



Royaume du Maroc المملكة المغربية

كلية الطب والصيدلة
+٠٢٤٧٠١٠١٠١ +٠١٤١١٤١٤١ ٨ +٠٥٠٥٧٠٠٠٠٠
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

CANDIDOSES UNGUÉALES: A TRAVERS LES CAS DIAGNOSTIQUÉS AU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE DU CHU HASSAN II DE FÈS

MEMOIRE PRESENTE PAR :

**Docteur BENJABOR Fidae
Née le 28/07 /1991 à Fès**

MEMOIRE DE FIN DE SPECIALITE

OPTION : BIOLOGIE MEDICALE

Sous la direction de :

Professeur TLAMCANI ZINEB

Session: juillet 2020

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Liste des figures

Figure 1 : Répartition des patients de notre étude en fonction de l'âge

Figure 2 : Répartition des prélèvements en fonction de la culture et l'examen direct

Figure 3 : Répartition des espèces *Candida* isolées

Figure 4 : Répartition des espèces *Candida* en fonction de la localisation

Figure 5 : Coupe longitudinale de l'appareil unguéal

Figure 6 : Paronychie à *candida* chez un patient du service de dermatologie du CHU Hassan II de Fès résultant d'un ongle dystrophique rugueux et irrégulier.

Liste des Photos :

Photo 1: Pseudo filament mycélien (objectif 40) collection du service de parasitologie-mycologie CHU Hassan II Fès

Figure 2: Blastospores (objectif 40) collection du service de parasitologie-mycologie CHU Hassan II Fès

Photo 3: Levure en culture : collection du service de parasitologie-mycologie CHU Hassan II Fès

Liste des tableaux

Tableau I: Répartition des patients en fonction de la localisation et du sexe

Tableau II : Prévalence des candidoses entre notre étude et la littérature

PLAN

I	INTRODUCTION	5
	MATERIELS ET METHODES	6
	RESULTATS:	9
1.	Caractéristiques de la population globale	
	Répartition des patients selon le sexe	10
2.	Répartition des patients selon l'âge	10
3.	Répartition des patients selon la localisation des lésions	11
I.	Données mycologiques	12
	1. Examen direct et culture	12
	2. Espèces de <i>Candida</i> isolées	14
II.	Présentation Clinique:	16
	Discussion :	17
A.	Partie théorique	18
I-	Définition de l'espèce <i>Candida</i>	18
II-	Aspects anatomo-cliniques des onychomycoses à <i>Candida</i>	18
	1. Rappel anatomique et sémiologique	18
	2. Onyxis et périonyxis	19
III.	Pathogénèse et facteurs favorisant l'onychomycose à <i>Candida</i>	21
	1. Facteurs généraux	21
	2. Facteurs liés à l'environnement	21
	3. Facteurs liés à la virulence du <i>Candida</i>	22
IV.	Diagnostic biologique	24
	1. Généralités	24
2.	Prélèvement	24
3.	L'examen direct	26
4.	Culture	26
	4.1 Ensemencement	27
	4.2 Milieux de culture	27

4.3 Incubation	27
5. Identification: morphologique, physiologique, immunologique, enzymatique et protéomique.....	28
5.1 Identification morphologique.....	29
5.2 Identification physiologique.....	29
5.3 Identification immunologique	29
5.4 Identification enzymatique	29
5.5 Identification biochimique	31
5.6 Spectrométrie de masse MALDI–TOF	31
6. Tests de sensibilité aux antifongiques :.....	32
1.1 Indications	32
6.2 Méthodes utilisées	32
7. Diagnostic indirect	33
8. Apports de la biologie moléculaire	34
9. Diagnostic histologique.....	34
B– Partie pratique :	35
I. Epidémiologie :	35
1. Fréquence des candidoses de l’ongle parmi les onychomycoses	35
.Répartition de la candidose en fonction de l’âge et du sexe.....	36
3. Répartition de la candidose en fonction de la localisation	37
II. Etude mycologique:	38
1. Examen direct et culture	38
2. Espèces de Candida.....	39
III.Présentation Clinique et pathogénicité	40
CONCLUSION	42
RESUME	43
BIBLIOGRAPHIE	46

INTRODUCTION

L'onychomycose constitue 30% des infections fongiques superficielles et 50% des infections des ongles [1]. Trois agents pathogènes y sont responsables: les dermatophytes, les levures et les moisissures. La Candidose unguéale prend considérablement sa place parmi les onychomycoses. Les espèces de *Candida* sont surtout incriminées dans l'onychomycose secondaire à une maladie paronchiale et à une onycholyse ou associée à une maladie vasculaire périphérique [2]. *Candida albicans* est considéré comme le principal agent pathogène de l'onychomycose induite par les levures. Pour comprendre la pathogenèse de l'onychomycose causée par les espèces de *Candida*, les facteurs hôtes et les caractéristiques des espèces de *Candida* doivent être examinés. Certains facteurs, tels que l'âge et les particularités environnementales des patients et la localisation de l'infection sont des facteurs hôtes importants. Les facteurs de virulence que le micro-organisme utilise pour se défendre contre l'hôte sont également à considérer [3].

Nous proposons dans ce travail une étude rétrospective ayant comme objectifs:

- Tracer le profil épidémiologique des candidoses de l'ongle diagnostiquées au sein du laboratoire de parasitologie-mycologie du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès
- Dresser la prévalence des agents incriminés
- Mettre en valeur l'intérêt de l'analyse mycologique de ces espèces en complément à la clinique.

L'actualisation des données épidémiologiques, biologiques et cliniques de ce type d'onychomycoses reste toujours utile.

MATERIELS

ET METHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective menée au service de parasitologie-mycologie du CHU Hassan II de Fès, durant une période de 3 ans, allant du 01 Janvier 2017 au 31 décembre 2019, et portant sur 196 prélèvements mycologiques des ongles des mains et des pieds dont l'examen direct et /ou la culture est en faveur d'une atteinte candidosique.

Les patients inclus dans cette étude sont soit des malades hospitalisés au CHU, soit des malades externes adressés.

Ont été inclus dans l'étude, tous les dossiers de patients dont les prélèvements ont été adressés pendant la période d'étude au laboratoire de mycologie-parasitologie pour un diagnostic biologique d'onychomycose et pour lesquels les résultats de l'examen mycologique étaient correctement consignés. Tous les prélèvements conclus à refaire ont été exclus de l'étude.

Le diagnostic mycologique des onychomycoses à *Candida* à l'unité de mycologie du CHU Hassan II de Fès est basé sur l'examen direct du prélèvement unguéal, la culture et l'identification de l'espèce candidosique isolée. Les prélèvements unguéaux ont été effectués après désinfection à l'alcool. L'ongle altéré est coupé par une pince à ongles stérile et recueilli dans une boîte de Pétri en verre stérile. En cas de présence de lésion suintante au niveau de pourtour de l'ongle (périonyxis), le pus est prélevé à l'aide d'un écouvillon stérile.

Examen direct et culture : L'examen microscopique direct des prélèvements a été réalisé entre lame et lamelle après éclaircissement par de la potasse à 30 %. Les prélèvements ont été ensemencés sur milieux gélosés Sabouraud, Sabouraud-Chloramphénicol(SC) et Sabouraud- Actidione-Chloramphénicol (SCA) coulés en tube dans des conditions d'asepsie. Les tubes ont ensuite été mis en incubation à l'étuve à 27 °C et 37 °C pendant 48 à 72 heures. Le diagnostic d'onychomycose à *Candida* n'est retenu qu'après identification de la levure.

Identification : En cas de pousse, les levures ont été identifiées par leur

Candidoses unguéales

caractère macroscopique et microscopique, physiologique (le test de filamentation en sérum), immunologique Krusei-Color FUMOUIZE® (Agglutination latex, identification de Candida Krusei), et enzymatique (milieux chromogènes, glabrata R.T.T FUMOUIZE® et les galeries d'identification Auxacolor®). Le fungi-test a été réalisé pour tester la sensibilité aux antifongiques, une fois l'indication est posée.

Analyses statistiques : L'Excel a été l'outil d'exploitation de la base de données de nos patients. Le logiciel SPSS IBM 21.0 a été utilisé pour l'analyse statistique des données. La valeur $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

RESULTATS

I. Caractéristiques de la population globale

Durant les trois ans de notre étude nous avons reçu 941 prélèvements de l'ongle. 61 étaient à refaire et donc exclus de l'étude. 373 avaient une culture négative. 196 dossiers étaient en faveur d'une atteinte candidosique. Les levures ont représenté 29,98% de l'ensemble des espèces isolées en culture.

1. Répartition des patients selon le sexe

Sur les 196 dossiers, 146 (74,5 %) étaient de sexe féminin, soit un sex-ratio H/F de 0,34.

1. Répartition des patients selon l'âge

La moyenne d'âge des patients était de **47,92ans** (écart-type = 15,72) avec des extrêmes allant de 3 à 85 ans. Les sujets d'âge entre 45 et 55 ans étaient les plus représentés avec un taux à 28,57%.

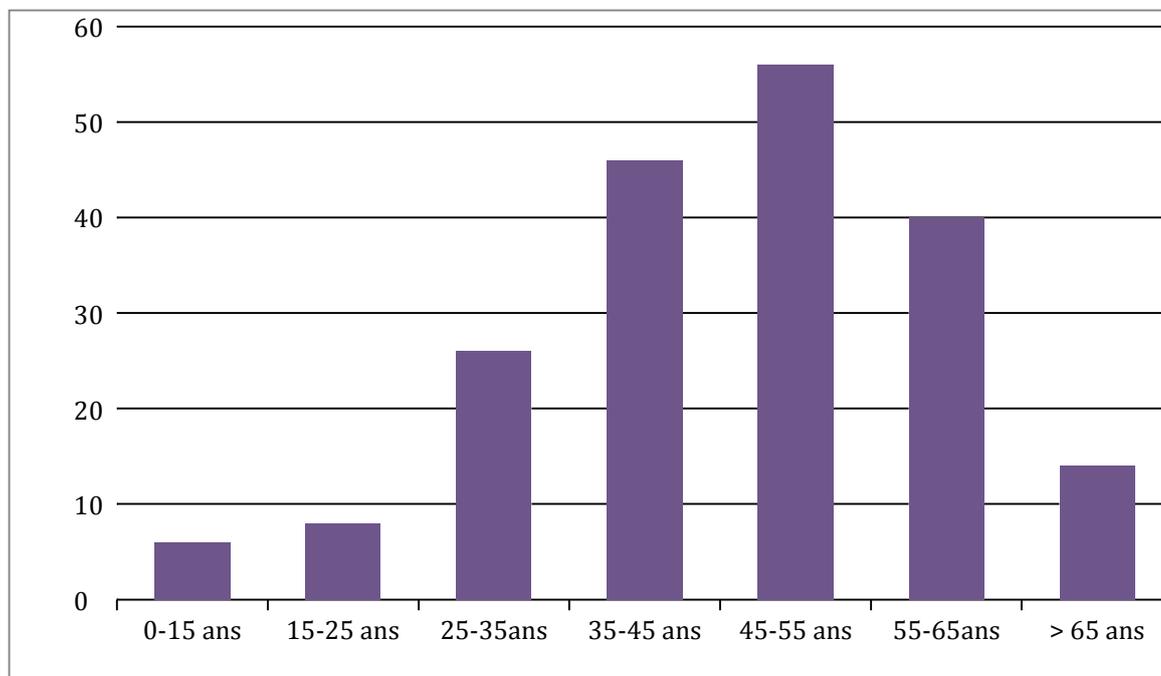


Figure 1 : Répartition des patients de notre étude en fonction de l'âge

2. Répartition des patients selon la localisation des lésions

L'atteinte des pieds représentait 55,95% suivie de celle des mains à 40,13 %. Seulement 6 cas d'atteintes doubles ont été retrouvés. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre la topographie des lésions et le sexe des patients ($p > 5\%$). L'onychomycose à *Candida* prédominait chez la gente féminine quelque soit la localisation avec 53,50 % parmi elles dans ce genre au niveau des ongles des orteils (Tableau I).

Tableau I: Répartition des patients en fonction de la localisation et du sexe

Sexe	Ongles doigts Effectif	Ongles orteils Effectif	Ongles doigts et orteils Effectif
Masculin	13	24	1
Féminin	48	61	5

II. Données mycologiques

1. Examen direct et culture

Dans notre travail sur les 196 prélèvements réalisés l'examen direct a montré un taux de positivité à *Candida* de 75,71 % (blastospores chez 58 patients, pseudofilaments chez 62 patients et les deux formes chez 28 patients) contre 77,55% pour la culture. L'examen direct et la culture étaient positifs pour le genre *Candida* dans 53,06 %.

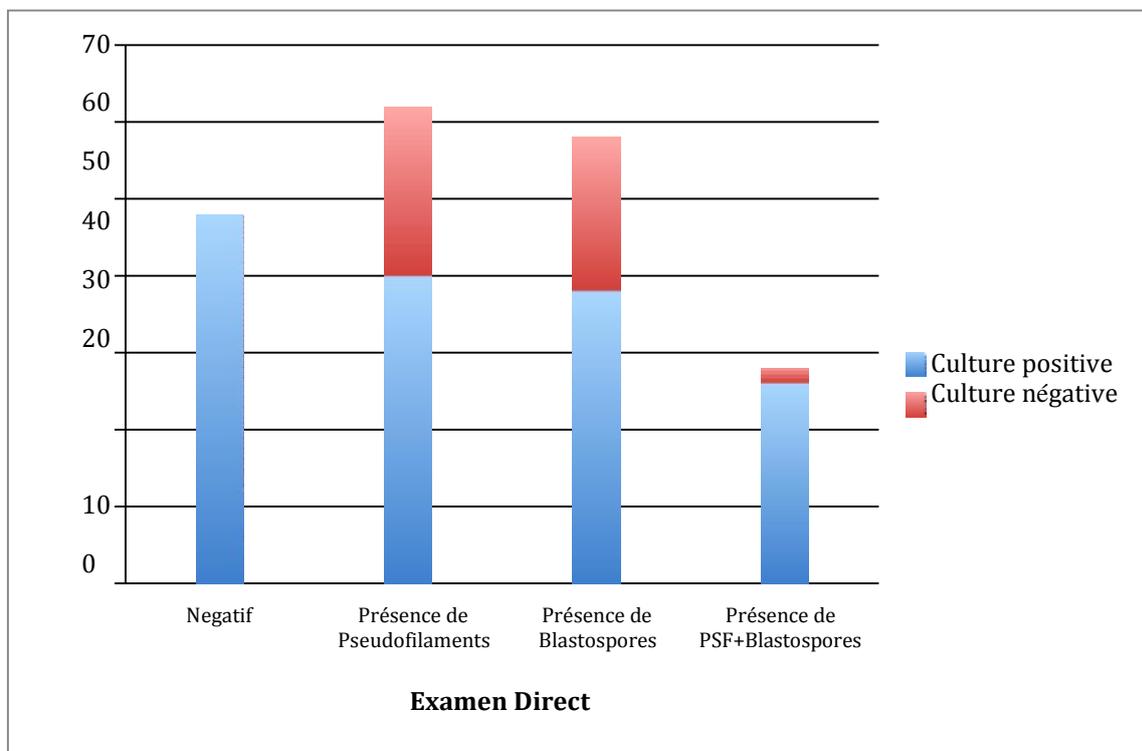


Figure 2 : Répartition des prélèvements en fonction de la culture et l'examen direct

Candidoses unguéales



Photo 1 : Pseudo filaments mycéliens
(objectif 40)

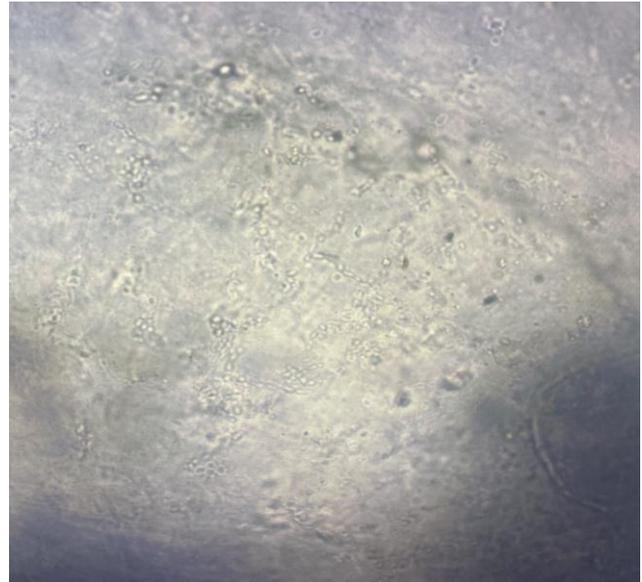


Photo 2 : Blastospores (objectif 40)

Collection du service de parasitologie-mycologie CHU Hassan II Fès

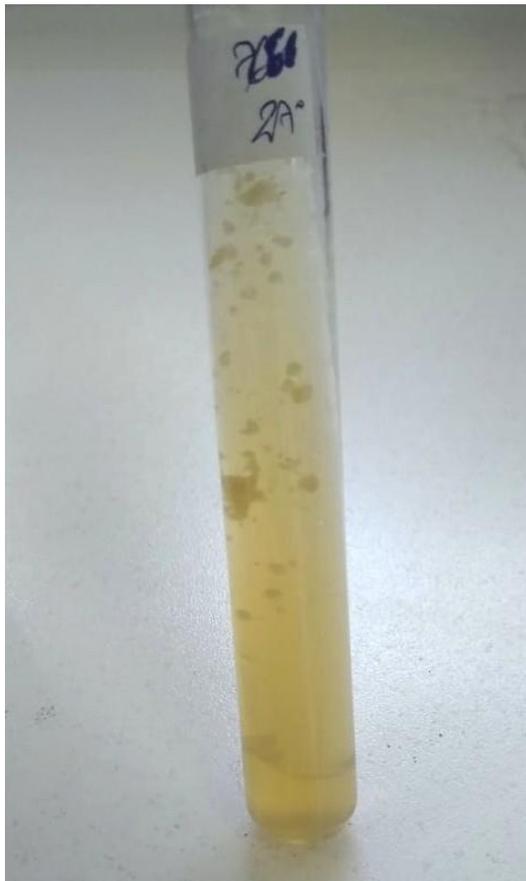


Photo 3 : Levure en culture : collection du service de parasitologie-mycologie CHU
Hassan II Fès

2. Espèces de Candida isolées

Parmi les différentes espèces de candida isolées en culture, le *Candida albicans* arrive en tête avec 36,18%, suivi de *C. parapsilosis* avec 21,05% (32/152). Les espèces *C.tropicalis*, *C.lusitariae* et *C.sake* viennent après avec respectivement des taux de 13.81% et 9. 86%. L'espèce *C.sake* a été confirmée sur 1 prélèvement. Les espèces de *Candida non albicans* non identifiés représentent quant à eux un taux de 20,38 % (Figure 3).

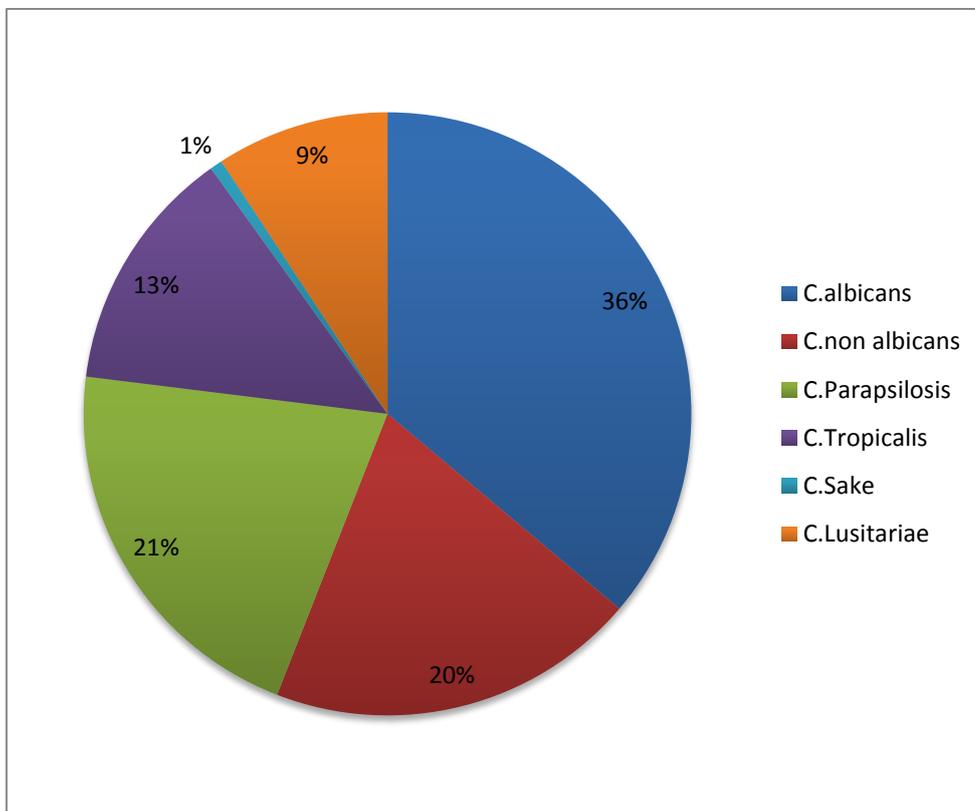


Figure 3: Répartition des espèces candida isolées

Au niveau des ongles des doigts, cinq espèces de *Candida* ont été identifiées dont les plus fréquentes sont par ordre d'importance : *C. albicans* (34,42%), *C. tropicalis* (18,03 %), et *C. parapsilosis* (18,03 %). Parallèlement, au niveau des ongles des orteils, les espèces les plus retrouvées ont été également *C. albicans*, *C.*

Candidoses unguéales

parapsilosis et *C. tropicalis* avec des taux respectifs de 37,20 %, 21,17 % et 10,58% (Figure 4).

En ce qui concerne les atteintes doubles des ongles des doigts et orteils, les principales espèces de *Candida* isolées simultanément étaient : *C. albicans* et *C. parapsilosis* (Figure 4).

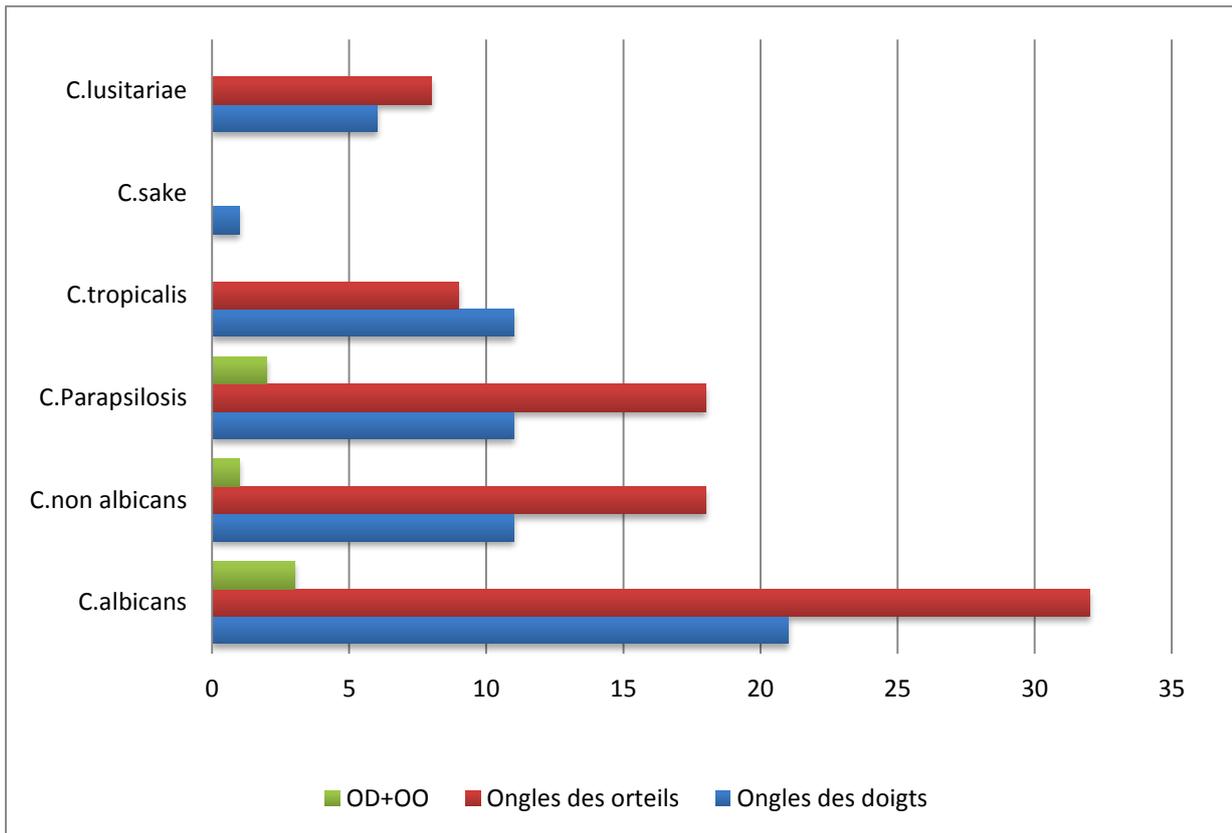


Figure 4: Répartition des espèces candida en fonction de la localisation

III. Présentation Clinique

Les ongles affectés par le candida présentent plusieurs signes de dystrophie. Dans notre étude 64 patients ont présenté une pachy-xanthonychie de l'ongle soit 42,10% et 24 parmi eux une onycholyse distale soit 15,78%. Parmi ces derniers 36 présentaient une atteinte dermatologique sous-jacente, notamment un lupus érythémateux systémique (LES), un lichen pileux, un psoriasis et un vitiligo. Quatre patients ont développé la candidose unguéale suite à un traumatisme occasionnant des lésions fissurantes post traumatiques, tous avaient une culture positive à *C.parapsilosis*.

Dans la présente étude, trois patients présentaient une pathologie thyroïdienne dont deux ont été thyroïdectomisés et un autre suivi pour goitre. Le diabète est retrouvé chez 8 patients. Une patiente de 52 ans est porteuse de VIH, Quatre femmes sont suivies pour hépatite C et une autre pour hépatite B. Une sérologie syphilitique positive a été découverte chez une patiente lors de son bilan de grossesse.

DISCUSSION

A- partie théorique

I-Définition de l'espèce Candida :

Les *Candida* ou levures sont des micro-organismes endogènes ou exogènes, dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence de facteurs favorisant locaux ou généraux. Les candidoses peuvent donc être des infections opportunistes dont les causes sont très variées. Le spectre clinique s'étend des formes localisées (cutanées et/ou muqueuses), d'une grande fréquence en médecine générale, aux atteintes invasives rencontrées chez les patients hospitalisés cumulant de nombreux facteurs de risque et dont le pronostic est souvent réservé. La seule présence de ces levures n'est pas synonyme de maladie, car l'isolat responsable de l'infection est le plus souvent celui que le malade héberge spontanément. Les atteintes invasives sont un exemple d'infections nosocomiales, résultant des traitements médico-chirurgicaux chez les patients les plus fragiles.

II-Aspects anatomo-cliniques des onychomycoses à candida

1. Rappel anatomique et sémiologique:

Le taux de croissance moyen de l'ongle est de 0,10 mm par jour, c'est-à-dire de 3 à 4mm/mois en moyenne au niveau des mains. Il est deux fois moins rapide au niveau des pieds. La vitesse de renouvellement est plus rapide chez l'enfant et plus lente chez le sujet âgé. Plusieurs facteurs peuvent accélérer la poussée des ongles, notamment un bon apport en acides aminés et vitamines.

Si on réalise une coupe longitudinale de l'appareil unguéal, on distingue les éléments suivants: La matrice de l'ongle, le lit et la lame unguéale.

Une atteinte matricielle a pour conséquence une dystrophie de la tablette alors qu'une atteinte du lit de l'ongle engendre un décollement et/ou un épaissement

de l'ongle. Les ongles peuvent donc être affectés à différents niveaux de ces structures et selon trois grandes causes déterminant les onychopathies : traumatiques, infectieuses, inflammatoires, les tumeurs restant plus rares [4,5].

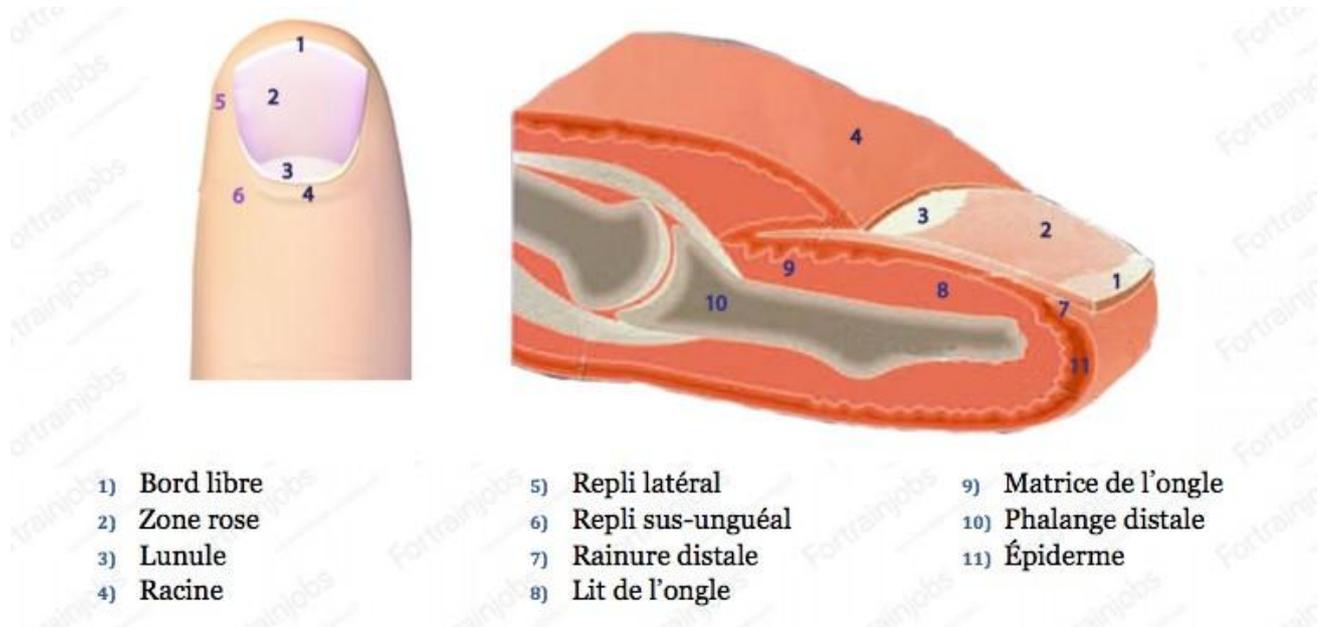


Figure 5 : Coupe longitudinale de l'appareil unguéal [4]

2. Onyxis et périonyxis :

Les onychomycoses à *Candida* associent un onyxis et pré-onyxis. Leur localisation diffère en fonction des habitudes individuelles de chaque communauté. Les femmes sont plus fréquemment atteintes car plus souvent exposées aux principaux facteurs de risque locaux que sont les contacts prolongés et répétés avec l'eau et les produits d'entretien, le port de gants de protection, les micro-traumatismes et les abus de soins de manucure. La contamination résulte le plus souvent d'une auto-inoculation à partir d'un foyer digestif ou génital et l'espèce la plus souvent incriminée reste le *C.albicans*. Classiquement, l'onychomycose à *Candida* débute par une atteinte des tissus péri-unguéaux (périonyxis) et se traduit par une tuméfaction tendue, érythémateuse parfois, douloureuse, entourant la

Candidoses unguéales

tablette unguéale. La pression de l'œdème fait sourdre une sérosité, voire du pus. L'atteinte de l'ongle est secondaire, par invasion de l'ongle sur le bord proximal qui gagne ensuite le bord libre avec un décollement de la tablette unguéale pouvant intéresser toute l'épaisseur de l'ongle. L'évolution peut aboutir à une onycholyse totale (Figure 6) [5].



Figure 6 : Onycholyse candidale chez un patient du service de dermatologie du CHU Hassan II de Fès résultant d'un ongle dystrophique.

III. Pathogénèse et facteurs favorisant l'onychomycose à

Candida :

1. Facteurs généraux :

Le commensalisme de la candidose est déterminé par l'équilibre entre la virulence du champignon et l'état immunitaire de l'hôte [6].

Les infections opportunistes dues au *Candida* annoncent généralement des problèmes immunitaires sous-jacents. Par conséquent, l'onychomycose est fréquente chez les patients atteints du syndrome de DiGeorge, d'une dysplasie du thymus, ou bien d'agammaglobulinémie où l'immunité cellulaire et humorale est déficiente. Les anomalies ectodermiques congénitales ou acquises, les troubles endocriniens tels que l'hypothyroïdie, l'hypoparathyroïdie, l'hypo-surréalisme et le diabète sucré sont quelques-unes des maladies systémiques courantes qui facilitent les infections candidales des ongles par la suppression de l'immunité de l'hôte [7, 8].

De plus, le *Candida* peut être un agent pathogène primaire ou secondaire dans la cause de l'onychomycose. Son rôle de pathogène primaire est presque toujours observé dans l'immunosuppression sévère comme l'infection par le VIH [9]. Les maladies vasculaires périphériques, la malnutrition, les habitudes personnelles telles que le tabagisme et les traumatismes chroniques des ongles âgés peuvent compromettre l'immunité de l'hôte au niveau du complexe unguéal, laissant une plus grande prédilection pour l'onychomycose. Dans de telles conditions, le *Candida* peut agir comme un pathogène secondaire [10, 11].

2. Facteurs liés à l'environnement :

L'onychomycose des ongles est souvent attribuée à des traumatismes professionnels chez les femmes au foyer, les agriculteurs et les pêcheurs [12]. Cela pourrait être dû au fait que les ongles de ces personnes sont exposés à l'humidité et aux contaminants qui transportent les champignons en général [13].

Chez les femmes au foyer, le contact prolongé avec l'eau et les détergents est un facteur de risque important qui supprime l'immunité locale au niveau du complexe unguéal [14].

L'onychomycose a également été attribuée à des conditions socio-économiques défavorables avec une mauvaise hygiène personnelle, et il a été remarqué que la prévalence de l'onychomycose chez les enfants de l'école primaire est élevée dans une communauté rurale à faible niveau socio-économique [15].

Bien que l'immunosuppression iatrogène n'ait pas été confirmée comme un facteur prédisposant à l'onychomycose à candida, on a constaté dans une étude menée en 2003 par Gulec que sur 102 patients ayant subi une transplantation rénale et qui étaient sous immunosuppresseurs, 12,7 % avaient une onychomycose exclusivement due à *C. albicans* [16].

Nous pouvons alors envisager que l'immunité locale du complexe de l'ongle et l'immunité systémique vont de pair dans l'entretien des ongles sains.

3. Facteurs liés à la virulence du candida :

Les espèces de Candida ont développé des mécanismes de virulence sévères qui aident à la pathogénèse de l'onychomycose.

Le Candida est connu pour produire des hydrolases extra-cellulaires incluant des protéinases, des phospholipases et des lipases qui aident à l'invasion des tissus [17]. Ces champignons pléomorphes produisent des hyphes filamenteux lorsqu'ils envahissent

l'épithélium de l'hôte. Par exemple, Jayatilake et ses collègues ont démontré une invasion hyphale profuse des cavitations de l'épithélium oral humain et de l'épithélium oral de lapin infectés par Candida. Ces chercheurs ont suggéré que les cavitations de l'épithélium ont été créées par l'activité enzymatique extracellulaire des champignons [18,19].

Il a également été signalé que la production extracellulaire de protéinases par les

espèces de *Candida* augmente de façon marquée lorsque le milieu de culture est additionné de kératine. Ceci montre que la kératine, qui constitue la majeure partie de la substance de l'ongle, agirait comme un excellent milieu de croissance pour les souches virulentes de *Candida*.

Il existe des peptides antimicrobiens qui améliorent la résistance de l'ongle face à des pathogènes extérieurs [20]. Cependant, il a été démontré que l'invasion hyphale du *Candida* inhibe l'expression des peptides antimicrobiens tels que les bêta-défenses humaines dans l'épithélium oral humain reconstitué. Par conséquent, il est concevable que le *Candida* puisse également altérer l'expression de molécules effectrices telles que les défensines dans l'ongle, même si ce phénomène doit être étudié plus en détail.

D'autre part, il a été démontré que *C. albicans* produit des particules de mélanine *in vitro* pendant l'infection des tissus. Cette dernière permet la protection des champignons contre les antifongiques, les peptides antimicrobiens, la lumière ultraviolette et la température [21].

Les résultats ci-dessus suggèrent que de multiples mécanismes de virulence de *Candida* sont impliqués dans la pathogénie des infections des ongles.

IV. Diagnostic biologique :

2. Généralités

Le diagnostic d'une candidose est une préoccupation quotidienne du biologiste.

Le diagnostic biologique des candidoses repose d'abord sur un examen direct des produits biologiques, qui vise à mettre en évidence la présence de blastospores ou de formes mycéliennes de *Candida* [22].

Parallèlement, une mise en culture sur milieu(x) spécifique(s) sera réalisée, permettant d'isoler le microorganisme. Dans un second temps, il conviendra d'identifier précisément l'espèce(s) de *Candida* en cause, en faisant appel aux techniques conventionnelles (tests biochimiques et immunologiques) ou aux nouvelles technologies (biologie moléculaire et protéomique). L'étude de la sensibilité aux antifongiques ne sera envisagée que dans certaines circonstances (infections profondes ou récidivantes, exposition préalable aux antifongiques azolés).

3. Prélèvement :

Le prélèvement mycologique est le même pour tous les type d'onychomycoses.

Il doit être réalisé sur des ongles bien essuyés afin d'éliminer toute souillure de moisissures environnementales et doit être réalisé en dehors de tout traitement local et général en quantité suffisante et recueilli dans un récipient stérile.

Dans le cas contraire, une fenêtre thérapeutique d'environ 3 mois pour un traitement systémique ou un traitement local par vernis ou solution filmogène est nécessaire. Cette fenêtre est réduite à 15 jours lorsqu'il s'agit d'une application par une crème antifongique afin d'éviter les « faux négatifs » [23].

En raison de la multiplication rapide des levures et de la flore bactérienne, le

prélèvement doit être acheminé immédiatement au laboratoire ; à défaut, il est conservé à + 4 °C. La qualité du prélèvement est essentielle, il est préférable qu'il soit réalisé au niveau du laboratoire par un biologiste expérimenté.

Il faut préciser :

Le siège de l'onychomycose

- ✓ La sémiologie de l'onychomycose (disto-latérale, proximale, superficielle, totale), la présence ou non d'un périonyxis
- ✓ L'anamnèse, l'ancienneté de l'atteinte et son mode d'évolution
- ✓ Les facteurs favorisants en rapport avec les métiers nécessitant le port prolongé de gants telle que les pâtisseries, les fleuristes ou de chaussures telle que les militaires, les gardiens...
- ✓ La recherche d'autres lésions suspectes de mycoses pouvant être associées (intertrigos interdigito-plantaires, lésions palmaires, plantaires, teignes du cuir chevelu, épidermophyties...

Le prélèvement se fait par raclage au vaccinostyle ou curette à la périphérie de la lésion à la limite de l'ongle sain – ongle malade sur les bords proximaux et latéraux de l'ongle. En cas d'onycholyse, il est conseillé de gratter le lit unguéal soulevé. Le recueil se fait dans un flacon stérile [23].

En cas d'association avec une lésion suintante (périonyxis avec pus), il est recommandé d'effectuer un écouvillonnage par deux écouvillons ; un pour l'examen direct et un pour la culture.

La conservation pour un acheminement différé peut se faire à + 4°C pendant 1 à 3 jours sans dépasser 24h si présence de lésion suintante.

4. L'examen direct :

L'examen direct s'effectue soit directement à l'état frais par montage dans un liquide non coloré (eau distillée ou sérum physiologique stériles), soit en utilisant un colorant permettant de mieux visualiser les blastoconidies : lugol à 2 %, bleu de toluidine, bleu au lactophénol, noir chlorazole ou rouge congo. Il nécessite un éclaircissement préalable dans la potasse (KOH à 30 %) ou le chloral-lactophénol.

Il repose sur :

- l'Observation de l'état frais au microscope au grossissement 10 puis 40.
- La Lecture des lames colorées à l'objectif 100
- On observe des éléments bourgeonnants de 1 à 10 μm , ovales ou ronds, à paroi mince, non capsulés, accompagnés ou non de filaments mycéliens de longueur variable.

5. Culture :

Les levures du genre *Candida* sont peu exigeantes, et un grand nombre de milieux de culture utilisés dans un laboratoire de microbiologie (géloses ordinaires, géloses au sang, bouillon cœur-cervelle) permettent leur développement et le milieu de Sabouraud reste le mieux adapté à leur culture.

Les boîtes de Pétri offrent une surface d'ensemencement plus importante que les tubes ; elles permettent un bon isolement des colonies et de visualiser les associations de levures. En revanche, les risques de contamination par des spores de champignons filamenteux aéroportés sont plus importants et les milieux se dessèchent plus rapidement lors d'une incubation prolongée.

4.1 Ensemencement:

L'ensemencement se fait de façon stérile, par épuisement progressif de l'inoculum dans une boîte de pétri ou un tube stérile.

4.2. Milieux de culture:

***Les milieux standards**

Le milieu gélosé de Sabouraud additionné de chloramphénicol et/ou de gentamicine est classiquement utilisé.

Il est possible d'y adjoindre de la cycloheximide (Actidione®), qui inhibe la croissance de la plupart des champignons filamenteux susceptibles de contaminer les cultures. Toutefois, cette molécule peut inhiber ou freiner la pousse de certaines espèces de *Candida* telles que *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ou *C. famata*.

La température optimale de croissance des *Candida* est de 37°C.

Plusieurs géloses sont généralement ensemencées ; la première est incubée à 22–25°C et la seconde à 35–37°C.

Une durée d'incubation de 24 à 72 heures est généralement suffisante pour isoler la majorité des *Candida*.

Les colonies de *Candida* sont blanchâtres, leur surface est lisse, brillante et luisante, ou plus rarement, croûteuse, terne, sèche, mate, ou ridée. Les associations de différentes espèces sont difficilement décelables par un œil non expérimenté [24].

***Les milieux chromogéniques:**

Ces milieux confèrent aux colonies qui s'y développent une coloration particulière variable en fonction de l'espèce, grâce à des substances pathogènes qui y sont ajoutés. Cette coloration est basée sur la mise en évidence d'une activité enzymatique de type hexosaminidase.

Le milieu CHROMagar® présente le spectre le plus large pour l'identification directe

des colonies. Les espèces non-albicans devront être confirmées dans un second temps par des tests complémentaires [23,24].

* Les milieux fluorogéniques :

Cultivées sur le milieu Fluoroplate® Candida (Merck), les colonies de *C. albicans* présentent une fluorescence bleutée sans diffusion du pigment dans la gélose, lorsqu'elles sont observées sous lumière ultraviolette à 366 nm. La nécessité d'un équipement spécifique limite l'utilisation de ce milieu.

4.3. Incubation:

-Température optimale d'incubation est située entre 30 et 35°C

-Durée d'incubation: 24 à 72h.

6. Identification: morphologique, physiologique, immunologique, enzymatique et protéomique.

L'identification des différentes espèces de *Candida* fait appel à la détermination de caractères morphologiques, physiologiques et plus récemment immunologiques, grâce à des tests basés sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps monoclonaux. La spectrométrie de masse et la biologie moléculaire, bien que prometteuses, ne concernent à l'heure actuelle que les centres spécialisés et les équipes de recherche.

6.1 : Identification morphologique :

Macroscopique et microscopique identifiant le genre orientant vers l'espèce.

6.2 : Identification physiologique : (*C.albicans*)

*Test de blastèse ou filamentation en sérum en 3 à 4 h.

Technique:

Incubation de l'isolat + sérum de lapin à 37°C entre 2 heures 30min et 4 heures maximum, puis on observe à l'objectif 40.

Résultats:

C.albicans est la seule espèce qui produit des tubes germinatifs en moins de 4 heures. Caractéristiques du tube germinatif: mince, de diamètre homogène, sans constriction à la base émergeant de la cellule mère

*Test de chlamydosporulation = identification de *C.albicans* basée sur la production de "Chlamydo-spores"

Sur des milieux spécifiques: RAT (riz, agar, tween 80), PCB (pomme de terre, carotte, bile) coulés en boîte de pétri, est ensemencé en leur centre à l'aide d'une goutte de suspension qui est ensuite recouverte d'une lamelle. Puis, après incubation de 48 heures à une température comprise entre 28 et 30°C. La lecture s'effectue par observation directe au microscope du milieu à l'objectif x40, on recherche la présence de pseudomycélium + blastospores + chlamydo-spores caractéristiques de *Candida albicans*.

6.3 : Identification immunologique :

*Bichrolatex albicans: réalisé à partir d'une culture d'au moins 24 heures.

Principe: co-agglutination sur lame: Particules de latex colorées en rouge, en suspension dans un contre-colorant vert sensibilisées par un anticorps monoclonal reconnaissant spécifiquement un antigène du *C.albicans*.

Résultats: + si agglutinats rouges sur un fond vert → *Candida albicans* ou *C.*

dublinsiensis.

La différenciation entre ces deux espèces repose ensuite sur un second dispositif, le bichrodubli® (Fumouze Diagnostics).

- si : la suspension garde sa couleur brune homogène → *Candida non albicans*.

Avantage: réalisation simple et rapide: Identification de *C.albicans* en 5 min et meilleure sensibilité que le test de filamentation.

*Krusei-color (Fumouze®) réalisé à partir d'une culture d'au moins 24 heures.

Principe: Test d'agglutination des antigènes pariétaux et permettant l'identification rapide (3 minutes) de *Candida krusei*.

Résultats: +si : Formation d'agglutinats rouges visibles à l'œil nu → *Candida krusei*.

- si : la suspension garde sa couleur brune homogène

6.4 : Identification enzymatique :

*le Candida Check® : commercialisé depuis plusieurs décennies est un dispositif pour agglutination sur lame.

Le réactif est constitué de plusieurs sérums de lapin rendus spécifiques, par un ensemble d'adsorptions, vis-à-vis de 10 facteurs antigéniques portés par certaines espèces de *Candida*. Avantages: L'identification des 9 principales espèces de *Candida* après 2 à 3 minutes d'agitation.

*Glabrata R.T.T FUMOUCHE :

Principe: hydrolyser très rapidement le tréhalose en glucose. La révélation de cette production de glucose permet alors l'identification de la levure. Cependant en plus du test de tréhalose deux témoins doivent être réalisés avec un témoin maltose et un témoin en absence d'ose.

6.5 : Identification biochimique :

*Test métabolique :

Des tests biochimiques, utilisables sur les colonies isolées, peuvent également être réalisés pour l'identification. Trois dispositifs sont commercialisés : Murex *C. albicans*[®] (Murex Diagnostics), Albicans-Sure[®] (Clinical Standards Laboratories) et BactiCard Candida[®] (Remel CO).

Candida albicans: Si présence de double activité β -galactosaminidase et L-proline aminopeptidase. Les autres espèces présentent une seule activité, mais pas les deux associées.

*Galleries:

Si l'aspect et la coloration de la colonie ne permettent pas une identification précise de l'espèce, ou si les tests rapides spécifiques sont négatifs, l'identification de la levure repose alors sur l'utilisation de galleries.

Un large panel de dispositifs miniaturisés et standardisés est commercialisé. Le principe repose sur l'étude de l'assimilation des carbohydrates (auxanogramme) et de leur fermentation (zymogramme).

6.6 : Spectrométrie de masse MALDI-TOF :

L'approche protéomique par spectrométrie de masse MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionisation- time-of-flight) est une alternative qui tend à se généraliser surtout dans les laboratoires hospitaliers ou de recherche. Appliquée sur des colonies isolées, elle permet une identification rapide directement à partir des cultures. Les systèmes Vitek[®] MS (bioMérieux), Microflex (Bruker Daltonics) et Andromas (Siemens) sont actuellement disponibles. Toutefois, la réduction importante des temps de manipulation ainsi que le faible coût des réactifs et consommables laisse envisager une extension plus large.

7. Tests de sensibilité aux antifongiques:

7.1 Indications:

- Récidive ou échec thérapeutique
- Patients immunodéprimés ou soumis à une forte pression de sélection

par des antifongiques (risque de résistance secondaire).

7.2 Méthodes utilisées:

*Méthode par diffusion: (Comparable à l'antibiogramme bactérien)

Les disques imprégnés d'une concentration connue d'antifongique (Néosensitabs®, Eurobio) sont déposés à la surface d'une gélose préalablement ensemencée par inondation ou par écouvillonnage. En fonction de la valeur du diamètre des zones d'inhibition de croissance, les souches de levures sont classées en sensibles, intermédiaires ou résistantes.

*Méthode par dilution en milieu liquide ou semi-solide :

Des tests commercialisés sous forme de galeries (Fungitest®, Bio-Rad ; ATB® Fungus 3, bioMérieux) permettent de tester la sensibilité des *Candida*, dans des conditions très proches de celles des techniques de micro-dilution en milieu liquide.

*Méthode par dilution-diffusion :

La méthode E-test® (bioMérieux) repose sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini d'antifongique. Plus simple, elle permet la détermination quantitative des CMI sur des valeurs très étendues.

*Interprétation :

Selon la valeur de la CMI déterminée, les levures sont ainsi classées dans l'une des catégories

cliniques suivantes : sensible, résistante ou intermédiaire. En présence de souches appartenant à ce dernier groupe et donc de sensibilité « dose-dépendante », il est nécessaire d'augmenter les posologies [24].

8. Diagnostic indirect :

Les méthodes immunologiques permettant la mise en évidence de marqueurs d'infection fongique invasive, à savoir les anticorps sériques ou antigènes circulants présentent une complémentarité aux méthodes précédentes.

L'immunofluorescence indirecte (IFI) utilise des blastospores de *C. albicans* (souche VW32), qui sont déposées sur des lames de verre prêtes à l'emploi (Candida-Spot IF®, bioMérieux).

L'hémagglutination indirecte (HAI) détecte des anticorps de type IgG ou IgM (Candidose Fumouze®, Fumouze Diagnostics).

L'ELISA recherche des anticorps dirigés contre les mannanes pariétaux (Platelia® Candida Ab, Bio-Rad ; Serion® ELISA classic *Candida albicans* IgG/IgM/IgA, Virion/Serion). Ce dernier permet une quantification plus large des immunoglobulines dirigées contre *C. albicans* [24].

L'immunoélectrophorèse (IEP) et l'électrosynérèse (ES) détectent des anticorps précipitants (antigènes de *C. albicans*, Bio-Rad) et permettent une appréciation semi-quantitative.

Ces différentes techniques font appel à des antigènes solubles (HAI, IEP, ES, ELISA) ou figurés (IFI). On distingue classiquement les techniques de dépistage (IFI, HAI et ELISA) des techniques de confirmation (IEP, ES).

Il est recommandé d'associer au moins deux techniques, l'interprétation des résultats étant souvent délicate. Si un patient porteur sain de *Candida* ou présentant une candidose unguéale peut présenter un taux faible d'anticorps, des taux élevés en technique ELISA ne sont en pratique jamais retrouvés chez des patients simplement colonisés. D'autre part, la sérologie *Candida* apparaît peu contributive chez les immunodéprimés [24].

9. Apports de la biologie moléculaire :

Ces techniques sont utilisables dans le diagnostic, l'identification ou le typage des souches. Le développement des techniques de PCR a suscité de nombreux espoirs. En effet, contrairement à la recherche d'anticorps spécifiques, le statut immunitaire du patient n'entre pas en ligne de compte. Par ailleurs, la PCR permet d'amplifier des séquences d'ADN issues de cellules mortes et qui ne peuvent donc être mises en évidence par culture.

La spécificité de cette approche moléculaire dépend des séquences cibles choisies, tandis que la sensibilité analytique repose sur la nature de l'échantillon analysé: (Biopsie, fragment), la méthode d'extraction, la nature de la séquence cible et la révélation des amplicons [24].

10. Diagnostic histologique :

Pour les observations histopathologiques, les rognures d'ongles doivent être ramollies à l'aide d'un agent de ramollissement à la chitine (acide trichloracétique à 10 % dans le formol) avant le traitement et la coloration au PAS ou à la méthanamine d'argent de Grocott.

La préparation histopathologique de l'onychomycose candidale met en évidence l'invasion hyphale de la plaque unguéale et permet de confirmer le diagnostic. Cependant, il est important de noter qu'il n'est pas inhabituel de voir des blastospores de candida dans un échantillon de KOH provenant d'un grattage d'ongle ou dans un échantillon histopathologique car le *Candida* est un commensal commun de la peau humaine. Cependant, la mise en évidence de pseudomycètes par coloration au KOH ou au PAS suggère fortement une infection candidale invasive [25,26].

B– Partie pratique :

I. Epidémiologie :

1. Fréquence des candidoses de l'ongle parmi les onychomycoses :

L'onychomycose est l'invasion de la plaque unguéale par un champignon d'origine non dermatophytique, due à la présence des levures.

Les données épidémiologiques sur les organismes impliqués dans les maladies des ongles en général diffèrent en fonction de l'emplacement géographique, des saisons climatiques, de la population et la méthodologie de l'étude.

Une étude approfondie des mycoses cutanées chez des patients de onze états des Etats-Unis de 1999 à 2002 a démontré que plus de 70% des onychomycoses sont dues à des espèces de *Candida* [26]. A l'inverse, d'autres études approfondies ont montré que le *Candida* reste la deuxième étiologie la plus fréquente des onychomycoses [26,27]. Localement et régionalement notre pourcentage de 29,98% reste proche de celui de Marrakech [28], qui est de l'ordre de 24,6% et Casablanca qui est de 30% [31]. Le centre médical de Jinnah n'est pas loin de notre constat avec 30,77% [30], contrairement à l'institut pasteur de la côte d'ivoire qui a objectivé un taux élevé de 61,7% [29] (Tableau II).

Tableau II : Prévalence des candidoses entre notre étude et la littérature

	Prévalence des candidoses	Etude (référence)
Notre étude	32.22 %	CHU Fès
Dref.M	24,6%	Hôpital militaire, Avicenne de Marrakech, 2014[28].
Halim.I	30%	CHU Casablanca, 2013 [31].
Angora K.E et all	61.7%	Institut Pasteur Cote d'ivoire, 2017 [29].
Rawiuddin.A	30.77 %	Centre Médical de Jinnah, 2013 [30].

Malgré la forte incidence et la prévalence élevée de l'infection fongique des ongles, l'absence de méthodes de diagnostic rapide signifie que la confirmation en laboratoire des agents étiologiques n'est souvent pas demandée, et dans de nombreux cas, l'analyse mycologique n'est effectuée que lorsque les patients ont déjà commencé un traitement conduisant à des faux négatifs lors des diagnostics mycologiques.

2 .Répartition de la candidose en fonction de l'âge et du sexe:

L'onychomycose toute cause confondue est rare chez la population pédiatrique et se retrouve par contre dans toutes les tranches d'âge chez l'adulte. Elle est habituellement présentée comme une affection de l'adulte [32]. Ainsi, dans notre série, cette affection a été plus retrouvée chez les patients âgés de plus de 20 ans avec un pic chez la tranche d'âge entre 45 et 55 ans. Par conséquent, l'âge avancé peut être considéré en tant que facteur de risque de survenue de l'onychomycose à Candida.

Dans le même sens, d'autres travaux sur l'atteinte des ongles par *Candida* ont montré que l'adulte jeune (21 à 30 ans) était plus touché et que cette incidence augmentait avec l'âge [33]. Les raisons de cette augmentation de l'onychomycose liée à l'âge pourraient s'expliquer par une faible circulation périphérique, le diabète, le traumatisme répétitif des ongles, l'exposition prolongée aux champignons pathogènes, l'immunité sous-optimale. La faible incidence chez l'enfant rapportée dans notre étude a été accentuée par plusieurs rapporteurs dans la littérature [30].

Notre étude parallèlement à plusieurs travaux a montré une prédominance féminine des onychomycoses à *Candida* [30,34]. Parmi les facteurs favorisants, l'exposition chronique des ongles à l'eau au cours des activités domestiques, impliquant l'usage de l'eau pour la cuisine, le nettoyage des maisons, la lessive et l'utilisation des détergents ; certains ont été associés à la survenue des onychomycoses en général [33]. Il s'agit principalement des blessures mécaniques et d'exposition chronique des mains à l'eau et l'humidité. Cette prédominance féminine observée dans ce travail pourrait être liée également à la population d'étude représentée en grande partie par des femmes.

A noter qu'Elewski a montré une prépondérance masculine, et que Cohen et al ont inclus le sexe masculin comme facteur de risque général d'onychomycose [8, 33].

3 .Répartition de la candidose en fonction de la localisation :

Concernant la localisation, notre étude a confirmé la prédominance des onychomycoses à *Candida* au niveau des orteils par rapport à celles des doigts chiffrée à 56,57 %, rapportée également dans d'autres études [34,39]. La prévalence de l'onychomycose à *Candida* au niveau des pied dans un étude au sud-est de la Serbie de 2011 à 2015 est de 52,20% [27].Cela s'explique par la croissance lente de l'ongle du pied, les microtraumatismes et l'humidité que subit le pied dans les

chaussures fermées et le fait qu'on essuie moins facilement les pieds que les mains lors de notre pratique religieuse musulmane, à savoir les ablutions 5 fois par jour [34, 35,36].

Par contre, ils contrastent avec les résultats d'études menées au Gabon et au Brésil sur les aspects épidémiologiques, cliniques et mycologiques des onychomycoses [37,38]. En effet, la prédominance de *C. albicans* parmi les espèces fongiques isolées au niveau des ongles des doigts par rapport à ceux des orteils a également été notée dans une étude conduite dans l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire sur les Caractéristiques cliniques et mycologiques des onychomycoses à *Candida* chiffrée à 67,7% [29]. Ce constat pourrait s'expliquer par l'humidité fréquente des mains des femmes due aux tâches ménagères et aux soins de manucures répétés et agressifs entraînant des microtraumatismes de l'ongle.

Notre étude n'a pas permis de conclure à une liaison directe entre le sexe, la localisation et l'atteinte fongique à *candida* malgré la prédominance du sexe féminin et de la prédominance également de localisation des atteintes au niveau des orteils ($p > 0,05$). La divergence des études, ainsi que la taille de notre échantillon nous poussent vers plus d'investigations avant de conclure à des liaisons directes entre les différents facteurs sur le plan local.

II. Etude mycologique:

1. Examen direct et culture

L'examen mycologique présente une place majeure dans notre étude puisqu'il a permis de confirmer l'étiologie fongique à *Candida* dans 29,98 % des onychomycoses et identifié plusieurs espèces. L'examen direct et la culture étaient positifs pour le genre *Candida* dans 53,06 %.

L'association d'un examen direct et d'une culture positive augmente la sensibilité et la spécificité du diagnostic.

2. Espèces de *Candida*

La prépondérance de *C. albicans* parmi les espèces fongiques isolées tant au niveau des orteils (37,20 %) que ceux des ongles des doigts (34,42 %) a également été notée dans plusieurs études. La prédominance du *c.albicans* n'importe sa localisation a été approuvé dans plusieurs études. Ainsi, il était de l'ordre de 79,1% des souches isolées en Côte d'ivoire, 36.59% en sud-est de la Serbie, 71.4% en Brésil [27, 29, 37].

À côté de *C. albicans*, d'autres espèces ont été isolées. Il s'agit de *C. parapsilosis*, commensal commun de la peau qui pas été pris en considération comme pathogène, mais plutôt comme contaminant dans de nombreux spécimens cliniques [38]. Par conséquent, il était le plus répandu des espèces de *Candida*, à la fois dans l'infection des ongles d'orteils et des ongles, comparé à *C. albicans* en Turquie[39], en Inde [40], et dans les infections des ongles d'orteil, en Belgique [6]. Il faut également noter quatre rapports du même laboratoire à Londres (Medical Mycology, St. John's Institute of Dermatology) à des périodes différentes [41], suggèrent que le rapport entre *C. parapsilosis* et *C. albicans* est en augmentation.

Ilkit et al. ont signalé que *C. tropicalis* était l'agent causal de l'onychomycose le plus fréquemment isolé dans la province d'Adana [7, 42].

Quoique la plupart des études convergent vers la prédominance du *C.albicans* parmi les agents responsables d'onychomycose candidale, d'autres recherches épidémiologiques montrent que les agents responsables de l'onychomycose diffèrent selon les pays et les régions.

III. Présentation Clinique et pathogénicité :

Les ongles affectés par le *Candida* présentent plusieurs modifications dystrophiques du pli de l'ongle et un épaissement, une distorsion et une fragmentation marqués de la substance de l'ongle.

La pigmentation des tissus de l'ongle est une caractéristique clinique remarquable de l'onychomycose à candida. Dans notre étude 42,10% des patients ont présenté une pachy- xanthychie de l'ongle 15,78% parmi eux une onycholyse distale. La pigmentation a été attribuée à la mélanine produite par *C. albicans* qui est considérée comme l'un des mécanismes de virulence de ce dernier.

Classiquement, l'onychomycose à *Candida* débute par une atteinte péri-unguéale (périonyxis). L'atteinte de l'ongle est secondaire, par invasion de l'ongle sur le bord proximal qui gagne ensuite le bord distale avec un décollement de la tablette unguéale pouvant intéresser toute l'épaisseur de l'ongle. L'évolution peut aboutir à une onycholyse totale.

Plusieurs auteurs pensent que seul *C. albicans* joue un rôle pathogène primaire dans l'onychomycose. En effet, l'enzyme protéinase présente dans les espèces de *Candida* endommage les muqueuses et permet la colonisation et l'invasion de la cellule hôte et fournit de l'azote pour la croissance fongique [43]. L'activité protéinase a été détectée le plus fréquemment dans *C. albicans* et *C. parapsilosis*. L'enzyme phospholipase quand à elle, décompose les phospholipides présents dans la membrane de la cellule hôte et modifie les propriétés de la surface cellulaire (telles que la perforation ou l'adhésion). Plusieurs autres mécanismes de virulence restent à prouver dans leur rôle de décomposition tissulaire de l'ongle infecté par le candida.

Par ailleurs, les espèces de *C. parapsilosis* peuvent provoquer une onychomycose chez les ongles soumis à un traumatisme puisque de tels ongles se

trouvent dans le sol et chez les animaux [41]. Même si quatre de nos patients ont développé la candidose unguéale suite à un traumatisme occasionnant des lésions fissurantes post traumatiques, et que tous avaient une culture positive à *C.parapsilosis*, il reste difficile de faire la même conclusion que cette étude.

Dans la présente étude, trois patients présentaient une pathologie thyroïdienne dont deux ont été thyroïdectomisés et un autre suivi pour goitre. Le diabète est retrouvé chez 8 patients. Une patiente de 52 ans est porteuse de VIH, Quatre femmes sont suivies pour hépatite C et une autre pour hépatite B. Une sérologie syphilitique positive a été découverte chez une patiente lors de son bilan de grossesse.

L'onychomycose à candida reflète un équilibre étroit entre la virulence fongique et le statut immunitaire de l'individu. Toutes les pathologies sous-jacentes retrouvées chez nos patients sont décrites dans la littérature. Le diabète et les pathologies thyroïdiennes comme troubles endocriniens associés à la candidose sont considérés comme génétiquement déterminés et souvent identifiés comme une maladie familiale.

En cas d'immunosuppression sévère comme l'infection par le VIH, le candida est défini comme étant un pathogène primaire.

Les maladies vasculaires périphériques, la malnutrition, les habitudes personnelles, et les particularités professionnelles peuvent compromettre l'immunité de l'hôte au niveau du complexe unguéal, laissant une plus grande prédilection pour l'onychomycose. Dans de telles conditions, le Candida peut agir comme un agent pathogène secondaire [12,43].

Conclusion:

L'épidémiologie de l'onychomycose causée par les espèces de *Candida* peut varier. En effet, Les caractéristiques climatiques et socioéconomiques de chaque région pourraient favoriser ou non la survenue des onychomycoses spécialement candidosiques, dont la prise en charge thérapeutique est fonction des agents fongiques isolés et leur sensibilité aux antifongiques qui est variable d'une espèce à l'autre. Dans notre région, les espèces *Candida* sont relativement fréquents dans l'onychomycose et demeurent la deuxième cause de cette affection après les dermatophytes, surtout devant une population immunodéprimée accrue et une virulence fongique altérée.

A notre échelle, l'agent d'onychomycose candidale le plus fréquemment isolé est le *C. albicans* chez une population dominée par le sexe féminin et d'âge relativement avancé.

Il est vrai que la réalisation d'un prélèvement mycologique garde amplement son importance pour poser un diagnostic étiologique. Cependant, la relation de pathogénicité entre le *Candida*, la dystrophie unguéale et le statut immunitaire de l'hôte reste encore à prouver nécessitant des données cliniques plus approfondies.

La gestion biologique, clinique et thérapeutique reste indispensable pour une meilleure

prise en charge de l'onychomycose candidale. En outre, l'amélioration de la sensibilisation des patients à l'hygiène des ongles et aux procédures de traitement appropriées aide à la prise en charge des patients atteints d'onychomycose candidale.

RESUME:

Introduction : La Candidose unguéale est la deuxième cause des onychomycoses après l'origine dermatophytique. Le *Candida albicans* est considéré comme le principal agent pathogène de l'onychomycose induite par les levures.

Objectifs :

Tracer le profil épidémiologique des candidoses de l'ongle diagnostiquées au sein du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès, dresser la prévalence des agents incriminés, et mettre en valeur l'intérêt de l'analyse mycologique de ces espèces en complément à la clinique.

Matériels et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective menée au service de parasitologie-mycologie du CHU Hassan II de Fès, durant une période de 3 ans, allant du 01 Janvier 2017 au 31 décembre 2019, et portant sur 196 prélèvements mycologiques des ongles des mains et des pieds dont l'examen direct et /ou la culture est en faveur d'une atteinte candidosique.

L'examen microscopique direct des prélèvements a été réalisé entre lame et lamelle après éclaircissement par de la potasse à 30 %. Les prélèvements ont étéensemencés sur milieux gélosés Sabouraud-Chloramphénicol (SC) et Sabouraud-Actidione-Chloramphénicol (SCA) coulés en tube dans des conditions d'asepsie. Les tubes ont ensuite été mis en incubation à l'étuve à 27 °C et 37 °C pendant 48 à 72 heures. En cas de pousse, les levures ont été identifiées par leur caractère macroscopique et microscopique, physiologique (le test de filamentation en sérum), immunologique *Krusei*-Color *FUMOUIZE*® (Agglutination latex, identification de *Candida Krusei*), et enzymatique (milieux chromogènes, glabrata R.T.T *FUMOUIZE*® et les galeries d'identification Auxacolor®). Le fungi-test a été réalisé pour tester la

sensibilité aux antifongiques. L'Excel et le logiciel SPSS IBM 21.0 ont été l'outil d'exploitation de la base de données de nos patients.

Résultats :

Durant les trois ans de notre étude nous avons reçu 941 prélèvements de l'ongle. 196 dossiers étaient en faveur d'une atteinte candidosique. 152 parmi eux avaient un examen direct positif et une culture positive à candida. Les levures ont représenté 29,98% de l'ensemble des espèces isolées en culture. Sur les 196 dossiers, 146 (74,5 %) étaient de sexe féminin, soit un sex-ratio H/F de 0,34.

La moyenne d'âge des patients était **de 47,92ans** avec des extrêmes allant de 3 à 85 ans.

L'examen direct a montré un taux de positivité à Candida de 75,71 % (blastospores chez 58 patients, pseudofilaments chez 62 patients et les deux formes chez 28 patients) contre 77,55% pour la culture. Parmi les différentes espèces de candida isolées en culture, le *Candida albicans* arrive en tête avec 36,18%, suivi de *C. parapsilosis* avec 21,05% (32/152). Les espèces *C.tropicalis*, *C.lusitanae* et *C.sake* viennent après avec respectivement des taux de 13.81% et 9. 86%. L'espèce *C.sake* a été confirmée sur 1 prélèvement. Les espèces de *Candida non albicans* non identifiés représentent quant à eux un taux de 20,38 %.

Au niveau des ongles des doigts, cinq espèces de *Candida* ont été identifiées dont les plus fréquentes sont par ordre d'importance : *C. albicans* (34,42%), *C. tropicalis* (18,03 %), et *C. parapsilosis* (18,03 %). Parallèlement, au niveau des ongles des orteils, les espèces les plus retrouvées ont été également *C. albicans*, *C. parapsilosis* et *C. tropicalis* avec des taux respectifs de 37,20 %, 21,17 % et 10,58%.

En ce qui concerne les atteintes doubles des ongles des doigts et orteils, les principales espèces de Candida isolées simultanément étaient : *C. albicans* et *C.parapsilosis*.

Dans notre étude 64 patients ont présenté une pachy-xanthonychie de l'ongle soit 42,10% et 24 parmi eux une onycholyse distale soit 15,78%. Parmi ces derniers 36 présentaient une atteinte dermatologique sous-jacente, notamment un lupus érythémateux systémique (LES), un lichen pileux, un psoriasis et un vitiligo. Quatre patients ont développé la candidose unguéale suite à un traumatisme occasionnant des lésions fissurantes post traumatiques, tous avaient une culture positive à *C.parapsilosis*. Cliniquement, trois patients présentaient une pathologie thyroïdienne dont deux ont été thyroïdectomisés et un autre suivi pour goitre. Le diabète est retrouvé chez 8 patients. Une patiente de 52 ans est porteuse de VIH, quatre femmes sont suivies pour hépatite C et une autre pour hépatite B. Une sérologie syphilitique positive a été découverte chez une patiente lors de son bilan de grossesse.

Discussion et conclusion:

Les espèces *Candida* sont devenues des agents pathogènes importants de l'onychomycose. Il ressort de notre travail que le *Candida albicans* demeure l'espèce la plus isolée indépendamment de la localisation chez une population d'âge plutôt avancé dominée par le sexe féminin. Cependant, la relation de pathogénicité entre le *Candida*, la dystrophie unguéale et le statut immunitaire de l'hôte reste encore à prouver nécessitant des données cliniques plus approfondies.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. Veer P, Patwardhan NS, Damle AS. Study of onychomycosis: prevailing fungi and pattern of infection. *Indian J Med Microbiol.* 2009 ;25:53–6. doi:10.4103/0255–0857.31063.
- [2] . Velez A, Linares MJ, Fenández–Roldan JC, Casal M. Study,of onychomycosis in Cordoba, Spain: prevailing fungi and pattern of infection. *Mycopathologia.* 1997;137:1–8. doi: 10.1023/A:1006874303991.
- [3] . Loo DS. Onychomycosis in the elderly: drug treatment options. *Drugs Aging.* 2007;24: 293–302. doi:10.2165/0000 2512–200724040–00003.
- [4] For trainjobs Esthétique–cosmétique Fiches de révision CAP Esthétique Biologie –nSystème tégumentaire – Appareil unguéal.
- [5] .Kirkpatrick CH, Rich RR, Bennett JE. Chronic mucocutaneous candidiasis: model– building in cellular immunity. *Ann Intern Med.* 1971;74:955–78.
- [6]. Figueiredo VT, Assis Santos D, Resende MA, Hamdan JS. Identification and in vitro antifungal susceptibility testing of 200 clinical isolates of *Candida* spp. responsible for fingernail infections. *Mycopathologia.* 2007;164:27–33. doi:10.1007/s11046–007–9027–6.
- [7] M. Ilkit, Onychomycosis in Adana, Turkey: a 5–year study, *Int. J. Dermatol.* 44 (2005) 851–854.
- [8] .Cohen JL, Scher RK, Pappert AS. The nail and fungus infections In: B. Elewski (ed.), *Cutaneous fungal infections.* Lgaku–Shoin, New York 1992; pp 106–22.
- [9].Venugopal PV, Venugopal TV. Superficial mycoses in Saudi Arabia. *Australas J Dermatol* 1992; 33: 45–8.
- [10].Hube B, Naglik J. Extracellular hydrolases. In: Calderone RA, editor. *Candida and candidiasis.* Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 107–22.
- [11]. Ray TL, Payne CD. Comparative production and rapid purification of *Candida* acid proteinase from protein–supplemented cultures. *Infect Immun.* 1990;58:508–14.

- [12]. Duhard E. Ongle normal et ongle mycosique. *Ann Dermatol Venereol* 2003;130(12)31–6. [13]. Chi CC, Wang SH, Chou MC. The causative pathogens of onychomycosis in southern Taiwan. *Mycoses*. 2005;48: 413–20. doi:10.1111/j.1439–0507.2005.01152.x. [14]. Das S, Goyal R, Bhattacharya SN. Laboratory based epidemiological study of superficial fungal infections. *J Dermatol*. 2007;34:248–53. doi:10.1111/j.1346–8138.2007. 0026
- [15]. Bonnetblanc J–M. Item 288 – Troubles des phanères : onyxis. *Ann. Dermatol. Vénérologie*, 2012 vol. 139, p. A209-A212
- [16]. Gulec AT, Demirbilek M, Seckin D, Can F, Saray Y, Sarifakioglu E, et al. Superficial fungal infections in 102 renal transplant recipients: a case–control study. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49:187–92. doi:10.1067/S0190–9622(03)00861–2.
- [17]. Effendy I., Lecha M. Epidemiology and clinical classification of onychomycosis. *J Eur Ac Dermatol Venereol* 2005;19:8—12
- [18]. Soltani M, Khosravi AR, Shokri H, Sharifzadeh A, Balal A. A study of onychomycosis in patients attending a dermatology center in Teheran, Iran. *J Mycol Med* 2015; 61:47–50. doi:10.1128/IAI.73.9.6147– 6150.2005.
- [19]. Jayatilake JA, Samaranayake YH, Samaranayake LP. A comparative study of candidal invasion in rabbit tongue mucosal explants and reconstituted human oral epithelium. *Mycopathologia*. 2008;165:373–80. doi:10.1007e
- [20]. Dorschner RA, Lopez–Garcia B, Massie J, Kim C, Gallo RL. Innate immune defense of the nail unit by antimicrobial peptides. *J Am Acad Dermatol*. 2004;50:343–8. doi: 10.1016/j.jaad.2003.09.010.
- [21]. Lu Q, Jayatilake JAMS, Samaranayake LP, Jin LJ. Hyphal invasion of *Candida albicans* inhibits the expression of human β -defensins in experimental oral candidiasis. *J Invest Dermatol*. 2006;126:2049–56. doi:10.1038/sj.jid.5700346.

- [22].Chi CC, Wang SH, Chou MC. The causative pathogens of onychomycosis in southern Taiwan. *Mycoses*. 2005;48: 413–20. doi:10.1111/j.1439-0507.2005.01152.x. [23].Chabasse D. Place du laboratoire dans le diagnostic mycologique d'une onychomycose. *Rev Fr Lab* 2011;432:43—50.
- [24].Pihet M,Marot A,Diagnostic biologique des candidoses *Revue francophone des laboratoires* , 2013, 450: 2–10
- [25].Liu J, Lei P. Histopathologic and scanning electron microscope examination of the nail and hair in chronic mucocutaneous candidiasis. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49:154–6. doi:10.1067/mjd.2003.335.
- [26]. Jeannette Guarner ; Mary E. Brandt *Histopathologic Diagnosis of Fungal Infections in the 21st Century* Published By American Society for Microbiology JournalsHistory 2011 ;
DOI: 10.1128/CMR.00053–10
- [27]. The prevalence of *Candida* onychomycosis in Southeastern Serbia from 2011 to 2015 S.Otasevi et all 18 November 2015 Blackwell Verlag GmbH *Mycoses*, 2016, 59,
167–172
- [28]. Épidémiologie des onychomycoses à l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech : Expérience du service de Parasitologie et Mycologie Médicale These soutenue 04/12/2014 PAR Mlle. M.DREF
- [29]. Caractéristiques cliniques et mycologiques des onychomycoses à *Candida* à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire K.E. Angora et al Masson SAS
<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.10.003>
- [30]. Raziuddin A et al. Frequency of *Candida* in onychomycosis March 2013, Volume 63, Issue

- [31]. Halim I, El- Kadioui F, Soussi Abdallaoui M. Les onychomycoses à Casablanca (Maroc). *J Mycol Med* 2013;23:9–14.
- [32]. Guibal F, Baran R, Duhard E, Feuilhade M. Épidémiologie et prise en charge des onychopathies a priori d'origine mycosique en médecine générale. *J Mycol Med* 2009;19:185–90.
- [33]. TAGHOUTI AMAL ATTEINTE FONGIQUE DE L'ONGLE : PROFIL ÉPIDÉMIOLOGIQUE ET BIOLOGIQUE AU CHU HASSAN II DE FES MEMOIRE
Session Mai 2017
- [34]. Anane S., Aoun K. Onychomycose dans la région de Tunis : Données épidémiologiques et mycologiques. *Ann Dermatol Venereol* 2001;128:73–36.
- [35] Otasevic S, Barac A, Pekmezovic M, et al. The prevalence of *Candida* onychomycosis in Southeastern Serbia from 2011 to 2015. *Mycoses* 2016; 59:167– 72. [36]. Chabasse D. Peut-on chiffrer la fréquence des onychomycoses ? *Ann Dermatol Venereol* 2003;130:1222—30.
- [37] Epidemiological and mycological data of onychomycosis in Goiania, Brazil L. K. H. Souza, O. F. L. Fernandes, X. S. Passos, C. R. Costa, J. A. Lemos and M. R. R. Silva Instituto de Patologia Tropical e Saude Publica, Universidade Federal de Goias,
Goiania, Brazil doi:10.1111/j.1439-0507.2008.01663.x • *Mycoses* 53, 68–71
- [38]. Fich F, Abarzua-Araya A, Perez M, Nauhm Y, Leon E. *Candida parapsilosis* and *Candida guilliermondii*: emerging pathogens in nail candidiasis. *Indian J Dermatol* 2014; 59:24–9.
- [39] J.R. Naglik, S.J. Challacombe, B. Hube, *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67 (2003) 400–428. [40]. Banerjee, U., Sethi, M. and Paricha, J. S. (1990) Study of onychomycosis in India. *Mycoses* 33, 411–415.

- [41]. R. Segal¹, A. Kimchi², A. Kritzman¹, R. Inbar³, and Z. Segal¹ The frequency of *Candida parapsilosis* in onychomycosis. An epidemiological survey in Israel.
- [42]. Morris–Jones R, Gomez BL, Diez S, Uran M, Morris–Jones SD, Casadevall A, et al. Synthesis of melanin pigment by *Candida albicans* in vitro and during infection. *Infect*
- [43]. Tosti A, Piraccini BM, Lorenzi S, D’Antuono A. *Candida* onychomycosis in HIV infection. *Eur J Dermatol.* 1998;8: 173–4.