UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE

PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques :
Sciences Biologiques appliquées et Santé

LES CANDIDOSES VAGINALES à *Candida albicans*

Présenté par : Ibtissam Msibah

Encadré par :
Pr Sbiti Mohammed (Professeur de microbiologie à l'Hôpital Militaire Moulay Ismail de Meknès)
Pr Maâzouzi Nadia (Faculté des sciences et technique de Fès)

Soutenu le : 16 Juin 2015
Devant le jury composé de :
Pr Maâzouzi Nadia : Présidente (Encadrante à la FST)
Pr Sqalli Hakima : Examinatrice
Pr Sbiti Mohammed : Encadrant (Encadrant Externe)

Année Universitaire : 2014-2015

Remerciements

Au terme de ce projet, je tiens d'abord à exprimer ma profonde gratitude au directeur de l'hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès qui m'a accueilli dans sa structure.
Je tiens à remercier énormément mon encadrante : Pr Nadia Maâzouzi, professeur à la FST-Fès, de m'avoir encadré avec bienveillance et de m'avoir prodigué ses conseils fructueux, durant toute la durée de ce travail.
Je remercie sincèrement Dr Mohammed Sbiti et Dr Jaouad Rochdi, pour m'avoir encadré tout au long de mon stage et m'avoir apporté ses précieux conseils ainsi que sa disponibilité et un grand merci au personnel du service de Bactériologie Pour toute l'aide qu'ils nous apporté lors de la réalisation de ce travail .
Mes remerciements s'adressent également à Pr Hakima Sqalli membre de jury de vouloir accepter de jurer ce modeste travail.
Mes remerciements les plus distingués vont aussi à tous les professeurs de la FST et plus particulièrement les professeurs de biologie et je souhaite que ce travail soit le fruit et le témoin de la bonne formation acquise et de leur effort.

MES VIFS REMERCIEMENTS

Dédicace

« Louange à Allah qui m'a guidé à ceci. Je
N'aurais pas été guidée, si Allah ne m'avait pas guidé».

À mes parents …

À mes frères …

À tous ceux et celles qui m'aiment …

À tous ceux qui de près ou de loin ont
Collaboré à la réalisation de ce travail.

Résumé

Les candidoses vulvo-vaginales récidivantes sont difficiles à guérir, du fait de leur physiopathologie encore mal connue. Les responsables de ces mycoses sont des levures du genre *Candida* (*albicans ou glabrata*) qui sont dotées d'un grand pouvoir d'adaptation et qui peuvent passer d'un état saprophyte à un état pathogène dès que des conditions idéales à leur développement se présentent, (chaleur, humidité, pH acide). De nombreux facteurs favorisants peuvent être à l'origine des candidoses ce qui explique la difficulté à trouver les causes de ces récidives.

Son diagnostic est principalement clinique. Des explorations complémentaires sont rarement utilisées, telle que l'examen direct, la culture mycologique et l'identification de l'espèce en cause.

Dans le but de disposer de données de base nécessaires à l'élaboration d'une démarche diagnostic de la Candidose Vulvo-vaginale (CVV), nous nous sommes proposé d'étudier sa prévalence spécifique, la fréquence d'isolement de l'espèce albicans chez les femmes présentant des leucorrhées, au moyen d'un diagnostic mycologique et d'une fiche d'enquête. Les résultats ont montré que 15,83 % des femmes ont une Candidose, l'espèce albicans a été isolée dans 36,84 % des cas. Les données rassemblées nous ont permis de conclure que les CVV sont les plus fréquentes parmi l'ensemble des vaginites dans notre série et *Candida albicans* est la plus retrouvée parmi les autres espèces du *Candida*. La contraception orale présente le facteur favorisant le plus rencontré chez les femmes étudiées.

Table des matières

Résumé ---------- 00
Liste des abréviations ---------- 00
Liste des tableaux ---------- 00
Liste des figures ---------- 00
Liste des images ---------- 00

Introduction ---------- 01

Partie 1 : Présentation de l'Hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès ---------- 02
I. Description de l'Hôpital ---------- 02
II. Description du paillasse de réception ---------- 02
Partie 2 : Synthèse bibliographique ---------- 03
I. Flore Vaginale Commensale ---------- 03
II. Clinique et diagnostic du *candida* ---------- 05
1. Historique ---------- 05
2. Définition ---------- 05
2.1. Les vulvo-vaginites ---------- 05
2.2. Les vulvo-vaginites candidosiques ---------- 05
3. Epidémiologie ---------- 06
3.1 Répartition géographique ---------- 06
3.2 Prévalence ---------- 06
3.3 Mode de contamination ---------- 07
3.3.1 Contamination endogène ---------- 07
3.3.2 Contamination exogène ---------- 07
4. La Clinique ---------- 08
4.1 Rappel sur la physiologie féminine ---------- 08
4.2 Signes cliniques cardinaux ---------- 08
4.2.1 Candidoses génitales chez la femme ---------- 08
5. Diagnostic Mycologique ---------- 09
5.1 Le genre Candida ---------- 09
5.1.1 Classification des champignons ---------- 09
5.1.2 Caractères morphologiques de *Candida albicans* ---------- 11
5.2 Structure et ultrastructure des *Candida* ---------- 12
5.3 Caractères biologiques de *Candida albicans* ---------- 12
5.3.1 Milieu de vie ---------- 12
5.3.2 Ph ---------- 12
5.3.3 Température ---------- 12
5.3.4 Nutrition ---------- 12
Partie 3 : Matériel et méthode ---------- 14
I. Prélèvement Vaginal ---------- 14
1. Condition de Prélèvement ---------- 14
2. Matériel de Prélèvement ---------- 14
3. Mode Opératoire ---------- 14
II. Etude Cytobactériologique ---------- 15
1. Examen Direct ---------- 15
2. Examen après coloration de Gram ---------- 16

3. Culture et Incubation ---------- 16
4. Lecture ---------- 17
5. Identification des levures ---------- 18
Partie 4 : Résultats et discussion ---------- 20
I. Prélèvement positifs au *candida* ---------- 20
II. Prélèvement positifs au *Candida albicans* ---------- 21

Conclusion Générale ---------- 23
Références bibliographiques ---------- 24
Annexes ---------- 26

Liste des abréviations

PV :	Prélèvement Vaginal
ITS :	Infection Transmise sexuellement
TV :	*Trichomonas Vaginalis*
SGB :	Streptocoque du Groupe B
CA :	*Candida albicans*
MST :	Maladies Sexuellement Transmissibles
CT :	*Chlamydia Trachomatis*
CVV :	Candidoses vulvo-vaginales

Liste des tableaux

Tableau I: Flore vaginale normale et fréquence des bactéries isolées du vagin chez la femme indemne d'infection……..04

Tableau II: Classification du *C. albicans* d'après Kwon Chung et Bennet(1992)……...10

Liste des figures

Figure 1: Flore vaginale Normale a la coloration de Gram.……04
Figure 2 : Représentation schématique des levures es responsables de candidoses vaginales……..06
Figure 3 : Anatomie et microbiologie de l'appareil génital féminin……...08
Figure 4: Stratégie diagnostique face à une leucorrhée……..09
Figure 5 : Caractère morphologique de *candida albicans*……..11
Figure 6: Prélèvements par écouvillonnage sous spéculum.……....14
Figure 7 : Pourcentage des prélèvements positifs au *Candida*……....20
Figure 8: Fréquence d'isolement de l'espèce *C. albicans*…….....21

Liste des images

Image 1: Examen direct d'un prélèvement vaginal…….15
Image 2: Résultat d'un examen direct positif, montrant un filament (F) et des levures (Lv).Grossissement x 40)……16
Image 3 : Culture pour isolement sur le milieu Sabouraud-chloramphénicol.……17
Image 4 : Aspect macroscopique des colonies de *Candida* sur milieu Sabouraud-chloramphénicol.…….....18
Image 5 : Résultat du test de blastèse (Grossissement, x 40)…….19
Image 6 : Matériels de laboratoire utilisés lors de la partie pratique…….....26
Image 7: Gélose du sabouraud-chloramphénicol.……26

La flore commensale vaginale est composée à 95% de différentes espèces du genre lactobacillus formant flore de Doderleïn, et à 5% [25], d'autres groupes bactériens, Toute perturbation dans la composition de cette flore, peut entrainer des complications chez la femme.

D'apparence bénigne, l'infection vaginale mycosique n'en reste pas moins une pathologie désagréable et gênante qui peut même être très invalidante.

Les principales responsables de la maladie sont des levures saprophytes du genre Candida qui vivent en commensal sur les muqueuses du tube digestif (bouche, estomac, intestin, rectum) et du vagin chez le sujet sain. L'organisme humain est normalement équipé pour faire obstacle (grâce à son système immunitaire) au développement mycélien pathogène de ces levures.

Cependant à un moment de leur vie, 3 femmes sur 4 selon la majorité des auteurs seront exposées à des agents endogènes ou exogènes qui viendront perturber et dérégler cet équilibre hôte-levure. Si l'organisme ne peut résister avec ses défenses naturelles, alors c'est l'infection, qui s'exprimera par des symptômes classiques de candidoses variant plus ou moins d'une personne à l'autre [25].

Dans la première partie de ce travail, nous étudierons donc, la Candidose Vaginale (CV), son importance, sa clinique, le responsable, le genre Candida, son diagnostic mycologique.

Puis dans une seconde partie, après avoir présenté le terrain d'action de la levure, On passe à une étude prospective afin de se familiariser avec le diagnostic bactériologique des prélèvements vaginaux.

La dernière partie, est une étude rétrospective sur cinq mois allant de Janvier à Mai 2015 réalisée au sein de laboratoire de bactériologie de l'hôpital Militaire Moulay Ismail de Meknès.

Partie 1 : Présentation de l'Hôpital militaire Moulay Ismail Meknès

I. Description de l'Hôpital Militaire Moulay Ismail Meknès (HMMI)

Mon stage a été effectué au laboratoire de biologie médicale de l'hôpital Militaire Moulay Ismail-Meknès ; cet hôpital polyvalent a une capacité de 294 lits et comporte plusieurs services à savoir la chirurgie, la médecine et la réanimation.

Le laboratoire comprend une salle d'accueil des patients et quatre salles de prélèvements et il prend en charge les analyses des patients de l'hôpital et des patients externes dans les domaines suivants:

-Transfusion

-Biochimie

-Hématologie

- Bactériologie

-Parasitologie-mycologie

-Sérologie-immunologie

II. Description du paillasse de réception

Les prélèvements proviennent des patients hospitalisés et aussi des externes (militaires et leurs familles ainsi que les civils).

Après le remplissage du bon de demande d'examen et les documents obligatoires.

Partie 2 : Synthèse bibliographique

I. Flore Commensale Vaginale

On appelle flore un ensemble de microbes qui vivent dans un organisme. Généralement, il s'agit de bactéries. La flore commensale est la flore normale d'un organe et qui participe soit à sa défense, soit à son fonctionnement, soit au bon état de ses muqueuses.

Elle est constituée de nombreux germes 10^5 à 10^8 bactéries par gramme de sécrétions. Elle est dominée par le bacille deDôderlein (95% de la flore normale) associé à de nombreuses autres espèces. Ces bactéries vivent en étroite interdépendance et constituent un véritable écosystème [25].

Chez la femme indemne d'infection, le vagin héberge déjà 30 % de *Candida albicans* et bien d'autres germes qui ne deviennent pathogènes que dans certaines conditions.

Le bacille de Dôderlein est un *Lactobacillus acidophilus* (bacille gram$^+$), immobile, aérobie, saprophyte habituel du vagin. Les autres germes rencontrés dans le vagin normal sont des aérobies (*Lactobacillus sp*) et anaérobies (*Bifidobactérium*) présents en quantité plus ou moins importante mais toujours minoritaire.

La composition de la flore vaginale varie en fonction de la période de la vie génitale de la femme:

-De la naissance à la puberté et après la ménopause, la flore vaginale est essentiellement constituée de germes d'origine cutanée et digestive (*corynébactérie, entérobactérie, bactéroïdessp*...) [25].

-A la puberté, l'imprégnation oestrogénique débutante s'accompagne de la colonisation progressive du vagin par une flore dominée par le bacille de Dôderlein,

-Au cours de la grossesse, la richesse en glycogène de l'épithélium vaginal s'accroît considérablement. Cela entraîne une augmentation de l'acide lactique et donc par conséquent une augmentation de l'acidité vaginale défavorable à la prolifération de différents agents infectieux excepté les levures [25].

Tableau 1 : Flore vaginale normale: fréquence des bactéries isolées du vagin chez la femme indemne d'infection [26]

GROUPE 1: 10^8 a 10^{12} Bactérie par gramme de sécrétion	Espèces bactériennes dont le portage est habituel (98 à 100 % des femmes) : *Lactobacillus sp* (Bacilles de Dôderlein) Corynebactéries Streptocoqueset germes hémolytiques non groupables .
GROUPE 2: <10^4 Bactérie par gramme de sécrétion	Espèces bactériennes dont le portage est fréquent (2 à 40 % des femmes) : Streptocoques du groupe B et D *E*ntérobactéries*(Escherichia coli, Proteus* ..) Anaérobies (*Clostridium sp, Bacteroides, Mobiluncus* ...) *Gardnerellavaginalis*, certaines Corynébactéries *Candida* Mycoplasmes (*Ureaplasma, Mycoplasme hominis*...)
GROUPE 3	Espèces bactériennes dont le portage est plus exceptionnel (0,2 à 2 % des femmes) : Pneumocoques Haemophilus influenzae et Haemophilus para influenzae Streptocoques du groupe A (SGA)

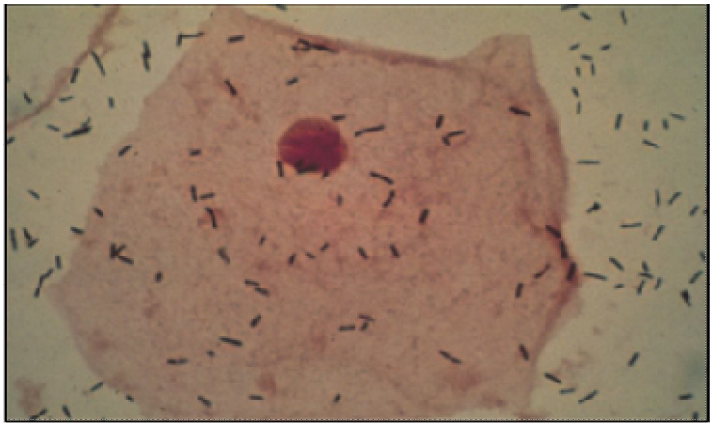

Figure 1 : Flore vaginale Normale a la coloration de Gram

II. Clinique et diagnostic du candida

1. Historique

Les problèmes causés par les levures sont connus depuis l'antiquité:

-Déjà Hippocrate, le père de la médecine au IV ème siècle avant Jésus-Christ, décrivit les lésions buccales caractéristiques « le muguet» et leur association à une altération sévère de l'état général.

-En 1500 à 2000 ans avant JC, Galien souligne leurs fréquentes survenues chez les enfants.

-En 1849, Wilkinson a décrit le rôle du Candida dans certaines vaginites.

-En 1853: Robier est le premier à utiliser le nom d'espèce albicans: Oïdium albicans. Puis, pendant longtemps, on parle de Monilia albicans pour caractériser le champignon, et de moniliase pour la maladie.

-A partir de 1940, avec l'arrivée des antibiotiques à larges spectres, de la réanimation médicale, des cathéters et les progrès de la chirurgie, leurs fréquences augmentent considérablement.

-Avec l'utilisation de la pilule contraceptive depuis 1964, le nombre de cas de candidoses vaginales a triplé en une quinzaine d'années.

De nos jours, les mycoses vaginales dues à l'espèce *Candida albicans* sont très fréquentes, les recherches se portent davantage sur une baisse de l'immunité cellulaire locale vis à vis de la levure du genre Candida [1, 2, 3,4].

2. Définition

2.1 Les vulvo-vaginites.

Ce sont des atteintes inflammatoires et infectieuses du vagin qui peuvent s'étendre à la vulve. Ces inflammations peuvent être dues, soit:

o à une candidose génitale,

o à une infection à *Trichomonas vaginalis,*

o à une vaginose bactérienne (*Chlamydiae*,*Mycoplasme*)[5].

2.2 Les vulvo-vaginites candidosiques

Elles se caractérisent par:

-des symptômes d'appel (prurit et leucorrhées).

-des signes locaux (enduits épais sur une muqueuse carminée).

-la présence de levures (examen microscopique direct, frottis, culture) [6,7].

3. Epidémiologie

3.1 Répartition géographique.

Les femmes du monde entier sont victimes de CVV, avec une fréquence accrue dans les pays tropicaux. En effet, dans certains pays Africains, le Nigéria par exemple, une prévalence inhabituelle de *Candida albicans* a été rapportée, jusqu'à 68%, mais les causes en sont inconnues [8].

3.2 Prévalence

Prévalence: c'est le nombre de cas de maladies dans une population déterminée. La candidose représente 20 à 30 % des affections vulvo-génitales (vaginoses bactériennes, vaginites à Tv...).

La majorité des auteurs sont d'accord sur les chiffres suivants:

-25 % ne feront jamais de vulvo-vaginites candidosiques (peut-être en raison d'une immunité locale très forte).

-75% en feront dont:

*2 sur 3 auront quelques épisodes aigus répondant au traitement classique.

*1 sur 3 (soit 5 % des femmes en âge de procréer) développera une vulvo-vaginite candidosique récidivante ou chronique. Sur ces 75 % de femmes qui feront un jour une candidose vaginale au cours de leur vie génitale, les responsables sont:

- dans 80 à 90 % des cas la levure *Candida albicans.*
- dans 5 à 10 % des cas: *Candida glabrata* (ou *Torulopsis glabrata*) [9].

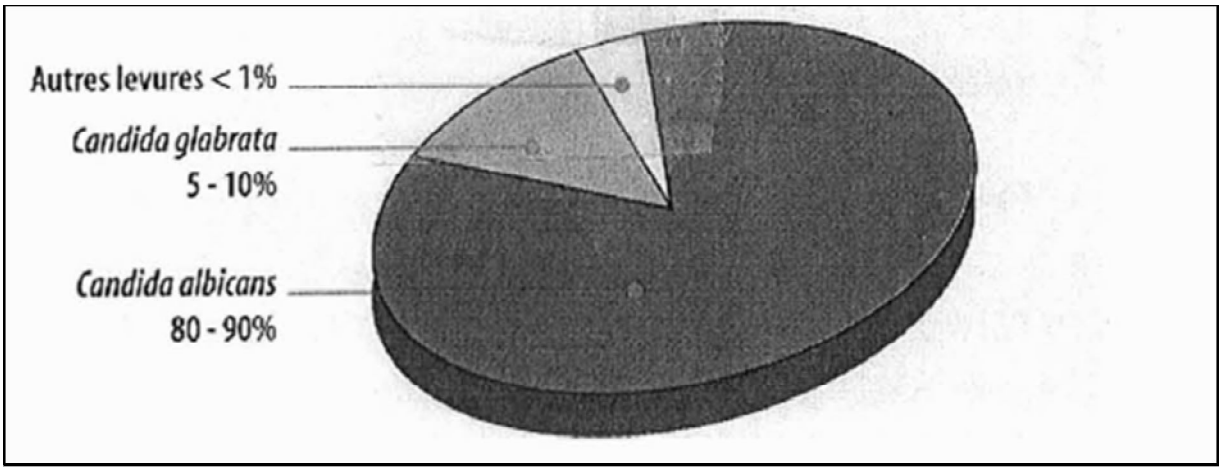

Figure 2 : Représentation schématique des levures responsables de candidoses vaginales [7]

La prévalence de la candidose vulvo-vaginale varie :

- en fonction de l'industrialisation

L'augmentation de fréquence observée dans les pays industrialisés ces dix dernières années s'explique peut-être par l'utilisation plus large de traitements antibiotiques ou hormonaux par voie générale, ou antiseptiques par voie locale [10].

- en fonction de l'âge

Cette affection touche surtout les femmes jeune et d'âge moyen, la femme enceinte, mais beaucoup plus rarement la femme âgée ou la petite fille.

- en fonction du sexe

Cette pathologie touche essentiellement les femmes pour des raisons physiologiques et hormonales, mais les hommes font aussi des infections génitales à Candida. En effet ils peuvent être soit porteurs sains, soit symptomatiques et dans ce cas être contaminants pour la femme.

3.3 Mode de contamination

3.3.1 Contamination endogène

La contamination est essentiellement endogène, c'est à dire que c'est la femme qui se contamine avec ses propres Candida. Sous l'influence de facteurs favorisants, cette levure peut passer d'un état saprophyte à un état pathogène grâce à un phénomène de dimorphisme qui lui est propre et que nous étudierons plus loin. *Candida albicans* est donc une levure opportuniste qui profite d'un déséquilibre de la flore vaginale ou d'un déficit immunitaire pour se multiplier et coloniser la muqueuse vaginale. Mais le passage de la colonisation à la vaginite clinique comporte encore de nombreuses inconnues [11].

Saprophytisme :

Mode de vie des végétaux et des champignons qui tirent les éléments carbonés de leur nourriture de substances organiques mortes.

3.3.2 Contamination exogène.

o Contamination sur les plages en été ou dans les vestiaires des piscines, des clubs sportifs.

o Contamination par le partenaire.

Touchant à l'intimité féminine, et pouvant être transmise par l'homme contaminé, la candidose vaginale pourrait être considérée comme une Maladie Sexuellement Transmissible (MST).Cependant, après de longues polémiques, la plupart des auteurs s'accordent pour dire que la CVV n'est pas une MST au sens classique du terme.

4. La Clinique

4.1 Rappel sur la physiologie féminine

Le haut appareil génital (endocol, utérus, trompes, ovaires) est physiologiquement aseptique. L'utérus est tapissé d'un épithélium glandulaire qui résiste mal aux agressions infectieuses.

Ce haut appareil génital s'abouche, par l'intermédiaire du col utérin, à une cavité septique recouverte d'un épithélium malpighien solide et résistant :le vagin, lui-même en communication avec le périné par l'intermédiaire de la vulve. L'ensemble exocol, vagin, vulve et ses glandes annexes constitue le bas appareil génital [12].

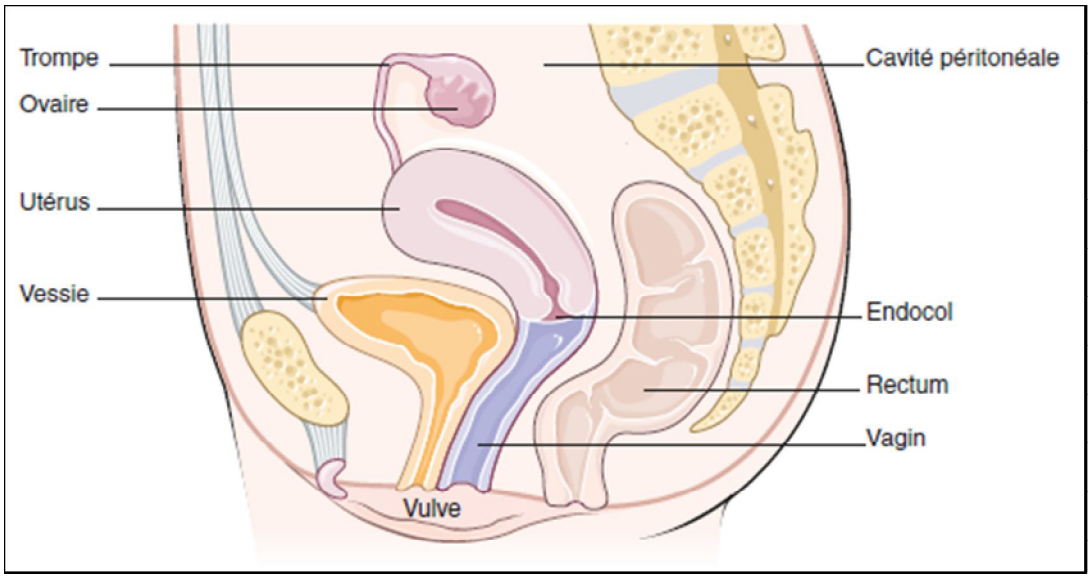

Figure 3 :Anatomie et microbiologie de l'appareil génital féminin [22].

4.2 Signes cliniques cardinaux

4.2.1 Candidoses génitales chez la femme.

Le début peut être insidieux ou brutal. Dans la plupart des cas, les signes fonctionnels de la CVV sont superposables à ceux de l'épisode aigu.

Manifestations subjectives [13].

- Prurit.
- Sensations de picotements, voire de douleurs franches (dyspaneurie).
- Ces symptômes sont exacerbés par les rapports sexuels (qui sont parfois rendus impossibles), par tout frottement ou par tout contact avec l'eau et le savon.

Ces symptômes peuvent entraîner l'insomnie et dans des cas extrêmes, une névrose [14].

Manifestations locales [4].

La vulve présente un aspect œdématié, rouge.

- Elle est recouverte d'un enduit blanchâtre de consistance pâteuse ou grumeleuse.
- La muqueuse vulvaire est parsemée d'érosion et saigne facilement.
- On observe aussi une muqueuse vaginale rouge plus ou moins sombre sur laquelle se déposent des dépôts blanchâtres grumeleux.
- Une leucorrhée, souvent abondante, blanc-jaunâtre, muco-purulente et visqueuse stagne dans les plis de la muqueuse vulvo-vaginale.
- On peut observer l'écoulement d'un exsudat blanchâtre plus ou moins caséeux, inodore (aspect de lait caillé).

=> Il faut noter que l'intensité des symptômes varie d'une femme à l'autre.

=> De plus, la relation entre la sévérité de ces symptômes et l'abondance des levures n'est pas toujours proportionnelle [15].

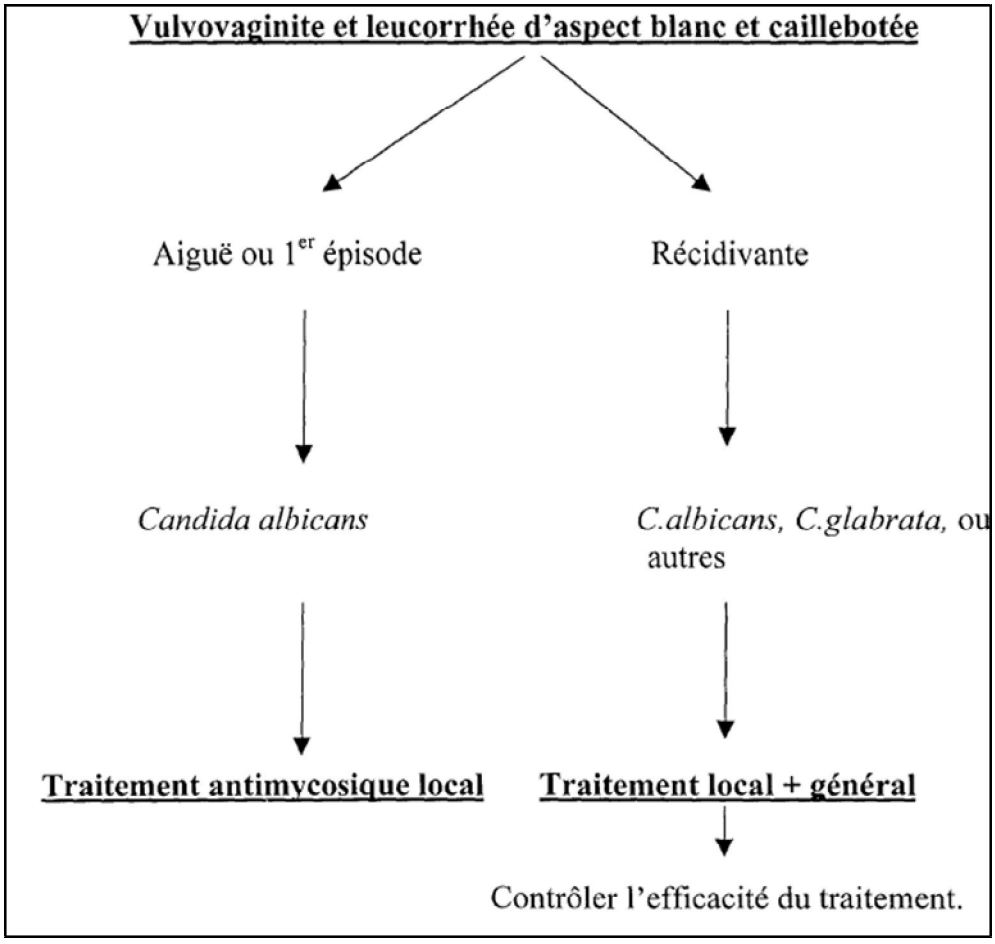

Figure 4 : Stratégie diagnostique face à une leucorrhée [16]

5. Diagnostic Mycologique

5.1Le genre*Candida*

Le genre Candida apparaît actuellement comme un groupe complexe, hétérogène, rassemblant selon les auteurs un nombre variable de champignons lévuriformes.

Les champignons lévuriformes sont des espèces «opportunistes» c'est-à-dire normalement saprophytes et inoffensives mais qui peuvent devenir pathogènes lorsque l'organisme hôte présente des conditions favorables (intrinsèques ou extrinsèques).

Candida albicans n'est pas un germe cutané saprophyte de la peau saine.

Il n'existe à l'état endosaprophyte que sur les muqueuses génitales et digestives qui en constituent le réservoir principal dès les heures qui suivent la naissance. *Candida albicans* est un saprophyte exclusif des muqueuses.

Candida albicans est susceptible de persister en équilibre écologique avec la flore vaginale pendant des mois, voire des années, sans manifestations cliniques (saprophytisme) [17].

On le trouve chez 15 à 30 % des sujets sains au niveau des cavités naturelles: bouche, bronches, jéjunum, iléon, selles, vagin [18].

Pour de nombreux auteurs, environ 20 % des femmes hébergent *Candida albicans* au niveau vaginal sans symptôme.

5.1.1 Classification des champignons

De nombreuses classifications ont vu le jour. Elles se modifient avec l'évolution des connaissances et l'application récente à la mycologie des techniques de biologie moléculaire. Pour des raisons de simplicité, nous avons retenu celle de Kwon Chung et Bennet (1992) [7]. Le tableau ci-dessous présente la classification de l'espèce *C.albicans.*

Tableau 2: Classification du *C. albicans* d'après Kwon Chung et Bennet (1992)

Règne	Champignons
Division	Eumycètes
Phylum (Sous-division)	Deutéromycètes
Classe	Blastomycète (Levures asexuées)
Ordre	Moniliales
Famille	Moniliaceae
Genre	*Candida*
Espèce	*Candida albicans*

On appelle « Levure », tous les champignons microscopiques unicellulaires de forme sphériques ou ovoïdes se multipliant par bourgeonnement (mode blastique) [18].

D'après la classification de Lodder, le genre Candida compte 81 espèces, dont seulement une dizaine ont été reconnues pathogènes pour l'homme, en raison de leur faculté d'adaptation à la température de 37°C [2].

5.1.2 Caractères morphologiques de *Candida albicans.*

Candida albicans peut exister sous quatre stades morphologiques différents:

-Les blastospores ou blastoconidies :

Elles se présentent sous forme de petites cellules ovoïdes de 3,5 à 6 micromètres sur 6 à 10 micromètres. C'est la forme la plus courante de multiplication de *Candida albicans* saprophyte.

Cette cellule peut émettre un bourgeon qui donnera une cellule fille identique à la cellule mère.

-Le pseudo - mycélium

Il se forme par croissance tubulaire à partir du bourgeon de la blastospore. Le pseudo - mycélium restera attaché à la cellule mère et les deux cellules seront individualisées par une zone d'étranglement sans cloison vraie.

-Le mycélium

On peut en rencontrer dans les tissus infectés. Il s'agit de la blastospore qui a donné naissance à un tube germinatif pour former un vrai mycélium, dont chaque élément sera individualisé par de vraies cloisons [19, 18,2].

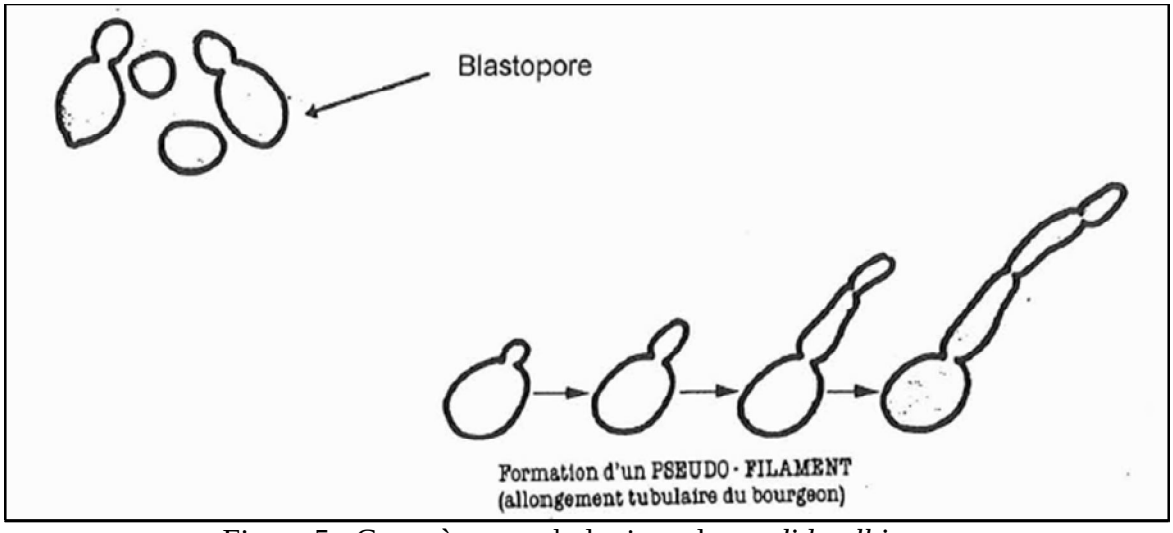

Figure 5 : Caractère morphologique de *candida albicans*

5.2 Structure et ultrastructure des *Candida*

Le genre Candida fait partie des Eucaryotes et se caractérise par:

-La présence d'un noyau,

-Une double membrane nucléaire,

-Des inclusions internes telles que des chromosomes,

-Un nucléole,

-Des ribosomes,

-Des mitochondries,

-Des vacuoles à inclusions notamment lipidiques [2].

Sur le plan biochimique, la membrane cellulaire des *Candida* est constituée principalement de trois polysaccharides [2] :

Le glucane et la chitine (polymère de N acétylglucosamine beta 1- 4) qui servent au maintien de la forme levure et le mannane constitué de mannose.

Ce dernier polysaccharide qui est couplé à d'autres protéines de la paroi cellulaire de la levure (sous forme de mannoproteines), a la capacité de se coupler à certaines protéines de 1'hôte et d'être à l'origine de l'adhésivité des cellules de *Candida* aux parois des tissus.

5.3 Caractères biologiques de*Candida albicans.*

5.3.1 Milieu de vie

Toutes les espèces du genre Candida sont aérobies.

Il vit exclusivement sur les muqueuses, mais il peut cependant survivre dans le milieu extérieur:7 à 8 semaines sur le sable des plages, même arrosé d'eau de mer.

Mais il est détruit par le lavage du linge, la stérilisation du matériel médical et des cathéters [15].

5.3.2 pH

In vivo, l'acidité gastrique ou vaginale n'altère pas sa vitalité.

En effet, la croissance est possible pour des pH allant de 3 à 7.

En revanche, en milieu alcalin, l'assimilation des nutriments par les Candida est inhibée [15].

5.3.3 Température

Croissance entre 20°C et 30° C pour la majorité des levures.

Les espèces pathogènes sont capables de croître à 37 ° C [15].

5.3.4 Nutrition

Les champignons sont des organismes hétérotrophes, c'est à dire qu'ils sont incapables de synthétiser leurs molécules carbonées à partir du dioxyde de carbone atmosphérique. Ilsvivent donc aux dépens de la matière organique préformée .Le passage des substances se fait par absorption [20].

• Besoin en carbone

Il utilise le carbone du glucose, du maltose, du saccharose, du galactose, du xylose, du tréhalose, du 2-cétogluconate, du méthyl-glucoside, et de la N-acétylglucosamine. Les capacités d'assimilation diffèrent selon les espèces et servent ainsi pour leur détermination [20].

• Besoin en azote

Il a besoin d'une source d'azote. Pour apprécier les besoins du champignon en dérivés azotés [20].

• Besoin en vitamines

Les vitamines du groupe B (notamment la biotine = vit B8 = vit H) mais aussi la thiamine (vit BI), et la vitamine B5, sont indispensables à la croissance et sont souvent incorporées dans les milieux de croissance [20].

• Besoin en fer

C'est un élément indispensable à la croissance du *Candida*.

En effet, comme chez toute cellule vivante, le fer et d'autres métaux lourds, constituent chez les champignons un facteur de croissance essentiel.

Une surcharge en fer a été décrite au cours d'infections bactériennes mais aussi fongiques.

En effet, la plupart des champignons (Candida, Aspergillus, Mucor …) secrètent des sidérophores, composés de faible masse moléculaire, possédant une très haute affinité pour l'ion ferrique [21].

Etude prospective

I. Prélèvement vaginal

1. Conditions de prélèvement

La patiente devra éviter toute toilette intime, tout traitement local (savons, gels, crème…), ainsi que tout rapport sexuel le jour précédent l'examen. Le prélèvement doit être réalisé avant ou à distance de tout traitement antérieur à base d'antibiotique ou antifongique. Il est préférable de le réaliser en dehors de la période menstruelle.

2. Matériel du prélèvement

-Deux écouvillons stériles.

-Un spéculum en plastique à usage unique.

-Gants.

Matériel du laboratoire (Annexe 1) :

Pour la réalisation de cette étude le matériel suivant a été utilisé :

- Etuve réglé à 37 °C et à 25°C.
- Boîtes de pétri stériles d'un diamètre de 90 mm.
- Bec bunsen.
- Pipette pasteur stériles.
- Microscope optique.
- Lame et lamelles.
- Sérum humain.

3. Mode opératoire

C'est un geste médical à apprendre auprès d'un médecin, d'une sage-femme ou d'une infirmière compétente.

Le prélèvement vaginal qui arrive au laboratoire va subir un examen cytobactériologique.

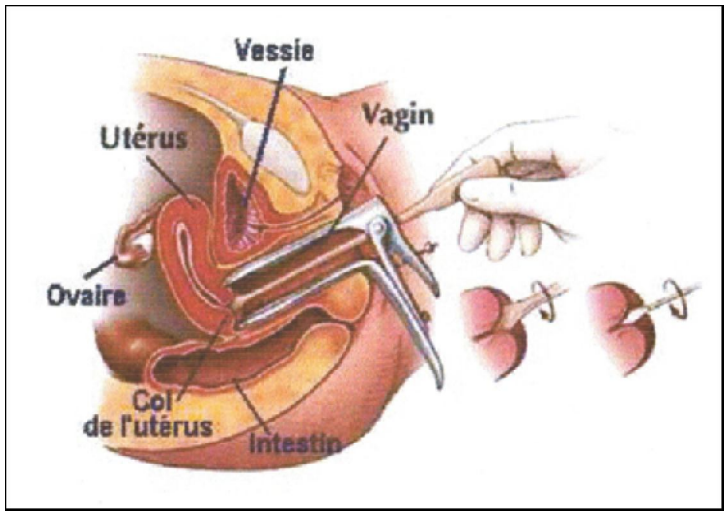

Figure 6: Prélèvements par écouvillonnage sous spéculum

II. Examen cytobactériologique

1. Examen direct

L'examen cytobactériologique commence par un examen direct grâce au microscope optique. Il permet de révéler la présence des cellules épithéliales vaginales, des leucocytes, des hématies, des levures qui se présentent sous forme d'éléments ronds ou ovalaires, présentant des bourgeonnements, et des parasites tels que les *Trichomonas vaginalis* caractérisée par leur mobilité.

Etat frais

- L'examen direct doit être réalisé rapidement car les levures prolifèrent à température ambiante.
- Après l'addition de l'eau physiologique à l'écouvillon, on agite et on pose une goutte entre lame et lamelle.
- On examine la préparation au microscope optique à l'objectif x40.
- La présence de filaments mycéliens ou de spores bourgeonnantes en abondance confirme la pathogénicité et suspecte une CV. L'association avec une infection bactérienne ou une trichomonose est possible.

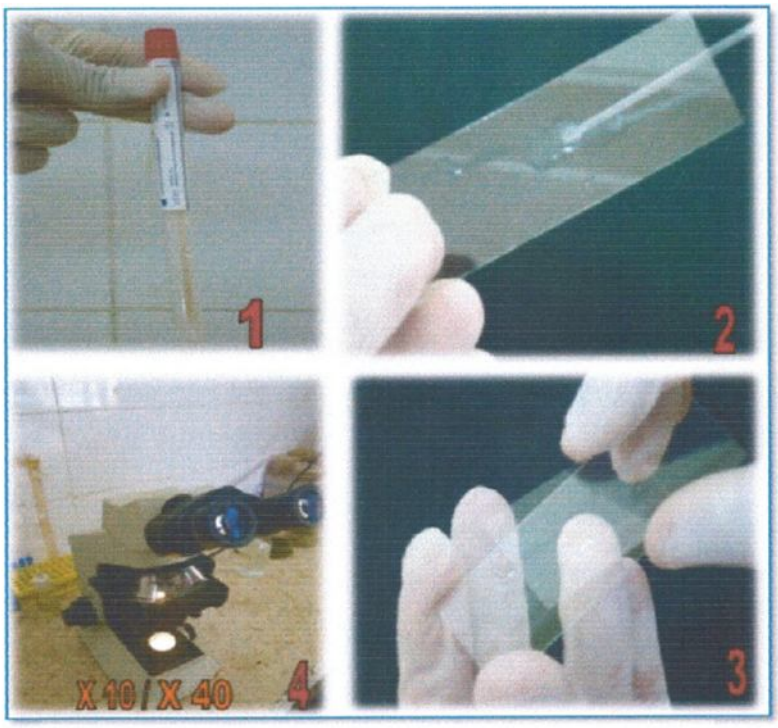

Image 1: Examen direct d'un prélèvement vaginal

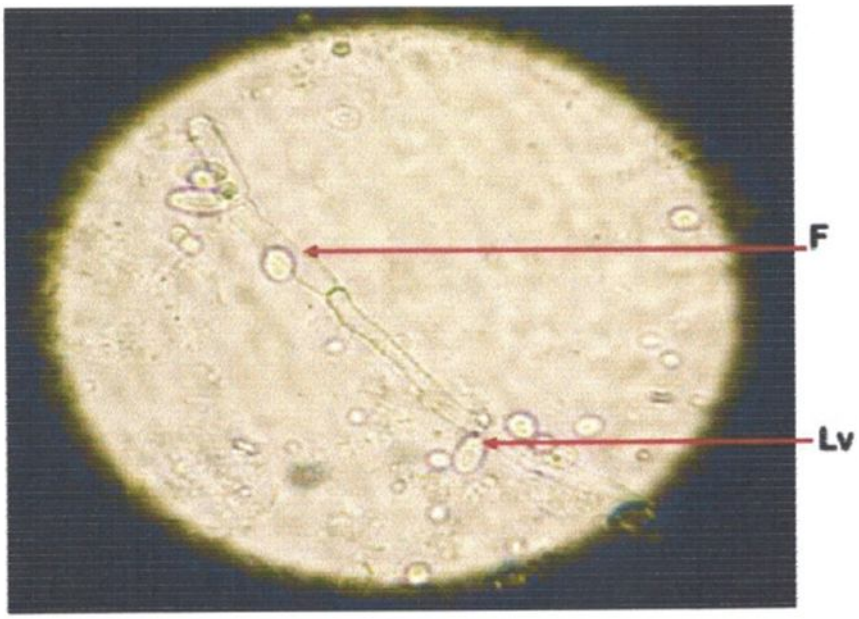

Image 2: Résultat d'un examen direct positif, montrant un filament (F) et des levures (Lv).Grossissement x 40)

2. Examen après coloration de GRAM

L'examen direct est suivi par un examen après coloration de gram, qui permet d'apprécier l'équilibre de la flore vaginale, la forme, le groupement ,la présence des levures ou non , ainsi que le type de Gram des bactéries.

3. Culture et Incubation

Les cultures du matériel ainsi prélevé été effectué le jour même du prélèvement.

Isolement des Candida

- Devant un bec bunsen, un deuxième écouvillon est étalé à la surface d'une gélosede Sabouraud-chloramphénicol.
- L'ensemencement se fait en abondance et stérilement, on badigeonnant l'écouvillon sur toute la surface du milieu.
- Incuber dans une étuve à 25-37°C pendant 24 à 48 h.
- La lecture se fait par un examen macroscopique et microscopique des colonies.

NB :

Une culture bactérienne sur gélose nutritive a été réalisée en parallèle avec la culture sur milieu Chocolat ou du Sang afin de mettre en évidence une éventuelle association.

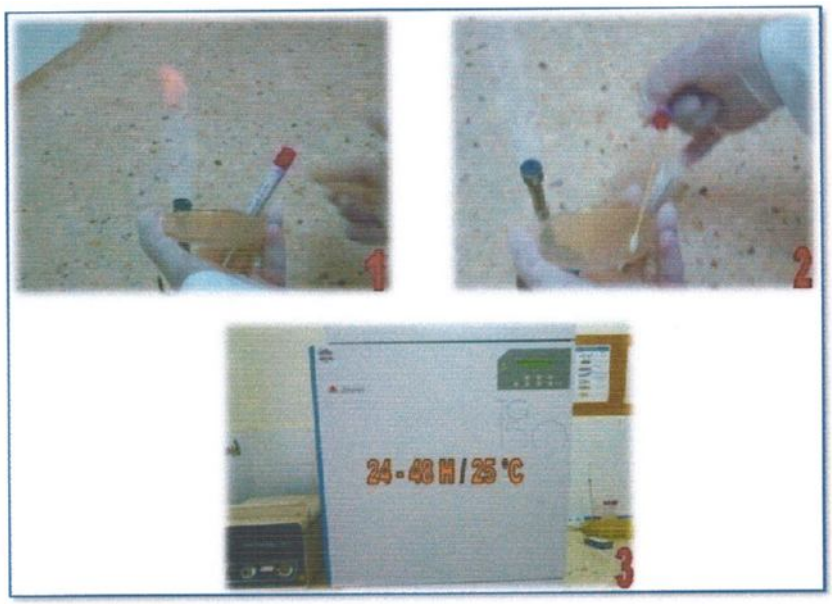

Image 3: Culture pour isolement sur le milieu Sabouraud-chloramphénicol

4. Lecture

Examen macroscopique

- L'aspect, la couleur et la consistance des colonies sont notés. Le genre *candida* est caractérisé par des colonies blanches, crémeuses, lisses.

- Dénombrement des colonies: un nombre de 25 colonies isolées par boite est hautement significatif.

Examen microscopique

- Une colonie prélevée à l'aide d'une pipette pasteur est étalé sur la lame , on ajoute une goutte du huile a émersion et on observe au microscope optique à l'objectif x100 .

La présence de levures ovoïdes à bourgeonnement multilatéral confirme le genre *Candida* .

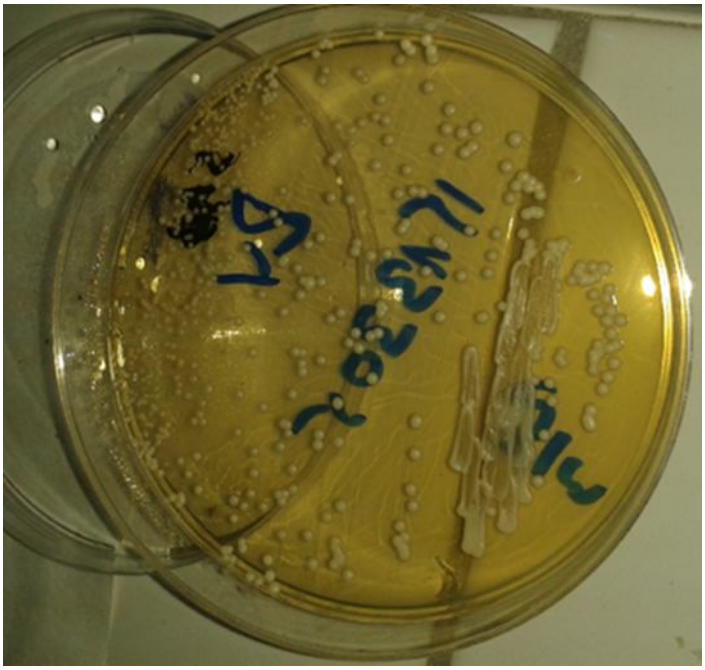

Image 4 : Aspect macroscopique des colonies de *Candida* sur milieu Sabouraud-chloramphénicol

5. Identification des levures

TEST DE BLASTÈSE (ou DE FILAMENTATION) :

- Par l'examen microscopique des colonies, il est impossible d'identifier les levures enbourgeonnement. Le test de blastèse ou de filamentation permet une identification rapide de l'espèce *albicans*. On procède de la manière suivante:

- La souche à tester est émulsionnée dans environ 500 microlitre de sérum humain.

- Après 3 heures d'incubation à 37°C, on met une goutte de l'émulsion entre lame etlamelle et on observe au microscope optique à l'objectif x40.

- L'espèce *C. albicans* se caractérise par la présence d'un tube de germinatif, et ne présentant aucune constriction à la base du filament.

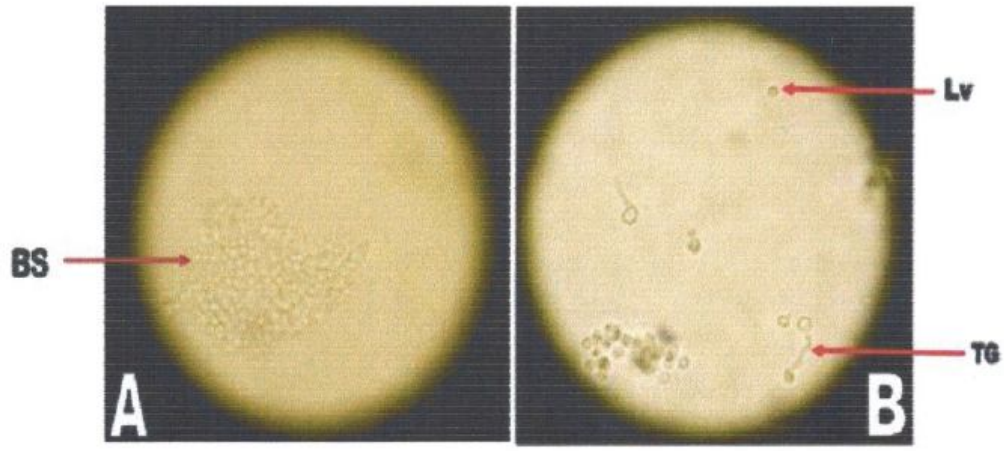

Image 5 : Résultat du test de blastèse (Grossissement, x 40)

A: absence des tubes germinatifs par le test de blastèse,

B:Mise en évidence des tubesgerminatifs spécifique de l'espèce *C. albicans* par le test de blastèse

Lv: Levure

TG: Tube Germinatif (Grossissement, x 40)

BS : Blastospore

TEST DE CHLAMYDOSPORULATION:

- Une suspension de colonies est étalée sur le milieu Rice cream, poser une lame au-dessus du milieu et incuber à 25-30 °C pendant 24 à 48 heures.
- On observe des formes filamenteuses, mycéliennes ou pseudo mycéliennes et les chlamydospores spécifiques de l'espèce C. albicans.

-Si après examen au microscope, on voit que des blastospores, il s'agit d'une espèce qui ne filamente pas (espèce non albicans notée *Candidasp*).

Etude rétrospective

Matériel : Registre informatisé

Durée : de Janvier à Mai 2015

Paramètres recherchés : Nombre de prélèvements, nombre de positivité aux *Candida.*

Résultat

I. Prélèvement positifs au *candida*

Les résultats traités dans ce chapitre sont obtenus suite à l'étude rétrospective réalisée au sein de laboratoire de bactériologie de l'hôpital Militaire Moulay Ismail à Meknès, à propos des patientes du service gynécologie obstétrique ou des patientes externes.

Durant cinq mois le service a reçu 120 prélèvements,

Parmi les 120 patientes dépistées, 19 avaient un prélèvement positif au *Candida* ce qui correspond à un taux de portage de 15, 83 %.

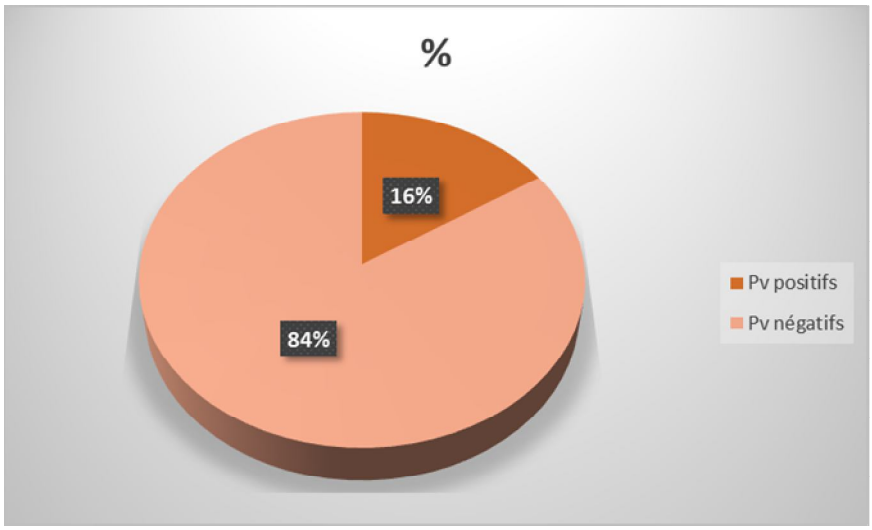

Figure 7 : Pourcentage des prélèvements positifs au *Candida*

Les tests d'identification des cas obtenus de candidoses, nous ont permis d'établir une fréquence d'isolement de l'espèce albicans et les autres espèces du même genre (*Candida sp*). Les résultats sont illustrés dans la figure ci-dessous(figure 8).

II. Prélèvement positifs au *Candida albicans*

La figure ci-dessous donne la fréquence d'isolement des *candida albicans* chez les femmes sur lesquelles les prélèvements ont été fait.

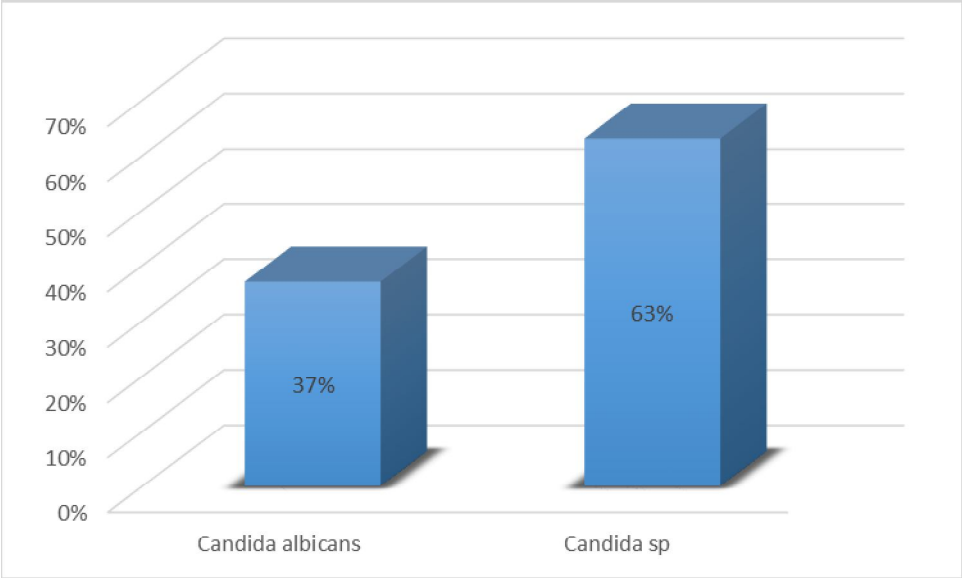

Figure 8: Fréquence d'isolement de l'espèce *C. albicans*

Pour l'ensemble des femmes étudiées, le genre Candida était isolé dans 15,83% des cas où l'espèce *C. albicans* présente un pourcentage de 36,84 % parmi les positifs.

Discussion

La CVV constitue un motif de consultation fréquent en gynécologie.

L'épidémiologie de cette affection a fait l'objet de plusieurs études visant à déterminer sa prévalence et ses facteurs de risques en se basant sur le diagnostic mycologique, qui permet d'établir la répartition des espèces du genre Candida les plus incriminées.

Dans le présent travail, la prévalence spécifique des CVV était de 15,83 %, chiffre inférieur à celui rapporté par l'étude menée en Tunisie, qui était de 36,4 % [24], et inférieur à une deuxième étude réalisée au Maroc, qui était de 26 % [23]. L'espèce albicans a été isolée dans 36,84 % des cas, pourcentage inférieur à ceux rapportés par les deux études pré citées.

Ce résultat doit néanmoins être interprété avec une grande prudence en raison de la difficulté à comparer des études utilisant des échantillons de taille différente.

En effet, différents facteurs peuvent avoir influencé la prévalence des CVV et doivent être pris en considération lors de la comparaison de ces résultats à ceux d'autres études.

Les différences observées pourraient s'expliquer par le fait que certains biais pourraient avoir affecté de façon significative les résultats de cette étude. En effet, la taille de l'échantillon

(120 femmes) qui n'est pas représentatif et ne permet pas de tirer des résultats concluants, surtout pour le cas de cette affection fréquente.

Ce biais peut être lié à la durée de l'étude (deux mois) qui est insuffisante, parmi les facteurs principales qui influence le taux de portage des femmes étudiées on trouve :

-l’industrialisation.

-l’âge.

-l’intimité des patientes .

Les candidoses sont des mycoses superficielles dues à des levures saprophytes du genre *Candida*, commensales sur les muqueuses. La CVV touche un nombre important de femmes et constitue un motif de consultation fréquent en gynécologie. L'espèce *albicans* est la plus fréquemment rencontrée dans cette pathologie.

L'objectif de notre travail était d'établir une prévalence des CVV, la fréquence d'isolement de l'espèce *albicans* en se basant sur un diagnostic mycologique.

L'analyse des résultats de cette étude, nous a permis de conclure que la CVV est principalement causée par l'espèce *Candida albicans*. Bien que d'autres espèces de *Candida*n'aient pas été identifiées, elles peuvent être à la base de vaginites mycosiques. Pour cette raison, l'identification de l'espèce est importante.

D'après nos résultats, la culture a montré une importance capitale en redressant un examen direct faussement négatif, en facilitant l'identification de l'espèce en cause après isolement des colonies et on détectant une éventuelle association.

Pour les résultats négatifs, on peut dire que le diagnostic des CVV ne peut être exclu, et cela peut être dû soit à une mauvaise qualité du prélèvement (surtout s'il a été réalisé par la patiente elle-même), soit à des toilettes intimes (avant le prélèvement) ou à l'application d'antifongiques locaux (non déclaré par la patiente).

Donc, pour affirmer le diagnostic des candidoses, il conviendra en premier lieu de vérifier la qualité du prélèvement et de le refaire si possible en respectant les conditions.

Au total, et malgré les limites imposées par le nombre de patientes relativement restreint, cette étude a permis d'obtenir une description générale des CVV et ses facteurs de risque, représentés essentiellement par la contraception .

Enfin, pour détecter cette pathologie, il existe donc une conduite à tenir devant une CVV:

-Pratiquer un prélèvement mycologique avec examen direct, culture, identification de l'espèce en cause. En suivant cette démarche diagnostic, en s'attaquant aux causes fondamentales, et en appliquant le bon traitement, les résultats ne seront que plus efficaces et durables.

1. JAY J. Le *Candida albicans* : un signal d'alarme, Santé action , 1992.

2. DUPONT B. L'écobiologie des Candida, Laboratoire Squibb, 1985.

3. EUZEBY J. Mycologie médicale comparée, Collection Mérieux, 1994, Fondation manuel, Tome II, 88-251.

4. GRIGORIU D. DELACRETAZ J., BORELLI D. Traité de mycologie médicales, Edition Payot Lausanna, 1984, 199-227, II -16.

5. FAURE M. DRAPIER FAURE E. Vulvo-vaginites, La revue du praticien. 1997, n047, 1655-1659.

6. FIDEL P.L Jr. SOBEL J.D. Immunopathogénèse de la candidose vulvo-vaginale récurrente, Contraception Fertilité Sexualité, 1996, Vol 24, n01, 33-40.

7. LABORATOIRE JANSSEN. Guide pratique de la candidose génitale de la femme, Edition Ran D, 1998.

8. GRILLOT R. Les mycoses humaines: démarche diagnostic, Collection option Bio, Elsevier, 1996, 116 - 29 - 30 - 122.

9. SOBEL J.D. Vulvo-vaginitis due to *Candida glabrata*. An emerging problem, Mycoses, 1998, Vo14l, supp 2, 18 - 22.

10. DELCROIX M. CHERONT C. Les infections vaginales, Infections gynécologiques. Edition Masson., 1994, 164-179.

11. GENIAUX M. Infections cutanéo-muqueuses à Candida albicans: épidémiologie, diagnostic, traitement. La revue du praticien. 1996, Vol 46, 350-354.

12. IMPACT PHARMACIENS. Les infections gynécologique basses,1998, N°29, 36 - 39.

13. DEVEZE L. Candidose: une des MST les plus fréquentes. Le biologiste, 1986, Vol 20, 17-21.

14. BOUBLI L. Approche clinique des mycoses vulvo-vaginales, Gynécologie internationale 1998, Hors-série, 4-5.

15. EUZEBY J. Mycologie médicale comparée, Collection Mérieux, 1994, Fondation manuel, Tome II, 88-251.

16. VIGUIE C. Mycoses vaginales et antifongigramme :le point de vue du mycologue, Gyn Int , 1998, hors-série, 6- 7 - 8 - 9.

17. BOHBOT J.M. CATALAN F. Candidoses urétrogénitales, MST Abrégés Masson , 2ème édition, 1991.

18. GUIGNARD J.L. BOUCHET P, MADULO G., REGLI P. Mycologie générale et médicale, Abrégé Masson, 1989, 107-120,108-109.

19. SENET J.M.ROBERT R. Physiopathologie des candidoses, Jour, Mycol. ,Méd, 1995 Vol 5, 145-166.

20. KOENIG H. Guide de mycologie médicale, Collection Ellipses, 1995.

21. GRILLOT R. Les mycoses humaines: démarche diagnostic, Collection option Bio., Elsevier, 1996, P : 116 - 29 - 30 - 122.

22. Quentin R.P. Lanotte ,L Mereghetti Bactériologie médicale Prélèvements génitaux chez la femme, Page : 238

23. M. BENCHELLAL, K. GUELZIM, Z. LEMKHENTE, H. JAMILI, M. DEHAINY, D. RAHALI MOUSSAOUI, W. EL MELLOUKI, K. SBAI IDRISSI, B. LMIMOUNI. (2011). La candidose vulvo-vaginale à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V (Maroc). Le journal de la mycologie médicale, Vol 21, N° 2, P 106-112.

24. GUIDARA R.M. BOUCHAKOUA, S. ANANE, K. E AOUECH, S. BELHADJ, M. ZOUARI, K. KALLEL, E. CHAKER. (2010). Les candidoses vulvo-vaginales: particularités cliniques, mycologiques, et facteurs de risques (Tunisie). Le journal de la mycologie médicale, Vol 20, N° 1, P 36-41.

25. BERREBI A ,AYOUBI J.M, Le déséquilibre de la flore vaginale, Genesis, 1999, 44, 1 - 4.

Annexe

Annexe 1:

Matériel de laboratoire

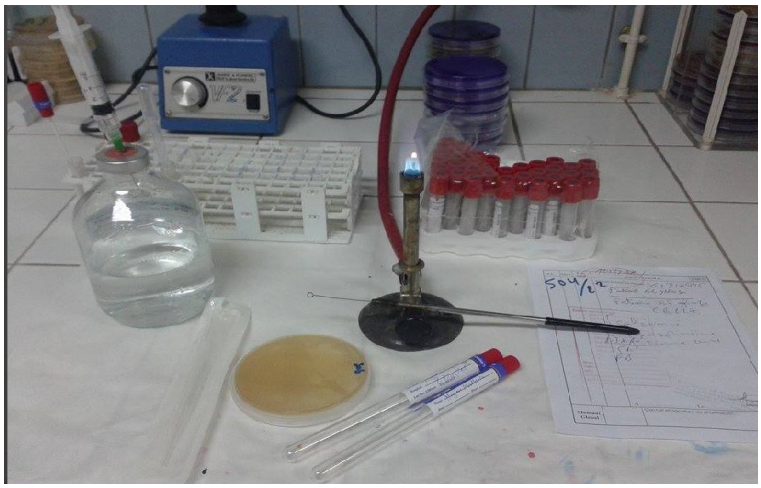

Image 6 : Matériels de laboratoire utilisés lors de la partie pratique

Annexe 2:

Milieu de culture

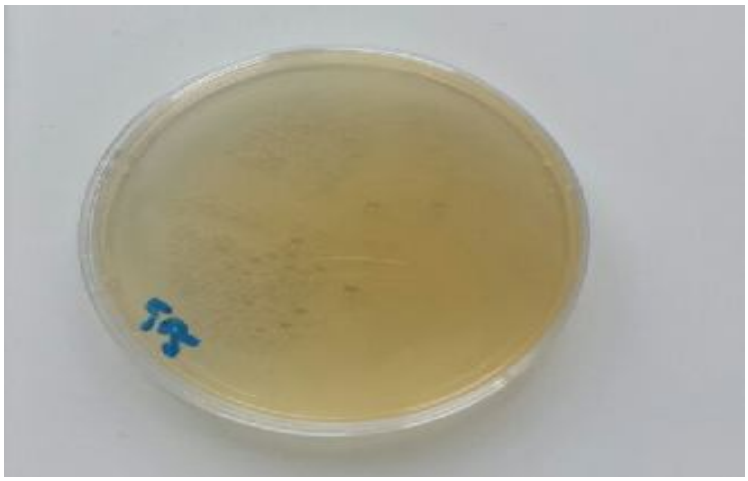

Image 7: Gélose du sabouraud-chloramphénicol

MILIEU SABOURAUD

Glucose	**20 g**
Neopeptone	**10 g**
Agar	**20 g**
Eau distillée	**1000 ml**
pH	**6,5**

Annexe 3:

Coloration de gram

Principe

La coloration de GRAM-Nicolle est une coloration différentielle basée surla structure de la paroi bactérienne qui est différente selon qu'il s'agisse debactéries à GRAM positif ou à GRAM négatif.

Mode opératoire

On fixe la préparation à la chaleur douce.

On colore la solution de violet de gentianine (1minute).

On rince abondamment à l'eau.

On ajoute le liquide de lugol (1minute).

On rince à l'eau.

On décolore par l'alcool, puis on rince directement à l'eau.

On colore avec la solution de fuchsine.

On rince à l'eau, on sèche, puis on observe au microscope, à l'objectif (× 100) à l'immersion.