Introduction à la mycologie

3^{ème} année de médecine

Z. Hamroune 2022-2023

Introduction à la mycologie

Plan

I- Généralités sur les champignons

- I-1- Morphologie des champignons
- I-2- Origine des champignons
- I-3- Physiologie des champignons
- I-4- Reproduction des champignons
- I-5- Classification des champignons

II- Généralités sur les mycoses

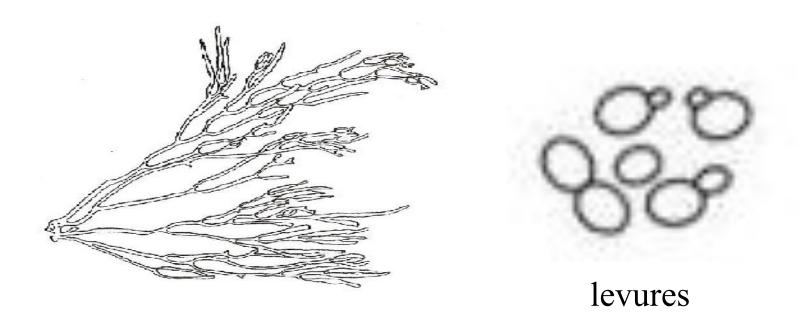
- II-1- Classification des mycoses
- II-2- Sources d'infestation
- II-3- Mode de contamination
- II-4- Répartition géographique
- II-5- Facteurs favorisants
- II-6- Manifestations cliniques des mycoses
- II-7- Diagnostic des mycoses
- II-8- Les traitements antifongiques

I- Généralités sur les champignons

- -La mycologie est la science qui étudie les champignons microscopiques responsables d'infections humaines ou animales, appelées mycoses.
- -Les champignons (mycètes = Eumycètes) sont des organismes nucléés de type **eucaryote**.
- -Ils sont dépourvus de pigments assimilateurs (chlorophylle), ils sont incapables de photosynthèse.
- -Ils sont **hétérotrophes**, c'est à dire incapables de composer leurs propres constituants qu'à partir de substances organiques:
- ils sont donc condamnés à mener une vie saprophytique ou parasitaire.

-Ces champignons se développent par un <u>système de filaments</u>, **thalle**, mycélium ou hyphes, ± ramifiés = **thallophytes**.

-Parfois ce thalle est réduit à <u>l'état unicellulaire</u> (levure).



Filaments mycéliens

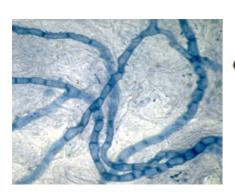
- -Les champignons assurent leur nutrition uniquement par **absorption** à partir du mycélium.
- -La paroi cellulaire est très riche en **polysaccharides**, est constituée de **chitine**, et β **glucanes**.
- -L'ergostérol constitue le principal stérol de leur membrane.
- -Les champignons sont aérobies strictes.
- -Ils constituent un règne particulier qui est celui du règne **Fungi** (Regnum fungorum) distinct de celui des plantes et du règne animal.
- On évalue à plus d'un million le nombre d'espèces connues,
- \approx 400 espèces fongiques impliquées en pathologies humaines.

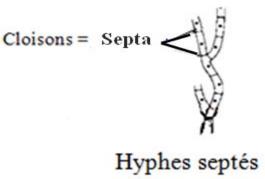
I-1- Morphologie des champignons : L'élément de base de l'appareil végétatif est le thalle ou mycélium.

Il peut se présenter sous 3 aspects différents:

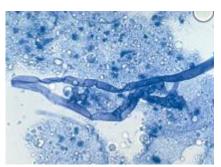
• Filamenteux:

- -Septomycètes (cloisonnés) ou champignons supérieurs:
- Le Ø des filaments est régulier et fin avec septum (cloison) et des ramifications sont surtout à angle aigue.
- -<u>Siphomycètes</u> (peu ou pas cloisonnés = cœnocytiques) ou champignons inférieurs: Le Ø des filaments est irrégulier, les ramifications sont surtout à angle droit.









Parmi les mycètes filamenteux, on différencie :

-Les dermatophytes:

Champignons <u>kératinophiles</u>, adaptés à la <u>peau</u> et aux <u>phanères</u> de l'Homme ou l'animal.

Provoquent des lésions quel que soit le statut immunitaire du patient . Exemple : *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* et *Nannizzia*.

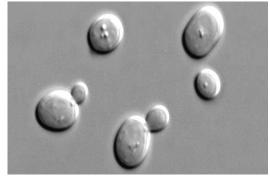
-Les moisissures:

Comportement <u>opportuniste</u>, leurs développement chez l'Homme se fait le plus souvent suite à <u>l'affaiblissement de ses défenses</u> <u>immunitaires</u>. Exemple: *Aspergillus*.

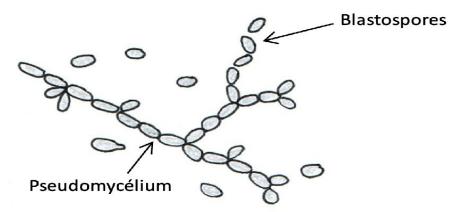
•Levures :

- -Le thalle est réduit à l'état unicellulaire,
- -Forme ronde ou ovalaire, de petite taille (< à 10 μ m),
- -La reproduction se fait par bourgeonnement,
- -Certaines levures, appartenant par exemple au genre *Candida*, peuvent donner naissance <u>par bourgeonnements successifs</u> à un <u>pseudo mycélium</u> ou même à des filaments mycéliens vrais.

Exemple: Candida sp, Malassezia sp,...



Levures bourgeonnantes



•<u>Dimorphique</u>:

- -Champignons à morphologie différente à l'état parasitaire et à l'état saprophytique.
- -Forme **filamenteuse** à l'état saprophyte (environnement) et Milieu de culture à 25-30°C.
- -Forme levure à l'état parasitaire (Hôte) et Milieu de culture particuliers (Réducteurs, Sang, CO2, pH légèrement alcalin) à 37°C.
- Exemple: *Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Talaromyces marneffei,...*
- Autres champignons: Champignons atypiques, non cultivables
 - -Pneumocystis jirovecii, agent de la pneumocystose humaine.
 - -Les microsporidies, agents de microsporidioses.

I-2- Origine des champignons :

- -Champignons endogènes (intestinal, respiratoire et vaginal):
- *Champignon opportuniste, cosmopolite → levures Exemple : Candida albicans, Candida glabrata.

-Champignons exogènes:

- *Champignons opportunistes, cosmopolites.
- Exemple: Aspergillus, mucorales, Cryptococcus, Pneumocystis...
- *Champignons pathogènes, cosmopolite: Dermatophytes Exemple: *Trichophyton rubrum, Microsporum canis....*
- *champignons dimorphiques, pathogènes, limités à certaines régions géographiques. Exemple: *Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis, Talaromyces marneffei...*

I-3- Physiologie des champignons:

.Nutrition: La nutrition des champignons se fait par absorption.

- -Ils ont besoin d'une source de <u>carbone</u> et l'<u>azote</u>, et des <u>ions</u> minéraux, ... certains exigent des <u>vitamines</u>.
- -Le pH est légèrement acide.

.Biologie: Les micromycètes vivent le plus souvent en:

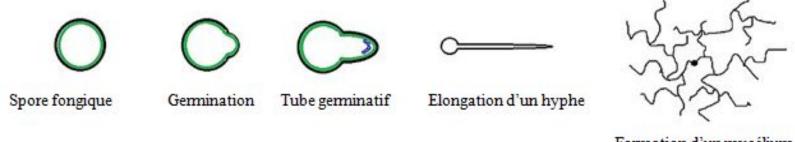
- -Saprophytes dans le milieu extérieur (sol, air, végétaux),
- -Les animaux (poils),
- -À partir de substrats organiques en décomposition (exemple : *Aspergillus*).

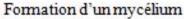
- -Certains champignons vivent en <u>commensalisme</u> chez l'Homme et font partie du <u>microbiote normal</u> intestinal, respiratoire et vaginal (par exemple, levures du genre *Candida*).
- -La plupart des mycètes profitant d'un affaiblissement de l'hôte deviennent des pathogènes opportunistes, provoquant des infections.
- -D'autres mycètes sont pathogènes, quel que soit le statut immunitaire du patient (exemple des dermatophytes).

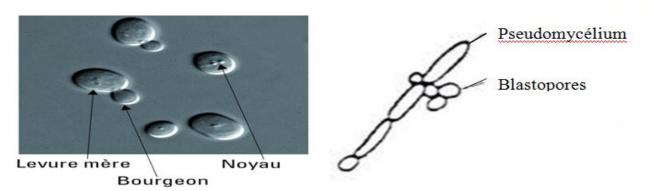
.Croissance: Se fait à partir d'une spore ou d'une levure

- -Spores : par germination et production d'un mycélium duveteux.
- -Levures : par bourgeonnement unique ou multiple et formation d'une cellule fille qui se détache.

Certaines levures, appartenant au genre *Candida*, peuvent donner naissance par bourgeonnements successifs à un pseudomycélium.

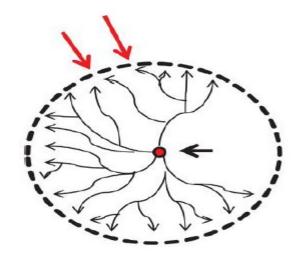






- -Les champignons se développent sur leur substrat nutritif à partir d'un **point central**.
- -La croissance du mycélium se fait d'une façon <u>centrifuge</u> après épuisement du substrat du <u>centre vers la périphérie</u>, entrainant la dégénérescence des filaments de la zone centrale.



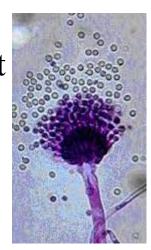


Epidermophytie circinée

I-4- Reproduction des champignons:

-La plupart des Eumycètes se multiplient en produisant des <u>spores sexuée</u> ou <u>asexuée</u> en très grand nombre.

-Emportées par le vent ou l'eau, les spores germent et produisent un mycélium duveteux au bout <u>d'une</u> semaine environ sur un substrat.

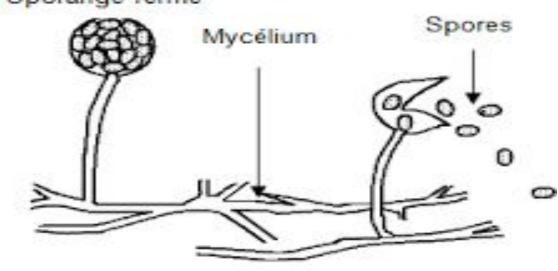






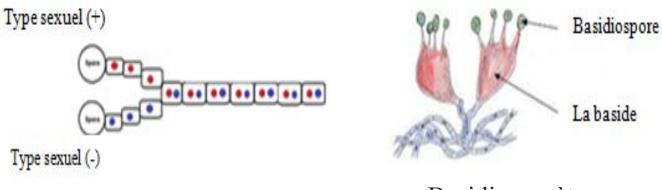
- -<u>Champignons parfaits</u>: Champignons qui possèdent les deux modes de reproduction, sexuée et asexuée.
- -<u>Champignon imparfait</u> «Fungi imperfecti»: Seul la reproduction asexué est retrouvée (Deutéromycètes).

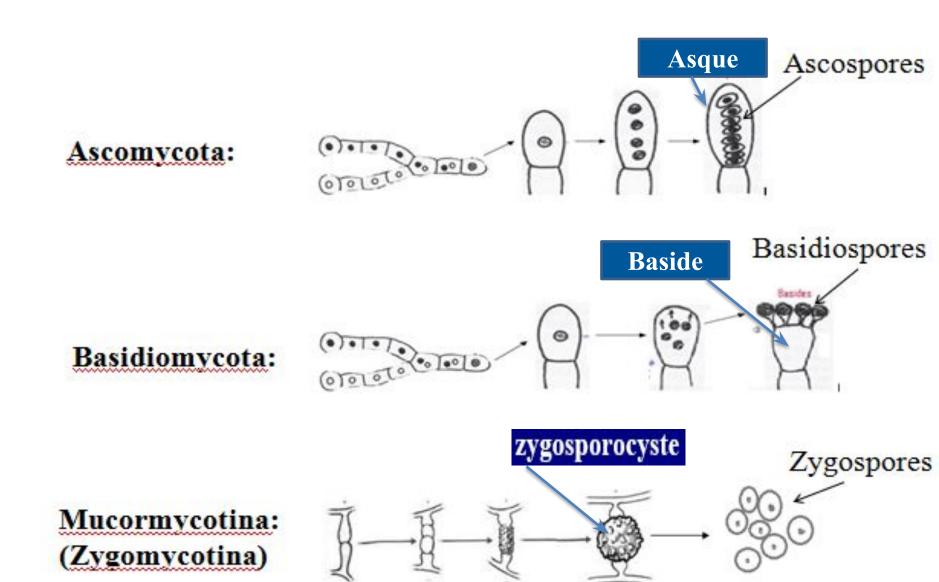
La reproduction aboutit à la formation d'une **spore**, qui est **l'unité de base** et l'organe de **dissémination** et de **résistance** du champignon.



<u>a- La reproduction sexuée</u> (Stade téléomorphe):

- -Elle est rare, se reproduit lorsque les conditions extérieures sont défavorables.
- -La reproduction sexuée fait intervenir la rencontre de filaments spécialisés (plasmogamie), la conjugaison des noyaux (caryogamie) et enfin une méiose suivie d'une ou plusieurs mitoses.
- -Ces évènements sont suivis par la formation de spores (les ascospores, les basidiospores, les zygospores).





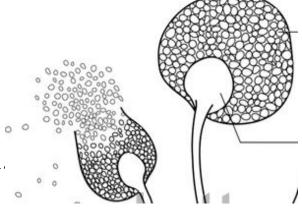
<u>b-Multiplication asexuée</u> (stade anamorphe):

- -Elle est basée sur la production de spores asexuées.
- -Les noyaux se divisent par simple mitose (conservation de lignées stables).
- -Elle est de loin la plus importante, elle est assurée par la production de spores internes ou externes.

-Spores internes ou endogènes:

Ces spores se forment à l'intérieur d'un sac ou vésicule appelée sporange. Ces spores sont libérées par rupture de la paroi.

Exemple: Les mucorales.



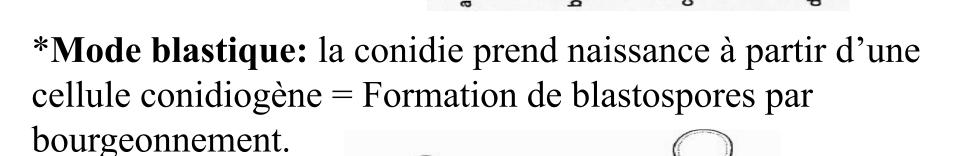
Sporange

-Spores externes ou conidies:

Formation par conidiogenèse selon 2 modes:

*Mode thallique: le filament se cloisonne de façon répétée pour

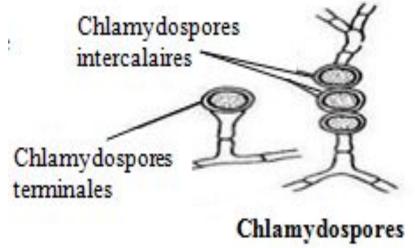
individualiser les conidies.



Selon leurs modes de formation, les conidies ont des appellations différentes:

Arthrospores, Blastospores, Sympodulospores, Phialospores, Porospores, Aleuriospores, Annelospores, et Chlamydospores.

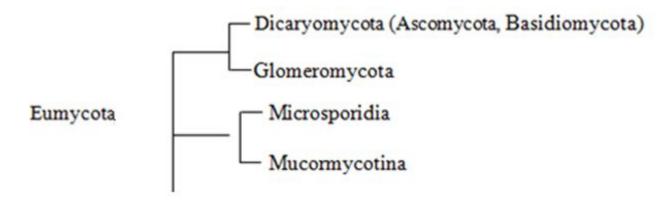
Chlamydospores: Ce sont des <u>spores de résistance</u> formées par condensation du cytoplasme et épaississement de la paroi, dans un milieu hostile.



I-5- Classification des champignons:

La classification "actuelle" des eumycètes ne tient compte que des champignons se reproduisant selon le mode sexué.

On distingue dix divisions (ou embranchements):



La subdivision des **Deutéromycotina** qui regroupe les formes asexuées des Dicaryomycota, ne constituant pas un ensemble phylogénétique, a été supprimée de la classification des champignons.

Dans la pratique nous continuons à utiliser les critères de classification des deutéromycètes comme éléments d'identification de ces champignons.

C'est dans cette division qu'on retrouve le plus grand nombre d'espèces <u>d'intérêt Médical</u>. Il englobe toutes les espèces se multipliant sur le monde asexué.

- -Les Deutéromycètes sont divisés en 3 classes:
 - Les Blastomycètes: Regroupent l'ensemble des champignons levuriformes c'est à dire des éléments fongiques se reproduisant par bourgeonnement.
 - Ordre: Cryptococcales
 - Genre: Cryptococcus, Candida, Trichosporon, Rhodotorula et Malassezia.

●Les Hyphomycètes:

Regroupent les champignons filamenteux à thalle septé dont les cellules conidiogènes sont libres.

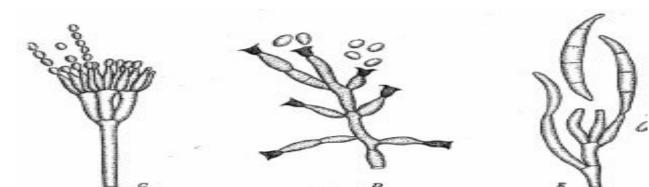
-Ordre: Moniliales

-2 Familles:

.Moniliaceae (Hyalohyphomycètes ou Mucédinés): *Trichophyton, Microsporum, Aspergillus sp, Penicillium sp,...*

.Dematiaceae (phaéohyphomycètes ou Dématiés): Alternaria sp,

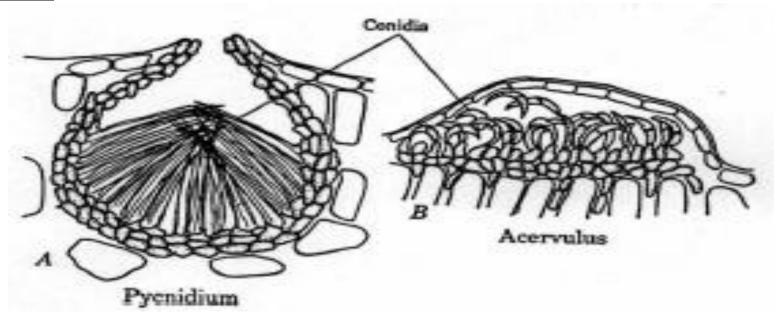
Bipolaris sp, ...



• Les Cœlomycètes:

Rassemblent les champignons filamenteux dont les cellules conidiogènes sont contenues dans des <u>organes protecteurs</u> appelés Pycnides ou Acervules.

-Rarement impliqués en pathologie humaine, <u>parasites de</u> <u>végétaux.</u>



II- Généralités sur les mycoses

- -Les **mycoses** sont des **maladies** provoquées par des **champignons microscopiques**, susceptibles de vivre en parasite chez l'Homme.
- -Le nombre d'espèces impliqué en pathologie humaine est en augmentation continue en raison:
- *des nouvelles techniques médico-chirurgicales et de réanimation,
- *les états d'I. dépressions de l'hôte (hémopathies, cancer, SIDA, etc.),
- *les thérapeutiques Immunosuppressives,
- *la transplantation d'organes solides ou de greffe de cellules souches hématopoïétiques...

II-1- Classification des mycoses:

*Le nom de l'infection fongique dérive habituellement du nom du champignon (du **genre**) en lui ajoutant le suffixe « -ose ».

```
Exemple : Candida \longrightarrow candidose;

Aspergillus \longrightarrow aspergillose;

Fusarium \longrightarrow fusariose, etc.
```

- *Dans certains cas, on utilise un terme regroupant des **ensembles de champignons**. Exemple: mucorales mucormycoses.
- *Parfois, le nom de la mycose dérive du nom de la **partie du corps atteinte**. Exemple: -Peau ou du derme: dermatomycose,
 - -ongle: onychomycose,
 - -Conduit auditif: otomycose, etc.

- *Il est également habituel de nommer :
- -Les mycoses des pieds à dermatophytes et/ou à *Candida* : les « **pieds d'athlète** ».
- -Le mot « **Teigne** », qui définit le parasitisme fongique des **cheveux**, de la barbe, de la moustache et des poils en général.
- *Parmi les Mycoses, on distingue :

-Mycoses superficielles:

Cutanées, muqueuses, cuir chevelu, cheveux, poils et ongles... Mycoses cosmopolites, en général **bénignes**.

*Les teignes du cuir chevelu : dues aux dermatophytes (Microsporum canis, Trichophyton violaceum...)

- *Les onychomycoses (atteinte des ongles): dues aux
- -Dermatophytes (Trichophyton rubrum, Trichophyton interdigitale,..)
- -Levures (Candida albicans, Candida parapsilosis,...)
- -Moisissures (Fusarium sp, Acremonium sp,,...)

- *<u>Les épidermomycoses</u> = épidermophyties = dermatophyties (atteinte de la <u>peau glabre</u>): dues aux
- -Dermatophytes (Trichophyton rubrum, Microsporum canis,..)
- -Levures (Malassezia sp., Candida sp,...)

- *Les intertrigos (atteinte des plis) : Dues aux
- -Dermatophytes (Trichophyton rubrum, Trichophyton interdigitale,...)
- -Levures (Candida albicans Candida parapsilosis,...)
- *Les mycoses touchant les <u>muqueuses</u> (buccale, tube digestif, génitale) → Levures du genre *Candida*.

-Mycoses sous cutanées:

Dues aux champignons dimorphiques, retrouvées en milieu tropical et dans des zones bioclimatiques précises.

Exemple : *Madurella mycetomatis* => Mycétomes *Sporothrix schenckii* => Sporotrichose.



Mycétome du pied



Sporotrichose.

-Mycoses profondes ou systémiques ou disséminées :

Souvent sévères, survenant dans un contexte d'I.suppression: candidose, aspergillose, cryptococcose...

*Levuroses:

Exemple: Candidoses (Candida albicans, Candida glabrata,...)
Cryptococcoses (Cryptococcus neoformans,
Cryptococcus gattii).

*Mycoses à champignons filamenteux :

Exemple: Aspergilloses (Aspergillus fumigatus, ...)

Fusarioses (Fusarium solani, ...)

Mucormycoses (Rhizopus, ...)

*Mycoses à champignons dimorphiques :

Exemple: Histoplasmoses: (*Histoplasma capsulatum*, ...)
Blastomycoses (*Blastomyces dermatitidis*)...

Autres mycoses (non classés):

- *Pneumocystose (Pneumocystis jirovecii)
- *Microsporidiose (Enterocytozoon bieneusi, Encephalitozoon intestinalis,...)
- -Les mycètes peuvent également être responsables chez l'Homme:
- *Intoxications dues à l'exposition à certains micromycètes (mycotoxicoses); Ex : aflatoxine d'*Aspergillus flavus* sur les graines de céréales et d'arachides.
- *Pathologies immunoallergiques liées à un état d'hypersensibilité (alvéolites allergique extrinsèques, asthme, ABPA, etc.)

II-2- Sources d'infestation :

- *Le sol: pour les espèces géophiles.
 - Ex: Nannizzia gypsea / dermatophytie.
- *Les végétaux (épines+++): agents de mycétomes ; agents de sporotrichose...
- *L'aire: spores d'Aspergillus sp, Penicillium sp...
- *L'eau: levures du genre Candida,...
- *Les animaux: dermatophytes zoophiles.
 - Ex: Microsporum canis /teigne du cuir chevelu...
- *L'homme: dermatophytes anthropophiles.
 - Ex: *Trichophyton rubrum* /onychomycose...
- *Les aliments: levures du genre Candida,...

II-3- Mode de contamination:

- *Inhalation: (cryptococcose, aspergillose, histoplasmose, ...)
- *Contact direct: sur le revêtement cutané champignons kératinophiles (Dermatophyties)
- *Transcutané: piqures d'épines (sporotrichose), blessures, plaies opératoires, brulures...
- *Urogénitales: sexuelles, après pose de sonde urinaires... Exp: *Candida albicans* et *Candida glabrata*.
- *Sanguine et tissulaires: cathéter, interventions chirurgicales,...
- *Ingestion: produits laitiers ou des fruits; rare. Ex : Candida sp.

II-4- Répartition géographique:

- *Les champignons sont souvent cosmopolites.
- *Certains ont une localisation géographique précise:
- -Les champignons <u>dimorphiques</u> → zones inter tropicales (chaudes et humides)

Exemple: Les agents de mycétomes → régions à climat chaud et sec...

II-5- Facteurs favorisants:

Le développement des mycoses dépend à la fois de :

- -Facteurs intrinsèques liés à l'hôte
- -Facteurs extrinsèques.

Facteurs intrinsèques liés à l'hôte:

- *Physiologiques:
- •Enfants, Sujets âgés (mycoses buccales)
- •Femmes enceintes (mycoses vaginales)

*Locaux:

- •L'humidité, la transpiration, macération, brulures, les traumatismes, l'atmosphère confinée (saunas, douches), les chaussures fermées...
- •Certaines professions exposent aux mycoses : agriculteurs, vétérinaires...

*Terrain du patient:

Diabète, I. dépression (SIDA), maladies néoplasiques, toutes maladies qui entrainent un affaiblissement de l'état général ou de l'immunité.

Facteurs extrinsèques et/ ou iatrogènes:

-Traitements médicamenteux:

L'antibiothérapie prolongée à large spectre, les I. suppresseurs, cytotoxiques, corticostéroïdes, antimitotiques, chimiothérapie, radiothérapie, les hormones contraceptives et les antiseptiques.

-Agressions chirurgicales:

Cathéters, prothèse, sondes, le matériel de dialyse, greffes d'organes solides et de moelle osseuse, chirurgies digestive et cardiaque,...

II-6- Manifestations cliniques des mycoses:

Les manifestations des mycoses diffèrent selon la zone touchée et les champignons responsables :

-Les mycoses des mains et des pieds : rougeurs, prurit, fissuration au niveau des interorteils...



-Les onyxis: épaississement, décollement, décoloration des ongles (blancs, puis jaunâtres), ongles qui s'effritent, ou s'épaississent.



Epidermophytie circinée

-Les mycoses cutanées (cou, membres, visage, tronc...): lésions érythémateuses, squameuses et prurigineuses.



-Les teignes du cuir chevelu : plaques d'alopécie peu ou pas inflammatoires, des lésions croûteuses avec des cheveux cassés.



-Les vulvo-vaginites: démangeaisons, sensations de brûlures, douleurs et écoulement vaginal blanchâtre.

- -Les mycoses buccales:
- *langue rouge et douloureuse,
- *dépôts blanchâtres à l'intérieur des joues, sur la langue ou sur le palais parfois *troubles du goût.



-Les infections fongiques profondes : touchent les I. déprimés.

La clinique est peu spécifique:

Fièvre irrégulière résistante aux ATB, AEG, atteintes cutanées, oculaires, rénales, cardiaques, ostéoarticulaires ou neurologiques...

II-7- Diagnostic des mycoses:

Repose sur la confrontation des examens <u>cliniques</u>, <u>épidémiologiques</u>, <u>radiologiques</u> et des <u>examens de laboratoire</u>.

-Contexte clinique:

- *Les I. compétents : des mycoses superficielles +++ (candidoses des muqueuses, cutanées et unguéales).
- *Les I. déprimés: mycoses superficielles++, mycoses profondes + (Les septicémies à *Candida*, aspergillose invasives, cryptococcose neuroméningée,...)

-Contexte épidémiologique :

Facteurs favorisants:

- .Port de chaussures fermées de manière prolongée,
- .La chaleur et l'humidité,
- .La grossesse,
- .Le diabète,
- .SIDA,
- .Maladies néoplasiques,
- .Antibiothérapie prolongée à large spectre,
- Les I. suppresseurs, les corticostéroïdes, la chimiothérapie, la radiothérapie,
- .Pose de cathéters intraVx, prothèse ou de sondes,
- .Transplantations d'organes,
- .Chirurgie digestive et chirurgie cardiaque...

- -Arguments paracliniques:
- •La radiographie (pulmonaire, sinusienne ...) : infiltrats alvéolaires, lyse osseuse...
- •TDM, IRM → images évocatrices des candidoses hépatospléniques, d'aspergillose invasive, d'atteinte osseuse au cours des mycétomes, ...
- •Un fond d'œil→ candidose oculaire.
- •L'échographie trans-thoracique ou trans-œsophagienne
 - \rightarrow endocardite à *Candida*.
- •T CD₄ <100 éléments/mm³), PN < 500 éléments / mm³ → I. dépression.

-Diagnostic de laboratoire:

Le diagnostic mycologique comprend les étapes suivantes :

- 1) Le prélèvement
- 2) L'examen direct des prélèvements
- 3) Isolement des champignons sur les milieux de culture : Sabouraud,...
- 4) L'identification des champignons isolés.
- 5) Certains examens sont complétés par la sérologie : Ac, Ag.

Autres techniques: les techniques de biologie moléculaire Spectrométrie de masse (type MALDI-ToF).

Prélèvements:

Le prélèvement constitue une étape importante du diagnostic, c'est de sa qualité que dépendra la fiabilité de l'examen mycologique.

Le prélèvement doit être fait <u>avant toute toilette et toute</u> <u>thérapeutique</u> locale ou générale.

-En cas d'épidermophytie circinée, pli axillaire, inguinaux, interdigito-plantaire...

On prélève les squames par raclage en périphérie de la jonction lésion-peau saine (filaments mycéliens en activité) à l'aide d'une curette ou vaccinostyle.

Ces fragments sont recueillis dans des boites de Pétri stériles.

-En cas de lésion cutanée suintante:

On effectue le prélèvement à l'aide d'un écouvillon stérile humidifié dans un peu d'eau physiologique.



-En cas de Pityriasis versicolor:

On réalisé un grattage des squames à la curette.

On peut également coller une petite bande de cellophane transparente adhésive, qu'on arrache et recolle aussitôt sur une lame de verre.



L'éclairage sous lampe de Wood est efficace → fluorescence verte des lésions



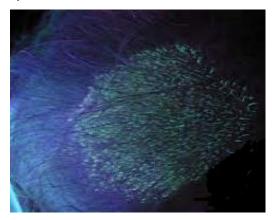
-Devant un tableau clinique de teigne du cuir chevelu:

On prélève en raclant fortement les squames qui tapissent le fond des plaques d'alopécie.

Les squames et les cheveux sont recueillis dans une boite de Pétri stérile.

L'éclairage sous lampe de Wood est efficace, surtout si on soupçonne un certains types de teignes du cuir chevelu et des poils (fluorescence verte des lésions).





-En cas d'onyxis:

Il faut gratter la table interne de l'ongle en fin lambeaux à l'aide d'une curette.

-En cas de périonyxis:

On doit récolter les squames des sillons péri unguéaux.

En cas de lésions suppurées de périonyxis, on récolte le pus avec un écouvillon stérile.

-<u>Muqueuses et orifices naturels</u> (buccales, anales, génitales) : On utilisera un écouvillon stérile.

-Prélèvements pulmonaires :

Les crachats, les aspirations trachéales ou bronchiques, ou des lavages broncho-alvéolaires (LBA) sont recueillis dans un récipient stérile.

49

<u>-Les selles</u>:

Ils doivent être récoltés immédiatement après leurs émissions dans un récipient propre (ne pas consommer des produits laitiers la veille).

-Liquides biologiques:

LCR, Urines, Sang, Liquide de dialyse péritonéale...sont recueillis en tube stérile.

-Biopsies de tissus d'organes :

En cas de mycose sous cutanée et profonde, les pièces de biopsies doivent être partagées en 2 fragments :

.Un fragment mis dans un fixateur histologique qui servira à l'examen anatomopathologique ;

L'autre sera placée dans de l'eau physiologique stérile destiné à l'examen mycologique.

Examen direct du prélèvement:

- -Basé sur la mise en évidence du champignon dans les lésions,
- -Observer le champignon responsable non modifié,
- -Évaluer la quantité d'éléments fongiques dans le prélèvement.

L'examen direct, peut se faire à:

- -L'état frais,
- -Après coloration (bleu lactophénol, Gram, Bleu de méthylène, Giemsa),
- -Après éclaircissement: les cheveux, ongles, poils, parfois pus ou d'expectoration → pour rendre visible les éléments fongiques (Noir chlorazole, Potasse (KOH) à 30 ou 40 %, Na OH à10-20%, Chloral-lactophénol, bleu lactophénol).

Culture du prélèvement :

Permet la détermination et l'identification du champignon par les caractères macroscopiques et microscopiques des colonies.

3 types de milieux sont employés en mycologie :

Milieux d'isolement Milieux d'identification Milieux de conservation

Ensemencement et isolement:

La culture des champignons est souvent aisée sur les milieux classiques (milieu de Sabouraud, milieux au malt).



Milieux de Sabouraud

Milieux d'isolement:

Le but est de séparer le champignon des germes associés et l'obtenir en culture pure.

L'addition d'ATB est nécessaire pour inhiber la prolifération des bactéries.

*Le chloramphénicol est un ATB thermostable, à large spectre antibactérien, permet l'isolement des champignons par élimination des contaminants bactériens.

*L'actidione (Cyclohéximide) agit les champignons saprophytes et sur quelques rares pathogènes. Exp : *Cryptococcus neoformans, Candida tropicalis, Candida krusei*...

*Certains champignons exigent des facteurs de croissance (milieux vitaminés, milieux au sang)

Température et délais de croissance:

-Les champignons des <u>mycoses superficielles</u> se développent à la T°ordinaire (<u>25-28°C</u>),

Les champignons des <u>mycoses profondes</u> poussent T°ordinaire et également à <u>37 °C</u>.

-La vitesse de croissance est différente d'un champignon à un autre : .Levures 24h à 48h.

.Moisissures, telles que l'*Aspergillus*, *Penicillium* 3 à 5 J .Dermatophytes, 1 semaine à 1 mois.

Inoculation à l'animal:

Les animaux (souris ou hamster) sont des milieux d'enrichissement pour les champignons.

L'animal est ensuite sacrifié 15 jours ou 1 mois après et on réalise une rétroculture.

Identification du champignon:

L'étude des caractères macroscopiques, microscopiques et physiologiques des champignons sur les milieux de cultures, permettra de déterminer le genre et <u>l'espèce</u> du champignon.

Critères morphologiques:

*Macroscopiques : peut nous orienter dans la plupart des cas s'il s'agit d'un champignon filamenteux ou d'une levure.

-Champignon filamenteux : coloré, surélevé, plissé, duveteuse, glabre, plâtreuse, poudreuse...

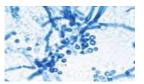
-Champignon levuriforme : bombé, lisse ± blanchâtre.

Critères morphologiques:

-Levures encapsulées : Cryptococcus neoformans



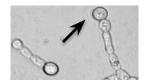
-Levures/pseudomycélium: Malassezia sp, Candida sp.



-Arthrospores: Trichosporon sp, Geotrichum sp



-Chlamydospores: Candida albicans



-Tête aspergillaire, conidiophore, phialides: Aspergillus sp



-Macroconidies, microconidies: *Trichophyton, Microsporum,...*



Critères physiologiques:

Identification des champignons **levuriforme**s (auxanogramme, zymogramme, activités enzymatiques : uréase, phénoloxydase...)

Moyens diagnostiques indirects:

- -Les intradermo-réactions (IDR) explorent l'hypersensibilité pour certaines manifestations allergiques due aux champignons.
- Sa valeur diagnostique est limitée.
- -Réactions sérologiques: Mettent en évidence la présence des Ac et Ag par les techniques : Hémagglutination passive, Eléctrosynérèse, ELISA, IEP, western Blot, IFI...

-Biologie moléculaire:

Techniques reposant sur la PCR++.

Dans certains laboratoires, la biologie moléculaire est devenue une méthode de routine pour l'identification des champignons.

-Spectrométrie de masse (MALDI-ToF) :

Permet l'identification des champignons.

Des mises à jour continues des bases de données sont nécessaires pour fournir l'identification fongique d'un plus grand nombre de champignons.

II-8- Les traitements antifongiques:

La plupart des antifongiques sont fongistatiques in vivo, (à l'exception des échinocandines).

- -L'Amphotéricine B = polyène, administré par voie IV, c'est l'ATF le plus utilisé et le plus efficace dans le traitement des mycoses systémiques.
- *La principale limite est sa toxicité importante (toxicité rénale).
- *Afin de tenter de diminuer ses effets toxiques, de nouvelles formes galéniques ont été mises au point :
- -dérivés lipidiques de l'Amphotéricine B (Abelcet*),
- -Amphotéricine B <u>liposomale</u> (Ambisome*).
- -La griséofulvine, la nystatine, la 5-flucytosine et les dérivés azolés constituent les grandes découvertes des molécules ATF₅₉

<u>Azolés</u>: sont des molécules synthétiques, comprennent les imidazolés et les triazolés.

- *Les imidazolés : Miconazole, Kétoconazole.
- *Les triazolés: Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole, Posaconazole, Isavuconazole, Ravuconazole.
- -Allylamines: Il s'agit essentiellement de la terbinafine.
- <u>-Morpholines</u>: Le seul dérivé de cette famille utilisé en clinique est l'amorolfine (loceryl = vernis à ongle).

Echinocandines : inhibent la synthèse du 1,3 β glycane de la paroi fongique, aboutissant à la mort cellulaire (<u>activité</u> <u>fongicide</u>) : Caspofongine, Anidulafungine, et Micafungine.