



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



FICHE THÉMATIQUE/PATHOLOGIE UNGUÉALE

Histomycologie ungueale : apport dans le diagnostic de l'onychomycose

Use of nail histomycology in the diagnosis of onychomycosis

I. Zaraa^{a,1}, Moulonguet^{b,1,*}

^a Service de dermatologie, groupe hospitalier Saint-Joseph, 185, rue Raymond-Losserand, 75014 Paris, France

^b Cabinet de dermatopathologie Mathurin-Moreau, 35, avenue Mathurin-Moreau, 75019 Paris, France

MOTS CLÉS

Onychomycose ;
PAS ;
Histologie

KEYWORDS

Onychomycosis;
PAS;
Histology

d'autant plus qu'il est assez coûteux, long et non dénué d'effets secondaires [1].

Une approche pluridisciplinaire, clinicobiologique, est nécessaire pour confirmer l'OM et identifier l'espèce en cause [1–3]. Le choix de la prise en charge dépend de l'agent causal, de la forme clinique et du terrain du patient.

Les organismes responsables des OM sont les dermatophytes, les moisissures et les levures. La majorité des OM à dermatophytes sont dues à *Trichophyton rubrum* et à *Trichophyton mentagrophytes*. Plus rarement *Epidermophyton floccosum* ou d'autres dermatophytes en sont responsables. Les moisissures sont principalement représentées par: *Scopulariopsis brevicaulis*, *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Neoscytalidium* et *Onychola canadensis* [4]. Les OM à levures sont dues à *Candida* spp et sont responsables de lésions des mains, plus fréquentes chez les sujets dont les mains sont fréquemment en contact avec l'eau.

Plusieurs examens complémentaires peuvent être proposés pour établir le diagnostic d'OM : examen direct, culture sur milieu de Sabouraud, histopathologie, microscopie confocale, spectrométrie de masse (MALDI-TOF), et réaction de polymérisation en chaîne (PCR) [3]. Certains de ces examens sont coûteux, nécessitant l'utilisation d'un équipement sophistiqué, d'autres sont longs à réaliser.

L'examen mycologique reste la référence en cas de suspicion d'onychomycose. Celui-ci repose sur un examen

Introduction

L'onychomycose (OM) constitue un motif fréquent de consultation et représente 50 % des onychopathies et 30 % des mycoses superficielles. Une confirmation diagnostique est nécessaire avant de débuter un traitement systémique,

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : imoulonguetmichau@gmail.com (Moulonguet).

¹ Pour le Groupe ongle de la Société française de dermatologie.

microscopique direct, suivi d'une culture, seule étape permettant l'identification précise du genre et de l'espèce de champignon.

L'examen direct est très opératoire dépendant, nécessitant une bonne expertise, avec de faux négatifs dans 5 à 15 % des cas [5]. Parfois l'examen direct est positif mais la culture est négative, rendant l'interprétation du résultat difficile. Quant à la culture, le taux de faux négatifs varie de 30 à 50 % [3,5–7]. La culture ne permet pas toujours de différencier un agent fongique pathogène qui a envahi la tablette unguéale d'un agent non pathogène contaminant.

L'histomycologie (étude histologique de la kératine unguéale) est également une approche non invasive, simple qui permet de confirmer le diagnostic d'onychomycose. Les faux positifs ou faux négatifs de l'examen mycologique standard peuvent ainsi être redressés par cet examen. La sensibilité de cette technique est meilleure que celle du prélèvement mycologique.

L'histomycologie consiste en l'examen au microscope de coupes histologiques de fragments de tablette et de kératine sous-unguéale et permet de visualiser la présence de champignons. Il s'agit d'un outil intéressant qui permet de confirmer le diagnostic d'OM, d'évaluer la topographie de l'atteinte et de suggérer éventuellement la nature de l'agent responsable. Il permet parfois de poser un autre diagnostic ou de mettre en évidence l'association de l'onychomycose à une autre pathologie.

Technique de prélèvement

Le prélèvement doit être réalisé à la limite de l'ongle sain et de l'ongle malade et être de taille suffisante, c'est à dire comportant de la tablette et de la kératine sous-unguéale. Il s'agit d'un geste simple à condition de maîtriser la technique et d'avoir le matériel adéquat.

Si les ongles sont trop courts, il est préférable de faire revenir le patient après repousse plutôt que de se contenter d'un prélèvement de petite taille qui ne sera pas représentatif. On nettoie la tablette à l'alcool, notamment si on en profite pour pratiquer également un prélèvement mycologique pour examen direct et culture. Le prélèvement sera effectué grâce à une pince à ongle et une curette (Fig. 1). La présentation clinique, éventuellement associée à un examen dermoscopique permet de déterminer le site de prélèvement des échantillons:

- en cas d'onychomycose disto-latérale (DLSO), on prélèvera la tablette et on raclera bien pour obtenir des fragments de kératine sous-unguéale, dont l'atteinte est plus fréquente que celle de la tablette;
- l'onychomycose sous-unguéale proximale (PSO) nécessite un débridement de la plaque de l'ongle pour récupérer des débris de l'ongle sous-jacent;
- en cas d'onychomycose superficielle blanche ou noire, il faut bien gratter la surface de l'ongle, où se logent les agents responsables, avec un scalpel ou une curette.

Le prélèvement est ensuite acheminé au laboratoire de pathologie tel quel dans une enveloppe ou éventuellement dans un fixateur comme le formol, accompagné d'un bon de renseignements cliniques bien rempli.

Il sera mis en cassette après un éventuel ramollissement dans le Moliflex* ou d'autres agents s'il est trop dur.



Figure 1. Prélèvement de la tablette à la pince coupe ongles.

Il sera ensuite inclus en paraffine, coupé et coloré par l'hématoxyline-éosine (HES), le PAS (Periodic Acid Schiff) ou le Grocott (Grocott Methenamine Silver Stain, GMS). Il ne semble pas y avoir de différence de sensibilité entre le PAS et le Grocott, cependant compte-tenu du moindre coût de réalisation du PAS, cette technique d'interprétation facile est plus fréquemment choisie [8]. En cas de traitement antifongique, l'affinité tinctoriale des filaments dystrophiques pour le PAS peut être plus faible, les rendant donc moins bien visibles, la coloration par le Grocott est alors plus utile. Le résultat de cet examen est rapide, obtenu en 2 à 3 jours après réception du prélèvement.

Aspects histologiques

L'histomycologie permet de porter le diagnostic d'OM et dans certains cas d'orienter vers l'agent causal, dermatophytes, levures ou moisissures. L'aspect microscopique permet souvent d'orienter le diagnostic étiologique mais ne permet pas une identification précise de l'agent infectieux, celle-ci faisant appel à la culture ou la PCR. L'aspect varie en fonction du type d'agent causal [9].

Les dermatophytes se présentent sous la forme de filaments souvent longs, rectilignes, septés et d'un calibre uniforme (Fig. 2a–c). Des arthroconidies monomorphes sont souvent présentes. Les levures sont fréquemment groupées en petits amas desquels émergent des pseudo-filaments courts et circonvolués. Les moisissures non dermatophytiques ont des aspects protéiformes qui permettent parfois de suggérer leur nature exacte [8]. Parfois, outre la présence de fins filaments perforateurs (Fig. 3), il est possible d'observer des images plus spécifiques comme une tête aspergillaire dans la kératine hyponychiale pour *Aspergillus*, ou des spores en montgolfière pour *Scopulariopsis brevicaulis* [4]. Des dilatations en forme d'ampoules sont évocatrices d'infection à *Fusarium* (Fig. 4).

Dans l'OM causée par *Candida* sp., l'histomycologie permet de redresser les faux positifs de l'examen direct et de la culture. L'existence de spores au sein de la kératine unguéale peut avoir deux présentations : des levures

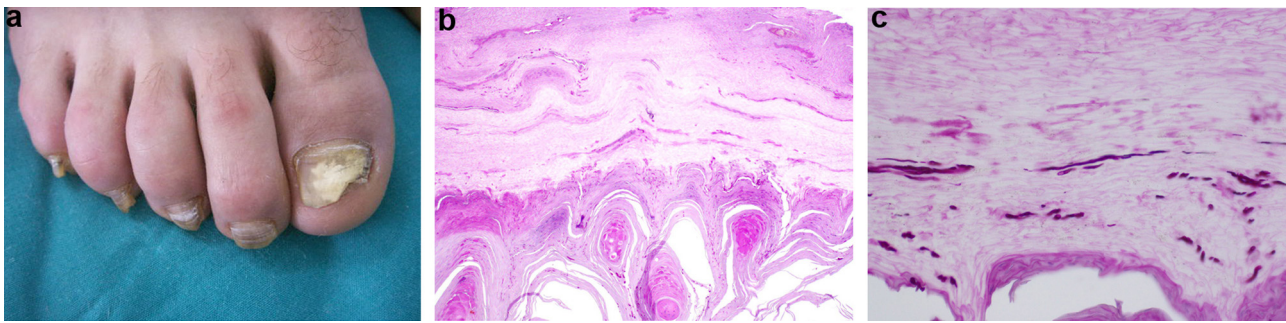


Figure 2. Onychomycose disto-latérale à dermatophytes (*Trichophyton rubrum*). a: aspect clinique: onycholyse avec hyperkératose sous unguéale et xanthonychie ; b : aspect histologique : filaments occupant la kératine sous-unguéale et la partie profonde de la tablette (PAS) ; c : détail : filaments septés de calibre et de forme régulière disposés parallèlement aux lamelles de kératine (PAS).

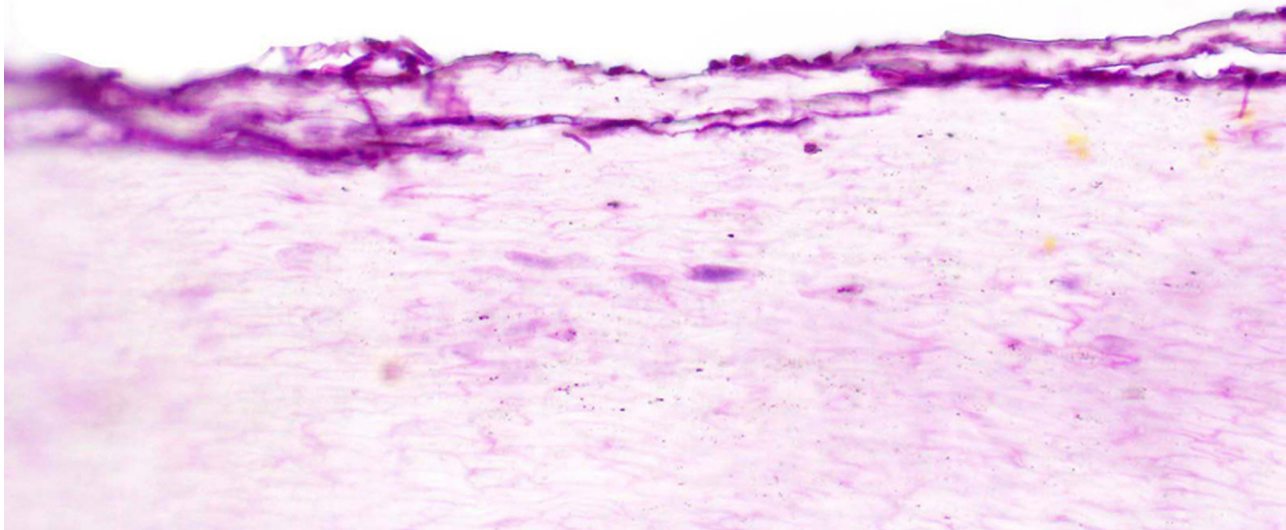


Figure 3. Onychomycose à moisissures [*Fusarium*] : fins filaments perforants disposés perpendiculairement à la tablette, diagnostic confirmé par la culture (PAS).

isolées ou en grappes à la surface de l'ongle ou dans les anfractuosités proches de l'extrémité distale de l'ongle correspondent à une onychodystrophie avec colonisation par des levures sans caractère pathogène. Par contre la présence de levures et de pseudo-filaments envahissant l'hyperkératose hyponychiale ou la tablette unguéale permet de retenir le diagnostic d'onychomycose à levures [9].

Il peut aussi s'agir d'une infection mixte associant de manière variable des dermatophytes, des levures et des moisissures. On distingue deux situations: deux agents pathogènes associés ou un agent pathogène et un contaminant.

Des spores isolées sans filament peuvent être des contaminants et ne permettent pas de porter le diagnostic d'OM.

Si un traitement antifongique a été administré, on peut ne pas trouver d'agents pathogènes ou on voit éventuellement des filaments fragmentés, amincis et pâles moins bien colorés par le PAS ainsi que des spores décolorées et des moisissures.

L'histomycologie peut permettre de poser un autre diagnostic, notamment de psoriasis devant des aspects de parakératose feuilletée avec des amas de polynucléaires et un PAS négatif.

Les images observées au cours de l'étude en histomycologie, varient en fonction de la variété de l'OM. Cependant cette corrélation anatomo-clinique est inconstante.

Dans l'OM disto-latérale, les filaments sont souvent situés dans la partie profonde de la tablette et dans la zone d'hyperkératose sous-unguéale, associés à des amas de polynucléaires et à des foyers de parakératose, d'où la nécessité de bien gratter à la curette cette zone. Les agents pathogènes atteignent plus rarement toute la tablette.

Dans l'OM proximale, les filaments sont trouvés sur toute la hauteur de la tablette.

Dans l'OM superficielle, ils sont présents dans sa partie superficielle envahissant parfois la partie moyenne de la tablette.

Dans l'OM totale dystrophique, la tablette est très remaniée parakératosique avec des débris de cellules inflammatoires et des filaments organisés en tous sens sans orientation parallèle.

Par ailleurs, les mélanonychies fongiques sont causées par des champignons qui produisent de la mélanine, incorporée dans leur paroi ou sécrétée : outre la parakératose et les amas de polynucléaires habituellement trouvés comme dans toute OM, les filaments sont facilement visibles dès les

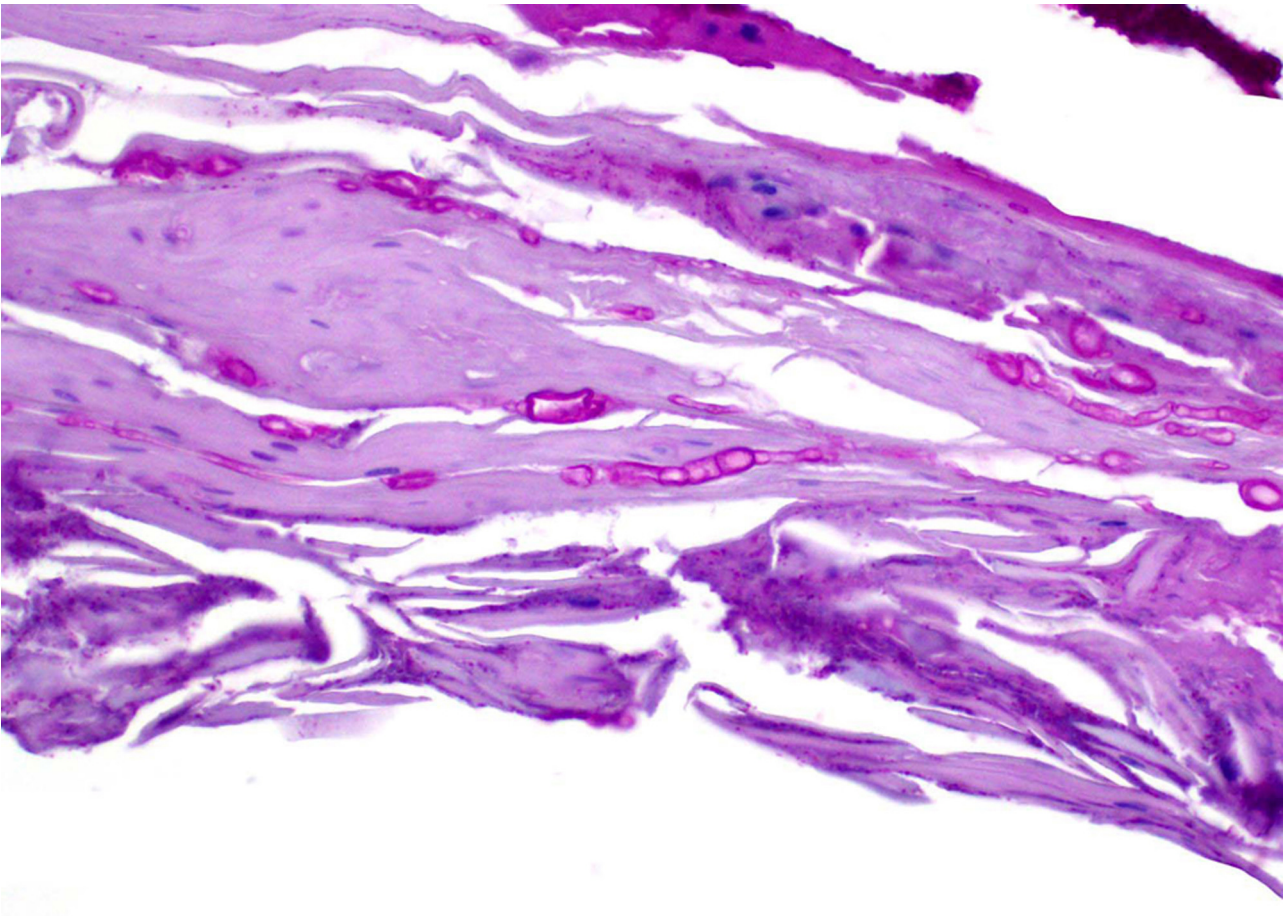


Figure 4. Onychomycose à moisissures (*Fusarium*) : filaments irréguliers avec dilatations ampullaires, diagnostic confirmé par la culture (PAS).

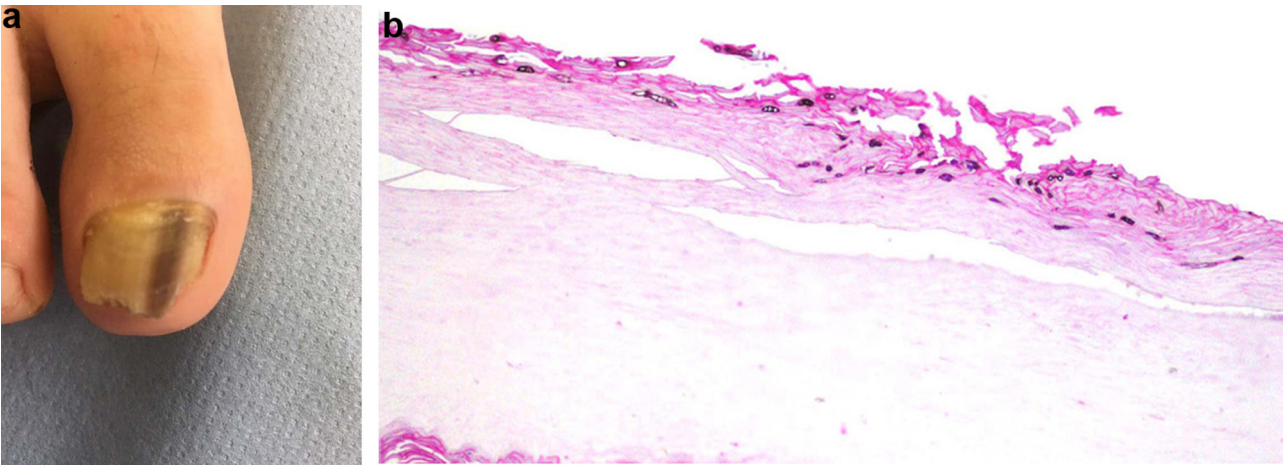


Figure 5. a : aspect clinique: mélanonychie longitudinale fongique ; b : aspect histologique au cours d'une mélanonychie fongique : filaments pigmentés et conidies suggérant une moisissure (HES).

colorations standard (Fig. 5a et b). Les agents responsables sont surtout *Trichophyton rubrum*, *Scytalidium dimidiatum* suivis par *Alternaria spp*, *Exophiala spp* et *Candida albicans* [10].

Le dermatophytome est une forme particulière d'onychomycose qui se traduit par un épaissement

jaunâtre de la tablette. Il est observé dans 18 % des cas d'onychomycoses et son traitement est difficile. Le prélèvement histomycologique montre des agents fongiques très nombreux réalisant une masse dense PAS+. Les dermatophytes en sont les principaux agents responsables [11].

Intérêt de l'examen histomycologique

L'histologie de la kératine unguéale permet d'avoir des informations supplémentaires par rapport à celles apportées par l'examen mycologique classique [10,12,13]. On peut ainsi répondre aux questions suivantes. Le champignon identifié à la culture est-il simplement accroché à la surface anfractueuse de la tablette ou pénètre-t-il en tant que pathogène dans l'épaisseur de la tablette unguéale ? L'absence de champignon est-elle due simplement à un traitement antérieur ou à un prélèvement trop distal ?

L'histomycologie a une meilleure sensibilité par rapport à l'examen direct et la culture. Dans une méta-analyse récente il a été démontré une sensibilité de 23 % à 84,6 % pour la culture, de 44 % à 100 % pour l'examen direct et de 81 % à 91 % pour l'histomycologie [12]. Une sensibilité de 100 % de l'étude histologique a été montrée dans plusieurs études. Contrairement à la culture, l'histomycologie ne permet pas d'identifier l'agent pathogène avec précision.

L'association de deux techniques diagnostiques a montré une sensibilité de 57 % pour la combinaison examen direct et histomycologie et de 98,3 % pour l'association culture et histomycologie [12,14]. La réalisation d'un examen en histomycologie peut s'avérer d'une grande utilité dans certaines situations particulières quand l'examen mycologique ne peut être pratiqué [14,15].

L'histomycologie peut éventuellement contrôler l'efficacité d'un traitement antifongique, mais également de confirmer le diagnostic d'OM chez les patients ayant débuté un traitement antifongique sans prélèvement préalable. Dans une étude portant sur 64 cas d'onchomycoses chez des patients ayant déjà débuté un traitement antifongique, il a été rapporté une sensibilité de l'histomycologie de 88 %, de l'examen direct de 50 % et de la culture de 33 %, respectivement [16]. En cas de traitement antifongique préalable les champignons sont parfois mal visibles au PAS et nécessitent une recherche minutieuse aidée par le Grocott.

L'examen histopathologique avec la coloration PAS est une méthode diagnostique ayant par ailleurs la valeur prédictive négative la plus élevée [17], elle apparaît le moyen le plus fidèle pour détecter une mycose unguéale [2,4,6,10].

Par ailleurs les lames d'examen peuvent être conservées et relues à tout moment pour réexamen ou pour pratiquer des études rétrospectives.

Conclusion

La confirmation du diagnostic d'OM est primordiale avant de débuter un traitement systémique. L'histomycologie paraît une méthode simple de réalisation, sensible et relativement rapide. Comparée à l'examen direct et à la culture, elle est la technique la plus sensible. Elle permet de confirmer le diagnostic dans certaines situations particulières, notamment quand il existe une discordance entre l'examen direct et la culture ou chez des patients ayant débuté un traitement antifongique. Cependant, contrairement à la culture, l'histologie ne permet pas d'identifier l'agent pathogène. L'association de ces deux techniques paraît être une alternative intéressante pour la démarche diagnostique au cours des OM.

Remerciements

Les auteurs remercient le Dr Josette André et Madame Saadia HARAG pour leur aide sur l'interprétation des clichés photographiques.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Gupta AK, Stec N, Summerbell RC, Shear NH, Piguet V, Tosti A, et al. Onychomycosis: a review. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2020, <http://dx.doi.org/10.1111/jdv.16394>.
- [2] Gupta AK, Versteeg SG, Shear NH. Confirmatory testing prior to initiating onychomycosis therapy is cost-effective. *J Cutan Med Surg* 2018;22:129–41.
- [3] Ghannoum M, Mukherjee P, Isham N, Markinson B, Rosso JD, Leal L. Examining the importance of laboratory and diagnostic testing when treating and diagnosing onychomycosis. *Int J Dermatol* 2018;57:131–8.
- [4] Chabasse D, Pihet M. Méthodes de diagnostic d'une onychomycose. *J Mycol Med* 2014;4:269–78.
- [5] Jung MY, Shim JH, Lee JH, Yang JM, Lee DY, Jang KT, et al. Comparison of diagnostic methods for onychomycosis, and proposal of a diagnostic algorithm. *Clin Exp Dermatol* 2015;40:479–84.
- [6] Lavorato FG, Guimarães DA, Premazzi MG, Piñeiro-Maceira JM, Bernardes-Engemann AR, Orofino-Costa R. Performance of mycology and histopathology tests for the diagnosis of toenail onychomycosis due to filamentous fungi: dermatophyte and non-dermatophyte moulds. *Mycoses* 2017;60:587–93.
- [7] Monod M, Méhul B. Recent Findings in Onychomycosis and Their Application for Appropriate Treatment. *J Fungi (Basel)* 2019;5:20.
- [8] Barak O, Asarch A, Horn T. PAS is optimal for diagnosing onychomycosis. *J Cutan Pathol* 2010;37:1038–40.
- [9] Arrese JE, Quaresooz P, Piérard-Franchimont C, Piérard GE. Histomycologie unguéale. *Ann Dermatol Venereol* 2003;130:1254–9.
- [10] Stephen S, Tosti A, Rubin AI. Diagnostic Applications of Nail Clippings. *Dermatol Clin* 2015;33:289–301.
- [11] Bennet D, Rubin A. Dermatophytoma: A Clinicopathologic Entity Important for Dermatologists and Dermatopathologists to Identify. *Int J Dermatol* 2013;52:1285–7.
- [12] Velasquez-Agudelo V, Cardona-Arias JA. Meta-analysis of the utility of culture, biopsy, and direct KOH examination for the diagnosis of onychomycosis. *BMC Infect Dis* 2017;17:166.
- [13] André J, Sass U, Richert B, Theunis A. Nail pathology. *Clin Dermatol* 2013;31:526–39.
- [14] Jeelani S, Ahmed QM, Lanker AM, Hassan I, Jeelani N, Fazili T. Histopathological examination of nail clippings using PAS staining (HPE-PAS): gold standard in diagnosis of onychomycosis. *Mycoses* 2015;58:27–32.
- [15] Weinberg JM, Koestenblatt EK, Tutrone WD, et al. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. *J Am Acad Dermatol* 2003;49:193–7.
- [16] Wilsmann-Theis D, Sareika F, Bieber T, Schmid-Wendtner MH, Wenzel J. New reasons for histopathological nailclipping examination in the diagnosis of onychomycosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011;25:235–7.
- [17] Karaman BFO, Açıkalın A, Ünal İ, Aksungur VL. Diagnostic values of KOH examination, histological examination, and culture for onychomycosis: a latent class analysis. *Int J Dermatol* 2019;58:319–24.