

Rapport annuel d'activité

2015

**Centre national de référence
Mycoses Invasives et
Antifongiques**

Responsables

Pr. Françoise Dromer
Pr. Stéphane Bretagne, adjoint
Pr. Olivier Lortholary, adjoint

Collaborateurs

M. Alexandre Alanio, médecin mycologue
Mme Anne Boullié, technicienne
Mme Reine Bouysié, secrétaire
Mme Marie Desnos-Ollivier, ingénieur
Mme Dea Garcia-Hermoso, ingénieur
M. Damien Hoinard, technicien
Dr. Charlotte Renaudat, biostatisticienne
Dr. Karine Sitbon, médecin d'études cliniques

**Année
d'exercice**

2014

Sérologie des mycoses exotiques (électrosynérèse)

Cette technique est définitivement abandonnée par le CNRMA (depuis le 1^{er} janvier 2013) **en raison de ses mauvaises performances**. 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 depuis 9 ans, moins de 8% étaient positives, mais avec de grandes différences en fonction du contexte clinique (<4% de positivité de la sérologie histoplasmoses 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 d'établir le diagnostic dans la quasi-totalité des cas d'histoplasmoses disséminées.

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. La majorité des techniques commercialisées n'a pas été validée par rapport aux techniques de référence, et 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). En pratique, un laboratoire utilisant les bandelettes E-test ne devrait donc pas rendre un résultat S ou R, mais seulement interpréter le résultat comme conforme ou aberrant (> 2 dilutions en log₂) par rapport à la base de données dont il dispose pour les isolats de la même espèce testés dans les mêmes conditions localement.

La meilleure solution est toujours de bien identifier l'espèce et de considérer qu'en l'absence de pression antifongique, les isolats d'une même espèce ont un profil sauvage et qu'il est donc, par exemple, inutile de tester une souche de *Candida albicans*, même isolée d'une hémoculture, s'il n'y a eu de pré-exposition à un antifongique. L'alternative en cas d'espèce rare ou de pression antifongique antérieure, est d'envoyer l'isolat responsable de mycose invasive au CNRMA.

10.5 Techniques transférées par le CNRMA

Le CNRMA transfère vers les CC-CNRMA les techniques d'identification moléculaire et en particulier la technique d'extraction de l'ADN, les amorces⁵⁹ et paramètres d'amplification utilisées pour le séquençage des régions ITS de l'ADN ribosomique des levures et champignons filamenteux (Figure 27). Voici résumé le protocole d'amplification utilisé pour amplifier ces régions avec les couples d'amorces V9D/LS266 ou ITS5/LS266.

⁵⁹ White TJ, *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds), PCR Protocols. San Diego: Academic.1990; 315.