

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
Et de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI  
Un Peuple - Un But - Une

Université des Sciences, des Techniques et de  
Technologies de Bamako



**U.S.T.T.B**

Année Universitaire 2019 – 2020



**THESE** N° \_\_\_\_/

**Identification et antifongogramme des levures isolées  
au service de Bactériologie-Virologie à l'INSP**

Présentée et soutenue publiquement le 16 /12/19  
Devant la Faculté de Pharmacie  
Par **M. Jacques ARAMA**

*Pour Obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie  
(DIPLOME D'ETAT)*

**JURY**

<b>PRESIDENT :</b>	<b>Pr Flabou</b>	<b>BOUGOUDOGO</b>
<b>MEMBRES :</b>	<b>Dr Mariam</b>	<b>SOUMARE</b>
	<b>Dr Souleymane</b>	<b>DAMA</b>
<b>CO-DIRECTEUR :</b>	<b>Dr Ibrehima</b>	<b>GUINDO</b>
<b>DIRECTRICE :</b>	<b>Pr DOUMBO</b>	<b>Safiatou NIARE</b>

## LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

### FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

#### ADMINISTRATION

**DOYEN :** M. Boubacar TRAORE - Professeur

**VICE-DOYEN :** M. Ababacar I. MAIGA - Professeur

**SECRETAIRE PRINCIPAL :** M. Seydou COULIBALY Administrateur civil

**AGENT COMPTABLE :** M. Famalé DIONSAN, inspecteur des finances

#### **PROFESSEURS HONORAIRES**

M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Mahamadou	CISSE	Biologie
M. Daouda	DIALLO	Chimie générale & minérale
M. Souleymane	DIALLO	Bactériologie- Virologie
M. Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
M. Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
M. Boulkassoum	HADARA	Législation
M. Moussa	HARAMA	Chimie organique (décédé)
M. Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
M. Alou A	KEITA	Galénique
M. Mamadou	KONE	Physiologie
M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Brehima	KOUMARE	Bacteriologie/Virologie
M. Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie

#### **DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

##### **1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE**

M. Mounirou	BABY	Hématologie
M. Bakary M.	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie
M. Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
M. Alassane	DICKO	Santé Publique
M. Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
M. Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
M. Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

##### **2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE**

M. Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
M. Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie
M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie <b>Chef de DER</b>
M. Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement

##### **3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE**

M. Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
M. Charles	ARAMA	Immunologie
M. Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
M. Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
M. Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie

Mme Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
M. Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
M. Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
M. Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
M.Yaya	GOITA	Biochimie clinique
M. Ibrehima	GUINDO	Bactériologie virologie
Mme Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
M. Kassoum	KAENTAO	Santé Publique/Bio statistiques
M. Birama Apho	LY	Santé publique
Mme. Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
M. Issaka	SAGARA	Santé Publique/Bio statistiques
M. Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
Mme Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
M. Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé Publique/Bio statistiques

#### **4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE**

Mme Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
M. Issa	DIARRA	Immunologie
M. Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
Mme Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
Mme Merepen dit Agnes	GUINDO	Immunologie
M. Oumar	GUINDO	Epidémiologie
M. Falaye	KEITA	Santé publique/Santé environnement
Mme.N'Deye Lallah Nina	KOITA	Nutrition
M. yacouba	MAIGA	Bio statistique
M. Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
M. Oumar	SANGHO	Epidémiologie
M. Djakaridia	TRAORE	Hématologie

### **DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

#### **1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE**

M. Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
M. Saibou	MAIGA	Législation
Mme Rokia	SANOGO	Pharmacognosie <b>Chef de DER</b>

#### **2. MAITRE DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE**

Néant - -

#### **3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE**

M. Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
M. Bakary Moussa	CISSE	Galénique
M. Yaya	COULIBALY	Législation
M. Issa	COULIBALY	Gestion
M. Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
M. Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
M. Moussa	SANOGO	Gestion
Mme Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

#### **4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE**

M. Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
M. Antoine	DARA	Sciences pharmaceutiques
M. Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
M. Adama	DENOU	Pharmacognosie
M. Sekou	DOUMBIA	Pharmacognosie
M. Mahamane	HADARA	Pharmacognosie

Mme. Assitan	KALOGA	Législation
M. Ahmed	MAIGA	Législation
Mme. Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
M. Aboubacar	SANGHO	Législation
M. Bourama	TRAORE	Législation
M. Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
M. Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
Mme. Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
M. Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

### **DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT**

#### **1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE**

M. Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
M. Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

#### **2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE**

M. Sékou	BAH	Pharmacologie <b>Chef de DER</b>
----------	-----	----------------------------------

#### **3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE**

M. Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
M. Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Tidiane	DIALLO	Toxicologie
M. Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

#### **4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE**

M. Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
M. Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
M. Blaise	DACKOUCO	Chimie Analytique
Mme. Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
M. Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
M. Madani	MARIKO	Chimie Analytique
M. Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
M. Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
M. Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

### **DER SCIENCES FONDAMENTALES**

#### **1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE**

M. Mouctar	DIALLO	Biologie/ <b>Chef de DER</b>
M. Cheik F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
M. Mahamadou	TRAORE	Génétique

#### **2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE**

M. Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée
------------	---------	------------------

#### **3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE**

M. Abdoulaye	KANTE	Anatomie
M. Boureima	KELLY	Physiologie médicale

#### **4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE**

M. Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
M. Modibo	DIALLO	Génétique
M. Moussa	KONE	Chimie Organique
M. Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

### **CHARGES DE COURS (VACATAIRES)**

M. Cheik Oumar	BAGAYOKO	Informatique
----------------	----------	--------------

M. Babou	BAH	Anatomie
M. Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie médicale
M. Souleymane	COULIBALY	Psychologie
M. Boubou	DIARRA	Bactériologie
M. Modibo	DIARRA	Nutrition
M. Moussa I	DIARRA	Biophysique
M. Babacar	DIOP	Chimie
M. Atimé	DJIMDE	Bromatologie
M. Yaya	KANE	Galénique
M. Boubacar	KANTE	Galénique
M. Aboubacary	MAIGA	Chimie organique
M. Massambou	SACKO	SCMP/SIM
M. Modibo	SANGARE	Anglais
M. Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
Mme. Fatoumata	SOKONA	Hygiène du milieu
M. Fana	TANGARA	Maths
M. Abdel Kader	TRAORE	Pathologie médicales
Mme. Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
M. Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

# **DICACES ET REMERCIEMENTS**

## **DEDICACES**

### **A mes parents : Daniel ARAMA & Loïse GUINDO**

Je ne pourrai jamais assez-vous dire merci pour les conseils, le soutien, les encouragements et pour les prières qui m'ont accompagné tout au long de mes études. Ce travail est le fruit de tous vos sacrifices, vous vous êtes toujours sacrifiés pour le bien être de vos enfants. Que notre seigneur Jésus Christ vous donne une très bonne santé, une longue vie et vous comble de bonheur, demeure bénie.

## **REMERCIEMENTS**

### **A Dieu le tout puissant :**

L'Eternel est mon berger, je ne manquerai de rien. Il me fait reposer dans de verts pâturages. Il me dirige près des eaux paisibles. Il restaure mon âme, il me conduit dans les sentiers de la justice, à cause de son nom. Quand je marche dans la vallée de l'ombre, de la mort, je ne crains aucun mal, car tu es avec moi. Ta houlette et ton bâton me rassurent. Tu dresses devant moi une table. En face de mes adversaires ; tu oins d'huile ma tête. Et ma coupe déborde. Oui, le bonheur et la grâce m'accompagneront tous les jours de ma vie. Et je reviendrai dans la maison de l'Eternel pour la durée de mes jours

*Psaume 23*

### **Seigneur Jésus « l'Agneau immolé »:**

Merci d'avoir me donné l'assurance de mon **salut**. Tu es le chemin, la vérité, et la vie ...  
*jean14 :6*

**Tu es le secret de ma réussite**, que toute la gloire et l'honneur te reviennent.

### **A mes frères et sœurs : Benjamin, Abraham, Nema, Rachel et Ester**

Ce travail est aussi le vôtre car sans votre soutien, vos encouragements et vos conseils il n'aurait pas vu le jour

**A mes tantes et oncles** : pour vos conseils et encouragements. Soyez assurés de mon profond respect et de mon affection pour vous toutes et tous

**En particulier à mon oncle Joseph ARAMA** : Ce travail est plus que jamais le vôtre.

Que ce travail, fruit de tes efforts soit le témoignage de ma très grande reconnaissance et de ma profonde affection.

**A mes cousins et cousines** : veuillez recevoir mes remerciements les plus respectueuses de m'avoir accompagné durant ce long cycle.

### **A la famille Arama Paul et à la famille Tessougé Elie :**

Merci pour votre fraternité

**A mes neveux et nièces** : Recevez mes remerciements



**A ma fiancée Jokebeth POUDIOUGO** : merci pour ta patience et la prière

**Mes ami(e)s de lutte** : Oumar DAMANGO, Mme Diallo Tinimba SOUNTOURA, Mme SANGARE Hawa TRAORE, Mamoudou SANGARE, Zoumana DEMBELE, Danielle, Yaya TOGO

**A LA PROMOTION Albert Yéminingué DEMBELE**

« Soyons prêts à réussir tous ensemble », merci. Je vous souhaite à tous beaucoup de satisfaction dans l'exercice de notre profession.

**A mes cadets** : je vous exhorte à plus de courage et de persévérance dans le travail.

**Campus pour Christ national** : vous m'avez enseigné la valeur morale et spirituelle merci infiniment

**Campus pour Christ FMOS /FAPH** : tu as été une famille pour moi et une source de bénédiction qui m'a permis de rester dans la foi en JESUS CHRIST.

**A mes familles Campus pour Christ : KEITA, SOGOBA, TANGARA, FANE, N DIAYE, COULIBALY, KAMATE. . .**

Merci pour vos enseignements, prières orientation

**GBEEM** : Également une famille qui m'a permis à développer ma vie spirituelle et de partager ma foi avec d'autre.

**ASPC MALI** : Famille exceptionnelle qui gorge plein de talent et de leadership, c'est un plaisir pour moi d'être membre fondateur de cette ASSOCIATION.

**Les grand frères et collègues de l'ASPC** : Dr KAMATE, Dr DAOU, Dr GUINDO Gédéon, Dr KANAMBAYE, Dr DIARRA, Dr GUINDO Paul ; Dr Merveille ; Amos ; Roméo ; Éric ; et tous les jeunes frères recevez mes sincères remerciements.

**A mes camarades thésards de l'INSP** : merci pour tous les moments passés ensemble. Bonne chance pour l'avenir !

**A mes aînés du service de l'INSP** : merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté. Que Dieu vous accorde une longue et riche carrière médicale

**Au personnel de l'INSP** : merci pour tous les moments passés ensemble. Vous avez été et resterez une famille pour moi.

**Mes Maitres du premier et deuxième cycle et lycée :**

Merci pour votre formation de base, trouvez ici mes sentiments les plus profonds

**A corps professoral de la FMOS/FAPH :**

Je vous dis tout simplement merci et grand merci pour votre formation de qualité

**La famille Camara à Sévaré :**

Merci pour votre hospitalité sans faillite pendant que j'étais au lycée

**La famille Tomon FMOS /FAPH :** je remercie les aînés pour cette initiative de famille et leur soutien sans faillite, j'exhorte les cadets de continuer dans le même sens.

**Dr TRAORE Amidou :**

Merci pour vos soutiens matériels financier et moral. C'est le moment de vous dire merci infiniment.

# **HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY**

## **HOMMAGE AUX**

### **MEMBRES DU JURY**

**A notre Maître et président du jury :**

**Pr Flabou BOUGOUDOGO PharmD ; PhD**

- Professeur Agrégé en bactériologie et virologie à la faculté de Pharmacie ;
- Responsable de l'enseignement de la bactériologie et de la virologie à la faculté de Pharmacie,
- Directeur de l'INRSP de 2002 à 2012,
- Officier de l'Ordre du mérite de la santé

Honorable **maître**,

Que dire d'un grand maître qui, de par ses qualités humaines particulières épargne de l'orphelinat tout étudiant de la FAPH. Vos qualités humaines, scientifiques, votre rigueur dans le travail et surtout votre sens élevé de la responsabilité font de vous un maître respectable et admiré. Nous sommes très fiers d'être compté parmi vos disciples. Soyez rassurer honorable maître de notre sincère reconnaissance

**A notre Maître et juge :**

**Dr Souleymane DAMA PharmD ; PhD**

- Docteur en pharmacie
- Titulaire d'un PhD en parasitologie ISFRA/USTTB
- Titulaire d'un Master en Pharmacologie à la Faculté de Pharmacie
- Maître assistant /chargé de recherche

Cher maître

Nous sommes très touchés par l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Vos observations ont contribué à améliorer la qualité de ce travail.

Homme aux multiples qualités scientifiques et humaines, votre rigueur et votre courage font de vous un exemple à suivre.

Recevez ici cher Maître, l'expression de notre reconnaissance et de notre profonde gratitude.

**A notre Maître et juge :**

**Dr Dicko Mariam SOUMARE MD**

- Médecin spécialiste en Maladies Infectieuses et en Microbiologie
- Praticienne hospitalière au CHU du Point G
- Enseignante chargée de chercheur à la FMOS
- Membre de la Société Africaine de Pathologies Infectieuses (SAPI)
- Membre de la Société Malienne de Pathologies Infectieuses Et Tropicales (SOMAPIT).

Cher maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail. Nous sommes très touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans ce jury. Votre sympathie fait de vous une femme remarquable. Nous vous prions de recevoir cher maître, l'expression de notre sincère reconnaissance

**A notre Maître et co-directeur de thèse :**

**Dr Brèhima GUINDO: PharmD ; DES biologie clinique**

- Pharmacien microbiologiste,
- Chef de service du laboratoire Bactériologie-Virologie à l'INRSP
- Maitre-assistant de Bactériologie Virologie à la Faculté de Pharmacie
- Point focal de RAM

Cher maître,

Nous vous remercions de la confiance que vous nous avez accordée en nous proposant ce travail. Votre encadrement précieux a contribué à l'élaboration de ce travail. Votre qualité d'homme de science très méthodique, votre dévouement et votre sens élevé d'humanisme font de vous un homme vertueux admiré de tous. Veuillez accepter cher maître, l'expression de notre plus haute considération

**A notre Maître et Directrice de thèse :**

**MAITRE DE CONFERENCES AGREGE DOUMBO Safiatou NIARE: MD; PhD**

- Maître de conférences agrégé en Parasitologie-Mycologie à la FMOS/USTTB
- Représentante du PTR-SANTE du CAMES au Mali
- Responsable du laboratoire biologique de l'unité d'immunogénétique du Malaria Research and Training Center (MRTC)
- Chef de laboratoire de diagnostic mycologique du MRTC/Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP)
- Secrétaire générale de l'Association des Femmes Scientifiques du Mali (AFSM)

Chère maître,

Nous avons admiré vos qualités scientifiques et humaines tout au long de ce travail.

Nous avons été séduits par votre qualité d'accueil et d'encadrement.

Femme de principe, votre rigueur scientifique fait de vous un maître exemplaire et reconnu de tous.

Votre souci du travail bien fait nous a ramené à croire en nos propres capacités.

Nous vous prions d'accepter ici l'expression de notre profond respect et de notre profonde gratitude



## **ABREVIATIONS**

ABC : ATP-binding cassette

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AMB : Amphotéricine B

*C* : *Candida*

CDR : Candida Drug Resistance

CMF : Concentration Minimale Fongicide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CYP51 : Cytochrome 51

DAP : Département Administration et Personnel

DDRB : Département de Diagnostic et de Recherche Biomédicale

DEAP : Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

DF : Département Formation

DMT : Département Médecine Traditionnelle

DSC : Département Santé Communautaire

EPST : d'Établissement Public à caractère Scientifique et Technologique

FKS1, FKS2 : gènes

GOF : gain of function

GPI : Glycosylphosphatidylinositol

HOG : High Osmolarity Glycerol

IFI : infection fongique invasive

MDR1 : MultiDrug Resistance 1

MFS : Facilitator Superfamily

MFS : Major Facilitator Superfamily

MRTC : Malaria Research and Training Center

NaCl : Chlorure de sodium

ODL : données de l'Observatoire des levures

PCB: Pomme de Terre Carotte –Bile

PKC : protéine kinase C

RVVC : candidose vulvo-vaginale récurrente

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise

SNP : Single Nucléotide Polymorphisme

TAC1 : Transcriptional Activator of CDR gènes - *C. albicans*

UPC2 :

UPRT : l'Uridine Phosphoribosyl-Transférase

USI : unité de soins intensifs

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

TABLE DE MATIERE

Liste des tableaux.....	22
Liste des figures.....	23
I	
INTRODUCTION.....	24
II	
OBJECTIFS.....	25
1 Objectif général.....	25
2 Objectifs spécifiques.....	25
III	
GENERALITES.....	26
1 Définition du champignon.....	26
2 Historique et classification des champignons.....	26
3 Genre Candida.....	28
3.1 Définition d'une Candidose :.....	28
3.2 Taxonomie des Candida .....	29
3.3 Structure et Morphologie.....	30
3.4 Habitat de candida .....	31
3.5 Génome .....	31
3.6 Epidémiologie.....	32
3.7 Physiopathologie .....	32
3.8 Aspects cliniques .....	34
3.8.1 Candidoses superficielles .....	34
3.8.2 Candidoses profondes .....	36
4 Cryptococcose .....	37
5 Les principaux facteurs incriminés aux infections fongiques.....	38
5.1 Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte .....	38
5.2 Les facteurs extrinsèques et / ou iatrogènes .....	38
6 Antifongiques.....	38
6.1 Les azolés :.....	38

6.1.1	Structures chimiques.....	38
6.1.2	Mécanisme d'action .....	39
6.1.3	Mécanismes de résistance aux azolés.....	40
6.2	Les échinocandines.....	45
6.2.1	Structures moléculaires.....	45
6.2.2	Mécanisme d'action .....	45
6.2.3	Mécanisme de résistance .....	46
6.3	Les polyènes : .....	48
6.3.1	Structure moléculaire.....	48
6.3.2	Mécanisme d'action .....	48
6.3.3	Mécanisme de résistance .....	49
6.4	Les analogues nucléosidiques .....	49
6.4.1	Structure moléculaire.....	49
6.4.2	Mécanisme d'action .....	50
6.4.3	Mécanisme de résistance .....	50
6.5	Les allylamines.....	50
6.6	Les morpholines .....	50
IV	METHODOLOGIE.....	52
1	Lieu et cadre d'étude.....	52
2	Population d'étude.....	53
2.1	Critères d'inclusions.....	53
2.2	Critères non d'inclusions .....	53
2.3	Type et période d'étude .....	53
2.4	Echantillonnage .....	53
2.4.1	Collecte des données.....	54
3	Diagnostic Mycologique.....	54
3.1	Les prélèvements biologiques .....	54
	Matériels de prélèvement .....	55
	Matériels d'identification .....	55
	Milieu et réactif .....	55
	Boite de pétri gélose Sabouraud, NaCl 0.85%.....	55
3.2	Examen direct.....	55
➤	A l'état frais .....	55
3.3	Culture .....	55
	Identification .....	56

4	Test de blastèse :.....	56
5.	Antifongigramme.....	56
6.	Analyses statistiques.....	56
7.	Aspects éthiques.....	56
1	Résultats globaux.....	57
2	Résultats Descriptifs.....	60
3	Résultats Analytiques.....	66
4	Profil de résistance des souches isolées aux antifongiques.....	68
5	Sensibilité /Résistance aux antifongiques.....	lxix
VI COMMENTAIRES		
DISCUSSIONS.....		lxxii
VII		
CONCLUSION.....		lxxv
VIII		
RECOMMANDATION.....		lxxvi

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> La fréquence des levures isolées par type de prélèvements .....	57
<b>Tableau 2:</b> la résistance des souches testées aux différents antifongiques .....	57
<b>Tableau 3:</b> Fréquence d'isolement des levures .....	58
<b>Tableau 4:</b> Distribution des espèces de levures selon la nature de prélèvement .....	59
<b>Tableau 5:</b> Distribution des germes isolés à l'examen de la routine .....	63
<b>Tableau 6:</b> Distribution des levures isolées par le VITEK2 .....	65
<b>Tableau 7:</b> Distribution des levures identifiées par VITEK2 selon la provenance des patients (service) .....	66
<b>Tableau 8:</b> Distribution des levures selon la nature de prélèvement .....	67
<b>Tableau 9:</b> la résistance des fongies aux différents germes isolés .....	68
<b>Tableau 10:</b> Le profil de résistance de <i>C. albicans</i> aux antifongiques.....	lxix
<b>Tableau 11:</b> Le profil de résistance de <i>C. dubliniensis</i> aux antifongiques .....	lxix
<b>Tableau 12:</b> Le profil de résistance de <i>C. glabrata</i> aux antifongiques .....	lxix
<b>Tableau 13 :</b> Le profil de résistance de <i>C. kefyr</i> aux antifongiques .....	lxx
<b>Tableau 14:</b> Le profil de résistance de <i>C. krusei</i> aux antifongiques.....	lxx
<b>Tableau 15:</b> Le profil de résistance de <i>C. lipolitica</i> aux antifongiques .....	lxx
<b>Tableau 16:</b> Le profil de résistance de <i>C. lusitaniae</i> aux antifongiques .....	lxx
<b>Tableau 17:</b> Le profil de résistance de <i>C. parasilosis</i> aux antifongiques.....	lxxi
<b>Tableau 18:</b> Le profil de résistance de <i>C. tropicalis</i> aux antifongiques.....	lxxi

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Classification des champignons (14, 15).....	28
<b>Figure 2 :</b> Schéma : d'une cellule de Levure.....	31
<b>Figure 3 :</b> portes d'entrées des Candida chez l'homme (25) .....	33
<b>Figure 5 :</b> Interaction de C. albicans avec les cellules de l'hôte et communication cellulaire dans les vaisseaux sanguins (25).....	34
<b>Figure 6:</b> Structure des antifongiques triazolée (47).....	39
<b>Figure 7:</b> Voie de biosynthèse de l'ergostérol (48). .....	40
<b>Figure 8:</b> Rôle de la protéine Erg3p (55). .....	43
<b>Figure 9:</b> Mécanismes de résistance aux antifongiques azolés chez Candida spp.....	44
<b>Figure 10:</b> Structure des échinocandines(47). .....	45
<b>Figure 11:</b> Mécanismes de résistance aux échinocandines (C. albicans)(63). .....	47
<b>Figure 12:</b> Mécanisme d'action des polyenes (64).....	49
<b>Figure 13:</b> Cibles des différents antifongiques (68). .....	51
<b>Figure 14 :</b> Répartition des patients selon la tranche d'âge .....	60
<b>Figure 15:</b> Répartition des patients selon le sexe .....	60
<b>Figure 16 :</b> répartition des patients selon leur profession.....	61
<b>Figure 17 :</b> Répartition selon la résidence des patients .....	61
<b>Figure 18:</b> Répartition des patients selon la provenance des échantillons. ....	62
<b>Figure 19:</b> Répartition des patients selon la nature de prélèvement .....	62
<b>Figure 20:</b> Répartition des patients selon le traitement préalable réussit sur le bulletin .....	63
<b>Figure 21:</b> Répartition selon le résultat du test de filamentation (ou blastèse) .....	64

## I INTRODUCTION

Les infections fongiques systémiques restent des affections graves dont l'incidence est en constante progression ces dix dernières années. Elles sont associées à une élévation significative de la morbidité et de la mortalité des patients immunodéprimés. La principale cause de cette progression réside dans l'augmentation considérable des facteurs de risques comme l'immunosuppression (SIDA, transplantation, pathologies cancéreuses et hématologiques), l'utilisation de cathéters vasculaires et l'administration d'antibiotiques à large spectre (1).

Les infections fongiques invasives sont des infections sévères associées à une lourde mortalité. Elles sont actuellement un problème majeur de santé publique et leur incidence augmente. Les candidémies, présence de levures du genre *Candida* dans le sang, représentent la quatrième cause d'infections hématogènes nosocomiales (2). Les cryptococcoses, quant à elles, sont responsables de 600 000 décès chaque année en Afrique. L'aspergillose invasive infecte 10% des patients transplantés de cellules souches, la mortalité de ces infections reste élevée avec des taux de 50,15 et 40% respectivement (2).

L'augmentation de la fréquence des infections à levures durant ces trois dernières décennies s'est également accompagnée d'une augmentation de l'incidence de certaines espèces auparavant peu représentées (3).

*Candida albicans* est responsable d'infections qui, par leur gravité, se situent au premier rang des infections fongiques (3).

Si *C. albicans* reste de loin l'espèce la plus fréquente, *C. glabrata* est devenue, selon les études récentes et la forme clinique de l'infection, la deuxième ou troisième espèce la plus fréquemment isolée (2).

Cependant depuis 2006, *C. parapsilosis* est devenue la deuxième espèce responsable de candidémies, devançant ainsi *C. glabrata* (4). Selon Gallien *et coll.*, en 2007, l'isolement de *C. parapsilosis* est fortement associé à une infection du cathéter veineux (5, 6).

Malgré l'émergence des mycoses en pathologie humaine, très peu d'études se sont penchées sur l'identification et l'antifongigramme de ces germes au Mali.

Le service bactériologie-virologie isole en routine des levures et les procédures d'identification ne sont pas très bien élaborées ; d'où le but de ce travail est d'identifier les



levures (germes et espèce) afin d'améliorer la qualité des résultats que nous produisons. Cela contribuera à mettre à jour les données dans le contexte national et d'améliorer le pronostic des mycoses.

### **Questions de recherche**

Quelles sont les espèces de levures isolées au laboratoire de bactériologie-virologie ?

Quelle est la sensibilité de levures isolées au laboratoire de bactériologie-virologie aux antifongiques usuels ?

## **OBJECTIFS**

### **Objectif général**

Evaluer la prévalence et la sensibilité des levures dans les différents prélèvements biologiques.

### **Objectifs spécifiques**

- Déterminer la fréquence d'isolement des levures.
- Décrire les espèces identifiées
- Identifier les espèces de levures selon la nature de prélèvement biologique
- Déterminer la sensibilité des souches isolées aux antifongiques.

### **III GENERALITES**

#### **1 Définition du champignon**

Un champignon est un organisme eucaryote uni ou pluricellulaire, dépourvu de pigment assimilateur (chlorophylle) ; ce qui le distingue profondément du règne végétal.

Le champignon peut rester invisible à l'œil nu (Micromycète) sauf en cas de développement intense formant des « colonies », c'est le cas des levures et des filamenteux sur des milieux appropriés, tandis que d'autres sont toujours visibles (Macromycètes) en particulier par leur « chapeau » ou « carpophore » (organe reproducteur). Qu'ils soient macromycètes ou micromycètes, l'organisation végétative ou nutritionnelle et reproductive des champignons est la même. Rappelons ici que la nutrition du champignon se fait par absorption et non par phagocytose comme les composants du règne animal ou par photosynthèse comme chez les végétaux. Les champignons, à l'opposé des animaux, sont des êtres immobiles qui compensent ce handicap par la production d'un nombre considérable de spores (7).

#### **2 Historique et classification des champignons**

On les a longtemps assimilés au règne végétal de par leur morphologie (thalle, spores, etc.), de par leur absence de mobilité et leur nutrition (absorption). En effet, au 18<sup>ème</sup> siècle, le monde vivant était partagé en 2 règnes : le végétal et l'animal. Le règne végétal regroupait les plantes et les algues, qui sont des espèces photosynthétiques, les bactéries et les champignons. Le règne animal, quant à lui, était composé à la fois d'êtres unicellulaires, c'est-à-dire les Protozoaires et des Métazoaires (8).

En 1866, le naturaliste et philosophe allemand Haeckel proposa d'y ajouter un troisième règne, celui des Protistes, ce que Copeland transformera plus tard en Protoctistes pour y regrouper la plupart des unicellulaires c'est-à-dire des bactéries, les Protozoaires, les Myxomycètes et autres protistes fongoïdes en raison de leur similitude avec les Rhizopodes. Les champignons et les algues sont quant à eux restés encore longtemps associés au règne végétal (9).

C'est en 1969 que l'américain Wittaker propose un système taxinomique à 5 règles soit les monomères (bactéries), les protistes, les végétaux, les champignons et les animaux (10).

L'identification des champignons est fondée principalement sur des critères morphologiques liés aux modes de reproduction. Classiquement, on distingue chez les champignons, deux types de reproduction, l'une étant appelée asexuée car la cellule fongique se divise par simple

mitose, l'autre appelée sexuée car elle intègre un processus de fusion cytoplasmique, de caryogamie et de méiose (7).

Quatre divisions sont différenciées selon les modalités de reproduction sexuée : les Chytridiomycotina, les Zygomycotina, les Ascomycotina et les Basidiomycotina.

### **Chytridiomycotina, les Zygomycotina :**

La reproduction asexuée se fait par des endospores non mobiles, dite endogène, tandis que la reproduction sexuée consiste en la fusion directe de deux gamétocystes en une spore enkystée ou zygospore qui donne naissance à des sporophytes par une méiose.

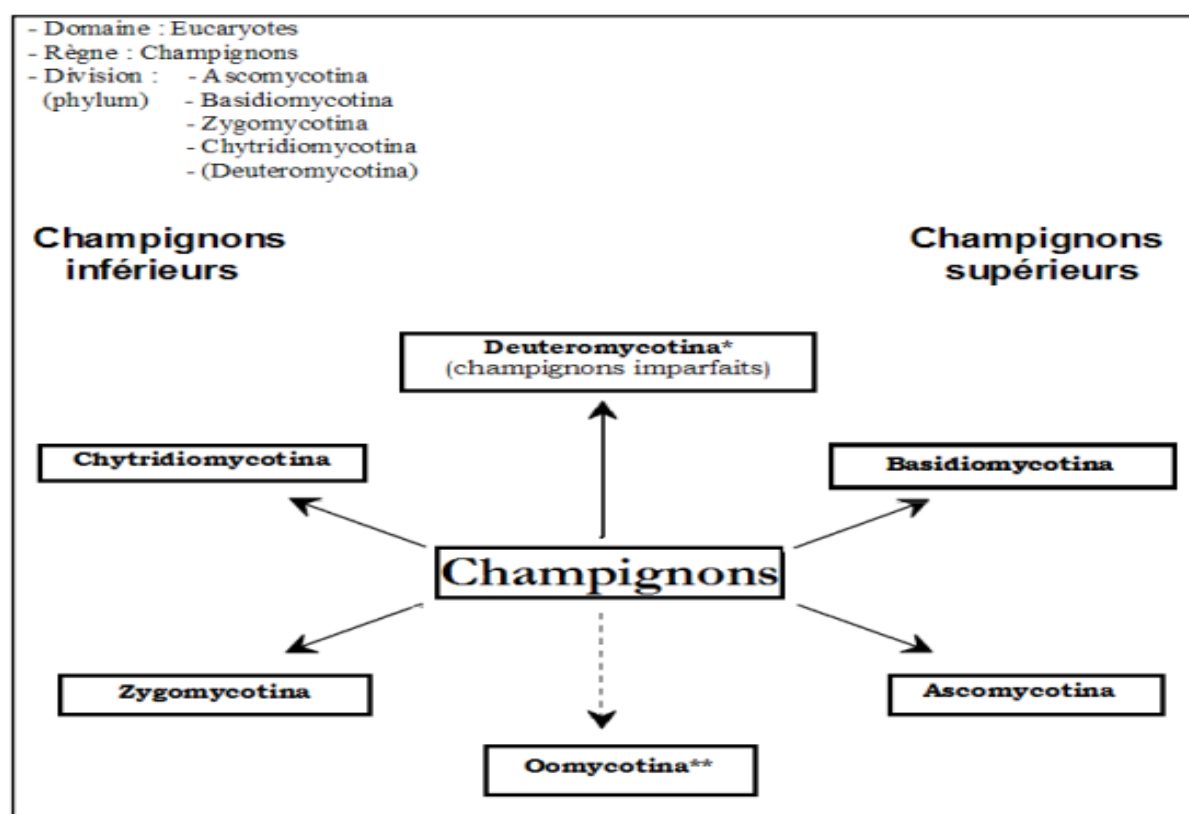
### **Ascomycotina :**

La multiplication asexuée de ce phylum se fait par des conidies (haploïdes) de formes très variées alors que la reproduction sexuée entre les gamétophytes haploïdes commence par une fusion des cytoplasmes (plasmogamie) qui conduit à la formation de dicaryons, puis se poursuit par une caryogamie (fusion des noyaux) et enfin par la méiose, aboutissant finalement à la formation d'ascospores haploïdes. Ces ascospores sont produites de manière endogène à l'intérieur d'un sac appelé asque, généralement sont octosporée (7, 11, 12).

### **Basidiomycotina :**

Ces champignons se caractérisent par la production de spores sexuées (basidiospores), formées par bourgeonnement à l'extrémité d'éléments allongés (basides), elles-mêmes disposées sur un organe de fructification (basidiocarpe). Ils ont un thalle cloisonné avec présence de « boucles » au niveau des cloisons. En outre, lorsque la reproduction sexuée n'est pas connue, la division est appelée Deuteromycotina ou Fungi imperfectif (13).

Les classifications actuelles se basent principalement sur ces critères morphologiques liés aux modes de reproduction (14, 15).



**Figure 1:** Classification des champignons ([14](#), [15](#)).

\* : Champignons connus par leur stade asexué, en attente de classification.

\*\* : Actuellement les espèces issues de cette division ne sont plus classées parmi les vrais champignons (*Eufungi*).

### 3 Genre *Candida*

#### 3.1 Définition d'une Candidose :

Les infections causées par les espèces de *Candida* sont connues sous le nom de candidoses. Mais il existe des noms communs décrivant des pathologies spécifiques telles que le Muguet (ou candidose buccale). Du point de vue historique, la première est une pathologie bien connue puisque Hippocrate, initiateur de l'observation clinique, en fait la description au 4ème siècle avant J.C ([16](#)).

Les pathologies associées aux candidoses sont extrêmement variées puisque virtuellement tout organe ou système du corps (sanguin, nerveux) peut être infecté. Les candidoses existent sous deux formes: l'une superficielle (cutanée et unguéale, digestive, génito-urinaire), l'autre disséminée ou septicémique (candidose profonde ou candidémies). La capacité de ce champignon à adhérer au tissu hôte, à sécréter des protéases et des phospholipases, à changer

de morphologie et à moduler la défense de l'hôte constituent les déterminants majeurs de sa pathogénicité (16).

### 3.2 Taxonomie des *Candida*

La taxonomie des champignons du genre *Candida* se fait comme suite (17).

**Règne** : Champignon

**Phylum** : *Ascomycota*

**Classe** : Hemiascomycètes

**Ordre** : Saccharomycétales

**Famille** : *Candidaceae*

**Genre** : *Candida*

**Espèces** : plus de 120 espèces

Les plus couramment rencontrées : *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida famata*.

#### *Candida albicans*

C'est l'espèce la plus fréquemment incriminée dans les infections et les colonisations à *Candida sp* (18, 19). Elle est commensale du tube digestif et des muqueuses humaines. Sa présence sur la peau est systématiquement pathogène. Cette espèce est responsable d'atteintes cutanéomuqueuses, d'infections profondes (pyélonéphrite, péritonite) et d'infections hématogènes (candidémies, candidose hépatosplénique et méningite)

#### *Candida glabrata*

En deuxième position en Europe et aux Etats-Unis en terme de fréquence après *C. albicans*, on retrouve cette espèce au niveau du tube digestif et des muqueuses humaines. Elle est responsable de candidémies, d'infections du tractus urinaire et de candidoses profondes

#### *Candida parapsilosis*

*C. parapsilosis* est préférentiellement retrouvé sur la peau. Il est responsable d'infections cutanées, mais aussi d'infections profondes qui peuvent être d'origine endogène ou exogène. Le portage manuel du personnel soignant est fréquent, la transmission horizontale est donc aisée et certaines épidémies en milieu hospitalier ont déjà été décrites.

#### *Candida tropicalis*

La neutropénie étant un facteur prédisposant de candidémies à *C. tropicalis*, on retrouve cette levure principalement chez les populations de patients ayant des tumeurs solides, des pathologies onco-hématologiques ou chez les greffés de cellules souches hématopoïétiques.

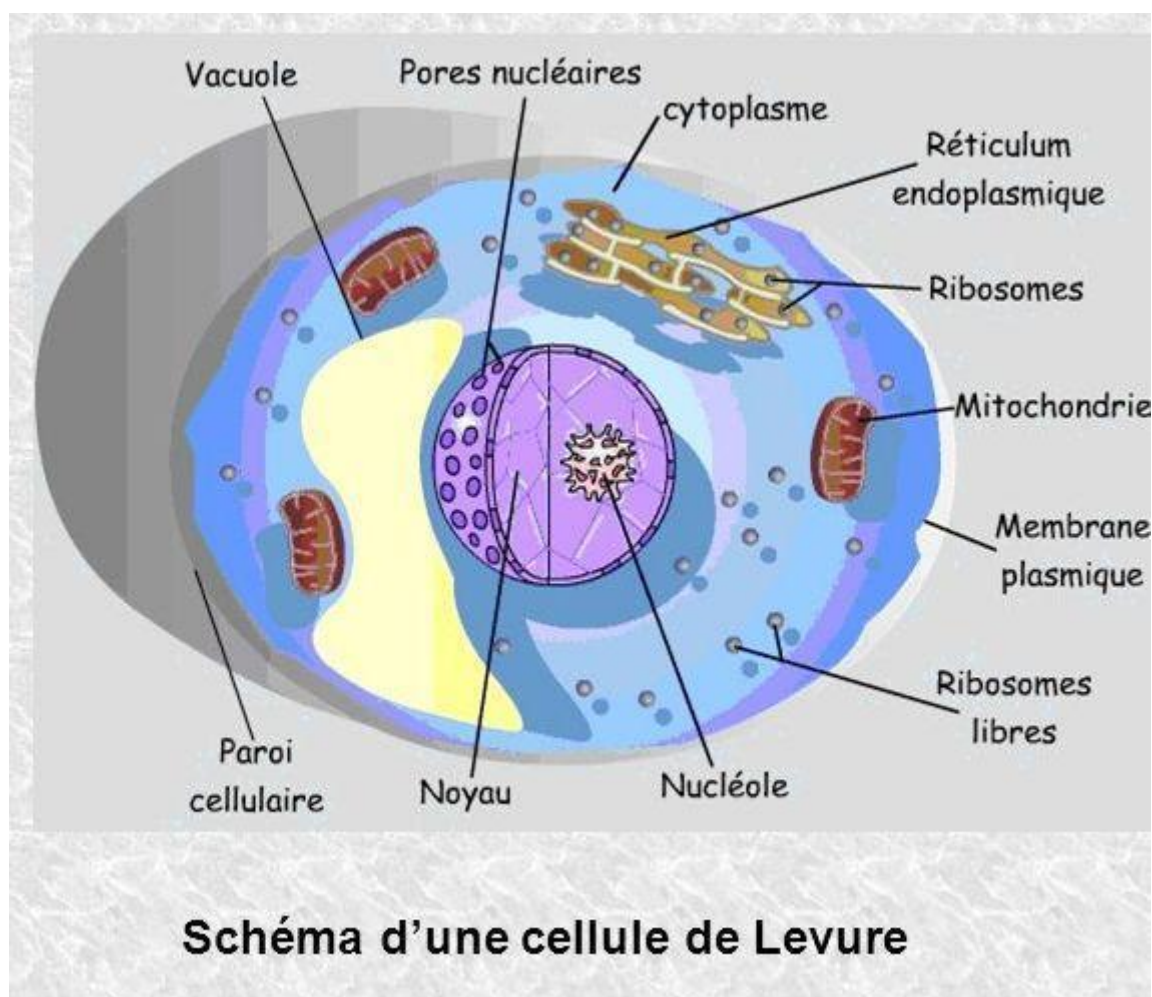
#### *Candida krusei*

Les candidémies à *C. krusei* sont redoutables, avec une mortalité très élevée (mortalité brute de 80% et mortalité attribuable de 40%) (20).

Les espèces *C. famata*, *C. colliculosa*, *C. dubliniensis*, *C. lusitaniae*, *C. kefyr* ont été également isolées.

### 3.3 Structure et Morphologie

Les *Candida* sont des champignons levuriformes dont l'appareil végétatif peut se présenter sous des formes variées (blastospores ovales de 2 à 5  $\mu\text{m}$ , filaments ou pseudofilaments) et se multipliant par bourgeonnement. Certaines espèces ont conservé la capacité à se reproduire par voie sexuée et à faire la méiose (par exemple *Issatchenkia orientalis*, *Clavispora lusitaniae*). Les cellules de ces microorganismes eucaryotes ont la particularité, comme tous les champignons, d'avoir une paroi contenant de la chitine (21). Cette dernière joue un rôle de protection contre les attaques physico-chimiques de l'environnement et permet de résister aux variations de la pression osmotique. Elle est composée d'éléments structuraux et d'une matrice qui assurent une balance entre résistance et plasticité. Le composant majeur de la paroi est le  $\beta$ -1,3 glucane lié covalamment à des  $\beta$ -1,6 glucanes et à la chitine (polymère de N-acétylglucosamine lié en  $\beta$ -1,4). Ces polymères forment des microfibrilles liées par des liaisons hydrogènes, et se situent dans les couches les plus basales de la paroi, notamment la chitine qui est proche de la membrane plasmique. La matrice est constituée de protéines glycosylées. L'ensemble de ces composants pariétaux est commun au règne fongique, mais chaque espèce peut avoir des composés spécifiques et une proportion et une répartition différente de chaque élément, ce qui peut modifier l'interaction avec les cellules de l'hôte (21).



**Figure 2** :Schéma : d'une cellule de Levure

### 3.4 Habitat de candida

Les *Candida* sont habituellement commensaux des muqueuses et de la peau ou peuvent être des espèces environnementales. Certaines espèces peuvent se manifester en tant que pathogène animal (16).

### 3.5 Génome

Au niveau génétique, le genre *Candida* regroupe des levures haploïdes ou diploïdes, capables pour certaines espèces de reproduction sexuée. Ce clade est caractérisé par une variation du code génétique : le codon CUG est décodé en sérine plutôt qu'en leucine.

De nos jours, de nombreux génomes de *Candida* sont séquencés. Leurs tailles varient de 10 Mb pour (*C. guilliermondii*) à 15 Mb (pour *Lodderomyces elongisporus*) et ils contiennent environ 6000 gènes (16).

### 3.6 Epidémiologie

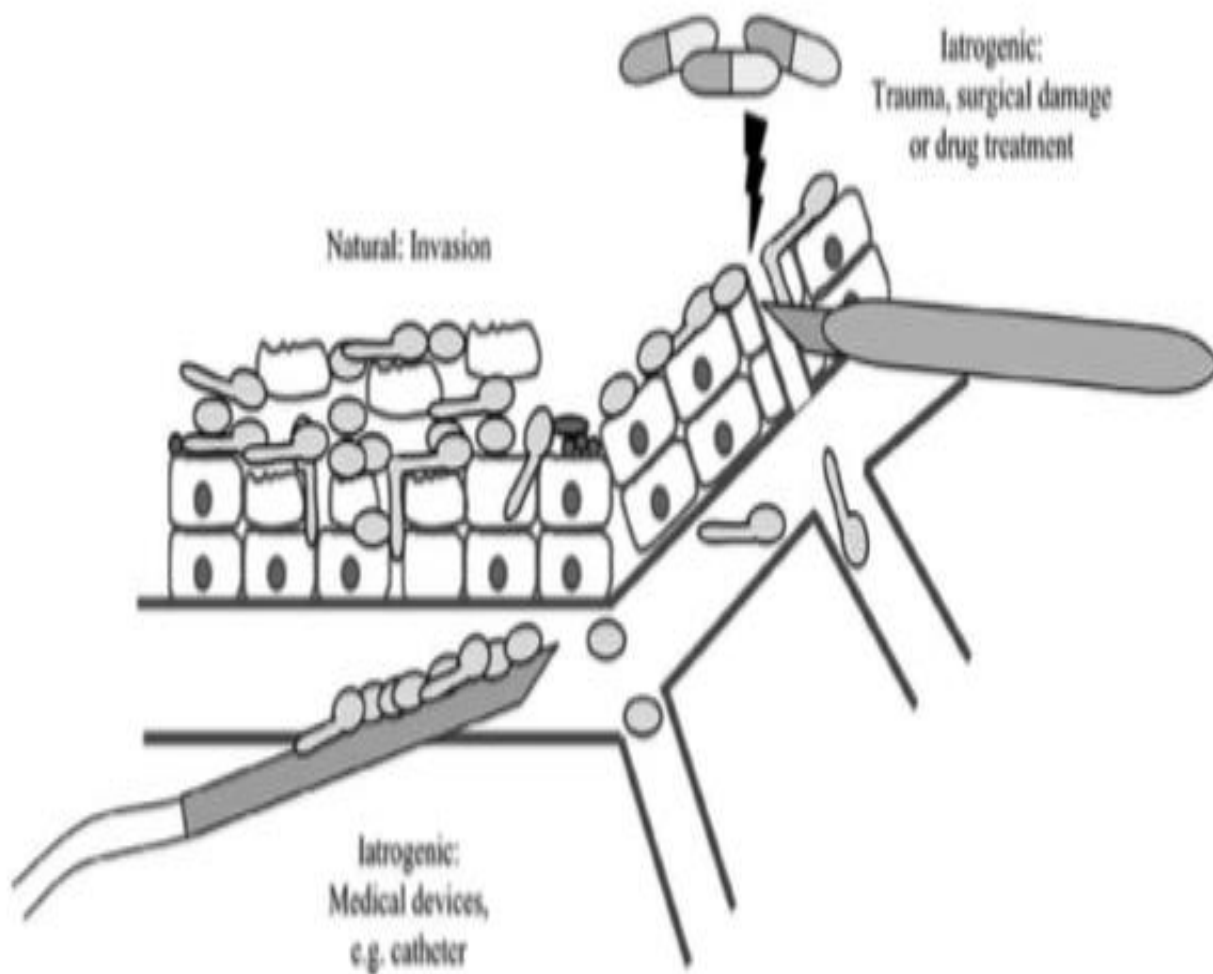
Malgré le développement de nouveaux moyens thérapeutiques, en particulier chez des patients immunodéprimés (22). Les levures du genre *Candida* sont la cause de pathologies graves et dont la fréquence reste constante (23). En effet, 54,3% des infections sont dues à *C. albicans*, 16,4% à *C. glabrata*, 14,9% à *C. parapsilosis*, 8,2% à *C. tropicalis* et 1,6% à *C. krusei* (24). Il faut toutefois noter que la zone géographique peut fortement influencer l'épidémiologie de l'espèce isolée.

### 3.7 Physiopathologie

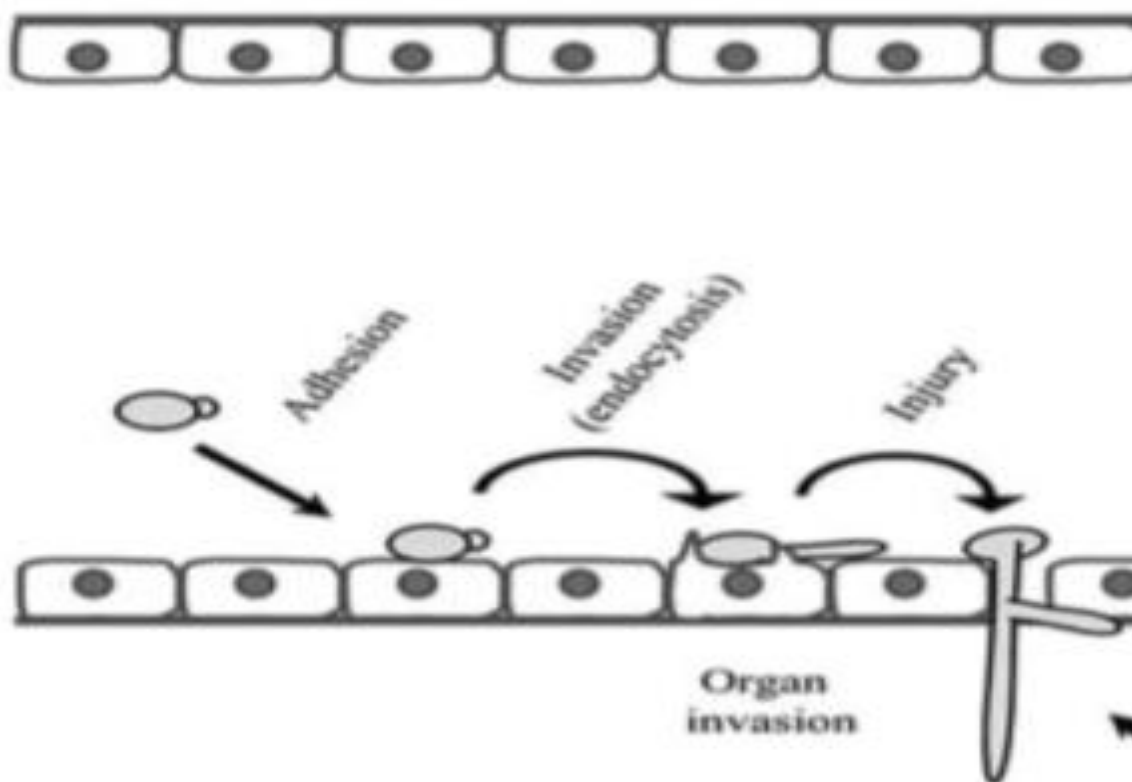
Les candidoses disséminées sont en nette augmentation en raison de la multiplication des facteurs favorisant leur apparition. Ils dépendent du champignon en cause mais surtout de l'organisme hôte. Les facteurs peuvent être locaux ou généraux. Ainsi, suite à un défaut d'immunité de l'hôte et/ou à une rupture de l'intégrité des barrières cutanéomuqueuses ou respiratoire (éventuellement iatrogène), les *Candida spp.* pénètrent dans l'organisme, sont disséminés par voie hématogène et peuvent provoquer des abcès à distance (Voir Figure 7 (25)). Les candidémies peuvent être d'origine endogène ou exogène (Voir Figure 8) La majorité d'entre elles se développe à partir de souches endogènes dont le patient est porteur, comme le montrent plusieurs études qui ont utilisé le génotypage (26, 27).

L'origine de la souche responsable de candidémie est dans la majorité des cas digestive (26, 28). L'adhérence de la levure à la cellule hôte par l'intermédiaire d'adhésines constitue la première étape de l'invasion (29). La transition morphogénétique levure-(pseudo)filament et la sécrétion de protéases et de phospholipases permettent alors aux *Candida spp.* d'envahir les tissus (30). Des phénomènes de translocation directe des *Candida spp.* à travers la paroi digestive altérée ont déjà été observés (31, 32). Et peuvent également aboutir à une dissémination hématogène. L'autre voie de dissémination des *Candida spp.* est la violation des barrières cutanées, respiratoires ou du tractus urinaire par cathétérisme vasculaire, implantation de matériel médical, plaies chirurgicales, traumatismes vasculaires, brûlures. Les chirurgies fréquemment en cause sont la chirurgie abdominale, cardiaque et les transplantations, en particulier hépatiques (33). Selon des études, la responsabilité d'un cathétérisme (cathéters veineux centraux, dialyse péritonéale et cathétérismes cardiovasculaires) dans la survenue d'une candidémie a été suspectée ou prouvée dans 35 à 80 % des cas. Lorsque le cathéter est retiré et mis en culture, on retrouve la même espèce de *Candida* que dans les hémocultures dans 60 à 70 % des cas (34, 35).





**Figure 3 :** portes d'entrées des *Candida* chez l'homme (25)



**Figure 4 :** Interaction de *C. albicans* avec les cellules de l'hôte et communication cellulaire dans les vaisseaux sanguins (25).

### 3.8 Aspects cliniques

Au niveau clinique, les candidoses peuvent être classées en deux groupes : les candidoses superficielles et les candidoses profondes.

#### 3.8.1 Candidoses superficielles

Les candidoses superficielles sont les manifestations les plus communes et sont très variées. Elles peuvent atteindre les surfaces épidermiques et les muqueuses telles que la cavité buccale, le pharynx, l'œsophage, les intestins, le système urinaire, et la muqueuse vaginale cutanée.

##### ➤ Les candidoses digestives :

Ce sont les affections les plus représentées. C'est au niveau de l'intestin et de l'estomac, les plus importants réservoirs de *Candida albicans*, que se multiplient les levures. Ceci entraîne des troubles digestifs qui peuvent devenir chroniques : aigreurs, douleurs œsophagiennes,

douleurs stomacales, diarrhées, constipation, colite intestinale. Parmi les affections digestives on distingue :

- **La candidose orale :**

C'est la manifestation la plus fréquente des candidoses, concerne à la fois les sujets non immunodéprimés et les sujets immunodéprimés, avec un caractère de gravité systématique chez ces derniers. L'intérêt porté à cette infection s'est accru ces dernières années, car elle constitue l'une des manifestations orales de l'infection par le VIH, mais elle peut aussi survenir chez des patients leucémiques ou cancéreux ;

- **La candidose œsophagienne :**

Cliniquement, elle se traduit par une dysphagie douloureuse, un pyrosis et une sensation de brûlure au passage des aliments. L'examen révèle des membranes blanchâtres reposant sur une muqueuse très inflammatoire ;

- **La candidose gastro-intestinale :**

Elle intéresse tout l'intestin, de l'estomac au colon. Les lésions se présentent comme un muguet intestinal avec des ulcérations. Elle se manifeste par des douleurs abdominales atypiques, des nausées et des vomissements et de diarrhée.

- **Les candidoses uro-génitales :**

La vulvo-vaginite est une affection extrêmement fréquente chez la femme. En effet, on estime qu'environ 75% des femmes en activité génitale feront un épisode de candidose vulvo-vaginale. Les symptômes les plus évocateurs sont l'existence de leucorrhées abondantes blanchâtres, d'aspect granuleux et d'un prurit vulvaire souvent intense. Le point de départ d'une telle infection reposerait sur un dysfonctionnement hormonal ou immunitaire local. La récurrence de la candidose vulvo-vaginale est un phénomène assez fréquent. Le caractère récidivant des infections candidosiques chez la femme est susceptible d'induire, lors de traitements répétés, des phénomènes de résistance aux traitements passant par l'émergence de souches moins sensibles.

Chez l'homme, l'atteinte génitale par *Candida albicans* est plus rare et correspond à une balanite mycosique ou balanoposthite, qui débute au niveau du sillon balanopréputial, puis s'étend au gland et au prépuce. L'homme n'est pas porteur sain de la levure au niveau génital. Le développement de ces symptômes cliniques est plutôt secondaire à un rapport sexuel. Une

cystite candidosique peut s'observer essentiellement chez le patient diabétique ainsi que sur des malades porteurs d'une sonde vésicale à demeure. La lésion est localisée au niveau du bassinnet avec la formation d'une boule fongique. Elle s'accompagne d'une inflammation du méat urinaire et d'une urétrite (36).

➤ **Les candidoses cutanées et unguéales :**

Ces candidoses des plis se manifestent par un érythème, associé à un enduit crémeux blanchâtre, et sont souvent prurigineuses. Elles sont favorisées par l'obésité, l'humidité et la macération, ainsi que le manque d'hygiène. On distingue classiquement deux grands types :

➤ **L'intertrigo des grands plis et celui des petits plis :**

Le premier concerne les plis inguinaux, axillaires, abdominaux, sous mammaires, interfessiers. Quant au second, il concerne les plis interdigitaux palmaires, plus rarement les plis interdigitaux plantaires. Les onyxis et périonyxis candidosiques siègent préférentiellement aux mains. *Candida albicans* pénètre d'abord le bourrelet péri-unguéal et provoque un périonyxis. L'onyxis fait habituellement suite au périonyxis. La contamination se fait le plus souvent à partir d'un réservoir chez l'individu même.

➤ **Les candidoses cutané-muqueuses chroniques :**

Ces candidoses sont relativement rares et peuvent toucher des enfants dans les premières années de leur vie. La première infection à *Candida albicans* est généralement bien contrôlée par le système immunitaire de l'hôte. Cependant chez certains patients, dont le système immunitaire est fragilisé, ces infections deviennent récidivantes. Peu à peu, les symptômes deviennent chroniques et les défenses immunitaires trop sollicitées tolèrent désormais un pathogène qu'elles sont incapables d'éliminer. Ces affections chroniques touchent principalement les muqueuses buccales, les ongles et la peau (36).

### **3.8.2 Candidoses profondes**

Les candidoses profondes, encore appelées systémiques, recouvrent les septicémies à *Candida* et les affections viscérales profondes dont le point de départ est le plus souvent une dissémination hématogène. Rares il y a quelques années, elles surviennent surtout chez des patients hospitalisés dans les unités de soins intensifs, dans les services de réanimation médicale ainsi que dans les unités d'oncohématologie. A ce titre, elles occupent désormais le 4ème rang des infections nosocomiales en Europe (37).

Les septicémies à *Candida albicans* peuvent avoir deux origines :

**Endogène** : à partir d'une infection préexistante au niveau digestif (38, 39). La dissémination se fait alors par le système porte pour atteindre des organes plus profonds, et notamment le foie, la rate, et plus rarement les poumons (40).

**Exogène** : à partir d'un acte thérapeutique impliquant un traumatisme vasculaire (cathéters, prothèses). Dans ce cas, l'origine de la levure est exogène. Elle va adhérer au cathéter, le coloniser pour former un biofilm (41) , puis franchir la voie veineuse pour atteindre des organes tels que la rétine de l'œil, le cœur, le foie et les reins (42-44).

La symptomatologie est aspécifique. Elle se présente habituellement comme une fièvre persistante ne répondant pas à une antibiothérapie antibactérienne à large spectre. L'état est en général dégradé et associé à des douleurs diffuses. Cet état peut entraîner un choc septique conduisant à la mort du patient (36).

#### 4 Cryptococcose

La *cryptococcose* est une infection fongique cosmopolite opportuniste d'évolution subaiguë ou chronique, due à une levure capsulée : *Cryptococcus neoformans*. On distingue deux variétés : *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* comportant les sérotypes A et D ; *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* correspondant aux sérotypes B et C. Ils sont associés à ces deux variétés, deux formes sexuées classées parmi les basidiomycètes et appelées respectivement, *Filobasidiella neoformans* et *Filobasidiella bacillospora*. D'autres espèces sont plus rarement incriminées en pathologie humaine, ce sont *Cryptococcus albidus* et *Cryptococcus laurentii*. La variété *neoformans*, est une variété cosmopolite inféodée aux fientes d'oiseaux (pigeons) et aux chauves-souris. La contamination se fait généralement par inhalation des poussières virulentes contenant les spores du champignon, plus rarement par voie transcutanée lors d'un traumatisme tellurique. La variété *gattii* est localisée aux régions tropicales ou subtropicales, elle n'est pas isolée du sol et sa niche écologique est surtout constituée par les forêts d'*Eucalyptus camaldulensis* et *E. terreticornis*. Pour l'anecdote, en Australie, ce sont les fécès de koala se nourrissant de feuilles de cet eucalyptus, qui contiennent la variété *gattii* (45).

## **5 Les principaux facteurs incriminés aux infections fongiques**

### **5.1 Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte**

Ces facteurs peuvent être d'ordre :

**Physiologique** : Age extrême (vieillard et nouveau - né) ; Grossesse (augmentation de presque 30% des candidoses)

**Pathologique** : Hémopathies malignes (surtout les leucémies) ; Diabète Endocrinopathies ; Déficit acquis de l'immunité (Sida).

### **5.2 Les facteurs extrinsèques et / ou iatrogènes**

Il s'agit surtout de la prise de médicaments : Anti-infectieux (antibiotiques, antituberculeux...) ; Oestroprogestatifs ; Immunosuppresseurs ; Corticoïdes, antimétabolites

Ou autres tels que : Cathétérisme veineux ou artériels ; Sondage vésicale ou gastrique ; Chirurgies cardiaques, pulmonaires, osseuses ; Transplantations d'organes, transfusions sanguines ; vaccins.

La pénétration dans l'organisme se fait en général à travers les muqueuses (44) La voie cutanée

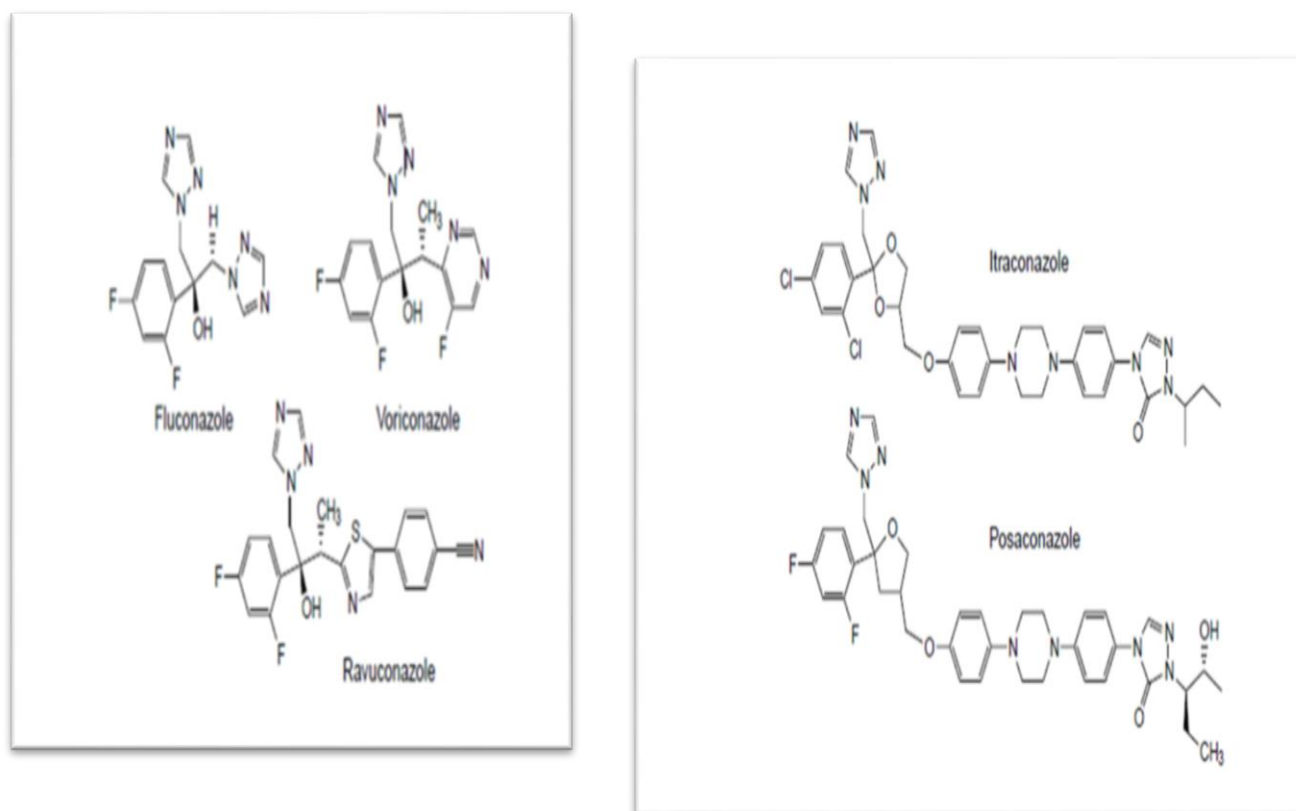
**Diagnostic biologique : voir annexe 3**

## **6 Antifongiques**

### **6.1 Les azolés :**

#### **6.1.1 Structures chimiques**

Les antifongiques azolés sont des molécules organiques cycliques qui peuvent être divisées en deux classes en fonction du nombre d'atomes d'azote sur le noyau azolé : les imidazolés (noyau imidazole : deux atomes d'azote) et les triazolés (noyau triazol: trois atomes d'azote) (Figure 6) (46).



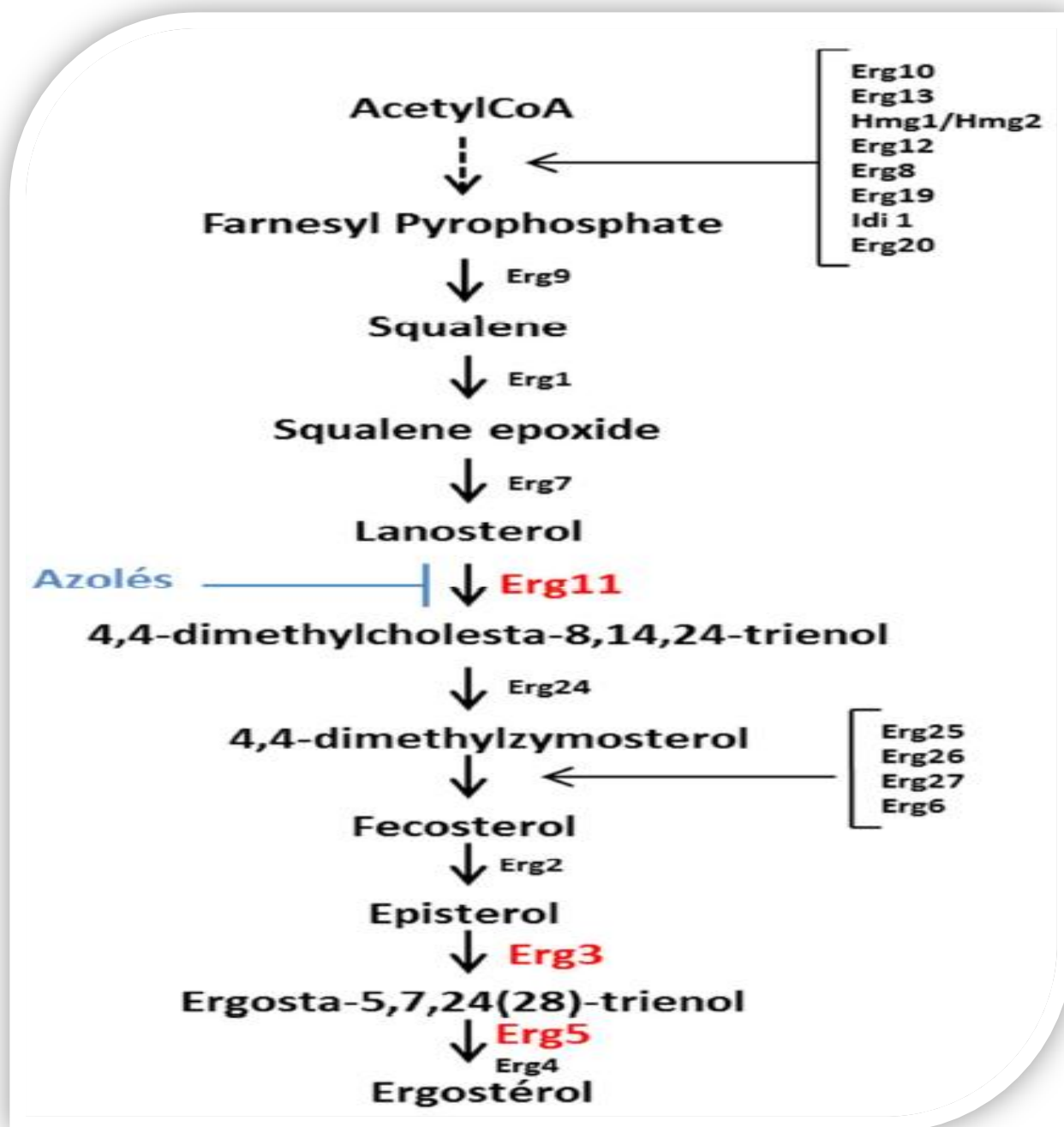
**Figure 5:** Structure des antifongiques triazolée (47).

### 6.1.2 Mécanisme d'action

Les antifongiques azolés agissent par liaison et inhibition de la lanostérol 14 $\alpha$  déméthylase : Erg11 ou CYP51, enzyme responsable de la conversion du lanostérol en ergostérol, composé indispensable de la membrane des cellules fongiques (**Figure6**).

Il en résulte une altération membranaire, ainsi qu'une accumulation de stérols méthylés toxiques pour la cellule fongique parmi lesquels le 14 $\alpha$  méthylergosta-8,24 dien-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ -diol.

Ils inhiberaient également un autre cytochrome P450 impliqué dans la biosynthèse de l'ergostérol : Erg5. Toutefois, il s'agirait d'une cible mineure puisque située en aval de Erg11 dans cette voie biosynthétique (**Figure 6**) (48).



**Figure 6:** Voie de biosynthèse de l'ergostérol (48).

Ces antifongiques sont fongistatiques sur *Candida spp.*: ils permettent d'inhiber la croissance des levures, sans les supprimer

### 6.1.3 Mécanismes de résistance aux azolés

Différents mécanismes de résistance aux antifongiques azolés peuvent coexister au sein d'un même isolat chez *Candida spp.* (Figure11) (49). Il s'agit principalement de :



La diminution de la concentration intracellulaire en antifongique, la modification ou surproduction de la cible, le contournement (by-pass) métabolique et l'altération chromosomique.

#### ➤ **Diminution de la concentration intracellulaire en antifongique**

Le mécanisme majeur de résistance aux antifongiques azolés chez *Candida spp* est la diminution de la concentration intracellulaire en antifongique, par surproduction des transporteurs de la superfamille ABC (ATP-binding cassette) et, dans une moindre proportion, des transporteurs de la superfamille MFS (Major Facilitator Superfamily). Le niveau d'expression des gènes des transporteurs de la superfamille ABC CDR1 (*Candida Drug Resistance*) et CDR2 chez *C. albicans*, et CgCDR1, CgCDR2 et CgSNQ2 chez *C. glabrata*, est régulé par les facteurs de transcription TAC1 (Transcriptional Activator of CDR gènes - *C. albicans*) et CgPDR1 (*C. glabrata*) (35, 46). Des mutations gain de fonction ou gain of function (GOF) ont été décrites au sein des gènes TAC1 et CgPDR1 : elles sont responsables d'une surexpression de (Cg) CDR1, (Cg) CDR2 et dans une moindre mesure de CgSNQ2, qui entraîne une résistance croisée aux différents antifongiques azolés (48-50) . Dix-neuf mutations GOF ont déjà été décrites au sein de TAC1. Chez *C. glabrata*, les mutations GOF du gène CgPDR1 sont plus nombreuses, et peuvent être regroupées au sein de trois régions prédominantes ou régions hot spot (48, 51). Chez *C. albicans*, la surexpression du gène codant pour le transporteur MDR1 (MultiDrug Resistance 1) de la superfamille MFS est associée à une résistance au fluconazole uniquement. Le niveau d'expression de ce transporteur est régulé par le facteur de transcription MRR1, pour lequel 14 mutations GOF ont été caractérisées (46, 48). Chez *C. glabrata*, un homologue de MDR1, CgFLR1, est contrôlé par le facteur de transcription YAP1. Cependant, l'implication de ces gènes dans la résistance de *C. glabrata* aux antifongiques azolés n'a pas été démontrée.

#### ➤ **Modification de la cible**

Des mutations du gène ERG11, codant pour l'enzyme cible des azolés, la lanostérol 14 $\alpha$  déméthylase, sont également à l'origine de résistance aux azolés chez *Candida spp*. Plus d'une centaine de SNP ont été décrits au sein du gène ERG11 chez *C. albicans*. La plupart de ces mutations sont localisées au sein de 3 régions hot spot : acides aminés 105-165, 266-287 et 405-488. Toutefois, l'implication de ces mutations dans la résistance aux azolés n'a été

démontrée que pour un faible nombre d'entre elles. En effet, la contribution individuelle de chaque mutation à la résistance est difficile à évaluer, car d'une part plusieurs mutations sont souvent associées au sein d'un même allèle, et d'autre part différents mécanismes de résistance sont souvent combinés chez *C. albicans* (48, 52).

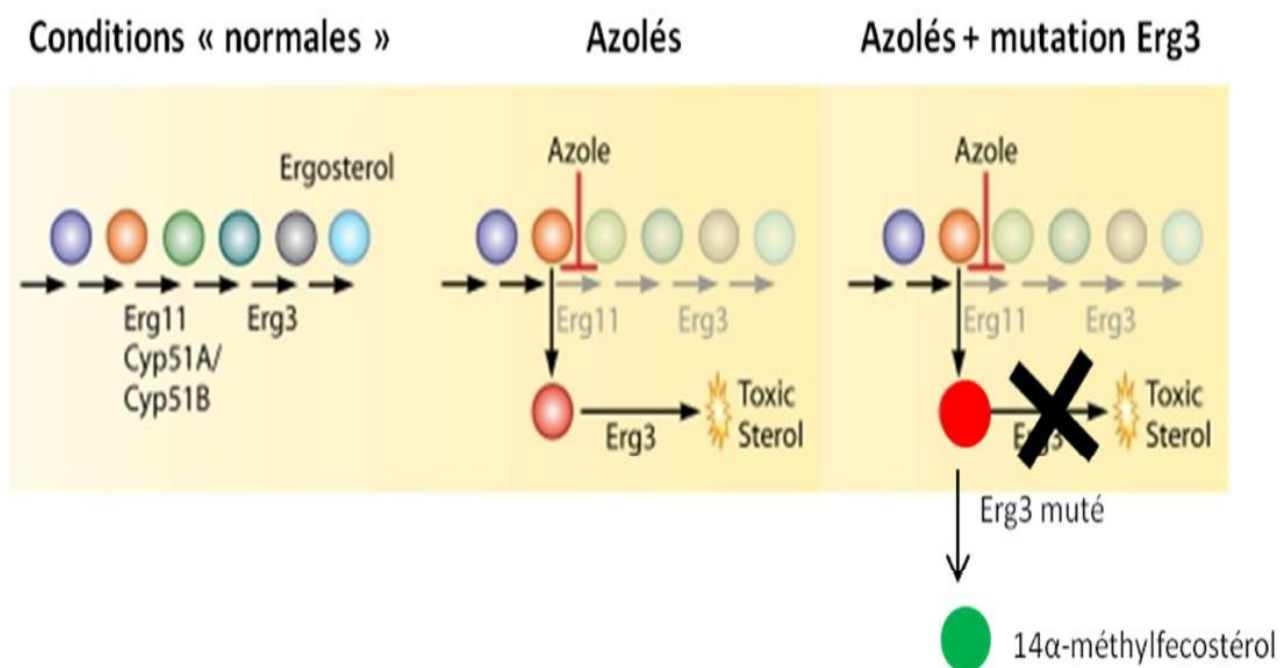
### ➤ Surproduction de la cible

Le niveau d'expression du gène ERG11 est régulé par le facteur de transcription UPC2 chez *C. albicans*. Une dizaine de mutations GOF de UPC2 induisant une surexpression de ERG11 et une diminution de la sensibilité de *C. albicans* au fluconazole ont été décrites à ce jour (48, 53).

Cependant, la surexpression de ERG11 reste modérée (d'un facteur 3 à 5) et ne semble avoir qu'un effet modeste dans la résistance aux azolés (48, 53).

### ➤ Contournement métabolique

Des mutations au sein du gène *ERG3*, codant pour le stérol  $\Delta$  5,6-désaturase, autre enzyme de la voie de biosynthèse de l'ergostérol ont également été associées à une résistance croisée aux différents azolés chez *C. albicans*. Ces mutations permettent de protéger la cellule fongique par accumulation de 14 $\alpha$  méthylfecostérol (dérivé non toxique dont la biosynthèse fait intervenir Erg3p), au lieu du produit toxique 14 $\alpha$ -méthylergosta-8,24-dien-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ -diol résultant de l'inhibition de Erg11 par les antifongiques azolés (Figure11 ) (54).



**Figure 7:** Rôle de la protéine Erg3p (55).

➤ **Altérations chromosomiques**

Des altérations chromosomiques peuvent entraîner une augmentation du nombre de copies des gènes impliqués dans la résistance aux azolés :

- **Formation d'isochromosome**

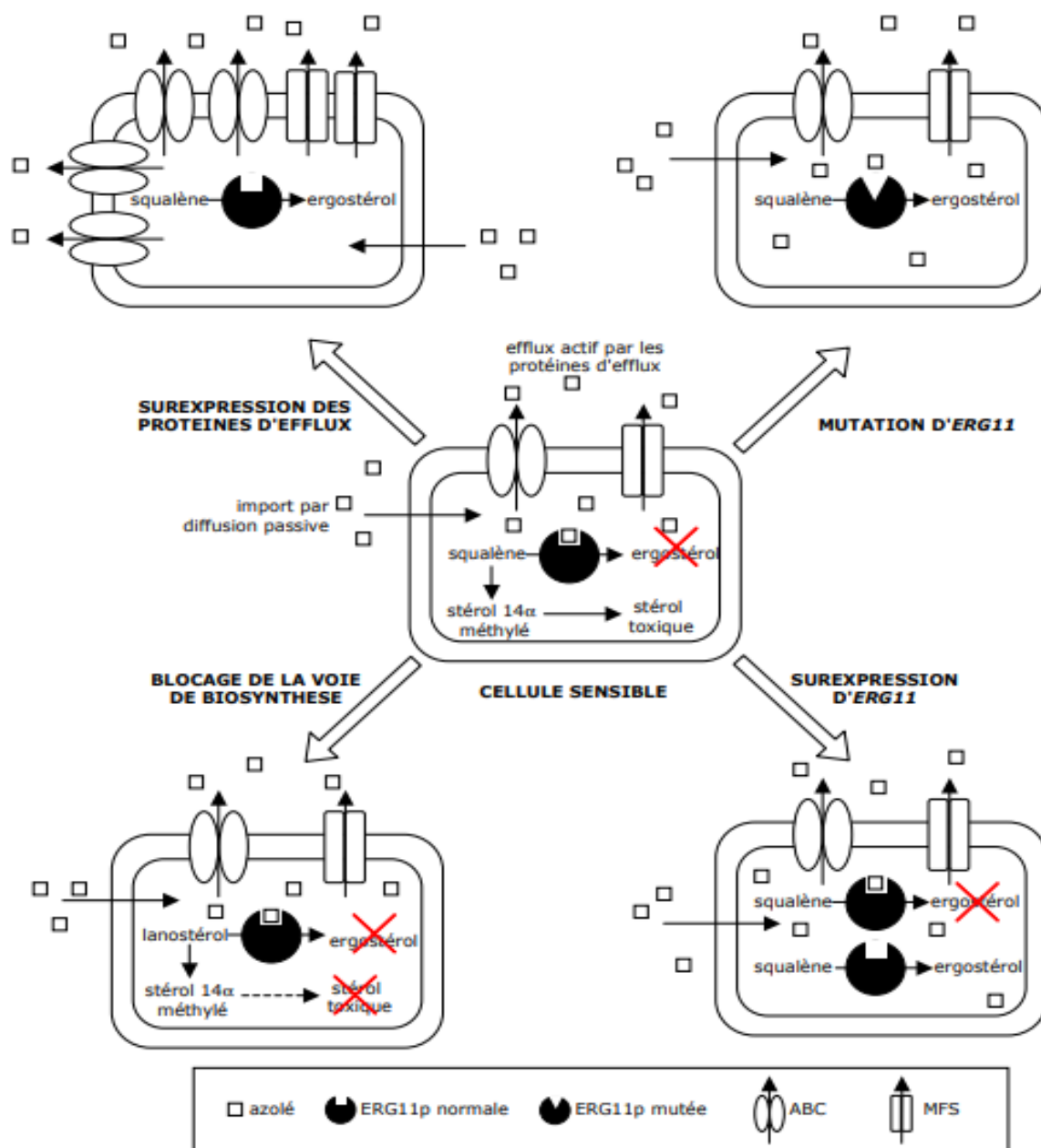
La formation d'un isochromosome i5L chez *C. albicans* (correspondant au bras gauche du chromosome 5) permet d'augmenter le nombre de copies des 2 gènes TAC1 et ERG11, et est associée à un haut niveau de résistance aux antifongiques azolés (48, 49).

- **Perte d'hétérozygotie**

Elle est liée à des recombinaisons mitotiques et/ou à des conversions géniques, et permet la pleine expression des mutations GOF des gènes des facteurs de transcription impliqués dans la résistance aux antifongiques (mutations qui seraient normalement exprimées à l'état de codominance). Ils entraînent donc une surexpression de la cible des azolés ou des transporteurs impliqués dans leur efflux, et participent ainsi au développement de la résistance (48, 49).

- **Formation de mini-chromosome**

Une formation de *novo* de mini-chromosome par duplication de segments chromosomiques a été mise en évidence pour des isolats de *C. glabrata* résistants aux azolés. Dans un cas, le mini-chromosome incluait le gène *CgCDR2*, suggérant que cette espèce serait capable de s'adapter à la pression antifongique par plasticité chromosomique (48, 56).



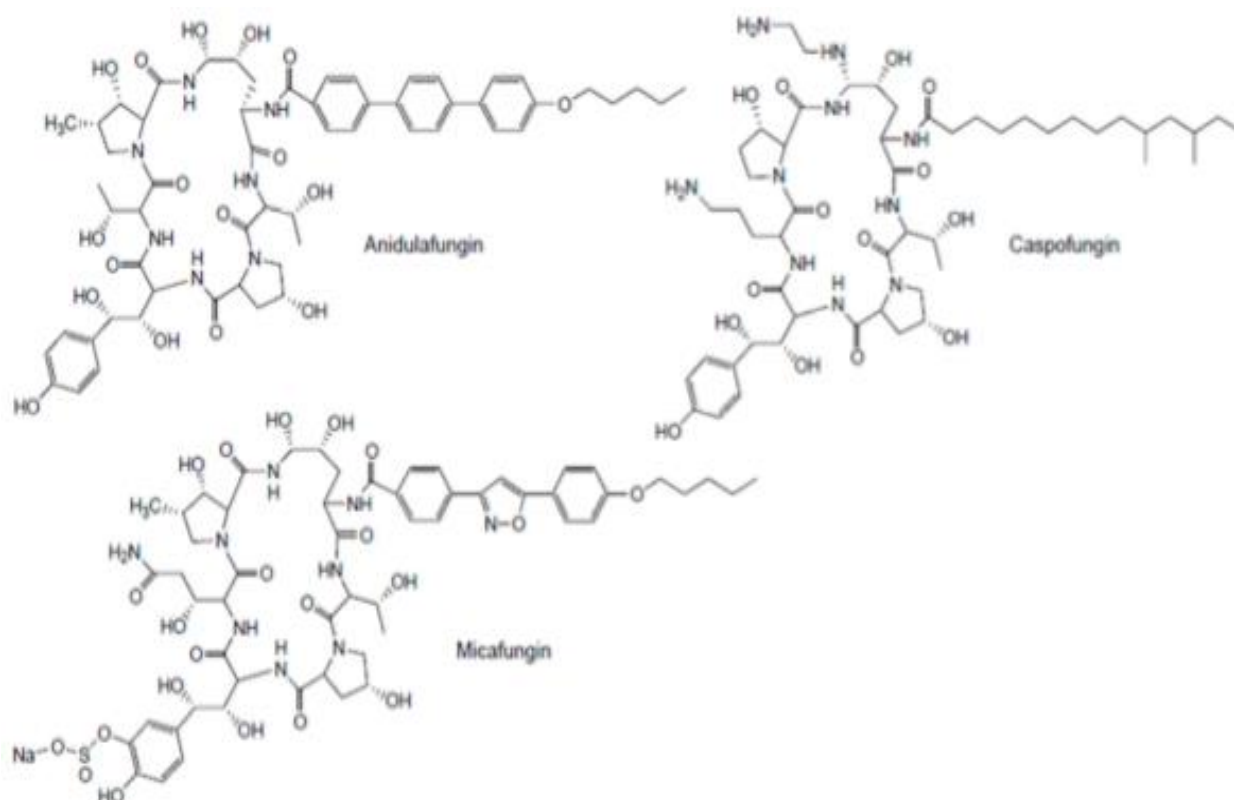
**Figure 8:** Mécanismes de résistance aux antifongiques azolés chez *Candida spp*

1. Diminution de la concentration intracellulaire en antifongique par surexpression des transporteurs des superfamilles ABC et MDR,
2. Modification de la cible des azolés Erg11p (par substitution d'acides aminés),
3. Surexpression du gène *ERG11*, 4. Modification de Erg3p (*C. albicans*) : absence de formation du métabolite toxique 14 $\alpha$ -methylergosta-8,24dien-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ -diol (= 3,6-diol) (53).

## 6.2 Les échinocandines

### 6.2.1 Structures moléculaires

Trois molécules de cette famille sont commercialisées et indiquées dans le traitement des candidoses invasives : la caspofungine (CANCIDAS®, MSD), l'anidulafungine (ECALTA®, Pfizer) et la micafungine (MYCAMINE®, Astellas). Elles sont composées d'une partie centrale cyclique, d'une courte chaîne hydroxylée, et d'une chaîne latérale plus longue qui détermine le spectre d'activité de la molécule



**Figure 9:** Structure des échinocandines(47).

### 6.2.2 Mécanisme d'action

Les échinocandines inhibent l'action de la Béta-(1,3) -D glucane synthase, une enzyme fongique responsable de la synthèse du Béta-(1,3) -D glucane. Ce sucre est un constituant majoritaire et spécifique de la paroi fongique, il est absent des cellules mammifères. Les échinocandines exercent un effet fongicide indirect par inhibition de la synthèse de la paroi fongique (57).

### 6.2.3 Mécanisme de résistance

Le principal mécanisme de résistance de *Candida spp* aux échinocandines est l'altération de l'enzyme cible : la  $\beta$ -1,3-glucane synthase (Figure 14).

Diverses mutations de FKS1 associées à la résistance aux échinocandines ont été décrites chez *C. albicans*. Elles se répartissent au sein de 2 régions hot spot définies par les séquences d'acides aminés de la protéine : HS1 (acides aminés 641-649) et HS2 (acides aminés 1345-1365) (58).

Il s'agit de mutations dominantes, homos- ou hétérozygotes, conférant une résistance à l'ensemble des échinocandines (59).

La substitution de la sérine en position 645 est la modification la plus fréquente, et entraîne le phénotype de résistance le plus sévère (48).

Chez *C. glabrata*, des mutations conférant une sensibilité diminuée ou une résistance aux échinocandines ont été identifiées au sein de FKS1 (HS1 : acides aminés : 659 à 666) et de FKS2 (acide aminé 1375). La moindre sensibilité de *C. parapsilosis* aux échinocandines s'explique par des polymorphismes naturels de la région HS1 de FKS1 entraînant la substitution de la proline 660 par une alanine. Cette substitution est observée pour les trois espèces du complexe *C. parapsilosis*. Aucune mutation « acquise » de FKS1 ou FKS2 associée à une résistance aux échinocandines n'a été décrite à ce jour pour cette espèce.

Dans la plupart des cas, les mutations des régions hot spot de FKS1 et FKS2 entraînent une augmentation des CMI plus importante pour la caspofungine que pour les deux autres molécules, anidulafungine et micafungine (60).

Contrairement aux antifongiques azolés, les échinocandines sont de mauvais substrats pour la plupart des transporteurs chez *Candida spp*. L'efflux est donc un mécanisme de résistance mineur pour cette classe d'antifongiques.

Des mécanismes d'adaptation aux stress interviennent également dans la tolérance et la résistance aux échinocandines chez *Candida spp*. (Figure 14), et leur caractérisation pourrait remettre en cause l'activité fongicide des échinocandines (61).

Ils impliquent la calcineurine et son effecteur Crz1, la protéine chaperonne HSP90, la voie médiée par la protéine kinase C (PKC) ou encore la voie HOG (High Osmolarity Glycerol). Ces voies sont activées en réponse à différentes situations de stress liées à des modifications

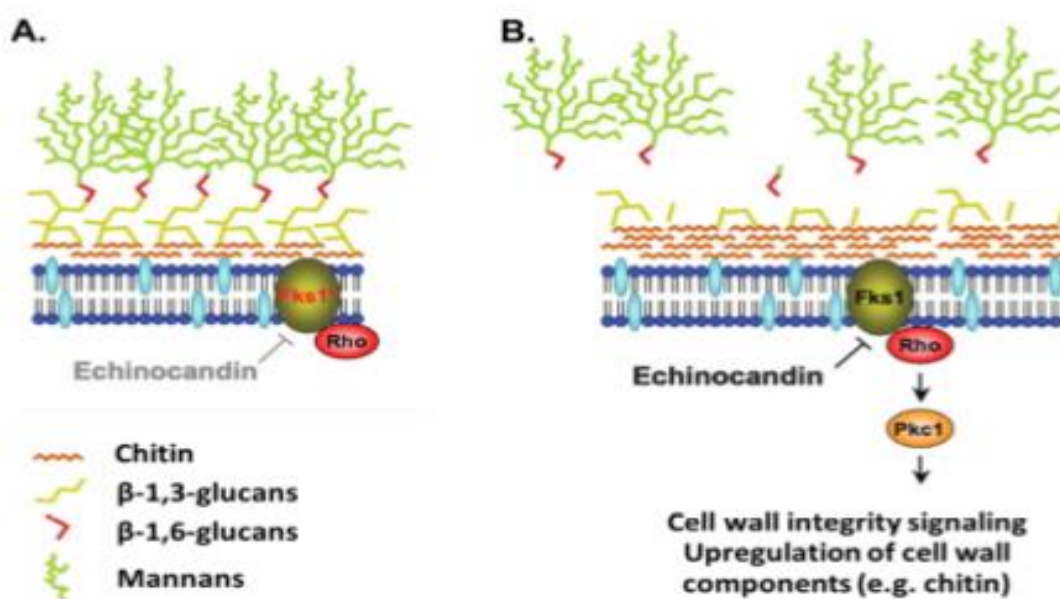
du milieu extracellulaire, et réagissent notamment aux agressions pariétales induites par les échinocandines (59, 60).

Elles entraînent une synthèse accrue de chitine, autre polysaccharide majeur de la paroi fongique, et permettent ainsi de maintenir l'intégrité pariétale et d'assurer la survie de la cellule.

Chez *C. albicans*, l'accumulation de chitine est responsable d'une baisse de sensibilité aux échinocandines *in vitro* et *in vivo* ainsi que de l'apparition de mutations dans FKS1 du fait de l'altération des fonctions de réparation de l'ADN

La réponse compensatrice pariétale est également impliquée dans l'effet paradoxal ou Eagle effect (58-60, 62).

L'utilisation de concentrations supérieures à la CMI entraîne parfois une croissance paradoxale des levures alors que des concentrations plus faibles l'inhibent. L'effet paradoxal est aboli par les inhibiteurs de chitine synthases (nikkomycine Z) ou de la calcineurine (58). Cet effet a été décrit pour *C. albicans* ou *C. parapsilosis*, mais pas pour *C. glabrata*, et plus fréquemment avec la caspofungine qu'avec les autres molécules. Il n'y a aujourd'hui pas de preuves permettant d'associer cet effet paradoxal à la survenue d'infections perthérapeutiques (breakthrough infections) lors d'un traitement par échinocandines et la relevance clinique de ce phénomène observé uniquement *in vitro* n'est pas établie.



**Figure 10:** Mécanismes de résistance aux échinocandines (*C. albicans*)(63).

(A) Des mutations du gène FKS1 codant pour la  $\beta$ -1,3-glucane synthase peuvent entraîner une résistance aux échinocandines (minimisation de l'effet de l'antifongique sur la cellule).

(B) La sous-unité régulatrice Rho joue un rôle dans la tolérance aux échinocandines par la médiation des réponses au stress (activation du « cell wall integrity pathway », augmentation de la synthèse de chitine, ...)

## **6.3 Les polyènes :**

### **6.3.1 Structure moléculaire**

L'amphotéricine B (AMB) est la seule molécule de cette classe à être utilisée par voie systémique. Trois formulations galéniques de l'amphotéricine B existent :

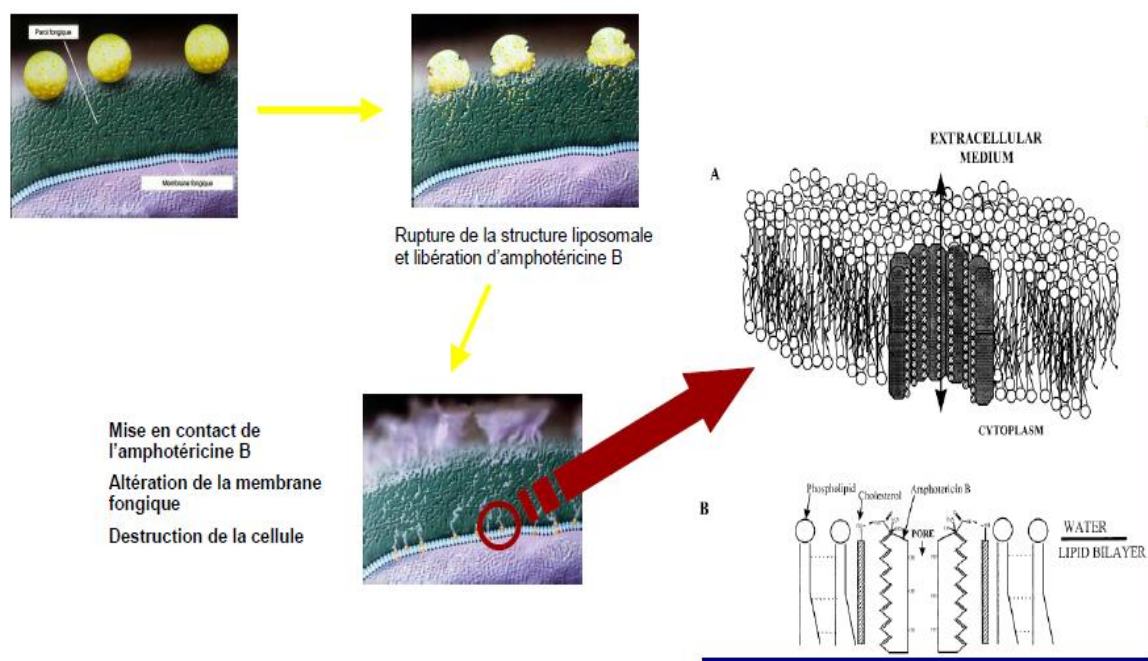
- Desoxycholate, FUNGIZONE®
- Suspensions lipidiques ABELCET®
- Inclusions liposomales, AMBISOME®

### **6.3.2 Mécanisme d'action**

L'amphotéricine B exerce une action fongicide en se fixant et en altérant directement l'ergostérol, principal composant stéroïdien de la paroi des champignons. La fixation de la molécule à la paroi fongique génère une perméabilité anormale via la formation de pores dans cette paroi. Ceci génère une fuite des composants intra cytoplasmiques du champignon et entraîne sa mort ([64](#)).



## Mode d'action des antifongiques : AMB



Ghannoum MA, Rice LB. Clin Microbiol Rev 1999; 12:501-517.

**Figure 11:** Mécanisme d'action des polyènes (64).

### 6.3.3 Mécanisme de résistance

La résistance à l'AMB est plutôt rare. La résistance se manifeste surtout chez les patients immunodéprimés ayant reçu de l'AMB sur de longues périodes. Les mécanismes de résistance des polyènes concernent surtout la diminution ou l'absence d'ergostérol, principale cible de l'AMB.

- Diminution / disparition de l'ergosterol membranaire
- Remplacement ergosterol par autres stérols
- Limitation de l'accès à l'ergostérol : modifications de la paroi

## 6.4 Les analogues nucléosidiques

### 6.4.1 Structure moléculaire

La seule molécule antifongique de cette classe est la 5-Flucytosine (ANCOTIL®). ANCOTIL® est disponible sous la forme de comprimés pour voie orale ou de poudre pour usage parentéral

### 6.4.2 Mécanisme d'action

Il s'agit d'un analogue synthétique d'une base nucléosidique ; la cytosine. Elle exerce une activité fongistatique sur certaines espèces en pénétrant dans la cellule fongique. Il co-existe ensuite deux voies de métabolisation dans la cellule fongique : l'une conduisant à une inhibition de la synthèse de l'acide nucléique fongique, l'autre consistant en une inhibition de la synthèse protéique fongique. Il est indispensable d'utiliser ANCOTIL® en association systématique avec un autre ATF et de ne jamais l'utiliser en monothérapie afin de limiter le risque de sélection de mutants résistants. L'association de flucytosine est synergique avec l'amphotéricine B (65).

### 6.4.3 Mécanisme de résistance

- Spectre d'activité restreint
- Résistance acquise
  - Liée à la monothérapie
  - D'apparition rapide

#### Mécanismes :

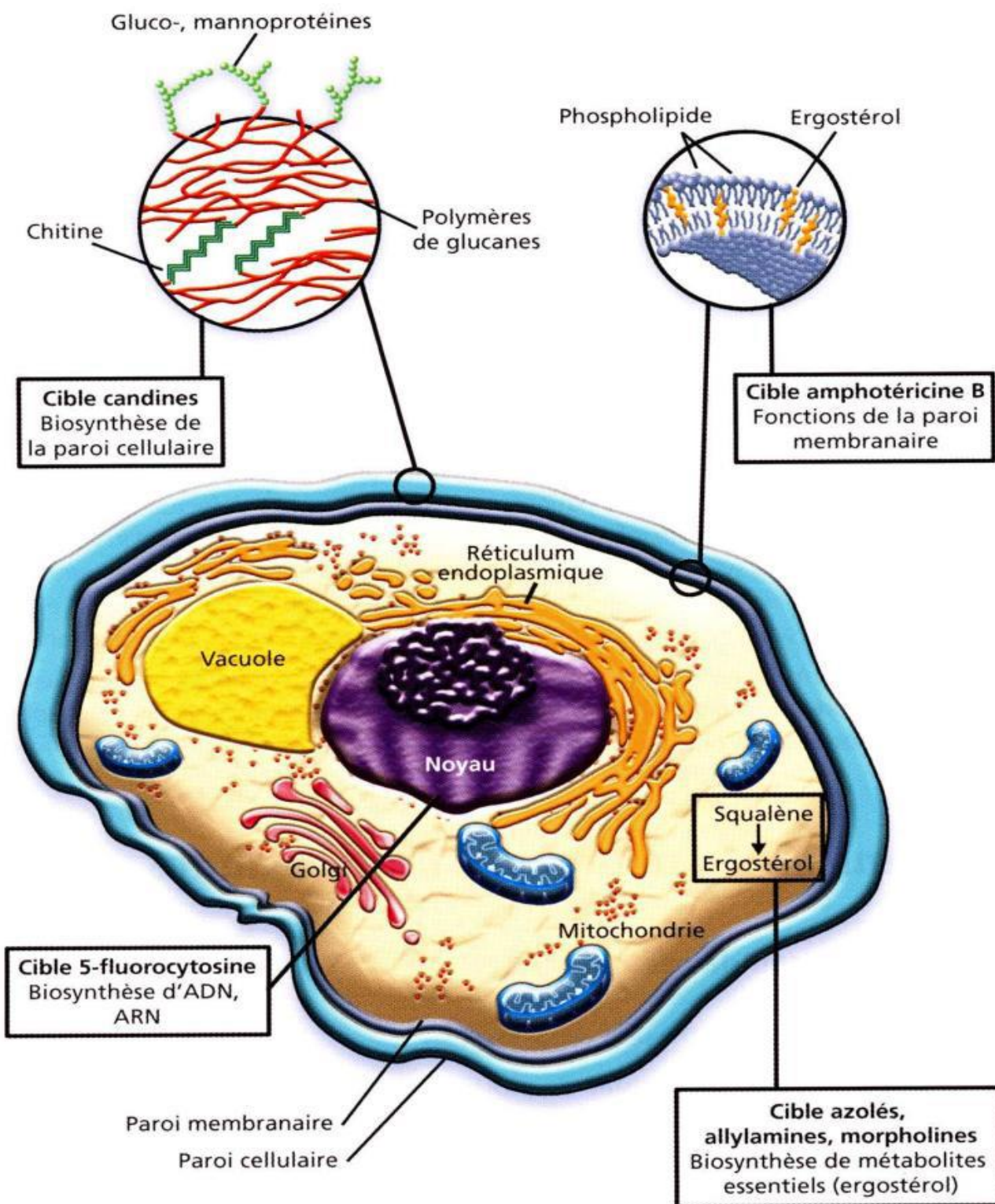
- Déficit de pénétration (activité perméase)
- Déficit du métabolisme (activité cytosine désaminase ou UMP pyrophosphorylase)

## 6.5 Les allylamines

Cette classe d'antifongiques, comprend la naftifine et la terbinafine (LAMISIL®). Le mode d'action des allylamines repose sur l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol par un mécanisme distinct de celui des azolés qui implique l'inhibition de la squalène époxydase. L'effet antifongique qui en résulte est fongistatique. La terbinafine est quasi exclusivement utilisée pour la prise en charge des infections candidosiques superficielles mais peut aussi trouver sa place dans la prise en charge des infections invasives notamment réfractaires aux traitements habituels en association avec d'autres antifongiques (66). La naftifine, réservée à la prise en charge des dermatophyties.

## 6.6 Les morpholines

Le seul composé de cette famille utilisé en clinique est l'amorolfine (LOCERYL®). Elle possède une activité fongistatique qui repose sur l'inhibition de la C14 stérol réductase (Erg24) et de la C8 stérol isomérase (Erg2), deux enzymes impliquées dans la biosynthèse de l'ergostérol (Polak, 1992). L'utilisation de l'amorolfine est limitée à la prise en charge des infections superficielles (onyxis) (67).



**Figure 12:** Cibles des différents antifongiques (68).

## **IV METHODOLOGIE**

### **1 Lieu et cadre d'étude**

L'Institut National de Sante Publique (**INSP**) anciennement appeler l'Institut National de Recherche en Santé Publique a servi de cadre d'étude (**INRSP**)

### **Ordonnance n°2019-011 création de l'Institut national de Santé publique INSP**

#### **ORDONNANCE N°011 /P-RP DU 27 MARS. 2019**

Les départements n'étaient pas créés et le travail a été fait dans l'ancien service de bactériologie-virologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (**INRSP**)

#### **DESCRIPTION de l'INRSP :**

Créé par la loi N° 81-17/AN-RM du 31 mars 1981, et érigé en Établissement Public à caractère Administratif (EPA) par la loi N° 93-014 du 11 février 1993, l'INRSP est passé de ce statut à celui d'Établissement Public à caractère Scientifique et Technologique (EPST) par l'Ordonnance N° 06-007/P- RM du 28 février 2006.

#### **Ses missions se résument comme suit :**

- promouvoir la recherche médicale et pharmaceutique en santé publique, notamment dans les domaines des maladies infectieuses, néoplasiques et sociales, de la santé familiale, de l'éducation sanitaire, de l'hygiène du milieu, de la biologie clinique appliquée à la nutrition et aux affections endémo-épidémiques, de la toxicologie médicale et expérimentale, de la bromatologie, de la génétique, de la socio économie, de la médecine et pharmacopée traditionnelle ;
- participer à la formation technique, au perfectionnement et à la spécialisation dans le domaine de sa compétence ;
- assurer la référence dans le domaine de la biologie clinique ;
- assurer la mise au point et la formulation des médicaments traditionnels améliorés ;
- assurer la protection du patrimoine scientifique relevant de son domaine ;
- promouvoir la coopération nationale et internationale dans le cadre des programmes et d'accords d'assistance mutuelle ;
- gérer les structures de recherche qui lui sont confiées

#### **L'INRSP comprend cinq départements et une agence comptable qui sont :**

- Département Santé Communautaire (DSC) ;

- Département Médecine Traditionnelle (DMT) ;
- Département Formation (DF) ;
- Département Administration et Personnel (DAP) ;
- Département de Diagnostic et de Recherche Biomédicale (DDRB) qui se compose de :
  - Service de biochimie clinique
  - Service de parasitologie
  - Service de sérologie
  - Service d'hématologie
  - Service de bactériologie-virologie

Le service de bactériologie-virologie est équipé de toutes les commodités permettant la recherche et analyse bactériologique et virologique des échantillons de routine. Ce service a servi de lieu pour analyser nos échantillons.

## **2 Population d'étude**

La population d'étude était constituée de tous les clients dont l'échantillon biologique a été acheminé et/ou prélevé au laboratoire de bactériologie-virologie de l'INRSP.

### **2.1 Critères d'inclusions**

Patients chez qui des levures ont été isolés

### **2.2 Critères non d'inclusions**

N'étaient pas inclus dans notre étude des patients chez qui des levures n'ont pas été isolées.

### **2.3 Type et période d'étude**

Il s'agissait une étude transversale prospective à but descriptif qui s'est déroulée de janvier 2018 à juin 2019.

### **2.4 Echantillonnage**

C'était un modèle d'échantillonnage simple basé sur un recrutement systématique de tous les échantillons durant la période d'étude dans lesquels des levures ont été isolées.

### **2.4.1 Collecte des données**

Une fiche de collecte des données a été remplie pour chaque patiente comportant les données suivantes :

- Données sociodémographiques : nom, prénom, âge, sexe, profession, ethnie
- Données cliniques et thérapeutiques y compris les antécédents de prise d'antimicrobiens.

## **3 Diagnostic Mycologique**

### **3.1 Les prélèvements biologiques**

#### **➤ Les expectorations**

L'examen de l'expectoration spontanée ou induite permet d'étudier la présence de champignon. Elles sont recueillies après rinçage de la bouche par un antiseptique pour limiter la contamination par la flore buccale.

#### **➤ Frotti vaginal**

Les prélèvements étaient dans la majorité des cas des frottis vaginaux. Le prélèvement est réalisé sans aucune recommandation préalable concernant la toilette intime le jour de l'examen. Celui-ci est effectué minutieusement par écouvillonnage, au niveau des culs de sacs vaginaux, de l'endocol et de l'exocol. Après la pose du spéculum, deux écouvillons stériles sont chargés par balayage du vagin de haut en bas, l'un pour l'examen direct à l'état frais et l'autre pour coloration, et la culture. Les échantillons peuvent aussi provenir d'une autre structure. Dans ce cas l'écouvillon est acheminé au laboratoire dans les deux heures qui suivent le prélèvement.

#### **➤ Pus**

Le prélèvement des pus a été collecté soit dans un tube sec, soit par écouvillonnage et acheminé immédiatement au laboratoire, à défaut le conserver au frais pour le lendemain

#### **➤ Urines**

Les urines ont été collectées dans un flacon stérile, et acheminés immédiatement au laboratoire pour traitement. Le recueil des urines est une étape essentielle qui conditionne pour une grande part la qualité et l'interprétation de l'examen

## **Matériels de prélèvement**

Ecouvillons

Un flacon stérile

## **Matériels d'identification**

-Examen à l'état frais : lames porte-objets et lamelles.

-Microscope optique

- Densitomètre

-L'automate VITEK<sup>®</sup> 2 compact et sa carte

-Autres : anse de platine, étuve, pipette Pasteur, coton,

## **Milieu et réactif**

Coloration Gram : Violet de gentiane, Lugol, Alcool, Fuch sine.

Boite de pétri gélose Sabouraud, NaCl 0,85%

## **3.2 Examen direct**

### **➤ A l'état frais**

Après réception du prélèvement ou après le prélèvement, une goutte d'eau physiologique est mise sur une lame sur laquelle est trituré l'écouvillon. Ensuite, elle est recouverte d'une lamelle pour l'observation au microscope optique à l'objectif x40.

Elle nous a permis d'apprécier la desquamation cellulaire, la présence des leucocytes, des hématies, des spores et des filaments de levures

### **➤ Après la coloration de Gram**

Après séchage de la lame on la fixe et on la colore. Ensuite la lame est observée au microscope optique avec l'objectif x100, sous huile à immersion.

On peut observer entre autres des spores, des pseudo-filaments, des filaments.

## **3.3 Culture**

Les ensemencements ont été faits sur gélose Sabouraud et incubé dans une étuve à 37°C pour 24 heures

Les levures poussent en 24 à 48h, formant des colonies blanc- crème, lisses et crémeuses

## Identification

L'identification des levures s'est effectuée à l'aide du test de filamentation ou de blastèse couplée à l'utilisation de l'**automate VITEK®2 Compact**

### 4 Test de blastèse :

Appelé aussi test de filamentation, il consiste à émulsionner une pointe de pipette de levures dans 1 ml de sérum de lapin, puis laisser incuber à 37°C pendant 3 à 4 heures.

Lorsqu'il s'agit de *Candida albicans*, on observe dans presque 90% des cas un tube germinatif partant de la levure sans présence de constriction à la base, visible au microscope optique.

### 5. Antifongogramme

L'antifongogramme a été effectué par l'**automate VITEK®2 Compact**.

Grâce à la technologie **VITEK®2 Compact** l'antifongogramme est devenu automatisé, standardisé et rapide, les résultats sont disponibles en 13 heures seulement.

La lecture et l'interprétation est automatique, mais la confirmation et validation est faite par un biologiste

### 6. Analyses statistiques

Les données ont été enregistrées sur Microsoft Excel 2016 Les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel IBM SPSS version 21

### 7. Aspects éthiques

Les prélèvements ont été effectués dans des tubes portant un numéro d'identification unique par patient. Les bulletins d'analyses étaient remis aux patients après l'analyse biologique.

L'identification des patients a été maintenue confidentielle et anonyme mais les résultats au laboratoire ont permis d'élaborer la thèse d'exercice en Pharmacie.



## V RESULTATS

### 1 Résultats globaux

Au total 1818 échantillons ont été collectés pendant la période d'étude (de janvier 2018 à janvier 2019) dans le laboratoire de bactériologie générale de l'INRSP, sur lesquels nous avons obtenu 71 levures soit une fréquence de 3,9% ; dont 53/71 de genre *Candida* ; 16/71 *Cryptococcus* ; 1/71 *Stephanoascus ciferrii* ; 1/71 *Trichosporon asahii*.

**Tableau 1:** La fréquence des levures isolées par type de prélèvements

1818 échantillons							
306 Frottis vaginaux		247 Expectorations		1078 Urines		187 Pus	
Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs
<b>47</b>	259	<b>14</b>	233	<b>9</b>	1069	<b>1</b>	186

Nous avons isolé des levures 47/259 dans les frottis vaginaux ; 14/233 dans les expectorations ; 9/1069 dans les urines et 1/186 dans les pus.

La majorité des échantillons proviennent des hôpitaux 29/71 soit (41%) suivi des CSREF 10/71 soit (14%). Notre étude montre une prédominance féminine : 63 femmes et 8 hommes soit un sexe ratio H/F=0,127.

Parmi les 71 échantillons, 26/71 soit 37% étaient positifs aux tests de blastèse (filamentés). Les *Cryptococcus laurentii* et *Candida famata* n'étaient pas associables aux antifongiques.

**Tableau 2:** la résistance des souches testées aux différents antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	39	2	<b>2</b>	43
Voriconazole	38	1	<b>4</b>	43
Amphotéricine B	35	4	<b>5</b>	44
Flucytosine	37	1	<b>5</b>	43

**NB :** Nous n'avons trouvé aucune résistance concernant à la Micafungine et la Caspofungine

**Tableau 3:** Fréquence d'isolement des levures

<b>Germe</b>	<b>Effectifs</b>	<b>Pourcentage</b>
<i>C.albicans</i>	25	<b>35,2</b>
<i>C.non albicans</i>	28	<b>39,2</b>
<i>Cryptococcus albidus</i>	1	1,4
<i>Cryptococcus laurentii</i>	14	19,7
<i>Cryptococcus neofarmans</i>	1	1,4
<i>Stephanoascus ciferrii</i>	1	1,4
<i>Trichosporon asahii</i>	1	1,4
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>100,0</b>

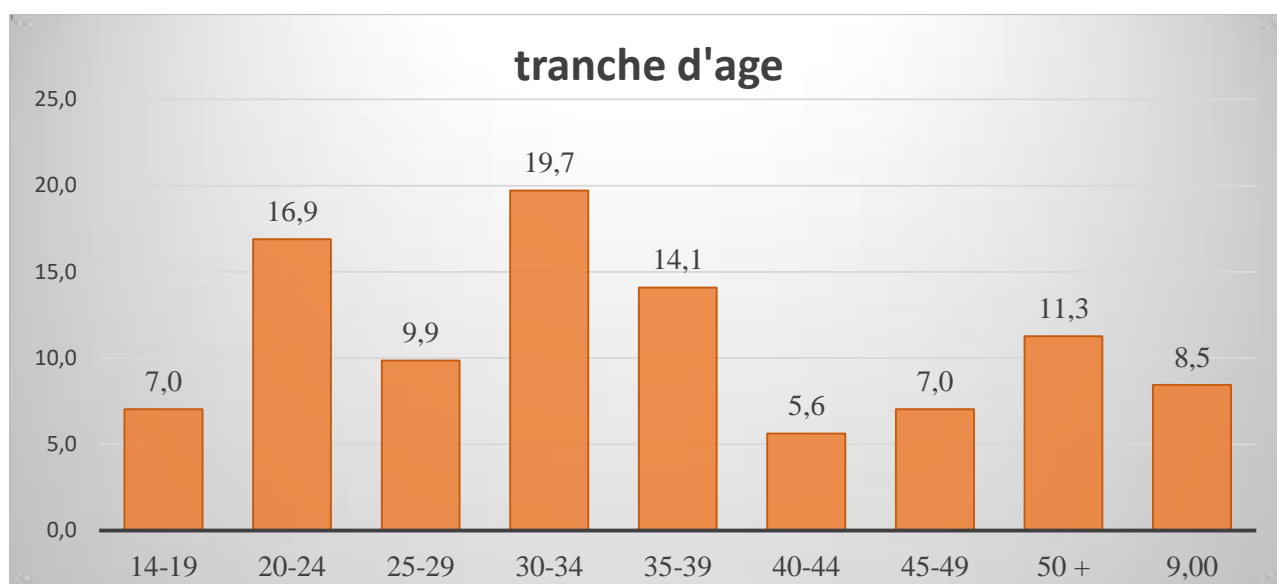
*Candida albicans* était l'espèce la plus fréquemment rencontrée avec 35,2%

**Tableau 4:** Distribution des espèces de levures selon la nature de prélèvement

Germes	Nature de prélèvement				Total
	Expectorations	Frottis vaginaux	Pus	Urines	
<i>Candida albicans</i>	6	16	1	2	25
<i>Candida colliculosa</i>	1	0	0	0	1
<i>Candida dubliniensis</i>	0	1	0	0	1
<i>Candida famata</i>	2	6	0	0	8
<i>Candida glabrata</i>	1	5	0	2	8
<i>Candida kefyr</i>	0	1	0	0	1
<i>Candida krusei</i>	0	2	0	0	2
<i>Candida lipolytica</i>	0	0	0	1	1
<i>Candida lusitaniae</i>	0	1	0	0	1
<i>Candida parapsilosis</i>	2	0	0	0	2
<i>Candida spherica</i>	0	1	0	0	1
<i>Candida tropicalis</i>	0	1	0	1	2
<i>Cryptococcus albidus</i>	0	1	0	0	1
<i>Cryptococcus laurentii</i>	2	9	0	3	14
<i>Cryptococcus neoformans</i>	0	1	0	0	1
<i>Stephanoascus ciferrii</i>	0	1	0	0	1
<i>Trichosporon asahii</i>	0	1	0	0	1
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>47</b>	<b>1</b>	<b>9</b>	<b>71</b>

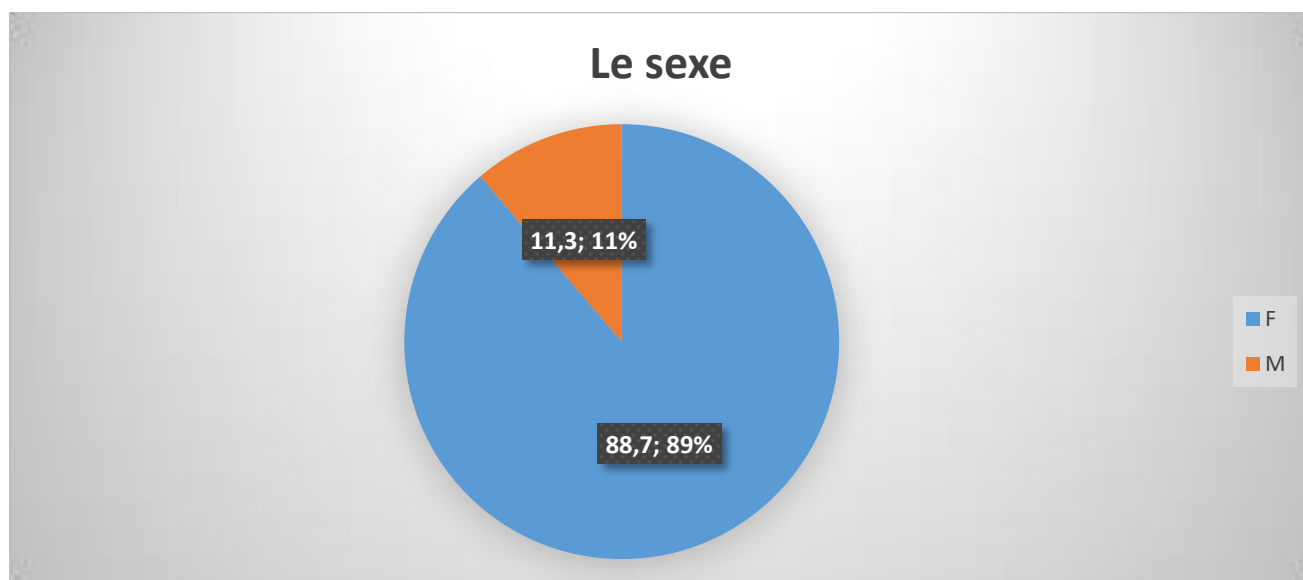
Les frottis vaginaux sont les matériels biologiques les plus représentés dans notre étude suivi de l'expectoration

## 2 Résultats Descriptifs



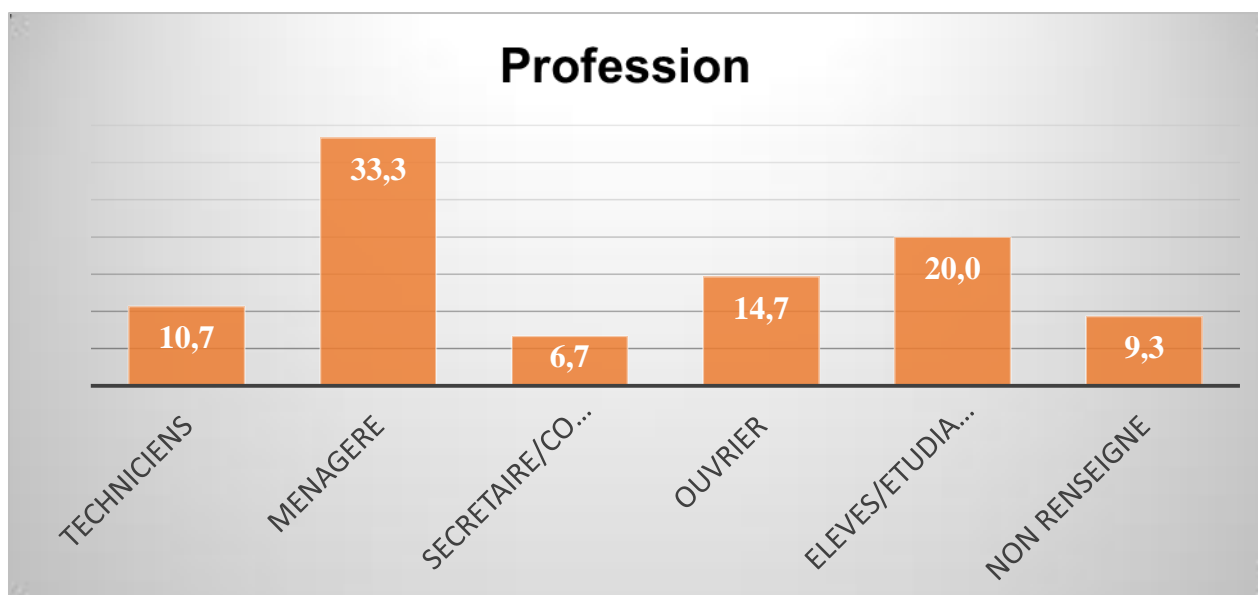
**Figure 13 :** Répartition des patients selon la tranche d'âge

La tranche d'âge [30-34] était la plus représentée avec soit 19,7%



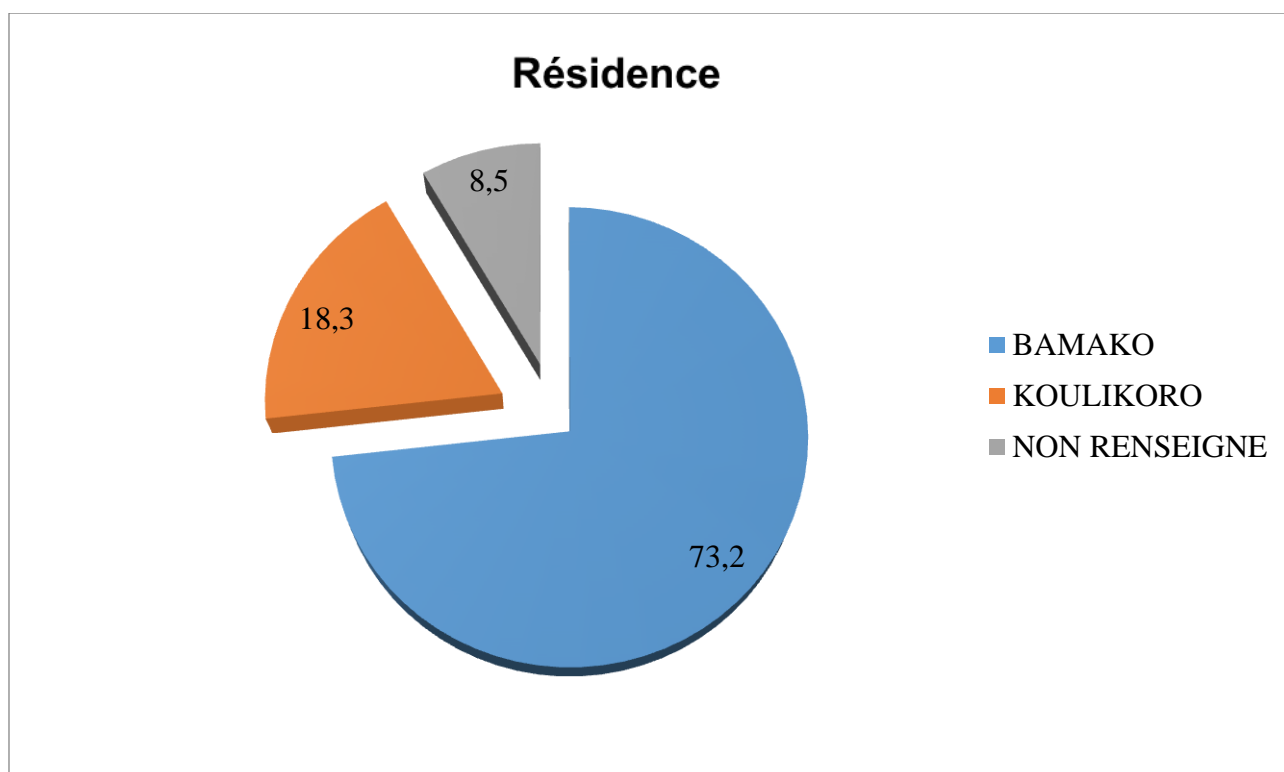
**Figure 14:** Répartition des patients selon le sexe

89% des patients étaient de sexe féminin



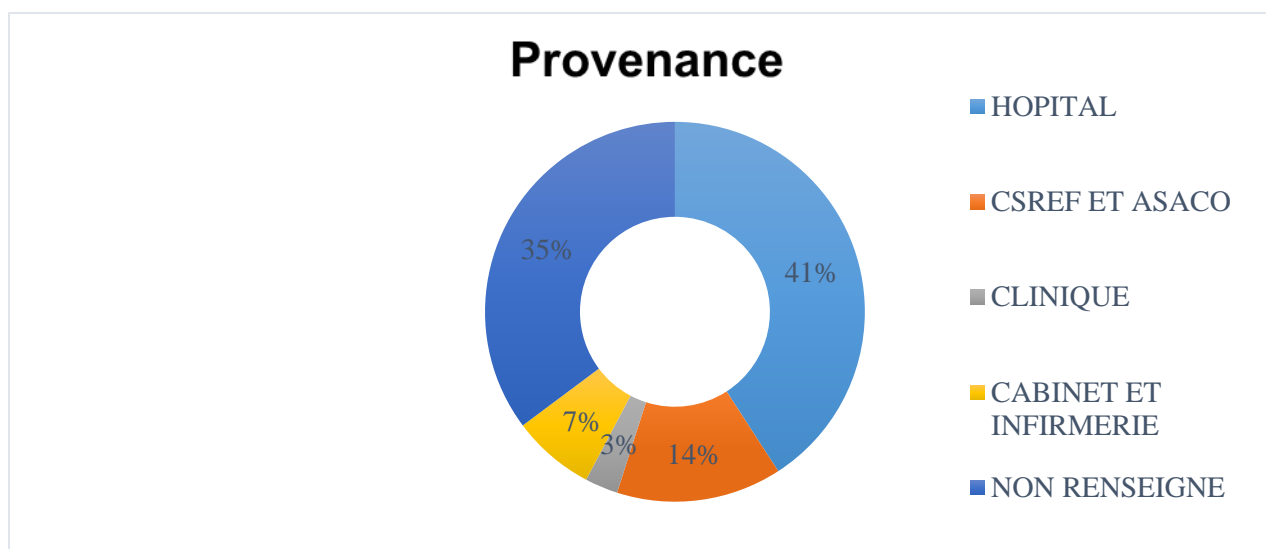
**Figure 15** : répartition des patients selon leur profession.

Les ménagères étaient la couche la plus représentée avec un pourcentage de 33,3%



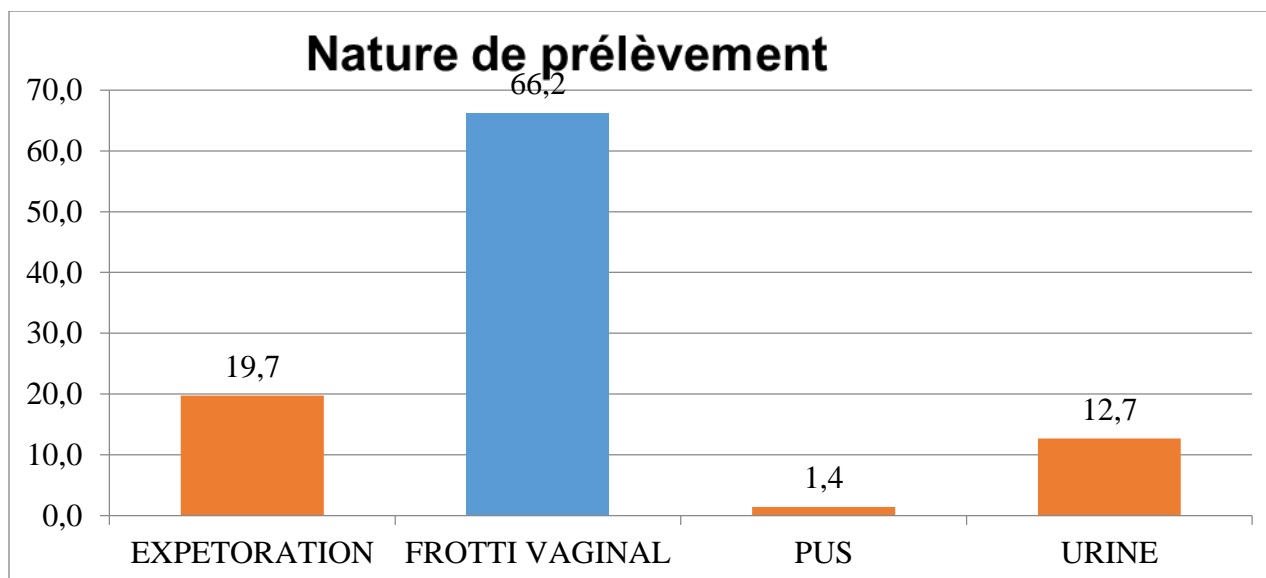
**Figure 16** : Répartition selon la résidence des patients

La majorité des patients résident à Bamako avec un pourcentage de 73,2%



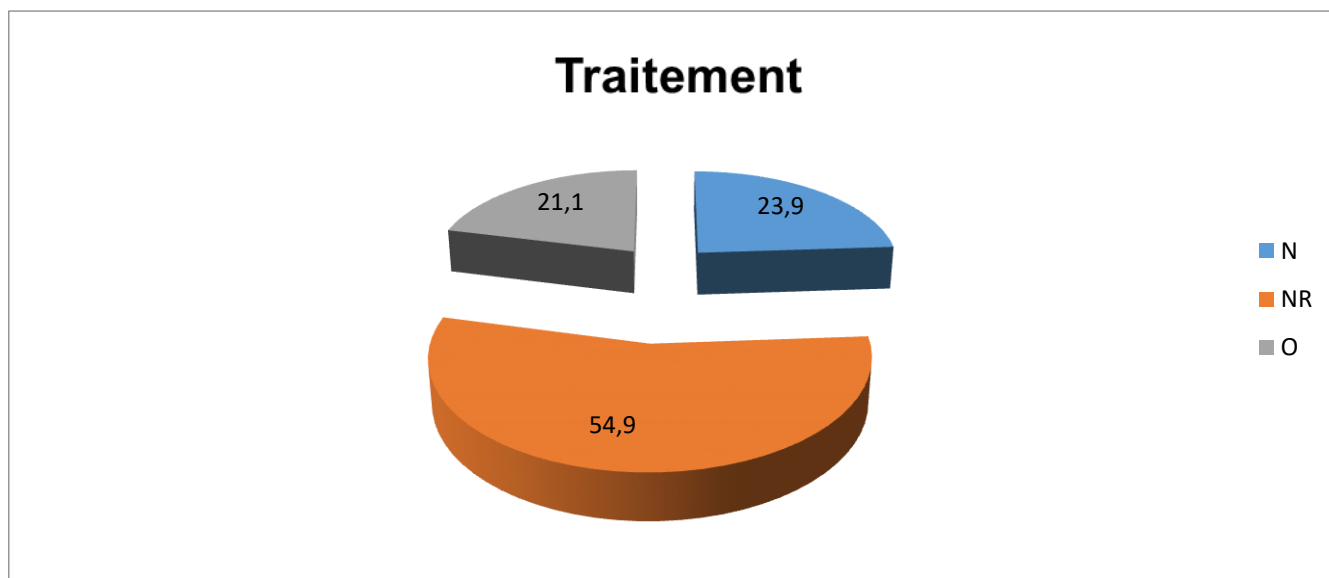
**Figure 17:** Répartition des patients selon la provenance des échantillons.

La majorité de nos échantillons viennent des hôpitaux avec 29/71 soit 41%.



**Figure 18:** Répartition des patients selon la nature de prélèvement

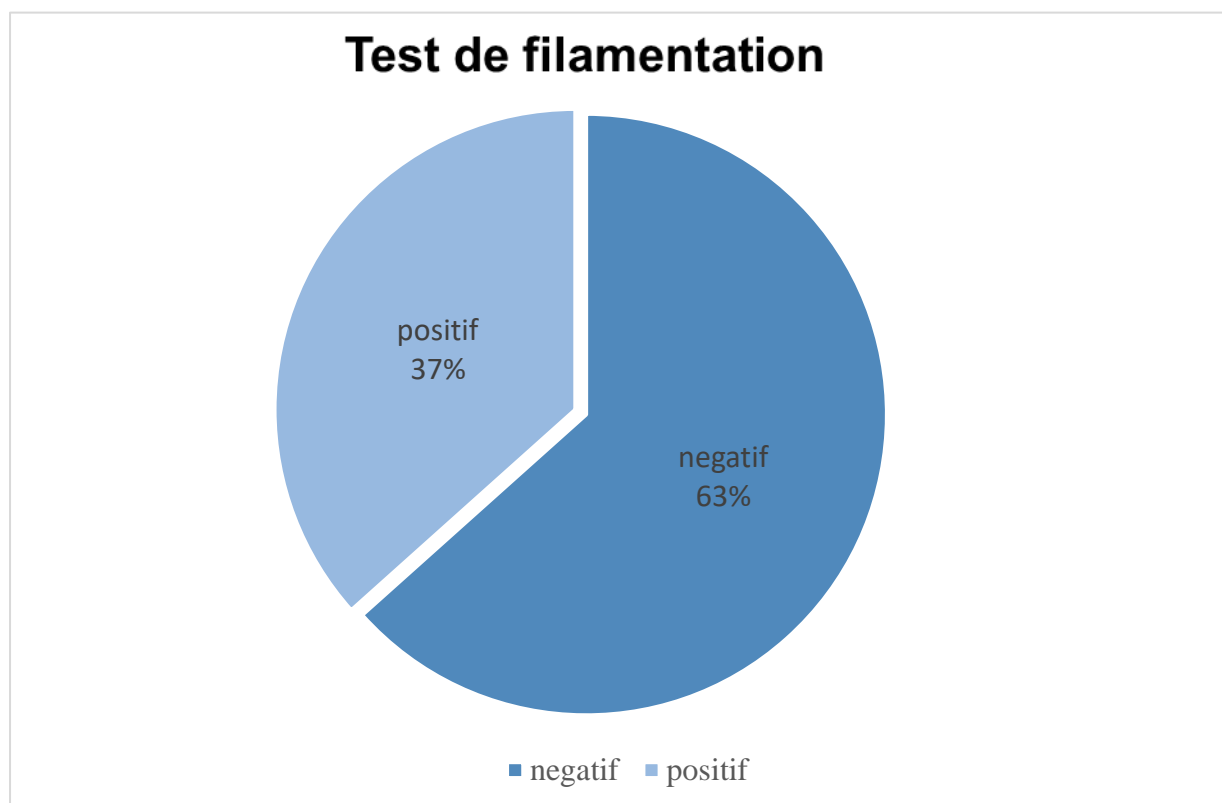
Les frottis vaginaux avaient une prédominance de 47/71 soit 66,2%



**Figure 19:** Répartition des patients selon le traitement préalablement réussi sur le bulletin  
Absence de renseignement à 54,9% sur les bulletins d'analyse concernant le traitement préalable

**Tableau 5:** Distribution des germes isolés à l'examen de la routine

Germes	Effectifs	Pourcentage
Levure filamenteuse	21	29,6
Levure non filamenteuse	35	49,3
AUTRES	15	21,1
Total	71	100,0



**Figure 20:** Répartition selon le résultat du test de filamentation (ou blastèse)  
Seulement 37% des candida observés ont été positif au test de filamentation



**Tableau 6:** Distribution des levures isolées par le VITEK2

Germes	Effectifs	Pourcentage
<i>C. albicans</i>	<b>25</b>	<b>35,2</b>
<i>C. colliculosa</i>	1	1,4
<i>C. dubliniensis</i>	1	1,4
<i>C. famata</i>	8	11,3
<i>C. glabrata</i>	8	11,3
<i>C. kefyr</i>	1	1,4
<i>C. krusei</i>	2	2,8
<i>C. lipolytica</i>	1	1,4
<i>C. lusitaniae</i>	1	1,4
<i>C. parapsilosis</i>	2	2,8
<i>C. spherica</i>	1	1,4
<i>C. tropicalis</i>	2	2,8
<i>Cryptococcus albidus</i>	1	1,4
<b><i>Cryptococcus laurentii</i></b>	<b>14</b>	<b>19,8</b>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	1,4
<i>Stephanoascus ciferrii</i>	1	1,4
<i>Trichosporon asahii</i>	1	1,4
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>100,0</b>

Ce tableau montre que le *Candida albicans* était le plus représenté avec un pourcentage de 35,2% ; secondé par *Cryptococcus laurentii* 19,7%.

### 3 Résultats Analytiques

**Tableau 7:** Distribution des levures identifiées par VITEK2 selon la provenance des patients (service)

Provenance	HOPITAL	CSREF ET ASACO	CLINIQUE	CABINET ET INFIRMERIE	NON RENSEIGNE	Total
<b>Germes</b>						
<i>C. albicans</i>	8	4	1	3	9	25
<i>C. colliculosa</i>	0	0	0	0	1	1
<i>C. dubliniensis</i>	0	0	0	1	0	1
<i>C. famata</i>	4	2	0	0	2	8
<i>C. glabrata</i>	5	0	0	0	3	8
<i>C. kefyr</i>	1	0	0	0	0	1
<i>C. krusei</i>	1	1	0	0	0	2
<i>C. lipolytica</i>	0	0	0	0	1	1
<i>C. lusitaniae</i>	0	0	0	0	1	1
<i>C. parapsilosis</i>	2	0	0	0	0	2
<i>C. spherica</i>	0	0	0	0	1	1
<i>C. tropicalis</i>	1	0	0	1	0	2
<i>Cryptococcus laurentii</i>	7	2	1	0	4	14
<i>Cryptococcus neoformans</i>	0	0	0	0	1	1
<i>Cryptococcus abidus</i>	0	0	0	0	1	1
<i>Stephanoascus ciferrii</i>	0	1	0	0	0	1
<i>Trichosporon asahii</i>	0	0	0	0	1	1
<b>Total</b>	29	10	2	5	25	71

La majorité des germes isolés proviennent des hôpitaux 29 /71

**Tableau 8:** Distribution des levures selon la nature de prélèvement

Germes	Nature de prélèvement				Total
	EXPECTORATION	FROTTIS VAGINAL	PUS	URINES	
<i>Candida albicans</i>	6	16	1	2	25
<i>Candida colliculosa</i>	1	0	0	0	1
<i>Candida dubliniensis</i>	0	1	0	0	1
<i>Candida famata</i>	2	6	0	0	8
<i>Candida glabrata</i>	1	5	0	2	8
<i>Candida kefyr</i>	0	1	0	0	1
<i>Candida krusei</i>	0	2	0	0	2
<i>Candida lipolytica</i>	0	0	0	1	1
<i>Candida lusitaniae</i>	0	1	0	0	1
<i>Candida parapsilosis</i>	2	0	0	0	2
<i>Candida spherica</i>	0	1	0	0	1
<i>Candida tropicalis</i>	0	1	0	1	2
<i>Cryptococcus albidus</i>	0	1	0	0	1
<i>Cryptococcus laurentii</i>	2	9	0	3	14
<i>Cryptococcus neoformans</i>	0	1	0	0	1
<i>Stephanoascus ciferrii</i>	0	1	0	0	1
<i>Trichosporon asahii</i>	0	1	0	0	1
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>47</b>	<b>1</b>	<b>9</b>	<b>71</b>

La plupart des *C albicans* et de *Cryptococcus laurentii* sont isolés dans des frottis vaginaux

#### 4 Profil de résistance des souches isolées aux antifongiques

**Tableau 9:** la résistance des germes isolés aux différents antifongiques .

	Antifongiques					
	FLUCO	VORICO	CASPOF	MICAF	AMPHO	FLUCYTO
<i>C. albicans</i>	0	1	0	0	2	2
<i>C. colliculosa</i>	0	0	0	0	0	0
<i>C. dubliniensis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>C. glabrata</i>	0	1	0	0	0	0
<i>C. kefyr</i>	0	0	0	0	1	0
<i>C. krusei</i>	2	0	0	0	0	2
<i>C. lipolytica</i>	0	0	0	0	0	0
<i>C. lusitaniae</i>	0	1	0	0	1	1
<i>C. parapsilosis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>C. spherica</i>	0	0	0	0	0	0
<i>C. tropicalis</i>	0	1	0	0	1	0
<i>Cryptococcus neofarmans</i>	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

**NB :** *Candida krusei* est naturellement résistant au fluconazole

## 5 Sensibilité /Résistance aux antifongiques

**Tableau 10:** Le profil de résistance de *C. albicans* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	23	2	0	25
Voriconazole	23	1	1	25
Amphotéricine B	21	1	1	25
Flucytosine	23	0	2	25

Ce tableau indique 2/25 de *c. albicans* sont résistant au Flucytosine ; 1/25 sont résistant à l'Amphotéricine et Voriconazole

**Tableau 11:** Le profil de résistance de *C. dubliniensis* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	1	0	0	1
Voriconazole	1	0	0	1
Amphotéricine B	1	0	0	1
Flucytosine	1	0	0	1

Pas de résistance aux différents antifongiques testés

**Tableau 12:** Le profil de résistance de *C. glabrata* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	8	0	0	8
Voriconazole	7	0	1	8
Amphotéricine B	7	1	0	8
Flucytosine	8	0	0	8

Nous avons 1/8 de *C. glabrata* résistant au voriconazole

**Tableau 13 :** Le profil de résistance de *C. kefyr* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	1	0	0	1
Voriconazole	1	0	0	1
Amphotéricine B	0	0	1	1
Flucytosine	1	0	0	1

Le *C. kefyr* (1/1) était résistant à l'Amphotéricine.

**Tableau 14:** Le profil de résistance de *C. krusei* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	0	0	2	2
Voriconazole	2	0	0	2
Amphotéricine B	2	0	0	2
Flucytosine	0	0	2	2

Nous avons noté une résistant 2/2 de *C. krusei* au Flucytosine.

**Tableau 15:** Le profil de résistance de *C. lipolitica* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	1	0	0	1
Voriconazole	1	0	0	1
Amphotéricine B	1	0	0	1
Flucytosine	0	1	0	1

Le *C. lipolitica* était intermédiaire au Flucytosine.

**Tableau 16:** Le profil de résistance de *C. lusitaniae* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	1	0	0	1
Voriconazole	0	0	1	1
Amphotéricine B	0	0	1	1
Flucytosine	0	0	1	1

Le *C. lusitaniae* était au Flucytosine ; à l'Amphotéricine B et à la Voriconazole

**Tableau 17:** Le profil de résistance de *C. parasilosis* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	2	0	0	2
Voriconazole	2	0	0	2
Amphotéricine B	2	0	0	2
Flucytosine	2	0	0	2

Nous n'avons noté aucune résistance concernant le *C. parasilosis*

**Tableau 18:** Le profil de résistance de *C. tropicalis* aux antifongiques

Antifongiques	Sensibilité	Intermédiaire	Résistant	Total
Fluconazole	2	0	0	2
Voriconazole	1	0	1	2
Amphotéricine B	1	0	1	2
Flucytosine	2	0	0	2

Le *C. tropicalis* a été résistant au Voriconazole et Amphotéricine B

**NB :** Tous les germes testés étaient sensibles à la Caspofungine et Micafungine.

## **VI COMMENTAIRES DISCUSSIONS**

La présente étude transversale prospective a été réalisée à l'Institut National de Recherche en Santé Publique de Bamako du janvier 2018 au juin 2019. L'objectif de cette étude était d'évaluer la prévalence et la sensibilité des levures dans les différents prélèvements biologiques. Elle a porté sur 71 souches.

### **Renseignements sociodémographiques**

#### **Age**

L'âge moyen des patients est de 33,8 avec un âge minimum de 15 ans et un maximum de 65ans.

La tranche d'âge la plus représentée était [30 ;34] avec un pourcentage de 19,7%.

Notre résultat se distingue de celle de **H. JAMILI en 2010** qui a travaillé sur les candidoses vulvo- vaginales chez la consultante à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed v de Rabat : Etude prospective 2009-2010. Il a noté que la tranche d'âge [25-30] avec un pourcentage 34,8% était la plus fréquente (69).

#### **Sexe**

Dans notre étude les 2 sexes étaient touchés avec une prédominance féminine de 63/71 soit (89%), parce que le frottis vaginal était le matériel biologique le plus prélevé. Qui est contraire à celle de Nicolas Caraes en 2016 sur Épidémiologie des candidoses profondes au Centre Hospitalier Universitaire de Rouen dont le sexe masculin est le plus touché (911/1509) soit 60,37% cette différence peut être due au type de prélèvement. Cette différence peut être expliquée par la nature de prélèvement qui dans notre cas était beaucoup représenté par les Frottis vaginaux.

### **Identification par le test de filamentation**

#### **Résultat de test du blastèse**

les résultats de notre travail a objectivé une positivité de 37% (26/71) qui est inférieur à celle de Sy O, et collaborateur en 2018 (32/52) soit 61,5% portant sur les Candidoses vulvo- vaginales chez les femmes enceintes au centre hospitalier Mère et Enfant de Nouakchott (70). La différence pourrait s'expliquer par le fait que ces auteurs n'ont travaillé que sur le prélèvement vulvo- vaginal

#### **La nature des germes identifiés :**

Au cours de cette étude, nous avons identifié 35,2% soit (25/71) de *Candida albicans* secondé par *Cryptococcus laurentii* 19,7% soit (14/71). Ce résultat est comparable à celui de M. Sissoko en 2008 à Bamako (commune IV) qui a travaillé sur l'étude de la prise en



charge du syndrome écoulement vaginal et/ou douleur abdominale basse au centre de sante de référence de la COMMUNE IV dont (4/9) soit 44,4% de *Candida albicans* en 2008 (71).

Elle se rapproche de celle de Rieu P et collaborateur sur leur étude épidémiologique multicentrique française conduite en octobre 2004 par le collège de bactériologie, virologie, hygiène (72). La distribution des espèces était la suivante : 23 *C. albicans* (50 %), 12 *C. glabrata* de (26,1 %), cinq *C. tropicalis* (10,8 %), trois *C. parapsilosis* (6,5 %), un *C. krusei*, *C. kefyr* et *C. guilliermondii* (2,2 %) sur 46 souches fongiques isolées.

### **Prévalence**

Globalement parmi les levures isolées, le *candida albicans* prédomine avec un pourcentage 35,2 %. Nos résultats sont inférieurs à ceux de l'étude

« Epidémiologie et spectre des levures isolées en Tunisie (Etude multicentrique nationale) nationale » 54,7%. Sur 31576 souches de levures, cette différence peut être due à la taille de l'échantillon.

Nos valeurs se rapprochent à celle de Dhraief S et coll qui ont travaillé sur la sensibilité de levures aux antifongiques, les résultats montrent que: *C. albicans* était (48,4 %), suivi de *C. glabrata* (18,9 %)(73). Cependant nos résultats sont considérablement inférieurs à ceux de Bouchekoua M et coll qui ont également travaillé sur la typologie et profil de résistance les levures isolées en milieu de réanimation , *C. albicans* était retrouvée dans 53 % (74); également de celles rapportées par JAMILI H et coll qui ont noté une fréquence de 69% de *C.albicans* au cours des Candidoses vulvo- vaginales (69)

### **Profil de résistance aux principaux antifongiques testés**

#### **FLUCONAZOLE :**

Concernant le fluconazole tous les germes testés étaient sensibles à part *C. krusei* qui était résistant à 2/2 (soit 100%) dont c'est une résistance naturelle.

Nos résultats se distinguent avec celui de Dhraief S et coll qui ont noté une résistance pour *C. glabrata* et *C. albicans* respectivement dans 17,6 % et 13 % (73). Bouchekoua M et coll qui ont également noté une résistance 2 souches *C. albicans* parmi 25 testées 2 souches de *C. glabrata* parmi 13 testées 1 souche de *C. tropicalis* parmi 10 testées 1 souche de *C. parapsilosis* parmi 8 testées (74).

## **VORICONAZOLE :**

Les résultats de notre travail montrent un niveau de résistance au Voriconazole pour les espèces de *Candida* à savoir 4% (1/25) *C. albicans* ; 12,5% (1/8) *C. glabrata* ; 100% (1/1) *C. lusitaniae* ; 50% (1/2) *C. tropicalis*. Nos chiffres concordent avec ceux de Bouchekoua M et coll. qui ont noté une résistance de 4% soit (1/25) *C. albicans* (74).

## **AMPHOTERICINE B**

Concernant amphotéricine, nos résultats objectivent une résistance de 8% (2/25) *C. albicans* ; 100% (1/1) *C. Kefyr* ; 100% (1/1) *C. lusitaniae* et 50% (1/2) *C. tropicalis*. Nos résultats se rapprochent à ceux de Bouchekoua M et coll. qui ont noté une résistance de 8% de *C. albicans* (soit 2/25) et 40% de *C. tropicalis* (soit 4/10) (74). Ces résultats se distinguent avec ceux de Dhraief S et coll qui n'ont trouvé aucune résistance (73).

## **FLUCYTOSINE**

Nous avons noté une résistance de 2/25 (8%) *C. albicans* ; 2/2 (100%) *C. krusei* et 1/2 (100%) *C. lusitaniae* au flucytosine

Ces résultats se distinguent avec ceux de Dhraief S et coll qui n'ont trouvé aucun cas de résistance à cette molécule (73).

Au cours de notre étude nous n'avons noté aucune résistance concernant le Caspofungine et Micafungine.

Parmi les 71 échantillons, seulement 37% ont été positifs au test de filamentation; les *Cryptococcus laurentii* ; *Cryptococcus abidus* ; *Candida famata* ; *Stephanoascus ciferrii* ; *Trichosporon asahii* n'ont pas été testés aux antifongiques.

## **Les limites de notre étude**

-Le manque de données de renseignements sur les patients : par exemple le traitement préalable peut influencer le résultat d'antifongogramme

## **VII CONCLUSION**

Au terme de notre étude, nous pouvons dire que le *Candida albicans* et les levures appartenant au genre *Candida* sont les germes les plus fréquentes dans les infections fongiques. L'espèce *Cryptococcus laurentii* a été aussi isolé après *C. albicans*.

L'analyse des résultats de l'antifongogramme de nos souches a dénoté une émergence de la résistance de ces germes face aux antifongiques usuels.

En vue de ces résultats il serait indispensable dans les perspectives de mettre en place un plan de lutte face à l'émergence de la résistance des levures aux antifongiques usuels.

## **VIII RECOMMANDATION**

A l'issue de cette étude, nous formulons les recommandations suivantes :

### **Au Ministère de la santé :**

-Effectuer des enquêtes épidémiologiques régulières sur l'état de sensibilité des fongies aux antifongiques (surveillance de la résistance).

### **Aux prestataires de santé :**

-Prescrire de façon rationnelle les antifongiques afin de diminuer l'émergence de nouvelles souches résistantes.

-Demander un antifongigramme devant tout cas récidivant

### **A la direction de l'INSP :**

-Maintenir le plateau technique existant du laboratoire pour le diagnostic mycologique.

-Approvisionner régulièrement le laboratoire des réactifs et des consommables en vue de la réalisation de l'examen mycologie.

-Utiliser l'automate VITEK®2 COMPACT pour le diagnostic d'espèces

### **A la population**

Suivre correctement les conseils sur les facteurs de risque des candidoses, les indications thérapeutiques et les directives données par les prestataires de santé

## Référence

1. Hulin A, Deguillaume A, Bretagne S, Bézie Y. Bon usage des antifongiques dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives. *Journal de Pharmacie Clinique*. 2005;24(3):125-38.
2. Malki FZ. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et fongicide de quelques antifongiques vis-à-vis des levures isolées du CHU de Tlemcen.
3. Luo G, Samaranayake L. *Candida glabrata*, an emerging fungal pathogen, exhibits superior relative cell surface hydrophobicity and adhesion to denture acrylic surfaces compared with *Candida albicans*. *Apmis*. 2002;110(9):601-10.
4. Paugam A, Baixench M-T, Taieb F, Champagnac C, Dupouy-Camet J. Emergence de candidémies à *Candida parapsilosis* à l'hôpital Cochin. Caractérisation des isolats et recherche de facteurs de risque. *Pathologie Biologie*. 2011;59(1):44-7.
5. Kibbler C. Évolution de l'épidémiologie des candidoses et aspergilloses invasives. *Médecine et maladies infectieuses*. 2007;37:2-4.
6. Saidi S, Luitaud C, Rouabhia M. In vitro synergistic effect of farnesol and human gingival cells against *Candida albicans*. *Yeast*. 2006;23(9):673-87.
7. Contet-Audonneau N, Chabasse D, Guiguen C. *Mycologic*. CD-Rom de mycologie médicale Nancy: Fancemed-Logitel. 1998.
8. Cadet E. *Etude phytochimique et emplois de plantes veinotoniques*: Université de Lorraine; 2016.
9. Chandenier J, Desoubeaux G. La transition épidémiologique des mycoses en Afrique subsaharienne: de la surface vers la profondeur. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*. 2015;108(1):41-5.
10. Morin-Sardin Sp. *Etudes physiologiques et moléculaires de l'adaptation des Mucor aux matrices fromagères*: Brest; 2016.
11. EL JOUHARI FZ. Particularisme des champignons dits «émergents» en pathologie humaine 2008.
12. Olias P. Die Bedeutung der invasiven Aspergillose für die aktuell regional gehäufte Nestlingssterblichkeit deutscher Weißstörche 2011.
13. Buchta V, Žák P, Kohout A, Otčenášek M. Case report. Disseminated infection of *Blastoschizomyces capitatus* in a patient with acute myelocytic leukaemia. *Mycoses*. 2001;44(11-12):505-12.
14. Belfiori R, Terenzi A, Marchesini L, Repetto A. *Absidia Corymbifera* in an immune competent accident victim with multiple abdominal injuries: case report. *BMC infectious diseases*. 2007;7(1):46.
15. Dunyach C, Eiden C, Jalabert A, Margueritte G, Bernard F, Reynes J, et al. Prise en charge thérapeutique des infections fongiques invasives dans le service d'onco-hématologie pédiatrique du CHU de Montpellier. *Journal de Mycologie Médicale*. 2007;17(1):8-15.
16. El Kirat S. Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions *Candida*-phagocytes; Application à la caractérisation du gène OLE2 codant une désaturase chez *C. lusitaniae*: Bordeaux 2; 2010.
17. Pujol C, Reynes J, Renaud F, Raymond M, Tibayrenc M, Ayala FJ, et al. The yeast *Candida albicans* has a clonal mode of reproduction in a population of infected human immunodeficiency virus-positive patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(20):9456-9.
18. Pfaller M, Diekema D, Gibbs D, Newell V, Ellis D, Tullio V, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *Journal of clinical microbiology*. 2010;48(4):1366-77.
19. Warnock DW. Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 2007;48(1):1-12.

20. Fournier P. Impact de la consommation d'antifongiques sur *Candida* sp. Etude dans un service de réanimation médicale de 2004 à 2009 au CHU de Grenoble. Doctorat en pharmacie Université de Grenoble. 2011.
21. Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, Gow NA. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nature Reviews Microbiology*. 2008;6(1):67.
22. Benedict S, Colagreco J. Fungal infections associated with malignancies, treatments, and AIDS. *Cancer nursing*. 1994;17(5):411-7.
23. Pfaller M, Diekema D. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical microbiology reviews*. 2007;20(1):133-63.
24. Pfaller M, Jones R, Doern G, Sader H, Messer S, Houston A, et al. Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;44(3):747-51.
25. Mavor A, Thewes S, Hube B. Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. *Current drug targets*. 2005;6(8):863-74.
26. Develoux M, Bretagne S. Candidoses et levures diverses. *EMC-Maladies infectieuses*. 2005;2(3):119-39.
27. Stéphan F, Bah MS, Desterke C, Rézaiguia-Delclaux S, Foulet F, Duvaldestin P, et al. Molecular diversity and routes of colonization of *Candida albicans* in a surgical intensive care unit, as studied using microsatellite markers. *Clinical infectious diseases*. 2002;35(12):1477-83.
28. Nucci M, Anaissie E. Revisiting the source of candidemia: skin or gut? *Clinical infectious diseases*. 2001;33(12):1959-67.
29. Calderone R, Diamond R, Senet J-M, Warmington J, Filler S, Edwards J. Host cell-fungal cell interactions. *Journal of medical and veterinary mycology*. 1994;32(sup1):151-68.
30. Naglik J, Albrecht A, Bader O, Hube B. *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cellular microbiology*. 2004;6(10):915-26.
31. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in microbiology*. 2001;9(7):327-35.
32. Leigh JE, Barousse M, Swoboda RK, Myers T, Hager S, Wolf NA, et al. *Candida*-Specific Systemic Cell-Mediated Immune Reactivities in Human Immunodeficiency Virus—Positive Persons with Mucosal Candidiasis. *The Journal of infectious diseases*. 2001;183(2):277-85.
33. Ortega M, Rovira M, Almela M, Marco F, de la Bellacasa JP, Martínez JA, et al. Bacterial and fungal bloodstream isolates from 796 hematopoietic stem cell transplant recipients between 1991 and 2000. *Annals of hematology*. 2005;84(1):40-6.
34. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *The Lancet infectious diseases*. 2003;3(11):685-702.
35. Schmalz-Ott S, Monti M, Vollenweider P. Mise en place d'un cathéter veineux central chez l'adulte. *Rev Med Suisse*. 2008;4:2343-8.
36. Lagane C. Rôle de l'IL-13 et des ligands de PPAR-gamma dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida Albicans*. Implication de PPAR-gamma: Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier; 2007.
37. Munoz P, Bouza E, San Juan R, Voss A, Pascau J, Desco M, et al. Clinical-epidemiological characteristics and outcome of patients with catheter-related bloodstream infections in Europe (ESGNI-006 Study). *Clinical microbiology and infection*. 2004;10(9):843-5.
38. Cole GT, Halawa AA, Anaissie EJ. The role of the gastrointestinal tract in hematogenous candidiasis: from the laboratory to the bedside. *Clinical Infectious Diseases*. 1996;22(Supplement\_2):S73-S88.
39. Nucci M. Candiduria in hospitalized patients: a review. *The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*. 2000;4(4):168-72.
40. Andrutis KA, Riggall PJ, Kumamoto CA, Tzipori S. Intestinal lesions associated with disseminated candidiasis in an experimental animal model. *Journal of clinical microbiology*. 2000;38(6):2317-23.

41. Douglas LJ. Candida biofilms and their role in infection. Trends in microbiology. 2003;11(1):30-6.
42. Castaldo P, Stratta RJ, Wood RP, Markin RS, Patil KD, Shaefer MS, et al. Clinical spectrum of fungal infections after orthotopic liver transplantation. Archives of Surgery. 1991;126(2):149-56.
43. Kojic EM, Darouiche RO. Candida infections of medical devices. Clinical microbiology reviews. 2004;17(2):255-67.
44. Paya CV. Prevention of fungal and hepatitis virus infections in liver transplantation. Clinical infectious diseases. 2001;33(Supplement\_1):S47-S52.
45. MAHDI Z. Antifongiques: spectres d'actions et indications chez l'enfant 2018.
46. Vandeputte P, Ferrari S, Coste AT. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. International journal of microbiology. 2011;2012.
47. Odds FC, Brown AJ, Gow NA. Antifungal agents: mechanisms of action. Trends in microbiology. 2003;11(6):272-9.
48. Sanglard D, Coste A, Ferrari S. Antifungal drug resistance mechanisms in fungal pathogens from the perspective of transcriptional gene regulation. FEMS yeast research. 2009;9(7):1029-50.
49. Coste A, Selmecki A, Forche A, Diogo D, Bognoux M-E, d'Enfert C, et al. Genotypic evolution of azole resistance mechanisms in sequential Candida albicans isolates. Eukaryotic cell. 2007;6(10):1889-904.
50. Torelli R, Posteraro B, Ferrari S, La Sorda M, Fadda G, Sanglard D, et al. The ATP-binding cassette transporter–encoding gene CgSNQ2 is contributing to the CgPDR1-dependent azole resistance of Candida glabrata. Molecular microbiology. 2008;68(1):186-201.
51. Ferrari S, Ischer F, Calabrese D, Posteraro B, Sanguinetti M, Fadda G, et al. Gain of function mutations in CgPDR1 of Candida glabrata not only mediate antifungal resistance but also enhance virulence. PLoS pathogens. 2009;5(1):e1000268.
52. Morio F, Loge C, Besse B, Hennequin C, Le Pape P. Screening for amino acid substitutions in the Candida albicans Erg11 protein of azole-susceptible and azole-resistant clinical isolates: new substitutions and a review of the literature. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2010;66(4):373-84.
53. Sanglard D, Odds FC. Resistance of Candida species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. The Lancet infectious diseases. 2002;2(2):73-85.
54. Morio F, Pagniez F, Lacroix C, Miegville M, Le Pape P. Amino acid substitutions in the Candida albicans sterol  $\Delta 5$ , 6-desaturase (Erg3p) confer azole resistance: characterization of two novel mutants with impaired virulence. Journal of antimicrobial chemotherapy. 2012;67(9):2131-8.
55. Rath E, Haller D. Inflammation and cellular stress: a mechanistic link between immune-mediated and metabolically driven pathologies. European journal of nutrition. 2011;50(4):219-33.
56. Poláková S, Blume C, Zárate JÁ, Mentel M, Jørck-Ramberg D, Stenderup J, et al. Formation of new chromosomes as a virulence mechanism in yeast Candida glabrata. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2009;106(8):2688-93.
57. Datry A, Bart-Delabesse E. La caspofungine: du mécanisme d'action aux applications thérapeutiques. La revue de médecine interne. 2006;27(1):32-9.
58. Walker LA, Gow NA, Munro CA. Elevated chitin content reduces the susceptibility of Candida species to caspofungin. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2013;57(1):146-54.
59. Walker LA, Gow NA, Munro CA. Fungal echinocandin resistance. Fungal Genetics and Biology. 2010;47(2):117-26.
60. Munro CA. Chitin and glucan, the yin and yang of the fungal cell wall, implications for antifungal drug discovery and therapy. Advances in applied microbiology. 83: Elsevier; 2013. p. 145-72.
61. GARNAUD C. High throughput pyrosequencing to detect mutations involved in antifungal resistance in Candida spp. 2013.

62. Lee KK, MacCallum DM, Jacobsen MD, Walker LA, Odds FC, Gow NA, et al. Elevated cell wall chitin in *Candida albicans* confers echinocandin resistance in vivo. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(1):208-17.
63. Cowen LE, Steinbach WJ. Stress, drugs, and evolution: the role of cellular signaling in fungal drug resistance. *Eukaryotic cell*. 2008;7(5):747-64.
64. Delaunay P, Fissore C. Interactions médicamenteuses des antifongiques systémiques. *Journal de mycologie médicale*. 2006;16(3):152-8.
65. Vermes A, Guchelaar H-J, Dankert J. Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2000;46(2):171-9.
66. Blain E. Evaluation de l'apport du Loramyc®(Miconazole Lauriad®), comprimé gingival mucoadhésif, dans le traitement de la candidose oropharyngée chez les patients immunodéprimés: Université de Lorraine; 2012.
67. Morio F. Bases moléculaires de la résistance aux antifongiques azolés chez *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*: Nantes; 2012.
68. Sanglard D. Mécanismes de résistance. *Infections fongiques: Résistances et nouvelles modalités thérapeutiques*, JIDIF: Optimed Ed. 2003:29-46.
69. El Alami S, Handor N, Naoui H, Bouchrik M, Idrissi KS, Guelzim K, et al. Les candidoses vulvo-vaginales chez la consultante à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat (Maroc). *Journal de Mycologie Médicale*. 2012;1(22):108.
70. Sy O, Diongue K, Ahmed C, Ba O, Moulay F, Lo B, et al. Candidoses vulvo-vaginales chez les femmes enceintes au centre hospitalier mère et Enfant de Nouakchott (Mauritanie). *Journal de Mycologie Médicale*. 2018;28(2):345-8.
71. SISSOKO MM. ETUDE DE LA PRISE EN CHARGE DU SYNDROME ECOULEMENT VAGINAL ET/OU DOULEUR ABDOMINALE BASSE AU CENTRE DE SANTE DE REFERENCE DE LA COMMUNE IV. 2008.
72. Rieu P, Eloy O, Bertout S, Mallié M, Bain P, Blanc V. Sensibilité comparée par CLSI, EUCAST, E-test et ATB® Fungus 2 des souches de *Candida* sp. isolées au cours d'une enquête épidémiologique sur les candidémies dans des hôpitaux non universitaires. *Journal de Mycologie Médicale*. 2009;19(2):94-103.
73. Dhraief S, Trabelsi S, Sellem M, Bouchekoua M, Bouhlel S, Aloui D, et al. Sensibilité de levures aux antifongiques: évaluation des souches isolées de prélèvements profonds. *Journal de Mycologie Médicale*. 2016;26(2):e25.
74. Bouchekoua M, Boudaouara Y, Trabelsi S, Aloui D, Cheikhrouhou S, Khaled S. Les levures isolées en milieu de réanimation: typologie et profil de résistance. *Journal de Mycologie Médicale*. 2017;27(3):e25-e6.



# ANNEXES

## **ANNEXES**

### **ANNEXE1**

#### **MODE OPERATOIRE DE LA TECHNIQUE DE COLORATION DE GRAM**

##### **1. Principe**

C'est la coloration de base en bactériologie et elle permet une classification des bactéries selon leur structure. Elle est l'une des caractères essentiels de la classification des bactéries.

Plusieurs facteurs vont intervenir dans cette coloration :

- La différence de composition chimique de bactéries ;
- La différence de perméabilité de la paroi bactérienne à l'alcool-acétone.

##### **2. Matériel**

- Microscope ;
- Blouse ;
- Bac de coloration ;
- Plaque chauffante ;
- Bec bunsen ;
- Centrifugeuse.

##### **3. Consommable**

- Gants ;
- Lames porte objet ;
- Tube conique ;
- Pipette pasteur.

##### **4. Réactif**

- Colorants : violet de gentiane, le Lugol, l'alcool-acétone, la fuchsine.
- L'huile d'immersion.

##### **5. Nature du prélèvement**

Frottis d'un produit pathologique bien séché sur une lame

##### **6. Contrôle de qualité**

Les lames positives (frottis préparés avec une souche de bactérie connue) sont conservées et utilisées comme lames de référence.

##### **7. Technique**

- La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes qui se succède et consiste à :
- Fixer le frottis ;

- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir une minute (violet de gentiane) ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Recouvrir la préparation de Lugol, laisser agir une minute ;
- Rejeter le colorant puis laver à l'eau ;
- Décolorer à l'alcool-acétone ;
- Rincer à l'eau de robinet et recouvrir la lame de solution de fuchsine diluée, laisser agir 30secondes ;
- Rejeter la Fuchsine, laver à l'eau, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propres ;
- Lire le frottis coloré au microscope à l'objectif x100 à l'huile d'immersion.

### **8. Résultat**

- A la coloration de Gram :
- Bactéries Gram négatif : coloration rose
- Bactéries Gram positif : coloration violette
- **Levures : forme ovale coloration violet**

## **ANNEXE2**

### **Gélose de SABOURAUD au chloramphénicol**

#### **DOMAINE D'UTILISATION**

La gélose de Sabouraud au chloramphénicol est recommandée pour l'isolement des levures et des moisissures, surtout lorsque les prélèvements sont fortement contaminés par des bactéries.

#### **PRINCIPES**

- La peptone pepsique de viande constitue la source azotée de croissance.
- Le glucose est une source énergétique.
- Le chloramphénicol, antibiotique thermostable à large spectre antibactérien, inhibe le développement de la microflore contaminant.

## **PREPARATION**

- Mettre en suspension 45,5 g de milieu déshydraté (BK027) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

## **NB :**

Eviter un chauffage excessif du milieu qui conduirait à la dénaturation de l'agar en pH acide et par conséquent à l'obtention d'un milieu trop mou.

## **MODE D'EMPLOI**

- Refroidir et maintenir le milieu à 47°C.
- Transférer 1 ml du produit à analyser et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Pétri stériles.
- Couler 10 à 15 ml de milieu.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à 25-30°C pendant 3 et 5 jours.

## **LECTURE**

Les boîtes doivent être examinées chaque semaine, pendant 5 semaines avant de conclure à l'absence de cultures.

## **FORMULE – TYPE**

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande .....10,0 g

- Glucose.....20,0 g
  - Chloramphénicol .....0,5 g
  - Agar agar bactériologique.....15,0 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,7 ± 0,2.

### CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre blanc crème, fluide et homogène.
- Milieu préparé : gélose ambrée.
- Réponse culturale typique après 72 heures d'incubation à 30°C :

Microorganismes	Croissance (Rapport de productivité : PR)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC® 9763	PR ≥ 50%
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	PR ≥ 50%
<i>Aspergillus brasiliensis</i> DSM 1988	PR ≥ 50%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibée
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Inhibée

### STOCKAGE / CONSERVATION

**Milieu déshydraté : 2-30°C.**

- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu préparé en boîtes : 1 mois à 2-8°C (à titre indicatif).

### PRESENTATION

Code

**Milieu déshydraté :**

- Flacon de 500 g

BK027HA

**REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE**

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions



**MODE OPERATOIRE DE L'UTILISATION DU VITEK 2 COMPACT**

## 1. Principe

Le système Vitek 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes et /ou d'antifongigrammes pour les bactéries et/ou significatives au plan clinique. Le système comprend l'instrument Vitek 2 Compact, un ordinateur et une imprimante.

Le logiciel fourni par le système Vitek 2 Compact inclut des programmes d'analyses, de gestion de données et un système de contrôle de qualité afin de valider le kit test du Vitek 2 Compact.

## 2. Mode opératoire

- Prendre le flacon eau saline Vitek 2, introduire la dispensette ;
- Prendre des tubes secs pour Vitek 2, y introduire dans les puits de la cassette ;
- La cassette peut prendre jusqu'à 10 tubes soit 2x5 (identification+ antifongigramme) ;
- Mettre dans chaque tube, 3ml de la solution saline du Vitek 2 à l'aide de la dispensette préalablement réglée à 3 ml.

**N.B : Pour un germe, deux tubes secs seront utilisés** dont l'un servira à l'identification et l'autre à l'antibiogramme ;

- Sur une feuille vierge, porter la date et le numéro de l'échantillon ainsi que le nom approximatif du germe à identifier ;
- A partir de la culture pure sur gélose (culture jeune 24 h), à l'aide d'une oese, prélever quelques colonies et les introduire dans le tube sec contenant la solution saline ;
- Homogénéiser la suspension et bien vortexer ;
- A l'aide du densitomètre, mesurer la concentration des bactérienne à **0,5 McFarland** ;
- Poser le tube contenant la suspension bactérienne e en première position et faire suivre celui prévu pour l'antibiogramme ;
- Préparer la solution pour antibiogramme :
  - Si la bactérie à identifier est à :

**Gram positif, utiliser la micropipette calibrée à 280µl (bleue),**

Gram négatif, utiliser la micropipette calibrée à 145µl (rouge) ;

- A partir de la suspension bactérienne, pipeter en fonction de la nature du germe suspecté (BGN ou BGP) et diluer dans 3ml d'eau saline contenu dans le tube voisin.

On aurait ainsi préparé la suspension pour l'antibiogramme.

- Placer la carte d'identification (soit GN, soit GP ou **YST**) et la carte pour l'antibiogramme (Soit AST- N, soit SST- P ou **AST- Y**) en fonction de la nature du germe sur la cassette.

**NB : différentes cartes utilisables :**

- Streptocoques et entérocoques : ID : GP 67, réf 22226 ; ATB : AST-P 586, réf 22276
- Staphylocoques : ID GP : réf 21342. ATB : AST-P 580, réf 22233
- ID GN : réf 21341 ; ATB : non entérobactéries : AST- 222, réf 413083  
entérobactéries : AST-N 233, réf 413117
- Levures : ID : **YST**, réf 21343 ; ATB : **AST-YS01**, réf 22108
- Au niveau de l'ordinateur de l'automate, à l'apparition de la page principale ;
- Cliquer sur Vitek 2
- Mettre Identifiant : **labsuper**, le mot de passe : **labsuper**
- Cliquer sur gérer la cassette virtuelle
- Créer une cassette virtuelle
- Identification de la cassette 1, 2, ...
- Lecture du code à barre de chaque carte à partir de la douchette
- Saisir les données de l'isolat ;
- Entrer les informations de l'isolat (numéro attribué au laboratoire, nom du germe si déjà identifié par d'autres techniques)
- Puis enregistrer les données de la cassette virtuelle
- Au niveau de l'automate Vitek 2 Compact,
- Ouvrir le capot de remplissage et insérer la cassette à l'intérieur de la chambre ;
- Fermer le capot de remplissage ;
- Appuyer sur la touche **Lancer remplissage**, un bip indique que le cycle de remplissage est terminé ;
- Retirer la cassette du capot de remplissage et l'introduire dans la chambre de lecture où s'effectue le scellage. Le processus de chargement/déchargement permet la lecture du code à barre des cartes et le code à barre de la cassette ;



- Lorsque le message **retiré** s'affiche dans la chambre de lecture, cela indique que le Vitek 2 a terminé le traitement des cartes contenues sur la cassette. On peut la retirer en ouvrant le **capot chargement** puis le refermer ;
- On attend le jour suivant où les résultats seront imprimés.

### **3. Résultats**

Le Vitek 2 Compact est un appareil qui permet d'identifier les germes et de réaliser l'antibiogramme puis d'interpréter les phénotypes de résistances acquise et naturelle puis la sensibilité naturelle du germe.

Exemple : les bêtalactamases des entérobactéries (*Klebsiella*, *E. coli*), *S. aureus* résistant à méthiciline et vancomycine, *Pseudomonas* résistant à l'imipenème...et les phénotypes des souches sauvages (le germe sensible à tous les antibiotiques testés excepté les sensibilités naturelles).

### **4. Gestion des déchets**

#### ➤ **Retrait des cartes éjectées :**

Pour éjecter une carte, le Vitek 2 Compact la retire du carrousel/incubateur, la présente au lecteur de cartes et la dépose dans le récipient collecteur de déchets. Le réceptacle collecteur de déchet peut contenir jusqu'à 60 cartes, il est recommandé de contrôler régulièrement le niveau du réceptacle collecteur de déchet et le vider.

#### ➤ **Retrait du réceptacle collecteur de déchet :**

- Ouvrir le capot du récipient collecteur de déchets. Noter que les cartes usagées sont stockées à l'intérieur du réceptacle ;
- Retirer le réceptacle collecteur de déchet de la station de travail en tirant sur le bord avant, vers soi ;
- Jeter les cartes usagées dans la poubelle de déchets contaminés ;
- Remettre en place le réceptacle collecteur de déchets en le faisant glisser vers l'intérieur ;
- Fermer le capot du récipient collecteur de déchets.

**Le Vitek 2 Compact réinitialise le compteur de déchets si le réceptacle est entièrement vidé.**



Figure Automate d'identification et d'antifongogramme Vitek 2

**Fiche signalétique :**

Nom : ARAMA

Prénom : Jacques

Adresse électronique : jacquesaram@gmail.com

Nationalité : Malienne

**TITRE : Identification et antifongogramme des levures responsables d'infections et isolés au service de Bactériologie-Virologie à l'INSP**

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2019- 2020**

**VILLE DE SOUTENANCE : Bamako**

**LIEU DE DEPOT :** Bibliothèque de la faculté de médecine et d'odontostomatologie et de la faculté pharmacie de Bamako.

**SECTEUR D'INTERET :** épidémiologie, mycologie.

**RESUME**

Les mycoses sont des infections fréquentes dont l'impact pour la santé humaine est loin d'être négligeable. Les levures appartenant au genre *Candida*, dont le chef de file est *Candida albicans*, sont les espèces les plus fréquemment incriminées dans ces infections fongiques.

Nous avons mené une étude transversale prospective à but descriptif qui s'est déroulée de janvier 2018 à juin 2019 dans le but d'évaluer la prévalence et la sensibilité des levures dans les différents prélèvements biologiques au service de Bactériologie-Virologie de l'Institut National de Recherche en Santé Publique.

Etude portait sur 71 échantillons (63 femmes et 8 hommes) Ces échantillons proviennent majoritairement de sources hospitalières. Les levures de genres *Candida* prédomine avec un pourcentage 74,6%. Les espèces les plus fréquemment isolées sont *Candida albicans* (35,2%) *Cryptococcus laurentii* (19,7%) *Candida glabrata* (11,3%) et *Candida famata* (11,3%). Parmi les 71 échantillons, 37% ont été positifs au test de filamentation ; les *Cryptococcus laurentii* et *Candida famata* n'étaient associable aux antifongiques. Parmi ceux qui étaient associables, nous avons eu une **résistance de 5% à la fluconazole ;9% au voriconazole ;0% à la caspofungine ; 0% à la Micafungine ; 11% à l'Amphotéricine ; 12% de flucytosine.**

L'identification et antifongogramme restent le meilleur moyen pour diminuer l'émergence de souches résistantes aux antifongiques utilisés en pratique courante.

**MOTS-CLES : Mycoses, Antifongogramme , Résistance, Levures, INRSP, Bamako**

## **ABSTRACT**

Fungal infections are frequent infections whose impact on human health is far from negligible. Yeasts belonging to the genus *Candida*, whose leader is *Candida albicans*, are the species most frequently implicated in these fungal infections.

We carried out a descriptive prospective cross-sectional study that took place from January 2018 to January 2019 in order to evaluate the prevalence and sensitivity of yeasts in the various biological samples received in the Bacteriology-Virology department of the National Institute of Research in Public Health.

The study included 71 samples (63 women and 8 men). These samples come mainly from hospital.

Yeasts of the genus *Candida* predominate with a percentage of 74.6%. The most frequently isolated species are *Candida albicans* (35.2%) *Cryptococcus laurentii* (19.7%) *Candida glabrata* (11.3%) and *Candida famata* (11.3%).

Of the 71 samples, 37% were positive for the filament test. The sensibility of *Cryptococcus laurentii* and *Candida famata* could not be determined by the equipment as it is not included in the parameters.

Among those who were tested, we had a resistance of 5% to fluconazole, 9% to voriconazole, 0% to caspofungin; 0% Micafungin; 11% to Amphotericin; 12% flucytosine.

Identification and antifungal range remain the best way to reduce the emergence of antifungal resistant strains used in routine practice.

**KEY-WORDS:** Mycoses, Antifungal, Resistance, Yeast, INRSP, Bamako

## **SERMENT DE GALIEN :**

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la santé Publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels ;

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ;

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure.