



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
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 الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département : Microbiologie**      قسم : علم الاحياء الدقيقة

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biotechnologie**

**Spécialité : *Mycologie et biotechnologie fongique.***

Intitulé :

---

**Les candidoses buccales chez les nouveaux -nés et les nourrissons :  
facteurs de risques, diagnostiques et traitements.**

---

**Présenté et soutenu par :**

**BENFOUGHAL Bouchra**

**HABBATI Chourouk Amira**

**Jury d'évaluation :**

**Présidente du jury :** ABDELAZIZ Widad (MCB- UFM Constantine).

**Rapporteuse :** BENKAHOUL Malika (MCA- UFM Constantine).

**Examinatrice :** MEZIANI Meriem (MCB- UFM Constantine).

## *Remerciements*

*En premier lieu, nos remerciements s'adressent à DIEU LE TOUT POUISSANT, qui nous a donné la patience, la force et le courage d'élaborer ce projet de fin d'étude.*

*Nous remercions notre encadreur Mme. BENKAHOUL M. MCA à l'Université de Constantine 1, pour ses précieuses orientations, conseils et suivi durant la réalisation de ce mémoire de Master.*

*Nous tenons à remercier également les membres de jury pour avoir accepté de juger notre travail.*

*Nous remercions également tous les professeurs de microbiologie, nous avons eu de la chance de compter parmi vos étudiants et de profiter de l'étendue de votre savoir.*

*Sans oublier toute l'équipe médicale de EHS mère et enfant Sidi Mabrouk Constantine qui nous a aidé à faire notre travail*

*Nous ne saurons jamais vous exprimer notre profonde gratitude.*

*Vos remarquables qualités humaines et professionnelles ont toujours suscité notre profonde admiration.*

*Nous vous prions de trouver dans ce travail témoignage de*

*Notre reconnaissance et l'assurance de nos sentiments respectueux.*

## *Dédicaces*

*A mes parents,*

*Pour leur présence, leurs encouragements dans les moments difficiles, leur aide permanente tout au long de ces années.*

*Toute mon affection et ma gratitude.*

*A toute ma famille,*

*Pour leur aide, leur soutien, pour être là à chaque moment.*

*Avec tout mon amour.*

*A mes amis,*

*Pour les bons moments passés ensemble pendant ces cinq années d'études.*

*Bouchra*

## *Dédicaces*

*A la mémoire de mon cher grand père HAMDANI Abdelaziz, qui m'a énormément enseignée, aidée et corrigée tout au long de ma vie*

***A ma très chère mère HAMDANI IMENE FAOUZIA***

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et prier pour moi.*

***A mon très cher père HABBATI MOHAMED***

*A qui je dois tout et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour, ma gratitude, ni mon infinie reconnaissance pour l'ampleur des sacrifices qu'il a endurés pour pouvoir m'éduquer, pour me voir heureuse.*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

***A : ma sœur HABBATI Maya Anissa, mes cousines BOUABDELLAH Imene Yasmine, SERDOUK Farah***

*Qui m'ont apporté soutien, réconfort rires et sourires quand j'en avais le plus besoin.*

***A mes oncles HAMDANI Rochdi et HABBATI Aboubaker***

***A mes tantes HAMDANI Ilhem Mouna, HABBATI Nabiha, HABBATI Roukia***

*Sans leur aide je n'aurai pu avancer dans mon travail !*

***A mes amies, particulièrement BENFOUGHAL Bouchra, BENTAYEB Roumaïssa, BENKOBI Lyna, BOULEFKHAD Maya, FOUGHALI Kamar, ZERMEN Racha***

*Qui m'ont apporté toute leur aide et leur soutien.*

***Chourouk Amira***

## Table des matières

Liste des figures.....	XVIII
Liste des abréviations.....	XIX
Chapitre 01 : La cavité buccale .....	2
1. Anatomie de la cavité buccale .....	2
1.1. Morphologie.....	2
1.2. Le palais.....	3
1.3. La langue .....	3
2. Histologie de la cavité buccale .....	4
2.1. L'épithélium de revêtement.....	4
2.2. Les types fonctionnels de la muqueuse orale.....	5
1.3. Rôle de la muqueuse buccale .....	5
3. Physiologie de la cavité buccale .....	5
4. Les particularités de la muqueuse buccale chez le petit enfant.....	6
5. La flore fongique normale de la cavité buccale .....	7
Chapitre 02 : Les candidoses buccales.....	9
1. Définition.....	9
2. L'agent pathogène.....	9
2.1. Taxonomie .....	9
2.1. Caractères morphologiques de <i>Candida albicans</i> .....	10
2.2. Structure et ultrastructure des <i>Candida</i> .....	13
2.2.1. Paroi cellulaire de <i>Candida albicans</i> .....	13
2.3. Habitat de <i>Candida albicans</i> .....	14
2.3.1. Milieu de vie .....	14
2.3.2. pH .....	15
2.3.3. Température .....	15
2.3.4. Nutrition.....	15
2.3.4.1. Besoin en carbone .....	15
2.3.4.2. Besoin en azote .....	15
2.3.4.3. Besoin en vitamines .....	15
2.3.4.4. Besoin en fer.....	15
3. Physiopathologie.....	16
3.1. Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte.....	17

3.1.1. Les facteurs physiologiques .....	17
3.1.2. Les facteurs locaux .....	17
3.1.2.1. Etat pathologique .....	17
3.2. Les facteurs extrinsèques .....	18
3.2.1. Les facteurs alimentaires et la dénutrition.....	18
3.2.2. Transmission mère-enfant.....	18
3.2.3. Les traitements médicamenteux .....	19
4. Pouvoir pathogène .....	20
4.1. Mécanismes de pathogénicité .....	20
4.1.1. L'adhésion.....	20
4.1.2. Dimorphisme .....	20
4.1.3. La formation du biofilm.....	21
4.1.4. La variabilité phénotypique ou « switching » .....	21
4.1.5. Les enzymes .....	22
5. Aspects cliniques de candidose pseudomembraneuse ou « muguet ».....	22
6. Diagnostique mycologique des candidoses .....	24
6.1. Prélèvements .....	24
6.2. Examen direct .....	25
6.3. Culture .....	25
6.4. Identification .....	26
6.5. Diagnostic immunologique.....	28
6.5.1. Détection d'anticorps.....	28
6.5.2. Détection d'antigènes circulants et de métabolites.....	28
6.6. Antifongigramme .....	30
7. Traitement .....	32
7.1. Définition des antifongiques .....	32
7.2. Cibles des antifongiques .....	33
7.2.1. Les polyènes.....	34
7.2.2. Les azolés.....	34
7.2.3. .Autres classes d'antifongiques .....	34
8. Prévention.....	35
1. Echantillonnage .....	37
2. Observation microscopique direct .....	37
3. Condensation des échantillons.....	38

4. Ensemencement et mise en culture .....	38
5. Identification morphologique de l'agent causale de la candidose.....	38
5.1. Observation macroscopique et microscopique.....	38
5.2. Test de blastèse .....	39
5.3. Test de chlamydosporulation .....	39
1. Population étudiée.....	40
2. Observation microscopique .....	40
3. Culture des levures .....	45
4. Identification morphologique de l'agent causale de la candidose.....	46
4.1. Observation macroscopique et microscopique.....	46
4.2. Test de blastèse .....	48
4.3. Test de chlamydosporulation .....	48
Résumé.....	62
Abstract:.....	63
الملخص:.....	64

## Liste des figures

Figure 1. Anatomie de la cavité buccale (Friciain, 2017). .....	2
Figure 2. Dos de la langue (Saemann, 2016).....	3
Figure 3. Face inferieure de la langue (Augé, 2001).....	4
Figure 4. Répartition de la flore fongique normale dans la cavité buccale (Jegoux, 2007).....	8
Figure 5. Aspect clinique d'une candidose buccale (Bauman, 2014).....	9
Figure 6. La levure <i>Candida albicans</i> sous forme de blastospore (Belahcen elouali, 2016).....	10
Figure 7. Le pseudo-mycélium de <i>Candida albicans</i> (Belahcen elouali, 2016).....	11
Figure 8. Formation d'un mycélium à partir d'un tube germinatif (Belahcen elouali, 2016).....	11
Figure 9. Un mycélium de <i>Candida albicans</i> (Belahcen elouali, 2016). .....	11
Figure 10. Les chlamydospores de <i>Candida albicans</i> .....	12
Figure 11. Les différentes morphologies et la croissance de <i>Candida albicans</i> (Belahcen elouali, 2016). .....	12
Figure 12. Ultra structure de <i>Candida albicans</i> (Belahcen elouali, 2016). .....	13
Figure 13. Répartition de <i>Candida albicans</i> dans un sujet sain. (Belahcen elouali, 2016). .....	14
Figure 14. Portes d'entrées des <i>Candida albicans</i> chez l'homme (Mavor, 2005). .....	16
Figure 15. Interaction de <i>C. albicans</i> avec la cellule hôte et communication cellulaire dans les vaisseaux sanguins (Mavor, 2005).....	16
Figure 16. Les mécanismes de pathogénicité de <i>C.albicans</i> (Belahcen elouali, 2016).....	22
Figure 17. Muguet buccale (Williams, 2013).....	23
Figure 18. Muguet chez bébé. ....	24
Figure 19. Cibles d'antifongique (Cocho, 2012).....	33
Figure 20. Prélèvement d'un échantillon de Candidose buccale par écouvillon stérile.....	37
Figure 21. Milieux utilisés pour l'ensemencement des échantillons. ....	38
Figure 22. Préparation de la culture sur milieu RAT. ....	39
Figure 23. Répartition de la population étudiée selon les fiches élaborées. ....	40
Figure 24. Aspect macroscopique des colonies sur milieu Sabouraud chloramphénicol. ....	46
Figure 25. Tubes germinatifs chez les isolats P1, P6, P70 et P82. ....	48
Figure 26. Formation de chlamydospores chez les isolats étudiés.....	49
Figure 27. Formation de chlamydospores chez les isolats étudiés (suite).....	50
Figure 28. Candidose buccale chez des nouveau-nés (photos prise par l'auteur).....	52

## Liste des tableaux

Tableau 1. Traitement du muguet buccal chez le nourrisson et l'enfant (Belahcen elouali, 2016).....	35
Tableau 2. Particularités des échantillons positifs après observation microscopique. ....	41
Tableau 3. Aspect microscopique des levures. ....	47

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	L'acide désoxyribonucléique
<b>ADNr</b>	L'acide désoxyribonucléique ribosomique
<b>AMB</b>	L'amphotéricine B
<b>AMPc</b>	L'adénosine monophosphate cyclique
<b>ATB</b>	Antibiotique
<b>CLSI</b>	Clinical Laboratory Standards Institute
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>Elisa</b>	Enzyme linked immunosorbent assay
<b>EUCAST</b>	Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee
<b>FCZ</b>	Fluconazole
<b>GlcNAc</b>	La N-acétylglucosamine
<b>IFI</b>	Immunofluorescence indirecte
<b>IgA</b>	Les immunoglobulines A
<b>IgG</b>	Les immunoglobulines de type G
<b>IgM</b>	Les immunoglobulines M
<b>ITS</b>	Internal transcribed spaces
<b>KTZ</b>	Kétoconazole
<b>PCB</b>	Polychlorinated biphenyl
<b>Man</b>	Mannane
<b>MCZ</b>	Le miconazole
<b>NCCLS</b>	National Committee for Clinical Laboratory Standards
<b>PCR</b>	Polymerase chain reaction
<b>RAT</b>	Riz, Agar et Tween
<b>Saps</b>	Proteases aspartiques sécrétées
<b>SIDA</b>	Le syndrome de l'immunodéficience acquise

# INTRODUCTION

## Introduction

Récemment, il est devenu clair qu'un grand nombre de problèmes de santé courants, à la fois physiques et mentaux, pourraient avoir une cause commune, à savoir la propagation dans le corps d'une levure qui vit en chacun de nous. Son nom est *Candida* (Chaitaw, 1985).

Le genre *Candida* compte un peu moins de 200 espèces et regroupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, produisant sauf pour *C. glabrata* des filaments (Chaitaw, 1985).

La levure *Candida albicans* fait partie de la flore microbienne endogène ou exogène. Sa présence est normale dans notre organisme (Beaudry, 2005).

Ainsi, *C. albicans*, principale levure impliquée en pathologie humaine, est un commensal ubiquitaire des surfaces épithéliales de la peau, de la cavité buccale et du tractus génital, et existe à la fois sous forme de filaments mycéliens et de levures arrondies. Elle représente plus de 70% des isolats et est impliquée dans plus de 50% des épisodes de candidémie (Alan, 2002).

Le site d'infection le plus courant par *Candida albicans* est la cavité buccale (la candidose buccale ou muguet) (Alan, 2002), est une mycose liée à la prolifération de ce genre de champignon. Bénin dans la grande majorité des cas, il peut également être le signe d'une pathologie sérieuse (Saab, 2014). Elle peut être favorisée par : un terrain fragilisé ou survenir à la suite d'un traitement avec un antibiotique à large spectre par voie générale qui détruit la flore bactérienne endogène en permettant au champignon de se multiplier, l'hygiène hospitalière, sida, diabète... (Caumes, 2012).

Avant la mise en place d'un traitement, un prélèvement permettra d'identifier précisément le germe qui est responsable de l'infection. Le traitement local fait appel aux antifongiques au niveau de la bouche, par l'application de gel ou de comprimés à sucer, la durée de traitement s'étend de 1 à 3 semaines selon l'amélioration clinique (Saab, 2014).

L'objectif de ce mémoire est d'identifier l'espèce fongique responsable de la mycose buccale et d'estimer la fréquence de la mycose buccale et de déterminer les facteurs de risques chez les nouveau-nés et nourrissons, réalisé au niveau du laboratoire de parasitologie et mycologie médicales de l'EHS mère et enfant Sidi Mabrouk Constantine.

REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE

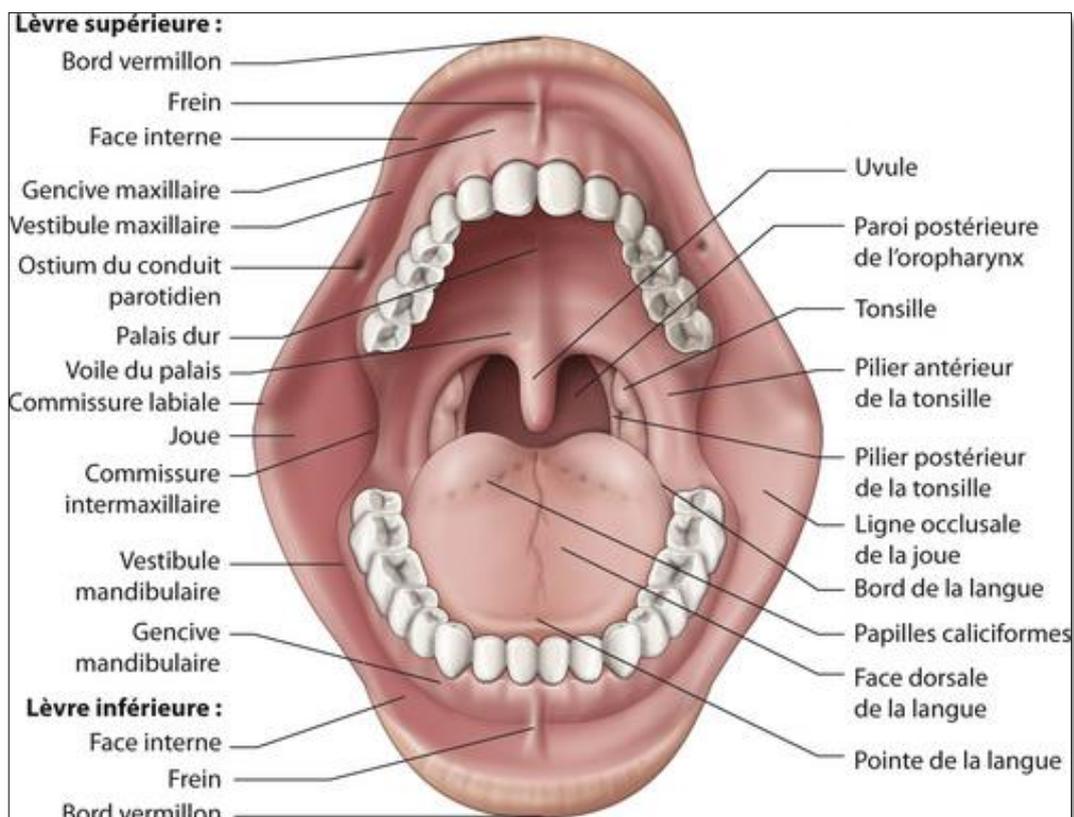
## Chapitre 01 : La cavité buccale

### 1. Anatomie de la cavité buccale

#### 1.1. Morphologie

La cavité buccale est le premier segment du tube digestif, qui est la voie d'entre des aliments et assure leur première transformation avant de les diriger vers l'œsophage (Belahcen elouali, 2016).

Elle est composée de plusieurs structures (figure 1), et elle est tapissée à l'intérieure par une muqueuse protectrice qui est un tissu non kératinisé semi-transparent pourvu de nombreuses cellules sécrétant du mucus ce qui lui donne un aspect lisse velouté sur lequel glisse la salive.



**Figure 1.** Anatomie de la cavité buccale (Friciain, 2017).

La cavité buccale est limitée en avant par la jonction du versant muqueux et cutané des lèvres, en haut et en arrière par les piliers postérieurs, en arrière et en bas par les papilles caliciformes et en bas par le plancher buccal (Wasche, 2013).

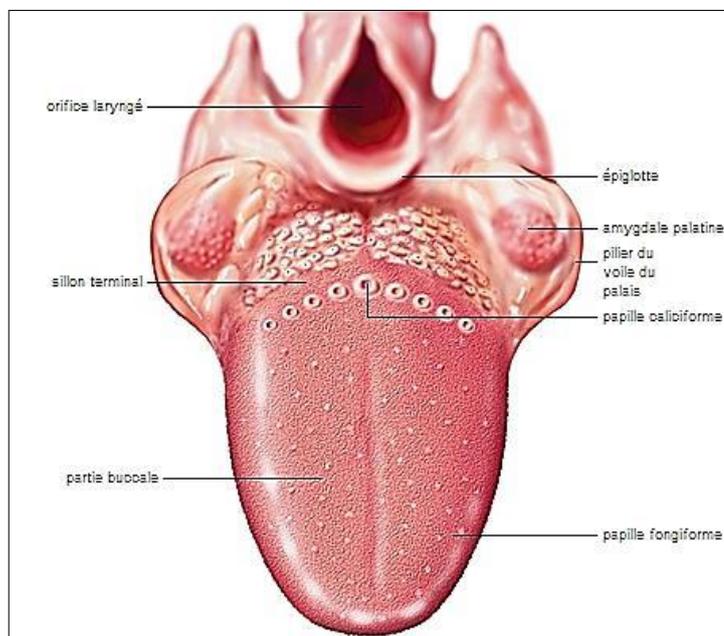
Elle englobe sept sous localisation anatomiques : les lèvres, la muqueuse buccale, les crêtes alvéolaires supérieures et inférieures, le plancher buccal, les deux tiers antérieurs de la langue, le triangle rétro-molaire et la voûte palatine (Hocombe, 2003).

### 1.2. Le palais

Il est formé de deux parties : le palais dur qui constitue les 4/5 antérieurs du palais et forme une structure osseuse recouverte d'une membrane muqueuse. Le palais mou est en continuation avec le palais dur, il se déplace en arrière contre la paroi pharyngienne pour fermer l'isthme de l'oropharynx durant la déglutition ou le parler.

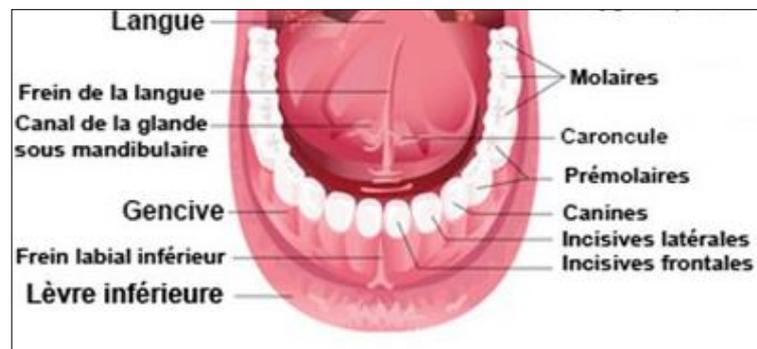
### 1.3. La langue

Le dos de la langue qui se situe au palais présente au niveau de son 1/3 postérieur le sillon terminal (le V linguale) et au niveau antérieur un sillon médian longitudinal (figure 2).



**Figure 2.** Dos de la langue (Saemann, 2016).

Comme nous le montre la (figure 3), la face inférieure de la langue présente un sillon médian qui se confond avec le frein de la langue. De chaque côté de ce sillon, les veines sublinguales transparaissent sous la muqueuse. Des plis frangés recouvrent toute la face inférieure de la langue. Les bords latéraux de la langue font face aux arcades dentaires. La racine, large et épaisse, se fixe sur l'os hyoïde et la mandibule.



**Figure 3.** Face inférieure de la langue (Augé, 2001).

## 2. Histologie de la cavité buccale

### 2.1. L'épithélium de revêtement

La cavité buccale est entièrement recouverte par une muqueuse qui prend appui sur les plans conjonctifs musculaires et osseux. La muqueuse buccale est en continuité en avant avec le tissu cutané constitué par le versant externe des lèvres, et en arrière avec la muqueuse oropharyngée.

L'épithélium comporte plusieurs assises cellulaires superposées. Les cellules sont plus larges en haut et seule une couche repose sur la lame basale : c'est la couche germinative de régénération.

Au sein de cet épithélium se trouve un corps muqueux de Malpighi et une couche superficielle dont les cellules desquament dans la cavité buccale (Douiou, 2017).

## 2.2. Les types fonctionnels de la muqueuse orale

On peut distinguer trois types fonctionnels de muqueuse orale, différant les uns les autres par leur composition.

**a) La muqueuse masticatrice** (25%) se trouvant sur les gencives et le palais dur. Elle est soumise à des contraintes mécaniques lors de la mastication et adhère fermement à sa base (os, dent). Elle est directement attachée au périoste du squelette sous-jacent (muco-périoste). L'épithélium y est para kératinisé.

**b) La muqueuse couvrante ou bordante** (60%) au niveau des lèvres, joues, vestibule, plancher buccal, face inférieure de la langue et voile du palais. Elle possède un épithélium non kératinisé et le plus souvent des glandes dans sa submuqueuse.

**c) La muqueuse spécialisée** (15%) kératinisée, se trouve quant à elle sur le dos de la langue et porte des papilles linguales spécialisées pour le goût, le toucher ou la température.

Il existe donc différentes variations anatomiques en fonction de la localisation (épithélium plus ou moins épais, kératinisé ou non, chorion plus ou moins dense, présence ou absence d'une sous-muqueuse) (Douiou, 2017).

## 1.3. Rôle de la muqueuse buccale

La muqueuse buccale possède une fonction de protection primordiale. En effet, les tissus superficiels, les tissus profonds tels que les tissus musculaires et l'os, sont protégés de l'environnement par la muqueuse buccale. Elle est également une barrière vis à vis des bactéries ou virus, grâce à une protection immunitaire permanente assurée par le système immunitaire local (organes lymphoïdes, lymphocytes et plasmocytes) et grâce à la salive par le biais des immunoglobulines (IgA, IgG et IgM) et d'autres facteurs (lysozyme, lactoferrine). Ainsi, en cas de blessures ou d'infections orales lorsque des bactéries à l'origine saprophytes deviennent agressives, la muqueuse buccale participe alors à la guérison des lésions (Douiou, 2017).

## 3. Physiologie de la cavité buccale

La cavité buccale est le siège de nombreuses fonctions physiologiques :

#### **a) Fonction mécanique**

Pour l'ingestion des aliments, broyage par la mastication dentaire, humidification par la salive, comme pour le transport, déglutition, le bol alimentaire, par l'action de la langue et des muscles pharyngés, est dirigé dans l'œsophage.

#### **b) fonction chimique**

Début de la dégradation des sucres par une enzyme salivaire. Les canaux excréteurs des glandes salivaires s'ouvrent au niveau du plancher de la bouche. Les enzymes présentes dans la salive permettent une pré-digestion des aliments d'autant plus importante que la mastication est prolongée.

#### **c) Fonction respiratoire**

La cavité buccale permet également le passage de l'air de l'extérieur vers le pharynx puis vers le larynx.

#### **d) Fonction phonatoire**

La position des mouvements, et les contractions de la langue interviennent sur l'émission des sons

#### **e) Fonction gustative**

La langue est l'organe gustatif, les récepteurs étant les papilles linguales situées sur la partie fixe de la langue, en arrière du V lingual (Ernest, 2012).

### **4. Les particularités de la muqueuse buccale chez le petit enfant**

Il existe une spécificité pédiatrique des muqueuses en raison

**a) Des particularités histologiques** avec une densité tissulaire moindre. L'épaisseur des tissus varie en fonction de l'âge. Par exemple, la muqueuse masticatrice palatine chez le jeune patient mesure entre 2,0 et 3,1 mm, contre 3,2 à 3,7 mm pour un sujet âgé (Douiou, 2017).

**b) Des particularités immunologiques** liées à une immaturité du système immunitaire chez le petit enfant. En effet, à la naissance, il existe une immaturité des lymphocytes T puis une maturation progressive. Ainsi, chez les nouveau-nés, les lymphocytes n'ont jamais été exposés à des antigènes étrangers, contrairement à ceux de l'adulte. C'est au cours de la petite enfance

que les stimulations par 20 antigènes contribuent à la poursuite de la maturation du système immunitaire dans son ensemble. Cette maturation permet alors d'augmenter les performances de la plupart des constituants du système immunitaire, ainsi que le développement d'une mémoire immunitaire contre chaque micro-organisme que l'individu a précédemment rencontré. Cette mémoire immunitaire permet l'acquisition progressive d'une protection s'opposant à la réplication des agents pathogènes les plus fréquemment représentés dans l'environnement de chaque individu (Sterkers, 1993).

**c) Une capacité de régénération** plus importante. En effet, l'activité réparatrice des tissus est plus grande chez l'enfant liée à une riche vascularisation, à l'absence de facteur pouvant porter atteinte à la cicatrisation (tabagisme actif, surpoids, athérome, traitements...) et enfin aux capacités de croissance de l'enfant.

**d) Des maladies propres à l'enfance** (en principe) comme la scarlatine ou la rougeole. Chaque enfant passe par des phases de déficience immunitaire transitoires durant les premiers mois de la vie et à l'occasion d'infections virales.

**e) Du parodonte de l'enfant** plus fragile qui présente une résistance au développement des pathologies parodontales, moindre par rapport à celui de l'adulte (Sanchez, 2016).

## 5. La flore fongique normale de la cavité buccale

Les levures ou les champignons constituent une faible partie de la flore buccale, les *Candida albicans* sont les plus représentés dans la cavité buccale. Ce sont des champignons retrouvés dans la flore buccale normale chez 50% des individus. Ils sont présents essentiellement dans la partie postérieure de la face dorsale de la langue et sur la muqueuse palatine. La cavité buccale est une source potentielle de la colonisation des levures dans le système digestif, la salive quand elle véhicule de cette transmission (figure 4) (Jegoux, 2007).

Les flores fongiques normales de la cavité buccale sont :

*Candida albicans* 50 à 80%.

*Torulopsis glabrata* 5 à 15%.

*Candida krusei* 1,7 à 7%.

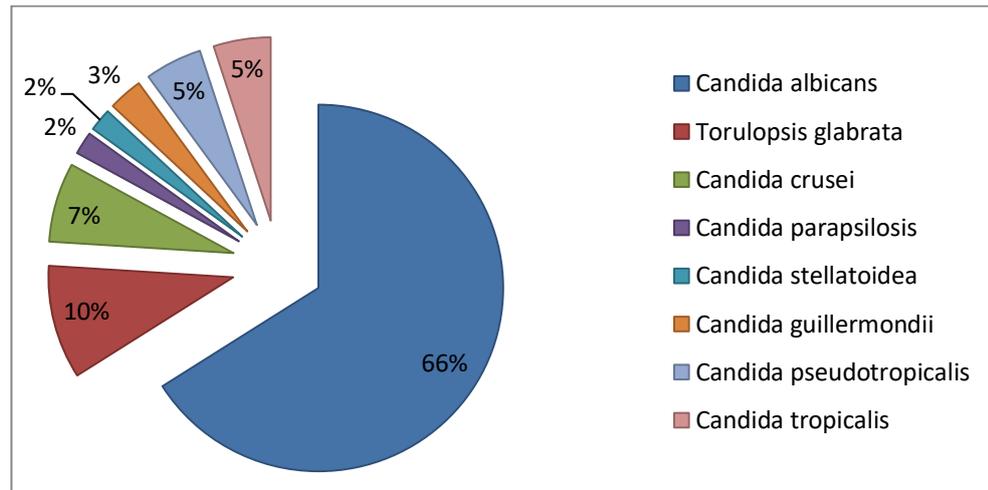
*Candida parapsilosis* 1 à 2%.

*Candida stellatoidea* 0,5 à 2%.

*Candida guilliermondii* 1 à 3%.

*Candida pseudotropicalis* 2 à 5%.

*Candida tropicalis* 5 à 15%.(Jegoux 2007)



**Figure 4.** Répartition de la flore fongique normale dans la cavité buccale (Jegoux, 2007).

## Chapitre 02 : Les candidoses buccales

### 1. Définition

La candidose buccale est une mycose de la muqueuse buccale due à un champignon, le *Candida albicans*. Elle est très fréquente et apparaît notamment en cas de diminution (aigüe ou chronique) du système immunitaire. Elle se manifeste par une irritation des muqueuses, associée à des rougeurs, allant jusqu'à l'ulcération. Parfois, des tâches blanchâtres, plus ou moins pâteuses peuvent siéger sur la langue et le palais (figure 5). Un traitement est nécessaire pour rétablir l'équilibre de la flore locale (Pierrick, 2014). Au niveau clinique, les candidoses sont soit superficielles ou profondes.



**Figure 5.** Aspect clinique d'une candidose buccale (Bauman, 2014).

### 2. L'agent pathogène

#### 2.1. Taxonomie

La classification des champignons a beaucoup évolué. Celle présentée ici date de 2000 (Barnett, 2000).

Règne : *Champignon*

Phylum : *Ascomycota*

Classe : *Hemiascomycètes*

Ordre : *Saccharomycétales*

Famille : *Candidaceae*

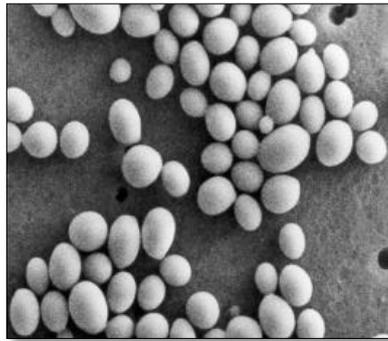
Genre : *Candida*

## 2.1. Caractères morphologiques de *Candida albicans*

*Candida albicans* peut exister sous quatre stades morphologiques différents.

### a) Les blastospores ou blastoconidies

Elles prennent la forme de petites cellules ovoïdes de 3,5 à 6  $\mu\text{m}$  sur 6 à 10  $\mu\text{m}$ . C'est la forme la plus courante de multiplication de *Candida albicans* saprophyte. Cette cellule peut émettre un bourgeon qui donnera une cellule fille identique à la cellule mère (figure 6).

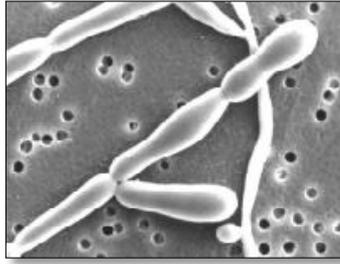


**Figure 6.** La levure *Candida albicans* sous forme de blastospore (Belahcen elouali, 2016).

### b) Le pseudo - mycélium

Mesurant de 500 à 600  $\mu\text{m}$  de longueur et de 3 à 5  $\mu\text{m}$  de largeur, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien. Chaque compartiment cellulaire est identique en longueur, contient la même quantité de matériel génétique, mais diffère du précédent en quantité de cytoplasme et de ces constituants. Il se forme par croissance tubulaire à partir du bourgeon de la blastospore.

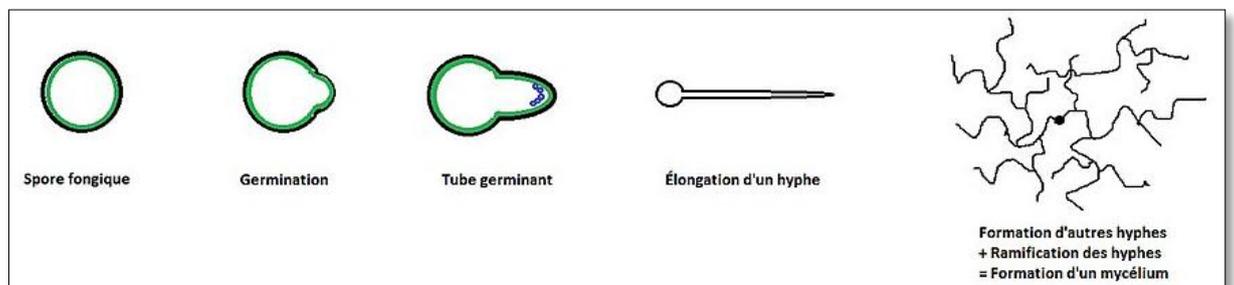
Le pseudo - mycélium restera attaché à la cellule mère et les deux cellules seront individualisées par une zone d'étranglement sans cloison vraie (figure 7).



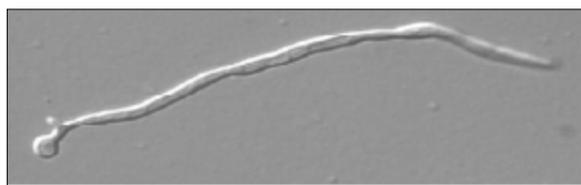
**Figure 7.** Le pseudo-mycelium de *Candida albicans* (Belahcen elouali, 2016).

### c) Le mycélium

Champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *Candida albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte. On peut en rencontrer dans les tissus infectés. Il s'agit de la blastospore qui a donné naissance à un tube germinatif pour former un vrai mycélium, dont chaque élément sera individualisé par de vraies cloisons (figure 8, 9).



**Figure 8.** Formation d'un mycélium à partir d'un tube germinatif (Belahcen elouali, 2016).



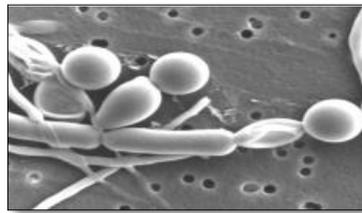
**Figure 9.** Un mycélium de *Candida albicans* (Belahcen elouali, 2016).

#### d) Chlamydoespores

Ce sont de volumineuses cellules (10 à 15  $\mu\text{m}$ ), sphériques, à double paroi, réfringentes, le plus souvent terminales, mais pouvant être latérales.

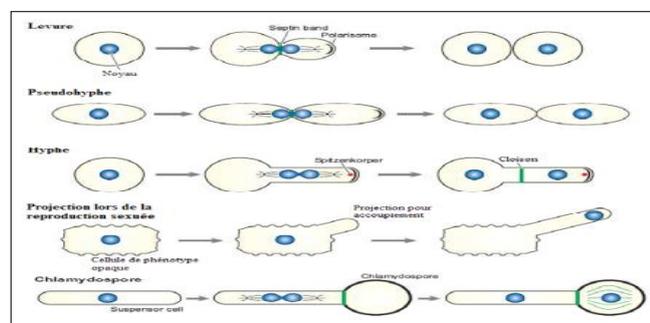
Elles sont formées par épaissement du thalle, mesurent deux fois la taille du blastospore et possèdent une paroi plus épaisse. Les chlamydoespores sont la forme de résistance de *Candida albicans* et participent à l'identification du champignon en laboratoire.

In vitro, on les obtient facilement, après 48 heures de culture sur un milieu pauvre en éléments nutritifs (PCB). Les Chlamydoespores sont spécifique à l'espèce *albicans* (figure 10).



**Figure 10.** Les chlamydoespores de *Candida albicans*.

Toutes ces transitions morphologiques se mettent en place en réponse à des changements des conditions environnementales, et permettent ainsi au champignon de s'adapter à différentes niches biologiques (Belahcen elouali, 2016) (figure 11).

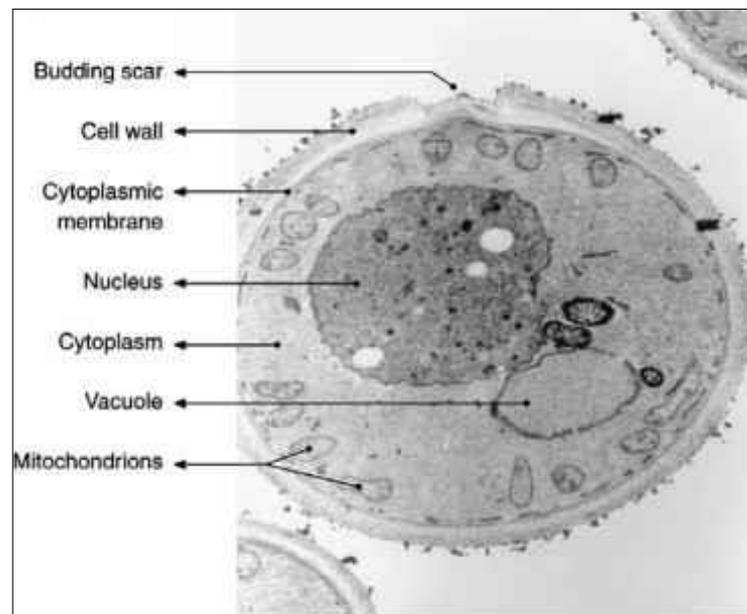


**Figure 11.** Les différentes morphologies et la croissance de *Candida albicans* (Belahcen elouali, 2016).

## 2.2. Structure et ultrastructure des *Candida*

Le cytoplasme de *Candida* contient les organites retrouvés chez les cellules eucaryotes (figure 12).

- un noyau, délimité par une double membrane nucléaire, et renferme huit chromosomes.
- un nucléole
- des ribosomes
- des mitochondries
- des vacuoles à inclusions lipidiques (Guignard, 1989)



**Figure 12.** Ultra structure de *Candida albicans* (Belahcen elouali, 2016).

### 2.2.1. Paroi cellulaire de *Candida albicans*

Les *Candida*, comme l'ensemble des cellules fongiques, sont entourés d'une paroi qui constitue le premier élément fongique reconnu par les phagocytes. Elle joue un rôle de protection contre les attaques physicochimiques de l'environnement et permet de résister aux variations de la pression osmotique.

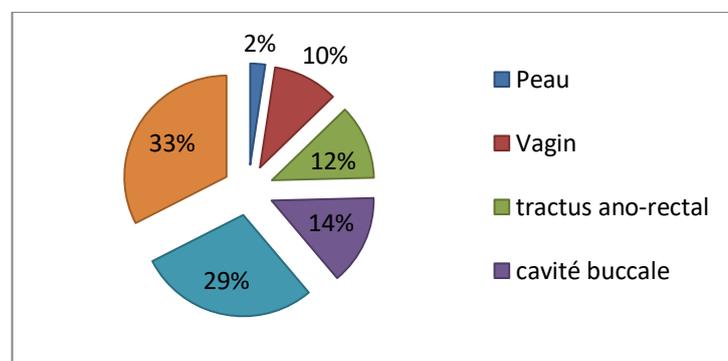
La masse de l'enveloppe cellulaire de *C. albicans* représente à elle seule environ 30% du poids sec total du champignon. Elle est composée d'éléments structuraux et d'une matrice qui assurent une balance entre résistance et plasticité.

En plus, elle est composée de 80 à 90% de polysaccharides (hydrates de carbone). En particulier, 3 constituants basiques représentent la majorité des polysaccharides de la paroi sont :

- Le glucane : le D glucose (Glc)
- la chitine (polymère de N acétylglucosamine ~ 1 - 4) (GlcNAc)
- Le mannane : D-mannose (Man)

### 2.3. Habitat de *Candida albicans*

*Candida albicans* est un champignon cosmopolite dont les fréquences d'isolement montrent que chez des sujets sains la levure se répartit différemment en fonction des sites de prélèvement : peau (3%), vagin (13%), tractus ano-rectal (15%), cavité buccale (18%), estomac et duodénum (36%), et jéjunum et iléon (41%) (Figure 13) (Belahcen elouali, 2016).



**Figure 13.** Répartition de *Candida albicans* dans un sujet sain. (Belahcen elouali, 2016).

Le réservoir principal est donc le tube digestif où la fréquence de portage varie selon les sujets.

#### 2.3.1. Milieu de vie

Toutes les espèces du genre *Candida* sont aérobies. Il vit exclusivement sur les muqueuses, mais il peut cependant survivre dans le milieu extérieur.

### **2.3.2. pH**

In vivo, l'acidité gastrique ou vaginale n'altère pas la vitalité de *Candida*. En effet, la croissance est possible pour des pH allant de 3 à 7.

### **2.3.3. Température**

Croissance entre 20°C et 30° C pour la majorité des levures. Les espèces pathogènes sont capables de croître à 37 ° C (Belahcen elouali, 2016)

### **2.3.4. Nutrition**

Les champignons sont des organismes hétérotrophes. Ils vivent donc aux dépens de la matière organique préformée et passage des substances se fait par absorption.

#### **2.3.4.1. Besoin en carbone**

Les champignons utilisent le carbone du glucose, maltose, saccharose, galactose, xylose, tréhalose, 2-cétogluconate, méthyl-glucoside, et de la Nacétylglucosamine. Les capacités d'assimilation diffèrent selon les espèces et servent pour leur détermination.

L'auxanogramme du carbone permet donc d'identifier une espèce selon sa capacité à assimiler certains sucres comme seule source de carbone.

#### **2.3.4.2. Besoin en azote**

Il a besoin d'une source d'azote. Pour apprécier les besoins du champignon en dérivés azotés, on réalise l'auxanogramme de N où la source est un sel d'ammonium autre que le nitrate.

#### **2.3.4.3. Besoin en vitamines**

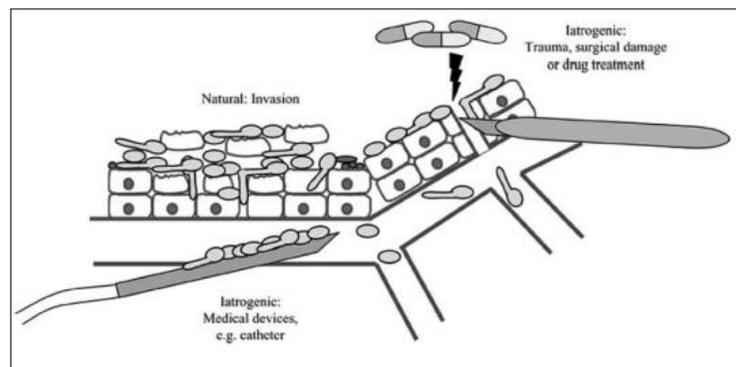
Les vitamines du groupe B (B8, BI, B5), sont indispensables à la croissance et sont souvent incorporées dans les milieux de croissance.

#### **2.3.4.4. Besoin en fer**

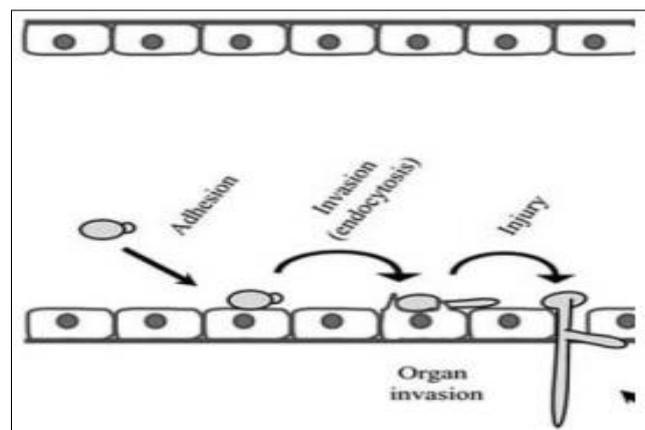
C'est un facteur de croissance essentiel pour *Candida* comme pour les autres champignons Une surcharge en fer a été décrite au cours d'infections bactériennes mais aussi fongiques. En effet, la plupart des champignons secrètent des sidérophores, composés de faible masse moléculaire, possédant une très haute affinité pour l'ion ferrique (Belahcen elouali, 2016)

### 3. Physiopathologie

Les candidoses disséminées sont en nette augmentation en raison de la multiplication des facteurs favorisant leur apparition. Ils dépendent du champignon en cause mais surtout de l'organisme hôte. Les facteurs peuvent être locaux ou généraux. Ainsi, suite à un défaut d'immunité de l'hôte et/ou à une rupture de l'intégrité des barrières cutané-muqueuses ou respiratoire, les *Candida spp* vont pouvoir pénétrer dans l'organisme (Mavor, 2005) (figure 15). Les candidémies peuvent être d'origine endogène ou exogène (figure 16)



**Figure 14.** Portes d'entrées des *Candida albicans* chez l'homme (Mavor, 2005).



**Figure 15.** Interaction de *C. albicans* avec la cellule hôte et communication cellulaire dans les vaisseaux sanguins (Mavor, 2005).

### **3.1. Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte**

#### **3.1.1. Les facteurs physiologiques**

##### **a) Age**

Les candidoses orales sont plus fréquentes aux âges extrêmes de la vie. Les nouveau-nés sont exposés aux candidoses du fait de la combinaison de l'immaturation de leur système immunitaire associé au développement encore incomplet de leur flore microbienne. La contamination candidosique est le plus souvent d'origine maternelle, lors de l'accouchement.

Chez les personnes âgées en revanche, le facteur de l'âge ne semble pas être le seul impliqué dans la fréquence des candidoses orales. D'autres facteurs sont décrits comme responsables tels que le dysfonctionnement de la motricité oesophagienne, l'appauvrissement des fonctions immunitaires, les anomalies du métabolisme hydrocarboné, les nombreuses associations médicamenteuses, ainsi qu'une mauvaise hygiène buccale liée au port de prothèses dentaires.

##### **b) Hormones**

Durant la grossesse chez la femme enceinte en particulier au 3ème trimestre de la grossesse, la fréquence des candidoses est 3 à 4 fois plus élevée à cause de la modification du pH vaginal.

#### **3.1.2. Les facteurs locaux**

La macération, l'humidité, l'occlusion, la modification de la trophicité des muqueuses, l'acidité et la radiothérapie favorisent l'installation et le développement des candidoses superficielles.

##### **3.1.2.1. Etat pathologique**

###### **a) Les cancers**

Le cancer entraîne une insuffisance de l'immunité cellulaire ou humorale favorisant le développement de maladies opportunistes telle que la candidose.

La maladie elle-même peut provoquer des ulcérations, ouvertures constituant de véritables portes d'entrée dans les épithéliaux ou dans les muqueuses

Un déficit immunitaire peut aussi être dû à la toxicité des traitements mis en œuvre pour lutter contre le cancer.

## b) Le SIDA

Avant la trithérapie, l'incidence des candidoses dues au genre *Candida*, causant principalement des infections orales, a augmenté de façon exponentielle dans les hôpitaux, et notamment chez les patients immunodéprimés atteints du virus du SIDA. *Candida albicans* est le pathogène le plus souvent isolé (48 %) chez les patients VIH+ atteints des candidoses (Lagane, 2007).

### 3.2. Les facteurs extrinsèques

#### 3.2.1. Les facteurs alimentaires et la dénutrition

La consommation de glucides en grande quantité augmente le saprophytisme intestinal. Certaines carences nutritionnelles, telles que les déficits en fer, sont associées à des candidoses chroniques sans que le mécanisme en soit bien connu (Lagane, 2007).

#### 3.2.2. Transmission mère-enfant

Les conséquences d'une transmission materno-fœtale lorsque la mère est porteuse d'un foyer vaginal candidosique vont dépendre du moment de la contamination et de l'état de prédisposition du nouveau-né. La contamination peut se faire in vitro, en périnatal ou en post-natal. Donc les infections néonatales à *Candida* sont des infections tardives primitives avec la candidose néonatale cutanéomuqueuse.

Cependant, une contamination materno-fœtale ne doit pas être sous-estimée car elle reste grave et responsable d'une importante mortalité et morbidité chez le prématuré de faible poids de naissance.

**A) Au cours de l'accouchement**, une mère atteinte d'une candidose vulvo-vaginale c'est-à-dire porteuse de *Candida* peut contaminer le nouveau-né au moment du passage dans la filière génitale (transmission verticale) au moment de l'accouchement par voie basse, cette contamination est responsable d'une infection centrale après colonisation par inhalation ou ingestion des sécrétions vaginales, le nouveau-né développera ou non une infection, ceci dépendra de ses capacités de défense (Banola, 2014).

**b) Au cours de l'allaitement**, la candidose mammaire est une cause fréquente rencontrée dans les douleurs liées à l'allaitement. Cette douleur peut conduire à l'arrêt de l'allaitement de par son intensité d'où l'intérêt de reconnaître les premiers signes. Elle peut affecter un sein ou les deux. La douleur est continue pendant toute la tétée, même si l'enfant est bien mis au sein

et avec une succion correcte. Donc un simple contact entre le sein porteur de candidose peut contaminer le bébé et l'inverse (Banola, 2014)

### 3.2.3. Les traitements médicamenteux

#### a) Antibiotiques :

La prise d'antibiotiques à large spectre favorise la survenue d'une candidose en altérant la flore bactérienne et en déstabilisant l'équilibre commensal. Ainsi, la modification qualitative et quantitative de ces bactéries commensales des muqueuses, réputées protectrices, favorise la prolifération et par voie de conséquence la pathogénicité des saprophytes du genre *Candida* par exemple. Donc, l'antibiothérapie, surtout si elle est prolongée, peut être à l'origine du déclenchement d'une candidose digestive.

#### b) Traitements médicamenteux : (immunosuppresseurs et anti-cancéreux) :

Des médicaments immunosuppresseurs ou des agents cytotoxiques utilisés en traitement de certains cancers, entraînent des diminutions des défenses immunitaires de l'hôte le prédisposant ainsi aux développements de pathologies opportunistes telles que les candidoses. Par exemple, la corticothérapie (Revillard, *Jet al.* 1976).

Traitements chirurgicaux et accès vasculaire, les cathéters, sondes et matériaux étrangers :

- Les cathéters périphériques ou centraux : les accès vasculaires représentent un facteur de risque majeur de candidose.
- Les sondes peuvent aussi être responsables de candidoses par effraction des muqueuses.

Par exemple, une sonde urinaire peut constituer un réservoir de *Candida* en raison de l'adhérence des levures aux matériaux, entraînant la formation de biofilms.

- Les prothèses dentaires, valvulaires ou encore orthopédiques constituent des foyers à risque.

#### c) Le traitement chirurgical

Parmi les chirurgies à risque, citons la chirurgie digestive, ainsi que celles qui sont accompagnées d'immunosuppression transitoire.

## 4. Pouvoir pathogène

*Candida albicans* est la levure pathogène la plus répandue chez l'être humain. Le *Candida albicans* a la particularité de pouvoir passer de la forme levure à la forme de moisissure, et vice versa. (Bland-Jeffrey, 1984).

### 4.1. Mécanismes de pathogénicité

*Candida albicans* possède la capacité d'exprimer une multitude de facteurs de virulence susceptibles de favoriser la colonisation et l'invasion de l'hôte. La colonisation débute tôt, puisqu'une étude a relevé que 7,1% des enfants étaient colonisés par des *Candida* ou d'autres levures le jour même de leur naissance et que 96% présentaient une colonisation buccale au terme du premier mois de vie (Belahcen elouali, 2016).

Bien que beaucoup de facteurs aient été suggérés comme facteurs de virulence de *C. albicans* on trouve :

#### 4.1.1. L'adhésion

Elle permet la 1<sup>ère</sup> étape de la pathogénèse des infections à *C.albicans*. En effet, dès le contact du *C. albicans* avec les cellules épithéliales de l'hôte, on note le déclenchement de la formation d'hyphes et l'activation de gènes qui vont exprimer des protéines médiant l'adhésion.

L'adhérence des champignons aux cellules épithéliales est un phénomène complexe qui fait intervenir d'une part des adhésines (des mannoprotéines de différents types) et d'autre part des protéases. Les interactions hydrophobes favorisent également l'adhérence aux cellules épithéliales mais cette contribution semble mineure. Chez *C. albicans*, l'utilisation de mutants déficients au niveau de certaines adhésines et au niveau de certaines protéases aspartiques sécrétées (Saps) a permis de démontrer formellement leur implication dans l'adhérence.(Baldo, 2007)

#### 4.1.2. Dimorphisme

Le dimorphisme est la capacité de *C. albicans* à changer de morphologie selon son état physiologique ou son environnement. Deux formes principales peuvent être observées, la forme « levure » et la forme « mycélium ».

Il s'agit d'une modification phénotypique réversible qui est considérée comme un facteur de virulence. Le dimorphisme permet à la levure de s'adapter rapidement aux modifications environnementales et de répondre aux pressions auxquelles elle fait face tout en échappant au système immunitaire.

Différentes conditions environnementales peuvent induire le changement de forme de *C. albicans*, telle la présence de sérum, d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC), de GlcNAc ou de proline. L'augmentation du pH du milieu (de pH 4,5 à pH 7,0) qui peut également conduire à la transition de la forme levure vers la forme mycélienne. Ces modifications faciliteraient la pénétration des tissus par *C. albicans*. Bien que ce lien soit controversé, l'association entre la virulence et le dimorphisme se retrouve chez plusieurs champignons pathogènes. La régulation du dimorphisme est très complexe et l'ensemble des gènes régulant cette fonction métabolique n'est pas connu (Belahcen elouali, 2016).

#### **4.1.3. La formation du biofilm**

Un facteur de virulence important outre *C. albicans* est sa capacité à former des biofilms sur des surfaces abiotiques ou biotiques. Des cathéters, des prothèses dentaires (abiotiques) et la surface des cellules de la muqueuse (biotiques) sont des substrats les plus courants.

Les biofilms se forment dans un processus séquentiel, y compris l'adhérence des cellules de levure sur le substrat, la prolifération de ces cellules de levure, la formation de cellules d'hyphes dans la partie supérieure du biofilm, l'accumulation de matière de matrice extracellulaire et, enfin, d'une dispersion de cellules de levure à partir du complexe de biofilm. Les biofilms matures sont beaucoup plus résistantes aux agents antimicrobiens et des ordinateurs des facteurs immunitaires par rapport à des cellules planctoniques. Les facteurs responsables de la résistance accrue incluent l'architecture complexe de biofilms, la matrice du biofilm, une expression accrue de pompes à efflux et la plasticité métabolique. La dispersion de cellules de levure du biofilm matures a été montré pour contribuer directement à la virulence, comme cellules dispersées ont été plus virulent dans un modèle murin de infection disséminée (Belahcen elouali, 2016).

#### **4.1.4. La variabilité phénotypique ou « switching »**

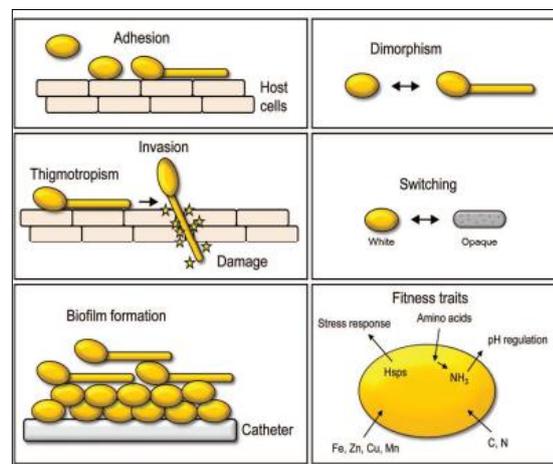
*C. albicans* a la capacité de modifier spontanément et réversiblement son phénotype. La transition de la phase blanche à la phase opaque est dépendante de l'homozygotie au locus

MTL. Cette modification phénotypique régule un nombre important de gènes impliqués dans l'interaction de *C. albicans* avec l'hôte.

Cette capacité des *Candida* à modifier leur phénotype, ou switching, en fonction de l'environnement est un facteur de virulence en soi. Ainsi, la sécrétion d'enzymes protéolytiques et la formation de filaments sont souvent liées lors du passage du commensalisme à l'infection pour *C. albicans*. Cependant, la perte ou la non-expression d'un facteur de virulence n'empêche pas l'invasion. Ainsi, si la formation de filaments donne un avantage sur la forme levure pour envahir les tissus, les deux formes, levure et filament, sont responsables d'infections invasives.

#### 4.1.5. Les enzymes

La sécrétion d'enzymes hydrolytiques au cours de l'infection favorise la virulence en dégradant les surfaces des muqueuses de l'hôte ainsi que ses défenses immunitaires. Ces enzymes sont des aspartyl protéinases (Saps), des phospholipases et des lipases.



**Figure 16.** Les mécanismes de pathogénicité de *C. albicans* (Belahcen elouali, 2016).

## 5. Aspects cliniques de candidose pseudomembraneuse ou « muguet »

C'est une infection à *C. albicans* de la gorge, du vagin ou des muqueuses de la bouche, particulièrement chez les bébés. Il peut se déclarer dès le septième jour suivant la naissance, l'incidence oscillant entre 5% et 10 % chez les nourrissons, selon la population à l'étude (Butler, 1988).

Il s'agit d'une inflammation candidosique aiguë, qui est la manifestation la plus commune des candidoses buccopharyngées. Le muguet touche essentiellement le nourrisson et le jeune enfant, à un moindre degré que le vieillard (Baley, 1986).

#### **a) Phase de début**

Elle dure deux à trois jours et réalise une stomatite érythémateuse diffuse : sensation de sécheresse buccale, de douleurs à type de cuisson, de goût métallique et de gêne à la mastication. Des troubles de la succion sont observés chez le nouveau-né. À l'examen, la muqueuse apparaît desséchée, rouge, douloureuse. La langue est plus ou moins dépapillée. L'érythème touche la face dorsale de la langue, la voûte du palais et les faces internes des joues (macules coalescentes) (Baley, 1986).

#### **b) Phase d'état**

Elle correspond à la période où la surface rouge se recouvre de taches blanchâtres dont le raclage léger permet de détacher les couches superficielles qui deviennent gris jaunâtre. Les signes fonctionnels sont moins intenses, semblables à ceux de la phase de début. Le muguet peut passer à la chronicité, réalisant une stomatite intéressant la langue, le palais et les joues, évoluant par poussées déclenchées par certains aliments ou médicaments (antibiotiques, corticoïdes). Les signes fonctionnels sont très discrets en dehors des poussées et se limitent à une sensation de cuisson, de picotements et de sécheresse buccale. Parfois un onyxis ou une vulvite associée sont présents (figure 17,18) (Baley, 1986).



**Figure 17.** Muguet buccale (Williams, 2013).



**Figure 18.** Muguet chez bébé.

## **6. Diagnostique mycologique des candidoses**

### **6.1. Prélèvements**

Les prélèvements doivent être faits avant tout traitement antifongique, d'une façon stérile et acheminés le plus rapidement possible au laboratoire pour éviter une éventuelle multiplication des levures (Chabasse, 1999).

#### **a) Hémocultures**

C'est un prélèvement sanguin stérile pour mise en culture immédiate, qui permet de mettre en évidence le passage sanguin des microorganismes. C'est un examen clé dans le diagnostic des candidoses systémiques de sensibilité faible (40 à 60%) malgré le développement des systèmes récents pour améliorer sa sensibilité (système Isolator [lyse-centrifugation], automates). Ceci implique qu'une hémoculture négative n'élimine pas le diagnostic d'une candidose systémique. Cependant, une seule hémoculture positive confirme le diagnostic (Medkouri, 2011).

Chaque flacon d'hémoculture est un milieu spécifique Mycosis IC/F qui contient des antibiotiques évitant la prolifération bactérienne et du bouillon Trypticase soja enrichi, avec des agents lytiques permettant la pousse fongique. Les hémocultures sont réalisées en première intention, le volume recommandé est de 10 ml. Cet examen a un intérêt capital pour explorer un tableau infectieux potentiellement d'origine fongique. Il a connu un progrès considérable depuis les années 1990. Cependant, les résultats souvent tardifs, retardent le diagnostic et l'instauration d'un traitement antifongique.

## **b) L'index de colonisation**

En 1994, Pittet a montré, dans une étude prospective, qu'il existe un lien entre la colonisation et l'infection à *Candida sp.* Cette étude a établi un index de colonisation qui démontre la valeur prédictive vis-à-vis du risque d'infection à *Candida sp.* L'objectif de l'index de Pittet et de sa surveillance longitudinale est l'identification et le traitement précoce des patients à haut risque pour éviter la dissémination de l'infection et tenter d'améliorer un pronostic sévère (Eggimann, 2002).

La détermination de l'index de colonisation est le rapport entre le nombre de sites positifs et le nombre total de sites prélevés. Cet index nécessite des prélèvements réguliers d'au moins cinq sites par patient et cela deux fois par semaine. Le suivi de l'évolution de la colonisation permettra l'identification et le traitement précoce des patients à haut risque. Les prélèvements à pratiquer sont : écouvillonnage endo-buccal, nasal, auriculaire, écouvillonnage rectal, sécrétions trachéales (aspiration), tout liquide de drainage (estomac, cavité péritonéale, voies biliaires...) et les urines. Le traitement antifongique est prescrit dès que l'index de colonisation atteint ou dépasse 0,5 (Uppuluri, 2009).

## **c) Autres prélèvements**

D'autres prélèvements peuvent être nécessaires : des prélèvements aux portes d'entrées possibles (cathéters, sondes, valves...); des prélèvements de divers liquides biologiques (liquide céphalorachidien, liquide broncho alvéolaire...); des fragments de biopsies (cutanée, hépatique, pulmonaire...) qui sont réalisés selon des arguments cliniques et radiologiques (Anane, 2007).

## **6.2. Examen direct**

Il consiste à la recherche des levures bourgeonnantes associées ou non à des pseudo-filaments. Il est pratiqué directement, après humidification de l'écouvillon avec l'eau physiologique stérile, une goutte est déposée entre lame et lamelle pour l'observation au microscope optique. Pour l'examen direct des hémocultures, un frottis est réalisé puis coloré au Giemsa, les levures apparaissent colorées en bleu violet.

## **6.3. Culture**

L'ensemencement se fait habituellement sur milieux Sabouraud– chloramphénicol avec et sans actidione. L'incubation se fait à 37 °C. La lecture se fait au bout de 24 à 48

heures. L'examen macroscopique des cultures montrera des colonies blanches, humides de surface lisse et brillante. Les associations sont difficilement détectables.

#### **6.4. Identification**

##### **a) Identification de *C. albicans***

Cette espèce est la plus fréquemment isolée, son identification repose sur des tests morphologiques et biochimiques.

-Test de filamentation sur sérum (ou test de Blastèse) : Il consiste à réaliser une suspension de levures dans du sérum de lapin et l'incuber à 37 °C pendant trois heures. La détection des tubes germinatifs, ne présentant aucune constriction au niveau de la base, affirme la présence de *C. albicans*. Ce test a longtemps été considéré comme méthode de référence du fait que sa spécificité et sa sensibilité sont respectivement de 100 % et de 86,3 %. Ses principaux inconvénients sont l'impossibilité de détection d'éventuelles associations dans deux tiers des cas (Waller, 1991) et la capacité de certaines espèces à produire des « tubes germinatifs ». De plus, *C. dubliniensis* est également capable de produire des tubes germinatifs, raison pour laquelle il a été longtemps confondu avec *C. albicans*.

-Test de chlamydosporulation : il consiste à ensemercer les levures en anaérobiose sur des milieux pauvres : riz–agar–tween (RAT), pomme de terre– carotte–bile (PCB). L'incubation se fait à 25 °C pendant 48 heures. La présence de chlamydo-spores terminales qui sont des spores globuleuses, à paroi épaisse, mesurant environ 10 à 15 µm, est caractéristique de l'espèce *C. albicans* (Waller, 1991).

##### **b) Identification des autres espèces**

Milieux de primo-isolement : Les milieux de primo-isolement permettent à la fois l'isolement et l'identification des espèces de *Candida*. Ce sont des milieux chromogènes ou fluorogènes selon les substrats utilisés, grâce à quoi une réaction colorée ou fluorescente particulière est attribuée aux colonies qui s'y développent. Différents kits sont commercialisés, on citera :

- Candida ID ® : (BioMérieux) : les colonies de *C. albicans* se colorent en bleu alors que celles de *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr* et *C. lusitanae* se colorent en rose (Fricker-Hidalgo, 2001).

-CHROMagar Candida ®: (Becton-Dickinson). Les colonies de *C. albicans* sont vertes, ceux de *C. tropicalis* sont en bleu métallique et les colonies de *C. krusei* sont d'un rose pâle (Willinger, 2001)

-Candi Select ® BioRad: Les colonies de *C. albicans* sont du rose au pourpre. Les colonies de *C. tropicalis* apparaissent comme turquoises intenses, ceux de *C. glabrata* semblent turquoises pâles, les colonies de *C. krusei* apparaissent bleu turquoise.

Ces milieux chromogènes permettent l'identification sélectif de *C. albicans*, et présomptif de *C. glabrata*, *C. krusei* et *C. tropicalis*. L'identification formelle des autres espèces nécessite des tests complémentaires.

- Etude de l'assimilation des sucres : cette étude se fait par les galeries commercialisées. Parmi les plus utilisées nous citerons : API 20C Aux, ID 32 C, Auxacolor, Fungichrom.

- API 20C Aux (BioMérieux) : elle est fondée sur l'assimilation de 19 sucres différents, elle permet d'identifier 43 levures différentes.

- ID 32C (BioMérieux) : elle comporte une étude de l'assimilation de 29 sucres et de la résistance à l'actidione ainsi qu'un test à l'esculine. Soixante-trois levures différentes sont référencées.

Ces deux galeries donnent un résultat en 48 à 72 heures. La croissance de la levure se traduit par une opacité de la cupule contenant le sucre (Anane, 2007)

- Tests enzymatiques : le Fongiscreen 4H (BioRad) permet d'identifier en quatre heures les quatre levures les plus pathogènes et les plus fréquentes : *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* et *Cryptococcus neoformans*. Cette méthode est fondée sur la recherche de cinq enzymes spécifiques, la réduction du tétrazolium et l'assimilation du tréhalose. Ce test a une sensibilité de 93,6 % et une spécificité de 98,7 %.
- Kruseicolor test : (Fumouze) : il est fondé sur l'agglutination des particules de latex et permet d'identifier *C. krusei* (Granier 2000)
- Glabrata RTT : (Fumouze Diagnostics) : il est fondé sur l'hydrolyse du tréhalose et non du maltose. Il permet d'identifier *C. glabrata* en 20 minutes. Il est caractérisé par une très bonne sensibilité comprise entre 95,8 et 98,4 % et une excellente spécificité variant de 98,9% à 100 %. (Freydiere, 2003)

## 6.5. Diagnostic immunologique

### 6.5.1. Détection d'anticorps

La recherche d'anticorps spécifiques se heurte à une difficulté d'interprétation. En effet, la distinction entre colonisation et invasion est difficile vu la fréquence d'une sérologie positive chez des porteurs asymptomatiques même à des taux élevés.

Plusieurs méthodes sérologiques ont été décrites pour le diagnostic de candidoses systémiques. Chacune d'entre elles réalise un compromis plus ou moins réussi entre sensibilité, spécificité, rapidité et coût. Schématiquement, on peut distinguer deux types de méthodes :

- Les méthodes utilisant des antigènes totaux figurés ou solubles, riches en mannanes (immunofluorescence indirecte (IFI), enzyme linked immunosorbent assay (Elisa), hémagglutination passive, électrosynérèse). Ces méthodes proposent un seuil quantitatif discriminant au-delà duquel la candidose est probable.
- Les méthodes utilisant des antigènes exprimés au cours du processus invasif : plusieurs antigènes essentiellement cytoplasmiques ont été décrits. Les anticorps dirigés contre ces antigènes sont mis en évidence par la méthode Western Blot ou Elisa. Ils permettent un diagnostic de candidose plus spécifique.
- Les nouvelles méthodes : des études ont été faites sur la recherche des anticorps dirigés contre des fragments natifs de la paroi cellulaire (Ac anti-CW) et des anticorps dirigés contre la phosphopeptidomannane qui est une fraction de la paroi cellulaire (Ac anti-PPM). (Odabasi, 2004).

### 6.5.2. Détection d'antigènes circulants et de métabolites

La détection d'antigènes circulants bonne solution face aux difficultés d'interprétation que soulèvent les hémocultures et la recherche d'anticorps. Cependant, elle est caractérisée par un défaut de sensibilité.

#### a) La recherche des mannanes

L'antigène mannane est l'un des constituants majeurs des parois de *C. albicans*. Les mannanes sont fortement immunogènes. Les tests permettant de le détecter sont :

- Pastorex Candida : fondé sur le principe d'agglutination des particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal antimannane (Ac anti-Mn) pariétal de *C. albicans*
- Platelia Candida : c'est un test Elisa qui utilise un anticorps monoclonal qui reconnaît le mannane. (Anane, 2007)

#### **b) La recherche d'énolase**

L'énolase est un antigène cytoplasmique de *Candida sp* de 48 kDa. Il est détecté par la méthode Western Blot qui met en évidence la bande 48 kDa. Sa sensibilité varie de 71,8 à 75% et sa spécificité est comprise entre 96 et 100 %. Cependant, son coût est très élevé.

#### **c) $\beta$ (1–3)-D-glucane**

Il s'agit d'un métabolite existant dans la paroi fongique. Sa recherche se fait par une méthode colorimétrique commercialisée sous le nom du Fungitec G test. Les patients atteints de candidoses systémiques montrent une concentration élevée de (1–3)-Dglucane.

#### **d) Détection d'acides nucléiques**

La détection des acides nucléiques est basée sur les méthodes d'amplification génique PCR. Elle peut être réalisée sur le sang, le sérum ou les biopsies d'organes. L'extraction d'ADN à partir du sérum est la plus recommandée puisque c'est la plus facile. Récemment, plusieurs techniques utilisant la PCR ont été mises au point pour amplifier et mettre en évidence l'ADN des espèces de *Candida* pathogènes. La majorité des études amplifient les régions ITS (internal transcribed spaces) des gènes cibles ADNr. Ces gènes ont la particularité d'être multirépétés, spécifiques d'espèce et très conservés (Hanna, 2003).

Les meilleurs résultats sont obtenus avec la PCR nichée et la PCR en temps réel. La sensibilité de la méthode évaluée varie de 1 à 500 levures/ml de sang selon la méthode et la cible amplifiée

- La PCR en temps réel semble prometteuse. Ces principaux avantages sont la diminution du risque de contamination d'où la diminution de faux positifs et la quantification de l'ADN fongique dans l'échantillon. Cela rend possible l'évaluation des effets thérapeutiques sur la charge de l'agent fongique. Dans une étude évaluant la PCR en temps réel chez 122 patients ayant une candidose systémique suspectée ou confirmée, la sensibilité était de 100 % et la spécificité de 97 % (Maaroufi, 2004).

- La PCR nichée est caractérisée par une bonne spécificité (98 %) et d'une très bonne sensibilité (Khlif, 2007)

Cependant, cette méthode qui consiste à ré-amplifier des produits déjà amplifiés n'est pas en mesure de contrôler les contaminations par des produits préalablement amplifiés, ce qui est l'origine majeure de faux positifs.

Les possibilités d'analyse génomique des souches offertes par les techniques de biologie moléculaire ouvrent de nombreuses perspectives dans l'épidémiologie des candidoses. Grâce à ces techniques, il est possible d'identifier avec une totale précision une souche donnée parmi les multiples variantes existant au sein d'une même espèce. Bien que l'origine d'une infection à *Candida sp* soit dans la majorité des cas endogène, on sait aujourd'hui qu'il existe d'authentiques cas de transmission croisée, dont le manuportage est le chaînon essentiel. Selon (Rangel-Frausto, 1994). En unité de soins intensifs, la prévalence de *Candida sp* sur les mains du personnel médical et paramédical atteint 38 % en réanimation des adultes et 45 % en pédiatrie. Cette contamination augmente au cours du temps de travail et intéresse de façon préférentielle les souches de *Candida non albicans*.

Le recours aux tests d'amplification par PCR semble être plus prometteur, cependant ils n'ont pour l'instant pas d'application clinique et la valeur de cette approche diagnostique doit encore faire l'objet d'études contrôlées.

## 6.6. Antifongigramme

L'antifongigramme est la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) permettant de détecter in vitro l'existence d'une résistance aux antifongiques. Quoiqu'il soit difficile d'établir de bonnes corrélations entre une valeur de CMI in vitro et la réponse clinique au traitement, l'antifongigramme a été réalisé au cours de notre étude. Les méthodologies sont difficiles à standardiser. Actuellement, il existe deux techniques de référence en milieu liquide : EUCAST (Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee) et CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute). Toutes les deux sont des méthodes de détermination des CMI standardisées avec une bonne reproductibilité.

La méthode E-test est la meilleure technique. Elle utilise des bandelettes imprégnées d'un gradient d'antifongiques et permet de déterminer en milieu gélosé les CMI des antifongiques testés (Anane, 2007)

La CMI d'une souche donnée est déterminée par le point d'intersection de l'ellipse d'inhibition avec une bandelette imprégnée d'un gradient exponentiel d'antifongique et sur laquelle il y a une échelle pour la lecture qui rend l'interprétation immédiate. C'est une technique par dilution-affusion utilisée avec la caspofungine et l'anidulafungine. Pour ce qui est du fluconazole, voriconazole, itraconazole, 5fluoro-cytosine et amphotéricine B, on utilise la technique par diffusion pour déterminer la sensibilité de *Candida*. Cette technique est comparable à l'antibiogramme bactérien. Des disques ou des comprimés chargés avec une concentration connue d'antifongique à tester sont déposés sur un milieu de culture gélosé,ensemencé par inondation ou écouvillonnage. L'antifongique diffuse dans la gélose créant une zone d'inhibition de croissance du germe autour du disque. En fonction du diamètre de cette zone d'inhibition les souches peuvent être classées en sensibles, résistantes ou intermédiaires. (Paramythiotou, 2014)

La méthode NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) est difficile à mettre en œuvre, de sorte qu'à l'heure actuelle les laboratoires ont recours aux systèmes commerciaux, dont les plus souvent utilisés sont :

- ATB Fungus (BioMérieux, France) qui teste la flucytosine (5FC), l'amphotéricine B (AMB), la nystatine, le miconazole (MCZ), l'éconazole et le kétoconazole (KTZ) et dont la version ATB Fungus 2 permet de tester la 5FC, l'AMB, l'ITZ et le fluconazole (FCZ) ;
- Fungitest (Bio-Rad, France) testant la 5FC, l'AMB, le FCZ, l'ITZ, le MCZ et le KTZ.
- Etest, (AES, France), pouvant tester la 5FC, l'AMB, le FCZ et l'ITZ ;
- les disques Eurobio (Les Ulysses, France) sont utilisés pour tester en particulier la sensibilité à la 5FC, à l'AMB, au FCZ et à l'ITZ

Selon le système utilisé, les résultats sont exprimés en valeur de CMI et/ou en termes de sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R).

Sensible (S) : Il s'agit de souches pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique, dans le cas d'un traitement à dose habituelle est acceptable.

Intermédiaire (I) : Il s'agit de souches pour lesquelles le succès thérapeutique. Est imprévisible. L'action de l'antifongique sur la souche n'est pas garantie.

Résistante (R) : Il s'agit de souches pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique. L'antifongique n'inhibe pas la croissance de la souche in vitro.

CMI : Plus faible dilution d'antifongique montrant une inhibition de croissance de 80 à 100% par rapport à un contrôle de pousse sans antifongique.

En pratique, l'antifongogramme doit être réservé aux candidoses graves, telle qu'une candidémie ou infection d'un organe profond, et aux situations cliniques particulières, à savoir un échec thérapeutique inexplicé ou en cas de traitement antifongique préalable.

## 7. Traitement

Le traitement des mycoses buccales dépend de la localisation, du type, de l'étendue de la lésion et de son contexte clinique ainsi que l'âge du patient (enfant, adulte). Par ailleurs, pour que le traitement soit efficace, la restauration de l'état immunitaire du patient, l'élimination des facteurs favorisants et le suivie des règles d'hygiène sont indispensables à la guérison en complément des antifongiques. La plupart des mycoses buccale se soignent par un traitement local mais cependant elles peuvent nécessiter un traitement par voie orale (Pebret 2003).

### 7.1. Définition des antifongiques

Un antifongique est un médicament capable d'inhiber spécifiquement les différents champignons isolés en mycologie médicale responsables de mycoses. On distingue des molécules fongicides qui vont détruire le champignon pathogène et des molécules fongistatiques qui vont limiter le développement du mycète qui sera ensuite éliminé lors du renouvellement tissulaire. La majorité des antifongiques utilisés sont des fongistatiques (Pebret, 2003).

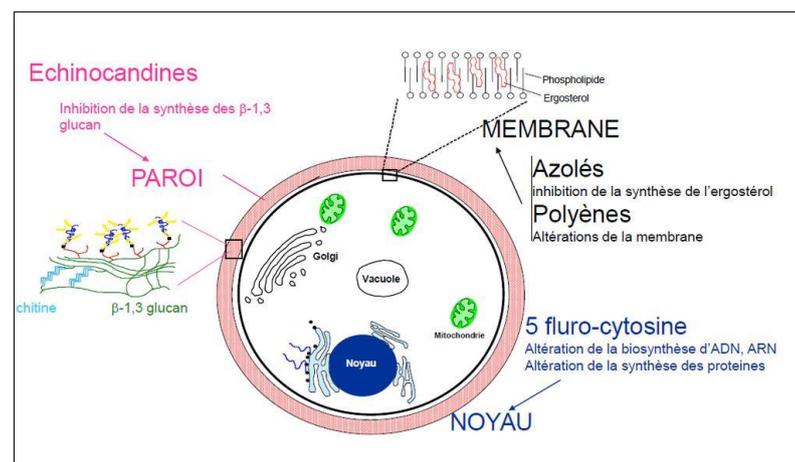
Certains principes d'administration font l'unanimité selon les dernières recommandations nationales et internationales :

- privilégier les antifongiques à action locale ;
- préférer des topiques ayant le moins possible d'interactions médicamenteuses ;
- préférer un topique ayant le moins possible de résistance et un spectre étendu si possible à tous les *Candida* ;
- réserver les formes systémiques d'antifongiques aux candidoses invasives et/ou sévères ;
- l'inefficacité des solutions antiseptiques non spécifiques ;

•plusieurs formes locales sont disponibles et appartiennent principalement à deux familles (Belahcen elouali, 2016).

## 7.2. Cibles des antifongiques

La plupart des antifongiques agissent sur les stérols de la membrane cytoplasmique du champignon et principalement sur l'ergostérol, qui en est le constituant essentiel. Ces molécules inhibent les enzymes participant à la synthèse de l'ergostérol ou par formation avec celui-ci des complexes insolubles altérant ainsi la perméabilité membranaire. Le réticulum endoplasmique est le siège des inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol. Certains antifongiques vont inhiber la croissance du champignon en agissant sur le métabolisme intracellulaire soit par blocage de la division cellulaire à la métaphase soit par inhibition de la chaîne respiratoire. La (figure 19) recueille toutes ces cibles (Cocho, 2012).



**Figure 19.** Cibles d'antifongique (Cocho, 2012).

Les antifongiques actuellement utilisés sont des molécules soit d'origine naturelle soit de synthèse. Les antifongiques naturels sont représentés par les polyènes (l'amphotéricine B et la nystatine) et la griséofulvine. La majorité des antimycosiques, employés en médecine, sont des molécules de synthèse. Ce groupe renferme de nombreuses molécules parmi lesquelles on trouve les dérivés azolés.

### 7.2.1. Les polyènes

Cette famille est représentée par des molécules d'origine naturelle extraites à partir de cultures d'actinomycètes du genre *Streptomyces* :

- La nystatine : MYCOSTATINE® (comprimés, suspension buvable) -  
L'amphotéricine B : FUNGIZONE® (gélules, suspension buvable, lotion à usage local)

- Nystatine (Mycostatine®) : Cet antifongique est actif sur les levures, sa principale indication est le traitement d'une candidose bucco-pharyngée. Par voie orale, non absorbée par la muqueuse digestive, elle n'est pas toxique et peut être donnée chez tous les enfants à des doses de 500 000 à 4 000 000 UI/j (2 à 8 comprimés par jour).

- Amphotéricine B (Fungizone®) : Elle reste le médicament de référence. Par voie orale, Elle existe en gélules et en suspension buvable et est indiquée dans le traitement des candidoses digestives à la dose de 50 mg/kg/j en deux ou trois prises chez l'enfant. Le traitement doit être prolongé pendant 3 semaines au moins. (Pebret, 2003)

### 7.2.2. Les azolés

Ce sont des molécules synthétiques, utilisées en applications locales ou par voie systémique. Ils donnent d'excellents résultats dans le traitement des mycoses cutanéomuqueuses : candidoses, dermatophyties. Ils sont tous utilisables chez l'enfant. Il existe de très nombreux dérivés azolés, parmi les plus utilisés chez l'enfant on distingue :

- Miconazole (Daktarin®) : en applications buccales, sa posologie chez l'enfant est de 20 à 30 mg/kg/j en trois ou quatre prises.

- Itraconazole (Sporanox®) : est actif sur un très grand nombre de champignons : les levures, l'*Aspergillus* mais aussi *Fusarium*, ainsi que sur les dermatophytes. La posologie recommandée chez les enfants de tous les âges est de 5 à 12 mg/kg/j (Belahcen elouali, 2016).

### 7.2.3. .Autres classes d'antifongiques

- Allylamines : Laterbinafine (Lamisil®), seule représentante en France de cette classe d'antifongiques, est indiquée dans le traitement des onychomycoses à *Candida* et à dermatophytes. Elle n'est utilisable que chez l'enfant de plus de 12 ans

- Griséofulvine (Fulcine®) : Elle agit uniquement sur les dermatophytes et est utilisée, par voie orale, dans le traitement des teignes chez l'enfant ainsi que des onyxis. La posologie est de 10 mg/kg/j chez l'enfant.

Les principales classes d'antifongiques utilisées dans le traitement des mycoses buccales chez l'enfant sont représentées dans le tableau.

**Tableau 1.** Traitement du muguet buccal chez le nourrisson et l'enfant (Belahcen elouali, 2016)

Spécialité	Nystatine Mycostatine	Amphotirécine B fungizone	Miconazole Daktarine
Forme galénique	suspension buvable	suspension buvable	gel buccal
Mode d'administration et posologie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nourrisson : 5 à 30 ml/jour</li> <li>• Enfant : 10 à 40 ml/jour</li> <li>• En badigeonnage local 4 à 6 fois par jour, en dehors des repas.</li> <li>• Maintenir le produit quelques minutes en bouche puis avaler.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 50 mg/kg/24heures, soit 1 dose de 1ml pour 2kg/24heures.</li> <li>• En 2 à 3 prises, en dehors des repas.</li> <li>• Maintenir le produit quelques minutes en bouche puis avaler.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 cuillère-mesure 4 fois/jour, en application en dehors des repas.</li> <li>• Chaque dose doit être divisée en de petites portions et le gel appliqué sur les zones affectées.</li> <li>• Maintenir le produit quelques minutes en bouche puis avaler</li> </ul>
Remarques			Contient de faibles quantités d'éthanol (22 mg/cuillère-mesure)

## 8. Prévention

### a) Prévention de la mycose buccale chez l'enfant

- Une bonne hygiène bucco-dentaire.
- Rincer la bouche avec des solutions alcalines (bicarbonatées) (Agbo-godeau, 2005)

**b) Prévention de la mycose buccale chez le nourrisson**

- Eviter l'utilisation de sucette.
- Rincer la sucette après chaque usage avec une solution d'eau bicarbonatée,
- Laver les biberons et les tétines après chaque usage.
- S'il s'agit d'allaitement maternel, bien nettoyer les mamelons avec une compresse d'eau bicarbonatée avant et après chaque tétée pour éviter une contamination.
- Bien se laver les mains avant et après s'être occupé de l'enfant, (Bennaza, 2018).

**MATERIEL**  
**ET METHODES**

## 1. Echantillonnage

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de parasitologie- mycologie médicale de l'établissement hospitalier spécialisé de Sidi mabrouk – Constantine entre 23 Mai et 27 Juin 2021.

La population étudiée est constituée de 100 nouveau-nés (naissance – un mois) et nourrissons (un mois – deux ans). L'échantillonnage est effectué au niveau de l'établissement hospitalier spécialisé mère et enfant Sidi Mabrouk et la pédiatrie du centre hospitalier universitaire Abdelhamid Benbadis.

La consultation a été commencée par le remplissage d'une fiche qui contient les informations sur chaque patient (âge, sexe, poids, maladie,...).

L'échantillonnage est réalisé à l'aide des écouvillons stériles imbibés d'eau physiologique stérile. Le prélèvement est effectué par un frottement sur toute la cavité buccale. Les écouvillons sont ensuite trempés dans un millilitre d'eau physiologique stérile qui est utilisé directement pour l'analyse (figure 20).



**Figure 20.** Prélèvement d'un échantillon de Candidose buccale par écouvillon stérile.

## 2. Observation microscopique direct

L'examen direct permet une orientation rapide du diagnostic. Sur une lame numérotée une goutte d'échantillon est déposée au centre à l'aide d'une pipette pasteur. Après la couvre

de la goutte avec une lamelle, les échantillons sont observés par un microscope avec grossissement (X10 puis X40).

### 3. Condensation des échantillons

Afin d'améliorer les résultats de l'observation microscopique et de faciliter l'ensemencement, les échantillons sont condensés par une centrifugation à 40 rpm pendant une minute. Le surnageant est éliminé et le culot est utilisé pour une deuxième observation microscopique et pour l'ensemencement des milieux de culture.

### 4. Ensemencement et mise en culture

Comme montre la figure 21, l'ensemencement est réalisé dans des milieux de culture préparés dans des tubes à vice. Chaque échantillon est ensemencé sur les deux milieux (milieu Sabouraud chloramphénicol additionné ou non de cycloheximide (Actidone®)) (Figure 21) par des stries serrés à l'aide d'une pipette Pasteur. L'incubation est réalisée dans une étuve à 37°C pendant 24 à 48h.



Figure 21. Milieux utilisés pour l'ensemencement des échantillons.

## 5. Identification morphologique de l'agent causale de la candidose

### 5.1. Observation macroscopique et microscopique

Les tubes présentant une culture sont soumis à une observation de l'aspect macroscopique des colonies qui englobe la forme, la taille, la couleur, la texture, revers et le contour.

L'aspect microscopique est étudié à travers le dépôt d'une colonie et une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame. L'observation est réalisée par microscope avec le grossissement X10 et X40.

### 5.2. Test de blastèse

Le milieu de blastèse est un milieu utilisé pour la production de "tubes germinatifs" par *Candida albicans*. Dans un tube Eppendorf, 500µL de sérum humain est mélangé avec quelques colonies, après une incubation de trois heures à 37°C. Une observation microscopique est réalisée pour la recherche des tubes germinatifs.

### 5.3. Test de chlamydosporulation

Après mise en fusion du milieu RAT (Riz Agar Tween) dans un bain marie, quelques gouttes sont déposés à la surface d'une lame stérile (figure 22). Après solidification du milieu de culture, quelques colonies sontensemencées par une seule strie longitudinale légèrement en profondeur à l'intérieur du milieu. Par la suite, la culture est couverte par une lamelle stérile pour créer un milieu anaérobie. Dans une boîte de Pétri contenant l'eau distillée, la lame est déposée sur un chevalet préparé avec une pipette pasteur (figure 22). L'incubation est réalisée à 27°C pendant 24h. Les lames sont ensuite observées avec un microscope (grossissement X10 et X40).

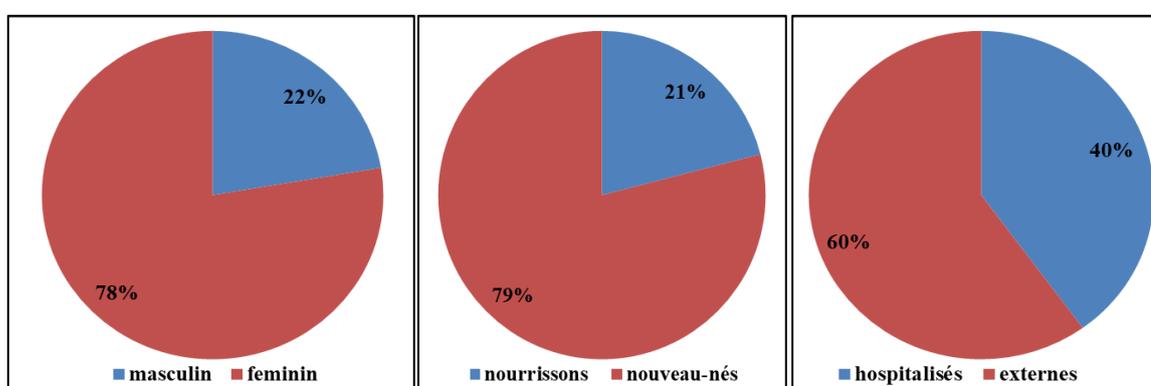


**Figure 22.** Préparation de la culture sur milieu RAT.

# RESULTATS

## 1. Population étudiée

L'analyse des fiches des patients élaborés lors de cette étude montre que la population est constituée de 79% de nouveau-nés et 21% de nourrissons. 78% de cette population est de sexe féminin (figure 23). Parmi les 100 patients étudiés, 40% ont été hospitalisés, dont six sont atteints d'une leucémie, un nourrisson qui souffre d'une malnutrition, et une nourrissante qui souffre d'une pneumonie, alors que le reste sont des nouveau-nés prématurés sous traitement d'antibiotiques.



**Figure 23.** Répartition de la population étudiée selon les fiches élaborées.

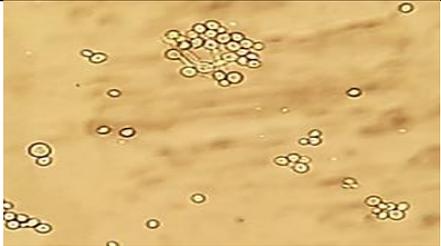
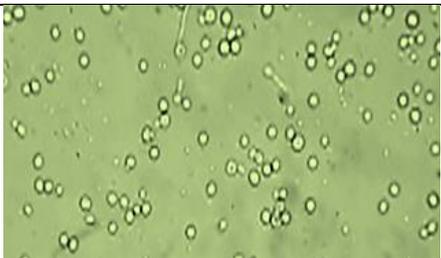
## 2. Observation microscopique

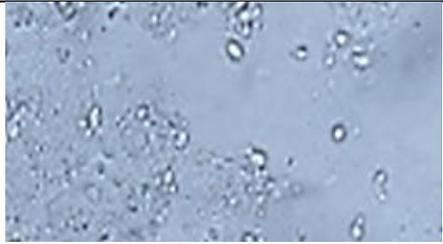
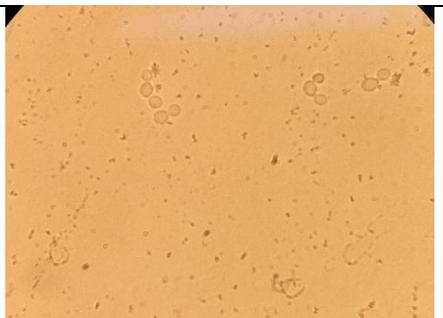
L'observation microscopique directe après prélèvement montre la présence de levures dans 12 échantillons, cependant, après la condensation par centrifugation le nombre de cas présentant un résultat positif est 20 échantillons. Sur les 20 échantillons positifs, 14 cas ont été prélevés à partir de patients présentant les symptômes d'une candidose buccale.

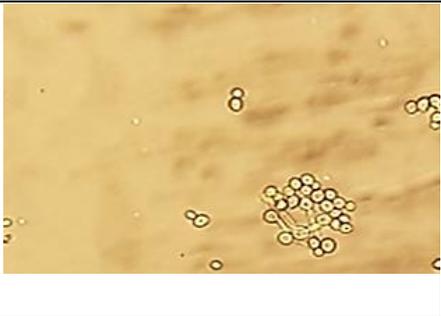
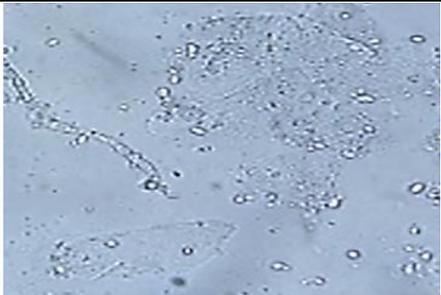
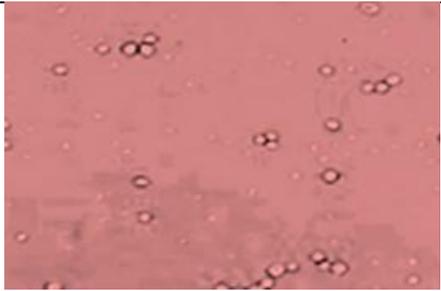
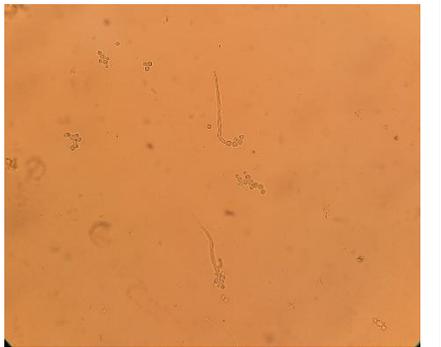
Les résultats sont résumés dans le tableau 02 et montrent la présence de levures à différents stades de croissance dans les 20 échantillons positifs.

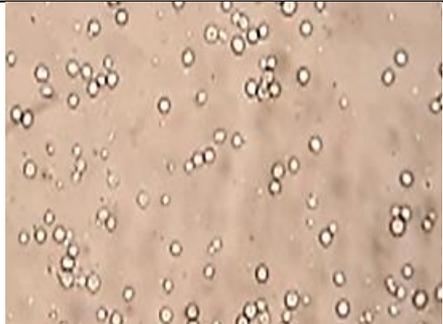
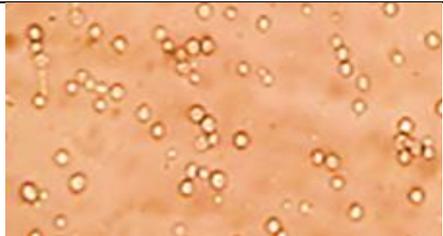
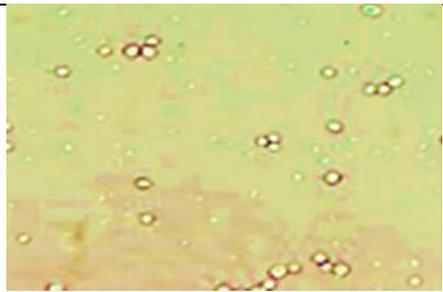
D'après le tableau 2, les échantillons P1, P46, P53, P55 et P70 montrent la présence d'hyphes, alors que le reste des échantillons montrent la présence de levures bourgeonnantes.

**Tableau 2.** Particularités des échantillons positifs après observation microscopique.

Code	Age	Sexe	Poids (kg)	Particularités	Observation après prélèvement ( <i>grossissement X40</i> )
P1	16 mois	F	7,9	Nourrisson hospitalisé atteint d'une pneumonie aigue. Apparence de taches blanchâtres, qui ressemblent à du lait caillé, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter et à manger.	
P2	sept jours	F	3	Nouveau-né prématuré et hospitalisé, sous traitement d'antibiotiques. Apparence de taches blanchâtres sur la langue.	
P6	deux jours	F	3,4	Nouveau-né prématuré et hospitalisé, sous traitement d'antibiotiques. Pas de symptômes de candidoses.	
P2 1	deux ans	F	18	Nourrisson non hospitalisé. Apparence de taches blanchâtres, qui ressemblent à du lait caillé, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues ; éprouve de la difficulté à téter et à manger.	

P2 4	deux jours	M	3,2	Nouveau-né prématuré et hospitalisé, sous traitement d'antibiotiques. Pas de symptômes de candidoses.	
P2 5	quatre jours	F	2,2	Nouveau-né prématuré et hospitalisé sous traitement d'antibiotiques. Pas de symptômes de candidoses.	
P2 8	un jour	F	3,9	Nouveau-né non hospitalisé. Apparence de taches blanchâtres, qui ressemblent à du lait caillé, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter.	
P3 2	un jour	F	1,6	Nouveau-né non hospitalisé. Apparence de taches blanchâtres, qui ressemblent à du lait caillé, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues,; éprouve de la difficulté à téter.	
P4 6	11 mois	M	8	Nourrisson atteint d'une leucémie, hospitalisé sous chimiothérapie, Apparence de taches blanchâtres, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter et à manger.	

P5 3	deux jours	F	3,4	Nouveau-né hospitalisé sous traitement d'antibiotiques. Pas de symptômes de candidoses.	
P5 5	trois jours	M	3,6	Nouveau-né hospitalisé sous traitement d'antibiotiques. Apparence de taches blanchâtres, qui ressemblent à du lait caillé, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter.	
P6 0	deux jours	F	3,6	Nouveau-né non hospitalisé apparence de taches blanchâtres, qui ressemblent à du lait caillé, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter.	
P7 0	17 mois	M	11	Nourrisson non hospitalisé sous traitement d'antibiotiques. Pas de symptômes de candidoses.	

P7 6	un jour	F	4	Nourrisson non hospitalisé apparence de taches blanchâtres, qui ressemblent à du lait caillé, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter.	
P8 2	quatre jours	M	1,5	Nouveau-né non hospitalisé apparence de taches blanchâtres, qui ressemblent à du lait caillé, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter.	
P8 6	12 jours	F	2,1	Nouveau-né prématuré et hospitalisé sous traitement d'antibiotiques. Pas de symptômes de candidoses.	
P8 8	14 jours	M	3,4	Nouveau-né prématuré et hospitalisé sous traitement d'antibiotiques. Pas de symptômes de candidoses.	
P9 1	8 jours	M	2	Nouveau-né prématuré et hospitalisé sous traitement d'antibiotiques. pas de symptômes de candidoses.	

P9 2	9 jours	F	2,1	Nouveau-né prématuré Hospitalisé sous traitement d'antibiotiques. Apparence de taches blanchâtres, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter.	
P9 4	un jour	M	2,1	Nouveau-né prématuré et hospitalisé sous traitement d'antibiotique. Apparence de taches blanchâtres, dans la bouche, sur la langue, à l'intérieur des joues, palais et gencives ; éprouve de la difficulté à téter.	

Les résultats sont résumés dans le tableau 02 et montrent la présence de levures à différents stades de croissance dans les 20 échantillons positifs.

D'après le tableau 2, les échantillons P1, P46, P53, P55 et P70 montrent la présence d'hyphes, alors que le reste des échantillons montrent la présence de levures bourgeonnantes

### 3. Culture des levures

Après incubation, la croissance des levures est observée seulement chez 20 échantillons parmi 100 cultivés. Il est important de noter que seulement les échantillons qui ont montré un résultat positif lors de l'observation microscopique directe ont révélés une croissance des levures sur les milieux de culture utilisés.

## 4. Identification morphologique de l'agent causale de la candidose

### 4.1. Observation macroscopique et microscopique

La croissance des levures est observée sur les deux milieux de culture (nommer les deux milieux de cultures utilisées). L'étude macroscopique révèle la présence de colonies, rondes, bombées, lisses, crémeuses, de différentes tailles, avec une couleur blanche (figure 24).



**Figure 24.** Aspect macroscopique des colonies sur milieu Sabouraud chloramphénicol.

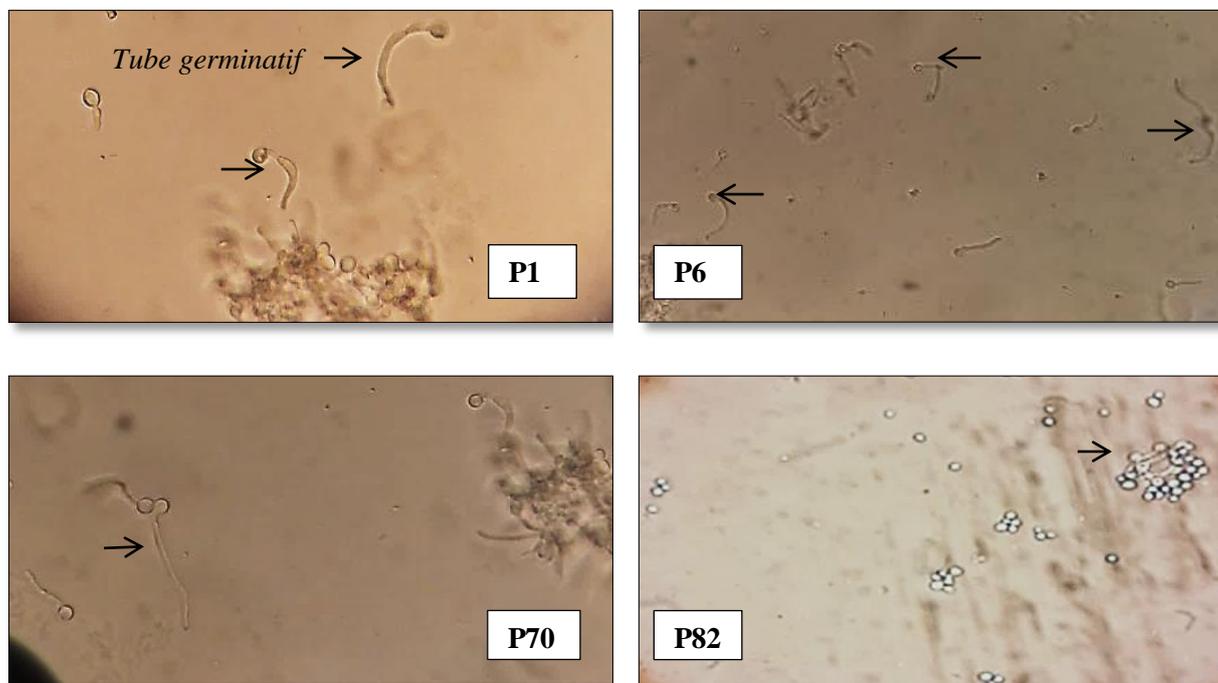
Le tableau ci-dessous montre les principales caractéristiques microscopiques des levures obtenues sur milieu sabouraud chloramphénicol et sabouraud chloramphénicol additionné d'Actidione incubé 24h à 37°C. La majorité des cellules observées, (grossissement X40) ont une forme ovale, de multiples bourgeons avec un attachement étroit, d'une épaisseur mince et d'un noyau unique. Parmi les isolats obtenus, 15 n'ont pas présentés la formation d'hyphes.

**Tableau 3.** Aspect microscopique des levures.

<b>Cas</b>	<b>Forme</b>	<b>Type de bourgeons</b>	<b>Attachement des bourgeons</b>	<b>Epaisseur</b>	<b>Hyphe et/ou pseudo-hyphe</b>	<b>Nombre de noyaux</b>
<b>P1</b>	Ovale	Unique	Etroit	Mince	Typique	Unique
<b>P2</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P6</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P21</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P24</b>	Ovale	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P25</b>	Ovale	Multiple	Large	Large	Absente	Unique
<b>P28</b>	Ovale	Multiple	Etroit	Mince	Typique	Unique
<b>P32</b>	Ovale/ronde	Unique	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P46</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Typique	Unique
<b>P53</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P55</b>	Ovale	Multiple	Etroit	Mince	Typique	Unique
<b>P60</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P70</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Typique	Unique
<b>P76</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P82</b>	Ovale/ronde	Unique	Large	Epaisse	Absente	Unique
<b>P86</b>	Ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P88</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P91</b>	Ovale/ronde	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P92</b>	Ovale	Multiple	Etroit	Mince	Absente	Unique
<b>P94</b>	Ovale	Unique	Large	Epaisse	Absente	unique

#### 4.2. Test de blastèse

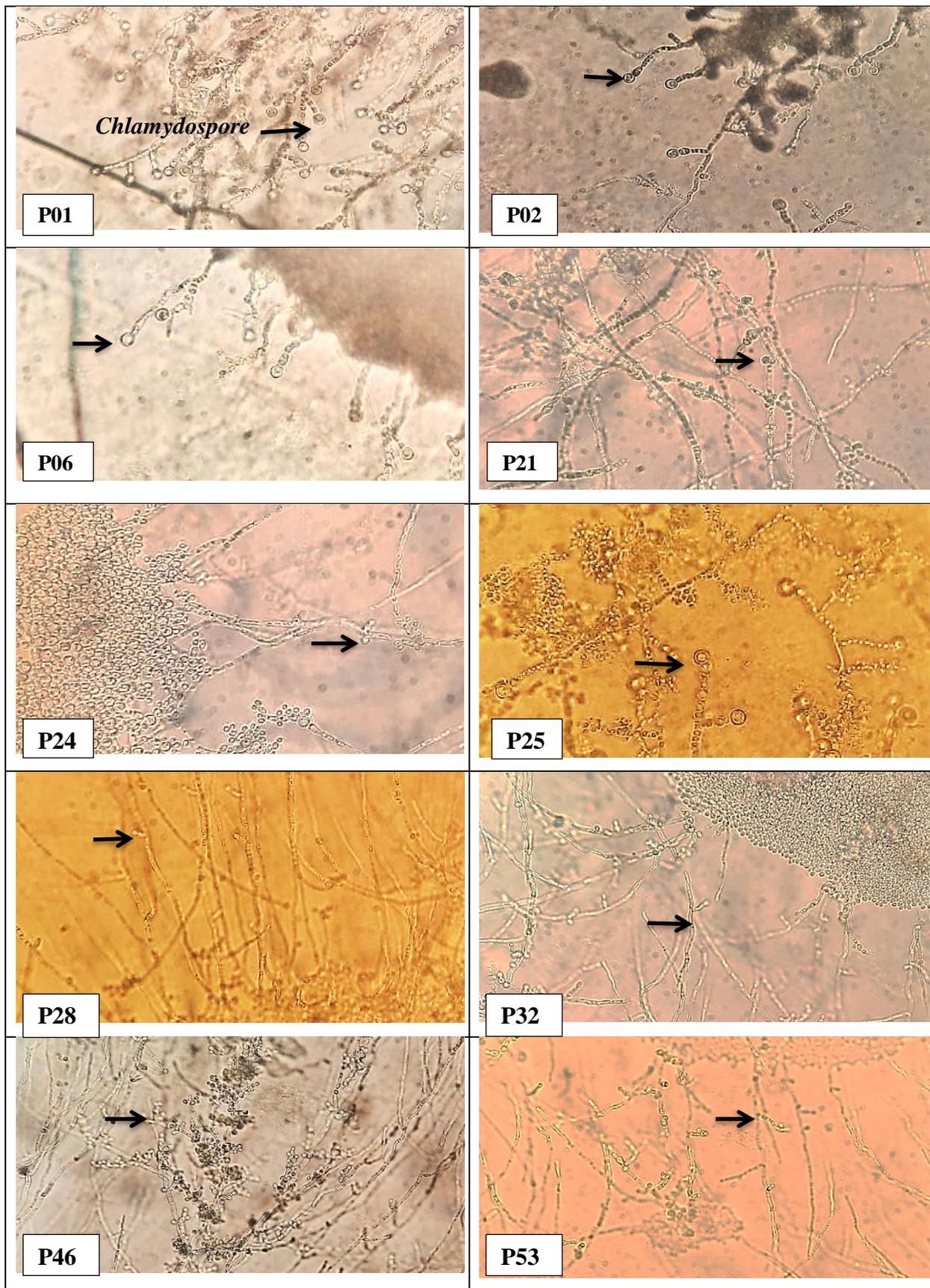
La culture sur le sérum humain a permis la formation du tube germinatif chez quatre isolats : P1, P6, P70 et P82 (figure 25).



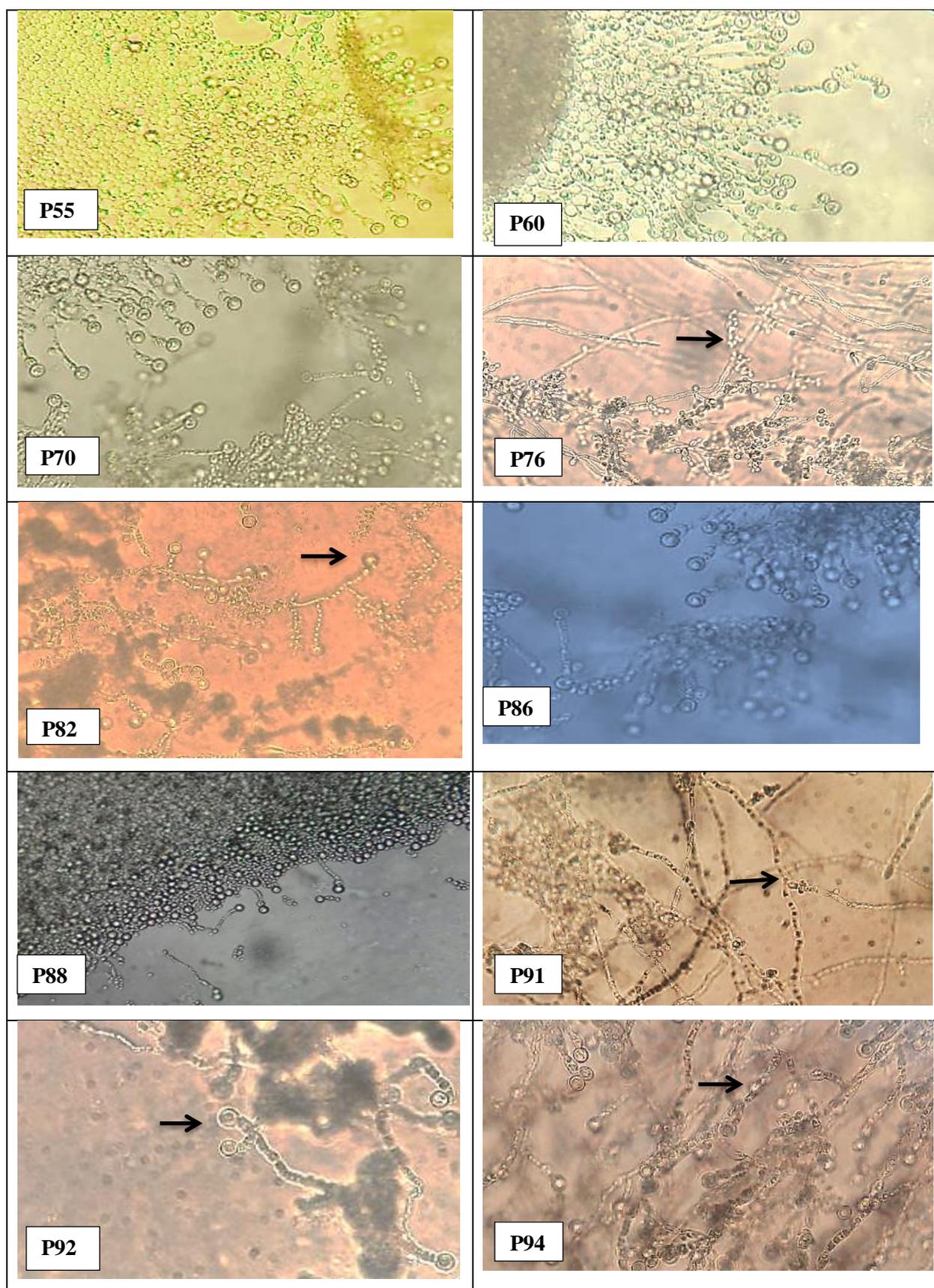
**Figure 25.** Tubes germinatifs chez les isolats P1, P6, P70 et P82.

#### 4.3. Test de chlamydosporulation

Selon la figure 26, la culture sur le milieu RAT a permis la formation des chlamydozoaires chez tous les isolats à l'exception de P55, P60, P70, P86 et P88.



**Figure 26.** Formation de chlamydospores chez les isolats étudiés.



**Figure 27.** Formation de chlamydospores chez les isolats étudiés (suite).

# DISCUSSION

La candidose ou candidose buccale, produite par des champignons du genre *Candida* (*Candida spp.*), est la mycose cutanéomuqueuse la plus fréquente de la cavité buccale. *Candida* se trouve dans la cavité buccale de 53% de la population générale en tant qu'organisme commensal commun. 150 espèces de ce genre ont été isolées dans la cavité buccale, et 80% des isolats correspondent à *Candida albicans*, qui peut coloniser la cavité seul ou en association avec *Candida glabrata* ou *Candida tropicalis* (observé chez 7% de toutes les personnes saines et chez 80% de tous les patients atteints de candidose) (Bensadom, *et al*, 2011).

Dans notre étude, un prélèvement par écouvillonnage a été utilisé pour la recherche et le diagnostic d'une candidose. Parmi la population étudiée, qui est constituée de 79% de nouveau-nés, 14 cas ont présenté des symptômes d'une candidose buccale.

En fait, Samaranayake (1991) a proposé une classification dans laquelle les lésions de candidose buccale sont subdivisées en deux groupes principaux : le groupe I, ou candidose buccale primaire, limité aux lésions localisées dans la cavité buccale sans atteinte de la peau ou d'autres muqueuses ; le groupe II, ou candidose buccale secondaire, où les lésions sont présentes à la fois dans les sites buccaux et extra-buccaux tels que la peau. Selon cette classification, les 20 cas de candidoses buccales détectées dans notre étude appartiennent au groupe I ou à la candidose buccale primaire, précisément à la candidose buccale pseudomembraneuse qui se caractérise par des plaques molles d'un blanc crémeux qui, lorsque essuyées, exposent une muqueuse érythémateuse (figure 28), et qui est principalement aiguë. Selon (Hellstein et Marek, 2019). La candidose pseudomembraneuse aiguë est la forme de candidose classiquement observée chez les nouveau-nés et les patients immunodéprimés, dont beaucoup de ces cas sont asymptomatiques.



**Figure 28.** Candidose buccale chez des nouveau-nés (photos prise par l'auteur).

Le prélèvement par écouvillonnage a permis la révélation de 20 cas suspect d'une candidose, en fait, l'écouvillonnage d'un site lésionnel est une méthode relativement simple de détection de la croissance et d'une estimation semi-quantitative de *Candida* (Axell *et al.*, 1985). De même, d'après nos résultats, la condensation des échantillons par centrifugation semble être une étape importante pour une première orientation vers le diagnostic d'une candidose à travers l'observation microscopique directe.

Chez les 20 cas suspects d'une candidose, une croissance des levures est observée dans le milieu Sabouraud chloramphénicol additionné ou non de cycloheximide, qui représente, selon Odds, (1991) et Marsh et Martin (2009), le milieu d'isolement primaire le plus fréquemment utilisé pour *Candida*, le fait, qu'il assure la croissance de plusieurs espèces appartenant à ce genre et qu'il inhibe la croissance de nombreuses espèces de bactéries buccales en raison de son faible pH. D'autre part, la culture de nos échantillons sur le milieu Sabouraud chloramphénicol a permis l'obtention de colonies avec un aspect macroscopique très proche, dans le même contexte et selon Baveja (2010), *Candida* se développe sous forme de colonies convexes crémeuses, lisses et pâteuses sur le milieu Sabouraud chloramphénicol et la différenciation entre les espèces est rarement possible.

L'identification des levures basée sur les milieux de culture primaires peut être confirmée par une variété de tests supplémentaires traditionnellement basés sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques des isolats. Dans notre étude, le test de blastèse a révélé la présence des tubes germinatifs chez quatre isolats, en fait, le test du tube germinatif est la méthode standard pour identifier *C. albicans*. Le test implique l'induction d'excroissances d'hyphes (tubes germinatifs) lorsqu'ils sont repiqués dans du sérum à 37 °C

pendant quelques heures. Environ 95 % des isolats de *C. albicans* produisent des tubes germinatifs, une propriété également partagée par *C. stellatoidea* et *C. dubliniensis* (Williams et Lewis, 2000).

Dans notre étude, 75% des isolats ont la capacité de produire des chlamydospores, ce qui permet de s'orienter vers les deux espèces *C. albicans* et *C. dubliniensis*. Selon la littérature, *C. albicans* et *C. dubliniensis* peuvent être identifiés parmi d'autres espèces en fonction de leur capacité à produire des caractéristiques morphologiques connues sous le nom de chlamydospores, qui sont des structures sphériques réfractiles générées aux extrémités des hyphes apparues après la culture d'isolats sur un milieu nutritionnellement pauvre (Marsh et Martin 2009).

CONCLUSION  
ET PERSPECTIVES

## Conclusion

*Candida* est la flore commune de la cavité buccale, qui aime vivre dans les parties particulièrement chaudes ou humides du corps humain, mais dans certaines circonstances, elle peut devenir pathogène pour l'homme, notamment chez les nouveau-nés immunodéficients, et la transmission de cet agent pathogène provoque des infections à *Candida* qui ont une grande importance en clinique humaine. Elles peuvent être simples, comme la candidose orale ou le muguet chez les nouveau-nés et les nourrissons.

Cet agent pathogène est considéré comme rare. Parce que l'incidence de l'infection est faible ces dernières années, et cela est dû à l'amélioration de l'hygiène dans les hôpitaux, et la prise en compte des mesures préventives des nouveau-nés et des nourrissons par la mère, et pour cette raison notre travail nous a permis de discerner les particularités de la candidose orale affectant les nouveau-nés, d'avoir une vue d'ensemble de l'épidémiologie, de connaître les facteurs favorisant et d'identifier les espèces pour une meilleure prise en charge thérapeutique.

L'un des éléments les plus importants qui ressort de notre analyse des résultats est le suivant :

Tout d'abord, les nouveau-nés à la naissance ne sont pas porteurs de lésions, et tous les nouveau-nés hospitalisés ont acquis la maladie par usure car les hôpitaux sont considérés comme des océans inhabitables où ils sont mis à mal par l'acquisition de maladies indésirables, deuxièmement, les nouveau-nés sous traitement antibiotique sont plus sensibles à la maladie ce qui est le facteur favorisant le plus important par rapport aux autres facteurs, et troisièmement ce qui est le plus important, c'est que les levures du genre *Candida* sont les principaux agents responsables de ces affections, et précisément le *Candida albicans*. Tout ceci explique la nécessité d'accorder une attention particulière à la candidose buccale, sans oublier de sensibiliser à la prévention et à l'hygiène. Parce qu'elle n'est pas grave et facile à traiter, surtout si le traitement a eu lieu au début de la maladie.

Enfin, il est important d'avoir une coopération entre les mycologues, et les pédiatres dans la prise en charge thérapeutique des nouveau-nés atteints de candidose orale. Et les mères sont conscientes que de petites raisons comme celle-ci peuvent entraîner des conséquences graves, il faut donc être prudent.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUE

## A

1. Agbo-Godeau, S., Guedj, A. (2005). Oral mycosis. Thèse pour l'obtention de doctorat en Stomatologie : Département de pathologie de la muqueuse buccale, service de stomatologie et chirurgie maxillo-faciale, 30–41p.
2. Alan, S et al (2002). Anatomie pathologique ATLAS DE WHEATER : Les mycoses. Paris : Pierre validire et Patricia Validire- Charpy. 49p.
3. Anane, S. Khalfallah, F. (2007) Diagnostic biologique des candidoses systémiques : difficultés et perspectives, Pathologie biologique, 262-272p.
4. Augé, J. F. Anatomie de la bouche [en ligne] (01/07/2021) : <https://www.docteurclic.com/encyclopedie/anatomie-de-la-bouche.aspx>

## B

5. Baldo, A., Malthy, A., Vermout, S., Tabart, J., Losson, B., Mignon, J. (2007) : Les mécanismes d'adhérence des champignons responsables des mycoses superficielles, article de synthèse : 192-199p.
6. Bonola, E. (2014) : Principales candidoses rencontrées chez les femmes enceintes et les femmes allaitantes, conséquences d'une transmission mère/enfant, traitements et conseils. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie. Université Claude Bernard - lyon 1 faculté de pharmacie institut des sciences pharmaceutiques et biologiques. 55-58p
7. Beaudry, L (2005).la vaginite... jamais plus ! Solution et remèdes : *Candida albicans*. Qui est-il ?un ami et un ennemi. Les deux à la fois... Paris. Alice Machado : édition Lanorefrancois-Xavier Sorlot, éditeur 6rue de Vaugirard, 755006 Paris.p10.
8. Belahcen elouali, R. (2016) : Candidoses Buccales Chez L'enfant : Thèse Pour L'obtention De doctorat En Médecine Université Mohammed V – RABAT : 30-74p.
9. Baley, J.E., Kliegman R. M. , Boxerbanm, B. , Fanaroff, A.A. (1986): Fungal colonization in the very low birth weight infant . Pediatrics, 32p.
10. Benazza, C. (2018). La fréquence des mycoses superficielles infantiles diagnostiquées au Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicales du CHU de Tlemcen. Memoire de fin d'étude.

11. Bland-Jeffrey. (1984): Hidden diseases caused by *Candida*: Preventive medicine: 3-12p.
12. Bonola, E. (2014) : Principales candidoses rencontrées chez les femmes enceintes et les femmes allaitantes, conséquences d'une transmission mère/enfant, traitements et conseils. Thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie. Université Claude Bernard - Lyon 1 faculté de pharmacie institut des sciences pharmaceutiques et biologiques. 55-58p
13. Butler, K.M., Baker, C.J., (1988): *Candida*: An increasingly important pathogen in the nursery. 543p

## C

14. Caumes, E et al (2012). Médecine tropicale : lésions des muqueuses. Lavoisier, Paris : Brigitte Peyrot .P 457. (6 collection)
15. Chaitow, L, D.O., N.D (1985). *CANDIDA ALBICANS* Could Yeast be Your Problem ? : *Candida* yeast and common health problems. Healing Arts Press One Park Street Rochester, Vermont 05767 First U.S.A. edition 1987.p9.
16. Crispian, S,. (1994): *Candida* and Oral Candidiasis: Critical Reviews in Oral Biology & Medicine 5(2):125-57
17. Cassone, A.,(1989): Cell wall of *Candida albicans*: its functions and its impact on the host. Curr TopMed Mycol. 248-314p.
18. Chabasse, D., Guiguen, C., (1999) : Contet-Audonneau N. Mycologie médicale. Elsevier Masson. 324p.
19. Cocho,H., (2012) : Prélèvement vaginal positif a *Candida albicans* pendant la grossesse. Mémoire pour le diplôme d'état de sage-femme : faculté de médecine. Universités d'Auvergne. 7p

## D

20. Dr Pierrick, H., en collaboration avec professionnels de santé et de la médecine (2014) : Candidose oro- pharyngée -définition Université Paris Diderot - Paris 7- Faculté de Médecine, 78p.

21. Douiou, H., (2017) : Répercussions des hémopathies malignes pédiatriques et de leurs traitements sur la sphère orale. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. 17-19p

## E

22. Eggimann, P., Pittet, D., (2002) : Candidoses en réanimation. Réanimation, 11 : 209-221p.

23. Ernest. H, : Anatomie :File:/E:\\ histologie cavité buccale.htm

## F

24. Farah, C.S., Ashman, R.B., Challacombe, S.J. (2000): Oral candidosis. Clin Dermatol 18: 553-562p.

25. Freydiere, A.M., Robert, R. Ploton, C., Marot-Leblond. A., Monerau, F., Vandenesch, F.(2003): Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, *GLABRATA* RTT. Journal of clinical microbiology, 3861-3863p.

26. Fricain, J.C. Chirurgie des muqueuses buccales [en ligne] (01/07/2021) : <https://clemedicine.com/chirurgie-des-muqueuses-buccales/>

27. Fricker-Hidalgo, H., Orensa, S., Lebeau, B., Pelloux, H., Brenier-Pinchart, M., Ambroise-Thomas, P., Grillot, R., (2001): Evaluation of *Candida* ID, a new chromogenic medium for fungal isolation and preliminary identification of some yeast species. Journal of clinical microbiology, 1647-1649p.

## G

28. Gandelle, I (2016) : Denturologiste la stomatite prothétique: Nouvelle perspective.

29. Granier, F., (2000) : Les infections fongiques invasives: épidémiologie et nouvelles thérapeutiques. La Presse médicale, 2051-2056p.

30. Guignard, J.L., Bouchet,P., Madulo, G., Regli, P. (1989) : Mycologie générale et médicale. Abrégé Masson, 107-120p,108-109p.

## H

31. Hanna, S. Blancard, A., De la Roziere, J., Dumon ,H., Manelli, J, (2003) : Diagnostic des

candidémies par PCR nichée et comparaison avec les hémocultures. Journal de mycologie Médicale, 61-66p.

32. HUMBERT, P. La perlèche [en ligne] (01/07/2021) :

<https://www.lequotidiendupharmacien.fr/formation/specialites-medicales/la-perleche>

## I

33. Illon, J (2011) : Pathologie non tumorale de la muqueuse buccale : Collège hospitalo-universitaire français de chirurgie maxillo-faciale et stomatologie : Université Médicale Virtuelle Francophone, 14-19p disponible sur :

<http://campus.cerimes.fr/chirurgie-maxillo-faciale-et-stomatologie/enseignement/stomatologie5/site/html/cours.pdf>

## J

34. Jegoux , F., (2007) : Pathologie des glandes salivaires. Thèse de doctorat : Université de Rennes, 26p.

## K

35. Khelif, M., Sellami, H., Sellami, A., Makni, F., Cheikhrouhou, F., Chelly, H., Bouaziz , M., Ayadi, A., (2007) : Detection and identification of *Candida* sp. by PCR in candidemia diagnosis. Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology, 256-260p.

## L

36. Lagane. C., (2007) : Role de l'il-13 et des ligands de ppar- $\gamma$  dans la reponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-a-vis de candida albicans. Implication de ppar- $\gamma$ . Thèse pour l'obtention du grade de docteur. Université toulouse III – paul sabatier 16-24p.

## M

37. Maaroufi , Y., Ahariz , N., Husson, M., Crokaert. F., (2004): Comparison of different methods of isolation of DNA of commonly encountered *Candida* species and its quantitation by using a real-time PCR-based assay. Journal of clinical microbiology, 3159-3163p.

38. Myers, E.N., Suen, J.Y., Myers, J.N., (2003): Department of Head and Neck Surgery, MD Anderson Cancer Center, 1515 Hocombe and neck. References in Evaluation and Staging of squamous cell Carcinoma of the oral cavity and Oropharynx. Cancer of the Oral Cavity. Philadelphia : Saunders.

39. Medkouri, S.E., (2011) : Epidémiologie des candidémies et des candidoses invasives en réanimation médicale à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V. THESE N°59.

## Q

40. Odabasi, Z., Mattiuzzi, G., Estey, E., Kantarjian, H., Saeki, F., Ridge, R.J., Ketchum, P.A., Finkelman, M.A., Rex, J.H., Ostrosky-Zeichner, L., (2004) :  $\beta$ -D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. Clinical Infectious Diseases, 199-205p.

## P

41. Palmer, G.D., Robinson, P.G., Challacombe, S.J., Paramythiotou, E., Frantzeskaki, F., Flevari, A., (1996): Aetiological factors for oral manifestations of HIV. Invasive fungal infections in the ICU: how to approach, how to treat. Molecules, 1085-1119p.

42. Pebret, F., (2003) : Maladies infectieuses toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Les antifongiques. Éditions Heures De France. Paris .127p.

43. Pittet, D., Monod, M., Suter, P.M., Frenk, E., Auckenthaler, R., (1994) : Candida colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. Annals of surgery, 220-751p.

## U

44. Uppuluri, P., Chaturvedi, A.K., Lopez-Ribot, J.L., (2009) : Design of a simple model of *Candida albicans* biofilms formed under conditions of flow: development, architecture, and drug resistance. Mycopathologia, 101-109p.

## R

45. Rangel-Frausto, M., Houston, A., Bale, M., Fu, C., Wenzel, R., (1994) : An experimental model for study of Candida survival and transmission in human volunteers. *European Journal of clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 590-595p.

46. Revillard, J. P., (1976) : Immunological aspects of corticotherapy, 427-434p.

## S

47. Saab, R(2014).la vie en collectivité de 3 mois à 3 ans. Guide pratique pour le personnel et les médecins de la petite enfance préface : candidose buccale. Société des Ecrivains 14, rue des volontaires-75015 Paris. P 153.

48. Saemann, M. Langue [en ligne] (01/07/2021) : <https://www.larousse.fr/encyclopedie/images/Langue/1001949>

49. Sanchez, J., Antonicelli, F., Tuton, D., Dorval, S.M., (2016) : François C. Particularités de la cicatrisation de l'enfant. *Ann Chir Plast Esthét.* 341p.

50. Samaranayake, L.P., Holmstrup.P. J., (1989). Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection, *Oral Pathol Med*, 554-564p.0

51. Samson, J., (1999) : Candidoses buccales : épidémiologie, diagnostic et traitement. *Rev Mens Suisse Odontostomatol*, 548-559p.

52. Sterkers, G., Pirenne-Ansart, H., Aujard, Y., (1993) : Le système immunitaire à la naissance : entre l'apprentissage du soi et du non soi. *Rev MédecineScience* [en ligne] (01/03/2021) :

[http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2913/1993\\_3\\_307.pdf?sequence=](http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2913/1993_3_307.pdf?sequence=)

## W

53. Waller,J., Koenig,H., Chambet, M., Kremer. M., (1991) : Limites du test de filamentation en sérum pour l'identification de *Candida albicans*. *Journal de mycologie médicale*, 144-145p.

54. Waschke, J, Paulsen, F. (2013): *Sobotta Atlas of Human Anatomy*. 15th ed. London: Elsevier.

55. Willinger ,B., Hillowoth , C., Selitsch, B., Manafi,M., (2001) : Performance of Candida ID, a new chromogenic medium for presumptive identification of *Candida* species, in

comparison to CHROMagar Candida .Journal of clinical microbiology, 3793-3795p.

# ANNEXES

EHS mère et enfant Sidi Mabrouk Constantine

Laboratoire central

Fiche de demande d'examens

Unité de parasitologie-mycologie

Service :.....N° de lit :..... Médecin traitant : .....

Date/heure de prélèvement : .....

S'agit-il d'une Urgence ?

Nom :.....Prénom :.....Age :.....

Adresse :.....

Renseignement cliniques et paracliniques ou le diagnostic

.....  
.....

ATCD personnels :.....

ATCD familiaux :.....

Traitement/suivi

.....

Autres Examens Demandés :.....

.....  
.....  
.....

Résultats

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Numérotation	Poids	Age	sexe	Hospitalisé	ATCD	Traitement
				Non hospitalisé	personnels	
P1	7.9 Kg	16 mois	F	Hospitalisé	pneumonie	Ampicilline + Claforan
P2	3 kg	7jours	F	Hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie
P3	2.1 kg	5 jours	M	Hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie
P4	3.1 kg	11 jours	M	Hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie
P5	3.6 kg	6 jours	F	Hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie
P6	3.4 kg	2 jours	F	Hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie
P7	3.2 Kg	1 jour	F	Hospitalisé	Aucun	Aucun
P8	2.8 kg	2 jours	M	Hospitalisé	Aucun	Aucun
P9	3.7 kg	1 jour	M	Hospitalisé	Aucun	Aucun
P10	4.1 kg	1 jour	M	Hospitalisé	fièvre	Aucun
P11	2.8 Kg	1 jour	M	NON Hospitalisé	Aucun	Aucun
P12	4 Kg	3 jours	F	NON Hospitalisé	Aucun	Aucun
P13	3 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P14	3.8 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P15	4.4 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P16	10 kg	2 ans	F	hospitalisé	Cancer	Chimiothérapie
P17	10 kg	17 mois	F	hospitalisé	Cancer	Chimiothérapie
P18	7 kg	7 mois	F	hospitalisé	Cancer	Chimiothérapie
P19	8 kg	8 mois	F	hospitalisé	Cancer	Chimiothérapie
P20	11 kg	16 mois	M	hospitalisé	Cancer	Chimiothérapie
P21	18 kg	2 ans	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P22	16 kg	21 mois	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P23	2 kg	5 jours	F	Non hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie
P24	3.2 kg	2 jours	M	Non hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie
P25	2.2 kg	4 jours	F	Non hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie
P26	2.9 kg	1 jour	M	Non hospitalisé	Prématuré	antibiothérapie

P27	4 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P28	3.9 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P29	3.4 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P30	3.6 kg	1 jour	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P31	2.9 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P32	1.6 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P33	3.4 Kg	2 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P34	2.8 Kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P35	3.1 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P36	4.1 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P37	3.5 kg	1 jour	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P38	3.8 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P39	4.9 kg	1 an	M	hospitalisé	Infection sanguine et Mal nutrition	Antibiothérapie
P40	9 kg	1 an	M	hospitalisé	Aucun	Antibiothérapie
P41	4.4 kg	49	F	hospitalisé	Diarrhée	Aucun
P42	10 kg	2 ans	M	hospitalisé	convulsion	Antibiothérapie
P43	15 kg	2 ans	M	hospitalisé	Aucun	Aucun
P44	7.2 kg	8 mois	M	hospitalisé	Crise d'épilepsie	Aucun
P45	8.9 kg	5 mois	M	hospitalisé	fièvre	Aucun
P46	8 kg	11mois	M	hospitalisé	leucémie	Aucun
P47	2.9 kg	1 jour	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P48	4 kg	5 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P49	3.9 kg	8 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun

P50	3.4 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P51	3.6 kg	2 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P52	3.8 kg	2 jours	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P53	3.4 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Antibiothérapie
P54	3.4 kg	1 mois	F	hospitalisé	Aucun	Antibiothérapie
P55	3.6 kg	3 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Antibiothérapie
P56	2.1 kg	6 jours	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P57	3.4 kg	2 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P58	3.2 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P59	4.1 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P60	3.6 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P61	3 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P62	3.5 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P63	3.3 kg	1 jour	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P64	3.4 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P65	3.1 kg	1 jour	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P66	3.3 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P67	3 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P68	3.5 kg	2 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P69	3.3 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P70	4.9 kg	1 an	M	hospitalisé	Aucun	Aucun
P71	9 kg	1 an	M	hospitalisé	Aucun	Aucun
P72	4.4 kg	1 moi	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P73	10 kg	2 ans	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P74	15 kg	2 ans	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun

P75	7.2 kg	8 mois	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P76	8.9 kg	5 mois	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P77	3.9 Kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P78	3.3	3 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P79	2.5	3 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P80	2.3	4 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P81	3	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P82	1.5	1 jour	F	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P83	2.3	6 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P84	2.7 kg	6 jours	M	hospitalisé	Aucun	Antibiothérapie
P85	2.2kg	1 mois	F	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P86	2.1 kg	14 jours	F	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P87	2.1 kg	26 jours	F	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P88	3.4 kg	16 jours	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P89	3.1 kg	10 jours	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P90	3.1 kg	6 jours	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P91	2 kg	9 jours	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P92	2.1 kg	10 jours	F	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P93	3.5 kg	7 jours	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P94	2.1 kg	1 jour	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P95	3.2 kg	5 jours	M	hospitalisé	Prématuré	Antibiothérapie
P96	3.5 kg	2 jours	F	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
P97	3.3 kg	2 jours	F	non hospitalisé	Aucun	Aucun
P98	3.1 kg	2 jours	F	non hospitalisé	Aucun	Aucun
P99	3.2 kg	3 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun

P100	3 kg	3 jours	M	Non hospitalisé	Aucun	Aucun
------	------	---------	---	-----------------	-------	-------

## Composition des milieux de culture

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée :

Milieu Sabouraud chloramphénicol :

- peptone de caséine 5,00
- Peptone de viande 5,00
- Glucose monohydrat 40,00
- Chloramphénicol 0,50
- Agar 15,00

PH final à 25 °C :  $5,6 \pm 0,2$

Milieu Sabouraud chloramphénicol additionné d'Actidione :

- Peptone Chapoteaut 10,00
- Glucose massé 20,00
- Actidione (Cycliheximide) 0,50
- Chloramphénicol 0,50
- Agar 15,00

PH final à 25 °C :  $6,0 \pm 0,2$

Milieu RAT (Riz Agar Tween)

- Maizena 10,00
- Tween 80 10 mL
- Agar 10,00

PH final à 25°C :  $6,6 \pm 0,2$

## Résumé

Cette étude a un objectif principal et un objectif secondaire et c'est d'identifier l'espèce fongique responsable de la mycose buccale et d'estimer de la fréquence de la mycose buccale et déterminer les facteurs de risques chez les nouveau-nés et nourrissons.

Dans un premier temps, des prélèvements mycologiques devraient être effectués sur cent bébés entre nouveau-nés et nourrissons en utilisant la technique d'écouvillonnage. En deuxième lieu, l'ensemencement des échantillons et l'incubation des milieux de culture (Sabouraud Chloramphénicol et Sabouraud Chloramphénicol additionné d'Actidione). Ensuite, des examens macroscopiques et microscopiques ainsi que des tests mycologiques devraient être effectués pour l'identification des isolats fongiques.

Les candidoses buccales sont des mycoses de la muqueuse buccale qui sont plus fréquentes chez les nourrissons et les jeunes enfants et ils sont dus à la présence d'un champignon levuriforme du genre *Candida*. Il s'agit souvent du *Candida albicans* qui se reproduit par le bourgeonnement et constitue la flore saprophyte de la cavité buccale. *C. albicans* est en effet, une levure commensale des muqueuses digestives et vaginales, et sa présence ne signifie pas son caractère pathogène.

Le passage de la levure à un stade pathogène est caractérisé par l'apparition des filaments mycéliens qui se développent à partir de la structure ovalaire de levure sous l'action des facteurs favorisants qui peuvent être intrinsèques ou extrinsèques principalement une faible immunité et la consommation d'antibiotiques.

Leur diagnostic repose sur l'examen clinique mais la confirmation se fait par l'examen mycologique qui permet une meilleure identification de l'espèce impliquée ainsi qu'une plus grande rapidité d'obtention des résultats et qui sont utiles dans le choix du traitement.

**Mots clés :** mycose buccale, candidoses, pathogène, cavité buccale, levure, champignon.

**Abstract:**

**Title: Oral candidiasis in new-borns: diagnostic; contributing factors and treatment**

This study has the main objective and a secondary objective and it is to identify the fungal species responsible for oral yeast infection and to estimate its frequency and determine the risk factors in newborns and infants.

As a first step, the mycological samples should be taken from 100 babies between newborns and infants using the swab technique. Then the inoculation of the samples and the incubation of the culture media which are (Sabouraud Chloramphenicol and Sabouraud Chloramphenicol with Actidione). Subsequently, macroscopic and microscopic examinations, as well as mycological tests, should be performed for the identification of the fungal isolates.

Oral candidiasis is an extremely common fungal infections of the oral mucosa in infants and young children and that's due to the presence of a yeast-fungus of the genus *Candida* and it's often *Candida albicans* that reproduces by budding and constitutes the commensal flora of the oral cavity, *C. albicans* is indeed a commensal yeast of the digestive and vaginal mucous membranes, and its presence does not indicate its pathogenic character.

The transition from yeast to a pathogenic stage is characterized by the appearance of hyphae that grows from the oval structure of yeast under the action of contributing factors that may be intrinsic or extrinsic the main ones are weak immunity and the consumption of antibiotics.

Their diagnosis is based on clinical examination but confirmation is made by mycological examination which allows better identification of the species involved and greater timeliness of results and are useful in some atypical cases and in the choice treatment of the fungus.

**Key words:** oral fungus, candidiasis, pathogenic, oral cavity, yeast, fungus

## الملخص:

العنوان: داء المبيضات الفموي لدى حديثي الولادة والرضع، تشخيصه، أسبابه وعلاجه .

هذه الدراسة لها هدف رئيسي وهدف ثانوي وهو التعرف على الأنواع الفطرية المسؤولة عن عدوى داء المبيضات الفموي وتقدير تواتره وتحديد عوامل الخطر عند الأطفال حديثي الولادة والرضع.

كخطوة أولى، يجب أخذ عينات الفطريات من 100 طفل بين حديثي الولادة والرضع باستخدام تقنية المسحة. ثانياً ، تلقيح العينات وحضانتها في وسط الاستزراع (Sabouraud Chloramphenicol و Sabouraud Chloramphenicol مع إضافة Actidione). بعد ذلك ، يجب إجراء الفحوصات الماكروسكوبية والميكروسكوبية وكذلك اختبارات الفطريات لتحديد العزلات الفطرية.

داء المبيضات الفموي هو الالتهاب الفطري للغشاء المخاطي للفم الأكثر شيوعاً عند الرضع والأطفال الصغار والذي هو نتيجة لتواجد خميرة من نوع *Candida* وهو غالباً *Candida albicans* التي تستنسخ عن طريق التبرعم وتشكيل لمة طفيلية في تجويف الفم. وبهذا فهو خميرة تتعايش في الجهاز الهضمي والتناسلي وتواجدها لا يدل على مرض.

يتميز انتقال الخميرة الى المرحلة الممرضة من خلال ظهور خيوط تنمو من الشكل البيضوي للخميرة تحت تأثير عوامل مساهمة وقد تكون داخلية او خارجية اهمها ضعف المناعة واستهلاك المضادات الحيوية.

يستند التشخيص على الفحص السريري ولكن يتم التأكد عن طريق الفحص الفطري الذي يتيح التعرف بشكل مؤكد عن النوع المعني وزيادة السرعة في النتائج التي تكون مفيدة في اختيار العلاج.

الكلمات المفتاحية: فطريات الفم ، داء المبيضات ، الممرضة ، تجويف الفم ، الخميرة ، الفطريات

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

**Département de Microbiologie- Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, UFM**

**Filière : Biotechnologie**

**Spécialité : Mycologie et biotechnologie fongique**

Titre

**Les candidoses buccales chez les nouveaux -nés et nourrissons :  
facteurs de risques, diagnostique et traitements.**

Cette étude a un objectif principal et un objectif secondaire et c'est d'identifier l'espèce fongique responsable de la mycose buccale et d'estimer de la fréquence de la mycose buccale et déterminer les facteurs de risques chez les nouveau-nés et nourrissons.

Dans un premier temps, des prélèvements mycologiques devraient être effectués sur cent bébés entre nouveau-nés et nourrissons en utilisant la technique d'écouvillonnage. En deuxième lieu, l'ensemencement des échantillons et l'incubation des milieux de culture (Sabouraud Chloramphénicol et Sabouraud Chloramphénicol additionné d'Actidione). Ensuite, des examens macroscopiques et microscopiques ainsi que des tests mycologiques devraient être effectués pour l'identification des isolats fongiques.

Les candidoses buccales sont des mycoses de la muqueuse buccale qui sont plus fréquentes chez les nourrissons et les jeunes enfants et ils sont dus à la présence d'un champignon levuriforme du genre *Candida*. Il s'agit souvent du *Candida albicans* qui se reproduit par le bourgeonnement et constitue la flore saprophyte de la cavité buccale. *C. albicans* est en effet, une levure commensale des muqueuses digestives et vaginales, et sa présence ne signifie pas son caractère pathogène.

Le passage de la levure à un stade pathogène est caractérisé par l'apparition des filaments mycéliens qui se développent à partir de la structure ovalaire de levure sous l'action des facteurs favorisants qui peuvent être intrinsèques ou extrinsèques principalement une faible immunité et la consommation d'antibiotiques.

Leur diagnostic repose sur l'examen clinique mais la confirmation se fait par l'examen mycologique qui permet une meilleure identification de l'espèce impliquée ainsi qu'une plus grande rapidité d'obtention des résultats et qui sont utiles dans le choix du traitement

Mots clés : mycose buccale, candidoses, pathogène, cavité buccale, levure, champignon.

Jury d'évaluation :

**Présidente du jury :** ABDELAZIZ Widad (MCB- UFM Constantine).

**Rapporteuse :** BENKAHOUL Malika (MCA- UFM Constantine).

**Examinatrice :** MEZIANI Meriem (MCB- UFM Constantine).

Présenté par : BENFOUGHAL Bouchra

HABBATI Chourouk Amira

**Année universitaire : 2020-2021**