

CAHIER DE

# Formation

Biologie médicale

N°44

2010

---

## Les levures et levuroses



**BIOFORMA**

FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES

---



*Chère Consœur, Cher Confrère,*

*Nous vous proposons ce nouveau cahier de formation axé sur un chapitre particulier de l'activité biopathologique dont l'importance ne cesse de croître, en particulier au vu des épisodes nosocomiaux liés aux séjours en unité de soins intensifs.*

*Cet ouvrage est le troisième rédigé pour Bioforma par une équipe scientifique issue principalement du CHU d'ANGERS, autour du professeur CHABASSE et du Docteur BOUCHARA.*

*Ils avaient déjà apporté leurs expertises scientifiques et pédagogiques pour le cahier 25, Moisissures d'intérêt médical, et le cahier 31, les Dermatophytes.*

*Pour ce numéro 44, ils ont réunis à nouveau des auteurs spécialistes référents pour traiter des « levures et levuroses ». Cet ouvrage est une revue particulièrement complète avec la clinique illustrée d'une importante iconographie des pathologies sur le sujet, le diagnostic biologique de toutes les levures courantes d'intérêt médical, les procédures de détection, etc....*

*Ces 3 cahiers forment un ensemble cohérent et pertinent de formation continue en mycologie médicale pour le biologiste de laboratoire.*

*Cette formation continue conventionnelle que Bioforma, en partenariat avec l'Assurance Maladie, vous apporte depuis 18 ans va se transformer en 2012.*

*Nous vous en détaillerons les grandes lignes lors d'un prochain envoi de cahier, en septembre, quand les textes officiels auront été publiés.*

*On devra alors parler de Développement Professionnel Continu, le DPC.*

*Il sera obligatoire pour tous les professionnels de santé, du Public comme du Privé.*

*En tant que Biologiste, cela ne changera pas fondamentalement pour vous, car vous êtes déjà une majorité à avoir compris l'intérêt de la formation continue en participant aux stages régionaux et en suivant les actions de E-learning comme Medicinimage, Bacterionet et Spermionet.*

*Nous vous souhaitons une bonne lecture de ce Cahier de Formation n°44 et vous prions d'agréer, Cher Consœur, Cher Confrère, nos cordiales salutations.*

86, rue du Cherche-Midi  
75006 Paris

Tél. 01.56.54.39.39  
Fax : 01.56.54.39.30

site internet : [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net)  
E-mail : [bioforma@wanadoo.fr](mailto:bioforma@wanadoo.fr)

Association régie par la loi de 1901  
siren : 391 155 744

**Adrien BEDOSSA**  
Président

# **Les levures et levuroses**

Ouvrage réalisé par le Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU d'Angers  
4 rue Larrey, 49933 Angers cedex 9

# Liste des auteurs

---

■ **Jean-Philippe Bouchara**

*Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier  
Responsable de l'Unité Fonctionnelle de Parasitologie-Mycologie*

■ **Marc Pihet**

*Praticien Hospitalo-Universitaire*

■ **Ludovic de Gentile**

*Praticien Hospitalier*

■ **Bernard Cimon**

*Praticien-Attaché (Maître de Conférences des Universités, IUT d'Angers)*

■ **Dominique Chabasse**

*Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Coordinateur du Pôle de Biologie du CHU d'Angers*

## Remerciements

*Les auteurs tiennent à remercier Mmes les Docteurs Elodie Cesbron-Mitiviers (Angers), Nelly Contet-Audonnet (Nancy), Dea Garcia Hermoso (Paris) et Françoise Symoens (Bruxelles, Belgique), Mme le Professeur Isabelle Cochereau (Angers), Mrs les Docteurs Jacques Laporte (Angers), Christian Le Clec'h (Angers), Jacques Marchetta (Saumur), Patrick Moureaux (Vannes), Bruno Person (Angers) et Boualem Sendid (Lille), Mrs les Professeurs Thierry Bergès (Poitiers), Alain Fournié (Angers), Jean-Charles Gantier (Paris) et Raymond Robert (Angers), ainsi que les sociétés SR2B (Avrillé) et AdvanDx (distribuée par la société i2a, Dominique Boissinot, Pérols).*

# INTRODUCTION

---

Les levures sont des champignons microscopiques, unicellulaires, se multipliant par bourgeonnement (blastospores) et produisant parfois du mycélium ou du pseudomycélium. Comme tous les champignons, ce sont des organismes hétérotrophes : ils ne peuvent se développer qu'en présence de matières organiques préformées. Certains d'entre eux (*Malassezia*) sont lipodépendants et nécessitent pour leur croissance l'apport d'huile en surface du milieu de culture.

Les levures d'intérêt médical représentent une flore importante et variée issue essentiellement du milieu extérieur (sol, eau, fruits, céréales, ...). Chez l'homme et de nombreux animaux, certaines espèces vivent en commensales, colonisant le revêtement cutané, mais aussi les voies digestives ou génitales ; d'autres sont des saprophytes issus du milieu extérieur qui infectent l'homme par voie alimentaire, aérienne ou transcutanée (traumatisme, corps étrangers, ...). Les levures rencontrées chez l'homme ont un comportement opportuniste variable selon les espèces et selon le terrain concerné. Par leur comportement parasitaire, certaines levures peuvent envahir les organes profonds et être à l'origine d'infections graves, surtout chez des patients amoindris et/ou immunodéprimés. Les principales levures rencontrées chez l'homme sont les *Candida* et les cryptocoques, plus rarement les *Malassezia*, les *Trichosporon*, les *Rhodotorula*, les *Saccharomyces* et les *Geotrichum*.

Les champignons dimorphiques qui présentent un stade "levure" à l'état parasitaire et un stade filamenteux en culture, sont essentiellement d'origine exotique (*Histoplasma*, *Blastomyces*, *Paracoccidioides*, ...) et ne seront pas traités dans cet ouvrage.

Les affections à levures sont de plus en plus fréquentes en médecine ; leur incidence a fortement augmenté ces dernières décennies, notamment parmi les patients fragilisés ou à haut risque et en particulier dans les unités de soins intensifs et en onco-hématologie.



# SOMMAIRE

## CHAPITRE I

<b>Généralités sur les levures d'intérêt médical et les levures</b> .....	13
<b>Définition – Taxinomie</b> .....	14
<b>Les agents des levures</b> .....	16
<b>Les Candida</b> .....	17
a. <i>Candida albicans</i> .....	18
b. <i>Candida glabrata</i> .....	18
c. <i>Candida tropicalis</i> .....	18
d. <i>Candida parapsilosis</i> .....	19
e. <i>Candida krusei</i> .....	19
f. <i>Candida dubliniensis</i> .....	19
g. <i>Candida lusitaniae</i> .....	19
h. <i>Candida kefyr</i> (ex <i>C. pseudotropicalis</i> ) .....	20
i. <i>Candida guilliermondii</i> .....	20
j. <i>Autres Candida non albicans</i> .....	20
<b>Les cryptocoques</b> .....	20
a. <i>Cryptococcus</i> (Cr.) <i>neoformans</i> .....	20
b. <i>Les autres cryptocoques</i> .....	21
<b>Les Malassezia</b> .....	21
<b>Les Rhodotorula</b> .....	21
<b>Les Trichosporon</b> .....	22
<b>Les Saccharomyces</b> .....	22
<b>Les Geotrichum</b> .....	23
<b>Les principaux facteurs favorisants</b> .....	23
<b>Les candidoses</b> .....	23
<b>Facteurs liés à l'hôte</b> .....	23
a. <i>Facteurs physiologiques</i> .....	23
b. <i>Terrain ou maladies sous-jacentes</i> .....	24
<b>Facteurs extrinsèques et/ou iatrogènes</b> .....	25
a. <i>Traitements médicamenteux</i> .....	25
b. <i>Traitements et/ou manœuvres chirurgicales</i> .....	25
c. <i>Risque nosocomial lié aux Candida</i> .....	25

# SOMMAIRE

La cryptococcose .....	28
Les malassezioses.....	28
Les rhodotoruloses, les saccharomycoses, les trichosporonoses et les géotrichoses.....	29
<b>Aspects cliniques des levures</b> .....	<b>30</b>
Les candidoses .....	31
Candidoses superficielles .....	31
a. Candidoses buccales.....	31
b. Autres candidoses digestives.....	35
c. Candidoses génito-urinaires .....	36
d. Candidoses cutanées et unguéales .....	38
Candidoses profondes et systémiques.....	44
a. Septicémies à Candida.....	44
b. Localisations secondaires des Candida liées à une dissémination hématogène.....	45
La cryptococcose .....	49
Cryptococcose neuroméningée .....	50
Cryptococcose pulmonaire.....	50
Cryptococcose cutanée .....	50
Cryptococcose viscérale ou profonde.....	51
a. Cryptococcose osseuse .....	51
b. Cryptococcose oculaire.....	51
c. Autres localisations.....	52
Particularités de la cryptococcose chez le patient VIH positif .....	52
Les malassezioses.....	52
Pityriasis versicolor.....	52
Dermite séborrhéique .....	55
Pityriasis capitis.....	55
Folliculite pityrosporique.....	56
Atteintes profondes à <i>Malassezia</i> .....	56
Les rhodotoluroses .....	56
Les saccharomycoses .....	56
Les trichosporonoses.....	57
La piedra blanche.....	57

Onyxis à <i>Trichosporon</i> .....	58
Les atteintes profondes à <i>Trichosporon</i> .....	58
Les géotrichoses .....	58

## CHAPITRE II

<b>Diagnostic biologique des levures</b> .....	<b>59</b>
<b>Diagnostic mycologique</b> .....	<b>60</b>
Le prélèvement .....	60
L'examen direct .....	62
Examen direct des prélèvements superficiels .....	62
Examen direct des prélèvements profonds .....	62
Apport de l'examen anatomo-pathologique .....	65
La culture .....	65
Ensemencement .....	69
Milieux de culture .....	70
a. Milieux standard .....	70
b. Milieux fluorogéniques pour isolement et identification des levures .....	70
c. Milieux chromogéniques .....	70
d. Autres milieux .....	75
e. Hémocultures .....	75
Identification des levures au laboratoire .....	76
<b>Identification de <i>Candida albicans</i></b> .....	<b>81</b>
a. Test de blastèse .....	82
b. Recherche de la chlamydosporulation .....	82
c. Bichro-latex® <i>albicans</i> (Fumouze Diagnostics) .....	82
d. Tests rapides d'identification biochimique .....	84
<b>Identification des espèces non <i>albicans</i></b> .....	<b>84</b>
a. Réduction des sels de tétrazolium .....	84
b. Tests immunologiques .....	85
c. Tests biochimiques .....	85
Détermination de la sensibilité aux antifongiques .....	90
<b>Indications</b> .....	<b>90</b>
<b>Les méthodes</b> .....	<b>90</b>

# SOMMAIRE

a. Méthodes par dilution .....	90
b. Méthodes par diffusion .....	92
c. Méthode par dilution – diffusion .....	92
Index de colonisation .....	94
Interprétation des résultats des cultures.....	94
<b>Techniques innovantes .....</b>	<b>98</b>
<b>Diagnostic indirect.....</b>	<b>103</b>
Recherche d'anticorps sériques .....	103
Recherche d'antigènes circulants.....	105
<b>Les candidoses .....</b>	<b>105</b>
a. Recherche d'antigènes non définis.....	105
b. Recherche de mannanes circulants .....	105
c. Recherche de $\beta$ -glucanes circulants .....	106
d. Diagnostic des candidoses vaginales .....	107
<b>La cryptococcose .....</b>	<b>108</b>
Conclusion .....	109
<b>CHAPITRE III</b>	
<b>Fiches diagnostiques .....</b>	<b>111</b>
<b>Le genre Candida.....</b>	<b>113</b>
<i>Candida albicans</i> .....	114
<i>Candida ciferrii</i> .....	116
<i>Candida dubliniensis</i> .....	118
<i>Candida famata</i> .....	120
<i>Candida glabrata</i> .....	122
<i>Candida guilliermondii</i> .....	124
<i>Candida kefyr</i> .....	126
<i>Candida krusei</i> .....	128
<i>Candida lusitaniae</i> .....	130
<i>Candida parapsilosis</i> .....	132

<i>Candida tropicalis</i> .....	134
<b>Le genre Cryptococcus</b> .....	137
<i>Cryptococcus neoformans</i> .....	138
<i>Cryptococcus albidus</i> .....	142
<i>Cryptococcus laurentii</i> .....	144
<b>Le genre Geotrichum</b> .....	146
<i>Geotrichum candidum</i> .....	146
<b>Le genre Malassezia</b> .....	148
<i>Malassezia furfur</i> .....	150
<b>Le Genre Rhodotorula</b> .....	153
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (ex <i>R. rubra</i> ) .....	154
<b>Le genre Saccharomyces</b> .....	157
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	158
<b>Le genre Trichosporon</b> .....	163
<i>Trichosporon asahii</i> .....	164
<i>Trichosporon cutaneum</i> .....	166

## CHAPITRE IV

<b>Traitement des levures superficielles et profondes</b> .....	169
<b>Les levures superficielles (peau, phanères, muqueuses digestives et génitales)</b> .....	170
<b>Les candidoses superficielles</b> .....	170
Les candidoses oro-pharyngées .....	170
Les intertrigos candidosiques .....	174
Les candidoses oesophagiennes et intestinales .....	174
Les candidoses génitales .....	174
Les candidoses et autres levures unguéales .....	175
<b>Les malassezioses superficielles</b> .....	175
<b>Les trichosporonoses superficielles</b> .....	176
<b>Les levures profondes ou systémiques</b> .....	176

# SOMMAIRE

Les candidoses profondes ou systémiques.....	176
Traitement des candidoses invasives chez le non neutropénique.....	177
Traitement des candidoses invasives chez le neutropénique.....	177
Les cryptococcoses.....	178
Les géotrichoses profondes ou systémiques.....	178
Les malassezioses profondes ou systémiques.....	178
Les rhodotoruloses et saccharomycoses profondes ou systémiques.....	179
Les trichosporonoses profondes ou systémiques.....	179
<b>RÉFÉRENCES</b> .....	181
<b>GLOSSAIRE</b> .....	187
<b>ANNEXES</b> .....	195

**Généralités sur les levures  
d'intérêt médical  
et les levuroses**

CHAPITRE I

## Définition - Taxinomie

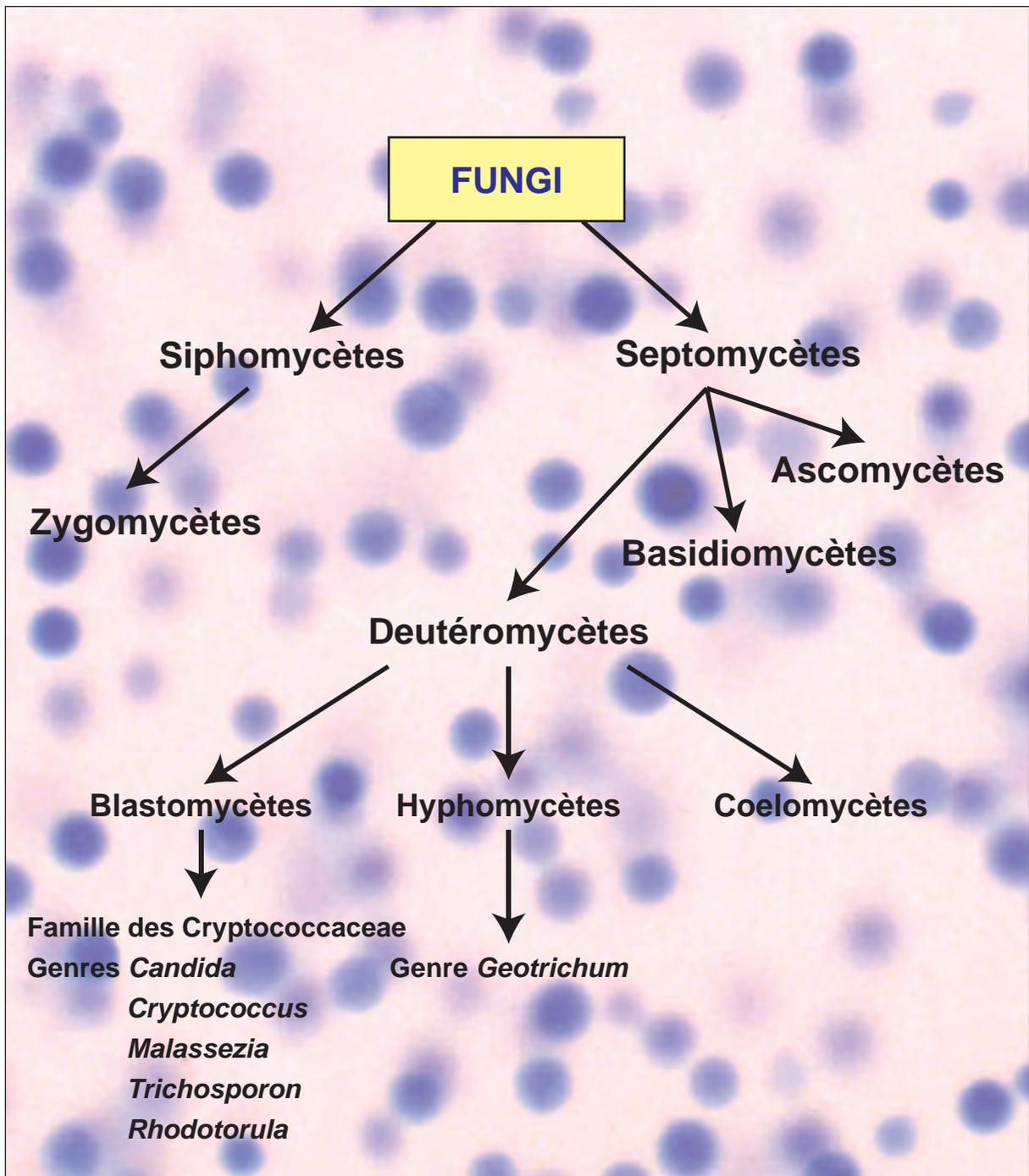
Ce que l'on appelle communément "levures" se définit comme le stade asexué (imparfait) de champignons unicellulaires appartenant aux Ascomycètes ou aux Basidiomycètes. Sur les milieux usuels de mycologie médicale, la forme sexuée est rarement obtenue ; il est donc habituel de regrouper ces levures asexuées parmi les Deutéromycètes (champignons imparfaits se multipliant sur le mode asexué). Au sein des Deutéromycètes, les levures constituent la classe des Blastomycètes, champignons se multipliant sur le mode asexué et présentant un thalle unicellulaire avec production de spore par bourgeonnement (blastospores), ce qui les distingue des autres Deutéromycètes, les Hyphomycètes et les Cœlomycètes, dont le thalle est constitué de filaments mycéliens cloisonnés, fins et réguliers (Figure 1).

Certaines espèces de levures sont néanmoins capables de reproduction sexuée. Ces formes sexuées (formes parfaites) portent un nom différent de celui de la forme asexuée (forme imparfaite). En outre, lorsque la forme parfaite est connue, l'usage est d'utiliser le nom de la forme sexuée, qui prend donc l'ascendance sur le stade asexué. À titre d'exemple, *Clavispora lusitaniae* est le stade sexué de *Candida lusitaniae* (stade asexué). La très grande majorité des levures dont le stade sexué est connu, fait partie des Ascomycètes Hémiascomycètes (Ascomycètes à thalle unicellulaire) et, pour celles rencontrées en mycologie médicale, de la famille des Saccharomycetaceae où l'on retrouve notamment les levures du genre *Saccharomyces* (Figure 2). Parmi les Basidiomycètes, la principale levure pathogène est un *Filobasidiella*, *F. neoformans* dont le stade asexué est *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*.

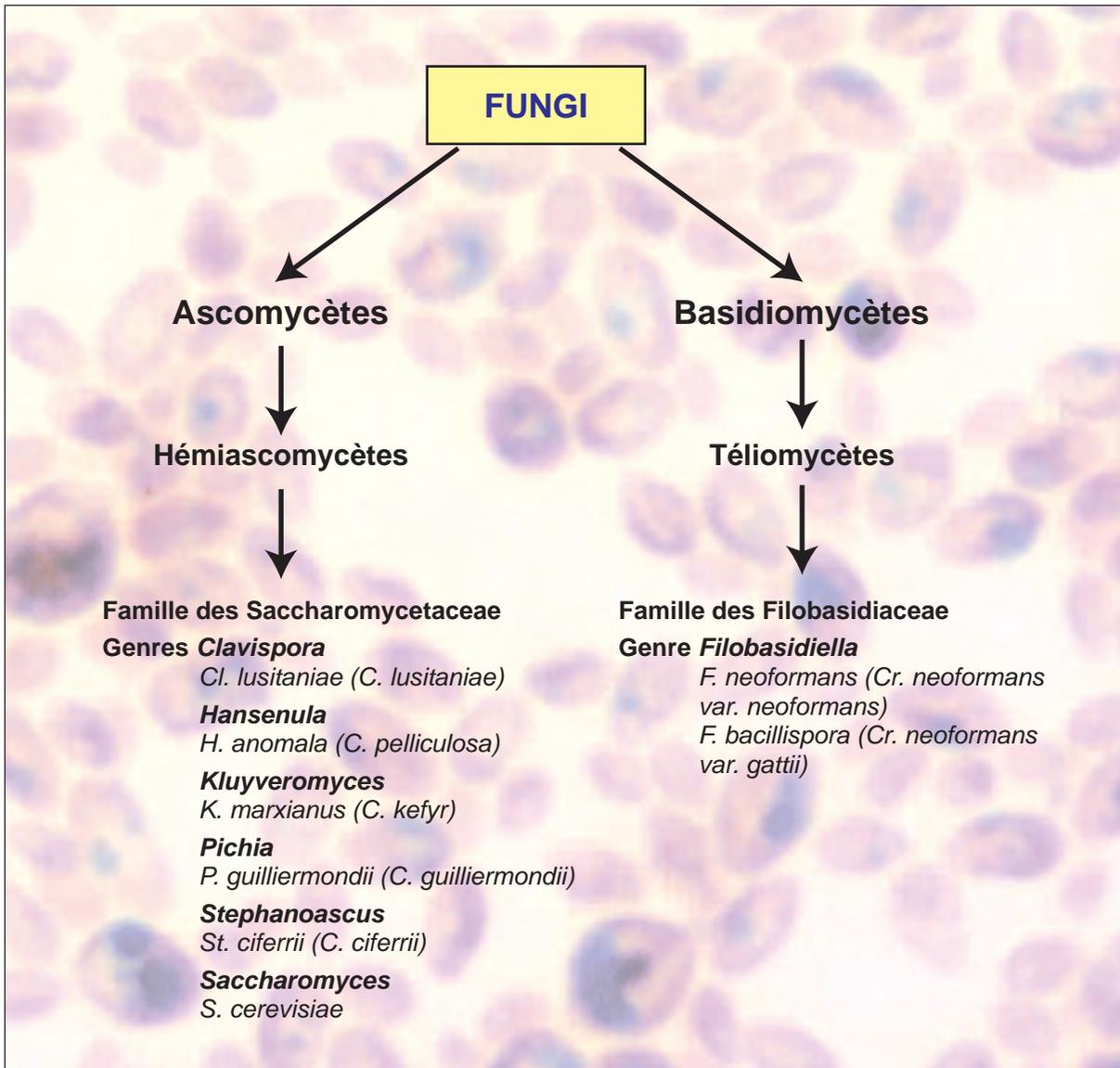
De nombreuses espèces de levures n'ont pas de forme sexuée connue. Néanmoins, les études moléculaires révèlent qu'elles ont pour la plupart des affinités avec les Ascomycètes (exemple : *Candida albicans*, *Candida glabrata*, ...). Certaines espèces, comme celles appartenant aux genres *Rhodotorula* ou *Trichosporon*, ont cependant des affinités avec les Basidiomycètes.

Par ailleurs, en mycologie médicale, il est habituel d'assimiler aux levures les *Geotrichum*. Il s'agit de champignons filamenteux arthrosporés (Deutéromycètes Hyphomycètes se multipliant sur le mode thalique arthrique avec production d'arthrospores) dont la reproduction sexuée n'est connue que pour deux d'entre eux : *Geotrichum candidum* et *Geotrichum capitatum* dont les formes sexuées respectives, *Galactomyces candidum* et *Dispodascus capitatus*, sont des Ascomycètes.

**Figure 1** : Systématique simplifiée des principales levures asexuées d'intérêt médical.



**Figure 2 :** Systématique des levures d'intérêt médical dont le stade sexué est connu (le nom du stade asexué est indiqué entre parenthèses).



## Les agents des levuroses

Les levures sont des champignons cosmopolites et ubiquitaires fréquemment isolés de l'environnement humain ou animal (air, fruits, sol, produits alimentaires, produits laitiers, céréales, viandes, ...). Il n'est pas étonnant dans ces conditions que l'homme et les animaux puissent, dès leur naissance, être colonisés par des levures.

Ces levures vont vivre et se multiplier à l'état commensal sur le revêtement cutané ou dans les voies aériennes, digestives ou génito-urinaires.

Nous allons passer en revue les principales levures d'intérêt médical en précisant leur habitat naturel, ainsi que les facteurs favorisant leur pouvoir pathogène chez l'homme.

## Les *Candida*

Le genre *Candida* comprend plus de deux cents espèces, mais un nombre restreint (environ une vingtaine) peut être responsable de manifestations pathologiques (Tableau 1).

**Tableau 1** : Spectre clinique habituel des espèces du genre *Candida*.

Espèces les plus fréquentes	
<i>C. albicans</i>	Infections cutanées ou muqueuses (œsophagites, infections oropharyngées et vaginales) Infections profondes (pyélonéphrites, péritonites) Infections hématogènes (candidémies, méningites, atteintes hépato-spléniques)
<i>C. glabrata</i>	Candidoses systémiques, candidémies, infections du tractus urinaire Sensibilité aux azolés de type intermédiaire
<i>C. krusei</i>	Candidémies, endophtalmies, diarrhées chez le nouveau-né Résistance naturelle au fluconazole
<i>C. parapsilosis</i>	Candidémies, infections profondes en relation avec la présence de dispositifs médicaux ou d'un soluté injectable contaminé Majorité des candidémies chez le nouveau-né
<i>C. tropicalis</i>	Candidémies et candidoses systémiques chez le patient immunodéprimé
Espèces plus rarement isolées	
<i>C. ciferrii</i>	Onychomycoses
<i>C. dubliniensis</i>	Infections oropharyngées chez les patients VIH+
<i>C. guilliermondii</i>	Candidoses systémiques, endocardites chez le toxicomane par voie intra-veineuse Sensibilité aux azolés variable
<i>C. haemulonii</i>	Candidémies, infections cutanées
<i>C. inconspicua</i>	Candidoses oropharyngées, digestives et candidémies chez le patient immunodéprimé
<i>C. kefyr</i>	Candidoses systémiques
<i>C. lipolytica</i>	Candidémies sur cathéter intravasculaire
<i>C. lusitanae</i>	Candidémies et infections disséminées Résistance possible à l'amphotéricine B
<i>C. norvegensis</i>	Infections chez le transplanté rénal Sensibilité diminuée au fluconazole
<i>C. pulcherrima</i>	Infections disséminées chez le patient immunodéprimé
<i>C. rugosa</i>	Candidémies sur cathéter intra-vasculaire Plus fréquente chez les grands brûlés Sensibilité inconstante à l'amphotéricine B
<i>C. viswanathii</i>	Méningites
<i>C. zeylanoides</i>	Candidémies, arthrites

### **a. *Candida albicans***

Parmi les levures, *C. albicans* est la principale espèce d'intérêt médical puisqu'elle représente au moins 60% des isollements de levures en pratique médicale. *Candida albicans* est avant tout un commensal des cavités naturelles de l'homme, en particulier du tube digestif de l'homme. On le retrouve aussi dans la flore intestinale de divers mammifères et oiseaux. Chez l'homme, cette levure est aussi isolée des voies génito-urinaires. Dans ces sites, *C. albicans* est en équilibre avec les flores bactériennes locales qui maintiennent la population de levures à une faible densité. *Candida albicans*, en revanche, ne fait pas partie de la flore cutanée de l'individu sain. Il peut se développer par contre sur un épithélium lésé. Levure opportuniste par excellence, *C. albicans* profitera d'un déséquilibre de la flore endogène ou d'un déficit immunitaire pour se multiplier et se comporter en véritable pathogène pouvant envahir un certain nombre de tissus. *Candida albicans* est responsable d'environ 50 à 60% des candidoses invasives. Cependant, son importance relative décroît depuis quelques années au profit des autres espèces groupées sous le terme de levures non *albicans*.

### **b. *Candida glabrata***

*Candida glabrata* vit aussi en commensal dans les voies digestives et génito-urinaires de l'homme. Son incidence a augmenté ces dernières années sous la pression des antifongiques azolés. *Candida glabrata* représente 10 à 20% des isollements de levures en pratique médicale, mais 20% des candidoses invasives. Considérée classiquement comme résistante au fluconazole, cette espèce présente en fait une sensibilité de type intermédiaire aux azolés. Elle est dite sensible dose-dépendante, et la survenue d'isolats de *C. glabrata* résistants aux azolés lors d'un traitement par fluconazole est devenue beaucoup plus rare depuis que l'on préconise d'augmenter la posologie.

### **c. *Candida tropicalis***

*Candida tropicalis* est un saprophyte du milieu extérieur (sol, eau, air). Il peut aussi se comporter comme un commensal des voies digestives et génito-urinaires chez l'homme, mais aussi de la peau saine. Son incidence en Europe ne dépasse pas 10%. La virulence de cette levure est voisine de celle de *C. albicans*. On la rencontre plus fréquemment chez l'adulte que chez l'enfant. *Candida tropicalis* est à l'origine d'environ 10% des candidoses

invasives, en particulier en onco-hématologie, chez les patients neutropéniques et les greffés de moelle osseuse.

#### **d. *Candida parapsilosis***

*Candida parapsilosis* est une levure commensale de la peau et des phanères où elle peut être parfois à l'origine de lésions, notamment d'onxyis. Après *C. albicans*, c'est la 2<sup>ème</sup> levure en fréquence dans des états de septicémies provoquées par des implants intra-vasculaires, par la nutrition parentérale, ou par des cathéters souillés. Ces fongémies s'observent principalement chez les patients non cancéreux, et plus particulièrement chez l'enfant, mais la létalité associée aux fongémies à *C. parapsilosis* reste toutefois inférieure à celle des fongémies engendrées par les autres espèces du genre *Candida*.

#### **e. *Candida krusei***

*Candida krusei* est un saprophyte du milieu extérieur. L'émergence de cette levure d'origine alimentaire a été attribuée à la pression de sélection exercée par les antifongiques azolés (fluconazole). Elle est à l'origine de septicémies, surtout chez les patients cancéreux neutropéniques. Paradoxalement, son incidence reste faible chez les patients infectés par le VIH et soumis à une chimioprophylaxie antifongique à base d'azolé.

#### **f. *Candida dubliniensis***

Cette espèce émergente, très proche de *C. albicans*, a été décrite à la suite de l'apparition du sida où elle est impliquée dans des candidoses oropharyngées. Son incidence au cours des candidémies reste cependant faible. L'amélioration des outils d'identification de cette nouvelle espèce devrait permettre de mieux cerner sa prévalence en dehors du sida.

#### **g. *Candida lusitanae***

*Candida lusitanae* colonise le tube digestif de l'homme et de nombreux animaux (mammifères, oiseaux). C'est une levure considérée comme émergente, notamment chez les patients immunodéprimés (cancéreux, greffés de moelle) ou hospitalisés dans des Unités de Soins Intensifs où elle est à l'origine de petites épidémies. De nombreux isolats présentent une résistance primaire à l'amphotéricine B.

#### *h. Candida kefyr (ex C. pseudotropicalis)*

*Candida kefyr* qui est issu de produits laitiers fermentés (fromages, ...) est un commensal des muqueuses digestives et respiratoires. Cette levure peut être à l'origine de septicémies. Sa sensibilité au fluconazole est très variable.

#### *i. Candida guilliermondii*

*Candida guilliermondii* est une levure commensale de la peau et des muqueuses (principalement digestives). Son pouvoir pathogène ne s'exprime habituellement que chez le patient sévèrement immunodéprimé.

#### *j. Autres Candida non albicans*

D'autres espèces non *albicans* sont plus rarement ou exceptionnellement rencontrées (Tableau 1). Il s'agit de *C. humicola*, *C. inconspicua*, *C. lipolytica*, *C. pulcherrima*, *C. norvegensis*, *C. famata*, *C. ciferrii*, *C. rugosa*, *C. haemulonii* et *C. zeylanoides*.

## Les cryptocoques

#### *a. Cryptococcus (Cr.) neoformans*

Parmi les cryptocoques, *Cr. neoformans* est l'espèce la plus fréquemment isolée en pathologie humaine. Il existe trois variétés :

- *Cr. neoformans* var. *neoformans*, qui correspond au sérotype D, est une levure rencontrée principalement en Europe, et notamment en France. Elle infecte surtout les patients immunodéprimés (sida, hémopathies sévères, maladie de Hodgkin, corticothérapie, greffes d'organes, ...). Cette levure vit en saprophyte sur les fientes de pigeons ou le guano de chauve-souris. La contamination de l'homme se fait par inhalation de poussières infectantes contenant les spores issues du stade sexué de cette levure : *Filobasidiella neoformans*.
- *Cr. neoformans* var. *gattii*, qui correspond aux sérotypes B et C. Sa forme sexuée, qu'on appelle *Filobasidiella bacillispora*, est rencontrée en zone tropicale. Cette forme sexuée vit en saprophyte, et elle est inféodée à certaines plantes (*Eucalyptus*). Cette variété est plus rarement retrouvée chez les immunodéprimés.
- Et la variété *grubii*, qui correspond au sérotype A. Cette variété cosmopolite individualisée récemment n'a pas de forme sexuée connue.

### ***b. Les autres cryptocoques***

Il existe d'autres espèces de Cryptocoques dont on ne connaît pas la forme sexuée ni l'habitat dans le milieu extérieur. Il s'agit de *Cr. laurentii*, *Cr. albidus* et *Cr. uniguttulatus*. Ces cryptocoques, qui ne poussent pas à 37°C, peuvent cependant être impliqués dans des lésions superficielles (onyxis) et plus exceptionnellement dans des mycoses profondes (septicémies).

### **Les *Malassezia***

Les levures appartenant au genre *Malassezia* sont cosmopolites. Elles font partie de la flore cutanée habituelle des mammifères et des oiseaux. Elles sont assimilées aux Basidiomycètes. *Malassezia furfur* n'est plus l'espèce dominante chez l'homme, où on isole surtout *M. globosa*, *M. sympodialis* et *M. restricta*. D'autres espèces sont aussi retrouvées chez l'homme : *M. sloofiae* (issue du porc) et *M. pachydermatis* (issue du chien) qui est en fait, parmi les levures du genre *Malassezia*, la seule espèce non lipo-dépendante. Chez l'homme, les *Malassezia* sont particulièrement abondants sur les régions du corps où la peau est grasse, riche en glandes sébacées (thorax, visage, cuir chevelu, oreilles). Ces levures lipophiles, quand elles sont abondantes et en présence de facteurs favorisants, sont à l'origine de mycoses. La contagiosité est négligeable pour ces levures.

### **Les *Rhodotorula***

Les levures du genre *Rhodotorula* qui se caractérisent par des colonies de couleur rouge corail, sont classées parmi les Deutéromycètes Blastomycètes. Néanmoins, elles ont des affinités avec les Basidiomycètes. Ces levures cosmopolites sont très répandues dans le milieu extérieur, notamment dans l'eau.

Trois espèces sont retrouvées à l'état commensal dans l'intestin et sur la peau chez l'homme : *R. mucilaginosa* (ex *R. rubra*), *R. glutinis* et *R. minuta*.

Elles peuvent être à l'origine d'infections superficielles (kératites) ou profondes. La porte d'entrée peut être cutanée (cathéters intra-veineux souillés) ou digestive par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés.

## Les *Trichosporon*

Les levures du genre *Trichosporon* sont issues du milieu extérieur (sol, eau, ...), mais certaines espèces sont aussi retrouvées à l'état commensal sur le revêtement cutané (peau, phanères) et sur les muqueuses digestives de l'homme. Comme les *Rhodotorula*, les *Trichosporon* sont affiliés aux Basidiomycètes.

Environ 7 espèces (toutes cosmopolites et issues de la peau) peuvent être impliquées dans des mycoses humaines. Il s'agit de *T. mucoides*, *T. asahii*, *T. inkin*, *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. ovoides* (= *T. beigeli*) et *T. filamenta*.

*Trichosporon mucoides* qui est l'espèce la plus fréquemment isolée chez l'homme, est retrouvée sur des ongles et dans les espaces interdigitaux plantaires. *Trichosporon inkin*, hôte habituel de la muqueuse anale et des plis inguinaux, est l'agent de la piedra blanche. *Trichosporon asahii* est isolé surtout des ongles, aussi bien au niveau des pieds que des mains. *Trichosporon ovoides*, quant à lui, est davantage retrouvé au niveau du cuir chevelu, de la barbe et de la moustache. À ces niveaux, *Trichosporon ovoides* est responsable de lésions de piedra blanche.

Les lésions superficielles dues aux *Trichosporon* sont favorisées par l'humidité, la chaleur et une mauvaise hygiène. Vraisemblablement, des modifications de la flore cutanée dues à un déficit immunitaire local favorisent également la survenue de ces mycoses. La présence de ces levures sur la peau et dans l'intestin explique la survenue, en cas d'immunodépression sévère, de formes profondes ou disséminées.

## Les *Saccharomyces*

Les levures du genre *Saccharomyces* sont classées parmi les Ascomycètes Hémiascomycètes. Elles sont largement répandues dans l'alimentation (pain, vin, bière, fruits, légumes, ...). L'Ultralevure® qui est utilisé dans le traitement des diarrhées, contient de fortes concentrations de *Saccharomyces boulardii* (proche de *S. cerevisiae*). En relation avec leur fréquence dans les produits alimentaires, ces levures sont souvent isolées à l'état commensal à partir des prélèvements digestifs. Les infections à *Saccharomyces* sont en général rares. Ces levures ne peuvent diffuser dans le sang et les urines que chez des patients très affaiblis ou immunodéprimés, à l'occasion d'un déséquilibre de la flore intestinale et/ou d'une utilisation mal contrôlée de médicaments anti-diarrhéiques contenant la levure.

## Les *Geotrichum*

Les *Geotrichum* sont des champignons filamenteux à thalle septé hyalin appartenant aux Deutéromycètes Hyphomycètes Mucédinés. La reproduction sexuée, avec production d'asques et d'ascospores, n'est connue que pour deux espèces : *G. candidum* et *G. capitatum*. En conséquence, les *Geotrichum* sont rattachés dans les classifications récentes aux Ascomycètes.

Deux espèces de *Geotrichum* sont rencontrées à l'état commensal dans le tube digestif et les voies aériennes de l'homme et de nombreux mammifères : *G. capitatum* et *G. clavatum*. Une 3<sup>ème</sup> espèce, d'origine alimentaire, peut être isolée du tractus digestif chez l'homme. Il s'agit de *G. candidum*, que l'on retrouve dans de nombreux produits laitiers (notamment dans des fromages à pâte molle ou à croûte fleurie), mais aussi dans le sol, les eaux usées et les fruits. Les affections humaines liées aux *Geotrichum* restent toutefois rares.

## Les principaux facteurs favorisants

### Les candidoses

Les *Candida* sont des levures opportunistes, c'est-à-dire qu'à la faveur d'une altération des barrières anatomiques locales, d'un déséquilibre de la flore endogène ou d'un déficit immunitaire, ces levures peuvent se comporter en pathogènes et présenter un caractère invasif. Schématiquement, on distingue les facteurs favorisants liés à l'hôte (ou intrinsèques) et des facteurs extrinsèques (ou exogènes) qui sont le plus souvent d'origine iatrogène.

### Facteurs liés à l'hôte

#### a. Facteurs physiologiques

Parmi les facteurs intrinsèques, il faut citer les âges extrêmes de la vie. En effet, le nouveau-né est particulièrement vulnérable, de même que les individus âgés porteurs de prothèse dentaire. Chez la femme enceinte, surtout à partir du 3<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse, la fréquence des candidoses vaginales est 3 à 4 fois plus élevée.

La transpiration, la macération, la chaleur et l'humidité, de même que l'altération de la trophicité des muqueuses, favorisent le développement des candidoses ([Tableau 2](#)).

### *b. Terrain ou maladies sous-jacentes*

Les hémopathies malignes et les cancers, ainsi que toutes les maladies qui entraînent un affaiblissement de l'état général ou une altération profonde et durable de l'immunité, sont susceptibles de générer une candidose (**Tableau 2**). Parmi ces affections, citons le sida, le diabète et autres endocrinopathies (maladie de Cushing, ...).

**Tableau 2** : Facteurs locaux et généraux favorisant les candidoses buccales et oropharyngées.

Prothèses dentaires (partielles ou complètes) avec absence d'hygiène (prothèse gardée la nuit)
Xérostomie – hyposialie <ul style="list-style-type: none"><li>• Causes médicamenteuses (antidépresseurs tricycliques, diurétiques ou anticholinergiques)</li><li>• Syndrome de Gougerot-Sjögren</li></ul>
Corticoïdes locaux utilisés en inhalation (érythème du voile du palais, ulcère)
Cancers digestifs
Radiothérapie tête et cou
Antibiotiques à large spectre (amoxicilline + acide clavulanique, clindamycine, cyclines)
Agents cytotoxiques, corticoïdes par voie orale
Carences (vitamine A, fer)
Maladies endocriniennes (syndrome de Cushing, diabète, hypothyroïdie)
Infections par le VIH (surtout si CD4 < 400/mm <sup>3</sup> )

## Facteurs extrinsèques et/ou iatrogènes

### a. Traitements médicamenteux

L'antibiothérapie à large spectre, surtout si elle est prolongée au-delà du 8<sup>ème</sup> jour, augmente la colonisation digestive par les *Candida* et peut être dans un deuxième temps à l'origine d'une candidose digestive. Les traitements immunosuppresseurs (antimitotiques, corticoïdes, ...) peuvent avoir le même effet. Les ulcères digestifs générés par les traitements cytolytiques et colonisés par les levures commensales sont une porte d'entrée classique des *Candida*. Ils se compliquent d'une candidose chronique disséminée en cas de neutropénie profonde et prolongée.

### b. Traitements et/ou manœuvres chirurgicales

Les chirurgies digestives constituent un facteur de risque de candidoses à *C. albicans* ou à *C. glabrata*. La mise en place de cathéters centraux, de dispositifs intra-vasculaires, de prothèses ou de sondes expose au risque de septicémie à *Candida* (principalement à *C. parapsilosis*, commensal de la peau). Les principaux facteurs de risque des candidoses profondes sont résumés dans le [Tableau 3](#).

### c. Risque nosocomial lié aux *Candida*

Les septicémies à *Candida* surviennent préférentiellement dans les Unités de Soins Intensifs (Services de Réanimation Médicale ou Chirurgicale). Les levures du genre *Candida* se situent à la 4<sup>ème</sup> place parmi les microorganismes responsables de septicémies. Le [Tableau 4](#) présente les espèces impliquées. *Candida albicans* est largement en tête en Europe. Selon une étude réalisée en 1995, la prévalence des candidémies en France est estimée en moyenne à 29/100 000 admissions. Le [Tableau 5](#) montre la distribution des 4 principales espèces de *Candida* isolées d'hémocultures selon l'âge et le terrain sous-jacent.

Les candidémies sont associées à un taux de létalité de 45 à 60% et la mortalité directement imputable à la candidémie varie, selon les études, de 22 à 38%.

**Tableau 3** : Principaux facteurs de risque de candidose profonde.

Majeurs	Mineurs
Neutropénie	Âge (nouveaux-nés, personnes âgées)
Tumeur solide ou cancer hématologique	Diabète
Chirurgie abdominale et hémodialyse	Chirurgie préalable
Brûlures étendues (> 50%)	Accès intra-veineux multiples
Séjour en Unité de Soins Intensifs (USI)	Séjour en réanimation de plus de 7 jours
Antibiothérapie à large spectre (imipénème, vancomycine) et prolongée	Candidurie > 10 <sup>5</sup> UFC/ml (chez un patient non sondé)
Corticostéroïdes, chimiothérapie, nutrition parentérale totale	
Colonisation élevée	

**Tableau 4** : Distribution des espèces de *Candida* dans 2089 épisodes de septicémie survenus en Europe (d'après Tortorano *et al.*, 2004).

Espèces isolées	Nombre d'isolements (pourcentage)	
<i>C. albicans</i>	1178	(56,4%)
<i>C. glabrata</i>	284	(13,6%)
<i>C. parapsilosis</i>	278	(13,3%)
<i>C. tropicalis</i>	152	(7,2%)
<i>C. krusei</i>	40	(1,9%)
<i>C. guilliermondii</i>	30	(1,4%)
<i>C. lusitaniae</i>	15	(0,7%)
<i>C. kefyr</i>	10	(0,5%)
<i>C. pelliculosa</i>	9	(0,4%)
<i>C. famata</i>	7	(0,3%)
<i>C. dubliniensis</i>	6	(0,3%)
<i>C. lipolytica</i>	6	(0,3%)
<i>C. norvegensis</i>	5	(0,2%)
<i>C. inconspicua</i>	4	(0,1%)
<i>C. sake</i>	2	(0,1%)
<i>C. utilis</i>	2	(0,1%)
<i>Candida</i> sp.	9	(0,6%)
Association d'espèces	54	(2,4%)

**Tableau 5** : Distribution des quatre principales espèces du genre *Candida* isolées d'hémocultures en fonction de l'âge et du terrain sous-jacent (d'après Tortonaro *et al.*, 2004).

Catégorie de patients (n)	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>
Terrain sous-jacent				
Chirurgie (934)	58,0%	16,3%	12,6%	6,1%
Soins intensifs (839)	60,5%	11,9%	12,9%	6,1%
Tumeur solide (471)	58,0%	15,9%	10,6%	8,3%
Hémopathie maligne (257)	34,6%	9,7%	14,8%	17,9%
Prématurité (125)	60,8%	4,8%	28,8%	2,4%
Infection par le VIH (63)	65,1%	9,5%	6,3%	6,3%
Tranche d'âge				
< 1 an (158)	59,6%	3,1%	27,9%	3,1%
1-19 ans (144)	47,9%	3,6%	32,9%	5,7%
20-69 ans (1189)	57,1%	14,0%	11,2%	8,3%
> 70 ans (590)	60,0%	19,3%	6,9%	7,1%
Total	56,4%	13,6%	13,3%	7,1%

Certains facteurs généraux, comme les âges extrêmes de la vie et les facteurs de co-morbidité (pathologies associées, ...), sont des facteurs de risque de candidose systémique en réanimation. Il faut également signaler les séjours prolongés en Unités de Soins Intensifs. Certains patients appartiennent à des catégories à risque accru de candidose : les grands brûlés, les polytraumatisés, les patients neutropéniques, les transplantés, les patients présentant un déficit immunitaire, ... Les interventions de chirurgie digestive lourde, compliquées de perforations intestinales, ou de fuites d'anastomose digestive, biliaire ou pancréatique, constituent également un facteur de risque de candidose systémique. Parmi les pratiques médicales corrélées avec un risque accru de candidémie, notamment en réanimation, il convient de souligner le port prolongé d'un cathéter veineux central. La nutrition parentérale, et l'épuration extra-rénale sont aussi associées à une majoration du risque de candidose invasive ou de candidémie.

Concernant les facteurs extrinsèques d'origine médicamenteuse, il faut souligner le rôle de l'antibiothérapie à large spectre qui, en permettant la multiplication des levures diges-

tives, expose au risque de candidose invasive. De même, la colonisation secondaire de sites autres que le tube digestif précède classiquement l'apparition d'une candidémie. Plus le nombre de sites colonisés augmente, plus important est le risque de survenue d'une candidose systémique.

Sur la base de ces observations, Pittet a proposé, pour les patients hospitalisés dans des Unités de Réanimation Chirurgicale, deux indicateurs du risque fongique :

- l'index de colonisation (IC) défini comme le ratio entre le nombre de sites colonisés par *Candida* et le nombre de sites prélevés,
- et l'index de colonisation corrigé (ICC) qui correspond au rapport entre le nombre de sites fortement colonisés et le nombre de sites testés.

Un IC supérieur à 0,5 ou un ICC supérieur à 0,4 sont prédictifs d'une candidose invasive.

## **La cryptococcose**

La cryptococcose survient préférentiellement en cas d'immunodépression, plus précisément en cas de déficit de l'immunité à médiation cellulaire. Les patients séropositifs pour le VIH avec un taux de lymphocytes CD4 inférieur à 100/mm<sup>3</sup> sont particulièrement exposés. Depuis l'arrivée de la trithérapie, la cryptococcose au cours du sida est devenue plus rare (sauf en cas d'échappement aux antirétroviraux). La corticothérapie prolongée, la sarcoïdose, la maladie de Hodgkin et certains lymphomes favorisent aussi la survenue d'une cryptococcose. À l'inverse de ce qui est observé pour les candidoses, la granulopénie et l'agammaglobulinémie ne sont pas des facteurs favorisants. Dans bon nombre de cas, la cryptococcose peut aussi survenir sans que l'on puisse déceler un quelconque facteur prédictif.

## **Les malassezioses**

Les malassezioses ne sont pas des infections transmissibles. La survenue d'un pityriasis versicolor, d'un pityriasis capitis, d'une dermatite séborrhéique ou d'une folliculite semble être la conséquence du passage de la levure d'un état commensal à l'état parasitaire. Ce passage serait favorisé par une teneur élevée en acides gras libres et en triglycérides. Une réceptivité individuelle est aussi évoquée (peau séborrhéique, transpiration, hypercorticisme, immunosuppresseurs). L'application de corps gras (cosmétique ou huile corporelle) sur la peau favorise le développement de ces levures. De même, la multiplication de ces

levures est favorisée par la chaleur et l'humidité. Le pityriasis versicolor est donc plus fréquent durant l'été.

Enfin, les septicémies à *Malassezia* ont souvent pour origine la colonisation des implants vasculaires chez les prématurés ou les adultes immunodéprimés recevant une alimentation parentérale riche en lipides.

### **Les rhodotoruloses, les saccharomycoses, les trichosporonoses et les géotrichoses**

Les facteurs favorisants de ces mycoses sont voisins ou identiques à ceux des candidoses. Les champignons incriminés (*Rhodotorula* sp., *Saccharomyces* sp., *Trichosporon* sp. et *Geotrichum* sp.) ne deviennent pathogènes - ou n'expriment leur pathogénicité - que dans des conditions de grande fragilité du patient.

Il convient de préciser :

- que l'utilisation prolongée d'un cathéter représente la principale source de contamination, dans les rhodotoruloses
- et que les fongémies à *Saccharomyces* peuvent être occasionnées par l'absorption d'anti-diarrhéiques à base de levures lyophilisées (*S. cerevisiae* variété *boulardii*). Mais la contamination peut aussi se faire par l'intermédiaire du personnel soignant ou par voie aérienne, à l'ouverture des sachets de levures, par souillure du site d'insertion d'un cathéter.

## Aspects cliniques des levures

Le spectre clinique des levures, présenté dans le [Tableau 6](#), est extrêmement varié, allant d'affections strictement superficielles comme le pityriasis versicolor, le pityriasis capitis ou la piedra blanche, à des mycoses profondes ou systémiques.

**Tableau 6** : Spectre clinique des levures.

Levures	Manifestations cliniques (localisation) et principales espèces en cause
Candidoses	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Intertrigos</li> <li>- Onyxis et périonyxis</li> <li>- Candidoses oropharyngées</li> <li>- Candidoses digestives et génitales</li> <li>- Septicémies</li> <li>- Candidoses profondes ou viscérales</li> </ul> <div style="display: inline-block; vertical-align: middle; margin-left: 20px;"> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Candida albicans</i></li> <li><i>C. glabrata</i></li> <li><i>C. tropicalis</i></li> <li><i>C. parapsilosis</i></li> <li><i>C. krusei</i></li> <li><i>C. lusitaniae</i></li> <li><i>C. famata</i></li> <li><i>C. guilliermondii</i></li> </ul> </div>
Cryptococcoses	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cryptococcoses neuroméningées</li> <li>- Cryptococcoses viscérales</li> <li>- Cryptococcoses cutanées</li> </ul> <div style="display: inline-block; vertical-align: middle; margin-left: 20px;"> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Cr. neoformans</i></li> </ul> </div>
Malassezioses	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pityriasis versicolor (peau, thorax)</li> <li>- Dermite séborrhéique</li> <li>- Pityriasis capitis (cuir chevelu)</li> <li>- Septicémies</li> </ul> <div style="display: inline-block; vertical-align: middle; margin-left: 20px;"> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Malassezia furfur</i></li> <li><i>M. globosa</i></li> <li><i>M. sympodialis</i></li> <li><i>M. pachydermatis</i></li> </ul> </div>
Trichosporonoses	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Piedra blanche (poils et cheveux)</li> <li>- Trichosporonoses cutanées</li> <li>- Onyxis</li> <li>- Septicémies</li> </ul> <div style="display: inline-block; vertical-align: middle; margin-left: 20px;"> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Trichosporon mucoides</i></li> <li><i>T. asahii</i></li> <li><i>T. inkin</i></li> <li><i>T. ovoides</i></li> </ul> </div>

## Les candidoses

Les candidoses sont des affections fongiques cosmopolites provoquées par des levures appartenant au genre *Candida*. Ces levures sont à l'origine d'infections superficielles qui peuvent affecter aussi bien le revêtement cutané et les phanères (ongles, poils, cheveux), que les muqueuses (digestives et urogénitales), ou de mycoses profondes qui touchent de nombreux organes, notamment le foie, la rate, les reins, les os, les articulations (Figure 3). De nombreux facteurs locaux ou généraux favorisent la survenue de ces infections.

### Candidoses superficielles

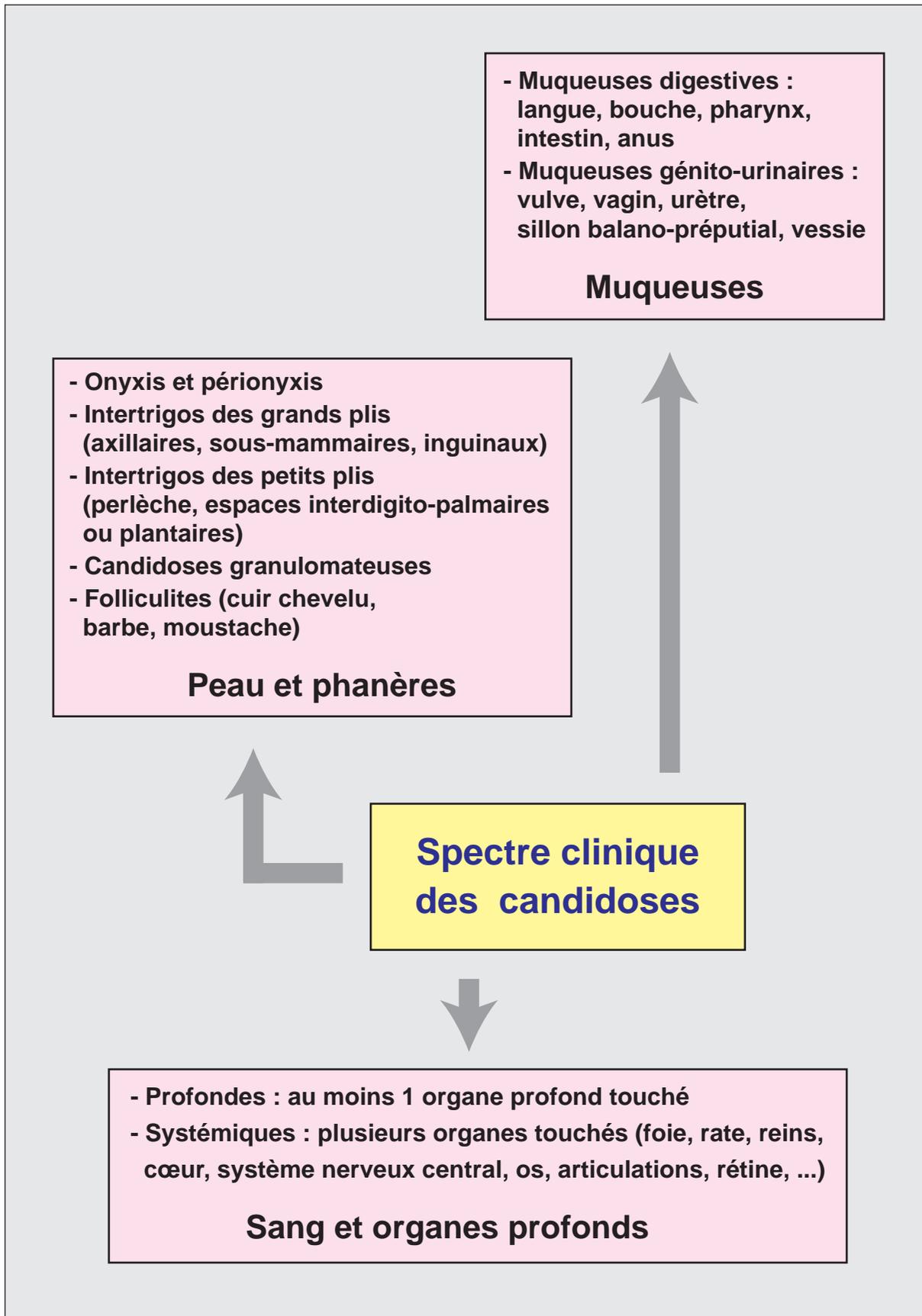
Les candidoses superficielles sont les plus fréquentes des infections à *Candida*. Elles témoignent le plus souvent du passage d'espèces déjà présentes au niveau digestif (*C. albicans*, *C. dubliniensis* et *C. glabrata*) de l'état commensal à l'état parasitaire.

#### a. Candidoses buccales

On regroupe sous ce terme de nombreuses formes cliniques.

- La candidose érythémateuse aiguë : dans cette forme clinique, la muqueuse buccale est rouge, inflammatoire, lisse et vernissée, sans plaques blanchâtres. La langue est rouge et décapillée. Le patient ressent une sensation de brûlure douloureuse.
- La candidose pseudomembraneuse aiguë ou muguet buccal : ici, la muqueuse buccale et la langue sont recouvertes d'un enduit blanchâtre qui en se détachant révèle une muqueuse rouge érosive (Figure 4). Le patient se plaint d'un goût métallique et peut présenter dysgueusie et dysphagie.

**Figure 3** : Spectre clinique des candidoses.



**Figure 4** : Glossite à *Candida*.



- La candidose aiguë localisée : elle se caractérise par des lésions érythémateuses ou érythémato-pultacées, limitées en foyers sur la langue et le palais.
- La candidose atrophique chronique : dans cette forme clinique, les lésions sont localisées ou généralisées, et se traduisent par un érythème sur une muqueuse lisse dépapillée.
- La candidose pseudomembraneuse chronique (muguet chronique) : elle se traduit par des enduits blanchâtres adhérent à une muqueuse érythémateuse.

- La perlèche angulaire : cette mycose qui accompagne souvent une candidose buccale, se présente sous forme de fissures et de croûtes au niveau des commissures labiales (Figure 5).

**Figure 5** : Perlèche.



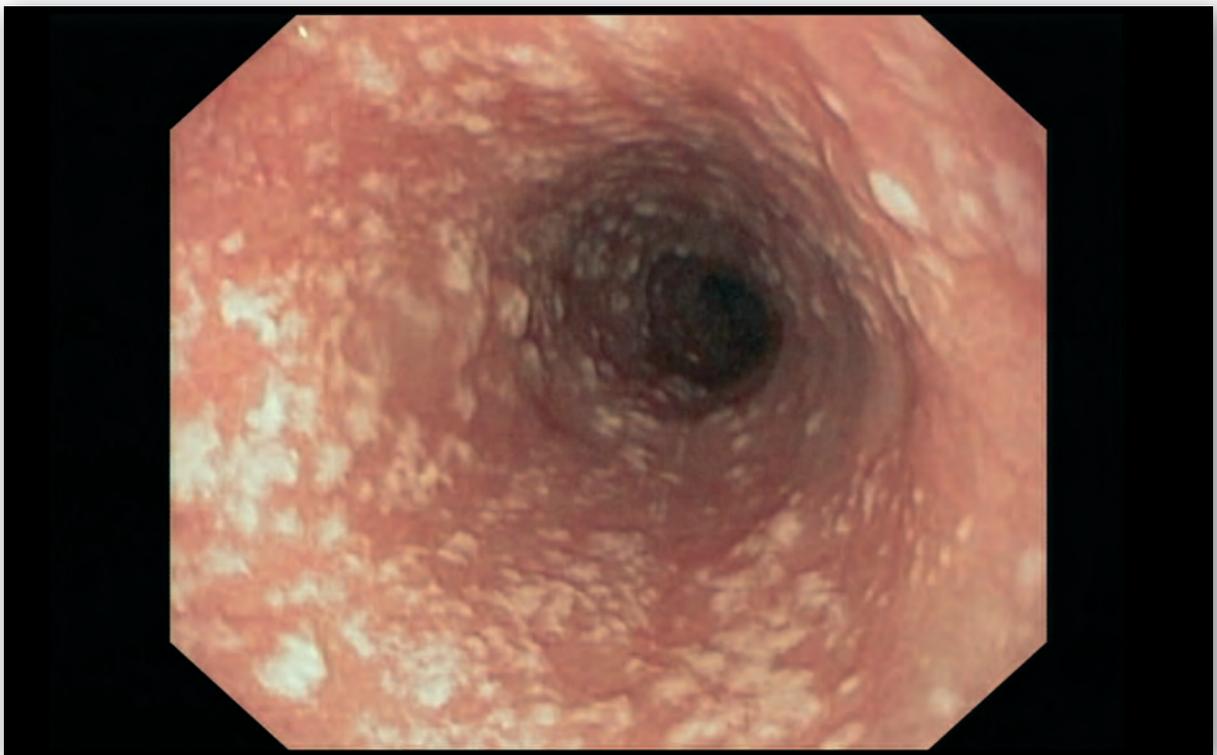
- La chéillite : il s'agit d'un œdème accompagné d'une desquamation d'une ou des deux lèvres.
- La langue noire villose : elle est caractérisée par une hypertrophie de l'extrémité des papilles aboutissant à la formation de véritables villosités prenant une couleur noire. Les papilles linguales sont agglomérées dans un enduit mucopolysaccharidique. La couleur noire en surface est due à l'oxygénation et aux pigments produits par certaines bactéries. L'étiologie reste mystérieuse ; elle ne serait pas candidosique ni, d'une manière plus générale, fongique. Les levures du genre *Candida*, comme les *Geotrichum* ou les *Trichosporon*, colonisent volontiers ces lésions. Le traitement antifongique se révèle décevant pour guérir ces patients. On évoque comme facteurs favorisant une mauvaise hygiène bucco-dentaire, une imprégnation alcoolo-tabagique ou des troubles de la sphère digestive.

### *b. Autres candidoses digestives*

- Candidose œsophagienne :

Elle est associée à une candidose oropharyngée non traitée et se rencontre souvent chez des patients infectés par le VIH avec un taux de lymphocytes CD4 inférieur à 100/mm<sup>3</sup>. Elle se traduit par une dysphagie douloureuse accompagnée de brûlures rétro-sternales, et parfois de vomissements et d'un hoquet. C'est l'examen endoscopique qui permet le diagnostic en révélant des plaques membraneuses épaisses réduisant la lumière œsophagienne (Figure 6).

**Figure 6** : Candidose œsophagienne chez un patient infecté par le VIH.



- La candidose gastrique :

Elle complique la candidose œsophagienne. Elle se traduit à l'examen endoscopique par une muqueuse inflammatoire recouverte de dépôts membraneux d'aspect nacré.

- La candidose intestinale :

La clinique est peu spécifique : diarrhées, douleurs abdominales, météorisme avec émission de gaz. La numération des levures dans les selles permet d'en suspecter l'existence.

- La candidose anale :

Elle se traduit par des lésions périanales rouges parsemées de petits éléments maculo-papuleux. Le prurit anal est habituel dans cette localisation.

### c. Candidoses génito-urinaires

- Vulvovaginite à *Candida* ou candidose vulvovaginale :

La candidose vaginale, dans sa forme aiguë, se traduit par l'émission de leucorrhées blanchâtres, d'aspect crémeux ou grumeleux (caillebotté). Les muqueuses vulvaires et vaginales (au spéculum) sont érythémateuses, oedématisées et recouvertes d'un enduit blanchâtre (Figure 7). Prurit, sensation de brûlures et dyspareunie accompagnent souvent ces lésions qui, en l'absence de traitement, ont tendance à s'étendre aux plis inguinaux et au périnée.

La candidose vaginale n'est pas considérée comme une infection sexuellement transmissible. C'est la conséquence d'un dysfonctionnement hormonal (imprégnation progestative) ou immunitaire (déficit de l'immunité à médiation cellulaire). Des facteurs locaux sont aussi suggérés pour expliquer les récives (Tableau 7).



**Figure 7 :**  
Candidose vaginale.

**Tableau 7** : Principaux facteurs expliquant la survenue et les rechutes des candidoses vulvo-vaginales.

Facteurs locaux	Facteurs généraux
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Toilette intime avec savon à pH acide</li> <li>- Colonisation excessive du tube digestif par des levures</li> <li>- Sudation excessive</li> <li>- Rapports sexuels répétés et non protégés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grossesse (surtout 3<sup>ème</sup> trimestre)</li> <li>- Corticoïdes</li> <li>- Diabète</li> <li>- Infection par le VIH, surtout si le taux de lymphocytes CD4 est inférieur à 400/mm<sup>3</sup></li> </ul>

- Candidoses vaginales récidivantes :

On définit une candidose vaginale récidivante par la survenue de plus de quatre épisodes de candidoses vaginales par an. *Candida albicans* représente 85 à 90% des isollements, suivi de *C. glabrata* (5-10%), *C. tropicalis* (3-5%) et *C. parapsilosis* (3-5%). Les autres cas (moins de 3% des candidoses vaginales récidivantes) sont dues à d'autres espèces telles que *C. krusei*, *C. kefyr* et *C. guilliermondii*.

Ces récurrences sont dues surtout à la méconnaissance de facteurs locaux et généraux, qu'il convient de rechercher.

- Balanite et balanoprostite à *Candida* :

La lésion se caractérise par un érythème intense de la muqueuse et du sillon balanopréputial. Elle se recouvre rapidement par un enduit blanchâtre et/ou de petites vésicules siégeant principalement sur le gland (**Figure 8**).

Les lésions peuvent se compliquer d'un œdème et d'un phimosis. La balanite à *Candida* peut aussi survenir après un rapport sexuel non protégé avec un(e) partenaire ayant une candidose vaginale ou anale méconnue ou non traitée.

**Figure 8** : Balanite aiguë à *Candida* chez un homme de 42 ans.



- Candidoses urinaires :

Les candidoses du tractus urinaire ont peu de spécificité par rapport aux infections bactériennes et ne sont pas toujours associées à de la fièvre. L'urétrite se présente le plus souvent comme une atteinte du méat avec des dépôts blanchâtres et un écoulement associé à des brûlures mictionnelles. Les cystites sont liées à une colonisation rétrograde ; elles imposent de rechercher, chez la femme, une localisation vaginale associée. Isolées, elles doivent faire rechercher un éventuel diabète. Elles sont fréquentes chez le porteur de sonde urétrale. Lors des infections ascendantes touchant l'arbre pyélocaliciel, la levure peut se retrouver sous forme de boule fongique. Enfin, lors d'une dissémination hémotogène, une localisation rénale peut se voir, à type d'abcès non spécifique.

*d. Candidoses cutanées et unguéales*

- Intertrigo à *Candida* :

Les lésions débutent habituellement au fond des plis inguinaux (Figures 9 à 11), sous-mammaires, interfessier ou axillaires. Ces lésions érythémateuses et mal limitées sont souvent suintantes et recouvertes d'enduits blanchâtres, avec une périphérie constituée d'une collerette de vésicules.

**Figure 9** : Intertrigo inguinal à *Candida*.



**Figure 10** : Intertrigo inguinal et vulvovaginite à *Candida*.



**Figure 11** : Intertrigo inguinal à *Candida* chez l'homme.



Au niveau des petits plis, interdigito-palmaires principalement (Figure 12), plus rarement plantaires à l'inverse des dermatophytes (Figure 13), les lésions sont souvent ulcérées, avec une bordure blanchâtre et décollée. Ces lésions se rencontrent plus fréquemment chez les individus dont les mains sont soumises de façon répétitive à l'humidité (ménagères, métiers de la restauration, pâtissiers, plongeurs, coiffeurs) ou à des produits décapants, et le troisième espace est le plus souvent touché.

- Périonyxis et onyxis à *Candida* :

Plus fréquentes chez la femme que chez l'homme, les atteintes des ongles à *Candida* siègent essentiellement au niveau des mains, à l'inverse des dermatophytes qui affectionnent plutôt les ongles des pieds. Les facteurs favorisants sont identiques à ceux précédemment décrits pour les intertrigos interdigito-palmaires, mais il faut également signaler les microtraumatismes répétés par les soins de manucure excessifs.

Les lésions débutent par une atteinte péri-unguéale aboutissant à un bourrelet rouge autour de la zone matricielle de l'ongle (Figure 14). Parfois la pression de la lésion qui est souvent douloureuse, permet l'écoulement d'une sérosité.

L'atteinte unguéale est secondaire ; elle touche la partie proximale, puis gagne les bords latéraux et la partie distale de l'ongle. L'ongle devient rugueux, strié et friable. Parfois complètement fragilisé, il se décolle de son lit et s'en détache. Contrairement aux onyxis à dermatophytes ou même à moisissures, les onyxis à levures évoluent rapidement vers la destruction totale de l'ongle.

À l'inverse, dans les paronychies chroniques (bourrelets péri-unguéaux douloureux), le rôle pathogène des *Candida* est discuté bien que leur présence puisse être notée. Les lésions relèvent plutôt d'une réaction d'hypersensibilité à des protéines souvent d'origine alimentaire.

**Figure 12** : Intertrigo interdigito-palmaire à *Candida*.



**Figure 13** : Intertrigo interdigito-plantaire à *Candida*.



**Figure 14** : Onyxis et perionyxis à *Candida*.



- Candidose cutanéomuqueuse chronique :

Les lésions, spectaculaires, se présentent comme une hyperkératose abondante, envahissante, siégeant au niveau des ongles (et réalisant alors de volumineuses croûtes qui remplacent toutes les structures de l'appareil unguéal), sur la peau (les croûtes reposent alors sur un épiderme inflammatoire) et le cuir chevelu. Cette affection très rare s'intègre dans un contexte de polyendocrinopathie auto-immune et de déficit sélectif de l'immunité cellulaire aux antigènes candidosiques.

- Candidose cutanée néonatale :

Elle touche les nouveaux-nés dès la naissance. Elle est liée à une candidose vaginale méconnue avec atteinte utérine et souillure du liquide amniotique à l'origine de la contamination de l'enfant lors de l'accouchement.

Les lésions apparaissent dès les premières 24 heures sous la forme d'une éruption maculo-papuleuse ou vésiculo-pustuleuse (Figure 15). Les plis sont épargnés et il n'y a pas, en général, d'envahissement des organes profonds.



**Figure 15 :**  
Candidose cutanée  
néonatale.

- Candidose génito-fessière du nourrisson :

Dans les semaines qui suivent la naissance, les enfants contaminés lors de l'accouchement peuvent présenter une candidose fessière.

Les lésions sont localisées préférentiellement au niveau du siège. Elles sont érythémateuses, vésiculo-pustuleuses et suintantes. Le fond des plis inguinaux, cruraux ou interfessiers est fréquemment recouvert d'un enduit blanchâtre (Figure 16).

**Figure 16** : Candidose génito-fessière du nourrisson.



### **Candidoses profondes et systémiques**

On parle de candidose profonde lorsqu'il y a au moins un organe profond touché et de candidose systémique lorsque plusieurs organes profonds sont touchés ou lors d'une dissémination hématogène de levures du genre *Candida*.

#### **a. Septicémies à *Candida***

Les septicémies à *Candida* représentent environ 10 à 15% des septicémies en milieu hospitalier. Elles surviennent dans des services à haut risque : unités de soins intensifs (notamment les services de réanimation chirurgicale), services recevant des polytrauma-

tisés ou des grands brûlés, services d'onco-hématologie. La mortalité reste élevée puisqu'elle se situe entre 45 et 60% selon le terrain sous-jacent. La symptomatologie lors d'une septicémie à *Candida* n'est pas spécifique. Une fièvre isolée qui se prolonge malgré une antibiothérapie à large spectre, est souvent le seul signe clinique observé. Par ordre décroissant de fréquence, *Candida albicans*, *C. glabrata* et *C. parapsilosis* sont les espèces les plus souvent isolées (Tableau 4).

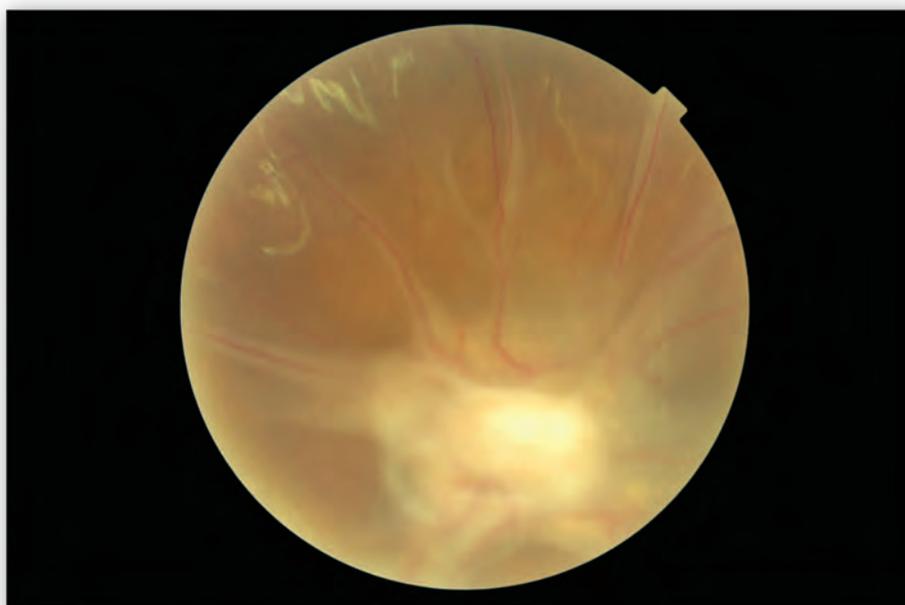
#### *b. Localisations secondaires des Candida liées à une dissémination hématogène*

- Cutanées :

Environ 10% des disséminations hématogènes présentent des localisations cutanées. Les lésions ne sont pas spécifiques. L'aspect habituel est celui de papules et pustules avec un centre nécrotico-purpurique. Ces lésions apparaissent souvent dans un contexte fébrile associé à des myalgies.

- Oculaires :

Il s'agit d'endophtalmies endogènes. Elles surviennent dans 10 à 40% des septicémies à *Candida*, et principalement chez les patients non neutropéniques et les héroïnomanes (toxicomanie intraveineuse). Le fond d'œil objective un exsudat cotonneux blanchâtre saillant dans le vitré (Figure 17). La symptomatologie clinique est fruste et peu spécifique : baisse de l'activité visuelle, photophobie, scotomes, et douleurs oculaires.

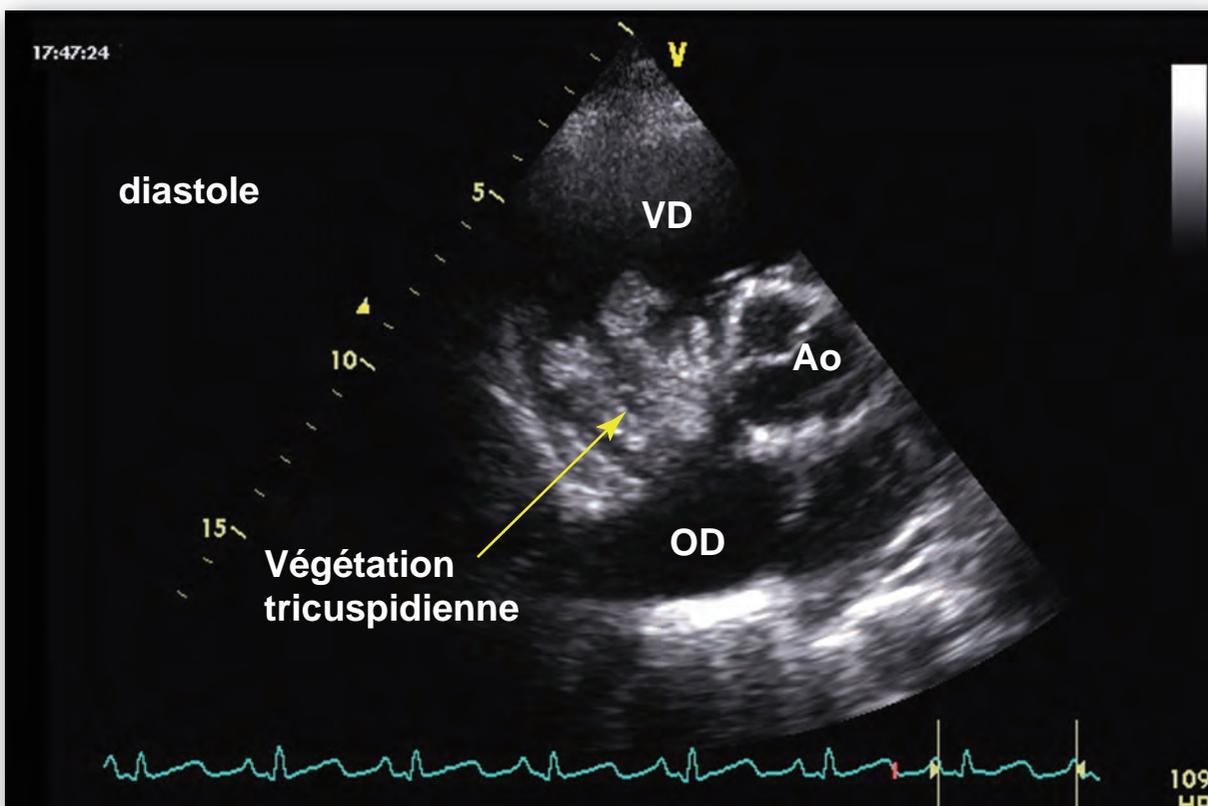


**Figure 17 :**  
Candidose  
oculaire.

- Cardiaques :

L'endocardite à *Candida* représente 1 à 2% des endocardites infectieuses de l'enfant et de l'adulte, mais 10% des endocardites du nouveau-né. Elle survient le plus souvent chez des patients ayant des lésions préexistantes sur une valve native ou prothétique. Elle touche aussi des patients porteurs d'un cathéter veineux central (endocardite du cœur droit) et les toxicomanes. Elle est principalement due à *C. parapsilosis* (50% des observations) alors que *C. albicans* n'est retrouvé que dans 15% des cas. Les endocardites fongiques se caractérisent aussi par un délai de survenue souvent très tardif (plusieurs mois) après un épisode candidémique. Les symptômes sont voisins de ceux d'une endocardite bactérienne (sueurs nocturnes, fièvre, souffle cardiaque à l'auscultation). Le point d'appel peut être une fièvre isolée avec hyperleucocytose ou des signes cutanés (nodules douloureux). Les hémocultures ne sont pas toujours positives. Il faut avoir recours à des techniques d'imagerie spécialisées (échographie trans-oesophagienne) pour visualiser des végétations habituellement plus volumineuses que celles d'origine bactérienne (Figure 18).

**Figure 18** : Végétations cardiaques à *Candida guilliermondii*.



- Hépatospléniques :

La candidose hépatosplénique, appelée aussi candidose chronique disséminée, survient habituellement chez le patient neutropénique soumis à une antibiothérapie à large spectre (qui favorise la colonisation digestive) et une chimiothérapie générant des ulcères digestifs (qui favorisent l'invasion tissulaire). La symptomatologie clinique est non spécifique. Le plus souvent, il s'agit d'une fièvre résistant aux antibiotiques en sortie d'aplasie. L'échographie, et surtout le scanner sont plus contributifs au diagnostic ; ils mettent en évidence des lésions arrondies avec un rehaussement périphérique évoquant la présence de micro-abcès à *Candida*. Ces lésions ne sont décelables qu'en sortie d'aplasie. Le diagnostic sera suggéré, comme dans les autres localisations profondes, devant une élévation du taux d'anticorps anti-*Candida*, souvent associée dans ce cas à une augmentation des phosphatases alcalines. La confirmation ne pourra être faite que par la biopsie d'une lésion, et son étude anatomo-pathologique et mycologique.

- Ostéo-articulaires :

Comme pour les lésions cardiaques, l'ostéoarthrite à *Candida* survient généralement plusieurs mois (2 à 12 mois) après un épisode septicémique. Les spondylodiscites dorso-lombaires, mais aussi des atteintes costales et sternales, sont fréquentes. Chez les héroïnomanes, la localisation sterno-claviculaire est habituelle. La symptomatologie clinique et radiologique n'est pas différente de celle des atteintes bactériennes. Comme pour les autres localisations profondes, le diagnostic repose sur l'isolement et l'identification de la levure responsable à partir d'une ponction ou d'une exploration chirurgicale du foyer lésionnel.

- Neuroméningées :

Les localisations neuroméningées restent rares chez l'adulte (sauf chez le toxicomane), mais elles sont plus fréquentes chez le nouveau-né. Le diagnostic est cependant difficile. Le LCR est inconstamment positif. Le diagnostic nécessite une biopsie des lésions suspectes avec étude anatomo-pathologique et mycologique.

- Pulmonaires :

Les pneumopathies primitives à *Candida* restent exceptionnelles. Elles sont secondaires à une dissémination hématogène. Le diagnostic de certitude impose une étude anatomo-pathologique et mycologique après biopsie du tissu pulmonaire.

- Rénales :

Des atteintes rénales peuvent survenir secondairement à une dissémination hémotogène. La symptomatologie, non spécifique, associe fièvre, frissons et douleurs lombaires simulant une pyélonéphrite. La localisation rénale peut aussi être révélée par un bilan biologique rénal perturbé (insuffisance rénale), suivi par une échographie montrant de nombreux abcès tissulaires. Il convient dans ce contexte d'éliminer une atteinte rénale secondaire par voie basse (ou rétrograde) liée à une colonisation à *Candida* mal contrôlée, générant des "boules fongiques" au niveau des voies urinaires avec le risque d'un retentissement sur la fonction rénale.

- Péritonéales :

Elles sont favorisées par la nutrition parentérale et l'antibiothérapie. Elles compliquent aussi une manœuvre chirurgicale (perforation, lâchage de sutures) ou une dialyse péritonéale. Les perforations gastro-intestinales sont les plus fréquentes. *Candida albicans* et *C. glabrata* sont les levures les plus souvent isolées. Le pronostic de ces péritonites post-opératoires reste sévère.

- Candidose des héroïnomanes :

La candidose des héroïnomanes occupe une place à part parmi les candidoses systémiques. Cette forme clinique est liée à l'utilisation d'héroïne souillée par une levure appartenant au genre *Candida* (*C. parapsilosis* dans 50% des cas). Elle se présente d'abord comme un syndrome fébrile, survenant quelques heures ou quelques jours après une injection intra-veineuse d'héroïne, associé à des frissons, des myalgies et des douleurs articulaires (symptômes qui peuvent aussi témoigner d'une endocardite). Puis apparaissent des lésions cutanées sur n'importe quelle région pileuse, principalement le cuir chevelu et la barbe (Figure 19). Dans les poils prélevés, on visualise des filaments mycéliens et la culture des poils et des produits de grattage des pustules met en évidence les levures.

**Figure 19** : Candidose des héroïnomanes.



Des localisations cardiaques (endocardites), oculaires (rétine, vitré), osseuses (ostéites, spondylodiscites), neurologiques (méningites), peuvent aussi être retrouvées chez ces patients.

### **La cryptococcose**

La cryptococcose est une mycose cosmopolite humaine et animale évoluant sur un mode subaigu ou chronique. Cette mycose est due à une levure capsulée appartenant au genre *Cryptococcus* (*Cr.*), principalement *Cr. neoformans*. Parmi les cryptocoques, *Cr. neoformans* est en effet l'espèce qui présente le comportement opportuniste le plus marqué.

La contamination se fait le plus souvent par inhalation de spores de cette levure qui vit dans le milieu extérieur en saprophyte sur les fientes de pigeons ou le guano de chauve-souris. Plus rarement, elle s'effectue par inoculation transcutanée. *Cryptococcus neoformans* présente un tropisme pour le système nerveux central et peut diffuser par voie sanguine dans tout l'organisme chez les patients fortement immunodéprimés.

On distingue plusieurs tableaux cliniques.

## Cryptococcose neuroméningée

Le tableau clinique est celui d'une méningo-encéphalite au début insidieux (céphalées rebelles aux antalgiques, fièvre modérée). Puis surviennent d'autres signes qui complètent le tableau initial : vertiges, modification du caractère, paralysie des nerfs crâniens. Enfin, s'installe un syndrome méningé franc avec raideur de la nuque et vomissements. Le diagnostic est porté par l'examen du LCR, avec mise en évidence des levures capsulées à l'aide d'encre de Chine. La détection des antigènes polysaccharidiques dans le LCR, le sang, ou les urines, est aussi très contributive au diagnostic.

## Cryptococcose pulmonaire

La pneumopathie à cryptocoques est rarement décelée, bien que l'arbre aérien soit la porte d'entrée principale. Elle est soit inaugurale soit tardive. Quand elle est symptomatique, elle n'est pas spécifique : toux, dyspnée, et douleurs thoraciques associées à un syndrome fébrile. Chez les patients non immunodéprimés, les signes radiologiques sont polymorphes simulant une tuberculose ou une néoplasie. Chez les patients immunodéprimés, le tableau s'enrichit souvent de lésions cutanées.

Le diagnostic repose sur la découverte des levures à l'examen direct et par culture des produits d'expectorations, du lavage broncho-alvéolaire ou des biopsies des lésions.

## Cryptococcose cutanée

Après traumatisme ou brûlure avec souillure tellurique, des infections cutanées peuvent se rencontrer surtout chez le patient immunocompétent. Mais les atteintes cutanées résultent presque toujours d'une dissémination hématogène chez des patients immunodéprimés. La lésion typique est une papule qui devient pustule ombiliquée et/ou ulcéro-nécrotique (Figure 20).

Des aspects acnéiformes et de "molluscum contagiosum" sont aussi observés. Ces lésions siègent principalement au niveau du visage et des extrémités des membres, sans induire habituellement d'adénopathies satellites.

**Figure 20** : Cryptococcose cutanée.



### **Cryptococcose viscérale ou profonde**

En dehors des localisations pulmonaires et neuroméningées, d'autres localisations profondes (notamment osseuses, oculaires, médullaires, ganglionnaires ou spléniques) peuvent se voir, en particulier chez les patients fortement immunodéprimés.

#### ***a. Cryptococcose osseuse***

La cryptococcose osseuse se manifeste par des abcès froids d'aspect pseudotuberculeux siégeant au niveau des os plats (crâne, côtes, ...) ou des vertèbres. Ces abcès peuvent s'ouvrir à la peau.

#### ***b. Cryptococcose oculaire***

Elle se manifeste de façon non spécifique sous forme d'une chorioretinite ou d'une kératite.

### c. Autres localisations

Dans les cryptococcoses disséminées, le cryptocoque peut être isolé aussi du sang, des urines ou de biopsies d'organes profonds : foie, endocarde, myocarde, pancréas, surrénales, prostate, moelle osseuse. Ces localisations sont souvent rencontrées chez le patient sidéen au stade terminal.

### Particularités de la cryptococcose chez le patient VIH positif

La cryptococcose survient habituellement chez des patients qui ont un taux de lymphocytes CD4 inférieur à 100/mm<sup>3</sup>. Une fièvre trainante et une céphalée récente peuvent être les premiers signes d'une méningite à cryptocoque chez ces patients.

### Les malassezioses

Les malassezioses sont des affections cosmopolites dues à des levures habituellement lipophiles, appartenant au genre *Malassezia*. Les levures sont à l'origine d'atteintes superficielles (pityriasis versicolor, dermatite séborrhéique, pityriasis capitis, folliculites du tronc) ou profondes (septicémies sur terrain particulier : prématurés, immunodéprimés).

### Pityriasis versicolor

Le pityriasis versicolor est l'affection à *Malassezia* la plus répandue. Dans sa forme habituelle, il se présente comme une dermatose qui débute sur le thorax (Figure 21) et le cou (Figure 22) pour s'étendre ensuite sur tout le corps en respectant la paume des mains et la plante des pieds. La lésion élémentaire est constituée de macules de couleur chamois, finement squameuses, à limites nettes qui s'étendent de façon centrifuge. Le prurit est le plus souvent absent. Sur peau noire ou après exposition au soleil, les lésions apparaissent comme des tâches dépigmentées (Figure 23) .

Le diagnostic clinique est aidé par l'examen en lumière de Wood : les lésions actives émettent une fluorescence jaune verte caractéristique. L'examen direct du prélèvement réalisé par grattage superficiel de la lésion (signe du copeau) ou par application d'un morceau de cellophane adhésive sur la lésion (Scotch® test ; Figure 24) permet d'affirmer immédiatement le diagnostic par la mise en évidence des levures disposées sur de courts filaments mycéliens.

**Figure 21** : Pityriasis versicolor au niveau du thorax.



**Figure 22** : Pityriasis versicolor au niveau du cou.



**Figure 23** : Pityriasis versicolor sur peau noire.



**Figure 24** : Scotch® test.



## Dermite séborrhéique

La dermite séborrhéique est une affection fréquente aussi bien chez l'enfant et le nourrisson que chez l'adulte. *Malassezia globosa* et *M. restricta* sont les espèces les plus fréquemment impliquées. Les lésions érythémato-squameuses et plus ou moins prurigineuses siègent au niveau du visage, des sourcils, des plis nasogéniens, et à la base du cuir chevelu. Chez le nourrisson, les lésions siègent sur les fesses et le cuir chevelu ("croûtes de lait").

## Pityriasis capitis

Le pityriasis capitis se manifeste par une desquamation abondante du cuir chevelu générant de nombreuses pellicules. Secondairement, des croûtes épaisses se forment sans provoquer de chute de cheveux (Figure 25). Dans les formes avancées, l'hyperkératose aboutit à la formation de croûtes adhérentes, c'est la "fausse teigne amiantacée d'Alibert". Le pityriasis capitis est favorisé par le stress et la séborrhée, et un prurit est fréquemment associé.

**Figure 25** : Pityriasis capitis.



## Folliculite pityrosporique

Les folliculites à *Malassezia* sont caractérisées par des lésions pustuleuses et papuleuses plus ou moins prurigineuses. Les lésions siègent essentiellement au niveau du thorax, du dos et des épaules. Elle touche surtout l'homme jeune. La fréquence est augmentée chez les patients atteints de sida. L'antibiothérapie (cyclines) et la corticothérapie sont aussi des facteurs favorisants.

## Atteintes profondes à *Malassezia*

Elles se traduisent par des fongémies et des méningites, mais aussi des atteintes profondes touchant de nombreux organes. Elles sont préférentiellement rencontrées chez des patients immunodéprimés et des prématurés sous alimentation parentérale riche en lipides. L'enlèvement du cathéter souillé, dont la mise en culture sur gélose additionnée d'huile d'olive permettra le diagnostic, suffit habituellement pour obtenir la guérison.

## Les rhodotoruloses

Les rhodotoruloses sont des affections cosmopolites, rares, dues à des levures rouges appartenant au genre *Rhodotorula*.

Ces levures, parfois isolées de la peau ou des phanères (ongles), des conjonctives, des voies urinaires, digestives, ou respiratoires, sont habituellement commensales, n'entraînant alors aucune lésion particulière. À l'inverse, chez des patients immunodéprimés, ces levures peuvent être impliquées dans des atteintes profondes : septicémies, endocardites, méningites, péritonites, infections oculaires.

Les facteurs déclenchants les plus souvent associés à ces infections sont les matériels implantables souillés (cathéters intraveineux, ...), mais aussi l'antibiothérapie, la neutropénie, le diabète et l'insuffisance rénale.

## Les saccharomycoses

Les saccharomycoses sont des affections cosmopolites rares, dues à des levures appartenant au genre *Saccharomyces*. *Saccharomyces cerevisiae*, l'espèce la plus fréquemment incriminée, est habituellement isolée de prélèvements issus du tractus digestif.

Cette levure ne devient pathogène que dans de rares circonstances. Elle est incriminée dans des lésions de stomatite pseudomembraneuse, de vaginite récidivante, ou d'infection urinaire. Des atteintes profondes sont décrites : septicémie (liée à un cathéter souillé), endocardite (sur prothèse), péritonite (post-opératoire ou après dialyse péritonéale), pneumopathie et œsophagite (en particulier lors du sida).

### Les trichosporonoses

Comme les rhodotoruloses et les saccharomycoses, les trichosporonoses sont des affections cosmopolites rares. Elles sont dues à des levures appartenant au genre *Trichosporon* que l'on retrouve souvent à l'état commensal sur la peau, les ongles et les muqueuses digestives. Elles peuvent être à l'origine de lésions superficielles (piedra blanche, onyxis) ou profondes (septicémies chez des patients immunodéprimés, notamment neutropéniques).

### La piedra blanche

Il s'agit d'une atteinte des cheveux, de la barbe, de la moustache et des poils pubiens, inguinaux ou axillaires. Les lésions se présentent comme de petits nodules mous, blanchâtres ou grisâtres, fixés autour du poil sans l'altérer. Au niveau inguinal ou scrotal ([Figure 26](#)), la piedra blanche détermine un intertrigo prurigineux.

**Figure 26** : Piedra blanche.



## Onyxis à *Trichosporon*

Des atteintes unguéales à *Trichosporon* sont décrites, comparables à celles décrites pour les levures du genre *Candida*, mais touchant surtout les mains.

## Les atteintes profondes à *Trichosporon*

Elles font suite le plus souvent à une dissémination hématogène de la levure. Le point de départ est soit digestif (patients leucémiques présentant une immunodépression sévère), soit circulatoire (à la suite de la souillure d'un cathéter). Ces états septicémiques se compliquent de lésions métastatiques cutanées (nodules purpuriques ulcérés en leur centre), d'atteintes cardiaques (endocardite), pulmonaires (pneumopathie), hépatiques, rénales ou cérébrales.

## Les géotrichoses

Les géotrichoses sont des affections opportunistes, cosmopolites, rares. Elles sont dues à des Hyphomycètes Mucédinés (hyalins) arthrosporés appartenant au genre *Geotrichum*.

Il est habituel d'isoler les *Geotrichum* à partir de prélèvements issus de la sphère digestive du fait du caractère commensal de ces champignons et de leur origine alimentaire (fromages et produits laitiers). Leur rôle pathogène ne peut être suspecté que dans des circonstances particulières (thérapeutique immunosuppressive) et en cas de culture abondante.

On décrit des géotrichoses superficielles, bucco-pharyngées, digestives (colites, entérites), respiratoires, oculaires (kératites) ou unguéales (onychomychoses) et des atteintes profondes ou disséminées, notamment en cas d'immunodépression sévère. Ces mycoses profondes ou disséminées sont dues surtout à *G. capitatum*. Elles présentent des localisations diverses (hépto-spléniques, cardiaques, rénales) et leur pronostic est sombre.

# **Diagnostic biologique des levures**

## **CHAPITRE II**

Le diagnostic mycologique d'une levurose s'inscrit dans le cadre de la démarche habituelle du diagnostic en microbiologie. Il comporte trois étapes :

1. le prélèvement, qu'il s'agisse d'un prélèvement superficiel, d'un liquide biologique ou d'un tissu profond,
2. l'examen direct et/ou anatomo-pathologique du produit biologique ou de la pièce d'exérèse
3. et la culture du produit pathologique qui permettra d'isoler, éventuellement de dénombrer, puis d'identifier (genre, espèce) les levures.

À côté de l'identification mycologique, la biologie moléculaire s'avère être un outil complémentaire, particulièrement remarquable dans la surveillance épidémiologique (génotypage).

Les techniques sérologiques, basées sur la recherche d'anticorps sériques et/ou d'antigènes circulants, sont aussi contributives pour le diagnostic des levuroses profondes et/ou systémiques.

## **Diagnostic mycologique**

### **Le prélèvement**

Le diagnostic d'une levurose repose sur un prélèvement de qualité, c'est-à-dire adapté à la demande. Le prélèvement qui sera recueilli dans un récipient stérile, devra être acheminé rapidement au laboratoire.

A défaut, il sera conservé pendant 24 h à 48 h au réfrigérateur. Il est impératif de réaliser les prélèvements à distance de toute thérapeutique antifongique locale ou générale.

Les modalités de prélèvement, d'acheminement et de conservation varient selon les localisations ([Tableau 8](#)).

**Tableau 8** : Modalités des prélèvements selon la localisation superficielle ou profonde des levures.

Clinique et localisation	Prélèvement	Conditionnement (volume minimal)	Conservation en cas d'acheminement différé
<b>Lésions superficielles</b>			
Lésions cutanées sèches et ongles (périonyxis secs)	Curette de Brocq, vaccinostyle, ciseaux (Scotch®-test pour une recherche de pityriasis versicolor)	Recueil du produit de raclage en flacon stérile	1-3 jours à + 4°C
Lésions suintantes : plis, périonyxis avec pus, muqueuses et orifices naturels	Écouvillonnage	Plusieurs écouvillons stériles	< 24 h à + 4°C
Pustules, abcès	Curette (gratter) et écouvillonnage	Recueil du pus d'abcès en flacon stérile, écouvillons stériles	< 24 h à + 4°C
<b>Lésions sous-cutanées ou profondes</b>			
Nodules sous-cutanés, lésions sous-cutanées ou cavités (sinus,...), liquides biologiques ou produits de sécrétions	Biopsie	Recueil en flacon stérile	< 24 h à + 4°C
Broncho-pulmonaires	Lavage bronchiolo-alvéolaire (LBA), aspiration bronchique	Recueil en flacon stérile (20 ml)	< 24 h à + 4°C
Pleurales	Liquide de ponction	Recueil en flacon stérile (1 ml)	Traitement immédiat (< 2 h)
Articulaires	Liquide de ponction	Recueil en flacon stérile (1 ml)	Traitement immédiat (< 2 h)
Péritonéales	Liquide de dialyse, redons, drains	Recueil en flacon stérile (1 ml)	Traitement immédiat (< 2 h)
Cérébrales	LCR	Recueil en flacon stérile (1 ml)	Traitement immédiat (< 2 h)
Tissus profonds (foie,...)	Biopsie	Partage en 2 flacons, un pour la mycologie, l'autre pour l'anatomo-pathologie	< 24 h à + 4°C
Septicémies	Sang, cathéters	Hémocultures Flacons stériles (5 à 10 ml)	< 24 h à température ambiante

## L'examen direct

L'examen direct est la première étape du diagnostic au laboratoire. Il permet en effet de constater la présence à l'état parasitaire de la levure au niveau du site prélevé, d'orienter éventuellement le diagnostic et de débiter une thérapeutique appropriée.

On doit distinguer l'examen direct de prélèvements superficiels de celui des prélèvements profonds.

### Examen direct des prélèvements superficiels

L'examen direct s'effectue soit directement à l'état frais dans du sérum physiologique stérile, soit en utilisant un colorant qui facilitera la visualisation des éléments fongiques (blastospores, filaments, pseudofilaments). Différents colorants peuvent être utilisés (**Figures 27 et 28**) : May-Grünwald-Giemsa (MGG), solution de lugol à 2%, bleu de toluidine, bleu au lactophénol, noir chlorazole, ou rouge congo (MycetColor®). L'examen direct des ongles peut nécessiter un éclaircissement préalable dans la potasse (KOH à 30%) ou à l'aide de chloral-lactophénol. Lorsque l'on dispose d'un microscope équipé en fluorescence avec des jeux de filtres adéquats (filtre bleu 400-440 nm), on peut utiliser des fluorochromes tels que le Calcofluor white (Sigma) ou le Blankophor® (Bayer) à 0,1% qui permettent une lecture rapide (**Figure 28**).

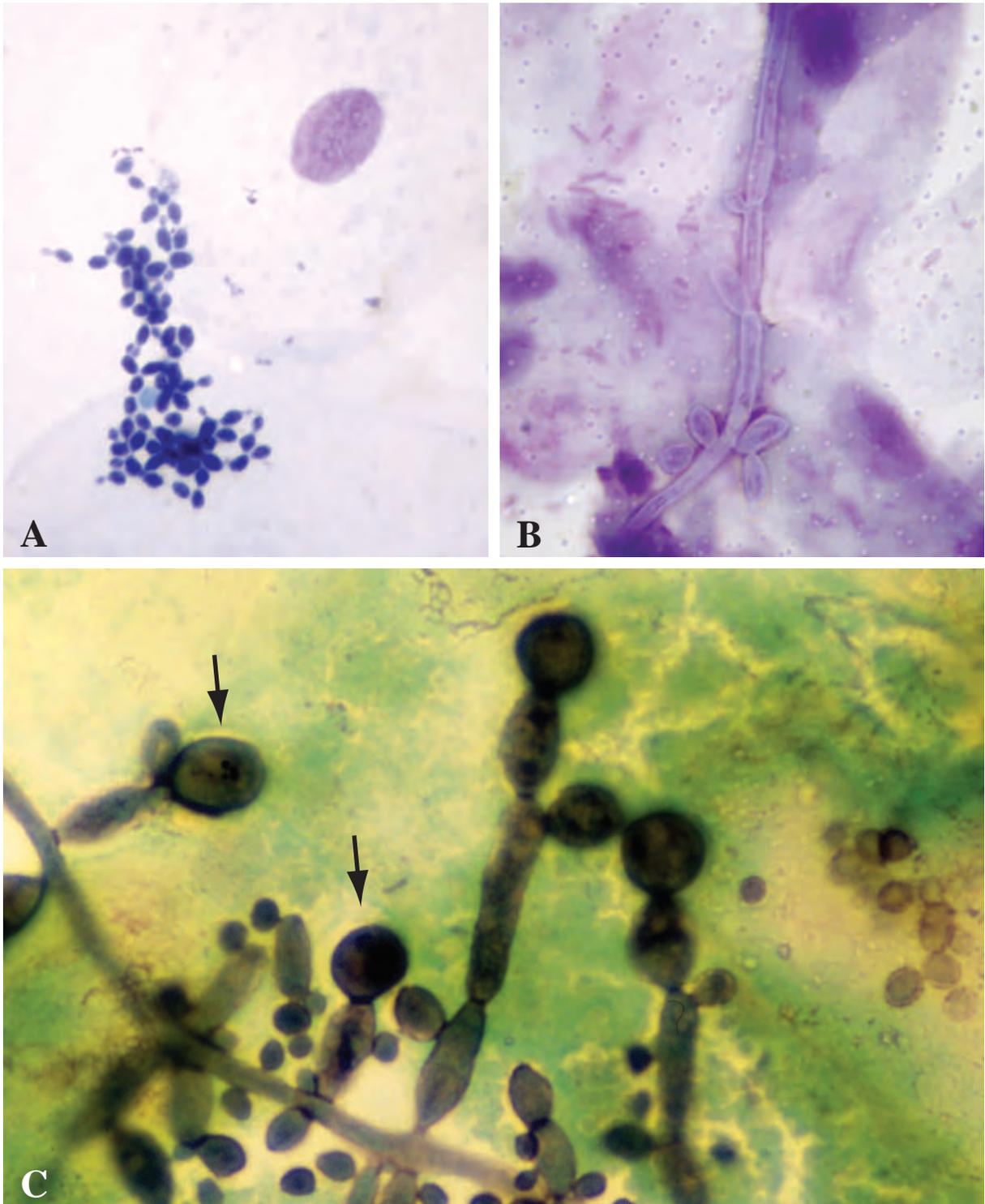
L'examen direct permet de mettre en évidence les blastospores et autres éléments fongiques éventuels, filaments mycéliens et pseudofilaments. Ces derniers sont en faveur d'un rôle pathogène de la levure, alors que la présence de blastospores seules peut signifier un simple portage.

La sensibilité de l'examen direct dans ces sites superficiels reste toutefois faible et sa négativité ne doit pas faire écarter un diagnostic de levurose.

### Examen direct des prélèvements profonds

Des étalements sur lame seront réalisés à partir du pus d'abcès, des liquides de ponction (liquide pleural, articulaire, ...), ou des produits de raclage des lésions. De même, le liquide de lavage broncho- ou bronchiolo-alvéolaire (LBA) sera cytocentrifugé. Enfin, des appositions sur lame seront réalisées à partir des fragments biopsiques.

**Figure 27** : Examen direct des prélèvements superficiels - muqueuses.

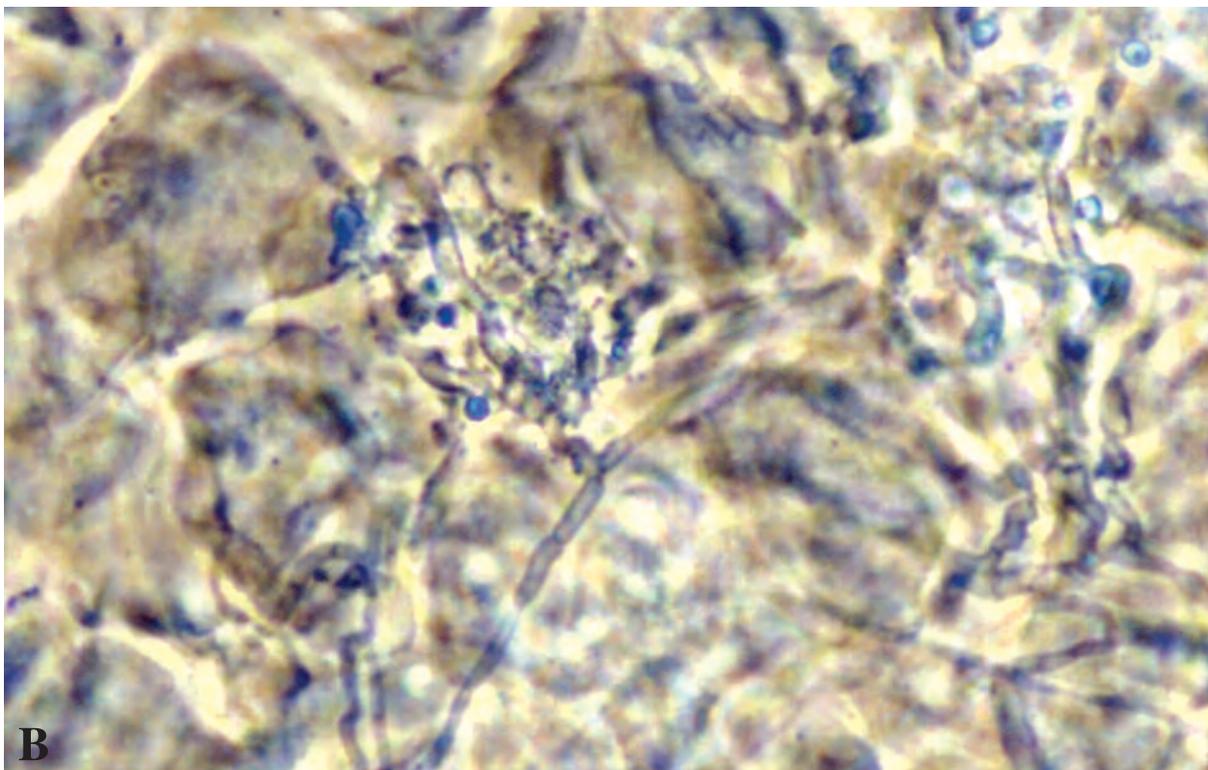
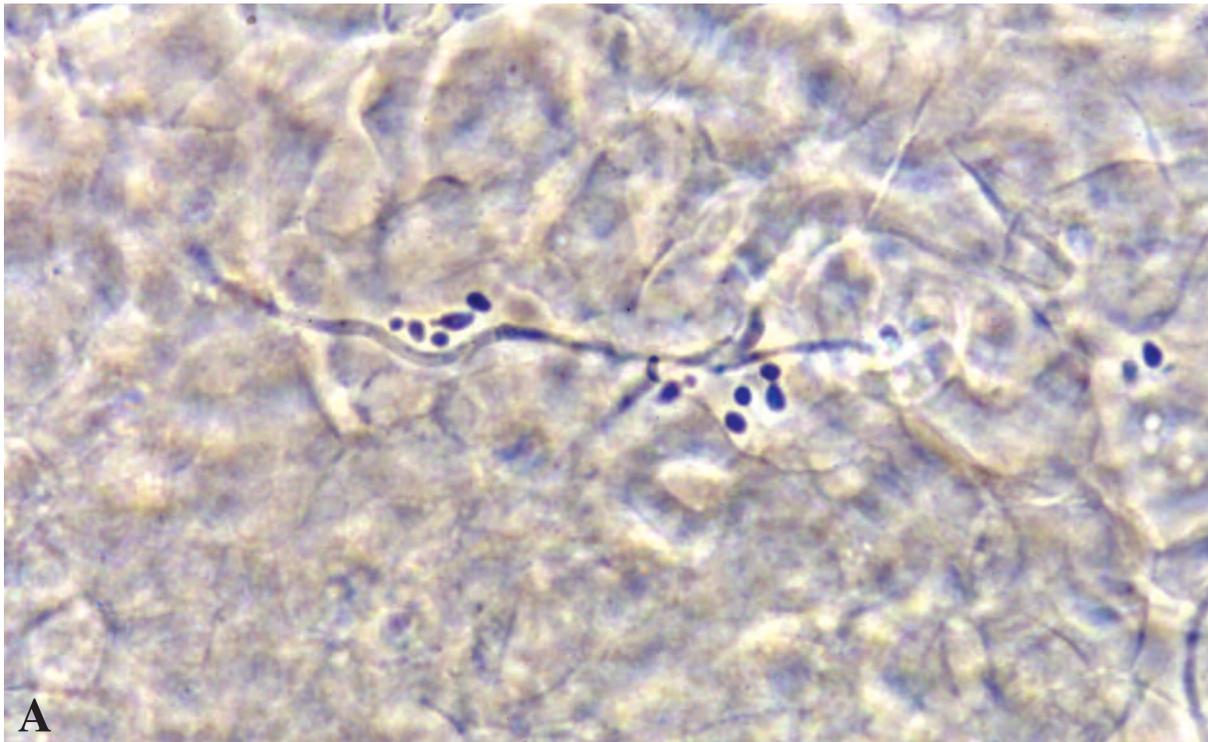


Coloration de May-Grünwald Giemsa sur frottis buccal (A) montrant des amas de blastospores ovales, parfois bourgeonnantes.

Coloration de May-Grünwald Giemsa sur frottis vaginal (B) montrant des filaments mycéliens septés, avec formation de blastospores au sommet des articles.

Imprégnation argentique de Gomori-Grocott sur prélèvement buccal (C). Noter la présence de filaments mycéliens réguliers desquels naissent des blastospores organisées en pseudofilaments, se terminant parfois par des chlamydozoïdes (flèches).

**Figure 28** : Examen direct des prélèvements superficiels - peau et phanères.



A : Prélèvement sous-ombilical chez un nouveau-né présentant une lésion érythémateuse du siège s'étendant au périnée et à la région sous-ombilicale. On observe à l'examen direct la présence de blastospores ovoïdes, parfois bourgeonnantes, et de filaments mycéliens septés.

La mise en culture a permis l'isolement d'un *Candida albicans*.

B : Prélèvement d'ongle chez une personne âgée diabétique présentant un onyxis à *Candida ciferrii*. L'examen direct montre la présence de filaments mycéliens septés.

Les frottis, fixés à la chaleur ou l'alcool, sont colorés au MGG (Figure 29) ou selon la technique d'imprégnation argentique de Gomori-Grocott (Figure 30). La mise en évidence de levures avec ou sans filaments au sein de ces produits pathologiques normalement stériles permet d'affirmer le statut parasitaire de ces levures.

Un examen direct doit également être réalisé, parallèlement aux cultures, sur le liquide de conservation des greffons conformément à la réglementation.

### Apport de l'examen anatomo-pathologique

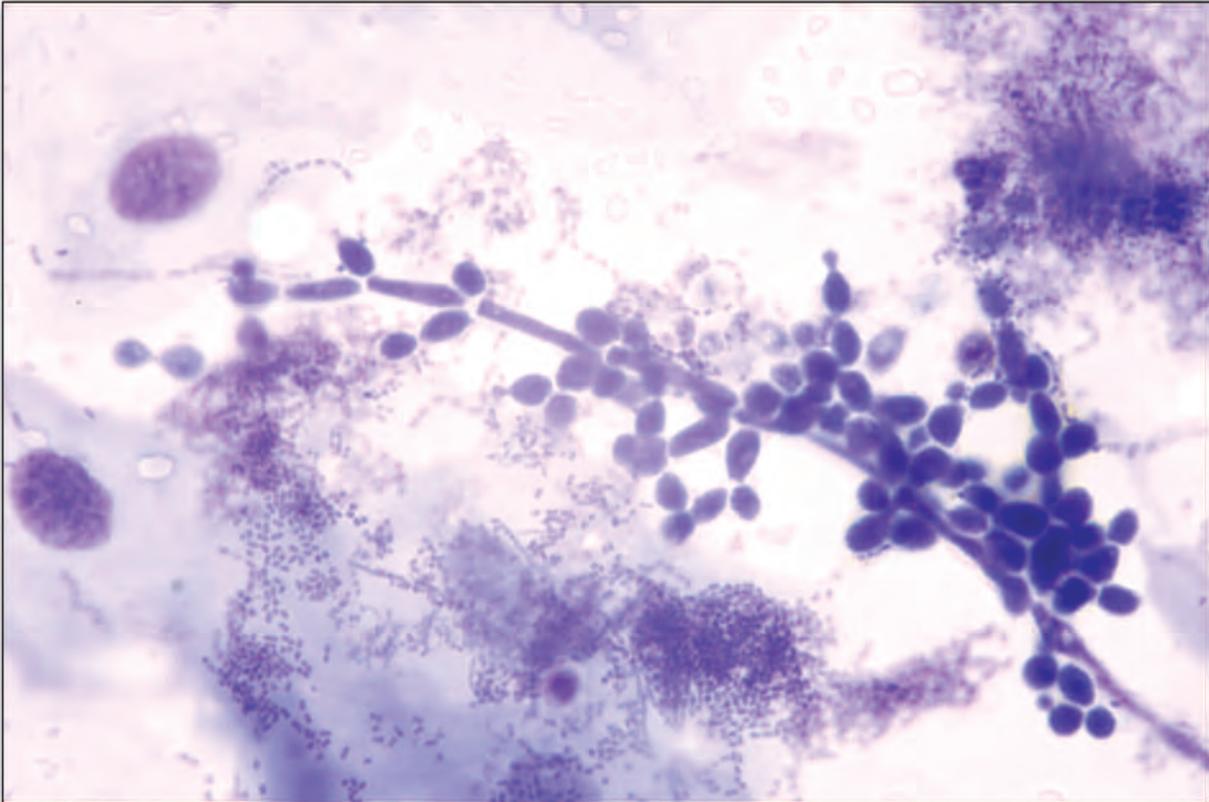
L'examen anatomo-pathologique est indispensable pour les prélèvements tissulaires. La coloration par l'acide periodique-Schiff (PAS) et l'imprégnation argentique selon Gomori-Grocott sont les techniques de coloration les plus utilisées. La coloration par l'hématéine-éosine-safran (HES) permet d'apprécier, en plus, la réaction tissulaire de l'hôte vis-à-vis du champignon (Figures 31 et 32). Le mucicarmin et le bleu alcian (Figure 33) sont particulièrement indiqués pour mettre en évidence la capsule de *Cr. neoformans*.

L'immunohistochimie peut aussi être contributive au diagnostic pour préciser la nature de la levure dans les tissus. Elle fait appel à des techniques d'immunofluorescence ou immunoenzymatiques (peroxydase) réalisées à l'aide d'immunsérums polyclonaux ou d'anticorps monoclonaux (anti-*Candida*, anti-*Cryptococcus*).

### La culture

À l'exception des *Malassezia* lipodépendants, les levures rencontrées chez l'homme peuvent pousser sur les milieux de culture utilisés en bactériologie (géloses ordinaires, géloses au sang, bouillon cœur-cervelle...). Toutefois, le milieu de Sabouraud est le plus adapté. Les boîtes de Pétri offrent une surface d'ensemencement plus importante que les tubes, elles permettent de bien isoler les colonies et facilitent la détection des associations de levures. Par contre, elles comportent, lors de l'ensemencement et de la manipulation des boîtes, un risque de contamination par des spores aéroportées de moisissures environnementales. Il convient de souligner que les géloses en boîte de Pétri se dessèchent assez rapidement et ne permettent pas une incubation prolongée. Leur utilisation est déconseillée si la culture excède 3 semaines (recherche de cryptocoques).

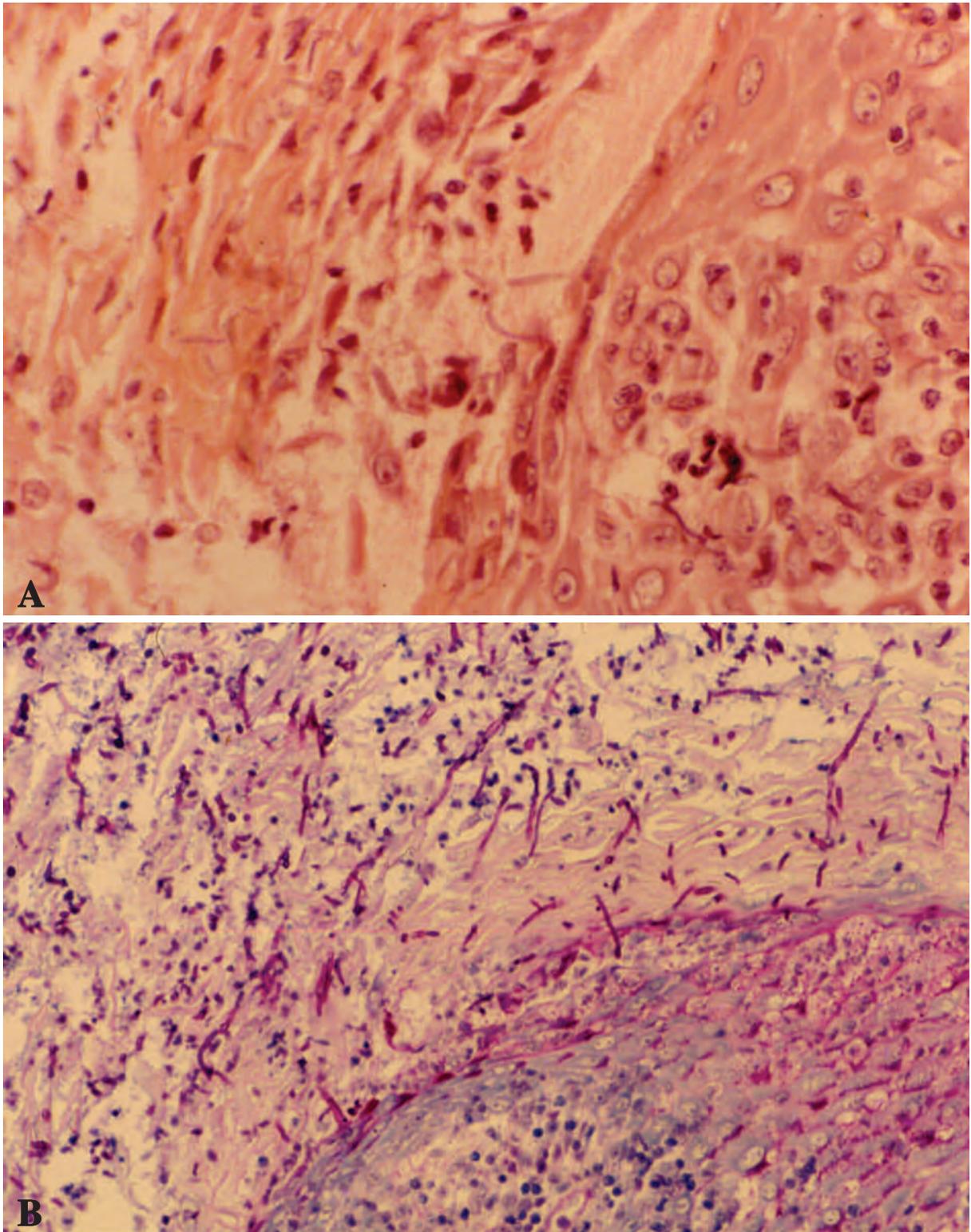
**Figure 29** : Examen direct des prélèvements superficiels - blastospores et pseudofilaments sur frottis buccal coloré au MGG.



**Figure 30** : Examen direct des prélèvements superficiels - blastospores et filaments mycéliens sur frottis de lésion cutanée coloré au Gomori-Grocott.

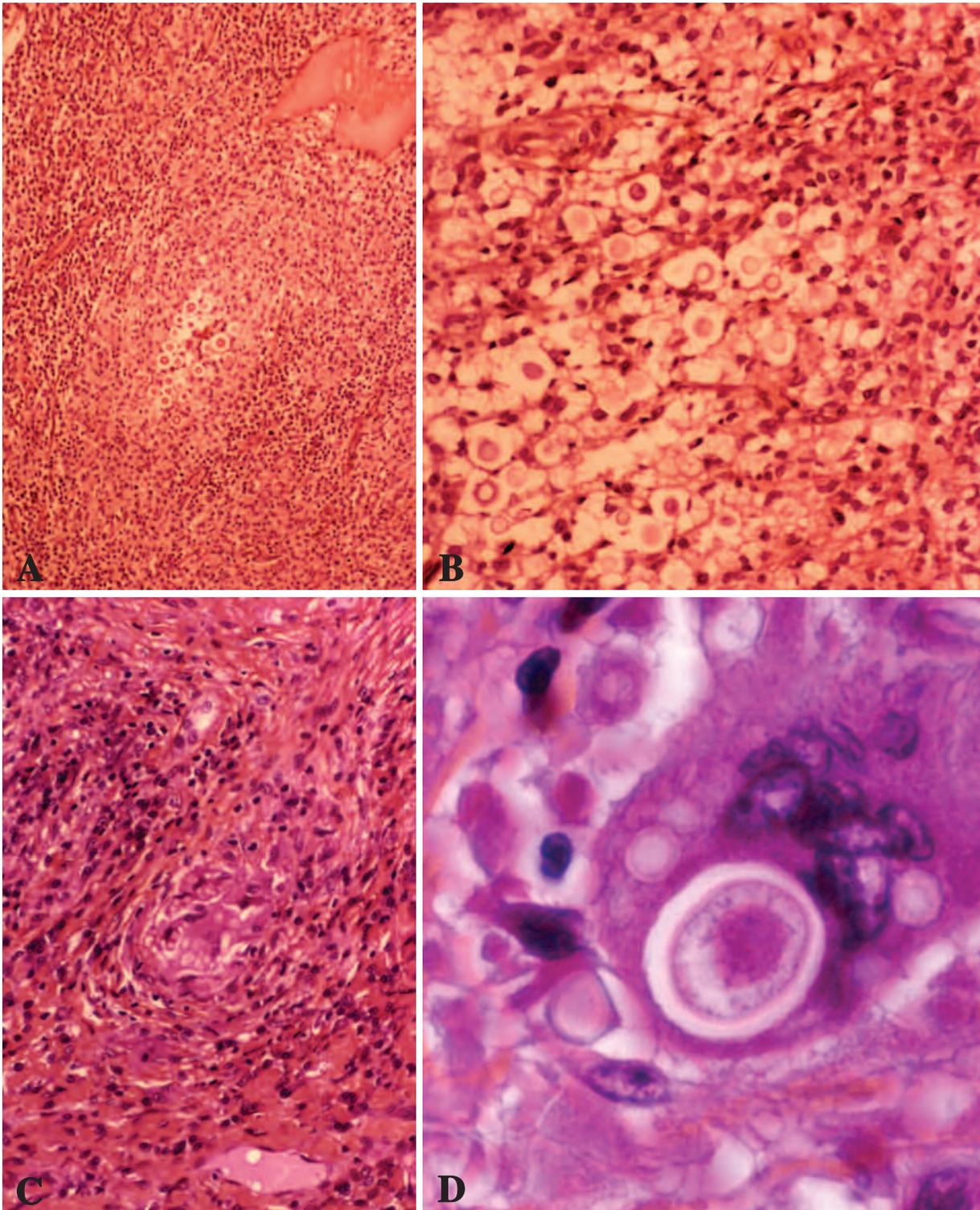


**Figure 31** : Examen anatomo-pathologique dans une candidose œsophagienne.



Coloration à l'HES (**A**, **objectif 40**) montrant un enduit superficiel où se mêlent des dépôts fibrinoïdes, des polynucléaires neutrophiles altérés et des filaments mycéliens s'insinuant dans l'épithélium. La couche malpighienne est infiltrée par des polynucléaires neutrophiles regroupés en micro-abcès. Après coloration au PAS (**B**, **objectif 10**), les filaments mycéliens sont beaucoup plus facilement visibles.

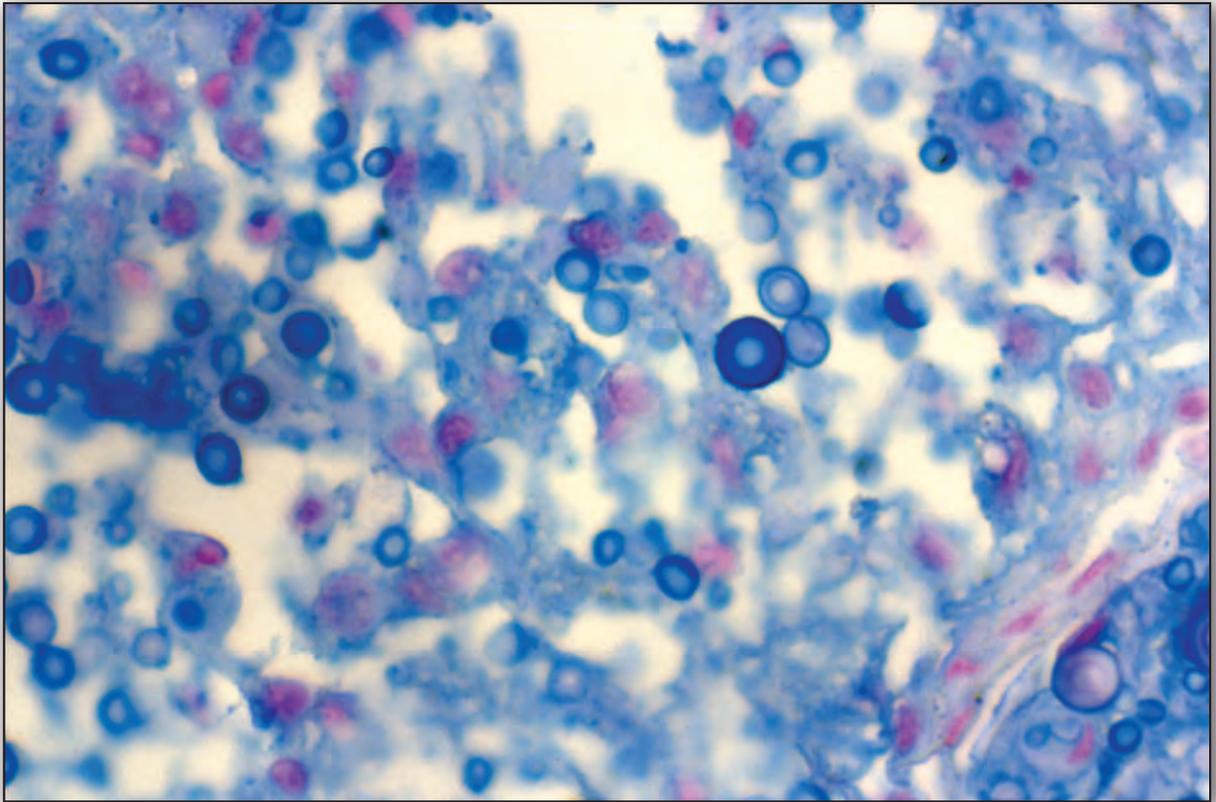
**Figure 32** : Examen anatomo-pathologique de biopsies colorées à l'HES lors de cryptococcoses.



Prélèvement ganglionnaire, objectif 10 (A) et 40 (B) : Le sinus marginal est envahi par des éléments extracellulaires, de taille variable, parfois bourgeonnants, entourés d'une capsule souvent épaisse (3 à 5  $\mu\text{m}$ ). On note l'absence de réaction inflammatoire.

Prélèvement pulmonaire, objectif 10 (C) et 100 (D) : Le tissu est le siège d'une réaction inflammatoire histiocytaire à cellules géantes qui renferment des éléments arrondis, de taille variable, entourés d'une très fine capsule réfringente.

**Figure 33** : Cryptococcose – Mise en évidence de la capsule à l'examen anatomo-pathologique par coloration au bleu alcian.



### Ensemencement

Pour les produits biologiques liquides, l'ensemencement se fait de façon stérile, par épaissement progressif du liquide (en quadrants ou en étoile). La calibration de l'inoculum (par exemple 100 µl pour les urines) permet de dénombrer les levures. Les produits biologiques plus épais tels que le liquide bronchique (aspiration), gastrique ou synovial, et les crachats doivent être préalablement fluidifiés à l'aide d'un agent mucolytique (digest-EUR®, Eurobio).

Après broyage des prélèvements biopsiques au potter stérile, des fragments seront déposés sur la gélose.

Le sang est le plus souvent recueilli directement dans les flacons d'hémoculture. La technique de lyse-centrifugation (Isolator®, Oxoid) est parfois utilisée pour concentrer les éléments fongiques. Elle permet de libérer les levures contenues dans les cellules phagocytaires de l'hôte, et d'inactiver le complément et autres agents antimicrobiens qui pourraient freiner la croissance du champignon. Cette technique, de réalisation délicate, expose au risque de contamination du manipulateur par les produits sanguins. Elle est donc essentiellement utilisée pour la recherche des formes "levures" d'*Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*.

## Milieux de culture

### a. Milieux standard

Le milieu gélosé de Sabouraud additionné de chloramphénicol et/ou de gentamicine est le plus utilisé (Figure 34). On y associe parfois le cycloheximide (Actidione®) qui empêche la croissance de nombreuses moisissures susceptibles de contaminer les cultures. Mais ce produit peut inhiber ou freiner aussi la pousse de certaines espèces du genre *Candida* telles que *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. famata*.

La température d'incubation dépendra du site de prélèvement. Pour les prélèvements superficiels, les boîtes de Pétri (ou tubes) seront incubées à température comprise entre 20 et 25°C. Pour les prélèvements profonds, les géloses sont incubées à 37°C. Une durée d'incubation de 24 à 48 h est généralement suffisante pour isoler la majorité des levures appartenant aux genres *Candida* ou *Trichosporon*.

Cependant, pour les produits biologiques issus de prélèvements profonds, et pour les cryptocoques en particulier, une durée d'incubation supérieure à 5 jours, voire d'une à 4 semaines, sera parfois nécessaire.

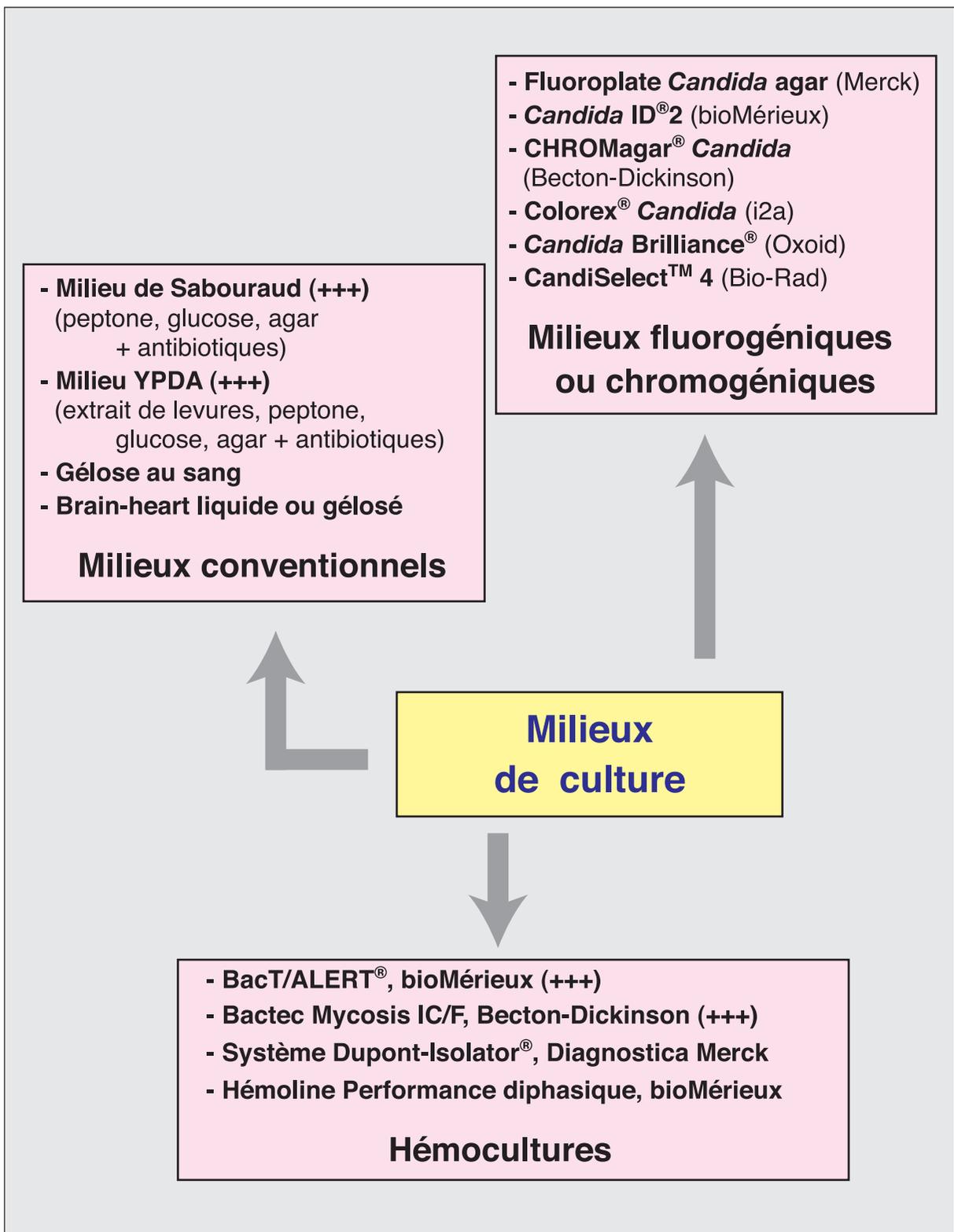
### b. Milieux fluorogéniques pour isolement et identification des levures

Le milieu Fluoroplate® *Candida* (Merck) permet, après 24 à 48 heures d'incubation, la détection et l'identification directe de *C. albicans* par la fluorescence bleutée des colonies lorsque les boîtes sont examinées sous lumière ultra-violette à 366 nm.

### c. Milieux chromogéniques

Comme dans le domaine de la bactériologie médicale, la mycologie a bénéficié d'importants progrès en matière de milieux d'isolement et d'identification avec la mise à disposition de géloses chromogéniques (Figures 35 et 36). Ces milieux confèrent aux colonies qui s'y développent une coloration particulière, variable en fonction de l'espèce. Cette coloration repose sur l'hydrolyse d'un substrat chromogénique sous l'effet d'une enzyme de type hexosaminidase plus ou moins spécifique de telle ou telle espèce (exemple : N-acétyl-β-D-galactosaminidase spécifique de *C. albicans*).

**Figure 34** : Milieux de culture pour isolement et identification des levures.

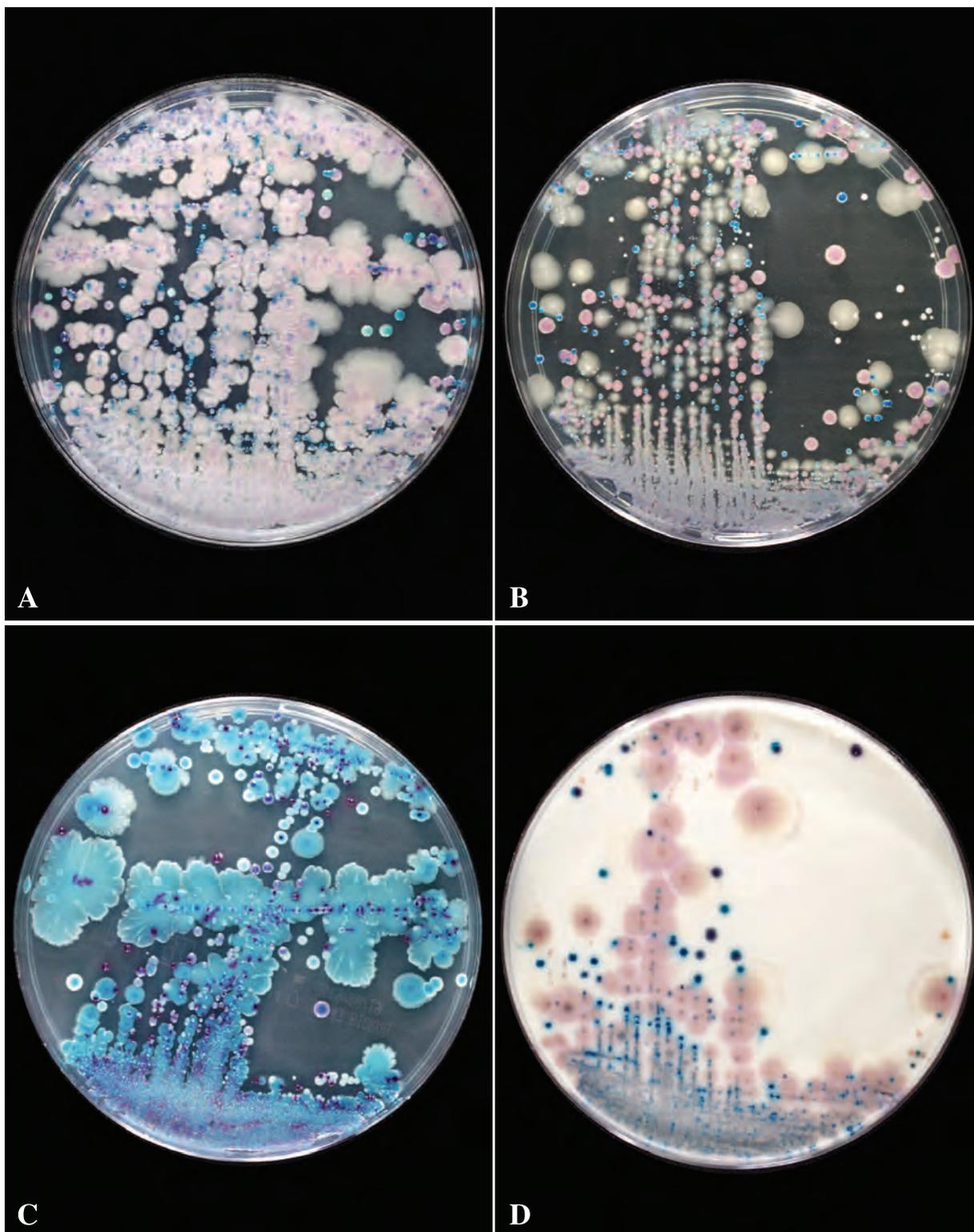


**Figure 35** : Colonies de *Candida albicans* (A), *Candida glabrata* (B), et *Saccharomyces cerevisiae* (C).



Les colonies prennent des teintes variables selon les espèces et le milieu chromogénique utilisé (Milieu CHROMagar® *Candida* en 1, milieu *Candida* ID®2 en 2, CandiSelect™ 4 en 3, ou *Candida* Brilliance® en 4) et sont ainsi plus ou moins aisément différenciables. Pour une même espèce, la taille des colonies peut aussi être affectée par le milieu de culture utilisé, avec parfois des répercussions sur l'identification biochimique ultérieure.

**Figure 36** : Association de levures (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* et *C. parapsilosis*) sur CHROMagar® *Candida* (A), *Candida ID*® 2 (B), Candi Select®4 (C) et *Candida Brilliance*® (D).



Les milieux chromogéniques sont particulièrement indiqués pour le diagnostic des candidoses. Ils permettent d'identifier directement *C. albicans* (Figure 35) dont les colonies se colorent en bleu (*Candida* ID®2, bioMérieux), en vert (CHROMagar® *Candida*, Becton-Dickinson ; *Candida* Brilliance®, Oxoid) ou encore en rose violet (CandiSelect™4, Bio-Rad). Sur CHROMagar® *Candida*, des nuances dans l'intensité de la coloration verte sont signalées, et *C. dubliniensis* qui est très proche de *C. albicans*, produit aussi des colonies vertes sur ce milieu. De même, les colonies de *C. dubliniensis* ne sont pas différenciables de celles de *C. albicans* sur les autres milieux chromogéniques.

Ces milieux de culture ne permettent donc pas de différencier *C. dubliniensis* de *C. albicans*. En revanche, ils permettent l'identification présomptive d'autres espèces de levures d'intérêt médical. Ainsi, *C. tropicalis*, *C. glabrata* et *C. krusei* forment des colonies bleues d'aspects différents sur le milieu CandiSelect™4 ; *Candida tropicalis*, *C. lusitaniae* et *C. kefyr* forment des colonies roses sur *Candida* ID® 2. Sur le milieu *Candida* Brilliance®, *C. tropicalis* forme des colonies bleutées et *C. krusei* des colonies roses irrégulières ; sur CHROMagar® *Candida*, *C. tropicalis* forme des colonies bleu métallique et *C. krusei* des colonies rose pâle, plutôt rugueuses. L'identification des espèces "non-*albicans*" sur ces milieux chromogéniques reste cependant présomptive, et il est nécessaire de recourir dans un second temps à des tests complémentaires.

Même si ces milieux sont plus onéreux que les milieux standards, ils permettent une identification directe du complexe *C. albicans/C. dubliniensis* (après 24 à 48 heures de culture) et ils facilitent la détection des associations de levures (Figure 36). À noter que la société ElitechGroup commercialise également un milieu chromogénique (Candichrom II) sur lequel *C. albicans* (et *C. dubliniensis*) produisent des colonies bleues, se différenciant ainsi des autres espèces pour lesquelles les colonies restent incolores.

#### **d. Autres milieux**

Pour les levures lipodépendantes appartenant au genre *Malassezia*, il convient d'utiliser soit les milieux de Dixon ou de Caprilli avec de l'huile d'olive, soit le milieu de Sabouraud qu'on recouvrira avant l'ensemencement d'une fine couche d'huile d'olive.

Les colonies de *Malassezia* poussent en 8 jours. Toutes les espèces poussent à 30°C. Seuls *M. furfur*, *M. sympodialis* et *M. slooffiae* poussent à 37°C pour les espèces lipodépendantes, de même que *M. pachydermatis* qui est le seul *Malassezia* non lipodépendant.

Pour les *Cryptococcus*, on utilisera le milieu de Sabouraud standard sans cycloheximide (Actidione®), mais la gélose à l'inositol peut s'avérer intéressante pour la recherche de ces levures dans des prélèvements polymicrobiens.

#### **e. Hémocultures**

Pour les hémocultures, il est recommandé d'utiliser un milieu spécifique favorisant la croissance fongique (Bactec® IC/F Mycosis, Becton-Dickinson) avec un système de lecture automatisée fondée sur la mesure du CO<sub>2</sub> produit au cours de la croissance de la levure (automates Bactec®, Becton-Dickson). Le système Bact/ALERT® (bioMérieux), lui aussi automatisé, utilise un même milieu de culture pour la détection des bactéries et des champignons. La détection de la croissance fongique repose sur une méthode colorimétrique (BacT/ALERT®) ou fluorimétrique (Bactec®). Les flacons devront être maintenus dans l'appareil au minimum 2 semaines.

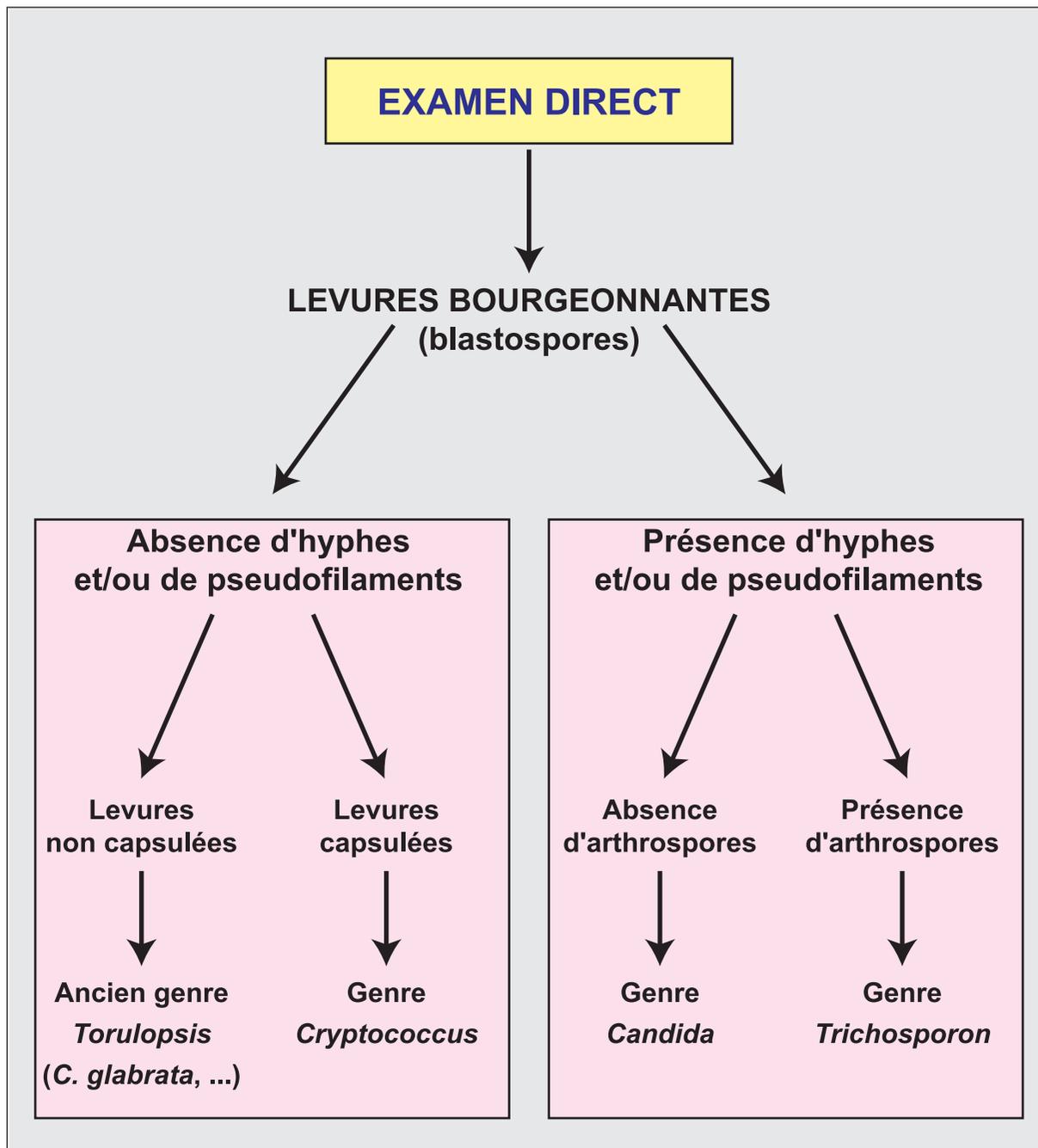
À défaut de méthodes automatisées, les hémocultures pour la bactériologie peuvent être utilisées pour les levures, en particulier les flacons destinés aux bactéries aérobies, car certaines levures comme *C. glabrata* sont incapables de se multiplier en anaérobiose.

L'utilisation du système Isolator® (lyse-centrifugation), avec la libération des levures intracellulaires par lyse des cellules sanguines, leur concentration par centrifugation, et l'ensemencement du culot sur des milieux de mycologie, permettrait de raccourcir le délai de culture. Ces milieux pour hémocultures ne permettent pas d'identifier directement les levures. En cas de positivité, il convient de réaliser un repiquage sur un milieu standard ou mieux sur un milieu chromogénique.

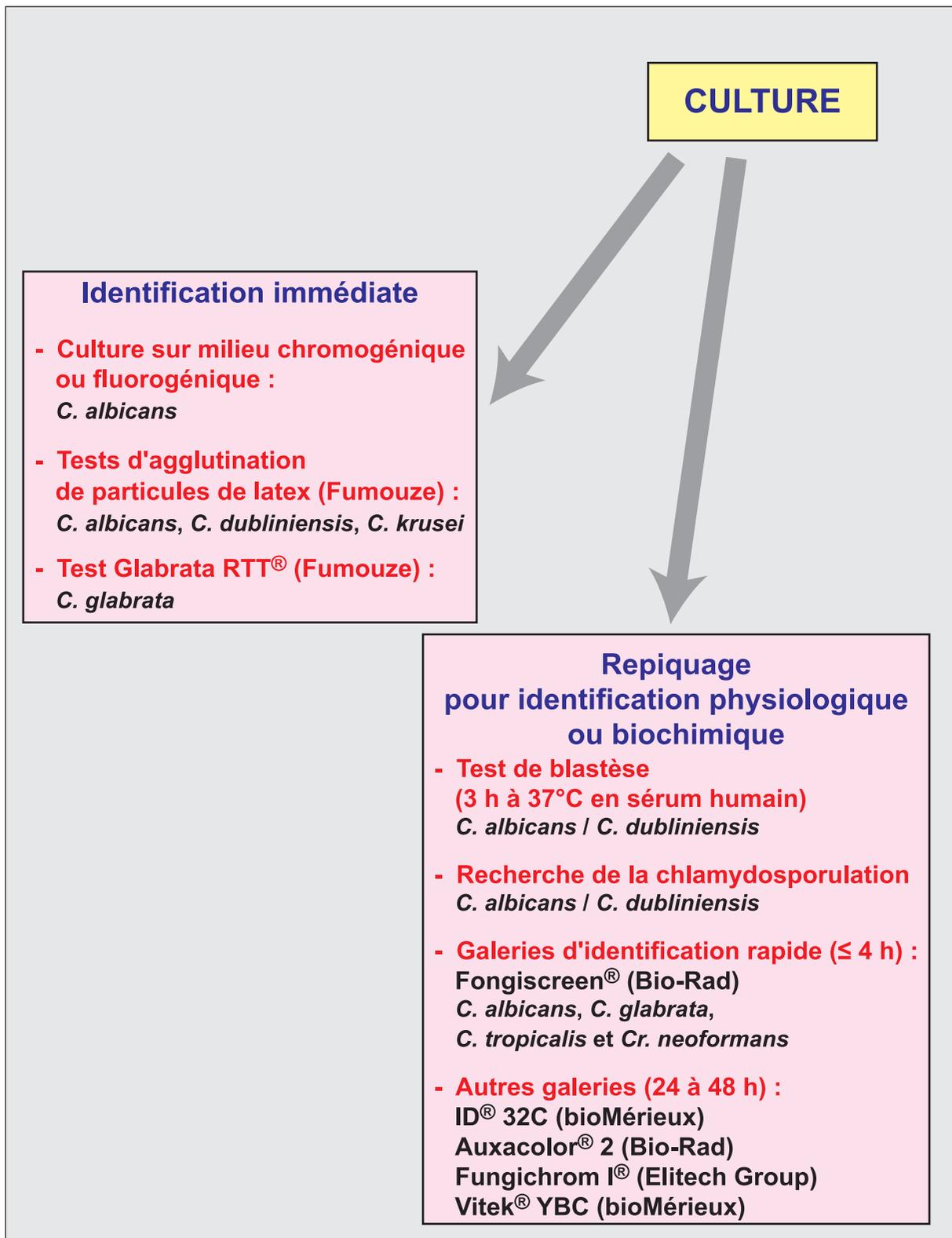
## Identification des levures au laboratoire

La démarche est résumée dans les [Figures 37, et 38](#). L'identification repose sur la morphologie macroscopique des cultures et l'aspect microscopique ([Figures 39 à 41](#)), mais surtout sur des tests physiologiques, immunologiques ou biochimiques.

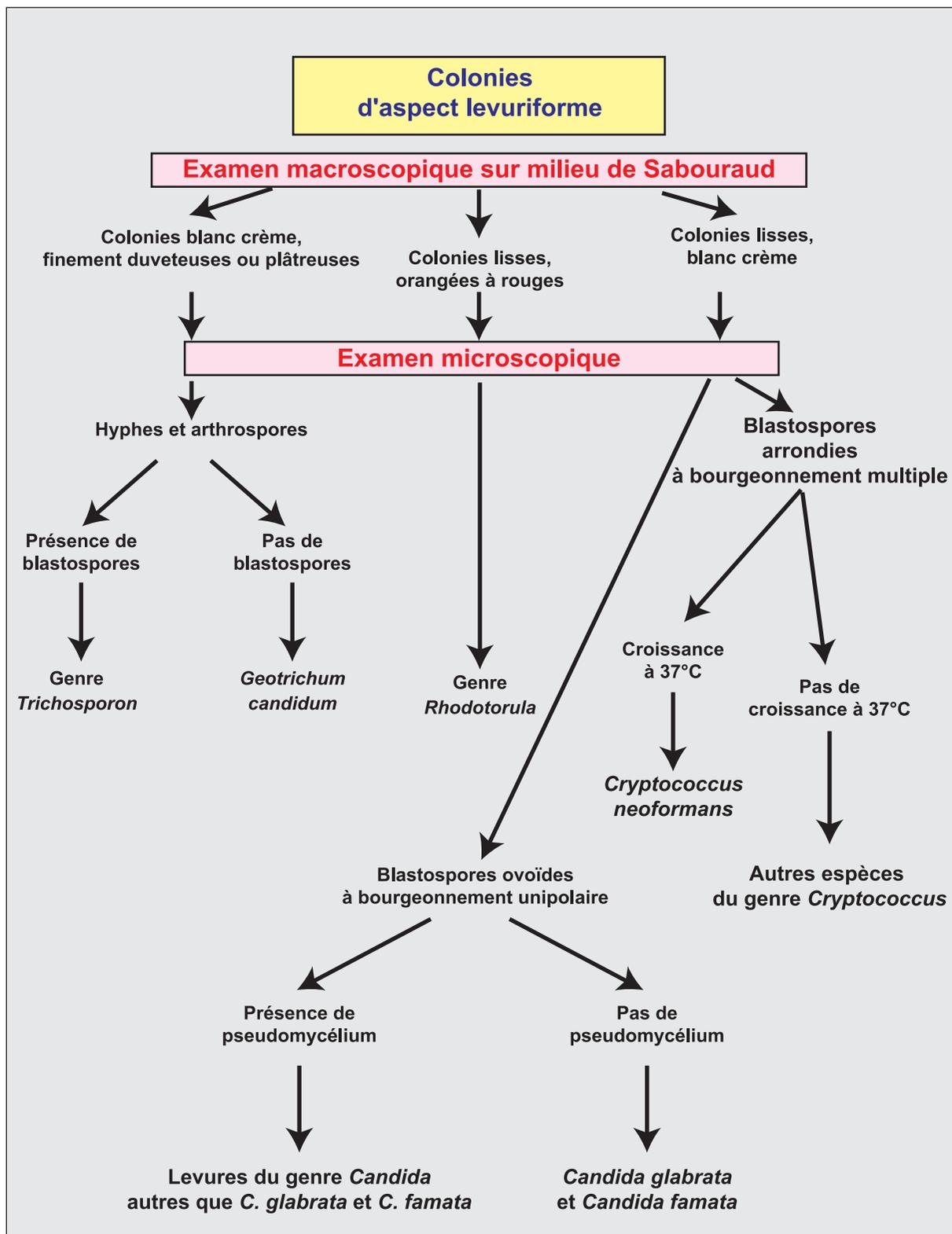
**Figure 37** : Démarche diagnostique d'une levure au laboratoire – Examen direct.



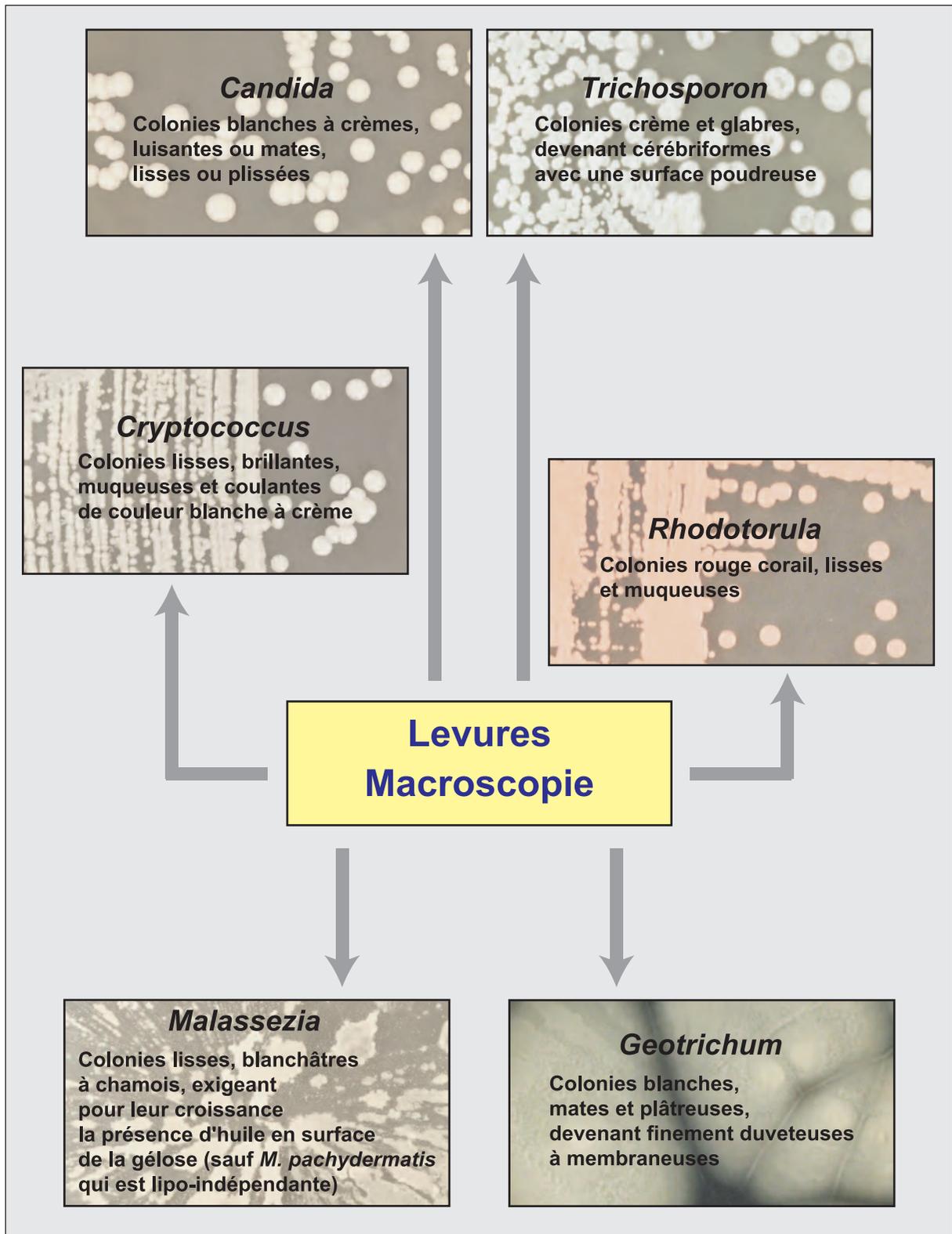
**Figure 38** : Démarche diagnostique d'une levure au laboratoire – Cultures.



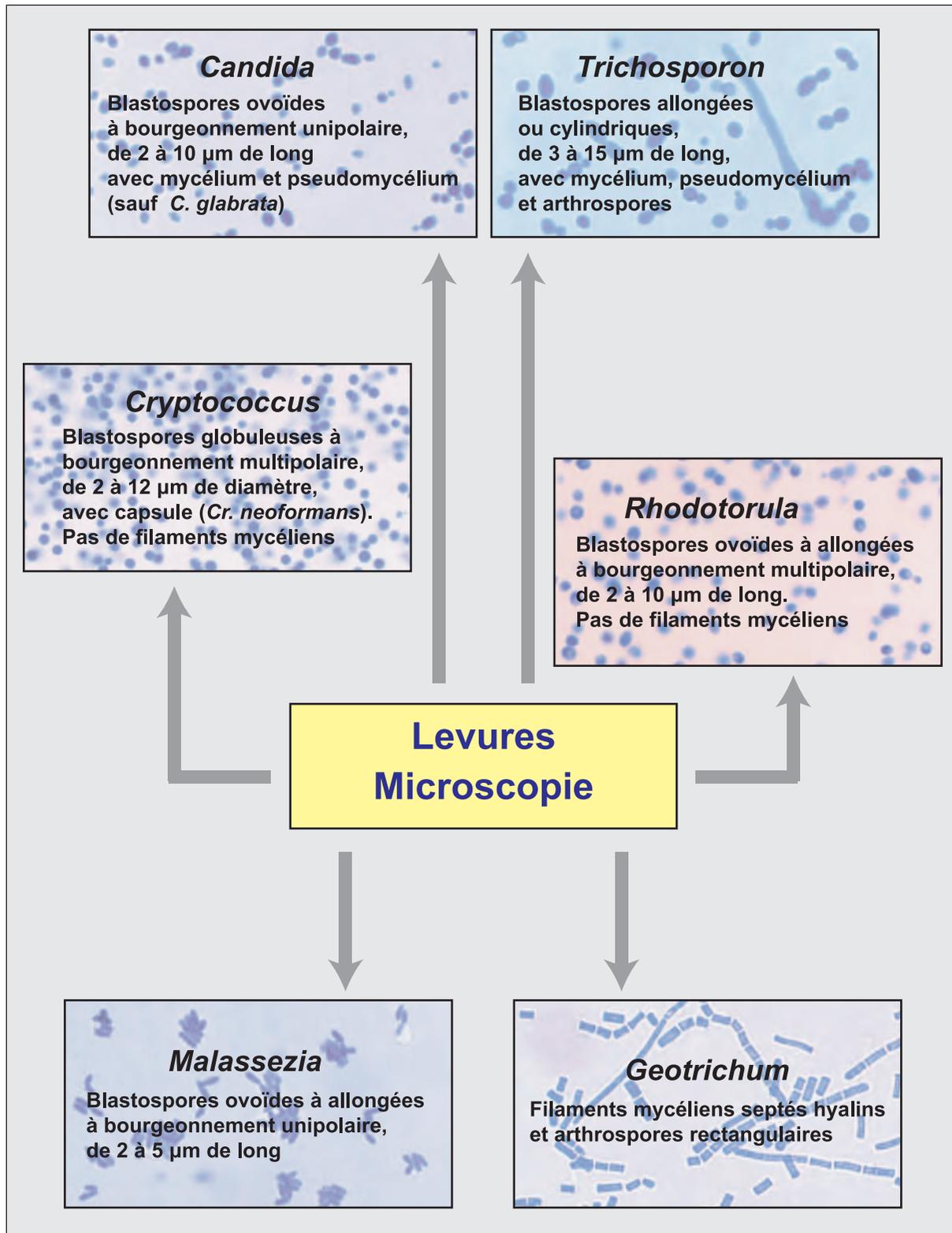
**Figure 39** : Arbre d'identification devant une culture d'aspect levuriforme.



**Figure 40** : Aspect macroscopique des principaux genres de levures sur milieu de Sabouraud.



**Figure 41** : Aspect microscopique des principaux genres de levures en culture sur milieu de Sabouraud.



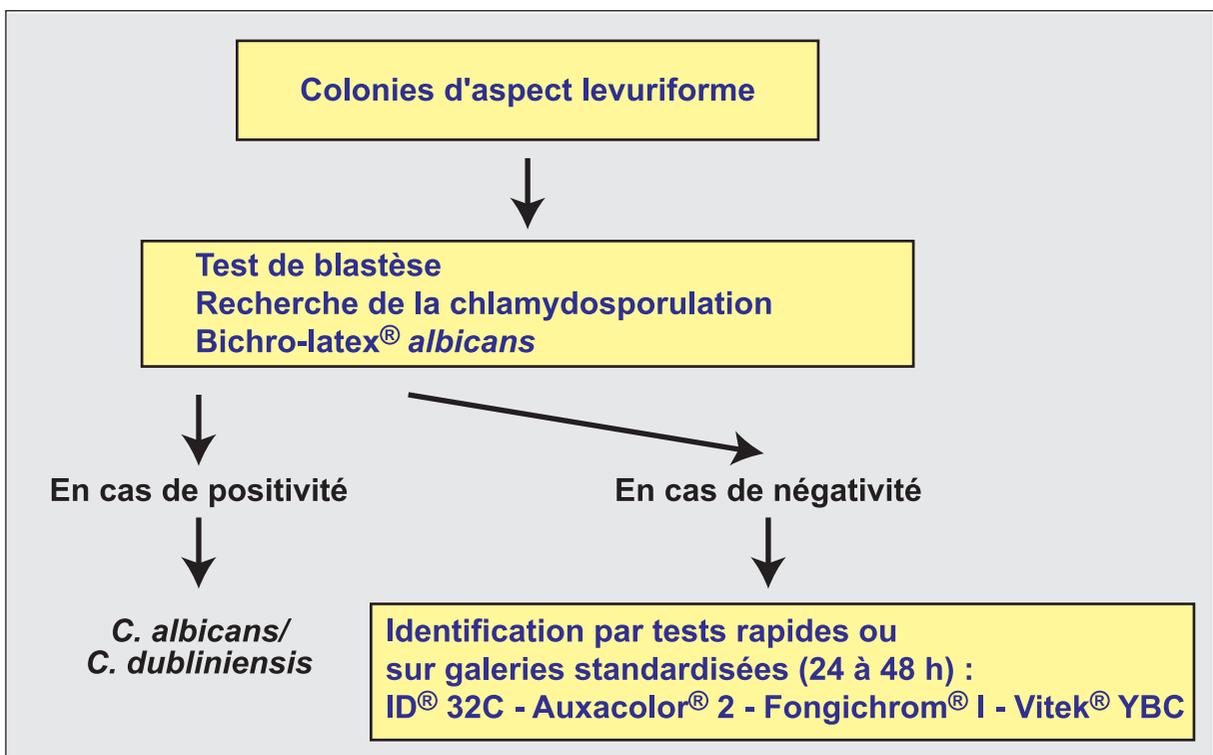
L'identification de l'espèce isolée nécessite de disposer de colonies bien individualisées, et un réisolement s'avère parfois nécessaire. Par ailleurs, même si un diagnostic de présomption a déjà été posé par isolement sur milieu chromogénique, il est nécessaire de confirmer l'identité de la levure.

En pratique, l'identification fait appel à des caractères morphologiques, mais surtout à des tests physiologiques, biochimiques, ou même immunologiques basés alors sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps monoclonaux. L'identification moléculaire (par analyse protéomique, par PCR multiplex avec des sondes spécifiques d'espèces, ou par hybridation avec des sondes spécifiques d'espèces immobilisées sur des puces à ADN), prometteuse pour l'avenir, n'est pour l'instant réalisée que dans les laboratoires spécialisés.

### Identification de *Candida albicans*

L'identification de la levure isolée comprend dans un premier temps la recherche de l'appartenance à l'espèce *C. albicans*, puisqu'il s'agit de l'espèce la plus fréquemment impliquée dans les levures. Plusieurs techniques peuvent être utilisées, les plus anciennes étant le test de blastèse et la recherche de la chlamydosporulation (Figure 42).

**Figure 42** : Identification de *Candida albicans*.



### **a. Test de blastèse**

Ce test, appelé aussi test de germination, est basé sur le fait que *C. albicans* (mais aussi *C. dubliniensis*) produit en 3 heures à 37°C dans du sérum humain ou animal, un tube germinatif à partir des blastospores (Figure 43).

Ce tube germinatif, fin et flexueux, ne présente pas de constriction à sa base (par différence avec du pseudomycélium de levure qui est formé par bourgeonnement, et présente une cloison à l'émergence de la cellule fille). Il est impératif de ne pas dépasser 3 h car d'autres espèces de levures pourraient alors produire des tubes germinatifs. Ce test peut aussi donner lieu à des faux négatifs et expose, par ailleurs, l'opérateur aux risques liés à l'utilisation de produits sanguins.

### **b. Recherche de la chlamydosporulation**

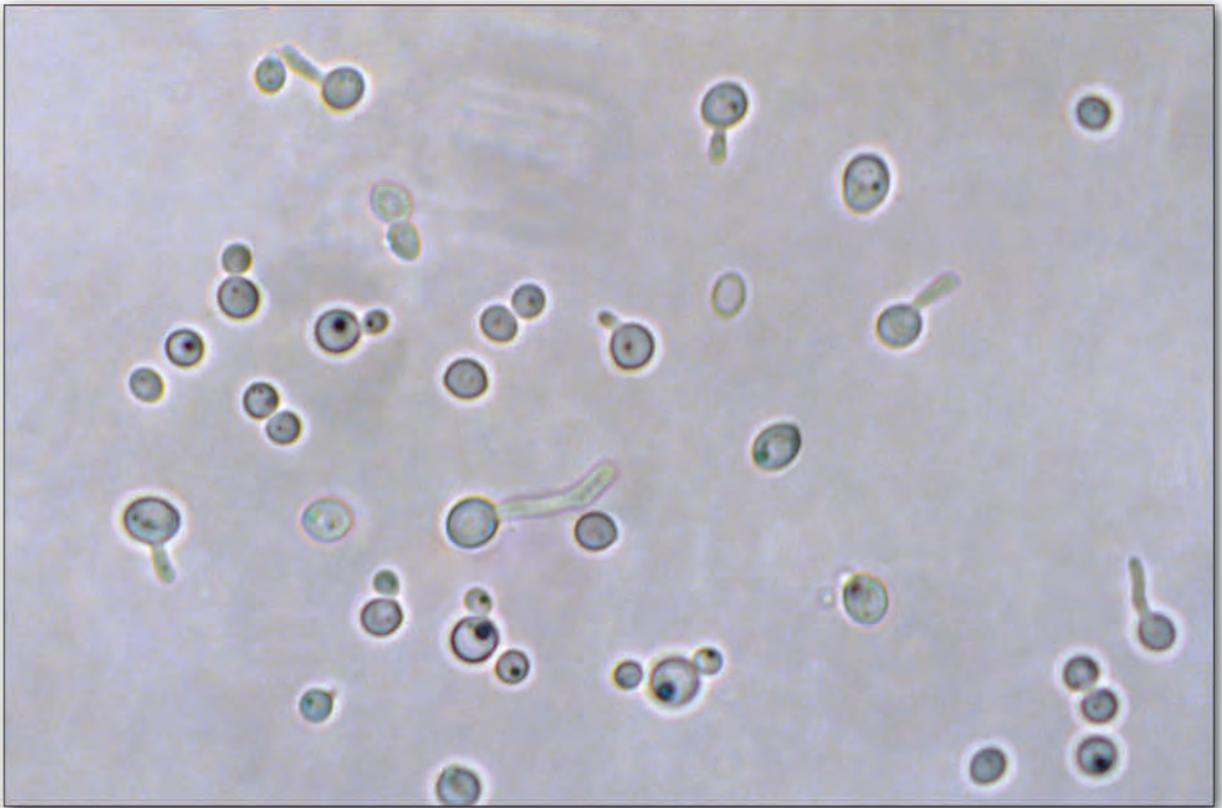
Sur milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile) ou RAT (crème de riz, agar, Tween 80), *C. albicans* produit en 24 h à 48 h à 20-25°C des chlamydo-spores à l'extrémité de pseudofilaments (Figure 44). Il faut cependant noter que *C. dubliniensis* produit lui aussi des chlamydo-spores sur ces milieux. Elles sont plus abondantes et disposées par paires ou par triplets.

### **c. Bichro-latex® albicans (Fumouze Diagnostics)**

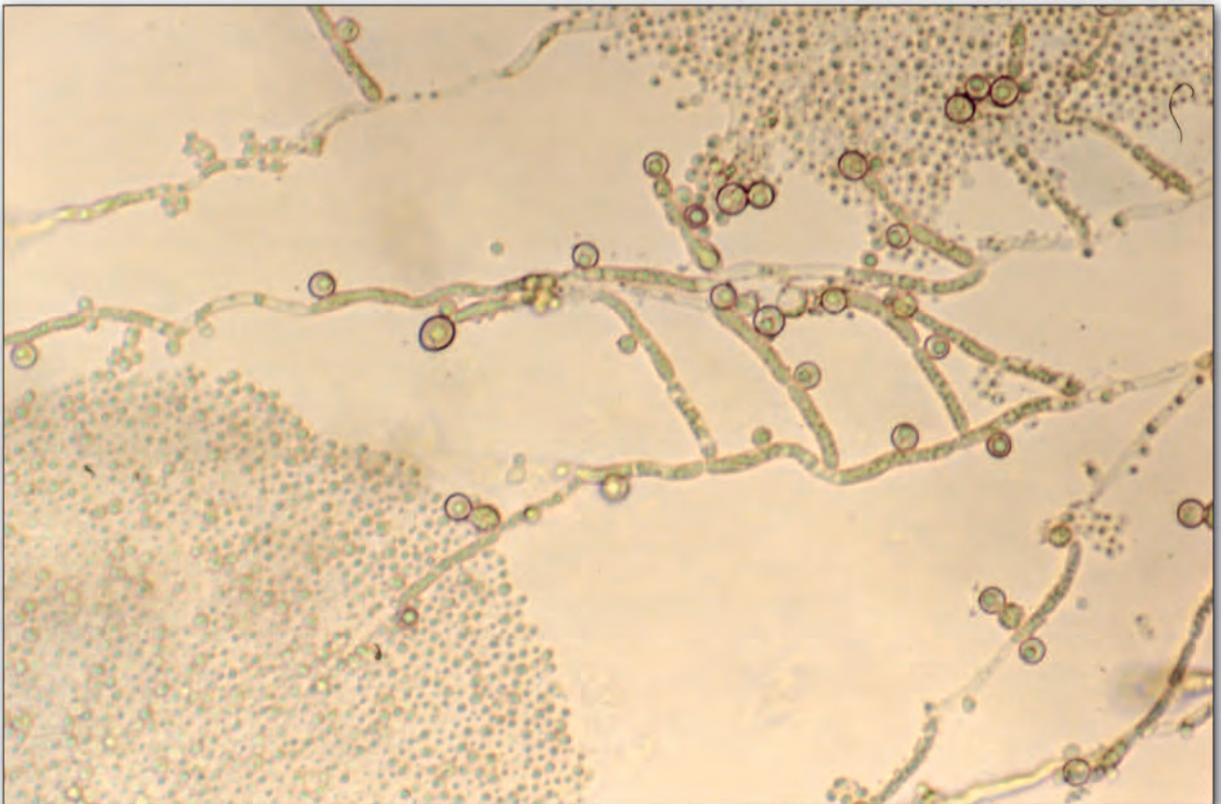
Le principe de ce test sur lame repose sur l'agglutination, en présence de blastospores de *C. albicans*, de particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal spécifique d'un antigène de la paroi de cette levure. Ces particules de latex colorées en rouge sont en suspension dans un contre-colorant vert.

Ainsi, s'il s'agit de *C. albicans*, l'agglutination des particules de latex par les blastospores se traduira par la formation d'agglutinats rouges sur un fond vert (Figure 45). Ce test présente une excellente sensibilité et une grande spécificité, du moins pour le complexe *C. albicans/C. dubliniensis*. En effet, il est également positif pour *C. dubliniensis* et ne permet pas de différencier les deux espèces.

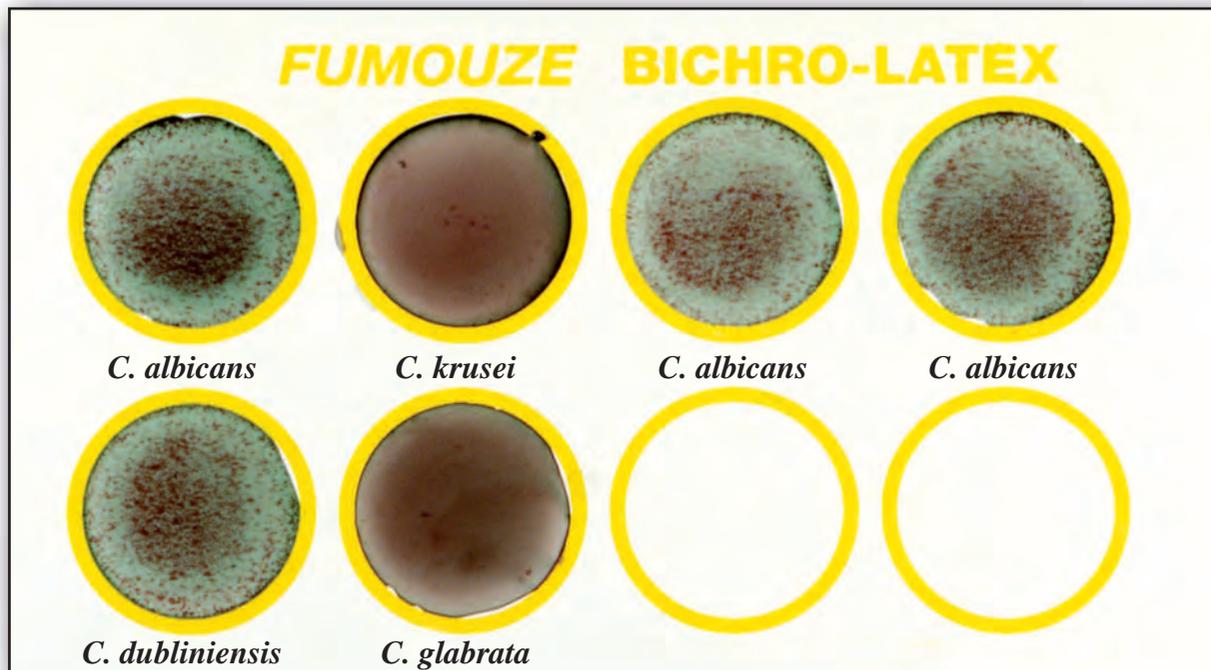
**Figure 43** : Test de blastèse.



**Figure 44** : Recherche de la chlamydosporulation.



**Figure 45** : Bichro-latex® Albicans.



#### d. Tests rapides d'identification biochimique

Trois dispositifs basés sur des tests biochimiques permettent d'identifier *C. albicans* : Murex *C. albicans* (Murex Diagnostics), *Albicans-Sure*® (Clinical Standards Laboratoires) et BactiCard *Candida*® (Remel CO). Ces tests reposent sur la recherche de deux activités enzymatiques,  $\beta$ -galactosaminidase et L-proline aminopeptidase, la mise en évidence de ces deux activités enzymatiques associées signant le diagnostic de *C. albicans*/*C. dubliniensis*.

### Identification des espèces non *albicans*

#### a. Réduction des sels de tétrazolium

Ce test repose sur la réduction du chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium incorporé dans le milieu de culture en un produit coloré qui confère aux colonies de levures une coloration allant du rose au rouge selon l'espèce. Il faut cependant signaler que la différenciation reste assez subjective. Ce test qui n'est pas commercialisé en France, présente un intérêt très limité pour l'identification des levures. Son intérêt majeur réside dans la visualisation des associations de levures dans un produit pathologique, mais ici aussi, ce test est supplanté par les milieux chromogéniques décrits plus récemment qui sont beaucoup plus discriminants.

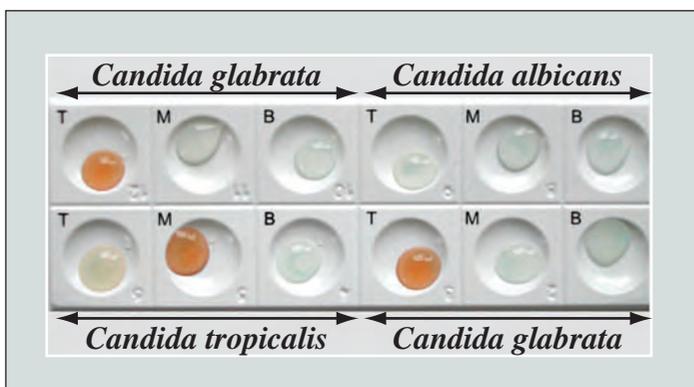
### b. Tests immunologiques

Ces tests sont basés sur l'agglutination par les blastospores de *C. dubliniensis* (BichroDubli®, Fumouze Diagnostics) ou de *C. krusei* (Krusei Color®, Fumouze Diagnostics) de particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal spécifique de ces espèces.

Le *Candida check*® (Iatron Laboratories) est un kit basé sur des tests d'agglutination sur lame (et l'étude de l'assimilation du saccharose) utilisant un panel d'immunsérums polyclonaux de lapin, qui permet d'identifier les 8 principales espèces du genre *Candida* en fonction du profil d'agglutination. La différenciation entre *C. albicans* et *C. tropicalis* est néanmoins impossible par ces tests d'agglutination, nécessitant le recours à l'étude de l'assimilation du saccharose.

### c. Tests biochimiques

Le test *Glabrata* RTT® (Fumouze Diagnostics), de réalisation simple, permet d'identifier rapidement *C. glabrata* par sa capacité à hydrolyser le tréhalose et l'absence d'hydrolyse du maltose (Figure 46). D'autres espèces peuvent en effet hydrolyser ces deux hydrates de carbone.



**Figure 46 :**  
Glabrata RTT®.

Mais, la grande majorité de ces tests repose sur l'étude de l'assimilation des hydrates de carbone en aérobose (auxanogramme du carbone), et pour certains de la fermentation de ces sources de carbone (zymogramme).

De nombreux dispositifs miniaturisés et standardisés sont commercialisés (Tableau 9), tels que les galeries Api® 20C Aux ou ID® 32C commercialisées par bioMérieux.

**Tableau 9** : Caractéristiques des différentes galeries d'identification commercialisées.

Paramètres	API® 20C AUX (bioMérieux)	Auxacolor®2 (Bio-Rad)	Candifast® (ElitechGroup)	Fungichrom® (ElitechGroup)	Fungifast® (ElitechGroup)	ID®32C (bioMérieux)	Vitek®YBC (bioMérieux)
Nombre de taxons	43	33	10	24	10	63	50
Nombre de tests	19	20	9	15	20	31	20
Cycloheximide	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Non
Uréase	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui
Phénol-oxydase	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Oui
Inoculum	2 McF	1,5 McF		2 McF	2 McF	2 McF	1,8 à 2,2 McF
Durée	48 à 72 h	24 à 72 h	24 à 72 h	24 à 48 h	24 à 72 h	48 à 72 h	18 h
Caractères morphologiques	Obligatoires	Obligatoires	Non obligatoires	Non obligatoires	Obligatoires	Non demandés	Obligatoires
Commentaires	Manipulation simple, mais ce test est peu discriminant	Manipulation simple	Manipulation simple, mais ce test est peu discriminant	Manipulation simple, mais ce test est peu discriminant	Manipulation simple. Nombre limité de taxons	Manipulation simple. Test performant	Manipulation simple. Test performant

McF : Mac Farland.

Dans l'auxanogramme, la levure est placée en aérobiose en présence d'un panel plus ou moins large d'hydrates de carbone (oses simples, polyols, osamines, ...). Les sources de carbone sont déjà distribuées sous forme lyophilisée au fond des cupules de la galerie d'identification. Lorsque la levure assimile le sucre, sa multiplication se traduit par un trouble dans la cupule ou par le virage d'un indicateur de pH.

Dans le zymogramme, l'étude de l'assimilation des hydrates de carbone comme source de carbone et d'énergie est effectuée en anaérobiose (réalisée en recouvrant les cupules d'huile de paraffine) et l'assimilation par la voie fermentative entraîne un virage de l'indicateur de pH en raison de la production de métabolites acides. Après traduction du profil d'assimilation en un code numérique, l'identification de l'espèce est assurée par comparaison à des bases de données. Selon les dispositifs commerciaux, 10 à 63 espèces peuvent être identifiées appartenant principalement au genre *Candida*, mais aussi à d'autres genres comme *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Rhodotorula* ou *Saccharomyces*.

- Le système API® 20C AUX (bioMérieux) repose sur l'étude de l'assimilation de 19 sources de carbone.
- Le test Auxacolor®2 (Bio-Rad) comprend 15 tests colorimétriques dont 13 reposent sur l'assimilation de carbohydrates, les deux derniers correspondant à la sensibilité au cycloheximide (Actidione®) et la recherche de la phénoloxydase.
- Les dispositifs Candifast® et Candifast® Es Twin (ElitechGroup) qui permettent respectivement l'identification des levures ou l'identification et l'étude simultanée de la sensibilité aux antifongiques, comportent l'étude de la fermentation de 7 sucres, de la sensibilité au cycloheximide et de l'hydrolyse de l'urée.
- Les dispositifs Fungichrom® et Fungifast® (ElitechGroup) qui permettent respectivement l'identification des levures ou l'identification et l'étude simultanée de la sensibilité aux antifongiques, comprennent l'étude de l'hydrolyse de 2 substrats chromogènes, de l'assimilation de 5 carbohydrates, de l'hydrolyse de l'urée et la recherche de la phénoloxydase.
- La galerie ID® 32C (bioMérieux) comprend l'étude de l'assimilation de 29 sources de carbone, l'étude de la sensibilité à l'Actidione® et la recherche de l'hydrolyse de l'esculine. Cette galerie d'identification est aujourd'hui la plus performante. Elle peut être automatisée et sert souvent de référence.

- Le dispositif Vitek® YBC (bioMérieux) comporte 20 tests, la sensibilité à l'Actidione®, l'assimilation du nitrate, l'hydrolyse de l'urée et l'assimilation de 17 sources de carbone. Ce système entièrement automatisé permet l'identification de 50 taxons.

La discrimination entre *C. albicans* et *C. dubliniensis* sur les galeries d'identification n'est pas toujours aisée, de même que des caractères physiologiques peuvent être identiques dans certaines galeries pour 2 espèces voisines. Pour cette raison, il est important de prendre également en compte les caractères macroscopiques et microscopiques pour l'identification des levures ([Tableau 10](#)).

**Tableau 10** : Caractéristiques morphologiques des principales levures d'intérêt médical.

Espèce	Morphologie sur milieu de Sabouraud		Morphologie microscopique sur RAT
	Aspect des colonies	Microscopie	
<i>Candida</i> spp.	Colonies blanches à crèmes, luisantes ou mates, lisses ou plissées	Blastospores ± pseudofilaments	Blastospores ± filaments et/ou pseudofilaments ± chlamydozoospores
<i>C. albicans</i>	Blanches, luisantes, lisses à bords nets	Blastospores ovoïdes (3-14 x 3-7 µm)	Blastospores, filaments, pseudofilaments et chlamydozoospores
<i>C. dubliniensis</i>	Crèmes, lisses ou plissées à bords nets	Blastospores ovoïdes (3-14 x 3-7 µm)	Blastospores, filaments, pseudofilaments et nombreuses chlamydozoospores
<i>C. glabrata</i>	Blanches, brillantes, lisses à bords nets	Blastospores rondes à ovoïdes (3-4 x 2-3 µm)	Blastospores rondes à ovoïdes Pas d'eumycélium ni pseudomycélium
<i>C. tropicalis</i>	Blanches à crèmes, lisses à bords nets	Blastospores ovoïdes (6-10 x 4-7 µm)	Blastospores ovoïdes et nombreux pseudofilaments
<i>C. parapsilosis</i>	Crèmes, lisses à bords nets	Blastospores rondes à ovoïdes (5-15 x 5-10 µm)	Blastospores rondes à ovoïdes et pseudofilaments courts
<i>C. krusei</i>	Blanches, mates à bords festonnés odeur d'alcool de fruit	Blastospores ovoïdes à cylindriques (5-12 x 3-6 µm)	Blastospores ovoïdes à cylindriques Pseudofilaments
<i>C. kefyr</i>	Blanches à crèmes, translucides odeur fruitée	Blastospores ovoïdes à allongées (7-10 x 3-5 µm)	Blastospores ovoïdes à allongées Nombreux pseudofilaments
<i>Rhodotorula</i> spp.	Rouges ou orangées	Blastospores globuleuses	Blastospores globuleuses Pas d'eumycélium ni pseudomycélium
<i>Saccharomyces</i> spp.	Blanches à crèmes, lisses à bords nets	Blastospores globuleuses ou allongées (5-15 x 3-10 µm) Asques globuleux (1 à 4 ascospores)	Blastospores globuleuses ou ovoïdes Pas d'eumycélium ni pseudomycélium
<i>Trichosporon</i> spp.	Blanches, sèches, à bords fissurés	Blastospores allongées avec arthrospores	Filaments et pseudofilaments abondants + arthrospores + blastospores
<i>Malassezia</i> lipodépendants	Blanchâtres, puis chamois Lisses	Blastospores ovoïdes, globuleuses ou allongées, avec souvent une large base	Pas de pseudomycélium

## Détermination de la sensibilité aux antifongiques

### Indications

Parallèlement à l'identification, la détermination de la sensibilité aux antifongiques doit être réalisée dans les situations suivantes :

- lorsque la levure est isolée d'une hémoculture ou d'un site profond
- lorsque la levure est isolée d'un site superficiel, notamment cavitaire, en cas de récurrence ou d'échec thérapeutique
- et enfin lorsqu'il s'agit de patients immunodéprimés ou soumis à une forte pression de sélection liée à une prophylaxie ou à un traitement antifongique en cours.

### Les méthodes

Le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) aux USA et l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) en Europe ont proposé une standardisation de ces techniques. Les méthodes proposées, qui constituent aujourd'hui les techniques de référence, ont par ailleurs permis la mise au point de nouveaux tests.

#### a. Méthodes par dilution

- Dilution en milieu solide :

Pour un antifongique donné, une gamme de dilutions est réalisée. Les dilutions sont ensuite incorporées dans un milieu gélosé maintenu en surfusion qui est alors distribué en boîtes de Pétri. L'ensemencement des souches à tester se fait à l'aide de l'appareil de Steers, qui permet de repiquer simultanément 36 souches sur le même milieu. Le milieu Casitone est indiqué pour les dérivés azolés. Il existe une bonne corrélation avec la méthode CLSI.

- Dilution en milieu liquide :

La macrométhode en tube initialement proposée par le CLSI a été miniaturisée pour faciliter son application en routine. La technique de l'EUCAST diffère de celle du CLSI par une supplémentation du milieu en glucose, un inoculum cent fois supérieur et une incubation courte de 24 heures. Les deux techniques sont bien corrélées.

- Minigalleries commercialisées (dilutions en milieu semi-solide) :

En pratique, il existe des tests commercialisés sous forme de galleries (Fungitest®,

Bio-Rad ; ATB® Fungus 3, bioMérieux) qui permettent de tester la sensibilité des *Candida* dans des conditions très proches des techniques de microdilution en milieu liquide. Ainsi la galerie Fungitest® permet de tester la sensibilité à 6 antifongiques : la 5-fluorocytosine (5-FC), l'amphotéricine B (Am B), le fluconazole, l'itraconazole, le kétoconazole et le miconazole. Chaque antifongique est testé à deux concentrations, ce qui permet de classer la levure en sensible (aucune croissance dans les deux cupules), résistante (croissance dans les deux cupules) ou intermédiaire (croissance uniquement dans la cupule de faible concentration en antifongique). La galerie ATB® Fungus 3, pour sa part, teste 5 molécules : la 5-FC, l'Am B, le fluconazole, l'itraconazole et le voriconazole avec une gamme de concentration croissante de 6 à 10 valeurs (deux seulement pour la 5-FC qui n'est plus guère utilisée en thérapeutique), ce qui permet la détermination des CMI. Pour cette méthode, la lecture doit impérativement être réalisée après 24 ± 2h d'incubation. Au delà, il est difficile, pour les azolés, d'apprécier la plus faible concentration en antifongique engendrant 80% d'inhibition de croissance.

Les tests commercialisés sont d'utilisation simple, rapides et reproductibles. Des erreurs sont néanmoins possibles lors de la lecture. Par ailleurs, il faut veiller à homogénéiser parfaitement l'inoculum dans le milieu de culture. Les seuils de sensibilité, bien établis pour la 5-FC, le fluconazole et l'itraconazole, le sont moins pour l'Am B ([Tableau 11](#)).

**Tableau 11** : Concentrations critiques (en µg/ml) recommandées par le CLSI pour *Candida*.

Molécules	Sensible	Intermédiaire (ou sensible dose-dépendante)	Résistante
5-FC	< 4 µg/ml	8 à 16 µg/ml	> 32 µg/ml
Fluconazole	< 8 µg/ml	16 à 32 µg/ml	> 64 µg/ml
Itraconazole	< 0,125 µg/ml	0,25 à 0,5 µg/ml	> 1 µg/ml

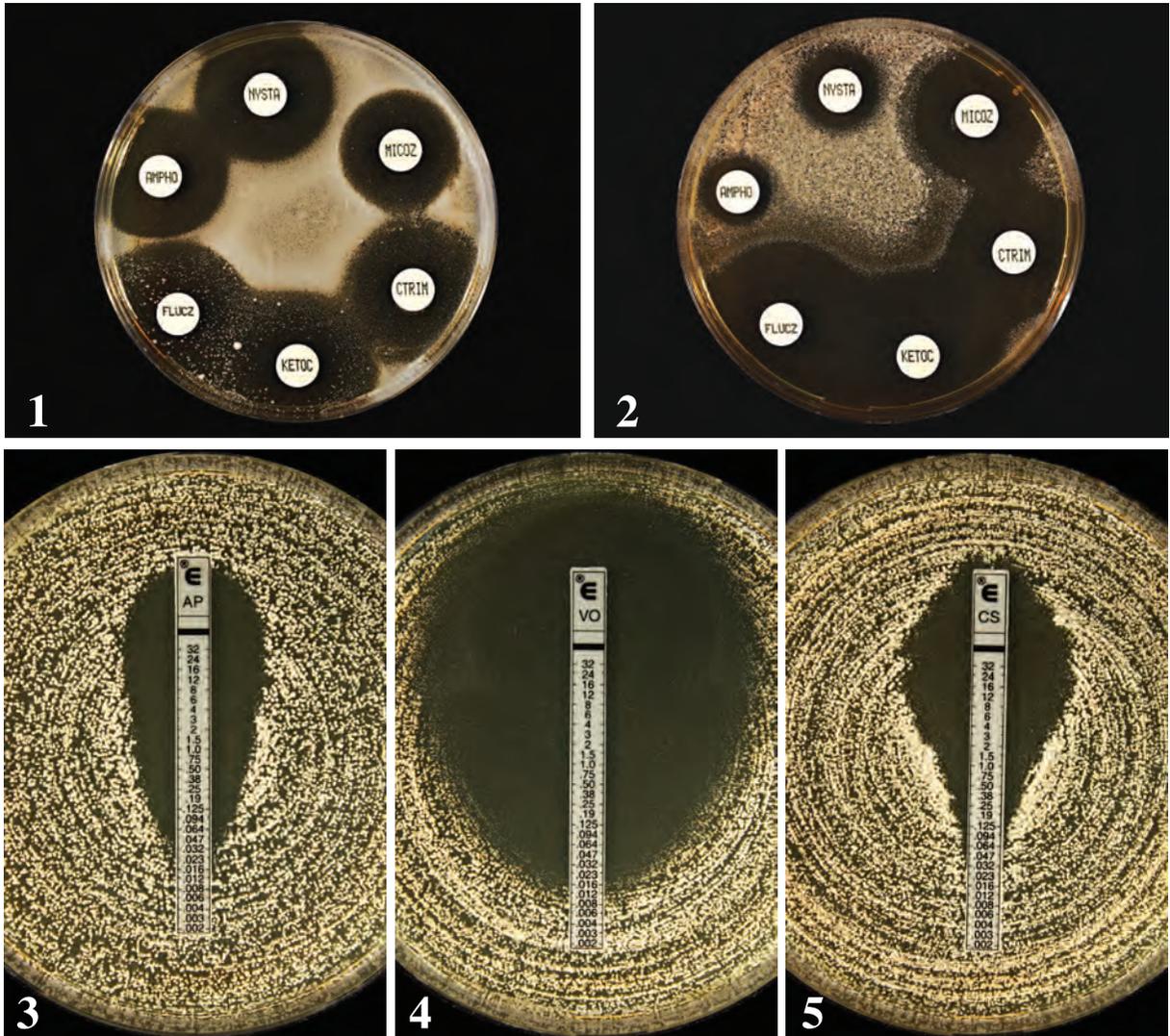
### *b. Méthodes par diffusion*

Cette méthode est comparable à l'antibiogramme bactérien. Des disques imprégnés d'une concentration connue d'antifongique ou des comprimés d'antifongiques à concentration connue (Néosensitabs®, Eurobio) sont déposés à la surface d'une gélose préalablement ensemencée par inondation ou par écouvillonnage. En fonction du diamètre des zones d'inhibition de croissance, les souches de levures sont classées en sensibles, intermédiaires ou résistantes (Figure 47). Pour les azolés et les polyènes, il convient d'utiliser le milieu Casitone.

### *c. Méthode par dilution – diffusion*

La méthode E-test® (AB Biodisk) repose sur l'utilisation de bandelettes comportant sur une face un gradient de concentration exponentiel en antifongique et, sur l'autre face, une échelle de lecture et d'interprétation. L'ensemencement des géloses (gélose RPMI-glucose ou gélose Casitone, AES laboratoires) est réalisée à l'écouvillon à partir d'une suspension de la levure à tester. Après incubation à 37°C, les CMI sont lues directement sur l'échelle de lecture au point d'intersection de la zone d'inhibition (en forme d'ellipse) avec la bandelette (Figure 47). Cette méthode, plus simple d'utilisation que les méthodes par dilution en milieu liquide, est bien corrélée avec celles préconisées par le CLSI et l'EUCAST.

**Figure 47** : Etude de la sensibilité aux antifongiques par diffusion en gélose ou diffusion-dilution.



Détermination de la sensibilité aux antifongiques de deux isolats de *Candida glabrata* par diffusion sur gélose Casitone (1 et 2). Les zones d'inhibition sont découpées à l'emporte-pièce. Des microcolonies sont parfois observées à l'intérieur de la zone d'inhibition pour les azolés (miconazole, clotrimazole, kétoconazole et fluconazole) en raison de l'effet fongistatique de ces antifongiques. Noter la très faible sensibilité aux polyènes (amphotéricine B et nystatine) et l'hypersensibilité aux azolés de l'isolat 2.

Détermination de la sensibilité aux antifongiques, amphotéricine B (3), voriconazole (4) et caspofungine (5) à l'aide de bandelettes E-test®. Les zones d'inhibition sont en forme d'ellipse, et les CMI sont lues directement sur la bandelette aux points d'intersection avec la zone d'inhibition.

## Index de colonisation

L'index de colonisation (IC) et l'index de colonisation corrigé (ICC) de Pittet ne sont utilisés en pratique que pour le suivi de patients hospitalisés en Unités de Soins Intensifs, plus précisément ceux de réanimation chirurgicale.

La détermination de ces indices nécessite la mise en culture régulière de prélèvements issus de sites périphériques facilement accessibles (bouche, narines, anus, ...), de selles et de liquides biologiques (urines, produits d'expectoration, ...). Au moins 5 sites périphériques doivent être explorés.

L'index de colonisation est défini comme suit :

$$IC = \frac{\text{Nombre de sites distincts colonisés}}{\text{Nombre total de sites prélevés}}$$

Au delà d'une valeur de 0,4, on considère qu'il existe un risque important d'infection profonde à *Candida*.

L'ICC est un indice qui prend en compte l'intensité de la colonisation des différents sites prélevés. Un site est fortement colonisé quand le nombre d'unités formant colonies (UFC) est supérieur ou égal à  $10^4$ .

$$ICC = IC \times \frac{\text{Nombre de sites distincts fortement colonisés}}{\text{Nombre total de sites colonisés}}$$

L'ICC présenterait une sensibilité et une valeur prédictive positive de 100% pour des valeurs supérieures ou égales à 0,4.

Le calcul de ces indices permettrait de cibler la prophylaxie par des antifongiques en sélectionnant les patients à "haut risque".

## Interprétation des résultats des cultures

Pour l'interprétation des résultats, il faudra tenir compte du site de prélèvement (superficiel ou profond) et de l'espèce identifiée, mais aussi du terrain (immunodépression sévère ou non). Schématiquement, toute culture positive à partir d'un prélèvement issu d'un site normalement stérile (LCR, liquides de ponction, biopsies tissulaires) témoigne d'une infection à levures. Concernant les urines, la présence de levures doit être interprétée avec prudence, car une souillure issue des voies urinaires basses (urètre) n'est pas rare ;

dans ce cas, on s'attachera à dénombrer les colonies. Ainsi une candidurie supérieure à  $10^4$  UFC par ml chez un patient non sondé est en faveur d'une infection urinaire.

Pour les sites cutanés et les sites cavitaires, la présence de levures peut correspondre à un simple portage. L'interprétation nécessitera la confrontation des résultats mycologiques avec les données cliniques. Quand elle est possible (donc principalement pour les prélèvements liquides), la détermination de la charge fongique est souvent contributive au diagnostic. Par exemple, la présence de plus de 10 colonies de levures sur une culture issue d'un prélèvement vaginal, de 5 à 10 colonies par  $\text{cm}^2$  de surface oropharyngée écouvillonnée, de  $10^2$  UFC par ml de solution de rinçage buccal ou de  $10^4$  UFC par gramme de selles, est en faveur du caractère pathogène de la levure isolée.

En l'absence de biopsies issues de tissus ou d'organes profonds, les hémocultures représentent des prélèvements essentiels dans le diagnostic des levuroses systémiques. Leur sensibilité demeure cependant décevante (en général inférieur à 50% selon les différentes études réalisées) malgré l'amélioration des techniques et, notamment, le développement de milieux spécifiques. Par ailleurs, cette sensibilité varie en fonction des espèces : par exemple, *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. parapsilosis* sont détectés plus précocément que *C. glabrata* ou *C. krusei*. Enfin, elle varie également avec la localisation. Ainsi, en cas de candidose hépato-splénique, seuls 20% des prélèvements sont positifs.

Il est donc important de répéter les prélèvements chez tout patient à risque et de préférence au moment de pics fébriles.

Sans attendre les résultats de l'identification de la levure isolée d'une hémoculture ou d'un prélèvement profond (normalement stérile), il convient d'avertir rapidement le clinicien de la positivité de l'hémoculture, de manière à mettre en œuvre un traitement antifongique qui pourra être adapté par la suite en fonction de l'espèce identifiée. Il a en effet été clairement montré que tout retard à l'instauration du traitement systémique était préjudiciable en cas de septicémie à levures.

Dans le cadre d'une infection fongique disséminée, les critères diagnostiques ont été définis par un consensus international ([Tableau 12](#)).

**Tableau 12** : Critères diagnostiques des infections fongiques invasives à *Candida*, définis par un consensus international (d'après de Pauw *et al.*, 2008).

<b>Candidose invasive prouvée</b>	
Examen histologique ou anatomo-pathologique montrant des levures à partir d'un prélèvement à <b>l'aiguille d'aspiration</b> ou d'une biopsie (à l'exception des muqueuses)	
<b>OU</b>	
Culture positive à partir d'un prélèvement obtenu de manière aseptique d'un site normalement stérile (y compris hémocultures)	
<b>ET</b>	
Présence <b>de signes cliniques ou radiologiques</b> évoquant une infection, <b>à l'exception de signes d'atteintes urinaires, d'atteintes des sinus ou des muqueuses</b>	
<b>Candidose invasive probable</b>	
Au moins un facteur lié à l'hôte	
<b>ET</b>	
un critère microbiologique	
<b>ET</b>	
un critère clinique majeur (ou deux critères mineurs) <b>évoquant une mycose invasive</b>	
<b>Candidose possible</b>	
<b>Infection tissulaire profonde</b>	<b>Candidémie</b>
Au moins un facteur lié à l'hôte	Hémoculture positive à <i>Candida</i> sp.
<b>ET</b>	<b>ET</b>
un critère clinique majeur (ou 2 critères mineurs) <b>évoquant une mycose invasive</b>	critères cliniques compatibles avec le microorganisme identifié
Pas de critère microbiologique	

Le caractère pathogène d'une levure doit être discuté dans un contexte clinique et épidémiologique, en particulier lorsqu'elle est isolée de sites superficiels normalement colonisés (peau, bouche, trachée, selles, vagin) ou qu'elle provient de prélèvements pouvant être contaminés (LBA, urines, ...).

L'interprétation doit, en effet, tenir compte de nombreux facteurs : l'espèce isolée, l'intensité de la colonisation (culture pure et/ou abondante), la valeur des indices de Pittet quand ils peuvent être déterminés, l'isolement à plusieurs reprises d'une même levure, ainsi que les données de l'examen direct qui est fortement contributif devant la mise en évidence de filaments mycéliens ou de pseudofilaments. Le terrain (patient immunodéprimé) et la maladie sous-jacente (notamment l'infection par le VIH) sont aussi des informations précieuses à prendre en compte. Pour illustrer ces propos, on peut signaler certains exemples :

- L'isolement de *Candida* dans les selles témoigne le plus souvent d'une simple colonisation. Celle-ci doit cependant être prise en compte dans la surveillance des patients à risque, notamment dans les services de réanimation et d'onco-hématologie.
- La présence de *Candida* dans une urine peut être fortuite et la responsabilité de la levure ne sera démontrée que devant une culture pure et abondante et en l'absence de sonde. C'est dans ce contexte que la numération des levures dans les liquides biologiques prend tout son intérêt. La plupart des auteurs s'accordent à évaluer à  $10^4$  UFC/ml le seuil significatif d'une candidurie.
- La présence de levures dans un prélèvement des voies aériennes (expectoration, aspiration bronchique, lavage broncho-alvéolaire) est d'interprétation difficile en raison d'une colonisation fréquente de la sphère oropharyngée. Seule la biopsie (rarement pratiquée) est contributive au diagnostic d'une levurose pulmonaire. En l'absence de biopsies, le caractère habituellement commensal ou non de l'espèce identifiée est important pour l'interprétation.
- Pour les prélèvements profonds (normalement stériles) comme pour les hémocultures, l'isolement de levures, quelle qu'en soit la quantité ou l'espèce, suffit à porter le diagnostic et à instaurer un traitement antifongique qui sera secondairement adapté si besoin en fonction de l'espèce identifiée et des résultats de l'antifongigramme.

## **techniques innovantes**

Ces deux dernières décennies ont connu d'importants progrès technologiques, avec notamment le développement de la biologie moléculaire et l'essor des approches protéomiques. Ces techniques utilisées depuis longtemps dans le cadre des levures pour le typage des souches à des fins épidémiologiques, ou dans un but taxinomique pour l'identification de certaines espèces, ont également été envisagées à des fins diagnostiques et des applications sont aujourd'hui disponibles ou pourraient l'être dans un avenir proche.

### **Diagnostic des candidoses profondes**

Les applications de la PCR ont suscité de nombreux espoirs. En effet, le statut immunitaire du patient n'entre pas en ligne de compte, contrairement à la recherche d'anticorps spécifiques. De plus, cette technique permet de détecter et d'amplifier des fragments d'ADN fongique provenant de cellules mortes et donc incapables de se développer en culture. Enfin, elle permet théoriquement un diagnostic précoce grâce à une sensibilité et une spécificité élevées. La spécificité dépend de la nature des séquences cibles, alors que la sensibilité analytique repose quant à elle sur la nature de l'échantillon analysé (sérum, sang total ou autre liquide biologique), la méthode d'extraction (manuelle ou automatisée), la nature de la séquence cible (gènes mono- ou multi-copies) et la méthode de détection des amplicons (électrophorèse sur gel d'agarose, hybridation sur membranes, puces à ADN, ...). Les techniques de PCR en temps réel, qui combinent l'automatisation, la rapidité et une évaluation quantitative, ont connu ces dernières années un essor important en microbiologie. La détection des amplicons étant réalisée au fur et à mesure de l'amplification à l'aide de sondes TaqMan® (Perkin-Elmer, Applied Biosystems) ou sur l'automate LightCycler® (Roche Molecular Systems), aucune manipulation post-PCR n'est nécessaire et les risques de contamination sont donc limités au maximum. Par ailleurs, la disponibilité récente d'automates d'extraction permet d'envisager l'utilisation de ces techniques en routine hospitalière.

Cependant, en dépit de nombreux travaux, la PCR n'a pas encore permis de remplacer l'hémoculture qui représente le "gold standard" dans le diagnostic des fongémies. L'utilisation de la PCR fongique demeure en effet limitée aux centres hospitalo-universitaires. Sa généralisation est freinée par le manque de standardisation des protocoles techniques (méthodes d'extraction, séquences cibles et techniques de détection de l'ADN amplifié) et le faible nombre de kits commercialisés. La plupart des évaluations ont été réalisées sur un nombre limité de patients, ou sur des échantillons artificiellement contaminés.

La performance de cette approche relève donc du savoir-faire et des protocoles développés par l'équipe en place. Il convient néanmoins de signaler la commercialisation récente de kits permettant le diagnostic des septicémies à levures basés sur l'utilisation du système Lightcycler® (Lightcycler® SeptiFast Test, Roche) ou de la technique d'hybridation *in situ* (PNA FISH, peptide nucleic acid fluorescent *in situ* hybridation).

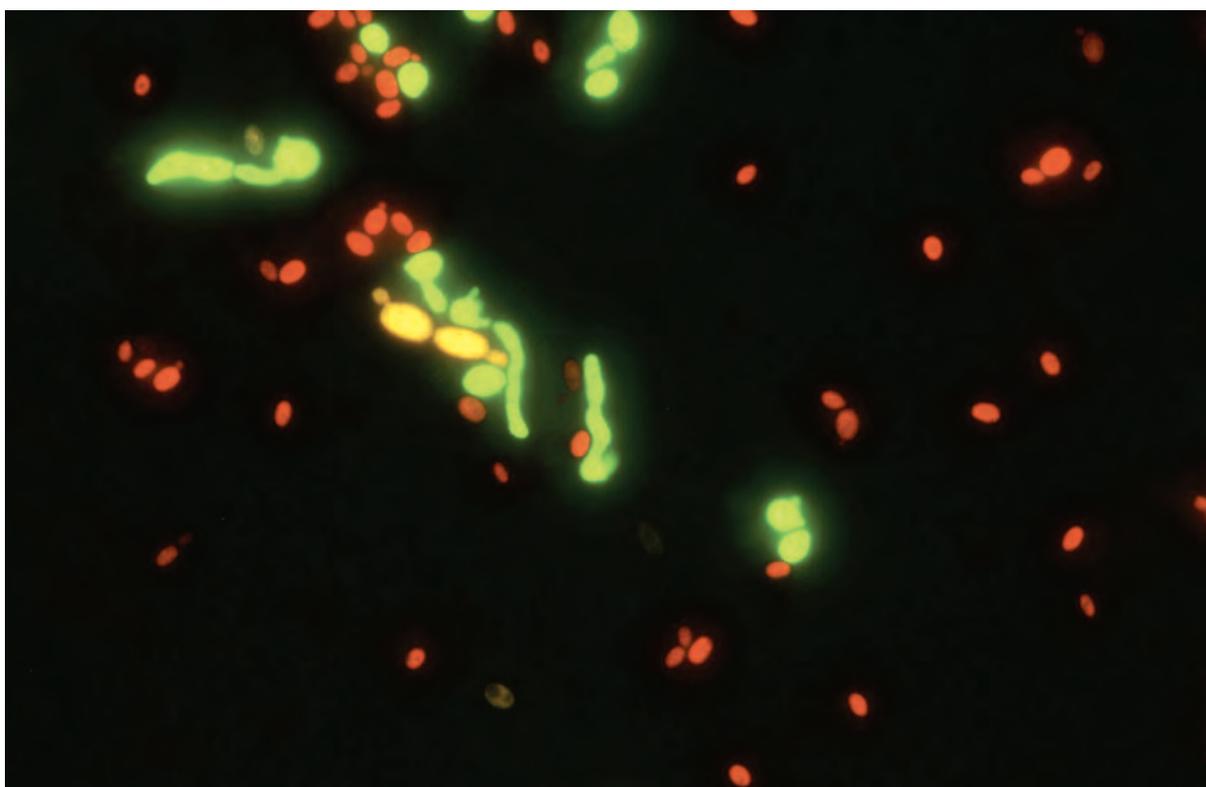
### **Méthodes d'identification**

En dépit des nombreuses techniques développées, les applications de la PCR à l'identification des levures à partir d'un produit de culture (flacons d'hémocultures ou cultures sur gélose) restent actuellement limitées, en raison de la performance et de la simplicité d'utilisation des techniques conventionnelles (milieux chromogéniques, tests d'agglutination et galeries d'identification). Cependant, 48 à 96 heures sont souvent nécessaires avant d'aboutir à l'identification de l'espèce, alors que l'approche moléculaire permet de réduire considérablement ce temps d'analyse. Son coût (notamment pour la PCR en temps réel et le séquençage) est cependant très supérieur à celui des techniques mycologiques classiques, et le recours à la biologie moléculaire ne s'envisage généralement que lors des levures profondes. En effet, dans ce contexte, le choix de l'antifongique nécessite l'identification rapide de l'espèce en cause. Les cibles visées sont généralement des séquences hautement conservées chez les champignons (donc autorisant l'utilisation d'un seul couple d'amorces), entre lesquelles on trouve des régions variables. Les régions ITS1 et ITS2 (*Internal Transcribed Spacer* ou "espaceurs internes transcrits"), situées sur les gènes codant pour l'ARN ribosomal 5,8S, 18S et 28S, sont les régions variables les plus utilisées. La région ITS2 semble plus particulièrement intéressante, en raison de son haut degré de polymorphisme au sein des espèces du genre *Candida*. Une des approches moléculaires les plus concluantes concerne la différenciation entre *C. albicans* et *C. dubliniensis*, difficilement réalisable avec la plupart des systèmes d'identification phénotypiques classiques. L'amplification par PCR des régions ITS est suivie le plus souvent d'un séquençage, mais il est également possible d'analyser le polymorphisme de longueur des amplicons ou de réaliser une hybridation avec des sondes fluorescentes spécifiques d'espèces, ou encore d'avoir recours à une PCR multiplex ou à des puces à ADN. Cette dernière technique (DNA array), qui consiste à réaliser l'hybridation des produits d'amplification sur des sondes oligonucléotidiques spécifiques d'espèces immobilisées sur lames de verre ou sur membranes, est beaucoup plus rapide et moins coûteuse que le séquençage. Elle s'est révélée capable d'identifier en moins de 24 heures, 77 espèces de levures différentes à partir d'hémocultures positives. La lecture est par ailleurs possible à l'œil nu (révélation colorimétrique

de spots de 400 µm de diamètre). Cette technique, qui permet une identification plus rapide que le système Vitek®, est très prometteuse. Elle semble réellement applicable en routine hospitalière, mais pose le problème des espèces rares qui ne seraient pas détectées par les sondes oligonucléotidiques.

Récemment, trois dispositifs d'identification par hybridation *in situ* (PNA FISH, peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridation) ont été développés par la société AdvanDx (distribués en France par i2a). Ces tests permettent d'identifier à partir des hémocultures positives les principaux agents pathogènes responsables de septicémies (Staphylocoques, Entérocoques et levures). A partir des hémocultures positives, sont réalisés des étalements sur lames qui sont hybridés avec des sondes marquées par différents fluorochromes, et la lecture est effectuée au microscope à fluorescence. Ainsi, le kit Yeast Traffic Light PNA FISH™ repose sur l'hybridation des levures avec des sondes fluorescentes spécifiques des ARNr 26S des principales espèces de levures rencontrées dans les candidémies (Figure 48). Ces tests permettent de s'affranchir de la PCR, tout en assurant une identification d'espèces fiable et rapide (en moins de 3 heures).

**Figure 48** : Détection de levures à partir des hémocultures positives à l'aide du kit Yeast Traffic Light PNA FISH™.



A partir de l'hémoculture positive, un frottis est réalisé. Les levures sont hybridées avec des sondes fluorescentes spécifiques d'espèces. Une fluorescence verte est observée pour *C. albicans* et *C. parapsilosis*, alors que *C. glabrata* et *C. krusei* produisent une fluorescence rouge et *C. tropicalis* une fluorescence jaune.

Le kit Lightcycler® SeptiFast kit (Roche) permet quant à lui la détection directe de septicémies à levures par amplification par PCR multiplex des régions ITS des principales bactéries à Gram positif, bactéries à Gram négatif et levures, à partir du prélèvement de sang, avec une identification de l'espèce en cause, en moins de 6 heures, par analyse de la température de fusion des produits d'amplification.

La spectrométrie de masse MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionisation-time-of-flight) représente également une alternative intéressante à l'identification moléculaire. Cette approche protéomique permet une identification rapide directement à partir des cultures. Des solutions commerciales sont disponibles (comme le système AXIMA@SARAMIS, de Shimadzu, distribué par i2a ou le système Microflex de Bruker Daltonics) qui permettent d'identifier en quelques minutes seulement les bactéries (Gram positives ou Gram négatives), mais aussi les levures et les champignons sur la base de leurs empreintes MALDI-TOF MS. Les temps de préparation et le coût des consommables sont considérablement réduits par rapport aux techniques moléculaires.

Enfin, d'autres techniques sont également en cours de développement, comme la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, mais elles nécessitent un appareillage encore inhabituel dans un laboratoire de microbiologie.

### **Méthodes de typage moléculaire**

Les méthodes modernes de typage moléculaire, basées sur l'analyse de la variabilité du génome, représentent de précieux outils d'enquête épidémiologique, notamment en milieu hospitalier. Le réservoir des *Candida* est en effet le plus souvent endogène. Cependant, dans un contexte d'infection nosocomiale, il peut être important de rechercher une origine exogène. Le typage des isolats rencontrés dans un contexte supposé d'épidémie peut ainsi permettre de démontrer la transmission inter-humaine d'une souche (infection résultant par exemple d'une transmission au malade par le personnel soignant). Dans un contexte de candidose chronique ou récidivante, le typage permet également de différencier le portage chronique d'une même souche possédant un profil particulier de virulence ou de résistance aux antifongiques, de réinfections successives par des souches différentes.

Le choix de la méthode va reposer sur son pouvoir discriminant, donc sur sa spécificité plus que sur sa sensibilité. L'étude du polymorphisme de l'ADN permet une caractérisation infra-spécifique des levures étudiées. Deux approches méthodologiques s'opposent, suivant que l'analyse s'appuie sur l'étude du polymorphisme de la taille des chromosomes (électrophorèse en champs pulsé des chromosomes ou Pulsed field Gel Electrophoresis,

PFGE) ou de fragments d'ADN (polymorphisme de taille des fragments de restriction enzymatique ou Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP; Empreinte d'ADN ou DNA fingerprinting ; et l'amplification aléatoire de fragments d'ADN polymorphes ou Random Amplification of Polymorphic DNA, RAPD) ou sur l'étude du polymorphisme de séquences nucléotidiques identifiées (séquençage multiloci ou Multi Locus Sequence Typing, MLST; analyse de séquences microsatellites). La reproductibilité ou le pouvoir discriminant des différentes méthodes de typage est cependant variable, et elles manquent parfois de standardisation. Pour le typage des souches de *Candida*, la MLST et l'analyse des microsatellites sont les deux méthodes les plus performantes.

La technique MLST (*Multilocus Sequence Typing*) est basée sur l'analyse du polymorphisme nucléotidique de 6 ou 7 loci indépendants. Les fragments séquencés correspondent à des gènes de "ménage", régions de grande variabilité encadrées par des séquences conservées et qui présentent des variations intra-spécifiques. Cette technique hautement discriminante a par ailleurs l'avantage d'être hautement reproductible, et la standardisation des données obtenues a permis la constitution d'une banque publique permettant de retracer la circulation des souches à l'échelon national et international (<http://www.mlst.net>). Les séquences MLST d'un grand nombre de souches de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* et *C. neoformans* var. *grubii* sont actuellement disponibles dans cette base de données.

D'autres marqueurs présentant des séquences répétées et un certain degré de polymorphisme au sein de familles multigéniques sont utilisés, parmi lesquels il faut citer les régions microsatellites. Il s'agit de répétitions de courts motifs de 1 à 6 paires de bases, extrêmement polymorphes. Le nombre de répétitions à un locus donné est variable. Le séquençage de ces régions est un outil de typage très utile. Comme la MLST, cette technique est standardisable pour chaque espèce de *Candida*. Son pouvoir discriminant augmente également avec le nombre de microsatellites étudiés. Enfin, elle est moins onéreuse et plus rapide que la MLST, mais cette dernière est actuellement plus précise et davantage standardisée.

Outre son application dans l'identification des espèces, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier s'est montrée capable de discriminer les souches de *Candida*, mais les études basées sur cette méthode restent peu nombreuses.

## Diagnostic indirect

Les difficultés de mise en place de procédures invasives – ou l'impossibilité d'avoir recours à de telles procédures – pour l'isolement des levures lors d'une suspicion de levurose profonde ou systémique, ont conduit au développement de méthodes immunologiques de mise en évidence d'anticorps sériques ou d'antigènes circulants marqueurs d'une infection fongique invasive. Ces deux types d'approches sont complémentaires.

### Recherche d'anticorps sériques

En pratique, la recherche d'anticorps sériques est limitée au diagnostic des candidoses profondes ou systémiques.

Plusieurs tests sont aujourd'hui commercialisés :

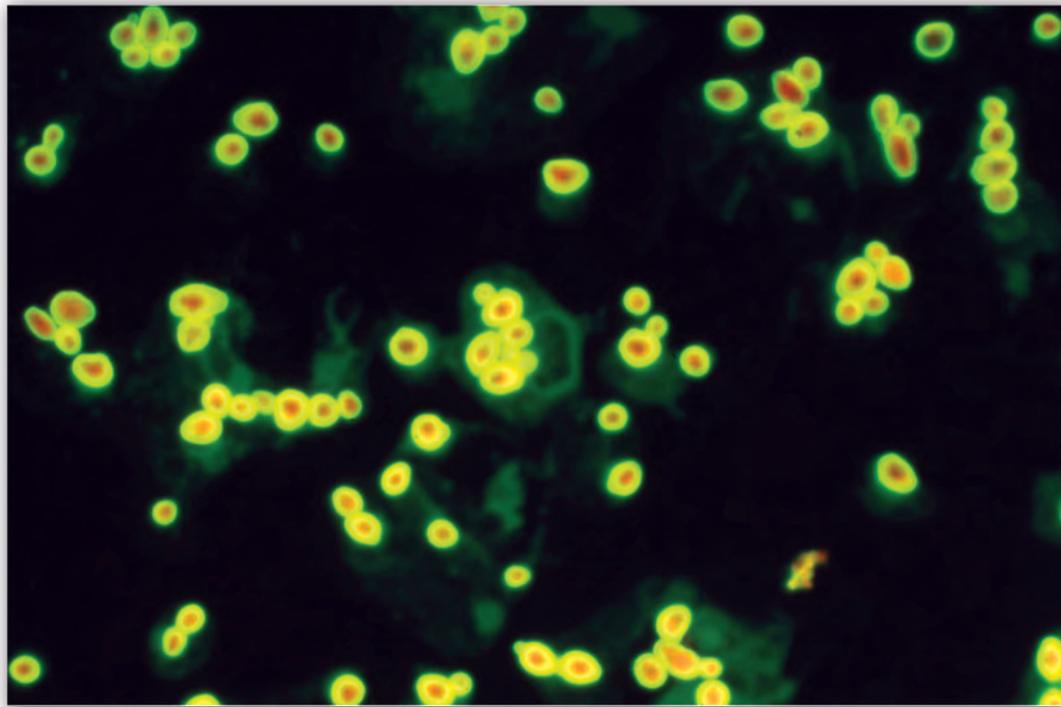
- l'immunofluorescence indirecte (**Figure 49**) qui utilise des blastospores de *C. albicans* déposées sur des lames de verre (Candida-Spot IF®, bioMérieux)
- l'hémagglutination indirecte qui détecte préférentiellement des anticorps de type IgG ou IgM (Candidose Fumouze®, Fumouze).
- l'immunoélectrophorèse ou électrosynérèse (**Figure 50**) qui détecte des anticorps précipitants (antigènes de *C. albicans* et sérum de contrôle positif anti-*C. albicans*, Bio-Rad).
- et l'ELISA (Enzyme Linked-ImmunoSorbent Assay) qui recherche des anticorps dirigés contre les mannanes de la paroi des levures. Ces techniques sont réalisées en microplaques (Platelia® *Candida* Ab/Ac/Ak, Bio-Rad ; Serion® ELISA classic *Candida albicans* IgG / IgM / IgA, Virion/Serion).

Il existe aussi d'autres techniques basées sur le principe du Western-Blot qui mettent en évidence des anticorps spécifiques de la phase mycélienne présente lors d'une candidose invasive : énoïase de 48 kDa, sous-unité de 47 kDa de la Heat Shock-Protein (HSP 90). Ces techniques ne sont pour l'instant pas applicables en routine.

En pratique, il est souhaitable d'associer au moins deux techniques en raison des difficultés d'interprétation liées au caractère commensal de *C. albicans*. Un patient porteur sain de *Candida* peut présenter un taux faible d'anticorps anti-*Candida*, mais des taux élevés d'anticorps, notamment en ELISA, ne sont en pratique pas retrouvés chez des patients

simplement colonisés et plaident en faveur du caractère pathogène de la levure. Chez l'immunodéprimé, en raison de la colonisation accrue du tube digestif par suite de l'antibiothérapie et de la faible production d'anticorps, la répétition (deux fois par semaine) des examens sérologiques est nécessaire afin de suivre l'évolution des anticorps. L'ascension du titre en anticorps plaide en faveur d'une infection récente.

**Figure 49** : Détection des anticorps anti-*Candida* par immunofluorescence indirecte.



**Figure 50** : Détection des anticorps anti-*Candida* par électrosynérèse.

Extrait antigénique	Sérum du 08/11/2008
	Sérum témoin
	Sérum du 26/12/2008
Extrait antigénique	Sérum du 31/12/2008
	Sérum témoin
	Sérum du 05/01/2009
Extrait antigénique	Sérum du 05/01/2009
	Sérum témoin
	Sérum du 13/01/2009

**Séroconversion candidosique chez un patient atteint de leucémie aigue lymphoblastique ayant développé une candidose disséminée avec uvéite inflammatoire et lésion rétinienne entre le 08/11/2008 et le 26/12/2008.**

## Recherche d'antigènes circulants

Malgré des avancées techniques, la sérologie peut souvent être mise en défaut chez l'immunodéprimé du fait de l'évolution trop rapide de l'infection, du faible taux d'anticorps produits, et de la formation de complexes immuns avec les antigènes fongiques circulants. Dans ces situations, la détection des antigènes circulants ou de métabolites fongiques dans le sang, mais aussi dans les urines, le liquide céphalo-rachidien ou le lavage broncho-alvéolaire, peut pallier ces inconvénients. En pratique, cette recherche s'applique au diagnostic des candidoses profondes et des cryptococcoses.

## Les candidoses

Différents antigènes ou métabolites de la levure peuvent être recherchés dans les liquides biologiques.

### a. Recherche d'antigènes non définis

Les laboratoires Ramco commercialisent aux Etats-Unis un kit appelé Cand-Tec® *Candida* Detection System, basé sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps polyclonaux dirigés contre un antigène pariétal non défini de *C. albicans* (exoantigène thermolabile). Ce test peu spécifique n'est guère utilisé en France.

### b. Recherche de mannanes circulants

Actuellement, trois tests basés sur la détection des antigènes mannanes qui constituent les polysaccharides majeurs de la paroi des levures du genre *Candida*, sont commercialisés pour le diagnostic des candidoses invasives.

- Test Pastorex® *Candida* (Bio-Rad) :

Il consiste en l'agglutination de particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal anti-mannane. Il présente une excellente spécificité, mais sa sensibilité est mauvaise, ne dépassant pas 30%. De ce fait, il est peu utilisé bien qu'il permette une réponse immédiate.

- Test Platelia *Candida* Ag® (Bio-Rad) :

Il détecte les mannanes circulants par une technique ELISA sandwich en microplaques. Si sa spécificité est excellente, sa sensibilité n'excède pas 50%. De plus, comme le test Pastorex® *Candida*, il reconnaît de façon inconstante les mannanes de la paroi des blastospores des espèces non *albicans* (*C. krusei*,

*C. kefyr* et *C. parapsilosis*). Il est recommandé d'associer la recherche des anticorps anti-mannanes à la recherche des mannanes circulants. Des études ont montré qu'avec ce double suivi, plus de 80% des épisodes infectieux causés par *C. albicans*, *C. glabrata* ou *C. tropicalis* peuvent être détectés. De même, ces tests Platelia® permettraient de réaliser plus précocément le diagnostic de candidose systémique, en moyenne 4 jours avant la positivité des hémocultures.

- Test Serion ELISA antigen *Candida*® (Virion/serion) :

Ce test, voisin du précédent, est basé sur la détection des antigènes mannanes par une technique ELISA en microplaques.

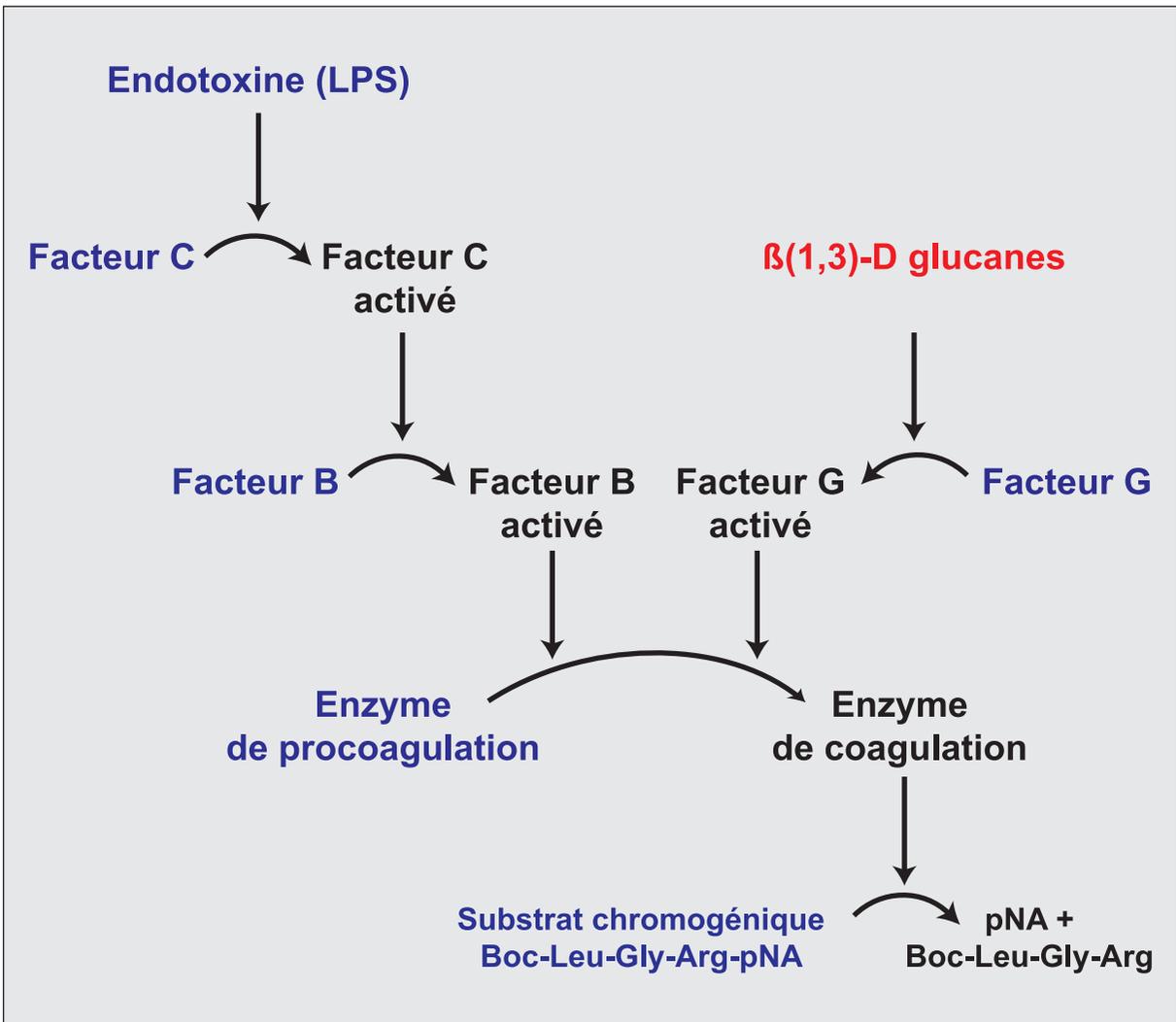
### c. Recherche de $\beta$ -glucanes circulants

D'autres tests ont été développés récemment, basés sur la détection des  $\beta(1,3)$ -D glucanes qui, avec la chitine, sont les polysaccharides de structure majeurs de la paroi fongique. Ces polysaccharides, normalement présents dans le sérum de sujets sains à des valeurs basses, sont libérés dans la circulation en cas d'infections fongiques et des taux élevés de  $\beta(1,3)$ -D glucanes peuvent alors être retrouvés. Plusieurs études ont d'ailleurs montré que le taux de  $\beta(1,3)$ -D glucanes augmente bien avant l'apparition des signes cliniques, ce qui permet d'envisager un diagnostic précoce. De plus, la spécificité de ces tests ne se limite pas au genre *Candida* puisque les  $\beta$ -glucanes sont produits par pratiquement tous les champignons. Ils sont cependant peu contributifs pour le diagnostic des cryptococcoses et des zygomycoses (faible production de  $\beta$ -glucanes).

A l'heure actuelle, seul le test Fungitell® (Associates of Cape Cod, Inc.) est commercialisé en France par la société Biogenic. Le principe de ce test réalisé en microplaques est présenté dans la [Figure 51](#). En présence d'endotoxine, de facteur C et de facteur G, les  $\beta(1,3)$ -D glucanes vont permettre l'hydrolyse d'un substrat peptidique chromogénique avec libération de paranitroaniline (pNA) et l'intensité de la coloration obtenue sera fonction de la concentration en  $\beta(1,3)$ -D glucanes circulants.

Ce test présente une sensibilité comprise entre 70 et 100% selon les études. Chez les patients à risque, des taux sériques d'au moins 80 pg/ml sont hautement corrélés avec des infections fongiques invasives, et inversement des valeurs basses ont une haute valeur prédictive négative.

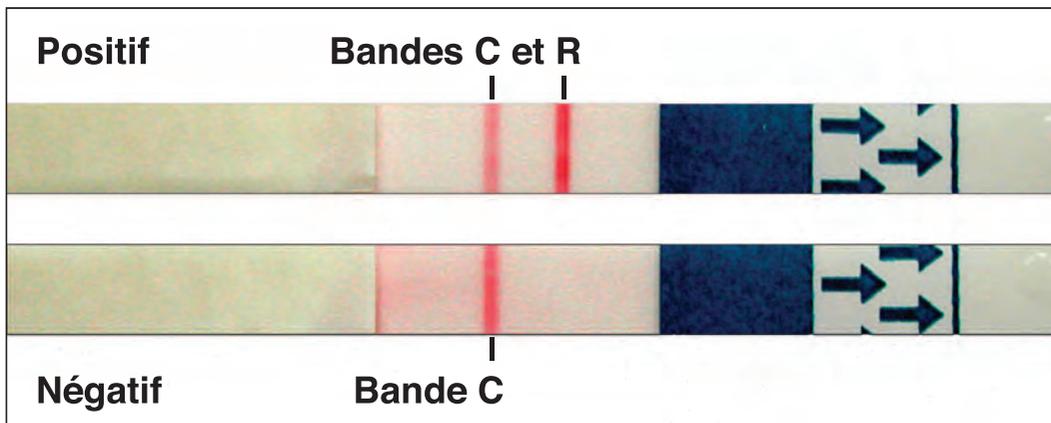
**Figure 51** : Détection des  $\beta$ -glucanes circulants.



#### d. Diagnostic des candidoses vaginales

Une technique d'immunochromatographie sur membrane utilisant un anticorps monoclonal reconnaissant des antigènes mannanes a été développée récemment pour le diagnostic des candidoses vaginales et la différenciation entre l'état commensal et l'état pathogène. Ce test rapide et simple à mettre en œuvre permet la détection dans les sécrétions vaginales des antigènes mannanes qui sont excrétés *in vivo* et qu'on retrouve en concentration élevée lors d'un état pathogène. Il devrait être prochainement commercialisé sous le nom de CANDI-VAGI (Figure 52).

**Figure 52** : Principe du test CANDI-VAGI pour le diagnostic des candidoses vaginales.



Lorsque le dispositif est introduit dans l'échantillon à tester, obtenu à partir d'un prélèvement vaginal traité avec le milieu d'extraction, les antigènes mannanes de *Candida* éventuellement présents, se fixent sur l'anticorps monoclonal 5B2 (IgM) lié aux particules d'or et forment des complexes antigènes-anticorps-particules d'or. Ces complexes migrent et se fixent, par l'intermédiaire des antigènes, sur l'anticorps 5B2 immobilisé sur la bandelette. Une bande colorée en rose ou rose violacé apparaît (R). L'excès d'anticorps monoclonal lié aux particules d'or se fixe ensuite sur la ligne "Contrôle" (C) où sont immobilisés des anticorps anti-IgM. Il apparaît alors sur cette ligne une coloration rose ou rose violacé, qui témoigne de la bonne migration. L'apparition d'une seule bande (C) indique un résultat négatif, et l'apparition de deux bandes (R et C) un résultat positif.

### La cryptococcose

Pour la cryptococcose, 4 tests sont actuellement commercialisés. Ils reposent tous sur une technique d'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps polyclonaux (CryptoLa-test®, International Biologica Laboratories ; Cryptococcal Antigen Latex Agglutination-System ou CALAS®, Meridian Diagnostics ; Latex Cryptococcal Antigen Detection System, IMMY ou Myco-Immun) ou des anticorps monoclonaux (Pastorex crypto plus®, Bio-Rad).

Tous ces tests présentent une très bonne sensibilité et une excellente spécificité. Pour le sérum, il est recommandé de chauffer celui-ci au préalable pendant 10 minutes à 100°C pour dissocier d'éventuels complexes immuns et éliminer le facteur rhumatoïde.

## Conclusion

Les techniques mycologiques classiques suffisent largement à poser le diagnostic d'une levurose superficielle. Concernant les localisations profondes, les hémocultures peuvent rester négatives en dépit d'une large dissémination de la levure dans l'organisme. Dans ces situations, l'approche sérologique peut aussi être prise en défaut, en raison du statut immunitaire des patients qui sont souvent immunodéprimés. La recherche des antigènes (mannanes,  $\beta(1,3)$ -D glucanes) peut pallier ces difficultés. Cependant, elle n'est utilisable en pratique que pour les candidoses et les cryptococcoses. La biologie moléculaire s'avère être une alternative intéressante, mais pour l'instant aucun dispositif commercial n'est validé et sa performance relève du savoir-faire des équipes qui la pratiquent.

# La formation continue est devenue une obligation



**BIOFORMA**

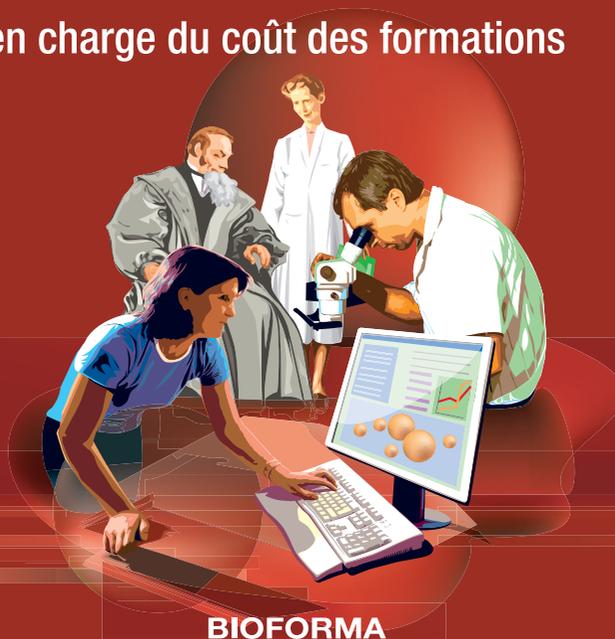
FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES



80% des LABM se servent des outils BIOFORMA

dates et infos sur  
**[www.bioforma.net](http://www.bioforma.net)**

- Simplicité : aucun dossier à remplir, juste s'inscrire
- Prise en charge du coût des formations



**BIOFORMA**

230, boulevard Raspail 75014 Paris • tél. 01.56.54.39.39 • fax : 01.56.54.39.30 • e-mail : [bioforma@wanadoo.fr](mailto:bioforma@wanadoo.fr)  
Site Internet : [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net)

**Fiches  
diagnostiques**

**CHAPITRE III**



## **Le genre *Candida***

Le genre *Candida* est le plus représenté avec plus de 190 espèces, dont moins d'une vingtaine est rencontrée chez l'homme. Les *Candida* sont des levures rondes ou ovoïdes le plus souvent, mais parfois plus allongées. Beaucoup d'espèces produisent du pseudomycélium, et parfois de vrais filaments mycéliens. D'autres ne produisent pas de pseudofilaments en culture, y compris sur milieu RAT ou PCB.

Les levures du genre *Candida* sont issues de prélèvements très variés, d'origine cutanéomuqueuse ou profonde. Nombre des levures responsables des candidoses vivent au préalable en commensal sur le revêtement cutané ou dans les cavités naturelles de l'organisme, et profitent de facteurs favorisants intrinsèques ou extrinsèques pour devenir pathogènes.

# ***Candida albicans***

(Robin) Berkhout (1923)

---

## **Caractères culturels**

Colonies blanches, lisses et crémeuses, à bords nets. Cette levure est résistante au cycloheximide (Actidione®).

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes, de 6 à 10 µm de long sur 4 à 7 µm de large, associées à des filaments mycéliens et du pseudomycélium. Sur certains milieux de culture (RAT ou PCB notamment), *C. albicans* produit des chlamydospores.

### → Multiplication sexuée

Pas de forme sexuée connue aujourd'hui.

## **Particularités biochimiques**

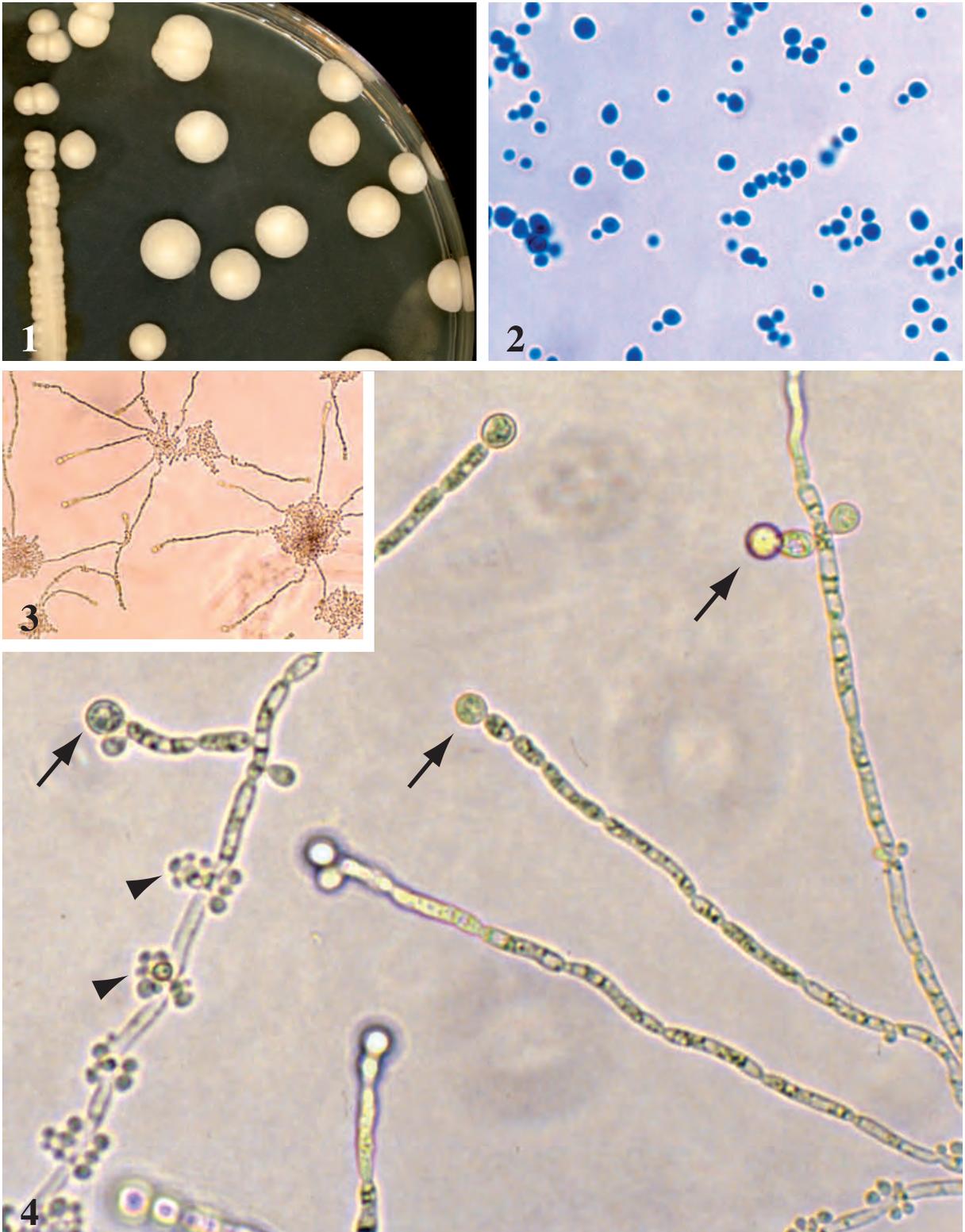
*Candida albicans* produit différentes enzymes, notamment une N-acétyl-glucosaminidase dont la détection est à l'origine de la plupart des tests rapides d'identification de cette espèce, mais aussi de son identification directe sur les milieux fluorogéniques ou chromogéniques.

## **Pouvoir pathogène**

Hôte habituel des cavités naturelles de l'homme, *C. albicans* est la principale levure opportuniste. À la faveur d'un déséquilibre de la flore endogène ou d'un déficit immunitaire, cette levure peut se comporter en pathogène et présenter un caractère invasif. C'est le principal agent des candidoses cutané-muqueuses, mais aussi des candidoses systémiques et des candidoses disséminées. C'est par ailleurs le 4<sup>ème</sup> agent causal des septicémies d'origine nosocomiale en France.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Candida albicans* est généralement sensible à tous les antifongiques.



***Candida albicans* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT, *Candida albicans* produit des filaments mycéliens sur lesquels se forment des blastospores disposées en bouquets (têtes de flèches), et des chlamydospores rondes, à paroi épaisse et réfringente (flèches).

# ***Candida ciferrii***

Kreger-van Rij (1965)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies petites, blanches, crémeuses, brillantes, bombées, lisses ou légèrement filamenteuses. *Candida ciferrii* pousse jusqu'à 42°C et résiste au cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

La morphologie microscopique est très proche de celle de *C. albicans*.

### → Multiplication végétative

Cette levure produit des blastospores rondes ou ovoïdes, de petite taille (3 à 4 µm de long sur 2 à 4 µm de large), fréquemment associées à du mycelium. Des blastospores rondes disposées en "chaînes" sont aussi observées. Le repiquage sur RAT ou PCB montre un pseudomycélium abondant.

### → Multiplication sexuée

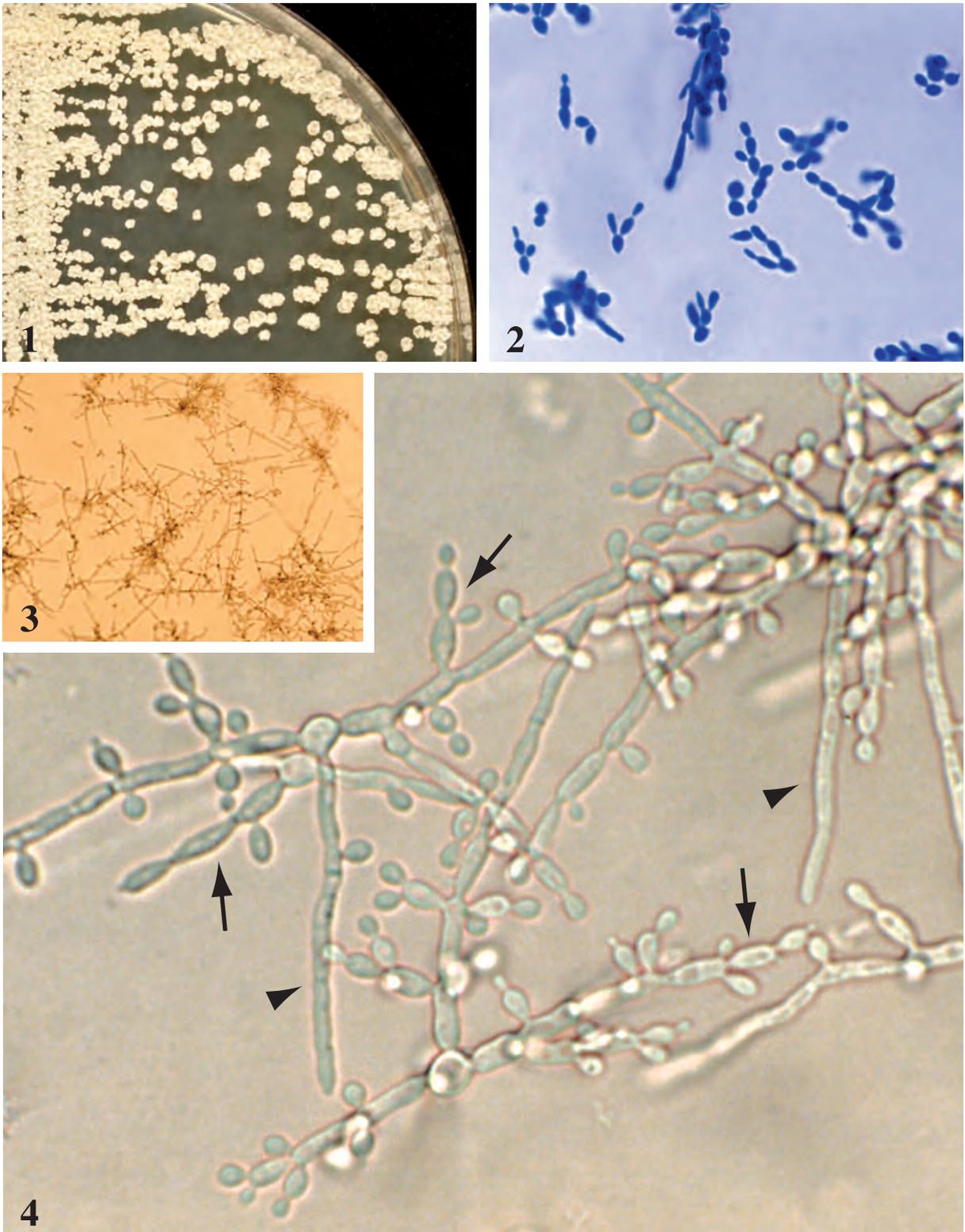
*Stephanoascus ciferrii*.

## **Caractères biochimiques**

*Candida ciferrii* assimile de très nombreux hydrates de carbone, fermente le glucose, le galactose, le sorbose et le maltose (mais pas le lactose et le raffinose). Elle n'utilise pas le nitrate de potassium, et n'hydrolyse pas l'urée.

## **Pouvoir pathogène**

*Candida ciferrii* est une levure commensale de la peau, des phanères et des oreilles. Son incidence reste faible. Elle est souvent retrouvée chez le bétail, mais elle est rarement décrite dans des états pathologiques chez l'homme. Elle est signalée essentiellement dans des lésions d'onychomycoses chez des personnes âgées (notamment diabétiques), présentant des troubles trophiques des membres inférieurs, peut-être en lien avec la capacité de cette levure d'assimiler les produits du catabolisme des acides aminés, putrescine et cadavérine.



***Candida ciferrii* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT, comme sur gélose de Sabouraud, *Candida ciferrii* produit un abondant pseudomycélium (flèches). Des filaments mycéliens vrais (têtes de flèche) peuvent aussi se voir sur milieu RAT.

# ***Candida dubliniensis***

Sullivar *et al.* (1995)

---

## **Caractères culturels**

Ils sont identiques à ceux décrits pour *C. albicans*, avec des colonies blanches, luisantes et lisses, à bords nets. *Candida dubliniensis* est également résistant au cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

La morphologie microscopique est très proche de celle de *C. albicans*.

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes, associées à des filaments mycéliens et du pseudomycélium, mais sur milieu favorable, les chlamydo-spores sont plus abondantes.

### → Multiplication sexuée

Pas de forme sexuée connue.

## **Particularités biochimiques**

Comme *C. albicans*, *C. dubliniensis* produit une N-acétyl-glucosaminidase. Les deux espèces ne sont donc pas différenciables sur les milieux chromogéniques (colonies de couleur vert foncé sur gélose CHROMAgar® *Candida*).

## **Biotope naturel**

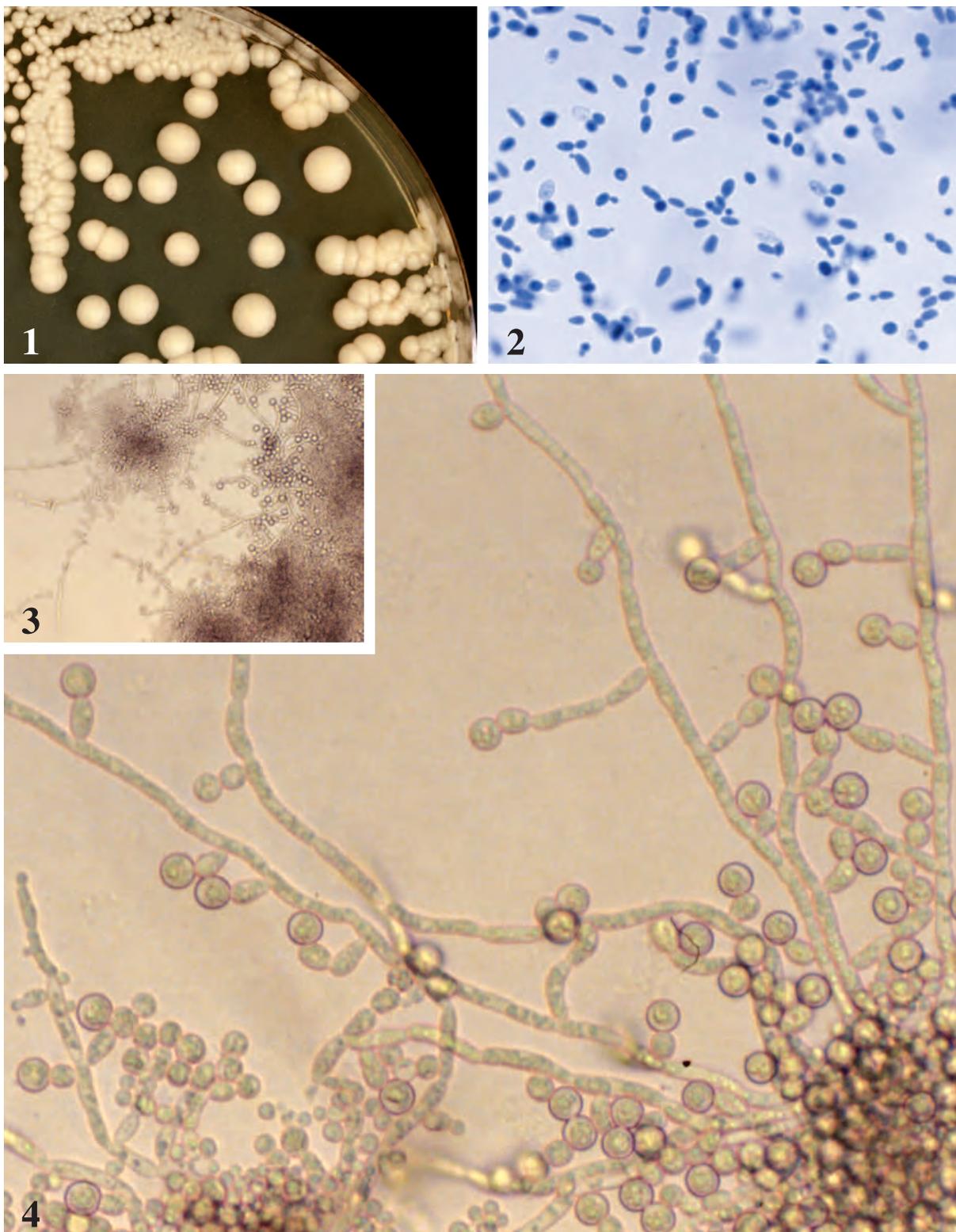
*Candida dubliniensis* qui a été décrit seulement en 1995, est très proche de *C. albicans* avec lequel il est souvent confondu. Il est isolé principalement de la muqueuse oro-pharyngée de l'homme. Cependant, les études épidémiologiques restent insuffisantes pour préciser son habitat naturel.

## **Pouvoir pathogène**

*Candida dubliniensis* est apparu en pathologie humaine avec l'émergence du sida. Il est fréquent chez les patients positifs pour le VIH, et détermine principalement des candidoses oro-pharyngées. Les outils diagnostiques récemment développés devraient permettre de mieux connaître l'épidémiologie et le spectre clinique de cette levure.

## **Sensibilité aux antifongiques**

À la lecture des quelques études qui ont été réalisées, *C. dubliniensis* ne semble pas présenter une résistance particulière aux antifongiques utilisés en pratique.



***Candida dubliniensis* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) : sur milieu RAT, *Candida dubliniensis* produit des filaments mycéliens sur lesquels se forment des blastospores en bouquets, ainsi que de nombreuses chlamydo-spores souvent disposées par paires ou en triplets.

# ***Candida famata***

(Harrison) Meyer et Yarrow (Yarrow & Meyer 1978)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies blanches à crème, brillantes et lisses, mais parfois rugueuses.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes, de petite taille (3 à 6 µm de long sur 2 à 4 µm de large). Pas de filaments mycéliens ni de pseudomycélium.

### → Multiplication sexuée

*Debaryomyces hansenii*.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure présente des caractères biochimiques très voisins de ceux de *C. guilliermondii*. Elle assimile de nombreux hydrates de carbone. Elle est aussi capable de fermenter le glucose, le saccharose, le maltose et le raffinose (mais pas le galactose), et produit des colonies rose sur gélose contenant des sels de tétrazolium.

## **Biotope naturel**

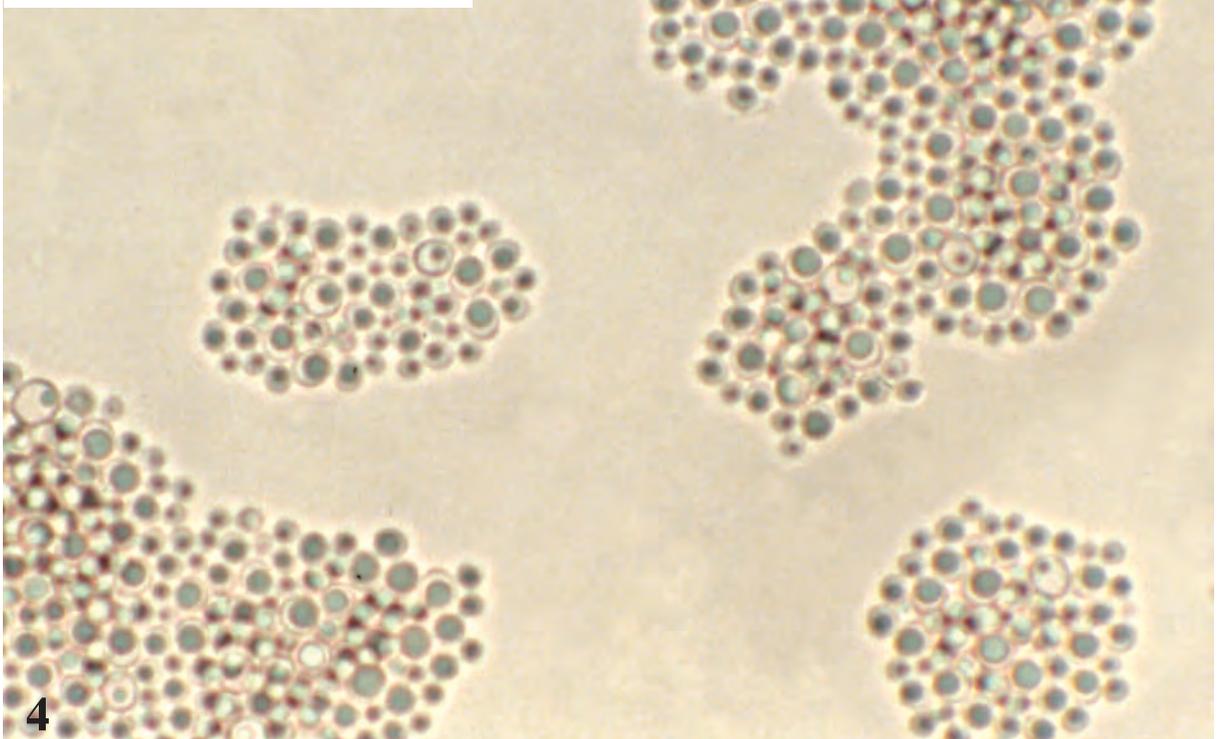
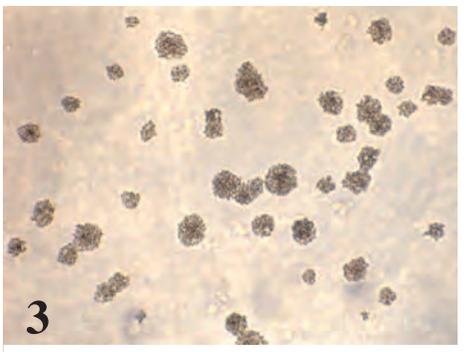
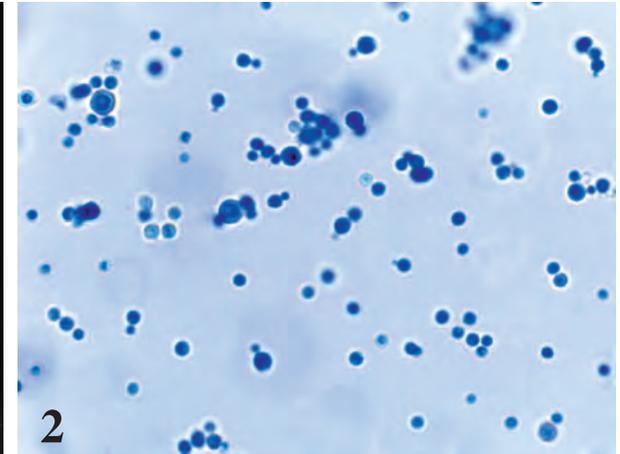
*Candida famata* qui, comme *C. glabrata*, appartenait autrefois au genre *Torulopsis* (caractérisé par l'absence de filaments mycéliens et de pseudomycélium), est un commensal de la peau et des muqueuses.

## **Pouvoir pathogène**

Contrairement à *C. glabrata*, cette levure est rarement incriminée en pathologie humaine (0,3% des septicémies à *Candida*).

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Candida famata* est sensible à tous les antifongiques.



***Candida famata* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.  
 Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT, comme sur gélose de Sabouraud, *Candida famata* se présente exclusivement sous forme de blastospores de petite taille, globuleuses à subglobuleuses. Il n'y a ni mycélium vrai, ni pseudomycélium.

# ***Candida glabrata***

(Anderson) Meyer et Yarrow (Yarrow et Meyer 1978)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies blanches, lisses et brillantes. Cette levure ne pousse pas en présence de cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores rondes à ovoïdes, de petite taille (3 à 4 µm de long sur 2 à 3 µm de large). Pas de filaments mycéliens, ni de pseudomycélium (excepté sur milieu carencé en azote).

### → Multiplication sexuée

Pas de forme sexuée connue aujourd'hui.

## **Particularités biochimiques**

En dehors du glucose qui est utilisé par toutes les levures, *C. glabrata* n'assimile que le tréhalose. Cette propriété est mise à profit dans le kit *Glabrata* RTT® (Fumouze Diagnostics) récemment développé pour l'identification rapide de cette levure.

## **Biotope naturel**

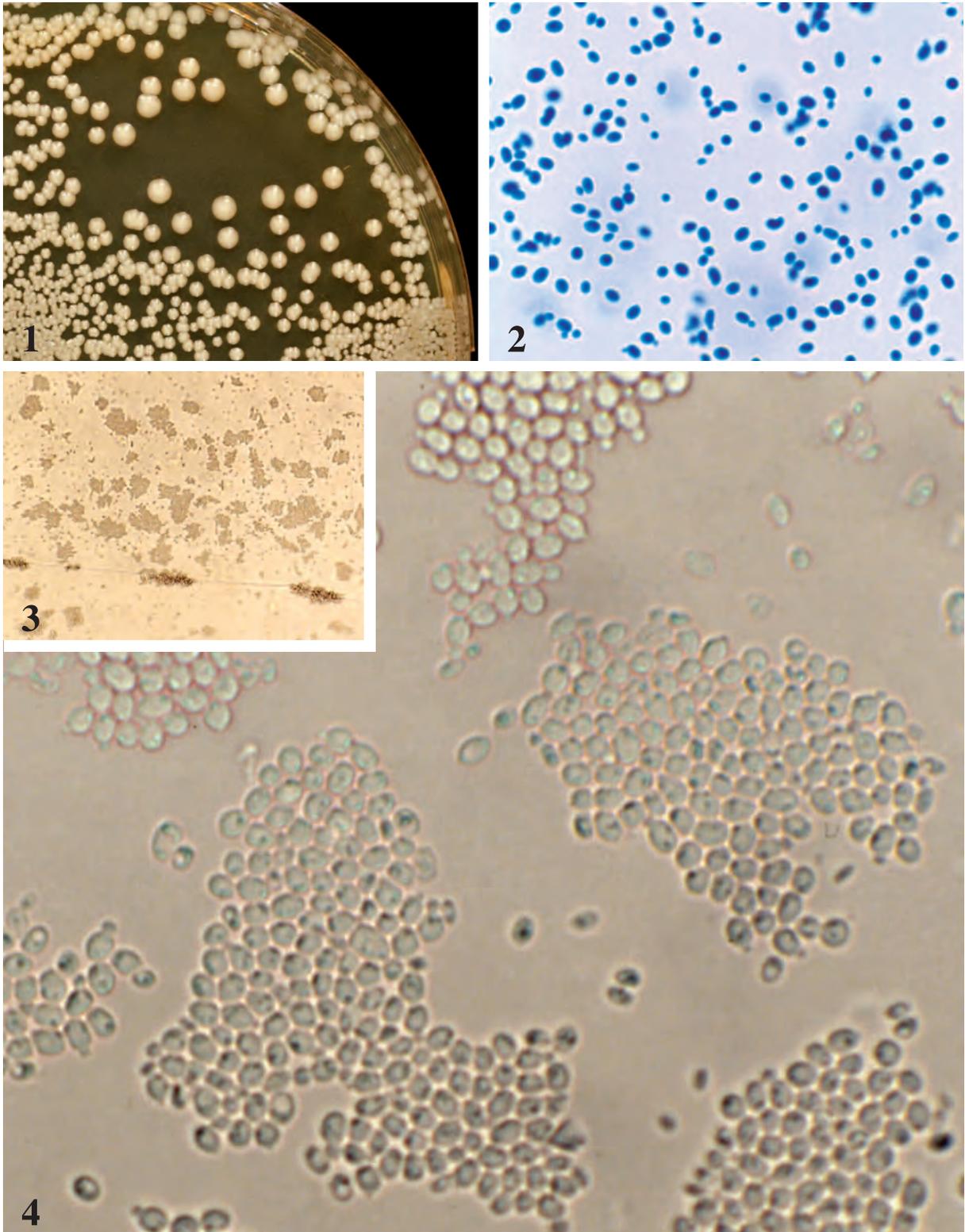
*Candida glabrata* est une levure commensale des voies digestives et génito-urinaires de l'homme. Elle est plus rarement isolée du milieu extérieur.

## **Pouvoir pathogène**

*Candida glabrata* est la 2<sup>ème</sup> espèce de levure isolée à partir des produits pathologiques en France (10 à 20% des isolats de levures selon les études). Elle est principalement impliquée dans des candidoses digestives et génitales (vaginites chez la femme), mais aussi profondes (septicémies), en particulier chez les patients hospitalisés dans les services de cancérologie et de chirurgie digestive.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Candida glabrata* est sensible à l'amphotéricine B, à la 5-fluorocytosine et à la caspofungine, mais sensible dose-dépendante vis-à-vis des azolés (kétoconazole, fluconazole).



***Candida glabrata* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT comme sur gélose de Sabouraud, *Candida glabrata* produit exclusivement des blastospores de petite taille. La formation de pseudomycélium est cependant possible sur milieu carencé en azote ou contenant du sulfate de cuivre.

# ***Candida guilliermondii***

(Castellani) Langeron et Guerra (1938)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies lisses, de couleur blanche ou crème. Cette levure pousse mal en présence de cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Cette espèce produit, comme *C. famata*, des blastospores de petite taille (3 à 6 µm de long sur 2 à 4 µm de large), mais elle s'en différencie par la production d'un pseudomycélium rudimentaire sur gélose RAT ou PCB.

### → Multiplication sexuée

*Pichia guilliermondii*.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure est difficilement différenciable de *C. famata* sur les caractères biochimiques. Elle assimile en effet de nombreux hydrates de carbone, fermente le glucose, le saccharose, le maltose et le raffinose (mais pas le galactose), et produit des colonies rose sur milieu contenant des sels de tétrazolium.

## **Biotope naturel**

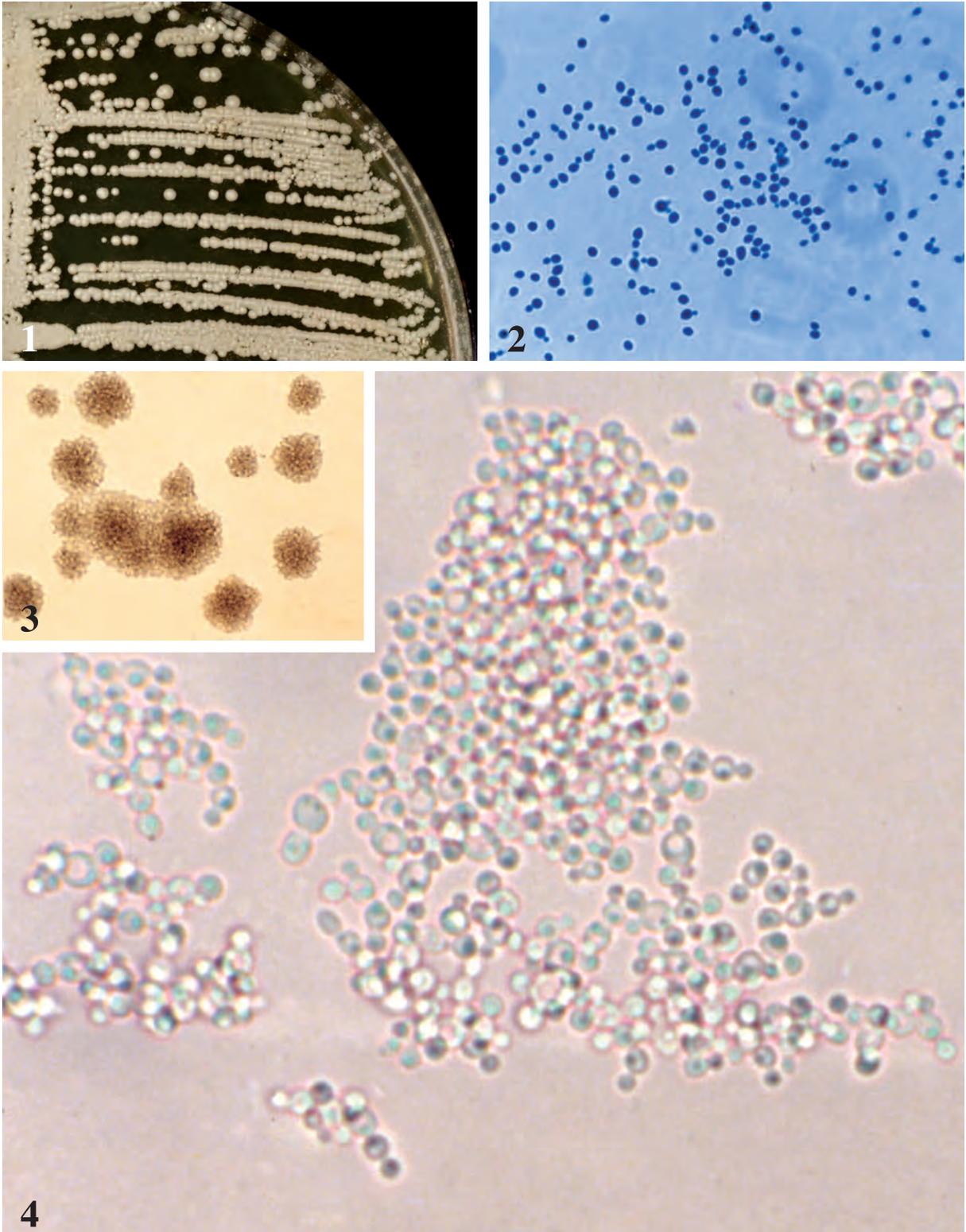
*Candida guilliermondii* est une levure issue du milieu extérieur où elle est assez répandue. Chez l'homme, on la retrouve à l'état de commensal sur la peau, mais aussi dans les voies respiratoires ou digestives.

## **Pouvoir pathogène**

*Candida guilliermondii* peut être à l'origine de candidoses systémiques chez l'immunodéprimé. Des endocardites sont également rapportées chez le toxicomane par voie intraveineuse.

## **Sensibilité aux antifongiques**

La sensibilité de *C. guilliermondii* aux azolés est variable. Il est donc très important d'étudier la sensibilité de cette levure aux antifongiques en cas d'isolement à partir d'un prélèvement profond.



***Candida guilliermondii* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.  
 Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) : alors que sur gélose de Sabouraud, *Candida guilliermondii* produit seulement des blastospores de petite taille, un pseudomycélium rudimentaire peut se voir sur milieu RAT.

# ***Candida kefyr***

(Beijerinck) Van Uden et Buckley (1970)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies crèmeses, de couleur blanche à crème, translucides et d'odeur fruitée et acide. Cette levure est résistante au cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes, ou allongées (7 à 10 µm de long sur 3 à 5 µm de large) avec parfois un pseudomycélium abondant.

### → Multiplication sexuée

*Kluyveromyces marxianus*.

## **Caractères biochimiques**

*Candida kefyr* assimile lui aussi de nombreux hydrates de carbone. Cette levure fermente le glucose, le galactose et le saccharose et, pour certaines souches, le lactose et le raffinose, mais jamais le maltose ou le tréhalose. Elle produit, elle aussi, des colonies rose sur milieu contenant des sels de tétrazolium.

## **Biotope naturel**

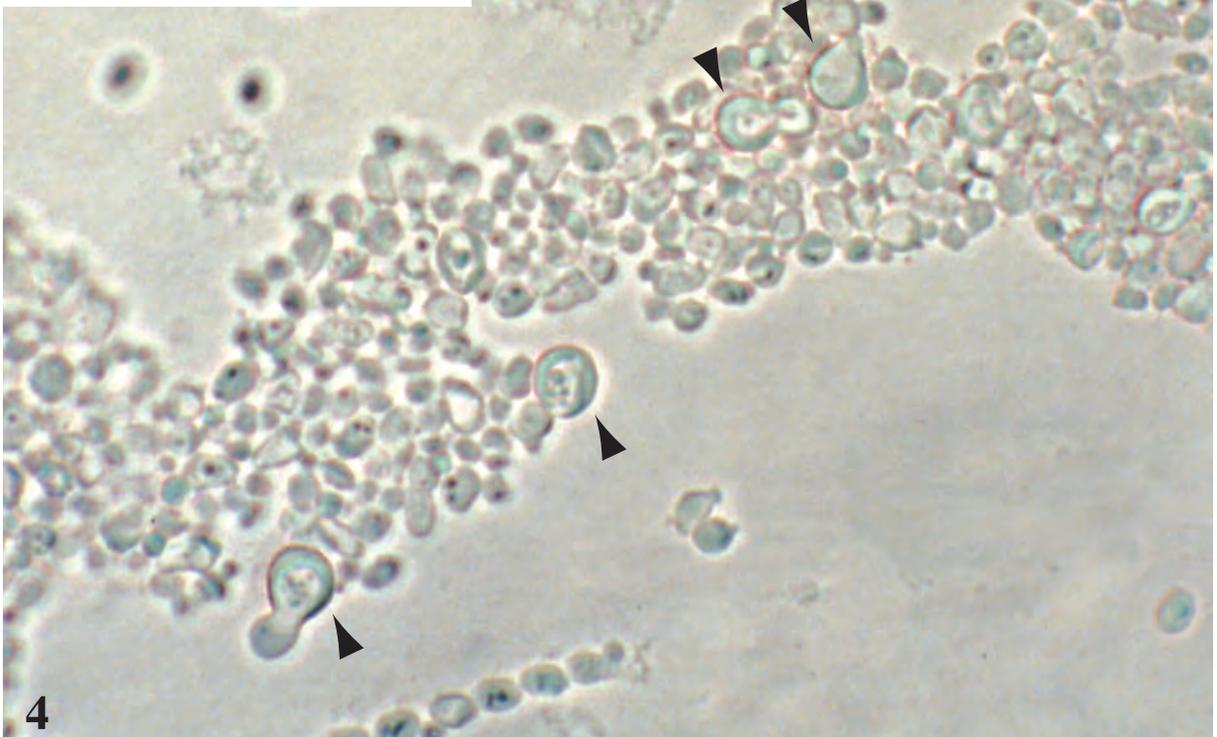
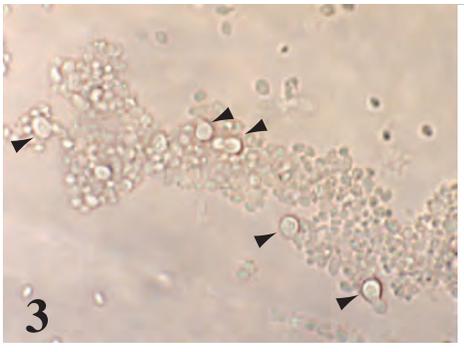
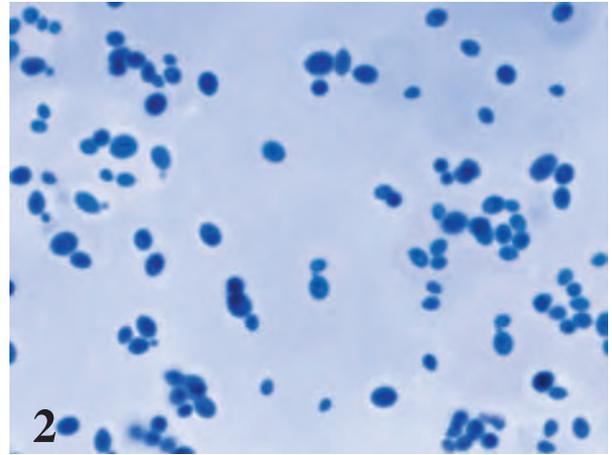
*Candida kefyr* (ex *C. pseudotropicalis*) est issu principalement de produits laitiers fermentés. Chez l'homme, cette levure est considérée comme une espèce commensale de la peau et des muqueuses respiratoires ou digestives.

## **Pouvoir pathogène**

Cette levure peut être à l'origine de septicémies et de candidoses profondes et/ou systémiques.

## **Sensibilité aux antifongiques**

Sa sensibilité aux azolés, notamment au fluconazole, est variable.



***Candida kefir* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT, comme sur gélose de Sabouraud, *Candida kefir* se présente, en règle générale, exclusivement sous forme de blastospores rondes ou ovoïdes, parfois bourgeonnantes. On peut observer du pseudomycélium pour certaines souches. De même, il est possible d'observer sur milieu RAT, la présence d'asques (têtes de flèche) caractéristiques de la forme sexuée.

# ***Candida krusei***

(Castellani) Berkhout (1923)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies blanches, plates, mates et sèches. Elles présentent des bords festonnés et une odeur d'alcool de fruits. Cette espèce est sensible au cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes à cylindriques (5 à 12 µm de long sur 3 à 6 µm de large) avec des pseudofilaments.

### → Multiplication sexuée

*Issatchenkia orientalis*.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure ne fermente que le glucose. Ses capacités d'assimilation sont également limitées puisqu'elle n'utilise que le glucose, le glycérol, le lactate et le N-acétylglucosamine.

## **Biotope naturel**

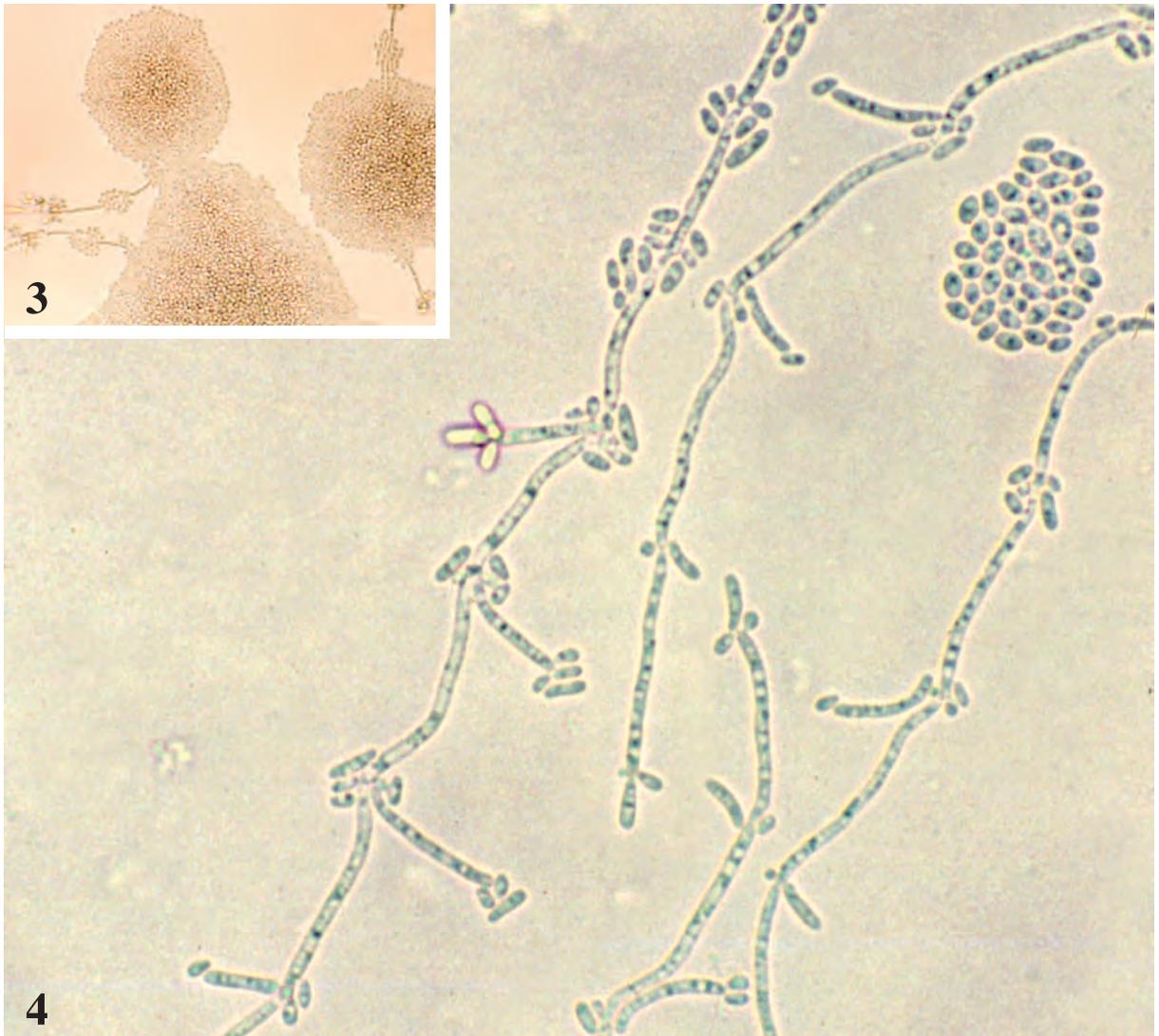
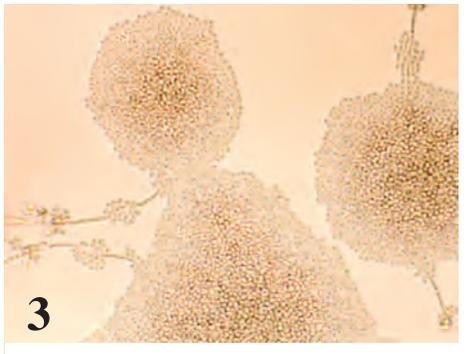
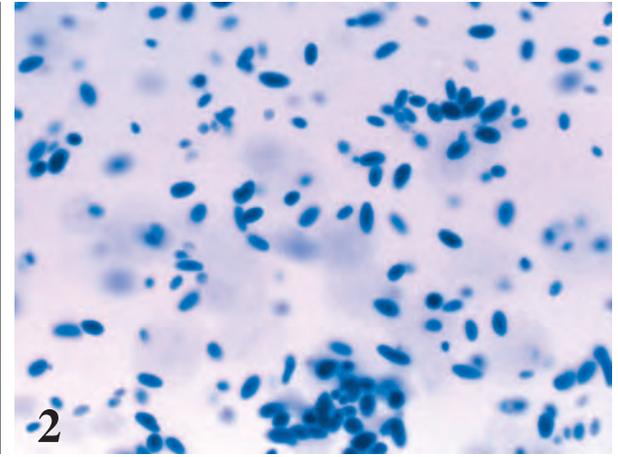
*Candida krusei* est une levure commensale (colonisation transitoire) des voies digestives, respiratoires et urogénitales de l'homme. Elle est issue du milieu extérieur (sol, eau, air) et largement répandue dans les produits laitiers et les fruits, mais aussi le vin et la bière.

## **Pouvoir pathogène**

D'origine gastro-intestinale, *C. krusei* est responsable d'un petit nombre des septicémies (1,9%). Cette espèce émerge de façon sporadique dans les populations de patients adultes cancéreux neutropéniques. Toutefois, le taux élevé de mortalité attribuée à cette levure (40%) en fait un pathogène redoutable dans les services d'onco-hématologie. Elle est aussi incriminée dans des observations de diarrhée chez le nouveau-né, d'endophtalmie, d'endocardite, et plus rarement d'infection urinaire.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Candida krusei* est sensible à l'amphotéricine B, au voriconazole et à la caspofungine, mais résistant au fluconazole et à l'itraconazole.



***Candida krusei* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT, *Candida krusei* produit un pseudomycélium étendu et très ramifié, constitué de chaînes de cellules allongées. Des amas de blastospores peuvent se voir en position subapicale des articles des pseudohyphes ou à l'extrémité des ramifications. Inversement, sur gélose de Sabouraud, cette espèce se présente essentiellement sous forme de blastospores ovoïdes à cylindriques.

# ***Candida lusitaniae***

Van Uden et do Carmo-Sousa (1959)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies blanches, crème, lisses et brillantes. Cette levure ne pousse pas en présence de cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores de petite taille (3 à 6 µm de long sur 2 à 4 µm de large), ovoïdes, avec un pseudomycélium court.

### → Multiplication sexuée

*Clavispora lusitaniae*.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure assimile de nombreux hydrates de carbone et produit des colonies rose sur gélose contenant des sels de tétrazolium.

## **Biotope naturel**

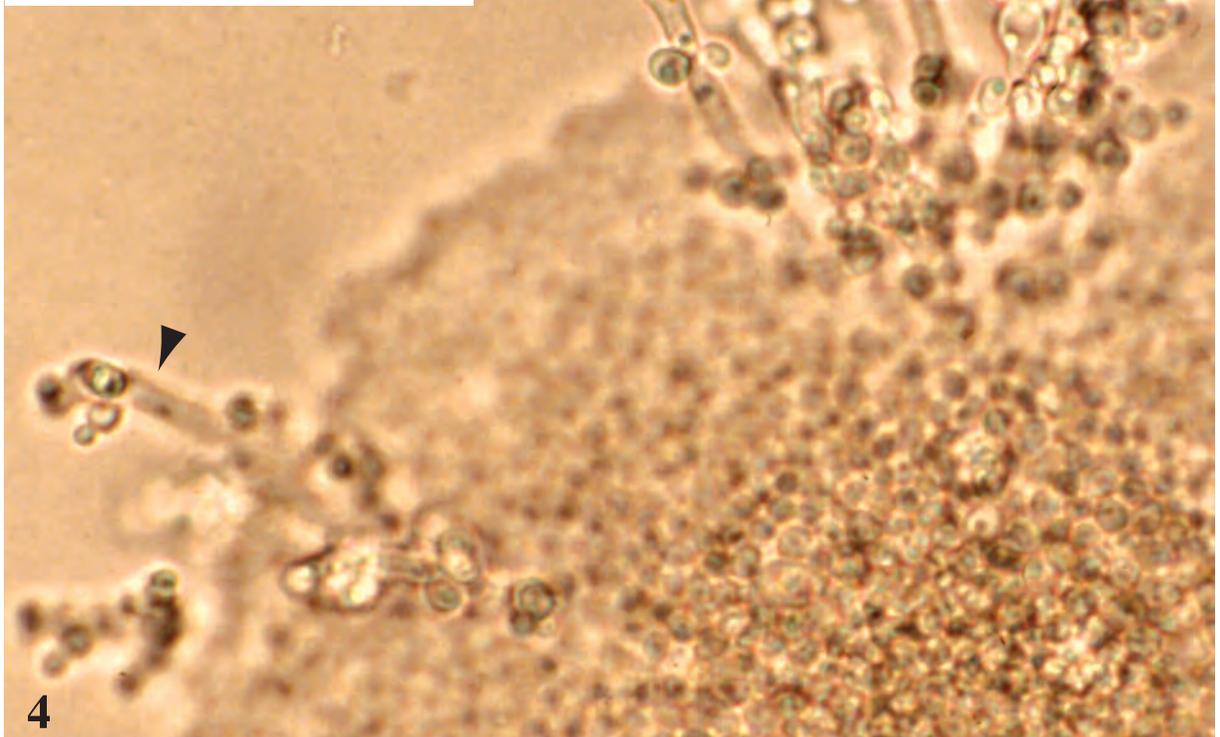
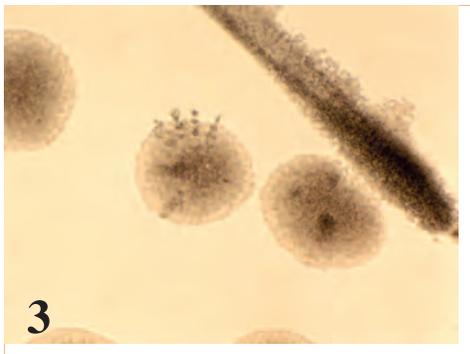
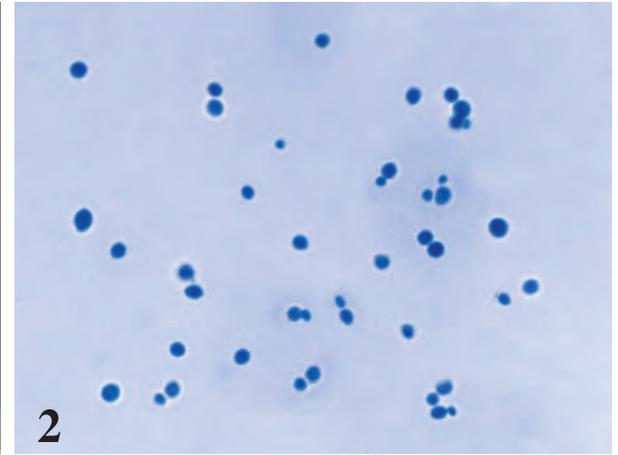
*Candida lusitaniae* est retrouvé dans le tube digestif de nombreux mammifères et d'oiseaux. Cette levure peut aussi être isolée à l'état commensal à partir de prélèvements digestifs, urinaires ou respiratoires.

## **Pouvoir pathogène**

*Candida lusitaniae* qui était très rare jusque dans les années 80, a vu son incidence augmenter et représente aujourd'hui 2% des isolats cliniques de levures. Dans les Unités de Soins Intensifs, elle est à l'origine de petites épidémies nosocomiales, mais cette levure est surtout impliquée dans des états septicémiques et des infections disséminées chez des patients cancéreux soumis à des chimiothérapies aplasiantes.

## **Sensibilité aux antifongiques**

Cette levure est résistante à l'amphotéricine B (résistance primaire ou secondaire). Elle est par contre sensible à la 5-fluorocytosine, ainsi qu'à tous les azolés et à la caspofungine.



***Candida lusitanae* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.  
Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): alors que seules de petites blastospores ovoïdes sont observées sur gélose de Sabouraud, *Candida lusitanae* produit sur milieu RAT des amas de petites blastospores desquels naissent de courts pseudohyphes (têtes de flèche).

# ***Candida parapsilosis***

Langeron et Talice (Ashford) (1932)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies blanches à crème, luisantes et lisses. Cette levure ne pousse pas en présence de cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores rondes ou ovoïdes, de 3 à 7 µm de long sur 3 à 4 µm de large. Présence de pseudomycélium assez court.

### → Multiplication sexuée

Pas de reproduction sexuée connue.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure assimile de nombreux hydrates de carbone et produit des colonies rouges sur gélose contenant des sels de tétrazolium.

## **Biotope naturel**

*Candida parapsilosis* est une levure commensale de la peau et parfois du tube digestif. Elle est isolée de céréales et de produits laitiers.

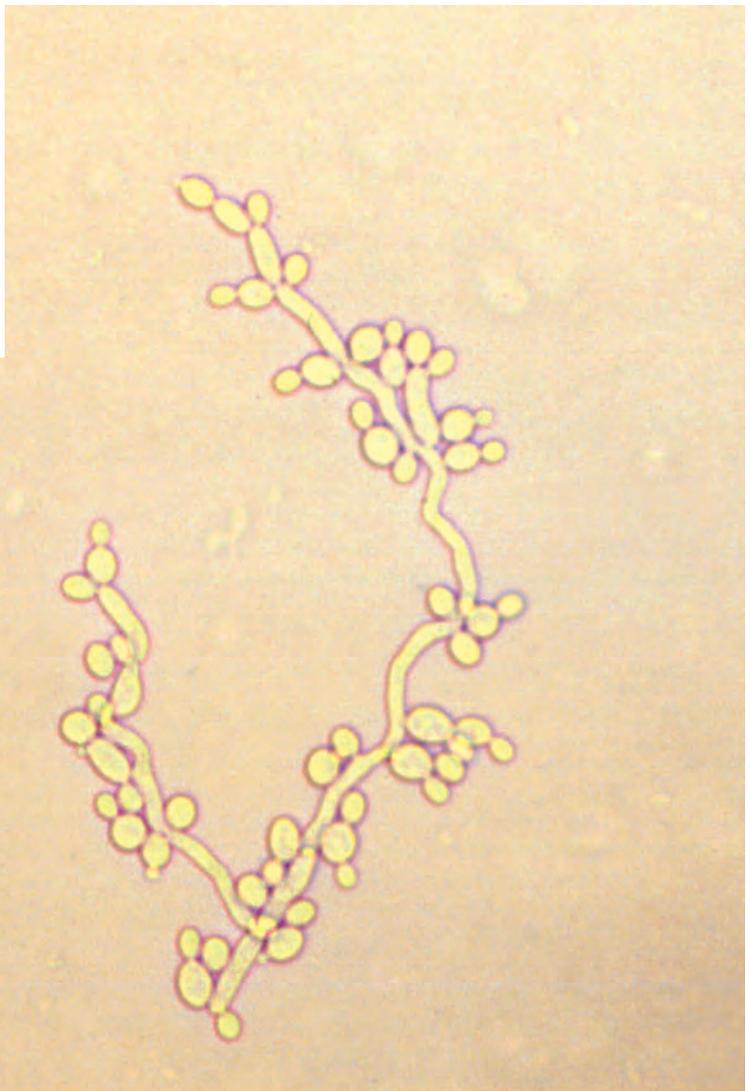
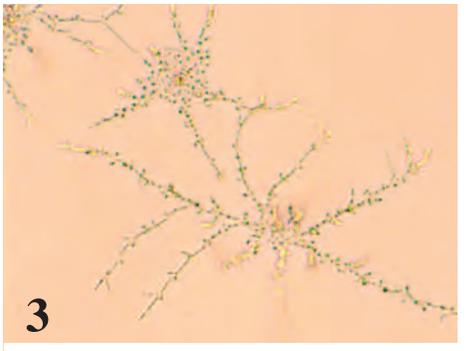
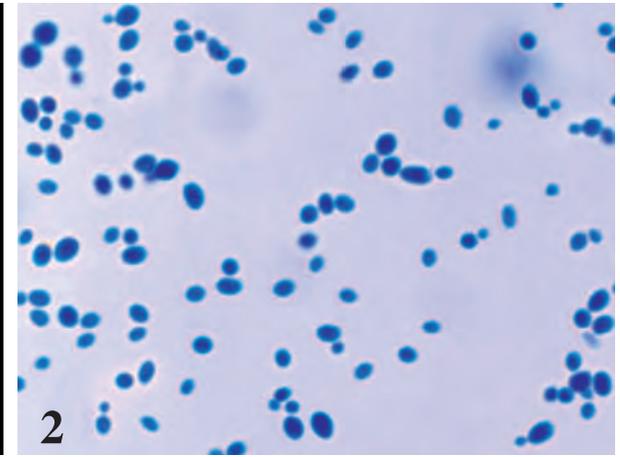
## **Pouvoir pathogène**

Sa fréquence est en augmentation et son pouvoir pathogène s'exprime avant tout par des septicémies et des candidoses profondes (endocardites, arthrites, péritonites) en raison de sa capacité à adhérer à des matériaux synthétiques (cathéters centraux et autres dispositifs de perfusion pour solutés de nutrition parentérale). Elle se situe au deuxième rang (après *C. albicans*) parmi les agents de candidémie chez le nouveau-né, la prématurité constituant un facteur de risque supplémentaire.

*Candida parapsilosis* est aussi à l'origine de lésions superficielles, notamment d'onxyis et de lésions cutanées.

## **Sensibilité aux antifongiques**

En règle générale, *C. parapsilosis* est sensible aux antifongiques. Cependant, pour la caspofungine, la sensibilité *in vitro* est souvent faible, sans qu'il y ait habituellement de traduction clinique.



***Candida parapsilosis* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 20 (3) ou 40 (4) : alors que *Candida parapsilosis* se présente sur gélose de Sabouraud exclusivement sous forme de blastospores solitaires, ovoïdes ou elliptiques et parfois bourgeonnantes, on observe sur milieu RAT un pseudomycélium abondant constitué de cellules allongées et des amas de blastospores rondes ou ovoïdes en position subapicale des articles des pseudohyphes.

# ***Candida tropicalis***

(Castellani) Berkhout (1923)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies crème, luisantes et lisses ou plissées. Cette levure pousse mal en présence de cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes, assez volumineuses (de 6 à 10 µm de long sur 4 à 7 µm de large), avec de nombreux pseudofilaments assez longs et peu ramifiés.

### → Multiplication sexuée

Pas de reproduction sexuée connue.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure assimile de nombreux hydrates de carbone et produit des colonies rouges à violette sur gélose contenant des sels de tétrazolium.

## **Biotope naturel**

*Candida tropicalis* est issu de l'environnement (sol, eau, céréales) et est également isolé chez certains mammifères.

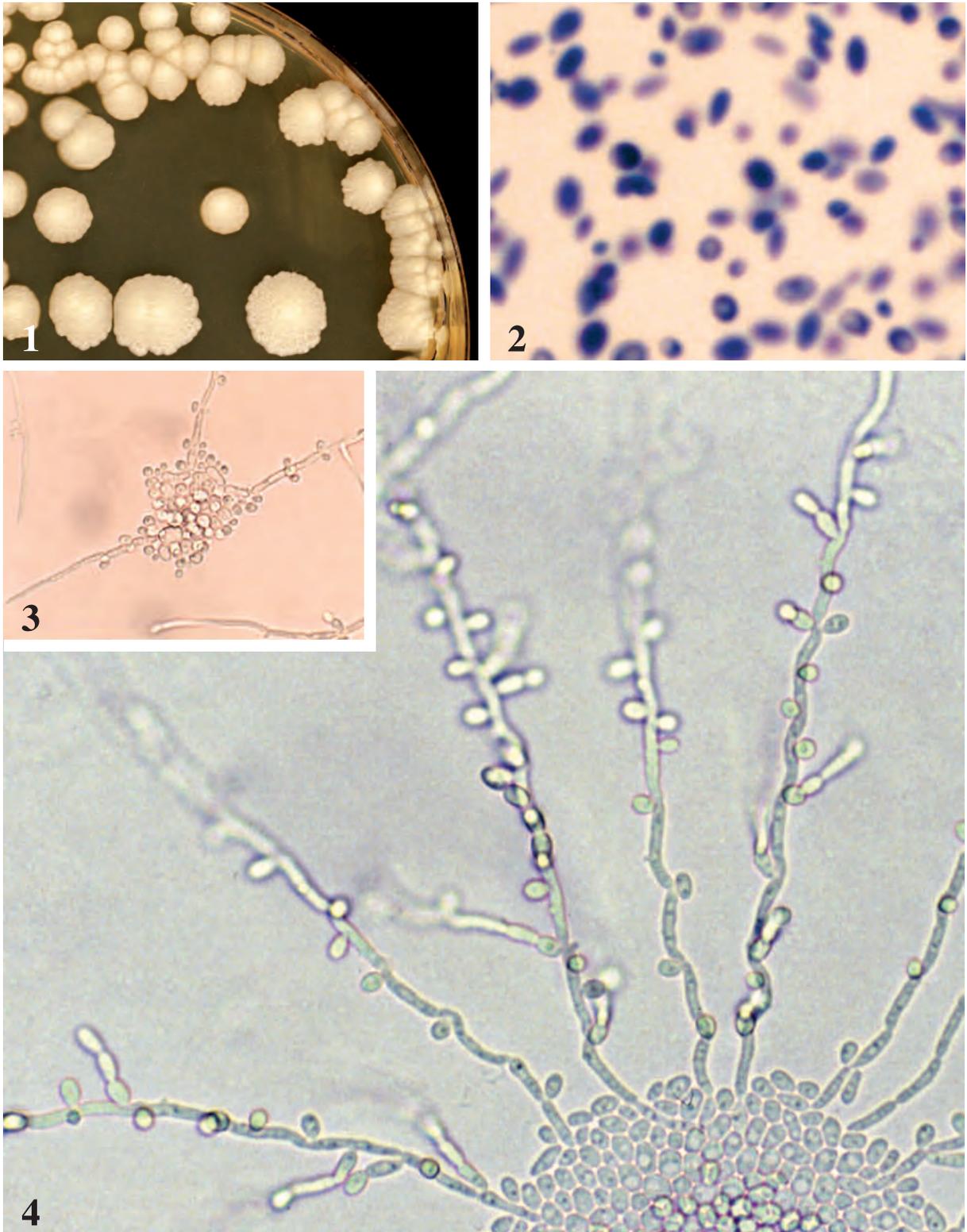
Chez l'homme, *C. tropicalis* représente 4 à 5% des isollements de levures. Il colonise le revêtement cutané, ainsi que les muqueuses des voies digestives et urinaires.

## **Pouvoir pathogène**

*Candida tropicalis* est impliqué dans des candidoses systémiques, notamment chez des patients atteints d'hémopathies malignes (leucémies ou greffés de moelle osseuse). Chez ces patients, il est à l'origine de près de 18% des septicémies à *Candida*. Le taux de mortalité dans les septicémies et candidoses systémiques à *C. tropicalis* dépasse bien souvent celui observé dans les infections liées à *C. albicans*.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Candida tropicalis* est sensible à l'amphotéricine B, aux azolés et à la caspofungine, mais de nombreuses souches sont résistantes à la 5-fluorocytosine (résistance primaire ou acquise).



***Candida tropicalis* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT comme sur gélose de Sabouraud, *Candida tropicalis* produit des blastospores assez grandes, mais alors que sur gélose de Sabouraud, seul le stade blastospore est observé, un pseudomycélium abondant et peu ramifié est également produit sur milieu RAT.



## **Le genre *Cryptococcus***

Le genre *Cryptococcus* (*Cr.*) regroupe des levures qui, dans la majorité des cas, présentent une capsule polysaccharidique, produisent un pigment caroténoïde, et donnent des colonies beiges à ocres.

Les levures du genre *Cryptococcus* ne produisent pas de filaments mycéliens ni de pseudomycélium. Elles produisent une uréase, ne fermentent pas les sucres, mais assimilent l'inositol comme source de carbone et d'énergie. Ces caractéristiques biochimiques, jointes aux données moléculaires, justifient leur affiliation aux Basidiomycètes. Par ailleurs, certaines espèces comme *Cr. neoformans* pour lequel on distingue quatre sérotypes et trois variétés, ont une forme sexuée appartenant aux Téléomycètes (Basidiomycètes à thalle levuriforme). La variété *neoformans* et la variété *gattii* qui correspondent respectivement au sérotype D et aux sérotypes B et C, ont pour forme sexuée respective *Filobasidiella neoformans* var. *neoformans* et *F. neoformans* var. *bacillispora*, alors que la variété *grubii* (sérotype A) n'a pas de forme sexuée connue.

*Cryptococcus neoformans* pousse à 37°C et peut être à l'origine de mycoses superficielles ou disséminées, mais le genre *Cryptococcus* comprend aussi d'autres espèces qui poussent mal à 37°C et qui ne sont que rarement incriminées dans les mycoses humaines. Il s'agit principalement de *Cr. albidus*, *Cr. laurentii* et *Cr. uniguttulatus*. Les infections engendrées par ces levures restent en général superficielles. De très exceptionnelles atteintes profondes sont décrites.

# ***Cryptococcus neoformans***

(Sanfelice) Vuillemin (1901)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies blanches à crème, luisantes et coulantes, de croissance lente. Pas de croissance en présence de cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores rondes de taille variable (2 à 12 µm de diamètre) pour la variété *neoformans*, plus allongées (6 à 15 µm de long sur 3 à 8 µm de large) pour la variété *gattii*. *Cryptococcus neoformans* est caractérisé par la présence d'une capsule plus ou moins épaisse et un bourgeonnement multiple. Il n'y a pas de pseudomycélium, aussi bien sur milieu de Sabouraud que sur milieu RAT ou PCB.

### → Multiplication sexuée

On distingue 2 formes sexuées, *Filobasidiella neoformans* var. *neoformans* et *Filobasidiella neoformans* var. *bacillispora*, qui correspondent respectivement aux variétés *neoformans* et *gattii*.

On ne connaît pas de forme sexuée pour la variété *grubii*.

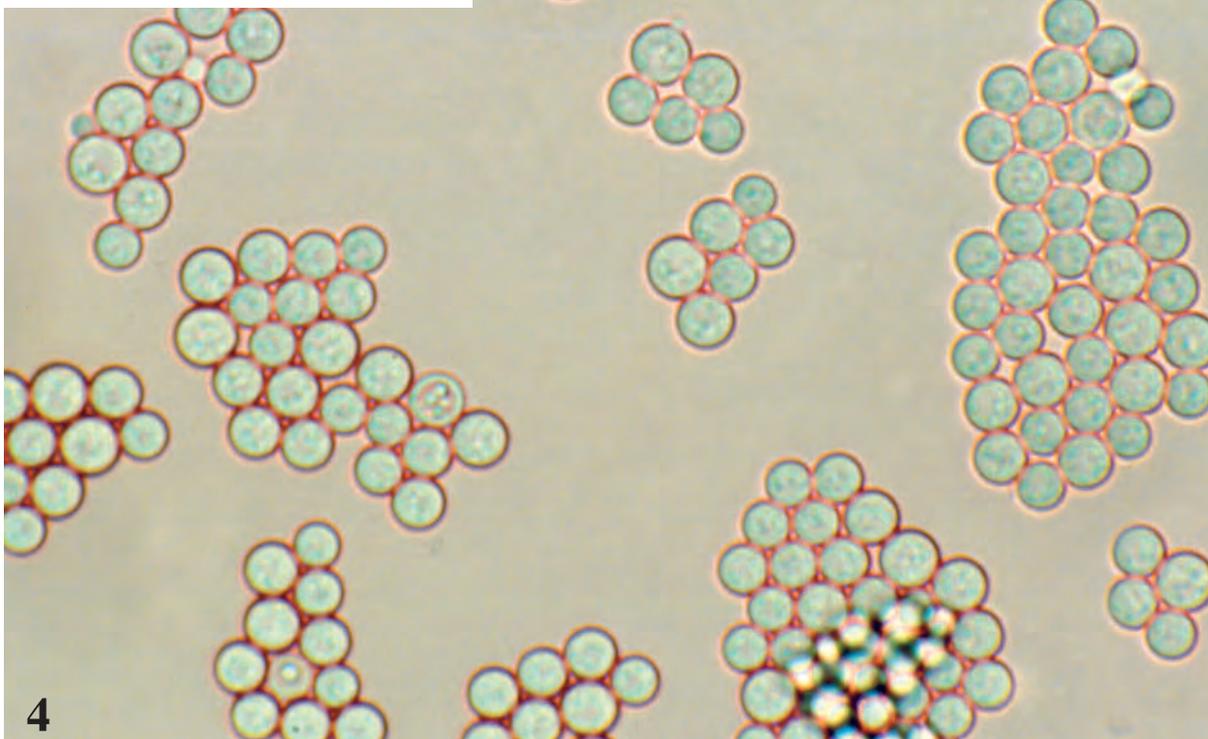
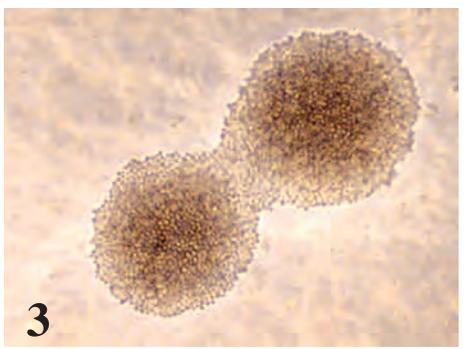
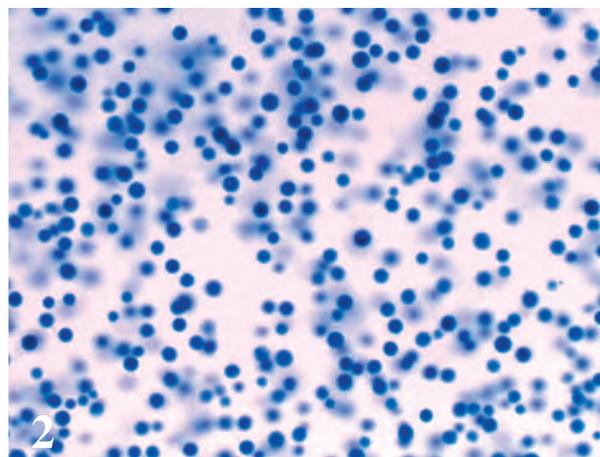
## **Particularités biochimiques**

Comme tous les cryptocoques, cette levure est incapable de fermentation et n'assimile pas le nitrate comme source d'azote. Par contre, *C. neoformans* assimile de nombreux hydrates de carbone.

Cette levure produit une phénoloxydase qui jouerait un rôle protecteur contre les défenses de l'hôte, et une uréase. La recherche de l'uréase reste un élément important pour l'identification de cette levure (dégradation rapide de l'urée, en moins de 4 h). *Cryptococcus neoformans* est aussi capable d'assimiler l'inositol, propriété qui est mise à profit pour la préparation d'une gélose semi-sélective (gélose à l'inositol) particulièrement intéressante pour la recherche de *C. neoformans* dans des prélèvements polymicrobiens (produits d'expectorations, lavage broncho-alvéolaire).

## **Biotope naturel**

*Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* est une levure cosmopolite, issue du sol et associée aux fientes d'oiseaux (pigeons, ...) et au guano de chauve-souris. La contamination se fait par inhalation de poussières contenant les spores de la forme sexuée.



***Cryptococcus neoformans* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT comme sur gélose de Sabouraud, *Cryptococcus neoformans* produit des blastospores rondes de taille variable, avec un bourgeonnement multiple. On n'observe pas de filaments mycéliens, ni de pseudomycélium.

La variété *gattii* est par contre confinée aux régions subtropicales (Afrique, Asie, sud des USA et Australie). De plus, le biotope principal de cette variété est très différent, puisqu'il s'agit de certains arbres, notamment des *Eucalyptus* (*Eucalyptus calmadulensis*) en Australie et aux USA. Elle a également été isolée des fécès de certains animaux (koala en Australie).

### Particularités épidémiologiques

Le nombre de cas de cryptococcose en France métropolitaine ainsi que dans les DOM-TOM, reste stable depuis 1997, avec moins de 100 cas déclarés chaque année. Le profil des patients concernés s'est par contre modifié : les patients séropositifs pour le VIH sont moins nombreux que les patients immunodéprimés pour d'autres étiologies (tumeurs solides, hémopathies, maladies de système, corticothérapie prolongée,...). Chez les transplantés d'organes, les chiffres augmentent et la prévalence varie entre 0,25 et 5% selon le sexe.

Les nouveaux anticorps monoclonaux anti-CD52 (Alemtuzumab®) utilisés au cours des traitements anti-rejet seraient des facteurs favorisants.

Enfin, il convient de souligner que 10 à 14% des cryptococcoses surviennent chez des patients ne présentant pas de cause évidente d'immunodépression.

### Pouvoir pathogène

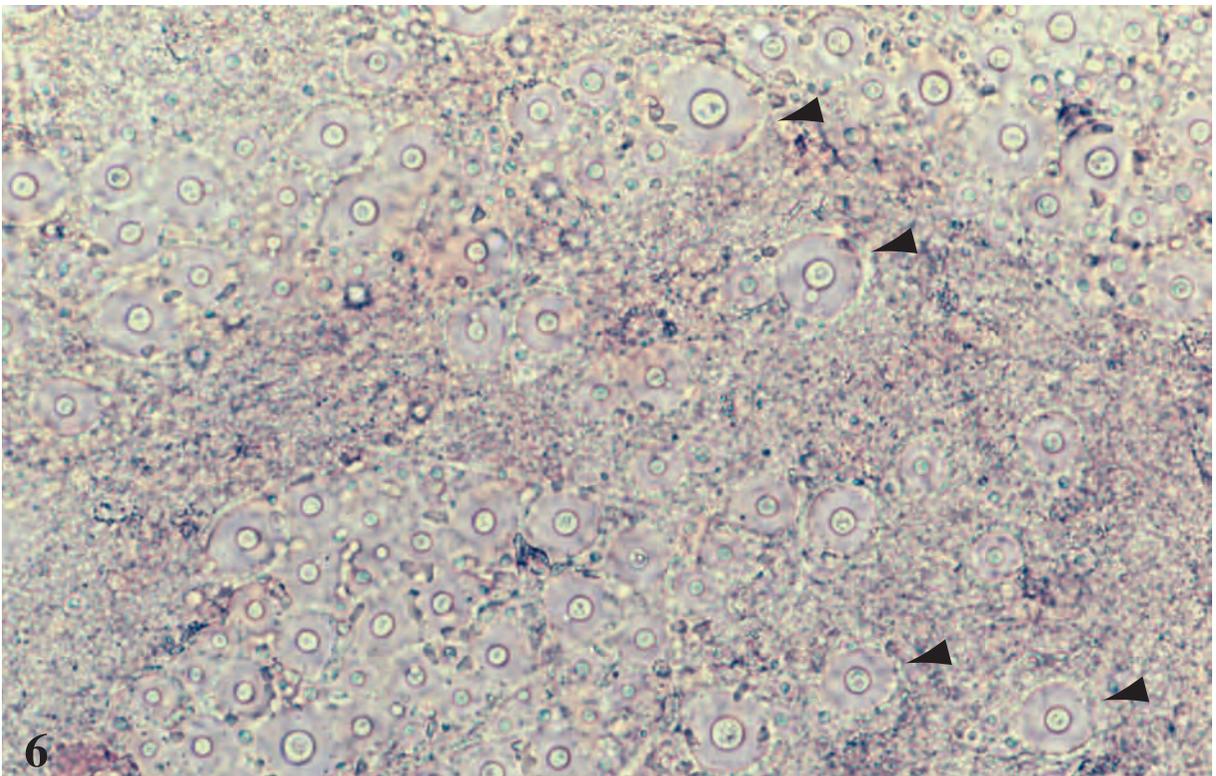
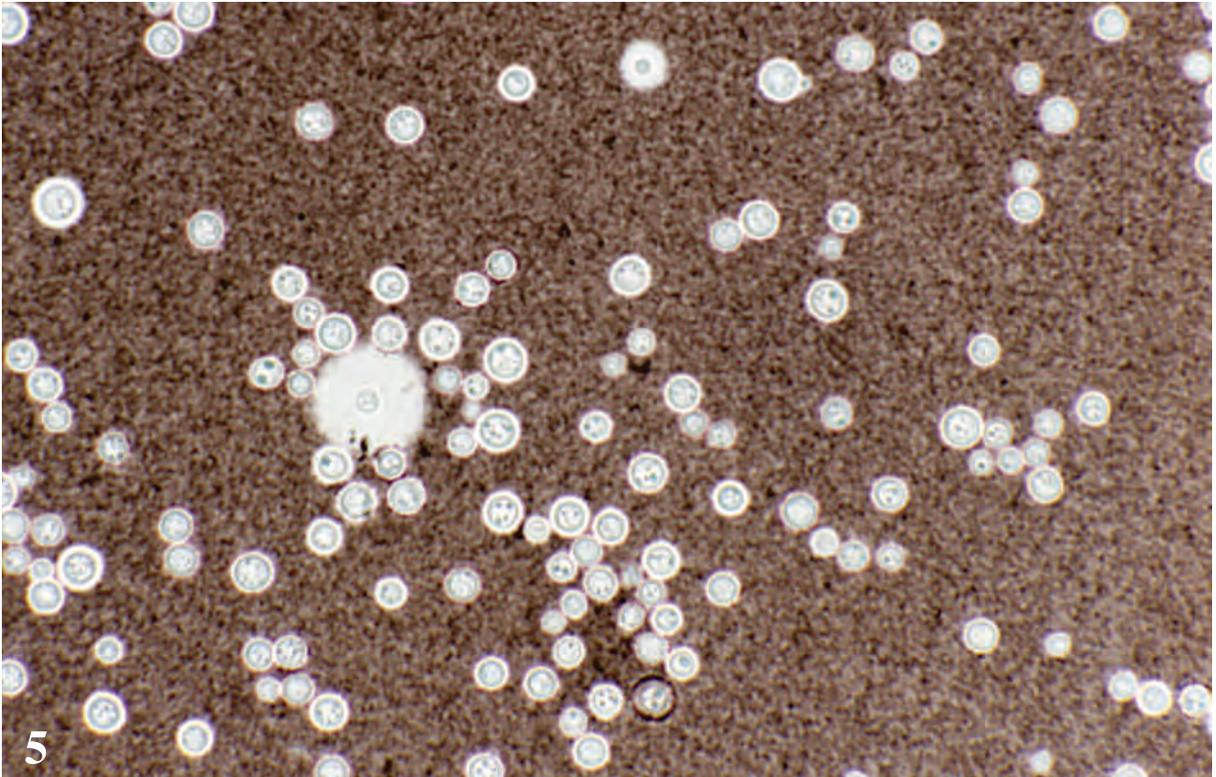
*Cryptococcus neoformans* reste un redoutable opportuniste à l'origine de manifestations neuro-méningées principalement, mais aussi de formes pulmonaires ou cutanées, ainsi que d'atteintes disséminées (atteintes osseuses, oculaires ou rénales, prostatites, ...).

La variété *grubii* est retrouvée de manière quasi-exclusive chez les patients séropositifs pour le VIH.

La variété *gattii*, qui est rarement rencontrée chez les patients immunodéprimés, est plus fréquente chez des individus immunocompétents. Elle est à l'origine de manifestations cliniques évoluant habituellement sur un mode chronique (lésions granulomateuses, pulmonaires ou disséminées).

### Sensibilité aux antifongiques

*Cryptococcus neoformans* est sensible à l'amphotéricine B, à la 5-fluorocytosine et aux triazolés (fluconazole, voriconazole, posaconazole), mais résistant aux échinocandines.



***Cryptococcus neoformans* :**

Mise en évidence de la capsule par le test à l'encre de Chine (5). Elle apparaît indirectement sous la forme d'un halo clair autour des blastospores, la capsule repoussant les particules d'encre de Chine.

Examen à l'état frais d'un broyat de cerveau de souris après inoculation intracrânienne de blastospores (6). On note la présence de blastospores rondes, parfois bourgeonnantes, entourées d'une épaisse capsule (têtes de flèche).

# ***Cryptococcus albidus***

(Saito) Skinner (1947)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies lisses, blanc-crème, devenant plus foncées (ocre) et coulantes dans les cultures âgées. *Cryptococcus albidus* est sensible au cycloheximide, et l'optimum thermique est de 25 à 30°C. A 37°C, la croissance est nulle ou très réduite.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores rondes à ovoïdes, de taille variable (3 à 6 µm de long sur 3 à 5 µm de large). Elles sont isolées ou réalisent de courtes chaînes. Il n'y pas de filaments mycéliens ni de pseudomycélium. La capsule est difficile à voir, même à l'encre de Chine.

### → Multiplication sexuée

*Filobasidium floriforme*.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure assimile de nombreux hydrates de carbone (notamment le glucose, le saccharose, le maltose et le raffinose, mais pas le galactose et le lactose) et faiblement le nitrate de potassium. Comme les autres cryptocoques, elle est incapable de fermentation et la recherche d'uréase est positive, mais tardivement (en 10 à 24 h).

## **Biotope naturel**

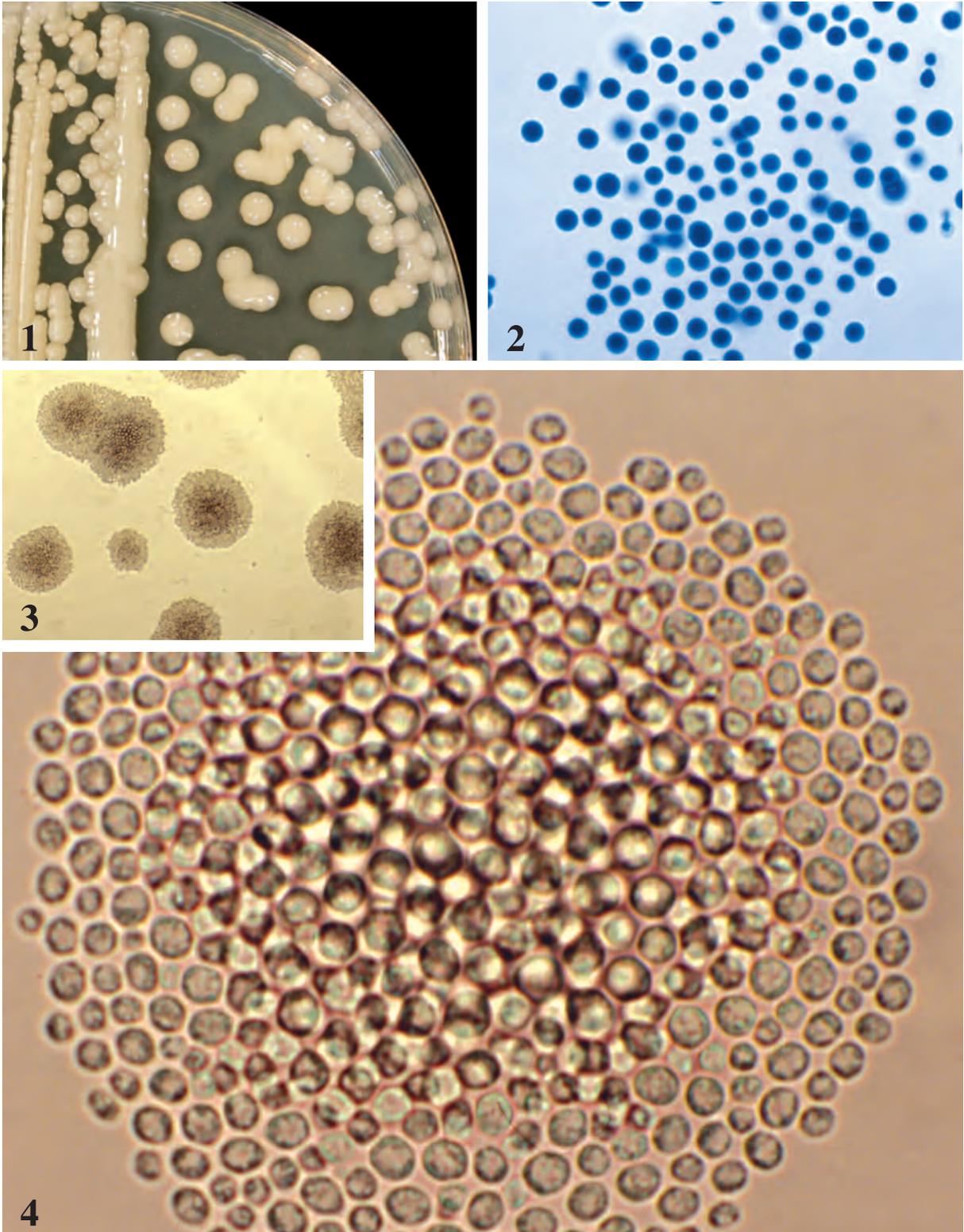
*Cryptococcus albidus* est une levure cosmopolite isolée du sol, de l'air, de l'eau et de substrats organiques divers. Elle vit également en commensale sur la peau.

## **Pouvoir pathogène**

Son pouvoir pathogène est exceptionnel. De très rares atteintes cutanées ou unguéales ont été décrites.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Cryptococcus albidus* est sensible à tous les antifongiques, à l'exception des échinocandines



***Cryptococcus albidus* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) : sur milieu RAT, comme sur gélose de Sabouraud, *Cryptococcus albidus* produit exclusivement des blastospores rondes de grande taille, isolées ou disposées en courtes chaînes. Il n'y a ni filaments mycéliens, ni pseudomycélium.

# ***Cryptococcus laurentii***

(Kufferath) Skinner (1947)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies lisse et coulantes (elles forment un culot dans les cultures sur gélose en pente), de couleur crème à brunâtre. Cette levure est sensible au cycloheximide, et l'optimum thermique est de 25 à 30°C, mais certaines souches poussent à 37°C.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes ou allongées, de taille variable selon les souches (5 à 13 µm de long sur 2 à 7 µm de large) avec un site unique de bourgeonnement. Elles sont le plus souvent isolées, mais on observe parfois des chaînes de 3 à 4 blastospores. L'examen des blastospores à l'encre de Chine montre la présence d'une capsule fine. Il n'y a pas de filaments mycéliens.

### → Multiplication sexuée

Pas de forme parfaite connue, mais affiliation aux Basidiomycètes.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure n'assimile pas le nitrate de potassium, mais assimile de nombreux hydrates de carbone. Comme les autres cryptococoques, elle est incapable de fermentation et la recherche d'uréase est positive, mais tardivement (en 10 à 24 h).

## **Biotope naturel**

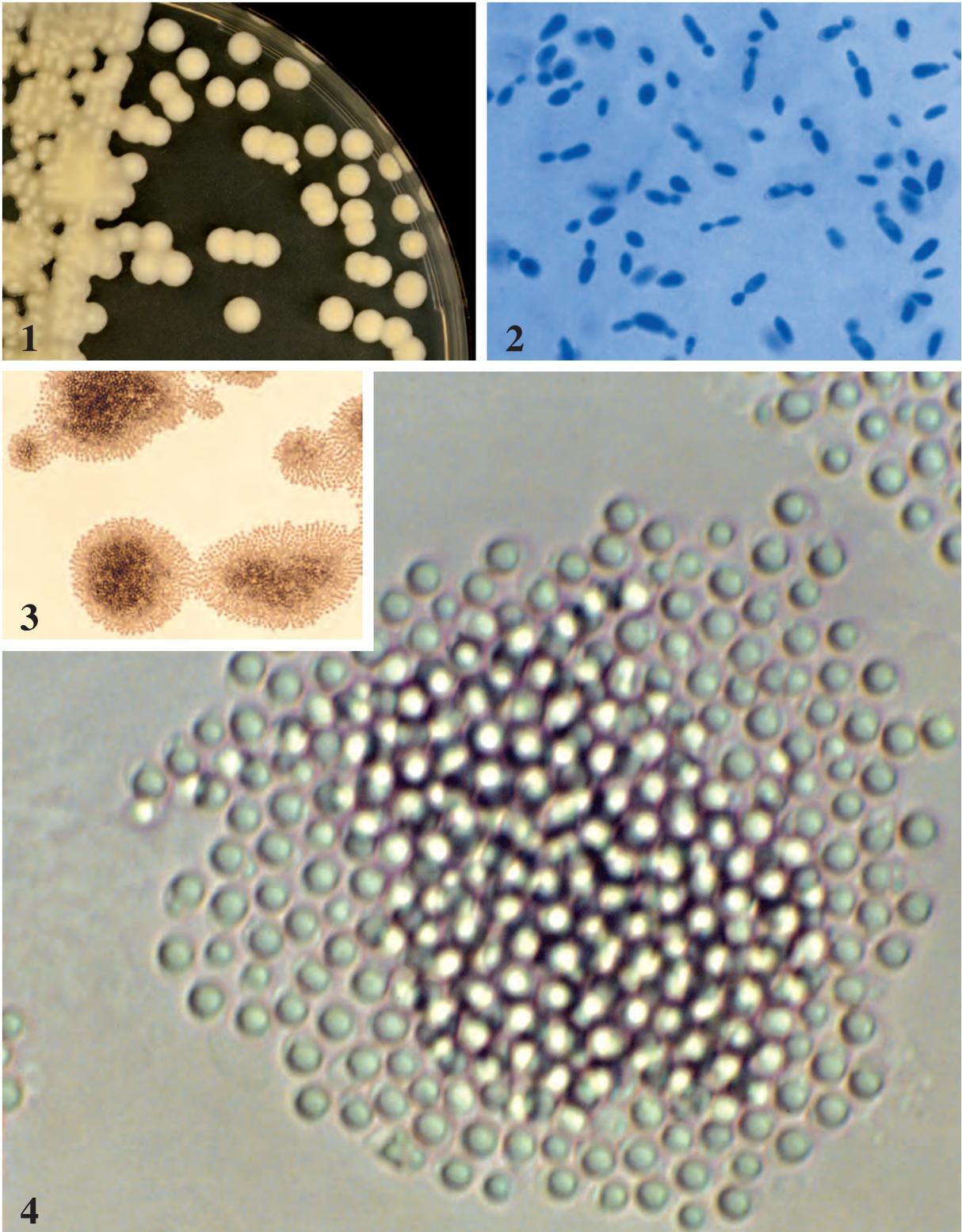
*Cryptococcus laurentii* est une levure cosmopolite, isolée du milieu extérieur, du sol, de l'air, mais aussi de milieux marins. On la retrouve aussi dans des fruits et des fleurs, dans le vin et la bière. C'est une levure que l'on retrouve aussi en tant que commensale dans les produits d'expectoration et dans les selles.

## **Pouvoir pathogène**

Cette levure est habituellement dénuée de toute pathogénicité et est parfois retrouvée à partir de prélèvements de peau ou d'ongles.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Cryptococcus laurentii* est sensible à l'amphotéricine B et aux triazolés. Il est par contre résistant aux échinocandines.



***Cryptococcus laurentii* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) : alors que *Cryptococcus laurentii* produit sur gélose de Sabouraud des blastospores ovoïdes ou allongées, solitaires ou disposées en courtes chaînes de 2 à 4 éléments, il se présente sur milieu RAT sous forme de blastospores globuleuses à subglobuleuses, de grande taille. Il n'y a ni mycélium vrai, ni pseudomycélium.

## **Le genre *Geotrichum***

### ***Geotrichum candidum***

Link : Fries (1832)

---

#### **Caractères culturaux**

Colonies plates, plâtreuses à muqueuses, glabres à finement duveteuses. La croissance est lente.

#### **Morphologie microscopique**

##### **→ Multiplication végétative**

Le mycélium végétatif est constitué de longs filaments réguliers, mais assez larges (7 à 12 µm de diamètre), septés, donnant naissance à des filaments latéraux s'articulant à angle aigu ou à angle droit. Ces ramifications latérales sont plus étroites (2,5 à 4 µm de diamètre). Elles sont cloisonnées, et se désarticulent en court segments cylindriques (arthrospores) de 5 à 17 µm de long sur 4 à 6 µm de large. Il n'y a pas de blastospores.

##### **→ Multiplication sexuée**

Il existe un stade sexué, *Galactomyces geotrichum*, mais il est rarement obtenu sur les milieux usuels de mycologie médicale.

#### **Caractères biochimiques**

L'identification du genre *Geotrichum* repose sur la morphologie des filaments mycéliens et des arthrospores, et les caractères auxanographiques permettent le diagnostic d'espèce.

#### **Biotope naturel**

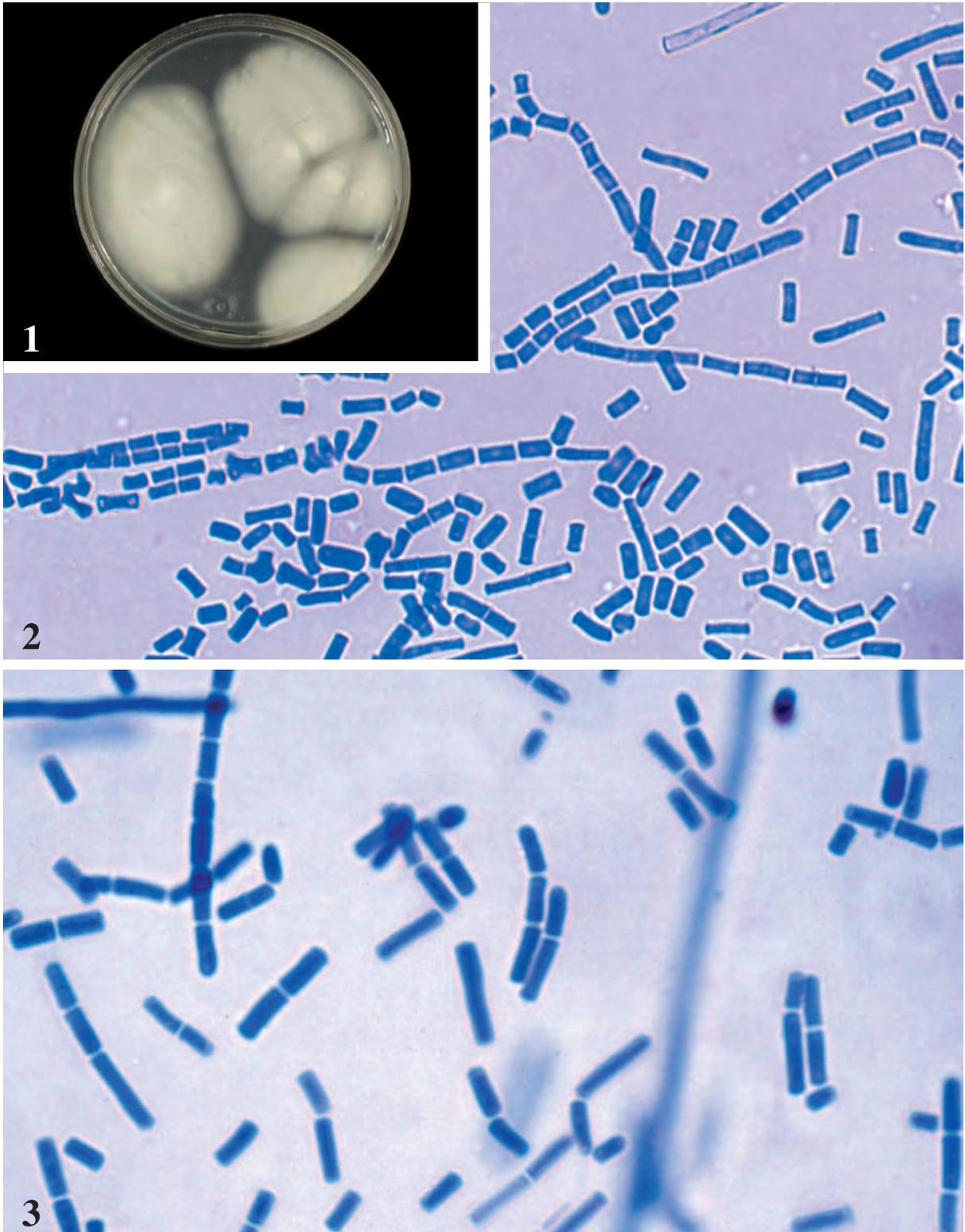
*Geotrichum candidum* est cosmopolite. On le retrouve dans le milieu extérieur (air, sol, eau), et il participe à la dégradation des fruits. Dans l'alimentation, *G. candidum* est utilisé pour l'affinage de nombreux fromages, mais il est aussi retrouvé dans les produits laitiers (lait, crème, beurre). Ce champignon colonise habituellement les voies digestives, parfois les voies respiratoires et le revêtement cutané de l'homme et de nombreux animaux.

#### **Pouvoir pathogène**

*Geotrichum candidum* peut être à l'origine d'atteintes digestives (muguet buccal, colopathies) ou respiratoires (infections bronchiques, pneumopathies). Les septicémies et les formes disséminées sont exceptionnelles.

#### **Sensibilité aux antifongiques**

*Geotrichum candidum* est sensible à l'amphotéricine B.



***Geotrichum candidum* :**

Culture sur gélose de Sabouraud âgée de 8 jours (1).

Filaments mycéliens hyalins et septés, assez larges, qui se différencient de manière progressive et rétrograde en arthrospores unicellulaires, d'aspect rectangulaire, d'abord disposées en chaînes, puis les chaînes d'arthrospores se dissocient (2 et 3).

## Le genre *Malassezia*

Le genre *Malassezia* regroupe des levures caractérisées par leur lipophilie (sauf *M. pachydermatis*). Elles vivent habituellement en commensales sur le revêtement cutané, et peuvent dans certaines circonstances exprimer un pouvoir pathogène. Chez l'homme, ces levures sont responsables du pityriasis versicolor, mais elles sont aussi impliquées dans des lésions de pityriasis capitis, de folliculites du tronc et de dermites séborrhéiques sans que l'on puisse affirmer leur responsabilité dans ces affections.

Le terrain joue un rôle important dans ces mycoses. En effet, la survenue d'un pityriasis versicolor résulte souvent du passage de ces levures de l'état commensal à l'état parasitaire.

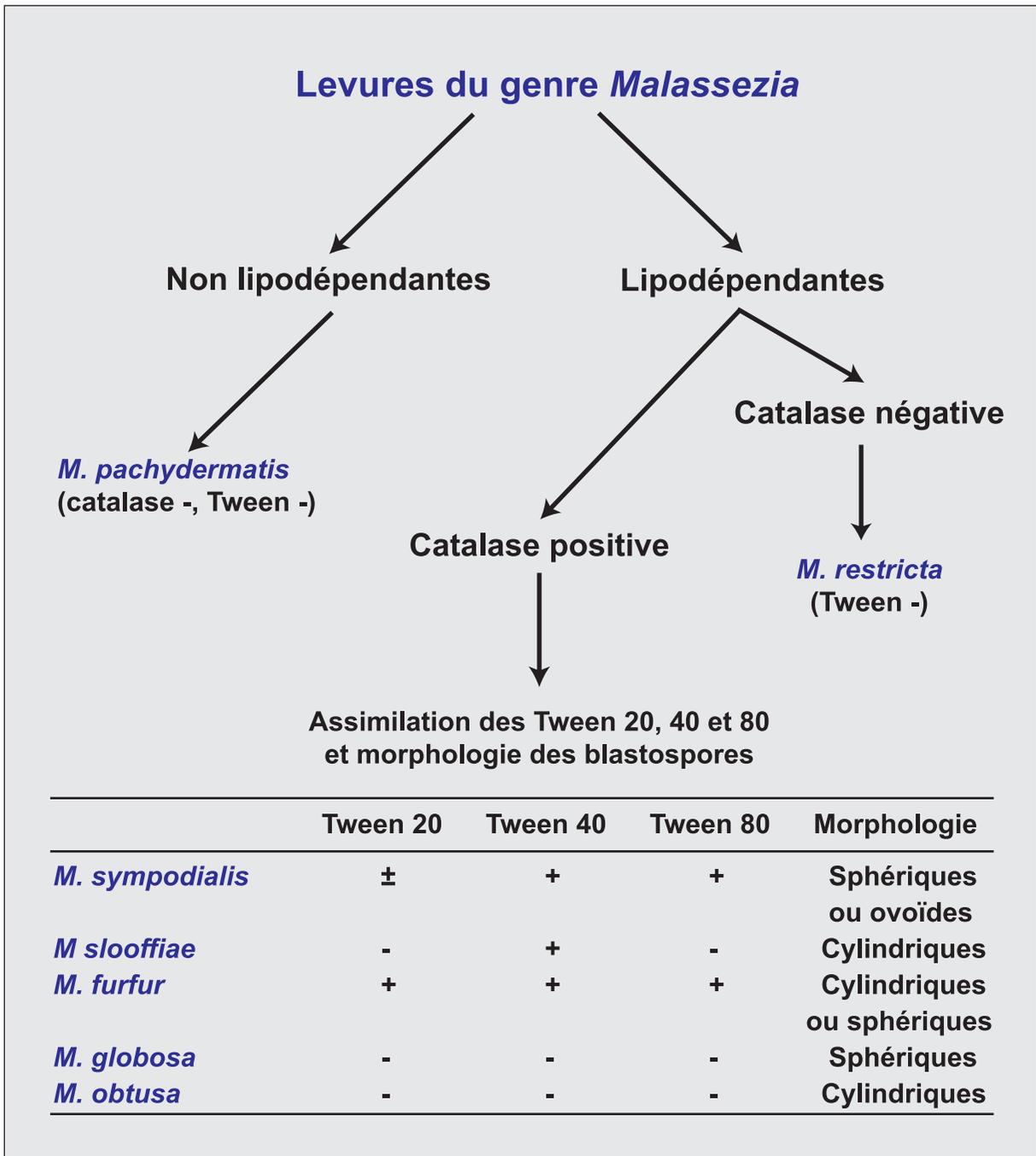
Sur le plan morphologique, les espèces du genre *Malassezia* se présentent sous forme de blastospores globuleuses, ellipsoïdales ou cylindriques. Le genre *Malassezia* comprend 6 espèces lipophiles et anthropophiles, *M. furfur* qui est le principal agent du pityriasis versicolor, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta* et *M. slooffiae*, ainsi qu'une espèce zoophile lipo-indépendante, *M. pachydermatis*, bien connue des vétérinaires car agent d'otites chez le chien. L'identification en culture est fondée sur la lipophilie, la morphologie microscopique (Tableau 14), l'activité catalasique et le profil d'assimilation des Tween 20, 40 et 80.

La combinaison de ces facteurs permet de proposer un schéma d'identification des diverses espèces de *Malassezia* (Figure 53).

**Tableau 14** : Aspect microscopique des levures du genre *Malassezia*.

<b>Malassezia</b>	<b>Aspect microscopique</b>
<i>M. pachydermatis</i>	Blastospores ovoïdes (2,5 à 4,5 µm de long sur 1,5 à 2,5 µm de large)
<i>M. furfur</i>	Blastospores polymorphes, ovoïdes à cylindriques (2,5 à 6 µm de long sur 1,5 à 3,5 µm de large)
<i>M. sympodialis</i>	Petites blastospores ovoïdes (2,5 à 6 µm de long sur 1,5 à 2,5µm de large)
<i>M. globosa</i>	Blastospores sphériques (2,5 à 8 µm de diamètre)
<i>M. obtusa</i>	Blastospores allongées, cylindriques (4 à 6 µm de long sur 1,5 à 2 µm de large)
<i>M. restricta</i>	Petites blastospores ovoïdes à sphériques (1,5 à 4 µm de long sur 1 à 2 µm de large)
<i>M. slooffiae</i>	Petites blastospores cylindriques (1,5 à 4 µm de long sur 1 à 2 µm de large)

**Figure 53** : Clé d'identification des *Malassezia*.



# ***Malassezia furfur***

(Robin) Baillon (1889)

---

## **Caractères cultureux**

*Malassezia furfur* ne pousse pas spontanément sur milieu de Sabouraud. Il convient, avant d'ensemencer, de recouvrir la surface de la gélose d'un film d'huile d'olive stérile. En 8 à 15 jours à 37°C, les colonies apparaissent, d'aspect cireux, d'abord blanches, puis chamois. Sur milieu de Dixon, les colonies sont bombées, sèches, lisses, de couleur chamois clair.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores petites (1,5 à 6 µm de diamètre) et polymorphes (rondes ou cylindriques). Elles présentent une large base de bourgeonnement. On parle d'aspect en "bouchon". Il n'y a pas de filaments en culture.

### → Multiplication sexuée

Pas de reproduction sexuée connue.

## **Diagnostic du pityriasis versicolor**

La culture n'est pas indispensable pour le diagnostic de routine du pityriasis versicolor. L'examen direct par la technique du "Scotch®-test" suffit en effet à établir ce diagnostic.

Cette technique est particulièrement indiquée pour le diagnostic du pityriasis versicolor. Sur la lésion suspecte, on applique un morceau de ruban adhésif transparent (Scotch®), puis on le détache et on le dépose sur une lame porte-objet. L'examen est réalisé à l'objectif 20 ou 25, et le diagnostic est porté sur la mise en évidence d'amas de blastospores rondes ou ovales, de 2 à 5 µm de diamètre, disposées en "grappe", associées parfois à des filaments fins et courts.

## **Biotope naturel**

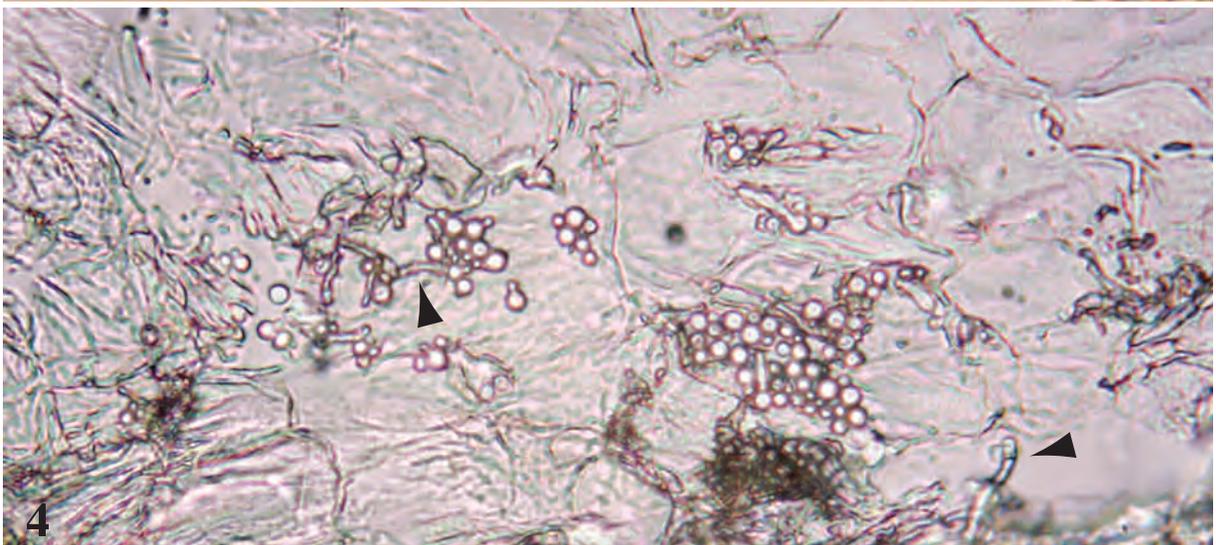
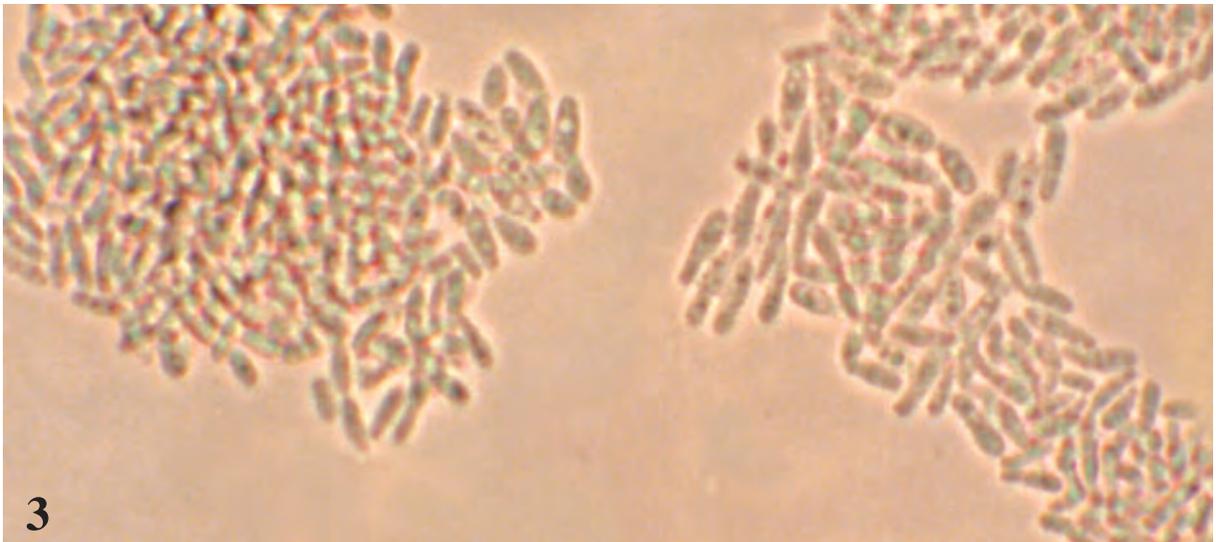
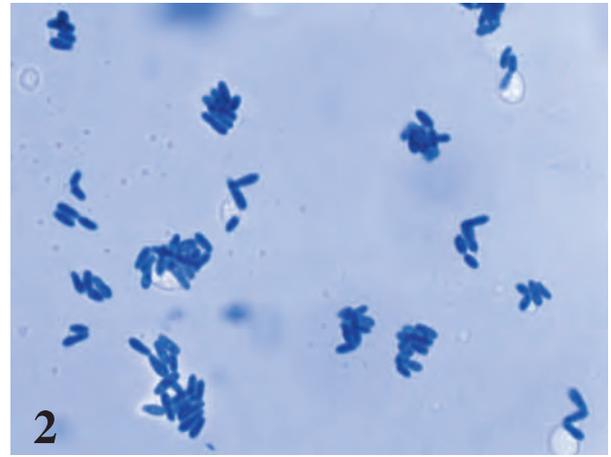
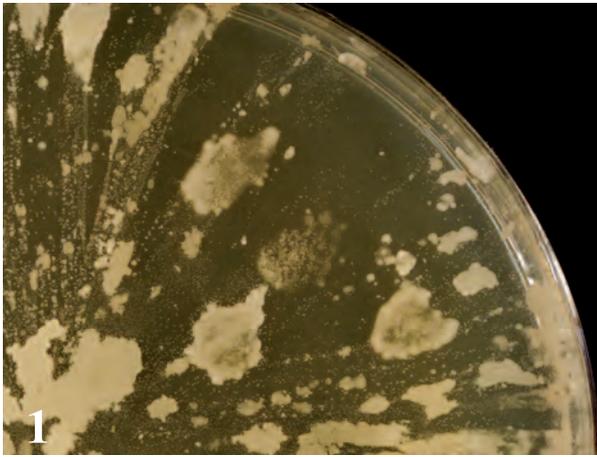
*Malassezia furfur* fait partie de la flore habituelle du revêtement cutané de l'homme, mais aussi de nombreux mammifères et des oiseaux. Il est exceptionnellement retrouvé dans le milieu extérieur.

## **Pouvoir pathogène**

*Malassezia furfur* est impliqué dans de nombreuses infections cutanées : le pityriasis versicolor, la dermatite séborrhéique et le pityriasis capitis. Plus rarement, il sera à l'origine d'infections systémiques chez les prématurés, les nouveaux-nés et les patients immunodéprimés. Ces infections systémiques sont souvent associées à une alimentation parentérale riche en lipides.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Malassezia furfur* est sensible aux azolés et à l'amphotéricine B, et résistant aux échinocandines.



***Malassezia furfur* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud + huile. Morphologie sur milieu RAT (additionné d'huile d'olive) à l'objectif 40 (3) : *Malassezia furfur* produit des blastospores de petite taille et d'aspect polymorphe, avec une large base de bourgeonnement. On n'observe ni filaments mycéliens ni pseudomycélium.

Examen direct par Scotch®-test dans une lésion de pityriasis versicolor (4) : notez la présence de blastospores disposées en grappes, et de courts filaments mycéliens (têtes de flèches).



## **Le Genre Rhodotorula**

Le genre *Rhodotorula* regroupe des levures produisant en culture un pigment caroténoïde (colonies orangées à rouge) et caractérisées par des blastospores ovoïdes et allongées. Quelques souches produisent également un pseudomycélium rudimentaire. Ces levures ne fermentent pas les sucres.

Ce genre affilié aux Basidiomycètes comprend 8 espèces, dont 3 peuvent être isolées chez l'homme : *R. mucilaginosa* (ex *R. rubra*), *R. glutinis* et *R. minuta*.

Elles sont reconnaissables par la couleur orangé à rouge des colonies sur milieu de Sabouraud (en primoculture comme lors de repiquages).

Ce sont habituellement des levures commensales de la peau ou des muqueuses. Leur pouvoir pathogène, très limité, doit être discuté au cas par cas.

# ***Rhodotorula mucilaginosa* (ex *R. rubra*)**

(Jørgensen) Harrison (1928)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies bombées, à surface lisse et luisante, de couleur rose à rouge saumon. Cette espèce ne pousse pas sur gélose additionnée de cycloheximide.

L'optimum thermique est compris entre 20 et 25°C, mais cette levure pousse à 37°C.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes ou allongées, mesurant de 6 à 10 µm de long sur 2 à 4 µm de large, à bourgeonnement multilatéral. Il n'y a pas de filaments, sauf sur milieu RAT ou PCB.

### → Multiplication sexuée

Pas de reproduction sexuée connue.

## **Caractères biochimiques**

Les levures du genre *Rhodotorula* ne fermentent pas les sucres, et présentent une uréase. *Rhodotorula mucilaginosa* n'assimile pas le nitrate et ne réduit pas les sels de tétrazolium. Cette levure assimile le glucose, le maltose, le saccharose et le raffinose (et pour certaines souches, le galactose), mais jamais le lactose.

## **Biotope naturel**

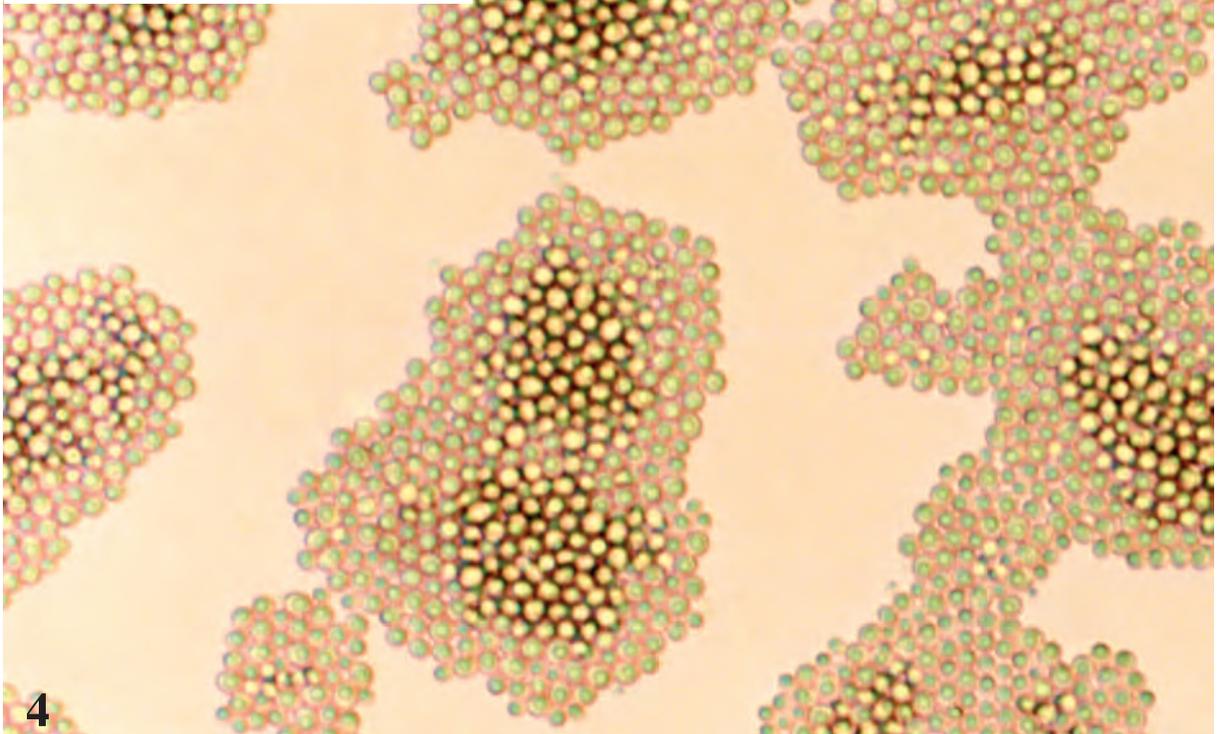
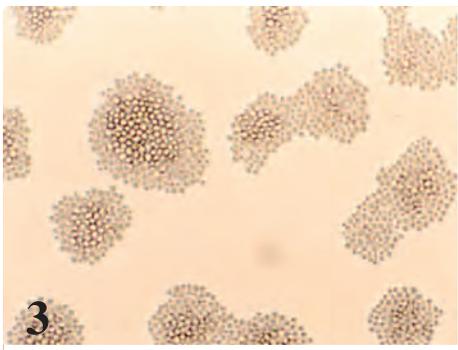
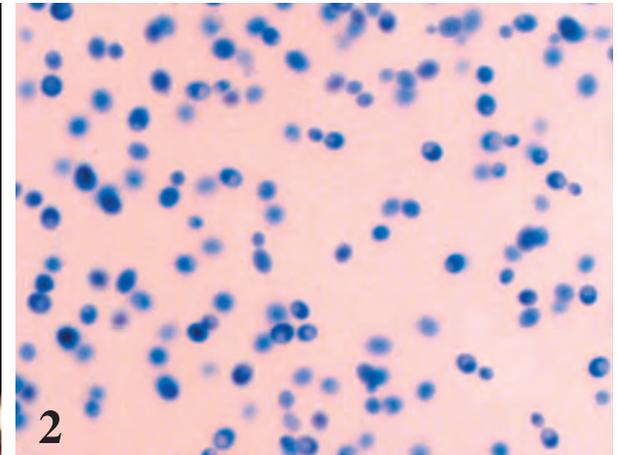
*Rhodotorula mucilaginosa* est une levure cosmopolite très répandue, qu'on retrouve dans le milieu extérieur (terre, eau de surface, air), mais aussi dans certains aliments (fruits, produits laitiers). Comme d'autres espèces du genre *Rhodotorula*, notamment *R. glutinis* et *R. minuta*, *R. mucilaginosa* est un commensal des tractus urinaire, gastro-intestinal et respiratoire, mais aussi de la peau et des phanères (ongles). On peut donc les isoler à partir de prélèvements issus de ces sites, même en l'absence de mycose.

## **Pouvoir pathogène**

Chez les patients immunodéprimés, les levures du genre *Rhodotorula* peuvent être impliquées dans des atteintes superficielles (kératites) ou profondes (septicémies, méningites, endocardites, péritonites, ...), notamment chez des patients atteints de cancer, d'hémopathie maligne ou de sida. En dehors du statut immunitaire de l'hôte, le principal facteur de risque est la présence de cathéters centraux.

## **Sensibilité aux antifongiques**

Les *Rhodotorula* sont sensibles à l'amphotéricine B, à la 5-fluorocytosine et à la plupart des azolés, sauf au fluconazole.



***Rhodotorula mucilaginosa* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT comme sur gélose de Sabouraud, *Rhodotorula mucilaginosa* produit des blastospores ovoïdes à allongées de taille moyenne, à bourgeonnement multilatéral. La formation de pseudofilaments est parfois observée sur ce milieu.



## **Le genre *Saccharomyces***

Le genre *Saccharomyces* regroupe des levures d'aspect ellipsoïdal, ou cylindriques, ne produisant habituellement ni filaments mycéliens ni pseudofilaments.

Les cultures sont constituées principalement de blastospores (la reproduction asexuée étant le mode principal de multiplication), associées à des asques liés à la reproduction sexuée qu'on observe sur des milieux de culture particuliers.

Le genre *Saccharomyces* qui est classé parmi les Ascomycètes, comporte 7 espèces. *Saccharomyces cerevisiae*, qui est la levure de bière classique, est largement utilisée dans l'industrie agro-alimentaire. Elle peut être retrouvée dans les selles sans qu'elle exerce de rôle pathogène. *Saccharomyces boullardii* qui est considérée comme une variété de *S. cerevisiae*, rentre dans la composition de l'Ultralevure® et de la Carbolevure®.

# ***Saccharomyces cerevisiae***

Meyer ex Hansen (1883)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies luisantes et lisses, ou plus ou moins rugueuses, de couleur blanche à crème, à bords nets qui poussent en 4 à 5 jours sur milieu de Sabouraud sans cycloheximide ou sur gélose au Malt.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Blastospores ovoïdes, globuleuses ou cylindriques, de grande taille (5 à 15 µm de long sur 5 à 10 µm de large), isolées ou en amas. Comme pour *C. glabrata*, du pseudomycélium ne peut se voir que dans des conditions de culture très particulières (milieu carencé en azote).

### → Multiplication sexuée

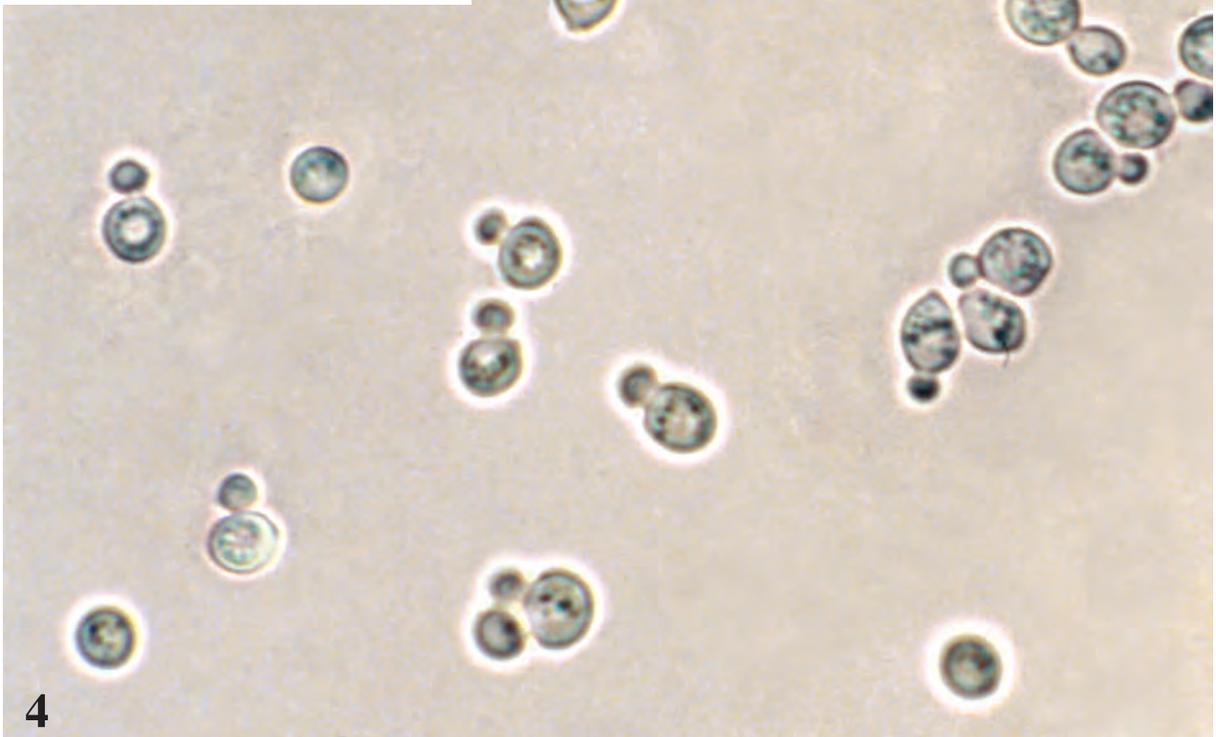
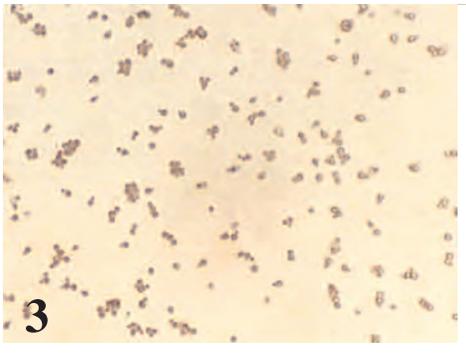
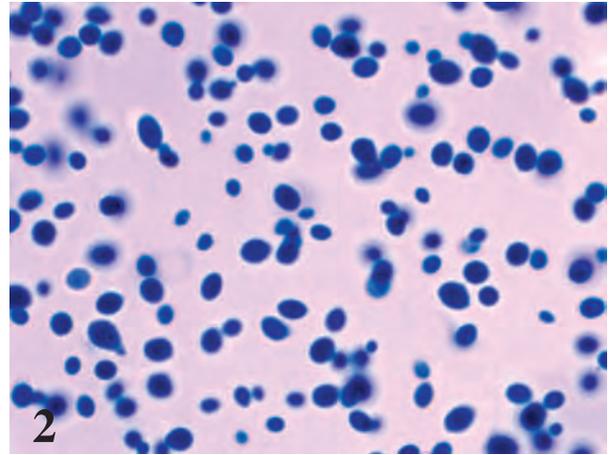
Asques globuleux contenant 1 à 4 ascospores sphériques, de 2,5 à 6 µm de diamètre.

## **Caractères biochimiques**

L'identification de cette levure repose sur l'étude du profil d'assimilation des hydrates de carbone. *Saccharomyces cerevisiae* assimile de nombreux hydrates de carbone. Elle est également capable de fermenter le glucose, et parfois le galactose, le saccharose, le maltose et le raffinose. Elle ne réduit pas les sels de tétrazolium.

## **Biotope naturel**

*Saccharomyces cerevisiae* est une levure bien connue, cosmopolite et largement utilisée dans l'industrie agro-alimentaire en raison de son pouvoir fermentaire (pain, vin, bière, ...). Dans le milieu extérieur, cette levure est rencontrée dans les fruits et les légumes. On peut aussi retrouver *S. cerevisiae* sous forme lyophilisée dans certains anti-diarrhéiques comme l'Ultralevure® ou la Carbolevure®. Il est donc fréquent de retrouver cette levure dans les prélèvements digestifs.



***Saccharomyces cerevisiae* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

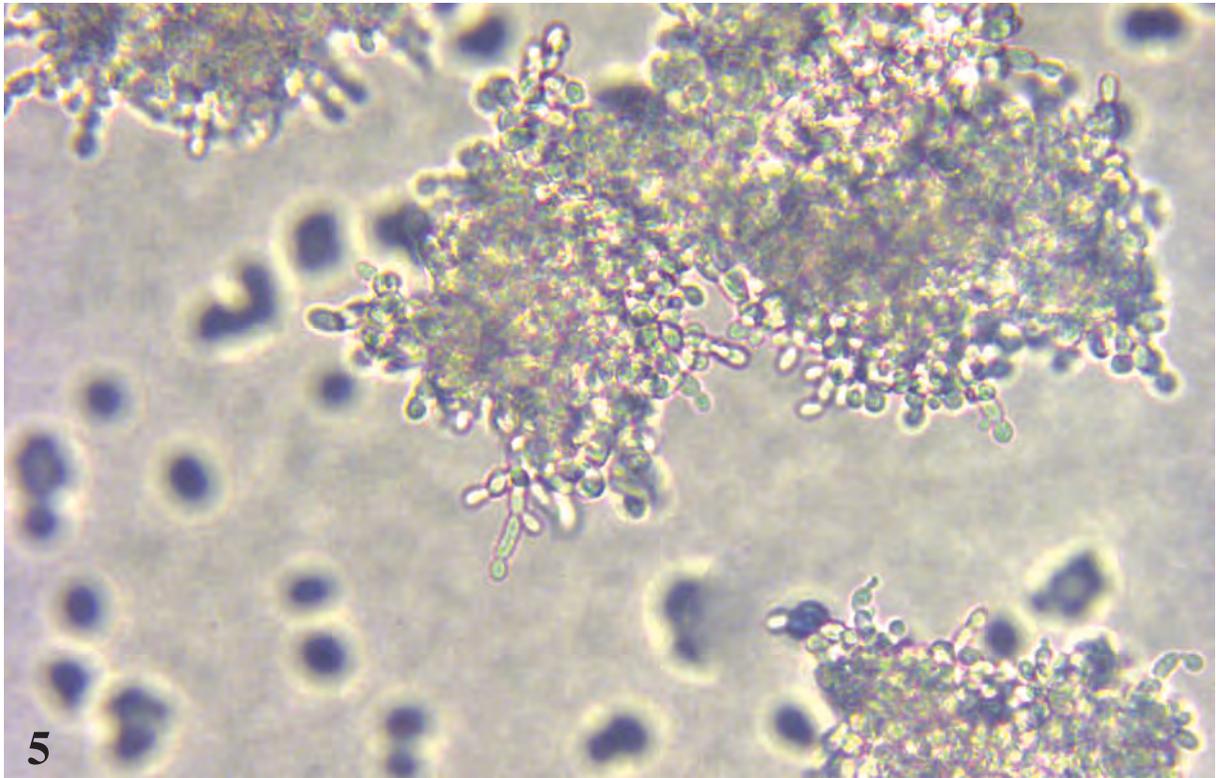
Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT comme sur gélose de Sabouraud, *Saccharomyces cerevisiae* produit des blastospores de grande taille, parfois bourgeonnantes. Dans ces conditions de culture, il n'y a ni filaments mycéliens ni pseudomycélium.

## **Pouvoir pathogène**

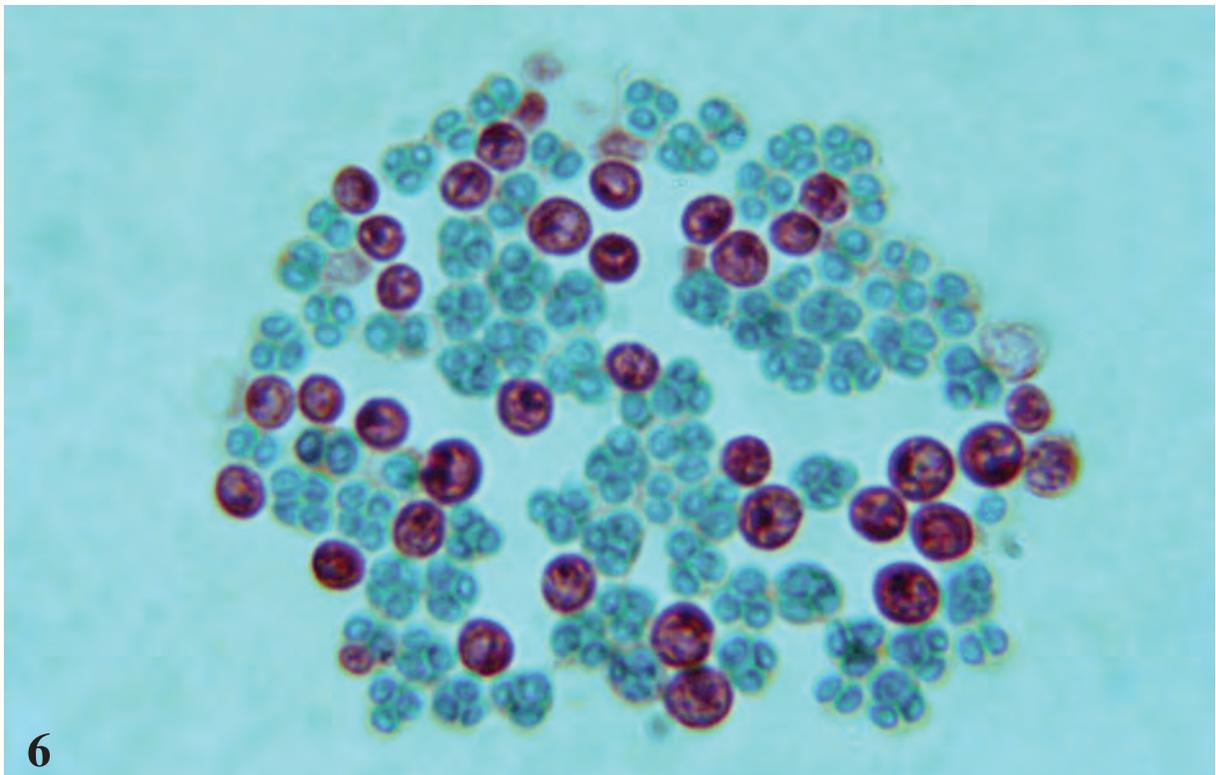
À l'occasion d'un déséquilibre de la flore intestinale, *S. cerevisiae* peut diffuser dans le sang. Une contamination par voie aérienne lors de l'ouverture de sachets contenant des levures lyophilisées (Carbolevure® ou l'Ultralevure®) peut aussi se produire, entraînant éventuellement la souillure de sites de pénétration des cathéters. Les infections à *S. cerevisiae* restent toutefois rares, elles touchent les prématurés ou les patients très amoindris. Cette levure est à l'origine de lésions superficielles, buccales (muguet), anales (anites), ou génitales (vulvo-vaginites), ou profondes : fongémies transitoires suite à la souillure d'un cathéter, endocardites sur prothèse, septicémies. Des cas de péritonites post-opératoires ou après dialyse péritonéale, d'œsophagites et de pneumopathies ont été signalés.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Saccharomyces cerevisiae* est sensible à l'amphotéricine B.



5



6

***Saccharomyces cerevisiae* :**

Culture sur gélose carencée en azote (5). Noter la présence de pseudohyphes.

Frottis réalisé à partir d'une culture sur milieu de Gorodkova (milieu pauvre à caractère acide) pendant 3 semaines à 20-25°C et coloré au Ziehl-Nielsen modifié (6). Les ascospores qui renferment 4 ascospores, sont colorés en vert, alors que les blastospores apparaissent colorées en rose.



## **Le genre *Trichosporon***

Le genre *Trichosporon* regroupe des levures qui se caractérisent par la présence de nombreux filaments mycéliens se dissociant en arthrospores et de blastospores polymorphes associées à des pseudofilaments.

Ces levures ne fermentent pas les sucres, mais présentent une uréase.

On distingue une vingtaine d'espèces, dont 6 peuvent être incriminées en pathologie humaine :

- *T. asahii* et *T. mucoïdes* sont des agents de trichosporonoses profondes (septicémies avec parfois des lésions cutanées métastatiques) chez les patients immunodéprimés. On les retrouve aussi à l'état commensal sur le revêtement cutané (peau, ongles et espaces inter-orteils).
- *T. inkin* est un agent de piedra blanche. Il est à l'origine de petits nodules blanchâtres sur les poils (pubis, sphère génitale), mais peut aussi déterminer des atteintes profondes.
- *T. asteroides* et *T. cutaneum* sont des commensaux de la peau. Ils peuvent être impliqués dans des lésions d'onxyxis, d'intertrigos et d'otomycoses.
- *T. ovoides* (ex *T. beigeli*) est aussi un agent de piedra blanche, mais principalement au niveau de la moustache, de la barbe et du cuir chevelu.

L'identification de l'espèce est basée sur des critères morphologiques et physiologiques.

# ***Trichosporon asahii***

Akagi ex Sugita *et al.* (1994)

---

## **Caractères cultureux**

Colonies sèches, en forme de dôme. De couleur blanche, ces colonies présentent un aspect farineux, et les bords sont fissurés.

*Trichosporon asahii* pousse bien à 37°C et résiste au cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

Filaments mycéliens septés, se dissociant en arthrospores rectangulaires ou en forme de "tonneau" (3,5 à 14 µm de long sur 3,5 à 7 µm de large).

### → Multiplication sexuée

Pas de reproduction sexuée connue, mais cette levure est affiliée aux Basidiomycètes.

## **Caractères biochimiques**

Comme les autres *Trichosporon*, cette levure est incapable de fermentation. Elle assimile de nombreux hydrates de carbone, notamment le L-arabinose, mais pas le mélibiose.

## **Biotope naturel**

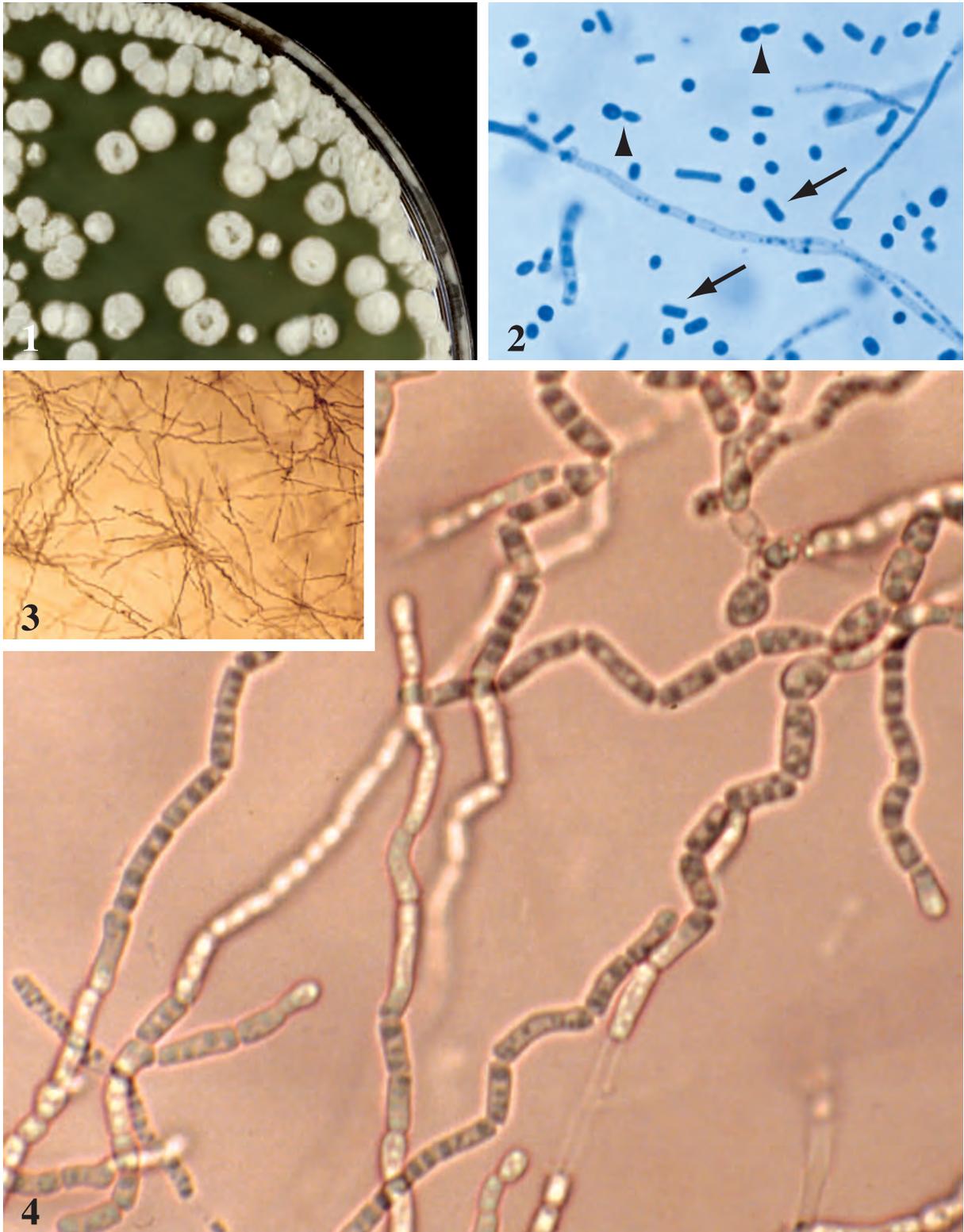
*Trichosporon asahii* est une levure issue du milieu extérieur (sol, eau) que l'on retrouve à l'état commensal sur la peau et les ongles des pieds et des mains.

## **Pouvoir pathogène**

*Trichosporon asahii* est principalement à l'origine d'atteintes superficielles (onyxis), mais aussi d'atteintes profondes (septicémies), en particulier chez des patients leucémiques en phase terminale.

## **Sensibilité aux antifongiques**

*Trichosporon asahii* est sensible à l'amphotéricine B, à la 5-fluorocytosine et à la plupart de azolés. Il est par contre résistant aux échinocandines.



***Trichosporon asahii* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT comme sur gélose de Sabouraud, *Trichosporon asahii* se développe principalement sous forme de filaments mycéliens septés, se dissociant ensuite en arthrospores rectangulaires (flèches) ou en tonnelet. Des blastospores, parfois bourgeonnantes (têtes de flèche), peuvent se voir.

# ***Trichosporon cutaneum***

(De Beurmann *et al.*) Ota (1926)

---

## **Caractères cultureux**

Levures polymorphes selon le milieu et l'âge de la culture. Sur milieu de Sabouraud, les colonies sont de couleur blanche à jaunâtre. Les colonies sont glabres, mates ou humides, de surface lisse ou plissée, et parfois cérébriformes. *Trichosporon cutaneum* pousse bien à 30°C, plus difficilement à 37°C. Il est sensible au cycloheximide.

## **Morphologie microscopique**

### → Multiplication végétative

On retrouve des filaments mycéliens septés, se dissociant en arthrospores en "tonneau" et des blastospores de forme et de taille variable, produites en chaîne (pseudomycélium) ou en bouquet à l'apex des articles des filaments mycéliens.

### → Multiplication sexuée

Comme pour les autres *Trichosporon*, pas de reproduction sexuée connue, mais affiliation aux Basidiomycètes.

## **Caractères biochimiques**

Cette levure assimile de nombreux hydrates de carbone, mais elle est incapable de fermentation comme les autres levures affiliées aux Basidiomycètes.

Elle réduit faiblement les sels de tétrazolium. Les recherches de phénoloxydase et d'uréase sont positives, mais tardivement.

## **Biotope naturel**

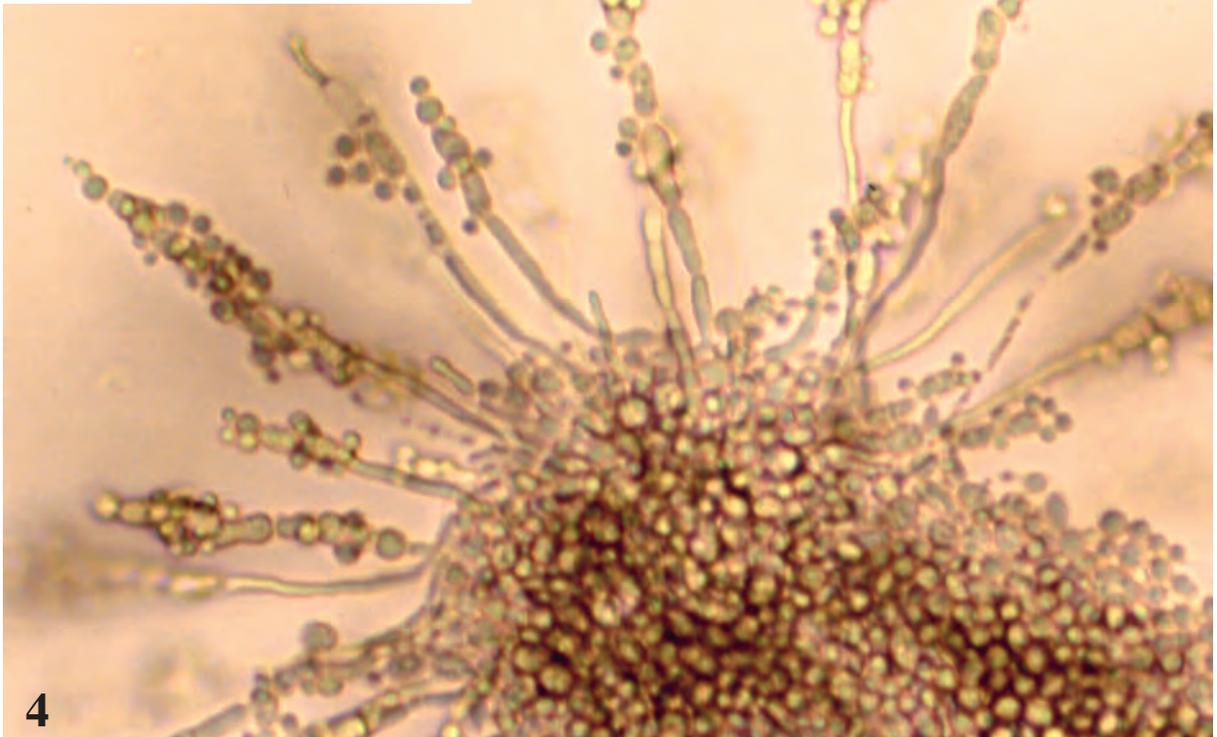
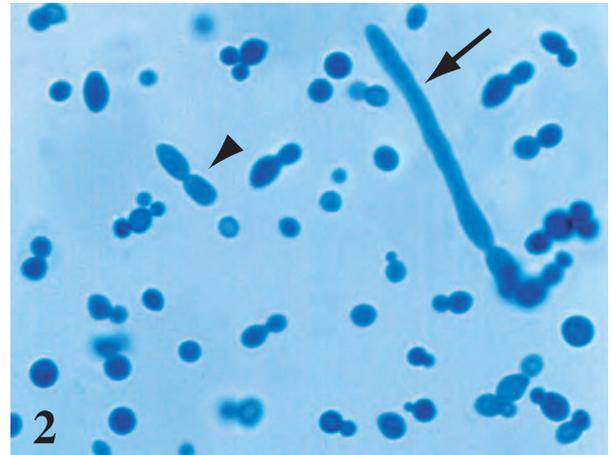
*Trichosporon cutaneum* est fréquemment retrouvé dans le milieu extérieur (sol, eau, air) et sur de nombreux substrats organiques. Cette levure est aussi isolée du tube digestif de nombreux mammifères. Chez l'homme, on la retrouve à l'état commensal sur la peau et les phanères, mais aussi dans les selles et les crachats.

## **Pouvoir pathogène**

*Trichosporon cutaneum* est parfois à l'origine d'atteintes superficielles (onyxis), plus rarement d'atteintes profondes.

## **Sensibilité aux antifongiques**

Cette levure est sensible à l'amphotéricine B, à la 5-fluorocytosine et aux azolés. Comme *T. asahii*, elle est, par contre, résistante aux échinocandines.



***Trichosporon cutaneum* :**

Aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud.

Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4): sur milieu RAT, *Trichosporon cutaneum* produit de nombreux filaments mycéliens ou pseudofilaments qui se dissocient en arthrospores, au sommet desquels on observe des blastospores en chaînes, de forme et de taille variable, disposées en bouquets. Sur gélose de Sabouraud, les filaments mycéliens (flèche) et les arthrospores (têtes de flèche) sont moins abondants.



# **Traitement des levures superficielles et profondes**

## **CHAPITRE IV**

La fréquence des levures superficielles ou profondes est en progression constante. Compte tenu des effets indésirables de certains antifongiques, de la diversité des levures d'intérêt médical (*Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Malassezia*, ...), et de l'émergence de la résistance aux antifongiques, une bonne connaissance des antifongiques, de leur mode d'action et de leur spectre d'activité est nécessaire. La thérapeutique des levures superficielles est aujourd'hui bien codifiée. De nombreuses molécules antifongiques appartenant à différentes classes chimiques sont disponibles, avec parfois diverses formes galéniques (Tableaux 15 et 16). Pour les levures profondes ou systémiques (Tableau 17), l'arsenal thérapeutique s'est enrichi ces dernières années des formulations lipidiques de l'amphotéricine B, mais aussi de nouveaux triazolés comme le voriconazole et le posaconazole, et des échinocandines comme la caspofungine, l'anidulafungine et la micafungine.

Rappelons que le traitement ne doit être entrepris qu'après le prélèvement, le diagnostic mycologique étant indispensable pour l'identification de l'espèce en cause.

Rappelons également que les polyènes (amphotéricine B et nystatine) *per os* ne passent pas la barrière intestinale.

## **Les levures superficielles (peau, phanères, muqueuses digestives et génitales)**

### **Les candidoses superficielles**

#### **Les candidoses oro-pharyngées**

En cas de lésions débutantes ou peu avancées, des antifongiques locaux doivent être administrés en première intention (miconazole en comprimé buccal bioadhésif ou gel buccal, amphotéricine B en suspension ou encore nystatine en comprimés *per os*). La durée du traitement est habituellement de 7 à 15 jours. Cependant, les rechutes sont fréquentes et l'observance des patients reste médiocre.

**Tableau 15** : Antifongiques locaux utilisés dans le traitement des candidoses superficielles et modalités d'application – Polyènes et azolés.

DCI	Nom commercial et formulations	Posologie et rythme d'application
<b>Polyènes</b>		
Amphotéricine B (Am B)	Fungizone® capsules 250 mg, suspension 100 mg/ml	4 à 6 gélules ou mesures par jour pendant 7 à 20 jours, en dehors des repas
Nystatine	Mycostatine® comprimés enrobés à 500 000 UI, ou suspension buvable 100 000 UI/ml	4 à 6 comprimés ou mesures par jour pendant 7 à 10 jours en dehors des repas
<b>Azolés</b>		
Bifonazole	Amycor® 1% crème, solution pour application locale ou poudre	1 à 2 applications par jour
Bifonazole-urée	Amycor® onychoset pommade à l'urée	Pour les ongles, 2 applications par jour avec protection de la peau
Butoconazole	Gynomyk® ovules à 100 mg	1 ovule par jour pendant 7 jours
Econazole	Pévaryl®, Dermazol®, Econazole Ge® crème, poudre, solution pour application locale Gynopévaryl® 150 (ovules à 150 mg) et 150 LP (ovules à 150 mg à libération programmée)	2 applications par jour 1 application par jour pendant 3 jours pour Gynopévaryl® 150, 1 administration unique pour Gynopévaryl® 150 LP
Fenticonazole	Lomexin® crème à 2% Lomexin® capsules vaginales à 600 mg Terlomexin® capsules vaginales à 200 mg	1 à 2 applications par jour 1 ovule au coucher, à renouveler éventuellement 3 jours après 1 ovule par jour (au coucher) pendant 3 jours
Isoconazole	Fazol® 1% émulsion pour application locale, crème à 2% Fazol® ovules à 300 mg	1 application par jour 1 ovule par jour pendant 3 jours
Kétoconazole	Kétoderm® crème à 2%, gel, sachets Ketolium 1% shampooing	1 application par jour
Miconazole	Daktarin® gel buccal à 2%, poudre pour application locale à 2% Gyno Daktarin® ovules à 100 et 400 mg Loramyc® 50 mg comprimé gingival microadhésif, à libération prolongée	2 applications par jour 2 ovules à 100 mg par jour pendant 7 jours ou 1 ovule à 400 mg par jour pendant 3 jours 1 comprimé par jour pendant 2 semaines en application sur la gencive supérieure, au niveau de l'incisive
Omoconazole	Fongamil®, Fongarex® 1% crème, poudre ou solution pour application locale Fongarex® ovules 900 mg	2 applications par jour 1 ovule le soir au coucher
Oxiconazole	Fonx® 1%, crème, poudre ou solution	1 application par jour pendant 2 à 4 semaines
Sertaconazole	Monazol® crème à 2% Monazol® ovules à 300 mg	1 à 2 applications par jour 1 ovule par jour pendant 3 jours
Sulconazole	Myk® crème, solution ou poudre Gynomyk® ovules 300 mg	1 à 2 applications par jour 1 ovule par jour pendant 3 jours
Tioconazole	Trosyd 1%, crème GynoTrosyd ovules à 300 mg	1 à 2 applications par jour 1 ovule par jour pendant 3 jours

**Tableau 16** : Autres antifongiques locaux utilisés dans le traitement des candidoses superficielles et modalités d'application.

DCI	Nom commercial et formulations	Posologie et rythme d'application
Ciclopiroxolamine	Mycoster® à 1%, crème, poudre ou solution pour application cutanée  Sebiprox® shampooing à 1,5%	1 à 2 applications par jour Dermite séborrhéique du cuir chevelu
Ciclopirox	Mycoster® 8% solution filmogène (vernis)	Pour les ongles, 1 application par jour
<b>Allylamines</b> Terbinafine	Lamisil® 1%, crème, dermogel ou solution pour application cutanée  Lamisilate® monodose 1%, Lamisilate® 1% crème	1 à 2 applications par jour  Pour les intertrigos
<b>Morpholines</b> Amorolfine	Locéryl® solution (vernis) pour application locale	Sur l'ongle, 1 application par semaine
<b>Thiocarbamates</b> Tolnaftate	Sporiline® lotion à 1%	1 à 2 applications par jour

**Tableau 17** : Antifongiques utilisés dans le traitement des levures profondes ou systémiques.

DCI	Nom commercial et formulations	Indications principales, posologie et rythme d'application
<b>Polyènes</b>		
Amphotéricine B désoxycholate de sodium (Am B)	Fungizone® poudre pour solution injectable	Candidoses, cryptococcoses, géotrichoses, malassezioses, trichosporonoses
Am B liposomale	Ambisome®	0,1 à 1 mg par kg et par jour, en injection IV
Complexe lipidique d'Am B	Abelcet®	3 mg par kg et par jour
<b>Azolés</b>		
Kétoconazole	Nizoral® comprimés à 200 mg ou suspension buvable à 20 mg/ml	Candidoses et malassezioses éteintes ou récidivantes, 200 à 400 mg par kg et par jour chez l'adulte, 5 à 7 mg par kg et par jour chez l'enfant
Fluconazole	Triflucan® gélules à 50, 100 ou 200 mg, suspension buvable à 50 ou 200 mg ou solution pour perfusion 2 mg/ml	Candidoses oropharyngées, oesophagiennes, vulvo-génitales récidivantes (voie orale 50 à 100 mg par jour) et cryptococcoses (800 mg, puis 400 mg par jour)
Itraconazole	Sporanox® gélules à 100 mg ou solution buvable	Candidoses oropharyngées, vulvo-génitales, unguéales (200 mg par jour)
Voriconazole	Vfend® IV 200 mg, comprimés à 50 ou 200 mg, poudre pour suspension buvable à 40 mg/ml	Candidoses systémiques, en particulier à levures résistantes au Triflucan ( <i>C. krusei</i> et <i>C. glabrata</i> ) Par voie IV, 6 mg par kg toutes les 12 h pendant les premières 24 h, puis 4 mg/kg deux fois par jour
Posaconazole	Noxafil® solution buvable 40 mg/ml	Infections fongiques invasives réfractaires Candidoses oropharyngées Prophylaxie des infections fongiques invasives
<b>Echinocandines</b>		
Caspofungine	Cancidas® 50 ou 70 mg poudre pour solution injectable	Candidoses invasives et traitement empirique des candidoses chez les patients neutropéniques fébriles, en IV 70 mg le 1 <sup>er</sup> jour et 50 mg les jours suivants
Micafungine	Mycamine® 50 ou 100 mg poudre pour solution injectable	Candidoses systémiques, candidoses œsophagiennes
Anidulafungine	Ecalta® IV 100 mg	Candidoses systémiques chez l'adulte non neutropénique
<b>Fluoropyrimidines</b>		
5-Fluorocytosine (5-FC)	Ancotil® comprimés à 500 mg Ancotil® solution à 2,5 g/250 ml de sérum physiologique pour perfusion	Candidoses, cryptococcoses, rhodotoruloses et géotrichoses (jamais en monothérapie) 50 à 200 mg en 4 fois par jour

En cas d'échec de ces traitements ou de lésions plus importantes, surtout chez les patients immunodéprimés (sida, ...), un traitement par voie générale est nécessaire. Le fluconazole, qui est généralement bien toléré, est habituellement proposé en première intention. La durée du traitement est de 7 à 14 jours. En cas d'utilisation prolongée, la sensibilité de la levure aux antifongiques devra être vérifiée. L'itraconazole suspension, le voriconazole, le posaconazole ou les échinocandines peuvent être une alternative. Les traitements au long cours à visée prophylactique sont en général à proscrire.

### Les intertrigos candidosiques

Au niveau des plis, le traitement consiste en l'application locale, après la toilette, d'un antifongique dont la forme galénique dépendra de la clinique. Une poudre sera prescrite sur les lésions macérées des plis, tandis qu'on préférera une solution pour application locale devant des lésions suintantes et étendues et une crème devant des lésions sèches et desquamantes. La durée du traitement est de 2 à 3 semaines. Le traitement sera complété par des mesures visant à lutter contre les facteurs favorisants (humidité, macération), telles que l'usage de colorants (Millian, éosine aqueuse).

### Les candidoses oesophagiennes et intestinales

Les candidoses oesophagiennes (rencontrées principalement chez les patients sidéens) sont traitées avec des azolés *per os* (kétoconazole, itraconazole, fluconazole) à dose de 100 à 200 mg par jour. Dans les atteintes sévères, le voriconazole, le posaconazole ou des échinocandines peuvent être proposés.

### Les candidoses génitales

La candidose vulvo-vaginale bénéficie de traitements courts associant des imidazolés sous forme d'ovules (1 jour) et de crème pour la zone vulvaire ([Tableau 15](#)).

En cas de récives prouvées, il est utile de poursuivre le traitement local pendant plusieurs jours et de le compléter par un azolé par voie orale, comme le fluconazole à raison de 300 mg par semaine pendant plusieurs mois. La décontamination du tube digestif n'est pas systématique, elle ne se justifie qu'en cas de candidose digestive associée. Par contre, d'autres localisations, notamment inguinales, seront recherchées et traitées. Bien que la candidose vulvo-vaginale ne soit pas une maladie sexuellement transmissible, une contamination du partenaire sera recherchée. En cas de symptomatologie clinique (balanite), le

partenaire sera traité par application 2 fois par jour d'un imidazolé en crème pendant environ 2 semaines.

### **Les candidoses et autres levures unguéales**

Les atteintes de l'ongle par des levures du genre *Candida* ou *Trichosporon* sont surtout fréquentes au niveau des mains. Après avoir éliminé par l'examen mycologique l'hypothèse d'une surinfection et confirmé le rôle pathogène de la levure, un traitement local sera initié. Après un bain antiseptique, les ongles des doigts atteints seront massés plusieurs fois par jour à l'aide d'un gel ou d'une lotion contenant un antifongique topique : imidazolé ou ciclopiroxolamine en lotion (Mycoster®). L'application d'une solution filmogène (vernis) d'amorolfine à 5% (Loceryl®) une ou deux fois par semaine jusqu'à la repousse complète de l'ongle est efficace.

Sur les lésions de périonyxis, on peut utiliser de l'amphotéricine B (Fungizone®) en lotion ou un imidazolé en crème avec une application par jour en alternance avec un antiseptique (Hexomédine® transcutanée par exemple). En cas d'atteinte simultanée de plusieurs ongles, un traitement par voie générale peut être entrepris. Le kétoconazole (Nizoral®) à la dose de 200 mg par kg et par jour pendant 3 semaines peut être proposé, mais sa toxicité incite à préférer l'itraconazole 200 mg matin et soir une semaine par mois pendant deux mois. Le fluconazole, nécessitera un traitement de 6 mois à raison d'une prise hebdomadaire de 300 mg. La terbinafine, qui est fongicide sur les dermatophytes et sur certaines espèces du genre *Candida*, semble moins efficace dans cette indication. En cas de sites multiples ou d'atteinte sévère (candidose cutanéomuqueuse chronique), des antifongiques actifs par voie systémique doivent être ajoutés (kétoconazole, fluconazole, voriconazole) et la durée du traitement, souvent de plusieurs mois, dépendra de l'étendue des lésions et de l'état immunitaire du patient.

### **Les malassezioses superficielles**

Dans les formes peu extensives de pityriasis versicolor, le traitement repose sur l'application, sur tout le corps y compris le cuir chevelu, d'un topique azolé en lotion, gel émulsion ou crème, par exemple 2 applications à une semaine d'intervalle d'un gel moussant de kétoconazole à 2% (Kétoderm®). Dans les formes étendues ou rebelles au traitement local, des azolés actifs par voie orale (kétoconazole, itraconazole, fluconazole) seront prescrits

à raison de 200 à 400 mg par jour pendant 10 à 15 jours. Les autres formes cliniques (dermites séborrhéiques, pityriasis capitis) se traitent de la même façon.

### **Les trichosporoses superficielles**

La piedra blanche des cheveux, de la barbe ou des poils pubiens sera efficacement traitée par application locale, après rasage des poils atteints, d'un topique azolé (crème) pendant plusieurs jours. Les intertrigos et les onyxis à *Trichosporon* se traitent comme les intertrigos et les onyxis à *Candida*. Une hygiène rigoureuse permet d'éviter les récurrences.

### **Les levures profondes ou systémiques**

Elles surviennent essentiellement en milieu hospitalier, principalement dans les Unités de Soins Intensifs, de Réanimation Médicale ou Chirurgicale (chirurgie digestive, chirurgie cardiovasculaire, oncologie), les services de grands brûlés, les prématurés ou encore chez les patients fortement immunodéprimés en hématologie.

Les molécules antifongiques et leur principales indications sont présentées dans le [Tableau 17](#).

Le traitement des levures profondes ne repose pas exclusivement sur l'administration d'antifongique, la guérison définitive ne peut être obtenue qu'avec la maîtrise, voire la suppression des facteurs favorisants (retrait du matériel étranger par exemple).

De plus, pour certaines localisations profondes, le traitement antifongique peut être avantageusement complété par un acte chirurgical (végétation sur valves cardiaques par exemple). Nous allons passer en revue les principales indications thérapeutiques en fonction de la pathologie en cause.

### **Les candidoses profondes ou systémiques**

Devant la gravité des candidoses et le risque de dissémination avec localisations secondaires, il est impératif de traiter rapidement le patient. La stratégie actuelle est celle retenue par la conférence de consensus qui s'est tenue à Paris en mai 2004.

Le choix du traitement dépend d'un certain nombre de facteurs liés au patient lui-même : existence ou non d'une neutropénie, présence d'une voie veineuse centrale, état général du patient, espèce fongique en cause et existence ou non d'une prophylaxie initiale anti-

*Candida*. Avant de traiter, il faut aussi s'assurer qu'il s'agit d'une véritable infection à *Candida* et non d'une simple colonisation. Cependant, devant la gravité des infections systémiques à *Candida* dont la mortalité peut atteindre 60% dans certaines séries, le traitement empirique (sans attendre les résultats de l'examen mycologique et l'identification précise de l'espèce en cause) est de règle aujourd'hui. Toute hémoculture positive à *Candida*, même isolée, suffit à décider la mise en route du traitement. D'autres pratiques complémentaires sont largement admises comme le retrait immédiat du cathéter chez le patient non neutropénique. Pour le patient neutropénique, on peut discuter d'abord l'éventualité d'une porte d'entrée digestive.

La découverte d'une levure dans un site normalement stérile impose la mise en place d'un traitement antifongique. Par contre, la présence de levures en nombre élevé dans des sites normalement ou fréquemment colonisés (tube digestif, selles, vagin, urines) pose le problème du traitement préventif. Chez les patients non neutropéniques en réanimation, un indice de colonisation supérieur à 0,5 ou un IC corrigé supérieur à 0,4 (selon Pittet) implique d'instituer un traitement pour prévenir une éventuelle dissémination hématogène. Il reste cependant que les indices de Pittet n'ont pas été validés chez les patients neutropéniques.

### **Traitement des candidoses invasives chez le non neutropénique**

L'amphotéricine B désoxycholate ou le fluconazole représentent les molécules de choix pour le traitement empirique des candidoses invasives chez le non neutropénique. L'altération de la fonction rénale (créatinémie supérieure à 1,5 fois la normale) conduira à préférer le fluconazole à l'amphotéricine B conventionnelle. Après identification de l'espèce, le traitement sera éventuellement ajusté en fonction de la sensibilité de la levure isolée aux antifongiques. En cas de résistance aux azolés (*Candida krusei*, *Candida glabrata*) et selon l'état de la fonction rénale, le fluconazole sera remplacé par l'amphotéricine B conventionnelle ou, si la créatininémie est élevée, par le voriconazole, par la caspofungine ou encore par une formulation lipidique d'amphotéricine B.

### **Traitement des candidoses invasives chez le neutropénique**

Selon la Conférence de consensus, l'amphotéricine B conventionnelle, la caspofungine ou l'amphotéricine B liposomale (en fonction de l'état de la fonction rénale) sont préconisées pour le traitement empirique des candidoses invasives chez le neutropénique.

Après identification de l'espèce, le choix sera fonction :

- de la fonction rénale. Ainsi, devant une altération de la fonction rénale, on préférera à l'amphotéricine B conventionnelle les formulations lipidiques d'amphotéricine B ou la caspofungine, qui est aussi efficace que l'amphotéricine B, mais beaucoup mieux tolérée.
- et de l'espèce isolée. Le fluconazole retrouve toute sa place en cas d'isolement d'une souche sensible, alors que le voriconazole peut être proposé devant une souche résistante au fluconazole ou de sensibilité intermédiaire. En cas de non-réponse thérapeutique au voriconazole, les échinocandines (caspofungine, micafungine) peuvent alors être proposées.

### **Les cryptococcoses**

La cryptococcose neuroméningée est une infection grave, et un traitement doit être entrepris rapidement devant la découverte de levures capsulées dans le LCR.

L'amphotéricine B, la 5-fluorocytosine et les triazolés (fluconazole, itraconazole, voriconazole) sont actifs sur les cryptocoques. Cependant, le traitement repose généralement sur l'administration d'une association d'amphotéricine B (0,7 à 1 mg par kg et par jour) en perfusion intra-veineuse lente et de 5-fluorocytosine (150 mg par kg et par jour) durant 2 à 3 semaines, avec ensuite un relai par un azolé (fluconazole 400 mg par jour). Le fluconazole peut aussi être utilisé en première intention à raison de 200 à 400 mg par jour pendant 4 à 6 semaines. Le traitement d'entretien pour éviter les rechutes (utilisant de préférence un triazolé) dépend du contexte pathologique sous-jacent. L'évolution du titre en antigènes cryptococciques permet de juger de l'efficacité thérapeutique.

### **Les géotrichoses profondes ou systémiques**

Les formes profondes sont exceptionnelles (immunodépression sévère). L'association voriconazole (ou fluconazole) + amphotéricine B serait efficace, mais le succès thérapeutique reste lié à la sortie de la neutropénie.

### **Les malassezioses profondes ou systémiques**

Les malassezioses disséminées restent rares. *Malassezia furfur* et *M. pachydermatidis* peuvent être responsables de fongémies et de méningites chez l'immunodéprimé et le prématuré sous alimentation parentérale à base d'Intralipide®. Le retrait du cathéter peut faire

disparaître la fongémie. L'amphotéricine B par voie intra-veineuse pendant 10 jours et le kétoconazole (200 mg par jour) sont indiqués dans ces formes systémiques.

### **Les rhodotoruloses et saccharomycoses profondes ou systémiques**

Les fongémies à *Rhodotorula* ou *Saccharomyces* et les rhodotoruloses ou saccharomycoses profondes (endocardites) ou disséminées sont rares ou exceptionnelles. Les *Rhodotorula* sont sensibles à l'amphotéricine B et à la 5-fluorocytosine, et les *Saccharomyces* à l'amphotéricine B, à la 5-fluorocytosine et aux triazolés (voriconazole).

### **Les trichosporonoses profondes ou systémiques**

Les fongémies à *Trichosporon* et les formes profondes (endocardites) ou disséminées, qui sont dues principalement à *T. asahii*, *T. mucoides* et *T. inkin*, sont de mauvais pronostic. Le traitement fait appel au voriconazole ou à une association d'amphotéricine B et de fluconazole. Comme les cryptocoques et les levures du genre *Malassezia* ou *Rhodotorula*, les *Trichosporon* sont résistants aux échinocandines.



# RÉFÉRENCES

## Références générales conseillées

---

ANOFEL. Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Collection Abrégés connaissances et pratique. Editions Elsevier Masson, Paris, 2007, 321 pp.

CAMPBELL C.K., JOHNSON E.M., PHILPOT C.M., WARNOCK D.W. Identification of pathogenic fungi. Public Health Laboratory Service, 1996, 298 pp.

CHABASSE D., CONTET-AUDONNEAU N., BOUCHARA J.P., BASILE A.M. Moisissures, Dermatophytes et Levures, du prélèvement au diagnostic. bioMérieux SA Editeurs, 2008, 190 pp.

CHABASSE D., GUIGUEN C., CONTET-AUDONNEAU N. Mycologie médicale. Masson, Paris, 1999, 324 pp.

CHABASSE D., ROBERT R., MAROT A., PIHET M. *Candida* pathogènes. Monographie de Microbiologie, Collection dirigée par Jean-Paul Larpent. Editions Tec et Doc Lavoisier, 2006, 178 pp.

DE HOOG G.S., GUARRO J., GENE J., FIGUERAS M.J. Atlas of clinical fungi, 2nd edition. Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands / Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain. 2000, 1-26.

GRILLOT R. Les mycoses humaines : démarche diagnostique. Collection optionbio. Elsevier Editeur-Paris, 1997, 392 pp.

KOENIG H. Guide de mycologie médicale. Ellipse, 1995, 284 pp.

KURTZMAN C.P., FELL J.W. The yeasts, a taxonomic study, fourth edition. Elsevier, New-York, 1998, 1055 pp.

KWON-CHUNG K.J., BENNETT J.E. Medical Mycology. Lea et Febiger, London, 1992, 866 pp.

RIPPON J.W. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. Third edition. Saunders ed., Philadelphia, 1988.

## Références spécifiques

---

ANANE S., KHALFALLAH F. Diagnostic biologique des candidoses systémiques : difficultés et perspectives. *Pathol. Biol.*, 2007, 55 : 262-272.

ASHBEE H.R. Update on the genus *Malassezia*. *Med. Mycol.*, 2007, 45 : 287-303.

BARIOLA J.R., SACCENTE M. *Candida lusitanae* septic arthritis : case report and review of the literature. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2008, 61 : 61-63.

BASTIDES M. Malassezioses. *Encycl. Méd. Chir. (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris) Maladies infectieuses*, 8-603-A-10, 2001, 9p

BAUMGARTNER C., FREYDIERE AM., GILLE Y. Direct identification and recognition of yeasts species from clinical material by using Albicans ID and CHROMagar *Candida* plates. *J. Clin. Microbiol.*, 1996, 34 : 454-456.

BOTTEREL F. Démarche diagnostique et prise en charge des infections fongiques chez les patients immunodéprimés. *Antibiotiques*, 2007, 9 : 34-43.

BOUGNOUX M.E., MORAND S., D'ENFERT C. Usefulness of multilocus sequence typing for characterization of clinical isolates of *Candida albicans*. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, 40 : 1290-1297.

BRETAGNE S. Antigènes fongiques en réanimation : tests disponibles et état des lieux. *Réanimation*, 2007, 16 : 232-239.

BRUN S., BOUCHARA J.P., CHABASSE D. Diagnostic au Laboratoire des mycoses profondes. *Rev. Fr. Lab.*, 2004, 359 : 33-38.

CASSONE M., SERRA P., MONDELLO F., *et al.* Outbreak of *Saccharomyces cerevisiae* subtype *boulardii* fungemia in patients neighboring those treated with a probiotic preparation of the organism. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41 : 5340-5343.

CHAGAS-NETO T.C., CHAVES G.M., COLOMBO A.L. Update on the genus *Trichosporon*. *Mycopathologia*, 2008, 166 : 121-132.

CHANG A., NEOFYTOS D., HORN D. Candidemia in the 21th century. *Future Microbiol.*, 2008, 3 : 463-472.

CRESPO-ERCHIGA V., FLORENCIO VD. *Malassezia* yeasts and pityriasis versicolor. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2006, 19 : 139-147.

DE GENTILE L., BOUCHARA J.P., CIMON B., CHABASSE D. *Candida ciferrii* : clinical and microbiological features of an emerging pathogen. *Mycoses*, 1991, 34 : 125-128.

- DE PAUW B., WALSH T.J., DONNELLY J.P., *et al.* ; Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin. Infect. Dis.*, 2008, 46 : 1813-1821.
- DEVELOUX M., BRETAGNE S. Candidoses et levures diverses. *Encycl. Méd. Chir.* (Elsevier SAS, Paris) Maladies infectieuses, 8-602-A-10, 2005.
- DEVLIN R.K. Invasive fungal infections caused by *Candida* and *Malassezia* species in the neonatal intensive care unit. *Adv. Neonatal Care*, 2006, 6 : 68-77.
- DIFONZO E.M., FAGGI E. Skin diseases associated with *Malassezia* species in humans. Clinical features and diagnostic criteria. *Parassitologia*, 2008, 50 : 69-71.
- DUPONT B. Utilisation des antifongiques topiques. *Thérapie*, 2006, 6 : 251-254.
- FREYDIÈRE A.M., GUINET R., BOIRON P. Yeasts identification in the clinical microbiology laboratory : phenotypical methods. *Med. Mycol.*, 2001, 39 : 9-33.
- FREYDIÈRE A.M., ROBERT R., PLOTON C., *et al.* Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, GLABRATA RTT. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41 : 3861-3863.
- FRICKER-HIDALGO H., ORENGA S., LEBEAU B., *et al.* Evaluation of Candida ID, a new chromogenic medium for fungal isolation and preliminary identification of some yeast species. *J. Clin. Microbiol.*, 2001, 39 : 1647-1649.
- FRIDKIN S.K., JARVIS W.R. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1996, 9 : 499-511.
- GALUPPI R., TAMPIERI M.P. Epidemiology and variability of *Malassezia* spp. *Parassitologia*, 2008, 50 : 73-76.
- GARCIA-HERMOSO D., CABARET O., LECHELLIER G., *et al.* Comparison of microsatellite length polymorphism and multilocus sequence typing for DNA-Based typing of *Candida albicans*. *J. Clin. Microbiol.*, 2007, 45 : 3958-3963.
- GARZONI C., NOBRE V.A., GARBINO J. *Candida parapsilosis* endocarditis : a comparative review of the literature. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2007, 26 : 915-926.
- GUILLOT J., HADINA S., GUÉHO E. The genus *Malassezia* : old facts and new concepts. *Parassitologia*, 2008, 50 : 77-79.
- HENNEQUIN C. Rôle du laboratoire dans le diagnostic et la prévention des infections fongiques. *Ann. Fr. Anesth. Réanim.*, 2001, 20 : 407-412.
- HERBRECHT R., ZAMIR A., LETCHER-BRU V. Candidoses viscérales. *Rev. Prat.*, 2001, 51 : 725-730.
- HOCHART S., BARRIER F., DURAND-JOLY I., *et al.* Les antifongiques systémiques. Partie 2 : éléments thérapeutiques. *Pharm. Hosp.*, 2008, 43 : 155-168.

HSIUE H.C., HUANG Y.T., KUO Y.L., *et al.* Rapid identification of fungal pathogens in positive blood cultures using oligonucleotide array hybridization. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010, 16 : 493-500.

JARVIS J.N., DROMER F., HARRISON T.S., LORTHOLARY O. Managing cryptococcosis in the immunocompromised host. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2008, 21 : 596-603.

KAUFFMAN C.A. Clinical efficacy of the new antifungal agents. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2006, 9 : 483-488.

KHLIF M., SELLAMI A., SELLAMI H., MAKNI F., AYADI A. *Candida dubliniensis* : méthodes d'identification et implications épidémiologiques. *Pathol. Biol. (Paris)* 2008, Nov 27. [Epub ahead of print].

LACROIX C., FEUILHADE DE CHAUVIN M. Infections dues à *Trichosporon* spp. et à *Geotrichum* spp. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier SAS, Paris) Maladies infectieuses*, 8-601-A-10, 2005.

LAU A., SORRELL T.C., CHEN S., *et al.* Multiplex tandem PCR: a novel platform for rapid detection and identification of fungal pathogens from blood culture specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, 46 : 3021-3027.

LEAW S.N., CHANG H.C., SUN H.F., *et al.* Identification of medically important yeast species by sequence analysis of the internal transcribed spacer regions. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44 : 693-699.

LEFORT A., GANTIER J.C., LORTHOLARY O. Endocardites fongiques. *Réanimation*, 2004, 13 : 197-204.

LI L., REDDING S., DONGARI-BAGTZOGLOU A. *Candida glabrata* : an emerging oral opportunistic pathogen. *J. Dent. Res.*, 2007, 86 : 204-215.

LORTHOLARY O., GANGNEUX J.P., MONTRAVERS P., *et al.* Epidemiology, management and risk factors for death of invasive *Candida* infection in critical care units : a multicentre, prospective, observational study in France (2005-2006). 18th European Conference of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, 2008 : 19-22.

MARKLEIN G., JOSTEN M., KLANKE U., *et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, 47 : 2912-2917.

MAROT-LEBLOND A., BEUCHER B., DAVID S., NAIL-BILLAUD S., ROBERT R. Development and evaluation of a rapid latex agglutination test using a monoclonal antibody to identify *Candida dubliniensis* colonies. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44 : 138-142.

MICHEL-NGUYEN A., FAVEL A., REGLI P. Identification des levures au laboratoire : comment allier performance et simplicité. *Feuillets de Biologie*, 2002, 43 : 41-52.

MIRRETT S., RELLER L.B., PETTI C.A., *et al.* Controlled clinical comparison of BacT/ALERT standard aerobic medium with BACTEC standard aerobic medium for culturing bloods. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41 : 2391-2394.

- PAUGAM A., BAIXENCHV M.T., VIGUÉ C. An update on *Candida dubliniensis*. Med. Mal. Infect., 2008, 38 : 1-7.
- PFALLER M.A., DIEKEMA D.J. Epidemiology of invasive candidiasis ; a persistent public health problem. Clin. Microbiol. Rev., 2007, 20 : 133-163.
- PITTET D., MONOD M., SUTER P.M., FRENK E., AUCKENTHALER R. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. Ann. Surg., 1994, 220 : 751-758.
- REIGNIER B., ATTAL M., BEZIE Y., *et al.* Prise en charge des aspergilloses et candidoses invasives chez l'adulte. In : Conférence de consensus commune SFAR, SPILF, SFRL. Elsevier SAS (ed). 2004 : 5-13.
- RELLER M.E., MALLONEE A.B., KWIATKOWSKI N.P., MERZ W.G. Use of peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization for definitive, rapid identification of five common *Candida species*. J. Clin. Microbiol., 2007, 45 : 3802-3803.
- RUHNKE M. Epidemiology of *Candida albicans* infections and role of the non *Candida albicans* yeasts. Curr. Drug Targets, 2006, 7 : 495-504.
- SINGH N., DROMER F., PERFECT J.R., LORTHOLARY O. Cryptococcosis in solid organ transplant recipients : current state of the science. Clin. Infect. Dis., 2008, 15, 47 : 1321-1327.
- TORTORANO A.M., PEMAN J., BENHARDT H., *et al.* Epidemiology of candidaemia in Europe : results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital –based surveillance study. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 2004, 23 : 317-322.
- TORTORANO A.M., KIBBLER C., PEMAN J., *et al.* Candidaemia in Europe : epidemiology and resistance. Int. J. Antimicrob. Agents., 2006, 27 : 359-366.
- TOUBAS D., ESSENDOUBI M., ADT I., *et al.* FTIR spectroscopy in medical mycology : applications to the differentiation and typing of *Candida*. Anal. Bioanal. Chem., 2007, 387 : 1729-1737.
- TUON F.F., DE ALMEDIA G.M., COSTA S.F. Central venous catheter associated fungemia due to *Rhodotorula* spp. A systematic review. Med. Mycol., 2007, 45 : 441-447.
- TROFA D., GACSER A., NOSANCHUK JD. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. Clin. Microbiol. Rev., 2008, 21 : 606-625.
- WHITE P.L., SHETTY A., BARNES R.A. Detection of seven *Candida* species using the Light-Cycler system. J. Med. Microbiol., 2003, 52 : 229-238.
- WOLF M., BOUMDA L., MOURVILLIER B. Apport des nouveaux azolés dans la prise en charge des infections fongiques. Thérapie, 2006, 61 : 227-233.

# GLOSSAIRE

## A

<b>Actidione</b>	Nom commercial du cycloheximide, antibiotique antifongique, qui, inclus dans les milieux de culture, inhibe la croissance de nombreuses moisissures, mais aussi de certaines levures.
<b>Agar (= agar-agar)</b>	Polymère de l'agarose qui rentre dans la composition des milieux de culture solides en microbiologie. Aussi appelé gélose.
<b>Anamorphe</b>	Se dit d'un état de fructification asexué (ou imparfait) rencontré chez un champignon.
<b>Arthrospore</b>	Spore asexuée issue de la fragmentation progressive et rétrograde d'un filament au niveau des septa. Aussi appelée arthroconidie.
<b>Ascomycète</b>	Champignon à thalle lévuriforme ou septé dont la reproduction sexuée est assurée de manière endogène, par production d'ascospores à l'intérieur d'un asque. Aussi appelé Ascomycotina.
<b>Ascomycotina</b>	Voir Ascomycète.
<b>Ascospore</b>	Spore sexuée produite de manière endogène à l'intérieur d'un asque et caractéristique des Ascomycètes.
<b>Asque</b>	Formation sexuée chez les Ascomycètes, soit arrondie (asque protunique), soit allongée avec une seule paroi (asque unitunique) ou avec deux parois (asque bitunique). Elle renferme à maturité les ascospores.
<b>Auxanogramme</b>	Technique d'identification des levures basée sur l'étude du profil d'assimilation (propre à chaque espèce) des hydrates de carbone (oses, osamines, polyols, acides uroniques, ...) comme source de carbone et d'énergie.

## B

<b>Basidiomycète</b>	Champignon à thalle lévuriforme ou septé dont la reproduction sexuée est assurée par bourgeonnement à l'extrémité de cellules spécialisées appelées basides. Les spores sexuées ainsi produites sont appelées basidiospores. Aussi appelé Basidiomycotina.
<b>Blastomycètes</b>	Classe des Deutéromycotina qui regroupe les levures asexuées.
<b>Blastospores</b>	Terme qui désigne les spores asexuées produites par bourgeonnement. En pratique, ce terme est réservé aux spores produites sur le mode blastique solitaire (levures), sur le mode blastique synchrone ( <i>Paracoccidioides</i> , ...) ou sur le mode blastique acropète (pseudomycélium de certaines levures, <i>Cladosporium</i> , ...).

**Boîte de Pétri** Récipient plat en verre ou en plastique avec base et couvercle permettant de couler les milieux de culture en microbiologie (milieu de Sabouraud notamment).

**Bourgeonnement** Mode de reproduction asexuée le plus fréquent chez les Septomycètes. Ce mode de reproduction très fréquent chez les levures résulte d'une division nucléaire par mitose, qui induit la formation d'un bourgeon dans lequel s'engage l'un des noyaux fils. Puis le bourgeon grandit, les deux noyaux se séparent, une cloison se forme à l'émergence du bourgeon et les deux cellules se séparent. Ce mode de reproduction aboutit chez les levures à la production d'une cellule fille appelée blastospore (spore asexuée produite par bourgeonnement) identique à la cellule parentale.

## C

**Candidoses** Terme regroupant toutes les infections cutanées, muqueuses ou profondes dues à des levures du genre *Candida*. Autrefois appelées monilioses.

**Champignon** (en Anglais *Fungi*) Vient d'un vieux mot français, Champignuel, du latin *campagniolus* : qui vit dans les champs. Au sens littéraire (Larousse, Petit Robert), il désigne un végétal formé d'un pied surmonté d'un chapeau correspondant à de nombreuses espèces comestibles ou vénéneuses. Sur un plan scientifique, il définit tout organisme appartenant au règne des Mycètes.

**Chéilite** Lésion inflammatoire des lèvres d'origine allergique ou infectieuse, notamment mycosique. Dans ce dernier cas, le champignon incriminé est le plus souvent une levure appartenant au genre *Candida*.

**Chlamydospore** Forme de résistance produite par les champignons lorsque les conditions deviennent défavorables et caractérisée par une paroi très épaisse. Elle se forme à partir d'un article du filament mycélien (ou parfois d'un article d'une spore pluricellulaire comme chez les *Fusarium*). Il ne s'agit pas réellement d'une spore car il n'y a pas de mécanismes de libération. Pour les levures, *Candida albicans* et *Candida dubliniensis* produisent facilement des chlamydospores sur milieu à base de bile ou de tween (gélose PCB ou milieu RAT).

**Commensal** Se dit d'un organisme (bactérie, protozoaire, champignon, ectoparasite, ...) qui vit chez l'homme ou l'animal sans lui occasionner de troubles particuliers. Par exemple *Candida albicans* et *Candida glabrata* vivent en commensales dans les voies digestives et génito-urinaires de l'homme.

**Commensalisme** Se dit d'une espèce qui vit en commensale, c'est à dire qui profite pour sa nourriture et/ou sa reproduction d'un autre organisme vivant sans engendrer de préjudice pour ce dernier. Littéralement, parasitisme bien toléré.

**Conidiogénèse** Ensemble des mécanismes intervenant dans la production des conidies.

**Cycloheximide** Voir Actidione®.

## D

**Dermite séborrhéique** Inflammation d'une zone cutanée riche en glandes sébacées. L'étiologie est mal connue, mais des levures appartenant au genre *Malassezia* sont souvent incriminées.

**Dimorphique** Aptitude de certains champignons pathogènes à changer de morphologie lors du passage de l'état saprophyte *in vitro*, dans la nature ou en culture à température ambiante) à l'état parasitaire (*in vivo* et parfois en culture à 37°C et dans des conditions particulières : milieu de culture, atmosphère riche en gaz carbonique).

## E

**Electrosynérèse** Technique immunologique de recherche d'anticorps par mise en évidence des arcs de précipitation formés au point de rencontre avec les antigènes correspondants lors de la migration sous l'effet d'un champ électrique. Lors de la migration électrophorétique, les protéines chargées négativement au pH du tampon de migration migrent vers la cathode, mais pas les anticorps. Ces derniers, très peu chargés à ce pH, migrent en sens inverse du courant électrique, sous l'effet du courant d'électroendosmose.

**Eucaryote** Organisme qui, par opposition aux procaryotes, possède un noyau bien différencié, un génome constitué de plusieurs chromosomes enveloppés par une membrane unitaire et un cytoplasme pourvu d'organites (appareil de Golgi, mitochondries). Cette structure est partagée par toutes les cellules végétales, animales et fongiques.

## F

**Filament mycélien** Structure élémentaire du thalle des champignons filamenteux, d'aspect tubulaire, septé ou non (dans ce dernier cas, on parle de filaments siphonnés comme chez les Zygomycètes). L'ensemble des filaments mycéliens constitue le mycélium ou thalle. Synonyme : hyphe.

**Filamenteux** Qualitatif courant en mycologie pour désigner les champignons qui produisent des filaments par opposition aux levures au thalle unicellulaire.

<b>Folliculite</b>	Inflammation suppurée des follicules pilosébacés due principalement à une bactérie, mais parfois à une levure ou un dermatophyte. Exemple : folliculite de la barbe et du cuir chevelu à <i>Candida</i> chez les héroïnomanes.
<b>Fongicide</b>	Substance (médicament) capable de tuer les champignons.
<b>Fongique</b>	Qui se rapporte aux champignons.
<b>Fongistatique</b>	Substance (médicament capable d'inhiber (ralentir ou stopper) la croissance des champignons.

## G

<b>Gélose</b>	Voir agar.
<b>Genre</b>	Unité de classification des êtres vivants qui se situe entre l'unité de base qui est l'espèce et un niveau taxonomique plus élevé qui est la famille. Dans la dénomination binomiale des êtres vivants, le premier nom qui commence toujours par une majuscule désigne le genre. Exemple : <i>Candida albicans</i> , genre <i>Candida</i> , espèce <i>albicans</i> .
<b>Géotrichose</b>	Infection fongique due à des hyphomycètes arthrosporés appartenant au genre <i>Geotrichum</i> qui sont souvent assimilés aux levures.

## H

<b>Hyalin</b>	Terme utilisé en mycologie pour caractériser les spores ou les filaments dont la paroi est non pigmentée, et apparaît donc incolore ou transparente.
<b>Hyphe</b>	Voir filament mycélien.

## I

<b>Immunofluorescence</b>	Technique immunologique dans laquelle un anticorps (ou un antigène) déterminé est conjugué à un fluorochrome, ce qui permet de détecter sa présence en lumière UV et de visualiser sa fixation à l'antigène (ou l'anticorps) correspondant.
<b>Immunoempreinte</b>	Technique immunologique de recherche d'anticorps par mise en évidence de leur fixation sur des antigènes séparés par électrophorèse, puis transférés sur une membrane de nitrocellulose, de nylon ou d'Immobilon. En anglais : western-blot.
<b>Immunotransfert</b>	Voir immunoempreinte.
<b>Imparfait</b>	Se dit de la forme asexuée (ou anamorphe) d'un champignon.

**Intertrigo** Atteinte d'un pli d'origine infectieuse (bactérienne ou fongique) ou non.

## L

**Levure** Champignon microscopique à thalle unicellulaire, qui se reproduit par bourgeonnement.

## M

**Malasseziose** Infection superficielle ou profonde due à des levures appartenant au genre *Malassezia* (anciennement appelé *Pityrosporon*).

**Milieu de Sabouraud** Milieu de culture habituel en mycologie. Il contient de la gélose (agar-agar), de la peptone, du glucose et de l'eau distillée. On y ajoute souvent des antibiotiques (chloramphénicol, gentamicine), et parfois du cycloheximide pour inhiber la croissance de certaines moisissures, mais celui-ci inhibe aussi la croissance de certaines levures.

**Muguet buccal** Mycose siégeant au niveau de la langue, de la face interne des joues et du palais, et se traduisant par des amas blancs crémeux confluent en plaque sur une muqueuse inflammatoire. L'une des formes cliniques des candidoses buccales.

**Mycélium** Ensemble des hyphes constitutifs de l'appareil végétatif des champignons. On distingue le mycélium végétatif (qui assure la nutrition) du mycélium reproducteur (qui assure la production et la dispersion des spores).

**Mycète** Un des cinq règnes du monde vivant selon la classification de Wittaker (1969). Les mycètes sont des organismes eucaryotes, hétérotrophes, constitués d'un thalle unicellulaire ou filamenteux et vivant en saprophytes, en commensaux ou en parasites.

**Mycose** Manifestation pathologique provoquée par la présence d'un champignon microscopique dans l'organisme. On distingue les mycoses superficielles, et les mycoses profondes ou systémiques.

## N

**Nosocomial** Ce terme désigne une maladie infectieuse contractée lors d'une hospitalisation.

## O

**Onycholyse** Décollement de l'ongle de son lit.

**Onychomycose** Infection des ongles causée par un champignon. Aussi appelée onyxis fongique.

<b>Onyxis</b>	Lésion des ongles, parfois causée par un champignon et dans ce cas appelée onychomycose.
<b>Opportuniste</b>	Se dit d'un organisme qui, chez son hôte, profite d'une déficience locale ou générale (par exemple, une diminution des défenses immunitaires de l'hôte) pour exprimer son pouvoir pathogène.
<b>Otomycose</b>	Mycose du conduit auditif externe.

## P

<b>Parfait</b>	Terme désignant la forme sexuée ou téléomorphe d'un champignon.
<b>Paroi</b>	Structure plurilamellaire doublant la membrane plasmique des cellules fongiques, mais aussi des cellules végétales et des bactéries. Les cellules animales, par contre, sont dépourvues de paroi.
<b>Peptone</b>	Mélange de peptides issus d'une hydrolyse enzymatique ou chimique de viandes (ou de végétaux) et entrant dans la composition de certains milieux utilisés en mycologie.
<b>Périorionyxis</b>	Inflammation du pourtour de l'ongle, d'origine fongique, bactérienne ou allergique.
<b>Perlèche</b>	Atteinte inflammatoire de la commissure des lèvres qui peut être d'origine fongique, due en particulier à des levures issues de la cavité buccale.
<b>Pityriasis capitis</b>	Affection du cuir chevelu caractérisée par la présence de nombreuses squames fines, sèches, donnant un aspect de pellicules.
<b>Pityriasis versicolor</b>	Ensemble de taches jaune chamois ou brunes, siégeant principalement sur le tronc et le cou, et couvertes de fines squames qui se détachent facilement (signe du copeau).
<b>Pityrospore</b>	Voir malasseziose.
<b>Pseudofilament</b>	Chaîne de blastospores plus ou moins allongées, formées par bourgeonnements successifs. A la suite du bourgeonnement et du cloisonnement, il n'y a pas de libération des spores. Les blastospores restent accolées les unes aux autres, réalisant ainsi un filament plus ou moins long, parfois ramifié, et présentant des étranglements au niveau des cloisons ou septa (exemple du pseudomycélium de <i>Candida albicans</i> ).
<b>Pseudomycélium</b>	Voir pseudofilament.

## R

- Reproduction** Chez les champignons, action de se reproduire en mettant en œuvre des processus sexués ou asexués. Elle permet à l'espèce de se perpétuer. C'est sur les modes de reproduction qu'est basée la classification.
- Rhodotorulose** Infection fongique due à des levures appartenant au genre *Rhodotorula*.

## S

- Saccharomycose** Infection fongique due à des levures appartenant au genre *Saccharomyces*.
- Saprophyte** Se dit d'un organisme vivant qui se nourrit à partir de substrats organiques en décomposition (matière morte).
- Saprophytisme** Mode de nutrition à partir de substrats organiques morts, en décomposition.
- Septum** Cloison séparant deux articles d'un filament (ou d'une spore).
- Septé** Se dit d'un filament divisé par des cloisons transversales ou septa.
- Spore** Élément issu de la reproduction sexuée ou asexuée des champignons et destiné à assurer la survie du champignon et sa propagation.
- Symbiose** Association durable de deux organismes qui y trouvent un bénéfice réciproque.

## T

- Téléomorphe** Stade sexué (forme parfaite) d'un champignon.
- Thalle** Ensemble de l'appareil végétatif et reproducteur d'un champignon. Il peut être unicellulaire (levure) ou filamenteux.

## W

- Western-blot** Voir immunoempreinte.

# ANNEXES

## 1 - Eclaircissants pour examen direct

Les éclaircissants sont indiqués pour les examens directs (on peut aussi accélérer l'éclaircissement de la préparation en passant le montage sur lame porte-objet pendant quelques secondes dans la flamme de la veilleuse du bec Bunsen ou sur une platine chauffante).

Tous ces produits sont à conserver en flacons bruns à l'abri de la lumière, et de préférence au réfrigérateur.

### Lactophénol d'Amman

Phénol	10	ml
Acide lactique	10	ml
Glycérine	20	g
Eau distillée	10	ml

Dissoudre le phénol et l'acide lactique dans un peu d'eau avant de faire le mélange.  
À conserver en flacon brun.

### Chloral-lactophénol

Hydrate de chloral	20	g
Phénol	10	ml
Acide lactique	10	ml

Intéressant quand le résultat de l'examen n'est pas demandé sur le champ car il permet l'éclaircissement à froid et la conservation des examens directs.

### Potasse à l'eau

Hydroxyde de potassium	20	g
Eau distillée	80	ml

Permet une lecture immédiate du montage. La plupart des artéfacts disparaissent rapidement si la potasse est de préparation récente (15 jours maximum). Peu utilisable pour les cheveux favigues, la potasse est par contre très intéressante pour les ongles, mais une lecture rapide est indispensable.

### Solution de noir chlorazole

Dissoudre 5 g d'hydroxyde de potassium dans 90 ml d'eau distillée.

Parallèlement, dissoudre 100 mg de noir chlorazole E (Sigma) dans 10 ml de diméthylsulfoxyde.

Verser la solution de noir chlorazole dans la solution d'hydroxyde de potassium.

Eclaircit et colore en bleu-noir les éléments fongiques.

### Bleu coton au lactophénol

Phénol	20	ml
Acide lactique	20	ml
Glycérine	40	g
Bleu coton (bleu de méthyle)	0,5	g
Eau distillée	20	ml

Ce réactif est commercialisé par la société Becton-Dickinson.

## Fluorochromes

Eclaircir la préparation par la potasse à 10% pendant 5 à 15 min.

Puis, recouvrir la préparation de fluorochrome pendant 1 à 5 min :

- Blankophor P Flüssig (Bayer) à 0,1% en eau distillée,
- Calcofluor white (Sigma) à 0,1% en eau distillée,
- Uvitex 2B à 1% en tampon phosphate salin (solution commercialisée par Ciba Corning sous le nom de Fungiquil A).

Lecture au microscope à fluorescence avec un filtre bleu 400-440 nm.

## Kit Mycetcolor® (SDS et rouge Congo)

Ce kit commercialisé par la société SR2B colore en rouge les éléments mycéliens.

## 2 - Colorant des cultures

### Bleu au lactophénol

Acide phénique cristallisée	10	g
Acide lactique	10	g
Glycérine	20	g
Bleu coton (bleu de méthyle)	0,25	g
Eau distillée	10	ml

Commercialisé par la société RAL. La société SR2B commercialise depuis peu un réactif très voisin pour l'examen des cultures (Mycet Blue).

## 3 - Milieux d'isolement

### Milieu de Sabouraud simple

Néopeptone	10	g
Glucose	20	g
Agar	20	g
Eau distillée	q.s.p.	1000 ml
pH : 5 - 5,6		

Autoclaver pendant 15 min à 115°C.

Attention ! Une température supérieure entraîne un certain degré de caramélisation du glucose.

Conservation pendant 1 à 2 mois à 4°C.

### Milieux de Sabouraud additionnés d'antibiotiques

- Chloramphénicol 0,5 g/l
- Gentamicine 0,01 à 0,1 g/l
- Chloramphénicol + gentamicine
- Antibiotiques + cycloheximide (Actidione®) 0,5 g/l

Attention ! La gentamicine est thermolabile et ne peut être autoclavée. Le cycloheximide doit être solubilisé dans 2 ml d'acétone.

Ces antibiotiques sont destinés à inhiber la multiplication des bactéries éventuellement présentes qui, du fait de leur croissance beaucoup plus rapide, pourraient empêcher la croissance des champignons. A cet égard, le chloramphénicol ou l'association gentamicine-chloramphénicol seraient plus efficaces que la gentamicine seule.

De même, le cycloheximide, inefficace à cette concentration sur les dermatophytes, inhibe la croissance de certaines levures, mais surtout de nombreux contaminants à croissance rapide qui pourraient masquer la présence d'un dermatophyte.

### Milieux de Sabouraud commercialisés prêts à l'emploi

Cinq sociétés commercialisent aujourd'hui des milieux de Sabouraud prêts à l'emploi (en tubes ou boîtes de Pétri) : Becton-Dickinson, Bio-Rad, Oxoid, AES et bioMérieux.

Il faut cependant signaler que, bien que présentés sous une dénomination commune (milieux de Sabouraud), ces milieux commerciaux diffèrent souvent largement de la formulation originale, par leur pH, leur teneur en glucose et en antibiotiques, la nature et la concentration de la source d'azote ou encore l'adjonction d'extrait de levures.

## 4 - Milieux d'identification des levures

### Milieu Yeast extract - Peptone - Glucose - Agar (YPGA)

Glucose	20	g
Mycological peptone (Oxoid)	5	g
Yeast extract (Oxoid)	10	g
Agar	15	g

### Milieu RAT (Rice Agar Tween)

Rice Extract Agar Difco	25	g
Tween 80	10	ml
Eau distillée	1000	ml

Intéressant pour la formation de chlamydosporos et du pseudomycélium.

### Milieu de Dixon

Malt extract agar (Difco)	20	g
Bile de boeuf desséchée (Difco)	20	g
Tween 40	10	ml
Peptone	6	g
Glycerol	2	ml
Acide oléique	2	ml
Agar	12	g
Chloramphénicol	0,5	g
Cycloheximide	0,5	g
Eau distillée	1000	ml

pH : 6,2

Intéressant pour l'isolement des *Malassezia*.

## Milieu aux graines de *Guizotia abyssinica*

Pour *Cryptococcus neoformans*.

Extrait de graines de <i>G. abyssinica</i>	200	ml
Glucose	1	g
Agar	20	g
Eau distillée	1000	ml

## Milieu CHROMagar *Candida*

Agar	15	g
Peptone	10	g
Mélange spécial chromogène CHROMagar <i>Candida</i>	22	g
Chloramphénicol	0,5	g
Eau distillée	1000	ml

pH : 5,5

Préparation par chauffage au bain-marie bouillant.

Mettre dans un récipient 250 ml (ou 500 ml suivant la dose utilisée) d'eau déminéralisée ou distillée.

Verser en saupoudrant lentement dans l'eau le contenu d'une dose et laisser gonfler. Agiter avec un mouvement de rotation pour mélanger.

Porter lentement à ébullition, en agitant régulièrement et en évitant toute surchauffe (plusieurs ébullitions successives jusqu'à transparence complète du milieu).

Laisser refroidir et agiter doucement pour homogénéiser sans faire de bulles. Couler en boîtes de Pétri ou en tubes.

Si les boîtes sont utilisées dans la journée, les conserver à température ambiante. Dans le cas contraire, conservation au réfrigérateur.

### Utilisation

Coulé en boîtes de Pétri, le milieu est transparent. Ce milieu peut être utilisé pour l'ensemencement des prélèvements ou comme milieu d'identification.

### Lecture et interprétation

Incubation à 37°C puis lecture à 36 heures.

Colonies de levures

**vertes** : identification de *C. albicans*/*C. dubliniensis*

**bleues** : pré-identification de *C. tropicalis*

**rose crénelées** : pré-identification de *C. krusei*

**roses ou incolores** : autres espèces

ISSN : 1293-2892  
ISBN : 2-913633-56-0  
SOUS-TITRE  
19, avenue d'Italie 75013 Paris  
Dépôt légal : Juin 2010



# CAHIER DE **Formation** Biologie médicale

## Cahiers de formation déjà parus

---

- |  |   |
|--|---|
| N° 1 : Hématologie   | N° 25 : Les moisissures d'intérêt médical                             |
| N° 2 : Immunoanalyse   | N° 26 : Immuno-hématologie et groupes sanguins                        |
| N° 3 : Parasitologie   | N° 27 : Les marqueurs cardiaques                                      |
| N° 4 : Bactériologie   | N° 28 : Immunoglobulines monoclonales                                 |
| N° 5 : Hormonologie - Gazométrie                                 | N° 29 : Mycobactéries - Mycobactérioses                               |
| N° 6 : G.B.E.A   | N° 30 : Exploration de la fonction de reproduction - versant féminin  |
| N° 7 : Immuno-allergie (1)                                       | N° 31 : Les dermatophytes   |
| N° 8 : Hémoglobines glyquées - Lipides                           | N° 32 : Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides           |
| N° 9 : Dosage des médicaments Tome I                             | N° 33 : Sport et Biologie   |
| N° 10 : Hématologie Cas illustrés                                | N° 34 : Borréliose de Lyme  |
| N° 11 : Amibes et flagellés intestinaux                          | N° 35 : L'Inflammation  |
| N° 12 : Les maladies à Prions                                    | N° 36 : Le virus Epstein-Barr et les marqueurs de l'infection         |
| N° 13 : Autoimmunité et autoanticorps                            | N° 37 : Maladies auto-immunes du foie                                 |
| N° 14 : L'exploration de la thyroïde                             | N° 38 : Les vitamines   |
| N° 15 : Dépistage de la trisomie 21                              | N° 39 : Les dosages biologiques dans l'ostéoporose                    |
| N° 16 : Immuno-allergie (2)                                      | N° 40 : Des agents très spéciaux en bactériologie                     |
| N° 17 : Virus des hépatites A (VHA) et E (VHE)                   | N° 41 : Le vieillissement hormonal - Tome 1                           |
| N° 18 : Dosage des médicaments Tome II                           | N° 42 : Exploration de la fonction de reproduction - versant masculin |
| N° 19 : Vaginites et vaginoses                                   | N° 43 : Le pancréas   |
| N° 20 : Hémostase et thrombose                                   |   |
| N° 21 : Virus des hépatites B (VHB), Delta (VDH),C (VHC), autres |   |
| N° 22 : Syndrome des anti-phospholipides                         |   |
| N° 23 : Parasites sanguins                                       |   |
| N° 24 : Biochimie pédiatrique                                    |   |
- 

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A. et R.S.I.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes (S.d.B., S.N.M.B. et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privé ou hospitalier, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros sont disponibles à la consultation sur le site Internet [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net).

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6500 exemplaires.

ISSN : 1293-2892  
ISBN : 2-913633-56-0  
Dépôt légal : JUIN 2010