



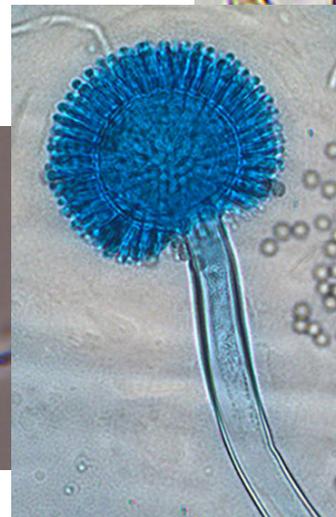
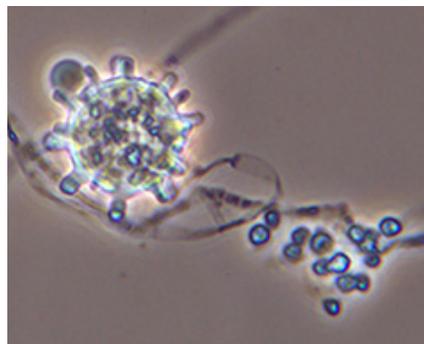
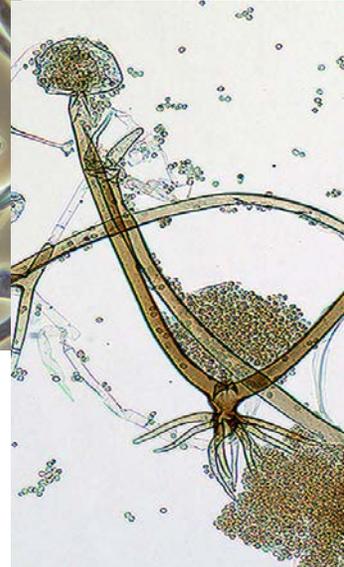
Identification des champignons d'importance médicale

Stage de laboratoire

Philippe Dufresne

Guy St-Germain

mars 2021



PARTIE 1 INTRODUCTION À LA MYCOLOGIE ET IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

1. CHAMPIGNON : DÉFINITION.....	3
2. GÉNÉRALITÉS SUR LA PATHOGÉNICITÉ DES CHAMPIGNONS.....	3
3. PRINCIPAUX TYPES DE CHAMPIGNONS D'IMPORTANCE MÉDICALE	3
4. PRINCIPAUX TYPES DE MYCOSES.....	4
5. CLASSIFICATION DES CHAMPIGNONS.....	5
6-7. MILIEUX DE CULTURE ET TEMPÉRATURE D'INCUBATION.....	6
8. PURIFICATION DE SOUCHES CONTAMINÉES.....	6
9. EXAMEN MICROSCOPIQUE	6
10. CARACTÉRISTIQUES DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX	7
11. TYPES DE CONIDIES ET SPORES ASEXUÉES	8
12. SCHÉMA D'IDENTIFICATION DE CHAMPIGNONS FILAMENTEUX	9
13. IDENTIFICATION À L'ESPÈCE	14
14. SÉCURITÉ EN LABORATOIRE	14

PARTIE 2 LEVURES ET ANTIFONGIGRAMMES

1- 2. DÉFINITION ET SCHÉMA D'IDENTIFICATION DES LEVURES	15
3. EXAMEN MICROSCOPIQUE.....	15
4. TESTS PHYSIOLOGIQUES.....	16
5. CARACTÉRISTIQUES	19
6. CLEF D'IDENTIFICATION	20
7. CARACTÉRISTIQUES DE <i>CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS</i> ET <i>C. GATTII</i>	21
8-9. ANTIFONGIQUES ET MÉTHODES D'ÉPREUVES DE SENSIBILITÉ.....	22
10-11. CRITÈRES D'INTERPRÉTATION ET ECV DU CLSI.....	23

PARTIE 3 DERMATOPHYTES

1. ÉPIDÉMIOLOGIE ET CLINIQUE	26
2. EXAMEN DIRECT.....	28
3. ISOLEMENT	30
4. MILIEUX DE CULTURE SÉLECTIFS.....	31
5. CRITÈRES ET TECHNIQUES D'IDENTIFICATION.....	32
6. CLASSIFICATION ET DESCRIPTION DES DERMATOPHYTES	34

PARTIE 4 CHAMPIGNONS DIMORPHES (GR3)

1. DÉFINITION ET SÉCURITÉ EN LABORATOIRE	40
2. ISOLEMENT	40
3. MILIEUX UTILISÉS POUR LA CONVERSION DE LA PHASE MOISSURE À LA PHASE LEVURE	40
4. DESCRIPTIONS	41
5. AUTRES TECHNIQUES D'IDENTIFICATION.....	47
6. MYCOSES PROFONDES : RÉSUMÉ	48
7. SÉRODIAGNOSTIC	49
ANNEXE 1 MILIEUX DE CULTURE UTILES POUR L'ISOLEMENT PRIMAIRE DES CHAMPIGNONS	50
ANNEXE 2 LISTE DE MILIEUX UTILES POUR L'IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS.....	51
ANNEXE 3 ESPÈCES USUELLES EN LABORATOIRE CLINIQUE	52
GLOSSAIRE.....	56
BIBLIOGRAPHIE	60

PARTIE 1

INTRODUCTION À LA MYCOLOGIE ET IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

1. CHAMPIGNONS : CARACTÉRISTIQUES

- Organismes unicellulaires ou pluricellulaires dont les cellules possèdent un noyau (eucaryote)
- Se nourrissent par absorption et utilisent le carbone organique comme source de carbone (ce sont des hétérotrophes)
- Leur paroi cellulaire contient typiquement de la chitine et du glucan
- Ils peuvent se reproduire de façon sexuée et/ou asexuée

2. GÉNÉRALITÉS SUR LA PATHOGÉNICITÉ DES CHAMPIGNONS

- Plus de 100 000 espèces connues
- Elles sont pour la plupart saprophytiques; moins de 0,5 % sont reconnus pathogènes
- Principaux obstacles à l'invasion des tissus :
 - Température élevée (37 °C)
 - Défenses cellulaires
- Distribution géographique: parfois restreinte, parfois mondiale
- Prévalence: très élevée pour certaines mycoses (dermatophytoses, candidose); faible pour d'autres.
- Contagiosité: exception faite des dermatophytoses et de cas rares de candidose et de pneumocystose, les mycoses sont très peu contagieuses.
- Mortalité élevée lorsque l'infection est invasive.

3. PRINCIPAUX TYPES DE CHAMPIGNONS D'IMPORTANCE MÉDICALE

- Dermatophytes
- Saprophytes pathogènes (champignons dimorphes – mycoses endémiques)
- Saprophytes opportunistes (levures et champignons filamenteux)

4. PRINCIPAUX TYPES DE MYCOSES

INFECTIONS	EXEMPLE DE MALADIE	AGENTS ÉTIOLOGIQUES
SUPERFICIELLES CUTANÉES	PITYRIASIS VERSICOLOR	<i>Malassezia furfur</i>
	DERMATOPHYTOSE	<i>Microsporum</i> <i>Trichophyton</i> <i>Epidermophyton</i>
	CANDIDOSE (PEAU, ONGLES, MUQUEUSES)	<i>Candida albicans</i> , ...
SOUS-CUTANÉES	SPOROTRICHOSE CHROMOBLASTOMYCOSE MYCÉTOME	<i>Sporothrix schenckii</i> <i>Fonsecaea pedrosoi</i> , ... <i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>Madurella</i>
PROFONDES OU GÉNÉRALISÉES (invasives)	HISTOPLASMOSE BLASTOMYCOSE COCCIDIOÏDOMYCOSE PARACOCCIDIOÏDOMYCOSE	<u>PATHOGÈNES</u> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Coccidioides</i> spp. <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
	CANDIDOSE CRYPTOCOCCOSE ASPERGILLOSE MUCORMYCOSE	<u>OPPORTUNISTES</u> <i>Candida albicans</i> , ... <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> , ... <i>Rhizopus</i> , <i>Lichtheimia</i> , <i>Rhizomucor</i> ,...
HYALOHYPHOMYCOSE	<i>Ex. Fusarium, Verticillium</i> ... (hyalins / sans couleur)	
PHAEOHYPHOMYCOSE	<i>Ex. Alternaria, Cladophialophora</i> - (dématiés / bruns)	

5. CLASSIFICATION DES CHAMPIGNONS

RÈGNE : FUNGI

	DIVISION	CLASSE	GENRE
SEXUÉE	ZYGOMYCOTA (mucoromycotina)	Ordre : MUCORALES	<i>Rhizopus, Mucor, Lichtheimia</i>
	 zygospore		
	ASCOMYCOTA	SACCHAROMYCETES	<i>Saccharomyces, Candida</i>
	 asque	ASCOMYCETES	<i>Arthroderma (= dermatophytes)</i> <i>Ajellomyces (= Histoplasma, Blastomyces)</i>
	BASIDIOMYCOTA	TREMELLOMYCETES	<i>Filobasidiella neoformans</i> (= <i>Cryptococcus neoformans</i>)
	 baside		
ASEXUÉE		BLASTOMYCETES	<i>Candida, Cryptococcus, Rhodotorula, Trichosporon</i>
	FUNGI IMPERFECTI (DEUTEROMYCOTA)	HYPHOMYCETES:	
	Attention! Classification taxonomique obsolète.	<i>MONILIACEAE</i>	<i>Aspergillus, Blastomyces, Coccidioides, Fusarium, Histoplasma, Microsporium, Trichophyton</i>
		<i>DEMATIACEAE</i>	<i>Alternaria, Cladosporium...</i>
		COELOMYCETES	<i>Phoma</i>

Exemples de noms de champignons nommés d'après leurs formes asexuée et sexuée :

Microsporium canis = *Arthroderma otae*

Histoplasma capsulatum = *Ajellomyces capsulata*

Cryptococcus neoformans = *Filobasidiella neoformans*

6. MILIEUX DE CULTURE

GÉLOSE SABOURAUD GLUCOSE	GÉLOSE SABOURAUD GLUCOSE MODIFIÉE (EMMONS)	GÉLOSE POMME DE TERRE GLUCOSE (PDA)
Neopeptone..... 10 g	Neopeptone10 g	Pommes de terre.....200 g
Glucose..... 40 g	Glucose.....20 g	Glucose..... 20 g
Agar.....15 g	Agar20 g	Agar..... 15 g
Eau 1000 ml	Eau1000 ml	Eau1000 ml
pH final 5,6	pH final 7,0	pH final 5,6

7. TEMPÉRATURES D'INCUBATION À DES FINS D'IDENTIFICATION

	30 °C ¹	37 °C ²	40 °C et + ²
Dermatophytes	X	X	
Dimorphes	X	X	
Autres champignons filamenteux	X	X	X

¹ température de base, ² températures d'appoint

8. PURIFICATION DE SOUCHES CONTAMINÉES

- **Purification d'une souche contaminée par des bactéries** : repiquer sur une gélose sélective contenant un ou des antibactériens (ex. : chloramphénicol, gentamicine) ou repiquer sur une gélose sur laquelle on a déposé 1-3 disques contenant un ou des antibactériens appropriés (ex. aztréonam, ceftazidime, tobramicine).
- **Purification d'une souche contaminée par un autre champignon** : inoculer une gélose Mycosel - la souche contaminante sera inhibée si sensible au cycloheximide. Sinon procéder par dilution en milieu liquide et striation sur gélose. Répéter jusqu'à l'obtention d'une souche pure.

9. EXAMEN MICROSCOPIQUE

9.1 TYPES DE PRÉPARATIONS MICROSCOPIQUES

- Examen d'un fragment de colonie
- Technique du ruban gommé
- Techniques de culture sur lame

9.2 LIQUIDES DE MONTAGE

- **Bleu de coton** (mont. semi-permanent)
 - eau distillée20 ml
 - acide lactique 20 ml
 - phénol (cristaux) 20 g
 - bleu d'aniline (bleu de coton). 0,05 g
 - glycérol..... 40ml

➤ Agent mouillant

- Éthanol 95%50 ml
- Acétone25 ml
- Acide lactique 85%25 ml

➤ Alcool polyvinylique (montage permanent)

- eau distillée40 ml
- alcool polyvinylique 6,64 g
- acide lactique 85 % 40 ml
- glycérine.....4 ml
- fuchsine ou bleu d'aniline 0,05 g

Dissoudre l'alcool polyvinylique (PVA, poids moléculaire : 40,000) dans l'eau et ajouter l'acide lactique en agitant vigoureusement. Ajouter la glycérine et la fuchsine. Attendre 24 heures avant d'utiliser. Les préparations microscopiques sèchent en 24-48 hrs à 40 °C.

9.3 MICROSCOPES

- À éclairage conventionnel
- À contraste de phase

10. CARACTÉRISTIQUES DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

10.1 DESCRIPTION DES COLONIES

a) Texture

- laineuse : mycélium aérien abondant
- duveteux : mycélium aérien court
- poudreux : mycélium aérien produisant de nombreuses conidies créant une surface d'apparence poudreuse semblable à du sucre ou de la farine
- glabre : mycélium aérien peu abondant avec surface lisse

b) Topographie : plane, surélevée, cérébriforme, avec stries radiales

c) Couleur : surface, revers, pigment diffusible

- brun, gris, noir = champignon dématié
- blanc ou autre couleur (rouge, vert, jaune, mauve, etc.) = champignon hyalin

d) Vitesse de croissance (diamètre de la colonie à 7 jours)

- rapide : ≥ 3 cm
- modérée : entre 1 et 3 cm
- lente : ≤ 1 cm

10.2 EXAMEN DES STRUCTURES MICROSCOPIQUES

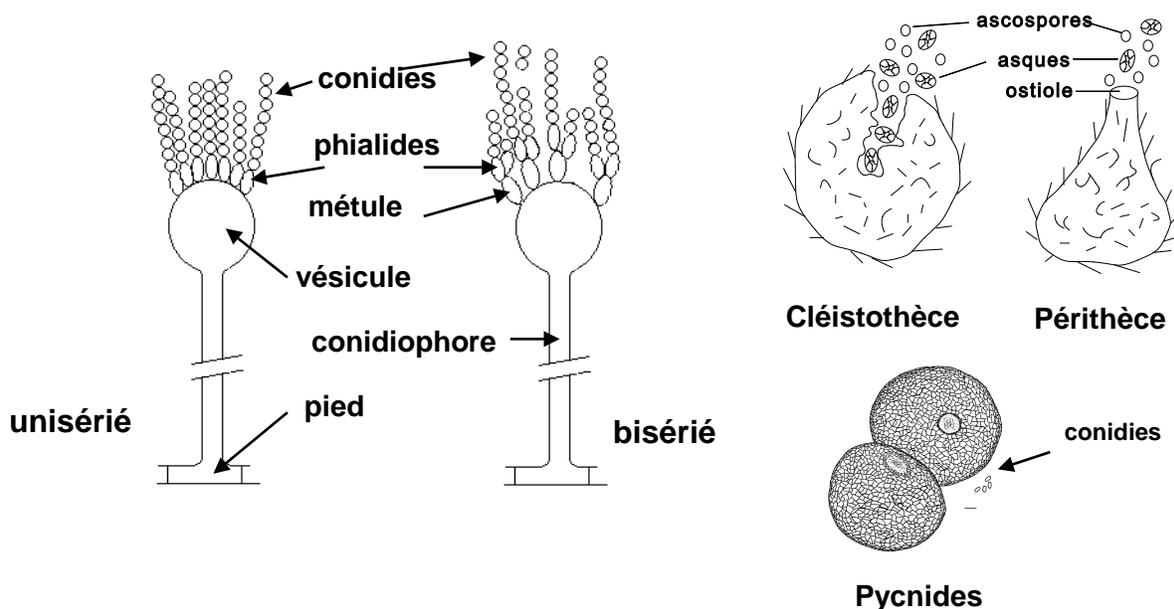
a) hyphes : septés, non septés, larges ($> 4 \mu\text{m}$), étroits ($< 4 \mu\text{m}$)

b) conidiophores : absents, simples, ramifiés

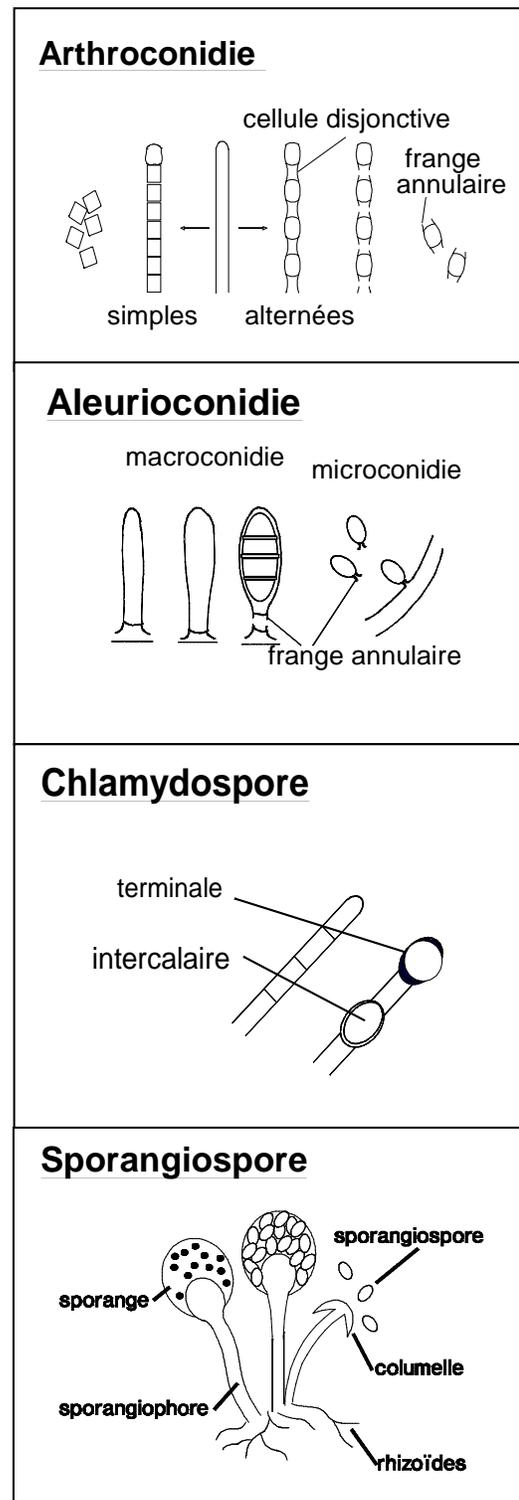
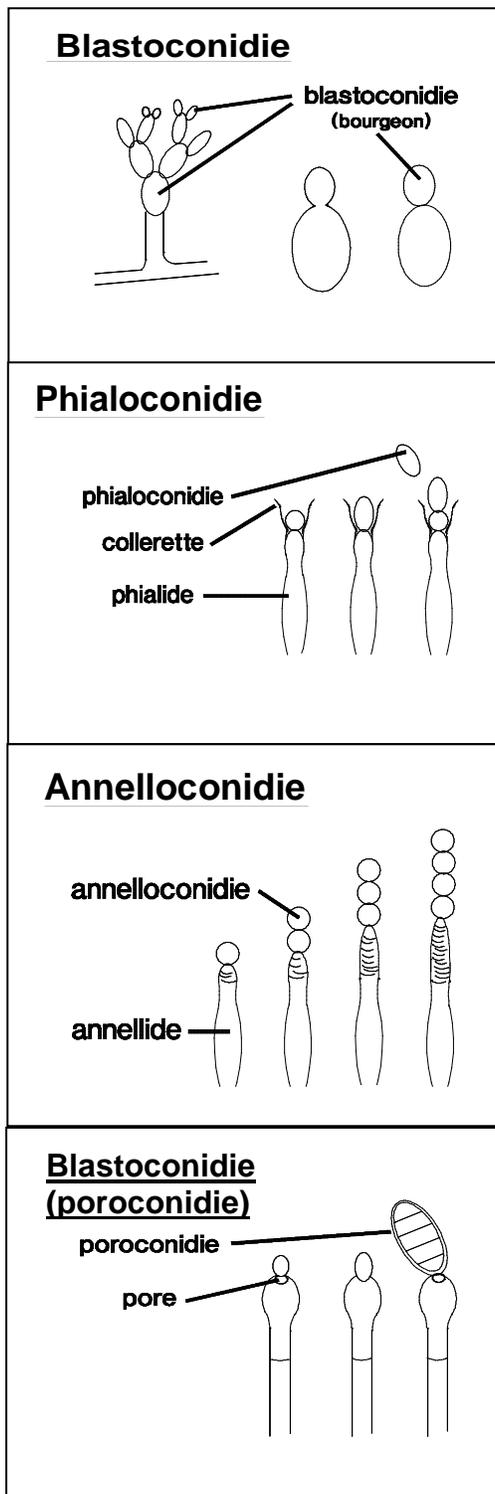
c) cellules conidiogènes : annellide, phialide...

d) conidies : uni- ou pluricellulaires, solitaires, en amas ou en chaînes, forme (ronde, ovale, en massue...)

e) organes de fructification : périthèces, cléistothèces (sexué), pycnides (asexué)



11. CONIDIES ET SPORES ASEXUÉES

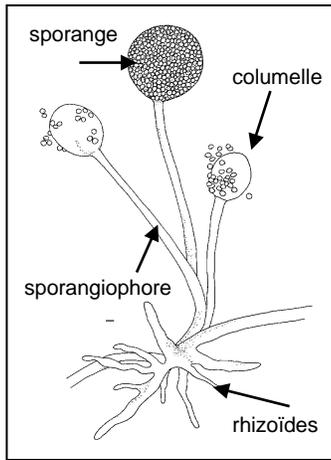


B1. Hyphes larges, peu ou non septés

Zygomycota/Mucorales

Sporangiophores non ramifiés

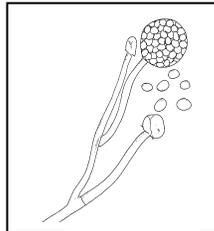
sporangiohores en bouquets, partant de **rhizoïdes bien développés**, les souches pathogènes se cultivent bien à 37 °C ▶



Rhizopus

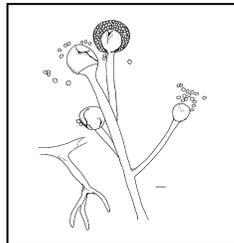
Sporangiophores ramifiés

rhizoïdes absents, souvent pas ou peu de croissance à 37 °C



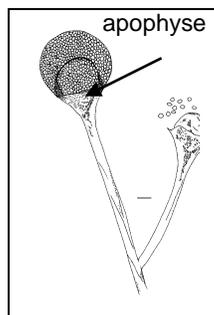
Mucor

rhizoïdes très primitifs (souvent difficiles à repérer), croissance à 54 °C ▶



Rhizomucor

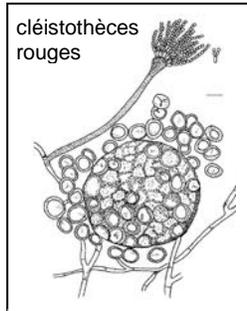
apophyse bien développée (rhizoïdes présents, mais souvent difficiles à repérer), les souches pathogènes se cultivent bien à 37 °C ▶



Lichtheimia (Absidia)

B2. Hyphes étroits et septés
C1. Organes de fructification présents

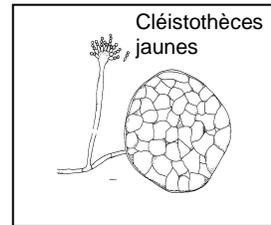
Têtes aspergillaires présentes



Aspergillus nidulans

colonie vert foncé, présence de cellules en noisette

← colonie jaune et verte ▶

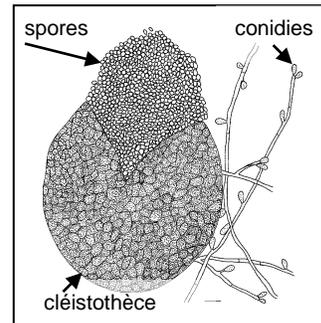


Complexe *Aspergillus glaucus*

Têtes aspergillaires absentes

produit des conidies sur les hyphes

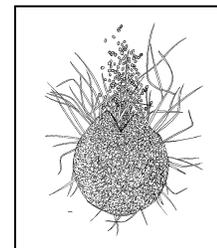
produit des conidies ovales à base tronquée sur les hyphes, en plus des cleistothèces ▶



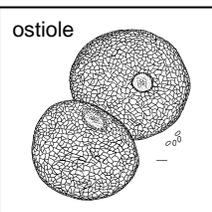
Complexe *Pseudallescheria boydii* (anamorphe *Scedosporium* sp.)

ne produit pas de conidies sur les hyphes

périthèce entouré de soies brunes ▶



Chaetomium



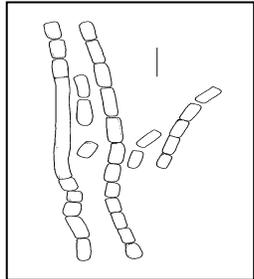
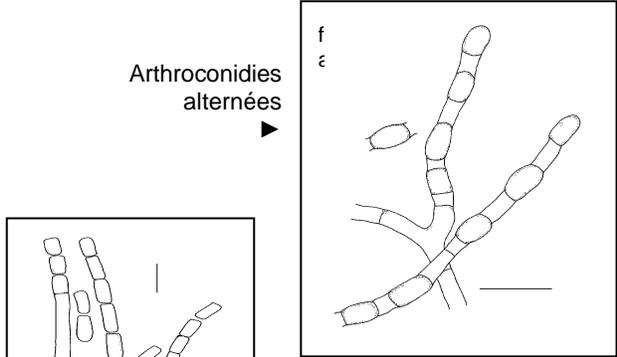
Phoma

← pycnides avec une ouverture (ostiole)

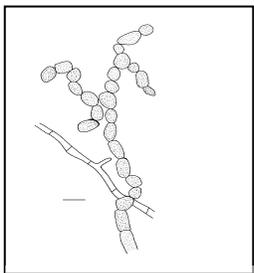
D1. Conidies en chaîne

Arthroconidies

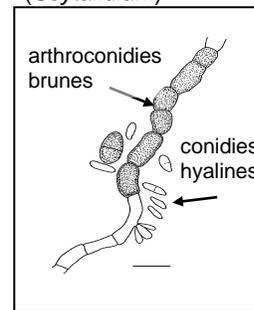
◆ **Conidiophores absents**



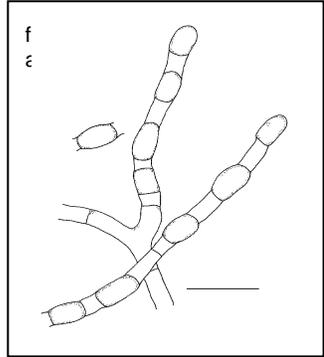
Geotrichum



Neoscytalidium (Scytalidium)



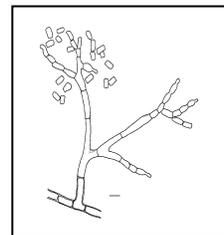
Aureobasidium



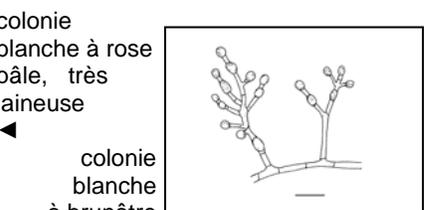
Onychocola canadensis

Colonie glabre blanche à rose ou jaune pâle, devenant brun noir avec l'âge

◆ **Conidiophores présents**



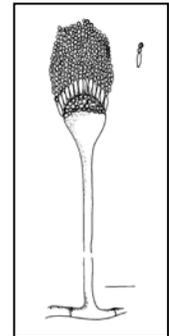
Chrysonilia



Geomyces Chrysosporium

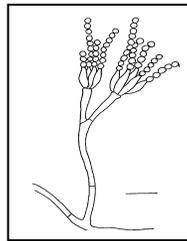
Conidies autres que des arthroconidies

◆ **Champignons hyalins, conidiophores non ramifiés se terminant en vésicule**

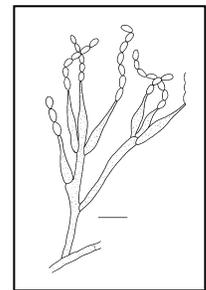


Aspergillus

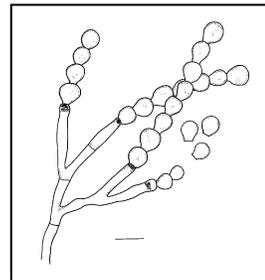
◆ **Champignons hyalins, conidiophores ramifiés en pinceau**



Penicillium

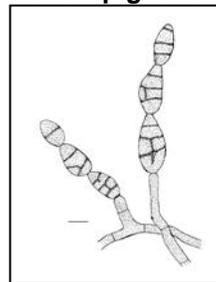


Paecilomyces

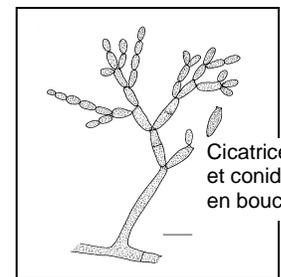


Scopulariopsis

◆ **Champignons dématiés**



Alternaria



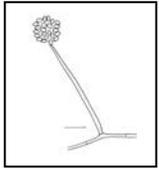
Cladosporium

D2. Conidies en amas ou solitaires (fixées individuellement sur le conidiophore)

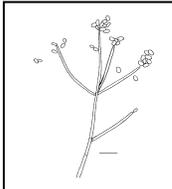
E1. Conidies unicellulaires

Conidies en amas

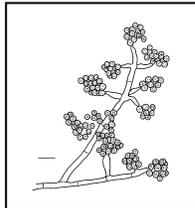
Champignons hyalins



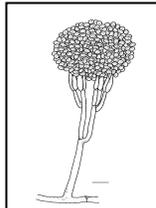
Acremonium



Verticillium

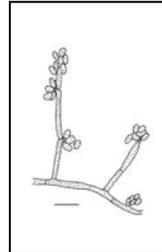


Trichoderma

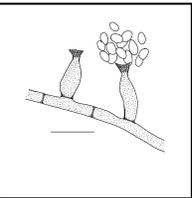
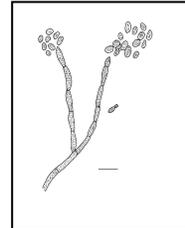


Trichoderma (Gliocladium)

Champignons dématés



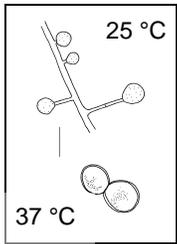
Exophiala



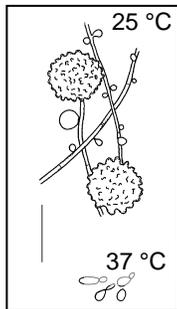
Phialophora

Conidies solitaires (fixées individuellement sur le conidiophore)

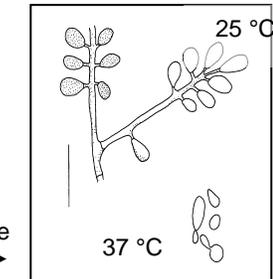
Champignons dimorphes



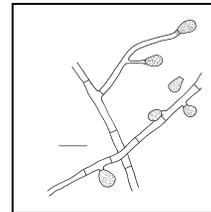
Blastomyces dermatitidis



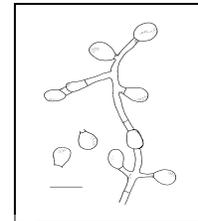
Histoplasma capsulatum



Sporothrix schenckii

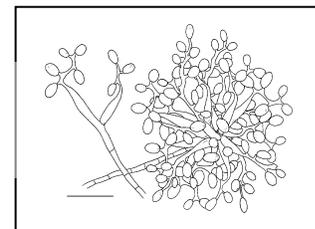


Scedosporium
forme *Graphium* parfois présente



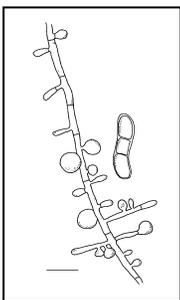
Chrysosporium

Conidiophores en zigzag

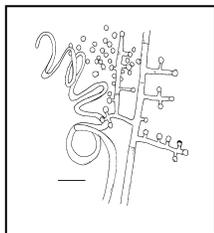


Beauveria

Dermatophytes

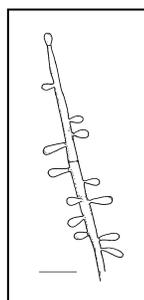


Trichophyton tonsurans



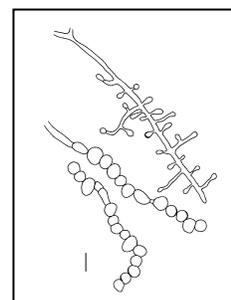
Trichophyton mentagrophytes

◀ Uréase positive



Trichophyton rubrum

▶ Uréase négative

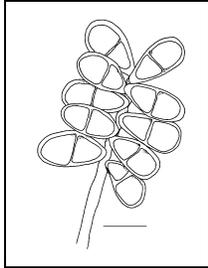


Trichophyton verrucosum

Autres possibilités :
- *Microsporium audouinii*
- *Microsporium persicolor*

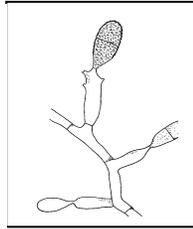
E.2 Conidies pluricellulaires présentes (conidies unicellulaires parfois aussi présentes)

Conidies bicellulaires



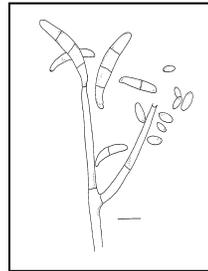
Trichothecium

◀ Colonie blanche ou pâle
Colonie brune ▶



Ochroconis (Verruconis)

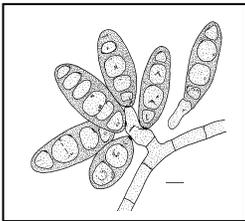
Macroconidies pluricellulaires avec microconidies unicellulaires



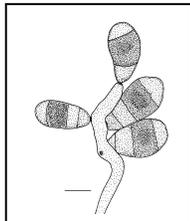
Fusarium

Colonie laineuse, blanche, rose pâle ou mauve, croissance rapide

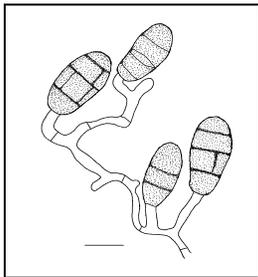
Conidies avec plus de 2 cellules



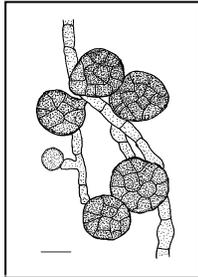
Bipolaris



Curvularia

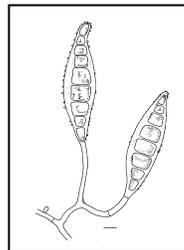


Pithomyces

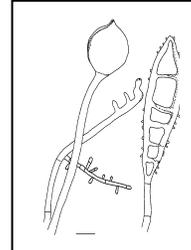


Epicoccum

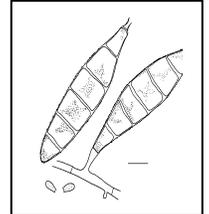
Dermatophytes



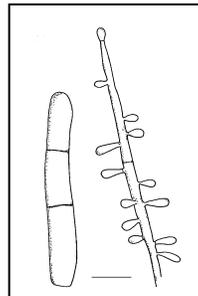
Microsporium canis



Microsporium audouinii



Microsporium gypseum



Trichophyton rubrum

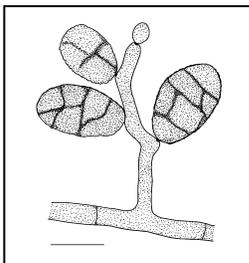
Rouge vin sur PDA
Uréase négative

Uréase positive

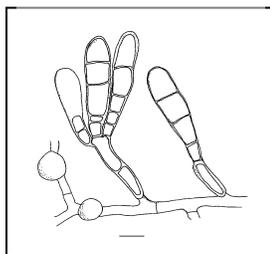


Trichophyton mentagrophytes

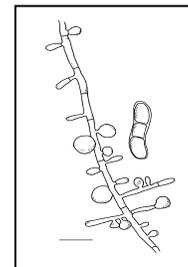
Dermatophyte



Ulocladium



Epidermophyton floccosum



Trichophyton tonsurans

13. IDENTIFICATION À L'ESPÈCE

L'identification à l'espèce est utile lorsqu'elle permet de :

- a) sélectionner un traitement et prévoir l'évolution de la maladie
- b) mieux comprendre l'épidémiologie de l'agent infectieux

Les organismes habituellement identifiés à l'espèce sont :

- a) *Candida albicans/dubliniensis* et *Cryptococcus neoformans/gattii*
- b) les levures isolées de sites normalement stériles
- c) les dermatophytes
- d) les champignons dimorphes
- e) certains saprophytes opportunistes tels que les *Aspergillus*

14. BIOSÉCURITÉ EN LABORATOIRE

Au Canada, selon la loi C-11, 7 champignons appartiennent au groupe de risque 3 (GR3) :

Cladophialophora bantiana
Coccidioides immitis/posadasii
Histoplasma capsulatum

Blastomyces dermatitidis
Paracoccidioides brasiliensis
Cryptococcus gattii (GR3 en NC2)

L'inhalation des conidies de ces organismes peut occasionner des infections graves.

Note : *Talaromyces (Penicillium) marneffeii* a été reclassifié comme étant un GR2 et *C. gattii* comme GR3 pouvant être manipulé en NC2 (voir Gazette du Canada du 27 décembre 2017)

Tous les autres champignons d'importance médicale sont considérés comme des organismes du groupe de risque 2. Néanmoins, étant donné qu'il est souvent difficile de distinguer les champignons du groupe de risque III uniquement par un examen morphologique de la colonie et que les champignons filamenteux en général se dispersent dans l'environnement en libérant des conidies dans l'air, il est recommandé de toujours les manipuler dans une enceinte de sécurité biologique afin de prévenir les infections acquises par voies respiratoires.

ATTENTION! plus particulièrement pour les colonies blanches / blanchâtres provenant d'un site profond tel que voies respiratoires, sang, biopsies profondes ou sous-cutanées, pus, urine, etc (avec croissance à 37 °C et sur milieu contenant cycloheximide [ex. Mycosel])

- Considérer ces souches comme potentiellement dangereuses et les manipuler dans une enceinte de sécurité biologique.
- Éviter de faire des cultures sur lame et d'utiliser des milieux en boîtes de Pétri pour les repiquages. Les tubes de plastique sont plus sécuritaires que les tubes en verre. Des sacs de plastique peuvent aussi être utilisés comme emballage supplémentaire pour diminuer les risques en cas de bris hors de l'enceinte.
- S'assurer que les lames préparées pour l'examen microscopique soient préparées avec un liquide de montage contenant un désinfectant (ex. phénol-bleu de coton). Nettoyer en surface avant de les retirer de l'enceinte de sécurité biologique.
- Le cas échéant, confier l'identification/confirmation de toute souche présumée être un organisme du GR3 à un laboratoire possédant expérience et installations sécuritaires pour le traitement de ce type de champignon.

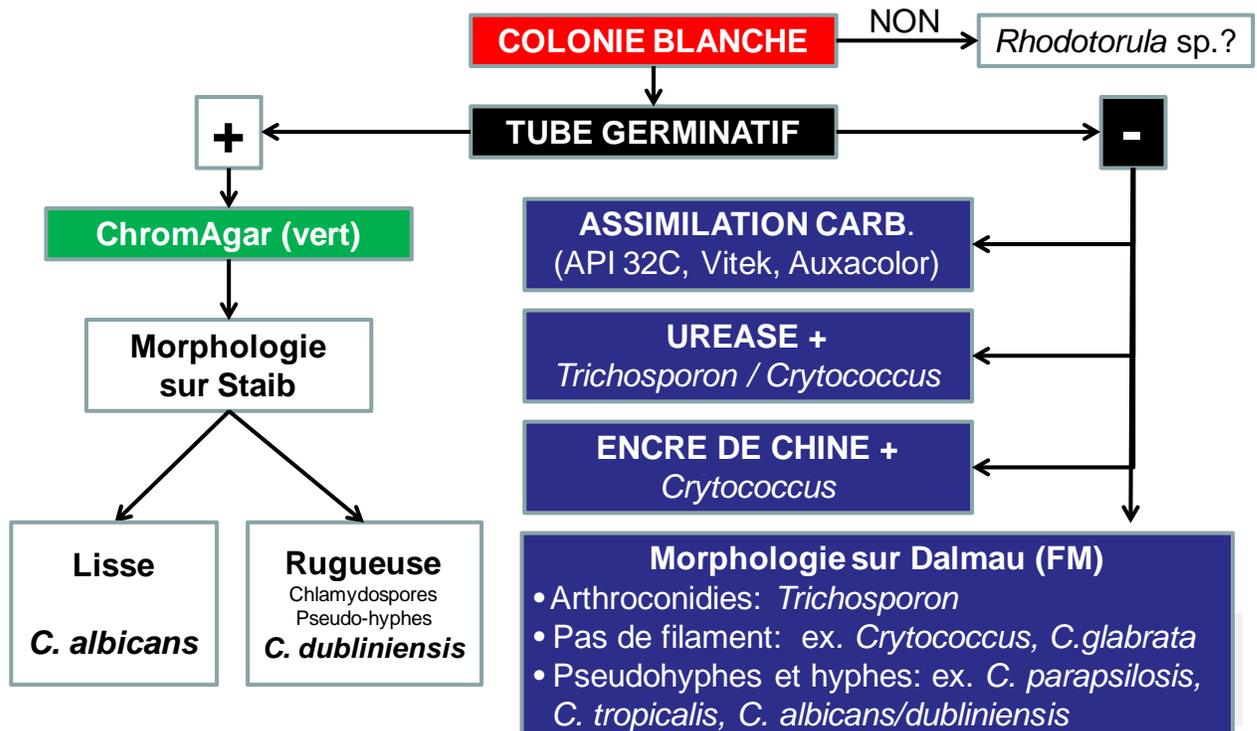
PARTIE 2

LEVURES ET ANTIFONGIGRAMMES

1. DÉFINITION

Champignons unicellulaires se reproduisant principalement par bourgeonnement.

2. SCHÉMA D'IDENTIFICATION DES LEVURES PAR MÉTHODE CONVENTIONNELLE

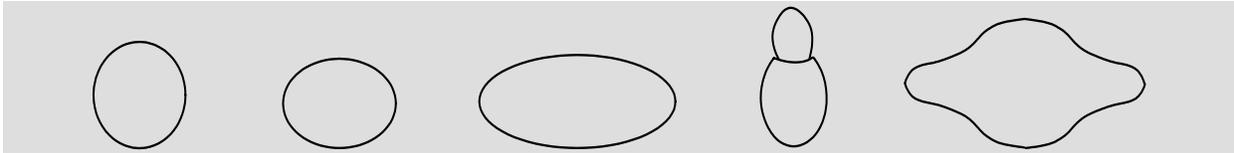


RECOMMANDATIONS:

- Sites normalement stériles : identifier à l'espèce
- Système respiratoire, urine : identifier *C. albicans/dubliniensis* et *C. neoformans/gattii*
- Autres : identifier *C. albicans*
- Antifongigrammes pour souches provenant de site stérile ou en cas d'échec clinique

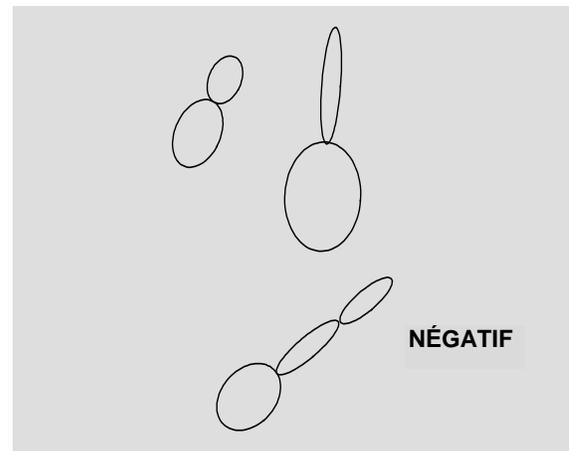
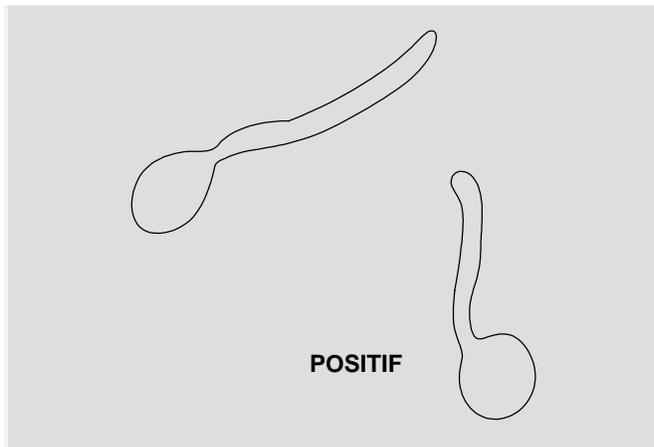
3. EXAMEN MICROSCOPIQUE

3.1 FORME DES CELLULES



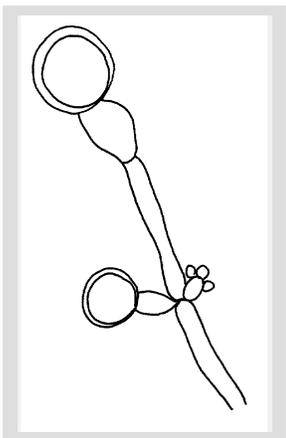
3.2 TUBE GERMINATIF (germination)

- Sérum de veau, de cheval ou de lapin
- Inoculum léger
- Incubation 3 heures à 37 °C (bain-marie)

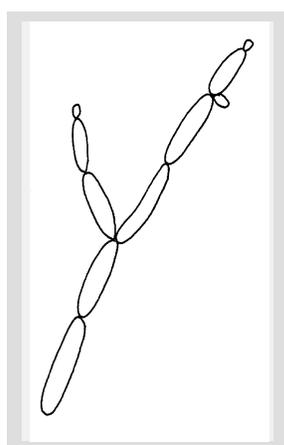


3.3 EXAMEN MORPHOLOGIQUE

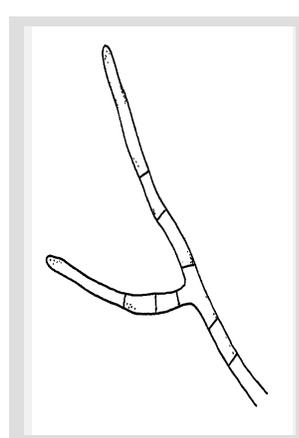
- Technique de Dalmau
- Gélose Cornmeal + Tween 80
- Incubation 48-72 heures à 30 °C



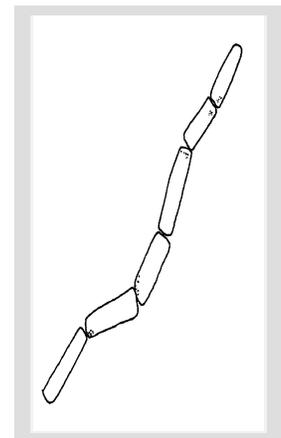
Chlamydospores



Pseudohyphes



Hyphes



Arthroconidies

Hyphe

Croissance à l'apex de l'hyphe; allongement linéaire et formation subséquente de septums.

Cellule terminale typiquement plus longue que la cellule précédente.

Cellule terminale habituellement cylindrique.

Parois parallèles sans constriction aux septums.

Septums réfringents et droits.

Embranchements sans constriction à leur point d'origine et avec un premier septum éloigné de l'hyphe principal.

Pseudohyphe

Croissance par bourgeonnement avec apparition d'une constriction basale pour chaque nouvelle blastoconidie.

Cellule terminale plus courte ou égale en longueur à la cellule précédente.

Cellule terminale habituellement ronde ou ovale (bourgeon).

Parois avec constriction aux septums.

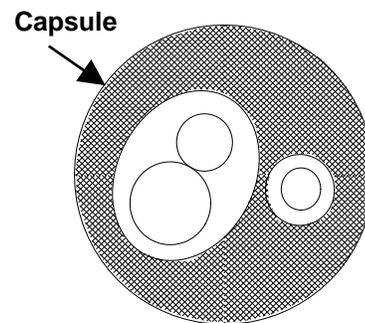
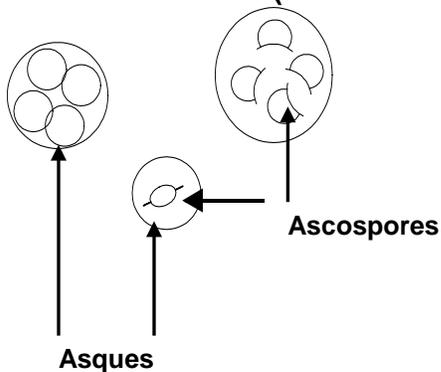
Septums souvent difficiles à voir et habituellement courbés.

Embranchements avec constriction au point d'origine et avec un septum présent au point d'origine.

3.4 CAPSULE

- Encre de chine
- Levure ronde avec capsule dans LCR =>

Identification présumée : *Cryptococcus*,
possiblement *C. neoformans/gattii*

**3.5 ASCOSPORES (rarement observées)**

- Gélose acétate ou V-8
- Incubation jusqu'à 6 semaines
- Coloration au vert de malachite

4. TESTS PHYSIOLOGIQUES

4.1 ASSIMILATION DE SOURCES DE CARBONE

Principe : utilisation d'une source de carbone en présence d'oxygène.

Microméthodes : API 20 C AUX, API 32 C, Auxacolor, Microscan, Vitek, ...

Incubation 24-72 heures à 30 °C.

Critère de positivité : croissance - turbidité.

Caractéristiques recherchées

- identification exacte et reproductible des espèces contenues dans la banque de données
- banque de données tenant compte de la variation de profils biochimiques pour chaque espèce
- discrimination des espèces non incluses dans la banque de données

4.2 ASSIMILATION DU NITRATE DE POTASSIUM

Principe : utilisation du nitrate de potassium comme seule source d'azote.

Milieu : gélose nitrate.

Incubation : 3 jours à 30 °C.

Critère de positivité : indicateur de pH bleu foncé.

4.3 FERMENTATION

Principe : utilisation d'une source de carbone en absence d'oxygène.

Milieu : bouillon avec tube de Durham.

Incubation : 2- 3 jour à 30 °C.

Critère de positivité : production de gaz.

4.4 HYDROLYSE DE L'URÉE

Principe : dégradation de l'urée et production de métabolites alcalins.

Milieu : urée de Christensen.

Incubation 2 à 5 jours à 30 °C.

Critère de positivité : indicateur de pH rose-rouge.

4.5 PHÉNOLOXYDASE

Principe : détection de la production d'une phénoloxydase pour l'identification présomptive de *C. neoformans/gattii*.

Milieu : gélose Staib (bird seed agar/ niger seed).

Incubation 72 heures à 30 °C.

Critère de positivité : production de colonies pigmentées brun.

4.6 CANAVANINE-GLYCINE-BLEU DE BROMOTHYMOL (gélose CGB)

Principe : détection de la résistance à la canavanine et de l'hydrolyse de la glycine pour la différenciation de *C. neoformans* et *C. gattii*. *C. gattii* est positif (bleu).

Milieu : gélose CGB.

Critère de positivité : indicateur de pH vire au bleu.

5. CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES DE LEVURES COMMUNÉMENT ISOLÉES DE SPÉCIMENS CLINIQUES

ESPÈCES	Morphologie						ASSIMILATION CARBONE ^a										FERMENTATION						AUTRES								
	Pseudohyphes	Vraies hyphes	Chlamydo-spores	Tubes germinatifs	Capsules	Arthroconidies	Érythritol	Maltose	Sucrose	Lactose	Galactose	Mélibiose	Cellobiose	Inositol	Xylose	Raffinose	Tréhalose	Dulcitol	Glucose	Maltose	Sucrose	Lactose	Galactose	Tréhalose	Cellobiose	Uréase	KNO ₃	Phénoloxydase	Croissance à 37 °C	Croissance à 40 °C	Croissance sur Mycosel
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+,-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	f,-	-	+,-	+,-	-	-	-	-	+	+	+
<i>C. dubliniensis</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-,+	-	-,+	-	+	+	-	-	+,-f	?	-	-	-	-	+	+	+
<i>C. famata (D. hansenii)</i>	-	-	-	-	-	-	+,-	+	+	+,-	+	+	+	-	+	+	+	+,-	+,-	-	-	-	-	-,-f	-	-	-	-	+,-	-	+,-
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
<i>C. guilliermondii</i>	+,-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-,+	-,+	-	-	-	-	+	+,-	+
<i>C. kefyr</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+,-	-	+,-	+	-,+	-	+	-	+	+,-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>C. lambica</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	?	-
<i>C. lipolytica</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-,+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+,-	-,+	+
<i>C. lusitanae</i>	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+,-	-
<i>C. rugosa</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+,-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	?	-
<i>C. tropicalis</i>	+	-,+	-	-	-	-	-	+	+,-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+f
<i>C. zeylanoides</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-,+	-	-,+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+,-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	
<i>C. albidus</i>	-	-	-	-	+	-	+,-	+	+	+,-	+,-	-	+	+	+	+	+	+,-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-,+	+,-	-	
<i>C. laurentii</i>	-	-	-	-	+	-	+,-	+	+	+	+	+	+	+	+,-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+,-
<i>C. uniguttulatus</i>	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-,+	+	-,+	+	+	+,-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Geotrichum capitatum</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>G. candidum</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-,+	-	+
<i>Pichia anomala</i>	-,+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+,-	-	+	-	+,-	+,-	+	-	+	+,-	+	-	+,-	-	+,-	-	+	-	+,-	?	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	-	-	-	-	-,+	-	-	+	+	-	+,-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+,-	-	+,-	
<i>R. mucilaginosa</i>	-	-	-	-	-,+	-	-	+	+	-	+	-	+,-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-,+	-	+,-	-	+,-	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+ ^p	-	-	-	-	-	-	+,-	+,-	-	+,-	-	-	-	-	+,-	+,-	-	+	+,-	+,-	-	+,-	+,-	-	-	-	-	+,-	+,-	-
<i>Trichosporon sp.</i>	-	+	-	-	-	+	+,-	+,-	+	+,-	+,-	+,-	+,-	+,-	+,-	+,-	+,-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+,-	+,-	+,-	
<i>Prototheca sp.^b</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+,-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+,-	?	-	

^atoutes ces espèces assimilent le glucose, ^balgue pouvant être confondue avec une levure, f : faible, p : primitif, ? : inconnu

6. Clef d'identification de levures et d'organismes levuriformes communément isolés au Québec.

(toute identification doit être complétée ou confirmée par un examen morphologique et, s'il y a lieu, des tests biochimiques)

1. Colonie blanche, jaune pâle ou rose pâle 2
- 1a. Colonie de couleur pêche à rose saumon 14
- 1b. Colonie brune à noire ou présentant tout au moins une teinte de brun, souvent non homogène 15

2. Bonne croissance sur gélose Sabouraud glucose ou pomme de terre (PDA) 3
- 2a. Aucune croissance ou croissance très faible sur les milieux mentionnés ci-dessus sans avoir badigeonné auparavant la surface avec de l'huile d'olive *Malassezia furfur* complexe

3. Uréase négative 4
- 3a. Uréase positive..... 9

4. Présence de sporanges sphériques contenant de nombreuses sporangiospores; cellules bourgeonnantes absentes.....*Prototheca* sp.
- 4a. Sporangie absent; cellules bourgeonnantes présentes ou absentes 5

5. Arthroconidies présentes; cellules bourgeonnantes absentes.....*Geotrichum* sp.
- 5a. Arthroconidies absentes; cellules bourgeonnantes présentes..... 6

6. Tubes germinatifs présents ou chlamydo-spores présentes sur gélose Cornmeal Tween 80
Candida albicans/dublinskiensis
- 6a. Tubes germinatifs absents et chlamydo-spores absentes 7

7. Hyphes ou pseudohyphes bien développés sur gélose Cornmeal Tween 80 8
- 7a. Hyphes ou pseudohyphes absents ou rudimentaires sur gélose Cornmeal Tween 80..... *C. glabrata*, *C. famata* /*guilliermondii*, *Saccharomyces cerevisiae*

8. Croissance sur gélose Mycosel (résistance au cycloheximide).....
.....*Candida albicans/dublinskiensis*, *C. kefir*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. lipolytica*
- 8a. Aucune croissance sur gélose Mycosel (sensibilité au cycloheximide).....
..... *Candida tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*

9. Présence de cellules bourgeonnantes, en forme de fuseaux; hyphes absents ou présents..... *Ustilago* sp.
- 9a. Différent de la description ci-dessus 10

10. Présence de cellules bourgeonnantes hyalines, ellipsoïdales; arthroconidies brunes parfois présentes
.....*Aureobasidium* sp.
- 10a. Différent de la description ci-dessus 11

11. Cellules à bourgeonnement unipolaire avec col de bourgeonnement large; hyphes absents
.....*Malassezia pachydermatis*
- 11a. Différent de la description ci-dessus 12

12. Arthroconidies hyalines présentes *Trichosporon* sp.
- 12a. Différent de la description ci-dessus 13

13. Pseudohyphes et hyphes absents; cellules rondes à ovales, habituellement encapsulées présentes.....
..... *Cryptococcus* sp.
- 13a. Pseudohyphes ou hyphes présents; présence de cellules ovales, ellipsoïdales ou allongées, non encapsulées. *Candida krusei*, *Candida lipolytica*

14. Hyphes ou pseudohyphes présents ; ballistoconidies présentes *Sporobolomyces* sp.
 14a. Hyphes ou pseudohyphes absents; ballistoconidies absentes..... *Rhodotorula* sp.
15. Arthroconidies (chaîne de chlamydozoospores) brun foncé présentes..... *Aureobasidium* sp.
 15 a. Arthroconidies (chaîne de chlamydozoospores) absentes 16
16. Présence de cellules bourgeonnantes, en forme de fuseaux..... *Ustilago* sp.
 16a. Présence de cellules bourgeonnantes ovoïdes 17
17. Levure noire, hyphes présents; conidies produites en amas à l'extrémité de conidiophores plus ou moins bien différenciés *Exophiala* sp. (voir clef des champignons filamenteux).

7. Caractéristiques de *Cryptococcus neoformans* et *Cryptococcus gattii*.

Espèces	Variétés et Sérotypes	Génotypes	Écologie	Remarques
<i>C. neoformans</i>	var. <i>neoformans</i> (sérotipe D et AD)	VNIV VNIII	Distribution mondiale, (surtout en Europe et en Amérique du Sud)	Infecte principalement l'hôte immunodéprimé
	var. <i>grubii</i> (sérotipe A)	VNI VNB VNII	Génotype VNI plus commun Distribution mondiale	Gélose CGB négatif
<i>C. gattii</i>	Sérotypes B et C	VGI VGII (a, b, c)	Régions (sous) tropicales	Infecte souvent l'hôte immunocompétent (VGI et VGII)
		VGIII VGIV	Régions tempérés (côte Pacifique : VGIIa)	Infection pulmonaire plus fréquente Gélose CGB positive (bleue)

ÉPREUVES DE SENSIBILITÉ AUX ANTIFONGIQUES

8. ANTIFONGIQUES

Classe	Antifongique	Nom commercial	Administration	Cible
Polyènes	Amphotéricine B	Fungizone	IV	Membrane cellulaire (interaction avec stérol / intégrité membranaire)
Azoles (Triazoles)	Fluconazole	Difflican	PO et IV	Membrane cellulaire (inhibition synthèse de l'ergostérol)
	Itraconazole	Sporonox	PO et IV	
	Isavuconazole	Cresemba	PO et IV	
	Posaconazole	Noxafil	PO	
	Voriconazole	Vfend	PO et IV	
Echinocandines	Anidulafungine	Eraxis	IV	Paroi cellulaire (inhibition de la synthèse des β -D glucanes)
	Caspofungine	Cancidas	IV	
	Micafungine	Mycamine	IV	
Allylamines	Terbinafine	Lamisil	PO, topique	Membrane cellulaire (inhibition de la squalène epoxidase impliquée dans synth. ergostérol)
Analogue nucleotidique	5-Fluorocytosine	Ancobon	PO et IV	Synthèse protéines, ADN/ARN
	Griseofulvin	Fulvicin	PO, topique	Synthèse des microtubules (mitose)

Autres antifongiques : Nystatin, Natamycin, Ketoconazole, Miconazole, Clotrimazole, Terconazole

9. MÉTHODES: épreuves de sensibilité

- Méthode par microdilution du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI M27 et M38)
- YeastOne (anc. TREK diagnostic – Thermo Fisher/ Oxoid).
- Etest (bioMérieux).
- Méthode de diffusion en gélose de type Kirby Bauer (CLSI M44 et M51)
- Vitek YST (bioMérieux)

10. SEUILS CLINIQUES ET ÉPIDÉMIOLOGIQUES (ECV) – *Candida* sp.

Organisme	Antifongique	SEUILS CLINIQUES (CMI, µg/mL)				ECV
		Sensible	SDD	Intermédiaire	Résistant	
<i>Candida albicans</i>						
	Amphotéricine B	-	-	-	-	2
	Fluconazole	≤ 2	4	-	≥ 8	-
	Itraconazole	-	-	-	-	-
	Posaconazole*	-	-	-	-	0.06
	Voriconazole	≤0.125	0.25-0.5	-	≥ 1	-
	Anidulafungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	0.12
	Caspofungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	-
	Micafungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	0.03
<i>Candida glabrata</i>						
	Amphotéricine B	-	-	-	-	2
	Fluconazole	-	≤ 32	-	≥ 64	-
	Itraconazole	-	-	-	-	4
	Posaconazole*	-	-	-	-	1
	Voriconazole*	-	-	-	-	0.25
	Anidulafungine	≤0.125	-	0.25	≥ 0.5	0.25
	Caspofungine	≤0.125	-	0.25	≥ 0.5	-
	Micafungine	≤0.06	-	0.125	≥ 0.25	0.03
<i>Candida krusei</i>						
	Amphotéricine B	-	-	-	-	2
	Fluconazole	résistance	intrinsèque	-	-	-
	Itraconazole	-	-	-	-	1
	Posaconazole*	-	-	-	-	0.5
	Voriconazole	≤0.5	1	-	≥ 2	-
	Anidulafungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	0.25
	Caspofungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	-
	Micafungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	0.25
<i>Candida parapsilosis</i>						
	Amphotéricine B	-	-	-	-	2
	Fluconazole	≤ 2	4	-	≥ 8	-
	Itraconazole	-	-	-	-	-
	Posaconazole*	-	-	-	-	0.25
	Voriconazole	≤0.125	0.25-0.5	-	≥ 1	-
	Anidulafungine	≤ 2	-	4	≥ 8	8
	Caspofungine	≤ 2	-	4	≥ 8	-
	Micafungine	≤ 2	-	4	≥ 8	4
<i>Candida tropicalis</i>						
	Amphotéricine B	-	-	-	-	2
	Fluconazole	≤ 2	4	-	≥ 8	-
	Itraconazole	-	-	-	-	0.5
	Posaconazole*	-	-	-	-	0.12
	Voriconazole	≤0.125	0.25-0.5	-	≥ 1	-
	Anidulafungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	0.12
	Caspofungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	-
	Micafungine	≤0.25	-	0.5	≥ 1	0.06
<i>Candida guilliermondii</i>						
	Fluconazole*	-	-	-	-	8
	Posaconazole*	-	-	-	-	0.5
	Anidulafungine	≤ 2	-	4	≥ 8	8
	Caspofungine	≤ 2	-	4	≥ 8	-
	Micafungine	≤ 2	-	4	≥ 8	2
<i>Candida lusitanae</i>						
	Fluconazole*	-	-	-	-	1
	Anidulafungine	-	-	-	-	1
	Posaconazole*	-	-	-	-	0.06
	Micafungine	-	-	-	-	0.5
	Itraconazole	-	-	-	-	1
<i>Candida dubliniensis</i>						
	Fluconazole*	-	-	-	-	0.5
	Anidulafungine	-	-	-	-	0.12
	Micafungine	-	-	-	-	0.12

Source: CLSI M60 ED1 et M59 ED2; en rouge pas de critère d'interprétation pour microorganisme/antifongique.

11. SEUILS ÉPIDÉMIOLOGIQUES (ECV) – *Cryptococcus*

Organisme	Antifongique	ECV (µg/mL)
<i>C. neoformans</i> VNI		
<i>Génotype le plus fréquent</i>		
	Amphotéricine B	0.5
	Fluconazole	8
	Flucytosine	8
	Itraconazole	0.25
	Posaconazole*	0.25
	Voriconazole	0.25
<i>Candida gattii</i> VGI		
	Amphotéricine B	0.5
	Fluconazole	16
	Flucytosine	4
	Itraconazole	0.5
	Voriconazole*	0.5
<i>Candida gattii</i> VGII		
	Amphotéricine B	0.5
	Fluconazole	32
	Flucytosine	32
	Itraconazole	1
	Voriconazole*	0.5

12. SEUILS ÉPIDÉMIOLOGIQUES (ECV) – *Aspergillus* spp.

Antifongique	Espèce	ECV (µg/mL)
Amphotericin B		
	<i>A. flavus</i>	4
	<i>A. fumigatus</i>	2
	<i>A. niger</i>	2
	<i>A. terreus</i>	4
	<i>A. versicolor</i>	2
Caspofungine		
	<i>A. flavus</i>	0.5
	<i>A. fumigatus</i>	0.5
	<i>A. niger</i>	0.25
	<i>A. terreus</i>	0.12
Itraconazole		
	<i>A. flavus</i>	1
	<i>A. fumigatus</i>	1
	<i>A. niger</i>	4
	<i>A. terreus</i>	2
Posaconazole		
	<i>A. flavus</i>	0.5
	<i>A. niger</i>	2
	<i>A. terreus</i>	1
Voriconazole		
	<i>A. flavus</i>	2
	<i>A. fumigatus</i>	1
	<i>A. niger</i>	2
	<i>A. terreus</i>	2

Source: CLSI M59 ED2;

13. RECOMMANDATIONS :

1. Pour les spécimens provenant de sites profonds ou normalement stériles, identifier l'agent étiologique au genre et si possible à l'espèce. Certaines espèces sont connues pour leur résistance intrinsèque (ex.: *Candida lusitanae* et amphotéricine B, *Candida krusei* et fluconazole).
2. Les épreuves de sensibilité peuvent être utiles dans les cas d'infection associés à un échec thérapeutique de même que dans les cas d'infection où la résistance est susceptible de se développer en cours de traitement prolongé (surtout lors de l'utilisation d'antifongiques azolés).
3. Les épreuves de sensibilité sont utiles dans le cadre de programmes de surveillance pour établir le profil de sensibilité de souches pathogènes à l'intérieur d'une institution ou sur un territoire donné.

PARTIE 3

LES DERMATOPHYTES

1. ÉPIDÉMIOLOGIE ET CLINIQUE

1.1 DÉFINITION ET ÉCOLOGIE

- Champignons kératinophiles appartenant à un des trois genres suivants :
 - *Epidermophyton*
 - *Microsporum*
 - *Trichophyton*

- 40 espèces reconnues. Plusieurs sont des saprophytes du sol.
À peu près la moitié sont des pathogènes des humains, des mammifères ou des oiseaux.

- On les regroupe selon leur principal réservoir dans la nature :
 - Géophiles (sol)
 - Zoophiles (animaux)
 - Anthropophiles (humains)

*DE TOUS LES CHAMPIGNONS, SEULES QUELQUES ESPÈCES APPARTENANT
AU GROUPE DES DERMATOPHYTES ONT ÉVOLUÉ POUR DEVENIR DES
PARASITES OBLIGATOIRES DE L'HUMAIN.*

1.2 DERMATOPHYTIE

- Colonisation de tissus kératinisés tels les ongles, les cheveux et la couche cornée de la peau
- Réaction de l'hôte aux métabolites produits par le champignon
- Généralement, pas d'invasion des tissus vivants
- Entités cliniques classées selon le site anatomique
 - *tinea capitis* (cuir chevelu)
 - *tinea barbae* (barbe)
 - *tinea cruris* (aine)
 - *tinea unguium* (ongle)
 - *tinea corporis* (peau glabre)
 - *tinea pedis* (pied d'athlète)

1.3 PRÉLÈVEMENTS*

Ongles

- Nettoyer l'ongle avec un tampon imbibé d'alcool 70%. Au besoin, laver avec du savon et de l'eau avant d'utiliser l'alcool.
- Couper le long du bord libre le plus possible (jeter le premier rang)
- Gratter sous l'ongle ou limer et récolter les débris
- Conserver au sec dans un contenant stérile ou enveloppe propre, à la température de la pièce; traiter le plus tôt possible.

Cheveux, poils

- Arracher 10 à 12 avec pinces de façon à conserver le bulbe
- Déposer dans un contenant stérile ou enveloppe propre
- Le cas échéant, sélectionner les cheveux qui fluorescent sous la lampe de Wood

Squames

- Nettoyer la zone atteinte avec du savon et de l'eau ou un tampon d'alcool 70%. Laisser sécher.
- Racler la surface de la peau avec un bistouri ou une lame de microscope et récolter 10-15 squames au pourtour de la lésion. Un peigne ou un écouvillon peuvent servir pour les lésions au cuir chevelu

Pus

- Enlever exudat de surface (alcool 70%). Aspirer le pus (kérion) et le placer dans un tube. Acheminer dans un milieu de transport standard.

Biopsie

- Les biopsies sont placées dans un tube, avec ou sans une petite quantité de saline (1 mL) stérile (sans agent de conservation).

*Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Principles and Procedures for Detection of Fungi in Clinical Specimens- Direct Examination and Culture; Approved Guideline. M54-A CLSI. Wayne, PA.

2. EXAMEN DIRECT

L'examen direct permet de :

- fournir rapidement un rapport préliminaire au médecin;
- détecter une infection fongique en l'absence d'une culture positive;
- faciliter l'interprétation du résultat de la culture.

2.1 LAMPE DE WOOD

Certains dermatophytes qui infectent l'enveloppe externe des cheveux produisent un métabolite (ptéridine) qui donne une fluorescence vert jaune lorsqu'exposé à une lampe de Wood (366 nm). Il s'agit principalement de *M. canis* et *M. audouinii*. On peut utiliser la lampe de Wood en laboratoire pour sélectionner des cheveux infectés pour la culture.

Les dermatophytes endothrix qui n'infectent que l'intérieur du cheveu, tel *T. tonsurans*, ne peuvent être détectés par cette méthode.

2.2 KOH

L'hydroxyde de potassium en solution aqueuse digère les débris protéinés, blanchit plusieurs pigments et dissout le « ciment » qui retient les cellules kératinisées ensemble. Il permet, le cas échéant, de repérer plus facilement les hyphes lors de l'examen microscopique.

a) Réactif

KOH 10 % avec glycérol

KOH 10 g
glycérol.....10 ml
eau déionisée80 ml

(le glycérol prévient la cristallisation et retarde la déshydratation)

b) Méthode

Placer les squames ou le matériel à examiner dans une goutte de réactif KOH 10 % sur une lame. Recouvrir d'une lamelle. Laisser réagir 30 minutes; chauffer légèrement si l'on veut accélérer la digestion.

Examiner au microscope. Fermer le diaphragme du condenseur pour obtenir un meilleur contraste. Utiliser un objectif 10 X pour faire un balayage de la lame. Confirmer avec un objectif 40 X.

2.3 BLANC DE CALCOFLUOR

Le blanc de calcofluor est un fluorochrome non spécifique qui démontre, entre autres, une affinité pour la chitine retrouvée dans la paroi cellulaire des champignons. À l'examen au microscope à fluorescence, les champignons produisent une fluorescence vert pomme.

a) Réactif : blanc de calcofluor 0,1 % (calcofluor white)

blanc de calcofluor
(Fluorescent brightener 28 - Sigma F-6259).....0,1 g
eau désionisée 100 ml

Dissoudre le blanc de calcofluor en chauffant très légèrement. Conserver à la température de la pièce dans une bouteille ambrée à l'abri de la lumière.

b) Méthode :

Déposer les squames ou le matériel à examiner dans une goutte de réactif KOH 10 % auquel on a préalablement ajouté une goutte de la solution de blanc de calcofluor. Recouvrir d'une lamelle, laisser réagir pendant 10 minutes et examiner au microscope à fluorescence.

c) Microscopie :

Microscope à épifluorescence

- filtre d'excitation 300-412 nm (absorption max. 347 nm)
- filtre d'arrêt 500-520 nm

2.4 COLORATION ACIDE PÉRIODIQUE-SCHIFF (PAS)

Cette technique permet de colorer certains polysaccharides retrouvés dans la paroi cellulaire des champignons. Les frottis sont d'abord immergés dans un bain d'acide périodique, un agent oxydant qui brise les liaisons C - C présentes dans les polysaccharides sous forme de 1:2 glycol (HOHC - CHOH) et les transforme en groupes aldéhydes (R - CHO). Après lavage à l'eau, on colore à la fuchsine basique qui réagit, le cas échéant, avec les groupes aldéhydes. Après un second rinçage, on décolore avec une solution de métabisulfite. La fuchsine ayant réagi avec les groupes aldéhydes n'est pas affectée, alors que la fuchsine libre est convertie en un composé incolore. À l'examen microscopique, les hyphes et levures apparaissent colorées rose à magenta. Occasionnellement, les bactéries et certains tissus peuvent aussi être colorés.

2.5 CONCLUSION (examen direct)

TECHNIQUES	AVANTAGES	INCONVÉNIENTS
KOH	<ul style="list-style-type: none">➤ Réactif peu dispendieux et simple à préparer➤ Technique rapide	<ul style="list-style-type: none">➤ Exige plus d'expérience pour la lecture➤ Les lames ne sont pas permanentes
BLANC DE CALCOFLUOR	<ul style="list-style-type: none">➤ Réactif peu dispendieux et simple à préparer➤ Technique rapide➤ Lecture plus facile que KOH	<ul style="list-style-type: none">➤ Nécessite l'utilisation d'un microscope à fluorescence➤ Les lames ne sont pas permanentes
PAS	<ul style="list-style-type: none">➤ Lecture plus facile que KOH➤ Lames permanentes	<ul style="list-style-type: none">➤ Réactifs plus dispendieux et plus nombreux➤ Contrôle de qualité plus exigeant➤ Technique plus longue

3. ISOLEMENT

3.1 MILIEUX DE CULTURE

- Gélose Sabouraud glucose avec chloramphénicol et cycloheximide ou gélose Mycosel (BBL), Mycobiotic (Difco)
- Gélose Sabouraud glucose avec chloramphénicol
- Format : boîte de Pétri 15 x 100 mm, 40 ml ou tube 20 x 125 mm, 7 ml, incliné
- Nombre de tubes ou boîtes à ensemercer : 1 de chaque milieu¹

3.2 TEMPÉRATURE D'INCUBATION

- 30 ± 2 °C ²

3.3 DURÉE D'INCUBATION

- Jusqu'à 4 semaines. Examen des cultures 2 fois durant la 1^{ère} semaine et une fois par semaine par la suite.

¹ certains laboratoires préfèrent utiliser 2 tubes de chaque milieu plutôt qu'un seul, ceci afin d'améliorer les probabilités d'isolement.

² la croissance sera un peu plus lente si l'incubation est effectuée à la température de la pièce. Si l'on soupçonne la présence de *Trichophyton verrucosum*, *T. terrestre* et *M. persicolor* on peut aussi incuber à 37 °C (voir page 31).

4. MILIEUX DE CULTURE SÉLECTIFS

- GÉLOSE SABOURAUD GLUCOSE MODIFIÉE + CHLORAMPHÉNICOL
 - Neopeptone, Difco 10 g
 - Glucose 20 g
 - Agar 20 g
 - Chloramphénicol
(dilué dans 10 ml d'acétone) . 0,050 g
 - Eau 1000 ml
 - pH final 7,0

- GÉLOSE MYCOSEL (BBL) MYCOBIOTIC (Difco)
 - Phytone, peptone 10 g
 - Glucose 10 g
 - Agar 15 g
 - Cycloheximide 0,4 g
 - Chloramphénicol 0,05 g
 - Eau 1000 ml
 - pH final 6,5

- GÉLOSE DTM
(Dermatophyte test medium)
 - Peptone (végétal) 10 g
 - Glucose 10 g
 - Agar 20 g
 - Rouge de phénol 0,2 g
 - Cycloheximide 0,5 g
 - Gentamicine 0,1 g
 - Chlortétracycline 0,1 g
 - Eau 1000 ml
 - pH final 5,5

- GÉLOSE IMA
(Inhibitory Mold Agar) (BBL)
 - Tryptone 3 g
 - Extrait de bœuf 2 g
 - Extrait de levure 5 g
 - Glucose 2 g
 - Amidon 2 g
 - Dextrine 1 g
 - Chloramphénicol 125 mg
 - Gentamicine 5 mg
 - Solution de sels A 10 ml
 - Solution de sels B 20 ml
 - Agar 17 g
 - Eau 970 ml
 - pH final 6,7

5. CRITÈRES ET TECHNIQUES D'IDENTIFICATION

5.1 DESCRIPTION DES COLONIES

(voir page 7)

5.2 EXAMEN DES STRUCTURES MICROSCOPIQUES

- a) Hyphes
 - En spirale
 - En raquette
 - Pectinés
 - Chandelier favique
 - Tête de clou
 - Corps nodulaire
- b) Conidies
 - Microconidies
 - Macroconidies
 - Chlamydozoospores

5.3 ÉPREUVES PHYSIOLOGIQUES

- a) Hydrolyse de l'urée
 - Milieu : urée de Christensen
 - Incubation : 7 jours à 30 ± 2 °C
 - Critère de positivité : pente rouge
- b) Perforation du cheveu
 - Milieu : eau désionisée + extrait de levure 10 % + cheveux pâles
 - Incubation : 7-21 jours à 30 ± 2 °C
 - Critère de positivité : présence de cônes de perforation perpendiculaires à l'axe du cheveu
- c) Exigences nutritives
 - Milieux : géloses Trichophyton (Difco)
 - #1 Contrôle
 - #2 Inositol
 - #3 Inositol + thiamine
 - #4 Thiamine
 - #5 Acide nicotinique
 - #6 Contrôle nitrate d'ammonium
 - #7 Histidine
 - Incubation : 7-21 jours à 30 ± 2 °C.
 - Critère d'évaluation : 0 absence de croissance, 1+ trace, 4+ bonne croissance
- d) Culture sur milieu au riz
 - Milieu : grains de riz non enrichi, cuits (autoclavés)
 - Incuber 7-21 jours à 30 ± 2 °C.
 - Critère de positivité : croissance ou absence de croissance

RÉSUMÉ DE L'UTILITÉ DES ÉPREUVES PHYSIOLOGIQUES

ÉPREUVES	DERMATOPHYTES	RÉSULTATS
Hydrolyse de l'urée	<i>T. rubrum</i>	- (+)
	<i>T. mentagrophytes</i>	+ (-)
Perforation du cheveu	<i>T. rubrum</i>	-
	<i>T. mentagrophytes</i>	+
Culture sur gélose pomme de terre glucose (PDA)	<i>T. rubrum</i>	pigment rouge
	<i>M. audouinii</i>	pigment saumon
	<i>M. canis</i>	pigment jaune
Étude des exigences nutritives	<i>T. verrucosum</i>	dépendance thiamine-inositol ou thiamine seulement
	<i>T. tonsurans</i>	dépendance thiamine seulement
	<i>T. violaceum</i>	dépendance thiamine seulement
Culture sur milieu au riz	<i>M. audouinii</i>	peu de croissance
	<i>M. canis</i>	bonne croissance
Croissance à diverses températures	<i>T. verrucosum</i>	croissance plus rapide à 37 °C qu'à 30 ± 2 °C
	<i>T. terrestre</i>	pas de croissance à 37 °C
	<i>M. persicolor</i>	croissance plus rapide à 30 ± 2 °C qu'à 37 °C

6. CLASSIFICATION ET DESCRIPTION DES DERMATOPHYTES

PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES DES 3 GENRES AUXQUELS APPARTIENNENT LES DERMATOPHYTES

GENRE	MACROCONIDIES	MICROCONIDIES
<i>EPIDERMOPHYTON</i>	à paroi mince et lisse, en forme de massue, en groupe	absentes
<i>MICROSPORUM</i>	à paroi épaisse et échinulées, en forme de fuseau, solitaires	en forme de massue
<i>TRICHOPHYTON</i>	à paroi mince et lisse, en forme de cigare, solitaires	formes variées, solitaires ou en groupes

DERMATOPHYTES ISOLÉS AU QUÉBEC

DERMATOPHYTE	ÉCOLOGIE	SITES AFFECTÉS			FRÉQUENCE D'ISOLEMENT (% dermatophytes LSPQ-2018)
		PEAU	CHEVEUX	ONGLES	
<i>T. rubrum</i>	A	+	rare	+	très commun (57%)
<i>T. mentagrophytes</i>	A, Z	+	+	+	très commun (17%)
<i>T. verrucosum</i>	Z	+	+	rare	commun (5%)
<i>T. tonsurans</i>	A	+	+	rare	commun (3%)
<i>M. audouinii</i>	A	+	+	-	commun (8%)
<i>T. soudanense</i>	A	+	+	+	commun (2%)
<i>M. canis</i>	Z	+	+	-	commun (6%)
<i>T. violaceum</i>	A	+	+	rare	commun (1%)
<i>E. floccosum</i>	A	+	-	rare	rare (1%)
<i>M. gypseum</i>	G	+	rare	-	rare
<i>M. persicolor</i>	Z	+	-	-	rare

A : anthropophile G : géophile Z : zoophile

EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM

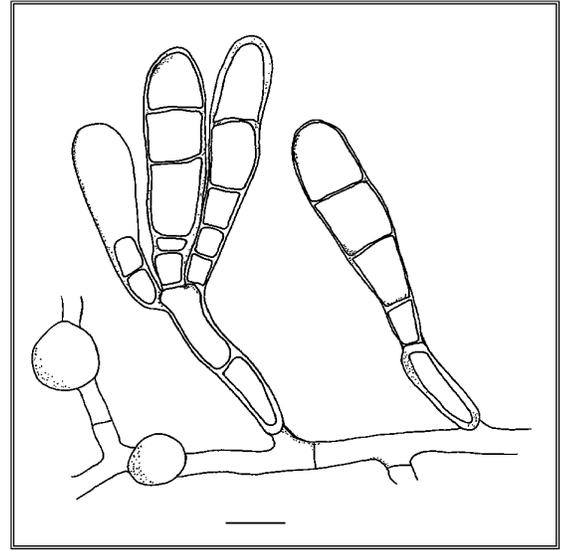
Colonie

- Texture : poudreuse à duveteuse
- Couleur : jaune moutarde, brun, vert olive
- Revers : brun pâle
- Croissance : lente

Macroconidies : en forme de massue, en groupes de 2-3 ou solitaires

Microconidies : absentes

Autre : BCP et Uréase +, chlamydospores

**MICROSPORUM AUDOUINII**

Colonie

- Texture : duveteuse
- Couleur : incolore à blanc gris
- Revers : rose pêche (sur PDA)
- Croissance : modérément rapide

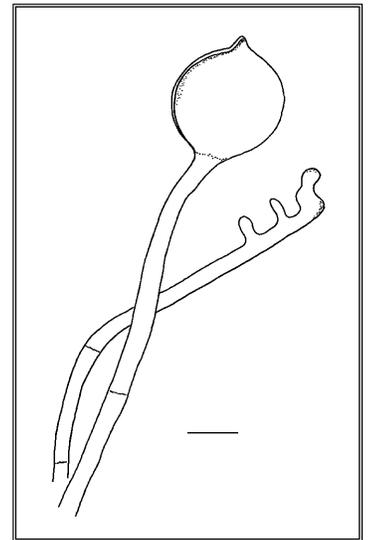
Macroconidies : rares

Microconidies : plus ou moins rares

Hyphes pectinés et en raquettes

Chlamydospores terminales ou intercalaires présentes
Faible croissance sur milieu au riz

Uréase et BCP variable.



MICROSPORUM CANIS

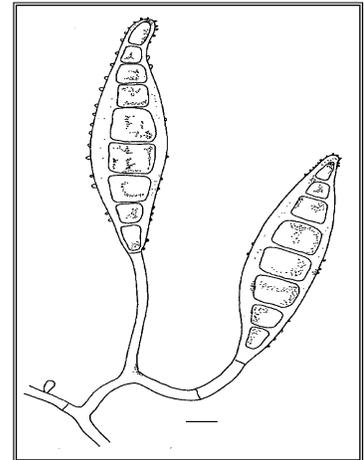
Colonie

- Texture : duveteuse
- Couleur : blanche à jaune
- Revers : jaune à jaune orangé
- Croissance : modérée à rapide

Macroconidies : en forme de fuseau avec extrémité recourbée, paroi échinulée et épaisse, solitaires

Microconidies : en forme de massue, peu nombreuses

Bonne croissance sur milieu au riz
Uréase+ et BCP-



MICROSPORUM GYPSEUM

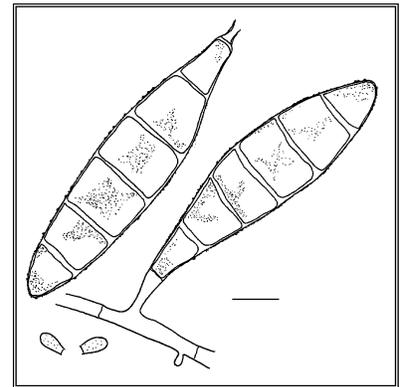
Colonie

- Texture : poudreuse
- Couleur : blanchâtre à cannelle
- Revers : brun pâle (chamois) à brun
- Croissance : rapide

Macroconidies : en forme de fuseaux symétriques, paroi lisse ou échinulée

Microconidies : en forme de massue, peu nombreuses

Uréase + et BCP-



MICROSPORUM PERSICOLOR

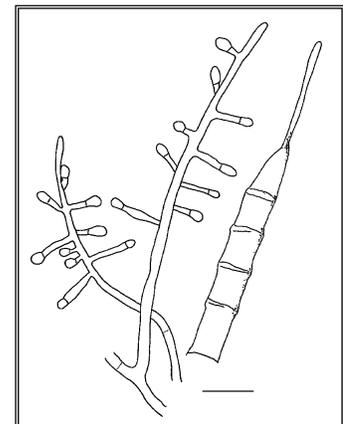
Colonie

- Texture : poudreuse
- Couleur : blanche, beige, jaune pâle, **rose pâle**
- Revers : jaune pâle, ocre, **rose**
- Croissance : rapide

Macroconidies : en forme de fuseaux ou en forme de cartouche, parfois absentes

Microconidies : rondes ou en forme de massue, souvent avec tiges (en allumettes)

Croissance plus rapide à 30 qu'à 37 °C.
Urée +, BCP-



COMPLEXE TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES

Colonie

- Texture : duveteuse à poudreuse
- Couleur : blanche
- Revers : jaune à brun
- Croissance : modérément rapide

Macroconidies : en forme de massue, souvent absentes

Microconidies : rondes, massuées, en grappes ou solitaires

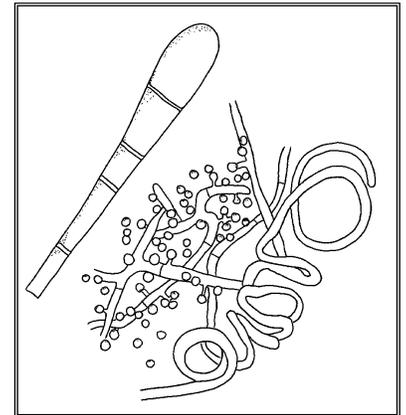
Uréase : positive

Perforation du cheveu : positive

BCP : alcalin (croissance rapide)

Culture sur PDA ou Cornmeal : absence de pigment rouge

T. interdigitale : duveteux, pas spirale ou de grappe, similaire à *T. rubrum* au microscope

**TRICHOPHYTON RUBRUM**

Colonie

- Texture : duveteuse
- Couleur : blanche, rose, jaune
- Revers : rouge foncé, brun, brun jaune, incolore
- Croissance : lente à modérément rapide

Macroconidies : en forme de cigare, souvent absentes

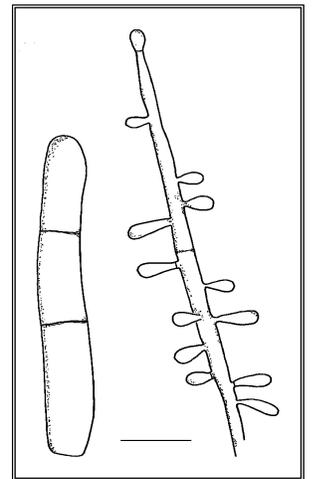
Microconidies : massuées, solitaires (de chaque côté l'hyphe)

Uréase : négative (parfois positive si très sporulée)

BCP : négatif

Perforation du cheveu : négative

Culture sur gélose pomme de terre glucose : pigment rouge

**TRICHOPHYTON TONSURANS**

Colonie

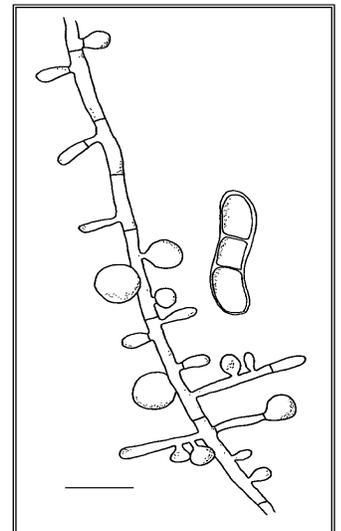
- Texture : duveteuse-poudreuse
- Couleur : crème, chamois, jaune
- Revers : brun à brun rouge
- Croissance : lente

Macroconidies : très rares (sinueuses)

Microconidies : formes variées (ballon, massue,..)

Besoins en vitamines : thiamine

Urée : positive



TRICHOPHYTON VERRUCOSUM

Colonie

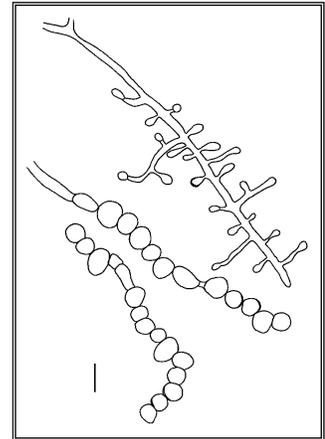
- Texture : glabre
- Couleur : blanche
- Revers : incolore
- Croissance : très lente

- Macroconidies : très rares
Microconidies : plus ou moins rares

Chlamydospores en chaîne

Besoins en vitamines : thiamine + inositol (84 %)
thiamine seulement (16 %)

Croissance plus rapide à 37 qu'à 30 °C



TRICHOPHYTON SOUDANENSE («T. rubrum african variant»)

Colonie

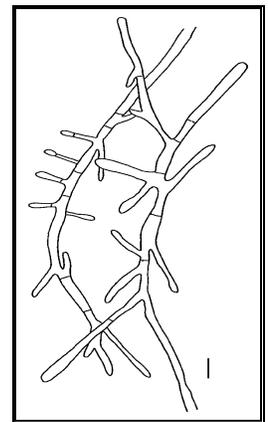
- Texture : glabre ou feutrée avec une frange filamenteuse au pourtour
- Couleur : jaune pâle à rouille
- Croissance : lente à modérément rapide

- Macroconidies : normalement absentes
Microconidies : plus ou moins rares. piriformes

Hyphes en « buisson » ou en « fil de fer barbelé »

Urée : négative ou faible.

BCP : positif



TRICHOPHYTON VIOLACEUM

Colonie

- Texture : glabre
- Couleur : rouge violet à pourpre
- Revers : rouge
- Croissance : très lente

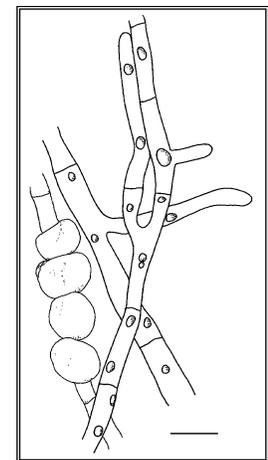
- Macroconidies : normalement absentes
Microconidies : normalement absentes

Besoins en vitamines : thiamine

Hyphes irréguliers contenant des granules

Uréase : positive

BCP : positif (hydrolyse)



PARTIE 4

CHAMPIGNONS DIMORPHES (GR3)

1. DÉFINITION ET SÉCURITÉ EN LABORATOIRE

Champignons qui possèdent deux formes. En mycologie médicale, on utilise communément le terme dimorphe pour décrire 6 champignons qui poussent sous forme de moisissure à la température de la pièce et sous forme de levure ou de sphérule sur milieux riches à 37 °C ou dans les tissus.

<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Sporothrix schenckii</i> (GR2)
<i>Coccidioides posadasii</i>	<i>Talaromyces (Penicillium) marneffe</i> (GR2)
<i>Histoplasma capsulatum</i>	

Sécurité en laboratoire

Blastomyces dermatitidis, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* sont des champignons pathogènes du groupe de risque 3. Les cultures sporulées de ces organismes ne devraient être manipulées que dans une enceinte de sécurité biologique de catégorie I ou II, en laboratoire de confinement niveau 3. L'inhalation de conidies de ces champignons est à l'origine de la plupart des mycoses graves acquises en laboratoire biomédical (voir aussi Partie 1 - Sécurité en laboratoire)

À noter : sans être un dimorphe, *Cladophialophora bantiana* (travail en NC3) et la levure *Cryptococcus gattii* (nouveau – travail en NC2) sont aussi des microorganismes pathogène du groupe de risque 3.

2. ISOLEMENT

- Milieux d'isolement*: voir **Annexes 1 et 2**
- Incubation : 30 ± 2 °C, 4 semaines ou plus

*Il arrive parfois que certains spécimens cliniques soient fortement contaminés par des bactéries ou par des levures résistantes au cycloheximide. Le «Yeast-extract phosphate agar» est un milieu utilisé pour l'isolement d'*Histoplasma capsulatum* dans ces conditions (*Beneke E.S., A. L. Rogers. 1996. Medical mycology and human mycoses. Star Publishing Company, Belmont CA*). Les laboratoires œuvrant dans des régions fortement endémiques pour certains champignons dimorphes peuvent utiliser, de routine, ce type de milieu spécialisé. Ceci ne semble pas indiqué pour le Québec.

3. MILIEUX UTILISÉS POUR LA CONVERSION DE LA PHASE FILAMENTEUSE À LA PHASE LEVURE

- Gélose BHI ou gélose BHI + sang
- Incubation : 37 °C, 1-5 semaines

Note: cette méthode est de plus en plus délaissée et remplacée par des techniques d'identification moléculaires. Ces dernières sont considérées plus rapides et plus sécuritaires.

4. DESCRIPTIONS

SPOROTRICHOSE

Infection chronique de la peau et des tissus sous-cutanés à extension lymphatique et caractérisée par des lésions nodulaires évoluant vers l'ulcération.

Formes extra cutanées rares : articulations, os, muscles, système nerveux central et système génito-urinaire. Atteinte pulmonaire résultant de l'inhalation de conidies.

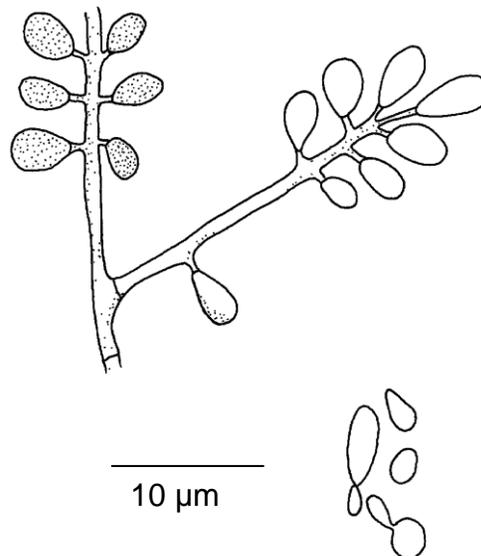
ÉPIDÉMIOLOGIE

- Agent étiologique : *Sporothrix schenckii* (GR2)
- Réservoir : végétation en décomposition, sol
- Porte d'entrée : implantation traumatique du champignon dans la peau, Inhalation (rarement)
- Contagiosité : aucune
- Zone d'endémie : surtout Mexique, Amérique centrale, Colombie et Brésil

SPOROTHRIX SCHENCKII

PHASE SAPROPHYTIQUE (25-30 °C)

- Hyphes septés
- Conidiophores délicats avec conidies denticulées fixées le long des hyphes ou regroupées en rosette
- Colonies verruqueuses noires, brunes, grises ou blanches, glabres ou laineuses



PHASE PARASITAIRE (37 °C)

- Levure bourgeonnante ovale ou fusiforme, 5-8 µm

HISTOPLASMOSE

Infection intracellulaire du système réticuloendothélial, suite à l'inhalation des conidies du champignon.

Environ 95 % des cas sont asymptomatiques ou bénins.

Environ 5 % évoluent en infection pulmonaire chronique et progressive, cutanée chronique, systémique ou systémique fulminante fatale.

Les manifestations de cette maladie sont similaires à celles de la tuberculose.

ÉPIDÉMIOLOGIE

Agent étiologique : *Histoplasma capsulatum*

Réservoir : sol des régions d'endémie (riche en azote)

Porte d'entrée : voies respiratoires

Contagiosité : aucune

Zones d'endémie : surtout en Amérique du Nord, vallées de l'Ohio et du Mississippi; aussi rencontré dans la vallée du St-Laurent.

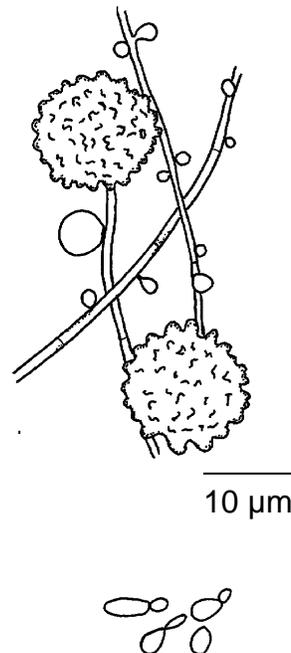
HISTOPLASMA CAPSULATUM

PHASE SAPROPHYTIQUE (25-30 °C)

- Hyphes septés
- Microconidies
- Macroconidies tuberculées
- Colonies blanches ou beiges, laineuses

PHASE PARASITAIRE (37 °C)

- Petites levures, 1-5 µm
- Bourgeons uniques



BLASTOMYCOSE

Infection chronique granulomateuse et suppurative avec stade primaire pulmonaire (souvent nodule pulmonaire unique – découverte fortuite) se disséminant souvent par la suite à d'autres sites, principalement la peau et les os.

ÉPIDÉMIOLOGIE

Agent étiologique : *Blastomyces dermatitidis*

Réservoir : sol humide - contenu élevé en matière organique - pH acide

Porte d'entrée : voies respiratoires

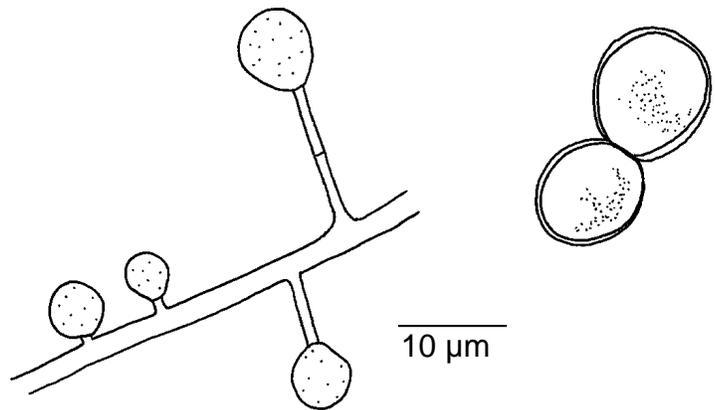
Contagiosité : aucune

Zones d'endémie : surtout dans le sud-est des États-Unis et dans la vallée de l'Ohio et du Mississippi; aussi rencontré au Manitoba, en Ontario et au Québec.

BLASTOMYCES DERMATITIDIS

PHASE SAPROPHYTIQUE (25-30 °C)

- Hyphes septés
- Conidies piriformes ou rondes
- Colonies blanches ou beiges, laineuses ou glabres



PHASE PARASITAIRE (37 °C)

- Levure à paroi réfringente et à col de bourgeonnement large, 8-20 μm

COCCIDIOÏDOMYCOSE

Initialement une infection respiratoire résultant de l'inhalation d'arthroconidies.

Résolution rapide dans environ 40 % des cas.

Développement d'une immunité forte et spécifique à la réinfection.

Progression de la maladie

- infection pulmonaire chronique
- infection systémique impliquant méninges, os, articulations, tissus cutanés et sous-cutanés

ÉPIDÉMIOLOGIE

Agent étiologique : *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii*

Réservoir : sol

Porte d'entrée : voies respiratoires

Contagiosité : aucune

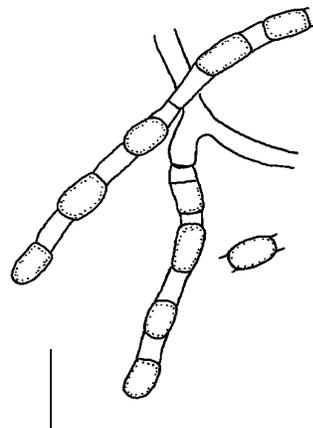
Zones d'endémie : régions arides

- *Coccidioides immitis* - Californie
- *Coccidioides posadasii* – Sud-Ouest des E.-U. (Arizona, Texas), Amérique Centrale et Amérique du Sud

COCCIDIOIDES IMMITIS **COCCIDIOIDES POSADASII**

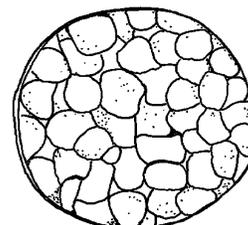
PHASE SAPROPHYTIQUE (25-30 °C)

- Hyphes septés
- Arthroconidies alternées avec cellules disjonctives
- Colonies beiges ou blanches, laineuses



PHASE PARASITAIRE (37-40 °C)

- Sphérule 10-80 µm avec endospores



Note : les sphérules peuvent être obtenues « *in vitro* » à 40 °C sur milieu Converse. Toutefois, à 37 °C sur milieux usuels, on obtiendra des arthroconidies.

PARACOCCIDIOÏDOMYCOSE

Infection chronique granulomateuse.

Infection primaire pulmonaire souvent inapparente qui se dissémine ensuite pour former des granulomes ulcéreux dans la bouche, la cavité nasale et occasionnellement la muqueuse gastro-intestinale.

ÉPIDÉMIOLOGIE

Agent étiologique	:	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
Réservoir	:	sol (?), chats
Porte d'entrée	:	voies respiratoires
Contagiosité	:	aucune
Zones d'endémie	:	Amérique du Sud

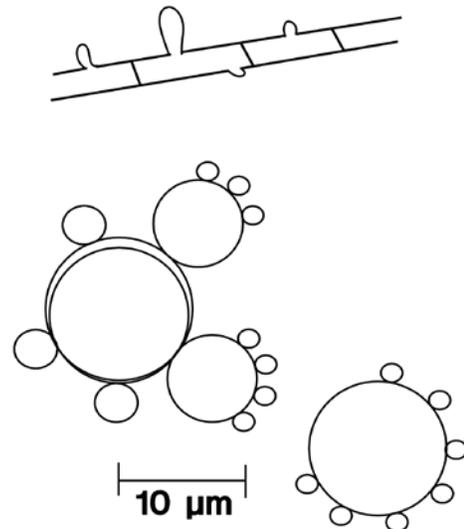
PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS

PHASE SAPROPHYTIQUE (25 °C)

- Hyphes septés
- Conidies piriformes et arthroconidies très rares
- Colonies blanches, beiges ou roses, glabres ou laineuses

PHASE PARASITAIRE (37 °C)

- Levures à bourgeonnement multiple, 2-30 µm



INFECTION À TALAROMYCES MARNEFFEI (PÉNICILLIOSE)

Infection progressive systémique résultant de l'infiltration et de l'inflammation du système réticulo-endothélial par la forme levure du champignon.

Poumons, peau, os, articulations, foie, yeux, à peu près tous les organes peuvent être atteints.

Note : RECLASSIFIÉ COMME GR2 en 2017

ÉPIDÉMIOLOGIE

Agent étiologique	:	<i>Talaromyces marneffi</i> (<i>Penicillium marneffi</i>) (GR2)
Réservoir	:	sol, rats de bambou
Porte d'entrée	:	voies respiratoires
Contagiosité	:	aucune
Zones d'endémie	:	Sud-est asiatique

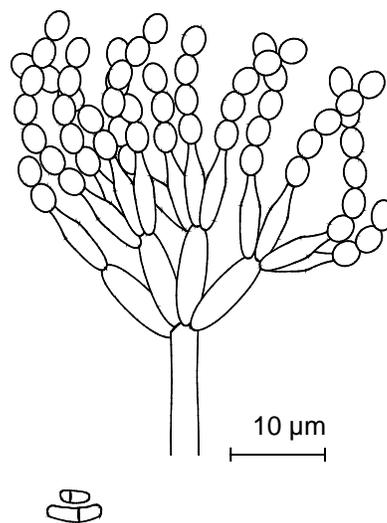
TALAROMYCES MARNEFFEI (PENICILLIUM)

PHASE SAPROPHYTIQUE (25-30 °C)

- Hyphes septés
- Conidies ellipsoïdes en chaînes, produites par des phialides regroupées en pinceaux
- Colonies blanches en périphérie avec centre bleu vert; pigment diffusible rouge *

PHASE PARASITAIRE (37 °C)

- Arthroconidies (levures se multipliant par fission)
3-5 µm
- Colonie non pigmentée.



* D'autres espèces de *Penicillium* peuvent aussi produire un pigment diffusible rouge à 25-30 °C. Toutefois, celles-ci ne sont pas dimorphes et conservent habituellement leur pigment à 37 °C.

5. AUTRES TECHNIQUES D'IDENTIFICATION

5.1 IMMUNO-IDENTIFICATION : Exoantigènes

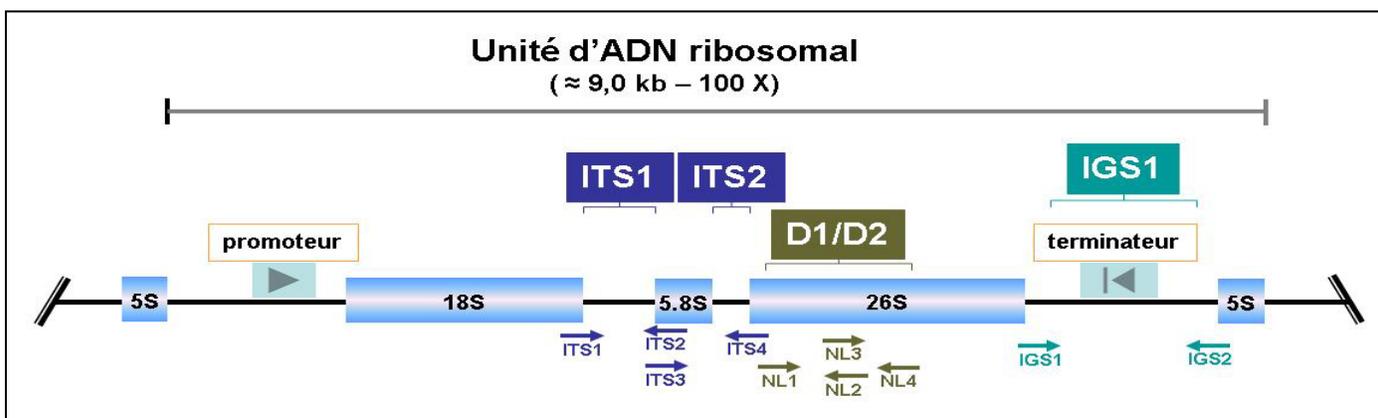
- a) Trousses disponibles pour l'identification de :
 - *Blastomyces dermatitidis*
 - *Coccidioides* sp.
 - *Histoplasma capsulatum*
- b) Technique
 - Extraction des antigènes solubles à partir d'une culture mature
 - Concentration de l'antigène
 - Immunodiffusion
 - Bande(s) d'identité => identification (spécificité 100 %)

5.2 SONDES MOLÉCULAIRES (GenProbe)

- a) Trousses disponibles pour l'identification de :
 - *Blastomyces dermatitidis*
 - *Coccidioides* sp.
 - *Histoplasma capsulatum*
- b) Principe
 - Extraction de l'ARN ribosomal
 - Dénaturation de l'ARN
 - Hybridation avec sonde chimioluminescente
 - Lecture avec luminomètre

5.3 SÉQUENÇAGE DE GÈNES

- a) Méthode maison
- b) Principe
 - Extraction de l'ADN ribosomal
 - Dénaturation de l'ADN
 - Amplification d'une région spécifique par PCR (ITS, IGS, D1/D2, β tubuline)
 - Séquençage
 - Comparaison des séquences obtenues avec des séquences de référence.



ITS : internal transcribed spacer

IGS : intergenic spacer

6. MYCOSES PROFONDES : CARACTÉRISTIQUES

	CHAMPIGNONS PATHOGÈNES	CHAMPIGNONS OPPORTUNISTES
MALADIE	Histoplasmosse Blastomycose Paracoccidioïdomycose Coccidioïdomycose	Candidose Aspergillose Cryptococcose Mucormycose
HÔTE	Normal ou affaibli	Affaibli
PORTE D'ENTRÉE	Poumon	Variable
ORIGINE	Exogène	Endogène, exogène
PRONOSTIC	Guérison spontanée fréquente chez l'hôte normal	Dépend de la maladie sous-jacente
IMMUNITÉ	Oui	Non
DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE	Restreinte à des zones d'endémie	Généralement mondiale

7. SÉRODIAGNOSTIC DES MYCOSES PROFONDES

(réactifs disponibles commercialement)

INFECTION	RECHERCHE D'ANTICORPS	RECHERCHE D'ANTIGÈNES
Blastomycose	+/-	+ ¹
Coccidioïdomycose	+	+ ¹
Histoplasmosse	+/-	+ ¹
Paracoccidioïdomycose	+	-
Aspergillose	-	+ ^{2,3}
Candidose	-	- ³
Cryptococcose	-	+ ⁴

¹ Analyse disponible chez « MiraVista Diagnostics » <http://www.miravistalabs.com> ou trousse vendue commercialement chez « Immy » <http://www.immy.com> (non approuvée par Santé Canada)

² Détection galactomannanes dans le sérum (EIA) - Platelia Aspergillus, Bio-Rad.

³ Détection de (1->3)-β-D-glucanes dans le sérum
Fungitell - GlucateLL :- Associates of Cape Cod (Falmouth, USA) analyse offerte chez Beacon Diagnostic (<http://www.beacondiagnostics.com/>) et Miravista (<http://www.miravistalabs.com>)

⁴ Détection par crypto-latex ou par membrane à flot latéral (Immy).

Annexe 1

MILIEUX DE CULTURE POUR L'ISOLEMENT PRIMAIRE DES CHAMPIGNONS

Type de spécimen	Milieux suggérés	Commentaires
Spécimens dermatologiques (utiliser 2 milieux)	<p>A. gélose Inhibitory Mold Agar (IMA) ou gélose Sabouraud chloramphénicol</p> <p>B. gélose Mycosel ou Mycobiotic</p>	<p>Milieux sans cycloheximide mais avec antibactériens, permettant la croissance des dermatophytes et de champignons saprophytes parfois responsables de dermatomycose.</p> <p>Milieu avec cycloheximide inhibant la croissance de champignons saprophytes habituellement non pathogènes tout en permettant la croissance des dermatophytes.</p>
Autres spécimens : <ul style="list-style-type: none"> • non stériles utiliser 3 milieux, un de chaque catégorie A, B et C • normalement stériles utiliser 2 milieux, un de chaque catégorie A et C 	<p>A. gélose BHI avec chloramphénicol, avec ou sans sang</p> <p>B. gélose mycosel</p> <p>C. gélose IMA ou gélose Sabouraud + chloramphénicol</p>	<p>Milieu riche, sans cycloheximide, permettant la croissance de champignons fastidieux et inhibant la croissance bactérienne.</p> <p>Milieu avec cycloheximide inhibant la croissance de certains champignons saprophytes habituellement non pathogènes et permettant la croissance de nombreux pathogènes.</p> <p>Milieux sans cycloheximide permettant la croissance de la plupart des champignons d'importance médicale.</p>

Notes :

- 1) Sauf exception, toujours utiliser des **milieux avec antibactériens**.
- 2) Certains spécimens à petit volume, tel que les biopsies de cornée, sont ensemencés seulement sur un milieu riche et non sélectif permettant la croissance de champignons et de bactéries.
- 3) Lorsque le volume de spécimen est trop faible pour ensemencer tous les milieux d'isolement, inoculer les milieux de la liste ci-dessus par ordre successif, jusqu'à épuisement du spécimen.
- 4) La **température d'incubation** recommandée est de **30 °C** pour tous les spécimens.
- 5) La **période d'incubation** est habituellement de 4 semaines pour l'isolement de dermatophytes et de dimorphes et de 3 semaines pour les autres agents de mycoses. Il existe des exceptions, selon la méthode utilisée, le type de spécimen ou le champignon recherché.

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Principles and Procedures for Detection of Fungi in Clinical Specimens- Direct Examination and Culture; Approved Guideline. M54-A CLSI. Wayne, PA.2. Labarca, J. A. *et al.* 1998. Critical evaluation of 4 week incubation for fungal cultures: is the fourth week useful? J. Clin. Microbiol. **36** :3683-3685.
2. Maxwell, G. M. *et al.* 1997. Duration of fungal culture incubation in an area endemic for *Histoplasma capsulatum*. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. **28** :41-43.

Annexe 2

LISTE DE MILIEUX UTILES POUR L'IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS

<u>MILIEUX DE BASE</u>	Utilisation
➤ Gélose Sabouraud glucose modifiée	Milieu de repiquage et d'identification.
➤ Gélose pomme de terre glucose	Milieu de repiquage et d'identification, favorise la sporulation et la production de pigments (ex. <i>T. rubrum</i>)
➤ Gélose cerveau-cœur (BHI) Gélose cerveau-cœur + 10 % sang de mouton	Conversion des champignons dimorphes (<i>Histoplasma</i> , <i>Blastomyces</i> , <i>Sporothrix</i>)
➤ Gélose urée de Christensen	Identification des levures et des dermatophytes
➤ Sérum de veau, cheval ou lapin	Identification de <i>C. albicans/dubliniensis</i> tube germinatif
➤ Gélose farine de maïs + Tween 80	Identification des levures - examen morphologique
➤ Assimilation de sources de carbone (API 32C) ou autre système d'identification	Identification des levures
<u>AUTRES MILIEUX</u>	
➤ Extrait de levure 10 %	Identification des dermatophytes (perforation du cheveu)
➤ Géloses Trichophyton #1 à 4	Identification des dermatophytes
➤ Gélose nitrate	Identification des levures et de certains champignons dématiés

Annexe 3 : Espèces usuelles en laboratoire clinique au Québec

Zygomycètes / Mucorales

1. *Rhizopus* (rhizoïdes, non embranchés, pas d'apophyse)
2. *Lichtheimia* [*Absidia*] (pas de rhizoïde, embranché, avec apophyse)
3. *Mucor* (pas de rhizoïde, embranché, pas d'apophyse, pas de croissance 45° C)
4. *Rhizomucor* (rhizoïde primitif au mieux, embranché, pas d'apophyse, columelle visible)
5. *Syncephalastrum* (mérosporangie : colonne de sporangie radiale à l'extérieur de la vésicule)

Champignons produisant structures sexuelles ou similaires (pyncnides/cléistothèces)

1. *Aspergillus glaucus* (têtes aspergillaires unisériées, cleistothèces jaunes, croissance restreinte)
2. *Aspergillus nidulans* (têtes aspergillaires, cleistothèces avec ascospores rouges, cellules de Hulle)
3. *Chaetomium* (périthèces avec soies brunes)
4. *Phoma* (pyncnides avec ostioles, culture couleur verdâtre-brunâtre avec trace de rose)
5. *Pseudallescheria* (cleistothèces bruns/verdâtres, conidies solitaires en amandes sur long conidiophore)

Aspergillus/Penicillium (phialides effilées)

1. *Penicillium* (phialides en pinceau, conidies en chaîne, colonies vertes)
2. *Purpureocillium lilacinum* [*Paecilomyces lilacinus*] (phialides effilée, couleur lilas, vieux rose)
3. *Paecilomyces variotii* (phialides effilées, conidies ovoïdes, chlamydospore terminale, couleur chamois,)
4. *Aspergillus fumigatus* (bleu vert, conidies en colonnes, croissance à 48-50C)
5. *Aspergillus nidulans* (cleistothèces avec ascospores rouges, culture vert forêt, cellules de Hulle rondes)
6. *Aspergillus flavus* (vert lime = jaune vert, têtes hémisphériques, conidiophore rugueux)
7. *Aspergillus niger* (colonie noire, têtes radiales/rondes, bisériées, conidiophore lisse)
8. *Aspergillus versicolor* (couleur variée, croissance plus restreinte (tête pénicillaires réduite)
9. *Aspergillus calidoustus* (gris souris, pigment diffusible jaune, cellules de Hulle en arachide)
10. *Aspergillus glaucus* (têtes aspergillaires unisériées, cleistothèces jaunes, croissance restreinte)
11. *Aspergillus terreus* (têtes bisériées, colonie brun pâle, conidies accessoires [aleurioconidies])

Autres champignons hyalins

1. *Scopulariopsis brevicaulis* (conidies en chaîne, base tronquées, rugueuses, culture couleur chamois)
2. *Trichoderma* (croissance en agrégat verdâtre, phialides en croix)
3. *Fusarium* (colonies laineuses, macronidies en bananes; colonie mauve, rose, rouge)
4. *Acremonium* (croissance modérée, colonie blanchâtre/rosée, conidies en amas, conidiophore long septé à la base)
5. *Beauveria* (colonie blanche, croissance lente, conidie sur denticule renflé en rosettes en zigzag)
6. *Scedosporium* (conidies solitaires en amandes/conidiophore, culture gris souris, anamorphe de *Pseudallescheria*)

Champignons bruns dématiés multicellulaires

1. *Alternaria* (macroconidies multicellulaires en forme de bec, en chaîne, muriformes)
2. *Bipolaris* (macroconidies paroi épaisse (diptosepté), 3-6 cellules, germination aux 2 extrémités)
3. *Curvularia* (souvent en rosette, pas diptoseptée [septé bord à bord], avec courbure 2^{ème} cellule, 3-5 chambrettes)
4. *Pithomyces* (multicellulaire, muriforme, frange annulaire visible)
5. *Epicoccum* (couleurs variées, pigment diffusible, conidies muriformes plus ou moins rondes)
6. *Ulocladium* (similaire à *Pithomyces* mais pas de frange)

Champignons bruns dématiés ramifiés

1. *Cladosporium* (fragile, cellules bouclier, cicatrices visibles sur conidies, souvent pas de croissance 37°C)
2. *Cladophialophora* (pas de cicatrices ou de cellules bouclier, conidies ronde/ovoïdes, 37, 40, 42°C+, Myc+, GR3 neurotrophique pour *C. bantiana*)
3. *Fonsecaea pedrosoi* (rare; phialides allongées, de plus en plus courtes)
4. *Stachybotrys* (contaminant, 3-5 phialides regroupées sur conidiophore, conidies ellipsoïdes noires en amas)

Champignon dématiés autres

5. *Arthrimum* (culture laineuse blanche, conidies en rosette avec fente équatoriale, conidiophore court renflé, Myc+)
6. *Nigrospora* (culture laineuse blanche, conidies noires, conidiophore court renflé)
7. *Phialophora* (culture brune ou grisâtre à noire, conidies en amas, collerettes terminales bien visibles)

Levures noires

1. *Exophiala* (hyphes toruloïdes, conidies en amas, annélides pointues, KNO₃ +)
2. *Exophiala dermatitidis* (hyphes toruloïdes, conidies en amas, annélides pointues, KNO₃-, 40 °C +)
3. *Hortaea wernickii* RARE (hyphes plus larges, cellules annélides biseptées avec cicatrices)
4. *Aureobasidium* (Nitrate et Urée +, chlamydo-spores brunes en chaîne, blasto synchrones sur FM)
5. *Ustilago* (Nitrate et Urée +, cellules fusoides allongées)

Dimorphes (myc+, 37°C+, blanchâtre) et GR3

1. *Blastomyces* (conidiophore angle droit, conidies solitaires, levure col de bourgeonnement large 8-15 microns)
2. *Histoplasma capsulatum* (microconidies pyriforme, macroconidies tuberculées, croissance lente)
3. *Coccidioides* (voyage Arizona/Californie, pousse rapide, arthroconidies alternées en barils)
4. *Talaromyces (Penicillium) marneffeii* (pigment diffusible rouge qui disparaît à 37 °C, phialides en éventail)
5. *Cladophialophora bantiana* (dématié, peu ramifié, ellipsoïde, longues chaînes. 40° C +)
6. *Sporothrix schenckii* (conidies dématiées ovoïdes triangulaires, en rosette sur denticule fin, colonie beige à noire)
7. *Sepedonium* (imitateur d'*Histoplasma*) : pas de microconidies, conidies échinulées ou verruqueuses croissance rapide, 37 °C -)
8. *Malbranchea* (imitateur de *Coccidioides*, voir champignons produisant arthroconidies)

Dermatophytes (myc+, 37°C+)

1. *Trichophyton rubrum* (rouge sur PDA, urée -, BCP -)
2. *Trichophyton mentagrophytes* (blanchâtre sur PDA, urée +, BCP alcalin, conidies en grappe en spirale)
3. *Trichophyton verrucosum* (blanche, croissance très lente (37°C >30°C), chlamydo. en chaîne, urée -)
4. *Trichophyton violaceum* (rouge, croissance restreinte, hyphes irréguliers avec granules, urée +)
5. *Trichophyton soudanense* (frange filamenteuse, hyphes réflexifs, urée-, BCP alcalin)
6. *Trichophyton tonsurans* (beige à jaunâtre-rougeâtre, hyphes irréguliers conidies de formes variées)
7. *Epidermophyton floccosum* (Khaki, macroconidies en gourdins, groupe de 2-3, urée+, BCP alcalin)
8. *Microsporum canis* (jaune vif sur PDA, macroconidies fusoides à paroi épaisse, extrémité recourbée)
9. *Microsporum audouinii* (rose saumon sur PDA, hyphes pectinées, chlamydo-spores terminales typiques)
10. *Microsporum persicolor* (macroconidies fusiformes ou en cartouche, urée+, microconidies nombreuses/sur tige)
11. *Microsporum gypseum* (beige en surface, macroconidies fusiformes symétriques/ 6-9 cellules, urée +)
12. *Chrysosporium* (imitateur, conidies à base tronquée, en croix, Myc+, frange, conidies intercalaires)
13. *Geomyces* (imitateur, similaire à *Chrysosporium* mais plus embranché/arbustif, culture plissée, 37°C-)

Champignons produisant arthroconidies ou similaires

1. *Arthrographis* (conidiophore embranché, arthro fines disposées en zigzag, *A. kalrae* 45 °C+ et Myc+)
2. *Chrysonilia* (culture envahissante = CONTAMINATION DES ÉTUVES, couleur rosée à pêche, cotonneuse, arthroconidies terminales se fragmentant sur conidiophore embranché; Myc+, 37° C+ ;)
3. *Geotrichum* (levuriforme, Myc+, Urée -)
4. *Aureobasidium* (voir ci-dessus, Levures noires)
5. *Malbranchea* (Myc+, 37°C -/+, croissance généralement lente, arthroconidies alternées, paroi parallèle)
6. *Neoscytalidium* (Myc-, laineuse à verruqueuse, arthro en chaînes désarticulées, certaines bicellulaires)
7. *Onychocola canadensis* (Myc+, croissance très lente, couleur beige, arthroconidies ovoïdes résistantes à la désarticulation, embranchements en Y)

Glossaire

ALEURIOCONIDIE (n.f.). Conidie libérée suite à la lyse d'une cellule de support; on la reconnaît habituellement par sa base tronquée, dotée d'une frange annulaire.

ALTERNÉ (adj.). Se dit d'arthroconidies alternant avec des cellules végétatives (cellules disjonctives); ces dernières dégénèrent et se brisent pour libérer les arthroconidies.

ANAMORPHE (n.m. et adj.). Forme reproductive asexuée d'un champignon.

ANNELLIDE (n.f.). Cellule conidiogène plus ou moins différenciée des hyphes et produisant des conidies selon un mode basipétal. L'extrémité de l'annellide se développe selon un mode percurrent, c'est-à-dire qu'il s'allonge légèrement avec la production de chaque nouvelle conidie et porte la marque d'anneaux qui sont autant de cicatrices laissées par les conidies libérées. Ces anneaux ne sont pas toujours visibles au microscope optique.

ANNELLOCONIDIE (n.f.). Conidie formée par un annellide.

ANTHROPOPHILE (adj.). Se dit d'un champignon (dermatophyte) qui se développe préférentiellement ou exclusivement chez l'humain plutôt que chez l'animal ou dans le sol.

APEX (n.m.). Extrémité.

APOPHYSE (n.f.). Renflement en forme d'entonnoir à l'extrémité d'un sporangiophore, sous le sporange.

ARTHROCONIDIE (n.f.). Conidie issue de la désarticulation des cellules d'un hyphe et libérée soit par un processus de fission (arthroconidies simples) soit par la lyse de cellules disjonctives (arthroconidies alternées).

ASCOCARPE (n.m.). Structure de fructification à l'intérieur de laquelle sont formés les asques chez certains champignons de la division Ascomycota. Les cléistothèces et les périthèces sont des types d'ascocarpes.

ASCOSPORE (n.f.). Spore sexuée formée à l'intérieur d'un asque chez les champignons de la division Ascomycota. Il y a habituellement 4 ou 8 ascospores par asque - parfois 2 ou des multiples de 4.

ASQUE (n.m.). Cellule en forme de sac (rond, massué, cylindrique) à l'intérieur de laquelle sont produites des ascospores.

BISÉRIÉ (adj.). Chez les *Aspergillus*, présence de phialides supportées par des métules fixées en surface des vésicules.

BLASTIQUE (adj.). Se dit d'un mode de formation d'une conidie basé fondamentalement sur un processus de bourgeonnement. La cloison qui délimite la blastoconidie de sa cellule mère apparaît uniquement à la fin du processus de formation. Ainsi, une partie seulement de la cellule mère se transforme en conidie. (voir: blastoconidie, annelloconidie, phialoconidie, poroconidie, thalique).

BLASTOCONIDIE (n.f.). Conidie produite par bourgeonnement; chez les levures, un bourgeon.

BLASTOMYCOSE (n.f.). Maladie causée par *Blastomyces dermatitidis*. L'infection est habituellement acquise par inhalation des conidies du champignon et se développe initialement au niveau des poumons. Parfois elle se dissémine, principalement au niveau de la peau, des os ou du cerveau.

BOUCLE (n.f.). Excroissance située sur le côté d'une hyphe, au

point de rencontre de deux cellules et faisant le pont entre celles-ci. La présence de ce type de structure dans les hyphes végétatifs d'un champignon indique son appartenance à la division Basidiomycota. [Angl. Clamp connexion].

CELLULE EN BOUCLIER. Conidie en forme de V ou de bouclier, principalement retrouvée chez les champignons du genre *Cladosporium*, aux points où les chaînes de conidies se ramifient pour former deux chaînes. [Angl. Shield shaped cell].

CELLULE EN NOISETTE. Cellule réfringente, à paroi épaisse et de forme variable observée chez certaines espèces d'*Aspergillus*. [Angl. hülle cell].

CHANDELIER FAVIQUE. Hyphe se terminant par des embranchements qui ressemblent à un chandelier ou des bois de cerf. Typiquement retrouvé chez *Trichophyton schoenleinii*.

CHLAMYDOSPORE (n.f.). Cellule de résistance, arrondie, renflée, à paroi épaisse, intercalée dans une hyphe ou terminale. Techniquement, il ne s'agit ni d'une spore, ni d'une conidie, mais plutôt d'une structure de repos ou de résistance attachée en permanence à un hyphe.

CHROMOBLASTOMYCOSE (n.f.). Infection chronique des tissus sous-cutanés causée par un petit groupe de champignons dématiés dont *Fonsecaea pedrosoi*, *Phialophora verrucosa* et *Cladosporium carrionii*. L'infection, caractérisée par des lésions cutanées verruqueuses et la formation de cellules fumagoïdes dans les tissus, est souvent limitée à un seul membre. Elle survient après inoculation du champignon dans la peau, à la suite d'un traumatisme cutané.

CLÉISTOTHÈCE (n.m.). Organe de fructification de certains champignons de la division Ascomycota. Il s'agit d'une structure plus ou moins ronde à l'intérieur de laquelle sont produits des asques. Contrairement au périthèce, le cléistothèce ne possède pas d'ouverture et doit se briser pour libérer ses ascospores.

COCCIDIOÏDOMYCOSE (n.f.). Maladie causée par *Coccidioides immitis/posadasii*. L'infection est habituellement acquise par inhalation des arthroconidies du champignon. Initialement pulmonaire, elle se résorbe souvent d'elle-même, ou parfois se dissémine dans d'autres parties du corps, dont la peau, les os, les articulations, le foie et les systèmes nerveux central et génito-urinaire.

COENOCYTIQUE (adj.). Non ou peu septé; souvent utilisé pour décrire les hyphes des Mucorales, ou d'autres structures similaires où le cytoplasme d'un organisme n'est pas confiné dans des cellules individuelles.

COLLERETTE (n.f.). Vestige de paroi cellulaire présent à l'extrémité d'une phialide. La collerette ressemble souvent à un entonnoir ou à un tube, mais n'est pas toujours visible au microscope optique.

COLUMELLE (n.f.). Extrémité renflée du sporangiophore, faisant saillie à l'intérieur du sporange.

CONIDIE (n.f.). Élément fongique uni ou pluricellulaire qui, à maturité, se détache du mycélium pour ensuite se disséminer; il s'agit d'une structure de reproduction asexuée.

CONIDIOGÈNE (adj.). Se dit d'une cellule spécialisée produisant des conidies. Par exemple, les phialides et annellides sont des cellules conidiogènes.

CONIDIOPHORE (n.m.). Hyphe spécialisé sur laquelle se développent les conidies; le terme peut s'appliquer à une cellule conidiogène ou à une structure spécialisée qui supporte une ou

des cellules conidiogènes.

CORÉMIE (n.f.). Faisceau de conidiophores cimentés les uns aux autres et produisant des conidies à l'apex. [Angl. coremium, synnema].

CYCLOHEXIMIDE (n.m.). Antifongique à large spectre produit par *Streptomyces griseus*, principalement utilisé en laboratoire biomédical comme agent sélectif pour l'isolement des dermatophytes (cf. gélose Mycosel). Aussi connu sous le nom commercial, Actidione.

DÉMATIÉ (adj.). Se dit d'un champignon produisant un pigment brun à noir (mélanine) dans la paroi cellulaire de ses hyphes ou de ses conidies. Parfois les colonies sont pâles en début de croissance, devenant de plus en plus foncées avec l'âge. Le terme « dématié » est dérivé du nom donné à la famille-anamorphe Dematiaceae, un taxon artificiel créé pour englober tous les champignons de couleur sombre produisant des conidies en surface de filaments et non pas à l'intérieur de pycnides. Ainsi, les champignons qui se reproduisent asexuellement par des pycnides seulement (ex. *Phoma*), ne sont jamais qualifiés de « dématiés », même lorsqu'ils sont bruns. Il en va de même pour les champignons qui se reproduisent par un mode sexué seulement (ex. *Chaetomium*).

DERMATOMYCOSE (n.f.). Infection de la peau, des cheveux ou des ongles causée par un champignon.

DERMATOPHYTE (n.m.). Champignon appartenant aux genres *Epidermophyton*, *Microsporum* ou *Trichophyton* et qui infecte la peau ou les phanères (cheveux, poils, plumes, ongles, griffes) d'organismes vivants.

DERMATOPHYTIE, DERMATOPHYTOSE (n.f.). Infection de la peau, des cheveux ou des ongles causée par un dermatophyte.

DIMORPHE (adj.). Qui possède deux formes. Couramment utilisé en mycologie médicale pour décrire des champignons qui exhibent un dimorphisme thermique, c'est-à-dire qui se manifestent sous forme filamenteuse à 25 C et sous forme de levure ou de sphérule à 37 C sur milieux spécialisés ou *in vivo*. En mycologie générale, ce terme s'applique à tout champignon capable de se transformer d'une forme filamenteuse à une forme particulière, indépendamment de la température.

DISJONCTIF, IVE (adj.). Se dit d'une cellule vide qui se fragmente ou se lyse pour libérer une conidie. [Angl. disjunct, separating cell].

ÉCHINULÉ, (adj.). Présentant de petites aspérités en surface.

FRANGE ANNULAIRE. Petite membrane attachée à la base ou aux extrémités d'une conidie libre (aleurioconidie, arthroconidie alternée); il s'agit d'un vestige de la paroi de la cellule de support qui s'est lysée pour libérer la conidie.

FUMAGOÏDE (adj.). Se dit d'une cellule dématiée, à paroi épaisse, se divisant par fission bilatérale et retrouvée dans les tissus, chez les patients atteints de la chromoblastomycose. [Angl. Sclerotic body].

GÉNICULÉ (adj.). Se dit d'un conidiophore fléchi sur lui-même, formant un ou plusieurs angles. Ce type de conidiophore résulte typiquement d'un développement sympodial.

GÉOPHILE (adj.). Se dit d'un champignon (un dermatophyte, ou une espèce non pathogène de *Trichophyton*, *Microsporum* ou *Epidermophyton*) qui se développe préférentiellement dans le sol plutôt que chez l'animal ou l'humain. Tellurique.

GLABRE (adj.). Lisse, dépourvu de poils.

HILAIRE (adj.). Se dit d'une cicatrice bien visible et protubérante,

persistant à la base d'une conidie, au point où elle s'est séparée de la cellule conidiogène.

HÉTÉROTHALLIQUE (adj.). Se dit d'un champignon dont la reproduction sexuée n'est possible qu'à partir de cellules provenant de deux souches sexuellement compatibles.

HISTOPLASMOSE (n.f.). Maladie causée par *Histoplasma capsulatum*. L'infection, habituellement acquise par inhalation des conidies du champignon, demeure le plus souvent bénigne ou asymptomatique. Chez certains patients, elle peut devenir chronique ou aiguë et se disséminer avec des atteintes du système réticulo-endothélial, de la rate, du foie, des glandes surrénales, du tractus gastro-intestinal, des muqueuses ou de la moelle osseuse.

HOMOTHALLIQUE (adj.). Se dit d'un champignon qui peut se reproduire sexuellement à partir de cellules provenant d'une même souche.

HYALIN (adj.). Non pigmenté, incolore. Souvent utilisé pour caractériser des structures qui apparaissent incolores sous le microscope.

HYALOHYPHOMYCOSE (n.f.). Groupe d'infections hétérogènes causées par des champignons sans pigment brun dans la paroi de leurs cellules et caractérisées par la présence, dans les tissus, d'hyphes septés hyalins, parfois ramifiées ou toruloïdes. Dans la pratique, ce nom est habituellement réservé à des mycoses rares et ne remplace pas les termes bien établis tels que aspergillose.

HYPHE (n.f. ou n.m.). Filament septé ou non septé d'un champignon.

HYPHE EN BUISSON. Hyphe dont les ramifications se dirigent à contresens les unes des autres, en "fils de fer barbelés". [Angl. Reflexive hyphae].

HYPHE EN RAQUETTE. Hyphe composé d'une succession de cellules renflées à une de leurs extrémités, donnant l'impression de raquettes placées bout à bout.

HYPHE EN SPIRALE. Hyphe courbé en spirale, soit à plat ou en tire-bouchon. Cette structure spécialisée observée chez certains dermatophytes est plus rigide que les spirales communément formées par plusieurs champignons et se situe en position terminale plutôt qu'intercalaire.

HYPHE EN TÊTE DE CLOU. Hyphe à extrémité aplatie, typiquement rencontrée chez certains dermatophytes tel *Trichophyton schoenleinii*.

IMPARFAIT (adj.). Se dit de la forme asexuée ou anamorphe d'un champignon.

MACROCONIDIE (n.f.). La plus grosse de deux conidies de grosseurs différentes produites par un même champignon. Souvent pluricellulaire.

MÉTULE (n.f.). Segment du conidiophore à partir duquel sont produites les phialides chez les *Aspergillus* bisériés et les *Penicillium* multiverticillés.

MICROCONIDIE (n.f.). La plus petite de deux conidies de grosseurs différentes produites par un même champignon. Souvent unicellulaire.

MOISSISSURE (n.f.). Champignon microscopique produisant principalement des filaments.

MUCORALES. Ordre du phylum Glomeromycota auquel appartiennent, entre autres, les *Absidia*, *Cunninghamella*, *Mucor*, *Rhizopus* et *Rhizomucor*. Ces champignons se distinguent par leurs colonies à croissance très rapide composées d'hyphes

larges, non ou peu septés, et de sporanges.

MUCORMYCOSE (n.f.). Maladie causée par un champignon de l'ordre Mucorales. Les infections causées par des champignons de l'ordre des Mucorales (*Absidia*, *Cunninghamella*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*) sont typiquement diagnostiquées chez le patient débilité souffrant d'acidose diabétique, de malnutrition, de brûlures graves ou de maladies du système immunitaire. Elles sont aiguës, très souvent mortelles, et se caractérisent par la nécrose des tissus et par la production d'infarctus au niveau du cerveau, des poumons et des intestins. D'autre part, les infections causées par des champignons de l'ordre des Entomophthorales (*Basidiobolus*, *Conidiobolus*), sont habituellement chroniques et touchent principalement les muqueuses et les tissus sous-cutanés.

MURIFORME (adj.). Septé à la fois transversalement et longitudinalement.

MYCÉLIUM (n.m.). Ensemble des hyphes d'une colonie d'un champignon. Le terme est aussi utilisé couramment pour désigner une quantité indéfinie d'hyphes.

MYCÉTOME (n.m.). Infection chronique des tissus mous ou osseux, habituellement limitée à un seul membre et caractérisée par la formation de tuméfactions fistulisées d'où s'échappent des grains noirs ou blancs.

ONYCHOMYCOSE (n.f.). Infection des ongles causée par un champignon.

ORGANE NODULAIRE. Noeud formé d'hyphes enchevêtrées et souvent pigmentées, caractéristique de certains dermatophytes.

OSTIOLE (n.f.). Ouverture dans la paroi d'un périthèce ou d'une pycnide, par laquelle s'échappent les spores ou les conidies.

PARACOCCIDIOÏDOMYCOSE (n.f.). Infection chronique du système respiratoire causée par *Paracoccidioides brasiliensis*. Elle se caractérise par une atteinte primaire des poumons accompagnée de lésions secondaires aux muqueuses buccales, nasales ou gastro-intestinales.

PARASITE (n.m. et adj.). Organisme qui vit en étroit contact et entièrement aux dépens d'un autre organisme vivant.

PARFAIT (adj.). Se dit de la forme sexuée ou téléomorphe d'un champignon.

PECTINÉ (adj.). En forme de peigne. Principalement utilisé pour décrire certaines hyphes de certains dermatophytes.

PÉDONCULÉ (adj.). Se dit d'une conidie supportée par un court filament.

PÉRITHÈCE (n.m.). Fruit de certains champignons de la division Ascomycota. Il s'agit d'une structure en forme de sac plus ou moins ronde, à l'intérieur de laquelle sont formés des asques. Contrairement au cléistothèce, le périthèce libère ses ascospores par une ouverture appelée ostiole.

PHAEOHYPHOMYCOSE (n.f.). Groupe d'infections hétérogènes caractérisées par la présence d'hyphes, de pseudohyphes ou de levures brunes dans les tissus. Ce nom est habituellement réservé à certaines mycoses rares pour lesquelles il n'existe aucun nom reconnu.

PHIALIDE (n.f.). Cellule conidiogène souvent en forme de bouteille, produisant des conidies selon un mode basipétal. La longueur de cette cellule demeure fixe tout au long du processus de formation des conidies. Une collerette est parfois visible à son extrémité.

PHIALOCONIDIE (n.f.). Conidie produite par une phialide.

PIRIFORME (adj.). En forme de poire.

PLÉOMORPHISME (n.m.). Phénomène de mutation survenant chez les dermatophytes maintenus en laboratoire et entraînant la disparition d'éléments d'identification caractéristiques tels que la pigmentation des colonies et la production de conidies.

POROCONIDIE (n.f.). Conidie formée au travers d'un pore dans la cellule conidiogène.

PSEUDOHYPHE (n.f.). Série de blastoconidies allongées demeurant attachées les unes aux autres, ayant l'apparence d'un hyphes en chapelet.

PYCNIDE (n.f.). Chez les Sphaeropsidales, structure ronde en forme de sac, avec une ouverture apicale (ostiole), à l'intérieur de laquelle sont formées des conidies. La pycnide ressemble au périthèce mais ne dérive aucunement d'un processus sexué.

RHIZOÏDE (n.m.). Hyphes ayant l'apparence de racines.

SAPROPHYTE (n.m. et adj.). Organisme qui se nourrit de matière organique morte.

SEPTUM (n.m.). Cloison dans un hyphes, un conidiophore, une conidie ou une spore.

SIMPLE (adj.). Se dit d'un conidiophore non ramifié.

SPHÉRULE (n.f.). Structure sphérique à paroi épaisse, produite par *Coccidioides immitis/posadasii* dans les tissus; dans certaines conditions spéciales, elle peut aussi être produite *in vitro*. À maturité, elle contient des endospores.

SPORANGE (n.m.). Structure en forme de sac, contenant des spores asexuées formées par un processus de clivage cytoplasmique.

SPORANGIOLE (n.m.). Petit sporange ne contenant qu'un faible nombre de sporangiospores et parfois même une seule sporangiospore.

SPORANGIOPHORE (n.m.). Hyphes spécialisé donnant naissance à un sporange.

SPORANGIOSPORE (n.f.). Spore asexuée produite par clivage cytoplasmique à l'intérieur d'un sporange.

SPORE (n.f.). Élément fongique de propagation, issu soit d'un processus de reproduction sexué (ascospore, basidiospore, zygosporé), soit d'un processus de reproduction asexué impliquant un clivage cytoplasmique (sporangiospore).

SPOROTRICHOSE (n.f.). Infection sous-cutanée causée par *Sporothrix schenckii* et caractérisée par l'apparition de nodules formés via le système lymphatique, à partir du point d'inoculation. Les formes disséminées ou pulmonaires sont rares.

STÉRILE (adj.). Se dit d'une culture de champignon qui ne produit aucune spore ou conidie.

STOLON (n.m.). Hyphes aérien horizontal, à partir de laquelle se forment les rhizoïdes et les sporangiophores.

SYMPODIAL (adj.). En mycologie médicale, se dit de la croissance d'un conidiophore qui se développe par la formation d'un nouveau point de croissance, juste en dessous de la conidie se situant à l'apex, poussant celle-ci de côté pour s'allonger. Ce processus se répète à plusieurs reprises. Souvent le conidiophore prend une forme géniculée ou en zigzag.

TÉLÉOMORPHE (n.m. et adj.). Forme sexuée d'un champignon.

THALLE (n.m.). Colonie; ensemble de l'appareil végétatif et de l'appareil reproductif d'un champignon.

THALLIQUE (adj.). Se dit du mode de formation d'une conidie qui provient de la transformation d'un segment d'hyphe déjà délimité par une ou des cloisons. La cellule mère se transforme au complet en conidie. (voir: aleurioconidie, arthroconidie, chlamydospore, blastique).

TORULOÏDE (adj.). Se dit d'une hyphe ou d'un conidiophore qui présente une série successive de renflements et d'étranglements.

TRONQUÉ (adj.). Se dit d'une cellule dont la base se termine abruptement, comme si elle avait été coupée.

UNISÉRIÉ (adj.). Chez les *Aspergillus*, se dit de phialides formées directement sur la vésicule, en l'absence de métules.

VERTICILLE (n.m.). Souvent utilisé pour décrire un ensemble de cellules conidiogènes fixées en cercle autour d'un conidiophore (ex. *Verticillium*).

VÉSICULE (n.m.). Structure ayant la forme d'une petite vessie. Souvent utilisé pour décrire l'extrémité gonflée d'un conidiophore (ex. *Aspergillus*) ou d'un sporangiophore (ex. *Syncephalastrum*).

ZOOPHILE (adj.). Se dit d'un champignon (dermatophyte) qui se développe préférentiellement chez l'animal plutôt que chez l'humain ou dans le sol.

ZYGOSPORE (n.f.). Spore sexuée formée par la fusion de deux cellules semblables appelées gamétanges; ce type de spore est caractéristique des champignons de la division Zygomycota.

Bibliographie

Traité généraux (clinique et laboratoire)

1. Anaissie E.J., M.R. McGinnis, M.A. Pfaller (2009). **Clinical mycology**, 2nd ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, PA., 688 pp.
2. Bennett J.E., Dolin R., Blaser M.J. (2014) Mandell, **Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases**, 8th ed. Elsevier Saunders, 3577 pp. (*Section G, Chapitres 257-272*)
3. Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Carroll K.C., Funke G. Landry M-L., Richter S.S., Warnock D.W. (eds). (2015). **Manual of Clinical Microbiology**, 12th ed. (2019) American Society for Microbiology, Washington, D.C., 2690 pp (*Chapitres 116-134*).
4. Reiss E., Shadomy J.H., Lyon M.G. (2011) **Fundamental medical mycology**. Wiley-Blackwell, 656 pp.

Guides d'identification et méthodes de laboratoire

5. Leber, L (2016) **Clinical microbiology procedures handbook**, 4th ed. ASM Press, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 2954 pp. (*Chapitre 8, Volume 2*)
6. G.S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené, S. Ahmed, A.M.S. Al-Hatmi, M.J. Figueras and R.G. Vitale (2019). **Atlas of clinical fungi. Online version** Westerdik Fungal biodiversity institute, Utrecht, The Netherlands.
7. Kane, J., R. Summerbell, L. Sigler, S. Kraiden, G. Land. (1997). **Laboratory handbook of dermatophytes**. Star Publishing, Belmont, CA
8. Walsh T.J., Hayden R.T., Larone, D. H. (2018). **Larone's Medically important fungi: a guide to identification**, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. St-Germain, G., R. Summerbell. (2011). **Identifying fungi: a clinical laboratory handbook**, 2nd edition. Star Publishing Company, Belmont, California.

Méthodes de références du CLSI (antifongigrammes et examen direct / culture)

10. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard **M27-ED4**. CLSI, Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts; **M60-ED2**. CLSI, Wayne, PA.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline-second edition. **M44-ED3**. CLSI, Wayne, PA.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard **M38-ED3**. CLSI, Wayne, PA.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. Performance standards for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; **M61-ED2**. CLSI, Wayne, PA.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of nondermatophyte filamentous fungi; approved guideline **M51-A**, CLSI. Wayne, PA.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2021 Principles and procedures for detection of fungi in clinical specimens; Approved guideline **M54-ED2**, CLSI. Wayne, PA.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016 Principle and procedures for the development of epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing. **M57 ED1**, CLSI. Wayne, PA.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020 Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing. **M59 ED3**, CLSI. Wayne, PA.

Sites Web

19. **TAXONOMIE:** Index Fungorum - <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp> et MycoBank - <http://www.mycobank.org/>
20. Mycology online - <http://www.mycology.adelaide.edu.au/>
21. The *Aspergillus* Website - <http://www.aspergillus.man.ac.uk/>
22. Westerdik Fungal biodiversity institute (CBS-KNAW) <http://www.westerdijknstitute.nl/>
23. Centers for Disease Control and Prevention – Fungal Diseases - <http://www.cdc.gov/fungal/>
24. Dr fungus - <https://drfungus.org/>
25. The International Society For Human and Animal Mycology <https://www.isham.org/>
26. <https://www.isham.org/mycology-resources/antifungal-guidelines/antifungal-guidelines-organism>

Lignes directrices IDSA

27. Infectious Diseases Society of America (IDSA). 2007. **Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: (2007 update)**. Clin Infect Dis 45:1255–1265.
28. Infectious Diseases Society of America. (IDSA) 2007. **Clinical practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis: (2007 update)**. Clin Infect Dis 45:807–825.
29. Infectious Diseases Society of America.(IDSA) 2008. **Clinical practice guidelines for the management of blastomycosis (2008 update)**. Clin Infect Dis 46:1801–1812.
30. Infectious Diseases Society of America 2010. **Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: (2010 update)** update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 50:291–322.
31. Infectious Diseases Society of America (IDSA) 2016 **Clinical Practice Guideline for the Treatment of Coccidioidomycosis (2016)**. Clin Infect Dis 63:e112–146.
32. Infectious Diseases Society of America (IDSA) 2016 **Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: (2015 update)**. Clin Infect Dis 62:e1–50.
33. Patterson TF, et al. 2016. **Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: (2016 update)**. Clin Infect Dis 63:e1–e60.

Lignes directrices ESCMID

34. ESCMID Fungal Infection Study Group. 2012. **ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: diagnostic procedures / non-neutropenic adult patients / neonates and infants / HIV patients**. Clin Microbiol Infect 18 Suppl 7:1–77.
35. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Fungal Infection Study Group, European Confederation of Medical Mycology. 2014. **ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections**. Clin Microbiol Infect 20 Suppl 3:76–98.
36. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Fungal Infection Study Group, European Confederation of Medical Mycology. 2014. **ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of systemic phaeohyphomycosis: diseases caused by black fungi**. Clin Microbiol Infect 20 Suppl 3:47–75.
37. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Fungal Infection Study Group (EFISG) and European Confederation of Medical Mycology (ECMM) 2013 **joint guidelines on diagnosis and management of rare and emerging fungal diseases**. Clin Microbiol Infect 20 Suppl 3:1–4.
38. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Fungal Infection Study Group, European Confederation of Medical Mycology. 2014. **ESCMID and ECMM joint guidelines on diagnosis and management of hyalohyphomycosis: *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. and others**. Clin Microbiol Infect 20 Suppl 3:27–46.
39. **Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium**; Lancet Infect Dis 2019 Dec;19(12):e405-e421. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30312-3. Epub 2019 Nov 5.
40. **Global guideline for the diagnosis and management of rare mould infections: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology and the American Society for Microbiology** Lancet Infect Dis 2021 Dec [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30784-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30784-2)
41. **ESCMID-ECMM guideline: diagnosis and management of invasive aspergillosis in neonates and children**. Warris A, Lehnbecher T *et al.* Clin Microbiol Infect. 2019 25(9):1096-1113. doi: 10.1016/j.cmi.2019.05.019.
42. **Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline**. Ullmann AJ, Aguado JM, et al. Clin Microbiol Infect. 2018 May;24 Suppl 1:e1-e38. doi: 10.1016/j.cmi.2018.01.002.

Lignes directrices et références utiles pour mycoses superficielles/ dermatophytes.

43. Gupta AK, Paquet M **Management of onychomycosis in Canada**. Journal of cutaneous Medecine and surgery. 2015 pp 260-273.

