier le genre et l'espèce en cause (7, 9).

L'ensemencement se pratique habituellement sur les milieux gélosés de Sabouraud sans actidione (composés de glucose, peptone et agar, et additionnés d'antibiotiques) incubés entre 25 et 30 °C, voire plus. On utilise préférentiellement les tubes, car les boîtes de Petri sont plus exposées au risque de contamination environnementale au sein du laboratoire (40, 42).

De façon générale, les cultures se positivent en 2 à 5 jours. L'identification du genre et de l'espèce fongique s'opère par observation macro- et microscopique. Macroscopiquement, la culture de Mucorales est d'aspect cotonneux, duveteux et varie du blanc-beige à brun, en fonction des espèces. D'un point de vue microscopique, la différenciation des genres et des espèces se fonde sur la morphologie des organes de fructification. La détermination du genre se fait principalement sur l'aspect et la taille du sporocyste et de son pied, le sporocystophore (Figure 7). La forme, la couleur, la disposition et le nombre de sporocystospores, la présence ou l'absence de columelle, la disposition des sporocystophores et la présence ou l'absence de rhizoïdes, sont autant d'éléments à prendre en compte pour identifier l'espèce en cause (Figure 7 et Tableau II). La coloration au bleu de lactophénol permet une meilleure visualisation de ces éléments. Étudier la température

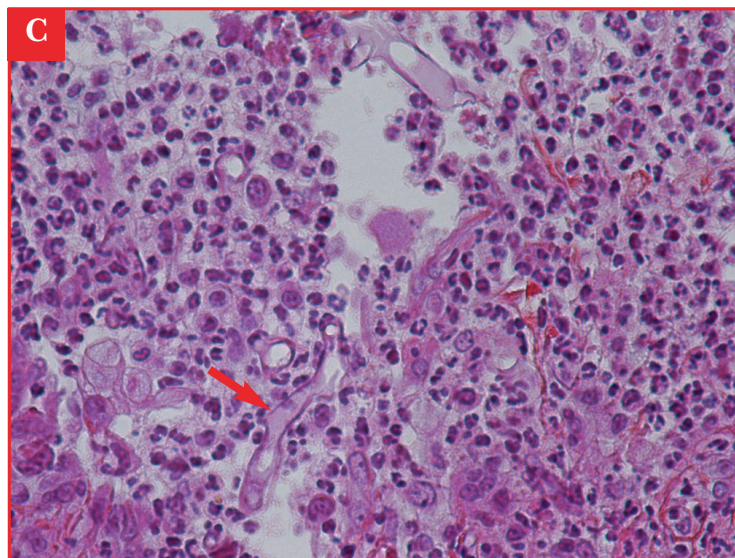
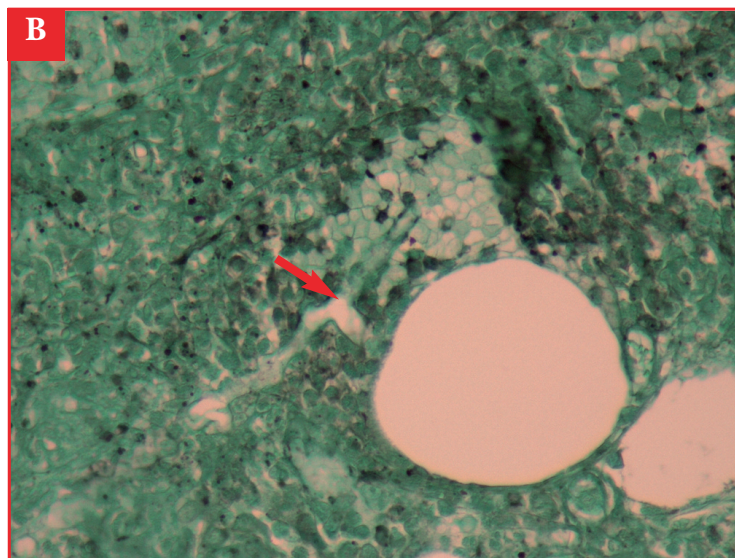
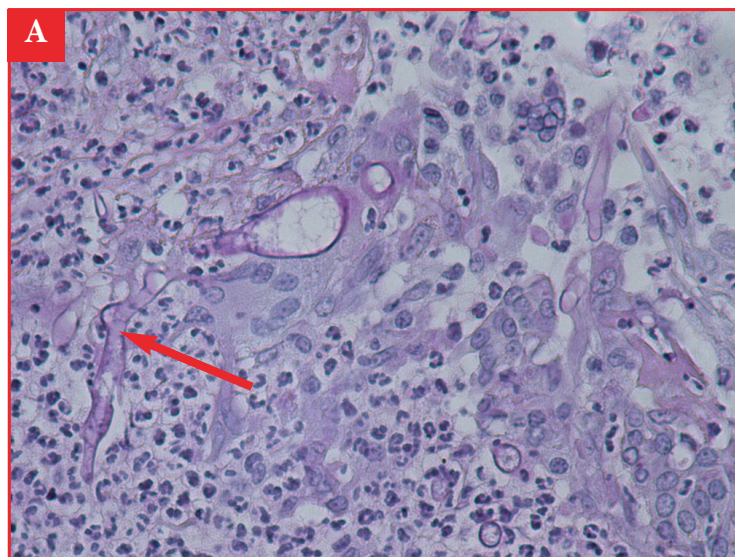


Fig. 6 - Préparations histopathologiques montrant des filaments mycéliens de type Mucorales. 6A : HES, x100 ; 6B : Gomori-Grocott, x100 ; 6C : PAS, x100 (Service de Parasitologie et Mycologie, CHRU de Tours).

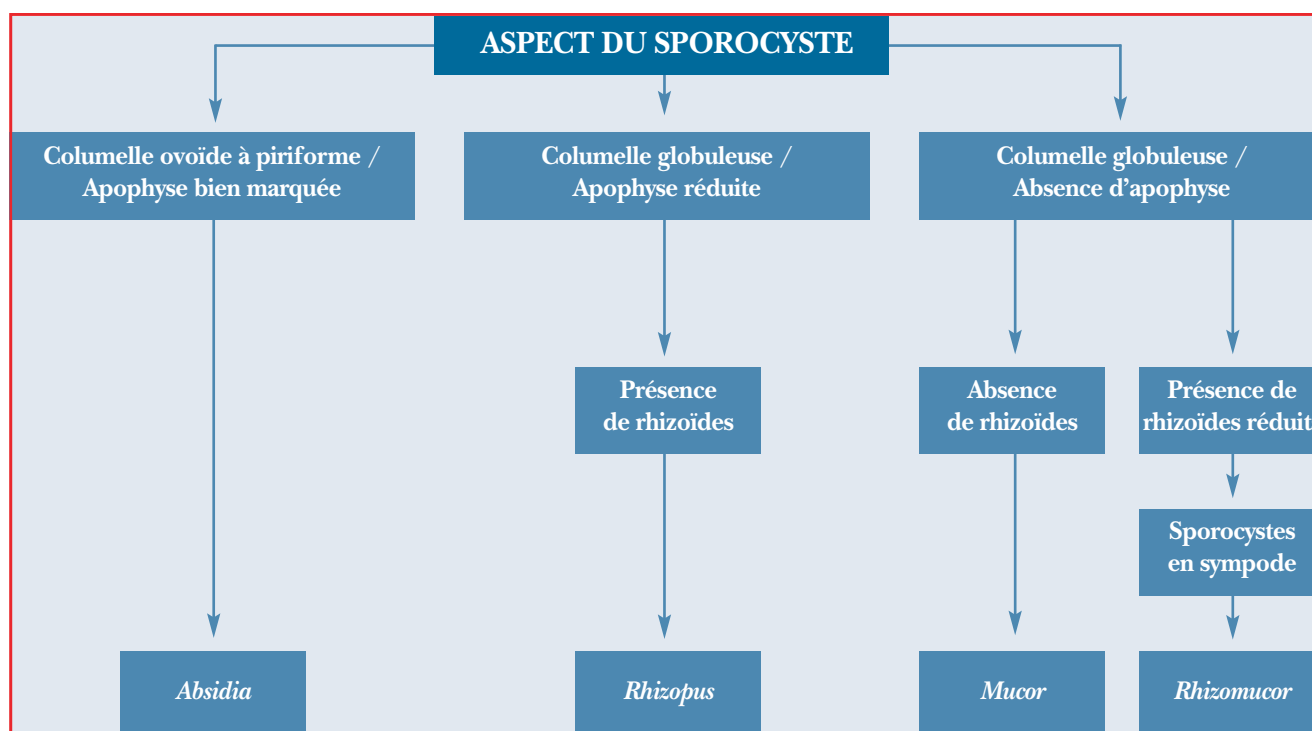


Fig. 7 - Critères de détermination du genre au sein des Mucorales (d'après (6)).

de croissance peut aussi orienter le diagnostic (40). Par exemple, *M. circinelloides* ne pousse pas à 37 °C.

B) Diagnostic indirect

Le diagnostic indirect détecte des anticorps spécifiques. Des anticorps anti-Mucorales peuvent être détectés par des dosages immunoenzymatiques tels que l'ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Toutefois, aucun de ces tests n'est standardisé pour le moment, et ces tests ne sont donc pas utilisables en routine pour le diagnostic des mucormycoses (40).

C) Nouveaux outils de diagnostic

De nombreuses équipes travaillent à l'élaboration de nouvelles méthodes de diagnostic plus spécifiques (43). Récemment, des outils moléculaires comme la PCR (*polymerase chain reaction*) se sont révélés très prometteurs pour l'identification des Mucorales (44). Il en va de même pour les profils d'assimilation du carbone en galeries.

1) PCR

La PCR permet l'amplification génique *in vitro* d'une séquence d'ADN ou d'ARN connue, à partir d'amorces spécifiques. Pour l'infection à Mucorales, les amorces ont été conçues et testées sur la base de données de séquences d'ADN qui proviennent de souches cliniques (45). Le CNRMA, dans son bilan de 2011, a réalisé un séquençage de la région 28S et de certains gènes comme la bêta-tubuline (46).

2) Étude du profil d'assimilation du carbone

Largement utilisée pour l'identification des levures mais très peu pour celle des champignons filamenteux, cette méthode a été appliquée par Schwarz *et al.* à la différenciation des espèces de Mucorales (43). Deux galeries commercialisées par bioMérieux ont été testées : la galerie ID32C et la galerie API50CH. La galerie ID32C étudie 29 sources de carbone, la résistance au cycloheximide et l'hydrolyse de l'esculine, tandis que la galerie API50CH étudie 48 sources de carbone et l'hydrolyse de l'esculine ; dans les deux cas, une réaction d'assimilation carbonée positive est définie par l'apparition d'un trouble dans la cupule considérée. Cette étude a montré une supériorité de la galerie ID32C par rapport à la galerie API50CH. Cependant, même la galerie ID32C s'est révélée moins discriminante que les outils moléculaires.

Le manque de standardisation et de validation interlaboratoire font que ces méthodes ne sont pas exploitables pour le moment (47). Elles peuvent être utilisées en techniques d'appoint pour confirmer l'infection, mais ne peuvent en aucun cas faire l'objet d'un diagnostic de première intention.

3) Identification par spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse MALDI-TOF (*matrix-assisted laser desorption ionization – time of flight*) est devenue ces dernières années une technique de référence dans le diagnostic microbiologique, à tel point qu'elle est couramment exploitée en routine pour différencier à la fois les espèces bactériennes et fongiques. Les bases de données des

Tableau II - Caractéristiques macroscopiques et microscopiques différentielles des principales espèces responsables de mucormycoses (adapté de (5, 6, 8, 9)).

Espèces	Température de croissance Aspect des colonies*	Caractères microscopiques
<i>Rhizopus oryzae</i> (= <i>Rhizopus arrhizus</i>)	Croissance entre 25 et 37 °C Colonies cotonneuses blanches, puis gris foncé	Sporangiophores isolés ou regroupés (de 2 à 6) Présence de stolons, rhizoïdes et sporangiophores bien différenciés Columelle large pouvant s'affaisser sur le sporocystophore et prenant un aspect en « mini-jupe » ou en « parapluie » Sporocyste globuleux avec une columelle globuleuse ou cylindrique Apophyse courte et anguleuse Filaments larges (5-20 µm de diamètre), non septés, à paroi épaisse et irrégulière
<i>Mucor circinelloides</i>	Croissance entre 25 et 30 °C Colonies de couleur grise, jaune sale	Pas de stolons, ni rhizoïdes Sporanges globuleux (20-80 µm de diamètre) Spores lisses ou ornementées de spicules Sporocystophore se terminant par une columelle ovoïde sans apophyse et présentant un rétrécissement sous la columelle Filaments mycéliens courts, peu ou pas cloisonnés, larges (10-20 µm de diamètre), à paroi épaisse et ramifications à angle droit
<i>Absidia corymbifera</i> (= <i>Lichtheimia corymbifera</i>)	Croissance à 37 °C Colonies floconneuses souvent grises	Sporange piriforme de 10-120 µm de diamètre Columelle ovoïde Sporocystophores très longs, souvent ramifiés, formant des sortes de grappes ou corymbes, et se terminant par une large apophyse en forme d'entonnoir Rhizoïdes peu visibles Filaments mycéliens courts, peu ramifiés, non cloisonnés à paroi épaisse, de 10-20 µm de diamètre
<i>Rhizomucor pusillus</i>	Croissance à 37 °C Colonies à texture laineuse, brun pâle puis brun foncé	Sporocyste globuleux (40-120 µm de diamètre) Sporocystophores courts avec ramifications subterminales en sympode (aspect de fausse ombrelle) Columelle globuleuse à piriforme sans apophyse Filaments larges, irréguliers, non cloisonnés
<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	Croissance à 37 °C Colonies de couleur blanche puis devenant grises	Sporocystophores ayant à l'extrémité une vésicule globuleuse ou ovale (~ 40 µm), au niveau de laquelle naissent des sporangioles (= spores externes) par l'intermédiaire de courts pédicules Filaments mycéliens larges, non septés, irréguliers
<i>Apophysomyces elegans</i>	Croissance à 25 °C Colonies duveteuses, de couleur blanc-crème puis chamois	Sporocystophores non ramifiés, isolés ou regroupés en bouquet, légèrement courbés au sommet, pouvant atteindre 500 µm de long Sporanges piriformes avec une apophyse très marquée en forme de vase ouvert ou de cloche Rhizoïdes réduits et présence de stolons Columelle hémisphérique Spores sub-sphériques à cylindriques Filaments mycéliens larges, peu ou pas cloisonnés, ramifiés à angle droit, irréguliers

* Milieu de Sabouraud.

différents fournisseurs de l'appareil sont dans l'ensemble suffisamment riches pour obtenir des identifications spectrales robustes.

Si l'on peut discriminer avec succès les espèces d'Ascomycètes appartenant aux genres *Candida*, *Aspergillus*, et *Penicillium*, l'identification des Mucorales par MALDI-TOF reste encore problématique. Certains auteurs rapportent des erreurs d'interprétation concernant certaines espèces (48), l'espèce *Beauveria bassiana* pouvant être ainsi identifiée à tort comme *Mucor circinelloides*. Si la qualité de la préparation de l'échantillon en amont revêt une importance

fondamentale pour aboutir à une identification correcte, la principale limite réside dans l'incrémentation des bases de données, dont la qualité des spectres détermine la fiabilité (49). Ainsi, certains auteurs admettent qu'une bonne banque de spectres est suffisamment discriminante pour établir un diagnostic d'espèce certain, y compris pour les Mucorales (50). Certains fournisseurs de banques de spectres protéiques s'efforcent de pallier à ce manque. Par exemple, l'actuelle base de données Andromas® propose les spectres d'une centaine d'espèces fongiques pour les identifications de routine ; cependant, seules trois espèces de Mucorales y figurent (*Rhizopus oryzae*,

Lichtheimia ramosa, *Mucor irregularis*). Bien sûr, dans un avenir proche, l'actualisation des banques permettra d'étoffer cette collection de spectres. Certaines bases de données dédiées à la recherche ou en développement offrent déjà un panel beaucoup plus large, même si leur exploitation en routine n'a pas encore été validée.

VI. - THÉRAPEUTIQUE

Le traitement des mucormycoses reste difficile, et la rapidité de sa mise en place conditionne le pronostic. Une approche multidisciplinaire constitue la base du traitement, associant le contrôle de la pathologie sous-jacente, un traitement chirurgical des tissus infectés, et un traitement antifongique adapté ; d'autres thérapeutiques peuvent être proposées au cas par cas : oxygénothérapie hyperbare, association de traitements antifongiques, agents chélateurs de fer, cytokines, etc. (9).

L'efficacité du traitement dépend de la localisation et de la gravité de l'infection (rhino-orbitale, digestive, cutanée...), mais aussi de la pathologie sous-jacente. Globalement, la survie est meilleure quand il s'agit d'une mucormycose cutanée primitive que lorsqu'il s'agit d'une forme pulmonaire primitive. De même, le pronostic est davantage favorable chez les patients diabétiques (taux de guérison de 50 à 85 %) que chez les patients atteints d'hémopathies malignes ou cancers (taux de guérison de 10 à 33 %) (9).

A) Contrôle de la pathologie sous-jacente

Même compliquée, la maîtrise de la pathologie sous-jacente apparaît indispensable si l'on veut espérer une issue favorable à l'infection : contrôle du déséquilibre glycémique, maîtrise du processus tumoral, etc.

B) Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical doit toujours être associé au traitement antifongique, car il réduit substantiellement la charge fongique. Roden *et al.* ont ainsi montré que le taux de survie était amélioré en cas de traitement combiné médico-chirurgical par rapport à un traitement antifongique seul (70 % *versus* 61 %) (3).

Le traitement chirurgical doit être instauré le plus rapidement possible. Herbrecht et Chabasse rapportent que la survie des patients est de 81 % quand la chirurgie a lieu avant le 6^{ème} jour suivant le diagnostic de l'infection, et seulement de 42 % quand elle a lieu plus de douze jours après le diagnostic (9). La chirurgie est bien évidemment plus facile lorsque la mucormycose est limitée (forme cutanée, forme faciale superficielle), mais elle reste indiquée quelle que soit la localisation. Le geste chirurgical consiste en une exérèse large des tissus infectés pouvant aller jusqu'à l'amputation d'un des membres. Une chirurgie réparatrice est proposée en cas de délabrement trop important. Un traitement chirurgical par voie endoscopique ou par craniotomie doit être envisagé lorsque le système nerveux central est touché par l'infection (35).

C) Traitements médicamenteux

Les essais thérapeutiques montrent que l'amphotéricine B reste la molécule la plus active (51, 52, 53). À l'inverse, d'autres drogues comme le voriconazole ne présentent aucune activité et leur utilisation serait même un facteur favorisant de survenue de mucormycoses (34, 54, 55).

1) Amphotéricine B

De la classe des polyènes, l'amphotéricine B agit par liaison avec l'ergostérol de la membrane de la cellule de la Mucorale. Il en résulte une fuite du contenu cellulaire conduisant à la mort du champignon.

L'amphotéricine B est l'antifongique de référence des mucormycoses, bien que ne disposant pas de l'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) dans cette indication. Herbrecht et Chabasse rapportent que la survie estimée pour une mucormycose rhino-orbito-cérébrale est de 76 %, lorsque le traitement par amphotéricine B est mis en place dans les 6 jours suivant les premiers symptômes *versus* seulement 36 % passé ce délai (9).

L'amphotéricine B est exclusivement administrée par voie intraveineuse (iv) dans le traitement des mucormycoses. En effet, son absorption *per os* est nulle. Le principe actif pénètre peu la barrière hémato-encéphalique (56), et est insoluble dans l'eau (57).

L'amphotéricine B est très toxique par voie parentérale et doit être administrée en perfusion lente de 30 à 60 minutes. Elle ne peut être utilisée qu'en milieu hospitalier sous surveillance étroite avant, pendant et après l'administration. La toxicité rénale est l'effet indésirable le plus rapporté, en plus des réactions immédiates liées à l'injection (hyperthermie, frissons, irritations locales). Une dose-test est donc administrée au patient pour évaluer sa réponse immédiate. De plus, pour réduire les effets liés à la toxicité immédiate au moment de l'injection d'amphotéricine B, une prémédication est habituellement proposée associant antipyrétique (paracétamol), antihistaminique (POLARAMINE®) et antiémétique (PRIMPÉRAN®).

Durant de nombreuses années, l'amphotéricine B sous forme désoxycholate (FUNGIZONE®) a été le traitement de référence des mucormycoses. Récemment, les dérivés lipidiques de l'amphotéricine B ont montré de nombreux avantages, notamment une meilleure tolérance rénale et une meilleure diffusion tissulaire. D'après Xhaard *et al.*, les dérivés lipidiques de l'amphotéricine B montreraient un bénéfice, en particulier en cas d'atteinte du système nerveux central en raison de leur meilleure diffusion cérebroméningée (58).

Aujourd'hui, trois formulations d'amphotéricine B lipidique existent :

- Amphotéricine B liposomale (intégrée à des liposomes) (AMBISOME®),
- Amphotéricine B complexée à des lipides (ABELCET®),
- Amphotéricine B en dispersion colloïdale (AMPHOCIL®, non commercialisé en France).

L'efficacité de ces formulations est au moins égale à celle de l'amphotéricine B déoxycholate (56). L'association à des lipides permet d'utiliser de plus fortes doses et d'augmenter la durée du traitement du fait d'une meilleure tolérance clinique et biologique (35, 58). Les formulations lipidiques ont, de nos jours, remplacé l'amphotéricine B conventionnelle dans le traitement des mucormycoses. Les posologies utilisées sont évaluées au cas par cas, et vont habituellement de 3 mg/kg/j pour AMBISOME® à 5 mg/kg/j pour ABELCET®.

2) Le posaconazole

Le posaconazole, antifongique triazolé commercialisé en 2007 sous le nom de NOXAFIL®, offre de belles perspectives dans le traitement des mucormycoses, même s'il ne dispose pas non plus de l'AMM dans cette indication. Cette molécule agit directement sur la biosynthèse de l'ergostérol, puisqu'elle inhibe l'enzyme qui convertit le lanostérol en ergostérol (14- α -déméthylase). Il en résulte une fragilisation de la membrane fongique, et une accumulation de précurseurs 14- α -méthylés, toxiques pour la membrane et les mitochondries fongiques.

D'après Alastruey-Izquierdo *et al.*, le posaconazole est la deuxième molécule la plus active après l'amphotéricine B (51). Ce serait d'ailleurs la seule molécule azolée à présenter une activité contre les Mucorales, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 1 μ g/mL. L'efficacité du posaconazole a été démontrée sur des modèles animaux, mais aussi chez des sujets traités en seconde intention par cette molécule (mauvaise tolérance ou inefficacité du traitement de première intention), avec un taux de réponse de 40 à 60 % (35, 54, 58, 59, 60). Dans une étude incluant 91 cas de mucormycoses (69 cas prouvés, 22 cas probables), le taux global de réponse après 12 semaines de traitement par posaconazole (800 mg/j) était de 60 % (réponse complète : 14 % ; réponse partielle : 46 %) (60).

Le posaconazole est administré par voie orale sous forme de suspension buvable dosée à 40 mg/mL. Très lente et saturable, l'absorption est meilleure lorsque le traitement est administré avec un repas riche en graisses ou avec des compléments alimentaires. La dose recommandée maximale est de 800 mg/j, soit 400 mg deux fois par jour, ou sous forme fractionnée de 200 mg quatre fois par jour en l'absence d'apport alimentaire (61). Étant donné que l'état d'équilibre du posaconazole n'est obtenu qu'après 7 à 10 jours de traitement, il ne peut pas être utilisé en première ligne de traitement (54), mais sert plutôt à relayer les formulations lipidiques de l'amphotéricine B. Il faut néanmoins s'assurer de taux plasmatiques satisfaisants (58).

3) Association de molécules

Il peut s'agir de l'association de plusieurs antifongiques ou de l'association de molécules antifongiques avec des antibiotiques. En effet, il a été montré une amélioration, puis une éradication d'une mucormycose rhino-orbito-cérébrale avec abcès cérébral chez un patient traité par chirurgie et un traitement médical associant amphotéri-

cine B liposomale, caspofungine et ciprofloxacine. La ciprofloxacine, antibiotique appartenant à la classe des quinolones, a montré une action synergique avec le traitement antifongique dans un modèle de mucormycose murine (62).

Des modèles animaux ont également permis de montrer une meilleure survie lors d'une association amphotéricine B/caspofungine ou amphotéricine B/posaconazole (63).

4) Les traitements du futur

a) Oxygénothérapie hyperbare

Cette technique consiste en l'exposition du patient à de très fortes pressions en oxygène (250-280 kPa) pendant une durée allant de 90 à 120 minutes, entrecoupée de pauses afin d'éviter un risque de toxicité du dioxygène. En effet, au-delà de 300 kPa et de 120 minutes, quelques effets indésirables peuvent survenir : douleurs sinusiennes, otalgies, aggravation d'œdème pulmonaire ou toxicité neurologique à type de crises d'épilepsie (64).

Un effet fongistatique a été montré *in vitro* grâce à la production de radicaux libres oxygénés. De plus, l'oxygénothérapie hyperbare restaure le mécanisme de phagocytose et le métabolisme oxydatif des polynucléaires neutrophiles. Elle permet aussi la revascularisation des tissus infectés et restaure la fonction physiologique des fibroblastes dans le processus de cicatrisation des tissus hypoxiques (9, 64).

Néanmoins, la démonstration de l'efficacité clinique *in vivo* de l'oxygénothérapie hyperbare est encore limitée dans ce type de pathologie. Cette approche thérapeutique pourrait s'envisager en complément du traitement médico-chirurgical.

b) Les statines

Les statines sont des molécules qui agissent au niveau de la voie de synthèse des stérols (inhibition de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A (HMG CoA) réductase), et qui sont utilisées chez l'homme comme hypocholestérolémiants. Dans le règne fongique, le produit final du métabolisme lipidique n'est pas le cholestérol mais l'ergostérol. Les statines inhibent aussi l'HMG CoA réductase fongique, entraînant une réduction du taux d'ergostérol et une inhibition de la croissance fongique associée à une déstructuration des membranes et un dysfonctionnement des mitochondries.

In vitro, l'activité antifongique des statines a été démontrée sur de nombreuses espèces fongiques. L'exposition de souches de *Candida glabrata* et de *Candida albicans* à la lovastatine ou à la simvastatine entraîne une réduction du taux d'ergostérol et de la fluidité membranaire aboutissant à une inhibition de la croissance du champignon qui est contrebalancée par l'apport de stérols exogènes (65). En revanche, l'activité antifongique *in vitro* sur les Mucorales est variable selon le genre. Néanmoins, il aurait été démontré une action synergique entre voriconazole et lovastatine, permettant de rétablir la sensibilité des souches de Mucorales au voriconazole.

Cependant, de nombreux effets indésirables sont rapportés avec cette classe de molécules, notamment des toxicités musculaires à type de rhabdomyolyse. De plus, leur utilisation est limitée par l'existence d'interactions entre statines, immunosuppresseurs et azolés.

Les statines pourraient donc jouer un rôle adjuvant dans le traitement des mucormycoses, mais cela n'est sous-tendu par aucune étude clinique.

c) Autres traitements complémentaires à l'étude

L'utilisation de facteurs de croissance tels que le G-CSF ou le GM-CSF stimule la restauration des polynucléaires neutrophiles et des macrophages. Il en va de même concernant l'INF γ , qui induit la réponse des lymphocytes auxiliaires Th1. L'intérêt de l'utilisation de ces facteurs dans la prise en charge des mucormycoses n'a, cependant, jamais été prouvé (64).

Le fer joue un rôle important dans la survenue des mucormycoses, car les champignons de l'ordre des Mucorales réduisent le fer libre Fe³⁺ en Fe²⁺ en milieu acide et utilisent ce dernier pour leur croissance. Une des pistes serait d'utiliser des chélateurs du fer tels que la déféripone (FERRIPROX®) ou le déférasirox (EXJADE®). L'intérêt de la déféripone a été montré dans un modèle expérimental d'infection à *R. oryzae*, permettant d'augmenter la survie des animaux traités (66). En revanche, l'utilisation de la déféroxamine (DESFERAL®) serait un facteur de risque pour le développement des mucormycoses. Des études approfondies sont donc nécessaires pour pouvoir juger de l'efficacité d'un traitement par chélateurs de fer.

VII. - CONCLUSION

L'ordre des Mucorales regroupe approximativement 300 espèces. Ces champignons peuvent être à l'origine de mycoses particulièrement redoutées en santé humaine et actuellement classées au troisième rang des infections fongiques opportunistes : les mucormycoses. Les manifestations cliniques en sont variées et peu spécifiques, d'où un diagnostic souvent délicat. Néanmoins, deux formes cliniques sont plus classiquement décrites dans la littérature : les formes rhino-orbito-cérébrales (caractérisées par des signes de nécrose muco-cutanée) et les formes pulmonaires (dont le diagnostic est principalement évoqué devant des signes tomographiques).

À l'heure actuelle, le diagnostic de mucormycose repose sur l'approche mycologique et histopathologique. La culture *in vitro* permet d'identifier l'espèce en cause, ce qui oriente la thérapeutique de façon optimale. Le traitement des mucormycoses – des infections toujours fatales si elles ne sont pas traitées – s'appuie sur une association indispensable de la chirurgie à la prescription d'antifongiques efficaces sur les Mucorales. L'avenir se tourne désormais vers le développement de techniques modernes de diagnostic et vers le développement de nouveaux traitements susceptibles d'améliorer le pronostic de ces infections.

Remerciements

Nous remercions particulièrement le Professeur Dominique Chabasse et ses collaborateurs ainsi que toute l'équipe du BEH pour nous avoir permis d'utiliser certaines de leurs illustrations.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Pipet A, Mallet JP, Marty C, Sandron D, Benard L, Leberre JY, Thibaut F, Morin O, Bettembourg A. Mucormycoses pulmonaires : difficultés diagnostiques et thérapeutiques. *Revue des maladies respiratoires*, 2007 ; **24** : 617-21.
- (2) Bitar D, Lortholary O, Dromer F, Coignard B, Che D. Mycoses invasives en France métropolitaine, PMSI 2001-2010 : incidence, létalité et tendances. *Bulletin Épidémiologie Hebdomadaire* 2013 ; **12-13** : 109-14.
- (3) Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, Knudsen TA, Sarkisova TA, Schaufele RL, Sein T, Chiou CC, Chu JH, Kontoyiannis DP, Walsh TJ. Epidemiology and outcome of Zygomycosis: a review of 929 reported cases. *Clinical Infectious Diseases* 2005 ; **41** : 634-53.
- (4) Chayakulkeeree M, Ghannoum MA, Perfect JR. Zygomycosis: the re-emerging fungal infection. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2006 ; **25** : 215-29.
- (5) Ribes JA, Vanover-Sams CL, Baker DJ. Zygomycetes in human disease. *Clinical Microbiology Reviews* 2000 ; **13** : 236-301.
- (6) Chabasse D, Contet-Audonnet N, Bouchara JP, Basile AM. Moisissures, dermatophytes, levures - Du prélèvement au diagnostic. *Biomériques Éducation éd.*, 2008.
- (7) Chabasse D, Guiguen C, Contet-Audonnet N. *Mycologie médicale*, Masson, 1999.
- (8) Chabasse D, Bouchara JP, de Gentile L, Brun S, Cimon P, Penn P. Les moisissures d'intérêt médical. *Bioforma Cahier de formation Biologie médicale* 2002 ; **25** : 26-45.
- (9) Herbrecht R, Chabasse D. Zygomycoses (I) : généralités et mucormycoses. Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Elsevier, Paris), *Maladies infectieuses* 1999 ; 8-614-B-10, 8p.
- (10) Ayadi-Kaddour A, Braham E, Ismail O, Saiji E, Bourguiba M, Zaïmi M, Zoghalmi F, El Mezni F. Mucormycose pulmonaire : à propos de deux cas. *Revue de Pneumologie Clinique* 2006 ; **62** : 37-42.
- (11) Bhadada S, Bhansali A, Reddy KSS, Bhat RV, Khandelwal N, Gupta AK. Rhino-orbito-cerebral Mucormycosis in type 1 diabetes mellitus. *Indian Journal of Pediatrics* 2005 ; **72** : 671-4.
- (12) Chérif R, Ben Ali A, Gastli M, Chaker E, Daoud A. Zygomycose (mucormycose) rhino-orbito-cérébrale avec diabète insipide. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation* 1995 ; **14** : 41-4.
- (13) Zarei M, Morris J, Aachi V, Gregory R, Meanock C, Brito-Babapulle F. Acute isolated cerebral mucormycosis in a patient with high grade non-Hodgkins lymphoma. *European Journal of Neurology* 2000 ; **7** : 443-7.
- (14) Slama A, Saghrouni F, Gaied-Meksi S, Mootemri R, Fathallah A, Khohtali H, Ben Said M. Mucormycose post-traumatique de la face : à propos d'un cas. *Journal de Mycologie Médicale* 2008 ; **18** : 111-5.
- (15) Chadli-Chaieb M, Bchir A, Fathallah-Mili A, Ach K, Maaroufi A, Garrouche A, Chaieb L. La mucormycose chez le diabétique. *Presse Médicale* 2005 ; **34** : 218-22.
- (16) Nirmala SVSG, Lalitha V, Sivakumar N, Kiran Kumar K, Srikanth M. Mucormycosis associated with juvenile diabetes. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 2011 ; **29** : 87-91.
- (17) Ameen M, Arenas R, Martinez-Luna E, Reyes M, Zacarias R. The emergence of mucormycosis as an important opportunistic fungal infection: five cases presenting to a tertiary referral center for mycology. *International Journal of Dermatology* 2007 ; **46** : 380-4.
- (18) Rogers GM, Larson JM, Carter KD. Invasive fungal orbitorhinocerebral mucormycosis. *Eyewounds.org*, 2010.
- (19) Kitabayashi A, Hirokawa M, Yamaguchi A, Takatsu H, Miura AB. Invasive pulmonary Mucormycosis with rupture of the thoracic aorta. *American Journal of Hematology* 1998 ; **58** : 326-9.
- (20) Bansal M, Martin SR, Rudnicki SA, Hiatt KM, Mireles-Cabodevila E. A rapidly progressing Pancoast syndrome due to pulmonary mucormycosis: a case report. *Journal of Medical Case Reports* 2011 ; **5** : 388.
- (21) Funada H, Matsuda T. Pulmonary Mucormycosis in a hematology ward. *Internal Medicine* 1996 ; **35** : 540-4.
- (22) Petrikos G, Skiada A, Lortholary O, Roilides E, Walsh TJ, Kontoyiannis DP. Epidemiology and clinical manifestations of Mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases* 2012 ; **54** (Suppl 1) : S23-S34.

- (23) Smith JA, Kauffman CA. Pulmonary fungal infections. *Official Journal of the Asian Pacific Society of Respiriology* 2012 ; **17** : 913-26.
- (24) Lee FY, Mossad SB, Adal KA. Pulmonary Mucormycosis, the last 30 years. *Archives of International Medicine* 1999 ; **151** : 1301-9.
- (25) Li WF, He C, Liu XF, Wang SY, Qu JL, Lin ZF. A diagnosis neglected for 6 years: report of a misdiagnosed case of pulmonary mucormycosis and review of the literature. *Chinese Medical Journal* 2010 ; **123** : 2480-2.
- (26) Spira A, Brecher S, Karlinsky J. Pulmonary Mucormycosis in the setting of chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 2002 ; **69** : 560-3.
- (27) Pagano L, Offidani M, Fianchi L, Nosari A, Candoni A, Piccardi M, Corvatta L, D'Antonio D, Girmenia C, Martino P, Del Favero A, GIMEMA (Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell'Adulto) Infection Program. Mucormycosis in hematologic patients. *Haematologica* 2004 ; **89** (2) : 207-14.
- (28) Neofytos D, Horn D, Anaisie E, Steinbach W, Olyaei A, Fishman J, Pfaller M, Chang C, Webster K, Marr K. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clinical Infectious Diseases* 2009 Feb 1 ; **48** (3) : 265-73. doi: 10.1086/595846. Erratum : 2009 Mar ; **48** (5) : 690.
- (29) Chamilos G, Marom EM, Lewis RE, Lionakis MS, Kontoyiannis DP. Predictors of pulmonary Zygomycosis versus invasive pulmonary Aspergillosis in patients with cancer. *Clinical Infectious Diseases* 2005 ; **41** : 60-6.
- (30) Busca A, Limerutti G, Locatelli F, Barbui A, De Rosa FG, Falda M. The reversed halo sign as the initial radiographic sign of pulmonary zygomycosis. *Infection* 2012 ; **40** : 77-80.
- (31) Cooter RD, Lim IS, Ellis DH, Leitch IO. Burn wound Zygomycosis caused by *Apophysomyces elegans*. *Journal of Clinical Microbiology* 1990 ; **28** : 2151-3.
- (32) Kontogiorgi M, Floros I, Koroneos A, Vamvouka C, Panari O, Roussos C, Routsis C. Fatal post-traumatic zygomycosis in an immunocompetent young patient. *Journal of Medical Microbiology* 2007 ; **56** : 1243-5.
- (33) Skiada A, Petrikos G. Cutaneous zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5) : 41-5.
- (34) Mantadakis E, Samonis G. Clinical presentation of zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5) : 15-20.
- (35) Skiada A, Vrana L, Polychronopoulou H, Prodromu P, Chantzis A, Tofas P, Daikos GL. Disseminated zygomycosis with involvement of the central nervous system. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5) : 46-9.
- (36) Darodes de Tailly A. Aspects actuels du diagnostic, du traitement et de la prophylaxie des infections fongiques en post-greffe. *Médecine et Maladies Infectieuses* 1999 ; **29** : 779-84.
- (37) Dannaoui E, Schwarz P, Slany M, Loeffler J, Tomine-Jorde A, Cuenca-Estrella M, Hauser PM, Shrief R, Huerre M, Freiburger T, Gaustad P, Rodriguez-Tudela JL, Bille J, Denning DW, Bretagne S, Lortholary O. Molecular detection and identification of Zygomycetes species from paraffin-embedded tissues in a murine model of disseminated Zygomycosis: a collaborative ESCMID-EFISG evaluation. *Journal of Clinical Microbiology* 2010 ; **48** : 2043-6.
- (38) Chabasse D, Contet-Audonnet N. Examen direct et place de l'histologie en mycologie. *Revue Française des Laboratoires* 2013 ; 49-54.
- (39) Kontoyiannis DP, Lewis RE, Lortholary O, Spellberg B, Petrikos G, Roilides E, Ibrahim A, Walsh TJ. Future directions in Mucormycosis research. *Clinical Infectious Diseases* 2012 ; **54** (Suppl 1) : S79-S85.
- (40) Lass-Flörl C. Zygomycosis: conventional laboratory diagnosis. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5) : 60-5.
- (41) Schwarz P, Bretagne S, Gantier JC, Garcia-Hermoso D, Lortholary O, Dromer F, Dannaoui E. Molecular identification of Zygomycetes from culture and experimentally infected tissues. *Journal of Clinical Microbiology* 2006 ; **44** : 340-9.
- (42) Grillot R. Les mycoses humaines : démarche diagnostique, 1996.
- (43) Schwarz P, Lortholary O, Dromer F, Dannaoui E. Carbon assimilation profiles as a tool for identification of Zygomycetes. *Journal of Clinical Microbiology* 2007 ; **45** : 1433-9.
- (44) Million L, Larosa F, Lepiller Q, Legrand F, Rocchi S, Daguindau E, Scherer E, Bellanger AP, Leroy J, Grenouillet F. Quantitative polymerase chain reaction detection of circulating DNA in serum for early diagnosis of mucormycosis in immunocompromised patients. *Clinical Infectious Diseases* 2013 ; **56** : e95-101.
- (45) Voigt K, Gignel N, O'Donnell K. Phylogeny and PCR identification of clinically important Zygomycetes based on nuclear ribosomal-DNA sequence data. *Journal of Clinical Microbiology* 1999 ; **37** : 3957-64.
- (46) Dromer F, Lortholary O. Centre National de Référence Mycologie et Antifongiques : rapport d'activité 2011, Paris, 2012.
- (47) Bhatti Z, Shaikat A, Almyroutis NG, Segal BH. Review of epidemiology, diagnosis, and treatment of invasive moulds infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycopathologia* 2006 ; **162** : 1-15.
- (48) Cassagne C, Ranque S, Normand AC, Fouquet P, Thiebault S, Planard C, et al. Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *PLoS One* 2011 ; **6** (suppl 12) : e28425.
- (49) Van Veen SQ, Claas ECJ, Kuijper EJ. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *Journal of Clinical Microbiology* 2010 ; **48** (suppl 3) : 900-7.
- (50) Schrod W, Heydel T, Schwartz VU, Hoffmann K, Grosse-Herrenthey A, Walther G, et al. Direct analysis and identification of pathogenic lichtheimia species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight analyzer-mediated mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology* ; **50** (suppl 2) : 419-27.
- (51) Alastruey-Izquierdo A, Castelli MV, Cuesta I, Zaragoza O, Monzon A, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL. *In vitro* activity of antifungals against Zygomycetes. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5) : 71-6.
- (52) Maslin J, Develoux M. Actualités thérapeutiques des mycoses rares en dehors des mycoses opportunistes. *EMC. Maladies Infectieuses* 2004 ; 302-12.
- (53) Almyroutis NG, Sutton DA, Fothergill AW, Rinaldi MG, Kusne S. *In vitro* susceptibilities of 217 clinical isolates of Zygomycetes to conventional and new antifungal agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007 ; **51** : 2587-90.
- (54) Lantermier F, Lortholary O. Zygomycosis and diabetes mellitus. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5) : 21-5.
- (55) Pongas GN, Lewis RE, Samonis G, Kontoyiannis DP. Voriconazole-associated zygomycosis: a significant consequence of evolving antifungal prophylaxis and immunosuppression practices. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5), 93-7.
- (56) Petrikos G. Lipid formulations of amphotericin B as first-line treatment of zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5), 87-92.
- (57) Botterel F. Démarche diagnostique et prise en charge des infections fongiques chez les patients immunodéprimés. *Antibiotiques* 2007 ; **9** : 34-43.
- (58) Xhaard A, Lantermier F, Lortholary O. Infections émergentes : focus sur les zygomycoses. *Hématologie* 2008 ; **14**, n° spécial 4 : 29-36.
- (59) Krishnan-Natesan S, Manavathu EK, Alangaden GJ, Chandrasekar PH. A comparison of the fungicidal activity of amphotericin B and posaconazole against Zygomycetes *in vitro*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2009 ; **63** : 361-4.
- (60) van Burik JA, Hare RS, Solomon HF, Corrado ML, Kontoyiannis DP. Posaconazole as effective salvage therapy in Zygomycosis: a retrospective Summary of 91 cases. *Clinical Infectious Diseases* 2006 ; **42** : 61-5.
- (61) Paugam A. Actualités sur le posaconazole. *Médecine et maladies infectieuses* 2007 ; **37** : 71-6.
- (62) Mallié M, Bertout S. Caspofungine et mycoses à champignons rares : activité *in vitro* et *in vivo* chez l'animal et chez l'homme. *Journal de Mycologie Médicale* 2007 ; **17** : 25-32.
- (63) Spellberg B, Ibrahim A, Roilides E, Lewis RE, Lortholary O, Petrikos G, Kontoyiannis DP, Walsh TJ. Combination therapy for mucormycosis: why, what, and how? *Clinical Infectious Diseases* 2012 ; **54** (Suppl 1) : S73-788.
- (64) Tragiannidis A, Groll AH. Hyperbaric oxygen therapy and other adjunctive treatments for zygomycosis. *Clinical Microbiology and Infection* 2009 ; **15** (Suppl 5) : 82-6.
- (65) Lefebvre M, Alshawa K, Dupont B. L'activité antifongique des statines. *Journal de Mycologie Médicale* 2010 ; **20** : 212-7.
- (66) Ibrahim AS, Edwards Jr JE, Fu Y, Spellberg BJ. Deferiprone iron chelation as a novel therapy for experimental mucormycosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006 ; **58** : 1070-3.