



CHAPITRE : D2 - MICROBIOLOGIE	REFERENCE :D2-MO97
TITRE : RECHERCHE D'INFECTIONS FONGIQUES DE LA PEAU ET DES PHANERES	VERSION-2

1. Contexte

Les champignons pathogènes de la peau et des phanères sont essentiellement représentés par les dermatophytes et les levures du genre *Candida*. Plus rarement, des moisissures ou des champignons exotiques sont à l'origine d'atteintes cutanéophanéennes.

Les lésions peuvent atteindre :

- La peau glabre : lésions circinées de la peau, pityriasis versicolor
- Les plis : intertrigos des grands plis (pli inter-fessier, sous-mammaires, abdominaux, ...)
- Les ongles : onyxis avec ou sans périonyxis
- Le cuir chevelu et les zones pileuses : teignes, folliculite,...

D'autres lésions nodulaires, papuleuses, verruqueuses (chromo-blastomycoses, sporotrichose) ou pseudo-tumorales (mycétomes) sont plus fréquemment liées à des champignons exotiques.

Chez les patients immunodéprimés, des atteintes cutanées peuvent résulter de la dissémination de champignons impliqués dans des infections fongiques invasives (cryptococcose, aspergillose, fusariose, mucormycose, histoplasme).

2. Prélèvements et transport

2.1. Prélèvement

Le prélèvement est l'étape critique pour assurer la qualité de l'examen.

- *Personnes habilitées au prélèvement des phanères* : pédicure-podologue, dermatologue, biologistes, internes ou infirmière du laboratoire.

- Le **prélèvement doit être réalisé avant tout traitement spécifique**, dans le cas contraire, une abstention thérapeutique d'au moins 15 jours est nécessaire en cas de traitement topique (hors solution filmogène) ou, de 2 mois pour un traitement systémique ou application de solutions filmogènes.

- Le prélèvement s'accompagne d'un *interrogatoire du patient* pour préciser les circonstances d'apparition des lésions, son mode de vie (profession, loisirs, animaux de compagnie,...) et rechercher d'éventuels facteurs favorisants (terrain, traitement médicamenteux,...) qui seront indiqués sur la **fiche de renseignements spécifiques D3-ENR17** : Fiche de renseignements et suivi des prélèvements mycologiques peau et phanères.

Les modalités des prélèvements sont décrites dans le document C2-MO10 : Prélèvements pour examens microbiologiques.

Rédaction : B Heusse Emmanuelle	Validation : B Ferré Benjamin 2023-10-19	Approbation : B Auvray Anne Valérie 2023-10-30	Application : 2023-10-30	Page 1 / 5 Edité le : 8 décembre 2023
------------------------------------	--	--	-----------------------------	---



CHAPITRE : D2 - MICROBIOLOGIE	REFERENCE : D2-MO97
TITRE : RECHERCHE D'INFECTIONS FONGIQUES DE LA PEAU ET DES PHANERES	VERSION-2

2.2. Transport

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire dans des contenants étanches à **température ambiante** (boîte de pétri stérile ou pot sec stérile).

Les **squames et cheveux** recueillis dans un contenant stérile hermétique résistent à la dessiccation et **se conservent plusieurs jours**.

Les **écouvillons avec milieu de transport** doivent être acheminés idéalement dans les **2h et jusqu'à 24h après le prélèvement**.

3. Examen mycologique

3.1. Examen microscopique

Les échantillons sont observés au microscope optique après éclaircissement à l'hydroxyde de potassium (« potasse ») entre lame et lamelle.

L'examen microscopique permet de mettre en évidence des **levures** et/ou **filaments mycéliens**.

Dans le cas d'une atteinte du cuir chevelu, le type de **parasitisme pileaire** sera précisé en commentaire sur le SIL :

- Parasitisme endo-ectothrix type microsporique

Présence de filaments mycéliens intrapilaires + gaine dense de petites spores (2mm)
Wood+

Espèces responsables : *M. canis*, *M. audouinii* et *M. ferrugineum*

- Parasitisme endo-ectothrix type microïde

Présence de filaments mycéliens intrapilaires + gaine lâche de petites spores (2mm)

Espèces responsables : *T. mentagrophytes* et *T. erinacei*

- Parasitisme endo-ectothrix type mégaspore

Présence de filaments mycéliens intrapilaires + gaine continue de grosses spores (4-5mm)

Espèces responsables : *T. verrucosum* et *T. equinum*

- Parasitisme endothrix

Présence d'arthrospores intrapilaires

Wood -

Espèces responsables : *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *T. soudanense*

- Parasitisme favique

Présence de nombreux filaments mycéliens intrapilaires + galeries brunes au niveau de la partie distale

Wood +

Espèce responsable : *T. schoenleinii*

Rédaction : B Heusse Emmanuelle	Validation : B Ferré Benjamin 2023-10-19	Approbation : B Auvray Anne Valérie 2023-10-30	Application : 2023-10-30	Page 2 / 5 Edité le : 8 décembre 2023
------------------------------------	--	--	-----------------------------	---



CHAPITRE : D2 - MICROBIOLOGIE	REFERENCE :D2-MO97
TITRE : RECHERCHE D'INFECTIONS FONGIQUES DE LA PEAU ET DES PHANERES	VERSION-2

Dans le cas d'une recherche de pityriasis versicolor : rechercher la présence de **levures en amas disposées en « grappe de raisin »**. Le diagnostic repose sur l'examen clinique (taches hypo ou hyperpigmentées) et l'observation directe des levures au microscope.

La mise en évidence de filaments mycéliens et/ou levures dans le matériel biologique prouve l'implication du champignon et/ou la levure dans le processus pathologique, et permet d'instaurer rapidement un traitement sans attendre le résultat des cultures.

Un *résultat partiel* est alors adressé au prescripteur.

3.2. Cultures

Seule la mise en culture des échantillons permet l'identification précise du champignon responsable.

Les échantillons cutané-phanériens sont ensemencés sur **2 milieux de Sabouraud** additionnés d'antibiotiques, **dont l'un contient de la cycloheximide (actidione)** qui inhibe ou retarde la croissance des moisissures contaminantes. Les échantillons sont disposés à la surface du milieu, tout en exerçant une certaine pression pour les enfoncer légèrement, et, en quinconce de façon alternée d'un bord à l'autre de la gélose.

Les écouvillons sont ensemencés sur **milieu de Sabouraud**.

Les cultures sont **incubées à 30°C +/- 2°C**.

Les **délais de pousse** sont variables : 24 à 72h pour les levures, 2 à 3 semaines pour les dermatophytes (sauf exception), 48 à 72h pour certaines moisissures, voire 15 j et jusqu'à 3 mois pour certains champignons exotiques.

Les **cultures sont conservées au moins 3 semaines** avant d'affirmer la négativité de la culture voire plus selon l'interrogatoire et la vitesse de croissance des dermatophytes (ex : *T. verrucosum* nécessite une culture prolongée de 4 à 6 semaines ; à rechercher si métier à risque ou contact avec des ovins ou bovins).

3.3. Identification

L'identification des dermatophytes ou contaminants impliqués en pathologie cutané-phanérienne est réalisée à partir des **caractères physiologiques** (délai d'apparition des colonies, vitesse de croissance) **et morphologiques** avec **l'aspect macroscopique** des colonies (forme, consistance, couleur, pigment) **et microscopique** (mycélium, ramification, aspect des macro et microconides, ornementation du mycélium).

Le détail des critères morphologiques d'identification est rappelé dans les cahiers de formation Bioforma N°31 pour les dermatophytes (Tableau récapitulatif page 60-61) et N°25 pour les moisissures d'intérêt médical (Clé d'identification pages 25 à 33).

L'identification des levures est réalisée par la spectrométrie de masse **Maldi-Tof**.

Rédaction : B Heusse Emmanuelle	Validation : B Ferré Benjamin 2023-10-19	Approbation : B Auvray Anne Valérie 2023-10-30	Application : 2023-10-30	Page 3 / 5 Edité le : 8 décembre 2023
------------------------------------	--	--	-----------------------------	---



CHAPITRE : D2 - MICROBIOLOGIE	REFERENCE :D2-MO97
TITRE : RECHERCHE D'INFECTIONS FONGIQUES DE LA PEAU ET DES PHANERES	VERSION-2

3.4. Traçabilité et archivage

La traçabilité de l'ensemble de l'examen mycologique s'effectue sur la **fiche de suivi D3-ENR17**.

Cette fiche est scannée dans le **dossier patient** du SIL lors du rendu du résultat.

4. Interprétation

La mise en évidence de structures fongiques à l'examen microscopique du prélèvement permet d'impliquer le champignon dans le processus pathologique, indépendamment du résultat de la culture.

Dans ce cas, la culture permet, lorsqu'elle est positive, d'identifier le champignon impliqué. Le diagnostic de mycose est bien évidemment maintenu, même si les cultures restent négatives : en Résultat de culture, saisir code DISCM dans le SIL.

Dans le cas où seules les **cultures sont positives**, l'interprétation dépend du **champignon identifié et du contexte clinique**.

Un dermatophyte isolé en culture est toujours considéré comme pathogène et responsable des lésions cliniques observées.

Pour les moisissures, les scytalidioses sont responsables de réels onyxis, d'atteintes palmo-plantaires et d'intertrigos. Les autres moisissures comme *Scopulariopsis brevicaulis*, *Fusarium sp.*, *Acremonium sp.*, peuvent être responsable d'onyxis.

Pour certains champignons en culture pure, si l'examen direct reste négatif, il faut exiger des prélèvements positifs répétés avant d'envisager un rôle pathogène de ces champignons.

Pour les levures, *C. albicans* n'est pas un saprophyte de la peau et des phanères et est impliqué dans les onyxis et/ou périonyxis, et les intertrigos. L'interprétation des autres levures est à effectuer en fonction du contexte clinique.

L'isolement de champignons « exotiques » peut révéler l'existence de mycoses d'importation à confronter au contexte clinique.

L'interprétation de l'examen mycologique est saisie dans le LIS par le biologiste avec les textes codés spécifiques ou ponctuellement en texte libre si besoin.

Codes d'interprétation biologique :

- NEGMY : Absence de signe biologique de mycose.
- DISCM : La négativité des cultures, du fait de l'ancienneté des lésions ou d'applications antérieures d'antifongiques, n'infirmes pas le diagnostic de dermatophytose mis en évidence par l'examen microscopique.
- ONDER : Onyxis à dermatophyte.
- ONLEV : Onyxis à levure.
- ONMOI : Onyxis à moisissure probable ; à confirmer par un nouveau prélèvement si l'examen microscopique direct est négatif, et, à confronter à l'examen clinique.
- INDER : Intertrigo à dermatophyte.

Rédaction : B Heusse Emmanuelle	Validation : B Ferré Benjamin 2023-10-19	Approbation : B Auvray Anne Valérie 2023-10-30	Application : 2023-10-30	Page 4 / 5 Edité le : 8 décembre 2023
------------------------------------	--	--	-----------------------------	---

CHAPITRE : D2 - MICROBIOLOGIE	REFERENCE :D2-MO97
TITRE : RECHERCHE D'INFECTIONS FONGIQUES DE LA PEAU ET DES PHANERES	VERSION-2

- INLEV : Intertrigo à levure.
- CUCAN : Candidose cutanée.
- TEIGN : Examen mycologique en faveur d'un teigne.
- PALM : Lésion palmaire à dermatophyte
- CIRCM : Lésion circinée de la peau à dermatophyte
- CONTM : Présence de contaminants. Rôle pathogène non retenu ; à contrôler par un nouveau prélèvement en fonction du contexte clinique.

5. Support de travail

- Rémic 2015 Chapitres : Infections fongiques de la peau et des phanères, Dermatophytoses, Candidoses
- C2-MO10 : Prélèvements pour examens microbiologiques
- D3-ENR17 : Fiche de renseignements et suivi des prélèvements mycologiques peau et phanères

Rédaction : B Heusse Emmanuelle	Validation : B Ferré Benjamin 2023-10-19	Approbation : B Auvray Anne Valérie 2023-10-30	Application : 2023-10-30	Page 5 / 5 Edité le : 8 décembre 2023
---	---	---	------------------------------------	---