

**UNIVERSITE MOHAMMED V –SOUISSI-
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT**

ANNEE : 2012

THESE N° : 86

**RÉSISTANCE AU FLUCONAZOLE DE 68 SOUCHES DE
LEVURES GENRE CANDIDA ISOLÉES DES SERVICES DE
RÉANIMATION DU CHU DE RABAT**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

M^r. MOHAMED NAJAH

Né le 02 NOVEMBRE 1987 à AGADIR

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Genre *Candida* - Antifongogramme - Fluconazole - Résistance - Surveillance

MEMBRES DE JURY

Mr. Y.BENSOUDA

Professeur de Pharmacie Galénique

PRESIDENT

Mr. B.E.LMIMOUNI

Professeur de Parasitologie

RAPPORTEUR

Mr. I.LAHLOU AMINE

Professeur de Microbiologie

Mr. R.MOUTAJ

Professeur de Parasitologie

Mr. J. LAMSAOURI

Professeur de Chimie Thérapeutique

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

- 1962 – 1969** : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

- Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT
Conservateur : Ahmed ZAHIDI

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie –Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali*
12. Pr. BENOMAR M'hammed
13. Pr. BENSOUA Mohamed
14. Pr. BENOSMAN Abdellatif
15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
17. Pr. BALAFREJ Amina
18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

21. Pr. BOUCETTA Mohamed*
22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
25. Pr. NAJI M'Barek *
26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

27. Pr. BENJELLOUN Halima
28. Pr. BENSAID Younes
29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
30. Pr. IHRAI Hssain *
31. Pr. IRAQI Ghali
32. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

33. Pr. AJANA Ali
34. Pr. AMMAR Fanid
35. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE
36. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq
37. Pr. EL HAITEM Naïma
38. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
41. Pr. LACHKAR Hassan
42. Pr. OHAYON Victor*
43. Pr. YAHYAOUY Mohamed

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

| | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique |
| 45. Pr. DAFIRI Rachida | Radiologie |
| 46. Pr. FAIK Mohamed | Urologie |
| 47. Pr. HERMAS Mohamed | Traumatologie Orthopédie |
| 48. Pr. TOLOUNE Farida* | Médecine Interne |

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

| | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 49. Pr. ADNAOUI Mohamed | Médecine Interne |
| 50. Pr. AOUNI Mohamed | Médecine Interne |
| 51. Pr. BENAMEUR Mohamed* | Radiologie |
| 52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali | Cardiologie |
| 53. Pr. CHAD Bouziane | Pathologie Chirurgicale |
| 54. Pr. CHKOFF Rachid | Urologie |
| 55. Pr. KHARBACH Aïcha | Gynécologie -Obstétrique |
| 56. Pr. MANSOURI Fatima | Anatomie-Pathologique |
| 57. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda | Neurologie |
| 58. Pr. SEDRATI Omar* | Dermatologie |
| 59. Pr. TAZI Saoud Anas | Anesthésie Réanimation |

Février Avril Juillet et Décembre 1991

| | |
|--|---|
| 60. Pr. AL HAMANY Zaïtounia | Anatomie-Pathologique |
| 61. Pr. ATMANI Mohamed* | Anesthésie Réanimation |
| 62. Pr. AZZOUZI Abderrahim | Anesthésie Réanimation |
| 63. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM | Néphrologie |
| 64. Pr. BELKOUCHI Abdelkader | Chirurgie Générale |
| 65. Pr. BENABDELLAH Chahrazad | Hématologie |
| 66. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif | Chirurgie Générale |
| 67. Pr. BENSOUDA Yahia | Pharmacie galénique |
| 68. Pr. BERRAHO Amina | Ophtalmologie |
| 69. Pr. BEZZAD Rachid | Gynécologie Obstétrique |
| 70. Pr. CHABRAOUI Layachi | Biochimie et Chimie |
| 71. Pr. CHANA El Houssaine* | Ophtalmologie |
| 72. Pr. CHERRAH Yahia | Pharmacologie |
| 73. Pr. CHOKAIRI Omar | Histologie Embryologie |
| 74. Pr. FAJRI Ahmed* | Psychiatrie |
| 75. Pr. JANATI Idrissi Mohamed* | Chirurgie Générale |
| 76. Pr. KHATTAB Mohamed | Pédiatrie |
| 77. Pr. NEJMI Maati | Anesthésie-Réanimation |
| 78. Pr. OUAALINE Mohammed* | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH | Pharmacologie |
| 80. Pr. TAOUFIK Jamal | Chimie thérapeutique |

Décembre 1992

81. Pr. AHALLAT Mohamed
82. Pr. BENOUDA Amina
83. Pr. BENSOUA Adil
84. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
85. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
86. Pr. CHRAIBI Chafiq
87. Pr. DAOUDI Rajae
88. Pr. DEHAYNI Mohamed*
89. Pr. EL HADDOURY Mohamed
90. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
91. Pr. FELLAT Rokaya
92. Pr. GHAFIR Driss*
93. Pr. JIDDANE Mohamed
94. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
95. Pr. TAGHY Ahmed
96. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
Microbiologie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

97. Pr. AGNAOU Lahcen
98. Pr. AL BAROUDI Saad
99. Pr. BENCHERIFA Fatiha
100. Pr. BENJAAFAR Noureddine
101. Pr. BENJELLOUN Samir
102. Pr. BEN RAIS Nozha
103. Pr. CAOUI Malika
104. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
105. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
106. Pr. EL AOUAD Rajae
107. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
108. Pr. EL HASSANI My Rachid
109. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
110. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
111. Pr. ERROUGANI Abdelkader
112. Pr. ESSAKALI Malika
113. Pr. ETTAYEBI Fouad
114. Pr. HADRI Larbi*
115. Pr. HASSAM Badredine
116. Pr. IFRINE Lahssan
117. Pr. JELTHI Ahmed
118. Pr. MAHFOUD Mustapha
119. Pr. MOUDENE Ahmed*
120. Pr. OULBACHA Said

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Générale

121. Pr. RHRAB Brahim
 122. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
 123. Pr. SLAOUI Anas

Gynécologie –Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

124. Pr. ABBAR Mohamed*
 125. Pr. ABDELHAK M'barek
 126. Pr. BELAIDI Halima
 127. Pr. BRAHMI Rida Slimane
 128. Pr. BENTAHILA Abdelali
 129. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
 130. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
 131. Pr. CHAMI Ilham
 132. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
 133. Pr. EL ABBADI Najia
 134. Pr. HANINE Ahmed*
 135. Pr. JALIL Abdelouahed
 136. Pr. LAKHDAR Amina
 137. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Neurologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Gynécologie – Obstétrique
 Traumatologie – Orthopédie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Neurochirurgie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie

Mars 1995

138. Pr. ABOUQUAL Redouane
 139. Pr. AMRAOUI Mohamed
 140. Pr. BAIDADA Abdelaziz
 141. Pr. BARGACH Samir
 142. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*
 143. Pr. BENAZZOUZ Mustapha
 144. Pr. CHAARI Jilali*
 145. Pr. DIMOU M'barek*
 146. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
 147. Pr. EL MESNAOUI Abbes
 148. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
 149. Pr. FERHATI Driss
 150. Pr. HASSOUNI Fadil
 151. Pr. HDA Abdelhamid*
 152. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
 153. Pr. IBRAHIMY Wafaa
 154. Pr. MANSOURI Aziz
 155. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
 156. Pr. RZIN Abdelkader*
 157. Pr. SEFIANI Abdelaziz
 158. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Gastro-Entérologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gynécologie Obstétrique
 Médecine Préventive et Santé Publique
 Cardiologie
 Urologie
 Ophtalmologie
 Radiothérapie
 Ophtalmologie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Génétique
 Réanimation Médicale

Décembre 1996

| | |
|--|------------------------------------|
| 159. Pr. AMIL Touriya* | Radiologie |
| 160. Pr. BELKACEM Rachid | Chirurgie Pédiatrie |
| 161. Pr. BELMAHI Amin | Chirurgie réparatrice et plastique |
| 162. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim | Ophtalmologie |
| 163. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan | Chirurgie Générale |
| 164. Pr. EL MELLOUKI Ouafae* | Parasitologie |
| 165. Pr. GAOUZI Ahmed | Pédiatrie |
| 166. Pr. MAHFOUDI M'barek* | Radiologie |
| 167. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid | Chirurgie Générale |
| 168. Pr. MOHAMMADI Mohamed | Médecine Interne |
| 169. Pr. MOULINE Soumaya | Pneumo-ptisiologie |
| 170. Pr. OUADGHIRI Mohamed | Traumatologie-Orthopédie |
| 171. Pr. OUZEDDOUN Naima | Néphrologie |
| 172. Pr. ZBIR EL Mehdi* | Cardiologie |

Novembre 1997

| | |
|--------------------------------|-------------------------|
| 173. Pr. ALAMI Mohamed Hassan | Gynécologie-Obstétrique |
| 174. Pr. BEN AMAR Abdesselem | Chirurgie Générale |
| 175. Pr. BEN SLIMANE Lounis | Urologie |
| 176. Pr. BIROUK Nazha | Neurologie |
| 177. Pr. BOULAICH Mohamed | O.RL. |
| 178. Pr. CHAOUIR Souad* | Radiologie |
| 179. Pr. DERRAZ Said | Neurochirurgie |
| 180. Pr. ERREIMI Naima | Pédiatrie |
| 181. Pr. FELLAT Nadia | Cardiologie |
| 182. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra | Radiologie |
| 183. Pr. HAIMEUR Charki* | Anesthésie Réanimation |
| 184. Pr. KANOUNI NAWAL | Physiologie |
| 185. Pr. KOUTANI Abdellatif | Urologie |
| 186. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid | Chirurgie Générale |
| 187. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ | Pédiatrie |
| 188. Pr. NAZI M'barek* | Cardiologie |
| 189. Pr. OUAHABI Hamid* | Neurologie |
| 190. Pr. SAFI Lahcen* | Anesthésie Réanimation |
| 191. Pr. TAOUFIQ Jallal | Psychiatrie |
| 192. Pr. YOUSFI MALKI Mounia | Gynécologie Obstétrique |

Novembre 1998

| | |
|-----------------------------------|------------------------|
| 193. Pr. AFIFI RAJAA | Gastro-Entérologie |
| 194. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali* | Pneumo-ptisiologie |
| 195. Pr. ALOUANE Mohammed* | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 196. Pr. BENOMAR ALI | Neurologie |

197. Pr. BOUGTAB Abdesslam
198. Pr. ER RIHANI Hassan
199. Pr. EZZAITOUNI Fatima
200. Pr. KABBAJ Najat
201. Pr. LAZRAK Khalid (M)

Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

202. Pr. BENKIRANE Majid*
203. Pr. KHATOURI ALI*
204. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

205. Pr. ABID Ahmed*
206. Pr. AIT OUMAR Hassan
207. Pr. BENCHERIF My Zahid
208. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
209. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
210. Pr. CHAOUI Zineb
211. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
212. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
213. Pr. EL FTOUH Mustapha
214. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
215. Pr. EL OTMANY Azzedine
216. Pr. GHANNAM Rachid
217. Pr. HAMMANI Lahcen
218. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
219. Pr. ISMAILI Hassane*
220. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
221. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
222. Pr. TACHINANTE Rajae
223. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

224. Pr. AIDI Saadia
225. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
226. Pr. AJANA Fatima Zohra
227. Pr. BENAMR Said
228. Pr. BENCHEKROUN Nabiha
229. Pr. CHERTI Mohammed
230. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
231. Pr. EL HASSANI Amine
232. Pr. EL IDGHIRI Hassan
233. Pr. EL KHADER Khalid
234. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie

235. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
236. Pr. HSSAIDA Rachid*
237. Pr. LACHKAR Azzouz
238. Pr. LAHLOU Abdou
239. Pr. MAFTAH Mohamed*
240. Pr. MAHASSINI Najat
241. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
242. Pr. NASSIH Mohamed*
243. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

244. Pr. ABABOU Adil
245. Pr. AOUAD Aicha
246. Pr. BALKHI Hicham*
247. Pr. BELMEKKI Mohammed
248. Pr. BENABDELJLIL Maria
249. Pr. BENAMAR Loubna
250. Pr. BENAMOR Jouda
251. Pr. BENELBARHDADI Imane
252. Pr. BENNANI Rajae
253. Pr. BENOUACHANE Thami
254. Pr. BENYOUSSEF Khalil
255. Pr. BERRADA Rachid
256. Pr. BEZZA Ahmed*
257. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
258. Pr. BOUHOUCHE Rachida
259. Pr. BOUMDIN El Hassane*
260. Pr. CHAT Latifa
261. Pr. CHELLAOUI Mounia
262. Pr. DAALI Mustapha*
263. Pr. DRISSE Sidi Mourad*
264. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
265. Pr. EL HIJRI Ahmed
266. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
267. Pr. EL MADHI Tarik
268. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
269. Pr. EL OUNANI Mohamed
270. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
271. Pr. ETTAIR Said
272. Pr. GAZZAZ Miloudi*
273. Pr. GOURINDA Hassan
274. Pr. HRORA Abdelmalek
275. Pr. KABBAJ Saad
276. Pr. KABIRI EL Hassane*

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-physiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique

277. Pr. LAMRANI Moulay Omar
 278. Pr. LEKEHAL Brahim
 279. Pr. MAHASSIN Fattouma*
 280. Pr. MEDARHRI Jalil
 281. Pr. MIKDAME Mohammed*
 282. Pr. MOHSINE Raouf
 283. Pr. NABIL Samira
 284. Pr. NOUINI Yassine
 285. Pr. OUALIM Zouhir*
 286. Pr. SABBAH Farid
 287. Pr. SEFIANI Yasser
 288. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
 289. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Néphrologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie
 Urologie

Décembre 2002

290. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 291. Pr. AMEUR Ahmed *
 292. Pr. AMRI Rachida
 293. Pr. AOURARH Aziz*
 294. Pr. BAMOU Youssef *
 295. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 296. Pr. BENBOUAZZA Karima
 297. Pr. BENZEKRI Laila
 298. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
 299. Pr. BERNOUSSI Zakiya
 300. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
 301. Pr. CHOHO Abdelkrim *
 302. Pr. CHKIRATE Bouchra
 303. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 304. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
 305. Pr. EL BARNOUSSI Leila
 306. Pr. EL HAOURI Mohamed *
 307. Pr. EL MANSARI Omar*
 308. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
 309. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 310. Pr. HADDOUR Leila
 311. Pr. HAJJI Zakia
 312. Pr. IKEN Ali
 313. Pr. ISMAEL Farid
 314. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 315. Pr. KRIOULE Yamina
 316. Pr. LAGHMARI Mina
 317. Pr. MABROUK Hfid*
 318. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 319. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Rhumatologie
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Urologie
 Gynécologie Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie

320. Pr. MOUSTAINE My Rachid
 321. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 322. Pr. OUJILAL Abdelilah
 323. Pr. RACHID Khalid *
 324. Pr. RAISS Mohamed
 325. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 326. Pr. RHOU Hakima
 327. Pr. SIAH Samir *
 328. Pr. THIMOU Amal
 329. Pr. ZENTAR Aziz*
 330. Pr. ZRARA Ibtisam*

Traumatologie Orthopédie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES:

Janvier 2004

331. Pr. ABDELLAH El Hassan
 332. Pr. AMRANI Mariam
 333. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 334. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 335. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 336. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 337. Pr. BOULAADAS Malik
 338. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 339. Pr. CHAGAR Belkacem*
 340. Pr. CHERRADI Nadia
 341. Pr. EL FENNI Jamal*
 342. Pr. EL HANCI ZAKI
 343. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 344. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 345. Pr. HACHI Hafid
 346. Pr. JABOUIRIK Fatima
 347. Pr. KARMANE Abdelouahed
 348. Pr. KHABOUZE Samira
 349. Pr. KHARMAZ Mohamed
 350. Pr. LEZREK Mohammed*
 351. Pr. MOUGHIL Said
 352. Pr. NAOUMI Asmae*
 353. Pr. SAADI Nozha
 354. Pr. SASSENOU ISMAIL*
 355. Pr. TARIB Abdelilah*
 356. Pr. TIJAMI Fouad
 357. Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

358.

Janvier 2005

- | | |
|-------------------------------------|---|
| 359. Pr. ABBASSI Abdellah | Chirurgie Réparatrice et Plastique |
| 360. Pr. AL KANDRY Sif Eddine* | Chirurgie Générale |
| 361. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid | Microbiologie |
| 362. Pr. ALLALI Fadoua | Rhumatologie |
| 363. Pr. AMAR Yamama | Néphrologie |
| 364. Pr. AMAZOUZI Abdellah | Ophtalmologie |
| 365. Pr. AZIZ Nouredine* | Radiologie |
| 366. Pr. BAHIRI Rachid | Rhumatologie |
| 367. Pr. BARKAT Amina | Pédiatrie |
| 368. Pr. BENHALIMA Hanane | Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale |
| 369. Pr. BENHARBIT Mohamed | Ophtalmologie |
| 370. Pr. BENYASS Aatif | Cardiologie |
| 371. Pr. BERNOUSSI Abdelghani | Ophtalmologie |
| 372. Pr. BOUKLATA Salwa | Radiologie |
| 373. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed | Ophtalmologie |
| 374. Pr. DOUDOUH Abderrahim* | Biophysique |
| 375. Pr. EL HAMZAOUI Sakina | Microbiologie |
| 376. Pr. HAJJI Leila | Cardiologie |
| 377. Pr. HESSISSEN Leila | Pédiatrie |
| 378. Pr. JIDAL Mohamed* | Radiologie |
| 379. Pr. KARIM Abdelouahed | Ophtalmologie |
| 380. Pr. KENDOUSI Mohamed* | Cardiologie |
| 381. Pr. LAAROUSSI Mohamed | Chirurgie Cardio-vasculaire |
| 382. Pr. LYAGOUBI Mohammed | Parasitologie |
| 383. Pr. NIAMANE Radouane* | Rhumatologie |
| 384. Pr. RAGALA Abdelhak | Gynécologie Obstétrique |
| 385. Pr. SBIHI Souad | Histo-Embryologie Cytogénétique |
| 386. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam | Ophtalmologie |
| 387. Pr. ZERAIDI Najia | Gynécologie Obstétrique |

AVRIL 2006

- | | |
|-----------------------------------|-------------------------------|
| 423. Pr. ACHEMLAL Lahsen* | Rhumatologie |
| 424. Pr. AFIFI Yasser | Dermatologie |
| 425. Pr. AKJOUJ Said* | Radiologie |
| 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra | Dermatologie |
| 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader* | Hématologie |
| 428. Pr. BENCHEIKH Razika | O.R.L |
| 429. Pr. BIYI Abdelhamid* | Biophysique |
| 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine | Chirurgie - Pédiatrique |
| 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif* | Chirurgie Cardio – Vasculaire |
| 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes | Chirurgie Cardio – Vasculaire |
| 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas | Gynécologie Obstétrique |
| 434. Pr. DOGHMI Nawal | Cardiologie |

435. Pr. ESSAMRI Wafaa
 436. Pr. FELLAT Ibtissam
 437. Pr. FAROUDY Mamoun
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 442. Pr. JROUNDI Laila
 443. Pr. KARMOUNI Tariq
 444. Pr. KILI Amina
 445. Pr. KISRA Hassan
 446. Pr. KISRA Mounir
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 455. Pr. SEFIANI Sana
 456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
 462. Pr. BAITE Abdelouahed *
 463. Pr. TOUATI Zakia
 464. Pr. OUZZIF Ez zohra *
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine *
 466. Pr. SELKANE Chakir *
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
 469. Pr. EL ABSI Mohamed
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad *
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 473. Pr. GHARIB Noureddine
 474. Pr. TABERKANET Mustafa *
 475. Pr. ISMAILI Nadia
 476. Pr. MASRAR Azlarab

Anatomie pathologique
 Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation
 Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie
 Biochimie
 Biochimie
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie plastique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Dermatologie
 Hématologie biologique

| | |
|------------------------------|---|
| 477. Pr. RABHI Monsef * | Médecine interne |
| 478. Pr. MRABET Mustapha * | Médecine préventive santé publique et hygiène |
| 479. Pr. SEKHSOKH Yessine * | Microbiologie |
| 480. Pr. SEFFAR Myriame | Microbiologie |
| 481. Pr. LOUZI Lhoussain * | Microbiologie |
| 482. Pr. MRANI Saad * | Virologie |
| 483. Pr. GANA Rachid | Neuro chirurgie |
| 484. Pr. ICHOU Mohamed * | Oncologie médicale |
| 485. Pr. TACHFOUTI Samira | Ophtalmologie |
| 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine | Ophtalmologie |
| 487. Pr. MELLAL Zakaria | Ophtalmologie |
| 488. Pr. AMMAR Haddou * | ORL |
| 489. Pr. AOUI Sarra | Parasitologie |
| 490. Pr. TLIGUI Houssain | Parasitologie |
| 491. Pr. MOUTAJ Redouane * | Parasitologie |
| 492. Pr. ACHACHI Leila | Pneumo phtisiologie |
| 493. Pr. MARC Karima | Pneumo phtisiologie |
| 494. Pr. BENZIANE Hamid * | Pharmacie clinique |
| 495. Pr. CHERKAOUI Naoual * | Pharmacie galénique |
| 496. Pr. EL OMARI Fatima | Psychiatrie |
| 497. Pr. MAHI Mohamed * | Radiologie |
| 498. Pr. RADOUANE Bouchaib* | Radiologie |
| 499. Pr. KEBDANI Tayeb | Radiothérapie |
| 500. Pr. SIFAT Hassan * | Radiothérapie |
| 501. Pr. HADADI Khalid * | Radiothérapie |
| 502. Pr. ABIDI Khalid | Réanimation médicale |
| 503. Pr. MADANI Naoufel | Réanimation médicale |
| 504. Pr. TANANE Mansour * | Traumatologie orthopédie |
| 505. Pr. AMHAJJI Larbi * | Traumatologie orthopédie |

Mars 2009

| | |
|----------------------------|-----------------------------------|
| Pr. BJIJOU Younes | Anatomie |
| Pr. AZENDOUR Hicham * | Anesthésie Réanimation |
| Pr. BELYAMANI Lahcen* | Anesthésie Réanimation |
| Pr. BOUHSAIN Sanae * | Biochimie |
| Pr. OUKERRAJ Latifa | Cardiologie |
| Pr. LAMSAOURI Jamal * | Chimie Thérapeutique |
| Pr. MARMADE Lahcen | Chirurgie Cardio-vasculaire |
| Pr. AMAHZOUNE Brahim* | Chirurgie Cardio-vasculaire |
| Pr. AIT ALI Abdelmounaim * | Chirurgie Générale |
| Pr. BOUNAIM Ahmed * | Chirurgie Générale |
| Pr. EL MALKI Hadj Omar | Chirurgie Générale |
| Pr. MSSROURI Rahal | Chirurgie Générale |
| Pr. CHTATA Hassan Toufik * | Chirurgie Vasculaire Périphérique |
| Pr. BOUI Mohammed * | Dermatologie |

Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. DOGHMI Kamal *
 Pr. ABOUZAHIR Ali*
 Pr. ENNIBI Khalid *
 Pr. EL OUENNASS Mostapha
 Pr. ZOUHAIR Said*
 Pr. L'kassimi Hachemi*
 Pr. AKHADDAR Ali *
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
 Pr. AGADR Aomar *
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
 Pr. BASSOU Driss *
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
 Pr. KADI Said *

Gastro-entérologie
 Gynécologie obstétrique
 Hématologie biologique
 Hématologie biologique
 Hématologie clinique
 Médecine interne
 Médecine interne
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Neuro-chirurgie
 Neurologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pneumo-phtisiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Rhumatologie
 Traumatologie orthopédique
 Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. CHERRADI Ghizlan
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. KANOUNI Lamya
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. BOUSSIF Mohamed*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. RAISSOUNI Zakaria*
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. LEZREK Mounir
 Pr. NAZIH Mouna*

Médecine interne
 Gastro entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie réanimation
 Radiothérapie
 Radiologie
 Radiologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Médecine aérologique
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Chirurgie pédiatrique
 Urologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Ophtalmologie
 Hématologie

Pr. LAMALMI Najat
Pr. ZOUAIDIA Fouad
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. CHADLI Mariama*

Anatomie pathologique
Anatomie pathologique
Physiologie
Biochimie chimie
Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed
9. Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia
10. Pr. DAKKA Taoufiq
11. Pr. DRAOUI Mustapha
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen
13. Pr. ETTAIB Abdelkader
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine
17. Pr. KABBAJ Ouafae
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine
19. Pr. REDHA Ahlam
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
21. Pr. TOUATI Driss
22. Pr. ZAHIDI Ahmed
23. Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
Biochimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Applications Pharmaceutiques
Génétique Humaine
Microbiologie
Biochimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Chimie Organique
Biotechnologie
Biochimie
Biologie
Biochimie
Chimie Organique
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

* *Enseignants Militaires*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots...
Tous les mots ne sauraient formuler les phrases...
Pour exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la
reconnaissance...
Aussi, c'est tout simplement que...*



Je dédie cette Thèse... ✍️

A ma très chère mère

LAMHOUAR HALIMA

Fondatrice de mes jours, je ne saurai t'exprimer mon amour. Je te dois la vie, je te dois ce que je suis. A travers ces lignes je voudrai te rendre hommage. Toutes les phrases aussi éloquentes soit-elles ne sauraient t'exprimer mes témoignages. Tu représenteras toujours pour moi un chef d'œuvre de tendresse et de sacrifice.

Bébé, tu as veillé à mon bien être avec sensibilité ; Enfant, tu m'as appris mes premiers mots, tu as soutenu mes premiers pas, tu m'as hissé dans mes chutes ; Adolescent, tu m'as inspiré la sagesse ; Etudiant, tu as veillé à mon succès avec dévouement, tu m'as submergé avec ton affection tout au long de mon parcours.

Sur les ailes de ton affection, je me suis envolé. Aujourd'hui au bout du chemin tant attendu, je me réjouis de t'offrir le fruit de tes sacrifices. En ce jour mémorable, reçoit, chère mère, ce travail en signe de mon profond amour et ma vive reconnaissance.

Puisse DIEU le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour. Inchallah.

A mon très cher père

NAJAH Lahoussine

Il y a tant de choses à en sécher tout l'encre de ce monde mais aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et mon profond amour. Quoique je dis, je ne saurai te traduire les vagues de sentiments qui déferlent en moi. Tu représenteras toujours pour moi l'exemple vivant de persévérance, d'indulgence, de sagesse, d'honnêteté, et de fermeté. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté.

En écrivant ces quelques mots, j'ai beaucoup de souvenirs qui surviennent à l'esprit. Tu m'as tant donné. Tes conseils et tes morales ont guidé mes pas vers la réussite. Tu as su m'apporter la force qui m'a poussé à faire ce qu'il y a de mieux en moi. Tu as su m'inculquer le sens de responsabilité, d'optimisme et de confiance face aux difficultés et défaites de la vie.

Aujourd'hui, je te réalise l'un de tes rêves, je t'offre ce travail en espérant que tu sauras en trouver, cher père, le témoignage de mon grand amour et mes sincères remerciements.

Puisse DIEU, le tout puissant, t'accorder santé, quiétude de l'esprit et te préserver afin que je puisse te combler à mon tour. Inchallah.

*A mes très chères sœurs Nezha, Hanane, Rachida et
Siham*

*Votre Sympathie et vos encouragements ont constitué pour moi une aide morale
inestimable.*

*Sachez que l'amour et le respect que je porte pour vous sont uniques. Vous
êtes et vous resterez mes sœurs dont je suis fière*

*Pour toute l'ambiance dont vous m'avez entouré, pour votre spontanéité et
vos élans chaleureux, en souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les
meilleurs et les plus agréables moments. Recevez ce travail que je vous dédie
en témoignage de mon affection et mon attachement.*

*Puisse DIEU, le tout puissant, exhausser vos vœux et vous accorder une
longue et heureuse vie.*

*A mes confrères et consœurs pharmaciens et
pharmaciennes de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de
RABAT*

*Vous êtes si nombreux, vous qui m'avez marqués par votre gentillesse et
votre amabilité. Je ne vous oublierai jamais*

*En mémoire de ces quatre années de partage, je vous dédie ce travail, en
priant DIEU de réaliser tous vos rêves.*

A tous mes amis

Spécialement mes amies d'enfance et d'aujourd'hui :

*Vous serez toujours dans mon cœur. Les moments qu'on a passés ensemble
resteront gravés éternellement dans ma mémoire.*

*Je vous dédie ce travail, en mémoire de tous les instants de plaisir, de joie et
d'amitié que nous avons partagés durant toutes ces années.*

*A Madame le Doyen
Monsieur le Vice-Doyen
Tout le personnel de la Faculté de Médecine et de
Pharmacie de RABAT*

*Il vous revient le mérite de nous avoir prodigué un enseignement profitable et
une formation complète.*

A tous mes professeurs

Particulièrement :

Le Professeur Badre Eddine LMIMOUNI

*Vous nous avez humecté la mémoire de votre savoir. Tout le mérite vous
revient de nous avoir prodigué un enseignement favorable et riche en tout
attachement et en tout dévouement.*

*Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude, veuillez,
chers Professeurs, trouver dans ce travail l'expression de mon estime et de
mon profond respect.*

*A tous le personnel du Service de Parasitologie et
Mycologie médicales de L'H.M.I.M.V RABAT*

J'ai été énormément touché par votre gentillesse, disponibilité et vos qualités humaines. Votre aide et vos conseils m'étaient très précieux. Je n'oublierai pas vos encouragements qui m'ont permis d'avoir confiance en moi et de mener à bien mon travail. L'ambiance que vous créez au sein du laboratoire rend le travail au laboratoire un vrai plaisir.

*A tous les Internes et Résidants et les étudiants en
Master Biologie*

Qui ont participé à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.

*A tous les êtres, qui sur cette terre, cherchent à accomplir la mission,
le rêve, l'ambition... De veiller sur la santé et le bien être de chacun.*

*A tous ceux qui s'engagent ardemment à répondre aux besoins des
êtres humains, de les soulager et de leur procurer une vie meilleure.*

À tous les collègues, d'hier et de demain qui tiendront ce travail entre leurs mains. J'espère que vous y trouverez l'aide que vous cherchez.

À tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

Dans le regret de ne pouvoir tous citer, je dédis ce travail à toute personne qui a contribué de près ou de loin à sa réalisation.

Puisse Dieu faire de cet humble travail un apport, ne serait-ce que minime dans l'océan du savoir.



REMERCIEMENT

A notre Maître et Président de Thèse,

Monsieur Le Pharmacien

YAHYA BENSOUDA

Professeur de Pharmacie Galénique



*Nous sommes très sensibles à l'hommage que vous nous faites en acceptant la
présidence de notre jury de thèse.*

*C'est un grand honneur pour nous que notre travail soit jugé par le grand
Maître de Pharmacie Galénique que vous êtes.*

*Vos qualités humaines et professionnelles jointes à votre compétence seront
pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de notre profession.*

*Nous tenons à vous remercier pour les conseils que vous nous avez accordé
toute au long du cursus ainsi que pour la qualité des cours que vous nous
avez disposés toujours aussi clairs.*

*Veillez croire à l'expression de notre grande admiration et notre profond
respect.*

*A notre Maître et Rapporteur de Thèse,
Monsieur Le Pharmacien Commandant
BADRE EDDINE LMIMOUNI
Professeur de Parasitologie - Mycologie
Chef de service du laboratoire Parasitologie – Mycologie
de l'HMIMV*



Votre cordialité, votre gentillesse, et votre compréhension nous ont profondément marquées, mais l'une des choses que nous retiendrons de vous est votre écoute. Vous étiez toujours là attentionné et attentif à nos soucis.

Vos directives nous ont permis d'aller de l'avant dans la réalisation de ce travail, vous vous y êtes impliqués par vos instructions, vos remarques, mais aussi par vos encouragements dans les moments clés de son élaboration.

Nous tenons à vous remercier aussi pour cette liberté que vous nous avez permise, votre manière de penser et de procéder, votre manière d'être, bref toute votre personnalité.

Vous êtes un grand, plus qu'un professeur à mes yeux, je vous respecte énormément...

*A notre Maître et Juge de Thèse,
Monsieur Le Pharmacien Lieutenant Colonel
IDRISS LAHLOU AMINE
Professeur de Microbiologie*



Nous vous sommes très reconnaissants de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Vous avez l'amabilité de discuter avec nous certains points clés de notre analyse, vos remarques pertinentes contribueront sans doute au perfectionnement du présent travail.

Jamais nous n'oublierons le professionnalisme dont vous avez fait preuve lors des cours de Microbiologie.

Certes, votre sérieux, vos qualités humaines et professionnelles seront un exemple pour nous dans l'exercice de notre profession.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance et notre grand estime.

Monsieur Le Pharmacien Commandant

REDOUANE MOUJAJ

Professeur de Parasitologie



Nous vous sommes très reconnaissants de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Vos remarques pertinentes contribueront sans doute au perfectionnement du présent travail.

Votre compétence, votre dynamique, votre rigueur et vos qualités humaines et professionnelles ont suscité en nous une grande admiration et un profond respect.

Veillez accepter, Monsieur, l'assurance de notre estime et profond respect.

*A notre Maître et Juge de Thèse,
Monsieur Le Pharmacien Commandant
JAMAL LAMSAOUIRI
Professeur agrégé de Chimie Thérapeutique*



*Nous vous sommes très reconnaissants de l'honneur que vous nous faites en
acceptant de juger ce travail.*

*Jamais nous n'oublierons le professionnalisme dont vous avez fait preuve
lors des cours de chimie thérapeutique.*

*Certes, votre sérieux, vos qualités humaines et professionnelles seront un
exemple pour nous dans l'exercice de notre profession.*

*Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance et notre grand
estime.*



SOMMAIRE

Sommaire

| | |
|---|-----------|
| I. INTRODUCTION..... | 2 |
| II. MATERIELS ET METHODE..... | 6 |
| II.1 Type, Lieu et période de l'étude..... | 6 |
| II.2 Critères d'inclusion..... | 6 |
| II.3 Méthodologie..... | 6 |
| III. RESULTATS..... | 16 |
| III.1 Répartition des espèces isolées..... | 17 |
| III.2 Sensibilité in vitro au fluconazole des espèces isolées..... | 18 |
| III.3 Résistance selon les sites de prélèvement..... | 19 |
| III.4 Résistance selon les espèces..... | 23 |
| IV. DISCUSSION | 26 |
| IV.1. Rappel mycologique et physiopathologique | 26 |
| IV.1.1 Agent pathogène..... | 26 |
| 1. Description..... | 26 |
| 2. Caractéristiques des principales espèces de <i>Candida</i> | 27 |
| IV.1.2 Candidémies et Aspects..... | 30 |
| 1. Aspects cliniques..... | 30 |
| 2. Physiopathologie..... | 31 |
| 3. Les facteurs de risques d'infections candidosiques..... | 32 |
| IV.2 Antifongiques | 32 |
| IV.2.1. Antifongiques azolés | 33 |
| 1. Historique, structure et pharmacologie | 33 |
| 2. Mécanisme d'action | 36 |
| IV.2.2. Fluconazole..... | 38 |

| | |
|--|----|
| IV.2.3. Etude de la sensibilité in vitro aux antifongiques | 52 |
| 1. Indications et objectifs | 52 |
| 2. Techniques d'antifongigramme..... | 55 |
| 2.1. Techniques de références..... | 55 |
| 2.2. Techniques de routine..... | 56 |
| 2.2.1. Techniques qualitatives..... | 57 |
| a. Techniques qualitatives en milieu liquide ou semi-gélosé.... | 57 |
| b. Techniques qualitatives en milieu gélosé..... | 58 |
| 2.2.2. Techniques quantitatives de mesure de CMI | 59 |
| a. Techniques quantitatives en milieu liquide ou semi-gélosé... | 59 |
| b. Techniques quantitatives en milieu gélosé E-test®..... | 60 |
| 2.3. Choix de la technique | 62 |
| 3. Interprétation des résultats..... | 63 |
| 4. Corrélation in vitro/ in vivo | 65 |
| 4.1.Particularité de la bonne corrélation in vitro/ in vivo..... | 65 |
| 4.2. Problème de mauvaise corrélation in vitro/ in vivo..... | 66 |
| 4.3. Facteurs compliquant la corrélation in vitro/in vivo | 67 |
| 5. Complexité de la standardisation des techniques d'évaluation de sensibilité des antifongiques in vitro..... | 69 |
| IV.3. Les résistances | 71 |
| IV.3.1. Résistances aux antifongiques..... | 71 |
| 1. Définition | 71 |
| 2. Types de résistances | 71 |
| 3. Les causes de résistance aux antifongiques..... | 72 |
| IV.3.2 Mécanismes de résistance aux antifongiques azolés..... | 73 |
| 1. Diminution de l'affinité des azolés pour la cible..... | 74 |

| | |
|---|------------|
| 2. Multiplication du nombre de copies de la 14 α déméthylase..... | 74 |
| 3. Blocage de la voie de biosynthèse de l'ergostérol..... | 74 |
| 4. Surexpression des pompes d'efflux..... | 74 |
| IV.4. Données épidémiologiques..... | 77 |
| IV.4.1 Epidémiologie des résistances de <i>Candida</i> aux antifongiques...77 | |
| 1. Résistances aux azolés chez les patients VIH ⁺ | 78 |
| 2. Résistance aux Fluconazole..... | 81 |
| 3. Résistance croisée aux azolés chez <i>Candida glabrata</i> | 82 |
| IV.4.2 Facteurs de risque d'émergence des résistances aux antifongiques..... | 86 |
| IV.4.3 Evolution de l'épidémiologie des résistances..... | 87 |
| 1. Intérêt de la surveillance..... | 87 |
| 2. Evolution de l'épidémiologie des résistances..... | 88 |
| V. CONCLUSION..... | 100 |
| RESUME..... | 104 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 107 |



INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Au cours de ces 20 dernières années, l'incidence des infections fongiques, tant superficielle que profondes, a augmenté de façon considérable jusqu'à devenir un problème de santé publique. En effet, si les maladies et les traitements ont évolué, les champignons impliqués dans les pathologies se sont, eux aussi, diversifiés ^[42]. La cause principale de cette croissance et diversification réside dans l'augmentation considérable des facteurs de risques et plus particulièrement du nombre croissant de patients à risque immunodéprimés liés au virus du sida, aux avancés en transplantation et en oncologie, à l'utilisation de cathéters vasculaires et au recours fréquent à des antibiothérapies ^[6].

Ces infections fongiques invasives sont déterminées essentiellement par deux types de micro-organismes, les champignons filamenteux et les levures. Parmi ces dernières, le genre *Candida* est de loin le plus représenté. Selon le Nosocomial Infection Surveillance System (NNISS), *Candida sp* est responsable de 85,6 % des infections fongiques nosocomiales dont 76 % sont causées par *C.albicans* ^[8]. La mortalité des candidémies reste assez élevée, liée essentiellement à un diagnostic trop tardif. La symptomatologie est en effet peu spécifique, et se résume le plus souvent en une fièvre qui persiste, malgré une antibiothérapie prolongée à large spectre. *Candida albicans* est la première espèce en fréquence, suivie de *C. glabrata*, espèce émergente plus souvent isolée chez des patients ayant préalablement reçu des antifongiques azolés ^[60]. Par ailleurs, l'augmentation de la fréquence des infections à levures s'est également accompagnée d'une augmentation de l'incidence de certaines espèces auparavant peu représentées entraînant une modification de leur distribution. De nouvelles espèces de *Candida* sont de plus en plus souvent incriminées comme *C.tropicalis*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, *C.guilliermondii*, *C. krusei* et *C.lusitaniae* ^[8]. Elles ont parfois une virulence moindre que *C.albicans* mais leur sensibilité aux antifongiques est diminuée ^[8,126]. Les candidoses systémiques constituent, aujourd'hui, une menace majeure en termes de morbidité et de mortalité ^[21,126]. Le taux élevé de mortalité varie de 40 % à

60% chez les patients immunodéprimés. Cette mortalité est due en partie à la difficulté d'établissement d'un diagnostic rapide et spécifique, devant une présentation clinique paucisymptomatique qui retarde la mise en route du traitement [22], mais aussi aux moyens thérapeutiques eux-mêmes. Bien que l'apparition de nouvelles molécules performantes ait considérablement étoffé l'arsenal thérapeutique disponible, la difficulté thérapeutique s'illustre par un nombre limité d'antifongiques systémiques pour satisfaire aux critères de toxicité chez le patient. Après le kétoconazole, premier dérivé azolé systémique disponible par voie orale, puis le fluconazole et l'itraconazole, le voriconazole, le posaconazole et le ravuconazole représentent les trois derniers-nés de cette grande famille d'azolés. Ces trois dérivés ont en commun un spectre élargi à toutes les espèces *Candida* et à de nombreux champignons filamenteux dont les *Aspergillus*, couvrant ainsi la grande majorité des espèces pathogènes. L'introduction sur le marché de nouvelles molécules constitue un réel espoir et une alternative intéressante dans le traitement des infections fongiques invasives, surtout que l'émergence de résistances aux molécules déjà disponible comme le fluconazole rendent aléatoire l'efficacité du traitement.

Avec l'utilisation intensive des antifongiques, des résistances sont apparues. Depuis quelques années, des espèces fongiques naturellement peu sensibles à certains antifongiques ont émergées [66, 72, 102]. Certaines souches naturellement sensibles ont acquis des résistances [69, 89, 115]. Des résistances au fluconazole sont apparus [128,129], notamment dans les candidoses oropharyngées récidivantes des patients infectés par le Virus de l'immunodéficience Humaine (VIH) et traités par le fluconazole [130].de plus, des résistances croisées vis-à-vis de l'ensemble des antifongiques triazolés ont été décrites pour *C.albicans* et *C. tropicalis* aux USA [76,131]. Aussi *C.glabrata*, considérée comme moins virulente que *C.albicans* présente une difficulté thérapeutique particulière car elle peut être intrinsèquement résistante aux antifongiques triazolés ou peut acquérir cette résistance après des périodes relativement courtes d'exposition à ces médicaments [109].

Ce phénomène a évidemment soulevé un intérêt grandissant pour la mise en œuvre de tests de détermination de la sensibilité des levures in vitro dans le but d'identifier l'antifongique de choix pour traiter une infection fongique donnée.

Parallèlement, un certain nombre de méthodes, commercialisées ou non, permettant d'évaluer le taux de résistance in vitro des champignons aux antifongiques ont été développées ^[132].

A la lumière de ces éléments, il s'est avéré intéressant de mettre en place une étude de surveillance des résistances aux antifongiques dans les services de Réanimation des hôpitaux universitaires de Rabat (HMIMV et HIS). Cette étude nous permettra de mieux cerner le profil de résistance des souches de *Candida* aux différents antifongiques systémiques, notamment le fluconazole. Surtout que ces données en Afrique et plus précisément au Maroc ne sont pas disponibles.

Ainsi les objectifs de notre étude sont :

- ✦ D'établir le profil de résistance phénotypique au fluconazole des souches de *Candida* isolées du CHU de Rabat.
- ✦ D'évaluer le taux de résistance au fluconazole des souches de *Candida* isolées du CHU de Rabat.

Ces objectifs nous permettront de générer des informations épidémiologiques concernant la prescription de cet antifongique.



***MATERIEL ET
METHODES***

II. MATERIELS ET METHODES

II.1 Type, lieu et période de l'étude :

Il s'agit d'une étude prospective qui s'est déroulée au sein du service de parasitologie/ mycologie à l'HMIMV sur une durée de 3 mois (Décembre 2011 - Mars 2012).

II.2 critères d'inclusion :

Toutes les souches de *Candida* isolées dans les services de réanimation du CHU de Rabat ; à partir d'une hémoculture ou d'un site corporel périphérique.

II.3 Méthodologie :

1. Prélèvement :

- **Hémoculture** : le sang estensemencé directement sur un milieu de culture Mycosis. le volume du sang est de 10 ml.
- **Sites périphériques** : sont utilisés pour la détermination de l'index de colonisation. Les prélèvements à pratiquer sont : l'écouvillonnage anal, endobuccal, nasal, vaginal, auriculaire, axillaire et le prélèvement urinaire.

2. Culture et identification :

- **Hémoculture** : la culture se fait dans des flacons Mycosis-IC/F (Fig.1) servant pour l'hémoculture aérobie. Ils sont principalement utilisés avec les appareils BACTEC (Fig. 2). L'échantillon sanguin à analyser estensemencé dans un ou plusieurs flacons qui sont placés ensuite dans l'appareil BACTEC de la série à fluorescence pour incubation et lecture périodique. Chaque flacon contient un capteur chimique qui peut détecter l'augmentation de la teneur en CO₂ produit par la croissance de microorganismes. le capteur est lu par l'appareil toute les 10 min avec recherche d'augmentation de sa fluorescence qui est proportionnelle à la quantité du CO₂ présent. Une lecture positive se

traduisant par un signal sonore indique une présence possible de microorganismes viables dans le flacon. A partir du flacon positif, l'échantillon est ensuite ensemencé sur milieu chromogène Candi select 4®. Il s'agit d'un milieu de primo-isolement permettant l'isolement et l'identification directe de *C.albicans*, espèce de *Candida* la plus fréquemment isolée, ainsi que l'identification présomptive de *C.tropicalis*, *C.glabrata* et *C.krusei*. la lecture est effectuée après une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

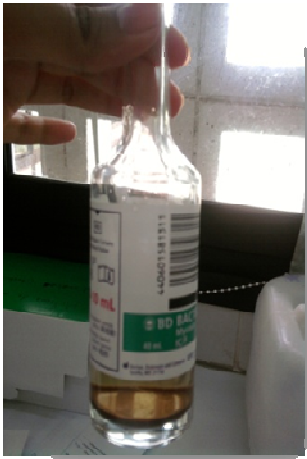


Figure 1 : flacon d'hémoculture



Figure 2 : Photo BACTEC

Source : laboratoire de parasitologie/mycologie HMIMV

➤ Sites périphériques :

L'ensemencement des écouvillons ayant servi aux prélèvements se fait sur milieu chromogène Candiselect 4 (Fig. 3). La lecture est effectuée après une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

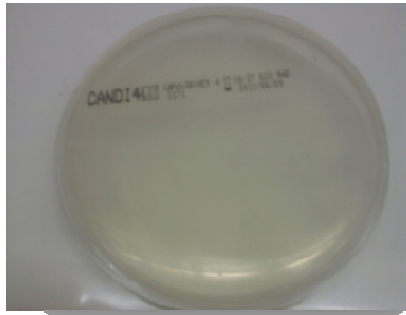


Figure 3 : photo de boîte du milieu chromogène Candiselect 4, **Source** : laboratoire de parasitologie/mycologie HMIMV

3. Lecture des résultats :

L'identification de *Candida albicans* se fait directement à la couleur de la colonie (fig. 4), pour les autres levures, des examens complémentaires sont nécessaires pour identifier l'espèce en cause. Elle se fait comme suit :

Colonies de couleur rose à violet → *C. albicans* (Figure a)

Colonies turquoise, brillantes, plates à contours réguliers – morphotype lisse (S) → *C. glabrata* (Figure b) → RTT Glabrata

Colonies turquoise très intenses, bombés, à contours réguliers – morphotype lisse (S) → *C. tropicalis*

Colonies turquoise, d'aspect sec, à contours réguliers – morphotype rugueux (R) → *C. Krusei* → Krusei Color

Colonies blanches (figure c) → autres espèces de levures → galerie biochimique d'identification API 20C AUX®.

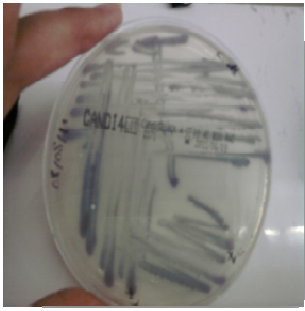


Figure a: Colonies de *Candida albicans*

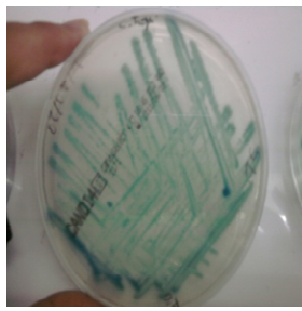


Figure b: Colonies de *Candida glabrata*



Figure c: Colonies de *Candida* sp

Figure 4: Aspect et couleur des colonies de quelques espèces *Candida* dans le milieu chromogène. **Source :** laboratoire parasitologie/ mycologie HMIMV

4. Antifongigramme : profil de résistance phénotypique

Le but de l'antifongigramme est de déterminer la Concentration Minimum Inhibitrice (CMI) d'une souche fongique vis-à-vis de divers antifongiques pour détecter une éventuelle résistance. Par définition, la CMI est la plus faible concentration d'antifongique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une souche donnée après une certaine période d'incubation.

Dans notre étude, sur les espèces isolées et identifiées, un antifongigramme est réalisé afin d'évaluer le taux de résistance des espèces *Candida* retrouvées dans les prélèvements aux médicaments antifongiques par interprétation des valeurs de CMI obtenues. Notre démarche d'antifongigramme est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé des disques.

Intérêt clinique : les disques d'antifongigramme permettent de déterminer la sensibilité des levures de genre *Candida* aux agents antifongiques par une méthode de diffusion en milieu gélosé. Cette méthode suit une procédure standardisée publiée par le CLSI/NCCLS. Dans notre travail nous nous sommes

limités à l'étude du Fluconazole. Les autres antifongiques font l'objet également d'autres travaux.

Principe : Des disques de papier imprégnés avec une concentration déterminée d'antifongique sont déposés à la surface du milieu MHGBM (Muller-Hinton (fig. 5) + 2% de glucose + 0,5 µg/ml de bleu de méthylène) préalablement ensemencé avec un inoculum calibré, préparé à partir d'une culture pure de la levure à tester. Un gradient de concentration d'antifongique s'établit autour des disques dans la gélose. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition observées autour des disques permet de déduire les concentrations minimum inhibitrices (CMI) de l'antifongique testé pour la souche testée et la catégorisation clinique : Résistant (R), Sensible Dose dépendant (SDD), Sensible (S).



Figure 5 : Flacons du milieu Muller Hinton, **Source :** laboratoire de parasitologie/mycologie HMIMV

Nature du disque : les disques fabriqués à partir de papier absorbant de qualité supérieure ont 6,5 mm de diamètre et sont imprégnés d'antifongiques à des concentrations précises.

Ces disques sont clairement identifiés par un symbole comportant 3 lettres, suivi de la charge exprimée en µg, imprimé de chaque côté du disque.

Les disques Bio-Rad sont présentés en cartouche de 50 disques (fig. 6) conditionnés en containers étanches contenant un déshydratant.



Figure 6: Cartouches des disques d'antifongiques

Source : laboratoire de parasitologie/mycologie HMIMV

Tableau 1 : caractéristique du disque du Fluconazole

| | Charge du disque | Symbole | Conditionnement |
|--------------------|-------------------------|----------------|------------------------|
| Fluconazole | 25µg | FLU 25 | 1x50 disques |

Mode opératoire : Le révérenciel M44-A du CLSI/NCCLS recommande l'utilisation du milieu MHGBM : Muller-Hinton avec 2% de glucose et 0,5 µ/ml de bleu de méthylène). Après avoir préparé ce milieu de culture, nous versons 25 ml dans une boîte de pétri ronde de diamètre de 90 mm. Après solidification, nous laissons sécher 15 minutes à 37 °C avant utilisation.

L'inoculum standardisé à 0,5 McFarland est préparé à partir d'une culture pure de 24 heures, de levure de genre *Candida*, obtenue sur un milieu d'isolement (Sabouraud Chloramphénicol). Pour ce fait, l'équivalent de 5 colonies bien isolées de 1mm de diamètre sont mises en suspension dans du sérum physiologique stérile. Après homogénéisation au vortex de la suspension ainsi préparée, l'opacité est ajustée à 0,5 Mcfarland, soit par addition de sérum physiologique soit par ajout de colonies supplémentaires.

Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de l'inoculum à 0,5 Mcfarland, on plonge un écouvillon de coton dans la suspension et on tourne plusieurs fois. L'excès de liquide est éliminé en pressant fortement l'écouvillon contre la paroi du tube au dessus du niveau du liquide. Après séchage du milieu 15 minutes à 37 °C, la totalité de la surface estensemencée à l'aide de l'écouvillon de coton selon la méthode standard. On répète l'écouvillonnage plusieurs fois en tournant la boîte de 60 °, de manière à s'assurer de l'homogénéité de la répartition de l'inoculum sur toute la surface, y compris sur les bords (fig. 7).

La boîteensemencée est laissée ouverte pendant 3 à 5 minutes (sans dépasser 15 minutes) de manière à laisser absorber l'excès de l'humidité avant de déposer les disques sur le milieu.

Après application des disques d'antifongiques, la boîte est incubée à 35 +/- 2°C dans un délai de 15 minutes. La durée d'incubation est de 24 h à 48h.

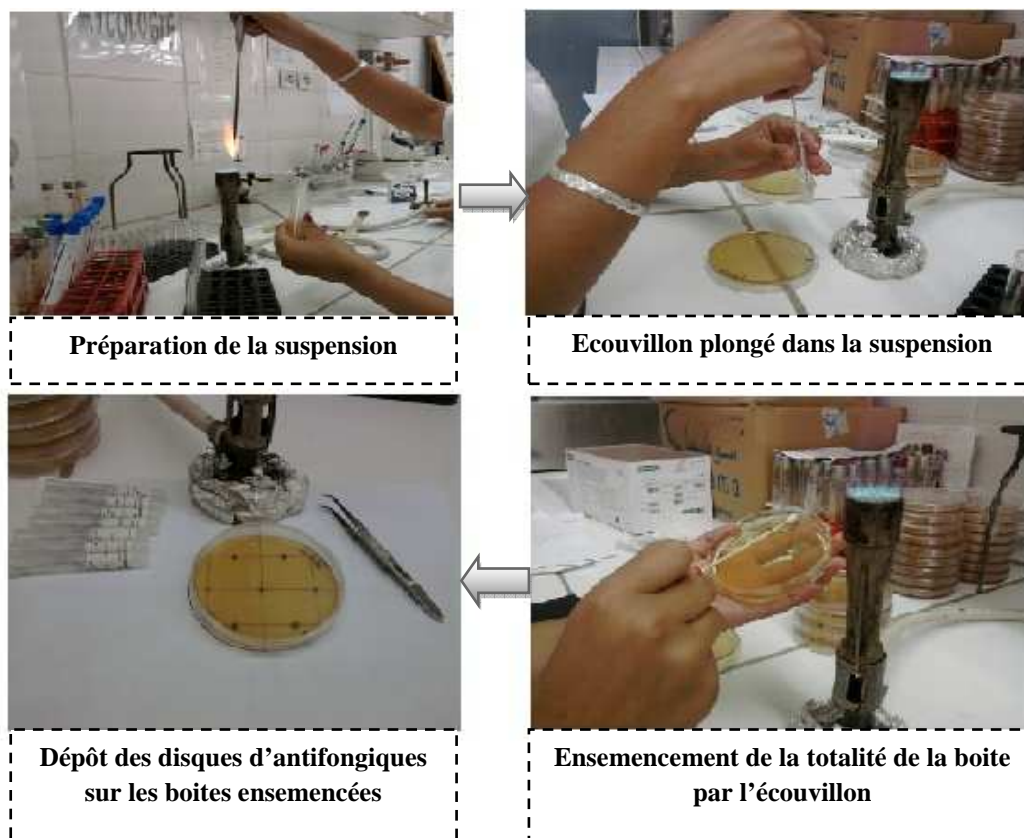


Figure 7: Ensemencement de l'antifongigramme et dépôt des disques des antifongiques

Source : laboratoire de parasitologie/mycologie HMIMV

Lecture et interprétation : les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après 24 heures d'incubation. Pour cela, on place la boîte sur un fond noir non réfléchissant et on effectue la lecture sous une lampe. Si la culture est insuffisante après 24heures d'incubation, la boîte est ré incubé 24heures supplémentaires avant d'effectuer la lecture à 48 heures.

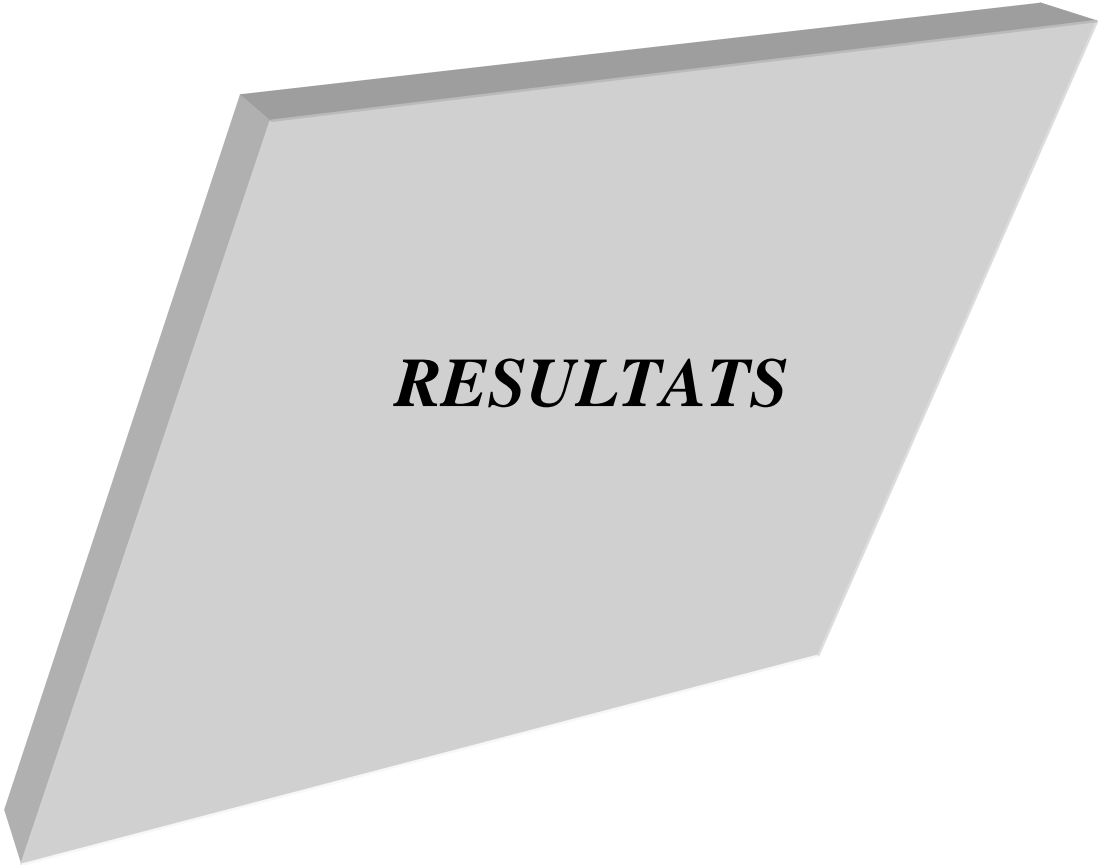
Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés jusqu'aux colonies de tailles normales. En effet, il est possible d'observer sur les bords des zones d'inhibition, une inhibition partielle de la culture avec la présence de colonies de petite et de moyenne taille. Ces colonies ne correspondent pas à des mutants

résistants et ne doivent pas être prises en compte pour la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision. La correspondance diamètre, concentration minimum inhibitrice (CMI) et catégorisation clinique est résumée dans le tableau suivant :

Tableau 2 : interprétation des résultats de l'antifongogramme

| Disque | Charge | Symbole | Diamètre de la zone d'inhibition en mm | | | Concentration minimum inhibitrice CMI en µg/ml | | |
|--------------------|--------|---------|--|-------|------|--|-------|-----|
| | | | R | SDD | S | R | SDD | S |
| Fluconazole | 25µg | FLU 25 | < 14 | 15-18 | > 19 | > 64 | 16-32 | < 8 |



III. RESULTATS

Durant la période de l'étude, 68 souches de *Candida* sp sont isolées. Quinze (15) souches à partir des prélèvements provenant du service de réanimation médical de l'Hôpital IBN SINA alors que 53 souches sont isolées à partir des prélèvements récupérés du Service de réanimation de l'HMIMV de Rabat. L'ensemble de ces prélèvements proviennent des sites périphériques : (buccal, nasal, vaginal, rectal, urinaire...).

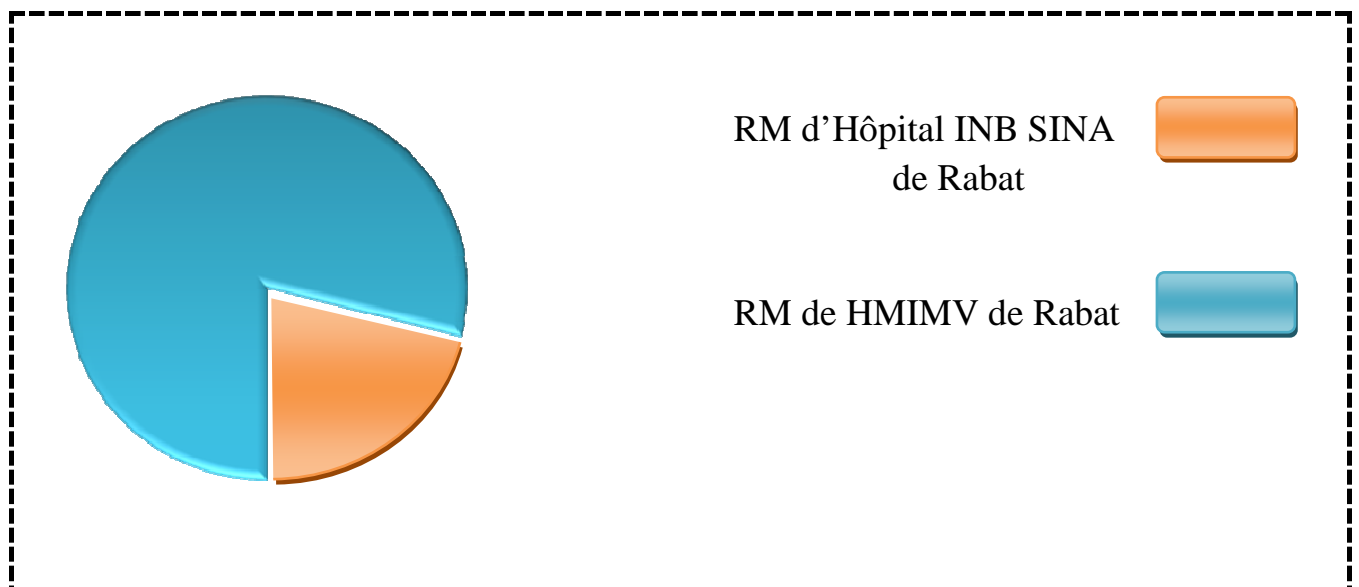


Figure 8 : Origines des prélèvements effectués

III.1 Répartition des espèces isolées :

La répartition des espèces montre une prédominance de *Candida non albicans* (46 souches) par rapport à *Candida albicans*.

Tableau 3 : pourcentage de *Candida albicans* et *non albicans* isolés

| Espèces | Nombre | Pourcentage |
|-----------------------------|--------|-------------|
| <i>Candida albicans</i> | 22 | 32,35 % |
| <i>Candida non albicans</i> | 46 | 67,65 % |
| Total | 68 | 100% |

Au total, 4 espèces différentes de *Candida* sont isolées. *Candida albicans* (22 souches) et *Candida glabrata* (23 souches) sont les deux espèces majoritaires. La répartition globale des souches isolées est retrouvée dans le tableau suivant :

Tableau 4 : répartition des différentes espèces de *Candida* isolées

| Espèces | Nombre | Pourcentage |
|---------------------------|--------|-------------|
| <i>Candida glabrata</i> | 23 | 33,82% |
| <i>Candida albicans</i> | 22 | 32,35 % |
| <i>Candida krusei</i> | 8 | 11,77% |
| <i>Candida tropicalis</i> | 7 | 10,29% |
| <i>Candida sp.</i> | 8 | 11,77% |
| Total | 68 | 100% |

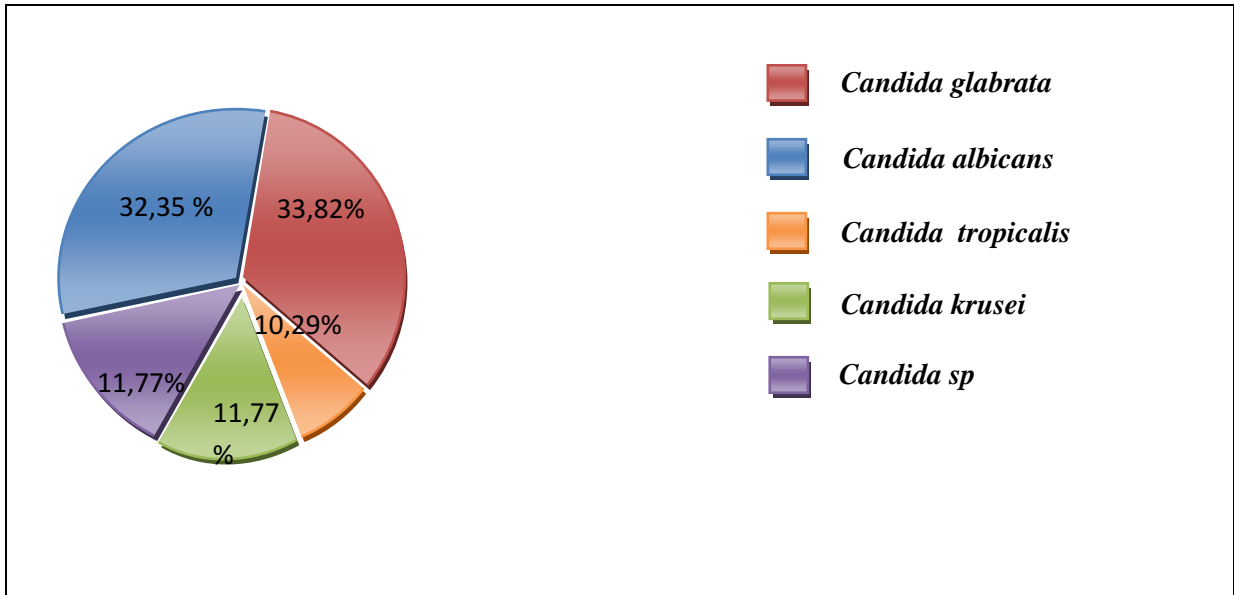


Figure 9 : répartition des différentes espèces de *Candida* isolées

III.2 Sensibilité in vitro au Fluconazole des espèces isolées :

Les souches provenant des différents sites périphériques prélevés sont pour la plupart résistantes au Fluconazole avec un pourcentage dépassant les 70 %. Les pourcentages des souches entrant dans chaque catégorie (S, SDD, R) sont : 20,59 %, 8,82 %, 70,59%.

Tableau 5 : Pourcentage des souches entrant dans chaque catégorie (Sensibles, Sensible dose dépendante, Résistant) pour l'ensemble des souches isolées

| Catégorie clinique | Nombre | Pourcentage |
|--------------------|-----------|--------------|
| Sensibles | 14 | 20,59 % |
| SDD | 6 | 8,82 % |
| Résistants | 48 | 70,59 % |
| Total | 68 | 100 % |

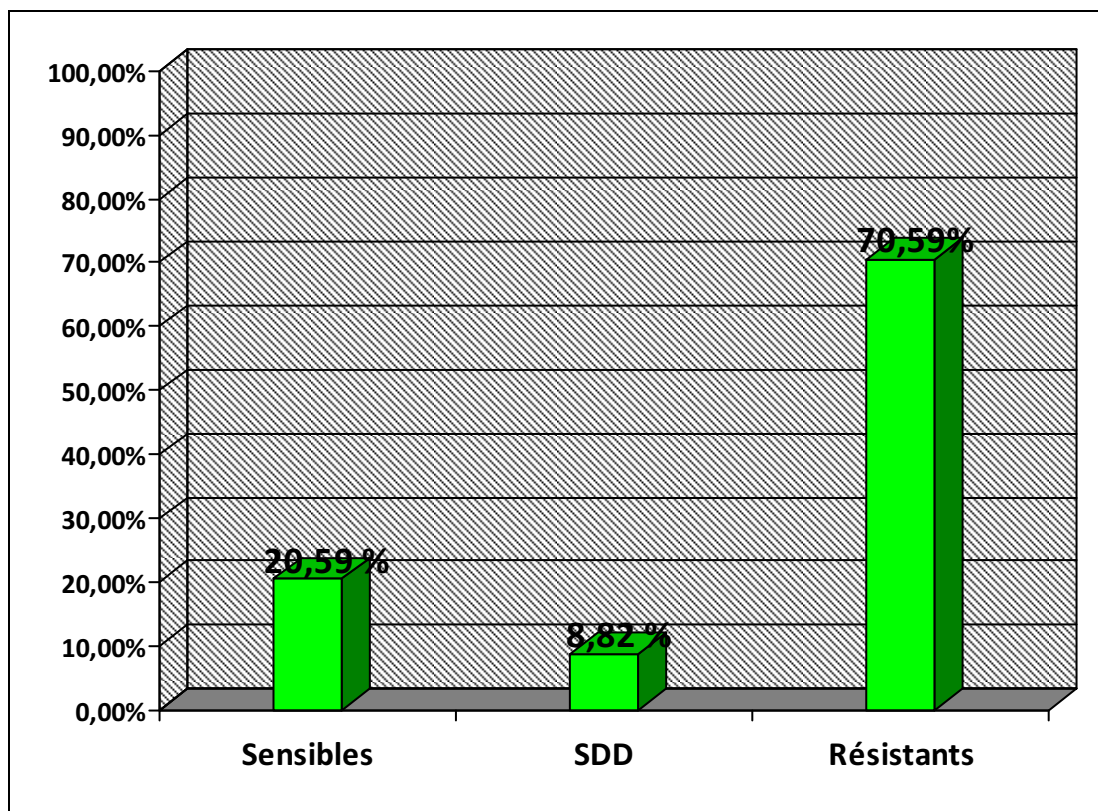


Figure 10 : taux de résistance des souches de Candida isolées de l'ensemble des prélèvements

III.3 Résistance selon les sites de prélèvements :

➤ Buccal :

Des 34 Souches isolées du site buccal, 21 sont résistantes au Fluconazole tandis que 8 sont sensibles et 5 SDD.

Tableau 6 : Nombres et pourcentages des souches de Candida isolées du site Buccal

| | Nombre | Pourcentage |
|--------------------|---------------|--------------------|
| Résistantes | 21 | 61,77% |
| SDD | 5 | 14,71% |
| Sensibles | 8 | 23,53% |
| Totale | 34 | 100 % |

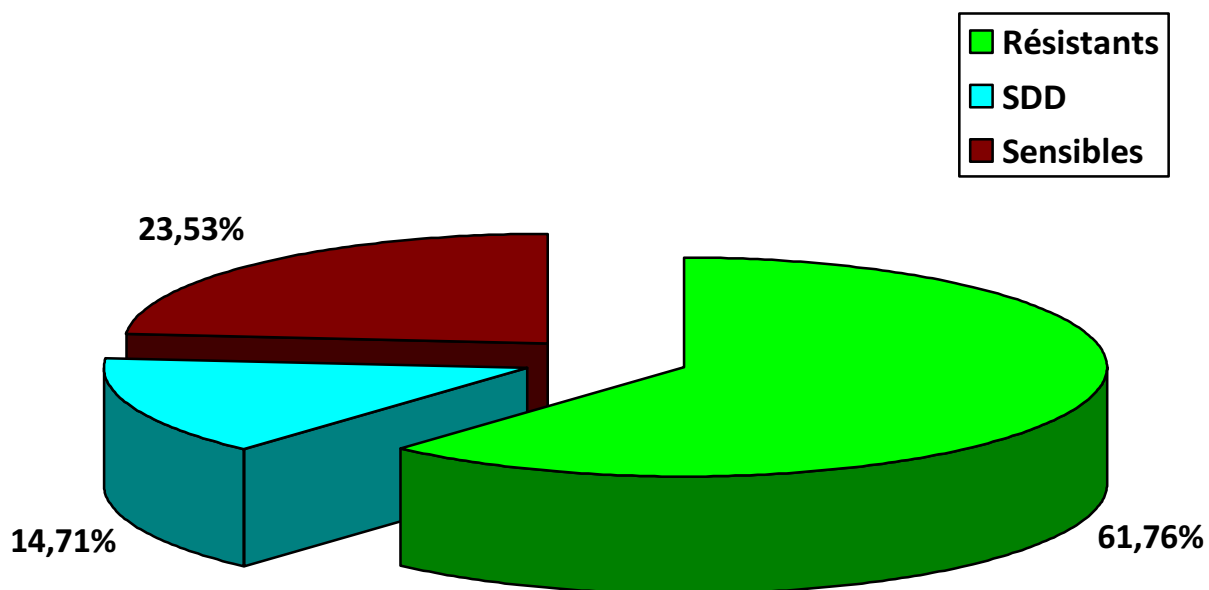


Figure 11 : Répartition clinique des souches de *Candida* isolées du site buccal

➤ **Site nasal :**

Les 9 souches isolées sont résistantes, aucune souche n'est sensible.

Tableau 7 : répartition en pourcentage des souches *Candida* isolées du site nasal

| | Nombre | Pourcentage |
|--------------------|----------|--------------|
| Résistantes | 9 | 100 |
| SDD | 0 | 0 |
| Sensibles | 0 | 0 |
| Total | 9 | 100 % |

➤ **Urines :**

Des 8 souches isolées des urines, 7 sont résistantes, 1 SDD. Aucune souche n'est sensible.

Tableau 8 : Nombres et pourcentages des souches de *Candida* isolées des urines

| | Nombre | Pourcentage |
|-------------------|---------------|--------------------|
| Sensible | 0 | 0 % |
| SDD | 1 | 12,5 % |
| Résistants | 7 | 87,5 % |
| Total | 8 | 100 % |

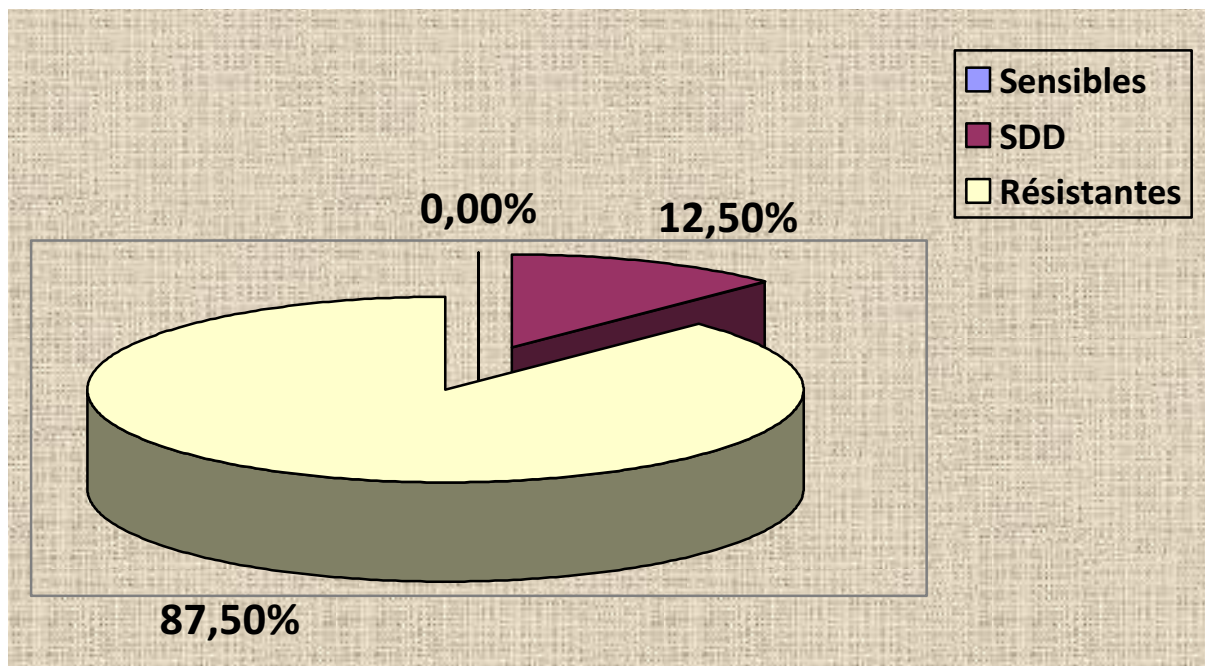


Figure 12 : taux de sensibilité des souches de *Candida* isolées des urines

- **Autres sites périphériques :**

Pour les autres sites périphériques prélevés (auriculaire, anal, vaginal, ...etc), le nombre de souches sensible, SDD, résistantes est représenté dans la figure 13.

Les deux souches isolées chacune des sites auriculaire et vaginal sont résistantes, tandis que dans les 11 souches isolées du site Anal, 6 sont résistantes, 5 Sensibles et aucune souche SDD.

Tableau 9 : la répartition clinique des différentes souches isolées :

| Sites | Auriculaire | | | Anal | | | Axillaire | | | Vaginal | | |
|----------------------|-------------|-----|---|------|-----|---|-----------|-----|---|---------|-----|---|
| Catégories cliniques | S | SDD | R | S | SDD | R | S | SDD | R | S | SDD | R |
| Nombre de souches | 0 | 0 | 1 | 5 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

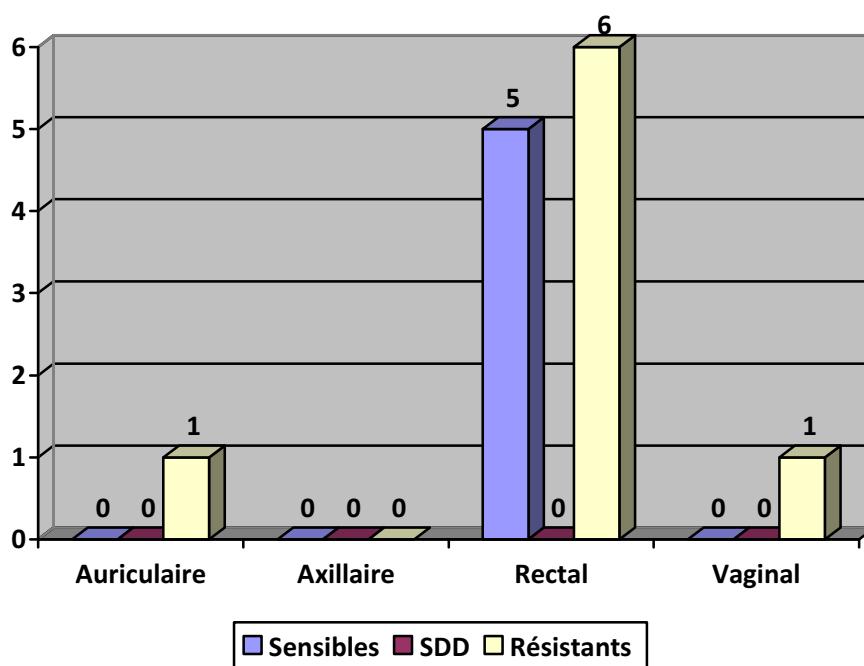


Figure 13 : répartition en catégories cliniques des souches de *Candida* isolées des sites Auriculaire, Axillaire, Rectal et Vaginal

III.4 Résistance selon les espèces :

Tableau 10 : taux de résistance au Fluconazole des différentes espèces de *Candida* provenant des sites périphériques :

| Espèces | Nombre | Catégories cliniques | | | | | |
|---------------------------|--------|----------------------|-------|-----|-------|------------|-------|
| | | Sensibles | | SDD | | Résistants | |
| | | N | % | N | % | N | % |
| <i>Candida albicans</i> | 22 | 5 | 22,73 | 2 | 9,08 | 15 | 68,19 |
| <i>Candida glabrata</i> | 23 | 4 | 17,38 | 1 | 4,37 | 18 | 78,25 |
| <i>Candida krusei</i> | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 100 |
| <i>Candida tropicalis</i> | 7 | 4 | 57,14 | 1 | 14,29 | 2 | 28,57 |
| <i>Candida sp</i> | 8 | 0 | 0 | 2 | 25 | 6 | 75 |

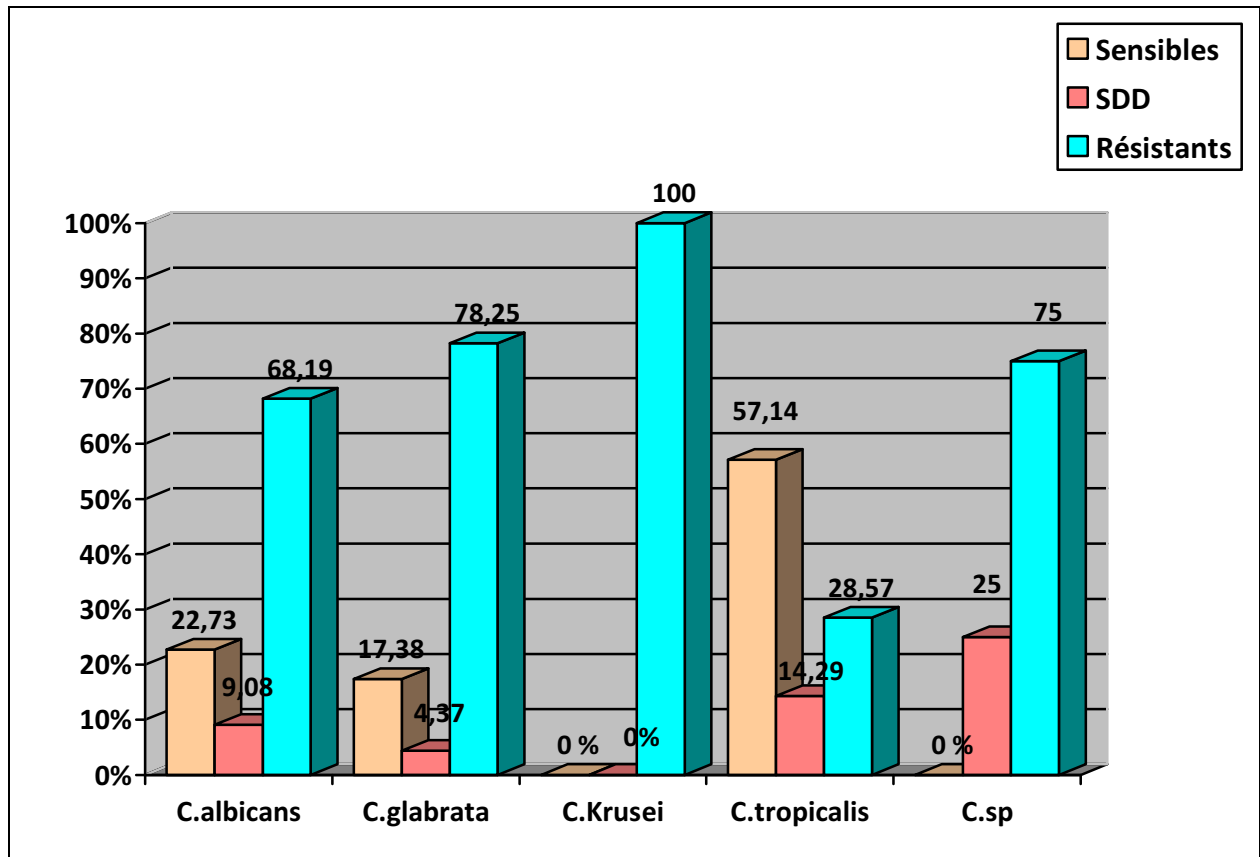


Figure 14 : Taux de résistance au Fluconazole des différentes espèces de *Candida* provenant des sites périphériques

Selon la figure 14 le taux de résistance au Fluconazole est significativement important pour l'ensemble des espèces. Il est plus élevé pour les souches de *Candida krusei* (taux de résistance = 100%) et *Candida glabrata* (taux de résistance = 78%). Pour les souches étudiées de *Candida albicans* le taux dépasse 68 %.

On voit clairement que la plupart des Souches étudiées sont résistantes au Fluconazole surtout pour les espèces *C. krusei*, *C.glabrata*, *C.albicans*.



DISCUSSION

IV. DISCUSSION

IV.1. Rappel mycologique et physiopathologique :

IV.1.1 Agent pathogène :

1. Description :

Les champignons microscopiques appartiennent au règne fongique et forment un groupe de plus de 1200 000 espèces connus dont une certaine d'espèces sont responsables de pathologies humaines.

Les levures sont des organismes eucaryotes unicellulaires sans chlorophylle, pigment assimilateur retrouvé chez les plantes. Elles sont médicalement représentées par les genres *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Saccharomyces*, *Rhodotomula*, *Geotrichum* et *Trichosporon*.

D'un point de vue cellulaire, elles possèdent un noyau entouré d'une membrane nucléaire, un réticulum endoplasmique et des mitochondries.

La membrane fongique est riche en lipides dont l'ergostérol, et la paroi est composée de protéines, de phospholipides, de chitine, et de sucres dont les principaux sont les mannanes et les glucanes. (Fig.15, ^[43])

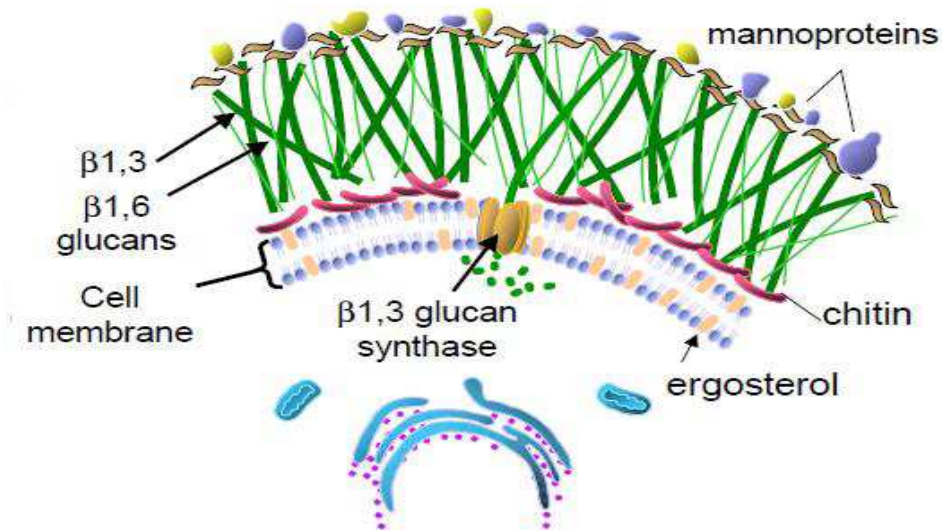


Fig 15 : Les différents constituants de la paroi fongique

Ces levures sont hétérotrophes, c'est-à-dire qu'elles nécessitent une source de carbone provenant de matières organiques en décomposition ou du parasitisme pour se développer et survivre. La nutrition des levures par absorption est assurée par un réseau de filaments (thalle ou mycélium). La morphologie de ce thalle reproducteur est à l'origine de la classification des champignons microscopiques ^[14]. En effet, la formation de spores sexuées caractérise le genre des champignons parfaits (zygomycètes, basidiomycètes et ascomycètes) tandis que les champignons imparfaits (deutéromycètes) sont définis par la formation de spores asexuées.

Chez les levures, le thalle est constitué d'éléments unicellulaires appelés blastopores, de 4 à 10 µm, qui se reproduisent par bourgeonnement et crée des pseudofilaments.

Concernant le genre *Candida* : Les levures du genre *Candida* apparaissent macroscopiquement sous forme de colonies blanches à crémeuses de 1 à 3 mm. Suivant l'espèce en question, leur texture peut être pâteuse, lisse, brillante, sèche, ridée ou terne.

Les caractères microscopiques diffèrent grandement selon l'espèce. Toutes produisent des blastoconidies, rondes ou allongées, et la plupart des pseudo-hyphes qui peuvent être longs, incurvés ou ramifiés, Certaines espèces présentent des formes de résistances appelées chlamydo-spores.

2. Caractéristiques des principales espèces de *Candida* :

Le genre *Candida* est ubiquitaire : on le retrouve comme agent commensal de la peau, du tractus digestif et urinaire. Il comporte plus de 200 espèces, seules 10 % sont connus pour être responsables d'infections chez l'Homme. Il regroupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, productrices ou non de filaments.

Candida albicans est de loin la plus fréquente, et les autres espèces les plus représentées sont regroupées sous les termes de *Candida non-albicans* : *C.glabrata*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis* et *C. krusei* principalement.

***Candida albicans* :**

C'est l'espèce la plus fréquemment incriminée dans les infections et les colonisations à *Candida sp.* 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 (candidémie, candidose hépatospléniques et méningite)

La neutropénie et la pré-exposition au Fluconazole apparaissent comme des facteurs de risques de candidémies à *C.non albicans* plutôt que *C. albicans*. Concernant les cancers, les patients présentant des tumeurs solides sont plus à risque que ceux souffrant de pathologies onco-hématologiques dans la survenue de candidémie à cette espèce prédominante.

***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.

L'âge avancé, la transplantation d'organes solides ainsi que la prophylaxie par le Fluconazole sont des facteurs de prédisposition pour les candidémies à *C.glabrata*. Elles sont d'ailleurs très rares chez les enfants.

Sa principale caractéristique est d'être de « sensibilité dose-dépendante » au Fluconazole, lui conférant donc une résistance relative à cet antifongique.

D'un point de vue biologique, on note une absence de filamentation pour cette espèce.

***Candida tropicalis* :**

La neutropénie étant un facteur prédisposant de candidémie à *C. tropicalis*, on retrouve cette levure principalement chez les populations de patients ayant des tumeurs solides et des pathologies onco-hématologiques. De plus, *C. tropicalis* présente une virulence importante. Cette espèce est très sensible au Fluconazole et l'utilisation prophylactique du Fluconazole entraîne une diminution des candidémies à *C. tropicalis*. Comme c'est le cas de notre étude

***Candida krusei* :**

Les candidémies à *C. krusei* sont redoutables, avec une mortalité très élevée.

Les facteurs prédisposants sont : l'utilisation prophylactique du Fluconazole, la neutropénie, les pathologies onco-hématologiques et la greffe de cellules souches hématopoïétiques. La caractérisation de cette espèce est très importante car *C. krusei* est naturellement résistante au Fluconazole, mais peut montrer des résistances à d'autres antifongiques tels que l'amphotéricine B.

Les différentes caractéristiques des espèces non-albicans prédisposent certains terrains à développer des candidémies.

Le tableau 11 résume les différents facteurs de risques prédisposant à des candidémies à *Candida non albicans*.

Tab 11 : Facteurs de risques des candidémies à *Candida non albicans* ^[158]

| Espèce | Facteurs de risques de candidémies |
|----------------------|--|
| <i>C. glabrata</i> | Age Avancé, Transplantation d'organes solides, Prophylaxie par Fluconazole |
| <i>C. tropicalis</i> | Neutropénie, Pathologies onco-hématologiques, Greffe de cellules souches hématopoïétiques |
| <i>C. krusei</i> | Pré exposition au Fluconazole Neutropénie, Pathologies onco-hématologiques Greffe de cellules souches hématopoïétiques |

IV.1.2 Candidémies et Aspects :

1. Les aspects cliniques

Le spectre des infections causées par les espèces du genre *Candida* est large et peut se diviser en 2 catégories : les pathologies superficielles (cutanéomuqueuses) ou les pathologies systémiques (candidémies et candidoses invasives).

Le tableau 12 résume les infections profondes et superficielles causées par *Candida* sp.

Tab. 12. Descriptif des infections causées par *Candida* sp ^[159].

| Infections profondes | | Infections superficielles |
|--|------------------------|----------------------------------|
| Candidémies | Endophtalmie | Candidose cutanée |
| Infection sur dispositif implantable | Ostéomyélite | Candidose oropharyngée |
| Thrombophlébite suppurée | Spondylodiscite | Candidose œsophagienne |
| Arthrite | Méningite | Vaginite |
| Candidose pulmonaire / hépatosplénique | Cystite /pyélonéphrite | |
| Trachéite / bronchite | | |

2. Physiopathologie :

Les levures appartiennent à la flore normale endogène des muqueuses du tractus gastro-intestinal et génital, en portage transitoire ou permanent chez 40 à 50 % des Hommes. Ce portage devient colonisation si certains facteurs de risques sont présents (principalement antibiothérapie et immunodépression). L'origine des candidémies ou des candidoses invasives peut être exogène (transmission à partir du milieu extérieur, principalement par une effraction cutanée) ou endogène (à partir d'un foyer profond principalement digestif, puis dissémination hématogène). Dans l'immense majorité des cas, la souche colonisante devient la souche infectante ^[14].

3. Les facteurs de risques d'infections candidosiques :

Il existe de nombreux facteurs de risques pour le développement des candidoses et des candidémies [17,39]. Ils sont regroupés en 2 catégories dans le Tableau 13 ci dessous:

Tableau 13 : les principaux facteurs de risques :

| Les facteurs de risques | |
|---|---|
| Intrinsèques | Extrinsèques |
| <ul style="list-style-type: none">- Colonisation : c'est le facteur de risque principal. L'antibiothérapie à large spectre est un facteur favorisant cette colonisation.- Neutropénie / immunodépression- Hémopathie maligne / Cancer- Age extrême- Faible poids à la naissance | <ul style="list-style-type: none">- Chirurgie (digestive principalement)- Iatrogènes : antibiotiques, prophylaxie par antifongiques, corticostéroïdes, chimiothérapie- Epuration extra-rénale- Dispositifs implantable- Nutrition parentérale- Durée d'hospitalisation |

La majorité des patients de réanimation présentent ces facteurs de risque et sont donc à risque d'infection fongique invasive.

IV.2 Antifongiques :

Malgré la recherche permanente de nouvelles cibles cellulaires, l'arsenal thérapeutique disponible pour lutter contre les infections fongiques est relativement limité puisque seules quatre classes de molécules, ciblant trois voies métaboliques distinctes, les polyènes, les dérivés azolés et les

échinocandines sont disponibles. Ne seront traités dans ce travail que les dérivés azolés plus précisément le Fluconazole.

IV.2.1. Antifongiques azolés :

1. Historique, structure et pharmacologie :

Les dérivés azolés sont des molécules cycliques organiques, qui peuvent être divisées en deux groupes, les imidazolés, contenant deux atomes d'azote dans le cycle azoté, et les triazolés, contenant trois atomes d'azote (figure 16 ; [134]).

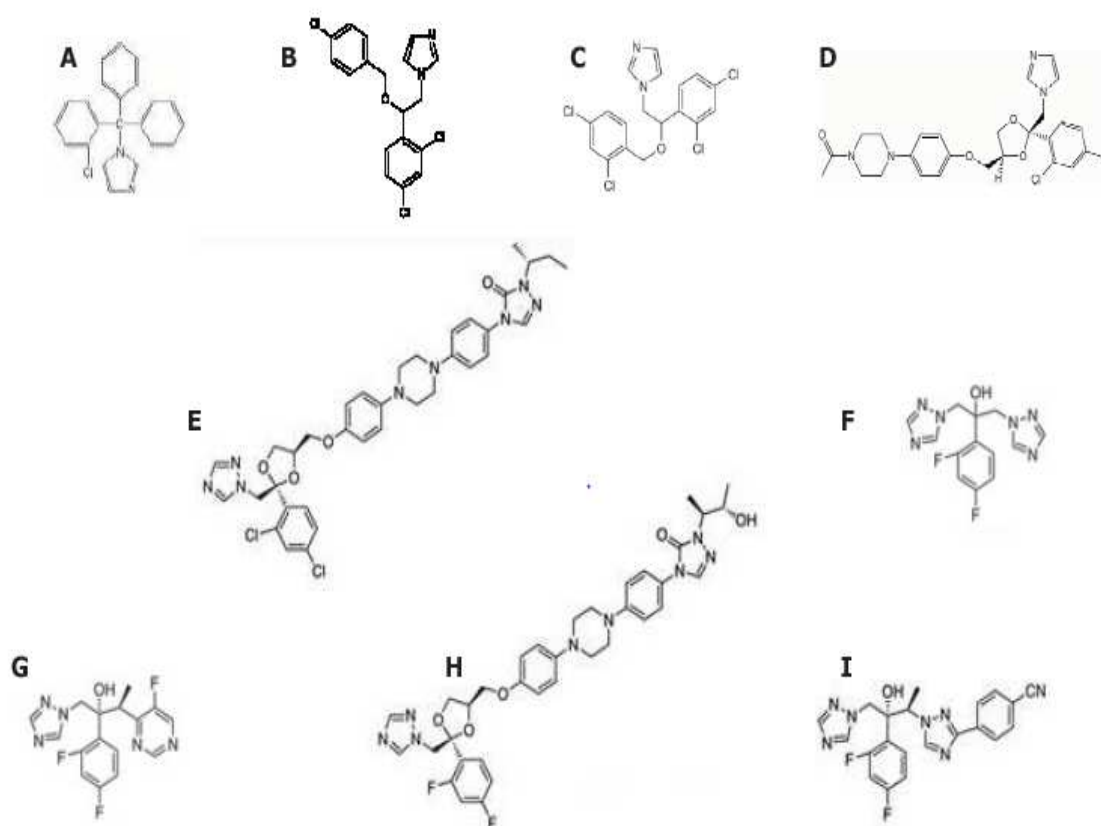


Figure 16 : structure chimique des principaux antifongiques azolés. Sont représentés en quatre imidazolés : le clotrimazole (A), l'econazole (B), le miconazole (C) et le ketoconazole (D) ; deux triazolés : l'itraconazole (E) et le Fluconazole (F) ; ainsi que les triazolés dits de seconde génération : le voriconazole (G), le posaconazole (H) et le ravuconazole (I).

Le premier antifongique azolé est synthétisé par woolley en 1944, mais ce n'est qu'en 1958 que la communauté scientifique commence à s'intéresser aux azolés pour leurs propriétés antifongiques [135]. Vers la fin des années 1960, le clotrimazole, l'econazole et le miconazole, trois imidazolés, sont mis sur le marché [136]. Cependant, leur utilisation se limite à un usage externe en raison de leur forte toxicité lors d'une administration orale [137,138]. Le miconazole, en 1968, est le premier antifongique utilisable par injection parentérale, mais en raison de sa forte toxicité et de son spectre d'activité peu étendu [139], son utilisation a peu à peu diminué jusqu'à l'arrêt de sa commercialisation.

En 1981, la Food and Drug Administration (FDA) approuve un nouvel imidazolé, le ketoconazole, développé par Heeres et ses collaborateurs [140]. Il sera pendant près de 10 ans le seul antifongique disponible pour traiter les infections fongiques systémiques. Cependant, son absorption lors d'une administration orale est très variable et aucune forme injectable n'a été mise au point ; il ne franchit pas la barrière méningée et montre une moindre efficacité chez les immunodéprimés [136, 141-143]. De plus, ses effets secondaires peuvent être non négligeables comme une diminution de la synthèse de testostérone ou des glucocorticoïdes et des atteintes hépatiques ou gastro-intestinales sévères [144-146]. Enfin, de nombreuses interactions médicamenteuses ont été rapportées.

C'est pour ces raisons que les triazolés ont fait leur apparition. Le Fluconazole devient utilisable en clinique en 1990. Contrairement aux imidazolés, il est très hydrosoluble et donc facilement administré par voie intraveineuse, son absorption après administration orale est quasi-totale et il diffuse largement dans tout l'organisme, y compris le liquide céphalo-rachidien [147, 148]. Il est indiqué pour le traitement des candidoses superficielles (oropharyngées, œsophagiennes ou vaginales), des candidoses disséminées, des méningites à cryptocoques, des

coccidioidomycoses et des candidoses mucocutanées. Ses bonnes propriétés pharmacocinétiques ainsi que son spectre d'activité étendu ont fait du Fluconazole l'antifongique de référence pendant les années 1990.

Cependant, son utilisation systématique aussi bien à titre curatif que prophylactique a joué en sa défaveur. En effet, la mise sur le marché du Fluconazole coïncide avec l'augmentation des cas de résistance aux antifongiques azolés ainsi qu'à un changement de l'incidence des différentes espèces rencontrées en mycologie médicale.

Dans le but de trouver une molécule ayant un spectre plus étendu que le Fluconazole, l'itraconazole est mis au point et approuvé par la FDA en 1992.

En effet, ce triazolé a un spectre d'activité plus étendu que le Fluconazole, comparable à celui du kétoconazole. De plus, il est beaucoup moins toxique que ce dernier et l'a peu à peu remplacé pour le traitement des histoplasmoses, blastomycoses et paracoccidioidomycoses. Il est également efficace, contrairement au Fluconazole, sur les genres *Aspergillus* et *Sporothrix* [149]. Cependant, en raison de son caractère liposoluble, l'itraconazole possède une toxicité plus forte que le Fluconazole ainsi que des propriétés pharmacocinétiques moins intéressantes. Il est donc seulement indiqué pour le traitement des onychomycoses et des infections fongiques superficielles ainsi que dans certains cas d'aspergilloses systémiques [150]. Une nouvelle formulation d'itraconazole, permettant d'améliorer son absorption et de diminuer sa toxicité, a été approuvée par la FDA en 1997 [151]. De même, une forme injectable d'itraconazole a été récemment mise à la disposition des praticiens [152].

Cependant, le Fluconazole et itraconazole ne sont pas encore les antifongiques parfaits puisqu'ils présentent des interactions médicamenteuses non négligeables, par exemple avec les traitements anti-rejet, la chimiothérapie et le

traitement du SIDA. Ces interactions se traduisent par une diminution de la concentration en azolé ou même par une augmentation de leur toxicité ^[153].

De plus, l'itraconazole et le Fluconazole ne sont pas efficaces contre certains pathogènes émergents tels que les genres *Scedosporium*, *Fusarium* et les *Zygomycètes*. Enfin, la résistance à ces antifongiques devient de plus en plus fréquente ^[154].

Les triazolés dits de deuxième génération ont donc fait logiquement leur apparition. Ce sont le voriconazole, le posaconazole et le ravuconazole, respectivement approuvés par la FDA en 2002 et en 2006 pour les deux premiers et en cours d'évaluation clinique pour le dernier. Ils possèdent un spectre d'activité plus étendu que l'itraconazole, puisqu'ils sont actifs sur les genres *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Scedosporium*, *Acremonium* et *Trichosporon*, les champignons dimorphiques, les dermatophytes et sur *Cryptococcus neoformans* ^[155]. Bien que ces azolés de deuxième génération aient démontré une plus grande efficacité que les premiers triazolés sur les genres *Candida* et *Aspergillus* ^[156], et bien qu'ils soient disponibles aussi bien sous forme orale qu'injectable, leurs effets secondaires et les possibilités d'interactions médicamenteuses sont similaires à ceux de l'itraconazole et du fluconazole ^[157]. De même, les isolats résistants aux triazolés classiques présentent le plus souvent une résistance croisée au voriconazole, au posaconazole et au ravuconazole.

2. Mécanisme d'action :

La membrane fongique est complexe et composée essentiellement de protéines, de phospholipides et d'ergostérol.

Les dérivés azolés ont pour cible la voie de biosynthèse de l'ergostérol, composant essentiel de la membrane fongique. Ils inhibent spécifiquement la

lanostérol 14 α déméthylase à cytochrome P450, codée par le gène ERG11. (Figure 17, [5]).

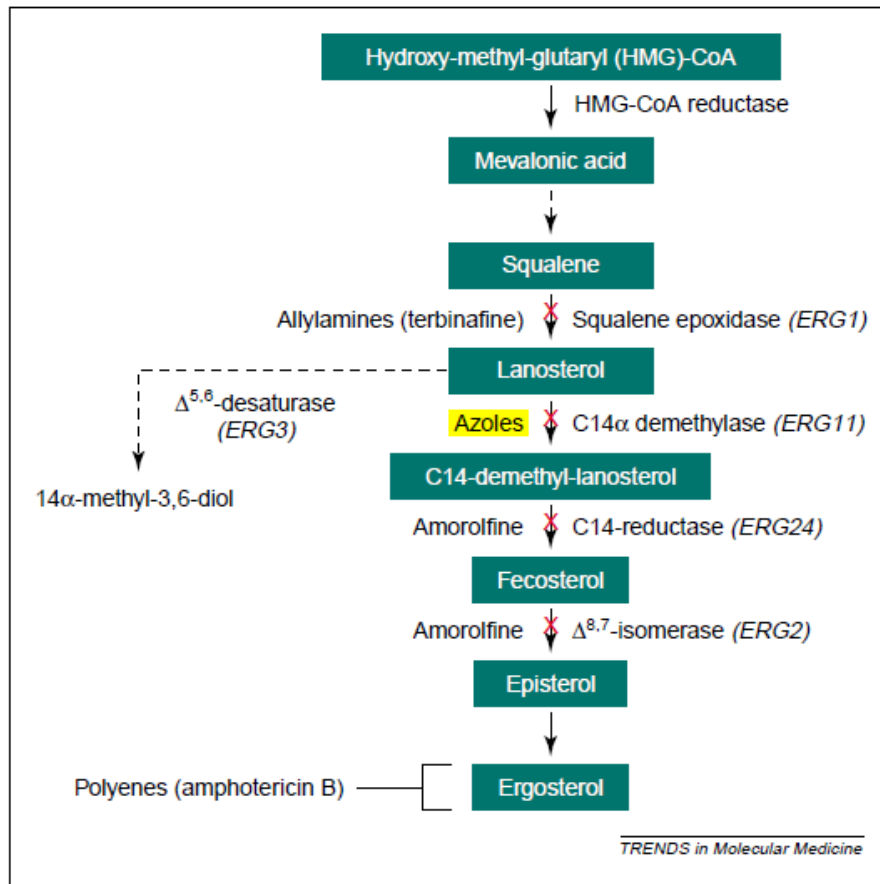


Figure 17 : cascade métabolique de la synthèse de l'ergostérol et lieu d'action des médicaments antifongiques

Cette inhibition se fait par la liaison de l'atome d'azote libre du cycle imidazolé ou triazolé à l'atome de fer de l'hème de l'enzyme et a pour conséquence l'accumulation de dérivés 14 α méthylés, dont la métabolisation par les enzymes situées en aval d'ERG11p dans la voie de biosynthèse, produit des dérivés toxiques, incapables de remplacer l'ergostérol et entraînant l'inhibition fongique [2, 3, 20, 21].

En raison du fait que les mêmes enzymes P-450 sont impliquées dans la synthèse du cholestérol dans les cellules hépatiques de mammifères, les azolés

peuvent également bloquer cette biosynthèse ce qui est à la base de leurs effets indésirables [2].

IV.2.2. Fluconazole :

IV.2.2.1. Structure chimique, mode d'action et spectre d'activité:

1. Structure chimique:

Le fluconazole ou 2-(2,4-difluorophényl)-1,3-di(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol est un antifongique de synthèse, appartenant à la classe des antifongiques triazolés, caractérisés par la présence de trois atomes d'azotes dans leur cycle azoté pentagonal (fig. 18).

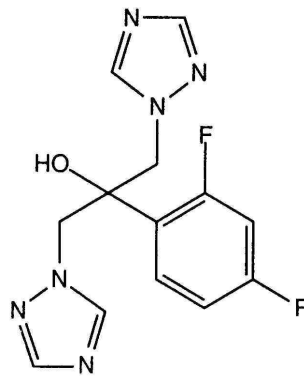


Figure 18 : structure chimique du fluconazole

2. Mode d'action :

Commercialisé en 1990, le fluconazole présente un mécanisme d'action similaire aux autres azolés. Cependant sa particularité est sa haute sélectivité pour le CYP450 du champignon, limitant ainsi sa toxicité à l'égard du CYP 450 humain.

3. Spectre d'activité :

- Espèces habituellement sensibles : *candida*, en particulier *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*.

- Espèces habituellement résistantes : *Candida krusei*, dermatophytes (*microsporum*, *trichophyton*), *aspergillus sp.*

Son spectre d'activité préférentiel est *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*. En revanche, il est inactif sur *Candida krusei* (résistance primaire).

IV.2.2.2. Pharmacocinétique :

Les formes orales (gélules à 100 mg et à 200 mg, poudre pour suspension buvable à 200 mg/5 ml) et intraveineuse (solution pour perfusion à 2 mg/ml) du fluconazole sont équivalentes du point de vue pharmacocinétique.

Après administration orale, le fluconazole est bien absorbé et sa biodisponibilité absolue est de 90 %. Son absorption n'est pas modifiée par l'alimentation. Les pics de concentration plasmatique chez le sujet à jeun surviennent entre 0,5 et 1,5 heure après l'administration ^[160].

Les concentrations plasmatiques sont proportionnelles à la dose :

- Gélule à 50 mg, poudre pour suspension buvable à 50 mg/5 ml :
 - après prise unique de 50 mg, la Cmax est de 1,02 mg/l ;
 - en prise répétée de 50 mg/jour, la Cmax est de 2,37 mg/l à l'état d'équilibre vers le 4^e-5^e jour.
- Gélules à 100 mg et à 200 mg, poudre pour suspension buvable à 200 mg/5 ml et solution pour perfusion à 2 mg/ml :
 - après administration de 200 mg de fluconazole, la Cmax est de 4,6 mg/l et les concentrations plasmatiques obtenues à l'état d'équilibre au 15^e jour sont de 10 mg/l ;

- après administration de 400 mg de fluconazole, la Cmax est de 9 mg/l et les concentrations plasmatiques obtenues à l'état d'équilibre au 15^e jour sont de 18 mg/l.

Le fluconazole pénètre bien dans tous les liquides corporels étudiés.

Les concentrations salivaires et les sécrétions bronchiques sont voisines des concentrations plasmatiques. Chez les patients présentant une méningite d'origine fongique, les taux dans le LCR sont équivalents à 80 % environ des taux sanguins.

➤ Tous dosages :

Le volume apparent de distribution est voisin de celui de l'eau corporelle totale (0,6-0,7 l/kg). La liaison aux protéines est faible (12 %).

La demi-vie d'élimination est d'environ 30 heures. Le fluconazole s'élimine essentiellement par voie rénale et 80 % de la dose administrée sont retrouvés dans les urines sous forme inchangée.

Le fluconazole est faiblement métabolisé (11 % de la dose administrée sont retrouvés sous forme de métabolites dans les urines).

La clairance du fluconazole est proportionnelle à la clairance de la créatinine. En conséquence, la dose journalière sera réduite chez les patients ayant une clairance de la créatinine inférieure ou égale à 50 ml/min. Le fluconazole est hémodialysé avec une diminution de près de 50 % de la concentration sérique après environ 3 heures d'hémodialyse ^[160].

IV.2.2.3. Indications, posologies et mode d'administration :

1. Indications :

Adulte :

✦ Cryptococcoses neuroméningées :

- Traitement d'attaque : son efficacité a été démontrée, principalement chez les patients atteints du sida. Au cours des autres types d'immunodépression (transplantation d'organes, hémopathies), chez les patients immunocompétents et au cours des formes graves, la place du fluconazole par rapport à l'amphotéricine B n'est pas bien connue. Cette dernière paraît stériliser le LCR plus rapidement.
- Le fluconazole est également indiqué dans le traitement d'entretien des cryptococcoses chez les patients atteints du sida. Il doit alors être prescrit indéfiniment.
- L'efficacité du fluconazole dans d'autres localisations cryptococciques pulmonaires ou cutanées est moins bien établie.

✦ Candidoses :

- Candidoses systémiques incluant les candidoses disséminées et profondes (candidémies, péritonites), candidoses œsophagiennes et candidoses urinaires. *Candida albicans* représente la majorité des espèces isolées dans les études cliniques. L'efficacité n'est pas établie dans les infections dues à d'autres espèces de *Candida*, notamment à *Candida glabrata*, et à *Candida krusei* (espèce habituellement résistante).
- Prévention des infections à *Candida* sensibles chez l'adulte exposé à une neutropénie sévère et prolongée lors du traitement d'induction et de

consolidation des leucémies aiguës et subissant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

- Traitement des candidoses oropharyngées chez les patients immunodéprimés, soit en raison d'une affection maligne, soit d'un syndrome de déficience immunitaire acquise (sida).
- Traitement des candidoses buccales atrophiques.

Enfant :

Le fluconazole est indiqué pour le traitement :

- Des candidoses oropharyngées chez l'enfant immunodéprimé.
- Des candidoses systémiques, incluant les candidoses disséminées et profondes (candidémies, péritonites), candidoses œsophagiennes et candidoses urinaires.
- Des cryptococcoses neuroméningées ; le traitement d'entretien au cours du sida doit être poursuivi indéfiniment ^[160].

2.Posologies :

Gélules à 100 mg et à 200 mg, poudre pour suspension buvable à 200 mg/5 ml, solution pour perfusion à 2 mg/ml :

Adulte :

✦ Cryptococcoses :

- traitement d'attaque : 400 mg/jour (6 à 8 semaines) ;
- traitement d'entretien : 200 mg/jour (à vie chez les patients atteints du sida).

✦ Candidoses :

- œsophagiennes : 100 mg/jour ;
- urinaires : 100 à 200 mg/jour ;

- systémiques (candidoses disséminées profondes, candidémies, péritonite) : 800 mg le premier jour, puis 400 mg/jour.

✦ Prévention des candidoses :

La posologie recommandée est de 400 mg/jour en une prise quotidienne. L'administration de fluconazole doit débuter dès l'initiation de la chimiothérapie ou du conditionnement de la greffe. Elle doit se poursuivre jusqu'à 7 jours après la remontée des taux des polynucléaires neutrophiles au-dessus de $1000/\text{mm}^3$ ou pendant une durée plus longue (jusqu'à 75 jours).

La durée de traitement dépend de la réponse clinique ^[160].

Gélule à 50 mg, poudre pour suspension buvable à 50 mg/5 ml :

Adulte :

- Dans les candidoses oropharyngées des patients immunodéprimés, la dose est de 50 mg une fois par jour pendant 7 à 14 jours. Il est parfois nécessaire de prolonger le traitement à la même dose.
- Dans les candidoses buccales atrophiques liées aux prothèses dentaires, la dose est de 50 mg une fois par jour pendant 14 jours en complément des soins d'hygiène locale.

Tous dosages :

Prématuré, nouveau-né à terme et jusqu'à 28 jours de vie :

Leurs données cinétiques suggèrent une élimination plus lente dans cette tranche d'âge. Cependant, le caractère parcellaire et l'insuffisance des données cliniques ne permettent pas actuellement de proposer une posologie.

Nourrisson et enfant :

- Traitement des candidoses oropharyngées chez l'enfant immunodéprimé : la posologie recommandée est de 3 mg/kg/jour toutes les 24 heures.

- Traitement des candidoses systémiques, incluant les candidoses disséminées et profondes (candidémies, péritonites), candidoses œsophagiennes et candidoses urinaires : la posologie recommandée est de 6 à 12 mg/kg/jour toutes les 24 heures en fonction de la sévérité de la maladie.
- Traitement des cryptococcoses neuroméningées : le traitement d'entretien au cours du sida doit être poursuivi indéfiniment ; la posologie recommandée est de 6 à 12 mg/kg/jour toutes les 24 heures en fonction de la sévérité de la maladie.

Sujet âgé :

La prescription sera prudente. La posologie sera ajustée selon le chiffre de la clairance de la créatinine.

En l'absence d'insuffisance rénale, la posologie habituelle recommandée chez l'adulte sera adoptée. Chez les patients en insuffisance rénale (clairance de la créatinine à 50 ml/min), la posologie sera ajustée comme il est décrit plus loin.

Insuffisant rénal :

Le fluconazole est éliminé principalement par voie urinaire sous forme inchangée.

On administrera une dose initiale de 100 à 400 mg lors de la mise en place d'un traitement par le fluconazole chez l'insuffisant rénal. Après une première administration, la posologie journalière sera adaptée en fonction de l'indication et du tableau 14 ci-dessous.

Tableau 14 : clairance de la créatinine et doses recommandées

| Clairance de la créatinine | Dose recommandée (pourcentage de la dose usuelle ou intervalle de temps entre chaque dose habituelle) |
|----------------------------|---|
| > 50 ml/min | 100 % ou 24 h |
| 11 à 50 ml/min | 50 % ou 48 h |
| Patient sous dialyse | une administration après chaque séance de dialyse |

3. Mode d'administration :

Les gélules ne sont pas indiquées chez l'enfant de moins de 6 ans.

Poudre pour suspension buvable à 200 mg/5 ml : cette posologie n'est pas adaptée à l'enfant de moins de 15 kg ^[160].

| | Enfant | | | |
|----------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | < 15 kg < 6 ans | > 15 kg > 6 ans | > 15 kg < 6 ans | < 15 kg > 6 ans |
| Gélule à 50 mg | | X | | X |
| Gélule à 100 mg | | X | | X |
| Gélule à 200 mg | | X | | |
| Pdre p susp buv à 50 mg/5 ml | X | X | X | X |
| Pdre p susp buv à 200 mg/5 ml | | X | X | |
| Sol p perf à 2 mg/ml | X | X | X | X |

Solution pour perfusion à 2 mg/ml :

Le choix de la voie d'administration orale ou intraveineuse dépend de l'état clinique du patient.

Un changement de voie d'administration n'entraîne pas de modification de la posologie journalière.

Le fluconazole peut être administré en perfusion intraveineuse à la vitesse maximale de 10 ml/minute. Le fluconazole se présente dissous dans une solution de chlorure de sodium à 0,9 % .

Le fluconazole étant disponible en solution saline, chez les patients nécessitant une restriction sodique ou hydrique, cet élément devra être pris en compte ^[160].

Il peut être administré de façon concomitante avec :

- le soluté glucosé à 20 %,
- la solution de Ringer,
- le chlorure de potassium en soluté glucosé,
- le bicarbonate de sodium.

A ce jour, lors de son administration, il n'a pas été noté d'incompatibilité avec d'autres produits. Cependant, par prudence, il est recommandé de ne pas mélanger le fluconazole en perfusion avec d'autres produits ^[160].

IV.2.2.4. Contre-indications, précautions d'emploi et interactions médicamenteuses :

1. contre-indications :

Absolues :

- Hypersensibilité au fluconazole et/ou à d'autres dérivés azolés.
- Grossesse et allaitement (cf Grossesse/Allaitement).
- Cisapride, pimozide (cf Interactions).
- Enfant de moins de 6 ans en raison de la forme pharmaceutique (gélule).

Relatives :

- Halofantrine (cf Interactions).

2. Précautions d'emploi :

✚ Chez les patients présentant des atteintes connues hépatiques et/ou rénales ainsi que lorsqu'une pathologie sévère est associée, une surveillance des tests hépatiques est conseillée ; l'arrêt du fluconazole sera envisagé en cas d'aggravation d'une anomalie préalable des tests hépatiques ^[160].

- ✚ Le patient devra être informé qu'en cas de survenue de symptômes évocateurs d'atteinte hépatique grave (asthénie importante, anorexie, nausées persistantes, vomissements, ictère), le traitement par fluconazole devra être immédiatement arrêté et qu'il devra consulter un médecin.
- ✚ Une surveillance clinique particulière s'impose chez les patients ayant préalablement présenté une réaction cutanée associée à la prise de fluconazole ou d'un autre dérivé azolé. Le patient devra être informé qu'en cas de survenue de lésions bulleuses, le fluconazole devra être immédiatement arrêté et qu'il devra consulter un médecin le plus rapidement possible.
- ✚ Les azolés, dont le fluconazole, ont été associés à un allongement de l'intervalle QT sur l'électrocardiogramme. Dans les études de surveillance post-marketing, chez des patients traités par fluconazole, de rares cas d'allongement de l'intervalle QT ainsi que des torsades de pointes ont été rapportés.
- ✚ Ces notifications font état de patients présentant des pathologies lourdes et de nombreux autres facteurs de risque, notamment un allongement congénital du QT, des désordres électrolytiques ou certains traitements associés susceptibles d'y contribuer.
- ✚ Le fluconazole devra être administré avec précaution chez les patients présentant des conditions proarythmogènes.
- ✚ Gélule : en raison de la présence de lactose, ce médicament est contre-indiqué en cas de galactosémie congénitale, de syndrome de malabsorption du glucose et du galactose, ou de déficit en lactase.
- ✚ Poudre pour suspension buvable : en raison de la présence de saccharose, ce médicament est contre-indiqué en cas d'intolérance au fructose, de syndrome de malabsorption du glucose et du galactose, ou de déficit en sucrase-isomaltase.

- ✚ Solution pour perfusion : tenir compte, chez les personnes suivant un régime hyposodé strict, de la teneur en sodium ^[160].

3. Interactions médicamenteuses :

Le fluconazole exerce une activité très spécifique sur les enzymes dépendant du cytochrome P450 d'origine fongique.

Contre-indiquées :

- Cisapride, pimozide : risque majoré de troubles du rythme ventriculaire, notamment de torsades de pointes.

Déconseillées :

- Halofantrine : risque majoré de troubles du rythme ventriculaire, notamment de torsades de pointes. Si cela est possible, interrompre l'antifongique azolé. Si l'association ne peut être évitée, contrôle préalable du QT et surveillance ECG monitorée.

Nécessitant des précautions d'emploi :

- Alfentanil : augmentation de l'effet dépresseur respiratoire de l'analgésique opiacé par diminution de son métabolisme hépatique. Adapter la posologie de l'analgésique opiacé en cas de traitement par le fluconazole.
- Anticoagulants oraux : augmentation de l'effet de l'anticoagulant oral et du risque hémorragique par diminution de son métabolisme hépatique. Contrôle plus fréquent du taux de prothrombine et surveillance de l'INR ; adaptation de la posologie de l'anticoagulant oral pendant le traitement par le fluconazole et 8 jours après son arrêt.
- Ciclosporine : risque d'augmentation des concentrations sanguines de l'immunosuppresseur (inhibition de son métabolisme) et de la créatininémie. Dosage des concentrations sanguines de l'immunosuppresseur, contrôle de la

fonction rénale et adaptation de sa posologie pendant l'association et après son arrêt.

- Névirapine : doublement des concentrations de névirapine avec risque d'augmentation de ses effets indésirables. Surveillance clinique et adaptation éventuelle de la posologie de névirapine.
- Phénytoïne : augmentation des concentrations plasmatiques de phénytoïne pouvant atteindre des valeurs toxiques. Mécanisme invoqué : inhibition du métabolisme hépatique de la phénytoïne. Surveillance clinique étroite, dosage des concentrations plasmatiques de phénytoïne et adaptation éventuelle de sa posologie pendant le traitement par le fluconazole et après son arrêt.
- Sulfamides hypoglycémisants : augmentation du temps de demi-vie du sulfamide avec survenue possible de manifestations hypoglycémiques. Prévenir le patient du risque d'hypoglycémie, renforcer l'autosurveillance glycémique et adapter la posologie du sulfamide pendant le traitement par le fluconazole.
- Rifampicine : diminution des concentrations plasmatiques et de l'efficacité des deux anti-infectieux (induction enzymatique par la rifampicine et diminution de l'absorption intestinale par l'azolé antifongique). Espacer les prises des deux anti-infectieux, surveiller la concentration plasmatique de l'azolé antifongique et adapter éventuellement la posologie.
- Rifabutine : risque d'augmentation des effets indésirables de la rifabutine (uvéites) : augmentation de ses concentrations plasmatiques et de celles de son métabolite actif. Surveillance clinique régulière.
- Théophylline (base et sels) et aminophylline : augmentation de la théophyllinémie avec risque de surdosage (diminution de la clairance de la théophylline). Surveillance clinique et éventuellement de la théophyllinémie ;

s'il y a lieu, adaptation de la posologie de la théophylline pendant le traitement par le fluconazole et après son arrêt.

- Triazolam : augmentation des concentrations plasmatiques de triazolam par diminution de son métabolisme hépatique avec majoration de la sédation. Surveillance clinique et adaptation éventuelle de la posologie du triazolam pendant le traitement par le fluconazole.

A prendre en compte :

- Contraceptifs hormonaux : trois études de pharmacocinétique associant un contraceptif oral à l'administration de doses multiples de fluconazole ont été réalisées. Aucune modification significative du taux d'hormones n'a été constatée chez les patients traités à 50 mg de fluconazole ; cependant, à une dose journalière de 200 mg, l'AUC de l'éthinyl estradiol et de la noréthindrone était augmentée respectivement de 40 % et de 24 %. Dans une étude à 300 mg/jour de fluconazole, l'AUC de l'éthinylestradiol et de la noréthindrone était augmentée respectivement de 24 % et de 13 %. Ainsi, l'utilisation à doses multiples du fluconazole à ces doses n'a pas entraîné de changement de l'efficacité du contraceptif associé par voie orale.
- Losartan : risque de diminution de l'efficacité du losartan, par inhibition de la formation de son métabolite actif par le fluconazole ^[160].

IV.2.2.5. Effets indésirables :

Les effets gastro-intestinaux et cutanés sont les effets indésirables le plus couramment rencontrés.

- Troubles gastro-intestinaux : nausées, flatulence, douleurs abdominales, diarrhées.

- Troubles de la peau et des tissus : rashes, réactions cutanées sévères à type de toxidermies bulleuses (syndrome de Stevens-Johnson, syndrome de Lyell, en particulier au cours du sida). Des cas d'alopecies, généralement réversibles, ont été rapportés.
- Troubles du système nerveux : céphalées pouvant être éventuellement liées au produit.
- Troubles hépatobiliaires : augmentation des transaminases hépatiques, généralement réversibles à l'arrêt du traitement ; des atteintes hépatiques sévères, éventuellement associées à des taux sériques élevés de fluconazole, d'évolution parfois fatale, ont été exceptionnellement rapportées.
- Troubles sanguins et du système lymphatique : leucopénies (neutropénies, agranulocytose), thrombopénies.
- Troubles du système immunitaire : réactions anaphylactiques.
- Troubles cardiaques : de rares cas d'allongement de l'intervalle QT et torsades de pointes ^[160].

IV.2.2.6. Grossesse et allaitement :

Les études expérimentales chez l'animal ne permettent pas d'exclure la possibilité d'un effet tératogène et, dans l'espèce humaine, les données sont insuffisantes pour préciser le risque. Par conséquent, la prescription du fluconazole est contre-indiquée pendant la grossesse, sauf chez les patientes présentant des infections fongiques sévères ou potentiellement létales chez lesquelles le fluconazole peut alors être utilisé si l'on considère que le bénéfice attendu est supérieur au risque pour le fœtus. Chez la femme en âge de procréer, des moyens efficaces de contraception devront être instaurés.

Les concentrations de fluconazole retrouvées dans le lait sont similaires à celles du plasma ; le fluconazole est donc contre-indiqué pendant la période d'allaitement.

IV.2.2.7. Surdosage :

En cas de surdosage, le traitement est symptomatique, avec des soins adaptés et un lavage gastrique si nécessaire. Le fluconazole est en grande partie éliminé dans les urines ; son élimination est favorisée par une diurèse provoquée. Une séance d'hémodialyse de 3 heures permet d'abaisser d'environ 50 % les taux plasmatiques ^[160].

IV.2.3. Etude de la sensibilité in vitro aux antifongiques :

1. indications et objectifs :

Au cours de ces dernières années, on assiste à une augmentation de la fréquence des souches moins sensibles et l'incidence des infections fongiques affectant principalement les sujets vulnérables comme les immunodéprimés, les patients recevant une transplantation d'organe et ceux subissant une chimiothérapie anticancéreuse nécessitant un traitement approprié et rapide. Les espèces du genre *Candida* sont les principaux agents incriminés dans ces infections fongiques nosocomiales. *Candida albicans*, espèce commensal chez les individus sains, est le pathogène commun le plus isolé dans la candidose invasive avec environ 30 à 40 % de la mortalité. De même, une augmentation des taux de candidoses invasives causées par les espèces de *Candida* non-*albicans* ont été rapportés dans le monde entier ; ces espèces notamment *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, sont généralement moins sensibles ou résistantes aux principaux médicaments antifongiques. Pour ces raisons, l'étude de la résistance aux antifongiques et le développement de nouvelles molécules

plus puissantes devient une urgence, ainsi que les indications de l'antifongigramme et les limites de leur interprétation sont justifiées. En effet, l'antifongigramme ne doit pas être banalisé et la sélection de ses indications est une nécessité. Elles doivent être réservées :

- Aux infections profondes ou septicémiques ou dans les localisations cutanéomuqueuses secondaires à une diffusion systémique, afin de vérifier la sensibilité de la souche aux antifongiques systémiques ;
- Aux évolutions cliniques défavorables ou en cas d'échec malgré un traitement bien adapté et bien conduit ;
- Aux levures isolées de malades immunodéprimés ou hospitalisés dans les services à risque : réanimation médicale, chirurgicale, services d'oncohématologie, de transplantation d'organes, de néonatalogie, quelle que soit l'origine du prélèvement. Ceci permet de vérifier si une résistance aux antifongiques n'apparaît pas secondairement. En principe les tests de susceptibilité in vitro devraient permettre la mesure comparative de l'activité des antifongiques, l'évaluation de l'activité potentielle de nouvelles drogues thérapeutiques, la surveillance de développement des résistances, mais surtout prédire l'évolution clinique sous traitement.

Toujours est-il que l'étude de la susceptibilité aux antifongiques au laboratoire ne répond pas parfaitement aux objectifs auxquels mycologues et médecins ambitionnent. A savoir :

- Obtenir des résultats reproductibles in vitro vis-à-vis d'un antifongique, qui permet de répondre à une problématique de laboratoire n'étant pas encore complètement résolue malgré les efforts entretenues et l'avènement de méthodes validées.

- Obtenir une valeur prédictive raisonnable afin de déterminer l'issue du traitement in vivo pour le patient mais également pour le médecin.

Dans le cadre de notre étude, nous avons choisi d'insister sur la surveillance épidémiologique et les activités de recherche qui restent les plus importantes.

Activité de surveillance épidémiologique : les modifications dans la fréquence des infections fongiques, la répartition des espèces impliquées et l'évolution des résistances aux antifongiques sont des données qui permettent de cerner géographiquement les tendances épidémiologiques et de sélectionner un grand nombre de traitements empiriques. Dans ce contexte, il est de grande utilité de déterminer le profil de résistance d'isolats cliniques locaux aux antifongiques. En ce qui concerne les antifongiques déjà utilisés depuis un certain nombre d'années, la surveillance de l'évolution sur 5/ 10 ans de la sensibilité des isolats cliniques locaux permet d'anticiper sur des modifications subtiles, difficiles à mettre en évidence en dehors d'une surveillance longitudinale, locale, régionale ou nationale ^[70].

Activités de recherche : la plupart des infections fongiques surviennent chez les patients sévèrement immunodéprimés, dont les défenses immunitaires ne peuvent contribuer à éradiquer les microorganismes dont les champignons. Afin d'améliorer le pronostic des infections fongiques extrêmement graves et sévères, il est important de se donner les moyens pour suivre et tester la sensibilité des antifongiques utilisés seuls ou en association. Tester la sensibilité aux antifongiques dans le cadre de recherche est capital. En particulier pour évaluer l'activité in vitro des antifongiques et des combinaisons d'antifongiques, afin de détecter des synergies mais aussi des antagonismes in vitro. Egalement, l'effet fongicide demande à être étudié, car actuellement les données manquent en termes de valeurs de laboratoire. Les modèles pharmacodynamiques et l'étude

des mécanismes de résistance vont dans le sens d'une amélioration de la connaissance des microorganismes fongiques et donc de pouvoir opposer une réponse thérapeutique plus ciblée et plus efficace ^[70].

2. Techniques d'antifongogramme :

Techniquement, un antifongique peut être réalisé sur les levures et les champignons filamenteux, bien que les techniques soient plus délicates à mettre en œuvre sur ces derniers.

2.1. Techniques de références :

Les méthodes de référence américaine du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ^[54,55] et de l'European committee on antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ^[23, 56] déterminent des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par dilution en milieu liquide en tube ou microplaque pour les levures et les champignons filamenteux.

Pour les levures, la CMI se détermine à 90% ou 100% d'inhibition pour l'amphotéricine B et à 50% d'inhibition pour les azolés, les échinocandines et la flucytosine. Des règles de lecture ont été définies pour les souches présentant une double population au sein de l'isolat testé ou une croissance résiduelle sous forme de microcolonies (effet de traîne) pour les antifongiques fongistatiques. Pour les champignons filamenteux, la CMI se détermine à 100% d'inhibition sauf pour les échinocandines pour lesquelles le paramètre recommandé est la concentration minimale efficace (CME) car leur mode d'action sur les moisissures génère une croissance résiduelle in vitro. La CME correspond à la première concentration d'antifongique produisant des altérations morphologiques sur les filaments mycéliens. Lourdes est mal adaptées à des tests de routine, ces techniques sont réservées à des laboratoires spécialisés et

ont pour objectifs la standardisation technique, l'établissement des seuils d'interprétation, la validation des nouvelles techniques de routine, les études épidémiologiques et d'activité des nouveaux antifongiques^[23].

2.2. Techniques de routine :

Les caractéristiques des différentes techniques sont rassemblées dans le tableau 16. La lecture doit être rigoureusement standardisée selon les règles définies par les méthodes de référence afin d'éviter les erreurs liées à certains aspect de croissance : d'une part, l'effet de traîne des azolés sur les levures, dont on ne doit pas tenir compte et, d'autre part, la double zone d'inhibition et les macrocolonies, qui doivent être prises en compte car elles témoignent de la présence d'une sous-population moins sensible.

Tableau 16 : Caractéristiques des techniques commercialisées pour la routine :

| Test | Antifongiques | Principe | Résultat | Application |
|----------------------|--|--|------------|---------------------------------|
| Candifast® | AMB, NYS, 5FC, ECO, KET, MCZ, FLU | Galerie colorimétrique Concentration d'antifongique unique | Résistance | Levures |
| Fungitest® | AMB, FLU, ITR, KET, MCZ, 5FC | Galerie colorimétrique | R/S/I-SDD | Levures |
| Disques | AMB, 5FC, KET, FLU, VOR, topiques | Disques sur gélose MH ± glc/BM Lecture visuelle ou automatique | R/S/I-SDD | Levures/champignons filamenteux |
| Neo-Sensitabs™ | AMB, 5FC, FLU, ITR, KET, VOR, POS, CAS, TERB, topiques | Tablettes sur gélose MH ± glc/BM Lecture visuelle ou automatique | R/S/I-SDD | Levures/champignons filamenteux |
| ATB® fungus 3 | AMB, 5FC, FLU, ITR, VOR | Galerie avec gammes de concentration Lecture visuelle ou automatique | CMI | Levures |
| Fungifast® AFG | AMB, 5FC, ITR, FLU, VOR | Galerie colorimétrique avec gammes de concentration restreintes aux seuils R/S/I-SDD | CMI | Levures |
| Sensititre YeastOne® | AMB, 5FC, FLU, KET, ITR, VOR, POS, CAS, ANI, MICA | Plaque 96 puits avec gammes de concentration Colorimétrique | CMI | Levures <i>Aspergillus</i> |
| Vitek® 2 | AMB, 5FC, FLU, VOR | Automate. Carte avec gammes de concentration | CMI | Levures |
| Etest® | AMB, 5FC, FLU, KET, ITR, VOR, POS, CAS, ANI | Bandelettes graduées sur gélose RPMI | CMI | Levures/champignons filamenteux |

AMB : amphotéricine B ; NYS : nystatine ; 5FC : flucytosine ; FLU : fluconazole ; KET : kétoconazole ; ITR : itraconazole ; MCZ : miconazole ; VOR : voriconazole ; POS : posaconazole ; CAS : caspofungine ; ANI : anidulafungine ; MICA : micafungine ; TERB : terbinafine ; RPMI : milieu Roswell Park Memorial Institute ; MH : milieu Mueller-Hinton ; glc : glucose ; BM : bleu de méthylène ; CMI : concentration minimale inhibitrice ; R : résistant ; S : sensible ; I : intermédiaire ; SDD : sensible dose-dépendant.

2.2.1. Techniques qualitatives :

a. Techniques qualitatives en milieu liquide ou semi-gélosé :

La galerie **Candifast®** détecte les résistances en testant une unique concentration élevée d'antifongique [10]. La concordance globale avec la méthode de référence du CLSI est de 6% à 71% mais seulement de 6% à 22% pour *C. albicans* [23]. Le système **Fungitest®** (Fig.19, [23]) teste deux concentrations d'antifongiques et classe les souches en S (absence de pousse), I ou SDD (croissance à faible concentration d'antifongique) et R (croissance aux deux concentrations d'antifongique) [10]. La concordance globale avec les méthodes de référence est de 78 % à 95% [23]. Ces méthodes sont rapides, simples à réaliser et à lire et permettent de tester plusieurs antifongiques sur la même galerie, mais ne donnent pas de valeur de CMI, testent des panels restreints d'antifongiques et aucune n'est adaptée à l'étude des champignons filamenteux.

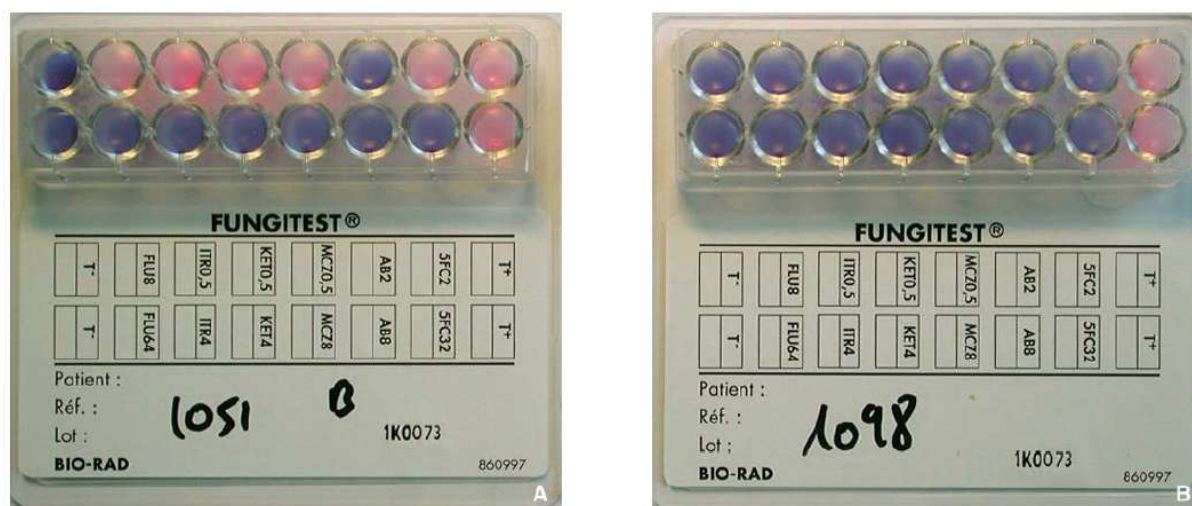


Figure 1. Galerie Fungitest®. Lecture après 24 h. FLU : fluconazole (8/64 µg/ml) ; ITR : itraconazole (0,5/4 µg/ml) ; KET : kétoconazole (0,5/4 µg/ml) ; MCZ : miconazole (0,5/8 µg/ml) ; AB : amphotéricine B (2/8 µg/ml) ; SFC : flucytosine (2/32 µg/ml).

A. *C. tropicalis* : sensible (S) à l'AB, sensible dose-dépendant (SDD) au FLU/ITR/KET/MCZ, I (intermédiaire) à la SFC.

B. *C. albicans* : sensible à tous les antifongiques testés.

Figure 19 : système Fungitest®

b. Techniques qualitatives en milieu gélosé :

Ces techniques utilisent des disques (Fig.20,^[23]) ou des tablettes imprégnées d'antifongiques déposés sur des géloses préalablement ensemencées. Les diamètres d'inhibition permettent de classer la souche en R/S/I-SDD. Ces techniques sont simples à réaliser, permettent de choisir les antifongiques à tester, de bien visualiser la croissance fongique et de tester les champignons filamenteux. Des procédures techniques standardisées établies par le CLSI sont disponibles pour les levures^[57] et les champignons filamenteux^[58]. Le milieu recommandé en alternative au Rowell Park Memorial Institute medium (RPMI) est le milieu Muller-Hinton non supplémenté pour les champignons filamenteux et additionné de 2 % de glucose et 0,5% de bleu de méthylène pour les levures (MH-GBM)^[59]. La lecture visuelle des diamètres d'inhibition, fastidieuse, peu adaptée à de grandes séries et parfois délicate pour les antifongiques azolés, peut être remplacée par les systèmes automatiques de lecture, à condition de s'assurer que le système utilisé lit et interprète correctement l'effet de traîne et les doubles populations. La concordance globale avec les méthodes de références est de 80% à 100% pour les levures et de 90% à 100% pour les filamenteux^[23].

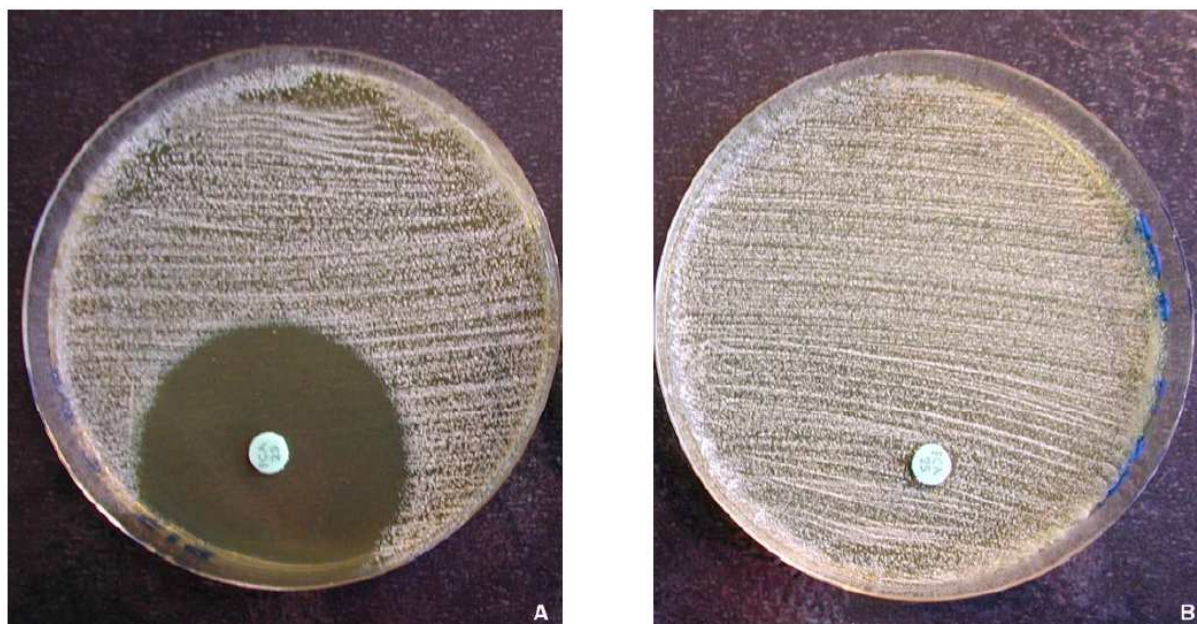


Figure 2. Méthode des disques. Lecture après 24 h sur milieu Mueller-Hinton/glucose/bleu de méthylène. *C. glabrata*/fluconazole : souche A sensible (diamètre 45 mm) (A), souche B résistante (diamètre 8 mm) (B).

Figure 20 : la méthode des disques

2.2.2. Techniques quantitatives de mesure de CMI :

a. Techniques quantitatives en milieu liquide ou semi-gélosé :

La galerie **ATB Fungus3®** (Fig. 21, [23]) teste des dilutions d'antifongiques de raison 2 [10]. La lecture des CMI est visuelle ou automatique après 24 à 48h d'incubation. La CMI est lue à 100% d'incubation pour l'amphotéricine B et à 50% d'incubation pour la flucytosine et les azolés. L'effet de traine est fréquent pour *C. albicans* et *C. tropicalis*. La détection des doubles populations sous forme de macrocolonies est possible. La concordance globale avec la méthode de référence du CLSI est de 75% à 99% et apparaît meilleure en lecture visuelle (99%) qu'en lecture automatique (94%) [26, 61]. Cette technique simple et rapide est limitée par l'absence du posaconazole et des échinocandines et n'est pas applicable aux champignons filamenteux.



Figure 3. Galerie ATB® Fungus 3. Lecture après 48 h. *C. glabrata* : concentration minimale inhibitrice (CMI) 5FC (flucytosine) $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ (sensible [S]), AMB (amphotéricine B) $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$ (sensible [S]), FCA (fluconazole) $2 \mu\text{g/ml}$ (sensible [S]), ITR (itraconazole) $0,25 \mu\text{g/ml}$ (sensible dose-dépendant [SDD]) et VRC (voriconazole) $0,125 \mu\text{g/ml}$ (sensible [S]).

Figure 21 : Galerie ATB Fungus 3.

La galerie colorimétrique **Fungifast®** est basée sur des dilutions d'antifongiques de raison 2 mais les gammes de concentrations testées sont restreintes à l'intervalle entre les seuils de sensibilité et de résistance. Cette technique s'apparente donc aux techniques qualitatives. La lecture est visuelle après 24h d'incubation.

Le système Sensititre **YeastOne®** est une méthode colorimétrique en microplaque basé sur des gammes de dilutions de raison 2 et applicable aux levures et à *Aspergillus sp.* Après 24 à 48h d'incubation pour les levures, 48 à 72 h pour *Aspergillus*, la CMI est déterminée par le premier puits sans virage colorimétrique. La concordance globale avec la méthode de référence du CLSI est de 91% pour les levures et de 98% à 100% pour les filamenteux [62].

Le système automatisé **Vitek 2®** teste quatre antifongiques en carte de 64 puits. La CMI est déterminée en 12 à 18 heures par lecture spectrophotométrique en cinétique du taux de croissance des levures et les résultats sont interprétés par le système expert. La concordance globale avec les méthodes de référence est de 80% à 100% [63,64]. Des sous-estimations de résistances ont été observées pour des souches de croissance lente.

b. Techniques quantitatives en milieu gélosé E-test® :

Les bandelettes graduées imprégnées d'un gradient d'antifongique sont déposées sur une gélose préalablement ensemencée [10]. La CMI est lue

directement à l'intersection entre la base de l'ellipse d'inhibition et la bandelette graduée après 24 à 48 h d'incubation pour les levures (Fig. 22,^[23]) et après 24h à 4 jours pour les filamenteux. Pour les levures, la CMI est lue à 100% d'inhibition pour l'amphotéricine B, à 90% pour la flucytosine et les échinocandines et à 80% pour les azolés. Le milieu RPMI 1640 additionné de 2% de glucose est recommandé, car il permet de tester tous les antifongiques, détecte bien les doubles populations sous forme de double ellipse et/ ou de macrocolonies et donne les meilleurs résultats de concordance avec les méthodes de référence. L'effet de traine pour *C. albicans* et l'effet paradoxal de la caspofungine sur *Aspergillus* sont souvent importants. Les alternatives sont les milieux casitone et Muller-Hinton (simple pour les filamenteux, supplémenté de glucose 2% et de bleu de méthylène 0,5% pour les levures) pour les azolés et l'antibiotic medium 3 (AM3) pour l'amphotéricine B et les échinocandines. La concordance globale avec les techniques de référence est de 90% à 100% pour les levures et les moisissures ^[62, 23].

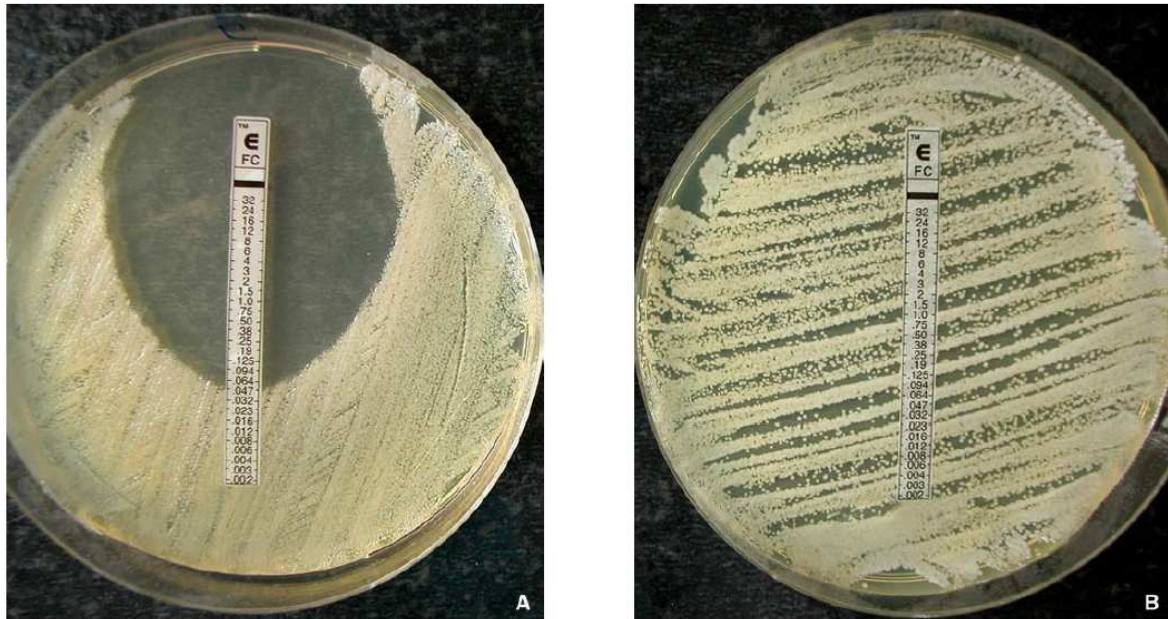


Figure 4. Méthode Etest®. Lecture après 24 h sur milieu Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640.
A. *C. albicans* souche A : concentration minimale inhibitrice (CMI) 0,047 µg/ml (sensible [S]).
B. *C. albicans* souche B : CMI > 32 µg/ml (résistante [R]).

Figure 22 : antifongogramme par la méthode E-test

2.3. Choix de la technique :

Il tient compte du type de champignon à tester (levure ou filamenteux), de la précision du résultat attendu (catégories R/S/I ou CMI), du panel d'antifongiques à tester, du degré de concordance avec les méthodes de référence, de la disponibilité d'intervalles de référence pour les souches contrôles de qualité. Les souches contrôles de qualité sont indispensables lors de la mise en place d'une nouvelle technique pour valider les conditions techniques et standardiser la lecture, ainsi que pour valider les réactifs préparés au laboratoire tels que les milieux de culture. Spécifiquement dédiés à cet usage, leurs intervalles de CMI ou diamètres d'inhibition ont été définis à l'aide des techniques de référence ^[55,23] mais peuvent varier légèrement pour les techniques commercialisées et doivent figurer dans les notices d'utilisation.

3. Interprétation des résultats :

Des seuils d'interprétation permettant de convertir un diamètre ou une CMI en résultats catégoriel ont été définis à l'aide des méthodes de références, les seuils du CLSI étant les plus complets et plus utilisés actuellement. Pour les levures, ils sont définis pour le genre *Candida* (Tableaux 17). Pour les techniques qualitatives en milieu liquide, l'interprétation des résultats se fait selon les seuils proposés par le fabricant [23].

Tableau 17 : Seuils d'interprétation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) établis par le Clinical and laboratory Standard Institute (CLSI) pour les levures [23].

| CMI (µg/ml) | S | SDD | I | R |
|-----------------|--------------------|----------|------|------|
| Amphotéricine B | ≤ 1 | | | > 1 |
| Anidulafungine | ≤ 2 | | | > 2 |
| Caspofungine | ≤ 2 | | | > 2 |
| Fluconazole | ≤ 8 ^(a) | 16-32 | | ≥ 64 |
| Flucytosine | ≤ 4 | | 8-16 | ≥ 32 |
| Itraconazole | ≤ 0,125 | 0,25-0,5 | | ≥ 1 |
| Micafungine | ND | | | |
| Posaconazole | ND ^(b) | | | |
| Voriconazole | ≤ 1 | 2 | | ≥ 4 |

Cependant, de nombreuses difficultés, en particulier le manque de standardisation des techniques, rendent difficile l'interprétation des résultats. Des différences peuvent être considérables d'un laboratoire à l'autre. L'interprétation des résultats doit donc être effectuée avec prudence. De plus, concernant les CMI, l'interprétation dépend de la composition des milieux utilisés, du pH, de la taille de l'inoculum, de la durée et la température d'incubation.

✦ **Facteurs influençant l'interprétation de la CMI :**

- **l'inoculum :**

L'inoculum peut également influencer les résultats. La technique utilisée pour la préparation de l'inoculum ainsi que sa taille influencent la valeur de la CMI. La méthode spectrophotométrique est la plus standardisable. Il semble que la taille idéale soit d'environ 0,5 McFarland à 530 nm ^[68, 9].

- **Le milieu :** le milieu utilisé dans les tests de détermination de CMI ne doit pas contenir des substances qui interfèrent avec les antifongiques. Par exemple, l'action de la 5-flucytosine peut être inhibée par les purines ou les pyrimidines contenues dans certains tampons (MOPS-tris : acide morpholine propane sulfonique), les stérols interfèrent avec les polyènes. La composition de l'agar varie en fonction des fabricants. Le RPMI 1640 tamponné pH 7,0 est le milieu de référence utilisé par NCCLS. Le milieu synthétique HR et le milieu casitone sont des bonnes alternatives pour évaluer la CMI du Fluconazole pour les levures ^[68].

- **Le pH :** le pH du milieu peut influencer la croissance des levures ou modifier l'activité de l'antifongique. A pH acide, les valeurs de CMI sont augmentées pour l'amphotéricine B et les azolés, mais diminuées pour la 5-FC. Les variations de pH sont neutralisées par l'adjonction de tampon ^[68].

- **La durée et température d'incubation :** la durée d'incubation est fonction de la vitesse de croissance de la souche. L'allongement de la durée d'incubation tend à augmenter la valeur des CMI. Si les CMI de l'amphotéricine B sont peu modifiées entre 24 à 48 heures, les CMI des azolés le sont. Le NCCLS recommande une incubation de 48 heures pour les *Candida*. AB biodisk recommande la détermination des CMI à 24 heures par la méthode E-test. La température d'incubation idéale est de 35 °C ^[68, 9].

En conclusion, il faut dire l'interprétation des résultats des tests de sensibilité répond à trois principes clés :

- Une CMI n'est pas une mesure chimique ou physique ;
- Les facteurs inhérents à l'hôte supplantent les résultats des tests de sensibilité pour juger de l'évolution clinique ;
- La sensibilité ou la résistance in vitro ne sont pas prédictives, respectivement, d'un succès ou d'un échec thérapeutique.

4. Corrélation in vitro/ in vivo :

4.1. Particularité de la bonne corrélation in vitro/ in vivo :

Une analyse critique de la littérature, montre qu'en dehors de la situation très particulière de la candidose oropharyngée du sidéen, les données in vitro n'ont aucune valeur prédictive de l'évolution thérapeutique in vivo ^[69,70]. En effet, la sensibilité in vitro n'est pas prédictive d'un succès thérapeutique, de même la résistance in vitro n'est pas prédictive d'un échec thérapeutique.

Il existe une excellente corrélation in vitro/ in vivo pour le fluconazole chez les patients infectés par le VIH et présentant une candidose oropharyngée. Des relations ont pu être établies, surtout pour les dérivés azolés, entre les CMI et le devenir des patients atteints. Les CMI prédictives de succès ou d'échec thérapeutique vis-à-vis de *Candida* sp sont établies ^[69].

L'étude de Walmsley, est une des contributions mettant en évidence une corrélation entre tests de sensibilité in vitro et évolution clinique. Chez ces patients positifs au VIH ayant une candidose oropharyngée, le taux d'échec clinique est associé à 61% de souche de *Candida* résistantes ou sensible dose dépendantes (tableau 18), alors que lorsque les souches causant l'infection sont sensibles ou sensibles dose dépendantes, le taux de succès atteint 86 % ^[71].

Tableau 18 : fluconazole dans le traitement de la candidose oropharyngée chez des patients

VIH+ : corrélation in vitro et in vivo.

| Candida albicans | Echec clinique | Succès thérapeutique |
|------------------|----------------|----------------------|
| R/S-DD | 61% | |
| R/S-DD | | 86% |

4.2. Problème de mauvaise corrélation in vitro/ in vivo :

Il existe d'importants problèmes d'interprétation des CMI, voire une mauvaise corrélation in vitro/in vivo dans les autres infections fongiques pour le fluconazole. Citons par exemple que les résistances à l'amphotéricine B sont difficilement évaluables (CMI > 1 mg/ml). La M27 ne permet pas de les identifier et *C.lusitaniae* montre souvent une résistance primaire. Les résultats suggérant une corrélation sont essentiellement historiques basés sur des constructions pharmacocinétiques. Enfin, aucune donnée clinique n'est disponible pour amphotéricine B ni pour les candines ^[8]. L'étude de JH Rex et al. Parue en 1995 comparant fluconazole et amphotéricine B dans le traitement des candidémies chez les patients non neutropéniques illustre bien l'absence de corrélation clinique et in vitro ^[73]. La sensibilité in vitro a été testée par la méthode NCCLS M27 sur 232 souches de *Candida* sp isolées à partir d'hémoculture de patients traités soit par le fluconazole (400 mg/j) soit par amphotéricine B (0,5 mg/kg/j). Les CMI pour amphotéricine B sont très serrées (0,125 à 1 µg/ml) et il n'est pas trouvé d'isolats résistant in vitro, ni de corrélation entre l'augmentation des CMI et échec du traitement. Pour le fluconazole, les CMI vont de 0,125 à plus de 64 µg/ml. Il n'a pas été trouvé là non plus de corrélation entre l'augmentation des CMI et échec du traitement.

4.3. Facteurs compliquant la corrélation in vitro/in vivo :

Il est clair que le problème de corrélation in vitro/in vivo est éminemment complexe. Cette difficulté est liée principalement à la méthodologie d'antifongigramme (in vitro) aux facteurs de l'hôte, aux modèles animaux et à l'antifongique, qui constituent un ensemble de particularités compliquant très sérieusement la réalisation des études cliniques et l'interprétation des résultats de l'antifongigramme. Ce qui accentue la complexité d'extrapolation des résultats obtenus in vitro à une situation clinique bien définie.

- ✦ **la méthodologie** : Opérer en in vitro n'est certainement pas opérer en in vivo et une CMI n'est pas une valeur absolue comme l'est une mesure physique ou chimique. Quelque soit la méthode utilisée, elle mesure « une » CMI et non « la » CMI. En effet, les conditions expérimentales ont une influence considérable sur les résultats. En témoignent les observations faites au cours du développement de la méthode du NCCLS, pour les souches données connues comme sensibles (S) ou résistantes (R) d'après des modèles animaux, les valeurs de CMI obtenues peuvent être multipliées par un facteur de 2 à 16 selon le milieu et les conditions expérimentales déterminées ^[70]. L'objectif serait donc de corriger les défauts observés pour aboutir à une méthode fiable qu'on pourra considérer comme une méthode de CMI capable de donner une probabilité d'échec thérapeutique.
- ✦ **Les essais cliniques** : outre les paramètres strictement liés à la souche infectante, de nombreux facteurs liés à l'hôte, ont un retentissement majeur en termes de succès ou échec thérapeutique. Malheureusement, ils sont insuffisamment pris en compte dans les études cliniques. Ces facteurs sont liés :
 - A l'hôte : maladie sous jacente, immunodépression ...
 - Au site de l'infection : corps étranger, abcès...

- A la pharmacocinétique de l'antifongique employé : posologie inadaptée, pénétration insuffisante au site d'infection, interaction médicamenteuse, mauvaise observance...
- A l'agent pathogène lui-même : échappement, libération de facteurs de virulence ou toxines...

Par conséquent, face à une situation d'échec thérapeutique, en particulier dans les traitements impliquant le fluconazole, une analyse précise des facteurs à prendre en compte pour documenter une éventuelle résistance doit être effectuée. Cette approche constitue le seul moyen d'établir une corrélation in vitro/in vivo et de progresser dans la définition des concentrations critiques ^[70].

✦ **Les modèles animaux :** pour palier au problème des interférences liées au patient et lorsqu'on veut corréler des résultats in vitro à l'évolution in vivo, la réalisation de modèles expérimentaux animaux constitue la solution. Néanmoins, même dans les modèles animaux des résultats sont parfois contradictoires, et ceci pourrait évidemment être un argument pour nier toute corrélation entre CMI et issue thérapeutique. Etant donné la complexité de la physiopathologie de l'invasion fongique, force est de reconnaître que les modèles animaux ne reproduisent que très imparfaitement l'infection humaine. Par ailleurs, ces modèles peuvent être éminemment complexes par les différences de pharmacodynamie et de pharmacocinétique des antifongiques chez l'animal peuvent rendre difficile l'adaptation des doses. Malgré cela, cette approche peut donner des données initiales très utiles ^[70]. D'après une revue portant sur 17 études impliquant des modèles expérimentaux animaux, 12 montraient une relation cohérente entre les données obtenues in vitro et l'efficacité thérapeutique, pour l'amphotéricine B, la flucytosine et divers dérivés azolés. Les progrès sont encourageants :

✦ **L'antifongique :** pour les antibiotiques, les relations entre données pharmacocinétiques et effets obtenus ont été largement étudiées. Cette approche pourrait à l'avenir fortement influencer les stratégies thérapeutiques antifongiques. L'objectif serait pour chaque antifongique de définir parmi ces trois paramètres celui qui tend à produire la meilleure corrélation clinique pour une souche donnée :

- ✓ Détermination du temps pendant lequel la concentration de l'antifongique dépasse la CMI ;
- ✓ Rapport entre la concentration sérique maximale de l'antifongique et la CMI ;
- ✓ Rapport entre l'aire sous la courbe d'exposition à l'antifongique (ASC) et la CMI.

Par exemple, dans le cas du fluconazole et *candida*, il apparaît que le rapport ASC/CMI constitue le meilleur facteur prédictif d'efficacité thérapeutique ^[70].

5. Complexité de la standardisation des techniques d'évaluation de sensibilité des antifongiques in vitro :

La difficulté d'interprétation des CMI obtenues par l'antifongigramme n'est pas le seul problème qui se heurte à son utilisation et sa pratique. L'antifongigramme est aussi difficile à standardiser. En effet, l'absence de reproductibilité des CMI entre les laboratoires (variation jusqu'à 50 00 fois) a imposé la nécessité d'obtenir des méthodes standardisées et reproductible ^[8]. L'étape de standardisation de l'antifongigramme a constitué un préliminaire pour le NCCLS, dont le but initial a été d'obtenir, pour des souches de levures données, des CMI reproductibles non seulement au sein d'un même laboratoire mais aussi d'un laboratoire à l'autre.

En dépit des critiques évoquées, les efforts développés par le NCCLS depuis 1985 restent considérables pour réduire la complexité de cette standardisation. Ces travaux ont consisté à examiner le rôle de l'ensemble des variables susceptibles d'intervenir dans la reproductibilité des résultats, notamment pour les antifongiques azolés qui sont particulièrement influencés par les conditions environnementales : densité de l'inoculum, temps et température d'incubation, composition du milieu. Cette stratégie aboutit à la publication de documents définissant les conditions opératoires pour les levures (M 27-A juin 1997) et qui servent aujourd'hui de référence ^[70]. Cette méthode standard est toutefois lourde, et de nouvelles approches ont été proposées :

- ✚ Utilisation de nouveaux milieux : RPMI et glucose, Casitone® ;
- ✚ Méthode de microdilution
- ✚ E-test (bonne alternative) ;
- ✚ Milieu antibiotique 3 pour révéler les résistances à l'amphotéricine B.

Effectivement, comme la méthode M27-A ne fait pas clairement la différence entre les levures qui sont sensibles et celles qui sont potentiellement résistantes à l'amphotéricine B, le remplacement du bouillon RPMI-1640 standard par le milieu antibiotique 3 a été suggéré pour la détermination de la CMI de l'amphotéricine B ^[74].

Pour le NCCLS l'objectif n'était pas de proposer une méthode destinée à être utilisée en pratique courante au laboratoire. Mais le but princeps était, outre l'obtention de résultats reproductibles et la définition de souches contrôles, de constituer une référence pour l'évaluation des autres méthodes existantes. La macrométhode initiale devant ensuite évoluer vers une trousse de routine avec un format en microdilution plus pratique ^[70]. Par ailleurs, divers problèmes ont

surgi tels que le phénomène de traîne. Des problèmes qui devraient être corrigés et faire l'objet de nouvelles recommandation du NCCLS.

IV.3. Les résistances :

IV.3.1 Résistances aux antifongiques :

La maîtrise des mécanismes physiologiques déterminants la résistance des champignons aux antifongiques permet de mieux cerner l'épidémiologie de ces microorganismes, l'identifier des cibles pour les nouvelles molécules mais aussi d'anticiper les nouvelles résistances.

1. Définition :

La résistance antifongique peut être définie comme la diminution de la sensibilité à un antifongique, mesurée in vitro par les méthodes appropriées et standardisées. La sensibilité d'un champignon est estimée le plus souvent par la mesure de la CMI vis-à-vis d'un antifongique donnée. Cette CMI correspond à une concentration d'antifongique inhibant la croissance de la grande majorité d'un groupe d'isolats de la même espèce. La CMI₅₀ et la CMI₉₀ correspondent à l'inhibition respectivement de 50% et 90% d'un groupe d'isolats de même ou différentes espèces à une concentration d'antifongique donnée. Cependant, une CMI ne peut être considérée comme une valeur absolue prédictive de succès ou d'échec thérapeutique. En effet, la mesure in vitro d'une CMI est tributaire de nombreux éléments (température, pH...). La définition des résistances par des valeurs seuils requiert un consensus et une collaboration effective pour la standardisation, ce que réalise le NCCLS ^[75, 52].

2. Types de résistances :

✚ **Résistance innée :** la résistance à un antifongique peut être innée, c'est le cas de *C. krusei* au fluconazole. Une résistance innée peut se manifester par une apparition des CMI bimodale. C'est le cas de la résistance à la 5 flucytosine de

C. albicans ou sont rencontrés des isolats ayant une CMI haute et d'autres une CMI basse [76].

✚ **Résistance acquise** : la résistance acquise se rencontre après exposition de certaines souches aux antifongiques. On assiste à une modification de CMI pour une même espèce ainsi qu'à une répartition des CMI dans un plus large spectre de concentration d'antifongique.

C'est le cas de la résistance de *C. albicans* au fluconazole [76].

✚ **Multirésistance médiée par les pompes à efflux** : c'est une résistance acquise par efflux transmembranaires a été découverte auparavant [77]. Les pompes à efflux peuvent donner lieu à des phénotypes de résistance croisée aussi bien chez les eucaryotes que chez les procaryotes. Le mécanisme de ce type de résistance est corrélé à la surexpression des pompes à efflux qui sont des transporteurs membranaires entraînant une excrétion de molécules toxique. En effet, les pompes d'efflux peuvent être classées, selon la source d'énergie nécessaire à leurs changements de conformation lors du transport, fournies soit par dissipation d'un gradient de protons, proton motive force (PMF) ou d'ions Na⁺, soit par hydrolyse d'adénosine triphosphate (ATP) [78].

La surexpression des protéines d'efflux est maintenant aisément caractérisée chez les isolats cliniques résistants, en particulier, aux antifongiques azolés. L'enjeu de la recherche dans ce domaine depuis le début des années 2000 permettrait de comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine de la dérégulation de l'expression de ces gènes.

3. Les causes de résistance aux antifongiques :

Les causes d'apparition des résistances aux antifongiques sont multiples, à savoir, l'utilisation abusive des traitements antifongiques disponibles mais également l'augmentation de l'effectif des patients immunodéprimés dans

différents services. Toutefois, il faut faire la distinction entre la résistance in vitro d'une espèce à un antifongique, et échec thérapeutique clinique d'un traitement antifongique. En effet, la résistance au antifongique de l'espèce est un élément propre au microorganisme qui est du aux altérations génétiques. Tandis que l'échec clinique inclut de nombreux paramètres liés :

- **Au champignon responsable** : son genre et espèce, sa virulence, son niveau de résistance intrinsèque ou acquise ;
- **A l'antifongique utilisé** : son choix, les posologies prescrites, ses propriétés pharmacocinétiques et ses interactions médicamenteuses potentielles ;
- **A l'hôte** : son statut immunitaire, le site et la sévérité de l'infection, la posologie sous jacente et la présence ou non d'un cathéter ^[76,79].

IV.3.2 Mécanismes de résistance aux antifongiques azolés :

Bien que depuis quelques années la fréquence de la résistance aux antifongiques azolés n'augmente plus en raison de l'amélioration des thérapies antifongiques, le début des années 1990 s'est accompagné d'une augmentation considérable de nombre d'isolats cliniques résistants. De même, si le profil des espèces rencontrées s'est modifié depuis des vingt dernières années, c'est en partie en raison de l'utilisation croissante des antifongiques azolés et de la sélection des espèces qui leurs sont le moins sensibles, ou ayant la plus forte propension à développer une résistance à cette classe d'antifongiques.

Les mécanismes moléculaires à l'origine de la résistance aux azolés ont été largement étudiés et peuvent être repartis en quatre catégories ^[80, 19, 24] :

1. Diminution de l'affinité des azolés pour la cible :

Ainsi, une mutation ponctuelle du gène ERG 11, se traduisant par une modification de la séquence en acides aminés de la lanostérol 14 α déméthylase, suffit à empêcher la liaison entre l'antifongique et l'enzyme. De nombreuses mutations ont été identifiées, notamment chez *Cryptococcus neoformans*, *C.albicans* ^[81] et *C. tropicalis* ^[82].

2. Multiplication du nombre de copies de la 14 α déméthylase :

Dans cette situation, les azolés ne sont pas en quantité suffisante pour inhiber totalement la conversion du lanostérol en stérol 14 α déméthylé. Ainsi, la surexpression de gène ERG 11, par duplication chromosomique ou modification du promoteur, comme l'augmentation de la demi-vie des ARNm, peut aboutir à la résistance ^[83].

3. Blocage de la voie de biosynthèse de l'ergostérol :

Il s'agit d'un mécanisme moins fréquemment observé chez les isolats cliniques résistants aux antifongiques azolé. Il est connu que l'effet fongistatique des azolés repose sur la conversion en stérols toxique des intermédiaires 14 α déméthylase. Ainsi, une mutation d'un gène responsable de la synthèse de ces intermédiaires toxiques aura pour conséquence une résistance aux azolés. C'est notamment le cas pour *C. albicans*, chez qui la mutation du gène ERG3 aboutit à une résistance aux azolés ^[84].

4. Surexpression des pompes d'efflux :

La résistance aux azolés a été observée chez des souches cliniques de *C. albicans* qui est due à l'efflux du fluconazole de la cellule par l'expression constitutive élevée des deux types de transporteurs d'efflux : ATP-ABC codés par les gènes *Candida* drug response (CDR) qui utilisent l'adénosine

triphosphate (ATP) comme source d'énergie, et les MFS à laquelle appartient multidrug resistance1 (MDR 1) qui utilise un gradient de protons à travers la membrane comme une force motrice pour le transport ^[133]. En effet, un défaut d'accumulation d'azolés à l'intérieur de la cellule fongique a été identifié comme un mécanisme d'importance des résistances aux azolés chez des patients positifs au VIH souffrant de Candidose oropharyngée. Un isolat de *Candida* peut devenir résistant aux azolés par une augmentation d'efflux liée à une surexpression de transporteurs multidrogues de deux classes les transporteurs ATP-binding-Cassette (ABC) et la famille Major facilitator (MF). La surexpression des gènes codants pour ces transporteurs est impliquée dans ce phénomène. Pour la famille MF, qui ont la capacité de transporter non seulement des azolés, c'est la protéine CaMDR1 et la surexpression du gène CaMDR1 qui confère une résistance de *Candida spp* aux azolés. Mais le rôle prédominant de la surexpression des gènes codant des transporteurs à efflux concerne les transporteurs ABC (CDR1 et CDR2) chez *C. albicans*. La surexpression de ces transporteurs provoque une baisse de concentration intracellulaire d'azolés, la cellule continuant de synthétiser de l'ergostérol et de croître malgré une concentration élevée d'azolés ^[76].

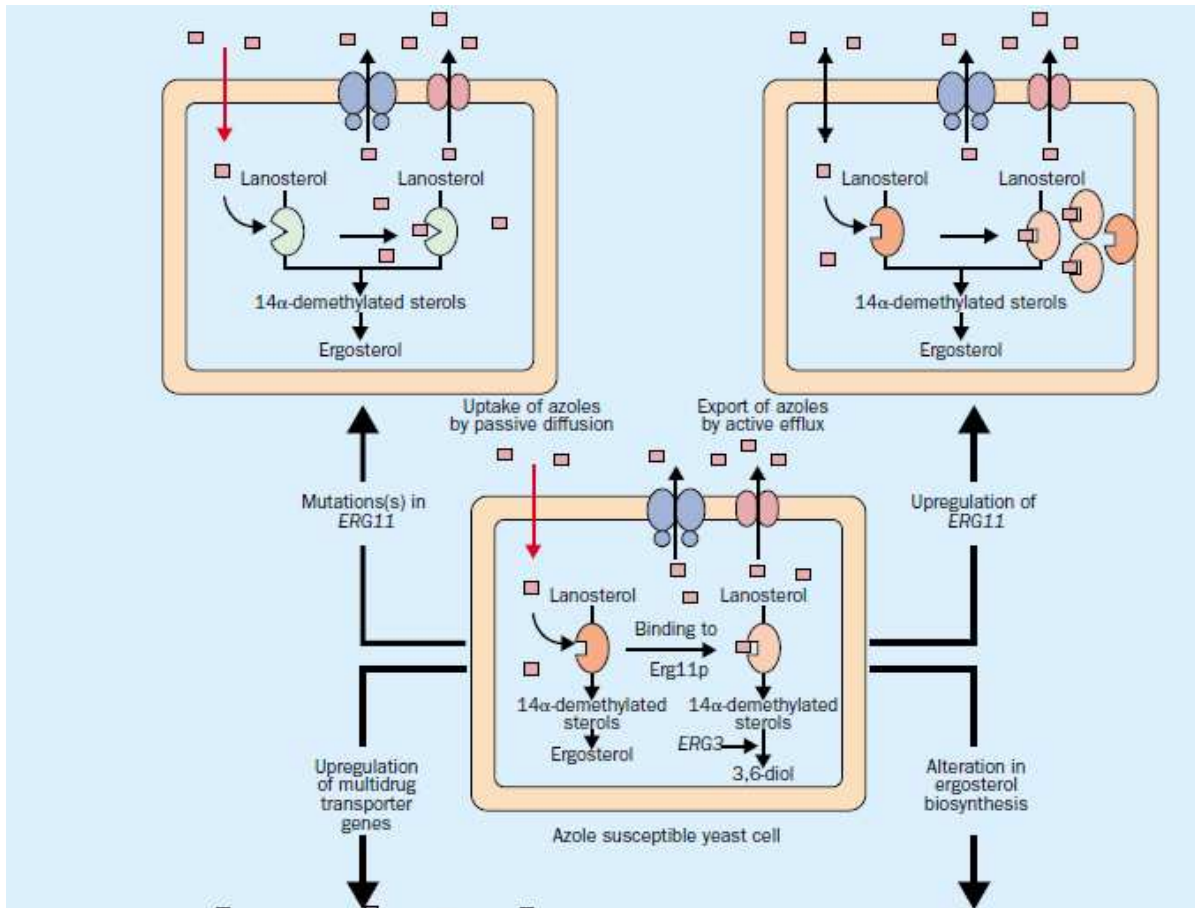


Figure 23 : Les mécanismes moléculaires à l'origine de la résistance aux azolés ^[76]

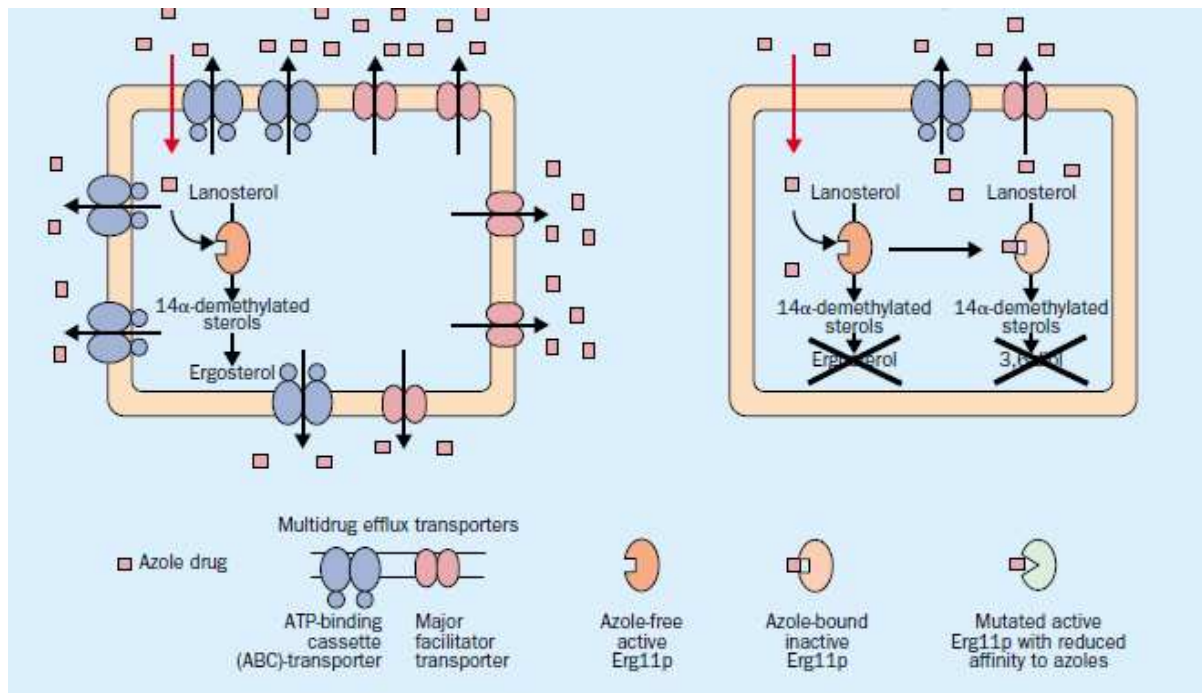


Figure 23 : Les mécanismes moléculaires à l'origine de la résistance aux azolés [76]

IV.4. Données épidémiologiques :

IV.4.1. Epidémiologie des résistances de *Candida* aux antifongiques:

L'augmentation de la fréquence des infections systémiques à *Candida sp*, la modification de la répartition des espèces sont accompagnées d'une évolution des résistances aux antifongiques. Si les levures du genre *Candida* sont quasiment uniformément sensibles à l'amphotéricine B, ce n'est pas le cas pour les dérivés azolés envers lesquels le degré de sensibilité varie d'une espèce à l'autre et parfois même entre les souches d'une même espèce. *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata*, et *C. lipolytica* présentent parfois une sensibilité diminuée aux azolés, *C. krusei* est généralement résistante.

Depuis quelque années, il a été rapporté que la proportion de souches de *Candida non albicans* intrinsèquement résistantes aux dérivés triazolés a

augmenté de façon importante dans certains centres d'oncohématologie dans les services de réanimation. C'est tout particulièrement le cas pour *C.glabrata* et pour *C. krusei* [85].

1. Résistance aux azolés chez les patients VIH+

L'acquisition de résistance par *C.albicans* est bien décrite chez les patients victimes d'une infection à VIH, et elle survient habituellement dans des circonstances bien particulières :

Il s'agit des patients dont le nombre de lymphocytes CD 4 est généralement inférieur à 50 mm³ qui sont exposés à de faibles doses de fluconazole (50 à 100 mg/j) pour le traitement d'une candidose oropharyngée ou œsophagienne. La résistance clinique peut parfois être vaincue par une posologie plus élevée, de 400 à 800 mg/j [85]. Quoique dans 9% [86] à 13% [87] des cas, une résistance apparaît.

Bien que la prophylaxie secondaire par le fluconazole a été abandonnée dans les années 90 pour éviter émergence d'espèces naturellement résistantes au fluconazole comme *C. glabrata* et *C. krusei* [88]. Ceci n'évite pas l'apparition de souches de *Candida albicans* avec des CMI augmentées au fluconazole chez des sujets VIH+ ayant subi des traitements au coup par coup de leurs candidoses oropharyngées.

La crainte de résistance au fluconazole dues à la pression de sélection d'un traitement antérieur est cantonnée à ce type de malades, à l'exclusion des autres, notamment non neutropéniques est élevée [89]. Ces terrains présentent beaucoup de particularités favorisant l'apparition de résistances :

- L'immunodépression qui favorise l'hétérogénéité génétique de *Candida*, ce qui accélère le développement de mutants résistants ;

- L'importance de l'inoculum et la variété des espèces colonisant la bouche ^[86], ainsi que le traitement au long cours et à faibles doses ^[89,90] augmentent le taux d'exposition des *Candida* aux antifongiques ;
- Enfin, la variété des mécanismes possibles de résistances aux azolés diminue le nombre de mutations nécessaire à l'émergence d'une résistance.

Divers études vont dans ce sens : certains auteurs ont montré de grandes variations phénotypiques, une grande hétérogénéité génétiques ^[91] et une activation de divers mécanismes de résistances ^[92] chez les souches isolées des malades atteints du sida, alors que ces phénomènes sont exceptionnellement retrouvés chez les *Candida* isolés de sujets sains ^[93]. Dans l'étude de Sobel portant sur des prélèvements oraux et vaginaux chez 1200 femmes porteuses ou à risque de sida et traitées au long cours au fluconazole ^[94], la prévalence de *C. albicans* est restée stable après deux ans, aussi bien chez les VIH+ (de 87 à 83%) que négatifs (82 à 87%). Cela fait douter de l'importance du rôle de l'utilisation du fluconazole dans l'émergence de *Candida non albicans*. Trois études prospectives de l'évolution des prélèvements vaginaux chez des femmes traitées au long cours par le fluconazole n'ont pas mis en évidence d'augmentation de taux de résistance ^[95,79]. Enfin, aucune augmentation des CMI n'a été constatée dans une étude randomisée multicentrique comparant l'amphotéricine B au fluconazole dans les candidémies chez les malades neutropéniques ^[127].

Sur une période s'étendant de décembre 1994 à juin 1996, l'acquisition de la résistance aux azolés de *C. albicans* au cours de Candidoses oropharyngées a été étudiée chez trois patients VIH+ au sein du centre hospitalier de Versailles ^[89]. Les objectifs étaient d'une part d'établir si lors des candidoses qui échappaient

cliniquement au traitement d'abord par le fluconazole puis par l'itraconazole, les souches isolées étaient résistantes in vitro à ces azolés. Pour cela les CMI étaient mesurées par le E test ®. D'autre part de vérifier si une seule souche devenait résistante progressivement in vitro ou si la souche résistante était acquise ultérieurement. Pour cela une analyse génotypique des souches a été mise en place.

Sur les trois patients, le premier patient a présenté une vraie résistance clinique. L'échec thérapeutique ne pouvait pas être attribué à une mauvaise compliance du traitement ou à des posologies insuffisantes ou à une durée de traitement insuffisante, comme cela a été reporté dans certains cas ^[87]. Une augmentation des CMI du fluconazole et de l'itraconazole des souches appartenant au même pulsotype est observée chez ce patient au fur et à mesure que des traitements par le fluconazole sont reçus. La même augmentation est constatée pour les souches appartenant à chacun des deux pulsotypes du deuxième patient, toxicomane, pour qui les posologies et les durées de traitement n'ont pas toujours été respectées.

A la lumière de cette étude deux importantes notions ont été dégagées, la première c'est que la présence de souches de *C.albicans* résistantes au traitement dans les candidoses oropharyngées est retrouvées patients ayant subi de nombreuses cures par les azolés à petites doses, et chez lesquels le nombre de CD4 est faible (premier patient). La seconde c'est que les souches ayant une CMI élevée parmi la population d'origine sont celles qui développeraient une résistance aux azolés (deuxième patient) ^[96].

En conclusion, selon le modèle de la résistance bactérienne aux antibiotiques, les faibles doses d'azolés seraient responsables de l'apparition des résistances. Tandis que les fortes doses d'azolés administrées durant une période de temps

suffisante pourraient éviter l'apparition des résistances. L'association de deux antifongiques ayant deux mécanismes d'action différents dans le traitement de la candidose oropharyngée chez le sujet VIH+ pourrait éviter l'apparition de résistances. Dans une autre étude cas/contrôle, l'observation de patients infectés par le VIH, a permis d'établir que la survenue d'une résistance au fluconazole était liée de façon significative à la durée du traitement par cet antifongique. Au nombre de médicaments antirétroviraux utilisé et au statut immunitaire des patients. Globalement, la prévalence de la résistance aux azolés est de 1 à 3% chez les patients sous traitement HAART [97].

2. Résistance au fluconazole :

Chez les sujets ayant une allogreffe de moelle, soumis à un traitement prophylactique par 400 mg de fluconazole, on observe que 53% des patients ont eu au moins un prélèvement positif à *Candida non albicans*, essentiellement à *C.glabrata* 99% et *C. krusei* 100% résistants au fluconazole [98].

Tableau 19 : prophylaxie par le fluconazole chez les patients ayant reçu une allogreffe de moelle : Incidence sur la résistance au fluconazole de diverses espèces *Candida*

| Espèces | N | Résistance au fluconazole |
|--------------------------|-----|---------------------------|
| <i>C.albicans</i> | 885 | 5,3% |
| <i>C.glabrata</i> | 398 | 99% |
| <i>C. krusei</i> | 80 | 100% |
| <i>C. lusitaniae</i> | 20 | 30% |
| <i>C.tropicalis</i> | 10 | 30% |
| <i>C. guilliermondii</i> | 9 | 100% |
| <i>C.lipolytica</i> | 2 | 100% |

3. Résistance croisée aux azolés chez *Candida glabrata* :

C. glabrata est actuellement la deuxième cause la plus fréquente de candidémies aux Etats-Unis,

Et cette infection est associée à une mortalité importante [98,99]. Une résistance microbienne au fluconazole apparait rapidement, selon les données recueillies de 1993 à 2002 par le programme international de surveillance antifongiques ARTEMIS (Global antifungal surveillance Program), 8,2% des isolats de *C.glabrata* avaient une CMI > 64 pg /ml pour le fluconazole et seulement 60% étaient réellement sensibles, selon des critères décrits dans des publications antérieures sur les limites d'interprétation des analyses [100,101].

L'utilisation de fluconazole semble être un des facteurs influençant l'incidence des infections à *C.glabrata* dans certaines régions géographiques [102]. Le potentiel de résistance cliniquement significative, est devenu évident avec les récentes observations mettant en évidence l'apparition d'une candidémie à *Candida glabrata* chez les patients sous fluconazole [103], ainsi que l'apparition d'une résistance croisée dans les isolats prélevés dans la cavité buccale et la circulation sanguine [104].

Une étude a permis de déterminer la portée des résistances croisées aux nouvelles molécules azolés d'isolats de *C.glabrata* observée dans le cadre d'infection chez des receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques traités par les dérivés azolés. Sept cas de candidose invasive due à *C. glabrata* se sont produits chez des patients traités par dérivés azolés entre janvier 2000 et décembre 2004 au centre de recherche sur le cancer Fred Hutchinson. Plusieurs isolats de la série ont présenté des CMI relativement élevées vis-à-vis des dérivés azolés anciens (fluconazole) et récents (voriconazole) approuvés pour le traitement des candidémies. Cette observation a des implications thérapeutiques

importantes, puisqu'elle suggère que *C.glabrata* peut présenter une résistance cliniquement significative à différents médicaments azolés ^[105]. Des séries de cas de ce qui semble être une résistance microbienne cliniquement significative décrites ^[106,103].

Deux études récentes ont examiné en détails le développement in vitro de la résistance croisée aux dérivés azolés. Une de ces études a évalué des isolats de *C.glabrata* recueillis dans des échantillons cliniques au cours d'une enquête hospitalière de 3 ans en Italie. Dans cette étude, qui incluait des isolats présentant des phénotypes résistants au fluconazole ou sensibles et dose-dépendante, on a observé une résistance croisée au voriconazole ^[107]. Dans une autre étude, les investigateurs ont observé l'acquisition rapide et stable d'une résistance croisée aux dérivés azolés dans des isolats de *C.glabrata* exposés au fluconazole par culture sériée au laboratoire ^[108].

Dans une autre étude exceptionnelle et intéressante portant sur une observation chez une patiente présentant une candidose invasive et une candidémie due à *C.glabrata*. La patiente a développé une résistance exceptionnelle à tous les antifongiques triazolés actuellement disponibles, après un traitement par le fluconazole. Ce cas a incité la détermination de la fréquence des résistances croisées parmi les isolats sanguins de *Candida* recueillis au cours d'une période de 12 mois dans le centre hospitalier ^[109].

La patiente présentait une infection intra-abdominale et sanguine due à *C.glabrata*. L'isolat de *C.glabrata*, initialement sensible in vitro au fluconazole, voriconazole et posaconazole, a développé une résistance croisée à tous les antifongiques triazolés actuellement disponibles, après un traitement par le fluconazole, sans exposition antérieure connue aux triazolés à large spectre. Ce

cas est similaire à une autre observation rapportée récemment, concernant un patient souffrant d'endocardite sur prothèse valvulaire due à *C.parapsilosis* ^[110].

Malgré l'infection par un microorganisme initialement sensible au fluconazole et au voriconazole, le patient de cette publication a développé une Candidémie récidivante due à une souche apparemment identique de *C.parapsilosis* qui était résistante au fluconazole et au voriconazole. Ce patient avait reçu un traitement prolongé par fluconazole mais avait jamais été traité par voriconazole.

La rapidité avec laquelle l'isolat de *C.glabrata* de la patiente a développé une résistance aux triazolés actuellement disponible est corroboré par le travail in vitro de Borst et Coll., qui ont démontré que les isolats de *C.glabrata* obtenus avant l'introduction du fluconazole développaient une résistance stable au fluconazole, à l'itraconazole et au voriconazole après seulement 4 jours d'exposition au fluconazole. Ces auteurs ont conclu que l'acquisition rapide d'une résistance aux dérivés azolés chez *C.glabrata* pouvait survenir en l'absence de toute exposition antérieure à ces médicaments, et quelle était associée à l'expression accrue de gènes de transporteurs ABC ^[108].une autre étude sur les mécanismes de résistances des isolats de *C.glabrata* provenant de receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques ayant reçu un traitement par fluconazole à titre prophylactique a montré que les CMI doubleraient, en moyenne, tous les 31 jours ^[110].

Ce qui est encore plus surprenant dans cette observation, c'est le fait que 24% des isolats sanguins de *Candida* évaluables pendant cette période avaient des CMI du fluconazole in vitro > 16 µg /ml, ce qui indique au moins une diminution de la sensibilité, et 11% étaient résistants, avec des CMI > 64 µg/ml. A l'exception de *C. krusei*, les isolats de *Candida* ayant des CMI du fluconazole < 64 µg/ml sont susceptibles d'être résistants in vitro au

voriconazole. Ces résultats corroborent ceux de Pfaller et coll, qui ont montré que sur 12 796 isolats cliniques de *Candida*, la présence de CMI du fluconazole > 64 µg/ml permettait de prévoir une résistance au ravuconazole, définie comme une CMI > 2 pg/ml [74]. Une autre étude réalisée par Pfaller et Coll. A démontré que la résistance au fluconazole n'était pas fréquente parmi les 3932 isolats cliniques de *Candida* analysés (2,9%) mais qu'environ la moitié des isolats résistants au fluconazole avait des CMI du voriconazole et du posaconazole > 2µg/ml [100].

Alors que la résistance au fluconazole et la résistance au voriconazole étaient relativement peu fréquentes dans les études citées ci-dessus, avec environ 3% des isolats ayant des CMI du fluconazole < 64 µg/ml et moins de 2% des isolats ayant des CMI du voriconazole > 2 µg /ml [100], la résistance à ces médicaments a été plus fréquente dans cette étude. Au moins 9 des 125 isolats sanguins (c'est-à-dire environ 7%) avaient des CMI du voriconazole > 2 µg/ml, ce qui souligne les différences géographiques de résistance aux dérivés azolés rencontrés dans le pays et dans le monde [111,112]. La plupart des isolats résistants de l'étude étaient des *C.glabrata* mais de nombreux isolats de *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.parapsilosis* avaient une sensibilité moindre ou une résistance aux deux médicaments. En revanche, il est intéressant de noter que les quelques isolats de *C. krusei* de l'étude étaient sensible au voriconazole, une donnée mise en évidence par d'autres auteurs [100].

A la lumière des résultats de cette étude, il est indispensable d'effectuer d'autres études évaluant la relation entre résistance et évolution clinique afin de déterminer une approche thérapeutique efficace pour les patients souffrants de candidoses invasives.

L'analyse de cette littérature démontre donc que les isolats colonisant de *C.glabrata* peuvent acquérir une diminution de sensibilité à plusieurs dérivés azolés, y compris le fluconazole. Ce qui corrobore avec ce qui a été décrit dans nos résultats, puisque le fluconazole a été significativement actif contre toutes les espèces de *Candida* à l'exception de *C.glabrata* et *C. krusei* qui sont révélées respectivement moins sensible et plus résistante au fluconazole que toutes les autres espèces de *Candida*. De ce fait, des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer les mécanismes moléculaires permettant aux azolés d'acquérir une résistance séquentielle à différents dérivés azolés. De plus, une prudence s'impose lorsqu'on envisage de traiter une candidémie à *C. glabrata* par le voriconazole dans une situation susceptible de générer une résistance au fluconazole. Les directives actuelles suggèrent que les cliniciens envisagent l'utilisation d'antifongiques autres que le fluconazole pour le traitement des candidoses invasives, chez les patients ayant déjà été exposés aux dérivés azolés et dont l'état est instable ou qui sont infectés par des espèces connus pour être moins sensibles au fluconazole ^[113].

IV.4.2 Facteurs de risques d'émergence des résistances aux antifongiques :

Les hypothèses évoquées pour expliquer le phénomène de résistance sont l'altération des défenses de l'hôte, secondaire à l'agressivité croissante des mesures diagnostiques et thérapeutiques et la pression de sélection exercée par l'utilisation de plus, en plus large de certains antifongiques (particulièrement les azolés).

Le statut immunitaire et le type d'immunodépression sont les deux facteurs prédominants. La persistance d'une neutropénie profonde ou d'une thérapie immunosuppressive joue un rôle important, l'immunodépression paraît favoriser l'hétérogénéité génétique de *Candida* qui accélère le développement de mutants

résistants. La présence de matériel étranger est un facteur aboutissant à la pérennisation de l'infection sous traitement antifongique par une mauvaise diffusion de l'antifongique l'importance de l'inoculum fongique. Enfin, la compliance du patient vis-à-vis de son traitement reste un facteur important et difficile à contrôler ^[85].

Les progrès thérapeutiques et la mise à disposition des dérivés de l'imidazole, moins toxiques que l'amphotéricine B, ont permis le développement du concept de traitement empirique précoce ou présomptif. Les traitements empiriques, qui sont susceptible d'améliorer le pronostic, reposent sur l'identification de l'exposition à une succession de facteurs de risques que le clinicien doit s'entraîner à reconnaître. Leur prescription incontrôlée a toutefois été incriminé dans le développement et / ou la diffusion des souches résistantes, et leur utilisation doit être restreinte à certains groupes de patients clairement identifiés ^[114].

IV.4.3 Evolution de l'épidémiologie des résistances :

1. Intérêt de la surveillance :

Depuis ces dernières années, on note une évolution de l'épidémiologie des résistances aux différents antifongiques, spécialement aux azolés. La surveillance de la résistance aux antifongiques s'est aujourd'hui généralisée ^[115,89]. Plusieurs études sont réalisées continuellement dans le but d'évaluer la sensibilité des agents fongiques aux antifongiques, qu'ils soient anciennement mis sur le marché ou en vue de commercialisation. Dans le premier cas, l'étude fournit des données sur l'apparition et le profil de résistance des espèces. Alors que le deuxième, elle évalue l'activité du nouvel antifongique par rapport aux autres molécules disponibles sur le marché.

L'amélioration de la prise en charge des patient nécessite de connaitre l'évolution épidémiologique des agents pathogènes et de leur résistance aux différents antifongiques. Chose qui souligne l'importance de cette surveillance et intérêt majeur de la réaliser d'une manière constante. Dans cette partie on va détailler et rapporter les résultats des plus importants systèmes de surveillance en vue d'étaler l'épidémiologie des résistances aux antifongiques, spécialement aux azolés, des espèces de *Candida*.

2. Evolution de l'épidémiologie des résistances :

- **Etude SENTRY** : l'étude SENTRY qui a porté sur 3 années (1997-1999) dans 74 sites (USA, Canada, Amérique latine et Europe) avait pour but d'étudier la sensibilité de *Candida* vis-à-vis du fluconazole, du voriconazole, et du ravuconazole. La répartition de la sensibilité in vitro dans ces différents pays, toutes espèces confondues, oscille entre 98% pour l'Amérique latine et 90 % pour les USA et l'Europe. Le fluconazole est actif dans les 4 aires géographiques. 90 à 98% des souches de *Candida sp.* sont sensibles avec une CMI < 8 µg/ ml. Quant au voriconazole et ravuconazole, leur efficacité est remarquée dans les 4 aires géographiques avec une sensibilité de 98 à 99 % et une CMI entre 0,12 à 0,25 µg/ml pour le voriconazole et entre ,12 à 0,5 µg/ml pour le ravuconazole ^[112].

Les souches canadiennes et d'Amérique latine sont plus sensibles que les souches américaines et d'Europe du fait de la présence de souche de *C.glabrata* résistantes. La sensibilité in vitro au fluconazole, au voriconazole et au ravuconazole des différentes espèces de *Candida* a été stratifiée par année et par aire géographique.

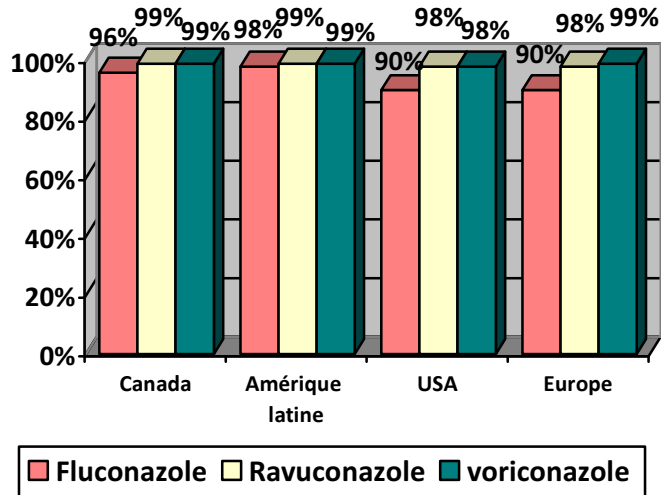


Figure 24 : Sensibilité de *Candida spp* au fluconazole, voriconazole et ravuconazole sur 3 années (1997-1999), SENTRY

Par rapport à notre étude, on note une sensibilité significativement diminuée du fluconazole sur les souches de *Candida spp*. Le fluconazole présente une sensibilité de 20 % dans notre étude contre plus de 90 % dans l'étude de ce programme international.

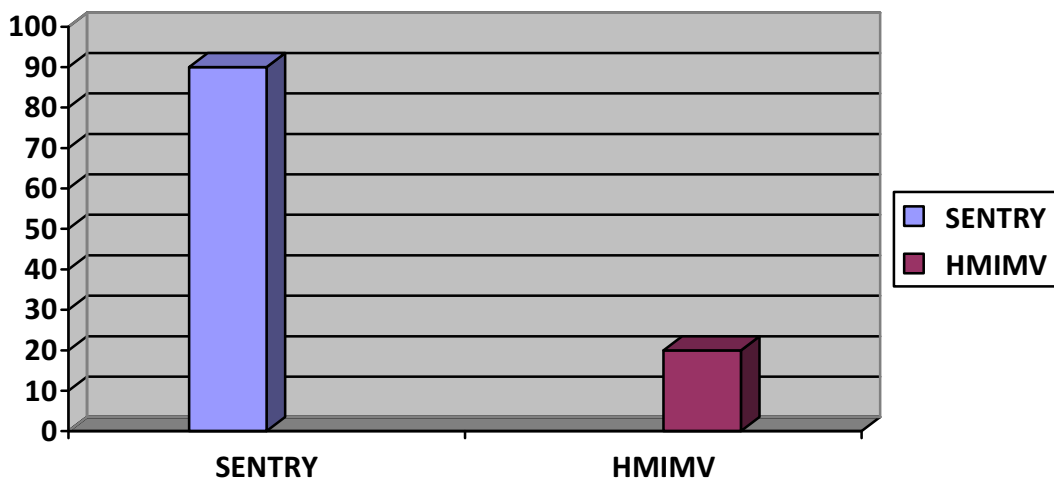


Figure 25 : comparaison de la sensibilité au fluconazole de *Candida* entre l'étude de l'HMIMV et le programme SENTRY

Les isolats de *C. albicans*, *C. parapsilosis* et *C.tropicalis* sont hautement sensibles aux trois azolés avec une sensibilité allant de 97 à 100 %. Cependant, concernant l'évolution de cette résistance au cours des trois années, il a été constaté que dans les années 1997 et 1998, quelques isolats de *C. albicans* étaient résistants au fluconazole. Ces mêmes isolats l'étaient aussi aux voriconazole et au ravuconazole. Ce qui reflète une possibilité de résistance croisée vis-à-vis des triazolés. Par contre, au cours de l'année 1999, une augmentation de la sensibilité vis-à-vis de l'itraconazole [112].

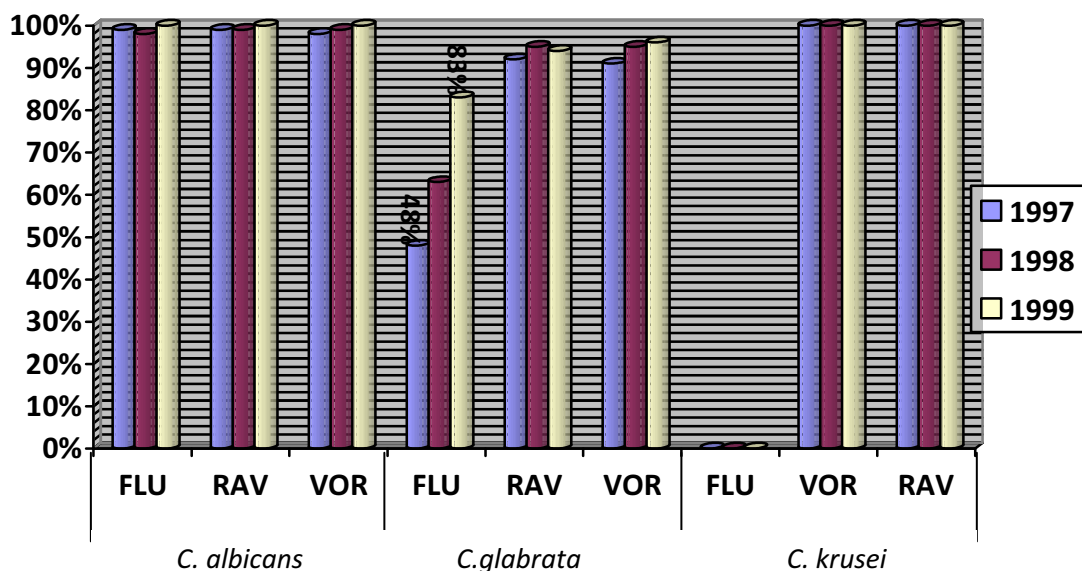


Figure 26: sensibilité des isolats de *C.albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, au fluconazole, au voriconazole, et au ravuconazole sur 3 années (1997-1999), SENTRY

Au cours des trois années, la sensibilité de *C.glabrata* au fluconazole s'est modifiée. Une augmentation de la sensibilité vis-à-vis du fluconazole est constatée de 1997 à 1999, passant de 48 % à 83 %. Dans le même temps, une

diminution de la CMI du fluconazole passant de 16 µg/ml à 4 µg/ml suggère une administration plus appropriée du fluconazole au cours des trois années.

A propos de *C. krusei*, toutes les souches isolées sont très sensibles au nouveaux triazolés et toutes sont bien évidemment résistantes au fluconazole. Le voriconazole et le ravuconazole sont, donc, à la fois actifs sur *C. glabrata*, *C. krusei* et *C.albicans* avec une sensibilité variant de 97 à 100%. Tandis que le fluconazole n'est actif que sur *C.glabrata* et *C.albicans* du fait de la résistance innée de *C. krusei* à cet agent [112].

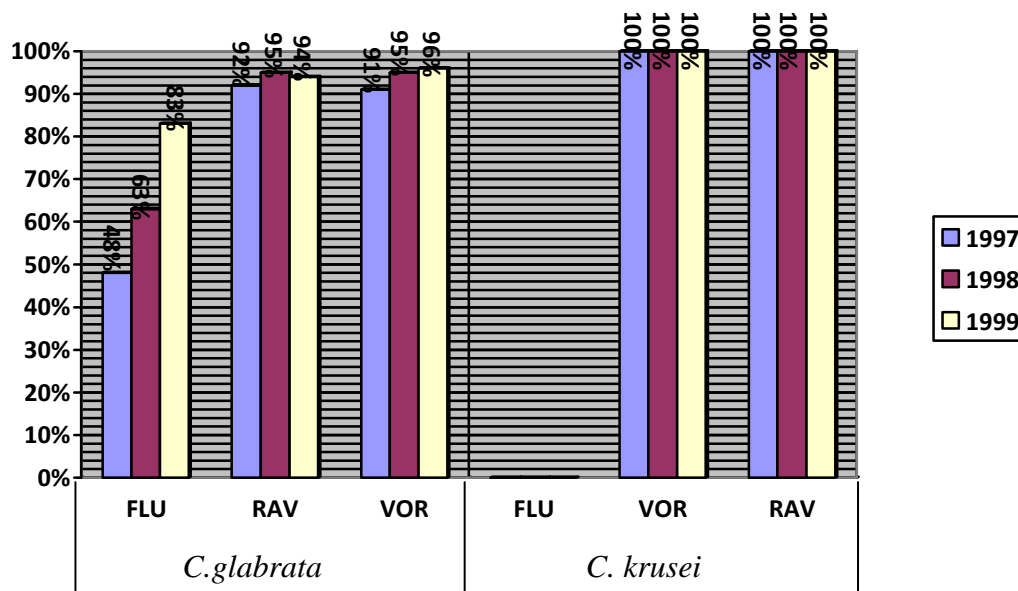


Figure 27 : Sensibilité des isolats de *Candida glabrata*, *Candida krusei* au fluconazole, au voriconazole et au ravuconazole sur 3 années (1997-1999), SENTRY

Par rapport à notre étude, le taux de sensibilité retrouvé est inférieur à celui de ce programme. *Candida glabrata* de notre étude est nettement moins sensible avec environ 17% contre 64% pour le programme SENTRY.

Alors que pour *C. krusei* les résultats des deux études sont similaires concernant la sensibilité au fluconazole ; le taux de sensibilité est de 0% qui montrent que cette espèce est naturellement résistante au Fluconazole.

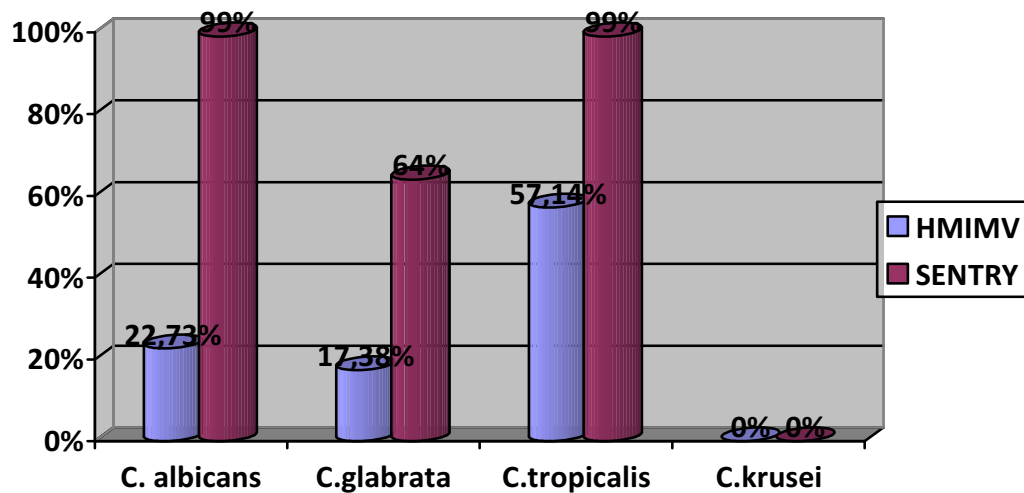


Figure 28 : Comparaison de la sensibilité au fluconazole vis-à-vis de *Candida* entre l'étude de l'HMIMV et le programme SENTRY

- **Etude ARTEMIS** : Le programme de surveillance ARTEMIS est connu comme étant un système mondial de surveillance des antifongiques le plus complet et le plus ancien [101, 103, 116-118]. Dans l'une de ces études récente publiée en 2005, les auteurs ont utilisé les résultats de ce programme pour évaluer les tendances globales de la sensibilité des levures au fluconazole et au voriconazole pendant une période de 6,5 ans dans 39 pays entre juin 1997 et décembre 2003. Au total, 134715 isolats de *Candida sp.* ont été recueillis dans 127 centres médicaux répartis en Asie, Amérique latine, Europe, Moyen orient et en Amérique du

nord. La sensibilité des souches a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé M-44 selon la technique préconisée par le CLSI ^[119].

Les valeurs seuils d'interprétation sont de :

- Sensible (S) pour un diamètre zone d'inhibition > 19 mm pour le fluconazole et 17 mm pour le voriconazole.
- Résistante (R) pour un diamètre d'inhibition < 14 mm pour le fluconazole et 13 mm pour le voriconazole.

✦ **Activité du voriconazole et du fluconazole :**

A l'issu des résultats de cette étude, le fluconazole, a montré qu'il est significativement moins actif que le voriconazole contre pratiquement toutes les espèces, hormis *C.tropicalis* avec 89,1% de sensibilité pour le fluconazole contre 87 % pour le voriconazole. Globalement, 89,16% des souches sensibles ont été sensibles au voriconazole contre uniquement 71,61 % pour le fluconazole. Le taux de résistance était significativement inférieur chez le voriconazole avec 6,06% de souches résistantes contre 20,19 % pour le fluconazole.

Parmi les espèces présentant une sensibilité diminuée au fluconazole, plus de 80 % étaient sensibles au voriconazole. De plus, parmi les souches de *C.glabrata* résistantes au fluconazole, 30% ont été sensibles au voriconazole. Cependant, toutes les souches résistantes au voriconazole l'étaient aussi au fluconazole ^[101]. Bien que les résultats de l'étude soulignent l'existence de résistances croisée entre le fluconazole et le voriconazole, ceci est variable selon l'espèce et ne doit pas être supposé en l'absence d'identification et de résultats de l'antifongigramme.

✦ Evolution de la résistance :

➤ Au fluconazole :

L'évolution de la résistance des *Candida sp* au fluconazole sur la période a montré qu'aucune augmentation ou diminution notable par rapport au temps des degrés de résistance au fluconazole de *C. albicans* et de *C. glabrata* n'a été observé. Alors que le degré de résistance des isolats de *C. tropicalis* avait diminué entre 1997-1998, des augmentations ont constatées en 2002 et en 2003. Un léger accroissement des résistances a été observé au cours du temps pour *C. parapsilosis* et *C. kefyr*, alors qu'une forte augmentation de résistance a été constatée pour les souches de *C. rugosa*. Bien que *C.famata* soit apparu relativement résistante au fluconazole en 1997 et 1998, cela doit être imputé au faible nombre de souches étudiées.

Au cours des cinq années suivantes, le nombre d'isolats de *C.famata* ayant progressivement augmenté jusqu'à dépasser 50 par an, le niveau de résistance s'est stabilisé entre 10 et 12%. Malgré l'augmentation du pourcentage globale d'isolats de *Candida krusei* résistants au fluconazole, cette observation n'est pas significative car cette espèce doit être considérée cliniquement résistante à cet antifongique. Le CLSI recommande de ne pas tester la sensibilité de cette espèce au fluconazole ^[120,121].

✦ Variation géographiques de la sensibilité au fluconazole et au voriconazole :

Pour les espèces de *Candida* les plus courantes, *C.albicans* et *C.glabrata*, la sensibilité in vitro au fluconazole et au voriconazole a été stratifiée par zone géographique et par pays d'origine pour la période 2001-2003. Le but étant de nuancer l'existence des variations géographiques de la sensibilité à ces deux antifongiques.

C.albicans, et à l'exception des isolats prélevés en Inde, s'est montrée hautement sensible au fluconazole et au voriconazole. Aucune différence significative entre les profils de sensibilité après stratification par type de prélèvement ou site hospitalier. En contrepartie, *C.glabrata* a montré une sensibilité variable selon les pays, la zone géographique, le type de prélèvement et la structure hospitalière. Les taux globaux de résistance des isolats de *Candida glabrata* au fluconazole ont atteint 10,6% en Asie pacifique, 13,2% en Amérique latine, 16,5% en Europe et 18 % en Amérique du nord. Ces résultats sont nettement plus élevés dans chaque zone géographique que ceux précédemment rapportés pour les isolats de *C. glabrata* provenant d'échantillons sanguins et de sites normalement stériles testés par la méthode de microdilution en milieu liquide de 1992 à 200 ^[102].

Les isolats provenant d'échantillons sanguins et de sites normalement stériles se sont révélés les plus sensibles au fluconazole. Les taux de résistance les plus élevés ont été constatés pour les isolats de *C. glabrata* provenant d'unités de soins intensifs chirurgicaux (21,3%), de services de gynécologie-obstétrique (21,5%), d'hématologie et d'oncologie (22,6%) et d'unités de soins intensifs néonataux (35%).

Le voriconazole a montré une activité supérieure ou égale à celle du fluconazole contre les isolats de *C. glabrata* collectés dans l'ensemble des pays et des zones géographiques.

- **Autres études :**

Dans une étude dans le CHU Timone Marseille, les auteurs ont analysé la tendance sur 20 mois (de février 1997 à septembre 1998) de la sensibilité de *C.albicans* aux antifongiques. Au total, 23 095 prélèvements provenant de 2464

malades hospitalisés dans les services à haut risque sont parvenus au laboratoire de mycologie.

L'analyse des données montre que 8076 souches ont été isolées. 64,3 % étaient représentées par *C. albicans*, 14,5% par *C.glabrata*. Le profil de sensibilité aux antifongiques pour *C.albicans*, montre une diminution significative de la résistance au fluconazole, qui passe de 8,6 % au début de l'étude à 0,7% à sa fin [122].

Une autre étude, réalisée sur une période d'un mois en octobre 2004, a été proposée à 209 biologistes répartis dans 193 hôpitaux en France [127]. Cette étude était effectuée dans le cadre de l'enquête annuelle de surveillance des résistances des hôpitaux français non universitaires affiliés au collège de bactériologie virologie hygiène (ColBVH). Chaque centre devrait recenser de façon prospective les épisodes de septicémies, incluant les candidémies. Les tests de sensibilité aux antifongiques ont été réalisés par les biologistes selon leur méthodologie habituelle et ont été réévalués par technique E-test® (AB Biodisk) sur milieu RPMI (AB biodisk®).

La répartition des espèces au cours de ces 46 épisodes de candidémies est la suivante : 23 *C. albicans* (50%), 13 *C.glabrata* (28,3%), cinq *C.tropicalis* (10,9%), trois *C.parapsilosis* (6,5%), un *C. krusei* (2,2%).

Toutes espèces confondues, 97,7% des souches ont une sensibilité habituelle vis-à-vis de l'amphotéricine B, 93,2% vis-à-vis de la 5-flucytosine, 88,6% du fluconazole, 70,5 % vis-à-vis de l'itraconazole, et 100% des souches ont des CMI très basses vis-à-vis de la caspofungine. Dans cette étude, une sensibilité de 95,5% vis-à vis du voriconazole a été renseignée.

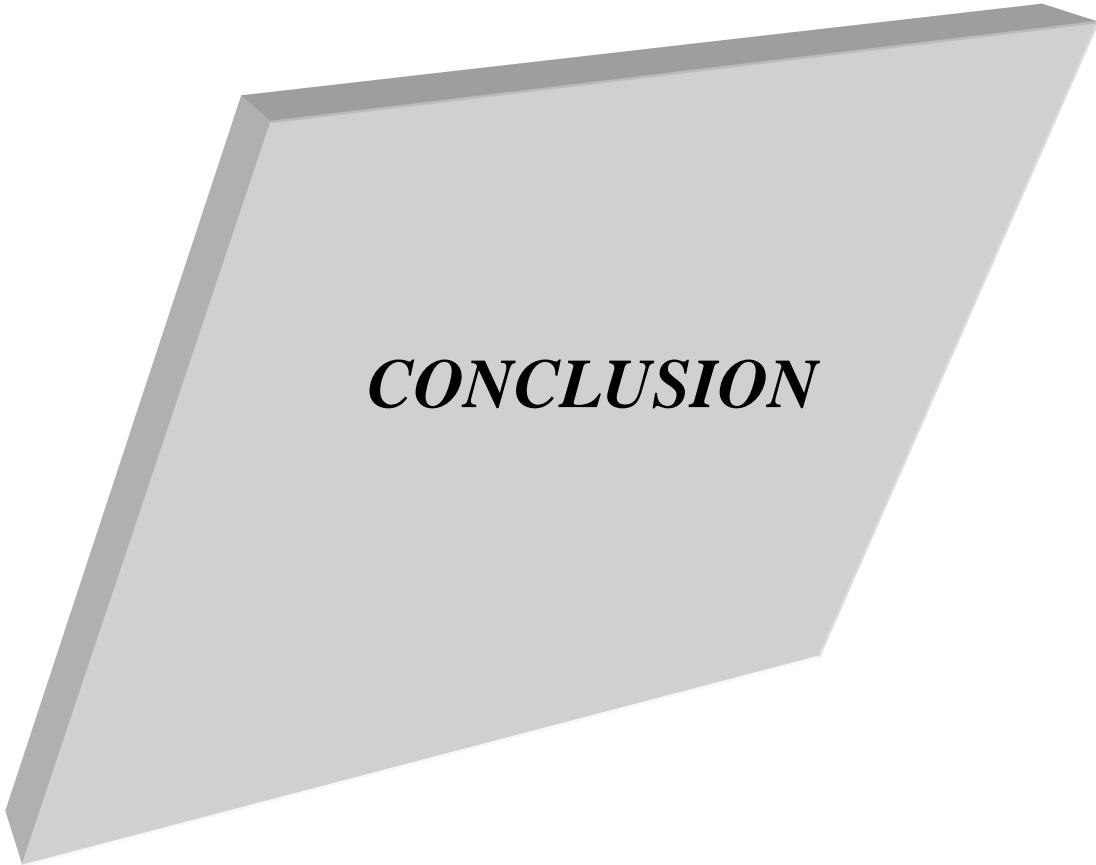
Toujours en France, une autre étude prospective observationnelle a été conduite de janvier à décembre 2004 dans sept centres hospitaliers universitaires et dix

centres hospitalier non universitaires, membres du Groupe d'Epidémiologie et de recherche en infectiologie Clinique du centre-Ouest(GERICCO) ^[123]. Tous les patients présentant une candidémie ont été inclus. L'étude de la sensibilité aux antifongiques des souches de *Candida* était réalisée soit par les méthodes de référence du Clinical and Laboratory Standard Institute, anciennement National Commitee For Clinical Laboratory Standards (CLSI) ^[124], ou de l'European Commitee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ^[125], soit par bandelette E-test ®. Un antifongigramme a été réalisé pour 142 des 193 souches (79 *C.albicans*, 27 souches de *C.glabrata*, 18 souches de *C. parapsilosis*). La répartition des différentes espèces isolées est : *C.albicans* (54,9%), *C.glabrata* (18,7%), *C.parapsilosis* (12,9%), *C. tropicalis* (4,7%), *C. krusei* (4,1%), *C.lusitaniae* (1,6%).

La sensibilité des principales espèces de *Candida* au fluconazole était comme suit : 84,5% de sensibles, 7,8 % dose-dépendante, 7,8% résistantes. Parmi les huit souches de *C.glabrata* avec une sensibilité dose-dépendante au fluconazole, sept étaient sensibles au voriconazole, et une résistante. Les trois souches résistantes au fluconazole étaient également résistantes au voriconazole.

Le voriconazole restait le plus souvent actif sur les souches de *C.glabrata* de sensibilité dose- dépendante au fluconazole, avec sept souches sur huit qui étaient sensibles. Toutefois, il existait un certain degré de résistance croisée entre ces deux molécules, les trois souches résistantes au fluconazole étant aussi résistantes au voriconazole. Cette résistance croisée entre les différents azolés vis-à-vis de *C.glabrata* a fréquemment été rapportée, et de nombreux auteurs recommandent la plus grande prudence avant d'envisager de traiter une infection Invasive à *C. glabrata* par un antifongique de cette famille, notamment lorsqu'il existe une pré exposition au fluconazole ^[126, 109,105].

A l'égard de ce qui a été restitué dans la littérature sur l'épidémiologie des résistances, notre étude rapporte un taux de résistance au fluconazole plus important notamment pour les souches de *Candida non albicans*. *C.glabrata* est l'espèce la plus isolée et celle présentant la moindre sensibilité au fluconazole parmi toutes les souches de *Candida* isolées. Les résultats de notre étude devront être confirmés par d'autres études complémentaires et comparatives. Surtout qu'il s'agit de l'une des premières de son genre à l'HMIMV (Maroc). L'absence d'études semblables de ce genre nous empêche de confirmer ces tendances épidémiologiques. Cette étude devra cependant être à l'origine d'autres études de surveillance épidémiologiques des résistances, et refléter la volonté de notre établissement de s'inscrire dans une démarche d'amélioration de la connaissance de l'épidémiologie des résistances aux antifongiques pour une meilleure prise en charge des patients.



V. Conclusion

L'augmentation de l'incidence des infections fongiques grave à *candida* surtout en réanimation, l'émergence de nouvelles espèces et l'apparition de résistances aux antifongiques (cas du fluconazole) requièrent l'utilisation de tests d'étude de la résistance in vitro bien standardisés.

Leur mortalité oscille entre 60% et 90%, ce taux important est principalement dû à la difficulté d'établissement d'un diagnostic rapide ce qui retarde thérapeutique. De plus, les moyens thérapeutiques eux même présentent des limites qui s'illustrent en : Une famille d'antifongiques cantonnée en quatre classes ; un spectre antifongique étroit ; une toxicité élevée ; une absence de forme orale.

Faire face à cette menace nécessite l'utilisation plus large des antifongiques existants et incite l'industrie pharmaceutique à chercher de nouvelles molécules. Afin de mettre à disposition des professionnelles de santé l'antifongique idéal. Celui-ci devrait avoir un spectre d'activité large, un profil pharmacocinétique favorable avec moins d'interférences négatives et une faible toxicité. Il devrait, en outre, être disponible par voie orale que par voie intraveineuse. Enfin, il devrait avoir démontré son efficacité dans des essais randomisés portant sur des populations à risque.

La résistance confirmée de certaines souches aux antifongiques entraîne la mise en œuvre beaucoup plus systématique des tests de sensibilité mais l'absence actuelle des méthodes standardisées et fiable ainsi que le manque de corrélation in vitro / in vivo limite leur généralisation. Ces tests ne portent pas une réponse infaillible à toutes les questions mais ils restent indispensables. Dans l'état actuel de la question, l'antifongigramme ne doit pas être banalisé :

Ses indications doivent être sélectionnées. Cette investigation est à réserver aux mycoses profondes et aux colonisations survenant chez des patients agressés ou immunodéprimés.

Du fait qu'il existe plusieurs méthodes, commercialisées ou non, permettant de réaliser un antifongigramme, le choix d'une méthode de routine fiable de la part des biologistes s'est compliqué. Par conséquent, une incompétence vis-à-vis de sa pratique est ressentie de leur part, ce qui limite sans doute son utilisation dans les hôpitaux. De plus, une connaissance insuffisante des méthodes disponibles et de leur validité est mise en évidence. La diffusion de recommandations simples, plébiscitée par les biologistes serait sans doute le moyen à travers lequel ils pourront choisir la technique appropriée pour l'évaluation in vitro de la sensibilité aux antifongiques. Des évolutions techniques et un certain nombre de recommandations sont disponibles depuis la période de cette enquête, mais l'antifongigramme est un sujet qui retient toujours autant l'intérêt des biologistes et des cliniciens.

Les modifications dans la fréquence des infections fongiques, la répartition des espèces impliquées et l'évolution des résistances aux antifongiques sont des données qui permettent de cerner géographiquement les tendances épidémiologiques et de sélectionner un grand nombre de traitement empirique. Dans ce contexte, il est de grande utilité de déterminer le profil de résistance d'isolats cliniques locaux aux nouveaux antifongiques.

Notre étude de la résistance au fluconazole des souches de *candida* isolées dans les hôpitaux universitaires, nous a permis de générer des informations sur le profil de résistance au fluconazole de *Candida* au sein des différents services de réanimation. Nos résultats prouvent encore une fois que le fluconazole en tant que médicament antifongique fait l'objet de nombreuses résistances et une

activité de plus en plus faible surtout contre les souches émergentes ce qui lui fait perdre son efficacité et sa place en faveur d'autres antifongiques plus efficace et en tant que médicament de première intention dans le traitement des infections fongiques invasives.

L'amélioration de la prise en charge des patients nécessite de connaître l'évolution épidémiologique des agents pathogènes et de leur résistance aux différents antifongiques. Chose qui souligne l'importance de la surveillance et l'intérêt majeur de la réaliser d'une manière constante. De la sorte, notre étude reflète la volonté de notre établissement de s'inscrire dans une démarche d'amélioration de la connaissance de l'épidémiologie des résistances aux antifongiques. Les résultats de notre étude devront être confirmés par d'autres études complémentaires et comparatives, surtout qu'il s'agit d'une première de son genre à l'HMIMV (Maroc).



RESUMES

RESUME

Titre: Résistance au Fluconazole de 68 souches de levures genre *Candida* isolées des services de réanimation du CHU de Rabat.

Auteur: Mohamed NAJAH

Directeur : Pr Badre Eddine LMIMOUNI

Mots clés : *Candida* – Antifongogramme – Fluconazole – Résistance – Surveillance.

Introduction : l'augmentation de l'incidence des infections fongiques graves à *candida* surtout en réanimation et l'apparition de résistances aux antifongiques, requièrent l'utilisation de tests d'étude de la résistance in vitro bien standardisés. Les données sur ce phénomène de résistance de *candida* aux antifongiques ne sont pas disponibles au Maroc.

Matériels et méthodes : Notre étude prospective a inclus 68 souches de *Candida* issues de prélèvements provenant de patients hospitalisés en Réanimation. La culture et l'identification des souches de *Candida* étaient faites sur milieu d'isolement Candiselect® et l'étude de la résistance in vitro au fluconazole était réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé des disques.

Résultats : l'ensemble des prélèvements effectués, proviennent des sites périphériques. CNA représentait 68 % alors que CA ne représentait que 32 %. La répartition des espèces NA était : *C.glabrata* (34 %), *C. krusei* (12%) et *C.tropicalis* (10%). Le fluconazole avait une faible activité sur toutes les espèces de *Candida* : plus de 70 % étaient résistantes et 20 % sensibles. Pour *C. krusei* toutes les souches isolées étaient résistantes. Une sensibilité diminuée était observée pour *C.glabrata*. Pour *C. tropicalis* la majorité des souches étaient sensibles.

Conclusion : Nécessité d'une surveillance épidémiologique continue des Candidoses pour suivre les tendances de leurs profils de résistances aux antifongiques. Le point reste à poser sur les candidémies à *C. krusei* qui sont redoutables et à *C.glabrata* pour qui une prudence s'impose, lorsqu'on envisage de traiter par le fluconazole surtout que ces deux espèces sont respectivement résistantes et sensibilité diminuée à cet antifongique.

SUMMARY

Title: Resistance to fluconazole of 68 strains of yeast genus *Candida* isolated from Rabat University Hospital Center.

Author: Mohamed NAJAH

Supervisor: Pr Badre Eddine LMIMOUNI

Keywords: *Candida* – Antifungal susceptibility testing – Fluconazole – Resistance – Surveillance.

Introduction: Increased incidence of serious fungal infections *Candida* especially in intensive care and the development of resistance to antifungal agents require the use of tests for the study of resistance well standardized. The data on this phenomenon of resistance of *Candida* to antifungal agents are not available in Morocco.

Materials and methods: Our prospective study included 68 strains of *Candida* isolated from peripheral samples from patients hospitalized in Intensive Care. Culture and identification of *Candida* strains were made on the medium Candiselect® and the study of in vitro resistance to fluconazole was performed by the method of agar diffusion discs.

Results: all samples taken, from peripheral sites. *Candida non-albicans* accounted for 68% while *C. albicans* accounted for only 32%. The distribution of non-albicans species was: *C.glabrata* (34%), *C. krusei* (12%) and *C.tropicalis* (10%). Fluconazole had low activity against all *Candida* species: more than 70% were resistant and 20% susceptible. For *C. krusei* isolates were all resistant. Decreased susceptibility was observed for *C.glabrata*. For *C. tropicalis* strains were for majority susceptible.

Conclusion: the need for continuous epidemiological surveillance of candidiasis to monitor the trends of their antifungal resistance profiles for the establishment of guidelines for treatment. Meanwhile a mastery of antifungal susceptibility testing's techniques is needed. The point is to put on candidemia with *C. krusei* which are formidable and *C.glabrata* for who a caution should be exercised when considering treatment with fluconazole especially as these two species are respectively resistant and less susceptible to this antifungal agent.

ملخص:

العنوان: مقاومة الفلوكونازول من سلالة 68 خمائر مبيضية معزولة من المستشفيات الجامعية بالرباط.

الطالب: محمد ناجحي

المؤطر: البروفسور بدر الدين لميموني

الكلمات الأساسية: المبيضات , دراسة الحساسية لمضادات الفطريات, فلوكونازول , المقاومة , المراقبة. **المواد و الاساليب:** دراستنا الاستطلاعية شملت 68 سلالة مبيضية (Candida) استخرجت من عينات لمواقع هامشية و التي تم اخدها من المرضى المعالجين في مختلف مصالح الانعاش. تم تحديد سلالات المبيضات عن طريق وضعها في وسط عزل Candiselect® و تمت دراسة المقاومة في المختبر للفلوكونازول (Fluconazole) عن طريق نشر الاقراص في وسط اغار.

النتائج: جميع العينات التي تم استغلالها كانت من مواقع هامشية. شكلت Candida non-albicans اكثر نسبة 68% في حين شكلت Candida albicans سوى 32% . كما كان توزيع انواع C non albicans كالتالي: C. glabrata (34%), C. krusei (12%) و C. tropicalis (10%) . كان الفلوكونازول اقل نشاطا على كافة انواع المبيضات Candida : اكثر من 70% من الانواع كانت مقاومة في حين 20% حساسة. بالنسبة ل C. krusei جميع السلالة التي تم عزلها كانت مقاومة للفلوكونازول و نسبة المقاوم بلغت 100% . كما لوحظ انخفاض في حساسية C. glabrata للفلوكونازول حيث كانت نسبة مقاومة هذا النوع 78% . فيما يتعلق ب C. tropicalis اغلب السلالات كانت حساسة.

استنتاج: الحاجة للترصد الوبائي المستمر للمبيضات, لرصد مؤهلات مقاومتها لمضادات الفطريات و في الوقت نفسه يجب التمكن من تقنيات دراسة الحساسية في المختبر لمضادات الفطريات. بالنسبة لتعفن الدم ب C. krusei و C. glabrata يجب توخي الحذر في العلاج خاصة عند استخدام الفلوكونازول خصوصا ان هذين النوعين يعتبران على التوالي مقاومة وذو حساسية منخفضة لهذا المضاد للفطريات.

Références bibliographiques :

- [1] **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eleventh informational supplement, vol.22, n°1. M100-S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa **2002**.
- [2] **Carrillo-Muñoz AJ, Giusiano G, Ezkurra PA, Quindós G**. Antifungal agents: mode of action in yeast cells. *Rev Esp. Quimioterap.* **2006** vol.19:130-139.
- [3] **Frank C. Odds, Alistair J.P. Brown, Neil A.R. Gow**. Antifungal agents: mechanisms of action. *Rev TRENDS in Microbiology*, June **2003**, Vol.11 No.6.
- [4] **White T C, Marr K A, Bowden R A**. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin. Microbiol. Rev;* **1998**; **1** 32% 32%
- [5] **Lupetti A, Danesi R, Campa M**. Molecular basis of resistance to azole antifungals, trends in molecular medicine Review ; **2002** ; vol.8 no.2, P : 76-81
- [6] **Blanchet B, Huet E, Astier A, Hulin A**. Suivi thérapeutique des médicaments antifongiques. Pharmacocinétique des médicaments antifongiques. *Revue française des laboratoires, septembre 2004*,N 365.
- [7] **Bleriot J.-P.** Candidoses systémiques et antifongiques azolés. *Med Mal Infect.* **1995** ; 25 : 44-9.
- [8] **Datry A, Thellier M, Traoré B, Alfa Cissé O, Danis M**. Utilisation des antifongiques dans le traitement des candidoses systémiques : antifongigramme, point sur les résistances, données pharmacologiques. *Ann Fr Anesth Réanim* **2001** ; 20 : 389-93.
- [9] **Datry A, Carriere J, Pitre M, Groussin H, Silberstien C, Danis M**. Analyse critique des tests de sensibilité *in vitro* aux antifongiques. *Méd Mal Infect.* **1995** ; 25, 6-13

- [10] **Marie-Denise Linas, Sophie Cassaing.** Méthodes d'évaluation in vitro des antifongiques : étude comparative des différents tests. *Revue Française des Laboratoires*, avril **2001**, N 332.
- [11] **Wilson AG, Micek ST, Ritchie J.** A Retrospective Evaluation of Fluconazole for the treatment of *Candida glabrata* Fungemia. *Journal of Clinical Therapeutic*, **2005** ; vol 27 ; N 8,1228-38.
- [12] **Rogers TR.** Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 27S ; **2006** ; S7–S11.
- [13] **Bertout S, Dunyach C, Drakulovski P, Reynes J, Mallie M.** Efficacité comparée du Sensititre YeastOne ® versus la microméthode de référence du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M27-A3 sur 102 souches de levures pour huit antifongiques. *Pathologie Biologie* 59 ; **2011** ; 48–51.
- [14] **Develoux M, Bretagne S.** Candidoses et levures diverses. *Maladies infectieuses*, **2005** ; P 119–139.
- [15] **Araj G.F, Daher N.K, Tabbarah Z.A.** Antifungal susceptibility of candida isolates at the American University of Beirut Medical Center. *International Journal of Antimicrobial Agents* ; **1998** ; 10 : 291–296.
- [16] **Testore G P, Dori L, Buonomini A R, Schito G C, Soro O, Fortina G, Andreoni S.** *In vitro* fluconazole susceptibility of 1565 clinical isolates of *Candida* species evaluated by the disk diffusion method performed using NCCLS M44-A guidelines. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* ; **2004** ; 50 : 187–192.
- [17] **Taieb F, Méchaï F, Lefort A, Lanternier F, Bougnoux M E, Lortholary O.** Prise en charge des infections systémiques à *Candida* spp. *La Revue de médecine interne* ; **2011** ; 32 :173–180
- [18] **Magill S S, Shields C, Sears CL, Choti M, Merz WG.** Résistance croisée aux dérivés triazolés chez *Candida* sp. : Observation, fréquence dans les isolats sanguins et implications pour les traitements antifongiques. *Journal de Mycologie Médicale* ; **2007** ; 17 : 1 -10.

- [19] **Sanglard D, Odds CF.** Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. Rev ; *Lancet Infectious Diseases* **2002**; 2: 73–85.
- [20] **Kathiravan, M.K., Salake, A.B., Chothe, A.S., Dudhe, P.B., Watode, R.P., Mukta, M.S, Gadhwe, S.** Bioorganic and Medicinal Chemistry. The Biology and Chemistry of Antifungal Agents: A Review ; **2012**.
- [21] **Kettani A, Belkhadir ZH, Mosadik A, Faroudy M, Ababou A, Lazreq C, Sbihi A.** Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. *Journal de Mycologie Médicale* ; **2006** ; 16 :16–25.
- [22] **Anane S, Khalfallah F.** diagnostic biologique des candidoses systémiques : difficultés et perspectives. *Pathologie biologie* ; **2007** ; **55** : **262-272**
- [23] **Letscher-Bru V.** Antifongigramme et concentration minimale inhibitrice. *Biologie médicale* 90-35-0035-A ; Elsevier ; **2012**.
- [24] **Sanglard D, Ischer F, Parkinson T, Falconer D, Bille J.** *Candida albicans* Mutations in the Ergosterol Biosynthetic Pathway and Resistance to Several Antifungal Agents. antimicrobial agents and chemotherapy, aug. **2003**, Vol. 47, No. 8, p. 2404–2412.
- [25] **Posteraro B, Romano L, Sanguinetti M, Masucci L, Morace G, Fadda G.** Commercial systems for fluconazole susceptibility testing of yeasts: comparison with the broth microdilution method. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* ; **2000** ; 38 : 29–36.
- [26] **Druetta A, Freydiere A, Guinet R, Gille Y.** Evaluation of Five Commercial Antifungal Susceptibility Testing Systems. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*, May **1993**, p. 336-342
- [27] **Paugam A.** antifongigramme : techniques et interprétation. *biotribune* Octobre ; **2005** n16.
- [28] **Bossche H V, Koymans L, Moereels H.** p450 inhibitors of use in medical treatment: focus on mechanisms of action. *Pharmac. Ther* ; **1995** ; Vol. 67, No. I, pp. 79-100.
- [29] **Sanglard D, Kuchler K, Ischer F, Paganij L, Monod M, Bille J.** Mechanisms of Resistance to Azole Antifungal Agents in *Candida albicans* Isolates from AIDS Patients

Involve Specific Multidrug Transporters. *antimicrobial agents and chemotherapy*, nov. **1995**, p. 2378–2386

- [31] **Rex J H, Pfaller M A, Walsh T J, Chaturvedi V.** Antifungal Susceptibility Testing: Practical Aspects and Current Challenges. *clinical microbiology reviews*, Oct. **2001**, p. 643–658.
- [32] **Sanglard D, Ischer F, Calabrese D, Micheli M, Bille J.** Multiple resistance mechanisms to azole antifungals in yeast clinical isolates. *Drug Resistance Updates* ; **1998** ; *I*, 25S-265.
- [33] **Li-juan F, Zhe W, Xiao-hong W, Ruo-yu L, Wei L.** Relationship between antifungal resistance of fluconazole resistant *Candida albicans* and mutations in *ERG11* gene. *Chin Med J* ; **2010**;123(5):544-548
- [34] **Sanglard D.** Resistance and tolerance mechanisms to antifungal drugs in fungal pathogens. *Mycologist* ; **2003** ; Vol 17, Part 2.
- [35] **Rex J, Rinaldi M. G, Pfaller MA.** Resistance of *Candida* Species to Fluconazole. *antimicrobial agents and chemotherapy*, Jan. **1995**, p. 1–8.
- [36] **Canuto M M Rodero FG.** Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. *Lancet Infect Dis* **2002**; 2: 550–63.
- [37] **Pfaller M A.** Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. *The American Journal of Medicine* ; **2012** ; *125*, S3–S13.
- [38] **Denning DW, Baily GG, Hood SV.** Azole Resistance in *Candida*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **1997**, 16:261-280.
- [39] **Drouhet E.** biologie de candida rappel mycologique et physiopathologique. *Rev. franc; Allergol.*, **1976**, 16 (n ° 5), 233-235.
- [40] **Eggimann P, Pittet D.** Candidoses en réanimation. *Réanimation* **2002** ; 11 : 209-21.

- [41] **Ana Espinel-Ingroff, Ph D.** Clinical Relevance of Fungal Susceptibility Testing and Antifungal Resistance. *Clinical Microbiology Newsletter*. September 15 ; **2000** ; Vol. 22, No. 18.
- [42] **Chabasse D, Pihet M, BoucharaJP.** Émergence de nouveaux champignons pathogènes en médecine. *Revue francophone des laboratoires* - novembre ; **2009** ; - n°416.
- [43] **Diamond R.** Atlas of fungal Infections, Ed.**1999**.
- [44] **Sabatelli F, Patel R, Mann P A, Mendrick C A, Norris C C, Hare R, Loebenberg D, Black T A, McNicholas P M.** In Vitro Activities of Posaconazole, Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole, and Amphotericin B against a Large Collection of Clinically Important Molds and Yeasts. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, june ; **2006** ; p. 2009–2015.
- [45] **Cernicka J, Subik J.** Resistance mechanisms in fluconazole-resistant *Candida albicans* isolates from vaginal candidiasis. *International Journal of Antimicrobial Agents* ; **2006** ; 27 403–408.
- [46] **Bertout S, Dunyach C, Drakulovski P, Reynes J, Mallié M.** Comparison of the Sensititre YeastOne1 dilution method with the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M27-A3 microbroth dilution reference method for determining MIC of eight antifungal agents on 102 yeast strains. *Pathologie Biologie* ; **2011** ; 59 : 48–51.
- [47] **Linasa MD, Cassaing S.** méthodes d'évaluation in vitro des antifongiques : étude comparative des différents tests. *Revue Française des Laboratoires*, avril ; **2001**, N 332.
- [48] **Rieu P, Eloy O, Bertout S, Mallié M, Bain P, Blanc V.** Sensibilité comparée par CLSI, EUCAST, E-test et ATBW 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, 94—103.
- [49] **Odds FC.** Should resistance to azole antifungal in vitro be interpreted as predicting clinical non-response?. *Drug Resistance Updates*; **1998**; 1, 11-15.

- [50] **M. Hong Nguyen, Peacock J E, Morris A J, Tanner D C, Nguyen ML, Snyderman D R, Wagener M M, Rinaldi M G, Yu V L.** The Changing Face of Candidemia: Emergence of Non- *Candida albicans* Species and Antifungal Resistance. *Am .J. Med.* ; **1996**;100:617-623.
- [51] **Gangneux JP, Guiguen C.** modification récente de l'épidémiologie des mycoses invasives. Maladies infectieuses émergentes. *Revue francophone des laboratoires*- novembre **2007** –N 396 // 85.
- [52] **Klepser ME, Ernst EJ, Pfaller MA.** Update on antifungal resistance. Trends in microbiology september ;**1997** ; vol. 5 no . 9.
- [53] **Pfaller M A, Castanheira M, Messer S A, Moet G J, Jones R N.** Variation in *Candida* spp. distribution and antifungal resistance rates among bloodstream infection isolates by patient age: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008–2009). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*; **2010**; 68: 278–283.
- [54] **Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI).** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast; approved standard, M 27- A3. **2008**.
- [55] **Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI).** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of Filamentous Fungi; approved standard, M 38- A2. **2008**
- [56] **Subcommittee of Antifungal susceptibility Testing of The European Committee for Antimicrobial Susceptibility (EUCAST).** EUCAST Definitive Document EDef 7.1 : method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agent for fermentative yeasts. *Clin Microbiol infect* **2008** ; 398-405
- [57] **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Method for Antifungal disk Diffusion susceptibility testing in Yeast. Approved Guideline, M44-A2 **2009**.
- [58] **Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).** Method for Antifungal disk Diffusion susceptibility testing of non Dermatophyte filamentous Fungi. Approved Guideline, M51-A **2010**.
- [59] **Espinel-Ingroff A, Canton E, Gibbs D, Wang A.** Correlation of Neo-Sensitabs tablet diffusion assay results on three different agar media with CLSI broth microdilution M27- A2

and disk diffusion M44-A results for testing susceptibilities of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* to amphotericin B, caspofungin, fluconazole, itraconazole and voriconazole. *J Clin Microbiol* **2007**; 45: 858-64.

- [60] **Ruhnke M.** Epidemiology of *Candida albicans* infections and role of non-*Candida albicans* yeasts. *Curr Drug Targets* **2006**; 7 (4):495-504.
- [61] **Torres- Rodriguez JM, Alvarado- Ramirez E.** In vitro susceptibilities to yeasts using the ATB FUNGUS 2 method, compared with Sensititre Yeast One and standard CLSI (NCCLS) M27-A2 methods. *J Antimicrob Chemother* ; **2007**. 60/ 6586-61.
- [62] **Alexander BD, Byrne TC, Smith KL, Hanson KE, Anstrom KJ, Perfect JR, et al.** Comparative evaluation of E test and Sensititre yeastone panels against the Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *J Clin Microbiol*; **2007** ; 45 : 698- 706.
- [63] **Curena-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Bernal- Martinez L, Cuesta I, Buitrago MJ, et al.** Comparison of the Vitek 2 Antifungal Susceptibility System with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Broth Microdilution Reference Methods and with the Sensititre YeastOne and Etest Techniques for *In Vitro* Detection of Antifungal Resistance in Yeast Isolates. *J Clin Microbiol* ; **2010** ; 48 : 1782-6.
- [64] **Bourgeois N, Dehandschoewercker L, Bertout S, Bousquet PJ, Rispaïl P Lachaud L,** Antifungal susceptibility of 205 *Candida* spp. isolated primarily during invasive Candidiasis and comparison of the Vitek 2 system with the CLSI broth microdilution and Etest methods. *J Clin Microbiol*; **2010** ; 48 : 154-61.
- [65] **Pfaller M. A, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Nagy E, Dobiasova S, et al.** *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen : geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol* **2008**; 46 : 515-21.
- [66] **Dannaoui E.** Intérêt des tests de sensibilité in vitro dans la prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives. In: conférence de consensus commune SFAR, SPILF. Paris: SRLF, Elsevier Ed; **2004**; p. 52-9.

- [67] **National committee for Clinical laboratory Standard (NCCLS)**. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. Approved standard M38-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards **1998**, Wayne, PA.
- [68] **Chabasse D, Guiguen C, Contet-Audonneau N**. Mycologie médicale. Masson **1999** : 122-125.
- [69] **Rex JH, Pfaller MA, Galgiani JN, Bartlett MS, Espinellngroff A, Ghannoum MA, et al**. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. Development of interpretative breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of in vitro-in-vivo correlation data for fluconazole, itraconazole, and Candida infection. Clin Infect Dis ; **1997** ; 24 : 235-47.
- [70] **Grillot R, lebeau B, Alderbert D, Faure O, Bille J, Woff M**. corrélation in vitro/ in vivo. Détermination de la sensibilité aux antifongiques au laboratoire. Infections fongiques : résistances et nouvelles modalités thérapeutiques, JIDIF : Optimed Ed **2003** : 47-71.
- [71] **Walmsley S, king S, Mc Geer A, Ye Y, Richardson S**. Oropharyngeal candidiasis in patients with VIH: correlation of clinical outcome with in vitro resistance, serum azolé levels, and immunosuppression. Clin Infect Dis **2001** ; 32 : 1554-61.
- [72] **Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, et al**. Epidemiology of candidémie in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis ; **2004**; 23: 317-22.
- [73] **Rex JH, Pfaller MA, Barry AL, Nelson PW, Webb CD**, Antifungal susceptibility testing of isolates from a randomized, multicenter trial of fluconazole versus amphotericin B as treatment of non neutropenic patients with candidemia. NIAID Mycosis Study Group and the Candidemia Study Group. Antimicrob Agents Chemoter ; **1995** ; 39 : 40-4.
- [74] **National committee for Clinical laboratory Standard**. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards **1997**, Wayne, PA.

- [75] **Tortorano AM, Kibler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R.** Candidaemia in Europe : epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents* ; **2006** ; 27 : 359-66
- [76] **Sanglard D.** Mécanismes de résistances. In :infection fongique : résistances et nouvelles modalités thérapeutiques, JIDIF : Optimed Ed ; **2003** : 29-46.
- [77] **Levy SB.** Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* **1992** ; 36 : 695-703. Bacteria
- [78] **Borges-Walmsley MI, McKeegan KS, Walmsley AR.** Structure and function of efflux pumps that confer resistance to drugs. *Biochem J* ; **2003** ; 376 : 313-38.
- [79] **Lortholary O.** Epidémiologie et émergence de souches résistantes : quel profil pour un antifongique idéal ? *J Mycol Med* ; **2004**; 14: 221-225.
- [80] **Sanglard D.** Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeasts. *Enferm Infect Microbiol Clin* **2002** ; 20 : 462-9. Quiz 470, 479.
- [81] **Sanglard D, Ischer F, Koymans L, Bille J.** Amino acid substitutions in the cytochrome p-450 lanosterol 14 alpha-demethylase (CYP51A1) from azole-resistant *Candida albicans* clinical isolates contribute to resistance to azole antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother* **1998**; 42 : 241-53
- [82] **Vandeputte P, Larcher G, Berges G, Chabasse D, Bouchara JP.** Mechanisms of azole resistance in a clinical isolate of *Candida tropicalis*. *Antimicrob Agents Chemother* **2005**; 49 :4608-15.
- [83] **De Backer MD, Ilyina T, Ma XJ, Vandoninck S, Luyten WH, Vanden Bossche H.** Genomic profiling of the response of *Candida albicans* to itraconazole treatment using a DNA microarray. *Antimicrob. Agents Chemother* **2001**; 45: 1660-1670.
- [84] **Miyazaki Y, Geber A, Miyazaki H, Falconer D, Parkinson T, Hitchcock C, et al.** Cloning, sequencing, expression and allelic sequence diversity of ERG 3 (C-5 sterol desaturase gene) in *Candida albicans*. *Gene* ; **1999** ; 236 : 43-51.

- [85] **Eggimann P**, Calandra T. Infections fongiques sévères en réanimation. In : Pathologie infectieuse en réanimation. Editions scientifiques et médicales Elsevier ; **2002** ; pages : 519-556.
- [86] **Plettenberg A, Stoehr A, Höffken G, Bergs C, Tschechne B, Ruhnke M, Heise W, Dieckmann S, Meigel W**. Fluconazole therapy of oral candidiasis in HIV-infected patients: results of a multicentre study. *Infection*; **1994**; 22 :118-23.
- [87] **Johnson EM, Warnok DW**. Azole drug resistance in yeasts. *J Antimicrobial Chemotherapy* **1995**; 36: 751-5.
- [88] **White TC**. Antifungal resistance in *Candida albicans*. *ASM News* ; **1997** ; 63 :427-34.
- [89] **Richet H, Roux P, Des Champs C, Esnault Y, Andreumont A**, French Candidemia Study Group. Candidemia in French hospitals: incidence rates and characteristics. *Clin Microbiol infect* ; **2002** ; 8 : 405-12.
- [90] **Gauzit R**. Epidémiologie des candidoses invasives en réanimation : dernières données. Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS (Réanimation) ; **2008** ; Hors série 4 : 1-3
- [91] **Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoine MH, et al**. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. *JAMA* **1995** ; 274 : 639-44.
- [92] **Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H et al**. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med* ; **2002** ; 28 : 108-21.
- [93] **Gauzit R**. Epidémiologie et facteurs de risque des candidoses systémiques en réanimation. Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS. *Anesth réanim* **2001** ; 20 : 394-9.
- [94] **Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP**. National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *C.albicans* : frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1998** ; 31 : 327-27.

- [95] **Malani PN, Bradley SF, Little RS, Kauffman CA.** Trends in species causing fungaemia in a tertiary care medical centre over 12 years. *Mycoses* **2001** ; 44 : 446-9.
- [96] **Maenza JR, Keruly JC, Moore RD, Chaisson RE, Merz WG, Gallant JE.** Risk factors for Fluconazole- resistant candidiasis in human immunodeficiency virus- infected patients. *J.Infect Dis* **1996**; 173 : 219-25.
- [97] **Lortholary O, Dupont B.** Antifungal prophylaxis during neutropenia and immunodeficiency. *Clin Microbiol Rev* ; **1997**; 10 : 477-504.
- [98] **Fidel PL, Vazquez JA, Sobel JD.** *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev* ; **1999** ; 12 : 80-96.
- [99] **Malani A, Hmoud J, Chiu L, Carver P, Bielaczyc A, Kauffman CA.** *C. glabrata* fungemia : experience in a tertiary care center. *Clin Infect Dis* **2005** ; 41 : 975-81.
- [100] **Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Rice C, Tendolkar S et al.** In vitro activities of voriconazole, posaconazole and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2004**, 48 : 201-5.
- [101] **Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ.** Geographic variation in the susceptibilities of invasive isolates of *C. glabrata* to seven systemically active antifungal agents: a global assessment from the ARTEMIS antifungal Surveillance Program conducted in 2001 and 2002. *J Clin Microbiol* **2004**; 42 : 3142-3146.
- [102] **Pfaller M. A, Diekema DJ.** Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. for the International Fungal Surveillance Participant Group. *Clin Microbiol Infect* ; **2004**; 10 : (Suppl. 1): 11–23.
- [103] **Magill S, Shields C, Sears C, Choti M, Merz W.** Triazole cross-resistance among *Candida* spp : case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy. *J Clin Microbiol* **2006** ; 44 : 529-35.

- [104] . **Burn AK, Fothergill AW, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Patterson TF, McCarthy DI. Et al.** Comparison of antifungal susceptibilities to fluconazole and voriconazole of oral *Candida glabrata* isolates from head and neck radiation patients. *J Clin Microbiol* **2004** ; 42 : 5846-8.
- [105] **Panackala AA, Gribskova JL, Staab JF, Kirby KA, Rinaldi M, Marr A.** Signification clinique de la résistance croisée aux antifongiques azolés chez *C.glabrata*. *Journal de mycologie médicale* **2007** ; 17 : S16-S21.
- [106] **Alexander BD, Schell WA, Miller JL, Long GD, Perfect JR.** *C.glabrata* fungemia in transplant patients receiving voriconazole after fluconazole. *Transplantation* **2005**; 80 : 868-71.
- [107] **Sanguinetti M, posteraro B, Fiori B, Ranno S, Torelli R, Fadda G.** Mechanisms of azole resistance in clinical isolates of *C.glabrata* collected during a hospital survey o antifungal resistance. *Antimicrob Agent Chemother.* **2005**; 49 : 668-79.
- [108] **Borst AM, Raimer T, Warnock DW, Morrison CJ, Arthington-Skaggs BA.** Rapid acquisition of stable azole resistance by *C.glabrata* isolates obtained before the clinical introduction of fluconazole. *Antimicrob Agent Chemother* **2005**; 49 : 783-7.
- [109] **Magill SS, Shields C, Sears CL, Choti M, Merz WG.** Résistance croisée aux dérivés triazolés chez *Candida* spp. : Observation, fréquence dans les isolats sanguins et implication pour les traitements antifongiques. *Journal de mycologie médicale* **2007**; 17 : S1-S10.
- [110] **Moudgal V, Little T, Boikov D, Vasquez JA.** Multiechinocandin and multiazoleresistant *C.parapsilosis* isolates serially obtained during therapy for prosthetic valave endocarditis. *J.Antimicrob. Agents Chemother* ; **2005**; 49 : 767-9.
- [111] . **Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ.** Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location. *J Clin Microbiol* ; **2003**; 41 :2176-9.
- [112] . **Pfaller M A, Diekma DJ, Jones R N, et al.** International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species ; frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol* ; **2001**; 39 : 3254-9.

- [113] **Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ et al.** Guidelines for the treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* ; **2004** ; 38 :161-89.
- [114] **Eggimann P, Pittet D.** Candidoses du sujet non neutropéniques : de la colonisation à l'infection. *Ann Fr Anesth Réanim* ; **2001**; 20 :382-8.
- [115] **Redding SW, Pfaller MA, Messer SA, et al.** Variation in fluconazole susceptibility and DNA subtyping of multiple *C.albicans* colonies from patients with AIDS and oral candidiasis suffering from one or more episodes of infection. *J Clin Microbiol* ; **1997**; 35 : 1761-5.
- [116] **Meis J, Petrou M, Bille J, Ellis D, Gibbs D.** A global evaluation of the susceptibility of *Candida* species to fluconazole by disk diffusion. *Diagn Microbiol Infect Dis*; **2000** ; 36 : 215-223.
- [117] **Pfaller MA, Hazen KC, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ.** Comparison of results of fluconazole disk diffusion testing for *Candida* species with results from a central reference laboratory in the ARTEMIS Global Antifungal Surveillance Program. *J.Clin Microbiol* **2004**; 42 : 3607-12.
- [118] **Pfaller MA, Boyken L, Messer SA, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ.** Comparison of results of voriconazole disk diffusion testing for *Candida* species with results from a central reference laboratory in the ARTEMIS Global Antifungal Surveillance Program. *J.Clin Microbiol* **2005** ; 43 : 5208-5213
- [119] **Pfaller MA , Diekema DJ, Rinaldi MG, Barnes R, Hu B, Veselov AV, Tiraboschi N, Nagy E, Gibbs DL, Groupe International de surveillance antifongique.** Résultats de l'étude globale ARTEMIS de surveillance des antifongiques : analyse pendant 6,5 ans de la sensibilité au fluconazole et au voriconazole de *Candida* et d'autres espèces de levures par la méthode standardisée de diffusion en milieu gélosé. *Journal of Clinical Microbiology* **2005**; Vol 43, No 12 : 5848-5859
- [120] **National committee for Clinical laboratory Standard (NCCLS).** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. 2nd ed. Approved standard M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards; **2002**, Wayne, PA.

- [121] **National committee for Clinical laboratory Standard 2002.** Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeast. Approved guidance M44-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards ; **2004**, Wayne, PA.
- [122] **Delarozière JC, Blancard A, Molinese C, San Marco JL. et Dumon H.** Analyse de tendance sur 20 mois de la sensibilité de *C.albicans* aux antifongiques. *J.Mycol.Med* **2000** ; 10 : 27-29.
- [123] **Talarmin JP, Boutoille D, Tattevin P, Dargère S, Weibreck P, Ansart S, Chenebault JM, Hutin P, Léautez-Nainville S, Gay-Andrieu F, Raffi F,** le GERICCO. Epidémiologie des candidémies : étude observationnelle prospective d'un an dans l'Ouest de la France. *Médecine et maladies infectieuses* ; **2009** ; 39 : 877-885.
- [124] **Clinical Laboratory Standard Institute.** Reference methode for broth dilution antifungal susceptibility testing of Yeasts ; Approved Standard_3rd Edition ; **2008**, CLSI doc M27- A3.
- [125] **EUCAST definitive document EDef 7.1** : method for the determination of broth dilution MIC of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clin Microbiol Infect.* **2008**; 14: 398-405.
- [126] **Pfaller MA, Diekema DJ.** Epidemiology of invasive candidiasis : A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* **2007**; 20 : 133-63.
- [127] **Eloy O, Blanc V, Pina P, Gaudart A, Bressolle ML, Plainvert C, Decousser JW, Pangon B, Allouch PY,** le collège de bactériologie virologie Hygiène (ColBVH). Epidémiologie des fongémies dans les hôpitaux français non universitaires en 2004 : enquête multicentrique ColBVH. *Pathologie biologique* ; **2006**; 54 :523-530.
- [128] **Barchiesi F, Azzeni D, De Prete MS, Sinicco A, Falconi di Francesco L, Pasticci MB et al.** Fluconazole susceptibility and strain variation of *Candida albicans* isolates from HIV infected patients with oropharyngeal candidosis. *J Antimicrob Chemother*; **1998**; 41:541-8.
- [129] **White A, Goetz MB.** Azole resistant *C. albicans*; report of two cases of resistance to fluconazole and review. *Clin Infect Dis.* **1994**; 19: 687-92.

- [130] **Eloy O, Lemaire P, Roubache JF, Pina P, Fave A, Chenard C, Decousser JW, Greder Belan A, Ghnassia JC.** Acquisition de la résistance aux azolés de *C.albicans* au cours de candidoses oropharyngées chez les sujet VIH+. *J. Mycol. Méd* ;1998 ; 8 : 78-82.
- [131] **Morin O.** Historiques des antifongiques et évolution de l'épidémiologie. In : Infections fongiques : résistances et nouvelles modalités thérapeutiques, *JIDIF : Optimed Ed* 2003 : 11-28.
- [132] **Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ.** Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion and Etest ® methods: report from the ARTEMIS global antifungal susceptibility program, 2001. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1440-6.
- [133] **Park S, Kelly R, Kahn JN, Robles J, Hsu MJ, Register E, et al.** Specific substitutions in the echinocandin target Fks1 p account for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical *Candida* sp isolates. *Antimicrob Agents Chelother* 2005; 49: 3264-73.
- [134] **Maertens, J. A.** History of the development of azole derivatives. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004;10:1-10.
- [135] **Woolley, D. W.** Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines. *J. Biol. Chem.* 1944; 152:225–232.
- [136] **Fromtling R.** Overview of medically important antifungal azole derivatives. *Clin. Microbiol. Rev.* 1988; 1:187–217.
- [137] **Burgess, M. A and Bodey G. P.** Clotrimazole (Bay b 5097): in vitro and clinical pharmacological studies. *Antimicrob. Agents Chemother*; 1972; 2:423–426.
- [138] **Tettenborn D.** Toxicity of clotrimazole. *Postgrad. Med. J.* 1974; 50:17–20.
- [139] **Heel R. C, Brogden R N, Parke G E , Speight T. M and, Avery G S.** Miconazole: a preliminary review of its therapeutic efficacy in systemic fungal infections. *Drugs* ; 1980 ;19:7–30.

- [140] **Heeres J, Backx L J, Mostmans J H and Van Cutsem J.** Antimycotic imidazoles. Synthesis and antifungal activity of ketoconazole, a new potent orally active broad-spectrum antifungal agent. *J. Med. Chem.* **1979**; **22**:1003–1005.
- [141] **Van Der Meer, J. W. M., Keuning J J, Scheijgrond H W, Heykants J, Van Cutsem J, and Brugmans J.** The influence of gastric acidity on the bioavailability of ketoconazole. *J. Antimicrob. Chemother.* **1980** ; **6**:552–554.
- [142] **Brass C, Galgiani J N, Blaschke T F, Defelice R, O'Reilly R A, and Stevens D A.** Disposition of ketoconazole, an oral antifungal , in humans. *Antimicrob Agents Chemother.* **1982**; **21**:151–158.
- [143] **Perfect J R, Durack D T, Hamilton J D and Gallis H A.** Failure of ketoconazole in cryptococcal meningitis. *JAMA* **1982**; **247**:3349–3351.
- [144] **Pont A, Williams P L, Loose D S, Feldman D, Reitz R E, Bochra C and Stevens D A.** Ketoconazole blocks adrenal steroid synthesis. *Ann. Intern. Med.* **1982**; **97**:370–372.
- [145] **Lewis J H, Zimmerman H J, Benson G D and Ishak K G.** Hepatic injury associated with ketoconazole therapy. Analysis of 33 cases. *Gastroenterology* ; **1984**; **86**:503–513.
- [146] **National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group.** Treatment of blastomycosis and histoplasmosis with ketoconazole. Results of a prospective randomized clinical trial. *Ann. Intern. Med.* **1985**; **103**:861–872.
- [147] **Arndt C. A. S, Walsh T J, McCully C L, Balis F M, Pizzo P A and Poplack D G** Fluconazole penetration into cerebrospinal fluid: implications for treating fungal infections of the central nervous system. *J. Infect. Dis*; **1988**; **157**: 178–180.
- [148] **Brammer K W, Farrow P R and Paulkner J K.** Pharmacokinetics and tissue penetration of fluconazole in humans. *Rev. Infect. Dis.* **1990** ; **12**:318–326.
- [149] **Espinel-Ingroff A, Shadomy S and Gebhart R J.** In vitro studies with R 51211 (Itraconazole). *Antimicrob. Agents Chemother* ; **1984**; **26**: 5–9.
- [150] **Terrell C. L.** Antifungal agents. Part II. The azoles. *Mayo. Clin. Proc.* **1999**; **74**:78–100.

- [151] **Barone J A, Moskovitz B L, Guarnieri L, Hassell A E, Colaizzi J L, Bierman R H and Jessen L.** Enhanced bioavailability of itraconazole in hydroxypropyl- β -cyclodextrin solution versus capsules in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother* ; **1998**;**42**: 1862–1865.
- [152] **Boogaerts M, Maertens J, Van Der Geest R, Bosly A, Michaux J M, Van Hoof A, Cleeren M, Wostenborghs R and De Beule K.** Pharmacokinetics and safety of a 7-day administration of intravenous itraconazole followed by a 14-day administration of itraconazole oral solution in patients with hematologic malignancy. *Antimicrob. Agents Chemother* ; **2001**; **45**:981–985.
- [153] **Albengres E, Louet H and Tillement J P.** Drug interactions of systemic antifungal agents. *Drug Safety*; **1998**;**18**:83–97
- [154] **Denning D W, Venkateswarlu K, Oakley L, Anderson M J, Manning N J, Stevens D A, Warnock D W and Kelly S L.** Itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob. Agents Chemother*; **1997**; **41**:1364–1368.
- [155] **Sabo J A, and Abdel-Rahman S M.** Voriconazole: a new triazole antifungal. *Ann. Pharmacother.* **2000** ; **34**:1032–1043.
- [156] **Chiou C C, Groll A H and Walsh T J.** New drugs and novel targets for treatment of invasive fungal infections in patients with cancer. *The Oncologist* ; **2000**; **5**:120–135.
- [157] **Potoski B A and Brown J.** The safety of voriconazole (correspondence). *Clin. Infect. Dis.* **2002** ; **35**:1373–1375.
- [158] **Pfaller M, Boyken L, Hollis R et al.** Use of epidemiological cutoff values to examine 9-year trends in susceptibility of *Candida* species to anidulafungin, caspofungin, and micafungin. *J Clin Microbiol* **2010**; **49**: 624-9.
- [159] **Eggimann P, Garbino J, Pittet D.** Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; **3**: 685-702.
- [160] Base de données du Vidal professionnel, **2012**.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *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 ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir 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 méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
الرياضة -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم
وأحسن بالشر والعتيق

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.



**مقاومة الفلوكونازول من طرف 68 سلالة مبيضية
معزولة من وحدات العناية المركزة
بالمركز الاستشفائي الجامعي بالرباط
أطروحة**

قدمت ونوقشت علانية يوم.....

من طرف

السيد: محمد نجاحي

المزداد في : 02 نونبر 1987 باكادير

لنيل شهادة الدكتوراة في الصيدلة

الكلمات الأساسية : المبيضات - دراسة الحساسية لمضادات الفطريات - فلوكونازول - المقاومة - المراقبة.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

أعضاء

السيد : يحيى بنسودة
أستاذ في الصيدلة الجالوسية
السيد : بدر الدين الميموني
أستاذ في علم الطفيليات
السيد : إدريس لحلو أمين
أستاذ في علم الجراثيم
السيد : رضوان موتاج
أستاذ في علم الطفيليات
السيد : جمال المسوري
أستاذ الكيمياء العلاجية