

# LE DIAGNOSTIC DES MYCOSES SUPERFICIELLES

**Pr. Ag. Fathallah Akila, Dr. Saghrouni Fatma**  
**Hôpital farhat hached de sousse**

STPI: Tunis 25- 26 Avril 2008

# MYCOSES SUPERFICIELLES :

Dermatophyties ou teignes

Levuroses



# DERMATOPHYTES: CLINIQUE

## 1) Teignes du cuir chevelu

Teignes tondantes

Teignes faviques

Microsporiques

Trichophytiques



# DERMATOPHYTIES: CLINIQUE

Teignes inflammatoires

Sycosis

Kérion



# DERMATOPHYTIES: CLINIQUE

## 2) Teignes la peau glabre :

HC

Intertrigos

grands plis

petits plis



# DERMATOPHYTIES: CLINIQUE

## 3) Onyxis :

Pieds +++

Mains +/-



# LEVUROSES

1) Les candidoses :

majorité des levuroses +++++

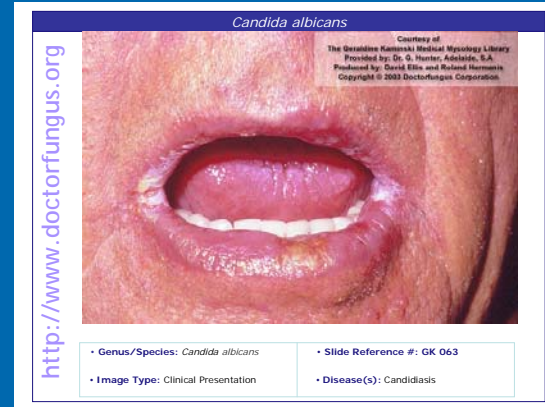
2) Les malassezioses (pityrospores)

# CANDIDOSES SUPERFICIELLES

## 1) Muqueuses oro-pharyngées



muguet



perlèche



chéilite

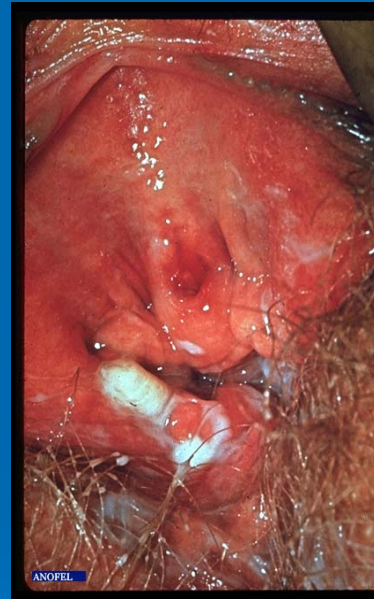


# CANDIDOSES SUPERFICIELLES

## 2) Muqueuses génitales



Balano-posthite



vulvo-vaginite

# CANDIDOSES SUPERFICIELLES

## 2) Peau: Intertrigos

petits plis



Grands plis



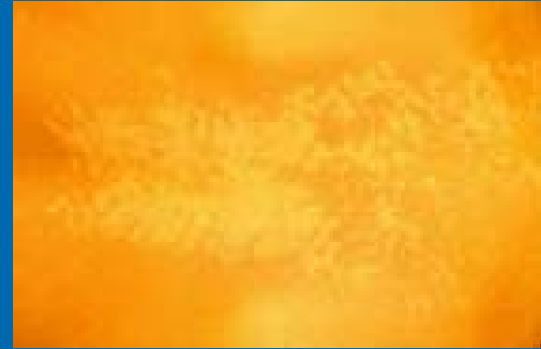
# CANDIDOSES SUPERFICIELLES

4) Ongle: onyxis et périonyxis (mains+++ ,pieds +/-)



# MALASSEZIOSES SUPERFICIELLES

Pityriasis versicolor →



← Folliculite

Dermite séborrhéique →



← Pityriasis capitis

La dermatite atopique

# LE DIAGNOSTIC DES MYCOSES SUPERFICIELLES

- 1: Prélèvement
- 2: Examen direct
- 3: Culture
- 4: Identification

# 1): PRELEVEMENT

## 1er temps du diagnostic d'une mycose:

- Prélever en dehors de tout traitement
- Le matériel utilisé doit être obligatoirement stérile
- Le prélèvement doit intéresser des produits pathologiques parasités par des champignons vivants

# 1) :PRELEVEMENT

## De la peau glabre :

➤ Prélever les squames, en périphérie des lésions.

➤ si lésions suintantes ou peu squameuses

➔ écouvillons, compresses

➤ En cas de suspicion de Pityriasis versicolor :

➔ Scotch test cutané

➤ Du pus ou de la lymphe

➔ écouvillons

# 1):PRELEVEMENT

## Des Cheveux et des poils :

Prélever en périphérie et sur les plaques d'alopecie :

- Des squames, des croûtes (**curette**)
- Des poils ou des cheveux (**curette, pince à épiler**).



# 1):PRELEVEMENT

## Des ongles :

- Découper et jeter le bord libre (**lame de ciseaux**)
- Raclage sous-unguéal (**curette, lame de ciseaux**)

## Des muqueuses : (**écouvillons**)

## 2):EXAMEN DIRECT AU MICROSCOPE

➤ Les prélèvements kératinisés ( poils, cheveux, squames, ongles)



réactif éclaircissant:

KOH 10 , 20 et 30%, lactophénol, bleu coton,  
noir chlorazol

➤ Autres prélèvements ( muqueuse dig ,vag, selles, crachats )



état frais

➤ PV 

Scotch test collé directement sur lame

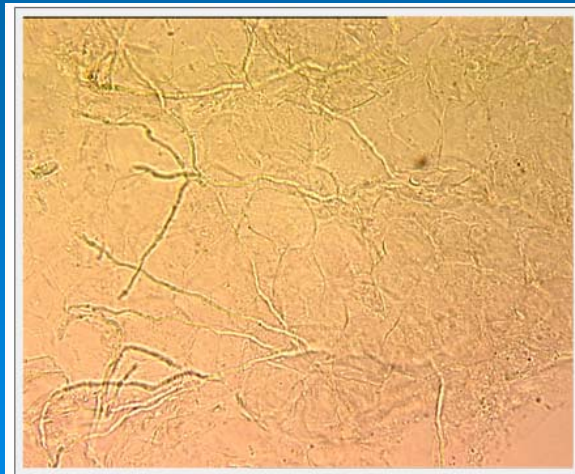
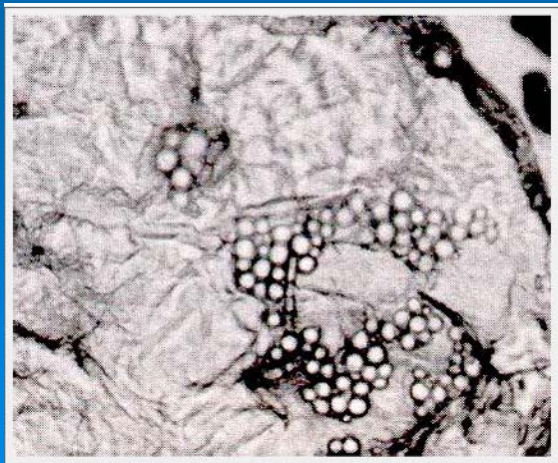
# 2): EXAMEN DIRECT AU MICROSCOPE

Pityriasis versicolor  
→ diagnostic

Champignons  
filamenteux



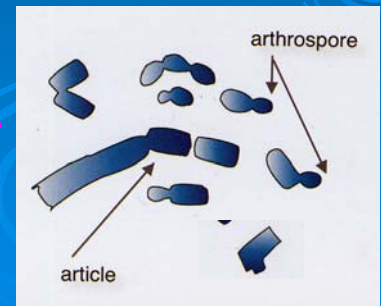
Levures



Levures et blastospores



Levures et pseudomycélium



### 3) CULTURE :

Obligatoire à une exception près (le PV)

▶ isolement et identification de l'espèce

Milieu d'isolement: milieu de Sabouraud (glucose 20g, peptone 10g, gélose 20g/L d'eau.)

+ 0.5 ‰ de Chloramphénicol = antibactéries (SC)

+ 0.5 ‰ Actidione® = Cycloheximide =  
antimoisissures (SCA)

# ENSEMENCEMENT

Tubes +++ ou boîtes +/- → 2SC + 2 SCA

Aérer les cultures

25-30° C

4 semaines :

Lecture: 2 fois par  
semaine

Levures

→ 24 à 48H

Moisissures

→ 4 à 7 j

Dermatophytes

→ 7 j à 30j

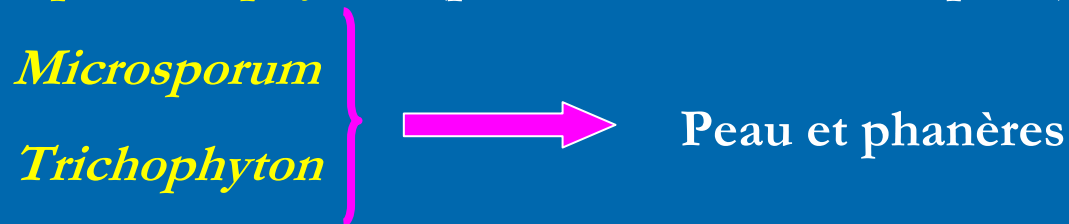
# DERMATOPHYTES OU TEIGNES



# DERMATOPHYTIES OU TEIGNES

➤ Mycoses cosmopolites de la peau et des phanères, dues à des champignons kératinophiles et kératinolytiques: les dermatophytes.

➤ Trois genres : *Epidermophyton* (parasite exclusif de la peau)



• Dermatophytes géophiles (telluriques) ⇔ (terre contaminée)

Ex: *Microsporum gypseum*

• Dermatophytes anthropozoophiles ⇔ (animaux)

Ex: -*M. canis* (chat)

- *T. mentagrophytes* (a le réservoir animal le plus vaste) (il est aussi tellurique)

- *T. verrucosum (ochraceum)* (bovidés)

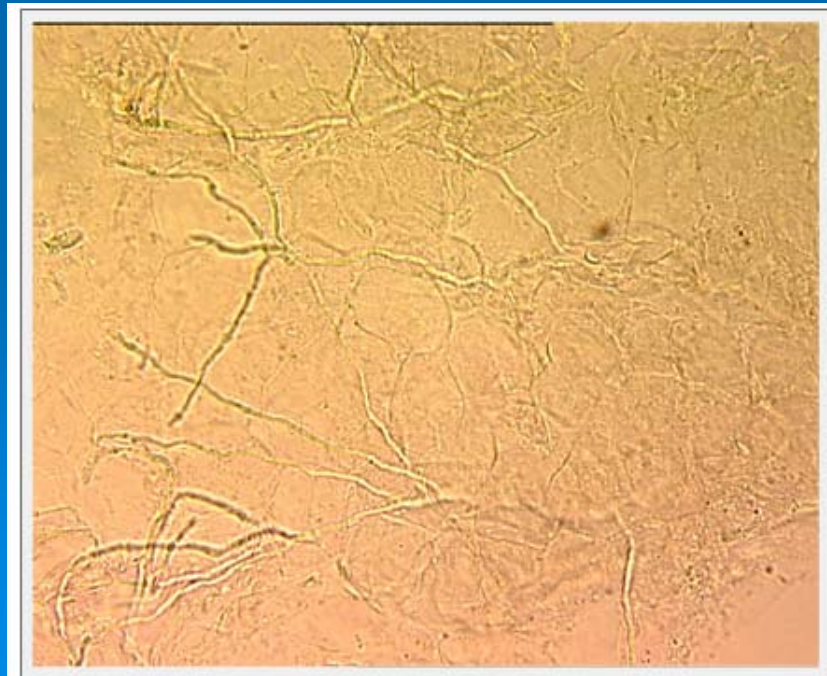
• Dermatophytes anthropophiles strict ⇔ (contamination interhumaine)

Ex: *T. violaceum*, *T. rubrum*, *T. schoenleinii*

# LE DIAGNOSTIC DES DERMATOPHYTIES

## L'examen direct :

- Au niveau des squames et débris unguéaux ⇨ des filaments mycéliens de 3 ou 4  $\mu\text{m}$  de diamètre cloisonnés et ramifiés.





# LE DIAGNOSTIC DES DERMATOPHYTIES

## L'examen direct :

➤ L'observation des cheveux et poils montre

5 types de parasitisme pilaire:

Teigne Endothrix (trichophytique)

Teigne Favique

3 Types de teigne Ectothrix:

♣ Microsporique

♣ Microïde

♣ Megaspore

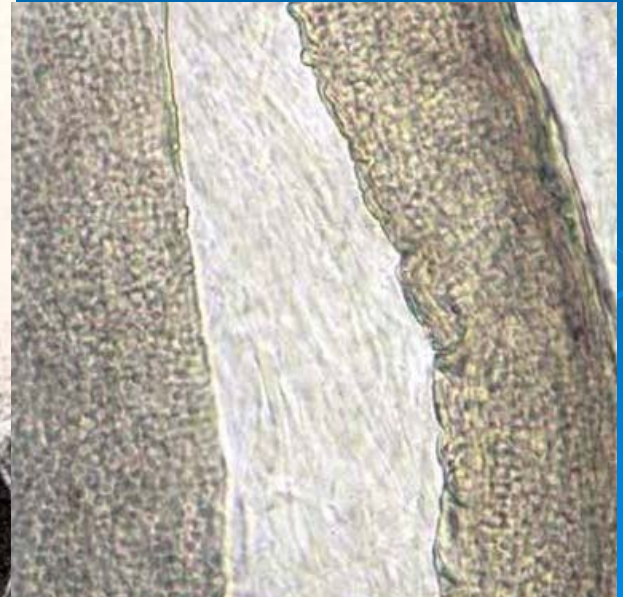
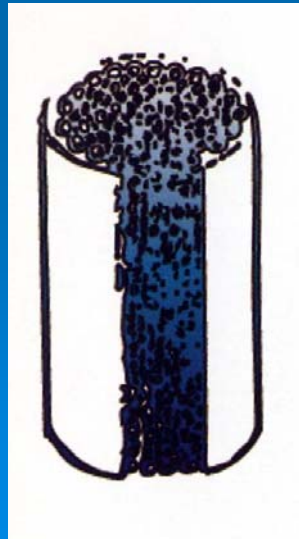
# 1) Le type Endothrix (trichophytique)

(teignes à petites plaques). Pas d'éléments autour des cheveux qui sont envahis par de spores de 4 à 5  $\mu\text{m}$ . Les cheveux cassés simulent des lettres de l'alphabet

*T. violaceum*

*T. tonsurans*

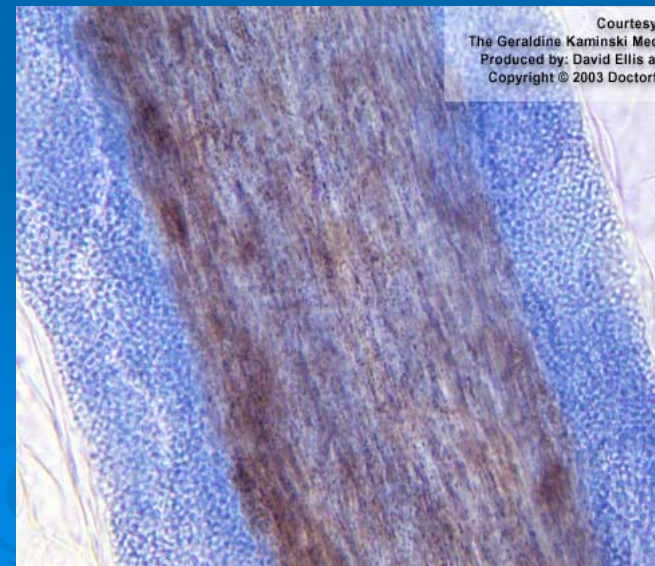
*T. soudanense*



## 2) Le type Ectothrix microsporique :

(teignes à grandes plaques), le cheveu casse à quelques mm de l'émergence. filaments peu nombreux à l'intérieur du cheveu. Des spores de  $2\ \mu\text{m}$  forment une gaine autour du cheveu

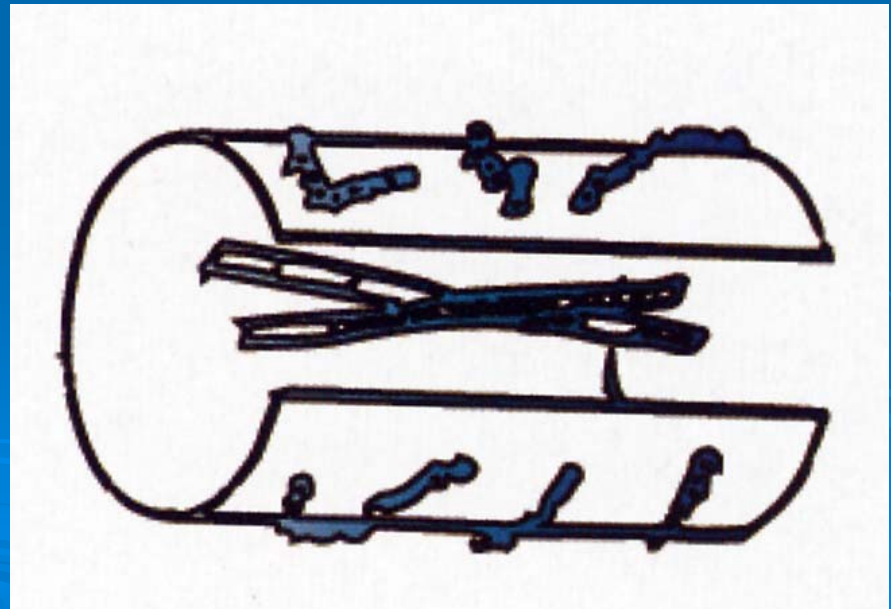
*Microsporum sp.*



### 3) Le type Ectothrix microïde :

quelques filaments intra pilaires et de  
petites spores de 2  $\mu\text{m}$  disposées en  
chaînettes autour du cheveu

*T. mentagrophytes* ++  
*T. erinacei* (hérisson)

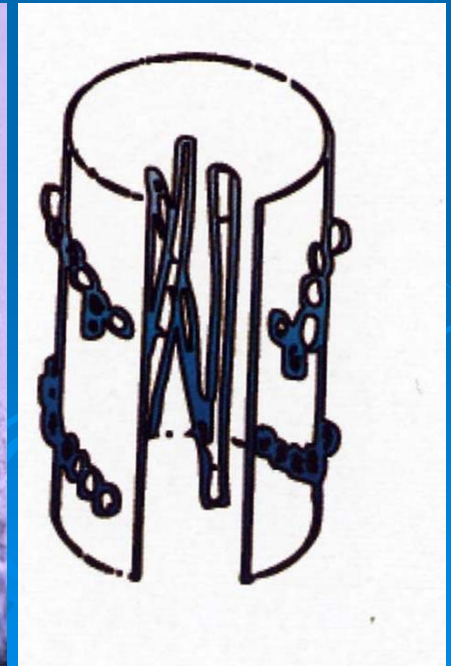
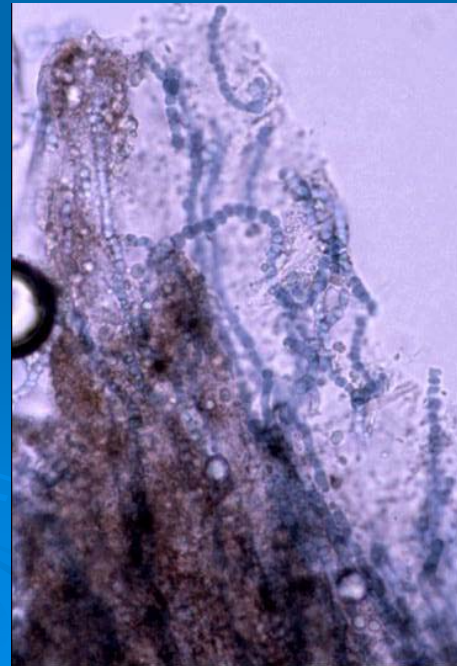


## 4) Le type Ectothrix megaspore :

Filaments intrapilaires et de  
grosses spores (4-6  $\mu\text{m}$ )  
disposées en chaînettes autour  
du cheveu

*T. ochraceum* (bovidés)

*T. equinum* (chevaux)



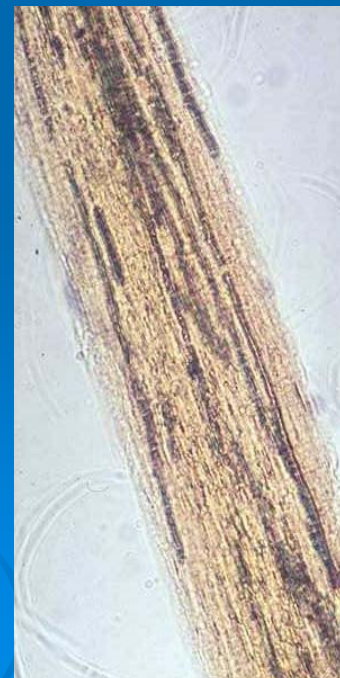
## 5) Le type Favique :

des filaments mycéliens intra pilaires souvent segmentés courts appelés « tarse favique » ;  
Le godet est formé d'un enchevêtrement de filaments mycéliens.

*Trichophyton schoenleinii*

tarse favique

Godet favique



# IDENTIFICATION D' UN DERMATOPHYTE

L'identification est réalisée par :

➤ L'évaluation de la vitesse de la pousse :

➤ L'examen macroscopique des colonies:

taille , couleur recto verso, forme, relief, la présence d'un pigment diffusible ou non.

➤ L'examen microscopique:



# MILIEUX D'IDENTIFICATION

- **Milieu eau gélosée à 2% (EG) en boîte de pétri:**  
Utilisé à chaque fois qu'un *T. rubrum* est isolé, ce milieu permet une meilleure fructification du champignon.
- **Milieu Agar tween 80 (AT) en boîte de pétri :**  
Utilisé à chaque fois qu'un *T. rubrum* est isolée, ce milieu permet au champignon de mieux ressortir sa pigmentation.
- **Brain-Heart en boîte de pétri:** pour les dermatophytes exigeants : *T.ochraceum, T. violaceum, T. schoenleinii*
- **Milieu enrichi à la thiamine:** pour *T. violaceum* , ( microconidies et macroconidies )
- **Milieu P.D.A.:** pour le pigment de *M. canis*

Incubation 4 à 5 jours à 27°

Lecture à faible grossissement directement sur la boîte de pétri



# GENRE EPIDERMOPHYTON

## Macroconidies

nombreuses en massue  
à parois et cloisons  
minces et lisses à  
extrémité arrondie  
produites en bouquet  
(non échinulées).

Microconidies = 0

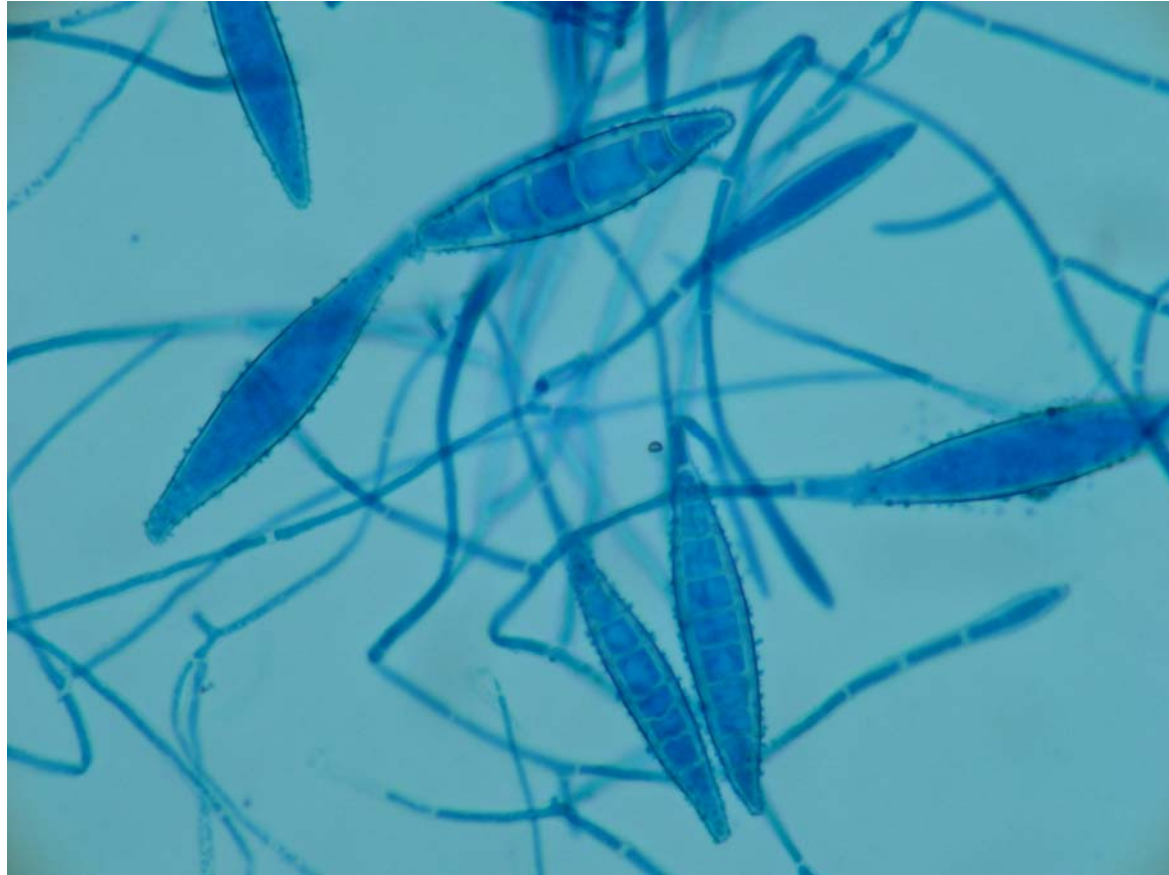


Ce genre contient une seule espèce *E. floccosum*

# GENRE MICROSPORUM

**Macroconidies** à paroi +/- épaisse, toujours échinulées.

**Microconidies** rares à nombreuses piriformes en **acladium**



en acladium

# GENRE TRICHOPHYTON

**Macroconidies** moins nombreuses en massue ou allongées à parois et minces et lisses (non échinulées).

**Microconidies** rondes ou piriformes disposées en « **acladium** » ou en **grappe**



en acladium

rondes

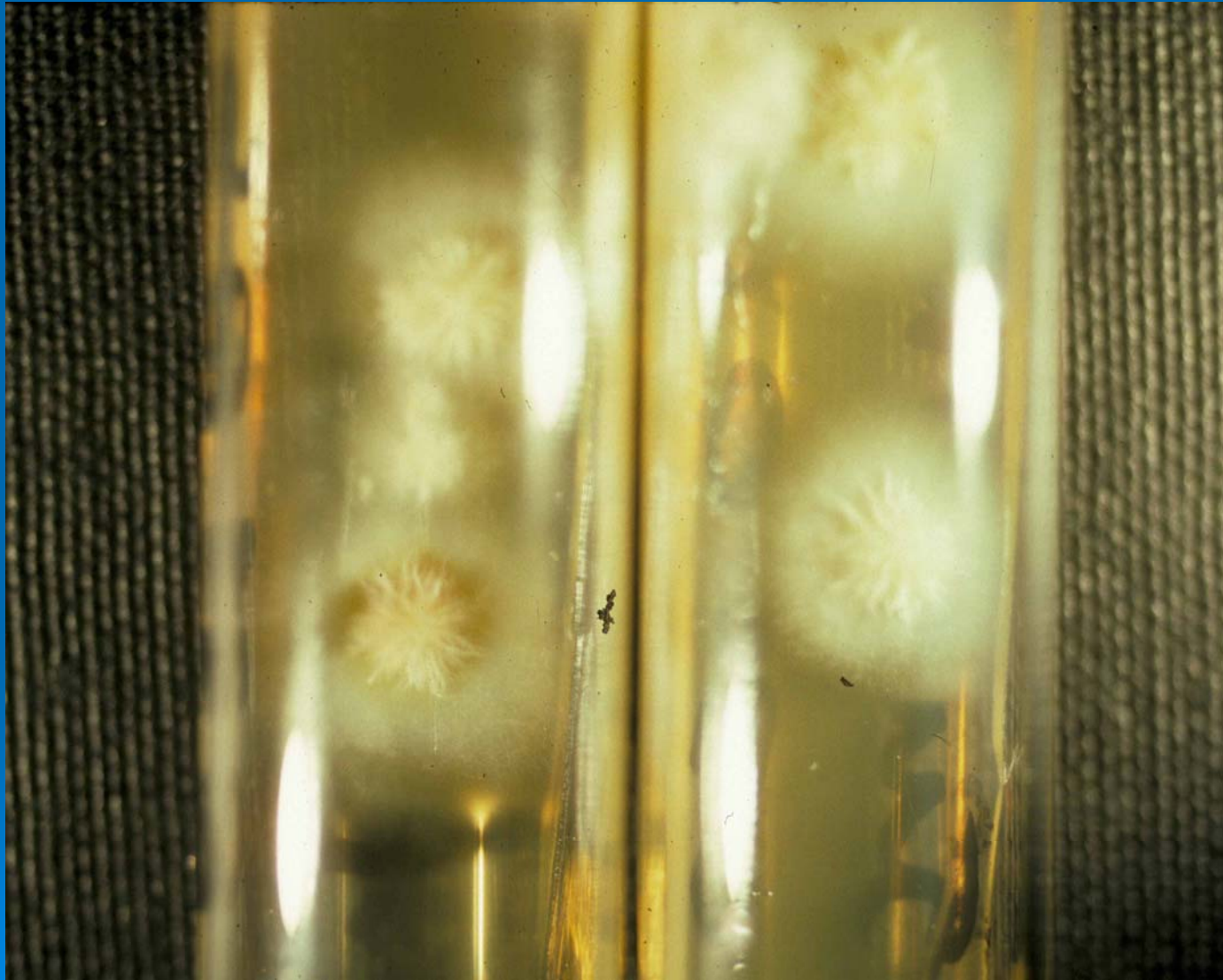


piriformes

en amas



*Trichophyton rubrum* (anthropophile strict):



culture jeune lisse se hérissant de FM dressés en « brosse »

# *Trichophyton rubrum*

Duvet blanc  
cotonneux



mieux ressorti  
Sur AT

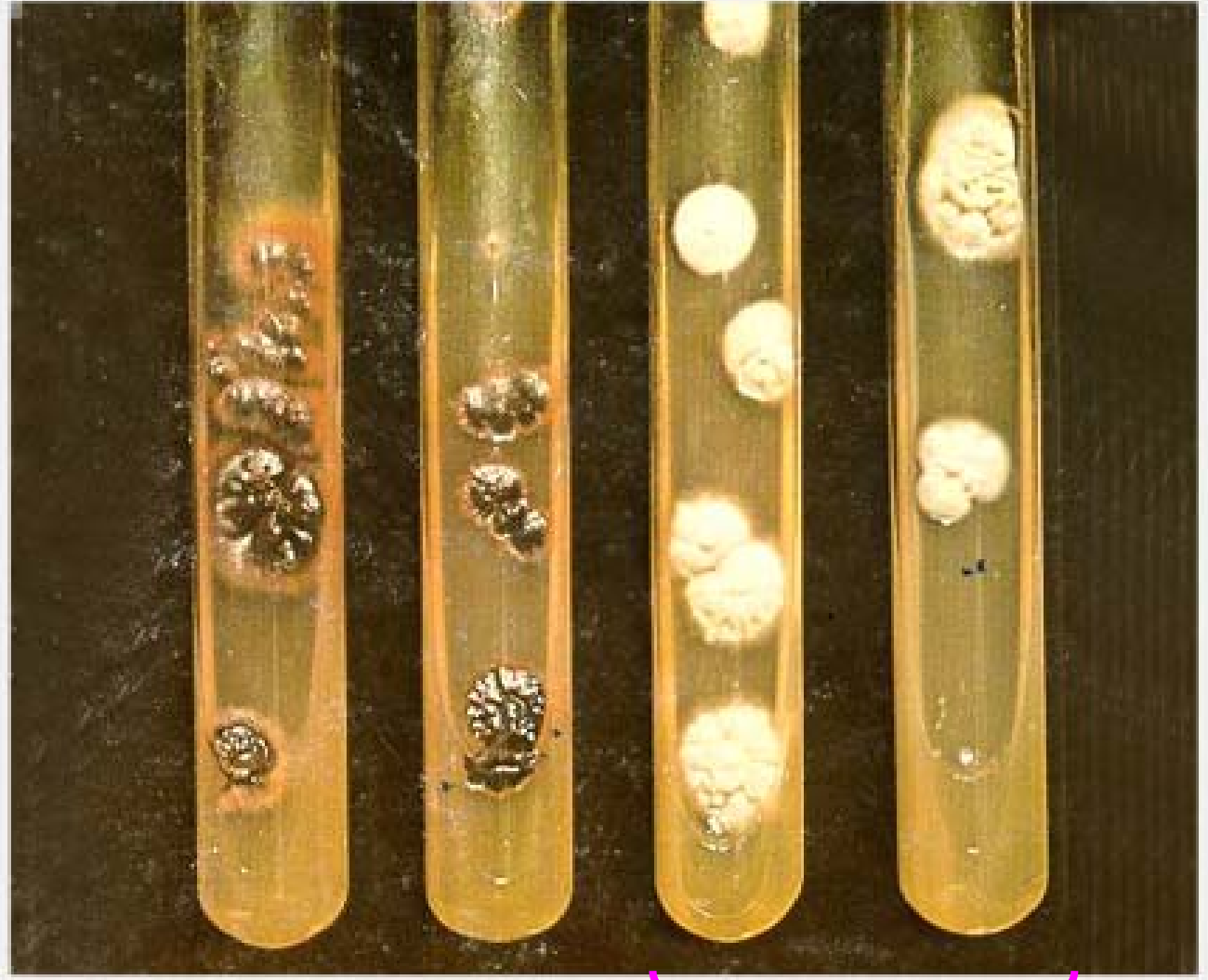
# *Trichophyton rubrum*



Milieu eau gélosée à 2% ( EG) en boîte de pétri  
microconidies piriformes disposées « accladium »

# *Trichophyton violaceum* (anthropophile strict)

Pousse lente  
petites colonies  
glabres lisses  
plissées



T.V var. glabrum

# *Trichophyton violaceum*



Microconidies et  
Macroconidies = 0  
Sauf sur milieux  
enrichies à la  
Thiamine

Chlamydospores +++ (BHI)

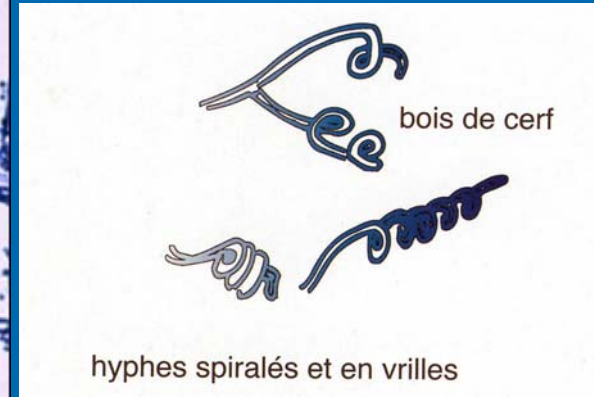
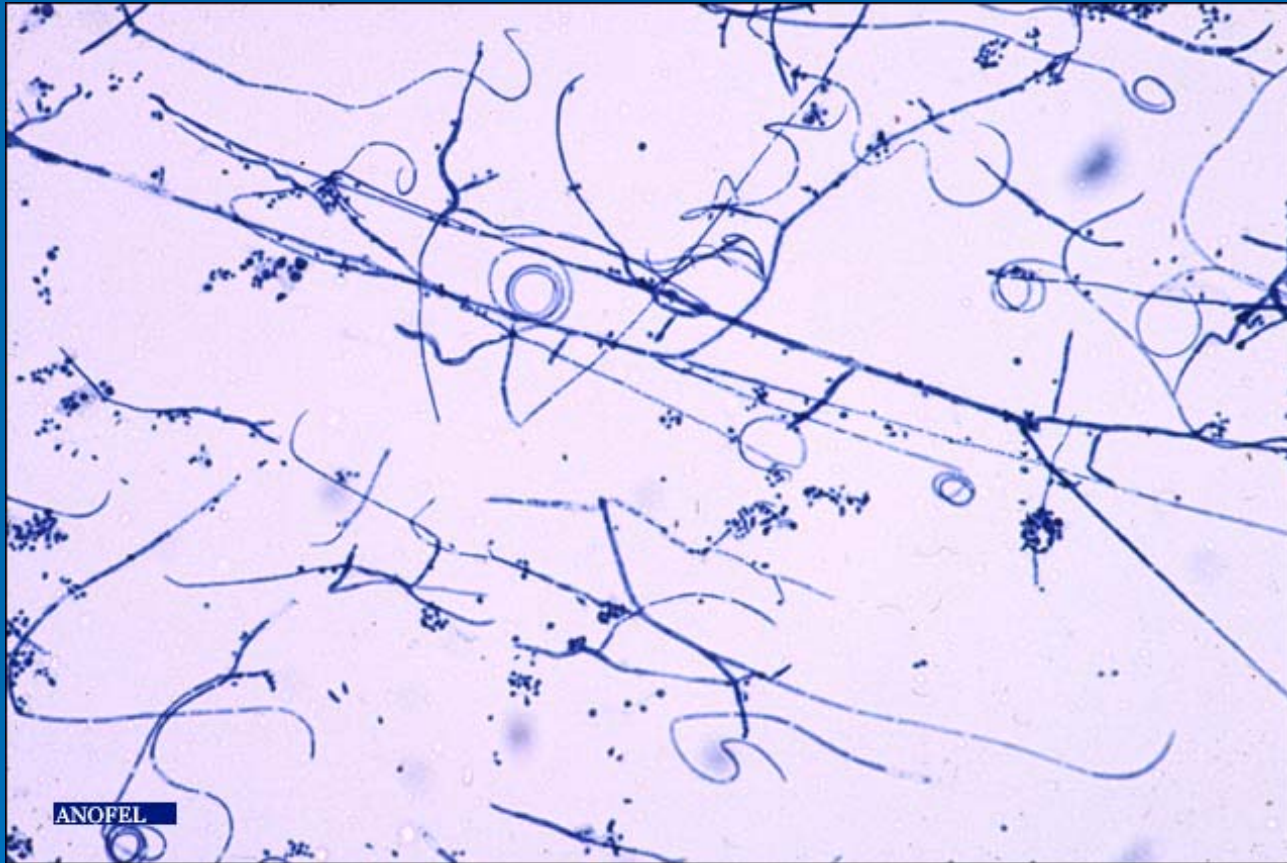


## *Trichophyton mentagrophytes* (Anthropozoophile):



Croissance rapide,  
plane, colonies en  
éclaboussure de  
plâtre , de couleur  
blanc à crème au  
recto ,jaune rouge ou  
brune au verso.

# Trichophyton mentagrophytes (Anthropozoophile):

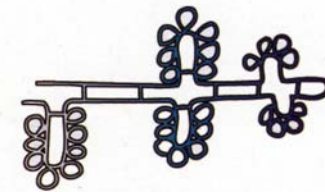


vrilles toujours nombreuses, organes en bois de cerf

# Trichophyton mentagrophytes (Anthropozoophile):



Filaments épais articulés à angle droit, porteurs de très nombreux **microconidies rondes** parfois piriformes en **grappe** + svt qu'en **acladium**



hyphe articulé à angle droit en "croix de Lorraine"

# *Microsporium canis* (Anthropozoophile):



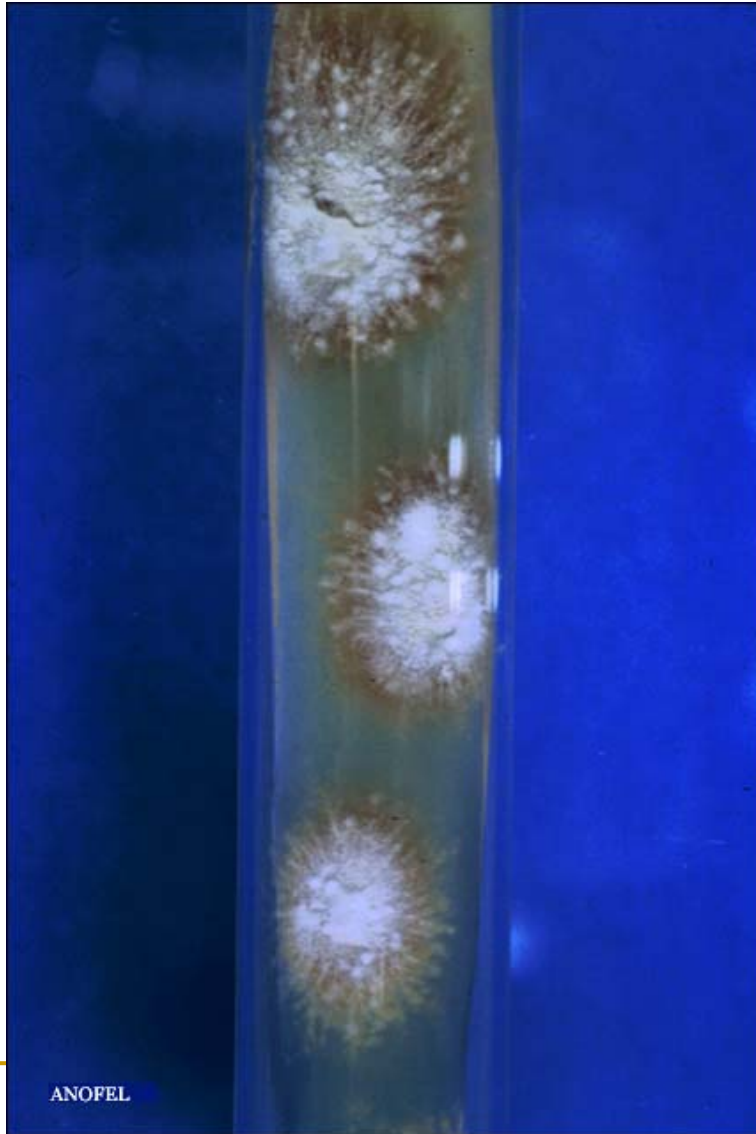
filaments  
rayonnant  
en étoile  
sur la  
gélose,  
recto  
chamois,  
verso jaune

# *Microsporium canis*



**Macroconidies** en quenouille à paroi très épaisse avec des **échinulations** grossières et , pourvues de nombreuses logettes et de deux extrémités pointues

# *Epidermophyton floccosum* (anthropophile strict):



colonies rayonnées  
planes finement  
poudreuses de couleur  
vert- olive à jaune-  
moutarde au recto

# *Epidermophyton floccosum* :



Nombreuses **macroconidies** en **massues ou en raquettes**,  
isolées ou groupées par 2 ou 3 **en « régime de banane »**

**Microconidies = 0**

*Trichophyton schoenleinii* (anthropophile strict):

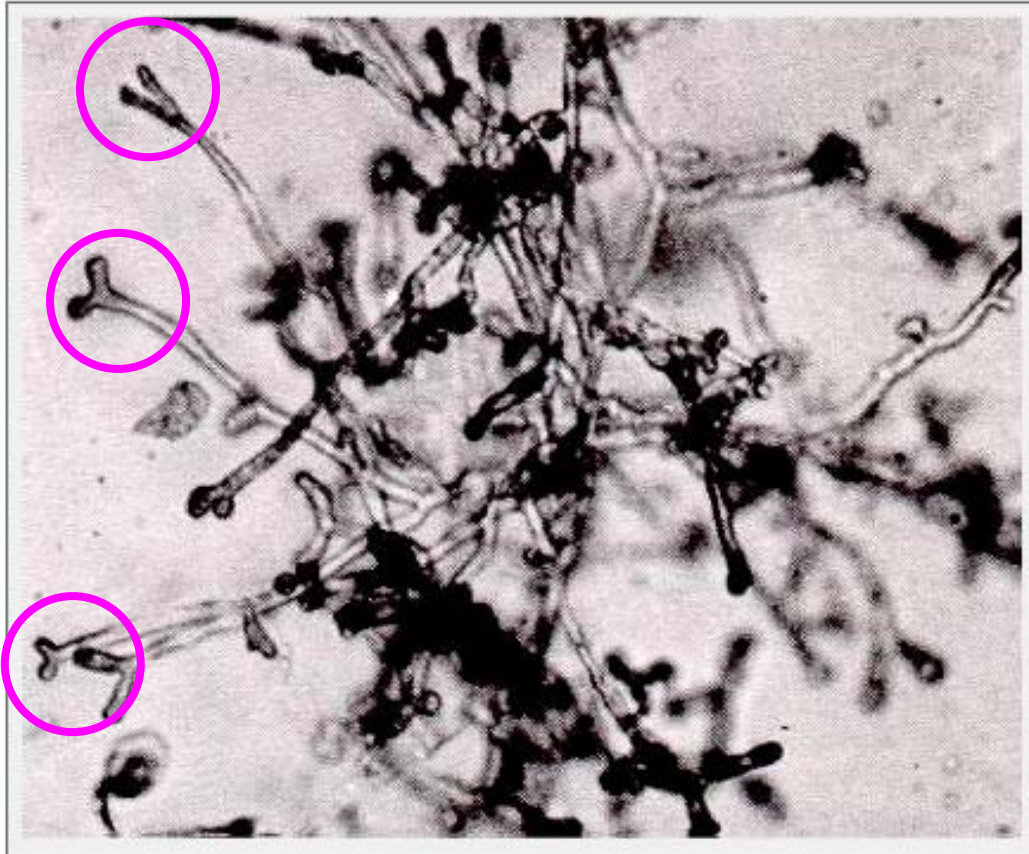


Pousse lente en 2 à 3 semaines ; tantôt sous forme de « morille cireuse », tantôt sous forme d'arborisations en profondeur de la gélose.

Crème à beige, glabre ou légèrement duveteuse



# *Trichophyton schoenleinii* : clou favique



Filaments mycéliens  
irréguliers, avec  
renflement terminal en  
tête de clou  
« clou favique »

# *Trichophyton schoenleinii*: chandelier favique



ou en digitations  
terminales  
(chandeliers faviques).

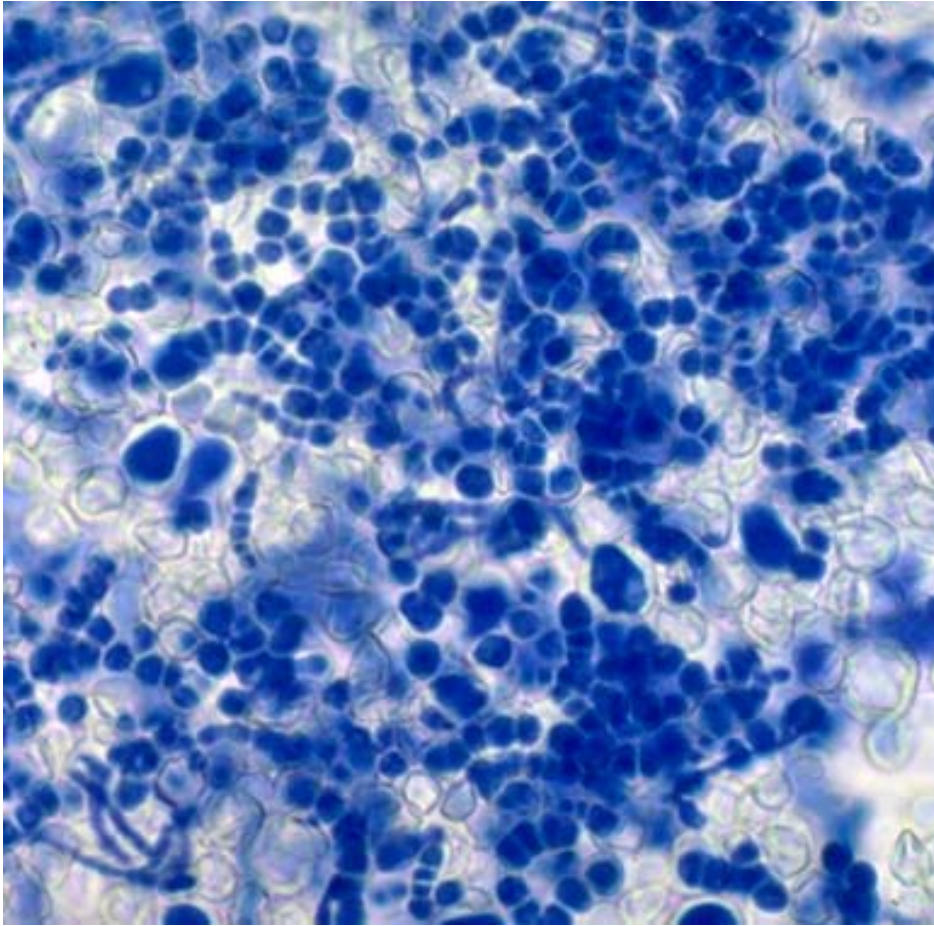
## *T. verrucosum(ochraceum)* (Anthropozoophile):



**Culture très lente et difficile,  
colonies peu extensives  
verruqueuses, très cérébriformes  
glabres ou discrètement  
duveteuses  
Couleur: blanc à ocre au recto et  
au verso**

---

## *T. Verrucosum (ochraceum)*



filaments irréguliers avec de  
grosses chlamydospores  
intercalaires ou terminales

# *T. Verrucosum (ochraceum)*



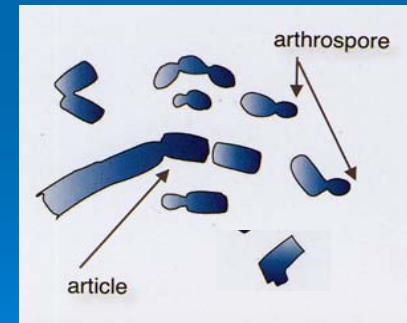
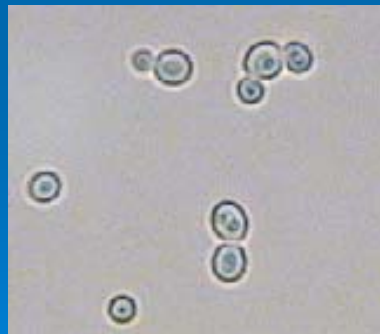
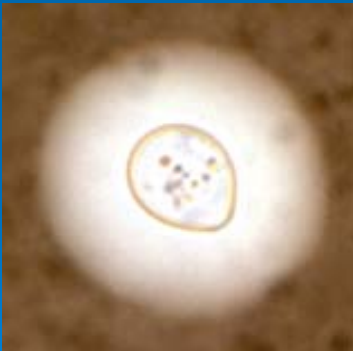
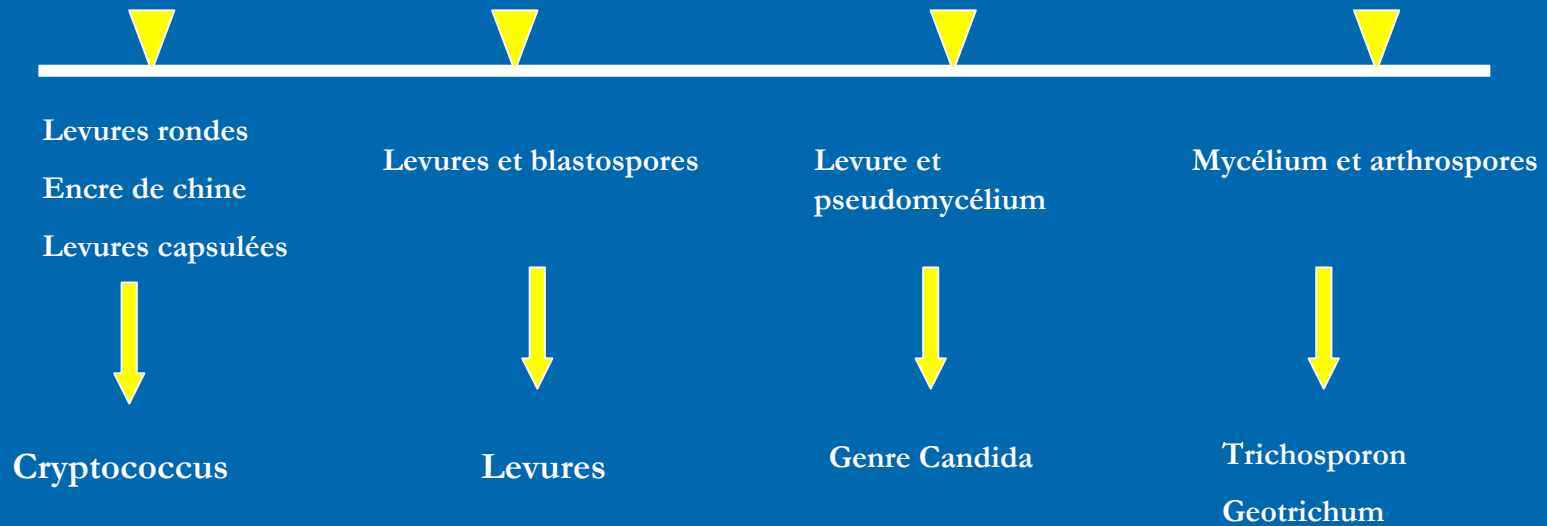
mycélium arthrosporé en  
chaîne :

# DIAGNOSTIC DES LEVUROSES

- Morphologie macroscopique et microscopique
- Étude des caractères physiologiques et biochimiques

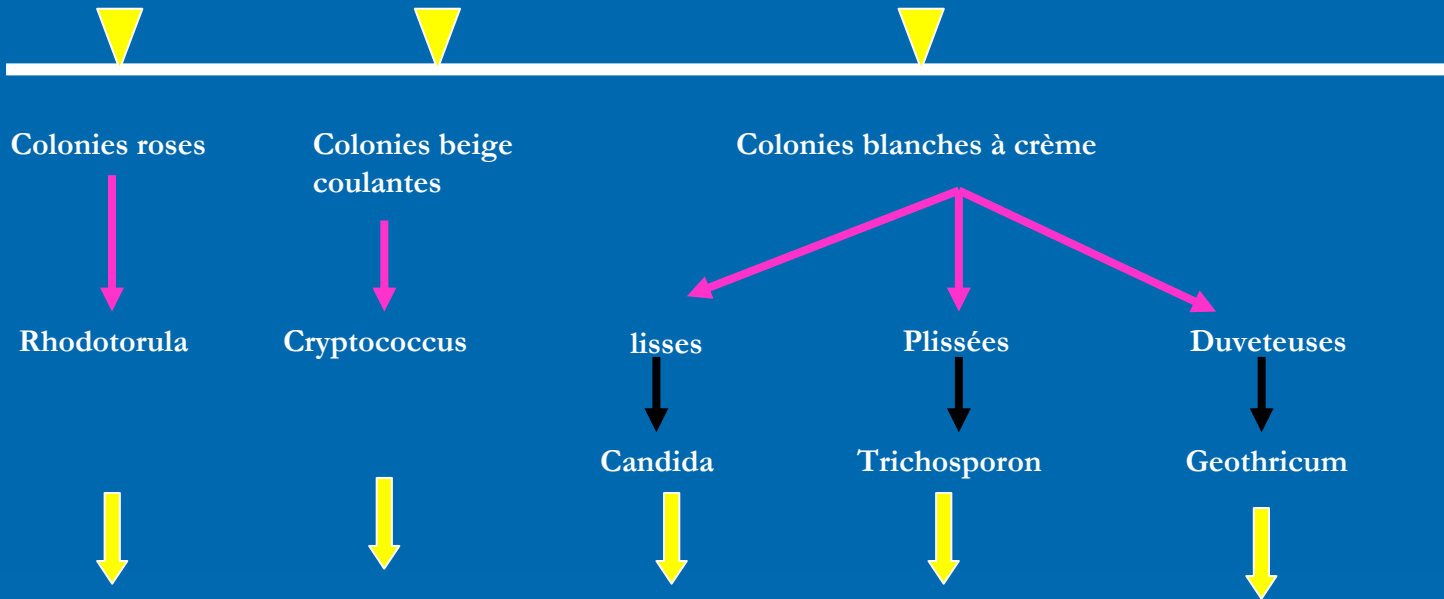
# Schéma d'identification des levures

## Examen direct éclaircissement



# Schéma d'identification des levures

Ex macro des cultures (2SC et 2SCA) 24- 48H (25-30° C )





# IDENTIFICATION DES *CANDIDA*

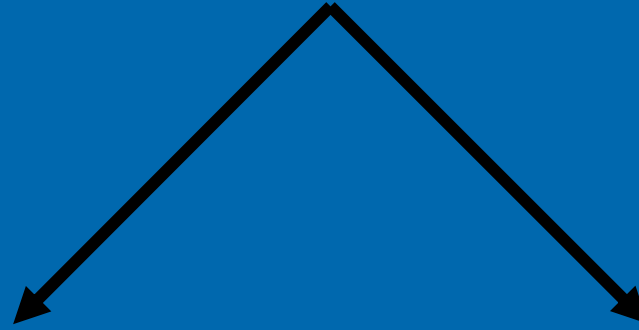


# Candida pathogènes

*Candida albicans* (*C.dublinsiensis* :Sullivan et al 1995)

- *C.glabrata* (muqueuses)
- *C.tropicalis*
- *C.parapsilosis*
- *C.krusei*
- *C.kefyr*
- *C.lusitaniae*

# Schéma d'identification des candida



## a) Démarche classique :

Tests morphologiques  
biochimiques et  
physiologiques à partir  
des colonies isolées sur  
les milieux habituels

## b) Milieux chromogènes :

Permettant la  
reconnaissance de  
C.albicans dès l'apparition  
des colonies

# Identification des Candida

a) Démarche classique : (*Candida albicans*++++)

1) Test de blastèse (filamentation sur sérum):

2) Test de chlamydosporulation:

3) Tests d'identification rapides :

3-1) Tests d'agglutinations sur particules de latex :

Utilisation d'AC monoclonal spécifique tests rapides (5 mn):

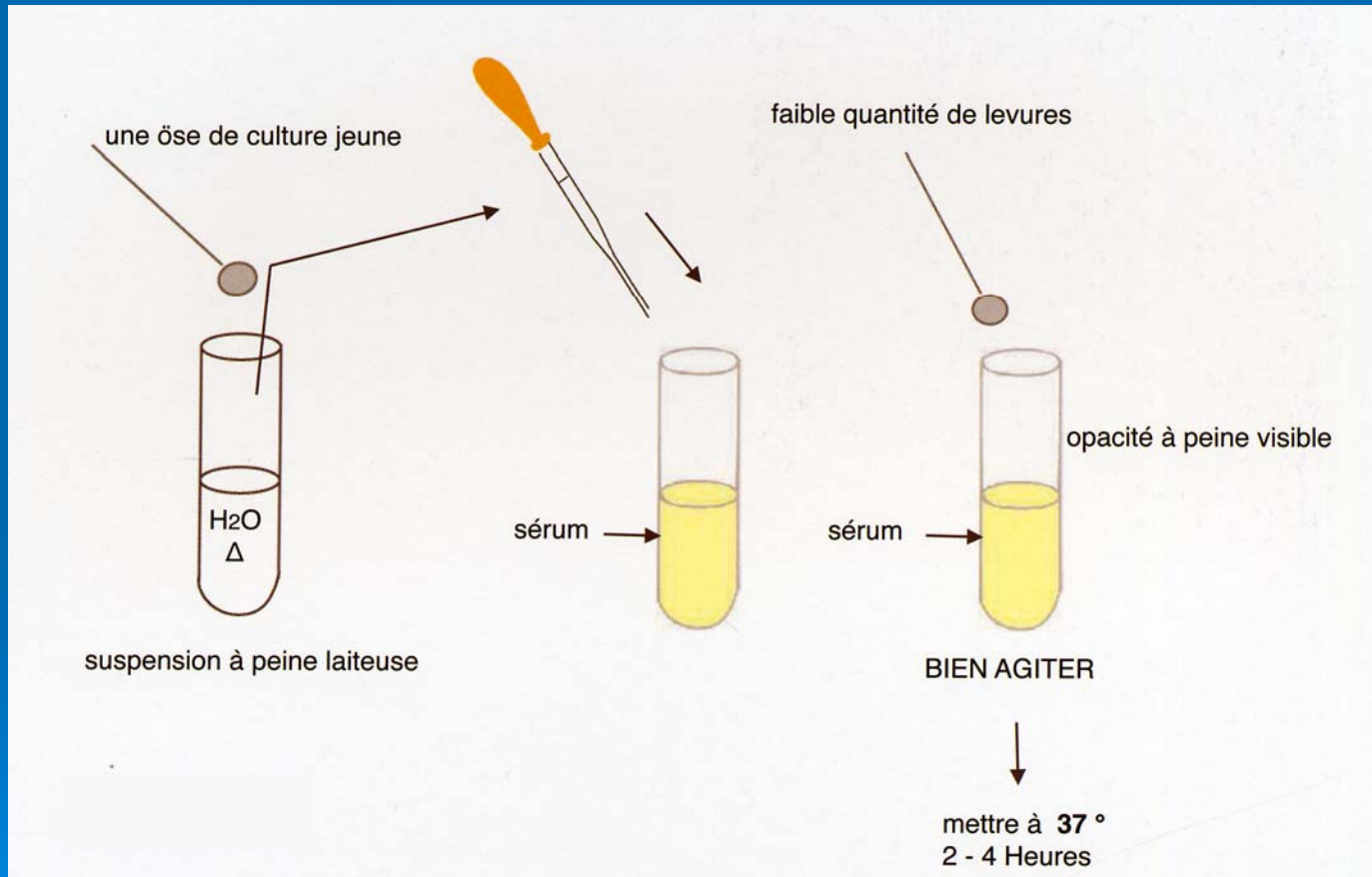
3-2) test basé sur des activités enzymatiques particulières pour *Candida glabrata* (20 mn) (Glabrata RTT Fumouze®)

4) Utilisation des sucres et des matières azotées en milieu aérobie (Auxanogramme) et anaérobie (Zymogramme) ( pour autres levures)

# Identification des Candida

a) Démarche classique : (*Candida albicans*++++)

1) Test de blastèse (filamentation sur sérum):



# Résultats du test de blastèse :

Tubes germinatifs



*Candida albicans*

OU

*Candida dubliniensis*

Bichro-dubli®



*C.albicans*

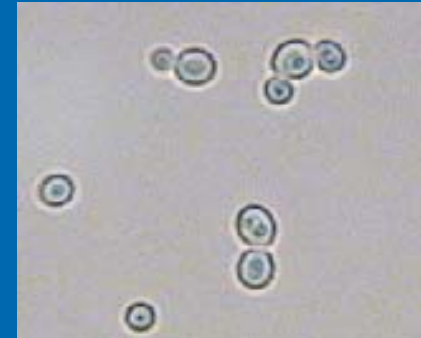


*C.dubliniensis*

Pseudomycélium



Blastospores



*Candida sp*

Autres levures

*Candida ex Torulopsis*

Saccharomyces

Autres levures

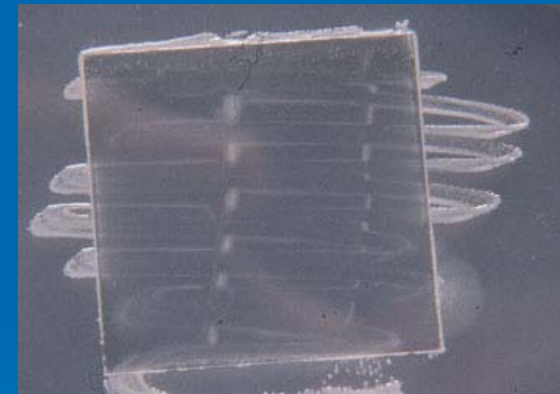
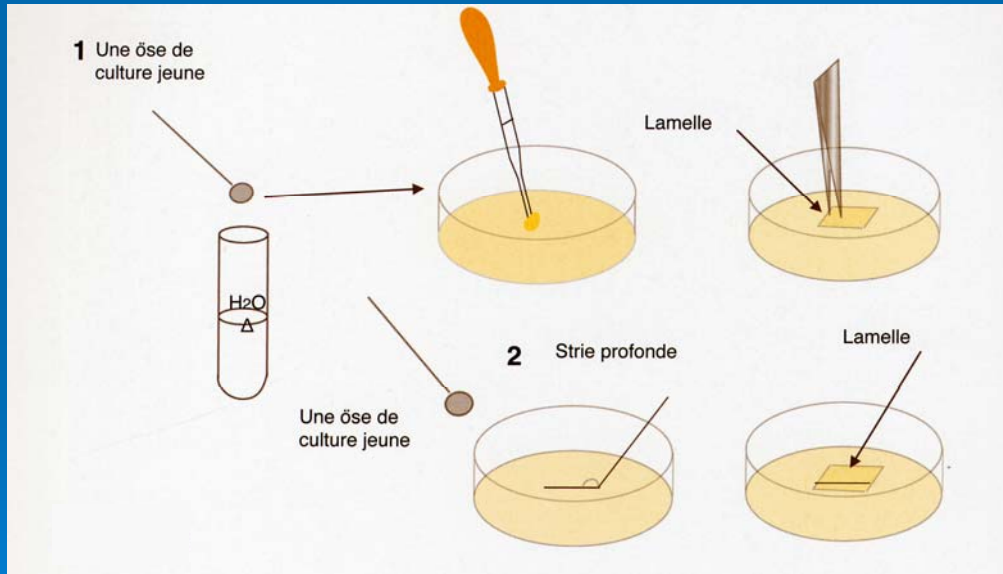
# Identification Candida

## a) Démarche classique :

### 2) Test de chlamydosporulation

#### Recherche de pseudofilamentation:

culture sur milieux pauvres en sucre (AT, RAT, PCB)



Conditions de semi-anaérobiose



Incubation à 27° C

Lecture 24- 48H

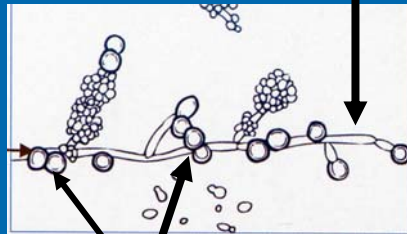
chlamydosporulation

# Résultats : Recherche du pseudo mycélium sur AT, RAT, PCB

(-) Blastospores



(+) chlamydo-spores  
+ pseudo mycélium  
+levures à bourg multipolaire



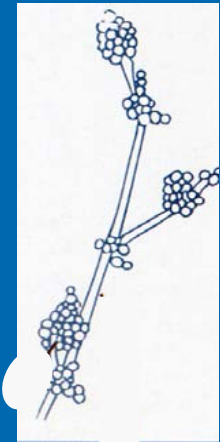
chlamydo-spores

*Candida albicans*

*Candida dubliniensis*



Pseudo mycélium  
+ levures à bourg multipolaire



*Candida sp*

- ▶ *Candida (Torulopsis)*
- ▶ *Cryptococcus*
- ▶ *Saccharomyces*
- ▶ *Rhodotorula*

(-)

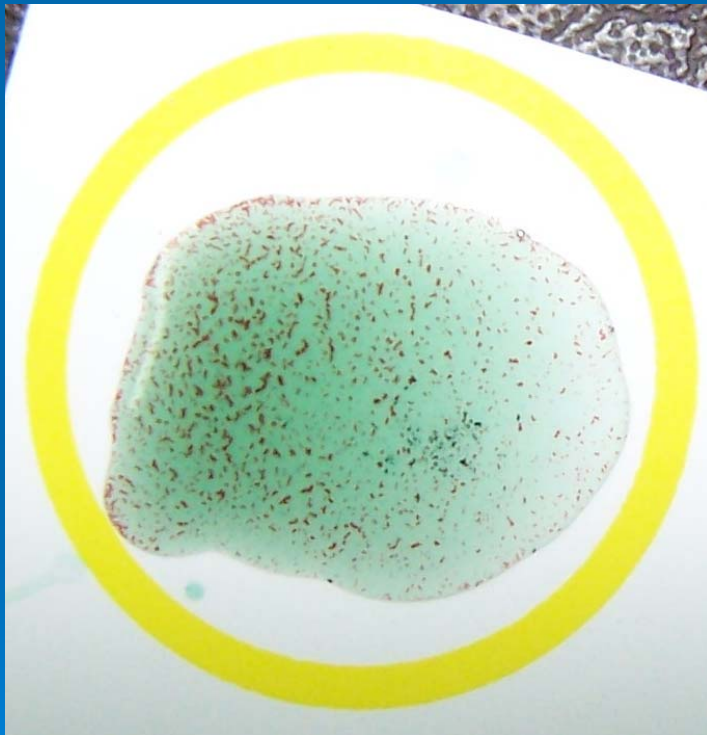
(+)



## 4) Tests d'identification rapides :

### 4-1) Tests d'aggtutinations sur particules de latex :

Bichrolatex albicans Fumouze® (5mn)



Bichro-albicans (+)

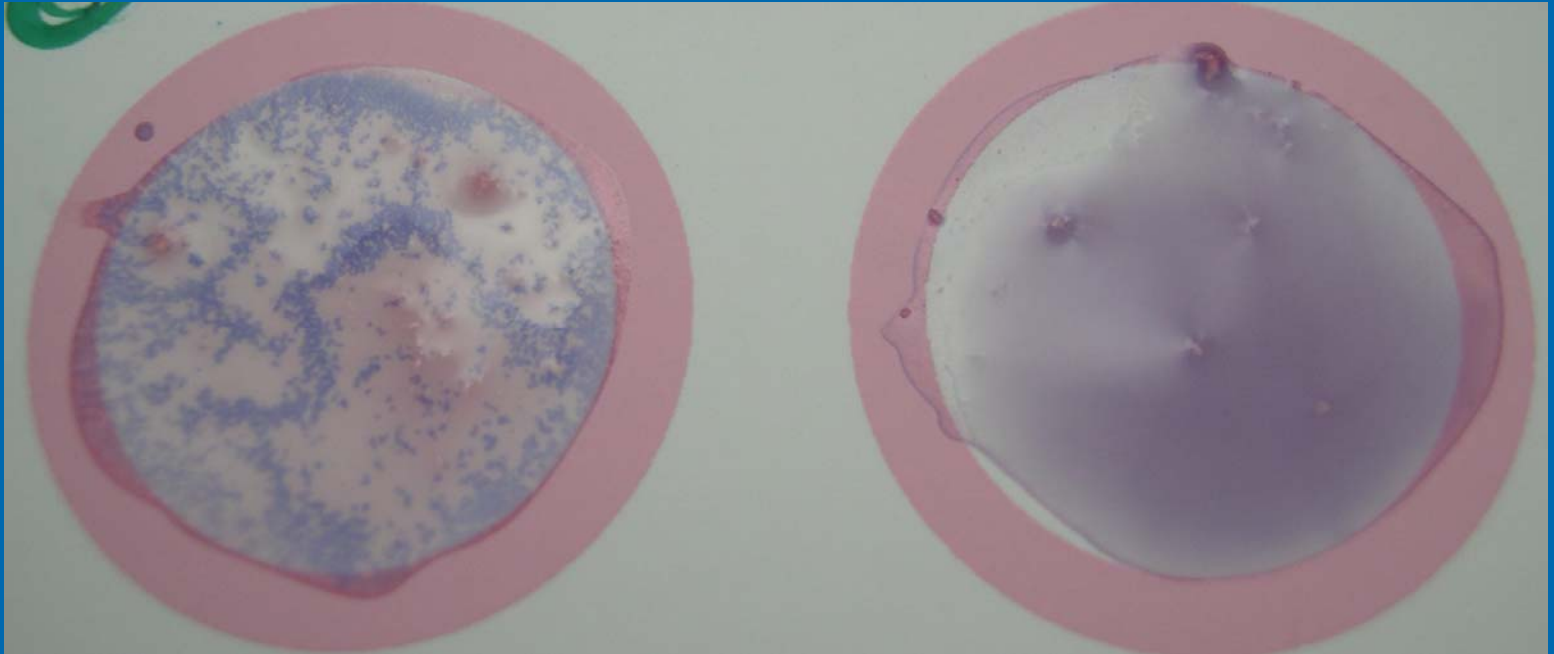
= *Candida albicans*



Bichro-albicans (-)

= *Candida non albicans*

# Bichro-Dubli Fumouze® 5 minutes+++



Bichro-Dubli (+)  
= *Candida dubliniensis*

Bichro-Dubli (-)  
*Candida albicans*

# Krusei color Fumouze® 5 minutes +++



Krusei color (+)  
= *Candida krusei*

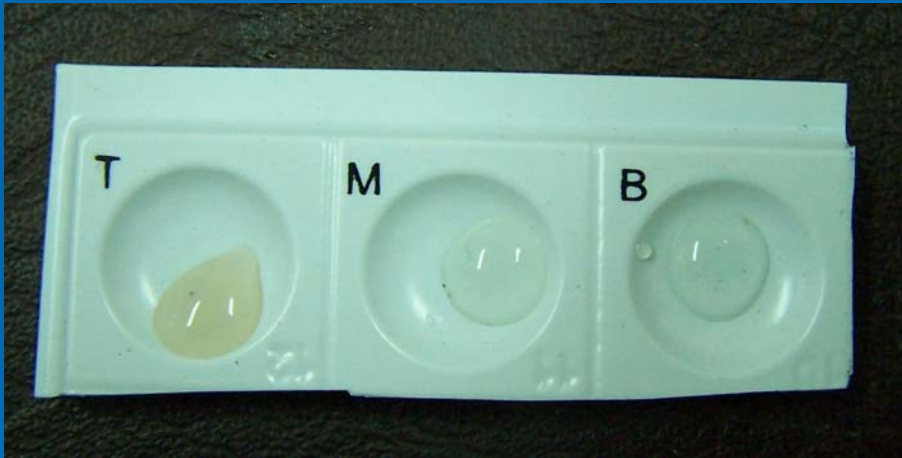


Krusei color (-)  
= *Candida non krusei*

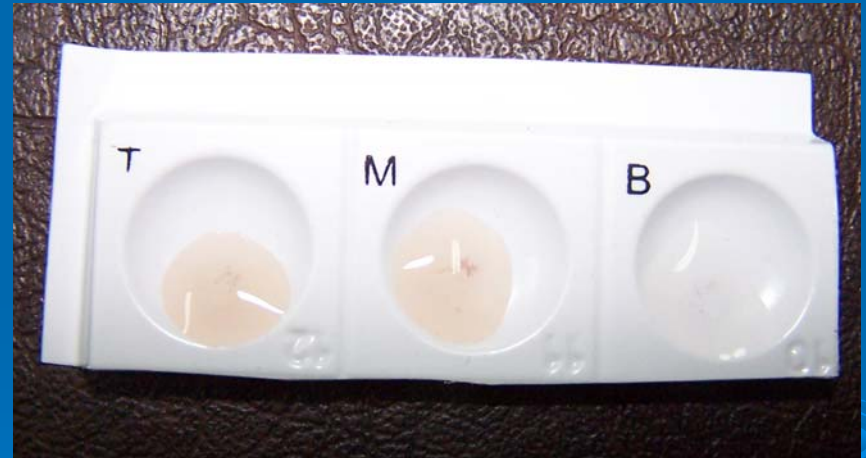
## 4) Tests d'identification rapides :

4-2) Test basé sur des activités enzymatiques particulières pour *Candida glabrata* 20 minutes ++++

### Glabrata RTT Fumouze®



RTT Glabrata (+ - -)  
= **C. glabrata**



RTT Glabrata (+ + -)  
= **C. non glabrata**

# Identification des autres levures

## 5) Identification par l'étude des caractères physiologiques :

Différentes **galeries** d'identification sont commercialisées.

Critères étudiés :

- Ces tests permettent de mettre en évidence la capacité que possède une levure placée en aérobiose (**assimilation**) = **Auxanogramme** ou en anaérobiose (**fermentation**) = **Zymogramme** à utiliser le carbone de tel ou tel glucide pour sa croissance.
- Recherche **d'activité enzymatique** ( phénoloxydase et autres)
- Test de **sensibilité à l'Actidione**
- Test à **l'esculine** (pour certains)
- Hydrolyse de **l'urée**

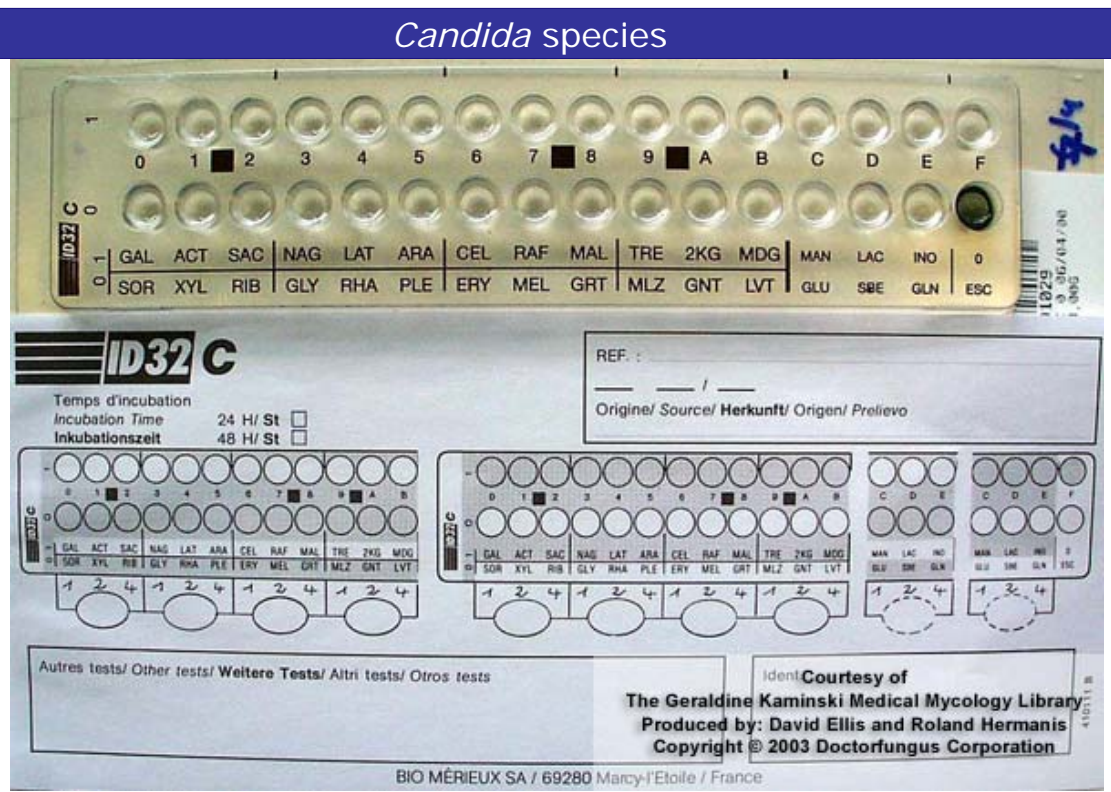
La croissance des levures est examinée après incubation de 24 à 72 heures.

# Exemples de galeries commercialisées

- **ID 32 C® BioMérieux +++**
- **API 20C AUX® BioMérieux**
- **AUXACOLOR 2® (BIO-RAD)**
- **API Candida®**
- **Fungichrom® (International Microbio)**
- **Fungifast® (International Microbio)**

ID 32 C ® BioMérieux +++ : 32 cupules → 63 levures

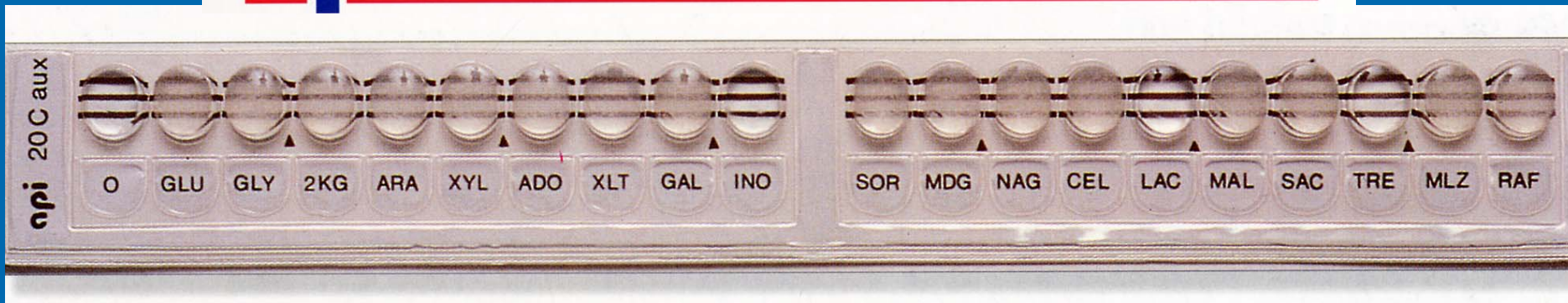
<http://www.doctorfungus.org>



- Genus/Species: *Candida* species
- Slide Reference #: GK 090
- Image Type: Miscellaneous
- Disease(s): Candidiasis

API 20C AUX® BioMérieux : 19 cupules → 43 levures

**api 20 C AUX** Identification des levures en 24-48 h



ID 32 C BioMérieux

API 20C AUX BioMérieux

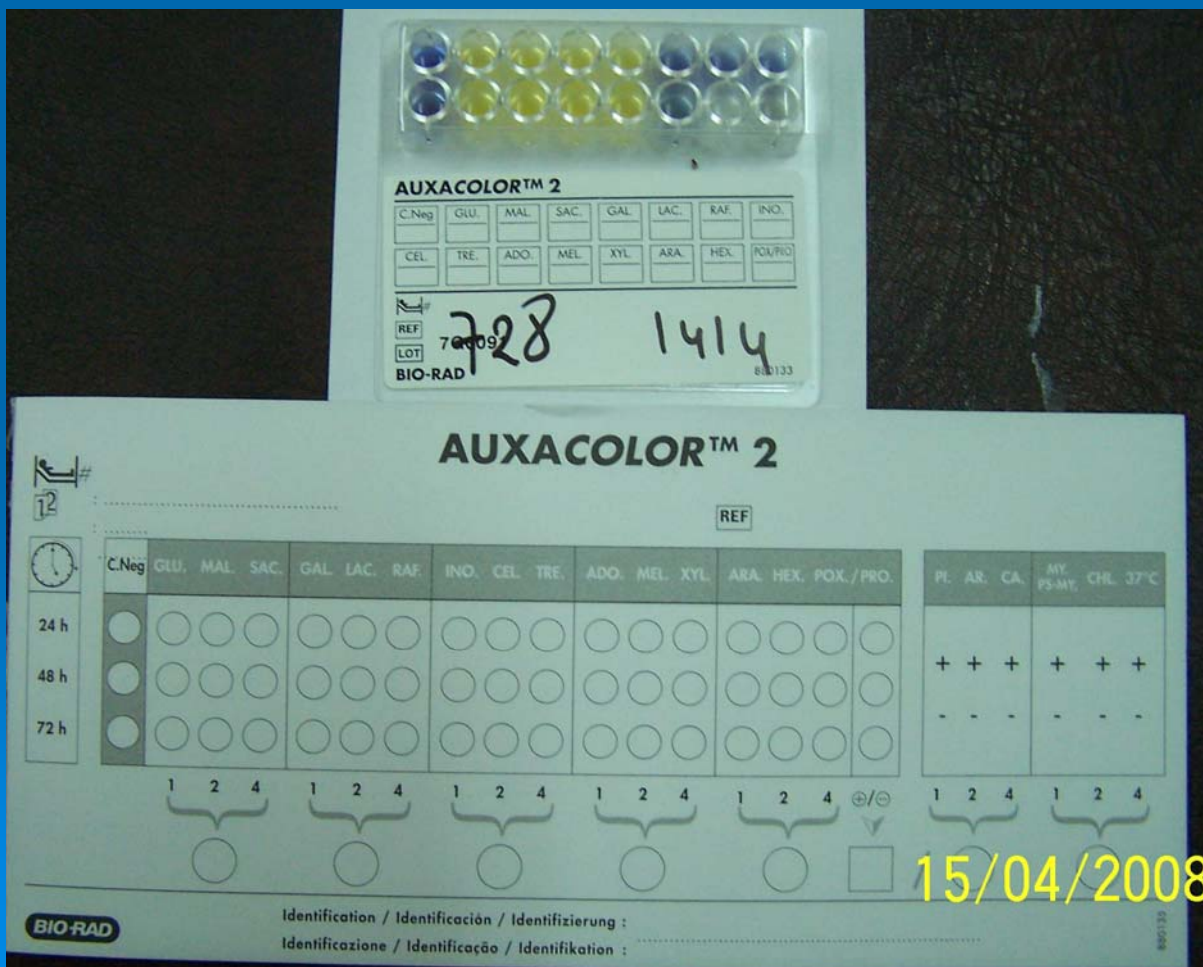


Tests de référence



# AUXACOLOR 2® (BIO-RAD) :

16 cupules: assimilation de **13 sucres**, Sensibilité à **l'actidione**, **Phénoloxydase**, 2 enzymes ( activité de **l'hexosaminidase** et de la **proline- arylamidase**)



# Identification des Candida

a) Démarche classique :

b) Milieux Spéciaux : ➡ Détection sélective de *Candida albicans*.

Possible à l'aide de milieux d'isolement contenant :

▶ Substrats chromogéniques d'une enzyme spécifique de cette espèce.

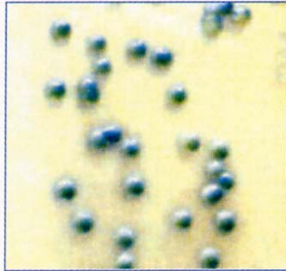
Son hydrolyse entraîne l'apparition d'une coloration au niveau de la colonie elle-même.

♣ CandiSelect 4® Bio-RaD

♣ Candida ID 2® (BioMérieux)

♣ Chromagar® (Candida Becton Dickinson)+++

# Chromagar *Candida*



*Candida albicans*  
*Candida dubliniensis*



*Candida glabrata*



*Candida krusei*



*Candida tropicalis*

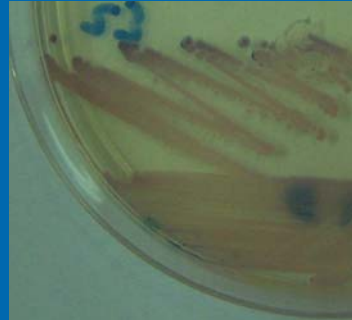
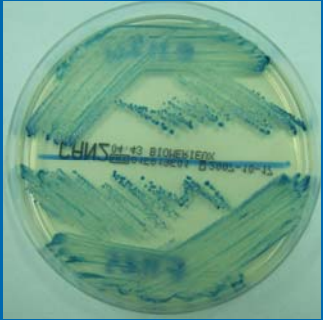


**CHROMagar *Candida***

*Candida glabrata* (rose)    *Candida krusei* (rose pale)

*Candida albicans* (vert)    *Candida tropicalis* (bleu violet)

# Candida ID 2 (BioMérieux)



*C. albicans*  
*C. dubliniensis*  
(bleues)

*C. parapsilosis*  
(blanches lisses)

*C. tropicalis*  
(roses)

*C. glabrata*  
(blanches fines)

*C. krusei*  
(sèches mates)



RTT



*C. glabrata*

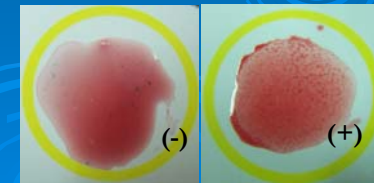
Krusei color  
Fumouze®)



*C. non glabrata*



Ininterprétable



(-)

(+)

Assimilation des glucides: Auxacolor, ID32 c

= *C. non krusei*

= *C. krusei*

# Avantage des milieux spéciaux/aux milieux conventionnels (5-6j)

➤ L'identification est rendu très rapide pour *Candida albicans*

→ 24H

➤ Suspicion de *C.tropicalis* de *C.Krusei* et de *C.glabrata*

(résistants au fluconazole) + identification (galeries) → 48 H

➤ Détection facile de cultures mixtes



(-) 48 à 72 H

EX:



1 bleues = *Candida albicans*,  
2 blanches = *C. parapsilosis*  
3 roses = *C. kefyr*

24/

# DAGNOSTIC DES MALASSEZIOSES



# Les *Malassezia*

- Lipophiles.
- Kératinophiles.
- Levures appartenant à la flore commensale de la peau de l'Homme et des animaux
- Lipodépendantes (sauf *M. pachydermatis* non lipodépendante).

# Taxonomie des *Malassezia*

Ce genre a été révisé

Guého E. et Mayer (1989) : ont montré la synonymie entre Le genre *Malassezia* et *Pityrosporum*

Guillot J., Guého E., Midgley (1996): leur étude taxonomique ultrastructurale et moléculaire a permis de reconnaître 7 espèces:

- 1) *Malassezia pachydermatis* (animaux)
- 2) *Malassezia furfur*
- 3) *Malassezia sympodialis*
- 4) *Malassezia slooffiae*
- 5) *Malassezia globosa*
- 6) *Malassezia obtusa*
- 7) *Malassezia restricta*



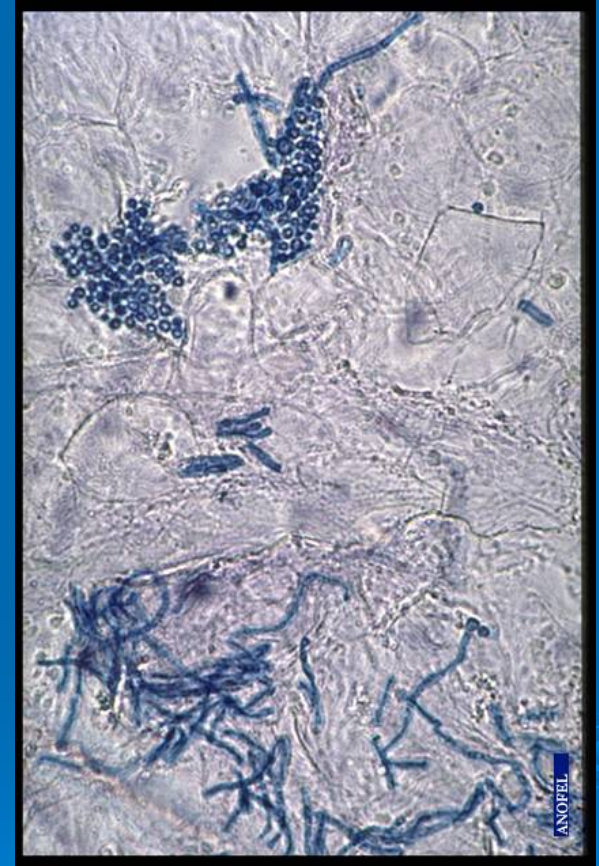
# Diagnostic des *Malassezia*

Examen au microscope :

⇒ Aspect dimorphique:

Levures groupées en 10 à 30 éléments, en forme de grappe de raisin

filaments courts à paroi épaisse.



# Diagnostic des *Malassezia*

La culture n'est pas indispensable dans le diagnostic de routine, elle permet cependant d'identifier l'espèce en cause.

Ensemencement :

**Milieu de Sabouraud** coulé en boîte de pétrie recouvert d'une couche d'huile d'olive.

**Milieu de Dixon**

Incuber à 32 et à 37° 1 semaine

# Diagnostic des *Malassezia*

## Aspect macroscopique:

Colonies bombées, Colonies Jaunâtres ternes

## L' examen microscopique:

Levures caractérisées par leur bourgeonnement unipolaire à base large et répétitif donnant naissance à une collerette au niveau du site de bourgeonnement.



# Identification des *Malassezia*

## 1) Critères morphologiques (macro et microscopiques):

La morphologie des 7 espèces peut permettre une orientation du diagnostic d'espèce.

En fait, si les aspects microscopiques de *M. furfur* et de *M. pachydermatis* sont relativement faciles à identifier.

Le diagnostic des autres espèces repose sur des critères physiologiques, biochimiques et génomiques.

*M. Pachydermatis* est la seule espèce non lipodépendante donc la seule qui pousse facilement Sur **Sabouraud**

# Identification des *Malassezia*

## 2) Identification biochimique :

♣ Test à Puréase: Levures basidiomycètes (uréase +).

♣ Test à la catalase:

♣ Test d'activité  $\beta$  glucosidase ( test à l'esculine ) :

## 3) Identification physiologique:

♣ Test d'assimilation des Tween et du cremophore EL(huile de castor):

♣ Thermotolérance: incubation sur milieu Dixon à 37° et 41° C 3j

*M. Globosa* ,*M.obtusa* ,*M. restricta* : Tween=0 , 37°C =0

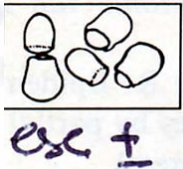
# Clé d'identification des *Malassezia*

Levures du genre *Malassezia*

Lipo-indépendantes

Lipodépendantes

*M. pachydermatis*

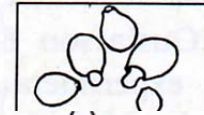


Catalase (+)

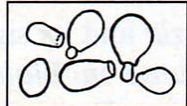
Catalase (-)

Assimilation  
du Tween 40

*M. restricta*



*M. sympodialis*



(+)

(-)

- Tween 20 (-) et 80 (+) → *M. sympodialis*

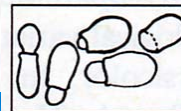
*M. globosa* ← Levures sphériques-

- Tween 20 (+) et 80 (-) → *M. slooffiae*

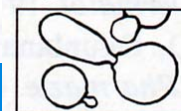
*M. obtusa* ← Levures cylindriques-

- Tween 20 (+) et 80 (+) → *M. furfur*

*M. slooffiae*



*M. globosa*



*M. obtusa*

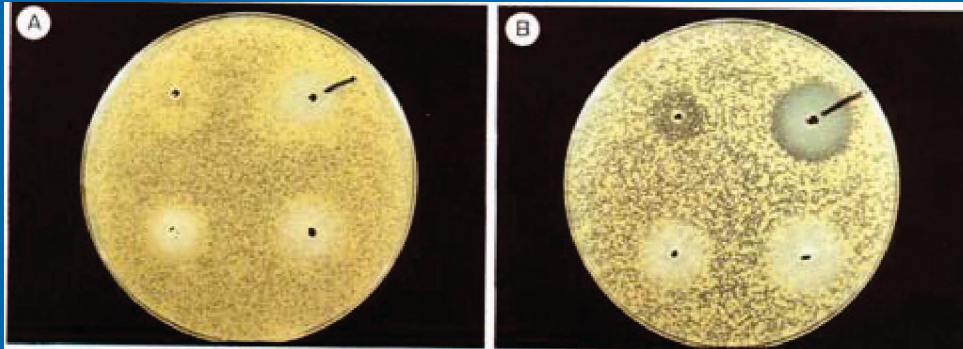


*M. furfur*

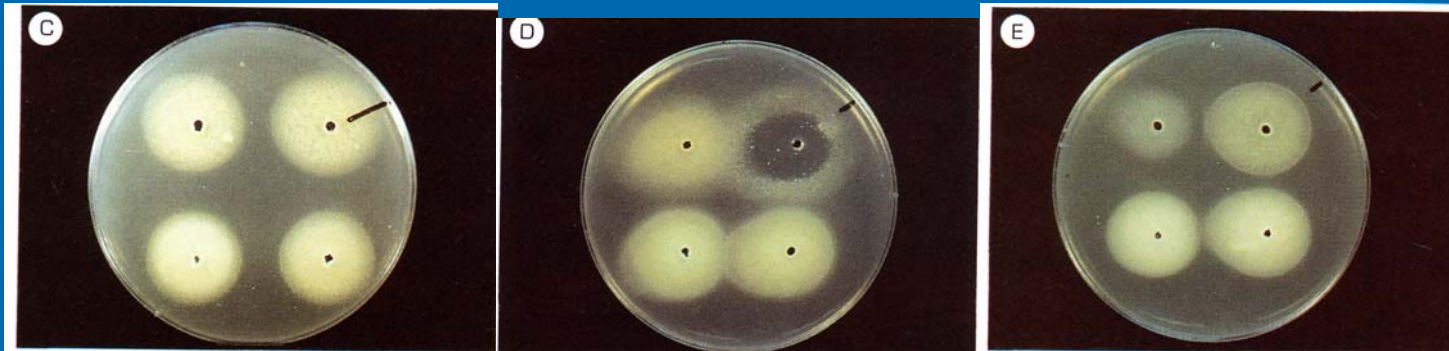


ESC(-)

# Le Tween test



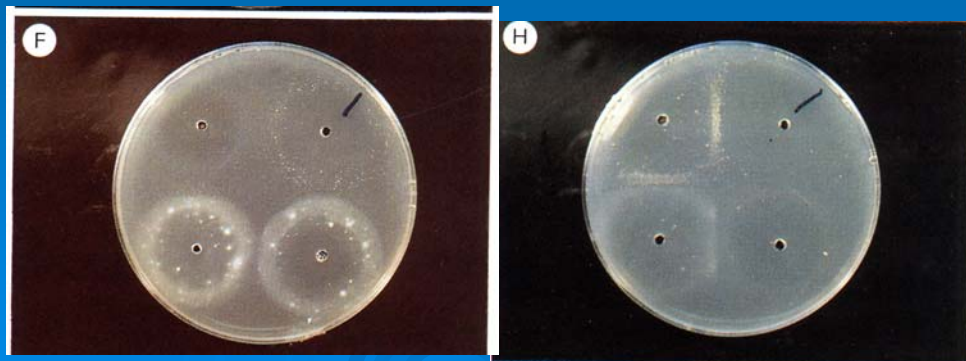
*M. pachydermatis*



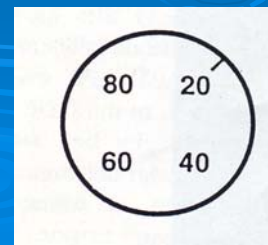
*M. furfur*

*M. sympodialis*

*M. slooffiae*



*M. globosa, M. obtusa, M. restricta*



# APPORT DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE DANS LE DIAGNOSTIC DES MYCOSES SUPERFICIELLES

Les techniques classiques (caractères macroscopiques et microscopiques de la souche isolée, tests biochimiques et physiologiques) sont dans la majorité des cas suffisantes pour le diagnostic des mycoses superficielles.

En revanche la biologie moléculaire est d'un grand apport dans :

♣ les onychomycoses des pieds où le dermatophyte responsable est souvent rapidement envahi par les contaminants et risque de ne pas être isolé et identifié ; de même ces nouvelles techniques (**PCR ou PCR- RFLP**) peuvent confirmer la pathogénicité d'un contaminant quand il est isolé dans les squames .



♣ les malassezia où nous assistons à l'augmentation du nombre des espèces appartenant au genre *Malassezia* qui compte actuellement 11 espèces dont :

-les sept plus anciennes sont difficilement identifiables morphologiquement, ne poussent que sur des milieux spéciaux et exigent des tests difficiles et longs à réaliser en routine, et pas toujours discriminatifs.

-Quatre autres nouvelles espèces ont été créées sur des arguments moléculaires (contenu en G+C de leur ADN, séquençage de l'ADNr 26 S) :

8) *Malassezia dermatis* (Sugita T. 2002)

9) *Malassezia japonica* (Sugita T. 2003)

10) *Malassezia nana* (Hirai A. 2004)

11) *Malassezia yamatoensis* (Sugita T. 2004)

-Très récemment une PCR-RFLP a été mise au point permettant une nette distinction entre les 11 espèces de *Malassezia*.

♣ Enfin, les techniques de biologie moléculaire

(et notamment la PCR), en raison de leur grande sensibilité seraient particulièrement intéressantes dans le cas où la charge mycélienne intra-lésionnelle est trop faible pour être mise en évidence par les techniques mycologiques classiques.

**MERCI DE VOTRE  
ATTENTION**

















# *Infections à Cryptococcus*

➤ Infection due au genre *Cryptococcus*

➤ 19 espèces ,une seule est reconnue pathogène:

*Cryptococcus neoformans* subdivisé en 2 variétés:

*C. neoformans var neoformans*

*C. neoformans var gatii*

➤ Agent de méningite subaiguë se développant (déficit de l'immunité à médiation cellulaire )(VIH++)

➤ L'atteinte cutanée survient au cours des cryptococcoses profondes dans 10% des cas.

➤ Autres non pathogène *Cr. Albidus*, *Cr. laurentii*,  
*Cr.uniguttulatus*.....

Lésions superficielles (peau, ongles)?

# IDENTIFICATION DU GENRE CRYPTOCOCCUS

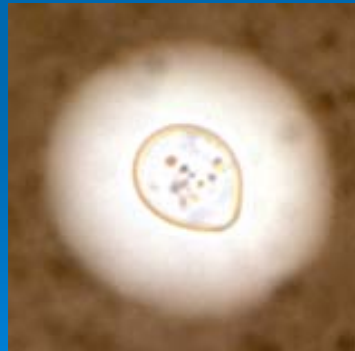
Examen direct



Levures rondes de taille très variables



Test à l'encre de chine



Levures capsulées

# IDENTIFICATION DU GENRE CRYPTOCOCCUS

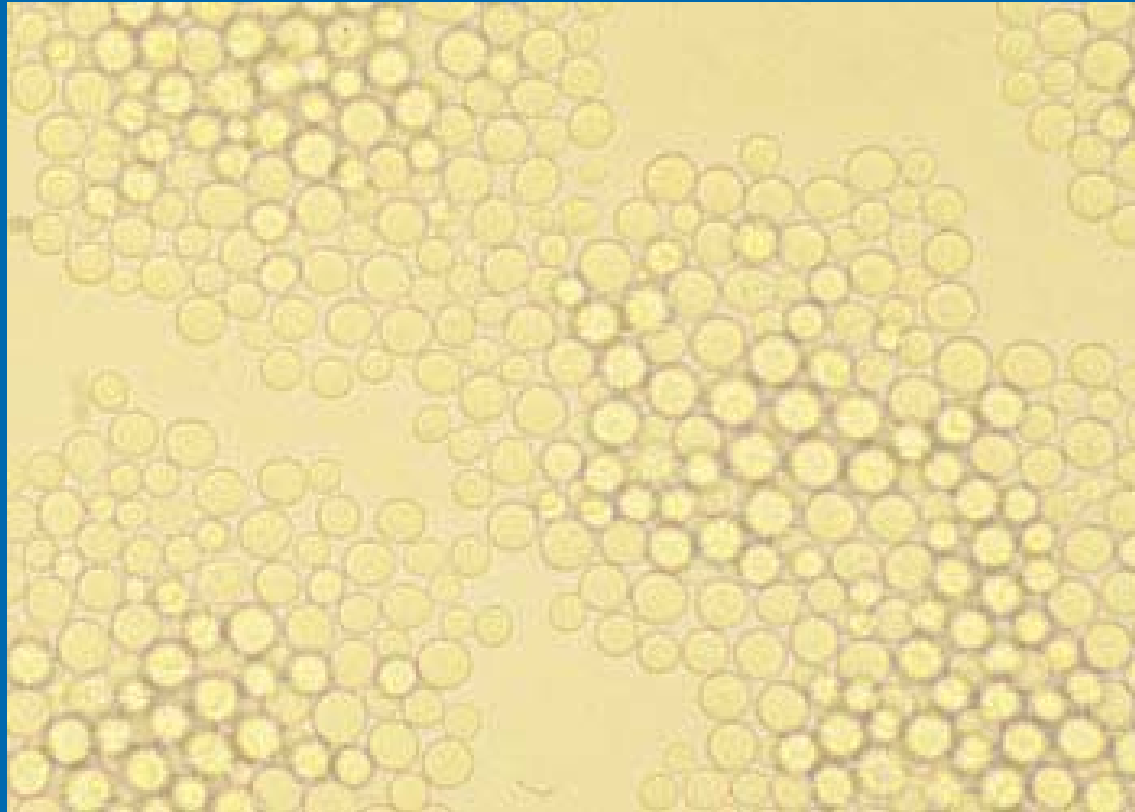
Culture sur Sabouraud  
sans Actidione

Colonies muqueuses  
coulant sur la pente de la  
gélose;

blanchâtre puis beige à  
ocre (pigment caroténoïde  
comme les *Rhodotorula*)



# IDENTIFICATION DU GENRE CRYPTOCOCCUS



PCB: Levures rondes de taille très variables

à bourgeonnement unipolaire ou de type sympodial , à des exceptions

*Cryptococcus neoformans* donne des bougeons multiples

pas de vrai filaments ni de pseudomycélium

# Identification du genre *Cryptococcus*

Basidiomycète :  uréase (+)

Sensibles à l'actidione

Inositol toujours assimilé

Absence de fermentation des sucres

Production d'amidon en milieu acide

# Identification de l'espèce *Cryptococcus neoformans*

Pousse à 37°C

Pouvoir pathogène chez la souris (mort en 8, 10 jours)


Galactose positif

Lactose (-)

Production d'une **phénoloxydase** : mis en évidence sur milieu à l'acide caféique ou aux grains de *Guizotia abyssinica* (=grain de niger) on obtient une coloration noire des colonies de *Cryptococcus neoformans* due à la production d'un pigment proche de la mélanine par action de la phénoloxydase de la levure sur des diphénols

(phénoloxydase: catalyse l'oxydation de l'acide caféique en mélanine)

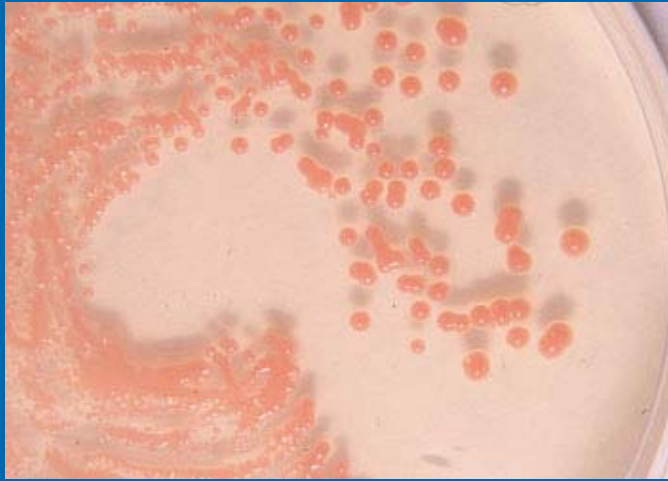
# Infections à *Rhodotorula*

- Levures muqueuses à pigment caroténoïde, rarement impliquées en pathologie
- Saprophyte de l'intestin et de la peau
- Présente dans l'environnement (nature)
- Basidiomycète :  uréase (+)
- Les 2 principales espèces : *R. rubra*

*R. glutinis*

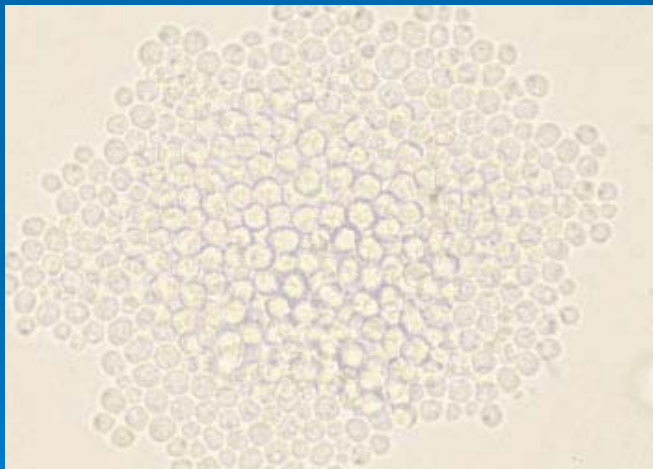


# Rhodotorula sp: Diagnostic biologique



## Macroscopiquement:

Colonies saumon à rose ou rouge  
Caractéristique (pigment caroténoïde)  
Sensible à l'Actidione



## Microscopiquement : AT, PCB

Petite levure ronde  
ovale +/- allongées  
à bougeonnement  
unipolaire sur base  
étroite

Dg d'espèce → **Galleries**

Absence de  
pseudomycélium

# Diagnostic biologique

- Pigment
- Bourgeonnement multilatéral ?
- PM (-)
- Sensible à l'Actidione

# Identification des *Trichosporon*



# *Trichosporon*: Agents pathogènes

- Basidiomycètes (uréase (+))
- Révision taxonomique ( E.Guého et al 1992)
- 3 espèces plus fréquentes:
  - *Tr.mucoïdes*, *Tr. Asahii* et *Tr.inkin*
- 3 autres moins fréquentes
  - *Tr. Cutanéum*, *Tr. Asteroides* et *Tr.ovoides*
- Très récemment une 7ème espèce décrite chez l'Homme: *Tr loubieri* (Padmaja P et al 2003)

# Aspect macroscopique

## Colonies blanches à crème

Plissées à cérébriformes

Surface cireuse ou  
duveteuse



*Trichosporon* sp.



*Geothricum* sp.

# Aspect microscopique

## *Trichosporon sp.*

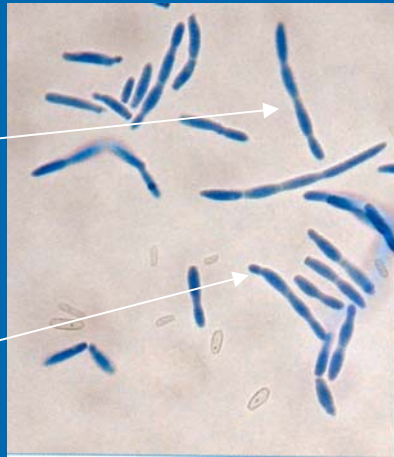
Levures

pseudomycélium

Vrais filaments

Arthrospores

bourgeonnante

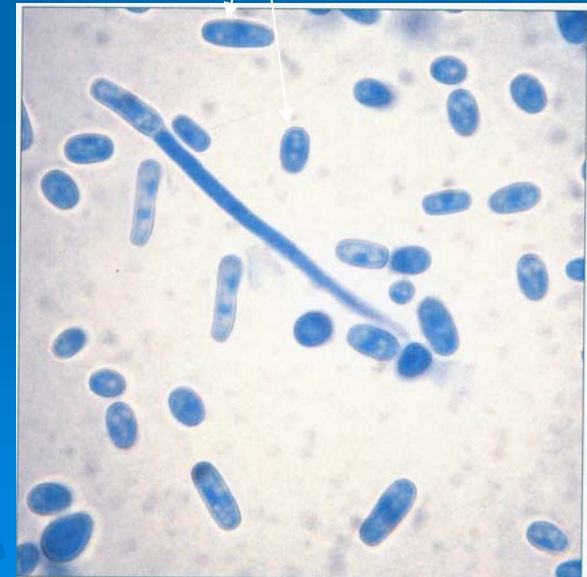


## *Geothricum sp*

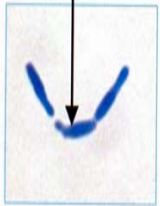
Vrais filaments

Arthrospores

Non bourgeonnante



arthrospore bourgeonnante



x 100



Vrais filaments

# Identification des espèces de *Trichosporon*

- Morphologie macroscopique et microscopique (difficile)
- Sensibilité à l'Actidione variable selon les espèces
- Auxanogramme des sucres: assimilent beaucoup de sucres

# PREVALENCES DES MUQUEUSES SUPERFICIELLES





# ETIOLOGIE DES TEIGNES DU CUIR CHEVELU DANS DIFFERENTES REGIONS DE LA TUNISIE.

Espèce	Monastir Zannad (1993) %	Sfax Ayadi (1989-1991) %	Tunis Chaker (1992-1997) %	Tunis Chaker (1996-2005) %	Sousse Ben Saïd (1986-2005) %
T. violaceum	88,3	77,92	64,16	51,3	60,7
M. canis	11,7	20,78	34,15	-	34,95
T. Schoenleinii	-	1,30	0,46	0,24	1,59
T. mentagrophytes	-	-	0,46	0,41	1,29
T. ochraceu	-	-	-	-	0,84
T. rubrum	-	-	0,30	0,82	0,21
T. tonsurans	-	-	-	-	0,21
M. gypseum	-	-	0,46	-	0,15
M. audouinii	-	-	-	0,16	0,03

# Bilan des dermatophytes

Fréquence des espèces isolées en 2007 à partir des prélèvements superficiels en dehors des teignes du cuir chevelu:

- 797 dermatophytes sur 2582 prélèvements
- 85 % de *Trichophyton rubrum*
- 9,5% de *T. mentagrophytes* variété interdigitale
- 3,9% de *Trichophyton violaceum*
- 0,9 % de *Microsporum canis*
- 0,5 % *Epidermophyton floccosum*
- 0,25 % de *Trichophyton ochraceum*

# Bilan des levures superficielles

Fréquence des espèces isolées en 2002 et 2003 à partir des prélèvements superficiels :

2387 souches de levures

Les 4 espèces les plus fréquents sont :

*Candida albicans* = 1465 (61,37%)

*C. parapsilosis* = 277 (11,6%)

*C. glabrata* = 220 ( 9,2%)

*C. tropicalis* = 141 ( 5,91%)

Autre levures = 284 ( 11,9%)

(*Candida* et non *Candida*)

# Bilan des Pityriasis versicolor

nombre de prélèvements pour Pityriasis versicolor effectués dans notre laboratoire isolés en 2000 et 2007 :

2007 : 281 Scotch test cutané:

177 (+) 104 (-)

2000 : 103 Scotch test cutané:

34 (+) 69 (-)

## Incidence des teignes à Sousse :

Endothrix : En 1986 → 37 %

En 2005 → 16 %

Ecthotrix : En 1986 → 11 %

En 2005 → 26 %

Les teignes trichophytiques sont le plus souvent en rapport avec des espèces anthropophiles ont diminué alors que les teignes microsporiques d'origine zoophile ont gagné du Terrain, le favus est devenu exceptionnel, dernier cas chez nous 2003.