



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم: الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologique

Spécialité : Mycologie et biotechnologie fongique

Intitulé :

Les Candidoses Superficielles

Présenté et soutenu par :

Le : 04/10/2020

M^{lle} Douli lyna

M^{lle} Guizi feriel

Jury d'évaluation :

Président du jury : ABDELAZIZ Wided (MCP - UFM Constantine).

Rapporteur : REHAMNIA Yacine (A-HMRU- Constantine).

Examineurs : MEZIANI Meriem (MAA- UFM Constantine).

Année universitaire
2019-2020

★Remerciements★

*Au terme de reconnaissance et des sciences, je remercie tout d'abord, mon Dieu le tout puissant qui ma donné la force et la patience pour arriver à ce niveau.
Je tiens à témoigner mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail de fin d'étude.*

*J'exprime mes sincères gratitudes et remerciements envers mon encadreur DR
REHAMNIA YASINE pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable dans la réalisation de ce travail.*

Nos remerciements vont également à l'ensemble des enseignants de mycologie et biotechnologie fongique et du département de la microbiologie.

A tous, je dis merci.

Dédicace

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce Modest travail :

A celle qui m'arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour

A l'être le plus chère de ma vie

Ma mère HOURIA

A mon support dans ma vie

A celui qui ma fait une femme

MON PERE SALAH

Qui non jamais cessé, de formuler des prières a mon égard, de me soutenir et m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs

A mes chers sœurs et frères

MERIEEM, MARWA, FARID, ABD EL FATAH NAIL, ABD EL RAOUF

A ma grand-mère rabbi ychafiha, mes oncles et tante ZHOR et HADA et mon cousin MOHAMMED LAMIN

A tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom DOULI et ABBAS

Merci pour leurs amours et leurs encouragements

Dédicace spéciale à mon binôme GUIZI FERIEL

A tous mes amies : SAIBI NOURHANE, METATILA SARA, FILALI IBTISSAM, DOUADI MARWA.

DOULI LYNA

Dédicace

C'est avec grand plaisir et une immense fierté et joie que je dédie ce modeste travail :

À mon père Hammou

Pour sa présence et son exemple. Pour les sacrifices et l'amour inlassable que tu as consenti pour mon bien être, mon instruction et ma réussite. Merci pour ta confiance.

À ma mère Fahima

Ma douce et tendre mère. Quoi que je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivée là c'est bien grâce à vous, qu'Allah vous donne une longue vie et vous protège pour moi.

À mon frère Djalel (sa femme Romaisa et son fils Saden) et mon frère Naim (sa fiancé Nanis) : merci pour votre amour, vos conseils et votre soutien que Dieu les protègent et les préservent.

À mes oncles et tantes : Azeddine, Djamel, Moulod, Mohamed, wanisa, hahima, et Amel

Aux cousins et cousines : Mouna, Hadil, Samira, Rahma, Hako, Aymen

A tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom Guizi et Houcin merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Dédicace spéciale à mon binôme Douli lina

À toutes mes amis et collègues : Ibtissem, Hadjer, ikram, Nourhan, Bouchra, Sara, Rahim, Anoir, Sofian.

À la fin à toute personne que je connais et que j'aime et sans oublier celui qui m'aimait et j'avais un espace dans son cœur, merci pour leur soutien

Ferial...

Liste d'abréviation

µm, nm	:	Micromètre, nanomètre
5-FC	:	5-fluorocytosine
5-FU	:	5- fluorouracile
ADN	:	Acide désoxyribonucléique
ALS	:	Agglutinin-like sequence
Am B	:	Amphotéricine B
CCMC	:	Cutanéomuqueuse chronique
CD4	:	Cluster de différenciation
CLSI	:	Clinical and laboratory standars institute
Ctal1	:	Catalase 1
CVV	:	Candidose vulvo-vaginale (CVV)
ED	:	Examen directe
EPA	:	Epithelial adhesin
EUCAST	:	European committee for antimicrobial susceptibility testing
FLU	:	Fluconazole
g	:	Gramme
Hwp1	:	Hyphal wall protein
IL	:	Interleukin
Int1	:	Integrin-like protein
IST	:	Infection sexuellement transmissible
ITR	:	Itraconazole
KDa	:	KiloDalton
KET	:	Kétoconazole
LBA	:	Lavage broncho-alvéolaire
LCR	:	liquide céphalo-rachidien
MCZ	:	Miconazole
MGG	:	May-Grunwald-Giemsa
Min	:	Minute
Mm3	:	Millimètres cubes

Liste d'abréviation

MP 65	:	Mannoprotéines 65
°C	:	Degré Celsius
ORL	:	Oto-rhino-laryngologie
PCB	:	pomme de terre, carotte, bile
PH	:	potentiel hydrogène
Plb1	:	phospholipase B1
RAT	:	riz, agar, tween 80
Sap	:	Secreted Aspartyl Proteinase
Sod	:	Superoxyde dismutases
VIH	:	Human immunodeficiency viruses

Liste des figures

Figure 1	: Mycélium coenocytique (partie terminale en croissance).....	5
Figure 2.1	: Mycélium septé (structure d'un élément cellulaire).....	6
Figure 2.2	: Détail de la cloison.....	6
Figure 3	: Constitution de la paroi du champignon.....	7
Figure 4	: Systématique simplifiée des principales levures asexuées d'intérêt médical..	12
Figure 5	: Systématique des levures d'intérêt médical dont le stade asexué est connu (le nom du stade sexué est indiqué entre parenthèse).....	13
Figure 6	: Dessin animé de la paroi cellulaire du <i>Candida</i>	20
Figure 7	: La structure cellulaire du genre <i>Candida</i>	20
Figure 8	: Candidose pseudomembraneuse ou muguet.....	29
Figure 9	: La langue noir villosité.....	30
Figure 10	: La langue fissurée.....	30
Figure 11	: La langue géographique.....	31
Figure 12	: La perlèche et la chéilite.....	31
Figure 13	: La Candidose œsophagienne.....	32
Figure 14	: La Candidose vulvo-vaginale.....	34
Figure 15	: Balanite et balanoprostite à <i>Candida</i>	34
Figure 16	: Périonyxis et onyxis à <i>Candida</i>	36
Figure 17	: Intertrigo candidosique inter et sous-mammaire.....	36
Figure 18	: Intertrigo interdigito-plantaire à <i>Candida</i>	37
Figure 19	: Intertrigo interdigito-palmaire à <i>Candida</i>	37
Figure 20	: Candidose cutanéomuqueuse chronique.....	38
Figure 21	: Candidose cutanée néonatale ou congénitale.....	39
Figure 22	: La Candidose génito-fessière du nourrisson.....	40

Liste des figures

Figure 23	: Examen direct des prélèvements superficiels-muqueuses.....	45
Figure 24	: Examen directe des prélèvements superficiels-peau et phanères.....	46
Figure 25	: Colonies de <i>Candida albicans</i> (A), <i>Candida glabrata</i> (B), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (C).....	49
Figure 26	: Association des levures (<i>C.albicans</i> , <i>C.krusei</i> , <i>C.tropicalis</i> , <i>C.glabrata</i> <i>C.parapsilosis</i>) sur CHROMagar [®] <i>Candida</i> (A), <i>Candida ID</i> [®] 2 (B), CandiSelect [®] 4 (C) et <i>Candida Brilliance</i> [®] (D).....	49
Figure 27	: Test de blastèse.....	51
Figure 28	: Recherche de la chlamydosporulation.....	52
Figure 29	: Bichro_latex [®] albicans.....	53
Figure 30	: Glabrata RTT [®]	54
Figure 31	: Mécanisme d'action des antifongiques.....	58

Liste des tableaux

Tableau 1 : Modalités des prélèvements selon la localisation superficielle de la
Candidos.....43

Tableau 2 : Caractéristiques morphologiques des principales levures d'intérêt médical....56

Sommaire :

- Résumées
- Introduction.....01

Chapitres 01 : Généralités sur les champignons et les levures d'intérêt médicale.

I. Les champignons.....	04
I.1.Définition.....	04
I.2.Organisation et structure des champignons.....	04
I.3.La multiplication et la reproduction des champignons	07
I.4. Place des champignons émergents en mycologie médicale.....	09
II. Les levures.....	11
II.1. Définition.....	11
II.2.Classification des levures.....	11
II.3. Les caractères morphologiques.....	13
II.4. Les caractères physiologiques.....	15

Chapitre 02 : La physiopathologie des Candidoses superficielles

I. les mycoses superficielles	18
II. Les Candidoses superficielles.....	18
II.1.Agent pathogène.....	19
II.2. Organisation et structure générale du genre Candida.....	19
II.3. Epidémiologie et incidence.....	21
II.3.1.Les principales espèces.....	24
II.3.2.les principaux facteurs favorisants.....	24
II.4. Les facteurs de virulences	25
II.5.Aspect clinique.....	28

II.5.1.Candidoses muqueuses.....	28
A. Candidoses oropharyngées.....	28
B. Candidoses digestives.....	32
C. Candidoses génito-urinaires.....	33
II.5.2.Candidoses des phanères.....	35
A.Onychomycose Candidosique (périonyxis et onyxis).....	35
II.5.3.Candidoses cutanées (inguinales).....	36
A. Intertrigos Candodisiques.....	36
B. Candidoses cutanéomuqueuses chroniques.....	38
C. Candidoses cutanée néonatales ou congénitales.....	38
D. Candidose génito-féssière du nourrisson.....	39

Chapitre 03 : Etude du laboratoire

I. Conduit du diagnostic des Candidoses	42
I.1.Généralité.....	42
1. Orientation diagnostique.....	42
2. Démarche diagnostique au laboratoire	43
2.1. Prélèvement, acheminement, conservation.....	43
2.2. Examen directe.....	44
2.3 Culture.....	47
2.4. Identification des levures genre Candida.....	51
II. Détermination de la sensibilité aux antifongiques	57
1. Intérêt et indication.....	57
2. Mécanisme d'action de différentes classes d'antifongique.....	57
3. Pourquoi réaliser un antifongigramme ?.....	58
4. Les méthodes.....	59
- Conclusion	62

Références bibliographiques

Résumé

L'incidence des infections fongique a augmenté de façon considérable, les candidoses superficielle constitue un motif fréquent en pathologie humaine. ces pathologie surviennent le plus souvent chez des patient fragilisés (chimiothérapies, nouveaux immunosuppresseurs...) et chez des sujet immunocompétents.

Sont responsable à des infections cliniques divers (Candidoses des muqueuses, Candidoses des phanères, candidoses cutanées).

Le diagnostique repose sur différents techniques d'analyse microbiologiques des prélèvements, mais l'interprétation d'une culture positive doit être confrontée aux symptômes clinique et à la présence de facteurs de risque.

L'identification est indispensable à la mise en place d'un traitement antifongique adapté. Il existe plusieurs antifongiques appartenant à quatre classes chaque famille un mode d'action.

Mots clés : Champignon ; Levures ; Candidose superficielle ; Mycologie médicale.

Abstract

The incidence of fungal infections has increased considerably, superficial candidiasis is a common reason in human pathology. these pathologies occur most often in patients weakened (chemotherapy, new immunosuppressants ...) and in immunocompetent subjects.

Are responsible for various clinical infections (Candidoses of the mucous membranes, Candidoses of the dolions, skin candidiasis).

Diagnosis is based on different microbiological analysis techniques samples, but the interpretation of a positive culture must be confronted with clinical symptoms and the presence of risk factors.

Identification is essential to the implementation of an appropriate antifungal treatment. There are several antifungals belonging to four classes each family a mode of action.

Keywords: Mushroom; Yeasts; Superficial candidosis; Medical mycology.

ملخص

زاد معدل حدوث الالتهابات الفطرية بشكل كبير. وداء المبيضات السطحي هو سبب شائع في علم الأمراض البشري. تحدث هذه الأمراض في أغلب الأحيان للمرضى الضعفاء (العلاج الكيميائي، مثبطات المناعة الجديدة وللأشخاص ذوي الكفاءة المناعية). (

وهي مسؤولة عن الالتهابات السريرية المختلفة (داء المبيضات في الأغشية المخاطية ، داء المبيضات في التكامليات و داء المبيضات الجلدي).

ويستند التشخيص على مختلف تقنيات التحليل الميكروبيولوجي للعينات، ولكن تفسير إيجابية هذه العينات يجب ان يتواجه ويقارن مع الأعراض السريرية بالإضافة لتوفر عوامل الخطر.

تحديد الهوية أمر ضروري لإنشاء علاج مضاد ومناسب للفطريات. هناك العديد من مضادات الفطريات التي تنتمي إلى أربع فئات لكل عائلة طريقة عملها.



Introduction



Introduction

Introduction

Au cours des 20 dernières années, l'incidence des infections fongiques, tant superficielles que profondes, a augmenté de façon considérable : Le nombre de champignons incriminés en pathologie humaine est passé de moins d'une trentaine d'espèces dans les années 50 à plus de 400 aujourd'hui (**Chabasse et al., 2009**)

Les mycoses superficielles sont des infections fongiques de la couche cornée de l'épiderme, des muqueuses, des ongles, des cheveux et des poils. Elles sont fréquentes, n'entraînent pas de signes généraux et ont une évolution parfois marquée par la récurrence. Le diagnostic est avant tout clinique mais le prélèvement mycologique est l'examen fondamental pour confirmer le diagnostic et guider le traitement.

Les principaux champignons responsables de mycoses superficielles sont les dermatophytes, les *Candida*, *Trichosporon* et les *Malassezia* ; les trois derniers sont des levures commensales de la peau et ou des cavités naturelles de l'homme qui se multiplient d'une façon incontrôlable provoquant Une infection opportuniste. (**Hochedez et al., 2013**)

Les candidoses sont des affections fongiques cosmopolites provoquées par des levures appartenant au genre *Candida*. L'espèce majoritaire est *Candida albicans* est représentée plus 60 % des levures isolées chez l'homme. (**El Euch et al., 2014**).

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(digestive et urogénitales) ou des mycoses profondes qui touchent de nombreux organes, notamment le foie , la rate , les reins , les os , les articulations .De nombreux facteurs locaux ou généraux favorisent la survenue de ces infections.

Les candidoses superficielles sont les plus fréquentes des infections à *Candida*. Elles témoignent le plus souvent du passage d'espèces déjà présentes au niveau (cutané, phanères et muqueuses) de l'état commensal à l'état parasitaire (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

On a réalisé une modeste étude théorique des différents éléments relatifs a notre travail et on a fixé comme principaux objectifs de :

Introduction

- ◆ Evaluation du profil épidémiologique pour présenter les différents espèces responsables des candidoses superficielles, et souligne les problèmes de santé posés par cette levure.
- ◆ Connaitre les modalités de leur diagnostique biologique, ainsi l'antifongigramme qui détecte une résistance, donc possible d'échec thérapeutique.



Chapitre 01



I. Les champignons

I.1. Définition

A côté des champignons de grande taille que l'on rencontre dans les forêts et les prairies, il existe un nombre considérable d'espèces fongiques uniquement visibles au microscope qui peuplent les sols, l'air et l'eau. Certaines espèces vivent aux dépens de l'homme, des animaux, et des végétaux supérieurs. Les champignons micromycètes pathogènes sont des organismes eucaryotes (noyaux avec enveloppe nucléaire, chromosomes et nucléoles), hétérotrophes (nécessitant la présence de matière organique pour leur nutrition carbonée), vivant en saprophytes, en commensaux, en symbiotes ou en parasites. **(Ripert, 2013).**

Sa paroi riche en chitine, ce qui lui assure une certaine résistance aux contraintes du milieu extérieur. La reproduction se fait selon un mode asexuée mais aussi sexuée dans certaines conditions.

Les champignons restent, comme les végétaux, des êtres immobiles qui compensent ce handicap apparent par la production d'un nombre considérable de spores habituellement, non flagellées

Les champignons ne sont pas des végétaux. En effet, contrairement à ces derniers, les champignons sont dépourvus de pigment chlorophyllien et ne peuvent pas incorporer directement le carbone minéral dans leurs cellules. Comme les animaux, ils dépendent pour cette nutrition carbonée, de matières organiques préformées, c'est-à-dire déjà présentes et produites par d'autres organismes vivants (hétérotrophie). On comprend mieux ainsi que les champignons dans la nature (macro- ou micromycètes) colonisent avant tout les organismes morts ou en décomposition (végétaux ou animaux), trouvant dans cette source les nutriments essentiels à leur vie (carbone, azote, sels minéraux, etc...). **(Chabasse et al., 1999).**

I.2. Organisation et structure des champignons

Les champignons ont une organisation rudimentaire, avec un appareil végétatif, le thalle. La structure de base du thalle est un filament cylindrique (hyphe) souvent très ramifiés, parfois anastomosé en réseau pour former le mycélium sur lequel se différencient les organes de reproduction et de dissémination.

Le thalle constitue la partie végétative des champignons. Lorsqu'il est filamenteux, il est désigné sous le nom de mycélium. Les filaments mycéliens ou hyphes, simples ou ramifiés, continus ou pourvus de cloisons transversales qui les divisent en articles s'accroissent uniquement par leur partie apicale

Le thalle coenocytique (Siphomycètes : Zygomycètes), formé de siphons tubulaires contient une longue vacuole axiale bordée de nombreux noyaux. Il

Généralités sur les champignons et les levures d'intérêt médical.

caractérise les champignons inférieurs tels que les Mucor, dont certaines espèces sont des parasites opportunistes de l'immunodéprimé.

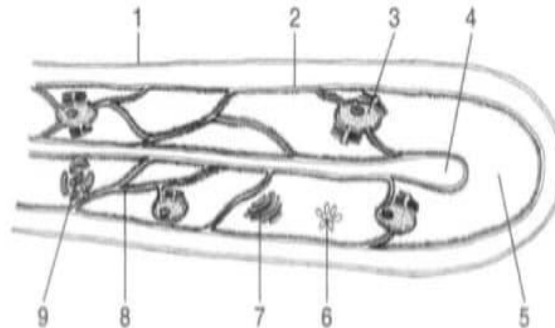


Figure 1 : Mycélium coenocytique (partie terminale en croissance).

1 : paroi stratifiée du thalle, 2 : membrane cytoplasmique, 3 : noyaux, 4 : vacuole, 5 : zone de croissance, 6 : ribosomes, 7 : nappes réticulaires (appareil de Golgi), 8 : réticulum endoplasmique, 9 : mitochondries. (Ripert, 2013)

Le thalle articulé (Septomycètes) est formé des cellules cylindriques disposées bout à bout, séparées par des cloisons incomplètes présentant un pore central. Une certaine continuité cytoplasmique existe donc au travers du filament mycélien et la cloison joue un rôle de maintien et de régulation du trafic intercellulaire. La cloison interne (septum) est simple chez les Ascomycètes (fermeture possible par le corps de Woronin). Le septum est complexe chez les Basidiomycètes et présente un renflement au niveau du dolipore, avec une coiffe et un parenthosome (réseau endomembranaire situé à la base de la coiffe). **(Ripert, 2013).**

Parfois restés unicellulaires comme certaines levures (*Saccharomyces cerevisiae*). Chez d'autres, comme celles appartenant au genre *Candida*, le thalle est différent, il est dissocié, interrompu, puis redémarre sous forme de bourgeonnement allongé, étiré. On utilise le terme de pseudo mycélium pour montrer la différence structurale qui existe entre les filamenteux et ces levures qui s'allongent puis bourgeonnent en restant attachées les unes aux autres **(Chabasse et al., 1999).**

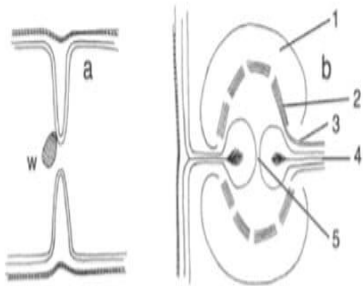


Figure 2.2 : Détail de la cloison

a ; septum simple chez les Ascomycètes (fermeture possible par le corps de Woronin) ; b : septum complexe des Basidiomycètes. 1 : coiffe, 2 : parenthésome, 3 : réticulum endoplasmique, 4 : paroi, 5 ; dolipore. (Ripert, 2013)

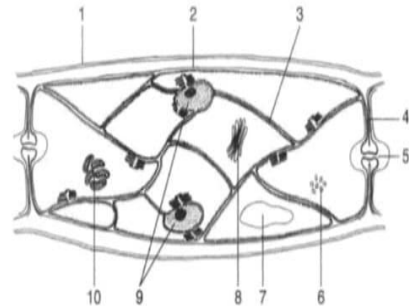


Figure 2.1 : Mycélium septé (structure d'un élément cellulaire)

1 : paroi stratifiée du thalle, 2 : membrane cytoplasmique, 3 : réticulum endoplasmique, 4 : cloison, 5 : pore, 6 : ribosomes, 7 : vacuoles, 8 : nappes réticulaires (appareil de Golgi), 9 : dicaryon, 10 : mitochondries (Ripert, 2013)

La paroi des champignons se présente typiquement comme un assemblage de couches particulièrement complexe. Schématiquement, la couche basale constituée de micro-fibrilles de chitine est entourée d'une zone protéique, d'une couche de glycoprotéines enchâssée dans une matrice de glucanes. La chitine est une macromolécule pariétale spécifique des champignons (liaison β (1-4) d'acétyl-glucosamine). Les glucanes correspondent à des liaisons β (1-3) et β (1-6) de glucose. D'autres résidus osidiques peuvent enrichir la paroi : mannose, galactose, tréhalose... . Les composants de la paroi jouent un rôle comme antigènes ou sont des cibles sur lesquelles agissent certains antifongiques.

Les (1-3)- β -D-glucanes constituants majeurs de la paroi des champignons impliqués dans les infections fongiques invasives (candidoses, aspergilloses, pneumocystoses...), sont libérés dans la circulation pendant l'infection. Ces infections sont courantes dans les affections hématologiques et chez les sidéens. Elles représentent un nombre croissant de maladies nosocomiales chez les transplantés et chez les patients soumis à des traitements immunosuppresseurs. Des taux de (1-3)- β -D-glucanes sont notamment présents à des valeurs basses dans le sérum des sujets sains, mais des taux

Généralités sur les champignons et les levures d'intérêt médical.

élevés contribuent au diagnostic précoce des infections fongiques chez les patients à risque. Les anticorps monoclonaux dirigés contre le mannane de *Candida albicans* et contre le galactomannane d'*Aspergillus fumigatus* sont spécifiques et utilisés pour la détection des antigènes circulants dans le diagnostic de la candidose invasive et de l'aspergillose (Ripert, 2013).

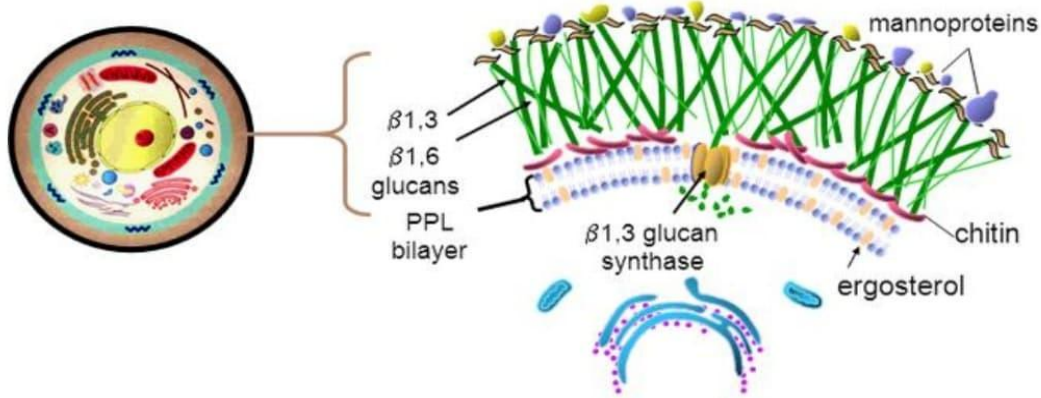


Figure 3 : Constitution de La paroi du champignon.
<https://images.app.goo.gl/ZJYP6cV7cCz7eh957>

I.3. La multiplication et la reproduction des champignons

Les champignons peuvent se reproduire de plusieurs façons :

- ◆ Le premier mécanisme, le plus simple, est celui du bouturage. Dans ce cas, le thalle végétatif se fragmente et les articles libérés, contenant les noyaux, font office de spores. Ils se dispersent et peuvent à nouveau se fixer sur un substrat favorable. Ce mécanisme reste limité dans la nature, peut-être en raison de la fragilité des articles libérés ;
- ◆ Le deuxième mécanisme de reproduction amène à la formation des spores de reproduction. Les spores sont les éléments naturels les plus efficaces permettant la dispersion du champignon dans la nature. Elles assurent aussi à ce dernier un rôle de conservation, ce qui contribue à la survie de l'espèce dans le milieu extérieur (Chabasse et al., 1999).

Généralités sur les champignons et les levures d'intérêt médical.

La reproduction asexuée (stade anamorphe)

Elle est basée sur la production de spores dites asexuées ; c'est le stade anamorphe du champignon. Dans ce mécanisme, la cellule fongique se divise par simple mitose. La conservation intégrale du génotype assure la propagation de lignées stables.

Les spores sont produites par des structures différenciées, ou spécialisées, issues du thalle. Ces structures varient selon les groupes de champignons (**Chabasse et al., 1999**).

On distingue, selon les modalités de production de segments du thalle, *les :

- ✓ **Arthrospores** : ex. *Geotrichum* , *Trichosporon*
- ✓ **Chlamydospores** (organe de résistance formé à partir du thalle) : ex. *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum*
Il existe une autre catégorie de mitospores (spores asexuées) prenant naissance sur le thalle, sur des conidiospores, dans un sporange ou sur le thalle lui-même. Ces spores sont des éléments néoformés, formés par mitose. Ces mitospores sont appelées :
- ✓ **Blastospores** chez les levures : ex. *Candida albicans*
- ✓ **Conidiospores** ou **Conidies**, spores externes, terminales ou latérales, caduques chez les ascomycètes : ex. *Penicillium*, *Aspergillus* ;
- ✓ **Dictyospores** (spores murales) ;
- ✓ **Sporocystospore** , spore internes, prenant naissance dans le sporange chez les zygomycètes : ex. *Rhizopus nigricans*. (**Ripert, 2013**).

La reproduction sexuée (stade téléomorphe)

Elle est basée sur la succession de 3 évènements :

- ❖ La plasmogamie : fusion de cellules ou d'articles spécialisés avec mise en commun des cytoplasmes :
- ❖ La caryogamie : fusion des deux noyaux haploïdes pour former un zygote diploïde. Cette fusion peut se réaliser tardivement après la plasmogamie
- ❖ La méiose, qui sera suivie d'une mitose

C'est ce dernier processus qui permet le brassage des gènes, la ségrégation des caractères parentaux et le retour à l'haploïdie.

Elle fait appelle à 4 types de méiospores , selon les espèces de champignons : **l'oospore , la zygospore, l'ascospore, la basidiospore** (**Chabasse et al., 1999**).

I.4. Place des champignons émergents en mycologie médicale

En mycologie médicale, il est pratique de distinguer plusieurs catégories de champignons potentiellement pathogènes pour l'homme, en fonction de leur degré de virulence et de leur compétence au parasitisme.

Les espèces rencontrées sont essentiellement des Ascomycètes ou des formes asexuées (Deutéromycètes) apparentés à ces derniers plus rarement des Zygomycètes (Mucorales) et des Basidiomycètes.

Nous passerons en revue les différents groupes de champignons ; levures (*Candida*, *Cryptococcus*, ...) , filamenteux (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium*, *Alternaria*, *Exophiala*, ...) , dimorphiques (*Histoplasma*, *Coccidioides*, *Penicillium marneffeii*, ...) et les espèces assimilées d'intérêt médical , en insistant sur les espèces émergentes nouvellement décrites. (Chabasse et al., 2009).

A. Champignons adaptés au parasitisme par affinité pour un substrat sélectif

Le meilleur exemple est celui des espèces kératinophiles issues du sol, dont l'avidité pour la kératine humaine et animale est très prononcée : les dermatophytes en sont les meilleurs exemples. Parmi les espèces réémergentes, il faut signaler la place de *Trichophyton tonsurans*, agent de teigne isolé classiquement en France chez des patients provenant du continent américain ou des Caraïbes (notamment d'Haïti). Depuis le début des années 2000, ce champignons ont été effet à l'origine de petites épidémies de *Tinea corporis gladiatorum* (lésions cutanées et du cuir chevelu) (Chabasse et al., 2009).

B. Champignons potentiellement pathogènes

Ces espèces possèdent des facteurs de virulence et d'adaptation au parasitisme, d'où la fréquence de leur isolement en situation pathologique chez l'immunodéprimé. Certains champignons vivent en commensaux au niveau du tube digestif ou de la peau (*Candida*, *Malassezia*, *Trichosporon*).

Le développement d'une mycose dépend alors d'une colonisation préalable et de certains facteurs favorisants (terrain sous-jacent). D'autres champignons, en revanche proviennent du milieu extérieur. Ils sont le plus souvent saprophytes, parfois phytopathogènes ou parasites d'animaux, avec dans ce dernier contexte que sont décrites les levures du genre *Cryptococcus*, ainsi qu'un certain nombre de champignons filamenteux cosmopolites communément appelés moisissures. Il s'agit soit de Hyalohyphomycètes (au mycélium hyalin) comme les *Aspergillus*, *Fusarium* ou les *Scedosporium*, soit de Phaeohyphomycètes (au mycélium foncé, anciennement dénommés dématiés) comme les *Alternaria*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exophiala*, soit des Zygomycètes (mucorales thermophiles) : *Rhizopus*, *Rhizomucor*, ... Toutes ces

moisissures ont une tendance marquée au parasitisme, mais leur implantation et leur diffusion chez l'homme dépendent essentiellement du terrain sous-jacent. Dans toutes les cas la contamination se produit par voie aérienne ou par voie cutanée. Elle peut être d'origine nosocomiale (cathéter veineux centraux, implants,...) ou accidentelle (colonisation de plaies ouvertes, traumatisme,...). Dans un contexte de voyage en zone intertropicale, de redoutables champignons exotiques appelés « dimorphiques » peuvent être observés (*Histoplasma Blastomyces, Coccidioides, Paracoccidioides, ...*). Ils se présentent sous deux formes, la forme levure (observé in vivo) et la forme filamenteuse (observé in vitro ou dans le milieu naturel). Ils sont parfois observés plusieurs années après un séjour en zone d'endémie ; cette « réactivation » fait le plus souvent suite à une immunodépression récente. D'autres espèces tropicales, agents des chromomycoses, des mycétomes et de la sporotrichose, ne se rencontrent habituellement que chez les migrants, dans un contexte de « pathologie d'importation » (Chabasse et al., 2009).

C. Champignons apparemment dénués de pathogénicité

Ce sont, dans la grande majorité des cas, des saprophytes de l'environnement ou des espèces vivants en commensales, colonisant le revêtement cutané ou les muqueuses de l'homme et/ou de l'animal. Appelés longtemps « contaminants de laboratoire », car isolés à partir des boîtes de culture, ils étaient écartés du diagnostic. C'est dans cette catégorie que l'on recrute la plus part des « nouveaux » opportunistes émergents aujourd'hui. Leur développement chez l'hôte nécessite un état d'immunodépression, ou des facteurs locaux permettant l'implantation durable du champignon, d'où l'appellation de champignons opportunistes. On inclut dans cette notion de réceptivités aussi bien des facteurs de morbidité locaux (trouble circulatoire, ulcères, brûlures,...) que généraux (déficit immunitaire qualitatif ou quantitatif). Cependant, en dépit de leur extraordinaire diversité et de leur remarquable adaptation (certains d'entre eux sont des parasites de végétaux), à peine plus d'une centaine d'espèces (sur les quelques milliers répertoriées parmi les saprophytes ou les phytopathogènes) sont capables de s'implanter chez l'homme. Tous les champignons de l'environnement ne sont donc pas capables de s'implanter chez l'homme, même en cas d'affaiblissement très important. Il semble que les champignons qui s'adaptent le mieux au parasitisme appartiennent aux Ascomycètes, chez lesquels on place désormais *Pneumocystis jirovecii* (malgré l'absence de forme sexuée connue). Les méthodes de phylogénie moléculaire ont en effet permis de rattacher aux Ascomycètes de nombreuses moisissures environnementales ainsi que des levures, classées initialement parmi les Deutéromycètes (*Fungi imperfecti*). (Chabasse et al., 2009).

I. Les levures

II.1. Définition

Les levures sont des champignons microscopiques, unicellulaire se multipliant par bourgeonnement (blastopore) et produisant parfois du mycélium ou pseudo mycélium. 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 (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

II.2. Classification des levures

La classification des levures à beaucoup évolué au cours des 20 dernières années en raison du développement des techniques de laboratoire et de la découverte de nouvelles espèces. C'est une conséquence de l'intérêt croissant porté aux champignons par les chercheurs.

Les levures sont classées selon des caractères morphologiques, physiologiques et biologiques. Elles sont séparées en trois groupes selon leur reproduction sexuée :

- ◆ Les Ascomycètes : présence d'asques et d'ascospores ;
- ◆ Les Basidiomycètes : présence de basides et de basidiospores ;
- ◆ Les Deutéromycètes : levures imparfaites pour lesquelles on ne connaît en général pas la reproduction sexuée. Mais l'étude des caractères biochimiques montre que certaines d'entre elles possèdent des affinités soit pour les Ascomycètes, soit pour les Basidiomycètes. (**Koenig, 1995**)

Au sein des Deutéromycètes, les levures constituent la classe des Blastomycètes, champignons se multipliant sur le mode asexuée et présentant un thalle unicellulaire avec production de spores par bourgeonnement (blastopores), ce qui les distingue des autres Deutéromycètes, les Hyphomycètes et les Coelomycètes, dont le thalle est constitué de filaments mycéliens cloisonnés, fins et réguliers (**figure 4**). 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 asexuée. A 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 Hémi-ascomycètes (Ascomycètes à thalle unicellulaire) et, pour celles rencontrées en mycologie

Généralités sur les champignons et les levures d'intérêt médical.

médicales, de la famille de Saccharomycetaceae ou l'on retrouve notamment les levures du genre *Saccharomyces* (**Figure5**) Parmi les Basidiomycètes, la principale levure pathogène est un Filobasidiella, *F.neoformans* dont les stades asexués est *Cryptococcus neoformans var.neoformans*. (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

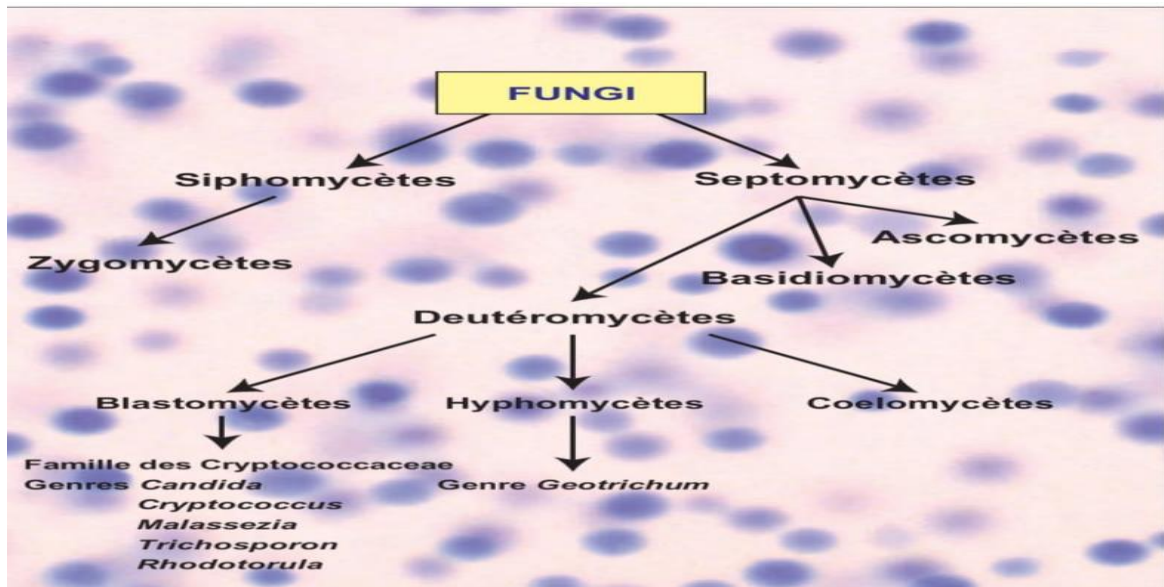


Figure 4 : Systématique simplifiée des principales levures asexuées d'intérêt médical
(J. Philippe Bouchara et al., 2010)

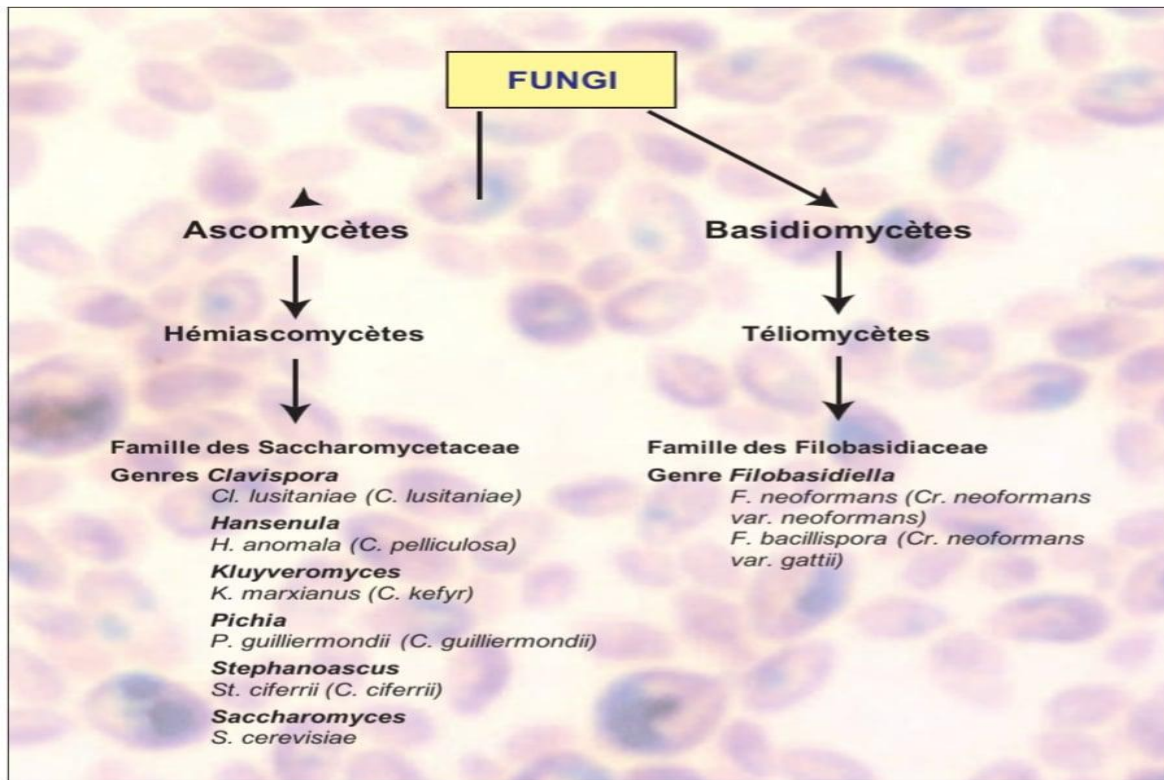


Figure 5 : Systématique des levures d'intérêt médical dont le stade sexué est connu (le nom du stade asexué est indiqué entre parenthèse). (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

II.3. Les caractères morphologiques

Ils sont très importants à préciser pour l'identification des levures. Certains éléments peuvent être caractéristiques d'un genre ou même d'une espèce donnée. (Koenig, 1995)

II.3.1. Morphologie des levures

Les levures ont des formes variées : rondes, ovoïdes, ellipsoïdes, allongées, apiculées, triangulaires etc. Leur taille varie de 1 à 10 µm. Mais la forme et la taille peuvent varier dans les espèces suivant les souches.

a. En milieu liquide

Formation d'un sédiment, d'un anneau, d'une pellicule.

b. En milieu solide

Texture : crémeuse, muqueuse, coulante. Poudreuse

Couleur : la majorité des levures est de couleur blanc à beige. Un certain nombre de levures produisent des pigments soit caroténoïdes : les colonies sont alors colorées en orange à rouge (*Rhodotorula sp.*, *Sporobolomyces sp*) soit non caroténoïde, tel la plucherrimine, pigment bordeaux (*Metschnikowia pulcherrima*).

Surface : lisse, rugueuse, cérébriforme etc. La surface se modifie souvent avec l'âge des colonies. (Koenig, 1995)

II.3.2. Formation de vraie filamentation, de pseudofilamentation :

Les levures peuvent filamentés dans un certain nombre de cas, soit in vitro, en fonction des milieux utilisés, soit in vivo. (*Candida sp* passant de l'état saprophyte à l'état pathogène). On distingue 2 types de filamentation qu'il est important de savoir reconnaître car ces caractères sont utiles au diagnostic.

La pseudofilamentation : il s'agit en réalité d'une succession de bourgeons allongés, produits en chaînes ramifiées. Chaque bourgeon produit et s'allonge d'une certaine longueur sans se détacher de la cellule mère et des bourgeons précédents. La longueur est constante pour tous les bourgeons dans un même filament. Le dernier bourgeon du pseudofilament aura une longueur inférieure ou au plus égale à la longueur des bourgeons précédents. Les parois du pseudofilament ainsi formé ne sont pas parallèles. Il n'y a pas de véritable septation mais uniquement une constriction entre chaque bourgeon. On peut observer des bouquets de blastopores à l'endroit des constriction.

La vraie filamentation : il s'agit de la croissance continue du bourgeon par son extrémité. Les parois du filament sont parallèles. Des cloisons apparaissent secondairement pour séparer les articles. Chaque article a la même longueur. Le dernier article aura une longueur toujours supérieure à celle des articles précédents. Des ramifications peuvent se produire. (Koenig, 1995)

II.3.3. Arthrospores

Les arthrospores sont des spores formées par certaines levures qui présentent une vraie filamentation. Des cloisons très rapprochées se forment à partir de l'extrémité du filament. Puis le filament se désarticule au niveau des cloisons libérant des arthrospores rectangulaires. Le filament prend alors un aspect en zig-zig. Les arthrospores, une fois libérées vont s'ovaliser et sont capables de bourgeonner ou de filamentés à nouveau. Ce mode de reproduction est caractéristique du genre *Trichosporon* (Koenig, 1995)

II.3.4. Chlamydo-spores et Blastospores

La formation d'un certain type de chlamydo-spores est particulière à l'espèce *Candida albicans*.

Il s'agit de spores rondes, de grande taille, (10 à 15), à paroi épaisse qui se forme sur les filaments. Elles sont toujours terminales, on ne connaît pas leur signification, contrairement aux chlamydo-spores observées dans d'autre champignon, elles ne filamentent jamais. On les obtient facilement sur des milieux particuliers et servent au diagnostic de l'espèce.

Les blastospores sont caractéristiques de certain genre de levures : *Sporobolomyces*. Ces spores sont produites au sommet d'une protubérance de la cellule mère et sont ensuite éjectées. À distance grâce à un mécanisme de « goutte ». (Koenig, 1995)

II.3.5. Formation de tube de la germination

Caractéristique de *Candida albicans* : les levures de cette espèce sont capable de former en moins de 4 heures, un tube de filamentation très mince, lorsqu'elles sont incubées dans un sérum à 37° (Koenig, 1995)

II.4. Les caractères physiologiques :

Les levures produisent l'énergie nécessaire à leur synthèse en oxydant et/ou en fermentent certains composés est utilisée dans le diagnostic de levures. (Koenig, 1995)

II.4.1. Les composés carbonés

On étudiera :

- **L'auxanogramme** ou assimilation des sucres. Un nombre restreint de sucres est étudié. On choisit ceux qui ont le meilleur pouvoir discriminant.
- **Le zymogramme** ou fermentation des sucres. Pour pouvoir fermenter un sucre, la levure doit être capable de l'assimiler. En pratique courante, on étudie la fermentation du glucose, du maltose et du tréhalose. (Koenig, 1995)

II.4.2. Les Composés azotés

Les levures sont capables d'utiliser une grande variété de source d'azote. Un certain nombre de genres de levures sont incapables d'utiliser les nitrates. En pratique courante, on étudie l'assimilation du nitrate de potassium.

Hydrolyse de l'urée : si les levures sont pratiquement toutes capables d'utiliser de faibles concentrations d'urée comme seule source d'azote, toutes n'ont pas la possibilité d'hydrolyser de fortes concentrations d'urée en ammonium. Cette capacité,

généralement absente parmi les levures ascosporeées, est particulièrement marquée parmi les genres *Cryptococcus* et *Rhodotorula* (Koenig, 1995)

II.4.3. La réduction du tétrazolium

Certaines levures sont capables de réduire les sels de tétrazolium et de les transformer en un composé coloré : le formazan qui, incorporé dans la levure, va colorer la colonie. Ainsi, sur le milieu de Sabouraud contenant des sels de tétrazolium, *Candida tropicalis* qui réduit fortement les sels de tétrazolium sera coloré en violet, *Candida albicans*, qui ne les réduit pratiquement pas restera blanc. (Koenig, 1995)

II.4.4. La résistance à la cycloheximide (Actidione)

La cycloheximide est un antifongique qui empêche les moisissures à pousser sur les milieux de Sabouraud contenant ce produit. Certaines levures sont sensibles à ce produit. D'autres telles *Candida albicans* sont résistantes. (Koenig, 1995)

II.4.5. Activité phénoloxydase

La synthèse de pigments mélaniques à partir de phénols est caractéristique de *Cryptococcus neoformans*. Cette propriété utilisée pour l'identification de cette levure se recherche sur des milieux à base de graines de Niger (un milieu sélectif) (*Guizotia abyssinica*) ou sur des milieux à l'acide caféique. Ensemencé sur de tels milieux, *Cryptococcus neoformans* se colore en brun foncé à noir. (Koenig, 1995)

II.4.6. Croissance à 37°C

La majorité des levures se développe à une température comprise entre 20° et 28°. Certaines peuvent pousser jusqu'à 45° (parmi les genres *Kluyveromyces* ou *Hansenula*). La possibilité de croissance à 37° pour une levure est un facteur de pathogénicité pour l'espèce humaine. On peut donc tester la croissance d'une levure à 37° pour vérifier son pouvoir pathogène. (Koenig, 1995)

II.4.7. Autres caractères physiologiques

- besoins vitaminiques,
- hydrolyse de l'arbutine, des graisses,
- formation des composés amyloïdes,
- tolérance à l'acide acétique à 1%. (Koenig, 1995)



Chapitre 02



I. Les mycoses superficielles

Les mycoses superficielles sont des maladies infectieuses très fréquentes de la peau, des phanères et des muqueuses dues à des champignons microscopiques : levures, dermatophytes et moisissures. Les levures sont représentées par le genre *Candida* et par le genre *Malassezia*. Elles ont une forme arrondie et se reproduisent par bourgeonnement ou en formant des pseudo-filaments.

Les levures du genre *Candida* ont une affinité pour les muqueuses, la peau et les phanères. *Malassezia* est l'agent responsable de *Pityriasis versicolor*.

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux, kératinophiles et kératinolytiques qui se développent préférentiellement dans la couche cornée de la peau et des phanères.

Les moisissures sont rarement responsables d'infection cutanée superficielle. Elles surviennent surtout chez un sujet immunodéprimé. (El Euch et al., 2014).

II. les candidoses superficielles

Ce sont des infections provoquées par des levures du genre *Candida*. Elles résultent d'interactions complexes entre *Candida* et un hôte devenu susceptible à l'infection pour des raisons diverses.

La levure vit dans les conditions naturelles en saprophyte, sous forme de blastospores. Dans ce cas, elle est présente en faible quantité dans le site, en équilibre avec la flore locale.

En cas de colonisation, la levure se multiplie, sous forme de blastospores, en quantité plus importante qu'habituellement parce que des conditions locales le lui permettent. Dans ce cas, c'est le terrain qu'il faut traiter. Cette colonisation traduit une situation locale anormale. En cas d'infection proprement dite ou candidose, la levure passe d'un état saprophyte à un état parasitaire. Elle développe une forme pseudo-filamenteuse ou filamenteuse capable d'adhérer et d'envahir les tissus et est responsable des symptômes observés. Dans ce cas il faut traiter la candidose et évaluer les facteurs de risques, exogènes ou endogènes.

Parmi les nombreuses espèces appartenant au genre *Candida* (environ 200) principalement 12 sont impliquées dans les candidoses. La plus fréquente est *Candida albicans* représente plus de 60 % des levures isolées chez l'homme. C'est une commensale des cavités naturelles et en particulier du tube digestif et de la cavité vaginale chez la femme. D'autres espèces sont rencontrés en pathologie humaine et par ordre de fréquence décroissante, il s'agit de *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida dubliniensis*, *Candida nivariensis*. Elles sont toutes des levures opportunistes profitant d'un dysfonctionnement du système immunitaire. Plusieurs facteurs sont susceptibles de favoriser le passage à la pathogénicité de ces champignons opportunistes (âge, facteurs locaux, terrain immunodéprimé, médication, etc...) (El Euch et al., 2014).

II.1. Agent pathogène

Les levures du genre *Candida* sont les plus fréquentes en pathologie humaine. Elles représentent près de 83 % de toutes les levures isolées chez l'homme. C'est bien sur l'espèce *C.albicans* qui est la plus fréquente, puisque saprophyte de tube digestif de l'homme (Koenig, 1995). Le genre *Candida* compte un peu moins de 200 espèces et regroupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, capable de former des filaments (par exemple *C.albicans*) ou non (par exemple *C.glabrata*) et donnant des colonies blanches et crémeuses en culture. Il est difficile de détailler l'ensemble des particularités des différents *Candida* (Anofel, 2016).

II.2. Organisation et structure générale du genre Candida

◆ **Taxonomie : (Sabra, 2013)**

Règne : Champignon.

Division : Ascomycota.

Classe : Hemiascomycètes .

Ordre : Saccharomycétale.

Famille : Candidaceae.

Genre : Candida.

La paroi de la levure de genre *Candida* est une structure en perpétuelle évolution, cette paroi joue un rôle important de protection contre les attaques physico-chimiques de l'environnement, lui conférant sa forme et par laquelle passe la majorité des régulations avec l'hôte. Ses couches les plus internes sont formées d'un réseau très dense de polysaccharides et le composant majeur de la paroi est le β -(1,3) glucanes associés à des β -(1,6) glucanes et à la chitine (polymère de β (1,4) glucosamine acétylée). Ces polymères forment des microfibrilles liées par des liaisons hydrogènes, et se situent dans les couches les plus basales de la paroi. Le reste est composé de protéines généralement fortement mannosylées, que l'on retrouve principalement sur les couches externes (Poulain, 2013)

La physiopathologie des Candidoses superficielles

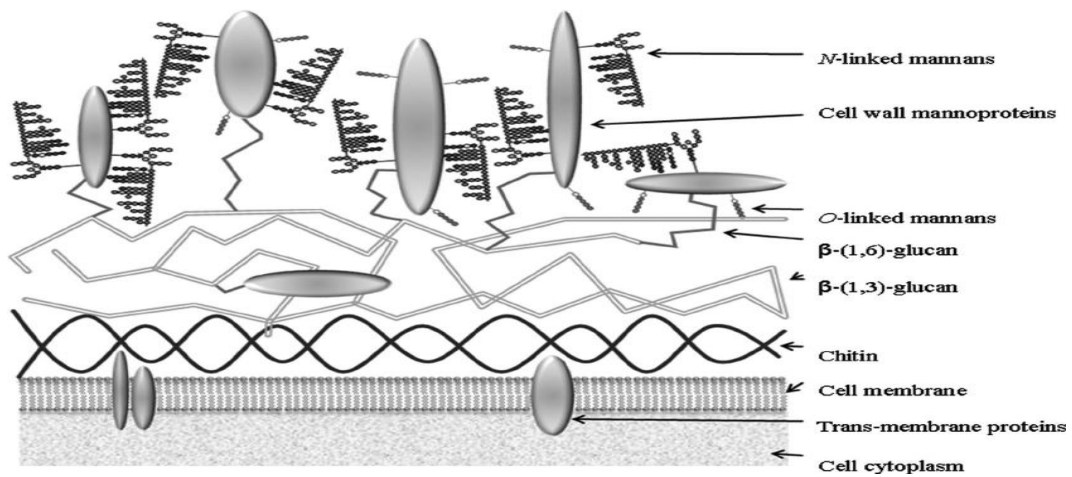


Figure 6 : Dessin animé de la paroi cellulaire du Candida
<https://images.app.goo.gl/uiDZqubsHaCc9zua9>

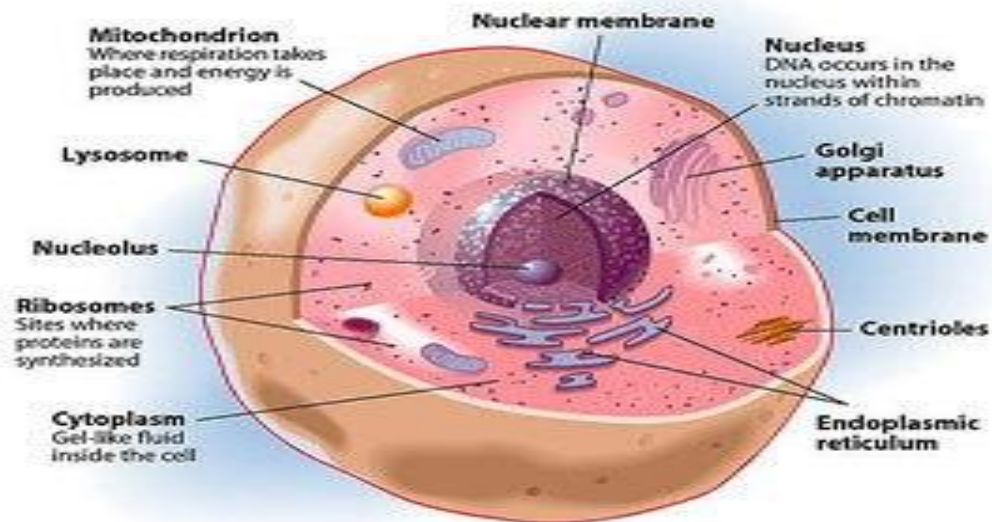


Figure 7 : La structure cellulaire du genre Candida
<https://images.app.goo.gl/DTbyYXCEwgWR8gE56>

II.3. Épidémiologie et Incidence

L'épidémiologie des Candidoses s'est considérablement modifiée ces dernières années avec l'apparition de nouvelles espèces (exemple : *C.dubliniensis*) dont la liste s'accroît régulièrement. Un meilleur diagnostic mycologique en est manifestement une des raisons (Develoux et Bretagne, 2005)

II. 3.1. Les principales espèces

a. *Candida albicans*

Parmi les levures, *C.albicans* est la principale espèce d'intérêt médical puisqu'elle représente au moins 60 % des isollements de la levure 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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010).

b. *Candida glabrata*

Cette levure a pris une place très importante en pathologie humaine. Bien qu'elle est peut être isolée occasionnellement dans le milieu extérieur il semble bien que ce soit une levure saprophyte des vois génito-urinaires chez l'homme. On ne l'isole habituellement pas des prélèvements cutanés. Son incidence a augmenté de façon considérable au cours ces dernières années. Elle représente actuellement près de 10 % de toutes les levures isolées chez l'homme. C'est la deuxième en importance après *C.albicans* mais son incidence dépend de l'origine des prélèvements. Elle est retrouvée dans 13.8% des prélèvements digestifs et dans 22.4% des prélèvements urinaires particulièrement les femmes. Dans les prélèvements vaginaux elle prend la deuxième place (9.1%) après *C.albicans* et provoque de véritables vaginites. Son association avec *C.albicans* dans les prélèvements est très fréquente. Ayant pratiquement les mêmes caractères macroscopiques que *C.albicans*. On ne la détecte pas si l'on se contente d'une identification rapide de cette dernière par un test de blastèse.

Son rôle pathogène est redoutable. C'est le troisième agent de septicémie fongique son incidence est probablement sous-estimée dans cette localisation. En effet cette levure

pousse difficilement et tardivement sur les milieux de bactériologie utilisée pour les hémocultures. Il faut donc absolumentensemencer des milieux type Sabouraud.

Un des facteurs qui contribue certainement à l'augmentation de son incidence et sa résistance de plus en plus fréquente à de nombreux antifongiques et du particulièrement aux azolés tels le kétoconazole ou le fluconazole et la fréquence des chimioprophylaxies par ces antifongiques, chez des malades à risque ce qui favorise sa sélection (**Koenig, 1995**).

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 oncohématologie, chez les patients neutropéniques et les greffés de moelle osseuses (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**).

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 deuxième 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*. (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

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 chimio prophylaxie antifongique à base d'azolés. (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

f. *Candida famata*

Cette levure répandue dans le milieu extérieur est isolée principalement de la peau chez l'homme. Elle est relativement fréquente dans cette localisation où elle représente 6.3% des levures isolées. Son rôle pathogène dans les intertrigos interdigitaux plantaires et les onxyis doit être discuté en fonction des résultats de l'examen direct et de son abondance en culture pure.

On peut également la retrouver dans le tube digestif, et même dans le sang, la porte d'entrée

étant généralement le cathéter (Koenig, 1995)

g. 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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

h. Candida guilliermondii

Candida guilliermondii a été isolé de l'air de l'eau de mer, de produits alimentaires et du tube digestif de nombreux animaux. Chez l'homme, on la retrouve rarement dans le tube digestif, plus volontiers sur la peau (8.2% des levures). Elle peut provoquer des mycoses cutanées à type d'intertrigo interdigitaux plantaire et des onyxis (pieds surtout). Elle a été décrite comme un responsable de septicémies (Koenig, 1995)

i. Candida kefyr

Candida kefyr 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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

j. Candida lusitaniae

Candida lusitaniae 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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

k. Autres Candida non albicans

D'autres espèces non *albicans* sont plus rarement ou exceptionnellement rencontrées. Il s'agit de *C. humicola*, *C. inconspicua*, *C. lipolytica*, *C. pulcherrima*, *C. norvegensis*, *C. rugosa*, *C. haemulonii*, *C. zeylanoides* et *C. sake*. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

II.3.2. Les principaux facteurs favorisants :

Les Candida sont des levures endogènes ou exogènes, dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence des facteurs favorisants (facteurs intrinsèques, facteurs extrinsèques) (Anofel, 2014).

II.3.2.1. Les facteurs intrinsèques (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 ; chez la femme enceinte surtout à partir du 3^{ème} trimestre de la grossesse, la fréquence des candidoses vaginales est 3 à 4 fois plus élevée. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

b. Facteurs locaux

La transpiration, la macération, la chaleur et l'humidité, de même que l'altération de la trophicité des muqueuses, irritations chroniques et le pH acide, favorisent le développement des candidoses (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

c. Facteurs généraux :

- 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. Parmi ces infections, citons le sida, le diabète et autres endocrinopathies (J. Philippe Bouchara et al., 2010).

II.3.2.2. Les facteurs extrinsèques et / ou iatrogènes :

a. Traitements médicamenteux

L'antibiothérapie à large spectre, surtout si elle est prolongé au-delà du 8^{ème} 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 (J. Philippe Bouchara et al., 2010).

b. Traitements et /ou manœuvres chirurgicales

Les gestes chirurgicaux (chirurgie digestive, cardiaque) constituent un facteur de risque de candidoses (*Candida albicans* ou *Candida glabrata*), la transplantation d'organe. La mise en place de cathéters centraux, de dispositifs intra-vasculaires, de prothèses ou de sondes expose au risque de septicémie à *Candida* (J. Philippe Bouchara et al., 2010).

II.4. Les facteurs de virulence

Les *Candida* comme beaucoup d'autres agents fongiques, possèdent des facteurs de virulence qui leur permettent d'échapper au système immunitaire et

infecter les tissus. Des études sont réalisées concernant la caractérisation des facteurs impliqués dans la pathogénicité de *Candida* (*Candida albicans*) et sa capacité à croître et coloniser dans un environnement hostile (soit à des cellules hôte ou substrats abiotiques). La possibilité de la levure de changer de morphologie et de sécréter des enzymes hydrolytiques jouent un rôle important dans la virulence, aussi la capacité des *Candida* à résister aux antifongiques est également déterminante. (Sabra, 2013)

Candida albicans reste le modèle des études actuelle sur les *Candida* ce qui fait cette espèce la plus étudiée parmi ce genre.

a) Adhérence

Le principal mécanisme d'adhérence des champignons repose sur la reconnaissance spécifique entre des adhésines fongiques et des récepteurs de l'hôte. Il permet aux champignons de résister aux forces physiques qui peuvent les éliminer. Des recherches fondamentales sur l'adhérence ont été principalement réalisées chez *Candida*.

Les adhésines de *Candida* sont multiples, la suppression d'une seule adhésine n'induit généralement qu'une réduction partielle de l'adhérence par rapport à la souche sauvage. Cela est probablement dû au fait que plusieurs adhésines intervenant dans l'adhérence (Baldo et al., 2007)

▪ La famille des gènes ALS (Agglutinin-like sequence)

Chez *C.albican* huit protéines ALS connus, ALS_{3p} à été isolé comme le plus important en raison de sa vaste régulation pendant l'infection et de lier les cadhérines (E-Cadhérine) présente à la surface des cellules endothéliales ou épithéliales et induire l'endocytose. (Rosa, 2015).

L'adhésine ALS_{1p} permet l'adhérence de *Candida albicans* aux cellules endothéliales vasculaires et aux cellules épithéliales buccales par contre ALS_{5 p}, ALS_{6 p}, ALS_{7 p} n'interviennent pas dans l'adhérence de *C.albicans* à ces cellules. (Baldo et al., 2007)

Des études ont été prises en considération pour l'adhésion de *C.parapsilosis* pendant l'infection montre que 5 gènes ALS ont été identifiés.

L'adhérence de *C.tropicalis* sur les cellules humaines et sur les surfaces abiotiques 3 gènes ALS reconnues et comme ces gènes contribuent à l'adhésion n'a pas encore été étudiée. (Rosa, 2015).

▪ La protéine pariétale Hwp1 (Hyphal wall protein)

L'adhésine Hwp1 de *C.albicans* s'est également révélée importante lors d'infection des muqueuses buccales et œsophagiennes (Baldo et al., 2007) . Est une mannoprotéine exprimée à la surface de la paroi, et elle est spécifique du stade hyphal de *C.albicans*. La partie N-terminale de Hwp1, riche en proline et glutamine, est un substrat pour la transglutaminases humaines (cellules épithéliales notamment

buccales).

Hwp1 interagit avec ALS3p pour contribuer à la formation des biofilms. (**Poulain, 2013**).

- **L'Int1 (Integrin-like protein)**

Cette protéine intervenant dans l'adhérence aux cellules épithéliales et dans la morphogénèse de *C.albicans*. En effet l'inactivation du gène INT1 supprime et inhibe la filamentation, diminue de 39 % l'adhérence aux cellules épithéliales et réduit la virulence. (**Baldo et al., 2007**)

- **Camps 65p (anciennement appelée MP 65)**

Une mannoprotéine de 65 KDa présente au niveau de la paroi cellulaire tant des formes levures que filamenteuses de *C.albicans*. Son rôle important dans l'adhérence aux cellules épithéliales vaginales (**Baldo et al., 2007**)

- **Les adhésines de type lectine**

Des lectines ont été identifiées chez *C.albicans* et *C.glabrata*, chez *C.albicans* des lectines de la paroi fongique se lient à des glycoprotéines de surface ou du N-acétyl-D-glucosamine, chez *C.glabrata* une famille de gènes EPA (epithelial adhesin). La lectine Epa1 est impliquée dans l'adhérence aux cellules épithéliales (**Baldo et al., 2007**)

Ce dernier possède une forte affinité pour lier aux matériels protéiques donc une explication possible à l'augmentation de l'infection à *C.glabrata* qui du principalement à l'utilisation accrue des dentiers prothétiques, les cathéters....etc. (**Rosa, 2015**).

- **Les adhésines fibrillaires**

La couche externe de la paroi fongique de *C.albicans* est composée principalement de mannoprotéines formant un matériel dense visible en microscopie électronique est constitué d'appendices fibrillaires de 100 à 300 nm de long et de 5 nm de large ,ont démontré que ces fibrilles interviennent dans l'adhérence de *C.albicans* en se liant à un récepteur lipidique , le glycosphingolipide lactosylcéramide, présent au niveau des Cellules épithéliales buccales. (**Baldo et al., 2007**)

b) Pénétration tissulaire

La pénétration tissulaire nécessite aussi des équipements enzymatiques complexes, tout particulièrement lorsqu'elle s'opère dans des tissus comportant des scléroprotéines tels que l'ongle, les épithéliales œsophagiens ou vaginaux. Parmi plus de 40 enzymes décrites chez *C.albicans*, les protéases, la lysophospholipase a été décrite comme intervenant dans la lyse tissulaire (**poulain, 1990**)

Le genre *Candida* est un groupe qui peut se développer en plusieurs morphologies

distinctes la forme morphologique connue est le forme de levure arrondie, mais aussi on a la transformation levure-mycélium, les hyphes (unité de construction de mycélium) se forment comme une projection du tube germinatif de la cellule mère et formant des branches qui sont divisées par des septa. Les pseudohyphes peuvent également se former en bourgeonnement à partir de la cellule mère mais qui se ne détachent pas et s'étendent vers l'extérieur en véritable hyphes (Rosa, 2015).

c) Production des enzymes hydrolytiques

Genre *Candida* sécrète plusieurs enzymes hydrolytiques qui sont protéases, phospholipases, lipases qui jouent un rôle prépondérant dans différents aspects du processus infectieux. (Rosa, 2015).

❖ La famille des Sap (Secreted Aspartyl Proteinase)

Elles sont parmi les enzymes de *C.albicans* nécessaires à la perturbation et la dégradation des membranes de l'hôte dix gènes codant pour des protéases aspartiques sécrétées (Saps). Certains ayant un rôle plus important dans la pathogénicité que d'autres. Sap1-3 ont démontré leur responsabilité dans la destruction de l'épithélium de l'hôte (buccale), Sap5-6 ont été liés à la formation d'hyphes et d'infections de Candidose invasive. Sap8 est l'acteur principale dans l'infection Candidosique où il à été démontré qu'il est très élevé dans les biofilms mature.

Pour les espèces non albicans et leur sécrétion a été identifiées chez *C.glabrata* mais la classe de protéinases n'a pas été spécifiée, 3 gènes Sap ont été identifiés pour *C.parapsilosis* mais ils sont restés relativement inexplorés (Rosa, 2015).

❖ La protéine Plb1 (phospholipase B1), lipases

C.albicans produit plusieurs classes qui sont séparées en 4 groupes [A-D], le phospholipase B (Plb1) hydrolyse les phospholipides en acide gras et endommage la membrane de la cellule hôte et exposer potentiellement les sites d'adhésion. Les lipases sont impliquées dans la perturbation de la membrane cellulaire via l'hydrolyse de triacylglicérols (Rosa, 2015).

❖ Les Sod (Superoxyde dismutases), la catalase

Sont des enzymes antioxydant (Sod1, Sod5), et la catalase (Ctal1) protègent contre le mécanisme oxydatif produit pendant la phagocytose macrophagique (dans le phagolysosome). (Rosa, 2015).

II.5. Aspects cliniques

II.5.1 Candidoses muqueuses

A. candidoses oropharyngées

Des levures du genre *Candida* sont isolées des muqueuses buccales chez les individus sains. Les pics de prévalence sont observés chez l'enfant de moins de 18 mois et le sujet âgé. Dans le premier cas interviendrait une immaturité du système immunitaire, dans le second la fréquence du port de prothèses dentaires. De nombreux facteurs favorisent la survenue d'une candidose oropharyngée. Ainsi, toute altération de la muqueuse buccale peut constituer le lit d'une candidose : traumatisme consécutif au port d'une prothèse, cancer de la sphère ORL, ulcération dues à des cytotoxiques, irradiations... Les facteurs iatrogènes peuvent être locaux (corticoïde inhalés) ou généraux (antibiotiques à large spectre, immunosuppresseurs, corticoïdes, neuroleptiques). L'hyposialie représente l'une des principales causes du développement des candidoses buccales. Parmi les autres terrains favorisants, il faut citer l'infection par le VIH, les tumeurs solides, les hémopathies malignes, le diabète ou d'autres endocrinopathies, ainsi que la malnutrition. (Anofel, 2016)

- **la candidose pseudomembraneuse ou « Muguet » :**

Est la plus classique. Elle débute par un érythème de la muqueuse. En quelques jours apparaissent des lésions blanchâtres, fermes, qui vont confluer, donnant des membranes de couleurs blanc jaunâtre sur une muqueuse inflammatoire. Plus ou moins envahissantes, adhérentes aux muqueuses, elles peuvent intéresser toute la muqueuse buccale et envahir le pharynx et l'œsophage chez l'immunodéprimé. (Anofel, 2016) et une évolution chronique est possible. Les signes fonctionnels sont une sécheresse avec sensation de soif et de la cuisson de la bouche (Hochedez et al., 2007). Le patient se plaint d'un goût métallique et peut présenter dysgueusie et dysphagie (J. Philippe Bouchara et al., 2010)



Figure 8 : Candidose pseudomembraneuse ou muguet (Anofel, 2016)

- **la candidose érythémateuse atrophique :**

Est une complication observée chez les patients infectés par le VIH et les porteurs de prothèse dentaire. Les lésions sont alors multifocales (palais, dos de la langue). (Anofel, 2016). La muqueuse est érythémateuse, lissante, la langue rouge et dépaillée. Le patient ressent une sensation de brûlure douloureuse (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

- **la candidose hyperplasique ou pseudotumorale :**

Il existe des plaques bourgeonnantes, hyperkératosiques voire papillomateuses qui siègent au niveau de la langue ou de la muqueuse jugale. Les plaques sont adhérentes, difficilement détachables. Cette forme

S'observe plus volontiers chez les fumeurs et il existerait un risque de transformation maligne de ce type de lésion (Anofel, 2016).

- **La langue noire villoseuse :**

Caractérisée par une hypertrophie de l'extrémité des papilles (villosités) qui prennent une couleur noire ne sont pas des candidoses (Anofel, 2016). Cette couleur noire en surface est due à l'oxygénation et aux pigments produits par certaines bactéries ; la langue noire villoseuse est rarement d'origine fongique (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

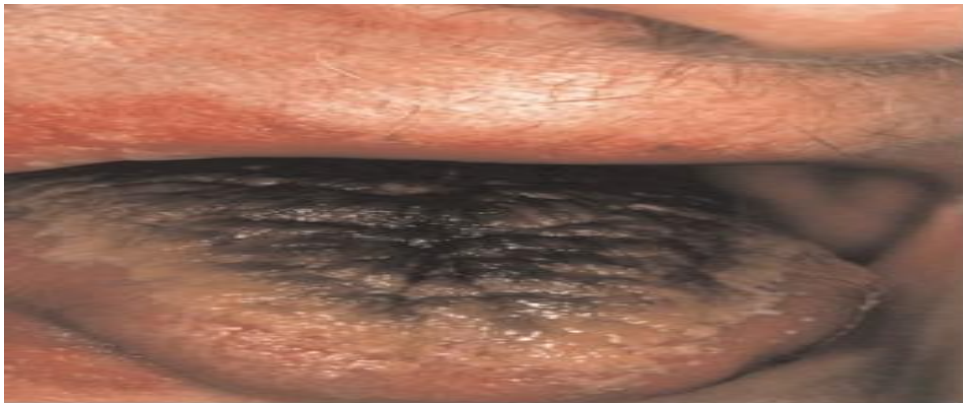


Figure 9 : la langue noire villeuse (Gligorov et al., 2013)

- **La langue fissurée /scrotale/ plicaturée :**

Cette glossite serait de cause génétique, mais l'étiologie est encore inconnue. Elle est souvent observée au sein d'une lignée familiale. La transmission se ferait sur un mode autosomique dominant irrégulier. Cliniquement, On observe une langue fissurée dont le dos est recouvert de sillons qui forment à certains endroits de véritables fissures. La langue fissurée peut également être colonisée par *candida albicans* ainsi que par des aliments, ce qui favorisera son inflammation et l'apparition de douleurs de type brûlures et irritantes. La langue fissurée est fréquente chez les patients atteints de trisomie (**Thibaut JEANDET, 2013**)



Figure 10 : La langue fissurée (Thibaut JEANDET, 2013)

- **La langue géographique :**

Est souvent associée à la langue fissurée. A partir d'un point central la muqueuse desquame de manière centrifuge délimitant des zones érythémateuses à bordure blanche un

La physiopathologie des Candidoses superficielles

peu surélevée, cette desquamation donne un aspect de carte géographique à la surface de la langue d'où sa dénomination. (Thibaut JEANDET, 2013)



Figure 11 : La langue géographique (Gligorov et al., 2013)

- **La perlèche et la chéilite :**

La perlèche accompagne volontiers les candidoses oropharyngées .Elle correspond à une inflammation de la commissure labiale et réalise une fissure humide, érythémateuse, squameuse ou croûteuse souvent bilatérale(Anofel, 2016). La chéilite candidosique est caractérisée par un érythème des lèvres associé à un œdème et à une desquamation avec sensation de brûlure. (Hochedez et al., 2007).



Figure 12 : La perlèche et la chéilite (Anofel, 2014).

B. 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 $100/\text{mm}^3$. Elle se traduit par une dysphagie douloureuse accompagnée des 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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

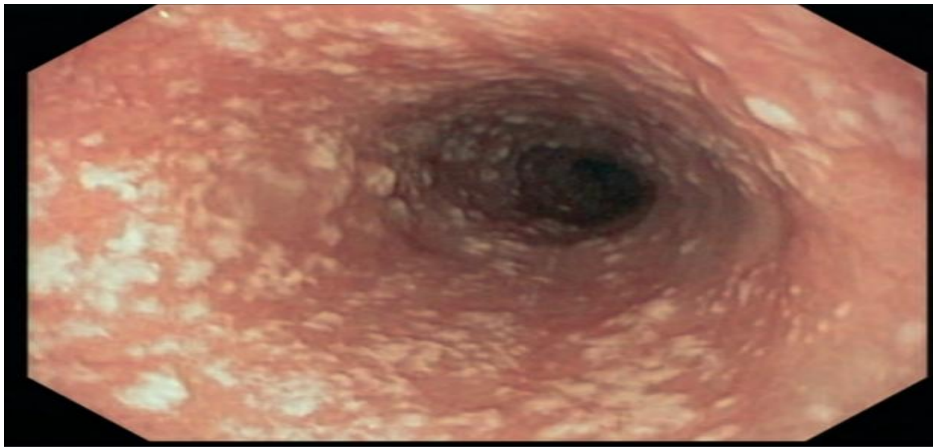


Figure 13 : La Candidose œsophagienne (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

◆ 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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

◆ 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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

◆ La candidose anale :

Elle complique le plus souvent une antibiothérapie prolongée (**Hochedez et al., 2007**). Et se traduit par des lésions péri-anales rouges parsemées de petits éléments maculo-papuleux et un érythème suintant. Le prurit anal est habituel dans cette localisation. (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

C. Candidoses génito-urinaires

◆ Vulvo-vaginite à *Candida* ou candidose vulvovaginale :

La candidose vulvo-vaginale (CVV) est un motif de consultation fréquent en gynécologie infectieuse. Elle occupe le second rang après la vaginose bactérienne. C'est une infection mycosique caractérisée par des leucorrhées blanchâtres (lait caillé), d'aspect crémeux ou grumeleux. (**Amouri et al., 2010**)

Les signes fonctionnels associent : prurit vulvaire, brûlure, dysurie et dyspareunie, Les muqueuses sont érythémateuses et œdématisées. Elle peut s'étendre jusqu'aux plis inguinaux et interfessiers (**Hochedez et al., 2007**). La candidose vaginale n'est pas considérée comme une infection sexuellement transmissible (IST). . (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

La CVV est multifactorielle. Elle peut être la conséquence de l'exposition de la femme à l'un des facteurs de risque telle que Estrogènes (hormonaux dépendante, La grossesse) le diabète, antibiothérapie à large spectre, VIH et les facteurs associés aux comportements (l'hygiène vestimentaire, l'hygiène intime) (**Amouri et al., 2010**).

On parle de **vulvovaginites récidivantes** par la survenue de plus de quatre épisodes de candidoses vaginales par ans. *Candida albicans* représente 85 à 90 % des isollements, suivie de *C.glabrata* (5 à 10 %) ,*C.tropicalis* (3 à 5%) , *C.parapsilosis* (3 à 5%) .Les autres cas (moins de 3 % des candidoses vaginales récidivantes) sont due à d'autres espèces telles que *Candida krusei* , *C.kefyr* et *C.guilliermondii*. (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

Candidose vaginale récidivante peut être la première manifestation clinique de l'infection à VIH chez une femme séropositive. (**Anofel, 2016**)

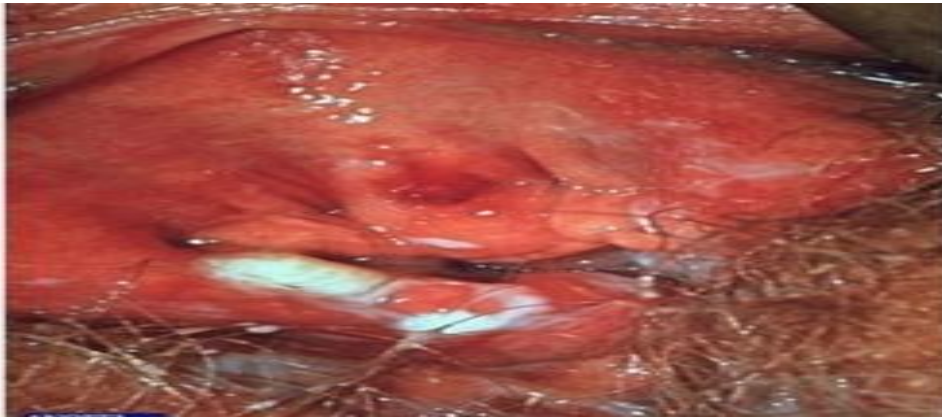


Figure 14 : La candidose vulvo-vaginale(Anofel, 2016)

◆ Balanite et balanoprostite à *Candida* :

Chez l'homme, la candidose génitale se manifeste par une balanite. Le début se fait dans le sillon balanopréputial par un érythème qui intéresse le gland et le prépuce. De petites vésicules sont présentes à sa surface, ainsi que des papules avec souvent des plaques blanchâtres (Anofel, 2016) un œdème est présent dans les formes sévères. Une forme particulière, récurrente, se manifeste après un rapport sexuel non protégé. Elle se traduit également par un érythème prurigineux mais les examens mycologiques sont négatifs. Cette forme clinique représenterait une réaction hypersensibilité immédiate à des *Candida* présente dans les sécrétions vaginales de la partenaire (Develoux et Bretagne, 2014)



Figure15 : Balanite et balanoprostite à *Candida* (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

◆ Candidoses urinaires :

La candidurie est fréquente chez les sujets hospitalisés, en particulier dans les services d'urologie, de grands brûlés, ou de réanimation. Les *Candida* peuvent atteindre l'appareil urinaire par voie rétrograde à partir d'un foyer de localisation (flore digestive ou vaginale) ou plus rarement par voie systémique. Parmi les facteurs favorisants, on relève les âges extrêmes de la vie,

une immunosuppression, les malformations de l'appareil urinaire, les manœuvres sur les voies urinaires, l'usage de matériel étranger et de sondes. *Candida albicans* est la principale espèce impliquée mais d'autres espèces sont de plus en plus isolées comme *C.glabrata* et dans une moindre mesure *C.tropicalis*. Seuls 4 à 14 % des patients avec candidurie présentent des symptômes urinaires, soit parce qu'il n'y a pas de réponse inflammatoire soit parce que le patient est dans l'impossibilité de communiquer. Quand il ya des manifestations cliniques, celles-ci sont similaires à celle que l'on observe dans les infections urinaires bactériennes. Un des aspects originaux des infections à *Candida* est la formation dans certain cas de la masse fongique dans l'arbre urinaire (balle fongique). Cette complication a été décrite chez le prématuré, le nouveau-né et le diabétique elle est favorisée par une nécrose papillaire et les sondages urinaires. (Develoux et Bretagne, 2014).

II.5.2. Candidoses des phanères

A. Onychomycoses candidosiques (Périonyxis et onyxis) :

Les onychomycoses à *Candida* spp, siègent plus fréquemment au niveau des mains qu'aux pieds. Les femmes sont plus fréquemment atteintes car plus souvent exposées aux principaux facteurs de risque locaux que sont les contacts prolongés et qui répétés avec l'eau et les produits d'entretien, le port de gants de protection, les microtraumatismes et les abus de soins de manucure. La contamination résulte d'une auto-inoculation à partir d'un foyer digestif ou génital et *C.albicans* est l'espèce la plus souvent incriminé. Classiquement, l'onychomycose à *Candida* débute par une atteinte des tissus peri-unguéraux (Périonyxis). Elle se traduit par une tuméfaction tendue, érythémateuse parfois, douloureuse, entourant la tablette unguéale. La pression de l'œdème fait sourdre une sérosité (Anofel, 2016)

L'onyxis est l'atteinte de l'ongle et survient dans un second temps. L'atteinte primaire est proximale puis l'infection touche les bords latéraux et distaux. L'ongle s'épaissit et s'opacifie progressivement (aspect jaune, verdâtre ou marron) et devient friable, parfois complètement fragilisé, il se décolle de son lit et s'en détache. Contrairement à onyxis à dermatophytes ou même à moisissures, les onyxis à levures évoluent rapidement vers la destruction totale de l'ongle (J. Philippe Bouchara et al., 2010)



Figure 16 : Périonyxis et Onyxis à Candida (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

II.5.3. Candidoses cutanées (inguinales)

A. Intertrigos candidosiques

❖ Intertrigos à grands plis :

Le plis inter et sous-mammaires, les plis inguinaux-cruraux et axillaires, interfessiers sont le plus souvent atteints.

Ces intertrigos sont particulièrement fréquentes chez les femmes obèses (macération, humidité). L'aspect clinique est d'emblée évocateur sous forme d'une nappe érythémateuse, d'aspect vernissé et suintant, étendue symétriquement sur les deux berges du pli. Le fond du pli est fissuré recouvert d'enduit blanchâtre fétide, et les contours de la lésion sont limités par une collerette desquamative, associée à la présence en peau saine de petites pustules blanches satellites. (El Euch et al., 2014).



Figure 17 : Intertrigo candidosique inter et sous-mammaire (El Euch et al., 2014).

◆ **Intertrigos à petits plis :**

Au niveau des petits plis, interdigito-palmaires principalement, plus rarement plantaires à l'inverse des dermatophytes, 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, matière de la restauration, pâtisseries, coiffeurs) ou à des produits décapants, et le troisième espace est le plus souvent touché (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)



Figure 18 : Intertrigo interdigito-plantaire à Candida (J. Philippe Bouchara et al., 2010)



Figure 19 : Intertrigo interdigito-palmaire à Candida (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

B. Candidose cutanéomuqueuse chronique :

La candidose cutanéomuqueuse chronique (CCMC) est une affection rare qui touche le plus souvent les jeunes enfants avec une atteinte à *C.albicans* persistante ou récidivante de la peau, des ongles et des muqueuses. Les lésions unguéales et cutanées peuvent prendre un aspect croûteux, hyperkératosique. Il existe un trouble de l'immunité cellulaire préexistant. (Anofel, 2016).

Elle est le reflet d'un dérèglement de la production de cytokines de type 1, en particulier interleukine (IL-17 et IL-22) (Develoux et Bretagne, 2014)



Figure 20 : Candidose cutanéomuqueuse chronique (El Euch et al., 2014)

C. Candidose cutanée néonatale ou congénitale :

Elle touche les nouveau-nés dès la naissance. Elle est liée à une candidose vaginale méconnue avec atteinte et 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. Les plis sont épargnés et il n'y a pas, en général, d'invasion des organes profonds (J. Philippe Bouchara et al., 2010)



**Figure 21: Candidose cutanée néonatale ou congénitale
(J. Philippe Bouchara et al., 2010)**

D. 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 **(J. Philippe Bouchara et al., 2010)**



Figure 22 : La Candidose génito-fessière du nourrisson (J. Philippe Bouchara et al., 2010)



Chapitre 03



I. Conduit du diagnostic mycologique des Candidoses

I.1. Généralités

Comme les manifestations cliniques ne sont spécifiques, le diagnostic repose sur une combinaison des critères cliniques et mycologiques (**Amouri et al., 2010**).

Le diagnostic mycologique d'une Candidose s'inscrit dans le cadre de la démarche classique d'identification d'un microorganisme (**Pihet et Marot, 2013**)

Les techniques mycologiques standards pour la mise en évidence des levures (orientation clinique) comportent le prélèvement accompagné d'une fiche de renseignement, l'examen direct des prélèvements, la mise en culture sur milieux spécifiques et l'identification (critères macroscopiques et microscopiques) suivi d'un antifongigramme. (**Develoux et Bretagne, 2005**)

1. Orientation diagnostique

Dans le laboratoire de mycologie, la question la plus fréquemment posée au biologiste est la suivante : l'espèce isolée est-elle impliquée dans un processus pathologique ?

Tout champignon isolé en culture pure d'un prélèvement profond (LBA, LCR, biopsies,...) ou superficielle (expectoration, urines, sérosités, phanère...) doit être considéré comme un pathogène, surtout lorsqu'il est isolé à plusieurs reprises, la notion de contaminant ou de colonisateur commensal ne sera ainsi retenu qu'après avoir écarté l'hypothèse d'une mycose opportuniste. Le contexte d'isolement (infection nosocomiale, notion de voyages,...) est par ailleurs très important à connaître pour l'interprétation des résultats (**Chabasse et al., 2009**)

Lors du prélèvement, un interrogatoire doit être mené (fiche de renseignement)

-description des lésions

Évaluer la date ou estimation du début des lésions et la présence du prurit
D'autres membres de la famille présentent-ils le même type de lésions (notion d'épidémie familiale) ?

-La patiente a-t-elle des antécédents de mycose et a-t-elle reçu un traitement ?

-Existe-t-il une notion de fréquentation de piscine, salle de sport ?

-S'assurer que le sujet n'a pas reçu de traitement antifongique avant d'avoir effectué le prélèvement. Le prélèvement doit être fait avant toute administration d'antifongique locale ou systémique ou après une fenêtre thérapeutique de 15 à 30 jours.

- Rechercher la présence d'autres lésions : peau glabre, orteils... (Conte, 2010).

2. Démarche diagnostique au laboratoire

2.1. Prélèvement, acheminement, conservation

Le diagnostic d'une mycose repose sur un prélèvement de qualité (première étape), c'est-à-dire adapté à la demande, prélevé en quantité suffisante et recueilli dans un récipient stérile. En raison de la multiplication rapide des levures et de la flore bactérienne, le prélèvement doit être acheminé immédiatement au laboratoire ; à défaut, il est conservé à 4°C. Les prélèvements cutanéomuqueux seront réalisés de préférence par le biologiste lui-même (Pihet et Marot, 2013)

Les modalités des prélèvements sont présentées dans le **tableau 1**

Tableau 1 : Modalités des prélèvements selon la localisation superficielle de la Candidose (Pihet et Marot, 2013)

Clinique et localisation	Prélèvement	Conditionnement (volume minimum)	Conservation en cas d'acheminement différé
Lésion cutanées sèches et ongles (périorionyx secs)	Raclage (curette de Brocq, vaccinostyle...) en périphérie de la lésion (limite ongle sain-ongle malade).	Recueil du produit en flacon stérile	1-3 jours à + 4°C
Lésions suivantes : Plis, périorionyx avec pus, muqueuses, orifices naturels (les celles buccales, vaginales et les urines)	Ecouvillonnage Flacon stérile(urines)	Recueil sur écouvillons stériles (1 pour ED, 1 pour culture)	< 24 à + 4°C
Pustule, abcès	Grattage à la curette de Brocq et écouvillonnage	Recueil du pus d'abcès en flacon stérile ou sur écouvillons stériles	< 24 à + 4°C

2.2. Examen directe

L'examen direct est la deuxième 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. **(J. Philippe Bouchara et al., 2010)**

◆ Prélèvements superficiels

L'ED s'effectue soit directement à l'état frais ($G \times 40$) par montage dans un liquide non coloré (eau distillé ou sérum physiologique stérile), soit en utilisant un colorant permettant de mieux visualiser les blastoconidies : May-Grunwald-Giemsa (MGG), lugol à 2%, bleu de toluidine, bleu au lactophénol, noir Klorazole ou rouge congo (MycetColor[®], sr2b). L'examen direct des squames et des ongles nécessite un éclaircissement préalable dans la potasse (KOH à 30 %) ou le chloralactophénol. Par ailleurs, l'utilisation d'agent clarifiant tel que le blanc de calcofluor (Sigma), le Blankophore[®] (Bayer) à 0.1% ou encore le MycetFluo (sr2b) permet de renforcer la sensibilité de l'examen, à condition de disposer d'un microscope équipé d'une lampe fluorescente et des jeux de filtres adéquats (filtre bleu 400-440 nm). Les échantillons liquides peuvent être concentrés par centrifugation (10 min à 1500 g) ou par filtration sur membrane de porosité 0.45 μm **(Pihet et Marot, 2013)**

L'examen direct permet de mettre en évidence les blastopores et autre 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. **(J. Philippe Bouchara et al., 2010)**

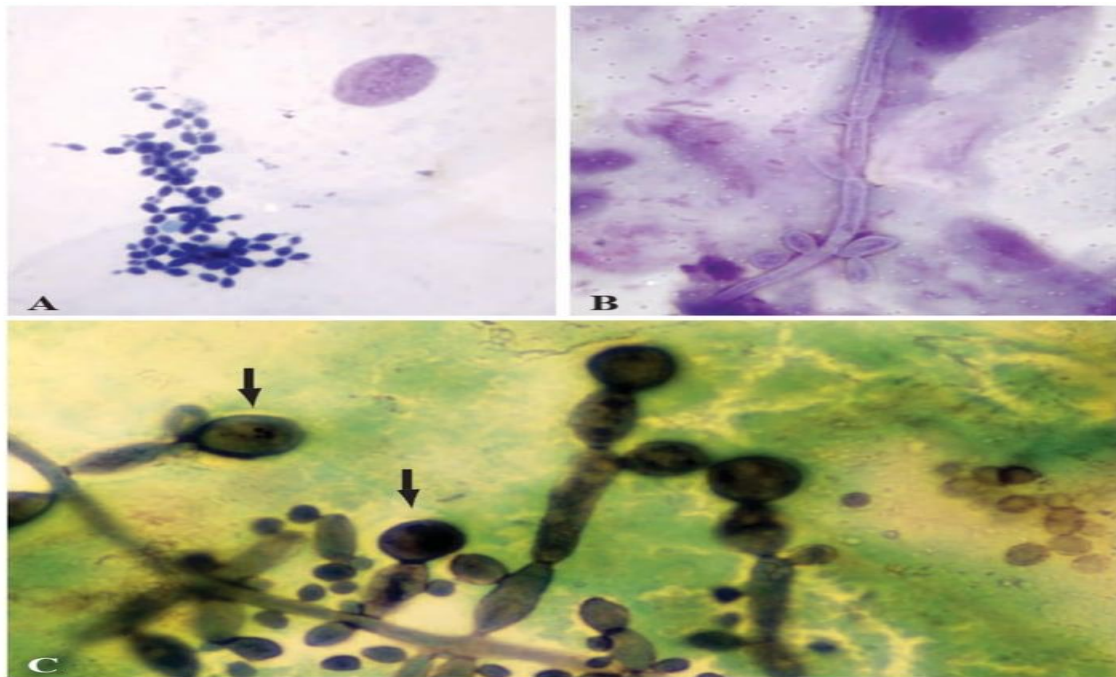


Figure 23 : Examen direct des prélèvements superficiels-muqueuses.

Coloration de May-Grunwald Giemsa sur frottis buccal (A) montrant des amas de blastospores ovales, parfois bourgeonnantes. (G×100)

Coloration de May-Grunwald Giemsa sur frottis vaginal (B) montrant des filaments mycéliens septés, avec formation de blastospores au sommet des articles. (G×100)

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 chlamydozoospores (flèches). (G×100) (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

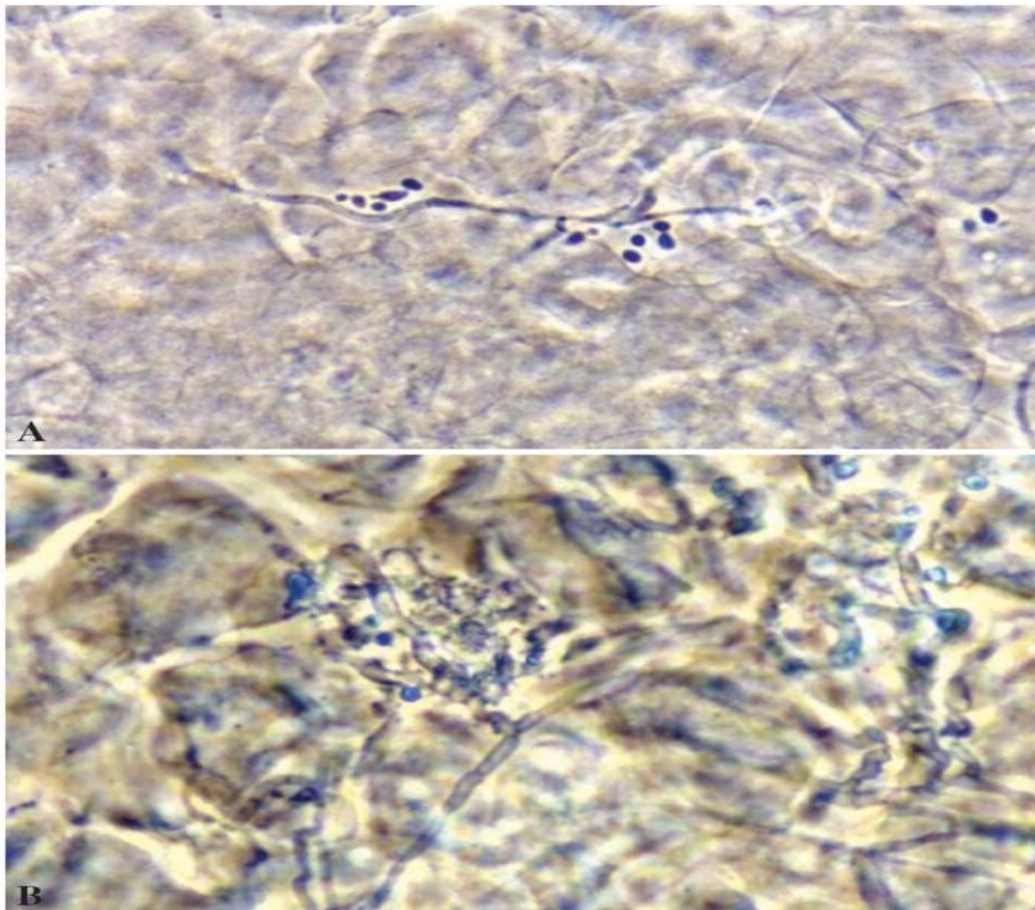


Figure 24 : Examen direct des prélèvements superficiels –peau et phanères.

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 onychis à *Candida ciferri*. L'examen direct montre la présence de filaments mycéliens septés. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

2.3. Culture

La troisième étape de la démarche diagnostique consiste à la mise en culture des produits biologiques sur des milieux standard ou spécifique.

A l'exception des *Malassezia* lipodépendants, les levures rencontrées chez l'homme peuvent pousser sur les milieux de culture utilisés en bactériologie (gélose ordinaire, gélose au sang, bouillon cœur-cerveille...). Toutefois, le milieu de Sabouraud et 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 (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

◆ L'ensemencement

L'ensemencement sur les milieux de culture se fait de façon stérile, par épuisement progressif de l'inoculum en quadrants, en étoile, par rotation...etc. (**Pihet et Marot, 2013**)

◆ Les milieux de cultures

a. Les Milieux standards

La vitesse de croissance des levures étant moins rapide que celle des bactéries, il est préférable d'ajouter au milieu d'isolement un antibiotique afin d'inhiber la pousse de la flore bactérienne associée, surtout si le prélèvement est issu d'un site non stérile. Le milieu gélosé de Sabouraud additionné de chloramphénicol et/ou de gentamicine est classiquement utilisé. Dans certaines circonstances, il est possible d'y ajouter de la cycloheximide (Actidione), qui inhibe la croissance de la plus part des champignons filamenteux susceptibles de contaminer les cultures. Toutefois, cette molécule peut inhiber ou freiner la pousse de certaines espèces de *Candida* telles que *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.famata*.

La plus part des champignons ont une température de croissance comprise entre 25 et 35 °C. La température optimale de croissance des *Candida* est de 37 °C.

Plusieurs géloses sont généralement ensemencés ; la première est incubée à 22-25 °C et la seconde à 35-37 °C. Les durées d'incubation sont adaptées au type de prélèvement. Une durée d'incubation de 24 à 72 heures est généralement suffisante pour isoler la majorité des *Candida* (**Pihet et Marot, 2013**)

b. 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 gélose chromogénique (**figure 25 et 26**). 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*).

Les milieux chromogéniques sont particulièrement indiqués pour le diagnostic des candidoses Ils permettent d'identifier directement *C. albicans* (**Figure 25**) 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*TM4, 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*TM4 ; *Candida tropicalis*, *C. lusitaniae* et *C. kefyr* forment des colonies roses sur *Candida ID*[®] 2. Sur le milieu *Candida Brilliance*[®],

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 26**). 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 (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

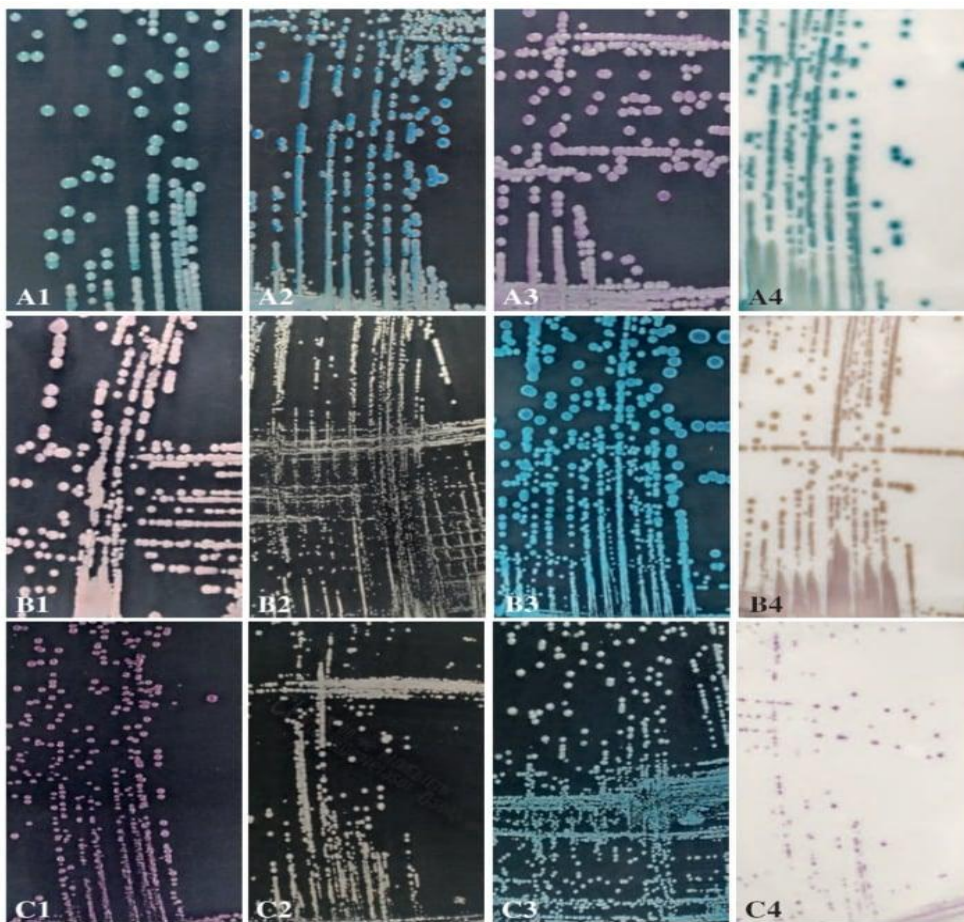


Figure 25 : Colonies de *Candida albicans*(A), *Candida glabrata* (B), et *Saccharomyces cerevisiae* (c).

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 effectuée par le milieu de culture utilisé, avec parfois des répercussions sur l'identification biochimique ultérieure. (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

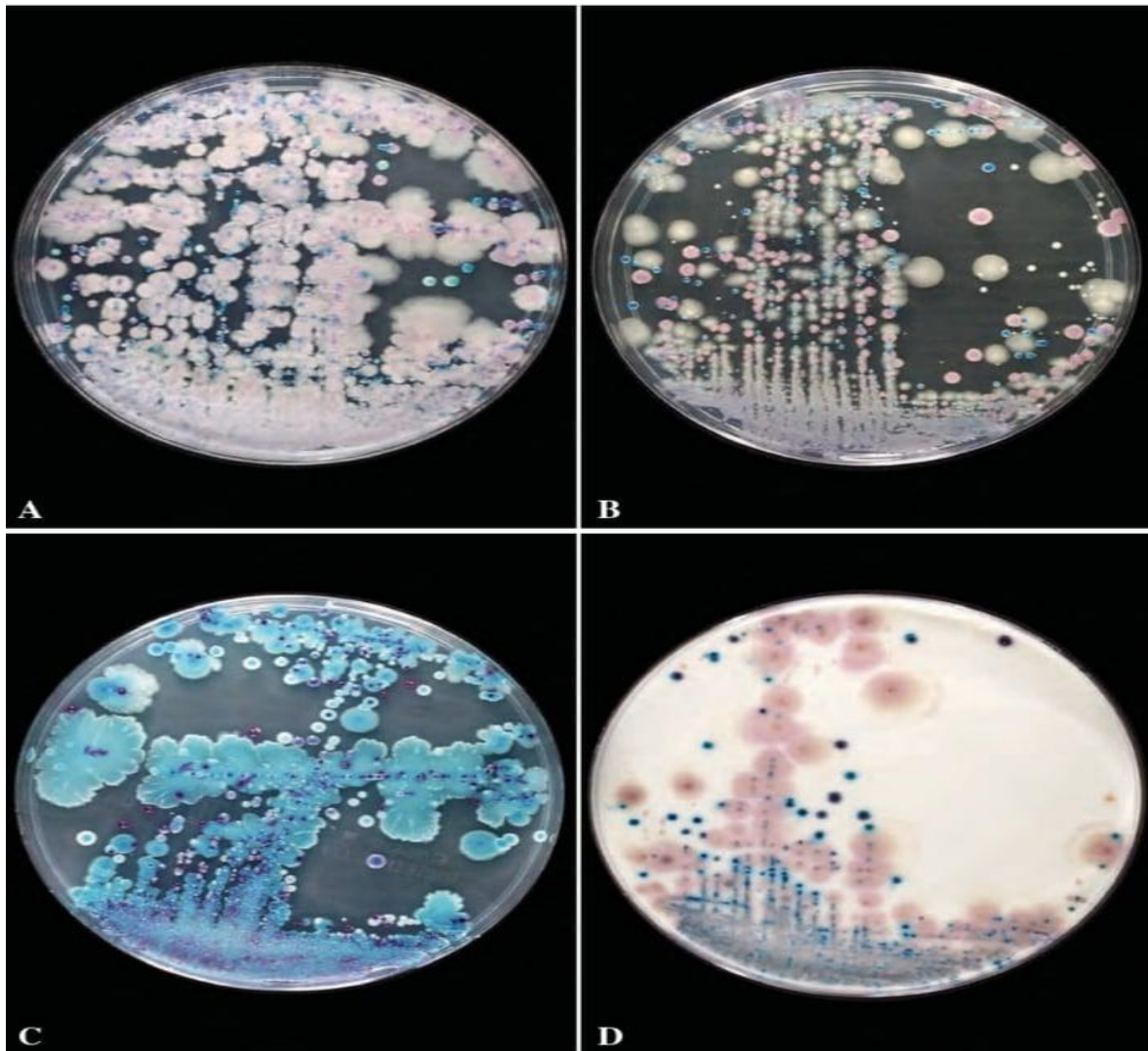


Figure 26 : Association des levures (*C.albicans* ,*C.krusei* ,*C.tropicalis* ,*C.glabrata* et *C.parapsilosis*) sur CHROMagar[®] Candida (A), Candida ID[®] 2 (B), CandiSelect[®]4 (C) et Candida Brilliance[®] (D) (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

c. Les milieux fluorogéniques

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 (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

2.4. Identification des levures genre *Candida*

L'identification repose sur la morphologie macroscopique des cultures et l'aspect microscopique. la réalisation des tests d'identification de l'espèce isolée ne peut être envisagé qu'en présence des 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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

• Identification de *Candida albicans*

Plusieurs techniques peuvent être utilisées, les plus anciennes étant le test de blastèse et la recherche de la chlamydosporulation. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

a. Test de blastèse

Ce test, appelé aussi test de germination, est basé sur le fait que *C.albicans* (mais aussi *C.dublinsiensis*) produit en 3 heures à 37 °C dans du sérum humain ou animal, un tube germinatif à partir des blastospores. (figure 27)

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. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

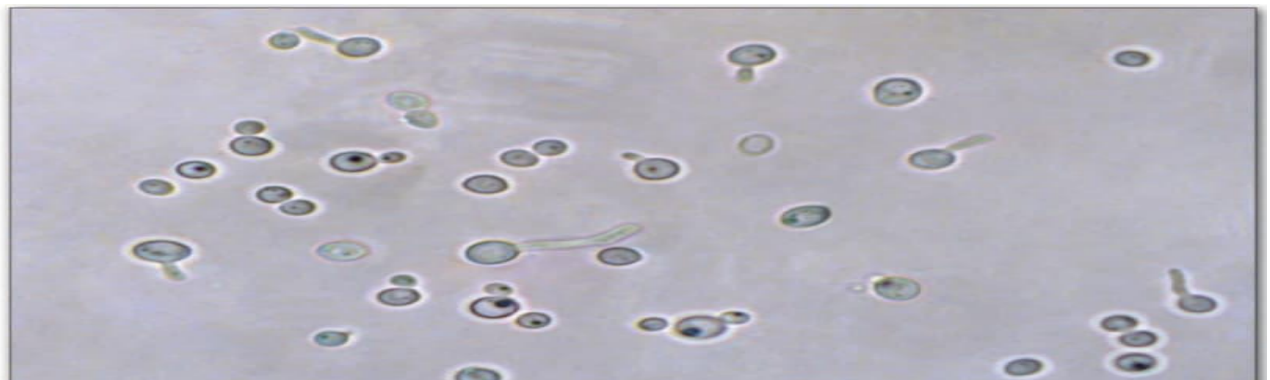


Figure 27: Test de blastèse. (G
×40) (J. Philippe Bouchara et al.,

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 25-27°C des chlamydozoospores à l'extrémité de pseudofilaments (**figure28**). Il faut cependant noter que *C.dublinsiensis* produit lui aussi des chlamydozoospores sur ces milieux. Elles sont plus abondantes et disposées par paires ou par triplets. (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

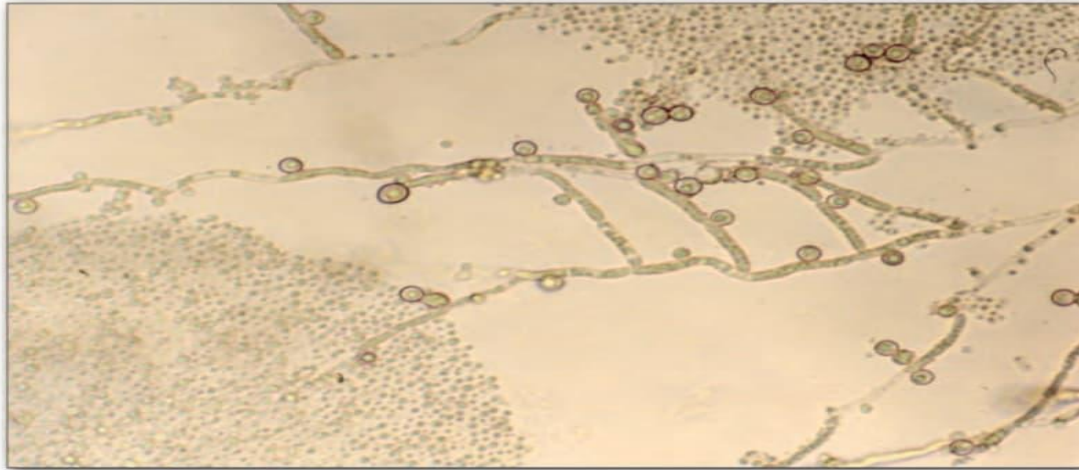


Figure 28 : Recherche de la chlamydosporulation. (G ×40) .(J. Philippe Bouchara et al., 2010)

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'agglutinat rouge sur un fond vert (**figure29**). Ce test présente une excellente sensibilité et une grande spécificité, du moins pour le complexe *C.albicans/C.dublinsiensis*. En effet, il est également positif pour *C.dublinsiensis* et ne permet pas de différencier les deux espèces. (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

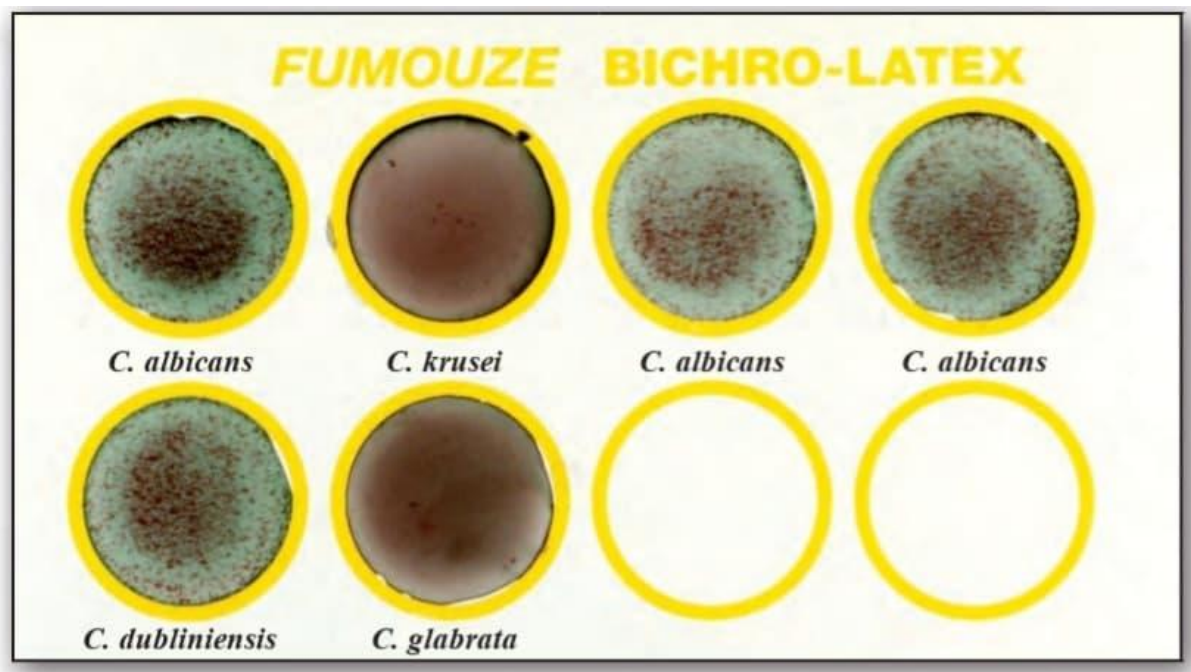


Figure 29 : Bichro_latex[®] albicans
(J. Philippe Bouchara et al., 2010)

d. Tests rapide 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, β -galactosaminidase et L-proline aminopeptidase, la mise en évidence de ces deux activités enzymatiques associées signant le diagnostic de *C. albicans*/*C. dubliniensis*. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

- **Identification des espèces non albicans**

a. La 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 blanc au rouge selon l'espèce. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

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[®], Fumouse

Diagnostics) de particules de Latex sensibilisées par un anticorps monoclonal spécifique de ces espèces. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

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 30). D'autres espèces peuvent en effet hydrolyser ces deux hydrates de carbone.

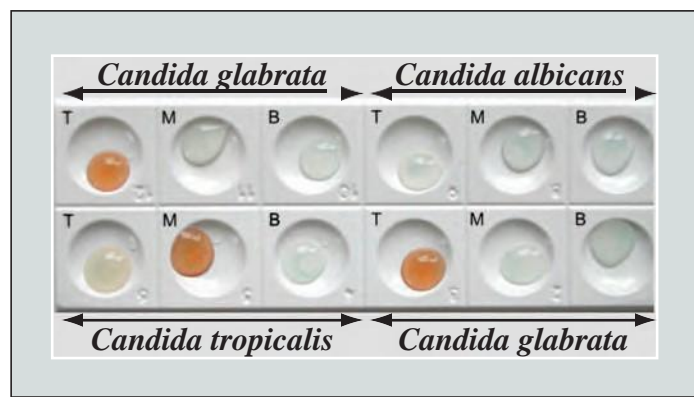


Figure 30 : Glabrata RTT[®]

(J. Philippe Bouchara et al., 2010)

Mais, La grande majorité de ces tests repose sur l'étude de l'assimilation des hydrates de carbone en aérobiose (auxanogramme du carbone), et pour certains de la fermentation de ces sources de carbone (zymogramme). Dans l'auxanogramme, la levure est placée en aérobiose en présence d'un panel plus ou moins large d'hydrates de carbone (oses simples, 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 ont 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 recherche de l'activité N-acétyl-galactosaminidase (hexosaminidase) et la recherche de la phénoloxydase.

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 2). (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)

Tableau 2 : Caractéristiques morphologiques des principales levures d'intérêt médical. (J. Philippe Bouchara et al., 2010)

Espèce	Morphologie sur milieu Sabouraud		Morphologie microscopique sur RAT
	Aspect des colonies	Microscopie	
<i>Candida spp.</i>	Colonies blanches crémeuses, luisante ou mates, lisses ou plissées	Blastospores ± pseudofilaments	Blastospores ± filaments et/ou pseudofilaments ± chlamydo-spores
<i>C.albicans.</i>	Blanches, luisantes, lisses à bords nets	Blastospores ovoïdes (3-14× 3-7µm)	Blastospores, filaments, pseudofilaments et chlamydo-spores
<i>C.dublinsiensis.</i>	Crèmes, lisses loup lissées à bords nets	Blastospores ovoïdes (3-14× 3-7µm)	Blastospores, filaments, pseudofilaments et nombreuses chlamydo-spores
<i>C.glabrata.</i>	Blanches, brillantes, lisses à bords nets	Blastospores rondes à ovoïdes (3-4× 2-3µm)	Blastospores rondes à ovoïdes pas de mycélium ni pseudomycélium
<i>C.tropicalis.</i>	Blanches à crèmes lisses à bords nets	Blastospores ovoïdes (6-10× 4-7µm)	Blastospores ovoïdes et nombreux pseudofilaments.
<i>C.parapsilosis.</i>	Crèmes lisses à bords nets	Blastospores rondes à ovoïdes (5-15× 5-10µm)	Blastospores rondes à ovoïdes et pseudofilaments courts
<i>C.krusei.</i>	Blanches, mates à bords festonnés odeur d'alcool de fruit	Blastospores ovoïdes à cylindrique (5-12× 3-6µm)	Blastospores ovoïdes à cylindrique pseudofilaments
<i>C.kefyr.</i>	Blanches à crèmes, translucides odeur fruitée	Blastospores ovoïdes à allongées (7-10× 3-5µm)	Blastospores ovoïdes à allongées nombreux pseudofilaments

II. Détermination de la sensibilité aux antifongiques

1. Intérêt et indication

La réalisation d'un antifongigramme ne doit pas être systématique pour tout les isolats de *Candida* et les tests de détermination de la sensibilité aux antifongiques ne seront mise en œuvre que dans les situations suivantes :

- Levure isolée d'un prélèvement profond (hémoculture ou autre prélèvement)
- Levure isolée d'une infection superficielle, en cas de récurrence ou d'échec thérapeutique.
- Patients immunodéprimés ou soumis à une forte pression de sélection par des antifongiques utilisés en prophylaxie (risque de résistance secondaire).

En ce qui concerne les candidoses superficielles récidivantes, il convient de vérifier au préalable la réalité de la résistance au traitement en s'assurant de la bonne observance de celui-ci, de l'absence de foyer(s) associé(s) et de pathologie(s) sous-jacente(s), ou encore du traitement du ou des partenaires(s). (Pihet et Marot, 2013)

2. Mécanisme d'action de différentes classes d'antifongique

La connaissance des mécanismes d'action des antifongiques est une étape importante :

- L'amphotéricine B est un polyène macrocyclique qui se fixe sur l'ergostérol membranaire en formant des pores dans la membrane conduisant à une fuite des électrolytes cytoplasmiques à l'extérieur de la cellule. L'amphotéricine B a également une activité de peroxydation des lipides membranaires et intracellulaires.
- La 5-fluorocytosine est un analogue de pyrimidine. Cette molécule est le précurseur du 5-fluorouracile (5-FU) qui est la molécule active. En effet, la 5-fluorocytosine pénètre dans la cellule fongique grâce à un transporteur membranaire, la cytosine perméase. Ensuite une déamination réalisée par une cytosine désaminase conduit au 5-FU qui est finalement phosphorylé et inhibe la synthèse de l'ADN (par inhibition de la thymidilate synthétase) et la synthèse protéique.
- Les azolés agissent tous, quelle que soit la molécule, au niveau de la même cible. Leur mécanisme d'action est l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol qui intervient normalement dans la fluidité de la membrane plasmique et l'accumulation d'autres stérols toxiques pour le champignon.
- Les échinocandines sont des lipopeptides qui agissent et inhibent l'activité de $\beta(1-3)$ D-glucane synthase, enzyme permettant la synthèse de $\beta(1-3)$ D-glucane qui est un composant essentiel de la paroi fongique. Cette enzyme est une protéine codée

par le ou les gènes fks (le nombre de gènes fks fonctionnels est variable en fonction des espèces de *Candida*). (Dannaoui, 2013)

Mécanismes d'action des antifongiques

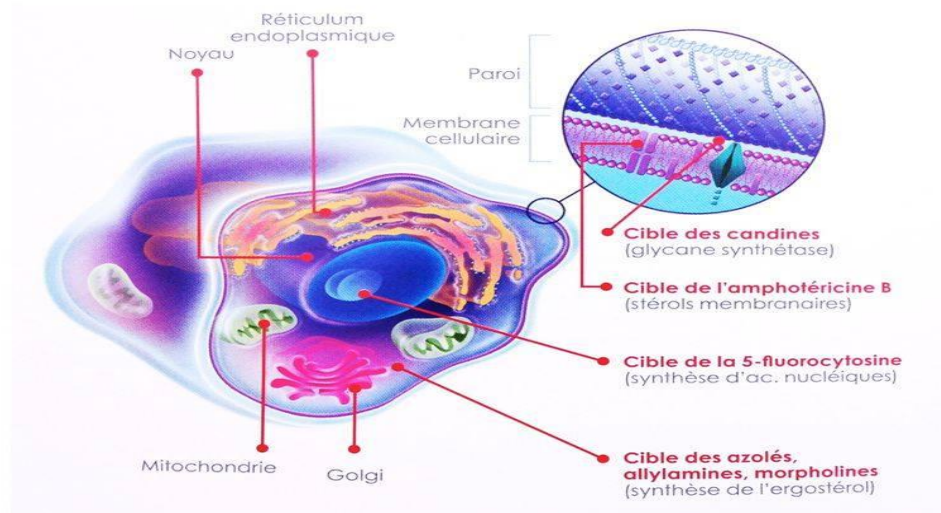


Figure 31 : Mécanisme d'action des antifongiques
<https://images.app.goo.gl/c9ah7dHVGGTNSFzr9>

3. Pourquoi réaliser un antifongogramme ?

Le premier objectif prédire l'efficacité du traitement antifongique.

Le deuxième objectif est de permettre d'apporter la preuve d'une réalisation acquise.

Les *Candida* spp sont des levures les plus fréquentes en cause dans les infections superficielles, et l'augmentation de l'utilisation du traitement antifongique est responsable d'une augmentation du nombre de résistance.

L'émergence de la résistance des *Candida* spp aux antifongiques est à l'origine d'échec thérapeutique. Il est important de faire une distinction entre résistance microbiologique et échec thérapeutique. L'échec thérapeutique (absence de réponse clinique à un traitement antifongique) peut être lié à de nombreux facteurs : des facteurs liés à l'hôte (pathologie sous-jacente, statut immunitaire, site de l'infection, présence de matériel étranger, etc.) des facteurs liés à l'antifongique (posologie, pharmacocinétique, interactions médicamenteuses, etc.) et enfin des facteurs liés au champignon (taille de l'inoculum, production de biofilm, résistance microbiologique, etc.)

Concernant la résistance microbiologique, il est également important de distinguer la résistance acquise et la résistance intrinsèque. Une résistance acquise correspond au

développement de résistance à un antifongique chez une souche appartenant à une espèce qui habituellement sensible à cet antifongique, c'est-à-dire une espèce faisant partie du spectre d'activité de cet antifongique (e.g. *C.albicans* peut acquérir une résistance au fluconazole).

A l'inverse, une résistance intrinsèque est une caractéristique d'espèce (e.g. *C.krusei* est toujours résistant au fluconazole). (**Dannaoui, 2013**)

4. Les méthodes :

Il existe actuellement des techniques de référence de détermination de la sensibilité in vitro aux antifongiques pour les *Candida* spp. Ce sont les techniques développées par le CLSI (Clinical and laboratory standards institute) aux USA et par l'EUCAST (ESCMID European committee for antimicrobial susceptibility testing) en Europe. Ils s'agit de méthodes de microdilution en milieu liquide dont toutes les étapes techniques ont été standardisés et validés (**Dannaoui, 2013**).

◆ Minigalleries commercialisées :

En pratique, il existe des tests commercialisés sous forme des galeries (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.

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 (**Bleu-Bleu**=aucune croissance dans les deux cupules), résistante (**Rose-Rose**=croissance dans les deux cupules) ou intermédiaire (**Rose-Bleu** =croissance uniquement dans la cupule de faible concentration en antifongique). (**J. Philippe Bouchara et al., 2010**)



Conclusion



Conclusion

Conclusion

Ce travail représente des études précédentes globales qui évaluent l'épidémiologie des candidoses et les problèmes de santé posés par le genre *Candida* :

- *Candida albicans* est la principale espèce d'intérêt médical, représente 60% des isollements de levure en pratique médicale.
- *Candida glabrata* représente 10% de toutes les levures isolées chez l'homme.
- L'incidence de *Candida tropicalis* ne dépasse pas 10%.
- Les techniques mycologiques pour la mise en évidence des levures comportent le prélèvement (différents selon la lésion) puis un examen direct suivi d'une mise en culture sur milieux.
- L'examen direct oriente le diagnostic et sa négativité n'exclue pas la présence d'une candidose
- L'identification repose sur la morphologie macroscopique, suivi par une étude des caractères microscopiques (tests d'identification : test blastèse.)
- antifongogramme (déterminer la sensibilité aux antifongiques) et prédire l'efficacité du traitement antifongique .



Références bibliographiques



- ✚ [Dessin] In : *Living Technologies :Effective Candida Treatment /Candida Albicans*. Disponible sur : < <https://images.app.goo.gl/DTbyYXCEwgWR8gE56> > (Consulté le 22/07/2020).
- ✚ Amouri, I., Abbes, S., Sellami, H., Makni, F., Sellami, A et Ayadi, A. (2010). La candidose vulvovaginale. *Journal de Mycologie médicale*, **20**(2) :108-115.
- ✚ Association Française des Enseignants de Parasitologie et mycologie ANOFEL. (2014). 15 p.
- ✚ Association Française des Enseignants de Parasitologie médicales ANOFEL. (2016). Parasitoses et mycoses : des régions tempérées et tropicales ; Réussir les ECNi .5ème édition. Elsevier-Masson.470p.
- ✚ Baldo, A., Mathy, A., Vermout, S., Tabart, J., Losson, B et Mignon, B. (2007). Les mécanismes d'adhérence des champignons responsables de mycoses superficielles. In *Annales de Médecine Vétérinaire*, **151** :192-199.
- ✚ Bouchara, J- P., Pihet, M., De Gentile, L., Cimon, B et Chabasse, D. (2010). Les levures et levuroses : *Cahier de Formation Biologie Médicale* N°44. Bioforma.200p.
- ✚ Chabasse, D., Guiguen, C et Contet-Audonnet, N. (1999). Mycologie médicale. Paris : Elsevier- Masson. 324p.
- ✚ Chabasse, D., Pihet, M et Bouchara J-P. (2009).Émergence de nouveaux champignons pathogènes en médecine. *Revue générale: revue francophone des laboratoires*, **2009** (416) : 71-86.
- ✚ Conte, A. (2010). L'examen direct est primordial dans les candidoses cutanéomuqueuses. *Option/Bio*, **21** (436-437) : 20.
- ✚ Dannaoui, É. (2013). Résistance des Candida aux antifongiques: détection et mécanismes. *Revue francophone des laboratoires*, **2013**(450) : 71-77.
- ✚ DANTIN, Thomase. Mécanisme d'action des antifongiques.(07/11/2014).[Structure] In :*SlidePlayer :Thomas Dantin Pharmacien CHU Nice 7 novembre ppt télécharger*. Disponible sur : <<https://images.app.goo.gl/c9ah7dHVGGTNSFzr9>> (Consulté le 05/08/2020).
- ✚ Develoux, M., Bretagne, S. (2005). Candidoses et levuroses diverses. *EMC-Maladies infectieuses*, **2** (3) : 119-139.
- ✚ Develoux, M., Bretagne, S. (2014). Candidoses et autres levuroses. *EMC-Maladies infectieuses*, **11**(2) : 1-13.
- ✚ El Euch, D., Trojjet, S., Mokni, M., et de Chauvin, M. F. (2014). Mycoses superficielles. In *Dermatologie infectieuse*. 185-198.
- ✚ Hochedez, P., Datry, A., et Caumes, E. (2007). Mycoses superficielles. *EMC-Traité de Médecine Akos*. 4-1380.
- ✚ JEGOU, Jean. Paroi cellulaire fongique. [Structure] In :*SlidePlayer :les champignon manque de cibles spécifiques sont des eucaryotes*. Disponible sur : <<https://images.app.goo.gl/ZJYP6cV7cCz7eh957>> (consulté le 16/07/2020).
- ✚ Koenig, H. 1995. *Guide de mycologie médicale*. Paris : Ellipses Marketing S.A.284p.
- ✚ .MURDOCH, Craig. Candida albicans-Endothelial Cell Interactions : a Key Step in the Pathogenesis of systemic Candidiasis.(01/07/2008).[Dessin Animée] In :*ResearchGate Cartoon of Candida cell well structure*. Disponible sur : < <https://images.app.goo.gl/uiDZqubsHaCc9zua9> > (Consulté le 20/07/2020).

Références bibliographiques

- ✚ Pihet, M., Marot, A. (2013). Diagnostic biologique des candidoses. *Revue francophone des laboratoires*, **43**(450) : 47-61.
- ✚ Poulain, D. (1990). Candidoses: bases moléculaires de l'adaptation parasitaire de protistes pathogènes opportunistes. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, **65** : 125-130.
- ✚ Poulain, D. (2013). *Candida albicans*, plasticité et pathogénie. *Revue Francophone des laboratoires*, **2013**(450) :37-46.
- ✚ Ripert, C. (2013). Mycologie médicale. Paris : Lavoisier TEC ET DOC.690p.
- ✚ Rosa, E- A- R. 2015. *Oral candidosis: physiopathology, decision making, and therapeutics*. School of Health and Biosciences, Pontifical Catholic University of Paraná, Curitiba, Paraná Brazil : Springer .98p.
- ✚ Sabra, A. (2013). Caractérisation moléculaire et phénotypique d'un mutant *dpp3Δ* déficient pour un pyrophosphate phosphatase chez la levure opportuniste *Candida lusitanae* ; Etude de l'interaction des levures avec l'hôte. Thèse de doctorat .BORDEAUX2 : Ecole doctorale Sciences de la Vie et de la Santé. 167p.
- ✚ Thibaut JEANDET(2013). Les Stomatodynies :Point sur les Connaissances Actuelles. Thèse Doctorat . UNIVERSITE DE LORRAINE.21,22p.
- ✚ Gligorov, J., Slama, L- B., Dellamonica, P., Demard, F., Gangneux, J- P., Huttenberger, B., Serin, D., Luporsi, E., Spielmann, M., Falandry, C., Curé, H., Moureau-Zabotto , L., Barry, B., Namer, M . (2011). Candidoses oropharyngées (COP) et cancers solides. *Oncologie*, **13** (4) :167-174.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Science biologique
Spécialité : Mycologie et biotechnologie fongique

Titre **Les Candidoses Superficielles**

Résumé

L'incidence des infections fongiques a augmenté de façon considérable, les candidoses superficielles constituent un motif fréquent en pathologie humaine. Ces pathologies surviennent le plus souvent chez des patients fragilisés (chimiothérapies, nouveaux immunosuppresseurs...) et chez des sujets immunocompétents. Elles sont responsables de diverses infections cliniques (candidoses des muqueuses, candidoses des ongles, candidoses cutanées).

Le diagnostic repose sur différentes techniques d'analyse microbiologiques des prélèvements, mais l'interprétation d'une culture positive doit être confrontée aux symptômes cliniques et à la présence de facteurs de risque.

L'identification est indispensable à la mise en place d'un traitement antifongique adapté. Il existe plusieurs antifongiques appartenant à quatre classes, chaque famille ayant un mode d'action.

Mot clés : Champignon ; Levures ; Candidose superficielle ; Mycologie médicale

Membre du jury :

Président du jury : ABDELAZIZ Wided.

Rapporteur : REHAMNIA Yacine.

Examineurs : Nom et prénom

Présentée par :
Douli lyna
Guizi feriel

Année universitaire : 2019 -2020