

T. Gaillard*, A. Crémades**, O. Cathelinaud***, S. Crémades****,
P. Brisou*, J.-P. Terrier**, O. Gisserot****, Y. Muzellec*, J.-P. De Jaureguiberry****

Diagnostic d'une mucormycose

L'article développé sous cette rubrique correspond à l'adaptation d'un poster présenté dans le cadre des XV^{ème} Journées de Biologie de Marseille (9-10 septembre 2004, Marseille). L'objectif de cette rubrique s'appuie sur le concept éditorial de Spectra Biologie : le partage des connaissances dans le but d'améliorer la pratique et la performance du diagnostic.

I - Présentation du cas

Mme L., 79 ans, suivie depuis 2 ans pour une hypoplasie médullaire avec clone HPN, présente un état hématologique stable jusqu'en mai 2004. Le 17 mai 2004, elle est admise aux urgences pour syndrome fébrile à 38,2 °C dans un contexte d'altération de l'état général. L'hémogramme à l'entrée montre l'association d'une thrombopénie sévère, d'une anémie profonde, et une prolifération leucocytaire périphérique à $40 \times 10^9/l$ dont 40 % de blastes. Le myélogramme confirme l'infiltration blastique médullaire.

Dans ce contexte, Mme L. présente une blépharoconjonctivite majeure de l'œil droit traitée en ville depuis 2 jours par CHIBROCADRON. A l'entrée, la patiente se plaint d'une grande difficulté à l'ouverture palpébrale, d'une perception limitée de la lumière, mais en l'absence de toute douleur. A l'examen, on observe un volumineux œdème palpébral, une importante hyperémie oculaire, un prolapsus conjonctival sur un volumineux chémosis, une exophtalmie non réductible, avec un globe oculaire dur à la palpation (figure 1). Ce tableau est évocateur de cellulite orbitaire. Associée à ce tableau, une sinusite est évoquée. Une antibiothérapie et une corticothérapie à fortes doses sont instaurées. L'endoscopie nasale montre une déviation de la cloison vers la droite et des sécrétions épaisses au niveau du méat moyen droit. L'imagerie par tomodensitométrie (TDM) et IRM met en évidence une opacité ethmoïdo-maxillaire droite. L'angio IRM permet d'éliminer une thrombophlébite du sinus caverneux et du sinus longitudinal.



Figure 1
Nécrose orbitaire 3 jours après le début des symptômes conjonctivaux.

Devant cette symptomatologie préoccupante, une intervention chirurgicale immédiate est décidée. Une orbitotomie interne et une infundibulotomie droite avec ethmoïdectomie sont pratiquées (figure 2).

II - Observations et hypothèses

Le jour de l'admission, un bilan étiologique de la fièvre est réalisé ; il associe des hémocultures, un examen cytot bactériologique des urines et un écouvillonnage superficiel de la conjonctive. Sur ce dernier prélèvement, à l'examen du frottis coloré au Gram, on observe l'absence de polynucléaires et de germes. Les cultures bactériologiques sur milieux usuels et mycologiques sur milieu de Sabouraud restent négatives après 72 heures d'incubation. La recherche de *Chlamydia trachomatis* par amplification génique est infructueuse. Il en est de même de la recherche de virus Herpes simplex hominis 1 et 2 par immunofluorescence et culture sur cellules MRC5.

Lors de l'intervention chirurgicale, des prélèvements peropératoires sont réalisés pour examens ana-

*Laboratoire de Biologie Médicale

**Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

***Service d'Otho-Rhino-Laryngologie

****Service d'Oncologie-Hématologie

Hôpital d'Instruction des Armées Sainte Anne – 2 Bd Sainte Anne – BP 600 – 83800 Toulon Armées



Figure 2
Exérèse chirurgicale.

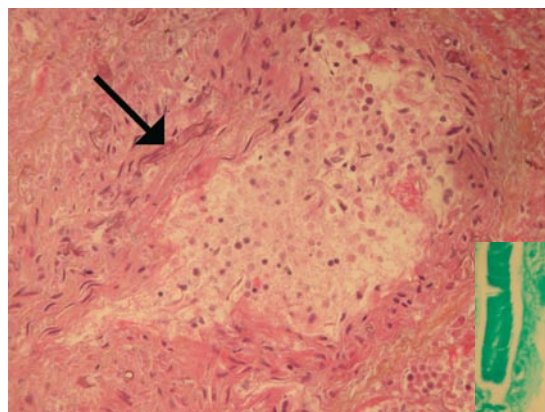


Figure 3
Coloration à l'hématine éosine des fragments peropératoires.

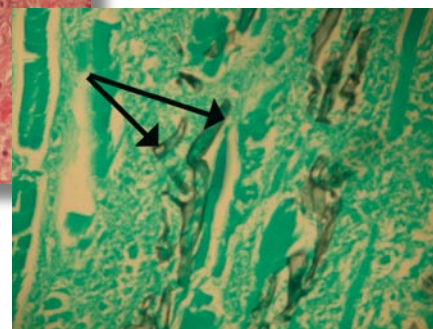


Figure 4
Coloration de Gomori-Grocott des fragments peropératoires (observation à l'objectif x 40).

tomo-pathologiques et microbiologiques.

Au laboratoire d'anatomo-pathologie, les biopsies issues de la cloison inter sino-nasale et de l'ethmoïde ont fait l'objet de différentes colorations. La coloration HES à l'hématine éosine met en évidence un tissu de granulations polymorphe et richement vascularisé comportant des foyers abcédés. Plusieurs éléments d'allure levuriforme ou filamenteux de coloration brunâtre et spontanément réfringents, présentant un tropisme vasculaire, sont individualisés (figure 3).

La coloration argentique de Gomori-Grocott (figure 4), permet de différencier les champignons levuriformes des champignons filamenteux et des champignons dimorphiques (1). A l'examen, on observe des filaments non septés de calibres irréguliers, permettant d'orienter le diagnostic vers une mucormycose.

Au laboratoire de microbiologie, chaque biopsie est ensemencée sur plusieurs milieux : gélose chocolat polyvitex incubée à 37 °C sous CO₂, gélose anaérobie incubée à 37 °C en anaérobiose, milieu de Schaedler, et gélose de Sabouraud-chloramphénicol incubée à 30 °C. Après 48 heures d'incubation, seules les géloses de Sabouraud sont positives, en concordance avec les résultats d'anatomo-pathologie ayant été transmis. Les colonies observées sont en faveur d'un champignon opportuniste, d'allure extensive, de couleur brun pâle, de texture laineuse, au verso incolore. L'examen microscopique entre lame et lamelle met en évidence des filaments larges, non septés, présentant des rhizoïdes (figure 5). Les sporocystophores sont courts, avec des ramifications subterminales en symposes (figure 6). Les sporocystes sont foncés, et renferment des spores globuleuses et lisses. Ces différents éléments sont en faveur du genre *Rhizomucor*.

III - Evolution

Un traitement par ABELCET® est entrepris à raison de 200 mg/j (3 mg/kg/j), associé à des pansements quotidiens et à des reprises chirurgicales locales. Après un mois de traitement, on observe une limitation nette de l'extension de la mucormycose et l'absence de tout signe d'invasion neuroméningée. Un relais par amphotéricine B par voie IV, à raison de 50 mg un jour sur deux, permet la poursuite du

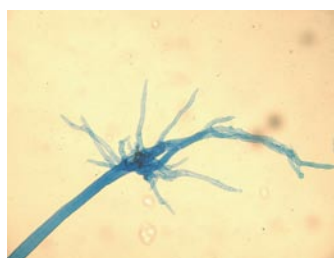


Figure 5
Observation microscopique entre lame et lamelle d'une culture de 3 jours - Rhizoïde (observation à l'objectif x 40)

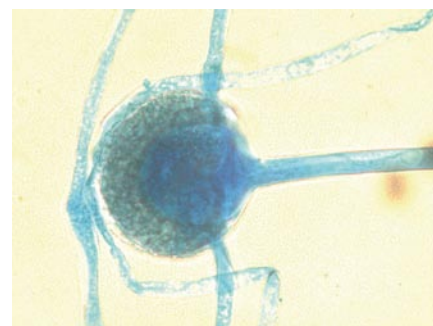
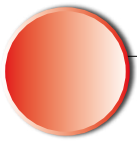


Figure 6
Détail d'un sporocystophore. (observation à l'objectif x 40)

contrôle local de la maladie.

Par ailleurs, la patiente a bénéficié d'une chimiothérapie de cytoréduction par ARACYTINE® et VEPESIDE® avec un très bon contrôle de la blastose circulante et une réduction très franche de l'infiltration médullaire, conduisant à un retour à l'hypoplasie médullaire connue.

Le bilan biologique à la sortie de l'hôpital, le 6 juin 2004, montre un état hématologique stationnaire avec $1,45 \times 10^9/l$ leucocytes dont $0,3 \times 10^9/l$ polynucléaires neutrophiles, une hémoglobine à 10,3 g/dl, et des plaquettes à $102 \times 10^9/l$. La créatininémie et



la calcémie sont normales, on note seulement une tendance à l'hypokaliémie du fait du traitement par amphotéricine B.

IV- Discussion

Les mucormycoses ou zygomycoses sont dues à des champignons appartenant à la classe des zygomycètes qui comprend trois ordres : mucorales, mortieralles et entomophthorales. Dans l'ordre mucorales, on distingue les genres suivants : *Abisidia*, *Cepphosomyces*, *Cunninghamella*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus* et *Syncephalostrum* (2, 3). Les membres du genre *Rhizomucor* sont des champignons filamenteux environnementaux, que l'on retrouve sur le sol, les végétaux en décomposition ou les déjections animales. La contamination la plus fréquente s'effectue par voie aérienne, mais ces agents opportunistes n'entraînent d'infections que sur des terrains immuno-déprimés.

Les infections généralisées peuvent survenir chez les patients diabétiques, sous corticothérapie au long cours, après transplantation d'organe, hémopathies malignes, traitement par déféroxamine et SIDA. Parmi les hémopathies malignes, les mucormycoses atteignent préférentiellement les leucémies aiguës et les lymphomes présentant une neutropénie profonde. Les leucémies aiguës, comme dans le cas que nous rapportons, représentent 70 à 80 % des hémopathies malignes concernées par ces infections. Elles restent relativement rares, avec une incidence de 1 % dans les hémopathies malignes, au second rang des infections fongiques invasives à champignons filamenteux, après les aspergilloses. Elles se caractérisent par un taux de mortalité élevé (70 %). Chez ces patients à risque, les mesures prophylactiques se résument à diminuer l'exposition aux pollutions environnementales par le placement en chambres équipées de système de filtration de l'air de type HEPA.

Les localisations initiales des zygomycoses invasives sont rhinocérébrales, cérébrales, pulmonaires, gastro-intestinales et cutanées. La localisation rhinocérébrale est la plus fréquente, et se caractérise par une symptomatologie non spécifique, rendant le diagnostic clinique difficile. Par ordre de fréquence décroissant, les symptômes observés dans cette forme clinique sont : l'œdème facial, une obstruction nasale, une douleur faciale, une rhinorrhée, une fièvre, une proptose, un chémosis, et une destruction palatine. Nous remarquons que dans notre observation la patiente ne s'est pas plainte de douleur faciale.

Dans un contexte de gravité des affections sous-jacentes, il est primordial d'effectuer un diagnostic rapide des infections à mucormycose, dont l'évolution peut être rapidement non maîtrisable par la thérapeutique. Le diagnostic relève souvent de prélèvements invasifs, recueillis au moment de l'intervention chirurgicale, notamment dans les formes rhinosinusiennes (4). Cependant, on peut signaler la possibilité de recourir à d'autres

prélèvements, parfois moins performants car peu abondants en champignons pulmonaires : liquides de lavage broncho-alvéolaire et expectorations, sinusaux par endoscopie nasale ou ponction.

Au laboratoire, le diagnostic reste délicat à établir car les éléments fongiques sont rares ou répartis de manière hétérogène dans les fragments tissulaires. Les techniques de prélèvement, grattage ou aspiration, ont tendance à fragmenter les éléments fongiques, qui deviennent invisibles à l'analyse microscopique et impropres à la culture. En cas de contexte clinique et d'examens radiologiques évocateurs d'une mucormycose, la culture de pièces tissulaires non découpées est à privilégier. Il n'existe actuellement pas de technique de sérologie commercialisée permettant le diagnostic de mucormycose.

D'un point de vue thérapeutique, si un débridement chirurgical large ne peut être réalisé en raison de la localisation du champignon, l'amphotéricine B en monothérapie peut être utilisée, sans que l'on puisse préjuger du succès d'un tel traitement (5). Le traitement d'une mucormycose chez un patient immunodéprimé repose sur la correction de la neutropénie, une chirurgie agressive destinée à stériliser les tissus atteints, et sur la prescription d'un traitement antifongique (5, 6, 7). Le traitement antifongique de choix repose sur l'amphotéricine B. Compte-tenu des effets néfastes de l'amphotéricine B injectable, en particulier sur la fonction rénale, on privilégie la forme lipidique (ABELCET®). Ce traitement est poursuivi habituellement pendant 3 mois. Les nouvelles molécules voriconazole et caspofungine sont inefficaces dans cette indication.

L'instauration de tels traitements impose une surveillance locale, loco-régionale et générale. La surveillance locale vise à identifier les zones nécrotiques, qui bénéficieront d'un débridement chirurgical. La surveillance loco-régionale a pour but de vérifier l'absence de prolifération de l'infection fongique par des scanners ou IRM cérébraux. Enfin, la surveillance générale repose sur le suivi de la maladie sous-jacente et des effets indésirables des traitements prolongés par amphotéricine B.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) HOFMAN P, HUERRE M. Rôle du cytopathologiste pour la détection et l'identification des agents pathogènes. *Ann Pathol.*, 2002; **22**, 289-304.
- (2) EUCKER J, SEZER O, GRAF B, POSSINGER K. Mucormycoses. *Mycoses*, 2001, **44** (7-8), 253-260.
- (3) RIBES J.A., VANOVER-SAMS C.L., BAKER D.J. Zygomycetes in human disease. *Clin. Mic. Rev.* 2000, **13** (2), 236-301.
- (4) SMILEK P., CADA K., WOTKE J. Rhinocerebral mucormycosis. *ORL Nova*, 1998, **8**, 258-261.
- (5) PAGANO L, OFFIDANI M, FIANCHI L, NOSARI A, CANDONI A, PICCARDI M, CORVATTA L, D'ANTONIO D, MARTINO P, DEL FAVERO A. Mucormycosis in hematologic patients. *Haematologica*, 2004, **89**, 207-214.
- (6) MA B., SEYMOUR J.F., JANUSZEWICZ H., SLAVIN MA. Cure of pulmonary rhizomucor pusillus infection in a patient with hairy-cell leukemia: role of liposomal amphotericin B and GM-CSF. *Leuk. Lymphoma*, 2001, **42** (6), 1393-1399.
- (7) DENNING D.W., KIBBLER C.C., BARNES R.A. British Society for Medical Mycology proposed standards of care for patients with invasive fungal infections. *Lancet Infect. Dis.*, 2003, **3**, 230-240.