

PROCEDURE PRÉLÈVEMENTS DERMATO-MYCOLOGIQUES

OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Les prélèvements Dermato-mycologiques pour recherche de champignons filamenteux (Dermatophytes, Moisissures pathogènes) et Levures (Candida sp., Malassezia sp.) sont effectués :

- sur les lésions suspectes localisées au niveau :
 - . de la Peau (Peau glabre, Zones pileuses)
 - . des Phanères (Cuir chevelu et Cheveux, Ongles)
- en fonction d'une prescription médicale, de renseignements cliniques et épidémiologiques, de l'examen clinique des lésions
- dans la mesure du possible à distance d'un Traitement Antifongique

PERSONNES CONCERNEES ET RESPONSABILITES

- Biologistes habilités
- Médecins cliniciens

DOCUMENTS DE REFERENCE

- Dermatophyties et dermatophytes. Atlas clinique et biologique. Badillet G, Paris : Varia ; 1991
- Koenig H. Guide de Mycologie médicale. Paris : Ellipses ; 1995
- Les Dermatophytes, Cahier de Formation Biologie Médicale, BIOFORMA N°31, 2004
- Dermato-Mycoses métropolitaines (hors pityriasis versicolor), G. Buot, EMC 2007
- Onychomycoses. Recommandations pour les Modalités de Diagnostic et de prise en charge. Journal de Mycologie Médicale ; 2007: n°4 ; S7-16
- Onychomycoses. Modalités de Diagnostic et de prise en charge. Ann. Dermatol. Venereol ; 2007: 134 ; S7-16
- Dermato-Mycoses métropolitaines (hors pityriasis versicolor), C. Viguié-Vallanet, C. Bonnet, EMC 2014
- Parasitologie et mycologie médicales - Guide des analyses et des pratiques diagnostiques, ANOFEL, Janvier 2018

DESCRIPTION DE LA PROCEDURE

I. QUALITE ET CONFORMITE DES PRELEVEMENTS ET ECHANTILLONS

1. TRAITEMENT ANTIFONGIQUE EN COURS OU RECENT :

Sauf cas particuliers (évolution défavorable sous Traitement...), le prélèvement doit être effectué en l'absence ou à distance d'un Traitement Antifongique depuis :

- plus de 15 jours si crème ou lotion : 1 mois si possible

CCH- PARASITOLOGIE- MYCOLOGIE Hôpital COCHIN 27 rue du faubourg Saint-Jacques Bâtiment Jean Dausset 75679 CEDEX PARIS	PROCEDURE PRELEVEMENTS DERMATO-MYCOLOGIQUES	Ref : PC-PAM- MULTI-PT-007-02 Version : 02 Applicable le : 00-00-0000 
--	---	--

- plus de 3 mois si solution filmogène (Amorolfine, Ciclopirox) ou Traitement systémique (Terbinafine, Azolés, Griseofulvine)

Le jour du Prélèvement :
 - Faire la toilette quotidienne à l'eau et au savon
 - Eviter les applications locales d'Antiseptique, de crèmes hydratantes
 - Retirer les vernis

2. RENSEIGNEMENTS CLINIQUES - EPIDEMIOLOGIQUES

Le Prélèvement Mycologique doit comporter au préalable :

- Un Interrogatoire dont les renseignements sont notés sur la feuille de demande d'analyses mycologiques ou dans le dossier de Consultation de Dermato-Mycologie du patient
- Les renseignements concernent :
 - le patient : origine, FF, pathologie sous-jacente (diabète, immunodépression, greffe d'organe...), traitement particulier (corticoïdes, chimiothérapie...), contact avec d'autres sujets atteints, avec des animaux
 - le traitement antifongique en cours ou récent (type, durée, date d'arrêt)

3. EXAMEN CLINIQUE

Examen clinique des lésions : localisation, aspect,...
permettant de cibler les sites et zones de prélèvement

Examen à la Lampe UV (lampe de wood) :

Suivant les localisations (atteintes du cuir chevelu, intertrigos des plis inguinaux,...) , un examen à la lampe UV (Lampe de Wood) est utile pour repérer les lésions et donner une orientation diagnostique :

- fluorescence verte sur les lésions parasitées par *Microsporum sp.* (teignes, herpès circinés)
- fluorescence rouge corail sur lésions des plis (plis inguinaux, plis interorteils) en cas d'atteinte bactérienne à *Corynebacterium sp.* (Erythrasma)
- absence de fluorescence en cas de parasitisme par *Trichophyton sp.*

4. PRELEVEMENT MYCOLOGIQUE

Le prélèvement doit être effectué :

- sur chaque site prescrit (ex : pour les pieds : ongles/EIO/plantes; pour le pelvis : plis inguinaux/pli inter fessier,...)
- et si pertinent : sites complémentaires suivant le contexte et la symptomatologie

- dans la zone de prolifération du champignon :

- Ongles : à la jonction zone-atteinte/zone-saine

- Peau : à la périphérie des lésions, au niveau de la collerette squameuse ou de pustules érythémateux-squameuses

En faveur d'une Dermatophytie : Lésion d'évolution centrifuge avec zone centrale de la lésion moins inflammatoire en voie de cicatrisation

CCH- PARASITOLOGIE- MYCOLOGIE Hôpital COCHIN 27 rue du faubourg Saint-Jacques Bâtiment Jean Dausset 75679 CEDEX PARIS	PROCEDURE PRELEVEMENTS DERMATO-MYCOLOGIQUES	Ref : PC-PAM- MULTI-PT-007-02 Version : 02 Applicable le : 00-00-0000 
--	---	--

- Lésions du Cuir chevelu (suspicion de teigne) :
- Recueillir des squames par grattage, des cheveux avec le bulbe à la pince à épiler
- Si peu de matériel : prélèvement avec un écouvillon humidifié.

A. QUANTITE D'ECHANTILLON

Quantité suffisante pour effectuer l'Examen Direct (Coloration Noir Chlorazol) et la mise en Culture sur Milieux spécifiques (Tubes, boîtes)

Si : - Prélèvement en quantité insuffisante		<u>l'Examen Direct n'est pas effectué</u>
- Prélèvement sur un seul écouvillon		La Culture est privilégiée

Cas particulier :

Technique du Scotch Test pour la recherche de Malassezia sp. :

- Grattage préalable des lésions
- Recueil des squames sur Cellophane adhésive (Scotch) collée sur une lame pour Examen Direct entre lame et lamelle.

B. CONDITIONNEMENT

Les échantillons sont recueillis dans un contenant stérile.

Le recueil des échantillons (cutanés, squames, cheveux avec bulbe, fragments d'ongles à la jonction de la zone atteinte - zone saine, ...) est effectué :

- dans un Flacon stérile ou une boîte de Pétri stérile.
- sur Ecouvillon sec à humidifier avec du sérum physiologique stérile ou du milieu liquide Eswab ou sur Ecouvillon Eswab (Milieu de transport liquide pour bactéries, levures, champignons) après grattage préalable des lésions :
 - En fonction du type de lésion : suintante, inflammatoire non squameuse,
 - En cas de difficulté pour obtenir du matériel lors du prélèvement
 - Si quantité insuffisante d'échantillon
 - Recherche d'un portage chez un patient contact asymptomatique (Teignes : mère, fratrie, ...), on peut effectuer le prélèvement sur ces supports après grattage des lésions.

II. FEUILLE DE DEMANDE D'ANALYSES MYCOLOGIQUES

1. A remplir avec les identifications des patients, prescripteurs (médecin, service), préleveur, date et heure de prélèvement, les renseignements cliniques et épidémiologiques, types de lésions, sites prélevés, recherches spécifiques.
2. Enregistrement des analyses demandées suivant la procédure en cours.
3. La feuille de demande est scannée dans le dossier informatique du patient.
4. Elle est ensuite archivée.

III. TRANSFERT AU LABORATOIRE ET CONSERVATION PRE-ANALYTIQUE

Les Echantillons sont transmis au Service de Parasitologie-Mycologie pour prise en charge technique



A. GESTION LOGISTIQUE

Prélèvements effectués par des Médecins extérieurs à notre structure :

Acheminement par l'intermédiaire du Centre de TRI et Pneumatique.

- des Services de Consultations, d'Hospitalisations de l'Hôpital
 - des Centres extérieurs à l'Hôpital : GHU, autres Centres hospitaliers ou privés
- dans le contenant adapté emballé dans une pochette plastique de protection fermée hermétiquement et accompagné de la feuille de Demande.

Prélèvements effectués par les Biologistes /Internes du Laboratoire (Consultation de Mycologie, Hospitalisation) :

Transport direct dans un container de transport de matériel biologique dans le contenant adapté emballé dans une pochette plastique de protection fermée hermétiquement et accompagné de la feuille de Demande

B. CONSERVATION PRE-ANALYTIQUE DES ECHANTILLONS

En fonction de l'organisation du Secteur technique de Mycologie et des jours/heures de prélèvements :

- Traitement analytique 24 à 72H après réception au Laboratoire suivant l'organisation du Poste de travail.

les échantillons sont stockés à T° ambiante dans les pochettes plastiques de transport

- Conservation des Echantillons de squames cutanées, Cheveux, Ongles :
à T°C ambiante sur plusieurs semaines dans leur contenant

IV. PRELEVEMENTS DERMATOMYCOLOGIQUES RECOMMANDATIONS

A. MATERIEL

- Scotch transparent simple face
- Lames et lamelles en verre
- Sérum physiologique stérile
- Matériel stérile à usage unique :
 - Gouges / vaccinostyles
 - Ecouvillons coton
 - Ecouvillons eswab
 - Flacons ou boîtes en plastique stériles
- Matériel en inox stérile:
 - Pinces à ongles coupantes
 - Grattoirs de Vidal
 - Curettes
 - Pinces à épiler

B. MODES OPERATOIRES

1. PRELEVEMENTS DES ONGLES (ONYCHOMYCOSES)

• Onyxis :

- Utiliser une pince à ongles coupante et une gouge / vaccinostyle stériles
- Découper et éliminer la partie distale / en surface de l'ongle

- Prélever des fragments d'ongle et des squames sur le lit de l'ongle au niveau de la jonction zone atteinte / zone saine

- **Périonyxis :**

- Faire sourdre du pus ou de la sérosité
- Prélever à l'écouvillon coton stérile (si possible 2 écouvillons pour ED et culture)

2. PRELEVEMENTS CUTANES (PEAU GLABRE)

- **Intertrigo**

Lésions humides / suintantes des plis avec hyperkératose produisant des lambeaux de peau blanche ou zone périphérique érythémato-squameuse associée à des macules sèches / inflammatoires (Eczéma marginé de Hébra)

Prélever des fragments cutanés avec un Grattoir de Vidal / Gouge / Vaccinostyle

- **Herpès circiné**

Lésions érythémato-squameuses de la peau glabre à développement centrifuge

- Prélever les squames en périphérie de la lésion avec un Grattoir de Vidal / Gouge / Vaccinostyle

- si peu de matériel :

- . grattage préalable avec une Gouge / Vaccinostyle / Grattoir de Vidal
- . Prélever à l'écouvillon coton stérile humidifié avec du sérum physiologique (si possible 2 écouvillons pour ED et culture)

- **Lésions suspectes de Pityriasis versicolor à Malassezia sp.**

Lésions cutanées planes dépigmentées ou hyperpigmentées éventuellement en relief, finement squameuses, Lésions de folliculite, ...

Préférentiellement au niveau du Thorax, dos, suspectes de Mycose à *Malassezia sp.*

- grattage préalable avec un Grattoir de Vidal / Gouge / Vaccinostyle
- recueil des squames avec un scotch transparent de 3 à 5 cm à coller sur 1 lame
- rajouter 1 goutte de Bleu lactoplénol ou de Noir Chlorazol pour l'examen direct microscopique à l'objectif x20 / x40.

3. PRELEVEMENTS DU CUIR CHEVELU (TEIGNES) / BARBE (SYCOSIS)

Lésions cliniques : Lésions érythémato-squameuses, lésions circinées, folliculite, alopecie

- **Recherche de Dermatophytes**

- Prélever :
 - les squames par grattage avec une Gouge / Vaccinostyle / Grattoir de Vidal
 - les cheveux avec le bulbe à la pince à épiler
- Si peu de matériel ou si absence de lésion (porteurs asymptomatiques, enquête familiale) :
 - grattage préalable avec un Grattoir de Vidal / Gouge / Vaccinostyle des lésions ou de toute la surface du cuir chevelu
 - frotter l'ensemble des lésions / cuir chevelu avec un écouvillon humidifié avec du sérum physiologique (Pas d'ED, Culture seule)



- **Recherche de *Malassezia sp.***

Lésions suspectes de Dermite séborrhéique du visage, Cuir chevelu : Lésions érythémato-squameuses par plaques ou diffuses

- grattage préalable avec un Grattoir de Vidal / Gouge / Vaccinostyle
- recueil des squames : avec un scotch transparent de 3 à 5 cm à coller sur 1 lame
- puis rajouter 1 goutte de Bleu lactoplénol ou de Noir Chlorazol pour l'examen direct microscopique à l'objectif x20 / x40.

Si squames en quantité importante : possibilité d'effectuer une recherche complémentaire de *Malassezia sp.* par culture sur Milieu de Sabouraud en présence d'Huile d'olive.

V. DELAI DE RENDU DES RESULTATS

- Cultures sur au minimum 3 semaines en cas de Cultures négatives, ou en cas d'absence d'isolement de Dermatophyte.
- Prévenir le Prescripteur / Patient du rendu de Résultats dans un délai au minimum de 3 à 4 semaines.
- Délai prolongé en cas de repiquages pour subcultures, d'identifications complexes, ...

VI. CONSERVATION DES ECHANTILLONS POST-ANALYTIQUE

- Conservation des Echantillons de squames cutanées, Phanères (Cheveux, Ongles) : à T°C ambiante sur plusieurs semaines dans leur contenant
- Les restes d'Echantillons techniques sont conservés dans leur contenant d'origine à T°C ambiante pendant au minimum 1 mois après le Rendu des Résultats soit au minimum 2 mois.
- Possibilité de traiter ces échantillons à distance du Prélèvement pour techniques complémentaires, matériel de formation.