

Association de Biologie Praticienne

70 avenue des Gobelins 75013 PARIS - Tél : 01 43 31 94 87 - Fax : 01 43 37 39 92

Email : secretariatbp@orange.fr

Enregistrée à la Préfecture de la Région de l'Ile de France, délégation à la formation professionnelle,
sous le N°11750 397 375 SIRET : 321 609 489 00034 – NAF 9499Z

Dr Arnaud FEKKAR arnaud.fekkar@aphp.fr	Anne-Marie FIHMAN
Consultant chargé de la fabrication des échantillons et de l'exploitation des résultats	Responsable scientifique Coordonnateur

MYCOLOGIE Confrontation N°01/2016

Rapport final 10/05/2016

Chères consœurs, chers confrères,

Vous trouverez ci-après les résultats de la confrontation n°1 de Mycologie.

Nombre de participants : 209

1) Echantillon 1 (bouchon bleu)

Il s'agissait d'une culture obtenue après ensemencement d'un prélèvement d'une lésion sous-mammaire chez une femme de 52 ans diabétique avec notion de tabagisme actif.

1.1 – Résultats : *Trichophyton rubrum*

1.2 - Techniques d'identification

Le prélèvement a été ensemencé sur milieu de Sabouraud chloramphénicol-gentamicine-actidione et incubé à 25°C. L'examen macroscopique est prépondérant pour l'identification. A l'examen microscopique réalisé en prélevant une colonie que l'on dissocie dans 2 gouttes de lactophénol ou bleu-lactophénol ou en utilisant la technique du ruban adhésif, on notera la présence ou non des éléments caractéristiques des dermatophytes : microconidies, macroconidies et ornements particuliers.

1.3 - Caractéristiques morphologiques :

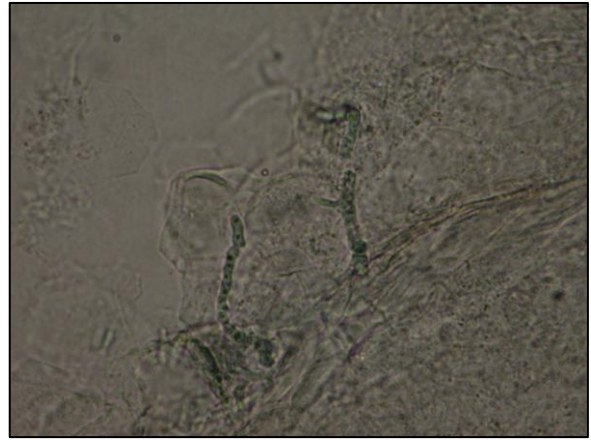
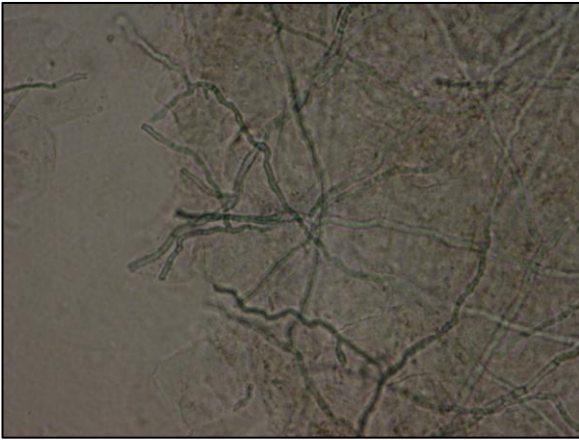
Trichophyton rubrum est un dermatophyte cosmopolite strictement anthropophile. Dermatophyte le plus fréquemment retrouvé en France, il est responsable d'intertrigos interorteils ou des grands plis, d'onxyis et d'épidermophyties circinées de la peau glabre. Il est très rarement responsable de parasitisme pilaire.

A l'examen microscopique, on recherchera la présence de microconidies piriformes disposées en acladium. Les macroconidies (lisses, allongées et à paroi mince) sont rarement observées. On recherchera la présence d'organes triangulaires, éléments spécifiques de *T. rubrum*. Le pléomorphisme (phénomène de disparition des éléments caractéristiques) est fréquent chez *T. rubrum*. Néanmoins, dans ce cas, l'aspect macroscopique et l'absence d'élément particulier en microscopie permettent de poser le diagnostic d'espèce.

Diagnostic mycologique

Toutes les photos ci-après ont été strictement obtenues à partir du cas proposé.

● Examen de la lésion



Examen direct à l'état frais (grossissement x 40)

● Aspect macroscopique



Après 2 à 3 semaines de culture à 25°C, le champignon forme une colonie discoïde duveteuse blanchâtre à centre bombé. Le verso est incolore puis se pigmente en brun en vieillissant.

Culture de 3 semaines sur milieu de Sabouraud

● Aspect microscopique



- Nombreuses microconidies piriformes disposées en accladium (✓)

1.4 - Thérapeutique recommandée

En local : dérivé azolé, terbinafine, tolnaftate ou cyclopiroxolamine.

1.5 - Commentaires concernant les réponses

- **Réponse exacte** : *Trichophyton rubrum*, 122 fois (58,4 % des participants)

- **Réponse inexacte ou incomplète** : 48 fois (23% des participants)

Identification du genre mais pas de l'espèce, 33 fois (15,8 % des participants)

- *Trichophyton rubrum*, var. africaine, 9 fois
- *Trichophyton mentagrophytes*, 11 fois
- *Trichophyton tonsurans*, 5 fois
- *Trichophyton schoenleinii*, 4 fois
- *Trichophyton sp*, 2 fois
- *Trichophyton verrucosum (ochraceum)*, 1 fois
- *Trichophyton glabrum*, 1 fois

Identification d'un dermatophyte autre, 5 fois (2,4 % des participants)

- *Microsporum audouini var langeronii*, 2 fois
- *Epidermophyton floccosum*, 2 fois
- *Microsporum canis*, 1 fois

Autre identification, 10 fois (4,8 % des participants)

- *Aspergillus fumigatus*, 1 fois
- *Aspergillus niger*, 1 fois
- Mucorales, 1 fois
- *Penicillium*, 1 fois
- *Scedosporium*, 1 fois
- *Malassezia*, 3 fois
- *Candida albicans*, 1 fois
- *Trichosporon sp.*, 1 fois

- **Réponse non retournée** : 17 fois (8,1 % des participants)

- **Autre** : 22 fois (10,5 % des participants)

- Culture/subculture stérile, 15 fois
- Autre, 6 fois
- Souche transmise, 1 fois

2) Echantillon 2 (bouchon vert)

Il s'agissait d'une culture obtenue à partir d'un prélèvement distal protégé réalisé chez un homme de 42 ans admis le jour même à l'hôpital pour détresse respiratoire aiguë dans un contexte septique avec une insuffisance rénale aiguë sur un terrain évocateur d'hémopathie maligne.

2.1 – Résultats : *Aspergillus section nidulantes*

2.2 - Techniques de laboratoire utilisées

Le prélèvement a été ensemencé sur milieu de Sabouraud – chloramphénicol-gentamicine sans actidione. L'isolat obtenu a été repiqué sur milieu au malt. L'examen macroscopique est important mais l'examen microscopique reste déterminant pour l'identification. Il est réalisé à l'état frais en prélevant une colonie que l'on dissocie dans 2 gouttes de lactophénol ou bleu-lactophénol, ou en utilisant la technique dite du drapeau (ruban adhésif).

2.3 - Caractéristiques morphologiques

Aspergillus section nidulantes

Diagnostic mycologique

Toutes les photos ci-après ont été strictement obtenues à partir du cas proposé.

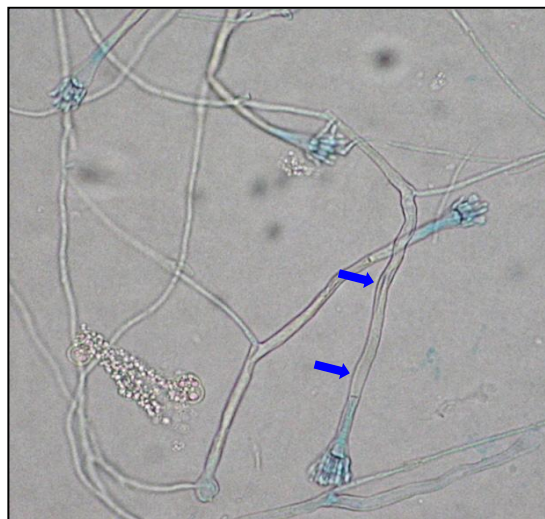
• Aspect macroscopique



Colonies duveteuses blanchâtres. Verso pourpre en vieillissant.

Culture de 5 jours à 25°C sur milieu au malt

• Aspect microscopique



Présence de tête aspergillaire bisériée portant donc métule (➔) et phialide (➔) à l'extrémité d'un conidiophore lisse, sinueux (➔), et assez court.

2.4 - Thérapeutique recommandée

Dans ce contexte et après exploration complémentaire, présence retenue comme contaminant, abstention thérapeutique.

2.5 - Commentaires concernant les réponses

- **Réponse exacte** : *Aspergillus* section *nidulantes* ou *Aspergillus nidulans* (132 fois – 63,2 % des participants)

- **Réponse inexacte ou incomplète** : 68 fois - 32,5 % des participants

Identification du genre mais pas de l'espèce :

- *Aspergillus* section versicolores, 11 fois
- *Aspergillus terreus* / section terrei, 10 fois
- *Aspergillus fumigatus* / section fumigati, 7 fois
- *Aspergillus candidus*, 5 fois
- *Aspergillus* section flavi, 3 fois

- *Aspergillus sp.*, 3 fois
- *Aspergillus lentulus*, 1 fois

Identification d'une autre moisissure :

- *Penicillium*, 7 fois
- *Scedosporium*, 7 fois
- *Scopulariopsis*, 2 fois
- *Mucor*, 2 fois
- *Paecilomyces*, 2 fois
- *Trichophyton sp.*, 3 fois

Autres :

- Culture stérile, 2 fois
- Absence/échec d'identification, 2 fois
- *Trichosporon*, 1 fois

- **Réponse non retournée** : 9 fois - 4,3% des participants

3) **Échantillon 3** (à ensemençer)

Il s'agissait d'un liquide de lavage bronchiolo-alvéolaire obtenu chez un homme transplanté hépatique hospitalisé en soins intensifs depuis 15 jours.

Après identification de l'agent pathogène, une détermination de la sensibilité de l'isolat aux antifongiques était demandée pour cet échantillon.

3.1 – Résultats : *Candida glabrata*

3.2 - Techniques de laboratoire utilisées

Ensemencement sur milieu de Sabouraud sans actidione ou sur milieu chromogène.

3.3 - Identification

Observation microscopique de la culture : levures de petites tailles n'émettant ni tube germinatif, ni filament.

Par spectrométrie de masse, banque Bruker, Autoflex.

3.4 - Thérapeutique recommandée

La présence de *Candida glabrata* dans un lavage bronchiolo-alvéolaire n'implique pas l'instauration d'un traitement spécifique. C'est un reflet de la colonisation fongique du patient.

3.5 - Antifongigramme

Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) par technique de référence (microdilution en plaque) de l'EUCAST :

Antifongique	CMI en µg/mL	Interprétation proposée
Amphotéricine B	1	sensible
Fluconazole	8	intermédiaire
Voriconazole	0,125	intermédiaire / non interprétable
Itraconazole	1	intermédiaire / non interprétable
Posaconazole	0,5	intermédiaire / non interprétable
Caspofungine	0,25	sensible
Micafungine	<0,03	sensible

3.6 - Commentaires concernant les réponses

- **Réponse exacte** : *Candida glabrata*, 201 fois - 96,2 % des participants

- **Réponse inexacte ou incomplète** :

Identification du genre mais pas de l'espèce, 2 fois (0,9 % des participants)

- *Candida tropicalis*, 1 fois

- *Candida sp.*, 1 fois

- **Réponse non retournée** : 6 fois (2,9 % des participants)

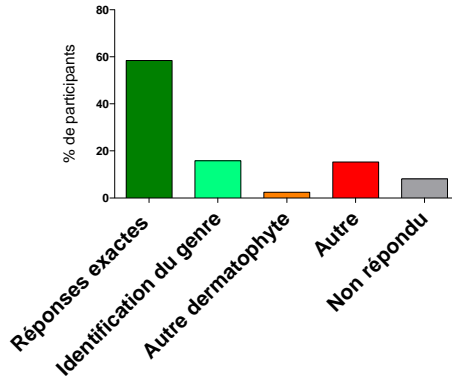
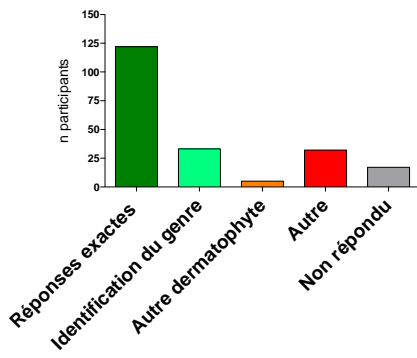
Résultats des antifongigrammes

Réponse	Amphotéricine B	Fluconazole	Posaconazole	Voriconazole	Echinocandines
Non testé	6	4	99	14	48
Sensible	129	83	6	113	83
Intermédiaire	2	35	2	7	1
Résistant	3	23	2	4	0
Pas de réponse	69	64	100	71	77
Total	209	209	209	209	209

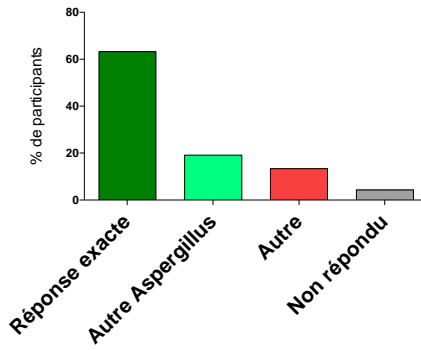
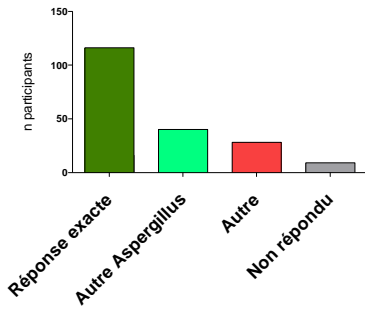
Commentaires :

La levure est naturellement peu sensible aux antifongiques azolés. Pour le fluconazole, *Candida glabrata* est considéré comme étant de sensibilité intermédiaire pour des CMI allant jusqu'à 32 µg/mL inclus et résistant au-delà. Les experts de l'EUCAST et du CLSI ne se prononcent pas/plus sur l'interprétation clinique des CMI pour les autres azolés. On notera cependant que, selon les anciens seuils du CLSI, cet isolat aurait été considéré comme sensible au voriconazole. Pour l'évaluation de la sensibilité aux échinocandines, on privilégiera la micafungine et l'anidulafungine par rapport à la caspofungine qui présente de trop importantes variations intra- et inter-laboratoire. Ici, l'isolat est sensible aux échinocandines. L'isolat est également sensible à l'amphotéricine B.

Trichophyton rubrum



Aspergillus nidulans



Candida glabrata

