

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERRI DE TIZI OUZOU
Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme Master académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Parasitologie

Thème :

Synthèse bibliographique et Diagnostic des mycoses à *Candida* prélevées à l'EPH d'Ain El Hammam

Réalisé par :

M^{lle} MESSOUCI Samira & M^{me} MOHAMMEDI Hanane

Soutenu devant le jury composé de :

Président :	M ^{me} BOUKHEMZA.N.	Professeur
Promoteur :	M ^r BOUKHEMZA. M.	Professeur
Co-promoteur :	D ^r BESSAOUD. A.	Pharmacienne assistante en parasitologie-mycologie.
Examineur :	M ^r KEDDACHE.A.	Maitre assistant A.

Promotion 2017/2018

Remerciements

En premier lieu, nous voudrions remercier notre promoteur, Mr BOUKHEMZA Pour la confiance qu'il nous a accordée en acceptant d'encadrer ce travail ainsi que pour ses valeureux conseils.

Nous tenons aussi à remercier notre Co-promoteur, Dr BESSAOUD Amina, pour toutes les remarques et tous les conseils qu'elle nous a prodigués ainsi que son suivie permanent durant toutes les phases de ce mémoire.

Nos remerciements vont aussi à tous les membres du jury qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir valoriser les efforts que nous avons fournis.

Nos respectueux sentiments de gratitude vont à tous nos enseignants qui nous ont transmis les connaissances nécessaires à la réalisation de ce travail.

Un remerciement particulier au Dr AIT HAMOU Azouaou et à toute l'équipe du CHU de AIN EL HAMMAM qui nous ont été d'une énorme aide dans la concrétisation de ce travail.

Je dédie ce modeste travail

À mes chers parents, Pour tout ce qu'ils m'ont inculqué et appris.

À ma mère, pour la tendresse et l'amour qu'elle m'a apporté. Pour avoir toujours cru en moi. Ses encouragements sont pour moi les piliers fondateurs de ce que je suis et de ce que je fais.

À mon père, pour sa présence et son exemple. Pour les sacrifices et l'amour inlassable qu'il a consenti pour mon bien être, mon instruction et ma réussite. Merci pour ta confiance.

Quoique je dise je ne pourrais jamais vous remercier. Que le dieu le tout puissant vous protège et vous accorde bonheur et longue vie.

À ma chère sœur Katia pour sa tendresse et complicité.

À mes adorables frères Mehana et Lounes pour leurs encouragements.

À mon mari Idir, aucun mot ne saurait t'exprimer mes remerciements pour l'amour, la tendresse dont tu m'as toujours entouré, car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour... Que le bon dieu nous accorde un avenir meilleur.

À mes deux petites princesses DANIA et SOFIA

C'est à vous mes anges, que maman dédie ce travail pour vous dire que vous êtes et vous resterez pour toujours ma fierté et le rayon de soleil qui égaye ma vie.

Je vous aime et je vous souhaite tout le bonheur du monde.

À ma belle mère et beau père pour leurs douceur et gentillesse.

À ma belle sœur Fadila

À toute ma famille et belle famille ainsi qu'à mes amies.

À mon adorable binôme, Samira, avec qui j'ai partagé ce travail et des moments inoubliable ainsi qu'à toute sa famille.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible.

HANANE

Je dédie ce modeste travail

A celle qui a fait de moi ce que je suis devenue aujourd'hui, celle qu'en plus de m'avoir donné la vie, m'offre chaque jour son amour, sa tendresse, ses conseils et sa bénédiction et ceci sans rien attendre en retour.

Maman, par ce travail j'espère avoir pu te rendre fière de ta petite dernière.

A la mémoire de celui qui avait fait de notre réussite une raison de vivre, celui qui m'a inculqué les valeurs qui sont devenues ma personnalité aujourd'hui, celui qui, malgré son absence physique à mes côtés, continu à me guider dans tout ce que j'entreprends dans ma vie.

Papa de là où tu es j'espère avoir réussi à te rendre fière de moi encore davantage, toi qui ne ratais aucune occasion pour me le démontrer.

A mes adorables sœurs Mina, Fadila, Karina et Ouardia, sans qui la vie aurait été insupportable, leurs encouragements et leur soutien ont été pour beaucoup dans ma réussite.

A mes beaux frères Abdelkader et Sofiane qui ont toujours été là dans les moments difficiles.

A mes petits anges Maria, Dania, Nélia, Hana, Talia et le petit Nacer, qui par leur innocence embellissent la maison de jour en jour.

A mes grands-mères Mahdjouba et Fatma que Dieu les garde pour nous tous.

A mes oncles et mes tantes, à mes cousins et cousines.

A toute la famille du Rassemblement pour la Culture et la Démocratie.

A ma merveilleuse binôme Hanane, son courage et sa volonté m'ont toujours émerveillé, une femme pour qui le mot impossible est banni. Ces années que j'ai passées avec toi ne m'ont pas seulement offert une amie mais plutôt une sœur.

Samira

Sommaire

Liste des figures

Listes des tableaux

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction générale.....1

Chapitre I : Revue bibliographique sur *Candida et candidoses*

1. Agent pathogène.....2

1.1. Classification.....2

1.1.1. Classification sexuée.....2

1.1.2. Classification asexuée.....2

1.2. Morphologie.....3

1.3. Reproduction4

1.4. Habitat.....6

1.5. Les espèces du genre *Candida*.....6

2. Candidose.....13

2.1. Facteurs favorisant les candidoses.....13

2.2. Physiopathologie.....14

2.3. Aspects cliniques.....16

2.3.1 Candidoses superficielles.....16

2.3.2. Candidoses profondes.....25

2.4. Traitement.....32

2.4.1. Les classes d'agents antifongiques.....32

2.4.2. Mécanisme d'action.....36

2.4.3. Stratégie thérapeutique.....38

2.4.3.1. Prise en charge de candidoses superficielles.....38

2.4.3.2. Prise en charge de candidoses profondes.....39

Chapitre II : Diagnostic biologique

1. Diagnostic mycologique.....46

1.1. Prélèvement.....46

1.2. Examen direct.....48

1.3. Culture.....	52
1.4. Ensemencement	56
1.5. Identification	57
1.6. Interprétation des résultats.....	62
1.7. L'antifongogramme.....	64
2. Examen histologique ou histopathologique.....	67
3. Diagnostic immunologique indirect.....	67
3.1. Recherche d'antigènes circulants.....	68
3.2. Recherche d'anticorps sérique anti-Candida.....	71
4. La biologie moléculaire.....	72
Chapitre III : Matériels et méthodes	
1. Objectifs.....	73
2. Matériels.....	73
3. Méthodes.....	75
Chapitre VI : Résultats	
Résultats.....	81
Chapitre V : Discussion	
Discussion.....	90
Conclusion	92
Bibliographie	
Annexe	
Résumé	

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	page
Figure 1	Aspect macroscopique des levures en culture	3
Figure 2	Aspect microscopique des levures (forme blastospores)	3
Figure 3	Levures en bourgeonnement, modèle bipolaire	4
Figure 4	<i>Candida</i> sous forme de pseudomycélium	5
Figure 5	<i>Candida</i> sous forme de mycélium	5
Figure 6	Chlamydospores de <i>Candida dubliniensis</i> isolées sur un milieu RAT, colorés artificiellement	7
Figure 7	<i>Candida albicans</i> : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4)	7
Figure 8	<i>Candida glabrata</i> : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4)	8
Figure 9	<i>Candida tropicalis</i> : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4)	9
Figure 10	<i>Candida parapsilosis</i> : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4)	9
Figure 11	<i>Candida guilliermondii</i> : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4)	10
Figure 12	<i>Candida kefyr</i> : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4)	11
Figure 13	<i>Candida krusei</i> : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4)	11
Figure 14	<i>Candida dubliniensis</i> : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4)	12
Figure 15	Formation d'un biofilm par <i>Candida albicans</i>	15
Figure 16	Pathogénie des infections à <i>Candida</i>	16
Figure 17	Muguet buccal	17
Figure 18	Perlèche	18
Figure 19	Glossite	19
Figure 20	Candidose œsophagienne	19
Figure 21	Candidose gastro-intestinale	20
Figure 22	Candidose vulvo-vaginale	21
Figure 23	Balano-posthite à <i>Candida</i>	21
Figure 24	Intertrigo des grands plis (Pli sous-mammaire)	22
Figure 25	Intertrigo des grands plis (Pli axillaire)	23
Figure 26	Intertrigo interdigital à <i>Candida</i>	23

Figure 27	Candidoses cutanées du nouveau-né	24
Figure 28	Onychomycose à <i>Candida</i> (Périonyxis)	24
Figure 29	Onychomycose à <i>Candida</i> (Onyxis)	25
Figure 30	Manifestation cutanée de la candidose systémique	27
Figure 31	Endophtalmie à <i>Candida</i>	28
Figure 32	Endocardite à végétation mitrale	28
Figure 33	Candidose hépatosplénique	29
Figure 34	Spondylodiscite : lésions érosives des plateaux vertébraux	30
Figure 35	Sites d'action des principaux antifongiques	38
Figure 36	Examen direct des prélèvements superficiels - muqueuses	48
Figure 37	Examen direct des prélèvements superficiels- peau et phanère	49
Figure 38	Examen après coloration des prélèvements superficiel- muqueuse	51
Figure 39	Colonies de <i>Candida albicans</i> (A), <i>Candida glabrata</i> (B)	55
Figure 40	Association de levures (<i>Candida albicans</i> , <i>Candida kruzei</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida parapsilosis</i>) sur CHROMagar ^R <i>Candida</i> (A), <i>Candida</i> ID ^R 2 (B) CandiSelect ^R 4 (C) et <i>Candida</i> brilliance (D)	55
Figure 41	Matériels utilisés pour les prélèvements au laboratoire	74
Figure 42	Matériels utilisés pour la culture	74
Figure 43	Matériels utilisés pour la lecture	75
Figure 44	Les étapes de l'examen direct des urines	76
Figure 45	les étapes de la culture des urines	77
Figure 46	Colonies de <i>Candida albicans</i> sur milieu de Sabouraud	78
Figure 47	Réalisation du Test de blastèse	79
Figure 48	Galerie apicolor	79
Figure 49	Effectif des prélèvements diagnostiqués	81
Figure 50	Secteur représentant les espèces de <i>Candida</i> isolés dans les prélèvements Diagnostiqués	82
Figure 51	Secteur représentant la fréquence des <i>Candida</i> selon la localisation Superficielles et profonde	83
Figure 52	Secteur représentant la fréquence des <i>Candida</i> selon le site de prélèvement superficiel	84
Figure 53	Secteur représentant la fréquence des prélèvements positifs à <i>Candida</i> selon l'âge	85
Figure 54	Secteur représentant la fréquence des prélèvements positifs à <i>Candida</i> selon le sexe.	86
Figure 55	Secteur représentant la fréquence des prélèvements internes positifs à <i>Candida</i> par rapport aux externes :	87
Figure 56	Secteur fréquence des prélèvements positifs à <i>Candida</i> selon le service	88

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Les principales espèces du genre <i>Candida</i> et leurs manifestations cliniques	12
Tableau II	Principales formes galéniques de l'Amphotéricine B	32
Tableau III	Principaux imidazolés disponibles dans les candidoses cutanéomuqueuses	33
Tableau IV	Principaux triazolés disponibles dans les candidoses cutanéomuqueuses	35
Tableau V	Modalités des prélèvements selon la localisation superficielle ou profonde de la candidose	47
Tableau VI	Galleries commercialisées pour l'identification des levures	60
Tableau VII	Principales caractéristiques des techniques recommandées par le CLSI (ex-NCCLS) et l'EUCAST pour la détermination de la sensibilité aux antifongiques des levures	65
Tableau VII	Concentrations critiques (en µg/mL) recommandées par le CLSI pour <i>Candida</i>	66
Tableau IX	L'effectif des prélèvements diagnostiqués	81
Tableau X	Les espèces de <i>Candida</i> isolés dans les prélèvements diagnostiqués	82
Tableau XI	Fréquence des <i>Candida</i> selon la localisation superficielle et profonde	83
Tableau XII	Fréquence des <i>Candida</i> selon le site de prélèvement superficiel	84
Tableau XIII	Fréquence des prélèvements positifs à <i>Candida</i> selon l'âge	85
Tableau XIV	Fréquence des prélèvements positifs à <i>Candida</i> selon le sexe	86
Tableau XV	Fréquence des prélèvements internes positifs à <i>Candida</i> par rapport aux externes	87
Tableau XVI	Fréquence des prélèvements positifs à <i>Candida</i> selon le service	88

Liste des abréviations

AEH : Ain El Hammam

App : Application.

ARN : Acide ribonucléique.

CFU : Colony Forming Unit.

CHU : Centre hospitalo-universitaire.

CLSI : Clancy Systems International.

CMI : Concentrations minimales inhibitrices.

Cp : Comprimé.

DNA/ADN : Acide désoxyribonucléique.

ED : Examen Direct.

EDTA : Ethylène diamine tétra acétique.

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay.

EPH : Etablissement public hospitalier.

ES : Electrosynérèse.

EUCAST : The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

HES : Hématéine-éosine-safran.

IEP : Immunoélectrophorèse.

IgM : Immunoglobulines de type M.

LBA : Lavage broncho-alvéolaire.

LCR : Liquide céphalo-rachidien.

MGG: May-Grunwald-Giemsa.

Milieu RAT : Riz Agar Tween.

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards.

PAS : Periodic-acid Schiff.

PCB : Pomme de terre–carotte–bile.

PV : Prélèvement vaginal.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

Glossaire

Anaérobie : Qui peut vivre dans un milieu privé d'air (micro-organisme).

Anamorphe : Qualificatif qui désigne la forme reproductrice asexuée d'un champignon.

Aplasia : Arrêt ou insuffisance du développement d'un tissu ou d'un organe.

Atrophique : Relatif à l'atrophie (diminution du volume d'un organe ou d'un tissu).

Biofilms : Est une communauté de microbes qui forme généralement une mince couche visqueuse.

Commensale : Germe habituel du corps non pathogène.

Corticoïdes : Hormones stéroïdes du cortex surrénal animal et humain.

Cosmopolites : Se dit d'une espèce animale ou végétale quand elle est présente dans toutes les parties du monde.

Cycloheximide : Est un antifongique qui bloque la biosynthèse des protéines chez les cellules.

Cystites : Inflammation de la vessie.

Dysphagie : Difficulté à avaler.

Dysurie : Difficulté à uriner.

Dermatite : Inflammation de la peau.

ELISA : Cette méthode est principalement utilisée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.

Endocrinopathie : Maladie des glandes hormonales telles la thyroïde, les ovaires, les surrénales, etc.

Endocardite : Inflammation de l'endocarde.

Endophtalmie : Infection des tissus internes de l'œil par une bactérie, survenant à la suite d'une plaie ou, plus rarement, d'une chirurgie de l'œil.

Flatulences : Accumulation de gaz dans les intestins.

Hémagglutination : fixation d'anticorps spécifiques sur des structures antigéniques présentes à la surface des globules rouges.

Hyalite : Inflammation du corps vitré de l'œil.

Hydrocéphalie : Excès de liquide céphalorachidien dans les cavités du cerveau.

Hyperhidrose : Transpiration excessive.

Hyperkératosique : Dermatoses se caractérisant par un excès de fabrication de la couche cornée de l'épiderme.

Hyperparathyroïdie : Est une hyperactivité de la glande parathyroïdienne engendrant une surproduction de son hormone, la parathormone. La parathormone régule le taux de calcium dans le corps.

Immunoélectrophorèse : électrophorèse destinée à séparer antigène et anticorps.

Immunofluorescence : Technique utilisée pour dépister les antigènes grâce à des corps fluorescents.

Immunosuppresseurs : sont des médicaments qui réduisent ou bloquent les réactions immunitaires de l'organisme.

Leucorrhées : Écoulement vulvaire blanchâtre, parfois purulent.

Lymphangite : Inflammation des vaisseaux lymphatiques.

Lymphomes : Prolifération cancéreuse qui se développe dans le tissu lymphoïde.

Maculopapuleux : Eruption cutanée, sous forme de petites taches.

Manuportage : Transmission des germes d'un individu à un autre par l'intermédiaire des mains.

Médiastinites : Infection du médiastin (Région du thorax située entre les deux poumons).

Myalgies : Douleur musculaire.

Néoplasie : Tissu nouvellement formé d'une tumeur bénigne ou maligne.

Neutropénie : est un trouble hématologique caractérisé par un taux bas de granulocytes (ou polynucléaires) neutrophiles dans le sang.

Opportuniste : Qui manifeste sa virulence sur des organismes aux défenses immunitaires affaiblies.

Panophtalmie : Inflammation purulente de la totalité du globe oculaire.

Pathogènes : Qui peut causer une maladie.

Papulopustules : Lésions cutanées élémentaires surélevées qui peuvent être palpées, à contenu purulent pour la pustule.

Périanal : Relatif à ce qui est autour de l'anus.

Péritonites : Inflammation du péritoine.

Pharynx : Cavité où aboutissent les conduits digestifs et respiratoires.

Pneumopathie : Affection pulmonaire.

Polymorphe : Qui peut se présenter sous des formes différentes.

Pollakiurie : Trouble urinaire qui consiste en une fréquence anormalement élevée de mictions peu abondantes.

Prurit : Démangeaison liée à une affection cutanée ou générale.

Pyélonéphrite : Inflammation du bassinet et du rein.

Saprophyte : est un organisme végétal, fongique ou bactérien capable de se nourrir de matière organique non vivante.

Septum : Un terme d'anatomie qui désigne une membrane qui sépare deux cavités d'un même organe.

Septa : Pluriel de "septum".

Spondylodiscite : l'infection d'un disque intervertébral et des corps vertébraux adjacents

Ubiquitaires : Se dit de substances, en particulier d'antigènes, présents dans différents milieux organiques.

Urétrite : Inflammation de l'urètre.

Vaginites : Inflammation de la muqueuse du vagin.

Xérostomie : Est une sècheresse buccale du fait d'un manque ou de l'absence de salive.

Introduction générale

Introduction :

Les levures du genre *Candida*, agents des candidoses humaines, sont des microorganismes eucaryotes responsables d'un nombre non négligeable d'infections d'origine fongiques. Ces levures peuvent être à l'origine de mycoses superficielles ou invasives (**Chambard, 2009**).

Le genre *Candida* comprend plus de deux cents espèces (**Chabasse, 1999**), mais seule une dizaine d'entre elles sont impliquées dans un processus pathologique. C'est le genre le plus fréquemment en cause en pathologie humaine puisqu'il est responsable de plus de 80 % des mycoses à levures rencontrées chez l'homme (**Chabasse, 1999**). La principale espèce pathogène est *Candida albicans* bien que d'autres espèces comme *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* et *Candida krusei* soient de plus en plus fréquemment isolées des prélèvements biologiques (**Chabasse, et al. 2006**).

Les candidoses, sont les infections opportunistes les plus fréquentes, et leur fréquence a doublé entre les années 80 et 90. En effet, elles représentent désormais plus de 80% des infections à levures. Parmi les candidoses, l'infection par *Candida albicans*, commensal du tractus digestif humain, est la plus commune et représente plus de 60% des levures isolées chez l'homme. Ainsi, *Candida albicans* est responsable d'infections qui, par leur fréquence et leur gravité, se situent au premier rang des infections fongiques (**Lagane, 2007**).

L'arsenal thérapeutique comprend des polyènes, une pyrimidine (5-fluorocytosine), des dérivés azolés et des échinocandines (**Dannaoui, 2007**). Cependant, certaines espèces développent des mécanismes de résistance au traitement antifongique. La diversité des espèces de *Candida* impliquées, la multiplication des conditions cliniques et notamment des facteurs d'immunodépression, stimulent la recherche et le développement de nouvelles molécules antifongiques (**Caraës, 2016**).

Le diagnostic biologique repose sur l'examen direct, la culture et l'étude des réactions immunologiques de l'hôte. Celui-ci repose avant tout sur la mise en évidence de levures en prenant en compte l'état commensal de celles-ci et en confrontant ces résultats aux données cliniques (**Caraës, 2016**).

Dans ce contexte, il nous a semblé intéressant de réaliser une étude pratique en milieu hospitalier afin de redéfinir les méthodes de diagnostic des mycoses à *Candida* rencontrées à l'EPH de Ain El Hammam. Notre mémoire est structuré en cinq chapitres. Le premier consiste en une revue bibliographique qui est un rappel sur le *Candida* et la candidose, agent pathogène et infection causé par cette levure. Le deuxième consiste à définir les méthodes du diagnostic. Le troisième chapitre est dédié aux matériels et méthodes utilisés et les manipulations réalisées dans la recherche des candidoses. Les résultats obtenus sont présentés sous formes de tableaux et graphiques dans un quatrième chapitre. Le cinquième et dernier chapitre est consacré à la discussion de ces résultats. En fin le travail se termine par une conclusion générale.

Chapitre I

Revue bibliographique sur *Candida* et Candidose

1. Agent pathogène :

1.1. Classification :

Le genre *Candida* regroupe des levures dont la plupart des caractères phénotypiques sont retrouvés chez les *Ascomycota*, dans le règne des *Fungi* (Bouchara et al., 2010).

1.1.1. Classification sexuée :

Règne : *Fungi* (champignons).

Division : *Ascomycètes*.

Classe : *Saccharomycètes*.

Ordre : *Saccharomycétales*.

Famille : *Saccharomycetaceae*.

Genre : *Candida* (Bouchara et al., 2010).

1.1.2. Classification asexuée :

Règne : *Fungi* (champignons).

Division : *Deutéromycètes*.

Classe : *Blastomycètes*.

Ordre : *Cryptococcales*.

Famille : *Cryptococcaceae*.

Genre : *Candida* (Bouchara et al., 2010).

1.2. Morphologie :

La culture en boîte de Pétri des *Candida* donne des colonies qui sont grandes, rondes, de couleur blanche et crémeuses (**Lermann et al., 2008**).

Les levures du genre *Candida* se présentent comme de petites levures rondes ou ovalaires de 2 à 4 μm , de forme fongique unicellulaire, non capsulé, à bourgeonnement multilatéral. Beaucoup d'espèces produisent des pseudomycéliums, et parfois de vrais filaments mycéliens (Figs. 1 & 2) (**Lermann et al., 2008**).

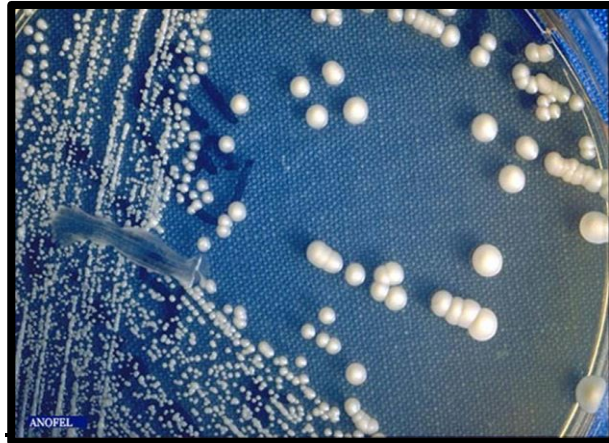


Figure 1 : Aspect macroscopique des levures en culture (Talbert, 2008).



Figure 2 : Aspect microscopique des levures (forme blastospores) (Talbert, 2008).

Ces levures ont été regroupées dans le même ensemble, car elles présentent plusieurs caractéristiques communes. Leur membrane cellulaire est essentiellement constituée d'un stérol spécifique : l'ergostérol. La paroi cellulaire des *Candida* est composée de protéines et de polysaccharides dont les principaux sont les β -glucanes, qui, avec l'ergostérol, ont pour fonction d'assurer l'intégrité de la membrane et de la paroi cellulaire (**Tadec, 2011**).

1.3. Reproduction :

Les levures du genre *Candida* sont des champignons microscopiques appelés micromycètes. Ils se caractérisent par un appareil végétatif unicellulaire ou thalle composé de blastospores ou blastoconidies (**Chabasse et al., 2006**).

D'une manière générale, les levures se multiplient à des températures comprises entre 20°C et 40°C et meurent à des températures supérieures à 50°C. Cependant, leur viabilité est conservée même à des températures proches de 0°C. Elles se développent à un pH compris entre 3 et 8 (**Chabasse et al., 2006**).

Les *Candida* se reproduisent dans leur grande majorité selon un processus asexué (forme anamorphe). Cependant, une forme de reproduction sexuée a également été décrite, bien qu'elle soit encore mal connue (**Chabasse et al., 2006**).

1.3.1. Reproduction asexuée :

1.3.1.1. La blastospore :

Les levures se multiplient par bourgeonnement cellulaire, la cellule mère forme un bourgeon à proximité de la cicatrice du bourgeon formé au cours du cycle cellulaire précédent, ou au pôle opposé (modèle bipolaire). Une cellule fille, ou blastospore, se sépare par la formation d'une cloison ou septum (Fig. 3) (**Sudbery et al., 2004**).



Figure 3 : Levures en bourgeonnement, modèle bipolaire (Chambard, 2009).

1.3.1.2. Le pseudomycélium :

Certaines espèces du genre *Candida* peuvent également se multiplier selon un mode blastique acropète. Ce mode de reproduction aboutit à la formation d'un filament plus ou moins long, le pseudomycélium. En effet, le bourgeon situé à l'un des pôles de la cellule mère

va se développer de façon tubulaire et cylindrique, aboutissant à une cellule fine et allongée. La cellule fille reste attachée à la cellule mère malgré la formation de cloison et bourgeonne à son tour suivant le même principe. On obtient une structure plus ou moins longue, présentant des cloisons intercellulaires (Fig. 4) (Chambard, 2009).



Figure 4 : *Candida* sous forme de pseudomycélium (Chambard, 2009)

1.3.1.3. Le mycélium vrai :

Certaines espèces dont *Candida albicans* ont la possibilité de former un mycélium vrai. Au début de la germination, le bourgeon s'allonge pour donner en quelques heures, un tube germinatif, de diamètre régulier (2 μ m), mesurant 2 à 3 fois la taille de la cellule mère. Le tube se forme en n'importe quel point de la blastospore ou selon le modèle bipolaire (Fig. 5).

Une grande vacuole se forme dans le cytoplasme jusque là commun au tube et à la blastospore. Le noyau de celle-ci migre dans le tube pour se diviser, un noyau fils retournera dans la cellule mère. Au cours du développement, le tube se cloisonne et se ramifie pour donner une suite d'articles cylindriques uninuclés séparés par des septa (Chambard, 2009).



Figure 5 : *Candida* sous forme de mycélium (Chambard, 2009).

1.3.1.4. La forme de résistance ou la chlamydo-spore :

Cette forme est caractéristique de *Candida albicans* et *Candida dubliniensis*. Les chlamydo-spores sont des spores asexuées, protégées par une paroi très épaisse, mesurant jusqu'à 15 micromètres. Elles se forment à partir d'articles du filament mycélien ou à son extrémité, donnant une structure proche d'un pseudo-filament. Leur formation est liée aux conditions difficiles de croissance où elles assurent la survie de la levure. En laboratoire, un milieu pauvre en éléments nutritifs permet de les observer (milieu RAT : Riz Agar Tween) (Fig. 6) (Chabasse et al., 2006).

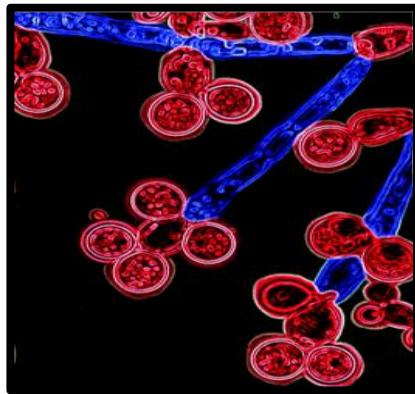


Figure 6 : Chlamydo-spores de *Candida dubliniensis* isolées sur un milieu RAT, colorées artificiellement (Chambard, 2009).

1.4. Habitat :

Les *Candida* sont des levures ubiquitaires, présentes dans l'environnement, à toutes les latitudes et sur de nombreuses matières organiques végétales ou animales. Toutefois, ces *Candida* sont également présents dans la flore commensale humaine, et notamment dans la flore du tube digestif, où ils sont en équilibre avec la flore bactérienne. Ils font aussi partie des flores buccales, génito-urinaires et certaines espèces sont présentes au niveau du revêtement cutané.

Même si toutes les espèces de *Candida* peuvent se retrouver de façon ponctuelle dans la flore commensale, chacune d'entre elles atteint plus spécifiquement un type d'organe ou un profil de patient particulier en fonction de son habitat préférentiel. Ce dernier point explique que même si *C. albicans* est de loin l'espèce la plus fréquemment isolée en pathologie humaine, d'autres espèces peuvent être également retrouvées dans les prélèvements médicaux (Tadec, 2011).

1.5. Les espèces du genre *Candida* :

Le genre *Candida* comprend plus de deux cents espèces, mais un nombre restreint, (environ une vingtaine), peut être responsable de manifestations pathologiques (**Chabasse et al., 1999**).

Candida albicans est l'espèce la plus pathogène et la plus fréquente. En effet, entre 50% et 75% des candidoses sont dues à *Candida albicans*, mais dans les dix dernières années, il est apparu une émergence de souches de *Candida* non *albicans*, augmentée de façon importante pour atteindre les 70% des souches isolées (**Ghadi, 2010**).

1.5.1. *Candida albicans* :

Levure commensale, habituellement présente sur les muqueuses orales, gastro-intestinale, vaginale et parfois sur la peau de l'Homme, elle représente plus de 60% de toutes les levures isolées au microscope, elle prend une forme ovale ou ronde, sa culture donne des colonies qui sont grandes, rondes de couleur blanche, crémeuses et lisse (**Ghadi, 2010**).

C'est le principal agent des candidoses cutané-muqueuses, mais aussi des candidoses systémiques et des candidoses disséminées (**Bouchara et al., 2010**).

Sur milieu RAT *Candida albicans* produit des filaments mycéliens sur lesquels se forment des blastospores disposées en bouquets et des chlamydozoïdes ronds, à paroi épaisse et réfringente (Fig. 7) (**Bouchara et al., 2010**).

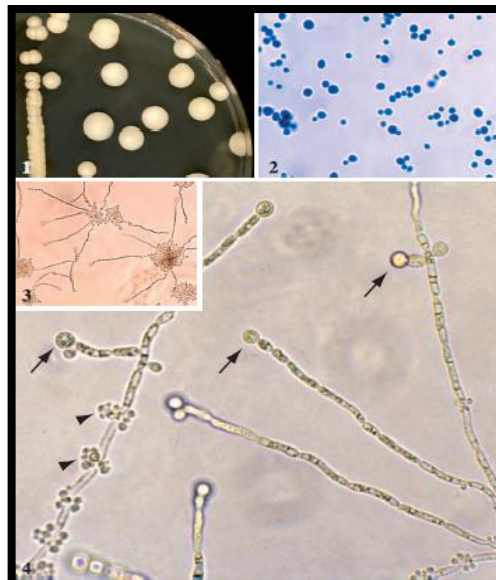


Figure 7 : *Candida albicans* : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) (Bouchara et al., 2010).

1.5.2. *Candida glabrata* :

Représente actuellement la deuxième ou la troisième en importance après *Candida albicans*, rarement isolées dans la nature, elle est retrouvée fréquemment au niveau des muqueuses génitales. Il s'agit d'une levure saprophyte commensale des voies génitales urinaires. Retrouvée particulièrement chez les femmes, elle est responsable de véritables vaginites. Elle possède pratiquement les mêmes caractères macroscopiques que *Candida albicans*. Les colonies sont petites, pâteuses, blanches, crémeuses, plates et brillantes, au microscope, les levures sont séparées, ovoïdes de très petite taille, qui ne filamentent pas (Fig. 8) (Ghadi, 2010).

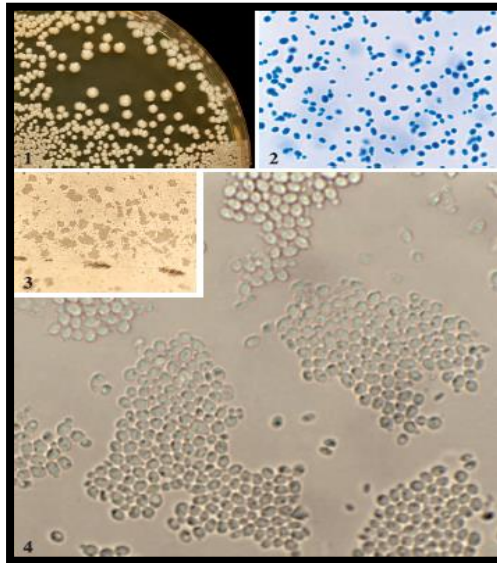


Figure 8 : *Candida glabrata* : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) (Bouchara et al. 2010).

1.5.3. *Candida tropicalis* :

Fréquemment isolée dans la nature, cette levure est retrouvée également dans le tube digestif et les voies urinaires. Elle représente 10% des isolats, elle a une forme variable, ronde et allongée. Sur milieu de Sabouraud les colonies sont blanches, crémeuses, lisses ou plissés, produisent des blastopores pouvant apparaître séparément ou dans des faisceaux, et souvent associées à du pseudomycélium avec parfois la présence de vrais mycélium (Fig. 9)

(Bouchara et al., 2010).

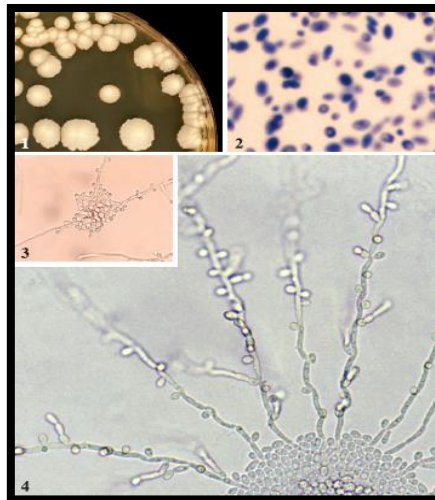


Figure 9 : *Candida tropicalis* : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) (Bouchara et al., 2010).

1.5.4. *Candida parapsilosis* :

C'est une levure polymorphe ronde ou ovale et parfois cylindrique. Sur le milieu Sabouraud les colonies sont blanches, crémeuses, brillantes et lisses produisent des blastospores situées le long des pseudofilaments.

Un saprophyte de la peau, responsable de mycoses cutanées et d'onyxis. Il représente 5% des isolats. Il est moins invasif et souvent associé aux infections de cathéter et qui contamine très facilement et peut se fixer dans les matières en plastiques et à partir de là contaminer le sang (Fig. 10) (Ghadi, 2010).

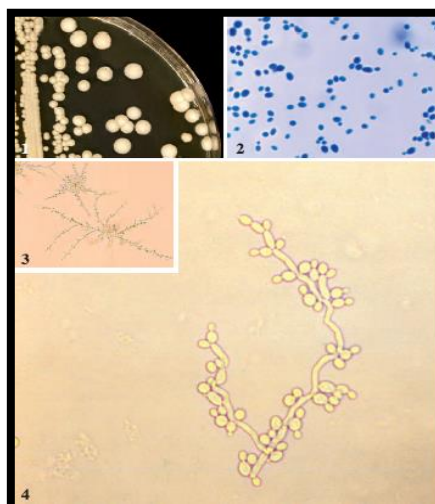


Figure 10 : *Candida parapsilosis* : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) (Bouchara et al., 2010).

1.5.5. *Candida guilliermondii* :

Candida guilliermondii est très répandu dans la nature, a été isolé de l'air, de l'eau de mer, de produits alimentaires. Il est aussi présent chez l'Homme où sa localisation est surtout digestive. Il peut provoquer des mycoses cutanées à type d'intertrigo interdigito-plantaire et des onyxis (pieds surtout). Il est aussi à l'origine de septicémies chez les immunodéprimés et d'endocardites chez les toxicomanes par voie intra veineuse.

Lors de la culture, on l'observe sous forme de colonies blanches, planes, lisses, brillantes, blanches à crème et au microscope on voit des levures ovoïdes, de petite taille (Fig. 11) (Caraës, 2016).

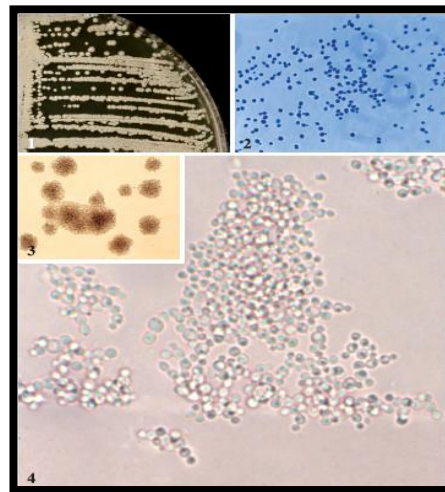


Figure 11 : *Candida guilliermondii* : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) (Bouchara et al., 2010).

1.5.6. *Candida kefyr* :

Candida kefyr qui est issu de produits laitiers fermentés (fromages) est un commensal des muqueuses digestives et respiratoires. Cette levure peut être à l'origine de septicémies (Fig. 12) (Chabasse et al., 1999).

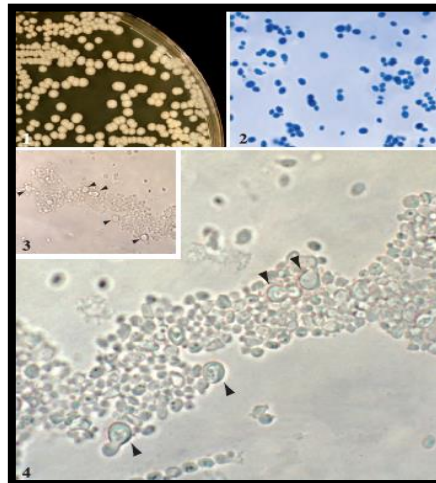


Figure 12 : *Candida kefyr* : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) (Bouchara et al., 2010).

1.5.7. *Candida krusei* :

C'est une levure d'origine alimentaire, elle peut être isolée dans divers aliments (produits laitiers, bière, jus de raisins), pathogène du tube digestif, responsable de septicémie à candida et beaucoup de cas d'infections mortelles spécialement chez les immunodéprimés, l'incidence croissante de cette levure est due à sa résistance aux antifongiques (fluconazole). Les colonies de *Candida krusei* sont blanches, planes, très sèches souvent associé à des pseudofilaments épais avec des rares blastospores (Fig. 13) (Ghadi, 2010).

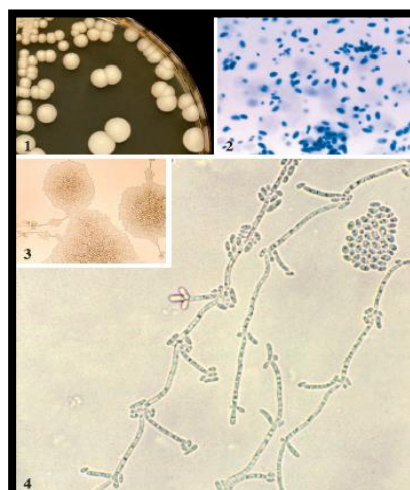


Figure 13 : *Candida krusei* : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) (Bouchara et al., 2010).

1.5.8. *Candida dubliniensis* :

Candida dubliniensis est apparu en pathologie humaine avec l'émergence du sida. Il est fréquent chez les patients positifs pour le VIH, et détermine principalement des candidoses oro-pharyngées. La morphologie microscopique est très proche de celle de *C. albicans* (Fig. 14) (Bouchara et al., 2010).

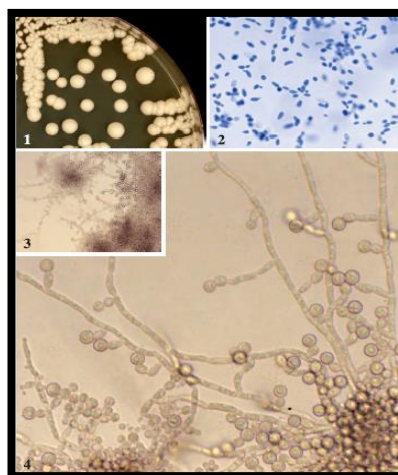


Figure 14 : *Candida dubliniensis* : aspect macroscopique (1) et microscopique (2) des cultures sur gélose de Sabouraud. Morphologie sur milieu RAT à l'objectif 10 (3) ou 40 (4) (Bouchara et al., 2010).

Tableau I : Les espèces du genre *Candida* et leurs manifestations cliniques (Ghadi, 2010).

Espèce	Fréquence	Etat saprophyte	Manifestations cliniques
<i>Candida albicans</i>	+++	Tube digestif	Candidoses cutanéomuqueuses, digestives ou systémiques
<i>Candida glabrata</i>	++	Tube digestif, voies génito-urinaires	Vaginites, candidoses urinaires
<i>Candida parapsilosis</i>	++	Peau	Candidémies, infections sur cathéter
<i>Candida tropicalis</i>	++	Sol, végétaux, eau	Vaginites, candidoses systémiques
<i>Candida krusei</i>	+	Produits laitiers, bière	Vaginites, candidémies
<i>Candida dubliniensis</i>	+	Cavité buccale	Candidoses orales chez les sidéens, candidémies.
<i>Candida guilliermondii</i>	+	Produits alimentaires	Candidoses orales chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine, candidémies.
<i>Candida kyfer</i>	+	Produits laitiers fermentés	Septicémies et candidoses profondes.

2. Candidose :

Les candidoses sont des infections cosmopolites, en majorité opportunistes, provoquées par des levures du genre *Candida*. Leur spectre clinique varie, il va des atteintes superficielles (en particulier les muqueuses respiratoires, digestives et génitales) aux localisations profondes ou disséminées. Le rôle du terrain et de nombreux facteurs favorisants sont fondamentaux pour la survenue et le développement de cette mycose (**Chabasse et al., 2003**).

2.1 Facteurs favorisants les candidoses :

2.1.1. Facteurs intrinsèques liés à l'hôte :

2.1.1.1. Facteurs locaux :

La macération, l'humidité, l'occlusion, la modification de la trophicité des muqueuses, irritation, prothèse dentaire favorisent l'installation et le développement des candidoses superficielles (**Lagane, 2007**).

2.1.1.2. Facteurs physiologiques :

L'âge : Les candidoses orales par exemple sont plus fréquentes aux âges extrêmes. Les nouveaux nés sont exposés aux candidoses du fait de la combinaison de l'immaturation de leur système immunitaire associé au développement encore incomplet de leur mécanisme.

Les hormones : La grossesse correspond à une période physiologique durant laquelle le développement des levures est favorisé en raison d'une modification du Ph vaginal. Chez les femmes enceintes en particulier au 3^{ème} trimestre de la grossesse la fréquence des candidoses est 3 à 4 fois plus élevée (**Lagane, 2007**).

2.1.1.3. Facteurs pathologiques :

Toutes maladies affaiblissant les défenses immunitaires de l'hôte sont susceptibles d'induire le déclenchement d'une candidose tel que :

Cancers, Sida, Diabète, endocrinopathie, pneumopathie, neutropénie, altération de l'immunité cellulaire (**Talbert, 2008**).

2.1.2. Facteurs extrinsèques :

2.1.2.1. Les traitements médicamenteux :

La prise d'antibiotique 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 favorisent la prolifération et par voie de conséquence la pathogénicité des saprophytes du genre *Candida* (Lagane, 2007).

Corticoïdes, immunosuppresseurs, hormones contraceptifs, radiothérapie chirurgie digestive, cardiaque et transplantation d'organes (Taieb et al., 2010).

2.1.2.2. Traitements chirurgicaux et accès vasculaire :

2.1.2.2.1. 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. Les prothèses valvulaires ou encore orthopédiques constituent des foyers à risque (Lagane, 2007).

2.1.2.2.2. Le traitement chirurgical :

Parmi les chirurgies à risque, citons la chirurgie digestive, ainsi que celles qui sont accompagnées d'immunosuppression transitoire (Lagane, 2007).

2.1.2.3. Les facteurs alimentaires :

La consommation de glucides en grande quantité semble propice à l'augmentation du saprophytisme intestinal. Certaines carences nutritionnelles telles que le déficit en fer sont associées à des infections candidosiques (Lagane, 2007).

2.2. Physiopathologie :

Les *Candida* vivent à l'état saprophyte dans des cavités naturelles où se trouvent des éléments de défense permettant un équilibre pour empêcher la colonisation des levures. Ainsi chez l'hôte, les *Candida* ne sont pas qualitativement et/ou quantitativement assez importants pour provoquer une candidose. Il s'établit alors une stratégie entre l'Homme et la levure pour empêcher les attaques de celle-ci et la défense de l'hôte. Cependant, suite à la rupture de cet équilibre en faveur de ces levures, celles-ci vont devenir des pathogènes opportunistes, donnant une candidose superficielle ou profonde (Caraës, 2016).

2.2.1. Candidoses superficielles :

L'adhérence aux cellules épithéliales, la multiplication des levures et leurs filamentation possible sont à l'origine de lésions cutané-muqueuses (Anophel, 2014).

2.2.2. Candidoses profondes :

La contamination par *Candida* révèle deux principales sources, soit endogène ou exogène. Lorsqu'il s'agit d'une contamination d'origine endogène, cette dernière est la voie la plus majoritaire lors de candidoses systémiques qui se développent à partir de souches endogènes (principalement *Candida albicans* et *Candida glabrata* qui sont des endosaprophytes naturels de l'ensemble du tube digestif) dont le patient est porteur à l'admission (Ghadi, 2010).

La transmission exogène de *Candida* peut se faire par manuportage et intéresse de façon préférentielle les souches de *Candida* non *albicans*. Dans ce cas, ces infections fongiques prennent leur source sur un dispositif médical tel qu'un cathéter (en particulier *Candida parapsilosis*), une sonde urinaire, une prothèse de hanche, une fistule (Ghadi, 2010).

Les étapes conduisant à l'infection selon Ghadi, (2010) passent dans l'immense majorité des cas par une phase de colonisation. Celle-ci est la conséquence de modifications écologiques qui promeuvent la multiplication des *Candida spp* qui s'accompagne également de la formation de biofilms sur le matériel étranger ou sur les muqueuses, rendant la levure moins accessible aux antifongiques (Fig. 15).

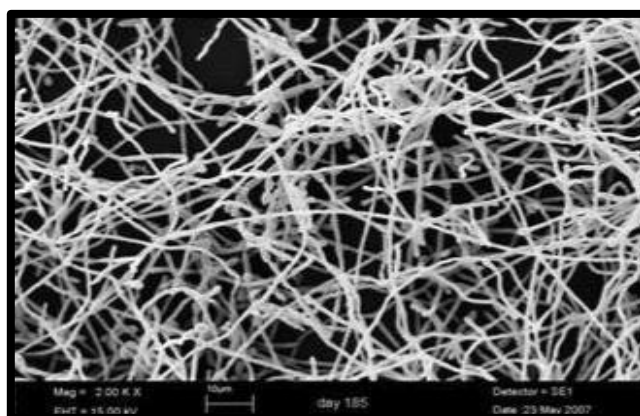


Figure 15 : Formation d'un biofilm par *Candida albicans* (Lermann et al., 2008).

Lorsque l'intégrité du tube digestif est rompue, une infection localement invasive se développe et une dissémination hématogène secondaire peut alors s'ensuivre à l'occasion

d'une baisse même transitoire de l'immunité (Fig. 15) (Ghadi, 2010).

Plusieurs études dans lesquelles l'origine des souches était déterminée par analyse du DNA fongique confirment qu'une grande partie des candidoses systémiques se développe à partir de souches endogènes dont le patient est porteur à l'admission. (Fig. 16) (Ghadi, 2010).

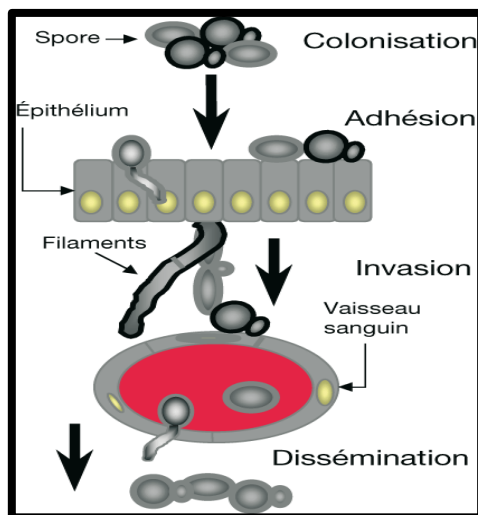


Figure 16 : Pathogénie des infections à *Candida* (Ghadi, 2010).

2.2.3. Facteurs de virulence des *Candida* :

Plusieurs propriétés biologiques de *Candida* contribuent à sa capacité à envahir les tissus de ses hôtes. On retrouve des processus d'adhésion capables de s'adapter aux différents constituants rencontrés petit à petit lors de la dissémination. A cela s'ajoute des mécanismes de pénétration liés à une transition morphologique vers la forme filamenteuse adaptée à la perforation et à la sécrétion des enzymes lytiques. Enfin, les levures du genre *Candida* sont capables de résister aux systèmes effecteurs innés ou acquis de l'immunité à médiation cellulaire, humorale ou mixte, grâce à des mécanismes de résistance ou d'échappement (Caraës, 2016).

2.3. Aspects cliniques :

2.3.1. Candidoses superficielles :

Les candidoses superficielles sont les manifestations les plus communes et sont très variées. Elles peuvent atteindre les surfaces épidermiques et les muqueuses telles que la cavité buccale, le pharynx, l'œsophage, les intestins, le système urinaire, et la muqueuse vaginale (Lagane, 2007).

2.3.1.1. Candidoses des muqueuses :

II.3.1.1.1. Candidoses digestives :

Ce sont les candidoses les plus fréquentes. Tous les âges et les états de santé sont concernés, mais l'incidence est plus élevée chez les sujets immunodéprimés (infection VIH, cancer, tumeurs et lymphomes) (**Rachis, 2015**). Les candidoses digestives (oropharyngées, œsophagiennes, gastriques et intestinales) sont pratiquement toujours d'origine endogène. Les levures du genre *Candida* en particulier l'espèce *C. albicans* en sont les principaux agents.

2.3.1.1.1.1. Candidose buccale :

2.3.1.1.1.1.1. Le muguet :

La caractéristique principale du muguet buccal est la présence de granulations blanchâtres, pseudomembraneuses, à aspect de lait caillé, qui tapissent la langue, la face interne des joues et éventuellement toute la muqueuse buccale. Il peut s'étendre sur le voile du palais, la luette et le pharynx. Le plus souvent, ce dépôt blanchâtre noircit avec le temps. On découvre sous de fausses membranes recouvrant l'ensemble de la cavité buccale, une muqueuse érythémateuse parfois sanguinolente associée à des douleurs à la déglutition (**Chambard, 2009**).

Les signes fonctionnels sont une sécheresse, une sensation de goût métallique et de cuisson de la bouche. L'importance des signes fonctionnels chez le sidéen peut conduire à une réduction des apports liquides et solides majorant la dénutrition (**Dermatol , 2003**).

Observé à tous les âges de la vie, on le retrouve préférentiellement chez les nourrissons et les personnes âgées. Le développement des candidoses oropharyngées (Muguet) est facilité par le port d'appareils dentaires ou de prothèses, et chez les individus présentant une baisse des défenses immunitaires (VIH+) (Fig. 17) (**Chambard, 2009**).



Figure 17 : Muguet buccal.

2.3.1.1.1.2. La perlèche :

Cette lésion est caractérisée par une fissuration au niveau des commissures labiales. Elle est bilatérale et forme une croûte blanche qui rend difficile l'ouverture de la bouche. Elle peut être associée à un muguet buccal. Ce type de lésions est fréquent chez les sujets anémiés, ayant une perte ou un déficit vitaminiq ue et chez les personnes âgées. Elle fait souvent suite à une xérostomie, fréquente chez les personnes âgées. Le manque de salive permet la prolifération des levures et des bactéries qui colonisent toute la cavité buccale (Fig. 18) (Chambard, 2009).



Figure 18 : Perlèche. <http://bestwaysforgoodhealth99.blogspot.com/2012/01/perleche-causes-and-treatments-for.html>

2.3.1.1.1.3. La candidose pseudotumorale :

Ce type de candidose a une localisation au niveau postérieur de la muqueuse buccale, les amygdales, le voile du palais et la langue. Elle se traduit par des plaques blanchâtres et rugueuses, plus ou moins sèches. Ces candidoses sont fréquentes chez les gros fumeurs surtout si la localisation s'étend jusque dans la commissure labiale (Chambard, 2009).

2.3.1.1.1.4. Glossite :

La glossite candidosique est classiquement dénommée glossite losangique (ou rhomboïdale) médiane. Elle se traduit par une plaque unique, en partie ou totalement dépapillée grossièrement losangique ou ovale. Sa surface blanc-grisâtre ou rouge tranchant avec le reste du dos de la langue, est soit déprimé, atrophique soit mamelonné (Fig. 19) (Dermatol, 2003).

Cette lésion s'accompagne parfois de brûlures ou de picotement lors de l'alimentation mais elle reste souvent totalement asymptomatique et ignorée du patient (Dermatol, 2003)



Figure 19 : Glossite

2.3.1.1.1.5. La candidose hyperplasique :

On observe des plaques irrégulières blanchâtres de la langue ou de la muqueuse jugale. Les plaques sont adhérentes, difficilement détachables. Cette forme s'observe plus volontiers chez les fumeurs. Il existerait un risque de transformation maligne de ce type de lésion (Dermatol, 2003).

2.3.1.1.1.2. Candidose œsophagienne :

Seul l'examen endoscopique peut mettre en évidence une candidose œsophagienne. En effet, il révèle des plaques blanchâtres reposant sur une muqueuse très inflammatoire. L'examen endoscopique est envisagé lorsque le patient se plaint de dysphagie douloureuse, et des brûlures rétrosternales associées ou non à un muguet buccal. On la retrouve rarement chez le patient non immunodéprimé, mais elle peut être observée chez le diabétique ou après une antibiothérapie à large spectre. Elle est cependant fréquente chez les sidéens (Fig. 20) (Chambard, 2009).



Figure 20 : Candidose œsophagienne. [:https://pictures.doccheck.com/fr/photo/5902-candidose-oesophagienne](https://pictures.doccheck.com/fr/photo/5902-candidose-oesophagienne)

2.3.1.1.1.2.1. La candidose gastro-intestinale :

Elle se traduit par un syndrome intestinal associant diarrhées (selles abondantes,

liquides et inodores), flatulences, crampes abdominales. Elle est envisagée chez l'adulte comme chez l'enfant à la suite d'une antibiothérapie même de courte durée (Fig. 21) (Chambard, 2009).

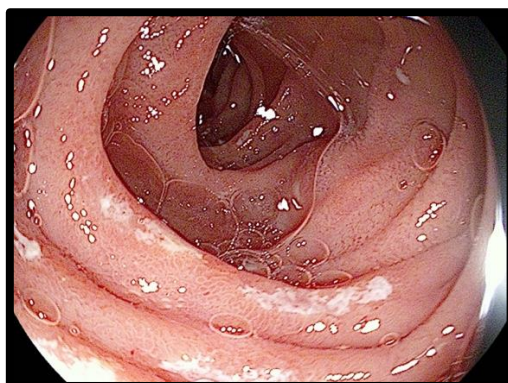


Figure 21 : candidose gastro-intestinale (Chambard, 2009).

2.3.1.1.1.2.2. La candidose ano-rectal :

Se traduit par un prurit intense avec sensation de brûlures, un érythème suintant ; l'extension peut se faire aux plis. Chez les très jeunes enfants, l'atteinte à point de départ périanal s'installe volontiers sur une dermatite préexistante (dermatite fessière du nourrisson). L'extension se fait aux fesses et aux aires génitales (Bouchara et al., 2010).

2.3.1.1.2. Les candidoses génito-urinaires :

Les mycoses génito-urinaires sont des infections principalement féminines, surtout de la femme jeune en période d'activité génitale. Les seules levures responsables sont du genre *Candida*, et *Candida albicans* est de loin l'espèce la plus impliquée puisqu'elle représente 80 à 90 % des espèces responsables (Chabasse et al., 2006).

2.3.1.1.2.1. La vulvo-vaginite à *Candida* :

La vulvo-vaginite à *Candida* est de loin la plus fréquente manifestation de candidose génitale. Les levures du genre *Candida* sont commensales de la flore vaginale, et colonisent 25 % des femmes. Les conditions d'un déséquilibre de la flore vaginale sont nombreuses (facteurs endogènes : grossesse, iatrogénie, hygiène...) et sont presque toujours à l'origine du passage de la levure à l'état pathogène (Fig. 22).

Les symptômes sont peu spécifiques : ce sont des leucorrhées abondantes, blanches, épaisses et grumeleuses à aspect de lait caillé. Ils peuvent être minimes voir absents. Ils s'accompagnent souvent de prurit, de sécheresse vaginale, d'irritations et de brûlures

vulvaires, de dysurie et de dyspareunie. Ils sont préférentiellement observés en période pré-menstruelle et diminuent après les règles. La vulvo-vaginite peut s'étendre à la partie péri-anale et provoquer un intertrigo péri-anal ou anal (Chambard, 2009).

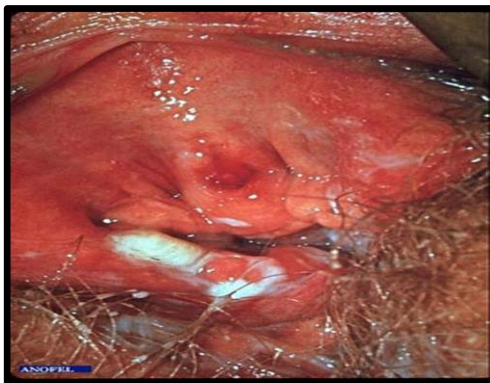


Figure 22 : Candidose vulvo-vaginale.

http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/candidoses/site/html/3_2.html

2.3.1.1.2.2. La balanite et la balano-posthite à *Candida* :

L'atteinte génitale chez l'homme est beaucoup plus rare. Les symptômes sont un érythème prurigineux du gland avec de discrètes érosions superficielles blanches à jaunes (Fig. 23). L'infection commence au sillon balano-préputial puis s'étend jusqu'au gland et au prépuce. Elle est souvent associée à une urétrite (Midgley, 1998). La balanite doit faire l'objet d'une recherche d'une vaginite chez la partenaire.



Figure 23 : Balano-posthite à *Candida* (Chambard, 2009).

2.3.1.1.2.3. La candidose urinaire ou urétrite à *Candida* :

Les candidoses urinaires sont fréquentes en milieu hospitalier (>8 %) et peuvent être le reflet d'autres pathologies : cystites, infections rénales, dissémination hématogène de levures. Cliniquement, on retrouve les mêmes signes que pour une cystite bactérienne : dysurie, brûlures mictionnelles, pollakiurie.

La présence d'une masse ronde ou boule fongique peut se rencontrer au niveau du bassinot, de l'uretère et de la vessie. Ce sont des lésions rares associées à des symptômes de pyélonéphrite (fièvre, frissons et douleurs lombaires) avec la présence de levures dans les urines. Les patients porteurs d'une sonde à demeure, les femmes atteintes d'une candidose vaginale ou encore une stase urinaire ou une lithiase vésicale sont des facteurs favorisant la colonisation par les levures (**Chambard, 2009**).

2.3.1.2. Candidoses cutanées :

Les candidoses cutanées sont très communes. Elles sont favorisées par l'humidité, l'obésité, la macération et le manque d'hygiène, ce qui explique l'atteinte préférentielle des grands et des petits plis et leur fréquence chez l'obèse. Elles peuvent résulter de l'extension d'une candidose digestive ou génitale où l'on retrouve des facteurs favorisants comme le très jeune âge, le diabète, la prise d'antibiotiques ou de corticoïdes (**Develoux et al., 2005**).

2.3.1.2.1. L'intertrigos candidosiques :

On distingue deux types d'intertrigos :

2.3.1.2.1.1. L'intertrigo des grands plis :

Peut siéger aux plis génito-crural, péri-anal, inter-fessier et sous mammaire, débute au fond du pli, l'atteinte est en général fissuraire, bilatérale et symétrique, et les intertrigos sont volontiers associés entre eux (Fig. 24) (**Taieb et al., 2010**).



Figure 24 : Intertrigo des grands plis (Pli sous-mammaire) (Chambard, 2009).



Figure 25 : Intertrigo des grands plis. (Pli axillaire).
<file:///C:/Users/microbox/Downloads/pdfNatif.pdf>

2.3.1.2.1.2. L'intertrigo des petits plis :

Peut siéger aux plis interdigitaux des mains ou des pieds, atteints de préférence les individus en contact avec l'eau (plongeurs dans la restauration) ou atteints d'hyperhidrose (transpiration excessive), ou des individus qui ont des facteurs professionnels favorisant l'occlusion (port de chaussures de sécurité, de bottes...); le prurit est fréquent et la surinfection à d'autres germes est possible (risque de lymphangite) (Fig. 26) (Taieb et al., 2010).

L'aspect d'un intertrigo à *Candida* est cliniquement évocateur ; il s'agit d'un érythème suintant, lisse, prurigineux, parfois douloureux, débutant au fond du pli puis s'étendant. Les bords sont irréguliers avec des papules ou pustules satellites. Le fond du pli est parfois recouvert d'un enduit blanchâtre (Taieb et al., 2010).



Figure 26 : Intertrigo interdigital à *Candida* (Taieb et al., 2010)

2.3.1.2.2. Candidoses cutanées du nouveau-né :

Chez le nouveau-né ont été décrits deux aspects particuliers de candidose cutanée. Le premier concerne les candidoses congénitales. Elles correspondent à une infection par voie

ascendante du fœtus qui se révèle à la naissance. Les signes cutanés apparaissent dès les premières heures de la vie. Il s'agit d'un rash maculopapuleux étendu qui va évoluer vers des lésions pustuleuses ou vésiculeuses et finalement une desquamation diffuse (Develoux et al., 2005).

Chez les prématurés ayant un poids de naissance très bas, inférieure à 1000 grammes, à été décrite une autre entité, la dermatite fongique invasive. Elle est caractérisée par des lésions cutanées érosives, croûteuses, qui s'installent plusieurs jours après la naissance ; *Candida spp* est le plus souvent en cause. Dans les deux cas existe un risque de dissémination (Fig. 27) (Develoux et al., 2005).



Figure 27 : Candidoses cutanées du nouveau-né <http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/T98-5-2756-5p.pdf>

2.3.1.3. Candidoses des phanères :

2.3.1.3.1. Onychomycose à *Candida* : le périonyxis et l'onyxis :

C'est une lésion essentiellement due à *Candida albicans*, surtout autour des ongles des mains (70 %) (Fig. 28) (Guibal et al., 2008).

Le péri-onyxis est une tuméfaction inflammatoire, sensible, d'évolution subaiguë ou chronique, des replis sus- et péri-unguéaux.



Figure 28 : Onychomycose à *Candida* (Périonyxis) (Chambard, 2009).

L'onyxis fait souvent suite au péri-onyxis ; il débute à la partie proximale de l'ongle (plus rarement sur les bords latéraux), caractérisé par un détachement de la cuticule, une tablette irrégulière, convexe, rugueuse avec sillons transversaux, qui devient opaque, molle et friable sous laquelle il se forme un enduit blanc-jaunâtre un peu crémeux (Fig. 29) (Midgley, 1998).



Figure 29 : Onychomycose à *Candida* (Onyxis).

<http://www.atlasdedermatologieprofessionnelle.com/index.php/Ongle>

2.3.1.4. Candidose cutanéomuqueuses chroniques :

La candidose cutanéomuqueuse regroupe un certains nombres de situations où existe une infection à *Candida albicans* persistante ou récidivante de la peau, des ongles et des muqueuses (Develoux et al., 2005).

Les lésions unguéales et cutanées peuvent prendre un aspect crouteux, hyperkératosique. Plusieurs désordres ont été incriminés : déficit en fer, infection à VIH, inhalation de corticoïdes... etc (Develoux et al., 2005).

Il existe des formes familiales associées à des anomalies endocriniennes : hyperparathyroïdie, insuffisance surrénale, thyroïdite auto-immune, diabète, insuffisance gonadique...etc (Develoux et al., 2005).

Le point commun à toutes les candidoses cutanéomuqueuses chroniques est l'incapacité des lymphocytes T des patients à produire des cytokines nécessaires à l'expression de l'immunité cellulaire vis-à-vis de *Candida spp* (Develoux et al., 2005).

2.3.2. Candidoses profondes :

Se situe au 4^{ème} rang des infections hospitalières (cancérologie, hématologie, chirurgie, transplantation). La porte d'entrée peut être endogène à partir d'un foyer digestif ou exogène au cours d'un acte thérapeutique exemple chirurgie ou pose de cathéter.

Les candidoses profondes peuvent être classées en trois catégories :

Une candidémie ou septicémie à *Candida* qui définit une candidose où un *Candida* a été identifié par au moins une hémoculture (**Benmezdad, 2009**).

Une candidose systémique ou disséminée : correspond à une atteinte de plusieurs sites stériles non contigus impliquant une dissémination hématogène.

Une candidose invasive implique une atteinte d'un site stérile avec ou sans septicémie à *Candida* (avec ou sans dissémination hématogène) (**Benmezdad, 2009**).

Ces formes d'infections candidosiques surviennent surtout chez les patients hautement fragilisés, hospitalisés généralement dans les unités de soins intensifs, dans les services de réanimation médicale et chirurgicale ainsi que dans les unités d'onco-hématologie et sont devenues un vrai problème de santé publique (**Benmezdad, 2009**).

2.3.2.1. Manifestations cliniques :

2.3.2.1.1. Septicémie à *Candida* ou candidémie :

La candidémie définit une condition où un *Candida* a été identifié par au moins une hémoculture. Il n'existe pas de symptomatologie spécifique, une fièvre irrégulière résistante aux antibiotiques accompagnée d'une altération de l'état général dans environ 80% des cas et une leucose dans 50% des cas (**Anophel, 2014**).

Les candidémies rapidement dépistées peuvent répondre aux antifongiques et au retrait de cathéter lorsque le dépistage est tardif ou l'existence d'un risque important de localisation uni ou multi viscérales, malgré une meilleure prise en charge des candidémies et l'apparition de nouveaux antifongiques, la mortalité reste élevée (plus de 40%). *Candida albicans* est l'espèce prédominante dans environ 50% des cas (**Anophel, 2014**).

Actuellement la septicémie à *Candida* représente 10 à 15% des septicémies hospitalières dans les services à haut risque (patients en réanimation chirurgicale, poly traumatisme, grands brûlés) (**Chabasse, al. 1999**).



Figure 30 : Manifestation cutanée de la candidose systémique (**Anophel, 2014**).

2.3.2.1.2. Localisations secondaires des *Candida* liées à une candidose profonde :

2.3.2.1.2.1. Localisations cutanées :

Environ 10% des disséminations hématogènes présentent des localisations cutanées. Les lésions s'observent lors de neutropénies prolongées. Il s'agit de papulopustules pouvant prendre un aspect purpurique. Elles sont uniques ou multiples, siégeant préférentiellement au tronc et aux extrémités (**Anophel, 2014**).

Des myalgies sont fréquemment associées. En milieu hématologique, l'association fièvre, myalgies, éruption papuleuse est évocatrice du diagnostic chez un sujet neutropénique. Des ulcérations nécrotiques, des abcès et plus exceptionnellement des cellulites nécrosantes ont été également décrits lors de candidoses disséminées (**Develoux et al., 2005**).

2.3.2.1.2.2. Localisation oculaire :

Les localisations oculaires des candidoses systémiques se font par voie hématogène. Elle survient dans 10 à 40% des septicémies et principalement chez les patients non neutropénique (Fig. 31) (**Anophel, 2014**).

Les signes fonctionnels sont discrets et la latence clinique est due à la situation périphérique prédominante des lésions chororétiniennes. L'aspect typique réalisé au fond d'œil est celui de nodules rétinien blanchâtres ou jaunâtres, duveteux, saillants en avant vers le vitré.

La colonisation du vitré entraîne une hyalite qui peut aboutir à la perte fonctionnelle du globe par panophtalmie. La présence d'emblée de lésions typique d'une atteinte à *Candida spp* au fond d'œil est rare. Les lésions atypiques sont le fait plus souvent d'une maladie systémique sous-jacente que d'une infection (**Develoux et al. 2005**).

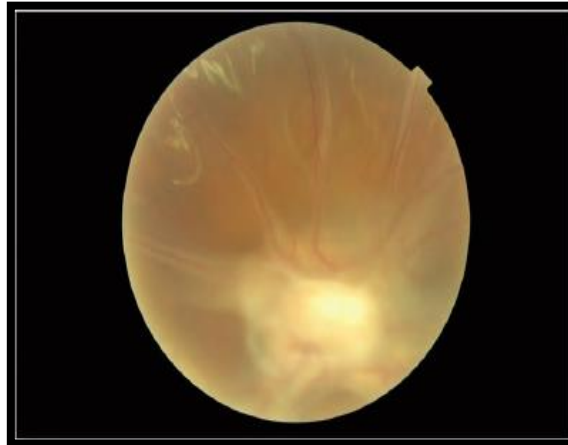


Figure 31 : Endophtalmie à *Candida* (Bouchara *et al.*, 2010).

2.3.2.1.2.3. Candidoses cardiaques :

L'endocardite. Cette atteinte par *Candida*, le plus souvent *C. parapsilosis*, est retrouvée dans 1 à 2 % des endocardites infectieuses de l'enfant et de l'adulte et survient préférentiellement sur des lésions déjà existantes sur une valve native ou greffée, ou bien à partir d'un cathéter veineux central, voire même chez les toxicomanes par voie intraveineuse (Fig. 32) (Chabasse *et al.*, 2006).

Les endocardites fongiques surviennent plusieurs mois après l'épisode de candidémie et les symptômes sont peu différents d'un épisode d'endocardite infectieuse aiguë : fièvre modérée, sueurs nocturnes, souffle... Les symptômes périphériques sont rares : hyperleucocytose, nodules sous-cutanés douloureux, pâleur, pétéchies... On craint particulièrement les épisodes d'embolisation suite au détachement de végétations cardiaques (Caraës, N, 2016).

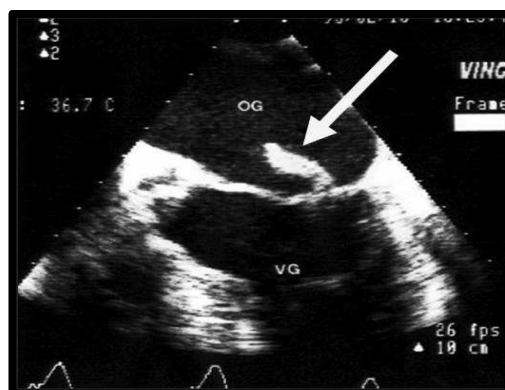


Figure 32 : Endocardite à végétation mitrale (Caraës , 2016).

2.3.2.1.2.4. Candidose hépatosplénique :

La candidose hépatosplénique, survient habituellement chez le patient neutropénique soumis à une antibiothérapie à large spectre (qui favorise la colonisation digestive) et une chimiothérapie générant des ulcères digestifs (qui favorisent l'invasion tissulaire). La symptomatologie clinique est non spécifique. Le plus souvent, il s'agit d'une fièvre résistante aux antibiotiques en sortie d'aplasie. L'échographie est surtout le scanner sont plus contributifs au diagnostic ; ils mettent en évidence des lésions arrondies avec un rehaussement périphérique évoquant la présence de micro-abcès à *Candida* (Fig. 33) (Anophel, 2014).

Ces lésions ne sont décelables qu'en sortie d'aplasie. Le diagnostic sera suggéré comme dans les autres localisations profondes, devant une élévation du taux d'anticorps anti *Candida*, souvent associée dans ce cas à une augmentation des phosphatases alcalines. La confirmation ne pourra être faite que par la biopsie d'une lésion, et son étude anatomo-pathologique et mycologique (Anophel, 2014).



Figure 33 : Candidose hépatosplénique

2.3.2.1.2.5. Candidose ostéo-articulaires :

Les candidoses osseuses restent relativement rares. Elles résultent le plus souvent d'une dissémination par voie hématogène. L'inoculation peut être directe comme dans le cas des médiastinites. Les toxicomanes par voie intraveineuse et les prématurés représentent les principales populations à risque (Fig. 34) (Develoux et al., 2005).

L'atteinte la fréquente est vertébrale ; elle prédomine en région lombaire. Elle peut se révéler plusieurs semaines ou mois après un épisode de candidémie qui a pu être méconnu. Les os longs, fémur, tibia, humérus, sont également des localisations préférentielles. Les signes cliniques sont dominés par la douleur, parfois une tuméfaction ou un abcès des parties

molles. Les signes radiologiques ne sont pas spécifiques (Develoux et al., 2005).

Le diagnostic repose sur la biopsie. La chirurgie est rarement indiquée d'emblée, sauf en cas de compression médullaire. Les candidoses articulaires connaissent divers mécanismes : dissémination par voie hématogène, inoculation directe par injection ou traumatisme, inoculation consécutive à une chirurgie ou à la mise en place d'une prothèse (Develoux et al., 2005).

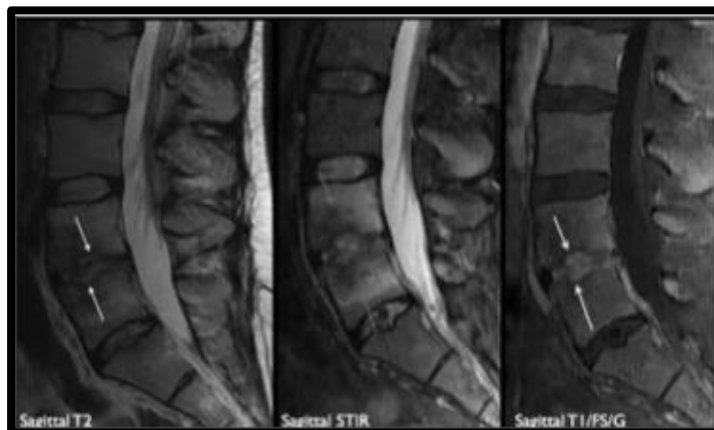


Figure 34 : Spondylodiscite : lésions érosives des plateaux vertébraux (Caraës, 2016).

2.3.2.1.2.6. Candidoses du système nerveux central :

L'atteinte du système nerveux est réputée rare dans les infections à *Candida spp.* Elle est probablement sous-estimée comme l'ont montré les enquêtes autopsiques. Les lésions sont des microabcès diffus, des abcès parenchymateux, des lésions vasculaires et surtout des méningites. Ces dernières s'observent préférentiellement chez les prématurés ; elles sont plus rares chez l'adulte. Les toxicomanes par voie intraveineuse constituent une autre population à risque. Chez ces derniers, la méningite évolue volontiers sur un mode chronique ; une hydrocéphalie s'observe dans des cas diagnostiqués tardivement (Develoux et al., 2005).

Les méningites à *Candida* sont des complications infectieuses de la neurochirurgie, en particulier après dérivation. La clinique des méningites à *candida* est très variable ; les signes cliniques sont souvent discrets, se résumant la plupart du temps à des céphalées et une fièvre. L'important est de poser l'indication d'une ponction lombaire (Develoux et al., 2005).

2.3.2.1.2.7. Candidoses pulmonaires :

La colonisation des voies aériennes supérieures par *Candida spp.* est fréquente chez les patients à risque d'infections disséminées à ces levures, tout particulièrement lorsqu'il s'agit de patients ventilés. La présence de *Candida spp.* dans un lavage bronchiolo-alvéolaire ou

dans un prélèvement distal protégé ne suffit pas à affirmer la pneumopathie à *Candida*. Même des méthodes plus agressives comme la biopsie trans-bronchique, la biopsie par thoracoscopie ou thoracotomie peuvent se révéler insuffisantes pour poser ce diagnostic. L'atteinte pulmonaire se fait par voie hématogène, donnant des microabcès diffus (**Develoux et al., 2005**).

Cliniquement, elle est masquée par les autres manifestations de la candidose diffuse et des autres éventuelles infections associées. Au plan radiologique, elle peut se traduire par des infiltrats bilatéraux interstitiels ou alvéolaires. La prévalence des atteintes pulmonaires au cours des candidoses systémiques reste mal connue. Néanmoins, les études autopsiques montrent que le poumon est l'un des trois organes le plus souvent atteints. Les candidoses pulmonaires primitives sont associées aux conditions qui favorisent l'aspiration endotrachéale et la colonisation des voies aériennes supérieures. Il y a dans ce cas comblement alvéolaire par des levures (**Develoux et al., 2005**).

2.3.2.1.2.8. Candidoses rénales :

Des atteintes rénales peuvent survenir secondairement à une dissémination hématogène. La symptomatologie, non spécifique, associe fièvre, frissons et douleurs lombaires stimulant une pyélonéphrite. La localisation rénale peut aussi être révélée par un bilan biologique rénal perturbé (insuffisance rénale) suivi par une échographie montrant de nombreux abcès tissulaires. Il convient dans ce contexte d'éliminer une atteinte rénale secondaire par voie basse (ou rétrograde) liée à une colonisation à *Candida* mal contrôlée, générant des « boules fongiques » au niveau des voies urinaires avec le risque d'un retentissement sur la fonction rénale (**Anophel, 2014**).

2.3.2.1.2.9. Candidoses péritonéales :

Des péritonites candidosiques sont avant tout consécutives à une contamination à partir du tube digestif. Elles compliquent une perforation (ulcère gastroduodénal, néoplasie) ou une intervention chirurgicale. *Candida albicans* et *Candida glabrata* sont les espèces les plus souvent isolées. La morbidité et la mortalité sont importantes (**Anophel, 2014**).

Les péritonites fongiques d'origine exogène sont des complications graves de la dialyse péritonéale. L'étiologie est dominée par *Candida spp* et avant tout *Candida albicans*. Cliniquement le tableau est celui d'une péritonite bactérienne (**Anophel, 2014**).

2.3.2.1.2.10. Pancréatite candidosique :

Chez les patients ayant une pancréatite nécrosante, la présence de *Candida spp* dans la nécrose pancréatique est associée à une morbidité augmentée. L'utilisation prolongée d'antibiotiques en préopératoire est le principal facteur favorisant (Develoux et al., 2005).

2.4. Traitement :

2.4.1. Les classes d'agents antifongiques :

Quatre classes d'agents antifongiques sont actuellement disponibles pour le traitement des candidoses systémiques. Chaque molécule possède un site d'action (Figure 35) et un spectre d'activité propre, une efficacité particulière et un profil de tolérance unique, permettant de choisir un traitement spécifique en fonction de l'épidémiologie locale et du profil du patient (Ghadi, 2010).

2.4.1.1. Les polyènes :

Ce sont des composés tous dérivés des espèces de *Streptomyces nodosus*. Le chef de file est l'amphotéricine B (Fungizone®) qui dispose d'un très large spectre d'activité antifongique et qui englobe pratiquement toutes les levures et champignons filamenteux.

Le principal inconvénient de ces formulations est le coût, nettement supérieur à celui des autres traitements (Ghadi, 2010).

Tableau II : Principales formes galéniques de l'Amphotéricine B (Chambard, 2009).

Nom de spécialité	Forme galénique	Indications	Posologies
Fungizone®	Gélules 250 mg	Traitements des candidoses buccales et digestives	1,5 à 2 g/j pendant 15 à 20 jrs en dehors des repas en 2 ou 3 prises
Fungizone® oral	Suspension buvable 100 mg/ml Suspension buvable nourrissons et enfants	Traitements des candidoses buccales et digestives	>30 kg: 1,5 à 2 g/j, <30 kg: 1,5 g/j NN: 50 mg/kg/j en 2 ou 3 prises pendant 15 à 20 jours

Fungizone® poudre pour solution injectable	Poudre pour solution injectable à 50 mg	Traitements des candidoses buccales et digestives	IV lente (2 à 6 heures) dose finale: 0,5 à 1 mg/kg candidoses profondes
Fungizone®	Suspension pour application cutanée (lotion) 3 %	Traitement des candidoses cutanées et muqueuses	2 à 4 applications / jour pendant 15 jours à 1 mois

2.4.1.2. Les dérivés azolés :

Cette famille de molécules antifongiques regroupe :

2.4.1.2.1. Les imidazolés :

Sont très nombreux surtout sous forme topique : (Kétoconazole, Miconazole, Bifonazole, Oxiconazole, Fenticonazole, Omoconazole, Isoconazole, Econazole, Sertaconazole, Tioconazole). Ils ont un spectre large et sont utilisés généralement pour traiter les mycoses superficielles (Talbert, 2008).

Tableau III : Principaux imidazolés disponibles dans les candidoses cutanéomuqueuses (Talbert et al., 2003).

Nom de spécialité	Forme galénique	Indications	Posologies
KETOCONAZOLE			
Kétoderm®	Crème à 2 %	Traitement des candidoses cutanées	-1 à 2 applications/j pendant 2 à 6 semaines si résistance antérieure
Nizoral®	Comprimés 200 mg	Infections cutanées et muqueuses après échec d'un traitement local	200 mg/j en une seule prise au cours du repas
MICONAZOLE			
Daktarin®	Gel buccal à 2 % ou Poudre pour application locale	Traitement local des candidoses cutanées et muqueuses	-NN et enfant: 1 cuillère mesure 4 fois/j -Adulte: 2 cuillères mesure 4 fois/j ,Pendant 7 à 14 jrs en apps locales à distance des repas -Mycoses des plis: 2 apps/j pendant 1 à 2 semaines -Mycoses des muqueuses: 2 applications/j pendant 8 jrs -Mycoses des ongles: 2 apps/j pendant 1 à 2 mois associé à traitement per os
Gyno-	Capsule molle vaginale	Mycoses vulvovaginales	- Traitement intense: 1 capsule matin et soir, 7 j - Traitement progressif: 1 capsule/j , 14

Daktarin®	à 100 mg Capsule molle vaginale à 400 mg	surinfectées ou non par bactéries à Gram +	j 1 capsule/j pendant 3 à 6 jours
ECONAZOLE			
Pévaryl®	Crème 1 % Emulsion fluide 1 % et Poudre pour application locale 1 % Solution pour application locale 1 %	-Mycoses des plis, périonyxis et onyxis -Mycoses des muqueuses, peau fragile	2 applications/j jusqu'à disparition des lésions - plis: 1 à 2 semaines -muqueuses: 8 jours -peau fragile: 2 à 3 semaines -ongles: 1 à 2 mois
Gyno-Pévaryl®	Ovule 150 mg Ovule en LP 150 mg	Mycoses vulvovaginal	-1 ovule le soir pendant 3 jours. si récidive : 1 autre cure immédiatement ou 10 jours après 1 ovule le soir au coucher si récidive:1 ovule le lendemain
Fongamil®	Crème à 1 % Poudre à 1 % Solution à 1 %	Intertrigos génito-cruraux, anaux et périanaux, perlèche, vulvite et balanite	-1 application/jour 2 à 4 semaines -2 applications/jour 1 à 2 semaines ,2 applications/jour 3 semaines
Lomexin®	Capsule vaginale 600 mg ou Crème 2 %	-Mycoses vulvovaginales à <i>Candida</i> surinfectées ,génito-cruraux, anaux et périanaux, perlèche, vulvite et balanite, onyxis et périonyxis	1 ovule le soir au coucher si récidive: renouvellement 3 jours après la première prise 2 applications/j -intertrigos: 2 à 3 semaines -onyxis et périonyxis: 2 mois

2.4.1.2.2. Les triazolés :

Les seuls utilisés dans les candidoses profondes sont les triazolés : principalement le fluconazole (Triflucan) et l'itraconazole (Sporanox) vu leur faible toxicité et leur large spectre (Talbert, 2008).

Le voriconazole et le posaconazole appartiennent à la seconde génération des triazolés systémiques. Le voriconazole est actif sur les différentes espèces de *Candida spp* mais moins sur ceux ayant une sensibilité diminuée au fluconazole (Talbert, 2008).

Tableau IV : Principaux triazolés disponibles dans les candidoses cutané-muqueuses (Talbert et al., 2003).

Nom de spécialité	Forme galénique	Indications	Posologies
FLUCONAZOLE			
Bégyne®	Gélule à 150 mg	Traitement des candidoses vaginales et périnéales aiguës et récidivantes	Dose unique
Triflucan®	-Gélules à 50 mg - Gélules à 100 mg -Gélules à 200 mg -Poudre pour suspension buvable à 50mg/5ml et 200 mg/5ml - Suspension pour perfusion à 2 mg/ml		*Gélules de 100 et 200 mg, suspension buvable à 200 mg/5ml et suspension pour perfusion à 2 mg/ml **Gélules à 50 mg Poudre pour suspension buvable à 50mg/5ml
ITRACONAZOLE			
Sporanox®	Gélules à 100 mg	Mycoses superficielles	Adulte: 200 à 400 mg par jour en 1 prise après un repas
POSACONAZOLE			
Noxafil®	Suspension buvable à 40 mg/ml	Candidose oropharyngée en traitement de première intention chez les patients avec une pathologie sévère ou immunodéprimés chez qui une réponse faible à un traitement local est attendu	-dose de charge 200mg le premier jour -dose de 100 mg les 13 jours suivants toujours avec un repas
VORICONAZOLE			
Vfend® PFIZER	Comprimé à 50 mg Comprimé à 200 mg Poudre suspension buvable 40 mg/ml Poudre solution de perfusion 200 mg	Traitement des candidémies chez les patients non neutropéniques	Dose d'attaque et dose d'entretien fonction du patient

2.4.1.3. Les Echinocandines

Les échinocandines (caspofungine, micafungine, anidulafungine) offrent l'avantage

d'un spectre étendu et d'une bonne tolérance mais ne peuvent être administrées que par voie intraveineuse.

Ce sont des dérivés synthétiques de lipopeptides, utilisés par voie intraveineuse, ils sont secrétés naturellement par *Aspergillus rugulovalvus*. Ils ont une forte activité fongicide et ne présentent pas de réactivité croisée avec d'autres antifongiques (El Hassani, 2013).

2.4.1.4. Les analogues nucléotidiques

Représentés par la 5-fluoro-cytosine ou flucytosine **Ancotil®**. Leur utilisation a toujours été limitée du fait de leur toxicité médullaire potentielle et par le développement rapide de résistances, surtout en cas d'utilisation en monothérapie (Talbert, 2008).

2.4.2. Mécanisme d'actions :

2.4.2.1. Les polyènes :

Les polyènes ont une grande affinité pour les stérols membranaires et tout particulièrement l'ergostérol, principal constituant de la paroi fongique avec lequel ils forment des complexes irréversibles, entraînant des troubles de la perméabilité qui provoquent la mort de la cellule. Ils ont une action fongicide et fongistatique (fig. 35) (Ghadi, 2010).

2.4.2.2. Les dérivés azolés :

Les dérivés azolés agissent par :

Effet sur la biosynthèse de l'ergostérol : les azolés inhibent le cytochrome P450 qui commande de l'action de la C14 déméthylase, permettant la transformation du lanostérol en ergostérol. Il s'ensuit, une accumulation des précurseurs de l'ergostérol.

Effet sur les acides gras et les triglycérides par saturation des parties acyls des triglycérides.

Effet sur les enzymes oxydatifs et peroxydatifs par action sur les mitochondries.

Modification de la perméabilité membranaire (Ghadi, 2010).

2.4.2.3. Les analogues nucléotidiques :

La flucytosine est convertie en 5-fluoro-uracile par une cytosine- désaminase enzyme cytoplasmique fongique après pénétration dans la cellule, produit métabolisé et incorporé dans les acides nucléiques, de l'ARN fongiques, elle bloque ainsi la synthèse des protéines d'une large variété de champignons (**Ghadi, 2010**).

2.4.2.4. Les échnicandines :

Les échinocandines inhibent la synthèse des 1,3- β - glucans de la paroi cellulaire de la plupart des champignons (**Ghadi, 2010**).

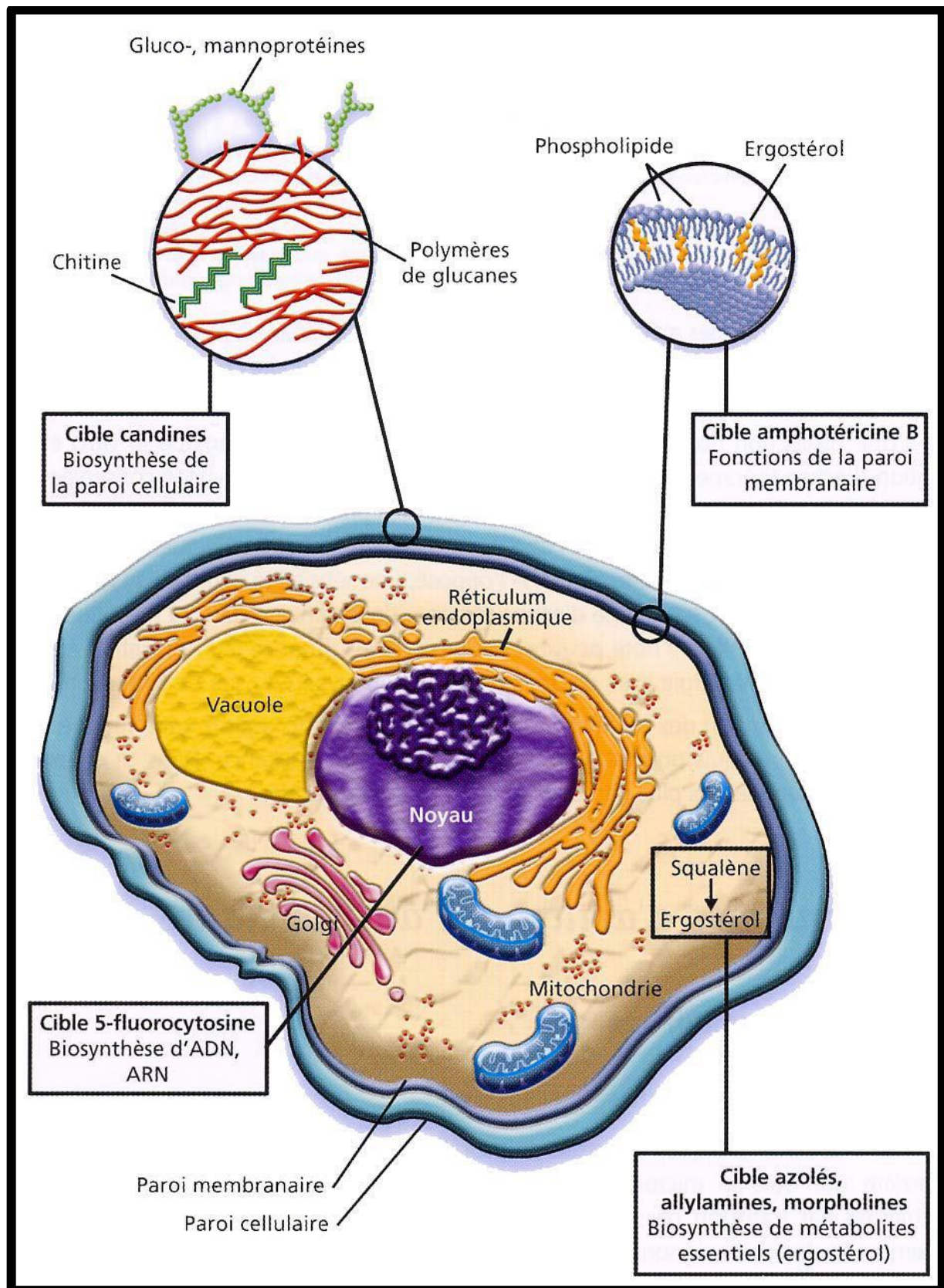


Figure 35 : Sites d'action des principaux antifongiques (Ghadi, 2010).

2.4.3. Stratégie thérapeutique :

2.4.3.1. Prise en charge des candidoses superficielles :

La plupart des produits destinés aux mycoses superficielles existent sous forme locale et ces topiques sont utilisés en première intention (**Poulin, 2000**).

Fortement concentrés en antifongique, ils permettent souvent à eux seuls d'obtenir la guérison dans les infections aiguës, en 15 jours à 3 semaines. Mais traitement per os associé est nécessaire pour traiter les lésions chroniques (**Poulin, 2000**).

Le choix des antifongiques tient compte :

- De la localisation et de l'étendue lésions.
- Du terrain (femme enceinte, immunodépression) ;
- Du risque d'effets secondaires et d'interactions médicamenteuses (traitement oral).
- Du coût (**Poulin, 2000**).

2.4.3.1.1. Candidoses buccales :

2.4.3.1.1.1. Chez l'immunocompétent :

On privilégie les traitements locaux (sans absorption systémique) :

- Nistatine (Mycostatine*) : 4 à 8 comprimé par jour à sucer.
- Amphotéricine B (Fungizone*) en suspension : 4 cuillères à cafés en 2 prises quotidiennes.
- Miconazole (Daktarin*) gel buccal : 2 cuillères-mesure 4 fois par jour (ce dernier est contre indiqué chez les patients sous antivitamine K ou sous sulfamides hypoglycémiant). (**Poulin, 2000**).

Traitement adjuvant : bains de bouche avec de l'Eludril ou avec du bicarbonate de sodium pour augmenter le PH endo-buccal (une cuillère à café dans un verre d'eau) (**Poulin, 2000**).

2.4.3.1.1.2. Chez l'immunodéprimé (en particulier : sida) :

On associe au traitement local un traitement par voie générale, d'autant plus qu'il existe une atteinte œsophagienne (**Poulin, 2000**).

La molécule de référence est le fluconazole (Trifucan à (100 à 200mg\j)).

Cures courte (15 jours) et discontinues pour éviter l'apparition de souches levuriques résistantes (**Poulin, 2000**).

2.4.3.1.1.2.1. Candidoses génitales :**2.4.3.1.1.2.1.1. Vaginite simple :**

Gyno-pevaryl un ovule normo-dosé pendant 3 jours (**Poulin, 2000**).

2.4.3.1.1.2.1.2. Vulvite :

Toilette avec un savon alcalin (hydralin*) associé à un traitement antifongique local type dérivé imidazolé (**Poulin, 2000**).

2.4.3.1.1.2.1.3. Vulvo-vaginite récidivante :

Traitement préventif reposant sur l'administration d'un ovule antifongique à libération prolongée une fois par moi vers le 20^{ème} jour du cycle pendant plusieurs mois (**Poulin, 2000**).

Au début d'un traitement antibiotique : prophylactique par un ovule de gyno-pévaril 150 mg LP peut être préconisé en cas d'antécédent de vulvo-vaginite (**Poulin, 2000**).

2.4.3.1.1.2.1.4. Balanite :

Toilette avec un savon alcalin (hydralin*) associé à une à applications quotidiennes d'une crème antifongique ; rechercher et traiter une éventuelle candidose chez la partenaire (**Poulin, 2000**).

2.4.3.1.1.2.2. Candidoses des plis :

On privilégie les traitements antifongiques locaux à type de lotion ou de crème. On luttera contre la macération (**Poulin, 2000**).

2.4.3.1.1.2.3. Candidose unguéale :

On luttera contre les facteurs locaux susceptibles d'entretenir les lésions (séchage des doigts, lutter contre la macération) (**Poulin, 2000**).

On luttera contre la surinfection par l'application de solution antiseptique (polyvinylpyrrolidone ou chlorexidine). Le traitement ne peut être fait qu'après identification mycologique. Il doit être très prolongé. Les antifongiques locaux (solution filmogène ou crème sous occlusion) ne suffiront qu'en d'atteinte modérée et distale (**Poulin, 2000**).

2.4.3.2. Prise en charge des candidoses profondes :

Trois approches se dégagent de la littérature :

2.4.3.2.1. Traitement prophylactique :

Visant à prévenir l'infection fongique. Il s'agit du traitement systématique de sous-groupes de patients strictement sélectionnés pour leur risque élevé de développer une candidose sévère (**Kettani et al., 2006**).

Les tendances épidémiologique observées proviennent surtout des services d'oncologie ou d'hématologie où la prophylaxie antifongique est systématique (**Kettani et al., 2006**).

Au vu de ces données, un traitement prophylactique limité aux populations définies par les études actuelles pourrait être justifié. Ses indications sont à élargir en fonction des futures évolutions (**Kettani et al., 2006**).

2.4.3.2.2. Traitement probabiliste :

Visant à prévenir ou à traiter une candidose profonde. Il s'adresse à des individus à haut risque (traitement préventif) ou fortement suspects (traitement empirique) d'avoir une candidose sévère, sans preuve bactériologique ou histologique (**Kettani et al., 2006**).

La difficulté du diagnostic et l'urgence du traitement font tout l'intérêt du traitement probabiliste.

La précocité du traitement constitue un facteur pronostique très important.

Les patients à haut risque de candidose systémique sont définis comme ci :

- Neutropénies, immunodépression et autres causes compromettant l'immunité : prématurité avec poids inférieur à 1500g, états de choc et diabète.
- Traumatismes et procédures invasives : polytraumatismes, brûlures, ventilation, mécanique, cathéters vasculaires, nutrition parentérale.
- Complications de chirurgie abdominal : complications peropératoires, perforation digestive postopératoire, pancréatite postopératoire, dialyse péritonéale.
- Complications de chirurgie abdominale : complications peropératoires, perforation digestive postopératoire, pancréatite postopératoire, dialyse péritonéale.
- Antécédents infectieux : candidose disséminée, antibiothérapie au long cours (**Kettani et al., 2006**).

Le degré de colonisation par *candida* est par ailleurs un facteur de risque indépendant de développement d'une candidose invasive. D'après Martino et al ; le risque de candidémie est de 5 si un prélèvement au niveau d'un site normalement stérile est positive et 22 s'il y en a plusieurs (**Kettani et al., 2006**).

En l'absence de ces données, l'appréciation de cette probabilité devra être faite au cas par cas par le médecin traitant en se fondant sur les facteurs proposés actuellement dans la littérature (**Kettani et al., 2006**).

2.4.3.2.3. Traitement curatif :

Est le traitement d'une candidose documentée avec une preuve bactériologique ou histologique (**Kettani et al., 2006**).

Tous les auteurs s'accordent sur la nécessité de démarrer un traitement antifongique chez les patients à risque en cas de preuve bactériologique. Un examen direct positif au niveau d'un site normalement stérile, une seule hémoculture positive ou une candidurie importante (supérieure à 10⁵/ml) chez un malade présentant un tableau septique suffisent pour instaurer un traitement antifongique (**Kettani et al., 2006**).

2.4.4. Durée du traitement :

Le traitement est de 15 jours après la dernière hémoculture positive et/ou la disparition des symptômes. Il est poursuivi plusieurs semaines en cas de localisations secondaires. Avant l'identification de l'espèce, les échinocandines (caspofungine, Cancidas®, micafungine, Mycamine®) sont recommandées en première intention. Dès que la levure responsable est identifiée, le traitement doit être réévalué, essentiellement sur les notions de sensibilité habituelle aux antifongiques : le fluconazole, l'amphotéricine B sous forme lipidique et le voriconazole peuvent être indiqués. Dans la candidose chronique disséminée (hépatosplénique), une corticothérapie peut être indiquée (**Kettani et al., 2006**).

Chapitre II :

Le diagnostic biologique

1. Diagnostic mycologique :

Le diagnostic mycologique d'une candidose s'inscrit dans le cadre de la démarche classique d'identification d'un micro-organisme. L'examen direct du prélèvement, que celui-ci soit superficiel ou profond, est suivi d'une mise en culture permettant d'isoler le ou les germes présents. Les colonies de levures isolées peuvent ensuite être identifiées par la mise en œuvre de tests variés qui reposent sur des critères morphologiques, immunologiques, biochimiques, protéomiques voire génotypiques si nécessaire (**Pihet et Marot, 2013**).

1.1. Prélèvements

Un prélèvement est dit de qualité s'il est adapté à la demande, prélevé en quantité suffisante et recueilli dans un récipient stérile. Après prélèvement, celui-ci devra être immédiatement amené au laboratoire ou bien être conservé à + 4°C. Chaque prélèvement devra bien entendu être réalisé à distance d'un traitement antifongique local ou général (**Chabasse et al., 2006**).

Pour prélever sur des lésions cutanées sèches, on recueille le produit de grattage à l'aide d'un vaccinostyle, ou d'une curette de Broc, en périphérie de la lésion (**Rispail, 2005**).

Lors du prélèvement sur des muqueuses, des orifices naturels ou bien des lésions suintantes, il faut utiliser deux écouvillons (un pour l'examen direct et l'autre pour la mise en culture) stériles humidifiés avec de l'eau distillée stérile avec lesquels on va écouvillonner les surfaces de façon appuyée (**Rispail, 2005**).

Pour le recueil d'urines, de selles ou d'expectorations, les prélèvements seront mis dans des pots stériles (**Chabasse et al., 2006**).

Le liquide céphalo-rachidien (LCR), le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) et les autres liquides prélevés devront être recueillis stérilement (**Chabasse et al., 2006**).

Quand il s'agit de sites profonds (comme les yeux, sinus, cerveau, cœur, reins...), il faut, à partir des biopsies, les réduire en petits morceaux et les recueillir dans un pot stérile. Une partie servira à l'examen direct et l'autre à la mise en culture (**Chabasse et al., 2006**).

Pour réaliser une hémoculture il suffit lors d'un pic fébrile de prélever au minimum 5 à 10 millilitres (mL) de sang sur des fioles à hémoculture (**Anophel, 2014**). Les modalités de prélèvement sont présentées dans le **tableau V**. (**Pihet et Marot, 2013**).

Tableau V : Modalités des prélèvements selon la localisation superficielle ou profonde de la candidose (Pihet et Marot, 2013).

Clinique et localisation	Prélèvement	Conditionnement	Conservation
Lésions superficielles			
Lésions cutanées sèches et ongles (périorionyxis secs)	Raclage (curette de Brocq, vaccinostyle,...) en périphérie de la lésion (limite ongle sain-ongle malade)	Recueil du produit en acon stérile	1-3 jours à + 4°C
Lésions suintantes : plis, périorionyxis avec pus, muqueuses, orifices naturels	Ecouvillonnage	Recueil sur écouvillons stériles (1 pour ED, 1 pour culture)	< 24 h à + 4°C
Pustules, abcès	Grattage à la curette de Brocq et écouvillonnage	Recueil du pus d'abcès en acon stérile ou sur écouvillons stériles	< 24 h à + 4°C
Lésions sous-cutanées ou profondes			
Nodules ou autres lésions sous-cutanées	Biopsie	Recueil en acon stérile	< 24 h à + 4°C
Broncho-pulmonaires	Lavage bronchiolo-alvéolaire (LBA), aspiration bronchique	Recueil en acon stérile (20 ml)	< 24 h à + 4°C
Pleurales	Liquide de ponction	Recueil en acon stérile (1 mL)	Traitement immédiat (< 2 h)
Articulaires	Liquide de ponction	Recueil en acon stérile (1 mL)	Traitement immédiat (< 2 h)
Péritonéales	Liquide de dialyse, redons, drains	Recueil en acon stérile (1 mL)	Traitement immédiat (< 2 h)
Cérébrales	LCR	Recueil en acon stérile (1 mL)	Traitement immédiat (< 2 h)
Tissus profonds (foie, ...)	Biopsie	Partage en 2 acons stériles : 1 pour la mycologie, 1 pour l'anatomo-pathologie	< 24 h à + 4 °C
Septicémies	Sang, cathéters	Hémocultures Flacons stériles (5 à 10 ml)	< 24 h à température ambiante
Déchets biologiques	Urine, selles, expectoration...	Recueil en flacon stérile	< 24 h à + 4°C

1.2. Examen direct :

L'examen direct est le premier examen réalisé dans un laboratoire afin d'orienter le diagnostic et la thérapeutique le plus rapidement possible.

Cet examen peut être réalisé à l'état frais dans du sérum physiologique stérile ; de l'eau distillée, ou en utilisant un colorant permettant de mieux visualiser les blastospores des levures (lugol à 2 %, bleu de toluidine, bleu au lactophénol, ou encore noir chlorazole) (figs. 36 et 37) (Caraës, 2016).

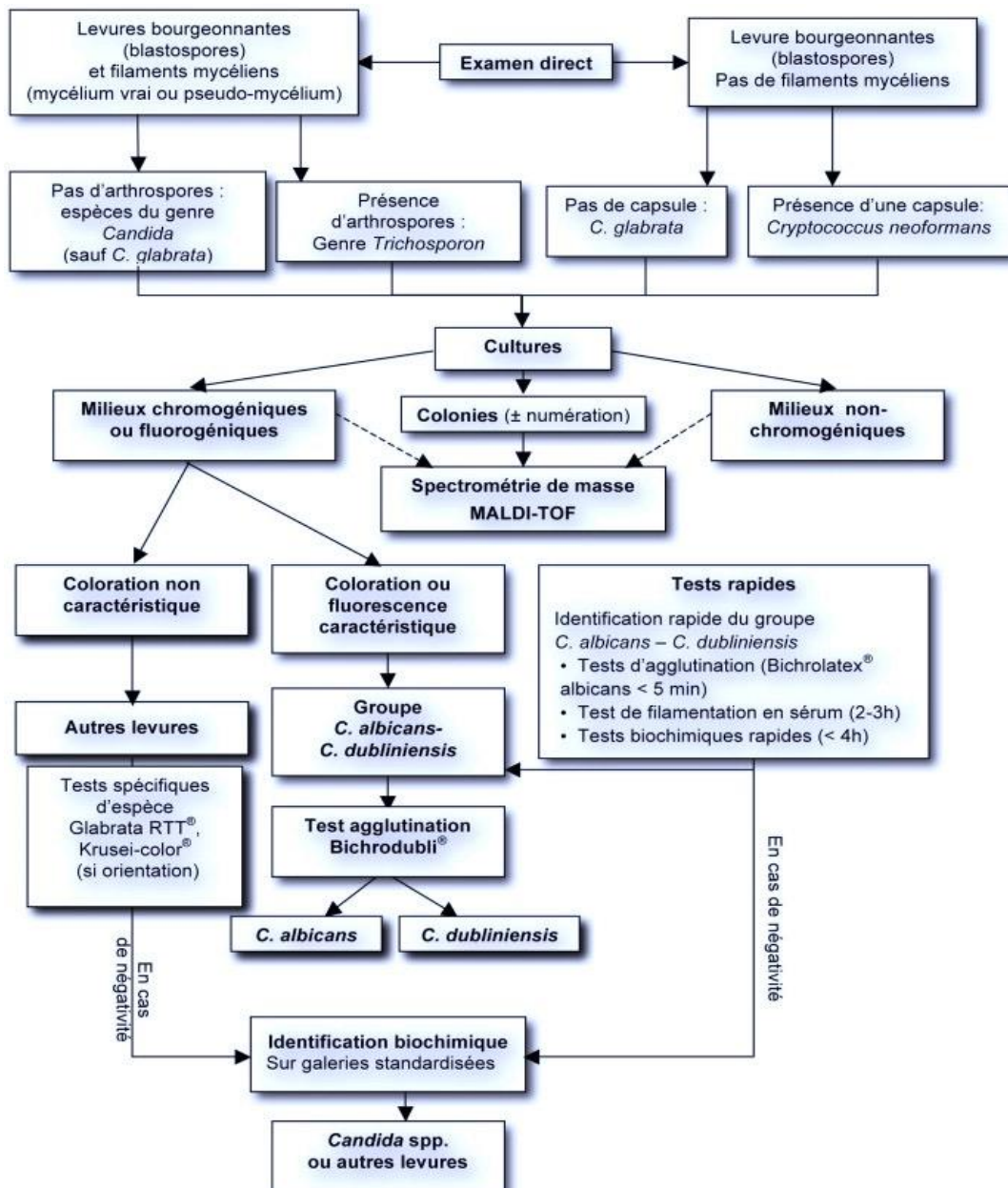


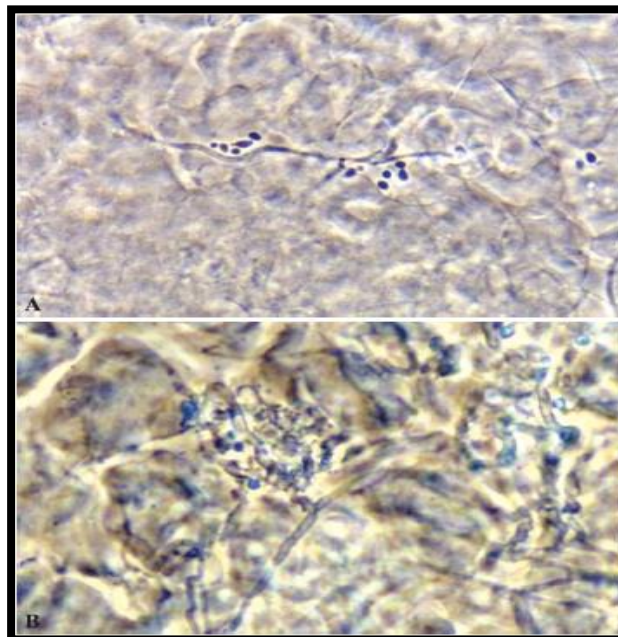
Figure 36 : Examen direct des prélèvements superficiels - muqueuses (Pihet et Marot, 2013).

Les produits utilisés pour la peau et les phanères sont ceux d'un grattage superficiel (squames épidermiques, fragments d'ongles, cheveux, poils ...). Pour sa réalisation pratique on réalise un état frais en utilisant des éclaircissants contenant le plus souvent de la potasse, qui vont ramollir la kératine (**Pihet et Marot, 2013**).

Ces éclaircissants peuvent être associés à un colorant imprègne immédiatement les structures fongiques (noir chlorazol, encre Parker Blue black super Quink) ou un fluorochrome (Blankophor, Calcofluor, Uvibio), mais ces derniers nécessitent l'utilisation d'un microscope à fluorescence (**Pihet et Marot, 2013**).

Pour les ongles l'association noire chlorazol-potasse à 20 % est recommandée.

L'utilisation du contraste de phase facilite, en l'absence de colorant la lecture et les éléments fongiques : spores, blastospores, et /ou filaments sont ainsi observés immédiatement.



**Figure 37 : Examen direct des prélèvements superficiels- peau et phanère
(Bouchara et *al.*, 2010)**

A : prélèvement sous-ombilical chez un nouveau-né présentant une lésion érythémateuse du siège s'étendant au périnée et à la région sous-ombilicale. B : prélèvement d'ongle chez une personne âgée diabétique présentant un onyxis à Candida.

Le scotch test ou test à cellophane adhésive (qui consiste à appliquer un morceau de scotch transparent sur les lésions) est aussi indiqué pour le diagnostic des levures (**Pihet et Marot, 2013**).

Un état frais est un étalement sur lame (frottis) avec coloration au MGG(May-Grunwald-Giemsa) ou par imprégnation argentique selon Gomori- Grocott seront de préférence réalisés dans ce type de prélèvement. Ces techniques simples permettent d'objectiver les formes levures. Pour les pus d'abcès et/ou sérosités Issues des lésions fistulines ou ulcérées (**Pihet et Marot, 2013**).

Les liquides pathologiques ce sont essentiellement des produits issus de prélèvements profonds et des muqueuses : liquide céphalorachidien (LCR), urines, selles, leucorrhées, produits du LBA (lavage bronchiolo-alvéolaire), d'expectoration induite et autres liquides de ponction ou d'inspiration (sinusienne, gastrique, pleurale ou péritonéale) (**Pihet et Marot, 2013**).

Sur le produit de centrifugation, ces liquides feront l'objet d'un examen à l'état frais, d'un frottis sur lame porte-objet avec coloration de prélèvement au MGG au GomorbGrocott.

Un écouvillonnage buccal, annal, nasal, auriculaire ou vaginal est particulièrement recommandé pour objectiver la présence d'un champignon à ces niveaux (**Chabasse et al., 2003**).

Un écouvillonnage sera destiné à l'examen direct après dilution dans un soluté physiologique, puis étalement (frottis) et coloration (MGG) du produit étalé sur une lame porte-objet (**Chabasse et al., 2003**).

Un deuxième écouvillon sera utilisé pour la culture (**Pihet et Marot, 2013**).

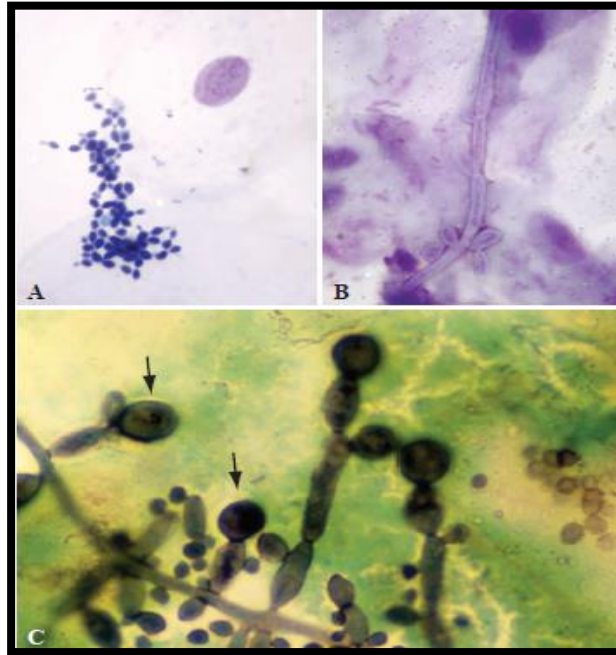


Figure 38 : Examen après coloration des prélèvements superficiel- muqueuse (Bouchara et al., 2010)

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

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

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

L'examen direct permet une orientation rapide du diagnostic en mettant en évidence les éléments fongiques (blastospores, éléments mycéliens). Cependant la présence de blastospores n'est pas pathognomonique d'une candidose car un nombre important de *Candida* vit à l'état commensal. Il reste conseillé d'évaluer leur quantité afin de mettre en avant un déséquilibre de la flore à l'origine d'une possible colonisation de *Candida*. Les levures apparaissent sous forme arrondie ou ovalaire, de 4 µm à 8 µm de diamètre, éventuellement bourgeonnantes. La présence de filaments oriente vers les espèces capables d'en produire (*C. albicans*) et élimine ainsi *C. glabrata*, incapable de filamenter. Les levures sont également visibles sur des frottis colorés au MGG ou au Gram (les levures sont à Gram positif). Des éléments mycéliens sont particulièrement recherchés comme du pseudomycélium ou du mycélium vrai orientant vers une possible pathogénicité du champignon en cause (Rispaill, 2005)

La mise en évidence de levure bourgeonnantes, avec ou sans filaments, au sein de produits biologiques normalement stériles permet d'affirmer le caractère pathogène du champignon, au même titre que l'examen histologique (**Pihet et Marot, 2013**).

Malgré tout, l'examen direct a une faible sensibilité et spécificité le rendant tout de même indispensable à tout diagnostic mais pas suffisant (**Caraës, 2016**).

1.3. Cultures :

Les levures du genre *Candida* sont peu exigeantes, et un grand nombre de milieux de culture utilisés dans un laboratoire de microbiologie (gélose ordinaire, gélose au sang, bouillon cœur cerveau ...) permettent leur développement. Toutefois, le milieu de Sabouraud est le mieux adapté à la culture des champignons. Les boîtes de Pétri offrent une surface d'ensemencement plus importante que les tubes ; elles permettent un bon isolement des colonies et de visualiser les associations de levures. En revanche, les risques de contamination par des spores de champignons filamenteux aéroportés sont plus importants et les milieux se dessèchent plus rapidement lors d'une incubation prolongée (**Pihet et Marot, 2013**).

L'isolement de la levure ou du champignon filamenteux en culture requiert en général 24 à 48 heures mais le délai peut être plus long (rarement plus de cinq jours) pour certaines espèces comme *Candida glabrata*. L'identification peut être immédiate pour certaines espèces comme *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* grâce à l'utilisation de milieux chromogéniques (coloration variable des colonies en fonction de l'espèce). Dans les autres cas, 24 à 72 heures supplémentaire sont nécessaire pour obtenir l'identification au niveau de l'espèce par l'utilisation de tests biochimiques classiques (galeries d'identification). On peut souligner l'intérêt d'utiliser des milieux spéciaux additionnés d'antibiotiques (**Pihet et Marot, 2013**).

1.3.1. Milieux de culture :

1.3.1.1. Les milieux standards

La vitesse de croissance des levures étant moins rapide que celle des bactéries, il est préférable d'adjoindre au milieu d'isolement un antibiotique a n d'inhiber la pousse de la flore bactérienne associée, surtout si le prélèvement est issu d'un site non stérile. Le milieu gélosé de Sabouraud additionné de chloramphénicol et/ou de gentamicine est classiquement utilisé.

Dans certaines circonstances, il est possible d'y adjoindre de la cycloheximide (Actidione®), qui inhibe la croissance de la plupart des champignons filamenteux susceptibles de contaminer les cultures. Toutefois, cette molécule peut inhiber ou freiner la pousse de certaines espèces de *Candida* telles que *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicali*. **(Pihet et Marot, 2013).**

La plupart des champignons ont une température de croissance comprise entre 25 et 35 °C. La température optimale de croissance des *Candida* est de 37°C. Toutefois, ceux-ci pouvant être retrouvés en association avec d'autres micromycètes non thermophiles, plusieurs géloses sont généralementensemencées ; la première est incubée à 22-25 °C et la seconde à 35-37 °C. Pour tout prélèvement profond, la culture est réalisée à 37 °C. Les durées d'incubation sont adaptées au type de prélèvement. Une durée d'incubation de 24 à 72 heures est généralement suffisante pour isoler la majorité des *Candida*. L'incubation des cultures de prélèvements profonds est plus longue, d'une à quatre semaines **(Pihet et Marot, 2013).**

Les colonies de *Candida* apparues après une incubation de 24 à 48 heures à 37 °C mesurent quelques millimètres de diamètre. Plutôt blanchâtre, leur surface est lisse, brillante et luisante, ou plus rarement, croûteuse, terne, sèche, mate, ou ridée. Les associations de différentes espèces sont difficilement décelables par un œil non expérimenté **(Pihet et Marot, 2013).**

1.3.1.2. Les milieux chromogéniques :

Ces milieux, auxquels sont rajoutées des substances chromogènes, confèrent aux colonies qui s'y développent une coloration particulière, variable en fonction de l'espèce.

Cette coloration est dans la plupart des cas basée sur la mise en évidence d'une activité enzymatique de type hexosaminidase (N-acétyl- α -D-galactosaminidase). La multiplication des bactéries y est également inhibée.

Tous ces milieux permettent au moins d'identifier directement *Candida albicans*, les colonies se colorant en bleu (Candida ID® 2, bioMérieux) (Candichrom®, ELITech Microbio, ChromID®, bioMérieux), en vert (CHROMagar® Candida, Becton-Dickinson ; OCCA®, Oxoid) ou en rose-violet (CandiSelect® 4, Bio-Rad). Les colonies de *Candida dubliniensis* développent une coloration très proche de *C. albicans* sur ces différents milieux.

La différenciation entre ces deux espèces nécessite ensuite la mise en œuvre de tests spécifiques (**Pihet et Marot, 2013**).

Ces milieux permettent par ailleurs l'identification présomptive d'autres espèces. Ainsi, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* et *Candida krusei* forment des colonies bleues d'aspects différents sur le milieu CandiSelect[®] 4 ; *C. tropicalis*, *Candida lusitanae* et *Candida kefyr* forment des colonies roses sur Candida ID[®]2 ; sur le milieu OCCA[®], *Candida tropicalis* forme des colonies bleutées et *C. krusei* des colonies roses irrégulières ; sur CHROMagar[®] Candida, *C. tropicalis* forme des colonies bleues métalliques et *Candida krusei* des colonies rose pâle plutôt rugueuses (**Pihet et Marot, 2013**).

Le milieu CHROMagar[®] présente donc le spectre le plus large pour l'identification directe des colonies. Les espèces non-*albicans* devront être confirmées dans un second temps par des tests complémentaires (**Pihet et Marot, 2013**).

L'apparition des colorations spécifiques est conditionnée par le respect des précautions stipulées par le fabricant (obscurité, température...). La vitesse de croissance est un peu plus lente que sur un milieu standard de type Sabouraud, les colonies sont généralement de plus petite taille et la coloration définitive n'est le plus souvent obtenue qu'après 48 heures d'incubation (**Pihet et Marot, 2013**).

Plus onéreux que les traditionnels milieux de Sabouraud, ces milieux apportent néanmoins un gain de temps de 24 à 48 heures, puisque l'identification des levures peut être rendue dans bon nombre de cas dès l'isolement et sans repiquage ultérieur, compte tenu de la forte prévalence des espèces concernées. Ils sont en outre particulièrement intéressants pour les sites susceptibles d'héberger plusieurs espèces, notamment dans le suivi de la colonisation de patients à risque de développer une candidose profonde, puisqu'ils permettent de visualiser directement les associations de levures (**Pihet et Marot, 2013**).

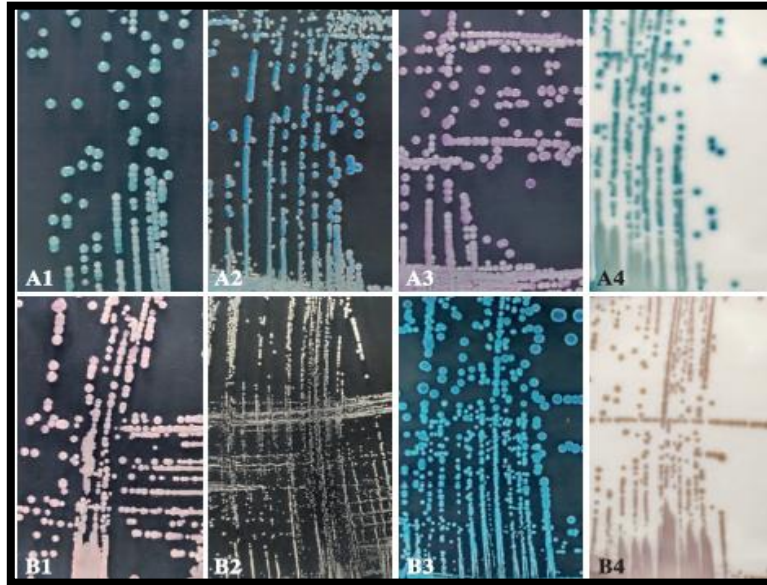


Figure 39 : Colonies de *Candida albicans* (A), *Candida glabrata* (B) (Bouchara et al. 2010).

Les colonies prennent des teintes variables selon les espèces et le milieu chromogénique utilisé (milieu CHROMagar^R *Candida* en 1, milieu *Candida* ID^R2 en 2, CandiSelectTM4 en 3, Candida brilliance en 4) et sont ainsi plus ou moins aisément différenciables. Pour une même espèce, la taille des colonies peut aussi être affecté par le milieu de culture utilisé avec parfois des répercussions sur l'identification biochimique ultérieure.

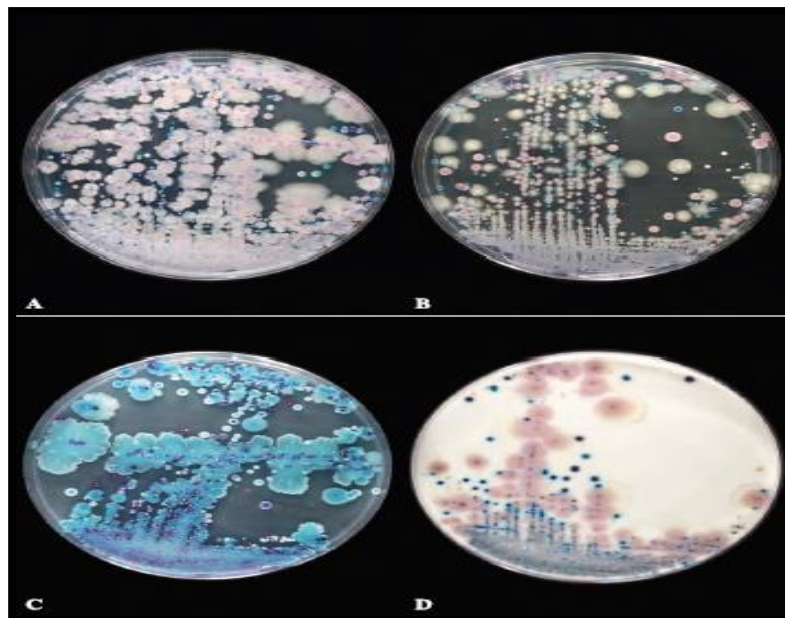


Figure40 : Association de levures (*Candida albicans*, *Candida kruzei*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*) sur CHROMagar^R *Candida* (A), *Candida* ID^R2 (B) CandiSelect^R4 (C) et *Candida* brilliance (D) (Bouchara et al. 2010).

1.3.1.3. Les milieux fluorogéniques :

Cultivées sur le milieu Fluoroplate® Candida (Merck), les colonies de *Candida albicans* présentent une fluorescence bleutée sans diffusion du pigment dans la gélose, lorsqu'elles sont observées sous lumière ultraviolette à 366 nm (Bouchara et al., 2010). La nécessité d'un équipement spécifique limite l'utilisation de ce milieu (Pihet et Marot, 2013).

1.3.1.4. Les milieux pour hémoculture :

Pour les hémocultures, il est préférable d'utiliser un milieu spécifique favorisant la croissance fongique (Bactec® IC/F Mycosis, Becton-Dickinson), ainsi qu'un système de lecture automatisée basée sur la mesure du CO₂ libéré au cours de la croissance de la levure (automates Bactec®, Becton-Dickinson ; BacT/ALERT®, bioMérieux). La détection de la croissance fongique repose sur des mesures colorimétriques (BacT/ALERT®) ou fluorimétriques (Bactec®) automatiques ; les flacons sont maintenus dans l'appareil au minimum deux semaines. À défaut de milieu spécifique, les flacons destinés à la détection des bactéries aérobies seront préférés aux flacons mis en anaérobiose, car mieux adaptés à la croissance des levures, notamment pour *Candida glabrata*. L'utilisation au préalable du système Isolator® (lyse-centrifugation) permet de raccourcir les délais entre l'ensemencement et la détection de la croissance fongique (Pihet et Marot, 2013).

Ces milieux pour hémocultures ne permettent pas de poursuivre directement l'identification du germe. En cas de positivité, il est en effet nécessaire de réaliser un repiquage sur milieux standards et/ou chromogéniques. Après une incubation minimale de 24 heures, l'obtention de colonies isolées permettra de réaliser l'identification du champignon et de déterminer sa sensibilité aux antifongiques (Pihet et Marot, 2013).

1.4. Ensemencement :

L'ensemencement se fait de façon stérile, par épuisement progressif de l'inoculum (en quadrants, en étoile, par rotation...). La calibration de l'inoculum (par exemple 100 µL pour les urines) permet de dénombrer les levures présentes dans le prélèvement (Pihet et Marot, 2013).

Les prélèvements épais tels qu'un liquide bronchique, gastrique ou synovial sont préalablement fluidifiés à l'aide d'un produit mucolytique tel que digest-EUR® (Eurobio).

(Pihet et Marot, 2013).

La mise en culture des biopsies s'effectue soit en frottant directement les fragments sur la gélose, soit en déposant sur la boîte 2 à 3 gouttes du produit de broyage en liquide physiologique **(Pihet et Marot, 2013).**

Le sang estensemencé le plus souvent directement dans des flacons d'hémocultures.

Afin de concentrer les éléments infectieux, la technique de lyse-centrifugation par le dispositif Isolator® (Oxoid) est parfois utilisée avant l'ensemencement. Elle permet de libérer les levures par lyse des phagocytes de l'hôte et d'inactiver le complément, ainsi que d'autres agents antimicrobiens qui pourraient freiner la croissance du champignon. Toutefois, la réalisation de cette technique est délicate et expose au risque de contamination par les produits sanguins **(Pihet et Marot, 2013).**

1.5. Identification :

La réalisation de test d'identification ne peut être envisagée qu'en présence de colonies bien individualisées. En pratique courante l'identification des différentes espèces de *Candida* fait appel à la détermination de caractères morphologique, physiologique et plus récemment immunologique grâce à des tests basés sur l'agglutination de particule de latex sensibilisés par des anticorps monoclonaux **(Pihet et Marot, 2013).**

La spectrométrie de masse et la biologie moléculaire, bien que prometteuses, ne concernent à l'heure actuelle que les centres spécialisés et les équipes de recherche **(Pihet et Marot, 2013).**

1.5.1. Identification du genre *Candida* :

1.5.1.1. Macroscopie :

L'examen macroscopique des cultures montrera des colonies blanches, humides crémeuses et lisses **(Ghadi, 2010).**

1.5.1.2. Microscopie :

L'examen direct s'attache à mettre en évidence les éléments fongiques (blastospores ou éléments mycéliens) au sein du prélèvement **(Pihet et Marot, 2013).**

La présence de blastoconidies dans un site superficiel n'est pas pathognomonique d'une candidose, puisqu'un grand nombre de *Candida* vivent en commensaux dans les tractus digestif et uro-génital de l'Homme, voire même au niveau de la peau pour certaines espèces.

Les filaments (pseudo- filaments ou mycélium vrai) sont plus particulièrement recherchés, car leur présence est en faveur de la pathogénicité du champignon. Il est également intéressant d'évaluer la quantité des éléments fongiques, même si la sensibilité de l'ED reste assez faible.

L'absence d'élément fongique visible à l'examen direct ne permet pas d'écarter définitivement le diagnostic de candidose. L'échantillon doit en effet contenir au moins 10^4 à 10^5 éléments par millilitre, pour que les *Candida* puissent être détectés dès cette étape. Dans le cas de prélèvements cavitaires, l'ED peut permettre de révéler un déséquilibre de la flore avec émergence des levures (Pihet et Marot, 2013).

1.5.2. Identification de l'espèce *Candida* :

1.5.2.1. Cas de *Candida albicans* :

Candida albicans étant l'espèce la plus fréquemment isolée et considérée comme la plus virulente, la démarche diagnostique consiste dans un premier temps à l'identifier. Un certain nombre de tests, plus ou moins rapides et spécifiquement adaptés à son identification, ont donc été développés (Pihet et Marot, 2013).

1.5.2.1.1. Test morphologiques :

1.5.2.1.1.1. Test de blastèse :

Appelé aussi test de germination, il consiste à émulsionner une pointe de pipette de levures dans 1 ml de sérum de veau ou autre, puis laisser incuber à 37°C pendant 3 à 4 heures. Si la levure est un *Candida albicans*, on observe dans presque 90% à 100% des cas un tube de germination partant de la levure sans présence de constriction à la base. D'autres espèces en particulier *Candida tropicalis* peut mais rarement présenter une pseudofilamentation (Ghadi, 2010).

1.5.2.1.1.2. Test de chlamydosporulation :

Il consiste à ensemercer les levures en anaérobie 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 chlamydospores qui sont des spores globuleuses à paroi épaisse

signifie qu'il s'agit dans 95% à 100% des cas d'un *Candida albicans*. Par ailleurs s'il y a des pseudofilaments sans présence de chlamydospores, il s'agit d'une levure du genre *Candida* (Ghadi, A, 2010).

Ces deux tests ne permettent pas de différencier véritablement *Candida dubliensis* de *Candida albicans* et ont été avantageusement remplacés par des tests plus rapides et/ou spécifiques de l'espèce (Pihet et Marot, 2013).

1.5.2.1.1.3. Milieux de primo-isolement :

Des milieux de primo-isolement comportant des substrats fluorogènes ou chromogènes spécifique de *Candida albicans* ont été récemment proposés (Anane et Khalfallah, 2006).

1.5.2.1.1.3.1 *Albicans* ID (BioMérieux) :

Grâce à la présence d'un substrat chromogène, les colonies de *Candida albicans* obtenues après une incubation pendant 24 à 48 heures se colorent en bleu. La sensibilité de ce milieu est de 97,6 % et sa spécificité est de 90 % (Anane et Khalfallah, 2006).

1.5.2.1.1.3.2. *Candida* ID (BioMérieux) :

Au bout de 24 à 48 heures, les colonies de *Candida albicans* se colorent en bleu alors que celles de *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida kyfer* et de *Candida lusitaniae* se colorent en rose. Sa sensibilité varie de 94,9 à 95,5 et sa spécificité est comprise entre 95,7 et 100 % (Anane et Khalfallah, 2006).

1.5.2.1.1.3.3. CHROMagar *Candida* (Becton-Dickinson) :

Ce milieu contient un substrat chromogène permettant l'identification après 24 à 48 heures de *Candida albicans* (vert) ainsi que *Candida tropicalis* (bleu métallique) et *Candida krusei* (rose pâle) avec une sensibilité de 98,9 % et une spécificité de dépassant 99 % pour chacune de ces espèces (Anane et Khalfallah, 2006).

®

1.5.2.1.1.3.4 Fluoroplate *Candida* (Merck) :

Il est utilisé pour l'identification de *Candida albicans*. La révélation se fait grâce à la présence d'un substrat fluorescent après incubation pendant 24 à 48 heures. La sensibilité et la spécificité de ce milieu sont respectivement de 99,3 et 99,7 % (Anane et Khalfallah, 2006).

1.5.2.1.1.4 Étude de l'assimilation de sucre :

Dans l'éventualité où l'aspect et la coloration de la colonie ne permettent pas une identification précise de l'espèce, l'identification repose alors sur l'utilisation de galeries miniaturisées et standardisées. La galerie est composée de puits contenant des réactifs qui, une fois en contact avec l'échantillon, donneront une réaction colorée, spécifique des propriétés des espèces recherchées (assimilation de sucres) (Chambard, 2009).

Les galeries les plus utilisées sont présentées dans le **tableau VI**

Tableau VI : Galeries commercialisées pour l'identification des levures (Chambard, 2009).

Paramètres	<i>Api candida</i> (BioMérieux)	<i>Api 20C Aux</i> (BioMérieux)	<i>ID 32 C</i> (BioMérieux)	<i>Auxacolor</i> (BioRad)	<i>Fungichrom</i> (International microbio)	<i>Fungifast</i> (International microbio)
Nombre de caractère	12	19 + témoin (-)	24+7comp +témoin (-)	15+témoin (-)	15	14
Témoin (+) de glucose	Présent	Présent	Présent	Présent		
Actidione	Absent	Absent	Présent	Présent	Présent	Absent
Uréase	Present	Absent	Absent	Absent	Présent	Absent
Phénol-oxydase	Absent	Absent	Présent	Présent	Absent	Absent
Délai de lecture	18 à 24 heures	48 à 72 heures	48 à 72 heures	24 à 48 heures	24 heures	24 heures
Mode de lecture	Réaction colorées	Opacité	Automate ATB coloré	Indicateur coloré	Agent chromogène	Agent chromogène
Nombre d'espèces identifier	14	43	63	26	22	24

1.5.2.1.2. Test immunologique :

Ce test utilise des particules de latex rouges recouvertes d'un anticorps monoclonal qui réagit avec un antigène pariétal spécifique de *Candida albicans*. On obtient une réaction d'agglutination rouge sur fond vert. Ce test d'agglutination des particules de latex (Bichrolatex albicans®) est spécifique de *Candida albicans* (Chambard, 2009).

1.5.2.1.3. Test métabolique :

Trois dispositifs sont actuellement commercialisés : Murex *Candida albicans* (Murex Diagnostic), Albicans-Sure (Clinical Standard Laboratoires) et BactiCard *Candida* (RemelCO) (Anane et Khalfallah, 2006).

Les trois tests consistent en la recherche d'une double activité B-galactosaminidase et L-proline aminopeptidase, positive pour les seules colonies de *Candida albicans*. Les autres espèces peuvent présenter l'une ou l'autre des deux activités, mais pas les deux associées (Anane et Khalfallah, 2006).

1.5.2.2. Espèces non-*albicans* :

1.5.2.2.1. Réduction des sels de tétrazolium

Cette technique historique, pour laquelle aucun dispositif n'est commercialisé, repose sur la réduction du 2,3,5-triphényltétrazolium chloride incorporé dans le milieu de culture, en un produit insoluble coloré qui confère aux colonies de *Candida* une coloration allant du blanc au rouge, selon l'espèce (Anane et Khalfallah, 2006).

1.5.2.2.2 Tests immunologiques :

Ces tests qui sont réalisés à partir de colonies isolées, donnent un résultat en quelques minutes. Il s'agit encore de réactifs d'agglutination de particules de latex, tels le Krusei color® pour *C. krusei* et le Bichrodubli® pour *C. dubliniensis* (Fumouze Diagnostics) (Pihet et Marot, 2013).

Le *Candida Check*® (Iatron Laboratories) commercialisé depuis plusieurs décennies est un dispositif pour agglutination sur lame. Le réactif est constitué de plusieurs sérums de lapin rendus spécifiques, par un ensemble d'adsorptions, vis-à-vis de 10 facteurs antigéniques portés par certaines espèces de *Candida*. L'identification des 9 principales espèces de

Candida est obtenue après 2 à 3 minutes d'agitation (**Pihet et Marot, 2013**).

1.5.2.2.3 Tests enzymatiques :

Les colonies de *Candida glabrata* sont spécifiquement identifiées grâce au test Glabrata RTT[®] (Fumouze Diagnostics).

Ce dispositif, de réalisation simple, repose sur la capacité de *C. glabrata* à hydrolyser le tréhalose et pas le maltose. Il utilise une glucose-oxydase pour la mise en évidence du glucose formé à partir de chacun de ces deux carbohydrates (**Pihet et Marot, 2013**).

1.5.2.2.4. Tests biochimiques :

Dans l'éventualité où l'aspect et la coloration de la colonie ne permettent pas une identification précise de l'espèce, ou encore lorsque les tests rapides spécifiques s'avèrent négatifs, l'identification de la levure repose alors sur l'utilisation de galeries.

Un large panel de dispositifs miniaturisés et standardisés est commercialisé. La grande majorité de ces dispositifs repose sur l'étude de l'assimilation des carbohydrates (Auxanogramme) et de leur fermentation (Zymogramme).

Les caractères physiologiques obtenus avec certaines galeries peuvent parfois être identiques pour deux espèces différentes, c'est pourquoi l'identification du germe nécessite de prendre en compte également les caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques (**Pihet et Marot, 2013**).

1.6. Interprétation des résultats :

L'interprétation des résultats de la culture est délicate. Si toute culture positive à partir d'un prélèvement normalement stérile (LCR, LBA, urines et autres liquides biologiques, biopsies tissulaires...) témoigne d'une infection, en revanche le revêtement cutané ou les sites cavitaires peuvent être colonisés par des levures commensales. L'interprétation ne se fera qu'après identification de l'espèce et par la confrontation des données au contexte clinique (**Pihet et Marot, 2013**).

On s'attachera généralement à dénombrer les colonies de *Candida*. Ainsi, une candidurie supérieure à 10^4 CFU (nombre de colonies formant unité) par mL chez un patient non sondé est en faveur d'une infection urinaire. De même, la présence de plus de 10 colonies

de levures sur une culture de prélèvement vaginal, de 5 à 10 colonies par cm² de surface oropharyngée écouvillonnée, ou par mL de solution de rinçage buccal ou encore par gramme de selles est en faveur du caractère pathogène du *Candida* isolé **(Pihet et Marot, 2013)**.

En l'absence de biopsies, les hémocultures positives demeurent un critère indiscutable d'infection dans les candidoses systémiques. Leur sensibilité demeure cependant décevante (en général inférieure à 50 %), malgré l'amélioration des techniques et la mise au point de nouveaux milieux ; elle varie par ailleurs en fonction des espèces **(Pihet et Marot, 2013)**.

Ainsi, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* et *Candida parapsilosis* seraient détectées plus précocement que *Candida glabrata* et *Candida krusei* **(Pihet et Marot, 2013)**.

Il est à noter qu'en cas de candidose hépatosplénique, seulement 20 % des prélèvements sont positifs. C'est pourquoi il est important de répéter les prélèvements chez tout patient à risque, de préférence au moment des pics fébriles **(Pihet et Marot, 2013)**.

Le caractère pathogène de la levure doit souvent être discuté, lorsqu'elle est isolée de sites normalement colonisés par *Candida* (trachée, bouche, selles, vagin) ou dont les prélèvements peuvent être contaminés (LBA, urines). L'interprétation doit donc prendre en compte l'espèce isolée, l'intensité de la colonisation (culture pure et/ou abondante, isolement à plusieurs reprises d'une même espèce) ainsi que d'autres paramètres (ED positif et plus particulièrement la présence de filaments, ore bactérienne associée, traitement antérieur par antibiotiques ou antifongiques, aspects cliniques, terrain...) **(Pihet et Marot, 2013)**.

Au regard de la gravité des septicémies à *Candida*, il est indispensable de débiter le traitement antifongique précocement même en présence d'une seule hémoculture positive **(Pihet et Marot, 2013)**.

L'isolement de *Candida* dans les selles témoigne le plus souvent d'une simple colonisation. Celle-ci doit cependant être prise en compte dans la surveillance des patients à risque, en réanimation ou en oncohématologie. La présence de *Candida* dans une urine peut être fortuite et sa responsabilité dans le développement d'une infection urinaire ne sera démontrée que devant une culture pure et abondante, en l'absence de sonde. Les candiduries sont en effet fréquentes chez les patients porteurs d'une sonde urinaire **(Pihet et Marot, 2013)**.

La présence de levures dans un prélèvement des voies aériennes (expectoration,

aspiration bronchique ou LBA) est d'interprétation difficile et l'existence d'une mycose pulmonaire ne sera réellement affirmée que sur une culture de prélèvement biopsique, rarement réalisée en pratique (**Pihet et Marot, 2013**).

1.7. L'antifongigramme :

L'intérêt de ce test est d'étudier la sensibilité des souches de *Candida* isolées, aux différents antifongiques et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'une souche (**Ghadi, 2010**).

1.7.1. Indications :

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

- Levure isolée d'un prélèvement profond (hémoculture ou autre prélèvement) %
- Levure isolée d'une infection superficielle, en cas de récurrence ou d'échec thérapeutique
- Patients immunodéprimés ou soumis à une forte pression de sélection par des antifongiques utilisés en prophylaxie (risque de résistance secondaire) (**Pihet et Marot, 2013**). En ce qui concerne les candidoses superficielles récurrentes, il convient de vérifier au préalable la réalité de la résistance au traitement en s'assurant de la bonne observance de celui-ci, de l'absence de foyer(s) associé(s) et de pathologie(s) sous-jacente(s), ou encore du traitement du ou des partenaire(s) (**Pihet et Marot, 2013**).

1.7.2. Méthodes utilisées :

1.7.2.1. Méthode par diffusion :

Cette méthode est en tout point comparable à l'antibiogramme bactérien. Des disques imprégnés d'une concentration connue d'antifongique (Néosensitabs®, Eurobio) sont déposés à la surface d'une gélose préalablementensemencée par inondation ou par écouvillonnage. En fonction de la valeur du diamètre des zones d'inhibition de croissance, les souches de levures sont classées en sensibles, intermédiaires ou résistantes (**Pihet et Marot, 2013**).

Cette méthode permet une lecture à 24 heures, mais les différents paramètres doivent être scrupuleusement respectés et certains antifongiques de haut poids moléculaire diffusent mal dans la gélose, ce qui impose l'utilisation d'un milieu particulier (milieu Casitone pour

les azolés et les polyènes). Elle a en revanche l'avantage de bien mettre en évidence les résistances hétérogènes à la 5- fluorocytosine (5-FC) se caractérisant par la présence de micro-colonies dans la zone d'inhibition (**Pihet et Marot, 2013**).

1.7.2.2. Méthodes par dilution en milieu liquide ou semi-solide :

La macrométhode en tube initialement proposée par le CLSI a été miniaturisée, afin de simplifier son utilisation en routine. Les principales caractéristiques de cette technique sont rapportées dans le **tableau VII**.

Tableau VII: principales caractéristiques des techniques recommandées par le CLSI (ex- NCCLS) et l'EUCAST pour la détermination de la sensibilité aux antifongiques des levures (Makni et al.2010).

	CLSI(M27-A2)	EUCAST(E.DIS2002)
Milieu	RPMI - MOPS	RPMI - MOPS + glucose 2 %
Inoculum final	0,5-2,5 x 10 ³ CFU/mL	0,5-2,5 x 10 ⁵ CFU/mL
Incubation	48 à 35 °C	24 h à 35 °C
Lecture	Visuelle	Spectrophotométrique

La technique de l'EUCAST diffère de celle du CLSI par une supplémentation du milieu en glucose, un inoculum 100 fois supérieur et une incubation courte de 24 h. Les deux techniques présentent une bonne corrélation (**Pihet et Marot, 2013**).

Des tests commercialisés sous forme de galeries (Fungitest[®], Bio-Rad ; ATB[®] Fungus 3, bioMérieux) permettent de tester la sensibilité des *Candida*, dans des conditions très proches de celles des techniques de micro-dilution en milieu liquide. Ces galeries comportent plusieurs puits, dans lesquels est évaluée la croissance des levures en présence de différentes concentrations d'antifongiques. Le résultat obtenu permet de fournir une CMI (**Pihet et Marot, 2013**).

Ces tests d'utilisation simple sont rapides, reproductibles et automatisables, mais des erreurs de lecture peuvent être dues à une mauvaise standardisation de l'inoculum ou à une mauvaise homogénéisation des milieux. Les seuils de sensibilité (concentrations critiques) n'ont été établis que pour le fluconazole, l'itraconazole, le voriconazole et la 5-FC **tableau VIII (Pihet et Marot, 2013).**

Tableau VIII : Concentrations critiques (en µg/mL) recommandées par le CLSI pour *Candida* (Makni et al., 2010).

Molécule	sensible	Intermédiaire(ou sensible dose dépendante)	Résistance
5-FC	≤4	8 - 16	≥ 32
Fluconazole	≤8	16 - 32	≥ 64
Itraconazole	≤ 0,125	0,25 - 0,5	≥1
Voriconazole	≤1	2	≥4

1.7.2.3. Méthode par dilution-diffusion

La méthode E-test® (bioMérieux) repose sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini d'antifongique. Elle présente l'avantage, outre sa commercialisation qui est un gage de standardisation, d'être plus simple d'utilisation que les méthodes de dilution en milieu liquide. Elle permet la détermination quantitative des CMI sur des valeurs très étendues ; celles-ci sont lues directement sur l'échelle de la bandelette au point d'intersection avec l'ellipse de la zone d'inhibition (**fig 38**). Cette méthode présente une bonne corrélation avec celles du CLSI et de l'EUCAST et serait même supérieure pour la détection des résistances à l'Amphotéricine B (**Pihet et Marot, 2013**).

Le coût des bandelettes reste cependant assez élevé et il existe des difficultés de lecture, surtout pour les azolés, en présence de micro ou de macro-colonies au niveau des ellipses

d'inhibition (**Pihet et Marot, 2013**).

1.7.3. Interprétation de l'antifongigramme :

Selon la valeur de la CMI déterminée, les levures sont ainsi classées dans l'une des catégories cliniques suivantes : sensible, résistante ou intermédiaire. En présence de souches appartenant à ce dernier groupe et donc de sensibilité « dose-dépendante », il est nécessaire d'augmenter les posologies (**Pihet et Marot, 2013**).

L'évolution clinique sous traitement ne dépend cependant pas que de la sensibilité de la souche isolée aux molécules administrées. Il faut également tenir compte de facteurs liés à l'hôte (maladie sous-jacente, immunodépression, cathéter...) ainsi que des caractéristiques pharmacocinétiques de l'antifongique (posologies inadaptées, pénétration insuffisante au site de l'infection, interactions médicamenteuses...). Sensibilité *in vitro* n'est donc pas synonyme de succès thérapeutique (**Pihet et Marot, 2013**).

2. Examen histologique ou histopathologique :

Il consiste à rechercher les *Candida* dans les tissus. Il contribue au même objectif que l'examen direct de mycologie : objectiver la présence du champignon au sein même des lésions. Il apporte une donnée supplémentaire : la connaissance de la réaction de l'hôte vis-à-vis du champignon. Le produit pathologique issu de biopsies ou de ponctions, est fixé dans du formol ou du Bouin. Il fera l'objet de coupes et de colorations anatomopathologiques :

2.1. L'imprégnation argentique selon Gomori-Grocott :

Cette technique colore spécifiquement et de façon intense la paroi des champignons dans les tissus.

2.2. Le periodic-acid schiff (PAS) :

Il colore en rouge violet de façon non spécifique les éléments fongiques. Il est bien adapté au diagnostic des levures.

2.3. L'hématéine-éosine-safran (HES) :

Cette coloration est particulièrement indiquée pour étudier la réaction de l'hôte à la présence du parasite (**El Hassani, 2013**).

3. Diagnostic immunologique indirect :

Chez les patients suspects de développer une candidose profonde ou systémique, l'isolement des levures n'est pas toujours possible en raison des difficultés de recours à des procédures invasives. L'insuffisance de prélèvements profonds a donc conduit au développement de méthodes immunologiques permettant la mise en évidence de marqueurs d'infection fongique invasive, anticorps sériques ou antigènes circulants (**Pihet et Marot, 2013**).

3.1. Recherche d'antigènes circulants

Différents métabolites ou antigènes peuvent être recherchés dans le sérum ainsi que dans d'autres liquides biologiques (urines, liquide céphalo-rachidien, liquide de lavage broncho-alvéolaire). Cependant, leur concentration est habituellement très faible et le caractère transitoire de leur passage dans la circulation sanguine limite leur détection (**Pihet et Marot, 2013**).

3.1.1. D-arabinitol :

Le D-arabinitol est un pentose produit par toutes les espèces de *Candida*, sauf *Candida glabrata* et *Candida krusei*. La détermination du ratio D-arabinitol (d'origine fongique) /L-arabinitol (d'origine humaine) dans les urines s'est avérée être un excellent marqueur de candidose profonde. Son dosage est possible par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Un kit plus adapté à l'activité d'un laboratoire de routine hospitalière a été récemment développé. Il repose sur un dosage enzymatique avec détection fluorimétrique (**Pihet et Marot, 2013**).

Dans la majorité des études, le D-arabinitol, qu'il soit dosé dans les urines ou le sérum, s'est avéré être un marqueur intéressant de candidose profonde, tant dans le diagnostic initial que dans le suivi thérapeutique. Ce test prometteur n'est cependant pas disponible en France (**Pihet et Marot, 2013**).

3.1.2. Mannanes :

Les mannanes représentent les antigènes majeurs de la paroi des *Candida*. Trois tests sont actuellement commercialisés. Les antigènes complexés sont préalablement libérés après traitement préalable des échantillons par chauffage à 100 °C, en présence d'EDTA ou encore par des protéases (**Pihet et Marot, 2013**).

3.1.2.1. Le test Pastorex[®] *Candida* (Bio-Rad) :

Consiste en l'agglutination de particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal dirigé contre une séquence oligomannosidique particulière présente sur les mannanes libérés de la paroi de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida glabrata*, *Candida kefyr*, *Candida stellatoïda* et de façon inconstante de *Candida krusei*, *Candida kefyr* et *Candida parapsilosis*. Ce test semi-quantitatif, bien que très spécifique et permettant d'apporter une réponse rapide, est peu utilisé en raison de sa faible sensibilité (seuil de détection de l'ordre de 2,5 ng/mL) (Pihet et Marot, 2013).

3.1.2.2. Le kit Platelia[®] *Candida* Ag (Bio-Rad) :

Détecte les mannanes par technique ELISA, avec une sensibilité analytique entre 2,5 ng et 0,1 ng/mL, tandis que la sensibilité clinique du test est de l'ordre de 50 %. Ce test automatisable est adapté au suivi régulier des patients à risque. Comme pour le précédent test, les espèces non-*albicans* (notamment *C. krusei*, *C. kefyr* et *C. parapsilosis*) sont moins bien détectées. Ce test a récemment été modifié (Platelia[®] *Candida* Ag-Plus) afin d'augmenter sa sensibilité. Toutefois, un certain nombre de faux positifs a été rapporté chez des patients présentant une candidose superficielle (Pihet et Marot, 2013).

3.1.2.3. Le test Serion ELISA antigen *Candida*[®] (Virion/Serion) :

Également basé sur la détection des mannanes circulants par technique ELISA. Chez les patients atteints de candidose profonde, la détection des mannanes peut se positiver plusieurs jours avant l'isolement de *Candida* à partir d'un prélèvement de site stérile. Cependant, ce polysaccharide est retrouvé de façon transitoire dans le sérum. Ceci impose un suivi sérologique régulier des patients à risque, avec des prélèvements répétés. La recherche de mannanes circulants est surtout intéressante lorsqu'elle est réalisée de manière répétée et couplée à la recherche d'anticorps anti-mannanes. En effet, une mannanémie positive contraste souvent avec des taux d'anticorps faibles, tandis que la persistance d'une mannanémie en l'absence d'une apparition des anticorps anti-mannanes serait associée à un mauvais pronostic (Pihet et Marot, 2013).

La détection combinée des anticorps anti-mannanes et des mannanes circulants, associée à la répétition des prélèvements, est une approche qui a démontré son intérêt en termes de sensibilité et de précocité du diagnostic. Plus de 80 % des épisodes infectieux

causés par *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida tropicalis*, espèces responsables de 90 % des candidoses profondes, peuvent ainsi être détectés lors de ce double suivi. Les tests Platelia[®] permettraient ainsi de réaliser un diagnostic en moyenne 4 jours avant la positivité de l'hémoculture (Pihet et Marot, 2013).

3.1.3. β (1,3)-D glucanes :

D'autres tests, plus récemment développés, reposent sur la détection des β (1,3)-D glucanes. Ces polysaccharides sont, avec la chitine, des composants majeurs de la paroi des *Candida* mais aussi de la plupart des levures et champignons filamenteux, à l'exception des cryptocoques et des zygomycètes. En cas d'infection fongique invasive (infections à *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Pneumocystis*...), les β (1,3)-D glucanes sont libérés dans la circulation. Ils seraient détectables en moyenne 10 jours avant l'apparition des premiers signes cliniques. Cependant, de nombreuses causes de fausses positivités ont été rapportées, liées notamment à des infections bactériennes, à l'administration d'antibiotiques, de facteurs de la coagulation ou d'immunoglobulines. Dans une méta-analyse récente, la sensibilité de la détection des β (1,3)-D glucanes chez les patients d'oncohématologie ne dépassait pas 50 %, en prenant en compte 2 tests positifs consécutifs. La recherche des β (1,3)-D glucanes a été incluse en 2008 dans les nouveaux critères diagnostiques de l'EORTC (European organisation for research and treatment of cancer), mais l'expérience avec ces tests reste pour l'instant limitée. Il n'y a actuellement pas de recommandations officielles quant à la périodicité des prélèvements, ni pour le choix du seuil ou l'utilisation sur d'autres liquides biologiques que le sérum. Certains auteurs recommandent de combiner la recherche de ces marqueurs panfongiques avec la détection des mannanes, voire avec la PCR, afin d'augmenter la sensibilité diagnostique des tests. Cette stratégie doit cependant être validée, en raison du coût important des différentes techniques (Pihet et Marot, 2013).

Quatre tests sont actuellement commercialisés : Fungitell[®] (Associates of Cape Cod, USA), Fungitec-G[®] (Seikagaku Corporation, Japon), Wako[®] et Maruha[®] (Japon), mais seul le premier est disponible en Europe (distribué en France par la société Biogenic). Ces kits diffèrent par la source du substrat, c'est-à-dire l'origine du lysat d'amœbocyte de *Limule* ; chaque test possède ainsi son propre seuil. Le test Fungitell[®] dérive du *Limulus* test, qui a été développé initialement pour la mise en évidence d'endotoxines bactériennes. Il permet la détection en microplaque des β (1,3)-D glucanes via l'activation du facteur G, enzyme de

coagulation présente dans le lysat d'amœbocytes de la limule *Limulus polyphemus*. Son seuil de positivité est fixé entre 60 et 80 pg/mL. La valeur prédictive négative élevée de ce test incite à le recommander dans le cadre d'un diagnostic d'exclusion (**Pihet et Marot, 2013**).

3.2. Recherche d'anticorps sériques anti-*Candida* :

Les tests actuellement commercialisés en France sont listés ci-après.

3.2.1. L'immunofluorescence indirecte (IFI) :

Utilise des blastospores de *C. albicans* (souche VW32), qui sont déposées sur des lames de verre prêtes à l'emploi (*Candida*-Spot IF[®], bioMérieux) (**Chambard, 2009**).

3.2.2. L'hémagglutination indirecte (HAI) :

Détecte préférentiellement des anticorps de type IgG ou IgM (*Candidose Fumouze*[®], Fumouze Diagnostics) (**Chambard, 2009**).

3.2.3. L'ELISA :

Recherche des anticorps dirigés contre les mannanes pariétaux (*Platelia*[®] *Candida* Ab, Bio-Rad ; *Serion*[®] ELISA classic *Candida albicans* IgG/IgM/IgA, Virion/Serion). Ce dernier permet une quantification plus large des immunoglobulines dirigées contre *C. albicans* (**Chambard, 2009**).

3.2.4. L'immunoélectrophorèse (IEP) et l'électrosynérèse (ES) :

Détectent des anticorps précipitants (antigènes de *C. albicans*, Bio-Rad) et permettent une appréciation semi-quantitative (nombre d'arcs et intensité). Il est ainsi possible de juger de l'évolution du titre d'anticorps chez un patient en faisant migrer côte-à-côte différents sérums conjointement à un sérum de référence. Ces différentes techniques font appel à des antigènes solubles (HAI, IEP, ES, ELISA) ou figurés (IFI). On distingue classiquement les techniques de dépistage (IFI, HAI et ELISA) des techniques de confirmation (IEP, ES). Comme dans les autres approches sérologiques, la positivité d'une technique de dépistage devra être vérifiée par une technique de confirmation. Il est par ailleurs recommandé d'associer au moins deux techniques, l'interprétation des résultats étant souvent délicate. D'abord, en raison du caractère commensal de *Candida*, il peut être difficile de distinguer

colonisation et infection. Cependant, si un patient porteur sain de *Candida* ou présentant une candidose superficielle peut présenter un taux faible d'anticorps, des taux élevés en technique ELISA ne sont en pratique jamais retrouvés chez des patients simplement colonisés. D'autre part, la sérologie *Candida* apparaît peu contributive chez des patients immunodéprimés. Les patients présentant une neutropénie doivent être suivis sérologiquement dès leur admission et au sortir de la neutropénie, en complément de la recherche d'antigènes circulants.

L'utilisation optimale des tests exige en effet une détermination bihebdomadaire du titre d'anticorps et requiert un suivi en PCR (Polymerase Chain Reaction). Elle permet de caractériser les espèces, sous espèces voir les sous types au sein d'une même espèce (Chambard, 2009).

3.2.5. Amplification au hasard avec l'utilisation d'ADN cibles :

Elle permet d'établir des cartes génétiques et de comparer des organismes entre eux. Ces méthodes sont souvent utilisées dans les études épidémiologiques des infections nosocomiales afin de retrouver l'origine de la contamination (Chambard, 2009).

4. Biologie moléculaire :

Les techniques d'identification classiques des levures pathogènes ne sont parfois pas suffisantes et comportent des limites comme leur manque de sensibilité, de spécificité et de rapidité. En mycologie, les techniques de biologie moléculaire sont utilisées dans le but de confirmer un diagnostic. Elles sont extrêmement précises et rapides, mais leur coût est très élevé. Pour cela, elles sont utilisées dans les centres de référence et ne sont pas encore adaptés aux laboratoires polyvalents.

Toutes ces techniques nécessitent au préalable, l'extraction d'ADN et sa digestion par des enzymes de restriction. Ensuite, les fragments d'ADN sont étudiés par différentes méthodes :

- Obtention de caryotypes par électrophorèse
- Fabrication de sondes spécifiques ou typage
- Amplification spécifique de séquences nucléotidiques (Polymerase Chain Reaction).

Elle permet de caractériser les espèces, sous espèces voir les sous types au sein d'une même espèce.

- Amplification au hasard avec l'utilisation d'ADN cibles. Elle permet d'établir des cartes génétiques et de comparer des organismes entre eux. Ces méthodes sont souvent utilisées dans les études épidémiologiques des infections nosocomiales afin de retrouver l'origine de la contamination (**Chambard, 2009**).

Chapitre III

Matériels et Méthodes

Type d'étude :

L'étude faisant l'objet de ce travail est une étude prospective sur le diagnostic des candidoses au niveau du laboratoire de microbiologie-parasitologie de l'EPH de Ain El Hammam. Un total de 966 prélèvements a été collecté sur une période de trois mois, du 1 avril au 31 juillet de l'année 2018, dont le but est d'atteindre les objectifs suivants :

Objectifs :

Faire le diagnostic des candidoses superficielles et profondes en identifiant le genre *Candida* dans les prélèvements effectués.

Identifier les différentes espèces du genre *Candida* et conclure l'espèce la plus fréquente en pathologie humaine.

1. Matériels :**1.1. Matériel humain :**

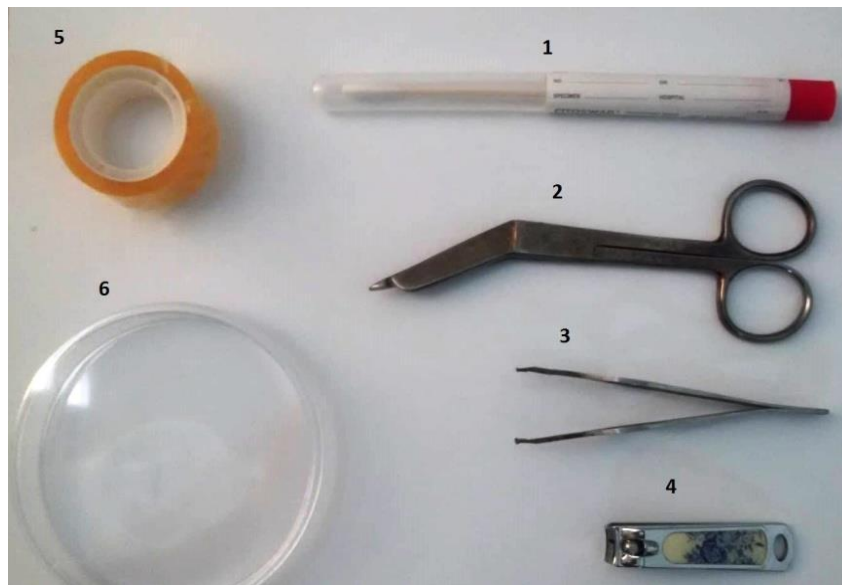
Les sujets inclus dans cette étude sont des patients, de différentes tranches d'âge. Ces malades sont soit hospitalisés au niveau des différents services de l'EPH de AEH à citer : le service de la médecine femmes, médecine hommes, chirurgie femmes, chirurgie hommes, pédiatrie, gynécologie, hémodialyse et traumatologie. Soit des externes adressés à partir des médecins de l'EPH ou d'autres centres de santé, pour un prélèvement et un diagnostic mycologique, devant une suspicion de maladie fongique.

1.2. Matériel biologique :

Prélèvement vaginaux, urines, pus, selles, hémoculture, LCR.

1.3. Matériel du laboratoire :**1.3.1. Prélèvements :**

Le matériel utilisé dans le cadre de ce travail pour les prélèvements est le suivant (Fig. 41) :



- | | |
|--------------------|---------------------|
| 1. Ecouvillon. | 4. Pince à ongle. |
| 2. Ciseaux. | 5. Scotch. |
| 3. Pince à épiler. | 6. Boite de pétrie. |

Figure 41 : Matériels utilisés pour les prélèvements au laboratoire (Messouci et Mohammedi)

Le matériel utilisé dans le cadre de ce travail pour la culture est le suivant (Fig. 42) :

1.3.2. Culture :



- | | |
|---------------------|--|
| 1. Anse de platine. | 4. Tube de gélose Sabouraud chloramphénicol. |
| 2. Pipette pasteur. | 5. Etuve. |
| 3. Tube sec. | 6. Bec benzène |

Figure 42 : Matériels utilisés pour la culture (Messouci et Mohammedi)

1.3.3. Lecture :

Le matériel utilisé dans le cadre de ce travail pour la lecture des résultats est le suivant (Fig. 43) :



1. Microscope optique.

2. Lame.

3. Lamelle.

4. Eau physiologique.

5. Hydroxyde de potassium KOH.

Figure 43 : Matériels utilisés pour la lecture (Messouci et Mohammadi)

2. Méthode :

Nous n'avons pu effectuer de prélèvements au niveau du laboratoire de microbiologie-parasitologie de l'EPH de AEH vu que ces derniers ont été effectués au niveau des différents services.

Nous avons accompagné chaque prélèvement que l'on a reçu au niveau du laboratoire d'une fiche de renseignement contenant toutes les informations sur le patient et le prélèvement. (Voir annexe). Les paramètres suivants ont été enregistrés : date de l'examen, nom, prénom et numéro du patient, âge (adulte ou enfant), sexe, service, renseignements cliniques, examen direct et culture.

Une fois le prélèvement arrivé au laboratoire, nous avons suivi les différentes étapes du diagnostic mycologique à savoir : L'examen direct, la mise en culture et l'identification.

Après la manipulation des prélèvements, nous avons trouvé des résultats que nous avons discutés par la suite. Sachant que la lecture a été assisté par un spécialiste.

2.1. Examen direct : (Figs. 44, 45 et 46)

Urine :

1. Nous avons prélevé quelques gouttes d'urine à l'aide d'une pipette pasteur.
2. Nous avons mis une goutte entre lame et lamelle.
3. On a observé au microscope optique au grossissement G10x10 puis G40x10.

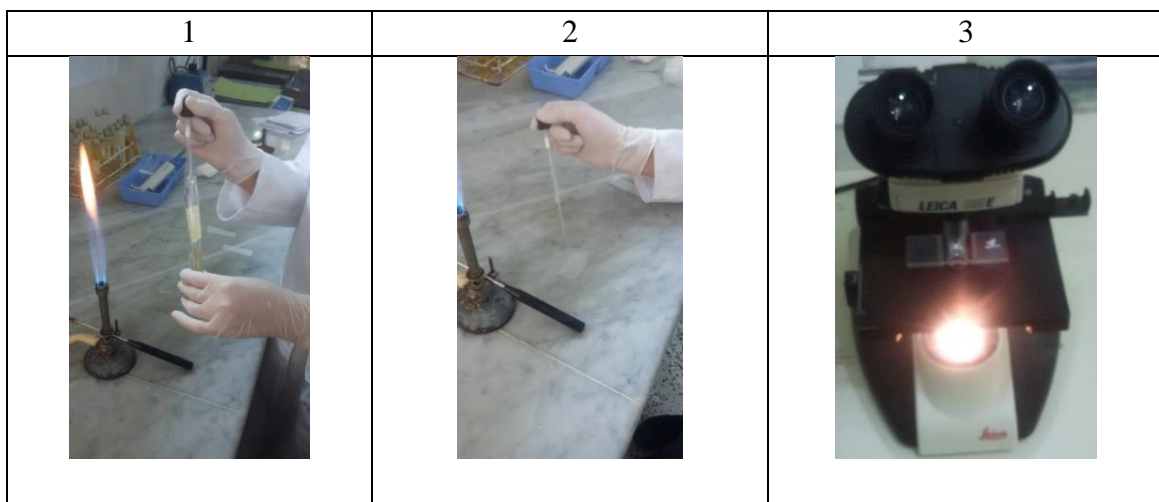


Figure 44 : Les étapes de l'examen direct des urines (Messouci et Mohammedi)

Ecouvillons :

- **Prélèvement vaginal :**

1. Nous avons ajouté de l'eau physiologique stérile à l'écouvillon.
2. Nous avons agité à l'aide d'un agitateur.
3. Nous avons mis une goutte entre lame et lamelle.
4. Nous avons observé au microscope optique au grossissement G10x10 puis G40x10.

- **Pus d'abcés :**

1. Nous avons ajouté de l'eau physiologique stérile a l'écouvillons.
2. Nous avons agité à l'aide d'un agitateur.

3. Nous avons mis une goutte entre lame et lamelle.
4. Nous avons observé au microscope optique au grossissement G10x10 puis G40x10.

LCR :

1. Nous avons mis une goutte entre lame et lamelle.
2. Nous avons ajouté la coloration MGG
3. Nous avons observé au microscope optique au grossissement G10x10 puis G40x10

2.2. Culture :**Urine :**

1. Nous avons stérilisé l'anse à l'aide d'un bec benzène.
2. Nous avons ensemencé sur milieu Sabouraud.
3. Nous avons incubé à 37°C pendant 24h à 10jours

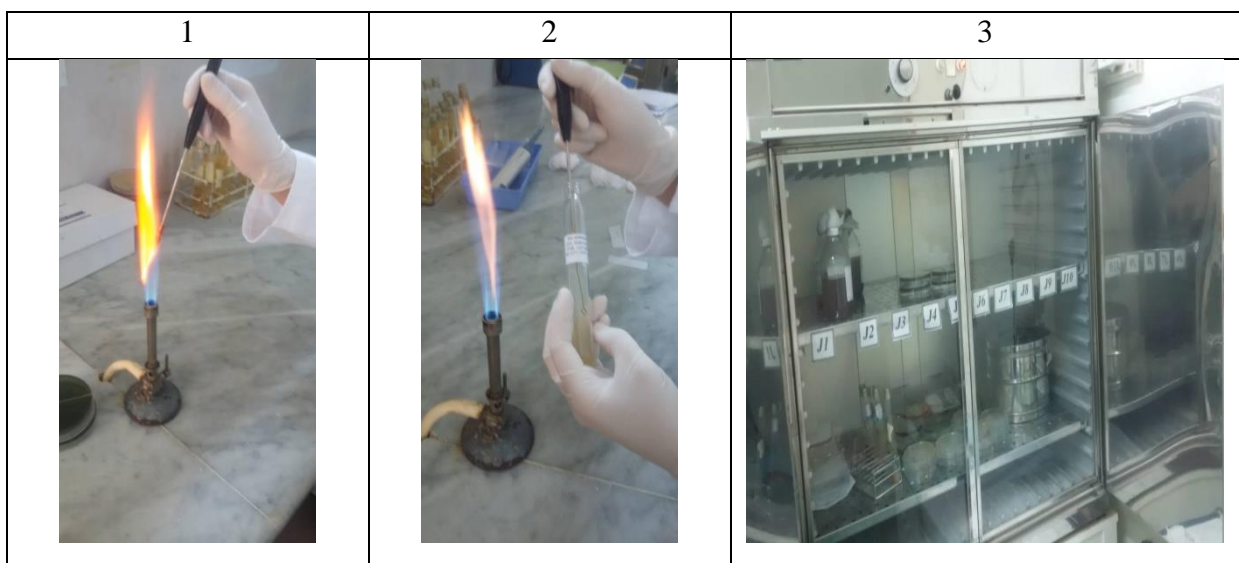


Figure 45 : les étapes de la culture des urines (Messouci et Mohammedi)

Ecouvillons :**• Prélèvement vaginal :**

1. Nous avons ajouté de l'eau physiologique stérile à l'écouvillon.
2. Nous avons agité à l'aide d'un agitateur.

3. Nous avons ensemencé à l'aide de l'anse sur milieu Sabouraud.
4. Nous avons incubé à 37°C pendant 24h à 10 jours.

- **Pus d'abcés :**

1. Nous avons ajouté de l'eau physiologique stérile a l'écouvillons.
2. Nous avons agité à l'aide d'un agitateur.
3. Nous avons ensemencé à l'aide de l'anse sur milieu Sabouraud.
4. Nous avons incubé à 37°C pendant 24h à 10 jours.

LCR :

1. Nous avons mis une goutte entre lame et lamelle.
2. Nous avons ajouté la coloration MGG
3. Nous avons observé au microscope optique au grossissement G10x10 puis G40x10.



Figure 46 : Colonies de *Candida albicans* sur milieu de Sabouraud (Messouci et Mohammedi)

2.3. Identification :**2.3.1. Aspect macroscopique :**

Nous avons observé l'aspect des colonies : la couleur, la forme, le nombre, le diamètre.

2.3.2. Aspect microscopique :

Après la pousse :

1. Nous avons préparé une suspension de levure.
2. Nous avons déposé une goutte entre lame et lamelle.

3. Nous avons observé au microscope optique au grossissement G10x10 puis G40x10.

2.3.3. Test de blastèse (Fig. 47) :

1. Nous avons mis dans un tube sec 500 ml du sérum humain.
2. Nous avons ajouté quelques gouttes de la suspension.
3. Nous avons agité à l'aide d'un agitateur.
4. Nous avons incubé à 37° C pendant 3 heures.
5. Nous avons mis une goutte entre lame et lamelle.
6. Nous avons observé au microscope optique au grossissement G10x10 puis G40x10.

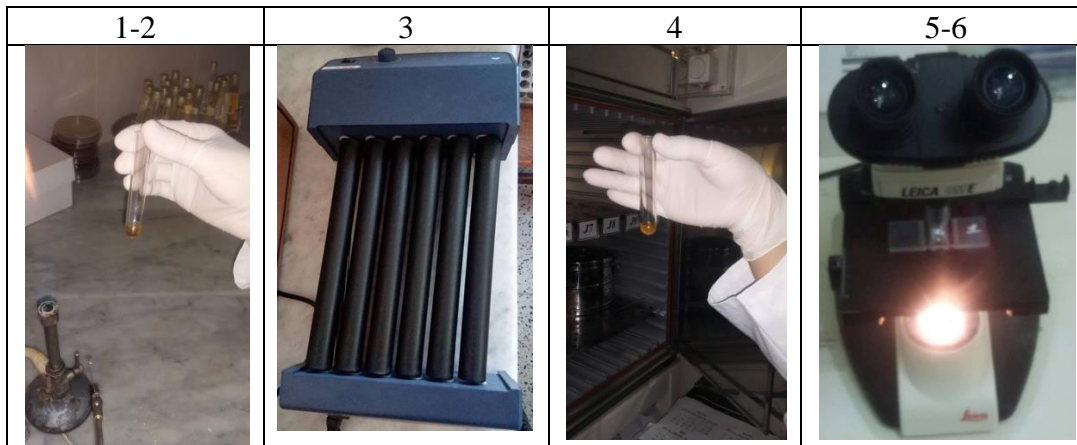


Figure 47 : Réalisation du Test de blastèse (Messouci et Mohammedi)

2.3.4. Test d'assimilation de sucre (Fig. 48) :

1. Nous avons préparé une suspension de levure et on a mis à l'aide d'une micropipette 100 µl de cette suspension dans chaque cupule.
2. La lecture se fait en 24 à 48h.



Figure 48 : Galerie apicolor (Messouci et Mohammedi)

Chapitre VI : Résultats



1. Les résultats mycologiques :

1.1. L'effectif des prélèvements diagnostiqués :

Sur 966 prélèvements reçus au niveau du laboratoire de microbiologie-parasitologie 45 ont été positifs. Les résultats de l'effectif des prélèvements diagnostiqués sont présentés dans le **tableau IX** et la **figure 49**.

Tableau IX : L'effectif des prélèvements diagnostiqués.

	Effectifs	Pourcentage
Prélèvements positifs	45	4.66%
Prélèvements négatifs	921	95.34%
Total	966	100%

L'examen **du tableau IX** et de la **figure 49** permettent de constater que le taux des prélèvements positifs a été de 4,66 %.

Candida est un genre de levure cosmopolite, peu exigeant, commensal de la peau, des muqueuses et des phanères.

Plus de deux cents espèces ont été décrites mais seulement une dizaine pouvant être impliquée dans un processus pathologique lorsque le fragile équilibre entre la levure et l'organisme est rompu.

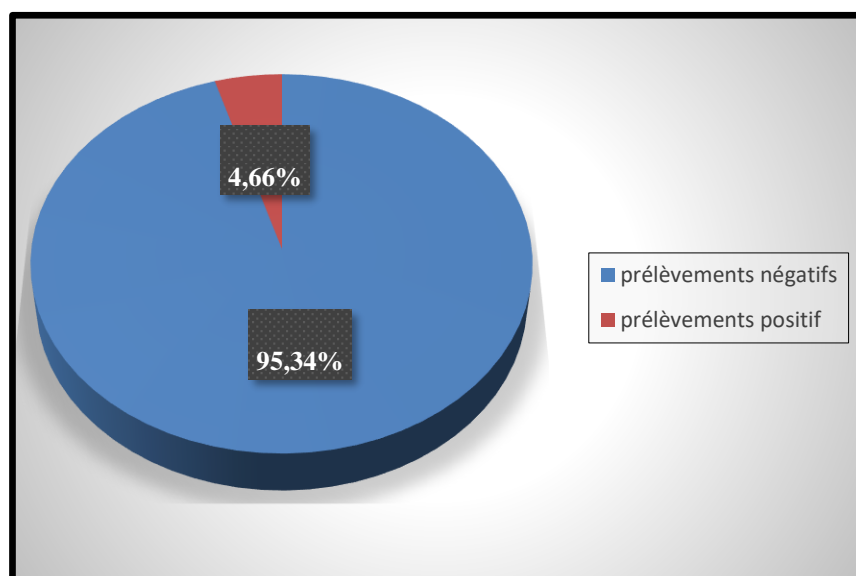


Figure 49 : Effectif des prélèvements diagnostiqués

1.2. Les espèces de *Candida* isolées dans les prélèvements diagnostiqués :

Tous les prélèvements positifs sont dus à l'espèce *Candida albicans*.

Les résultats des espèces de *Candida* isolées dans les prélèvements positifs sont représentés dans le **tableau X et la figure 50**

Tableau X : Les espèces de *Candida* isolées dans les prélèvements diagnostiqués.

	Effectifs	Pourcentage
<i>Candida albicans</i>	45	100%
<i>Candida sp</i>	00	00%
Total	45	100%

Candia albicans est l'espèce la plus fréquemment retrouvée chez l'Homme. Il s'agit d'une levure cosmopolite, commensale et opportuniste.

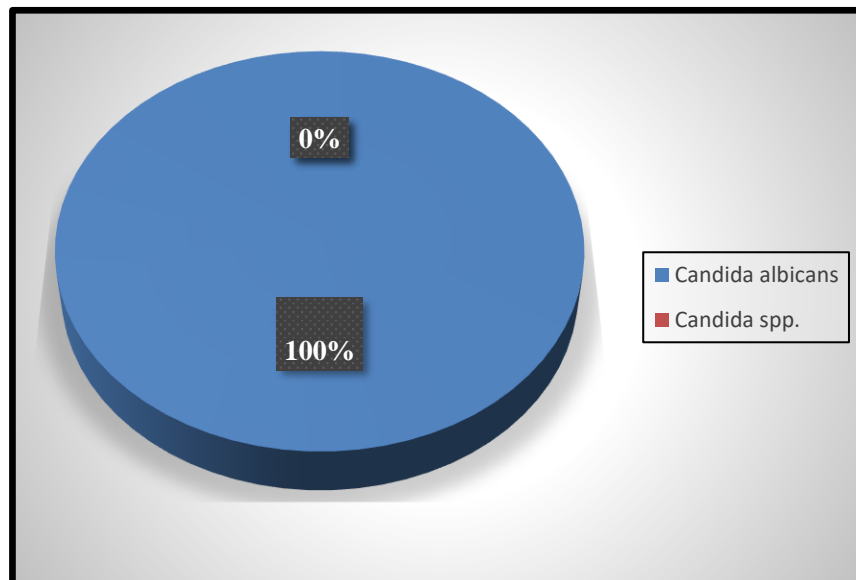


Figure 50 : Secteur représentant les espèces de *Candida* isolés dans les prélèvements Diagnostiqués

1.3. Fréquence de *Candida albicans* selon la localisation superficielle et profonde :

Tous les prélèvements positifs sont prélevés des sites superficiels.

Les résultats de la fréquence de *Candida albicans* selon le site de la localisation sont représentés dans le **tableau XI et la figure 51**

Tableau XI : Fréquence de *Candida albicans* selon la localisation superficielle et profonde :

	Effectifs	Pourcentage
Superficielle	45	100%
Profonde	00	00%
Total	45	100%

Le *Candida* est un genre commensal des orifices naturels (tube digestif humain, voies génitales...).

Les candidoses profondes ne surviennent qu'en présence de terrains favorisant (personnes immunodéprimés).

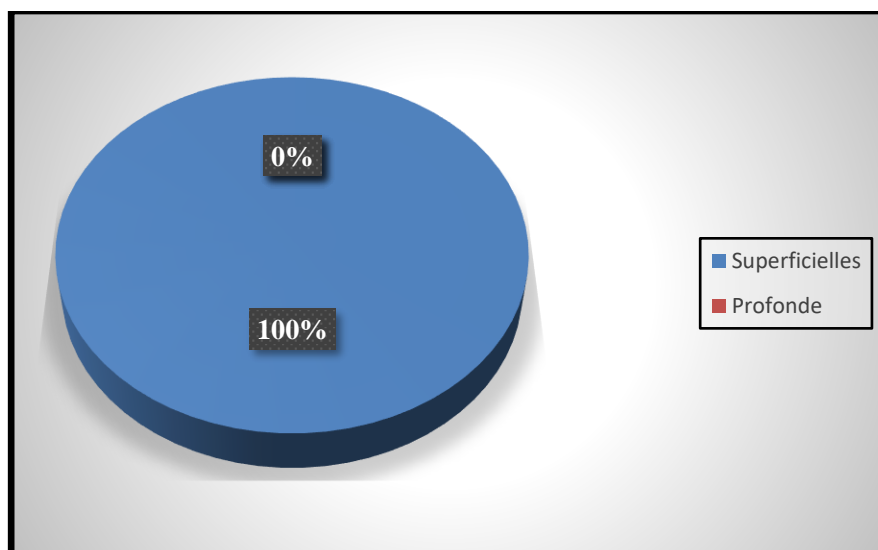


Figure 51 : secteur représentant la fréquence des *Candida* selon la localisation Superficielle et profonde :

3.1.4. Fréquence des *Candida albicans* selon le site de prélèvement superficiel :

Sur 45 prélèvements superficiels positifs.

Les résultats de la fréquence des *Candida* selon le site de prélèvement superficiel sont représentés dans le **tableau XII et la figure 52**

Tableau XII : Fréquence de *Candida albicans* selon le site de prélèvement superficiel

	Effectif	Pourcentage
Urine	08	17.78%
Prélèvement vaginal	37	82.22%
Total	45	100%

L'examen du tableau XII et de la figure 52, permettent de noter que le taux le plus important de *Candida albicans* se retrouve dans les prélèvements vaginaux, soit 82,22 %. En effet, il s'agit d'un commensal des voies génitales de l'Homme.

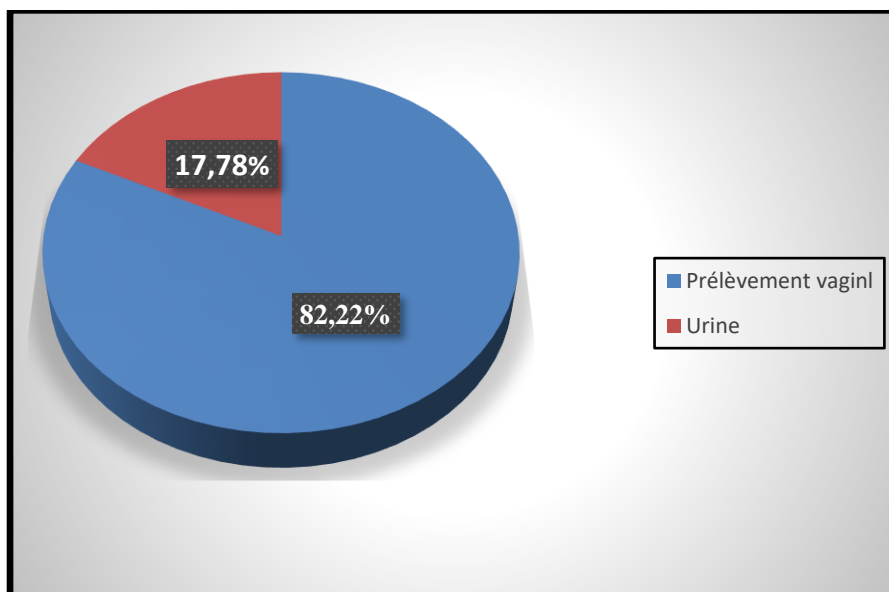


Figure 52 : Secteur représentant la fréquence de *Candida albicans* selon le site de prélèvement superficiel

2. Les résultats démographiques :

2.1. Fréquence des prélèvements positifs à *Candida albicans* selon l'âge :

Les résultats des prélèvements positifs à *Candida albicans* selon l'âge sont présentés dans le **tableau XIII** et la **figure 53**.

Tableau XIII : Fréquence des prélèvements positifs à *Candida* selon l'âge.

	Effectifs	Pourcentage
Enfants	1	2.22%
Adultes	44	97.78%
Total	45	100%

L'examen du tableau XIII et de la figure 53, permettent de constater que sur les 45 prélèvements positifs à *Candida albicans*, 44 sont prélevés chez les adultes et seulement 1 chez les enfants.

Les adultes sont plus exposés à plusieurs facteurs favorisant les candidoses tels que l'humidité, la macération et la transpiration en plus de l'activité sexuelle et de la grossesse.

Les maladies telles que le diabète et la prise de médicaments affaiblissant le système immunitaire tels que les corticoïdes et les immunosuppresseurs sont également fréquentes chez les adultes.

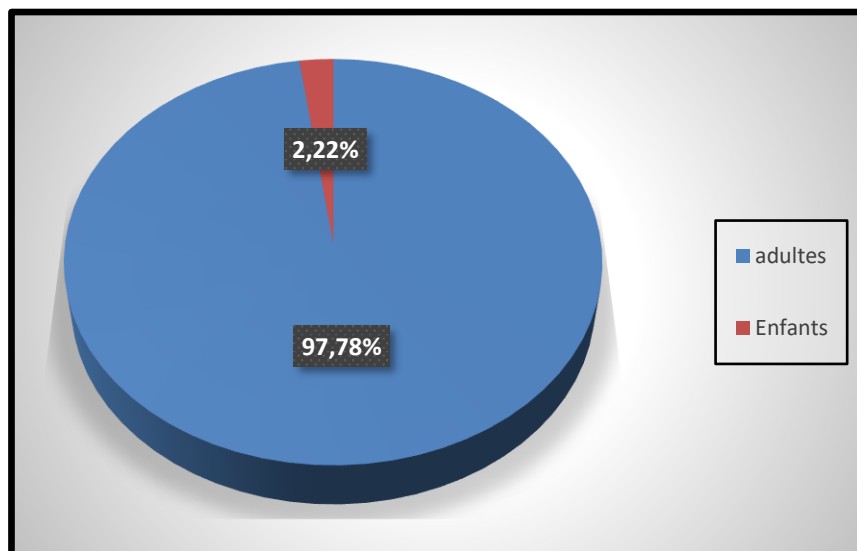


Figure 53 : Secteur représentant la fréquence des prélèvements positifs à *Candida* selon l'âge

2.2. Fréquence des prélèvements positifs à *Candida albicans* selon le sexe :

Les résultats des prélèvements positifs à *Candida albicans* selon le sexe sont présentés dans le **tableau XIV** et la **figure 54**.

Tableau XIV : Fréquence des prélèvements positifs à *Candida albicans* selon le sexe.

	Effectifs	Pourcentage
Femme	44	97.78%
Homme	1	2.22%
Total	45	100%

L'examen du tableau XIV et de la figure 54, permettent de constater que sur les 45 prélèvements positifs à *Candida albicans*, 44 sont prélevés chez les femmes et seulement 1 chez les hommes.

Les femmes sont plus exposées aux principaux facteurs de risque locaux : contacts répétés avec l'eau et les produits d'entretien. La grossesse et les contraceptifs oraux sont également des facteurs favorisant.

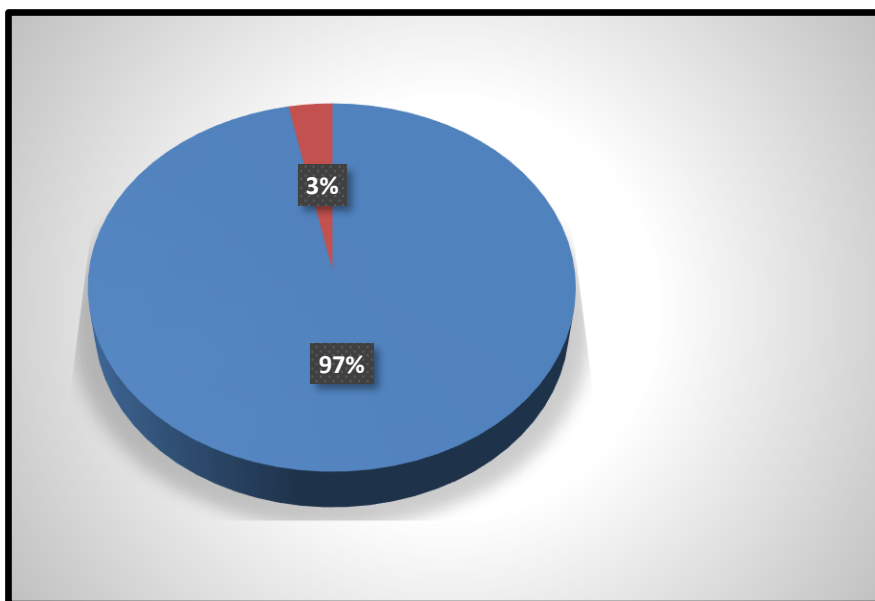


Figure 54 : Secteur représentant la fréquence des prélèvements positifs à *Candida albicans* selon le sexe.

2.3. Fréquence des prélèvements internes positifs à *Candida albicans* par rapport aux externes :

Les résultats des prélèvements internes positifs à *Candida albicans* par rapport aux externes sont présentés dans le **tableau XV** et la **figure 55**.

Tableau XV : Fréquence des prélèvements internes positifs à *Candida albicans* par rapport aux externes :

	Effectifs	Pourcentage
Internes	32	71.11%
Externes	13	28.89%
Total	45	100%

L'examen du tableau XV et de la figure 54, permettent de constater que sur les 45 prélèvements positifs à *Candida albicans*, 13 appartiennent aux patients externes (28,89 %) et 32 (71,11 %) aux patients internes.

Les patients hospitalisés sont exposés aux différents facteurs de risque de candidose à savoir l'antibiothérapie à large spectre, les traitements chirurgicaux et accès vasculaire (Cathéter et sondes).

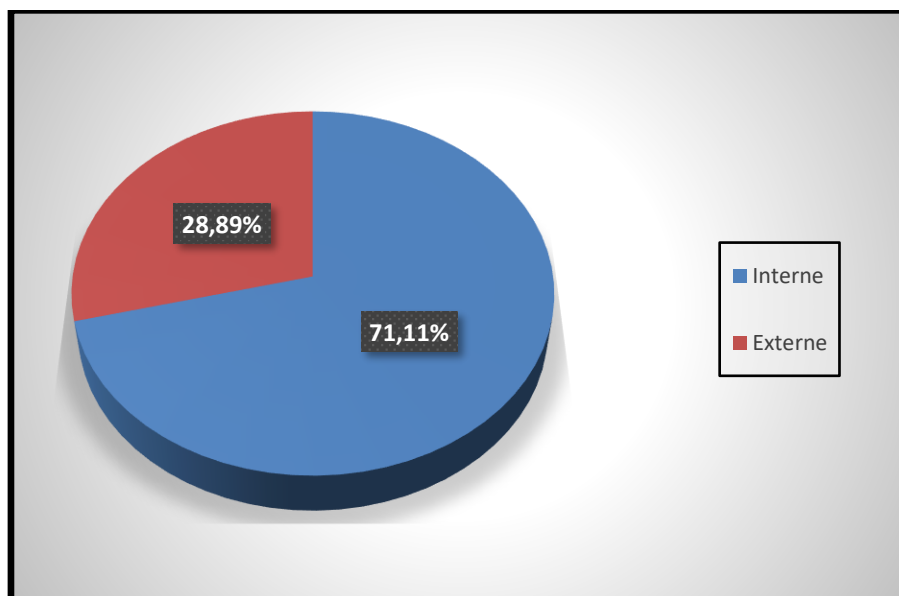


Figure 55 : Secteur représentant la fréquence des prélèvements internes positifs à *Candida albicans* par rapport aux externes :

2.4. Fréquence des prélèvements positifs à *Candida albicans* selon le service de provenance :

Les résultats des prélèvements positifs à *Candida* selon le service de provenance sont représentés dans le **tableau XVI** et la **figure 56**.

Tableau XVI : Fréquence des prélèvements positifs à *Candida albicans* selon le service de provenance.

	Effectif	Pourcentage
Pédiatrie	01	3.13%
Médecine femmes	05	15.63%
Gynéco-maternité	26	81.25%
Total	32	100%

L'examen du tableau XV et de la figure 54, permettent de constater que sur les 32 prélèvements internes positifs à *Candida albicans*, 26, soit 81,25 % ont été prélevés du service de gynécologie, 5, soit 15,63 % du service de la médecine femmes et seulement 1, soit 3% du service pédiatrie.

Les femmes enceintes sont plus exposées pendant leur grossesse à cause de leur vulnérabilité.

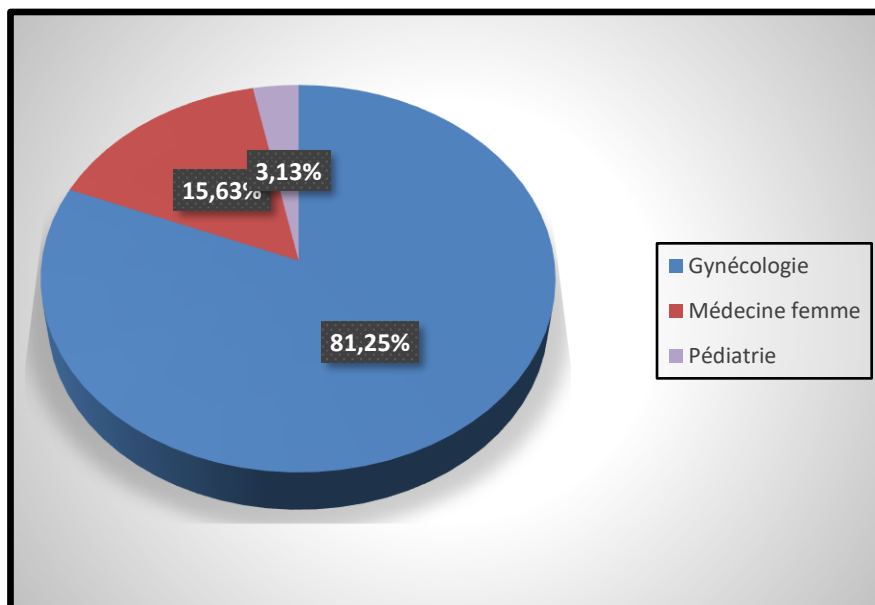


Figure 56 : Secteur fréquence des prélèvements positifs à *Candida* selon le service.

Chapitre V : Discussion

Discussion

Au cours de notre étude effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie-parasitologie de l'EPH de Ain El Hammam, nous avons obtenu un pourcentage de 4,66% de prélèvements positifs. Ceci est différent de celui trouvé dans l'étude réalisée au sein du laboratoire de mycologie du CHU militaire de Constantine durant l'année 2015 avec un pourcentage de 92% (**Nekkache et al., 2015**). Cette différence est due à la durée de la présente étude, qui est limitée et au fait que l'EPH où s'est déroulé notre étude est petit. Il contient peu de services et chacun ne dépasse pas les 20 lits.

Nous avons constaté que la majorité des atteintes sont dues à l'espèce *Candida albicans* qui est l'espèce la plus rencontrée avec un pourcentage de 100%. Ceci est différent de l'étude effectuée au CHU de Sfax en Tunisie (**Makni et al., 2010**) avec un pourcentage de 51,9%.

Les candidoses superficielles ont représenté 100% des prélèvements positifs à *Candida albicans*, comparable à celui trouvé au laboratoire de mycologie du CHU militaire de Constantine durant l'année 2015 avec un pourcentage de 92% (**Nekkache et al., 2015**).

Selon la présente étude, les candidoses des muqueuses ont représenté un pourcentage de 100% avec une dominance de la candidose vulvo-vaginale, avec un pourcentage de 82,22%. Ce résultat est comparable à l'étude effectuée au CHU de Sfax en Tunisie (**Makni et al., 2010**) avec un pourcentage de 75,38% dominées essentiellement par la candidurie et la candidose vulvo-vaginale.

En ce qui concerne l'âge ; nous n'avons pas établi une répartition en intervalles ou tranches d'âge vu que nos prélèvements mentionnent le terme "adulte". Le pic des atteintes a été signalé chez les adultes avec un pourcentage de 97,78% différent de celui trouvé par les internes en pharmacie au niveau du laboratoire de parasitologie du CHU Neddar Mohamed de Tizi Ouzou durant l'année 2014 avec un pourcentage de 50,72% (**Boumadi et Doukari, 2014**). Cette différence est expliquée par le manque de patients au service de pédiatrie.

Nous avons constaté une prédominance féminine des cas positifs avec un pourcentage de 97,78% comparable avec l'étude effectuée par les internes en pharmacie au niveau du laboratoire de parasitologie du CHU Neddar Mohamed de Tizi Ouzou durant l'année 2014 avec un pourcentage de 72,46% (**Boumadi et Doukari, 2014**). Ce résultat est dû au fait que la

majorité des prélèvements positifs à *Candida albicans* reçus au niveau du laboratoire sont prélevés chez des femmes. Ces dernières sont plus exposées aux principaux facteurs de risque : contacts répétés avec l'eau et les produits d'entretien, la grossesse et la prise des contraceptifs oraux.

Dans la présente étude, les internes représentent un pourcentage de 71,11% des cas positifs à *Candida albicans*, ceci est différent de celui trouvé au laboratoire de mycologie du CHU militaire de Constantine durant l'année 2015 avec un pourcentage de 83% (**Nekkache et al., 2015**). Cette différence est due au fait qu'à l'EPH on reçoit de l'extérieur que les exceptions, on reçoit exclusivement les prélèvements vaginaux.

Selon la présente étude, le service de gynéco-maternité est le service le plus atteint où on a marqué le plus de prélèvements positifs à *Candida albicans* avec un pourcentage de 81,25 %. Ce pic d'atteinte explique que les femme enceintes sont les plus exposées à la candidose, suivi du service de médecine femme avec un pourcentage de 15,63%, exclusivement les femmes portant les sondes puis le service de pédiatrie avec un pourcentage de 3,13%. Ces résultats sont non comparables au résultats trouvés durant l'étude effectuée au laboratoire de mycologie du CHU militaire de Constantine durant l'année 2015, Où le service de gynécologie vient en tête avec un pourcentage de 58% suivi du service de réanimation avec un pourcentage de 25% suivi du service chirurgie interne avec un pourcentage de 17% (**Nekkache et al., 2015**).

Conclusion

Au terme de cette étude, nous pouvons dire que les candidoses, infections fongiques dues aux levures de genre *Candida*, peuvent être invasives ou superficielles. Elles entraînent des atteintes cutanées et des muqueuses, voire viscérales profondes, pouvant avoir une lourde morbi-mortalité chez les patients immunodéprimés mais aussi chez ceux présentant des facteurs de risques tels qu'un âge avancé, une thérapeutique agressive, une chimiothérapie intensive.

Concernant le diagnostic des candidoses, les techniques mycologiques classiques, de réalisation simple, suffisent le plus souvent à poser un diagnostic de candidose superficielle. Dans un contexte de candidose profonde ou systémique, l'hémoculture représente toujours le « gold standard », même si sa sensibilité peut être prise en défaut. En revanche, le diagnostic des candidoses profondes reste difficile. Malgré la mise à disposition récente de nouveaux antifongiques, ces infections restent associées à une mortalité préoccupante, en grande partie liée à la difficulté d'établir un diagnostic précoce. En effet, le pronostic des infections fongiques invasives est étroitement lié à la précocité d'instauration du traitement et donc du diagnostic.

La présente étude, effectuée au laboratoire de microbiologie-parasitologie au niveau de l'EPH de Ain El Hammam, bien que réalisée sur des prélèvements et une durée limitée, révèle un taux de positivité des cas de 4,66%. La proportion de *C. albicans* retrouvée sur l'ensemble de ce travail est en accord avec les données de la littérature.

D'après l'étude prospective on a constaté que les candidoses superficielles sont les plus fréquentes en particulier les candidoses des muqueuses qui sont majoritaire et touchent surtout les adultes, en particulier les femmes.

Malgré les progrès considérables réalisés au cours de ces dernières années dans la compréhension des mécanisme d'infection par les levures du genre *Candida*, des progrès importants doivent encore être accomplis en matière diagnostique en particulier des candidoses invasives, qui reste difficile à établir vu la non-spécificité des signes cliniques et qui se fait généralement de façon tardive aggravant le pronostic de la maladie et afin de prescrire un traitement antifongique réduisant la mortalité et la morbidité élevées liées à la candidémie et à la candidose disséminé et pour une meilleure prise en charge thérapeutique.

Bibliographie

Anane, S., Khalfallah, F. (2006). Revue générale diagnostic biologique des candidoses systémiques : difficultés et perspectives- Pathologie Biologie 55 : 262-272.

Anophel (2014). Association française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie. Benmezdad, A. Candida et cadidoses. Cours de graduation : Médecine. Université de Canstantine. 12 p.

Bouchara, J. et al. (2010). Les levures et levuroses - Cahier de formation - Biologie médicale.

Boumadi, S., Doukari, A (2014). Candida et candidoses. Thèse de doctorat : Pharmacie. Tizi Ouzou. UMMTO. 110 p .

Caraës, N. (2016). Epidémiologie des candidoses profondes au centre hospitalier universitaire de Rouen. Thèse de doctorat: Pharmacie. Rouen: Université de Rouen,200p.

Chabasse D., Contet-Audonneau N (2003). Mycoses superficielles à dermatophytes observées en France métropolitaine, In : Chabasse D., Caumes E., 2003. Parasitoses et mycoses courantes de la peau et des phanères, Guide MEDI-BIO, Elsevier, Paris, 2003 : 77-96.

Chabasse, D. et al, (2003). Examen direct et place de l'histologie en mycologie. Revue française des laboratoires, novembre 2003, n°357 : 49-54.

Chabasse, D., Guigen, CI., Contet-Audonneau, N (1999). Mycologie médicale, Edition Masson, Paris, pp : 42-61.

Chabasse, D., Robert, R., Marot, A., Pithet, M (2006). Les Candida pathogènes. LAVOISIER Edition TEC et DOC Mars 2006.

Chambard, F (2009). Les candidoses cutané-muqueuses : physiopathologie et conseils à l'officine. Thèse de doctorat : Pharmacie. Grenoble : Université de Grenoble, 149 p.

Dannaoui, E (2007). Principaux antifongiques systémiques : mécanismes d'action et de résistances, spectres, indications : DIU Stratégies thérapeutiques en maladies infectieuses. Paris, 31 mai 2007 : 2.

Dermatol Venereol, A (2003). Infections cutané-muqueuses à Candida albicans, Module transdisciplinaire, 130 : 3S53-3S58.

Develoux, M. et al., (2005). Candidoses et levuroses diverses, EMC-Maladies infectieuses 2 : 119-139.

El Hassani, N (2013). Les mycoses : étude d'une série répertoriée au service parasitologie-mycologie médicale de l'hôpital Ibn Sina de Rabat sur une période de 5 ans (2007-2011). Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 151 p. (El Hassani, N,

2013).

Ghadi, A (2010). Les candidémies : Etude mycologique des cas de l'hôpital Ibn Sina de Rabat (1997 – 2009). Thèse de doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V, 172p.
(Ghadi, A, 2010).

Guibal, F., Baran, R., Duhard, E., Feuilhade de Chauvin, M (2008). Épidémiologie et prise en charge des onychomycoses en pratique dermatologique libérale en France. *Ann de Derm et Ver* 2008 ; 135 : 561-566.

Kettani, A (2006). Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. *Journal de mycologie médicale* 16 :16-25.

Lagane, C (2007). Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida albicans*. Implication de ppar- γ . Thèse de doctorat : Immunopathologie, oncogenèse et signalisation cellulaire. Toulouse : Université de Toulouse, 151 p.

Lermann, U., Morschhauser, J (2008). Secreted apatic proteases are not required for invasion of reconstituted human epithelia by *Candida albicans*. *Microbiol.*, 154 : 3281-3295.

Makni, F et al, (2010). Evolution de la flore des levures isolées au CHU de Sfax, Tunisie. *Journal de Mycologie Médicale* 20 :42-47.

Midgley, G (1998). Atlas de poche de mycologie. FLAMMARION.

Nekkache, S., Achouri, S., Reguig., F (2015). Les mycoses. Mémoire de Master : Biotéchnologie fongique/ fermentation et production de substances fongiques. Constantine. Université de Constantine. 130 p

Pihet, M et Marot, A (MARS 2013). Diagnostic biologique des candidoses- REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES- N° 450 : 47-61.

Poulin, D (2000). Physiopathologie et diagnostic des candidoses systémiques. *La lettre de l'infectiologie – Tom XV- n°5- mai 2000* : 182-190.

Rachis (2015). Pathologies inflammatoires, spondylodiscite : IRM. <http://www.image-echographie.net/?r=15&ssr=133&a=796&langue>, consulté le 29 juillet 2015.

Rispail, P (2005). Epidémiologie et diagnostic biologique des candidoses muqueuses et cutanéophanéryennes. *Dermatologie*. Octobre 2005. http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_2/MIB/Ressources_locales/dermato/MIB_dermato_87_candidoses.pdf, consulté le 05 août 2015. (Rispail, P, 2005).

Sudbery, P., Gow, N., Berman, J (2004). The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol rev* 2004; 12:317-324.

Tadec, L (2011). Epidémiologie des candidémies au CHU de Nantes : Etude rétrospective (2004-2010). Thèse de doctorat : Médecine. Nantes : Université de Nantes, 149 p.

Taieb, F. et al (2010). Prise en charge des infections systémiques à Candida spp. Revue médicale interne , doi : 10.1016/j.revmed.2010.08.019.

Talbert, M (2008). 55 –Traitement des candidoses. Pharmacie Clinique et Thérapeutique, Thirdn Edition (2008). doi : 10.1016/B978-2-294-06234-6.50055-7. [1093-1123] .

Talbert, M., Willoquet, G avec la collaboration de D. LABAYLE (2003). Guide de pharmacologie. Edition LAMARRE 2003; 795-811.

Figure 18 : <http://bestwaysforgoodhealth99.blogspot.com/2012/01/perleche-causes-and-treatments-for.html>.

Figure 20 : <https://pictures.doccheck.com/fr/photo/5902-candidose-oesophagienne>.

Figure22 : http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/candidoses/site/html/3_2.html

Figure 25 : <file:///C:/Users/microbox/Downloads/pdfNatif.pdf>

Figure 27 : <http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/T98-5-2756-5p.pdf> .

Figure 29 : <http://www.atlasdedermatologieprofessionnelle.com/index.php/Ongle> .

Annexe

Fiche de renseignement

1.1.1.1. Identité du malade :

Nom : Prénom :

Age : Sexe :

Service :

1.1.1.2. Symptomatologie :

Type de prélèvement :

Signes cliniques :

Prurit Desquamation Inflammation

Fièvre Altération de l'état générale

Autre :
.....

1.1.1.3. Traitement antérieure :

Antibiotique :

Antifongique :

Corticoïde :

RESUME :

Les levures du genre *Candida* agent de candidose est le genre le plus impliqué en pathologie humaine. *Candida albicans* est l'espèce la plus fréquente.

Les candidoses sont classées en superficielles et profonde. Les candidoses superficielles sont très fréquentes, en majorité bénignes, par contre, les candidoses profondes ou systémiques sont sévères mettant en jeu le pronostic vital.

La présente étude a été menée pour rechercher les candidoses dans les prélèvements effectués au niveau du laboratoire de microbiologie-parasitologie de l'EPH de AIN EL HAMMAM et d'étudier les différentes étapes du diagnostic mycologique et d'identifier les espèces de *Candida* en cause et conclure l'espèce la plus fréquentes.

Les résultats de cette étude montrent une fréquence de cas positifs à 4,66%. L'ensemble des cas positifs retrouvé est dus à l'espèce *Candida albicans* avec un pourcentage de 100%. On a constaté une prédominance féminine avec un pourcentage de 97,78%. Une prédominance chez les adultes a été aussi constatée avec un pourcentage de 97,78%.

Substract:

The yeasts of *Candida* kind, candidiasis agent is the most involved kind in human pathology. *Candida albicans* is the most frequent species.

Candidiasis are sorted into superficial and deep ones. Superficial candidiasis are very frequent, mostly benign, whereas, deep or systemic candidiasis are severe putting the vital prognosis at stake.

The present study has been led to search for candidiasis in the samples taken at the microbiology parasitology laboratory of AIN EL HAMMAM public hospital and to study the different steps of the mycological diagnosis, to identify the concerned *candida* species and to reach the most frequent species.

The results of this study show a frequency of positive cases at 4,66 %. All of the found positive cases are due to *Candida albicans* species at 100 %. We observed a female predominance with 97,78 %. We noticed a predominance among the adults with 97,78 % as well.