



Mycologie médicale

Intérêt et limites des méthodes de diagnostic

Marie France Biava
M.C.U. - P.H. C.H.U. - Nancy
Service de Parasitologie et Mycologie





Introduction

✧ Evolution de la Mycologie médicale

★ Infections cutané-muqueuses

- Dermatophytes
- Levures

★ Infections profondes graves (ID) – Diagnostic Urgent

- Levures
- Filamenteux opportunistes
 - ★ *Aspergillus : A fumigatus*
 - ★ *Fusarium et Scedosporium*
 - ★ Mucorales



Stratégie des examens mycologiques

❖ Pourquoi demander un examen mycologique ?

★ Mettre en évidence l'agent responsable

« *je ne crois que ce que je vois !* »

- Examen direct important (LBA, expectoration, urines...) → **orientation**
- Culture sur milieu de Sabouraud : identification
- Sensibilité aux Antifongiques

★ Rechercher marqueurs spécifiques de l'infection

- Antigènes circulants : *Aspergillose, Candidose profonde, Cryptococcose*
- Anticorps : *Aspergillose, Candidose profonde*

★ Identification précise par Biologie moléculaire



Stratégie des examens mycologiques

- ✦ Quand demander un examen mycologique ?
 - ★ Suspicion de mycose superficielle : lésions évocatrices
Avant tout traitement (sinon le signaler)
 - Peau (squames)
 - Phanères
 - ★ Ongles, cheveux
 - Muqueuses
 - ★ bouche (muguet)
 - ★ région génitale




Stratégie des examens mycologiques

✘ Quand demander un examen mycologique ?

★ suspicion d'infection profonde ?

non pathognomonique

- ★ Fièvre résistante aux Antibiotiques (Hémos – pics thermiques)
 - *Candidose systémique, mycose opportuniste*
- ★ Infection respiratoire ou DRA chez Immuno-déprimé
 - *Aspergillus, Candida*
- ★ Syndrome méningé chez Immuno-déprimé
 - *Cryptococcose méningée*
- ★ Localisation viscérale (hépatique)
 - *Candidose*



Stratégie des examens mycologiques

- ❖ Comment réaliser un examen mycologique ?
 - ★ Matériel adéquat, conditionnement
 - ★ Identification précise (Nom, DDN, site)
 - ★ Renseignements cliniques et épidémiologiques :
clinique, pathologie, terrain, ID (opportunistes)
 - ★ Conservation et acheminement
 - Urgence diagnostique (pronostic vital : *Crypto. neoformans*)
 - < 24 h à T° ambiante ou 4° si mycologie quantitative

Sa bonne exécution conditionne la qualité de l'analyse



Mycoses profondes et muqueuses

Les prélèvements

* Types de prélèvements

- Hémocultures (Bactério)
- Urines
- Selles
- P. vaginal, urétral, anal
- Pts ORL et pulmonaires
 - * nez, bouche, gorge, oreille
 - * sinus (boule fongique)
 - * expectorations
 - * LBA, liquide pleural
- Biopsies
- Cathéters, sondes...

* Désinfection locale

* Recueil

- Flacons stériles (liquides)
- Ecouvillon stérile + / - eau phy. (muqueuses)

* Acheminement

- * rapide pour quantification
 - T° : 4° (glace)
- * sinon ≤ 24 h

Stratégie des examens mycologiques

❖ Démarche diagnostique

★ Examen direct : rapide

--> **Orientation**

- à frais ou au noir clorazole : urines, LBA, expectorations
- au bleu de lactophénol : peau, squames, ongles, cheveux





Stratégie des examens mycologiques

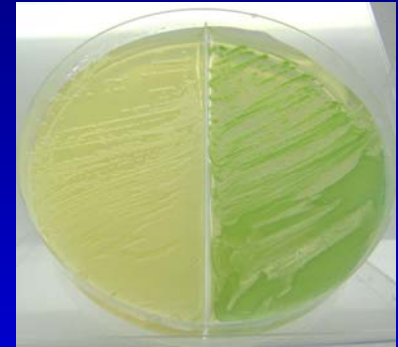
★ Examen direct : --> **Orientation**

- à l'encre de chine : LCR
levures encapsulées
Cryptococcus
- après fixation et coloration :
anatomo-pathologie
HES PAS Grocott...

Stratégie des examens mycologiques

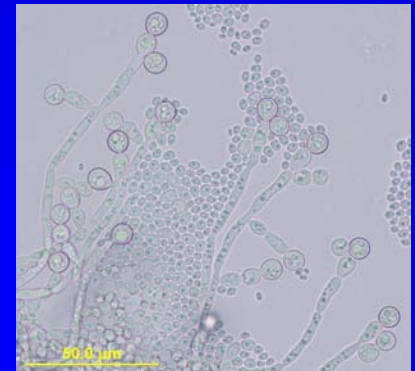
★ Isolement (levures = 24 à 48 h)

- Culture sur milieu de Sabouraud
± Actidione



★ Identification : aspect macro et microscopique des colonies

- Formation de pseudomycélium (RAT)
- Milieux chromogènes : orientation

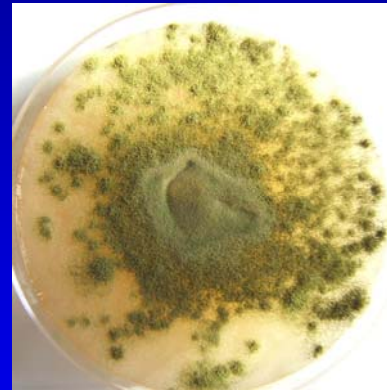


Stratégie des examens mycologiques

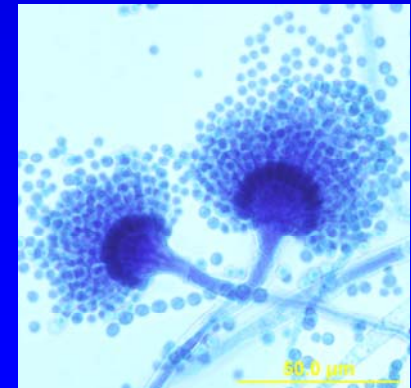
★ Identification des filamenteux : aspect macro et microscopique



Dematophyte



Aspergillus





Stratégie des examens mycologiques

❖ Interprétation des résultats

★ Examen négatif

- E. direct et culture négative

- ★ **Absence de champignons pathogènes**

- ★ *E. faussement négatif :*

si arguments cliniques : renouveler les examens

- prélèvement incorrect ou insuffisant
région, traitement, liquide de transport (fixateur)
- mycose profonde, viscérale
demander biopsie et sérologie



Stratégie des examens mycologiques

❖ Interprétation des résultats

★ Examens discordants

- E. direct négatif et culture positive : fréquent
 - ★ quantité peu importante de levures ou spores dans le prélèvement
confirme l '**intérêt de la culture**
- Examen direct positif et culture négative
 - ★ patient sous traitement prophylactique ou curatif
impossible de préciser exactement l 'espèce (Aspergillus, Candida, Cryptococcus)



Stratégie des examens mycologiques

❖ Interprétation des résultats

★ Examens positifs : culture et identification

ce champignon est-il potentiellement pathogène ?

● Selon le genre et l' espèce de champignons

- ★ exosaprophytes : sol, plantes, air (*Penicillium, Aspergillus, Candida*)
parasites occasionnels ou « **opportunistes** »
- ★ endosaprophytes : cavités naturelles (Homme et animaux)
Candida albicans, C. glabrata (TD, muqueuses génitales)
- ★ endo-exosaprophytes : milieu extérieur et cavités naturelles
Candida tropicalis, C. krusei, C. kefyr, Geotrichum candidum (aliments)
- ★ epi-saprophytes : surface de la peau *Malassezia furfur*



Stratégie des examens mycologiques

✧ Interprétation des résultats

★ Examens positifs : culture et identification

saprophyte, colonisation ou pathogène ?

● Selon l'Examen direct et la culture quantitative

★ ED : levures +/- pseudomycelium

★ Quantification des champignons

notion de seuil : différent selon origine du prélèvement

- urines : 10^4 à 10^5 UFC
(voir cytobactériologie)
- selles : 10^5 à 10^6 UFC



Stratégie des examens mycologiques

❖ Interprétation des résultats

★ Examens positifs : culture et identification

ce champignon est-il pathogène chez ce patient ?

- Selon la clinique
- Selon le terrain : facteurs de risque
 - ★ extrêmes de la vie (nouveau né, nourrisson, vieillard)
 - ★ pathologie sous jacente : diabète, immuno-dépression, SIDA
 - ★ explorations fonctionnelles, cathéters (*inf. nosocomiale*)
 - ★ ATB , corticoïdes



Stratégie des examens mycologiques

❖ Interprétation des résultats

★ Examens positifs : culture et identification
ce champignon est-il pathogène chez ce patient ?

● Selon l'origine du prélèvement

★ Sites théoriquement stériles

- LCR (*C. neoformans* pathogène) + Ag circulants
- sang : 1 seule hémo + (*en absence de voie veineuse centrale*)
- urines (*contaminations vaginales et digestives*) (*sondes*)
répéter les examens et voir cyto-bactério

★ Biopsies (zones de nécrose)

★ Autres prélèvements

- flore buccale, intestinale, vaginale....



Les Candidoses : diagnostic

✧ Interprétation des résultats

★ Arguments en faveur de la pathogénicité

- Examen direct positif : levures + pseudomycelium ou filaments
- Abondance de la culture
- Nature du prélèvement : cathéter, hémoculture, biopsie...
- Terrain : ID, aplasie

★ Quand réaliser un antifongogramme ?

Stratégie des examens mycologiques

★ Antifongigramme : réalisation technique

- Microcupules : 2 concentrations d'AF
sensible intermédiaire résistant
- Boîte avec disques : diamètre d'inhibition



Souche pure

Stratégie des examens mycologiques

* Détermination de la CMI : E Test



Corrélations in vivo, n vitro ?



Stratégie des examens mycologiques

* Dosages sériques

- But :
 - * vérifier l'absorption
 - * vérifier le surdosage
- Techniques
 - * méthode microbiologique
 - * HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performances



Stratégie des examens mycologiques

★ Recherche d'Antigènes circulants

● **Platelia Aspergillus® (Bio-Rad)**

Test ELISA : Ac monoclonal anti galactomannane
(Ag majeur de paroi) - principal Ag circulant

Bonne sensibilité (index 0,5) *mais risque de faux positifs*

Réactions croisées

surtout chez enfants : galactomannanes alimentaires

antibiotiques : Tazocilline, pénicillines

autres champignons filamenteux

● **Platelia Candida® (Bio-Rad)**

Test ELISA : Ac monoclonal anti β 1-5 oligomannosides
(Ag majeur de paroi) - principal Ag circulant



Stratégie des examens mycologiques

* Recherche d'anticorps : sérologie

- Techniques
 - * I.F.I. seuil : 1/160
 - * HAI seuil : 1/320
 - * ELISA plus sensible
 - * Précipitines
 - ID et IEP CoES
- Intérêt : candidoses profondes et aspergillome
Séroconversion ou élévation significative des Ac
- Limites :
 - * *Forte colonisation ou infection profonde ?*
 - * *Réponse chez ID ?*



Stratégie des examens mycologiques

✧ Apport de la Biologie moléculaire

★ Intérêt : épidémiologie

Détermination précise : sous espèce

★ Limites :

- *Manque de standardisation*
- *Cinétique du DNA*
 - * DNA ≠ AG

★ Bonne technique complémentaire