

# **Diagnostic des mycoses superficielles**

---

**Pr Ag Anane Sonia**  
**Faculté de Médecine de Tunis**

# Diagnostic



## Examen mycologique



- Confirmer l'origine mycosique
- Eliminer les diagnostics différentiels
- Connaître l'origine de contamination
- Adapter le traitement

# Champignons responsables

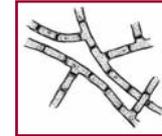
Levures



*Candida* sp

*Malassezia* sp

Champignons filamenteux



Dermatophytes

Moisissures

# Examen mycologique

---

➤ Comporte 4 étapes :

1-Prélèvement

2-Examen direct

3-Culture

4-Identification

# 1-Prélèvement:

- **Conditions :**

- Avant traitement antifongique

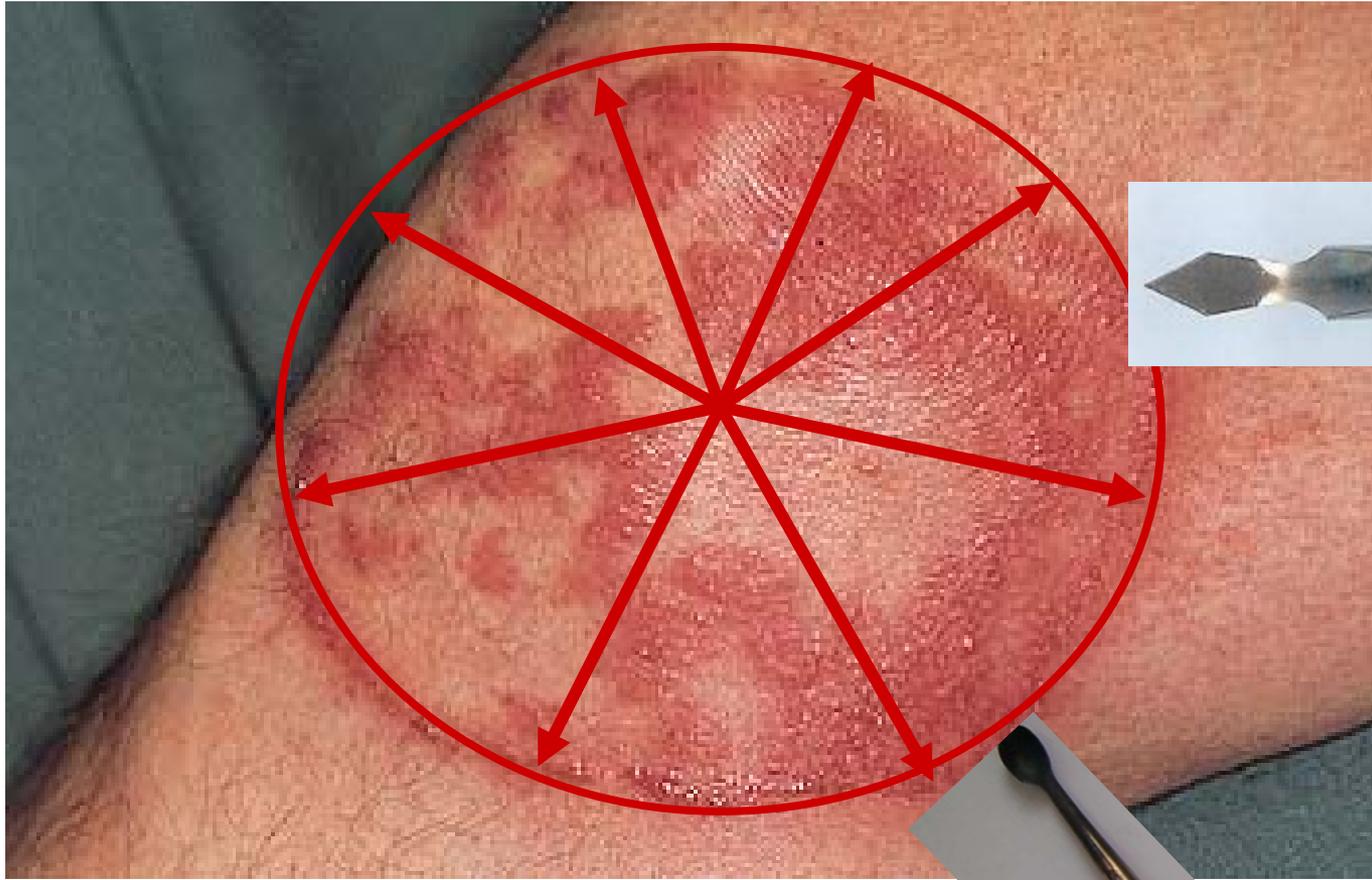
**OU**

- après arrêt du traitement : 2 S ou 2 mois.

- Asepsie

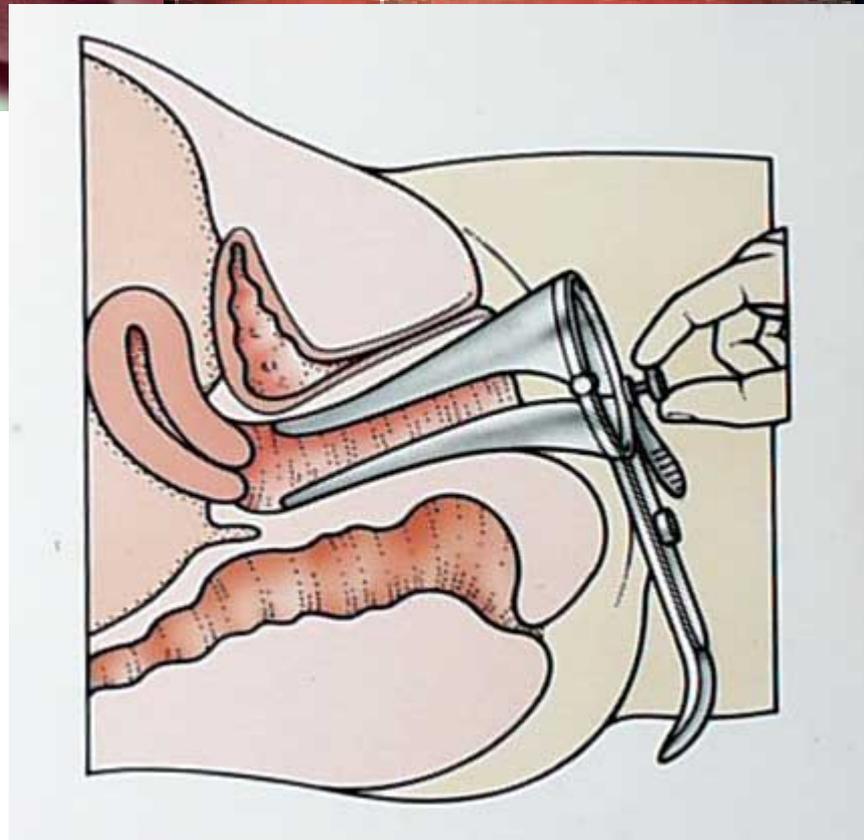
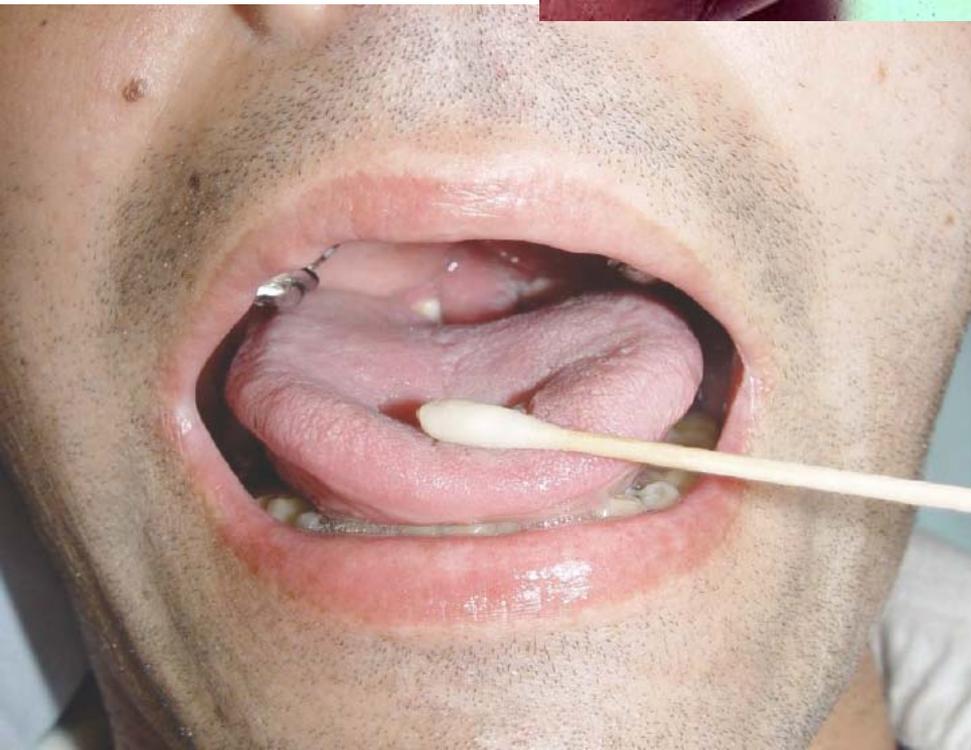
- Partie vivante du champignon













**Scotch test cutané**

## **2-Examen direct:**

### ➤ **Modalités :**

-Eclaircissant :

→ Potasse 30 %, Chloral-lactophénol

-Eau physiologique : muqueuses

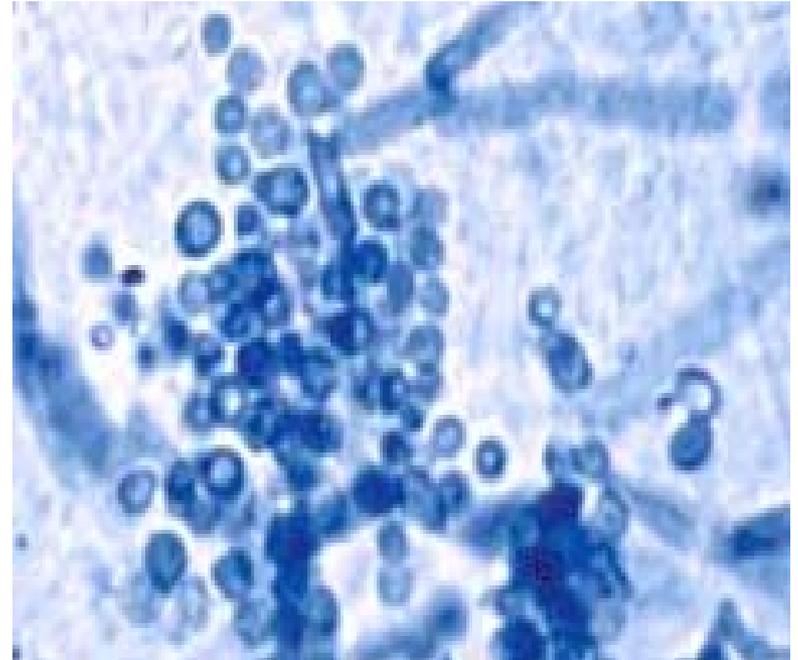
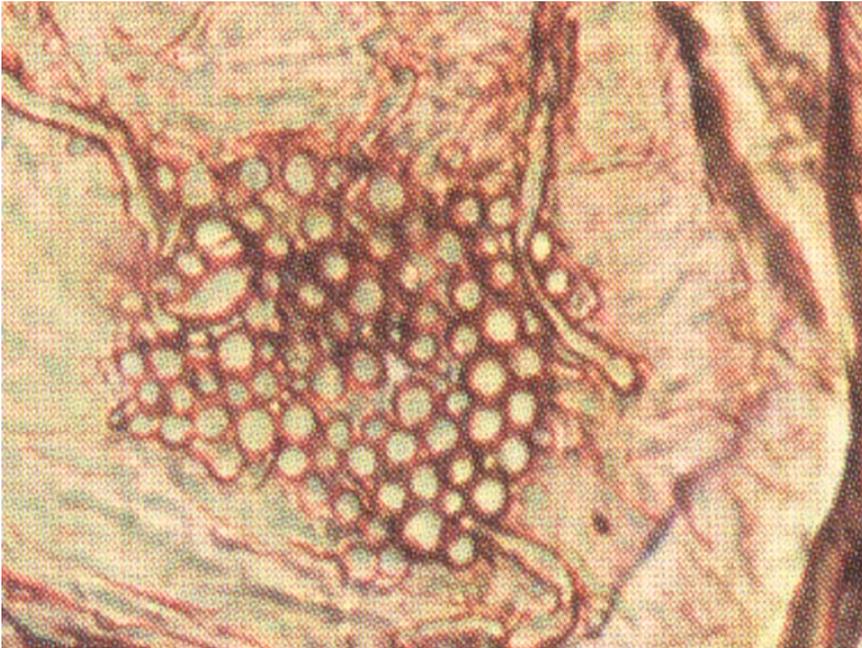
-Colorants : noir chlorazol, bleu coton

-Fluorochromes : Calcofluor

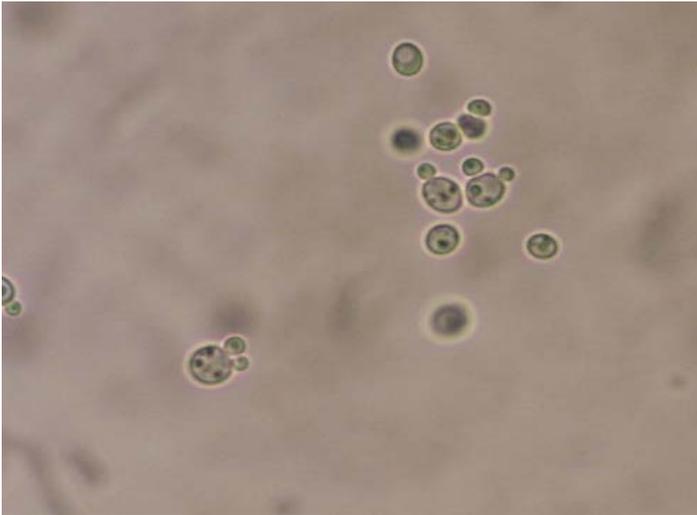
➤ **Intérêt :**

➔ **Diagnostic immédiat :**

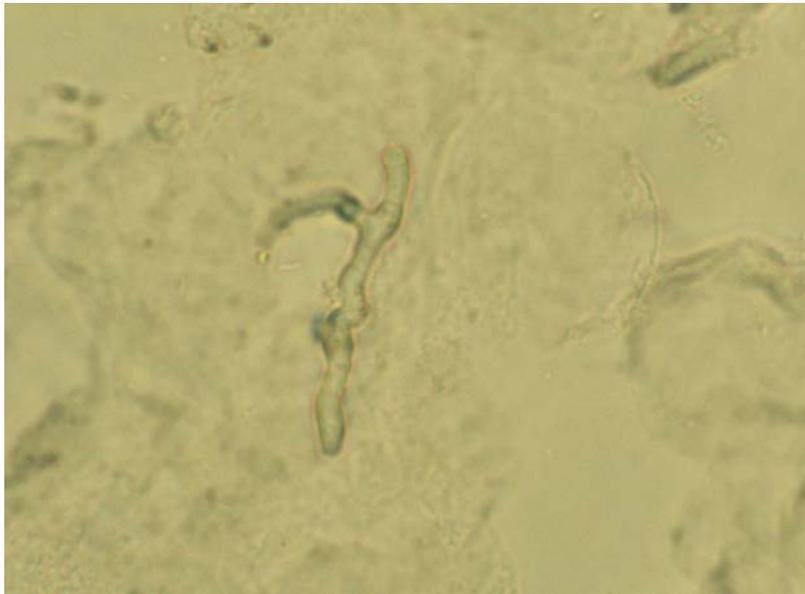
**Pityriasis versicolor :**



**→ Orientation du diagnostic:**



**→ Candidose**



**→ Dermatophytose**  
**Ou**  
**Mycose à moisissures**

## 3-Culture:

- **Intérêt :**
  - Augmente la sensibilité de l'examen direct
  - Précise le genre et l'espèce du champignon
  - Intérêt thérapeutique et épidémiologique
  - Réaliser un antifongogramme
  - Réaliser une numération des levures
- **Ensemencement : Sabouraud**
  - Milieu Sabouraud-Chloramphenicol
  - + Milieu Sabouraud-Chloramphenicol-Actidione
- **Incubation :**
  - Peau et phanères : 25°C
  - Muqueuses : 37°C
- **La lecture :** 24-48 h, tous les 5 jours jusqu'à 6 semaines.

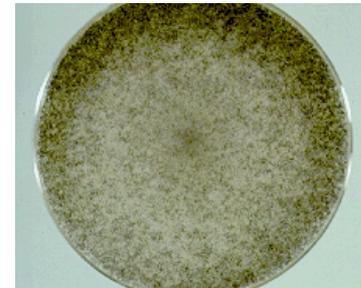
## 4-Identification :

✓ **Vitesse de croissance et aspect macroscopique**

• **Levures : 1-2 j**



• **Moisissures : 3-5j**



• **Dermatophytes : 6-30j**





# Identification des dermatophytes

---

# Examen direct

➤ Peau et ongles :

→ Filaments mycéliens

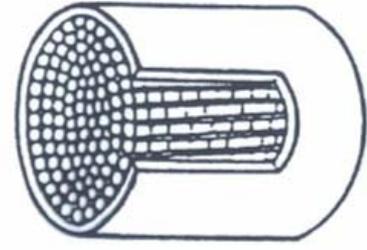
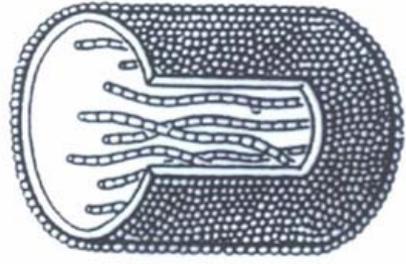




**Teignes ecto-endothrix**

**Teignes endothrix**

**Teignes tondantes**

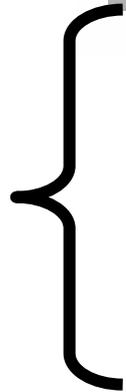
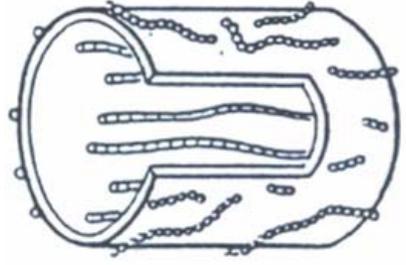


**Teigne microsporique**

**Teigne trichophytique**

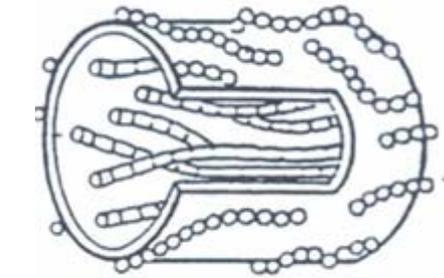
**Teignes inflammatoires**

**Favus**



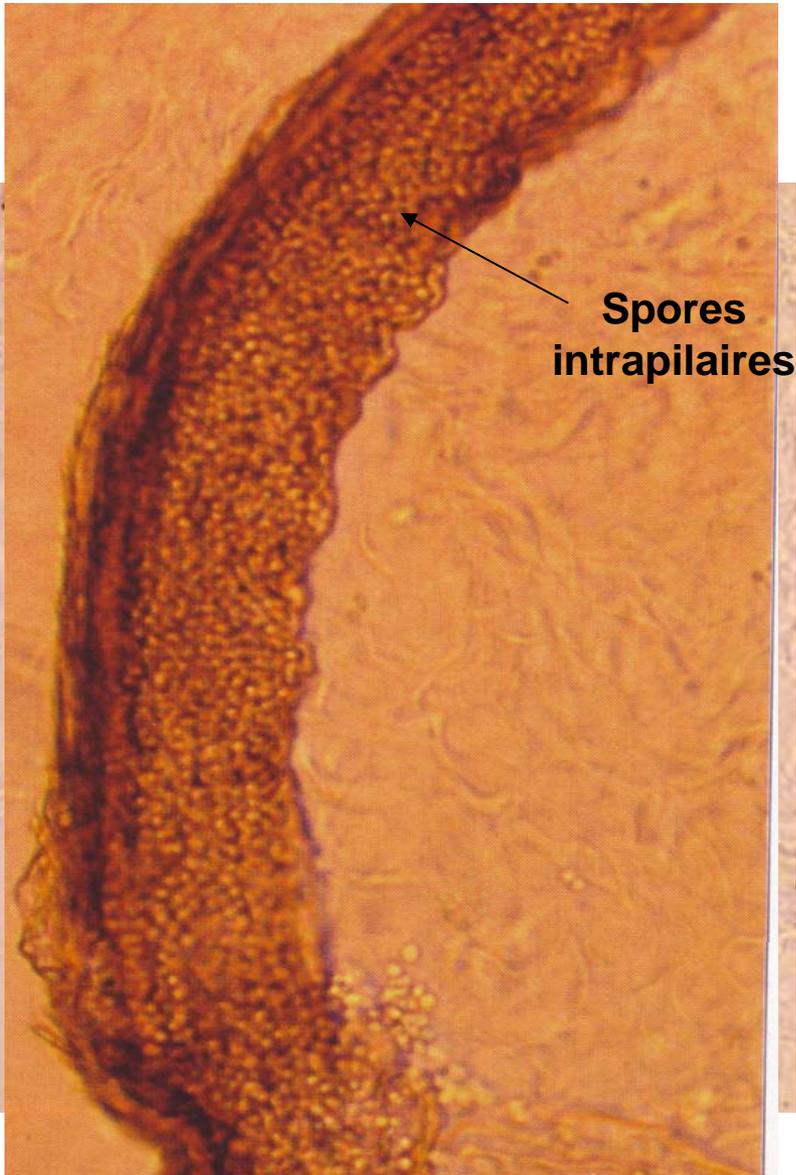
**Teigne microïde**

**Teigne favique**

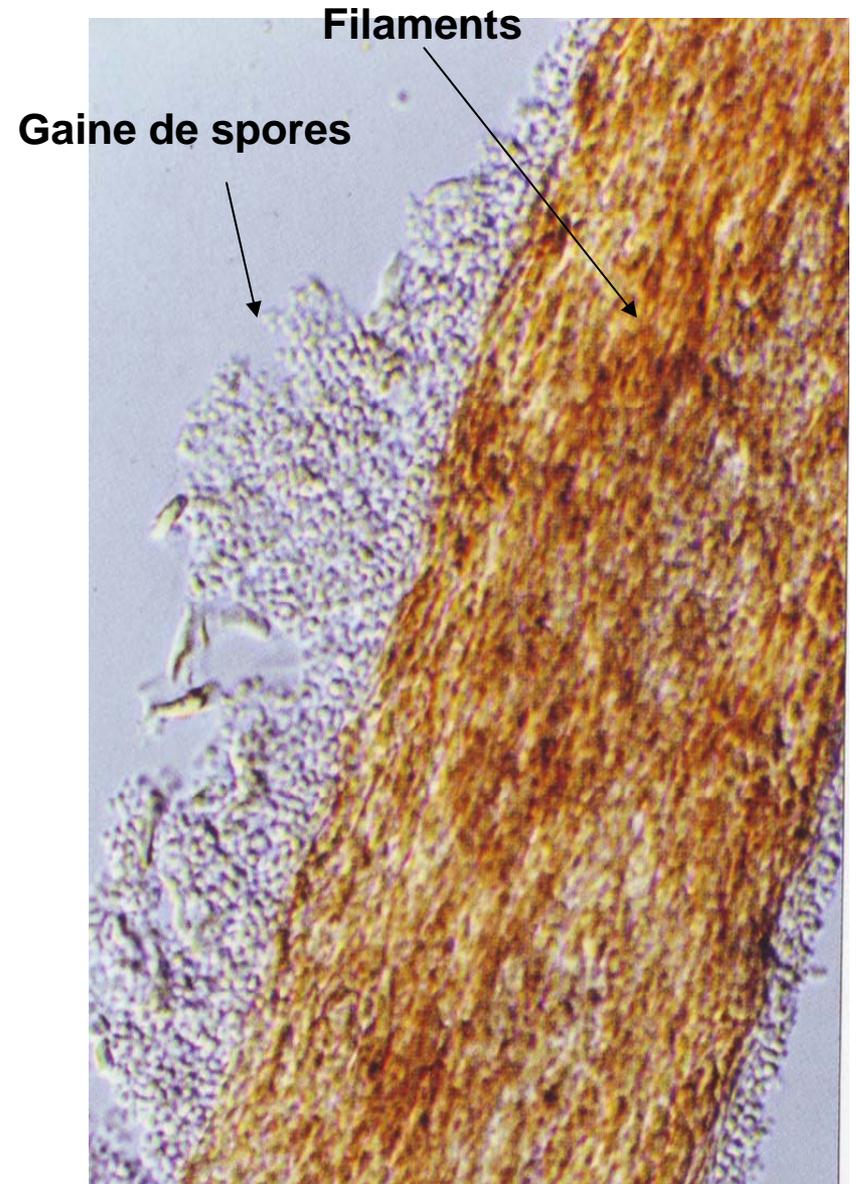


**Teigne mégasporique**

# Teignes tondantes



Teigne trichophytique (endothrix)



Teigne microsporique (ecto-endothrix)

# Teigne favique



**Tarses faviques**

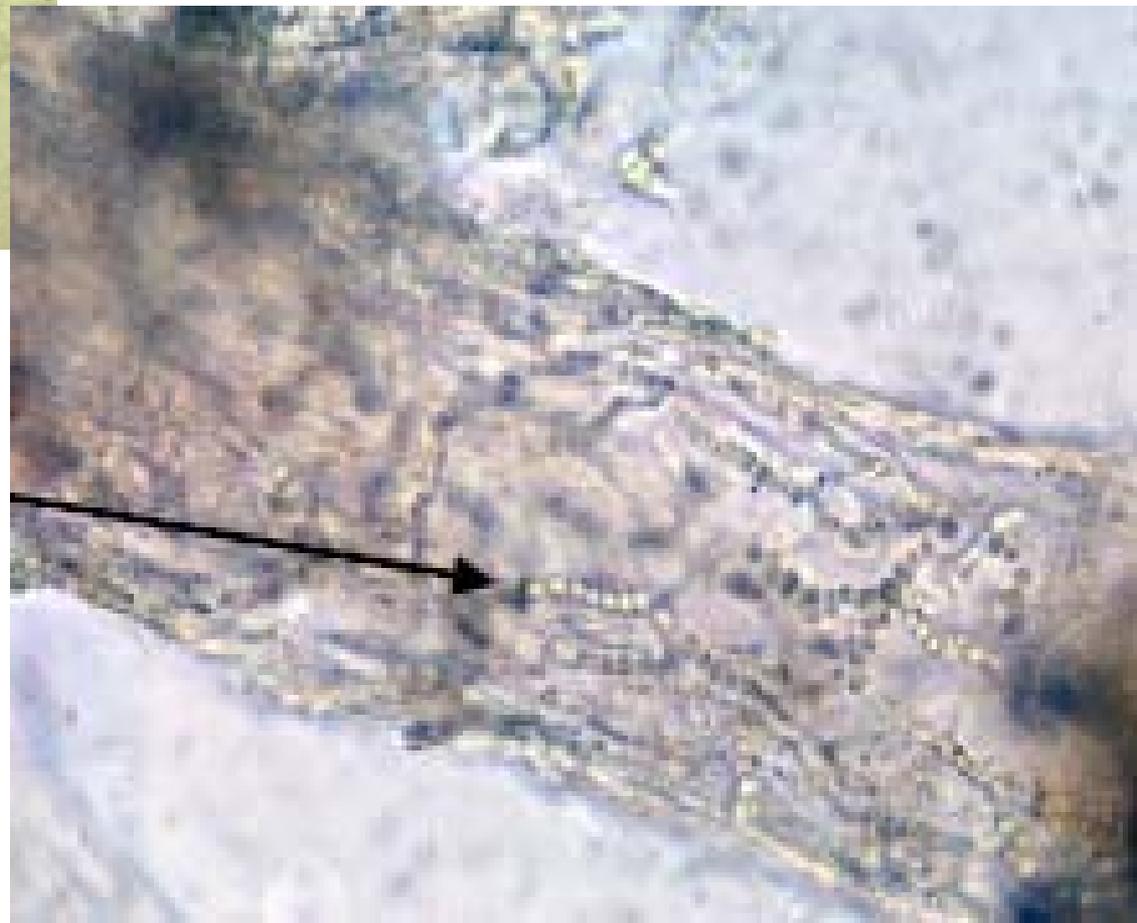




# Teignes inflammatoires



Teigne microïde



Teigne mégasporique



# Identification des dermatophytes

---

✓ **Vitesse de croissance**

✓ **Examen macroscopique :**

Aspect, couleur... recto-verso

✓ **Examen microscopique :**

\*Dilacération d'un fragment de culture :  
éclaircissant, colorant.

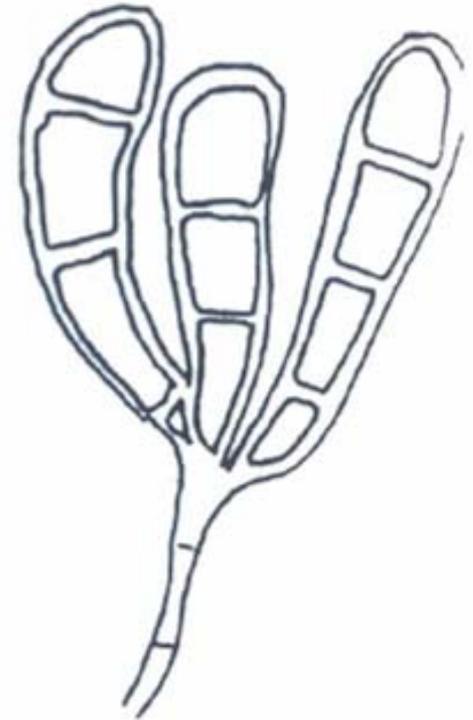
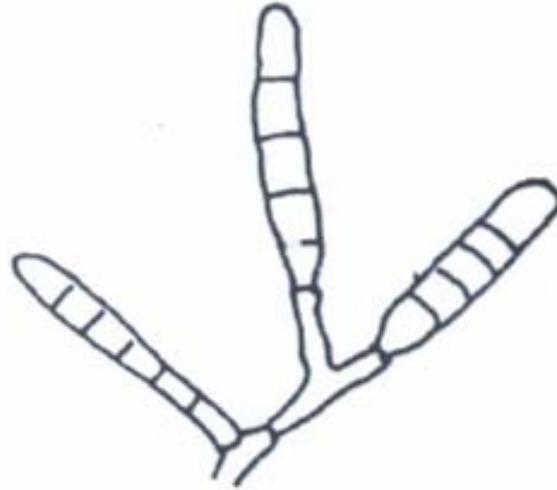
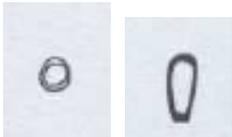
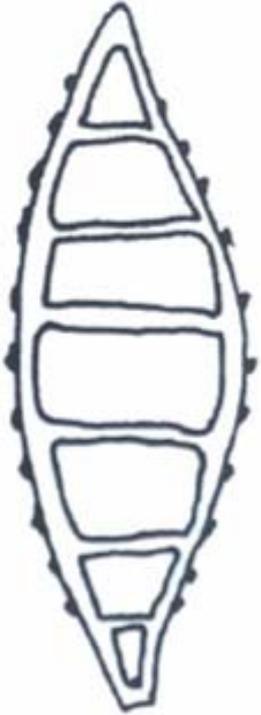
\*Scotch test ou technique de drapeau 

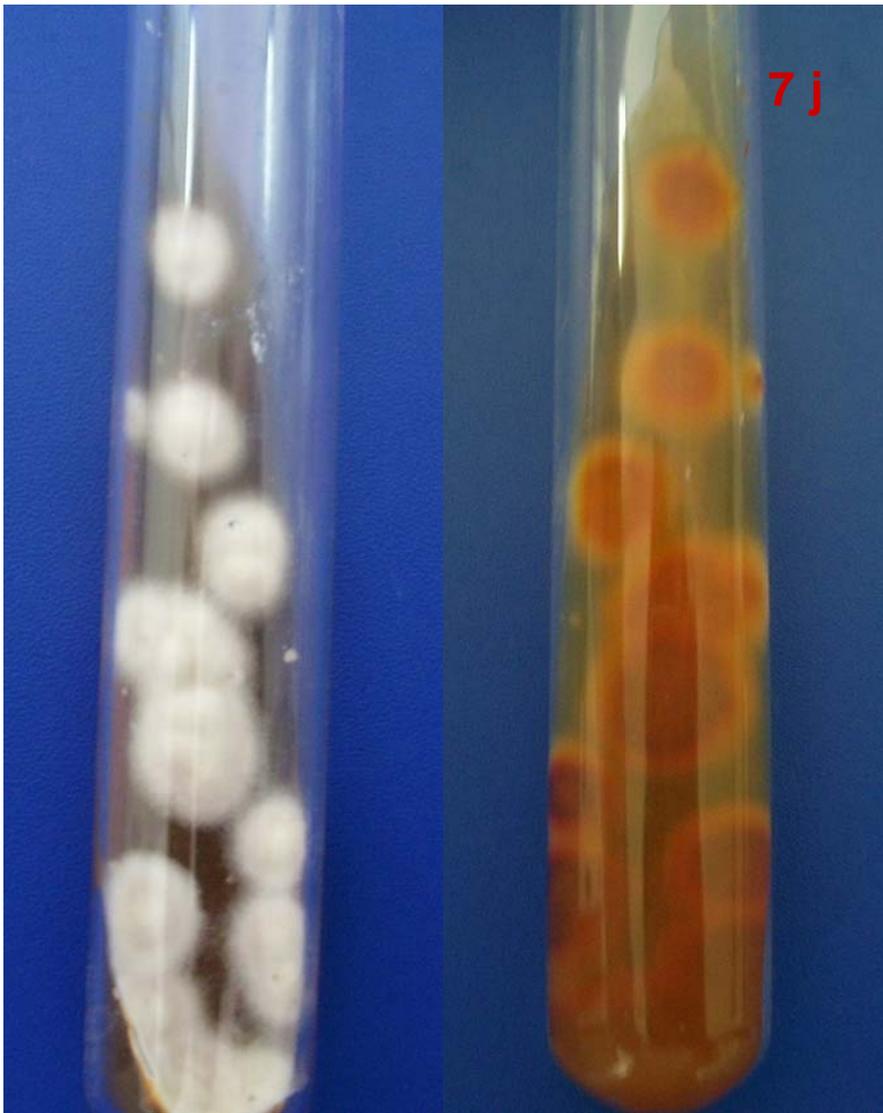


Genre *Microsporium*

Genre *Trichophyton*

Genre *epidermophyton*



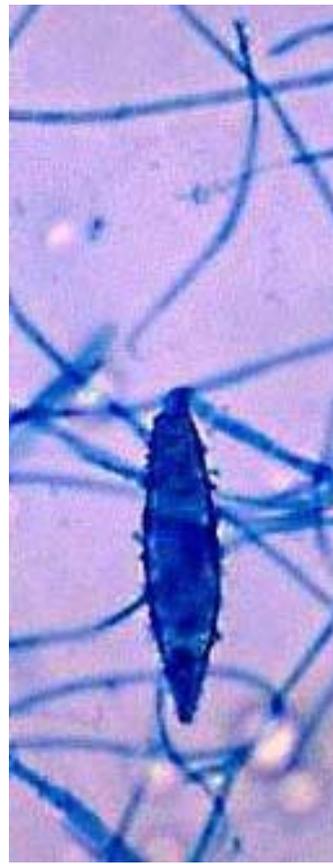


Examen macroscopique



Examen microscopique

*Trichophyton rubrum*

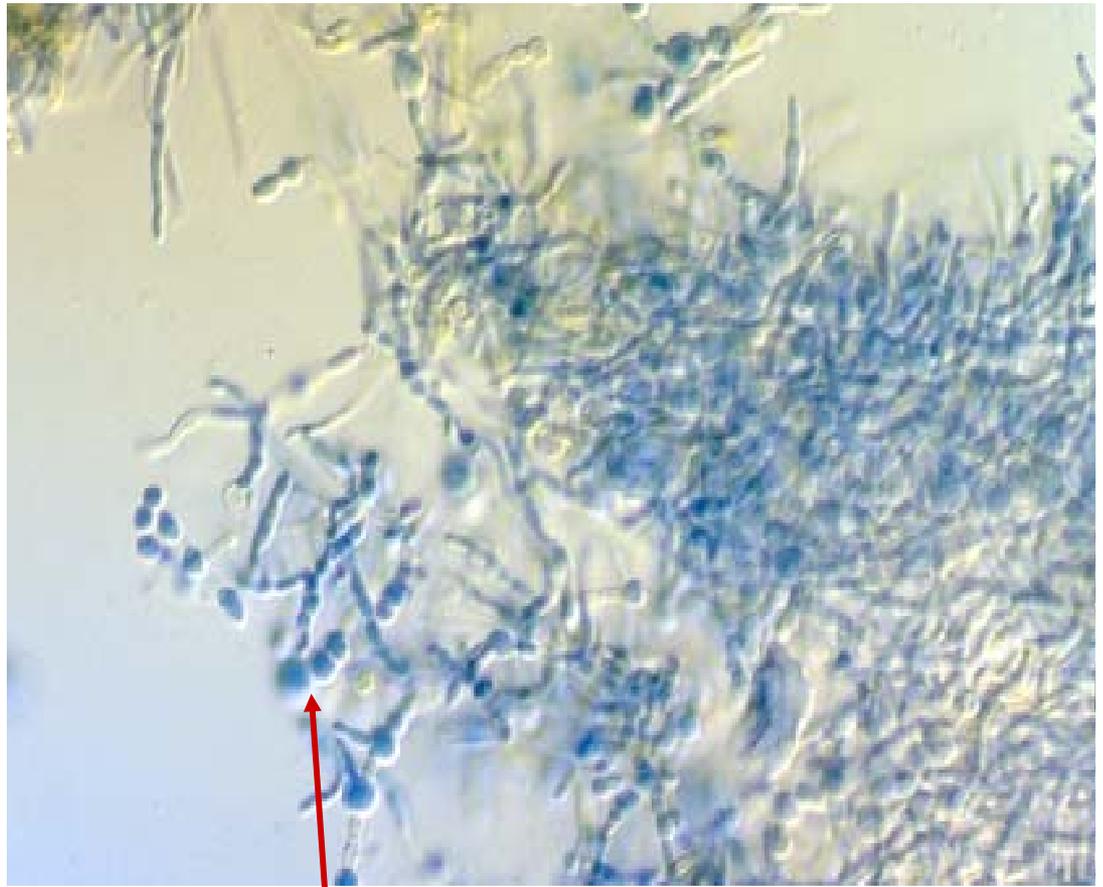
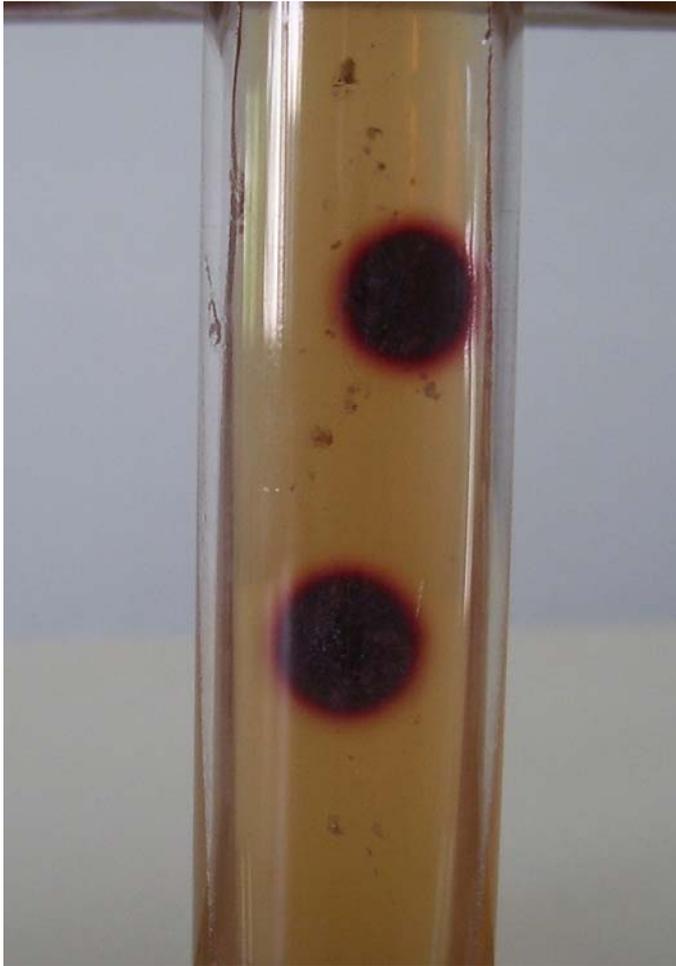


**Examen macroscopique**

**Exame**

***Microsporium canis***

**(5 à 6 j)**



**Chlamydospores**

***Trichophyton violaceum* (15-21j)**



## ✓ Identification impossible :

- \* Culture négative : 15-25% des prélèvements d'ongles

- \* Pas de sporulations :

- repiquage sur milieux pauvres /eau gélosée

- culture sur lame 

- méthodes de biologie moléculaire :

  - séquençage de la région ITS du r DNA +++<sup>1</sup>

## ✓ Autres applications de la biologie moléculaire :

- \* Augmente la sensibilité<sup>2</sup>

- \* Typage : intérêt épidémiologique

- \* Diagnostic rapide : PCR en temps réel <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kong F et al. J Clin Microbiol 2008; 46 : 1192-9

<sup>2</sup>Uchida T et al. J Dermatol 2009; 36 : 202-8

<sup>3</sup>Bergmans AM et al. Clin Microbiol Infect 2010; 16 : 704-10



# Onychodiag (BioAdvance)



- 1-Extraction d'ADN
- 2-Amplification par PCR
- 3-Révélation en ELISA



- Résultats : «Dermatophyte»  
(sans préciser l'espèce)
- Cas + avec les moisissures



# Identification des levures du

---

**genre *Candida***

---



# Levures du genre *Candida*

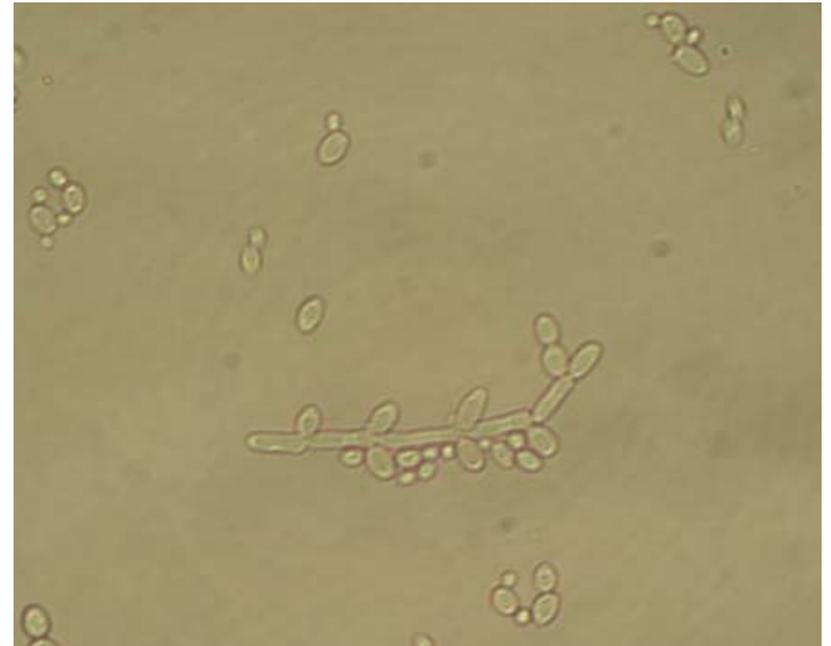
- ***Candida albicans* :+++**
  - saprophyte du tube digestif et des voies urogénitales
  - ≠ *Candida dubliniensis* (1995)
- *Candida glabrata*
- *Candida parapsilosis*
- *Candida tropicalis*
- *Candida krusei*

# Culture sur milieu Sabouraud

## Examen macroscopique



## Examen microscopique



**Levures ± pseudofilaments**



# Moyens d'identification sur milieu Sabouraud

---

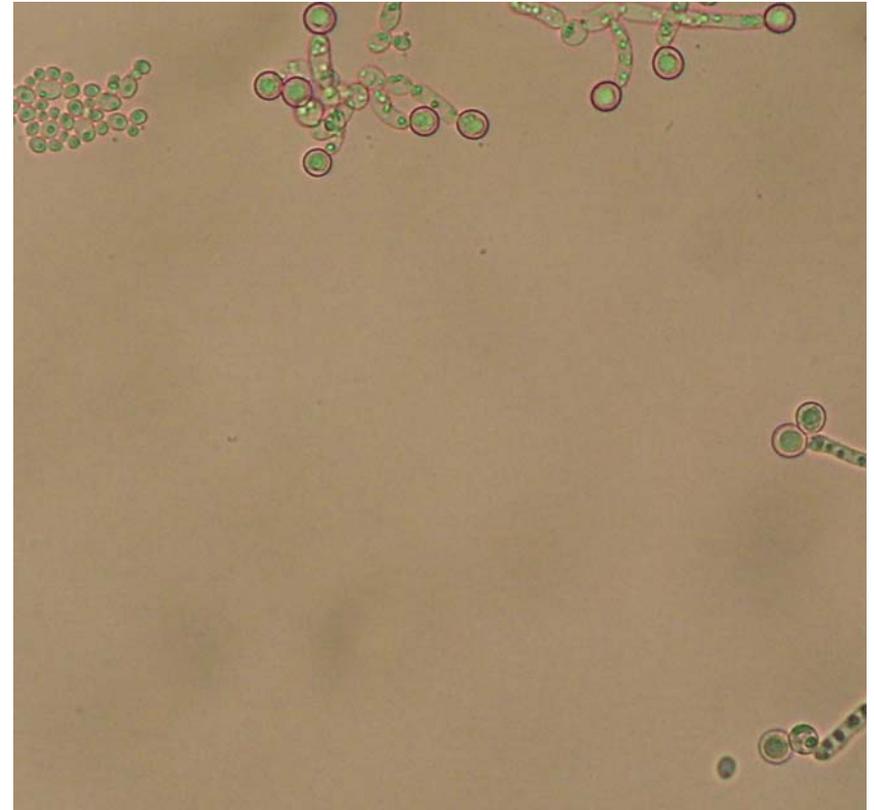
- Résistance à l'Actidione
- Test de filamentation sur sérum (3 H) ■
- Test de chlamydosporulation sur des milieux pauvres(48 H):
  - Riz agar tween (RAT)
  - Pomme de terre carotte bile (PCB) ■
- Test d'assimilation des sucres : Auxanogramme (48 à 72 H) ■
- Tests d'identification rapide :
  - RTT *glabrata* : test enzymatique (4 H) ■
  - Tests d'agglutination sur des particules de latex : anticorps monoclonaux (15 min) ■

# Autres moyens d'identification de *C.dubliniensis*

- Milieux d'identification : Sunflower agar, Tobacco agar....



***Candida dubliniensis***



***Candida albicans***

# Démarche d'identification



## Levures du genre *Candida*

Sabouraud Actidione +

Sabouraud Actidione -

Test de chlamydosporulation Ou tests rapides

+

-

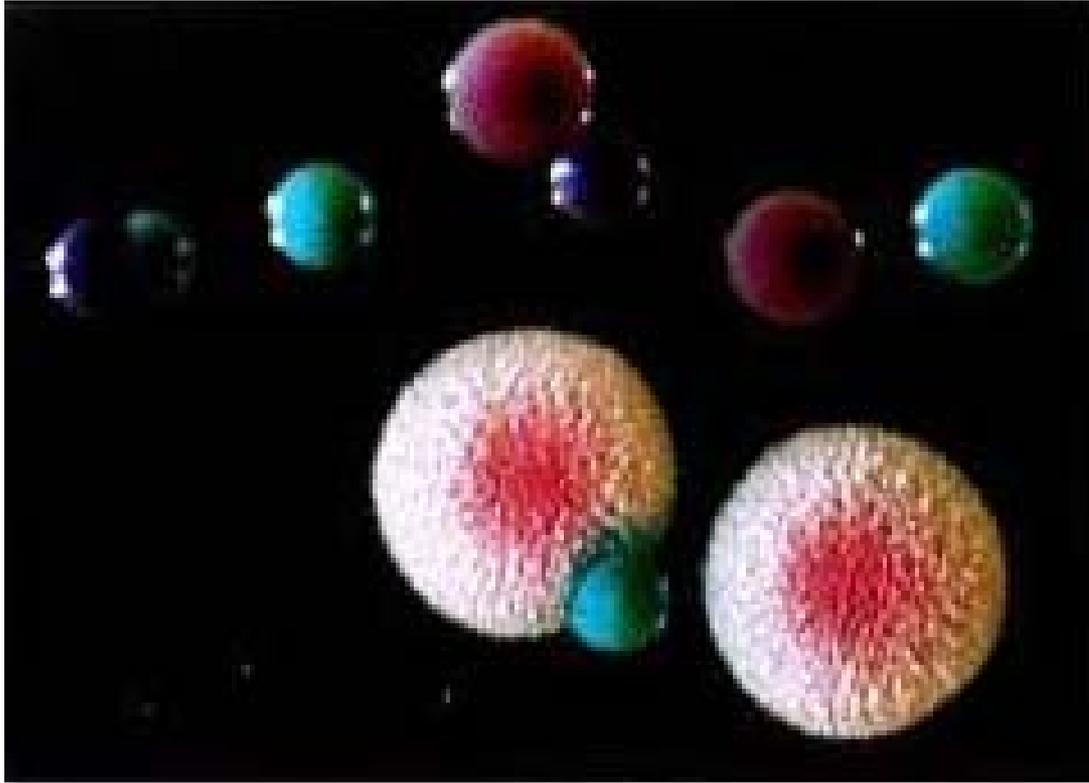
***Candida albicans***  
*Candida dubliniensis*

Bichro-Dubli Fumouze

Auxanogramme

Ou tests rapides

## ➤ Milieu chromogénique :



*Candida albicans* : vert

*Candida glabrata* : rose

*Candida krusei* : rose pale

*Candida tropicalis* : bleu-violet

## Milieu CHROMagar

→ Intérêt :

- Identification rapide
- Détection des associations



# Interprétation des résultats

**Espèce isolée**

**Habitat naturel**

*C.albicans, C.glabrata*

**Muqueuses digestives  
et urogénitales**

*C.tropicalis*

**Peau, muqueuses digestives**

*C.parapsilosis*

**Peau**



**Levure isolée  
en dehors de son habitat naturel**



**Pathogène +++**

**Levure isolée  
au niveau de son habitat naturel**



**Pathogène ?**



**Examen direct ⊕  
Culture abondante  
Corrélation clinico-biologique**

# Place de la biologie moléculaire



\*Confirmation du diagnostic :  $\pm$

\*Identification des souches rares ou difficiles à identifier :

-*C.dublinsiensis* # *C.albicans* (1995)

-*C.orthopsilosis*, *C.metapsilosis* # *C.parapsilosis* (2005)<sup>1</sup>

-*C.nivariensis*, *C.bracarensis* # *C.glabrata* (2005, 2006)<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Tavanti A et al. J Clin Microbiol 2005; 43 : 284-92

<sup>2</sup>Alcoba-Florez J et al. J Clin Microbiol 2005 ; 43 : 4107-11

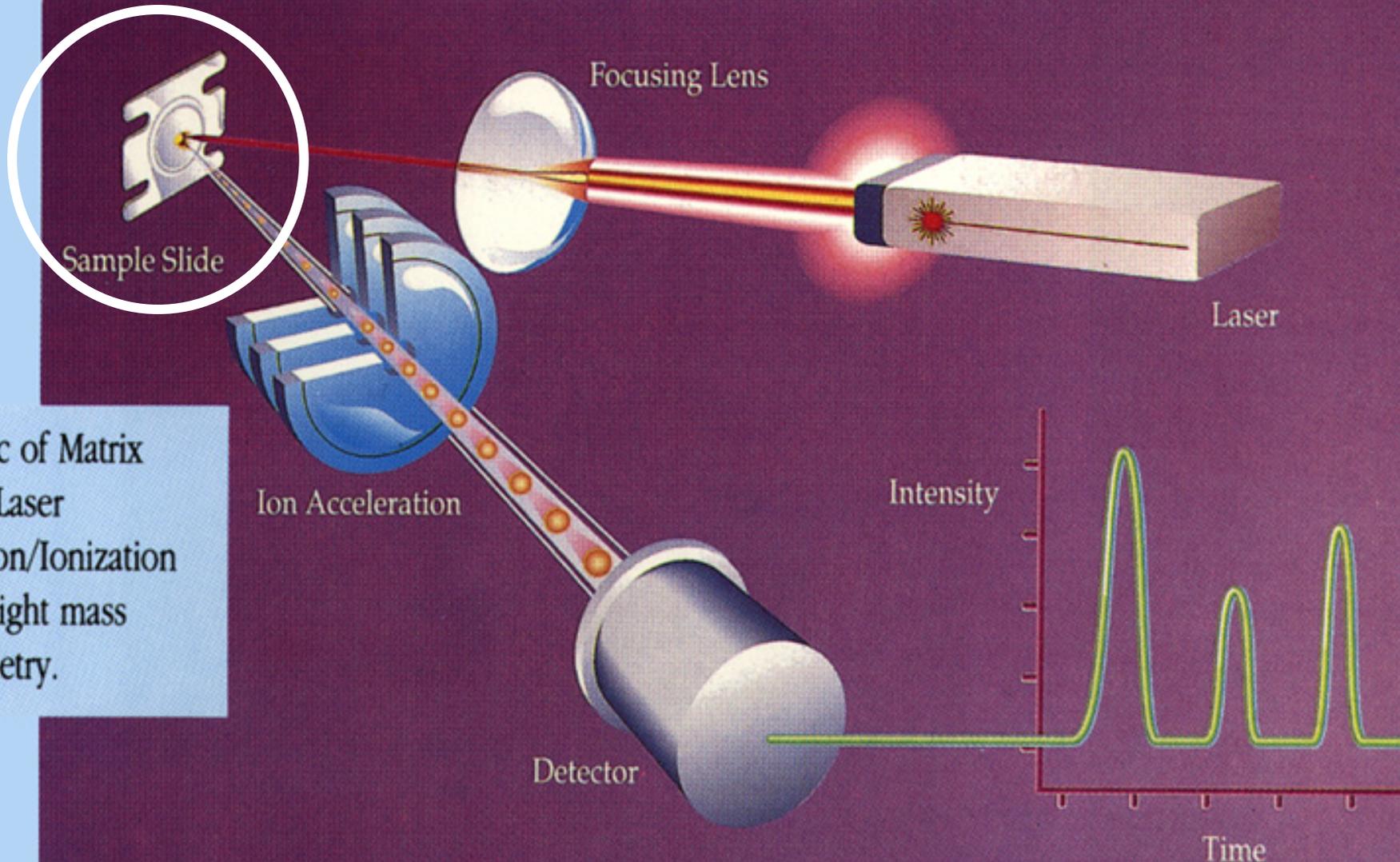
<sup>3</sup>Correia et al. Int J Syst Evol Microbiol 2006; 56 : 313-7

# Spectrométrie de masse MALDI-TOF

(Matrix Assisted Laser desorption ionisation time of Flight)



- **Principe** : Séparation des molécules transformées en ions en fonction de leur rapport masse/charge



## ➤ Applications :

- Identification spécifique des levures <sup>1</sup>:
  - distinction entre *C.dubliniensis* et *C.albicans*
  - distinction de *C.parapsilosis* des autres génotypes voisins
- Identification des dermatophytes : en cours <sup>2</sup>

## ➤ Avantages :

- Rapidité : 2 heures
- Facile
- Coût non élevé

<sup>1</sup> Desoubeaux G et al. J Mycol Med 2010; 20 : 263-7

<sup>2</sup> Erhard M et al. Exp Dermatol 2008; 17 : 356-61

# Antifongigramme

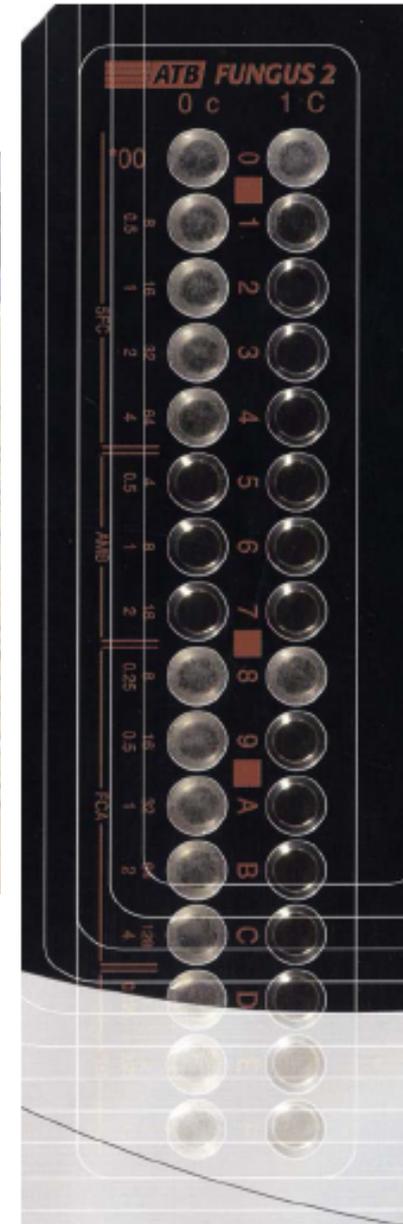
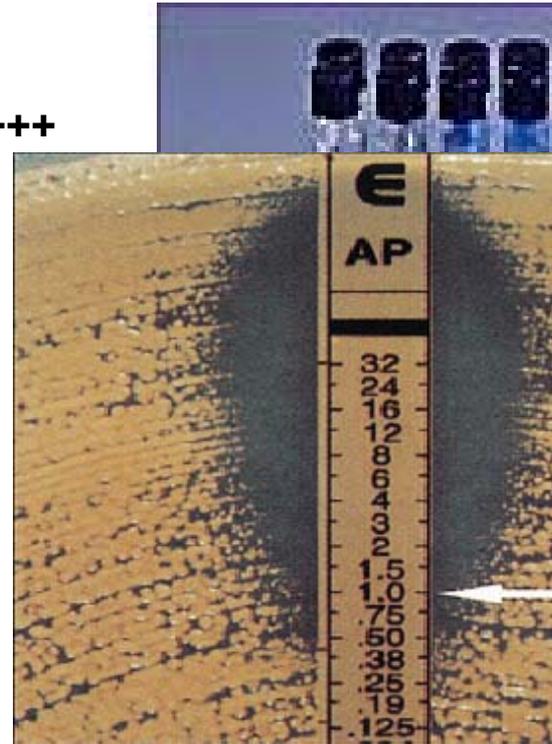
- Méthodes :

- ✓ CLSI (clinical and laboratory standards Institute) +++
- ✓ EUCAST
- ✓ Sensititre Yeast one
- ✓ Etest
- ✓ ATBfungus

- Indications :

- ✓ Candidoses récidivantes
- ✓ Candidoses résistantes au traitement

**MAIS, faible corrélation**



# Conclusion

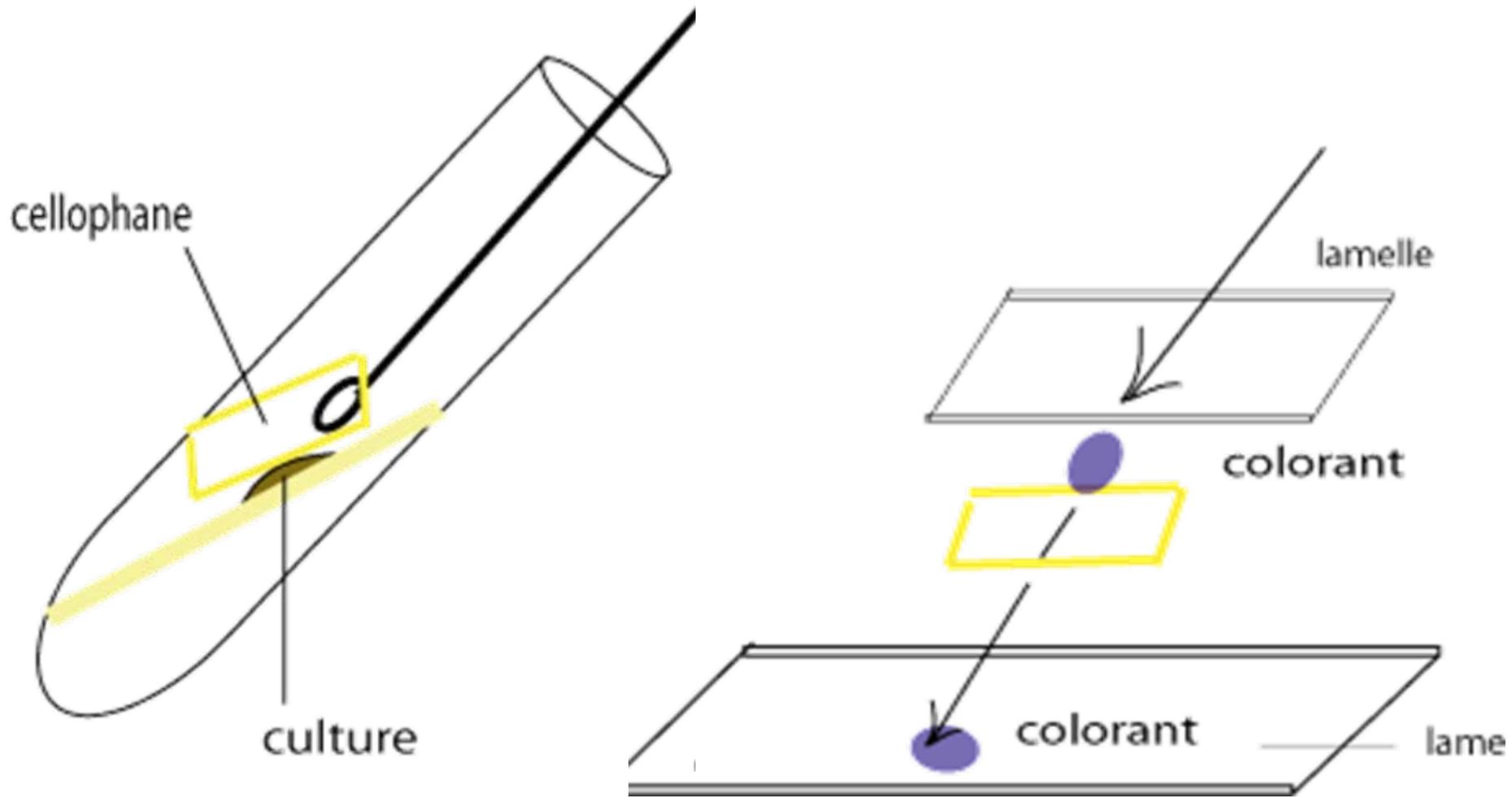
- Diagnostic des mycoses superficielles :
  - Examen mycologique : Prélèvement+++
- Identification : méthodes phénotypiques et biochimiques+++
- Méthodes de biologie moléculaire : laboratoires spécialisés, cout élevé
- spectrométrie de masse !



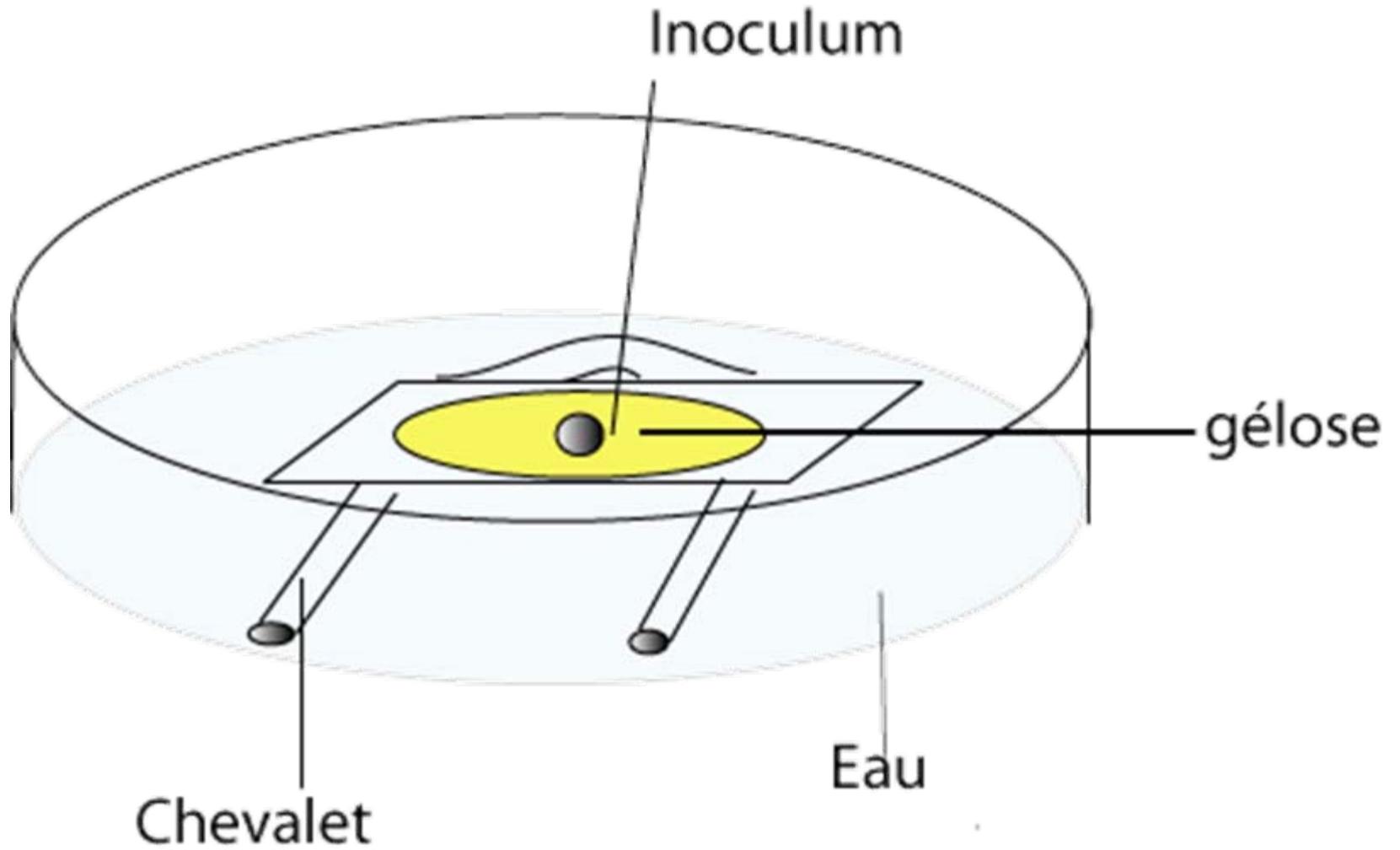
*Merci pour  
votre attention*



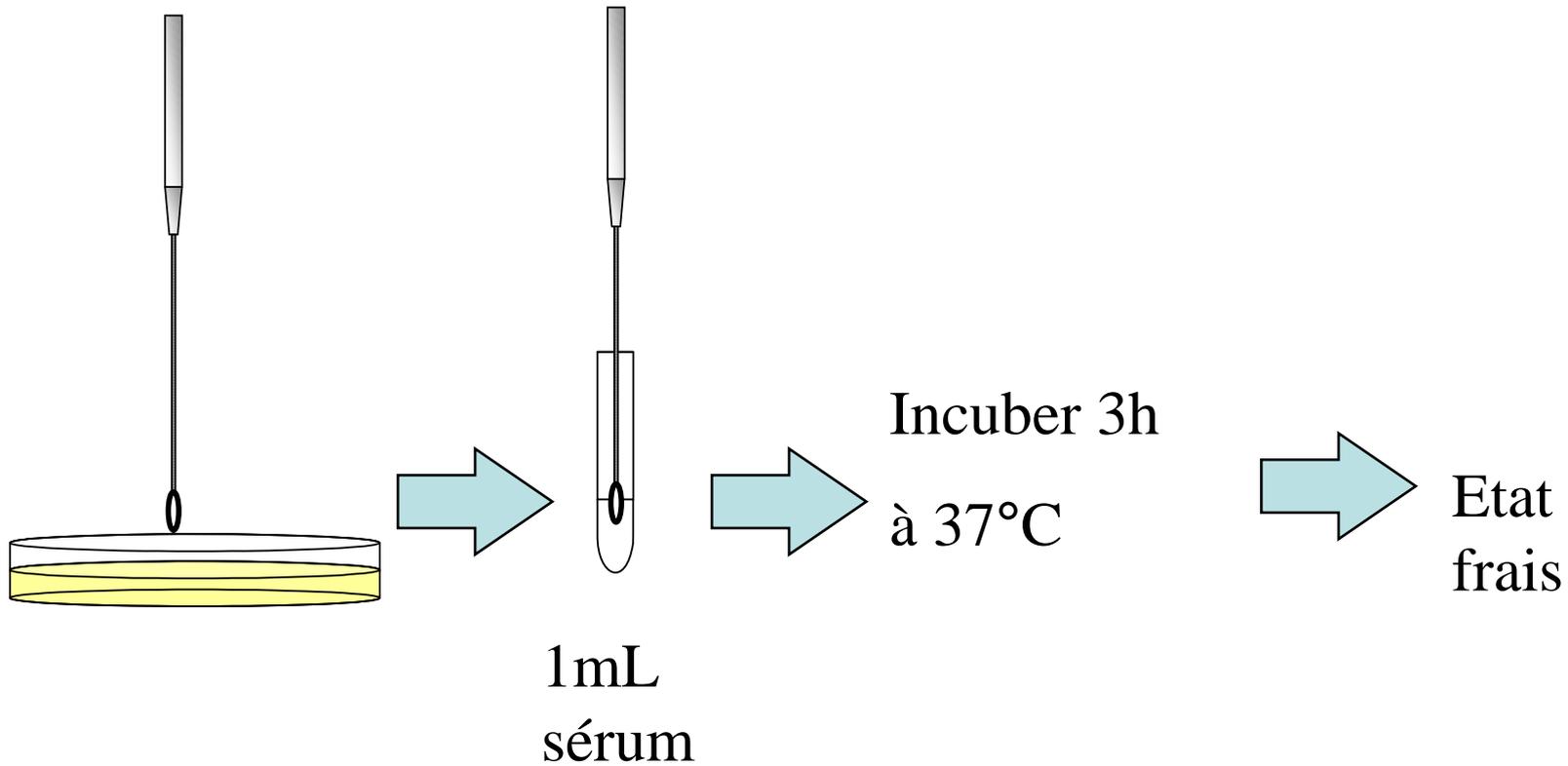
# Technique du Drapeau

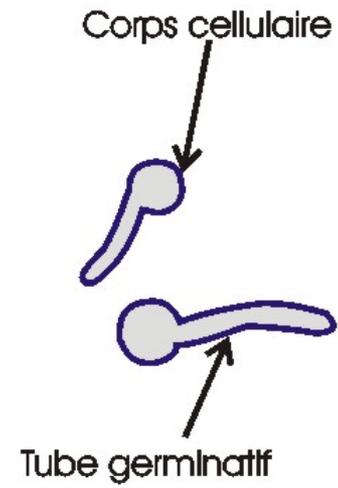


# Culture sur lame



# Test de filamentation sur sérum ou de blastèse

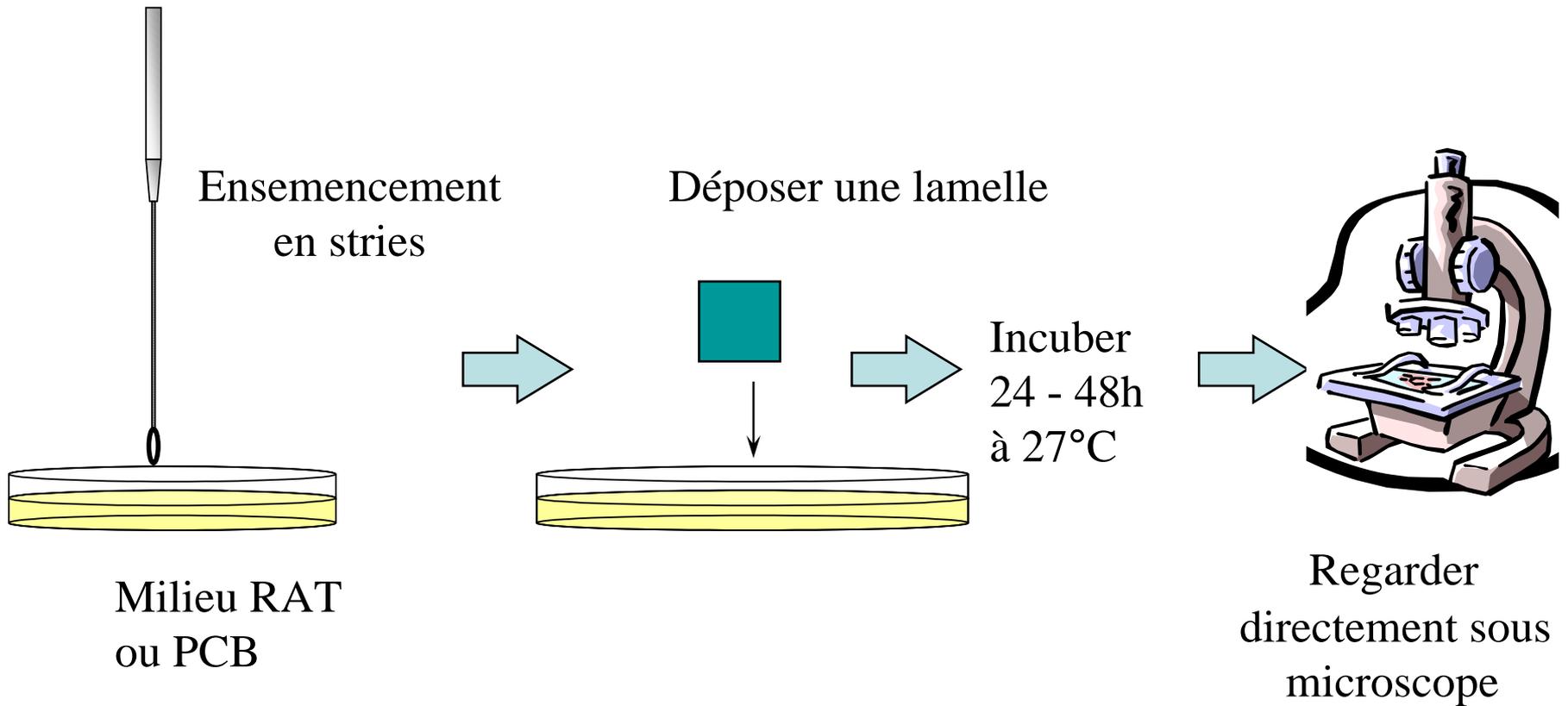




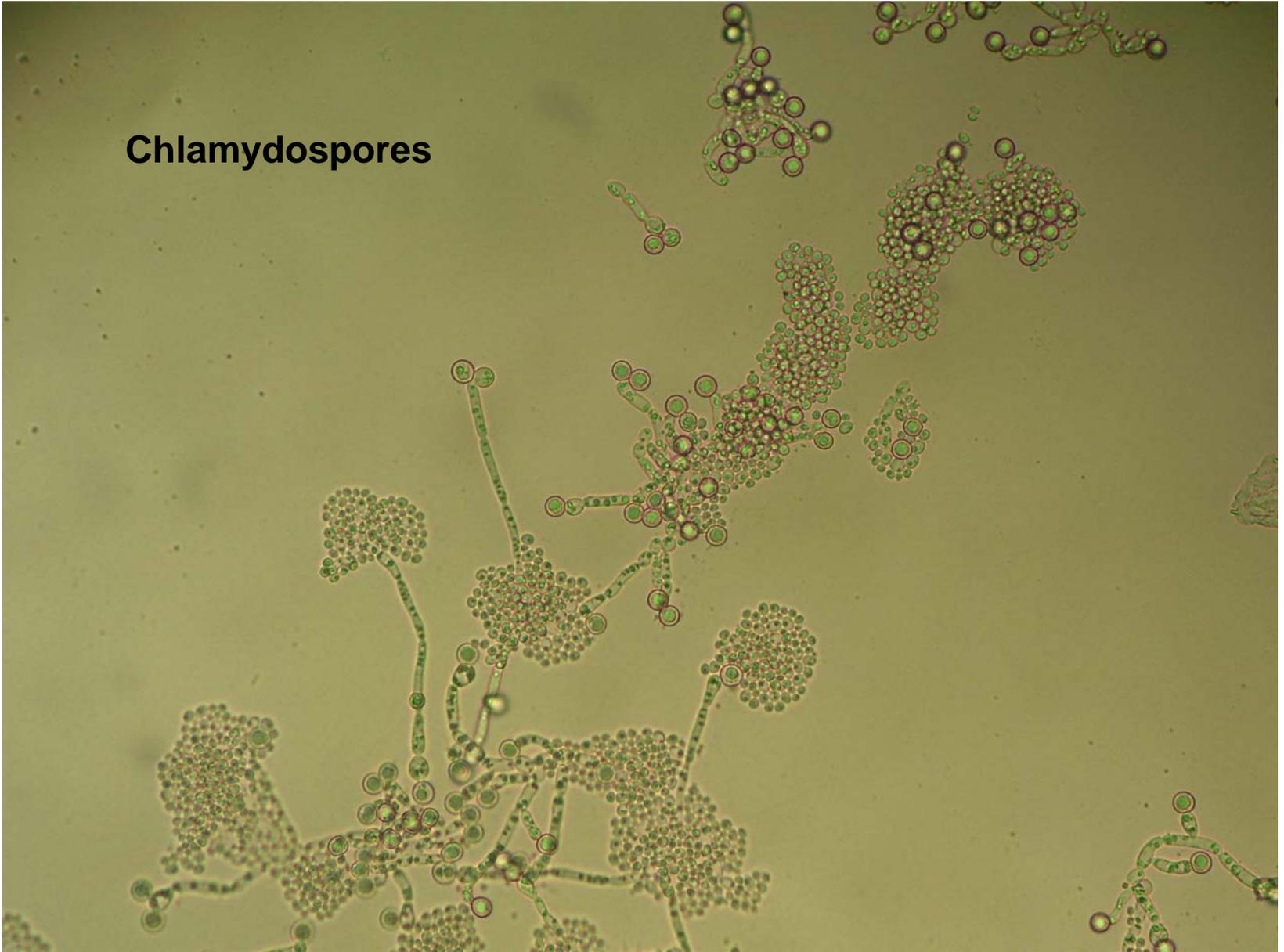
*Candida albicans* x400  
Test de blastèse (de filamentation).

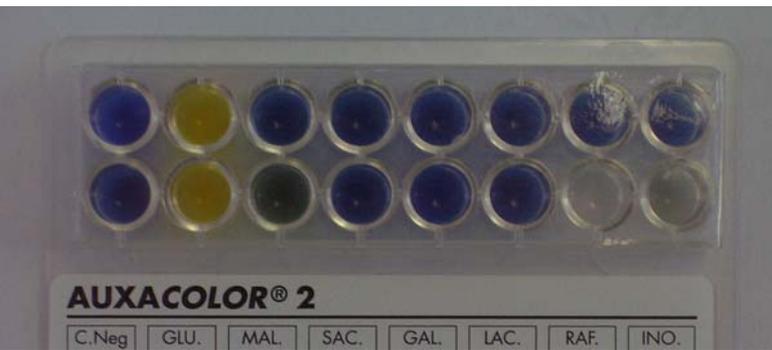


# Recherche de chlamydozoaires

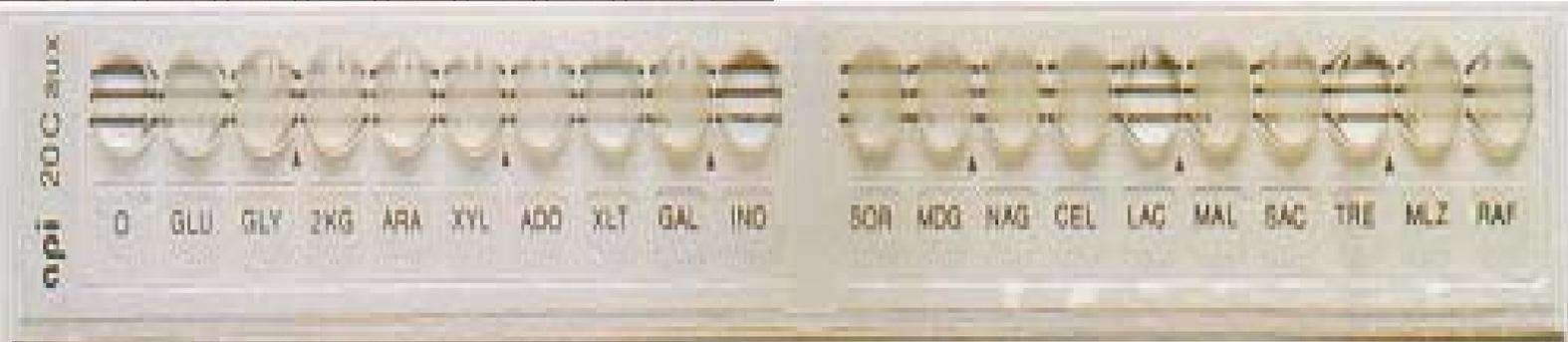


# Chlamydospores

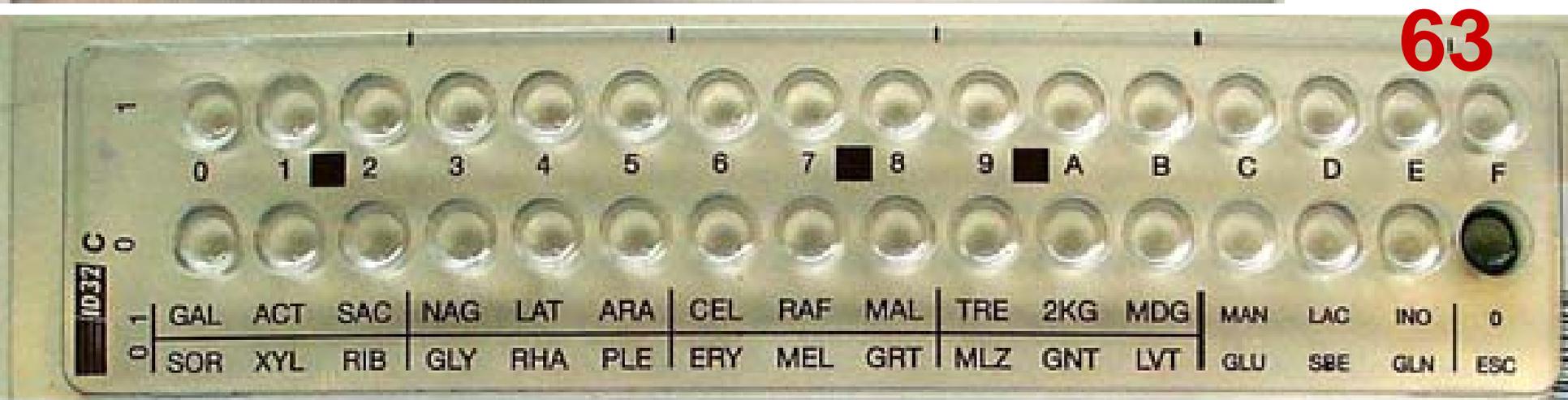




25

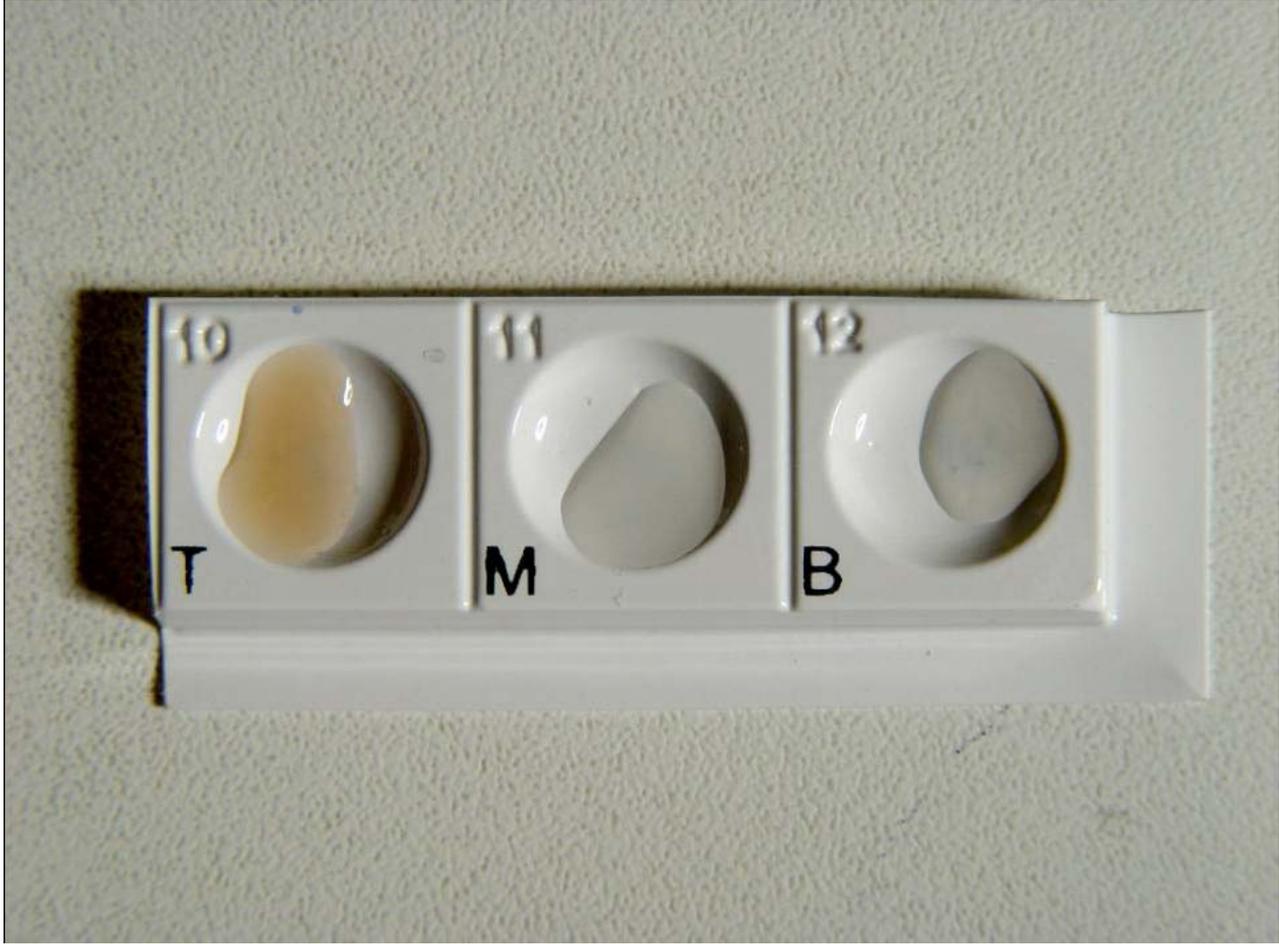


43

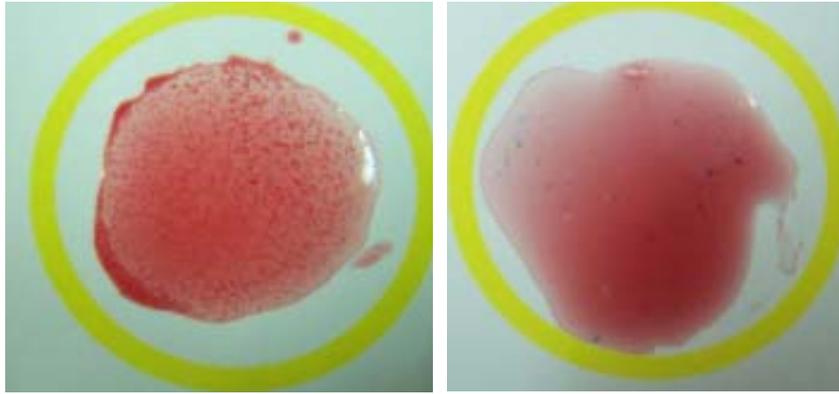


63





**Krusei color Fumouze**



**Bichrolatex *albicans* Fumouze**



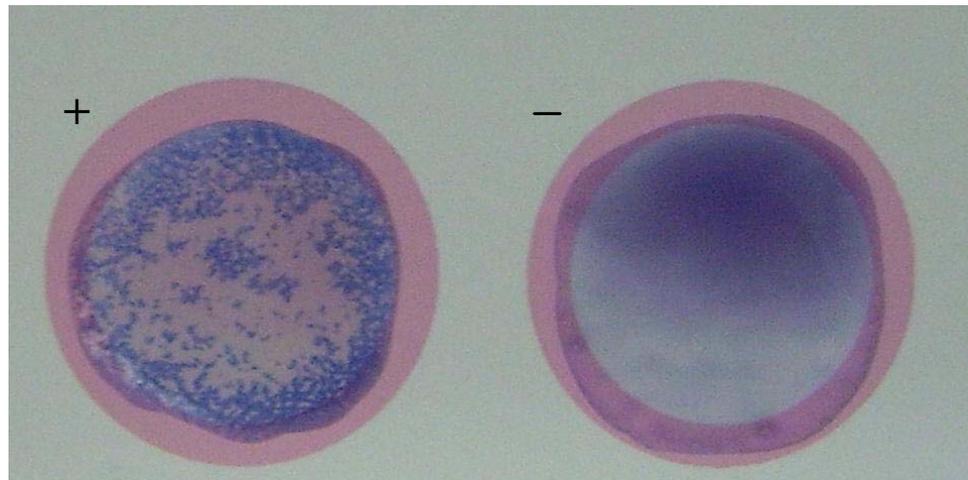
***Candida krusei***

**Non *Candida krusei***

***Candida albicans***

**Non *Candida albicans***

**Bichro-Dubli Fumouze**



***Candida dubliniensis***

***Candida albicans***

