

## Levuroses

### 1° Pouvoir pathogène des levures :

#### 1.1. Généralité :

Ce sont des champignons microscopiques, commensaux de la peau et des muqueuses. Ce sont des microorganismes opportunistes qui ne deviennent pathogènes que lorsqu'il y a des conditions favorables au développement chez l'hôte. En conséquence, chez un sujet sain, les levures peuvent être présentées dans certains prélèvements (selles, sécrétions vaginales) mais elles sont toujours en très petites quantités.

**Remarque :** *Candida albicans* est une levure qui n'est jamais présente sur la peau saine et dans l'environnement. Son seul habitat est les muqueuses.

Les conditions favorables à la multiplication des levures sont :

- La prise de médicaments ;
- L'utilisation de techniques médicales ou chirurgicales ;
- L'existence d'un terrain compromis.

Certaines levures sont connues comme responsables de mycoses (*Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*).

D'autres espèces ont été considérées comme n'ayant pas de pouvoir pathogène mais sont maintenant isolées :

- *Candida tropicalis* ;
- *Candida glabrata* ;
- *Candida krusei*.

## 1.2. Pouvoir pathogène des Candida :

Les aspects cliniques des candidoses sont de gravité variable en fonction de la localisation.

On distingue :

- **Les atteintes superficielles :**
  - Lésions cutanées (plis de la peau) ;
  - Lésions des ongles (périonyxis) ;
  - Lésions des muqueuses :
    - **Muqueuse digestive :**
      - ✓ Bouche : muguet buccale, perlèche ;
      - ✓ Langue : langue noire ;
      - ✓ Œsophage : œsophagites ;
      - ✓ Intestin : diarrhée banale à l'infection sévère.
      - ✓ Anus : anite.
    - **Muqueuse génito-urinaire :**
      - ✓ Vaginite à candidose ;
      - ✓ Balanite et urétrite ;
      - ✓ Infections urinaires.
- **Les atteintes profondes :**
  - D'origine endogène : Candidose à partir de sa flore ;
  - D'origine exogène : introduction des levures accidentelles.

**Remarque :** les candidoses profondes sont toujours graves car elles atteignent des patients en réanimation. Elles se traduisent pas des fongémies qui peuvent se compliquées par localisation viscérale.

## 1.3. Pouvoir pathogène des Cryptococcus :

Il y a une seule espèce qui est pathogène : Cryptococcus neoformans.

Son habitat naturel est le sol (surtout enrichi en fientes d'oiseaux). Cette levure n'est pas présente chez l'homme.

On ne les observe que chez les immunodéprimés. La contamination est respiratoire, par inhalation de spores dans un environnement contaminé.

Le germe va entraîner une pneumopathie qui est bien toléré et qui passe inaperçu. A partir des poumons, les levures vont gagnées les méninges (chez les déficients).

## 2° Diagnostic au laboratoire des infections à levures :

### 2.1. Diagnostic direct :

- **Prélèvements :**

- Ongles : éclaircissement préalable puis, examens entre lame et lamelle ;
- Liquides biologiques ou écouvillons : on technique comme en bactériologie.
  - Liquide : état frais et Gram.
  - Frottis : Gram.

La présence des levures dans la lésion est un élément important du diagnostic. ON observe des cellules rondes ou ovales, de 4-6  $\mu\text{m}$ , paroi mince, bourgeonnante et peuvent être accompagnée de Pseudomycélium.

S'il s'agit de LCR ou de Sang avec *Cryptococcus neoformans*, il faut mettre en évidence la capsule.

- **Mise en culture :**

- **Prélèvements monomicrobiens :**
  - Gélose Sabouraud ;
  - Milieu chromogène sélectif (ID Candida).
- **Prélèvements polymicrobiens :**
  - Gélose Sabouraud + Chloramphénicol ;
  - Milieu chromogène.

Pour le prélèvement d'ongle, on effectuera un ensemencement mycologique sur gélose Sabouraud + Chloramphénicol.

- **Identification des colonies isolées :**

- **Aspect des colonies :**
  - **Gélose Sabouraud :**

<b>Candida</b>	Colonies moyennes, crémeuses, lisses, opaques
<b>Cryptococcus</b>	Colonies plus grosses, bombées, muqueuses, opaques, peu avoir une teinte brunâtre
<b>Rhodotulas</b>	Colonies rouge-orangés

- **Milieu chromogène :**

Les milieux sont plus ou moins discriminants mais, ils permettent d'identifier *Candida albicans*, qui donne des colonies bleues.

### - Morphologie microscopique :

On le réalise à partir de la gélose Sabouraud. On peut noter quelques particularités, mais cela ne permet pas une identification :

<b>Candida</b>	Taille variable, bourgeonnantes, avec parfois un Pseudomycélium (sauf glabrata)
<b>Cryptococcus</b>	Grande taille, ronde, pas de Pseudomycélium, capsulé
<b>Geotrichum</b>	Filament fragmenté avec des arthrospores

Au sein du genre Candida, l'espèce albicans présente une particularité morphologique. C'est la seule levure capable de former un tube germinatif (Voir test de Blastèse).

### - Identification :

A l'exception de Candida albicans, qui présente un test de Blastèse positif et des colonies repérables sur milieu chromogène, les autres levures seront identifiées grâce à des caractères biochimiques.

Lorsque l'on isole des levures, la décision de les identifier dépend du terrain chez lequel on les a isolés :

#### ▪ Immuno-compromis :

Toutes les levures, quelque soit son abondance, présente un danger potentiel de dissémination et doit donc être identifiées.

#### ▪ Immuno-compétant :

- ✓ Prélèvements clos et les liquides stériles :

Les levures sont identifiées.

- ✓ Prélèvements superficielles :

L'identification n'est utile que si les levures isolées sont en nombre suffisant (> 5 colonies par boîte).

Actuellement, l'identification est possible grâce à des galeries miniaturisées. Elles permettent de rechercher des activités enzymatiques et l'assimilation des glucides.

Il y a API Candida, API 20 C AUX, Fongiscreen, Auxacola (voir fiche technique).

### 2.2. Diagnostic indirect :

Il n'a pas d'intérêt dans les infections superficielles. Il a un intérêt dans les infections systémiques ou pour surveiller les patients de réanimation.

Il y a deux types de dosages immunologiques :

- **Détection des antigènes solubles :**

Le diagnostic de Candidoses est systématique et est confirmé par l'isolement répété de levure à partir des hémocultures mais, le délai de réponse est parfois long.

Le pronostic est extrêmement grave et le traitement antifongique doit être installé le plus vite possible pour espérer la guérison du malade.

Candida albicans possède un composant antigénique de paroi. Cet antigène est soluble et peut donc être retrouvé dans le sérum des patients atteints d'une candidose systémique. Cette détection est facile au laboratoire, grâce à une réaction d'agglutination de particules de Latex sensibilisées par un anticorps monoclonal anti-mannane. En présence de l'antigène polysaccharidique-mannane, il y aura une agglutination.

- **Détection des anticorps dans le sérum :**

La recherche des anticorps anti-Candida, dans le sérum, est importante dans les infections systémiques, à des taux élevés d'anticorps qui seront très évocateurs.

Ce diagnostic indirect est très important chez les patients de réanimation, quand ils sont fébriles ou lors d'une infection urinaire.

Il est intéressant de faire deux prélèvements pour :

- Surveiller l'augmentation du taux d'anticorps ;
- Vérifier l'efficacité du traitement.

Pour cela, il existe différentes techniques :

- Hémagglutination passive ;
- Immuno-enzymologie.

L'interprétation des résultats peut être problématique. L'antigène utilisé est celui de Candida albicans. Quand il s'agit d'une autre espèce, le résultat est en défaut.

Une Candidose non traitée, chez les personnes déficientes, entraîne la mort.

### 2.3. Diagnostic des autres infections à levure :

- **Cryptococcus :**

Il sera établi sur un ensemble d'arguments :

- Levure plus grosses que Candida, ronde, avec plusieurs bourgeonnements latéraux possibles et une volumineuse capsule polysaccharidiques ;
- Sur Gélose Sabouraud, en 48 heures, on obtient des grosses colonies, muqueuses, ocres.

**Remarque :** les chromogènes n'ont pas été mis au point pour les Cryptococcus.

- Les galeries miniaturisées permettent l'identification de Cryptococcus. Le caractère Uréase est positif en moins de 30 minutes.
- Il possède un antigène polysaccharidique de type mannane (différent d'albicans). Il peut être soluble et il peut être recherché dans des liquides biologiques à l'aide de particule de latex sensibilisés par des anticorps anti-Cryptococcus.

**Remarque :** cette détection est importante quand les hémocultures sont négatives et quand elle est mise en évidence dans le LCR.

- **Diagnostic des levures du genre Malassezia furfur :**

Il y a deux espèces :

- Ovale : pellicule du cuir chevelu ;
- Orbiculaire : mycoses cutanées (pityriasis versicolor)

Macules arrondies, hyperpigmentées ou hypopigmentées. Elles sont finement squameuses. Elles évoluent vers une achromie, inhibition de la mélanine par des substances produites par les levures dans l'épiderme. Elles sont lipophiles et non cultivables. On fait un scotch test (petites levures en forme de lentilles).

### 3° Etude de la sensibilité des levures aux antifongiques :

Pour étudié cette sensibilité, on effectue un anti-fongigramme. Elle n'est pas systématique.

On l'effectue dans les infections systémiques ou quand il y a un échec du traitement de première intention. Il existe des méthodes miniaturisées.

Il y a trois catégories de molécules :

- Amphotéricine ;
- Dérivée azonée ;
- Antibiotique (5-fluorocytosine).