

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

ANNEE: 2011

THESE N°: 03

**LES CANDIDOSES INVASIVES
EN REANIMATION CHIRURGICALE
A L'HÔPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. Lamiae ZOUITEN

Née le 13 Octobre 1984 à Fès

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES: Candidémies – Réanimation chirurgicale – Etude prospective – Index de colonisation.

JURY

Mme. W. EL MELLOUKI

Professeur de Parasitologie

Mr. B. E. LMIMOUNI

Professeur Agrégé de Parasitologie

Mr. L. SAFI

Professeur d'Anesthésie Réanimation

Mr. A. BELMEKKI

Professeur Agrégé d'Hématologie

Mr. H. AZENDOUR

Professeur Agrégé d'Anesthésie Réanimation

PRESIDENTE

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سُبْحَانَكَ اللَّهُمَّ لَنَا إِلا مَا عَلِمْنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

اللَّهُمَّ
الْعَظِيمُ



**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 Etudiantines	Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération	Professeur Naima LAHBABI-AMRANI
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie	Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général :	Monsieur Mohammed BENABDELLAH

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

2. Pr. ARCHANE My Idriss*	Pathologie Médicale
3. Pr. BENOMAR Mohammed	Cardiologie
4. Pr. CHAOUI Abdellatif	Gynécologie Obstétrique
5. Pr. CHKILI Taieb	Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

6. Pr. HASSAR Mohamed	Pharmacologie Clinique
-----------------------	------------------------

Février 1977

7. Pr. AGOUMI Abdelaziz	Parasitologie
8. Pr. BENKIRANE ép. AGOUMI Najia	Hématologie
9. Pr. EL BIED ép. IMANI Farida	Radiologie

Février Mars et Novembre 1978

10. Pr. ARHARBI Mohamed	Cardiologie
-------------------------	-------------



Je dédie cette thèse à...

A la mémoire de ma grand mère

Le destin ne nous a pas laissé le temps pour jouir ce bonheur ensemble et de vous exprimer tout mon respect.

Puisse Dieu tout puissant vous accorder sa clémence, sa miséricorde et vous accueillir dans son saint paradis...



A mes très chers parents

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée.

Maman, ton soutien sans limites, tes prières ainsi que l'attention particulière que tu me portes me renforcent énormément, et m'ont toujours apporté équilibre et sérénité, sans cela, je ne saurais jamais arrivée là où je suis. Tu es une maman formidable et exceptionnelle.

Papa, tu as toujours répondu à toutes les étapes de ma vie, ton amour, ton affection et ton soutien ne m'ont jamais fait défaut, tu as toujours consenti d'énormes sacrifices pour mon bien être et mon éducation.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondé en moi. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.



A mon très cher frère Houssam

Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers toi.

Tu as toujours été pour moi le frère si fort et si tendre à la fois sur lequel je pouvais et je pourrai toujours compter

Puisse l'amour et la fraternité nous unir à jamais.

Je te souhaite la réussite dans ta vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour te combler.

A mon très cher petit frère Alae

Tu es le rayon de soleil de la maison, mon petit frère adoré, je ne saurai t'exprimer tout l'amour que je te porte en quelques lignes.

Je te souhaite tout le meilleur de ce monde, beaucoup de santé, de réussite et de joie.

Je t'aime énormément et j'espère te voir réaliser tous tes rêves et ambitions.



*A toutes mes tantes, spécialement ma chère Naima ainsi qu'à tous mes
oncles*

*Veillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien,
encouragements, et affection.*

*J'espère que vous retrouvez dans la dédicace de ce travail, le témoignage de mes
sentiments sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.*

A tous les membres des familles

Zouiten et Rebhi



A ma très chère amie Wafaa Enneffah

Merci pour ton amour, ton amitié. Tu étais toujours là pour me soutenir, m'aider et m'écouter.

Je te dédie cette thèse ainsi qu'à ta chère famille

Que Dieu te protège et te procure joie et bonheur et que notre amitié reste à jamais.

A mes chères amies : Laila, Sara, Zineb, Asmae, Ihssane, Nadia, Karima

Vous faites partie de ces personnes rares par leur gentillesse, leur tendresse et leurs grands cœurs.

Vous trouvez ici, le témoignage de tout mon amour et toute ma reconnaissance pour votre inlassable soutien.

Je vous souhaite une vie pleine de réussite, de santé et de bonheur.



*À tous mes professeurs et maîtres
qui m'ont imbibé de leur Savoir, particulièrement :*

Le professeur Badre Eddine Lmimouni

*À tous le personnel du service
de Parasitologie Mycologie de L'HMIMV*

À tous mes amis pharmaciens de la faculté de médecine et de pharmacie

À tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer ...





REMERCIEMENTS

*A notre Maître, Président du jury,
Madame Le Pharmacien Colonel W.E.L Mellouki
Professeur en Parasitologie Mycologie*

*C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de
présider notre jury de thèse*

*Je vous prie de trouver ici, le témoignage de ma reconnaissance
éternelle, de mon profond respect et ma haute considération.*

*Puisse Dieu le tout puissant vous accorder bonne santé,
prospérité et bonheur.*



*A notre Maître et Rapporteur de thèse,
Monsieur Le Pharmacien Commandant B.E. Lmimouni
Professeur agrégé en Parasitologie-Mycologie.*

*Vous nous avez accordé un grand honneur en nous confiant
la réalisation de ce travail.*

Vous m'avez prodigué durant plusieurs années.

*Qu'il me soit permis de vous témoigner toute ma gratitude et mon
profond respect d'avoir bien voulu accepter sans réserve, la direction
de ce travail. Vous y êtes grandement impliqué par vos directives, vos
remarques, votre science, et vos suggestions, mais aussi par vos
encouragements dans les moments propices de son élaboration.*

*Je vous prie de trouver ici, le témoignage de ma reconnaissance
éternelle, de mon profond respect et ma haute considération.*

*Puisse Dieu le tout puissant vous accorder bonne santé,
prospérité et bonheur à vous et à votre famille.*



*A notre Maître et juge de thèse,
Monsieur Le Médecin Commandant A Belmekki
Professeur d'Hématologie*

Je vous remercie du grand honneur que vous nous fait en acceptant de juger ce travail.

Veillez trouver ici, l'expression de ma gratitude, ma profonde reconnaissance, mon admiration et ma grande considération.

Puisse Dieu le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur.



*A notre Maître et juge de thèse,
Monsieur Le Medecin Commandant H. Azendour
Professeur d'Anesthésie Réanimation*

*Nous sommes très heureux de l'honneur que vous nous avez fait
en acceptant de siéger parmi ce jury.*

*Par votre simplicité et votre modestie, vous nous avez montré la
signification morale de notre profession.*

*Qu'il nous soit permis, cher Maître, de vous exprimer toute notre
gratitude et notre profonde admiration.*



Au Docteur Hafida Naoui

Médecin biologiste

*Laboratoire de Parasitologie Mycologie, Hôpital Militaire
Mohammed V*

*Vous avez fait preuve de beaucoup de générosité en sacrifiant de
votre temps et votre personne en vue de nous aider à réaliser ce
travail.*

*Puisse dieu vous protéger et vous garder toujours aussi généreuse
de vos sentiments de comparaison et de bonté.*

Au docteur Mourad Bouchrik

Professeur Assistant en Parasitologie-Mycologie

*Laboratoire de Parasitologie- Mycologie, Hôpital Militaire
d'Instruction Mohammed V*

*Nous vous remercions chaleureusement de l'aide que vous nous
avez apporté ainsi que vos judicieux conseils dont vous n'avez
jamais été avare.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre gratitude
et de notre profonde estime.*



*Au Professeur Assistant Karim Sbai Idrissi
Laboratoire de Médecine sociale et Santé publique, Faculté de
Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*Nous sommes très reconnaissants de l'aide que vous nous avez apporté
en réalisant l'analyse statistique des résultats de notre travail.*

A Imane Squalli et Mama Benchellal

*Je vous remercie infiniment pour votre collaboration dans la
réalisation de ce travail*

*A tout le personnel du service de réanimation chirurgicale de
l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de
Rabat*



SOMMAIRE

I. INTRODUCTION	1
II. OBJECTIFS DE L'ETUDE	2
III. MATERIELS ET METHODES	2
III.1 Période et type d'étude.....	2
III.2 Critères d'inclusion.....	2
III.3 Recueil des données.....	3
III.4 Schéma des prélèvements.....	7
III.5 Méthodologie de l'étude.....	7
III.5.1 Phase pré-analytique.....	7
III.5.2 Phase analytique.....	8
III.6 Analyse statistique.....	9
IV. RESULTATS	9
IV.1 Etude descriptive de la population d'études.....	9
IV.1.1 Données épidémiologiques.....	9
IV.1.2 Facteurs de risque.....	12
IV.1.3 Ecologie fongique.....	13
IV.1.4 Niveau de preuve selon les critères de l'EORTC.....	17
IV.2 Etude analytique de la population d'étude.....	18
V. DISCUSSION	20
V.1 Epidémiologie des candidoses invasives en réanimation.....	20
V.2 Pathogénie, virulence et facteurs de risque.....	24
V.2.1 Pathogénie des infections à <i>Candida</i>	24
V.2.2 Virulence et dimorphisme de <i>Candida albicans</i>	26

V.2.3 Réponse de l'hôte.....	28
V.2.4 Facteurs de risque.....	31
V.2.5 Symptomatologie clinique.....	36
V.3 Stratégies diagnostiques des candidoses systémiques.....	39
V.3.1 Méthodes mycologiques.....	39
V.3.1.1 Hémocultures.....	39
V.3.1.2 Prélèvements de la sphère digestive et des sites périphériques.....	40
V.3.2 Méthodes non basées sur la culture.....	48
V.4 Stratégies thérapeutiques des candidoses invasives.....	54
V.5 Stratégies préventives des candidoses invasives.....	66
VI .CONCLUSION.....	71
RESUMES.....	72
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	77

I. INTRODUCTION

Les candidoses invasives représentent un problème de plus en plus fréquent chez les patients hospitalisés, *Candida* sp étant le quatrième pathogène isolé, aux États-Unis, dans les hémocultures réalisées dans un contexte d'infection nosocomiale ^[1-3].

Parmi les multiples localisations et niveaux de gravité des infections dues à *Candida* sp en pathologie humaine, l'infection disséminée par voie hématogène, touchant plusieurs viscères, reste un problème diagnostique et thérapeutique sujet à controverse en Réanimation.

En effet, sur le plan diagnostique, le caractère commensal de *Candida* sp. et sa présence très répandue dans l'environnement ne permet pas de lier son isolement sur les prélèvements microbiologiques à un processus pathologique certain. De plus l'absence de symptomatologie clinique ou d'argument paraclinique de certitude entraîne une méconnaissance de cette pathologie et donc une errance dans les choix thérapeutiques : traitement par excès ou abstention thérapeutique délétère.

Il s'est progressivement produit une modification de la répartition des différentes espèces de *Candida*, avec l'émergence d'espèces non-*albicans*, notamment *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* et *Candida tropicalis* ^[2, 5, 7, 12,13]. Certaines de ces espèces peuvent être résistantes ou de sensibilité diminuée aux différentes classes d'antifongiques, et donc être responsables d'un retard à l'administration d'un traitement adapté ^[3, 8-10]. Au cours des dernières années, de nouveaux antifongiques sont apparus, et des recommandations sur la prise en charge des candidoses invasives ont été édictées ^[4, 5,11-16]. Malgré cela, les candidémies ont toujours un impact majeur

sur la mortalité et la morbidité, ainsi que sur la durée et le coût de l'hospitalisation [2, 3, 6,17-19]. Il est donc primordial de surveiller en permanence et dans le temps l'épidémiologie des candidémies ainsi que l'évolution de la flore fongique dans les services à risque, c'est ce qui nous a conduit à faire le point sur cette pathologie. Pour cela nous avons entrepris une étude prospective dans le service de réanimation chirurgicale de l'hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat

Ces études de surveillance permettent de connaître précisément la répartition des espèces fongiques impliquées et leur sensibilité aux différents antifongiques, dans le but d'adapter au mieux la prise en charge initiale de ces infections au pronostic sombre [21].

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

- Déterminer la prévalence des candidoses invasives en réanimation chirurgicale à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V.
- Etudier le profil épidémiologique des candidoses invasives dans ce service.
- Analyser les facteurs de risque de survenue d'une candidose invasive.

III. MATERIELS ET METHODES

III.1 Période, type et lieu de l'étude

Notre étude est une enquête d'incidence prospective réalisée sur une période de six mois (15 octobre 2009 au 15 mars 2010) en collaboration entre le service de Parasitologie et Mycologie Médicale et le service de Réanimation Chirurgicale de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat.

III.2 Critères d'inclusion

Sont inclus dans l'étude tous les patients hospitalisés dans le service de réanimation chirurgicale durant cette période et sans autre critère de sélection.

III.3 Recueil des données

Cette étude analytique est réalisée à l'aide d'une fiche de renseignements qui contient des informations sur le patient précisant l'âge, le sexe, les facteurs de risque, les données fournies par l'anamnèse, l'examen clinique, la prise en charge thérapeutique ; et des informations sur l'infection, à savoir, le site de prélèvement et les espèces isolées.

Fiche de renseignements

1.0 Date d'hospitalisation .../...../.....

1.1 Date d'admission dans les unités de soins intensifs .../...../.....

1.2 Présence de la candidose invasive avant l'admission dans l'ICU OUI NON date .../...../.....

1.3 Apache score :.....

1.4 Durée d'hospitalisation jusqu'à détection de l'infection fongique (jours) :.....

1.5 Sites de l'infection fongique :

CANDIDOSE INVASIVE POST OPERATOIRE

2.0 Site de colonisation abdominal :.....date .../...../.....

2.1 Site de colonisation thoracique :date .../...../.....

2.2 Poly traumatisme :.....date .../...../.....

2.3 Transplantation d'organes :.....date .../...../.....

2.4 Autres :.....date .../...../.....

2.5 Reprise d'intervention chirurgicale après admission :.....

LES PATHOLOGIES SOUS JACENTES

3.0 Diabète

3.1 Pancréatite

3.2 VIH

3.3 Transplantation d'organes solides :date .../...../.....

3.4 Les hémopathies malignesdate .../...../.....

3.5 Tumeur solide :.....date .../...../.....

3.6 Maladie rhumatologique :.....date .../...../.....

3.7 Autres :.....date .../...../.....

LES FACTEURS DE RISQUE

4.0 Antibiotique à spectre élargi Corticothérapie

4.1 Immunosuppresseurs Brûlures

4.2 Nutrition parentérale (jours) :.....

4.3 Dialyse Hémodialyse Hémofiltration autre :.....

4.4 Ventilation assistée (jours) :.....

4.5 KT veineux central KT artériel Sonde urinaire autre :.....

TRAITEMENT

5.0 Antifongique systémique prophylactique oui non

Le médicament :..... Durée du traitement prophylactique:.....

5.1 Traitement initial de la candidose invasive / L'infection fongique oui non

Le médicament : la durée du traitement thérapeutique :.....

EVOLUTION

Vivant Décédé date .../...../..... perdu de vue

FONGEMIE

7.0 Date de la première culture du sang positive : date .../...../.....

7.1 Site de prélèvement: KT veineux central KT artériel périphérique

7.2 Heure de détection de l'échantillon :.....

7.3 La culture du sang positive:

Avant après traitement antifongique systémique ; Le médicament :

7.4 Espèce(s) identifiée(s) :.....

7.5 Association fongique /bactérienne:.....

7.6 Date de la dernière culture positive du sang : date .../...../.....

7.7 Nombre total de cultures positives du sang / le nombre total des cultures du sang :..... /

INDEX DE COLONISATION

- 8.1** Buccal positive négative non Espèce(s): Date :.....
- 8.2** Nasal positive négative non Espèce(s): Date :.....
- 8.3** Auriculaire positive négative non Espèce(s): Date :.....
- 8.4** Urine positive négative non Espèce(s): Date :.....
- 8.5** Rectal positive négative non Espèce(s): Date :.....
- 8.6** Pulmonaire positive négative non Espèce(s): Date :.....
- 8.7** Vaginale positive négative non Espèce(s): Date :.....
- 8.8** Autre :..... positive négative non Espèce(s): Date :.....

8.9 Nombre de sites colonisés 1 2 3 ≥ 3

8.10 Nombre de culture positive / Totale des cultures :/.....= index de colonisation.....

III.4 Schéma des prélèvements

En présence du critère d'inclusion précité, il a été réalisé le protocole de prélèvements suivant:

- Hémoculture sur milieu mycosis à la recherche de *Candida*, 3 jours successifs en cas de fièvre résistant à l'antibiothérapie à large spectre pendant 3 jours.
- Prélèvements de sites périphériques : pour le calcul de l'index de colonisation à **J1** puis **un jour sur 2** jusqu'à la sortie du patient ou son décès.

III.5 Méthodologie de l'étude

III.5.1 Phase pré-analytique

De l'efficacité du geste de prélèvement et de la quantité du matériel biologique prélevé dépend le succès des étapes ultérieures du diagnostic mycologique.

Les prélèvements sont effectués avant tout traitement antifongique par voie générale.

La phase pré-analytique doit répondre à des obligations biologiques de conditions de prélèvement et d'acheminement.

Prélèvement : Les prélèvements de sites périphériques : buccal, nasal, auriculaire, axillaire, urinaire et rectal sont réalisés pour le calcul de l'index de colonisation à J1 puis un jour sur 2 jusqu'à la sortie ou le décès du patient. Les prélèvements sont effectués à l'aide d'écouvillons stériles. Concernant l'hémoculture, elle est réalisée à partir d'une voie veineuse périphérique avec un volume de 10 ml requis.

Transport : Les prélèvements sont acheminés dans l'heure qui suit.

III.5.2 Phase analytique

Pour chaque prélèvement, nous avons réalisé :

Un examen direct : au microscope optique.

Une culture sur milieu sélectif : Le but des cultures est le développement et l'isolement des colonies qui, une fois dénombrées, permettront l'identification de la (ou des) levure(s) impliquée(s).

L'isolement se fait par ensemencements pratiqués de façon stérile, sur milieux chromogènes (**Candi Select4® BioRad**). Les milieux chromogènes permettent d'identifier *C. albicans* directement à la couleur de la colonie (pour les autres levures, des examens complémentaires sont nécessaires pour identifier l'espèce en cause). Les milieux ainsi ensemencés sont conservés au maximum une semaine à 37° C

Lecture des milieux sélectifs après 48 heures :

1. Si *C.albicans*, faire Bichro-dubli et Bichrolatex albicans éventuellement → résultat.
2. Si *C.glabrata*, confirmer par le RTT Glabrata® → résultat.
3. Si *C.krusei*, confirmer par krusei-color® → résultat.
4. Si *C.tropicalis* → résultat
5. Si présence d'autres levures (colonies blanches), faire galerie API 20 C AUX® → résultat.

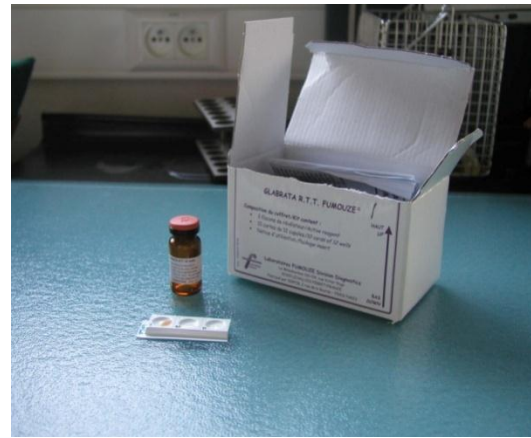


Figure 1 : Kit *Krusei-Color* ®/Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV

III.6 Analyse statistique

Toutes les données ont été traitées avec le logiciel SPSS Base pour Windows version 10. Nous avons utilisé le test de Student pour les variables quantitatives et le test de Khi 2 pour les variables qualitatives, le risque d'erreur α est fixé à 5%. Le risque relatif (RR) et l'intervalle de confiance à 95% (IC95%) ont été calculés pour évaluer l'importance de l'association de l'infection aux facteurs de risque.

IV. RESULTATS

IV.1 Etude descriptive de la population d'études

IV.1.1 Données épidémiologiques

Durant la période d'études, 34 patient sont inclus, 250 séries de prélèvements réalisées (urine, rectal, buccal, nasal, auriculaire, axillaire), soit 1500 prélèvements et 40 hémocultures.

Notre étude montre une prédominance masculine: 28 hommes et 6 femmes soit un sexe ratio H/F = 4,6

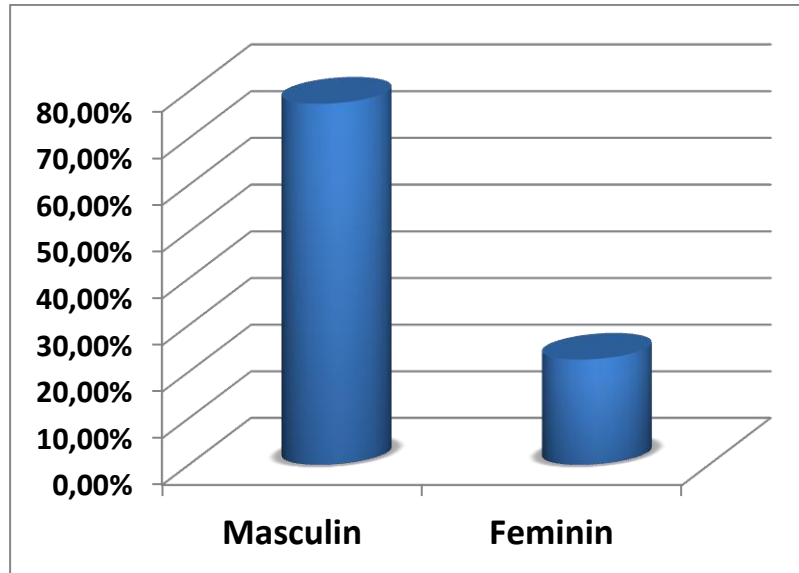


Figure 2: Répartition des patients selon le sexe

L'âge moyen des patients est de 42,29 ans, la médiane est de 44 ans avec des extrêmes à [9-79 ans].

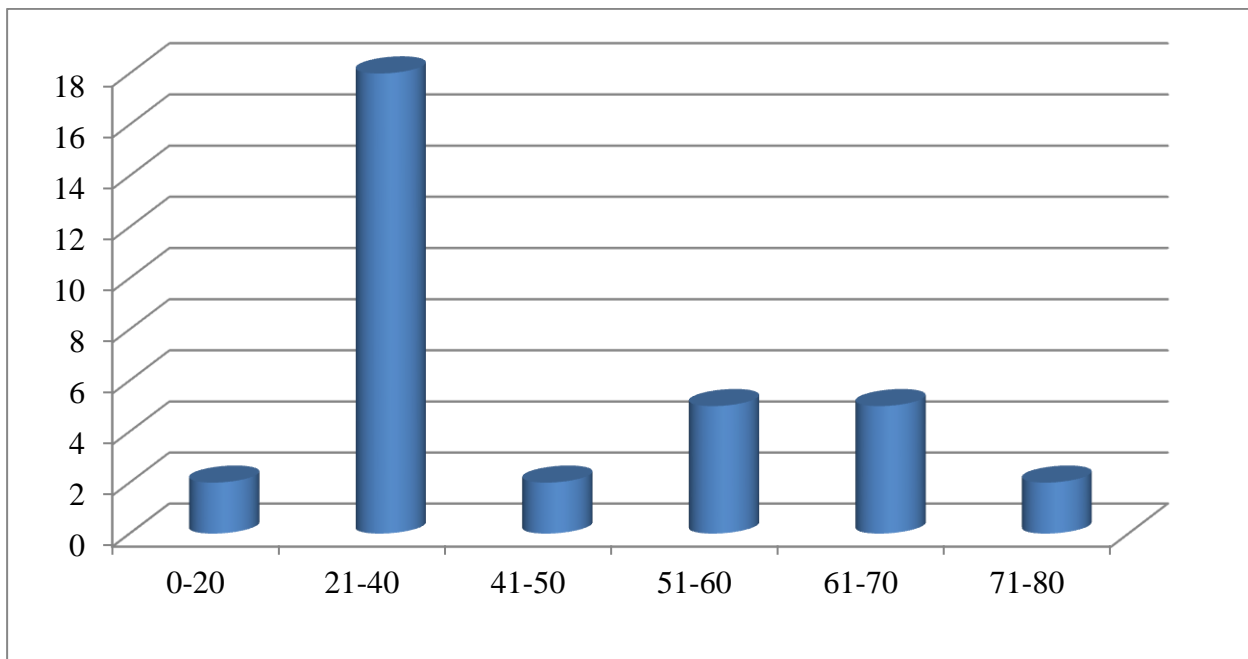


Figure 3: Répartition des patients selon les tranches d'âge

La durée moyenne d'hospitalisation est de 37,4 jours, la médiane est de 36 jours, les extrêmes à [4-119 jours].

Concernant le motif d'hospitalisation, la plupart des patients étaient victimes d'accident de la voie publique (Figure 4).

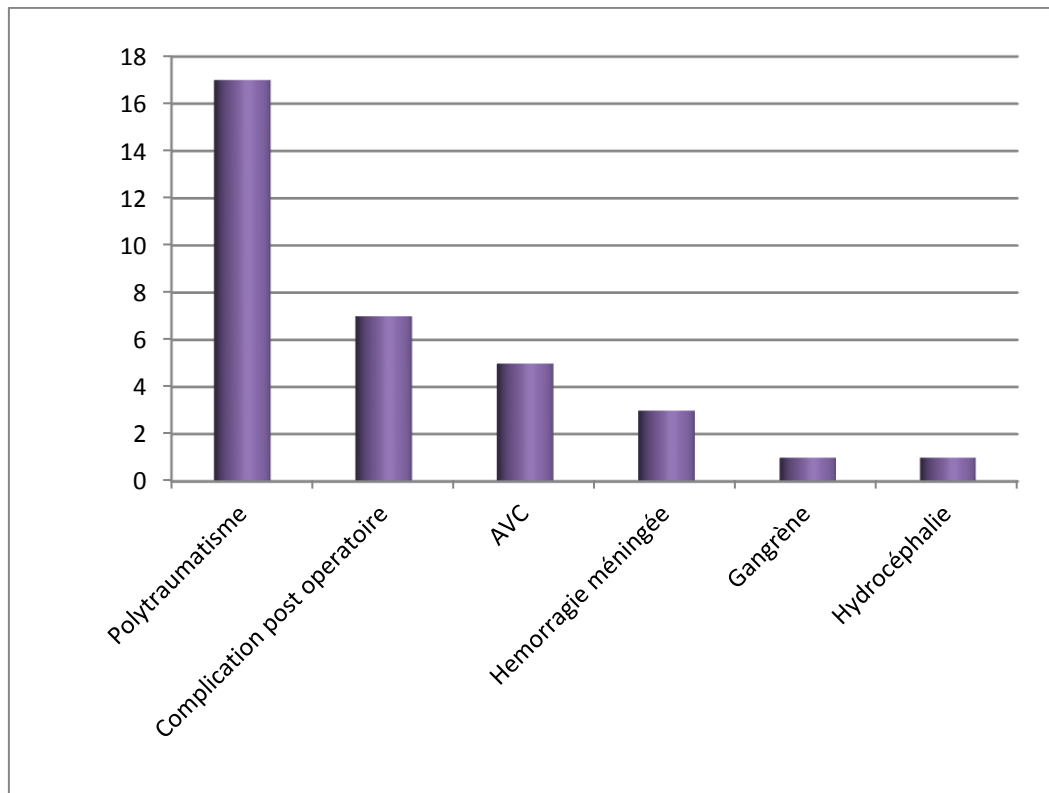


Figure 4: Répartition des patients selon le motif de consultation

Concernant la pathologie sous jacente, sur les 34 patients inclus, 7 en avait : 2 étaient diabétiques et 5 avaient une tumeur solide (figure 5).

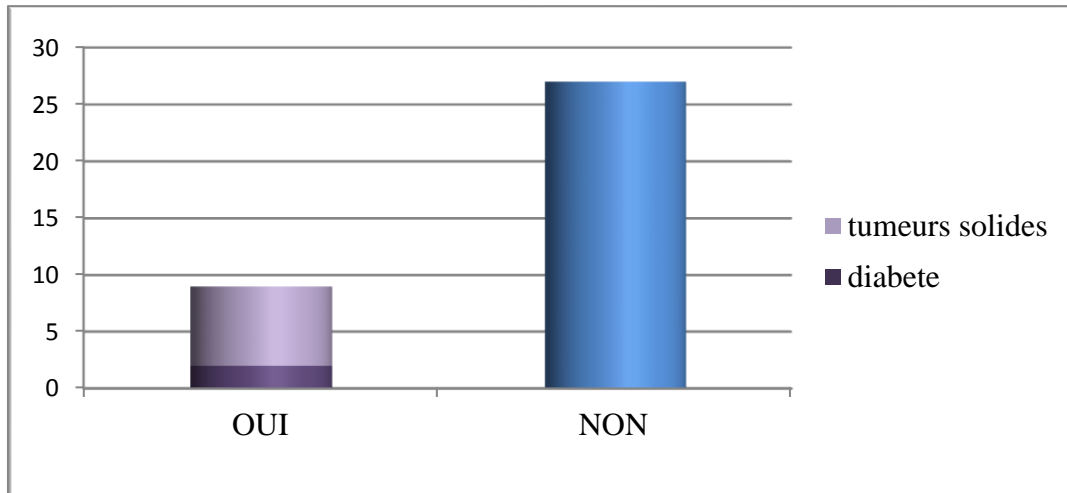


Figure 5 : Pathologie sous-jacentes

IV.1.2 Facteurs de risque

La présence d'un facteur de risque est retrouvée dans 100% des cas avec une répartition différente selon le type (figure 6).

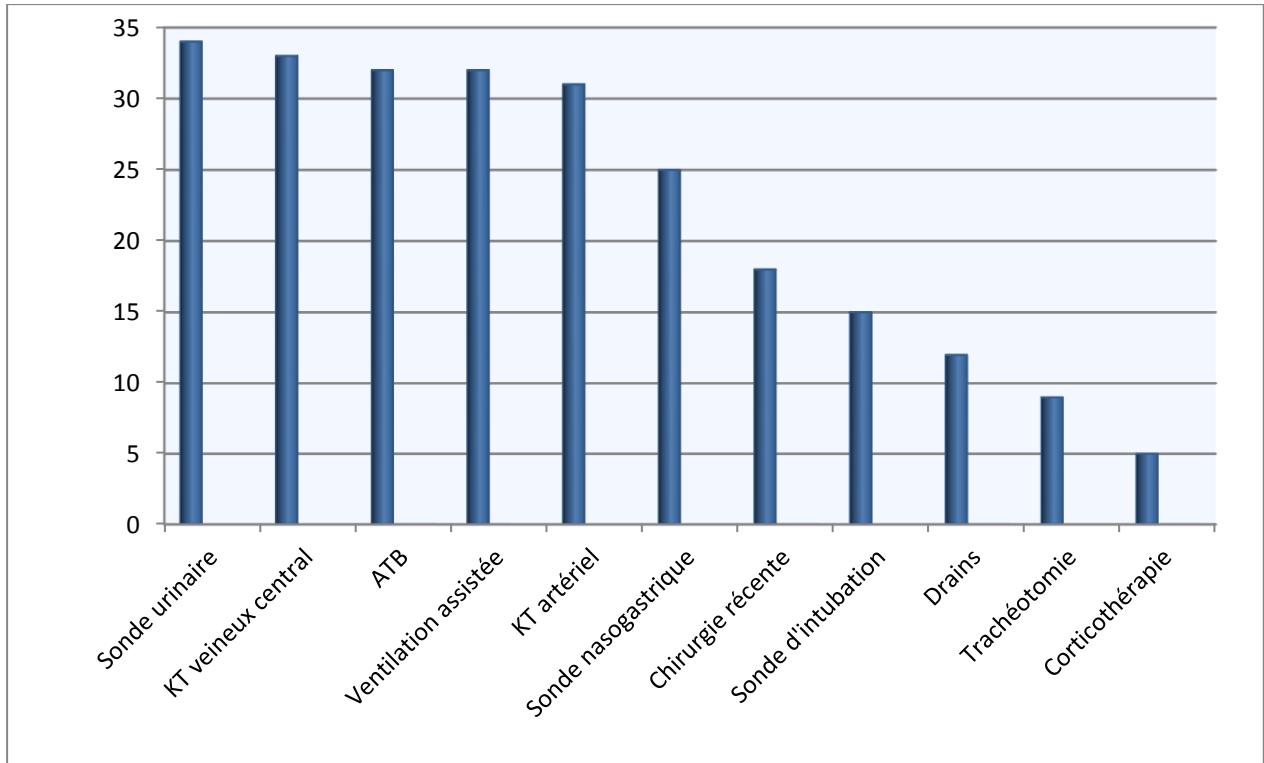


Figure 6 : Répartition des patients selon le facteur de risque

IV.1.3 Ecologie fongique :

Pour un total de 1500 prélèvements réalisés, 248 cultures positives sont retrouvées. Les cultures sont monomorphes (isolement d'une seule espèce au sein d'une culture) dans **86 %** des cas (205/248).

Elles sont polymorphes (isolement de plusieurs espèces au sein d'une même culture) dans **14 %** des cas (33/248).

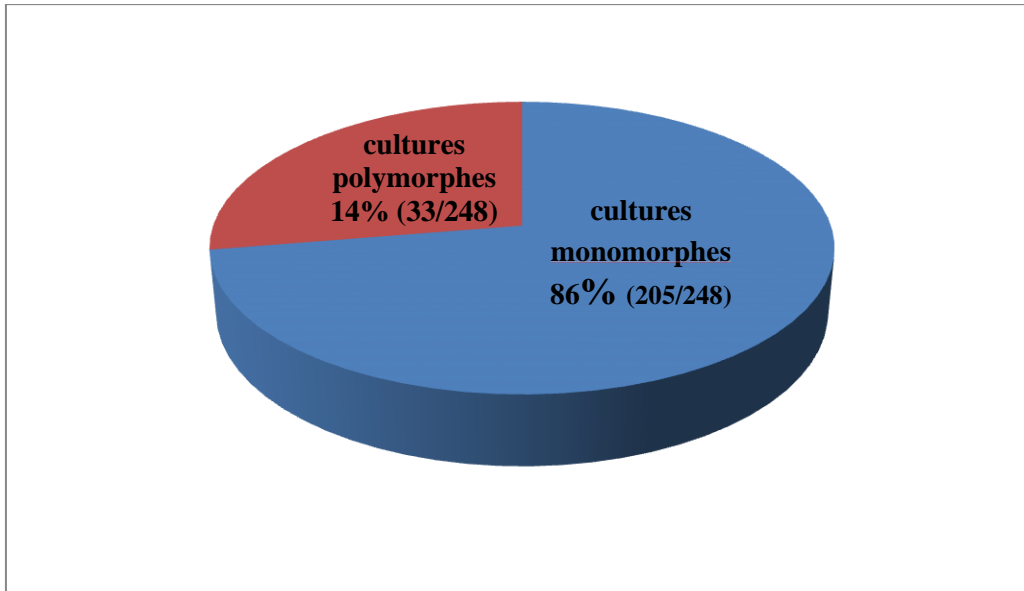


Figure 7 : Fréquences des cultures polymorphes dans l'ensemble des cultures positives

Les cultures monomorphes : *Candida albicans* est l'espèce prédominante puisqu'isolée avec une fréquence de **35 %** (71/205). Les autres espèces sont retrouvées dans l'ordre suivant : *Candida tropicalis* : **28%** (58/205), *Candida glabrata* : **31 %** (63/205), *Candida parapsilosis* : **6 %** (13/205)

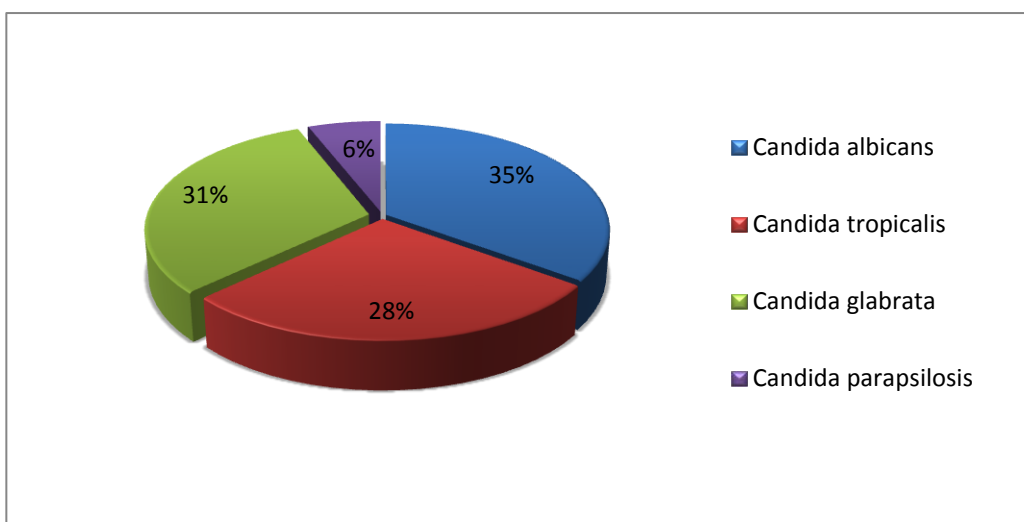


Figure 8 : Fréquence des différentes espèces de *Candida* dans les cultures monomorphes

Les cultures polymorphes : association de deux espèces dans tous les cas

Les associations les plus fréquentes dans les cultures polymorphes sont :

- *C. albicans* + *C. tropicalis* : **27 %** (9/33)
- *C. albicans* + *C. glabrata* : **48 %** (16/33)
- *C. glabrata*+*C. tropicalis* :**25%**(8/33)

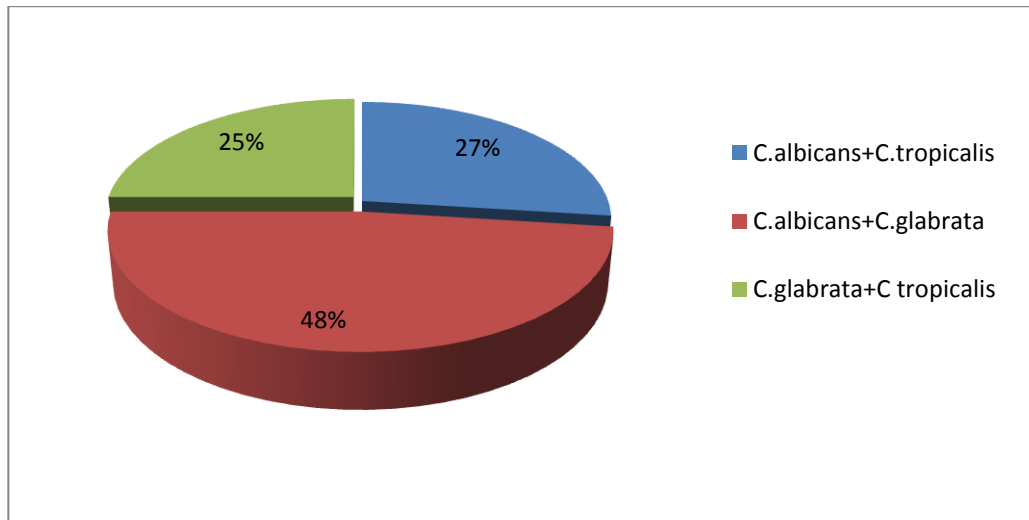


Figure 9 : Fréquence des différentes associations de *Candida* dans les cultures polymorphes

Résultats des sites corporels :

Les sites corporels prélevés sont : la bouche, le nez, l’anus, les urines, l’oreille et le pli axillaire. Nous avons noté une majorité de positivité au niveau du site buccal (figure 10).

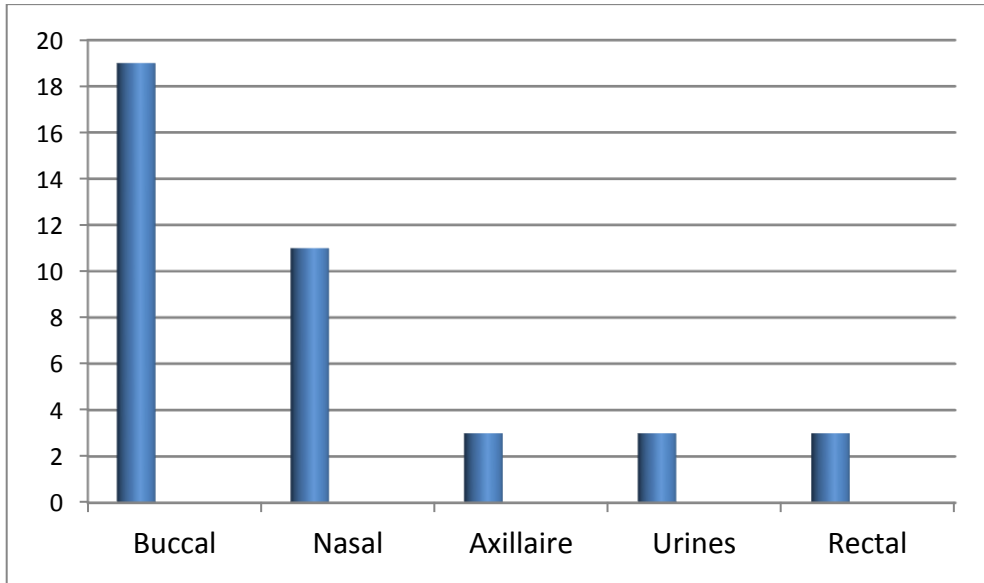


Figure 10: Nombre de patients positifs selon le site prélevé

Les résultats de notre étude ont montré une exclusivité de *Candida tropicalis* au niveau auriculaire, au niveau des autres sites nous avons retrouvé les 4 espèces avec des répartitions différentes (figure 11).

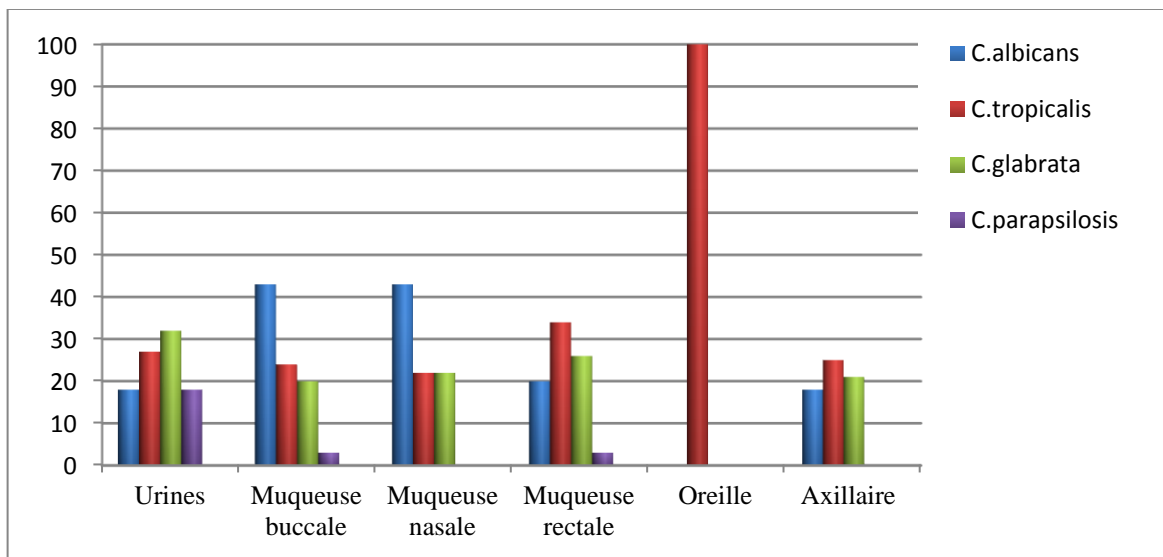


Figure 11 : Répartition des différentes espèces de *Candida* selon le site de prélèvement

Durant notre étude nous avons trouvé 3 hémocultures positives, toutes à *Candida albicans* ce qui correspond à un taux de 8,82%.

Index de colonisation

Au total, 250 index de colonisation (IC) ont pu être déterminés. En fonction de la valeur seuil de positivité ($IC \geq 0,5$), les patients se répartissent en trois groupes (figure 12) :

- **Groupe 1** : 11 patients ne sont pas colonisés ($IC = 0$), soit (32%)
- **Groupe 2** : Patients colonisés
 - **Groupe 2a** : 21 patients (62%) sont faiblement ou modérément colonisés ($IC < 0,5$).
 - **Groupe 2b** : 2 patients (6%) sont fortement colonisés ($IC \geq 0,5$)

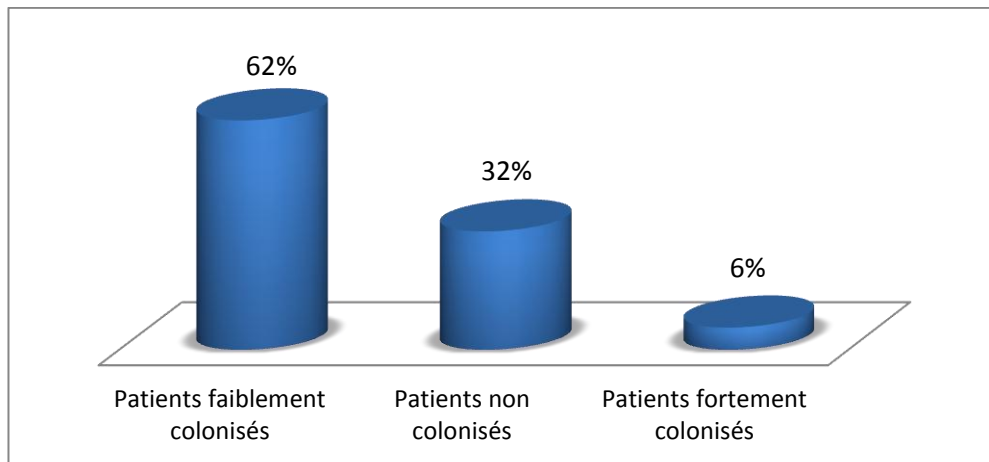


Figure 12: Répartition des différentes espèces de *Candida* selon le site de prélèvement

IV.1.4 Niveau de preuve selon les critères de l'EORTC

En se basant sur la définition des infections fongiques profondes proposées par l'EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer), nous avons pu classer les patients en 3 catégories:

- 20 Patients ont une candidose possible (59 %)
- 11 patients ont une candidose probable (32%)
- 3 patients ont une candidose prouvée (9 %)

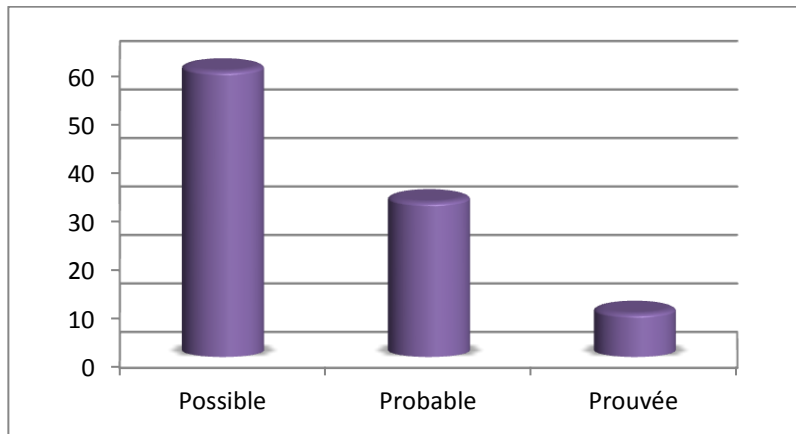


Figure 13 : Niveau de preuve selon les critères de l'EORTC

Devenir des patients:

La mortalité globale a été de 58,8% chez notre population d'étude. Nous n'avons pas pu calculer la mortalité attribuable.

IV.2 Etude analytique de la population d'étude

Pour la corrélation entre les facteurs de risque et les candidoses systémiques prouvées, nous avons utilisé le test du Khi-2, les facteurs avec une signification exacte (soit $p < 0,05$) sont : l'antibiothérapie à large spectre, la sonde urinaire, le KT veineux central, la ventilation assistée et la chirurgie récente.

Tableau 1 : étude analytique des facteurs de risque

Facteurs de risque	p
Antibiothérapie	0,001
Sonde urinaire	0,001
KT veineux central	0,001
Ventilation assistée	0,001
Chirurgie récente	0,001
Sonde nasogastrique	0,142
Corticothérapie	0,873
Drains	0,732
Sonde d'intubation	0,686

Concernant la corrélation entre l'index de colonisation (IC) et le niveau de preuve de la candidose systémique, notre étude a montré qu'un IC > 0,5 est un facteur prédictif d'une candidose systémique prouvée. En effet, un IC moyen de 0,663 est retrouvé pour les candidoses prouvées, de 0,405 pour les candidoses probables et de 0,142 pour les candidoses possibles (figure 14).

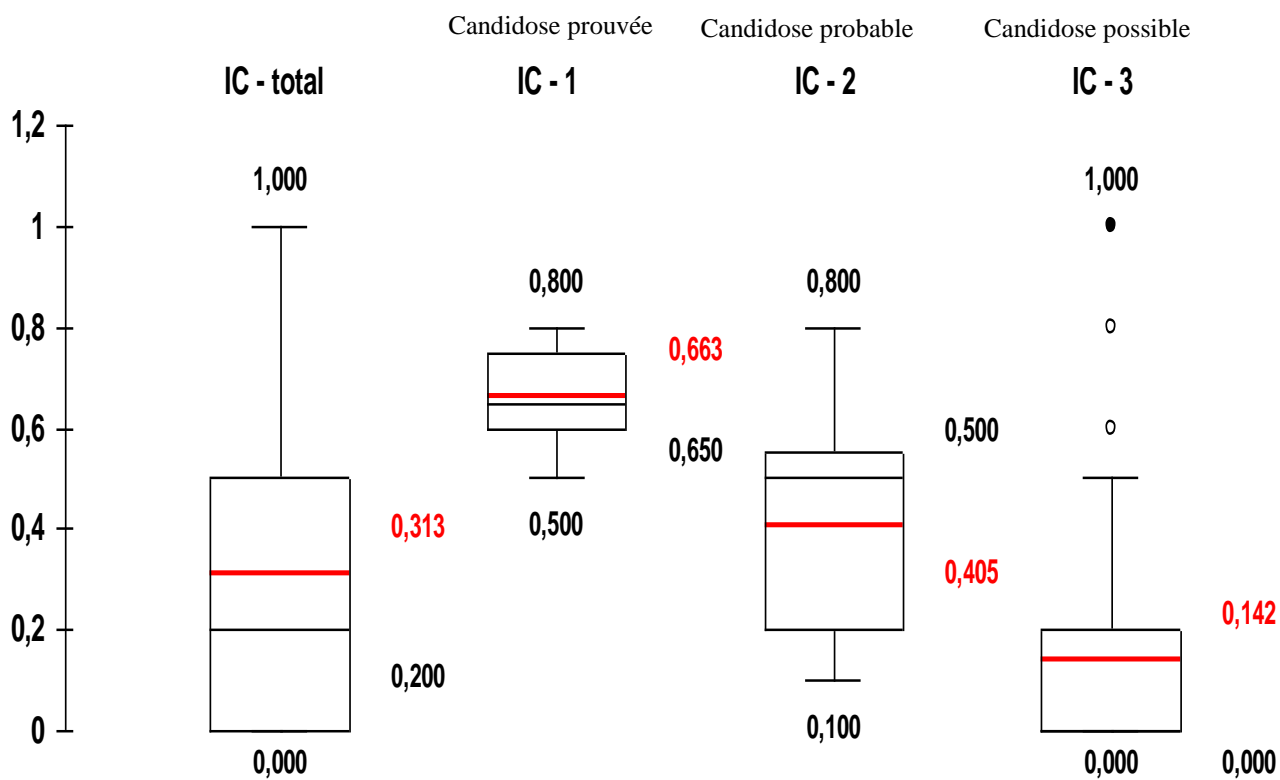


Figure 14 : corrélation IC et niveau de preuve de la candidose systémique

V. DISCUSSION

V.1 Epidémiologie des candidoses invasives en réanimation

Epidémiologie mondiale des candidoses invasives : Bien que familiers avec les manifestations cutanéomuqueuses des candidoses qui sont particulièrement courantes chez les patients multi défaillants, les réanimateurs sont parfois pris de court par le développement pauci symptomatique d'une forme sévère d'infection à *Candida* qui n'est souvent diagnostiquée que tardivement [23, 24]. Ces dernières représentaient 17 % des infections acquises en réanimation détectées au cours de l'étude européenne de prévalence des infections nosocomiales (EPIC), qui portait sur 10 038 patients de 1 417 unités de réanimation de 17 pays européens [25]. Si la morbidité associée aux manifestations cutanéomuqueuses est souvent peu importante, ne nécessitant habituellement pas d'autres mesures que des précautions d'hygiène et un traitement topique, celle attribuable aux formes systémiques ou invasives est loin d'être négligeable [26]. Avec une mortalité globale supérieure à 50 %, le pronostic des candidémies est comparable à celui d'un choc septique [27]. La mortalité attribuable de la candidémie, définie comme la proportion de décès directement liés à l'épisode infectieux, est de l'ordre de 30 à 40 % [28-29].

Tableau 2 : Fréquence des différentes espèces de *Candida* dans les cultures monomorphes

	Tortorano	Trick	Diekema	Richet	Pfaller	Marchetti
	(n=569)	(n=2759)	(n=254)	(n=377)	(n=1134)	(n=1137)
	Italie	USA	USA	France	USA	Suisse
	2002	2002	2002	2002	2002	2004
<i>C.albicans</i>	58,50%	59%	58%	53%	55%	66%
<i>C.glabrata</i>	12,80%	12%	20%	11%	15%	15%
<i>C.parapsilosis</i>	14,60%	11%	7%	16%	15%	1%
<i>C.tropicalis</i>	6,10%	10%	11%	9%	9%	9%
<i>C.krusei</i>	0,90%	1,20%	2%	4%	1%	2%
Miscellaneous	7,10%	7%	2%	6%	1%	7%

Notre étude a montré une prédominance de *Candida albicans* suivi des *Candida glabrata*, *tropicalis* et *parapsilosis* ce qui correspond aux résultats de la littérature (tableau 2).

Nous avons noté l'absence de *Candida krusei* dans notre étude, à la différence d'une étude faite récemment (***Thèse Doctorat en Pharmacie N° 103/2008 : Expérience du laboratoire de parasitologie mycologie dans le diagnostic et le suivi des candidoses systémiques en réanimation***) où cette espèce était majoritaire. Ces résultats montrent l'importance de mener régulièrement ces études épidémiologiques pour surveiller les modifications susceptibles de se voir au cours du temps dans l'écologie fongique d'un service à risque.

Entre 1980 et 1990, l'incidence des infections fongiques hospitalières rapportées par les 115 hôpitaux nord-américains du programme NNIS (*National Nosocomial Infections Surveillance*) est passée de 2,0 à 3,8 épisodes pour 1 000 admissions ^[28]. Les auteurs ont montré que dans un seul centre universitaire, l'incidence est passée de 0.1 en 1980 à 2.0 épisodes pour 10 000 jours-patients en 1992 ^[31].

Les données de 790 unités de réanimation de 300 hôpitaux américains participant au programme NNIS disponibles pour la période s'étendant de 1990 à 1999 indiquent que les levures du genre *Candida* sont responsables de 5 à 10 % des infections septicémiques, occupant le quatrième rang, précédés par les Staphylocoques à coagulase négative, *Staphylococcus aureus* et les entérocoques entre autres ^[32].

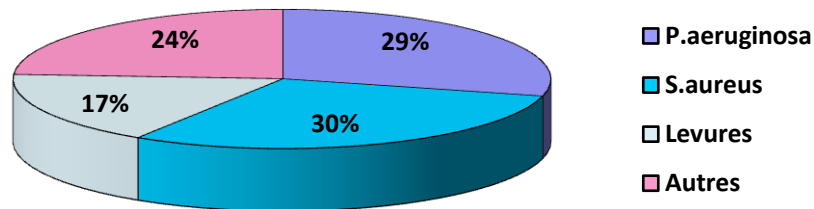


Figure 15 : Prévalence des infections fongiques [Vincent JL. *Jama* 1995 ; 274 ; 639]

Dans cette gigantesque base de données, qui comprend plusieurs dizaines de milliers d'infections nosocomiales, les levures du genre *Candida* sont responsables de 15,8 % des infections urinaires, occupant le deuxième rang, précédées par *Escherichia coli*, et précédant les entérocoques et *Pseudomonas aeruginosa*.

Le programme SENTRY de surveillance antifongique a enregistré entre le 1^{er} janvier 1997 et le 31 décembre 2000 plus de 2000 épisodes de septicémies à *Candida* survenus dans 72 centres médicaux aux Etats-Unis, au Canada, en Amérique Latine et en Europe. Les patients ont été classés en quatre groupes d'âge :-< 1 an, 2 à 15 ans, 16 à 64 ans, et > 65 ans. *Candida albicans* était le germe le plus souvent en cause, étant à l'origine de 60%, 55%, 55% et 50% des cas, respectivement dans ces quatre groupes d'âge. *C.glabrata* a été à l'origine de 17% et 23% des cas dans les deux groupes de patients les plus âgés, alors qu'il n'a été responsable que de 3% des cas dans les deux autres groupes de patients plus jeunes (p<0,001). Dans ces deux derniers groupes, les septicémies dues à *C. parapsilosis* et à *C. tropicalis* ont été plus fréquentes que celles dues à

C. glabrata : 21% à 24%, et 7% à 10% respectivement. La sensibilité des isolats de *Candida* sp. Au fluconazole, à l'itraconazole et à l'amphotéricine B avait tendance à diminuer avec l'âge ($p < 0,01$). Aucune des souches de *C. glabrata* isolées chez les enfants d'un âge ≤ 1 an n'étaient résistantes au fluconazole, ce qui était le cas de 5% de celles isolées chez les patients âgés de 16 à 64 ans, et de 9% de celles isolées chez les patients d'un âge ≥ 65 ans. Les souches de *C. tropicalis* isolées chez les enfants d'un âge ≤ 1 an étaient plus sensibles à la flucytosine (CMI90 : 0,5 ug/ml ; aucune souche résistante) que celles isolées chez les patients d'un âge ≥ 65 ans (CMI90 : 32 ug/ml ; souches résistantes : 11%). Les nouveaux triazolés ont fait preuve d'une haute activité vis-à-vis de toutes les espèces de *Candida* sp.

Ces résultats démontrent que la distribution et la résistance aux antifongiques des *Candida* pathogènes sont différentes chez les enfants et les adultes : cela doit inciter à poursuivre la surveillance épidémiologique pour tenter de limiter l'extension des résistances dans les divers groupes d'âge.

Émergence de souches de *Candida non albicans* : Depuis quelques années, la proportion de souches pathogènes de *Candida non albicans* intrinsèquement ou potentiellement résistantes aux dérivés triazolés, en particulier *Candida glabrata* et *Candida krusei*, a augmenté de façon importante dans certains centres. Il est toutefois important de relever que ces données proviennent essentiellement d'institutions spécialisées dans la prise en charge de patients neutropéniques ou immunodéprimés, et qu'une analyse détaillée des données publiées montre que cette évolution n'a pour l'instant pas eu lieu dans la plupart des services de réanimation.

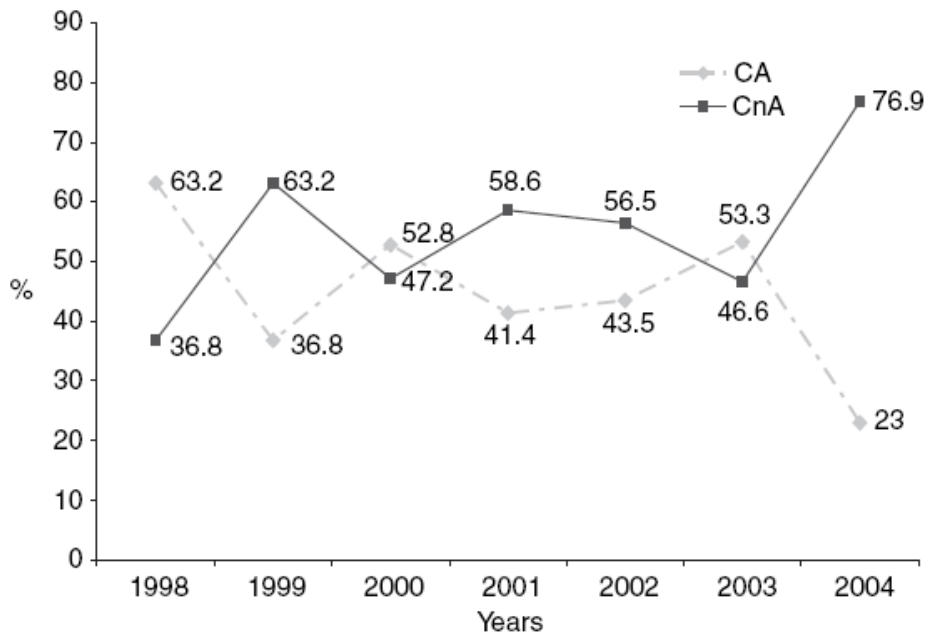


Figure 16 : Evolution des espèces responsables de candidémies [Caggiano et al. *Mycoses* 2007]

V.2 Pathogénie, virulence et facteurs de risque

V.2.1 Pathogénie des infections à *Candida*

Les *Candida* sont des saprophytes dans le milieu extérieur, c'est-à-dire qu'ils se nourrissent à partir de matière organique en décomposition. Chez l'Homme, ils se comportent en commensaux ou en parasites. Le commensalisme est un type d'association naturelle entre deux êtres vivants dans laquelle l'hôte fournit une partie de sa propre nourriture au commensal; il n'obtient en revanche aucune contrepartie évidente de ce dernier. Dans le parasitisme, le parasite tire profit de l'hôte la plupart du temps en affaiblissant ce dernier mais sans chercher à le tuer.

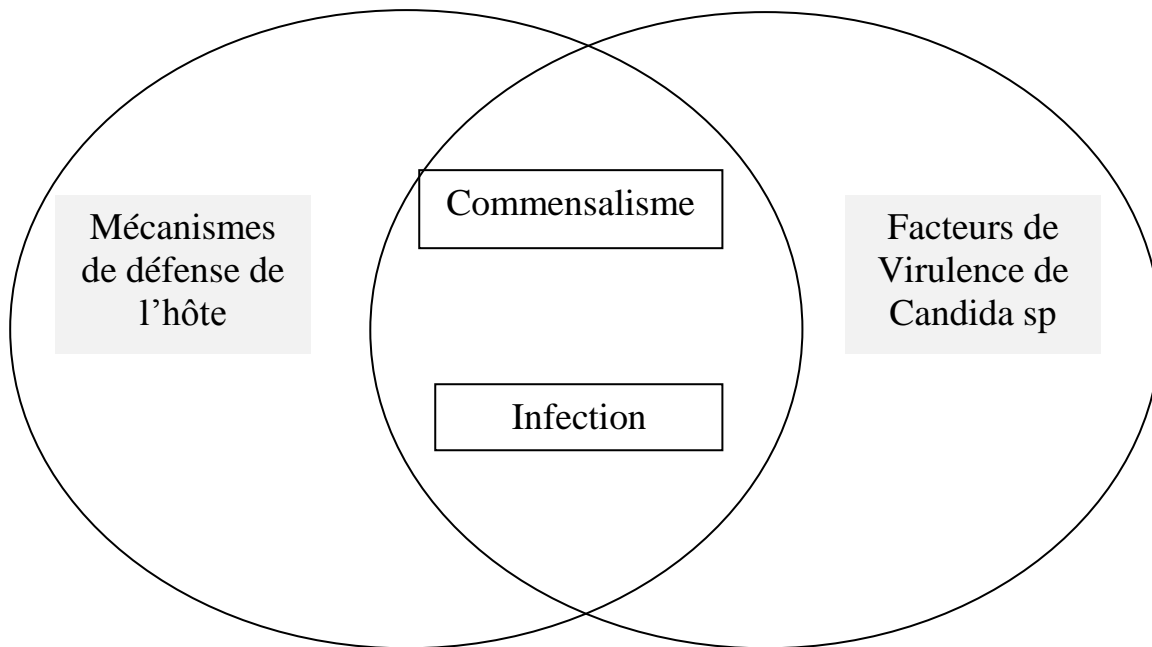


Figure 17 : *Candida* sp. : Commensale de la peau et des muqueuses chez l'homme

Au plan physiopathologique, les levures du genre *Candida* appartiennent à la flore commensale du tractus digestif et de la sphère oro-pharyngée. Les modifications de l'écologie de la microflore résidente, comme celles induites par l'administration d'antibiotiques, favorisent la croissance des *Candida* qui colonisent alors les surfaces muqueuses. Lorsque l'intégrité de ces dernières est compromise, une infection localement invasive se développe et une dissémination hématogène secondaire peut alors survenir à l'occasion d'une baisse transitoire de l'immunité ^[33]. Plusieurs études dans lesquelles l'origine des souches était déterminée par analyse du DNA fongique confirment qu'une grande partie des candidoses systémiques se développent à partir de souches endogènes dont le patient est porteur à l'admission, d'où l'intérêt du calcul de l'index de colonisation à J0 qui a été respecté dans notre étude ^[34]

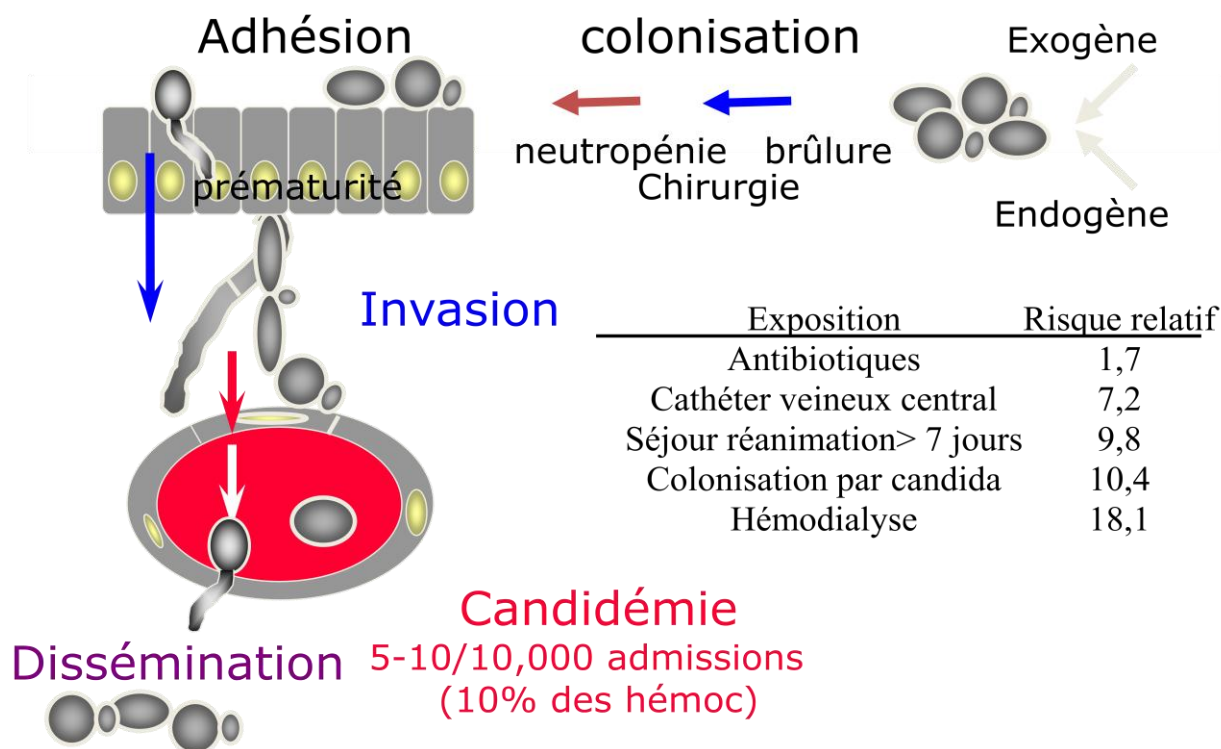


Figure 18 : pathogénie des infections à *Candida* [Eggimann Ph et al, *Lancet Infect Dis*, 2004]

V.2.2 Virulence et dimorphisme de *Candida albicans*

Adhésines de surface : L'adhérence aux cellules épithéliales constitue la première étape dans la pathogénèse des infections à *C. albicans*. Les adhésines de surface, qui jouent un rôle majeur dans cette étape, sont des mannoprotéines de différents types : protéines Als (agglutin-like sequence) ; intégrines ; lectines ; protéine spécifique de la paroi des filaments ou hyphal wall protein (Hwp1p) [35, 36]. Ces différentes molécules sont capables de se fixer sur les protéines de la matrice extracellulaire de l'hôte, tels que le collagène, la

fibronectine ou la laminine. Certaines jouent le rôle de ligands pour les cellules épithéliales de l'hôte ou pour la fraction C3 du complément.

Dimorphisme : *C. albicans* peut passer d'une forme levure à une forme filamenteuse, sous l'influence de conditions environnementales particulières. Cette propriété, qui est utilisée pour l'identification de l'espèce *C. albicans* par le test de blastèse, est un facteur essentiel de la virulence ^[37]. En effet, certaines adhésines sont exprimées principalement à la surface de la forme filamenteuse ^[38,39]. Par ailleurs, la forme filamenteuse présente une plus grande résistance à la lyse par les polynucléaires neutrophiles ^[40].

Variabilité phénotypique ou « switching » : Le switching est une seconde forme de transformation cellulaire de *C. albicans*, qui aboutit à une grande variabilité du phénotype exprimé. Il implique la régulation coordonnée de nombreux gènes et concerne des caractères très différents comme l'aspect morphologique des colonies, la taille de la cellule fongique, la structure antigénique de la paroi, la sécrétion de protéases aspartiques, l'adhérence, la virulence dans des modèles animaux et la sensibilité aux antifongiques. Ce mécanisme permet une sélection rapide du phénotype le mieux adapté au site de l'infection et à la réponse de l'hôte ^[41].

Sécrétion d'enzymes lytiques :

- **Protéases aspartiques** : Les protéases aspartiques sécrétées (secreted aspartic protease ou Saps), jouent aussi un rôle essentiel dans la phase d'adhérence. Leur fonction précise dans ce processus est mal connue, mais deux hypothèses sont avancées: (1) les Saps pourraient agir en tant que ligand pour les protéines de surface des cellules de l'hôte, et ce mécanisme ne ferait pas intervenir leur activité enzymatique ; (2) l'activité enzymatique des Saps pourrait servir à altérer les structures cibles de la cellule de l'hôte, et entraîner ainsi un

changement de conformation des protéines de surface qui permettrait une meilleure adhérence de la levure [42]. Par ailleurs, les Saps interviennent dans la phase d'invasion tissulaire. Ces enzymes sont capables de dégrader différentes protéines humaines présentes au niveau des sites infectés tels que l'albumine, la kératine, le collagène, la mucine, et les IgA sécrétoires. Elles sont aussi impliquées dans les mécanismes de filamentation et de switching [43-44]. Enfin, les Saps interviennent après la phagocytose en altérant les propriétés fongicides des macrophages par une action sur les enzymes-clés du métabolisme oxydatif [45].

Dix gènes (gènes Sap1 à Sap10) codant pour les Saps (protéines Sap1 à Sap10) ont été clonés [46,47]. Les rôles de Sap1, Sap2 et Sap3 dans l'adhérence, de Sap1 et Sap3 dans le phénomène de switching, de Sap6 dans le processus de filamentation, ainsi que de Sap4, Sap5 et Sap6 dans l'altération des propriétés fongicides des macrophages, sont actuellement bien établis. Les isoenzymes Sap7, Sap8, Sap9 et Sap10 ont été identifiées et étudiées plus récemment et leur rôle dans la virulence n'est pas encore connu [45].

- **Phospholipase et lipase** : Les phospholipases facilitent la pénétration de *C. albicans* en altérant la membrane cellulaire (formation de pores dans la membrane). Deux gènes codant pour ces enzymes (PLB1 et PLB2) ont été clonés récemment, et leur rôle comme facteur de virulence a pu être démontré par des études chez la souris utilisant des mutants PLB1-déficients [48]. *C. albicans* sécrète aussi des lipases, mais leur rôle dans la virulence est mal connu.

V.2.3 Réponse de l'hôte

Les mécanismes de défense de l'hôte sont d'une double nature : d'abord non spécifiques puis spécifiques aux microorganismes en cause.

Mécanisme de défense non spécifique : réponse inflammatoire:

La réponse inflammatoire est le plus important des mécanismes non spécifiques de défense de l'hôte. Elle est activée par la pénétration d'éléments fongiques au sein des couches profondes des muqueuses constituant habituellement un milieu stérile. La réponse inflammatoire comporte d'abord, la production de composés chimiques solubles, toxiques pour les germes (lysozymes, cytokines, interféron, complément et protéines de phase aiguë). Puis, les cellules phagocytaires interviennent (polynucléaires neutrophiles, et macrophages exerçant un rôle central dans la défense contre l'infection fongique). Les autres cellules jouant un rôle dans la réponse non spécifique sont les polynucléaires basophiles, les mastocytes, les polynucléaires éosinophiles, les plaquettes et les cellules "tueuses naturelles".

Mécanismes de défense spécifique : réponses immunitaires humorale et cellulaire :

Le système immunitaire cellulaire joue un rôle majeur dans la lutte contre les candidoses superficielles, ce qui explique la fréquence élevée des candidoses cutanéomuqueuses chez les patients présentant un déficit immunitaire cellulaire (sida, lymphome, traitement immunosuppresseur). Cependant des mécanismes immuns humoraux et non spécifiques interviennent aussi pour limiter la prolifération de *C. albicans* au niveau des muqueuses

- **Immunité cellulaire :** Différentes études, réalisées sur des modèles murins de candidoses muqueuses, montrent que les lymphocytes TCD4⁺ sont actifs dans la protection contre les candidoses muqueuses. Le profil cytokinique de type TH1 (production d'interféron- γ (IFN- γ) et d'interleukine-2 (IL-2)) est associé à une résistance à l'infection des muqueuses par *Candida* alors que le profil TH2 (production d'IL-4, IL-6, IL-10) est observé chez les souris sensibles

à l'infection. En effet, les cytokines de type TH1 potentialisent les effets des cellules phagocytaires ; l'IFN- γ stimule l'activité fongicide des polynucléaires neutrophiles en activant la production d'ions superoxyde et augmente la production de dérivés nitrés par les macrophages. À l'inverse, les cytokines de type TH2 réduisent les fonctions candidicides des cellules phagocytaires ; l'IL-4 et l'IL-10 inhibent de manière dose-dépendante la production de dérivés nitrés. Le rôle des cytokines dans le contrôle des infections à *Candida* s'exerce aussi en orientant les cellules précurseurs T CD4+ vers une réponse TH1 ou TH2 dominante. Les cytokines de type TH2, en particulier IL-4 et IL-10 inhibent le développement de la réponse TH1 chez la souris. À l'inverse, le développement d'une réponse TH1 protectrice anti-*Candida* nécessite l'action concertée de l'IFN- γ , avec d'autres cytokines telles que l'IL-6, l'IL-12 et le Tumor necrosis factor (TNF- α). En fait, les mécanismes d'immunorégulation sont d'une grande complexité puisque certaines cytokines (IL-4, IL-12, en particulier) peuvent produire des effets opposés selon leur concentration et le moment où elles participent à la réaction immunitaire [51, 52, 53].

- **Immunité humorale :** L'immunité humorale ne s'avère pas jouer un rôle très important lors de l'invasion fongique. Les anticorps peuvent, toutefois, intervenir par opsonisation et/ou activation du complément. Leur présence, parfois utile dans un but diagnostique, traduit plus l'immunisation que l'immunité [50], les anticorps anti-*Candida* sont présents dans le sérum de la plupart des sujets, même en l'absence de candidose. Cependant des titres d'IgG, IgA, IgM sériques plus élevés ont été observés chez des patients atteints de candidoses superficielles (candidose cutanéomuqueuse chronique, candidose atrophique chronique, candidose pseudomembraneuse) [54].

V.2.4 Facteurs de risque :

Même si le passage du commensalisme à la candidose est influencé par le degré de virulence de l'espèce ou de la souche considérée, il est largement accepté que l'hôte joue un rôle crucial dans le développement de l'infection. Les *Candida* sont des pathogènes strictement opportunistes et ne peuvent causer une maladie que lorsque les défenses de l'hôte sont déficientes. C'est pour cette raison que les candidoses ont de longue date été considérées comme « la maladie de l'homme malade ».

Les facteurs de risque majeurs et mineurs sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 3: Les facteurs de risque ^[33].

Majeurs	Mineurs
Colonisation (index)	Score de gravité élevé
Traitement antibiotiques antérieurs	Nutrition parentérale
Neutropénie	Diarrhée
Immunodépression (HIV, Néo, Brulés...)	Sondage urinaire
Abords vasculaires	Ventilation mécanique
Intervention chirurgicale	Corticothérapie
Insuffisance rénale	Anti H2
	Séjour prolongé en réanimation
	Age

Une étude prospective a été réalisée dans 6 CHU américains entre octobre 1993 et novembre 1995 et a concerné 4276 patients.

L'étude a montré que les principaux facteurs de risque des candidoses invasives étaient l'abord vasculaire, la chirurgie récente et l'insuffisance rénale ce qui

correspond aux résultats de notre étude avec en plus l'antibiothérapie et le sondage urinaire pour nous.

Facteurs de risque et traitement des infections systémiques à *Candida* en unité de soins intensifs : Au cours des deux dernières décennies, la fréquence des infections à *Candida* a spectaculairement augmenté. Les facteurs de risque de candidémie sont un traitement par une antibiothérapie multiple prolongée, la présence d'un cathéter veineux central, une nutrition parentérale totale, la colonisation par des espèces de *Candida*, une chirurgie abdominale, un séjour prolongé en unité de soins intensifs (USI) et un statut immunodéprimé.

Depuis les années 1960, l'amphotéricine B conventionnelle est l'option thérapeutique principale. Mais cet antifongique, s'il est efficace, a l'inconvénient de présenter des effets indésirables gênants. Trois formulations lipidiques de l'amphotéricine B ont donc été mises au point pour diminuer la néphrotoxicité et améliorer la délivrance du médicament. Par ailleurs, les praticiens disposent d'alternatives thérapeutiques depuis l'avènement d'antifongiques azolés moins toxiques, comme le kétoconazole, le fluconazole et l'itraconazole. Cependant, leur utilisation large a conduit à d'autres problèmes, comme la sélection d'isolats résistants. De plus, il existe une controverse quant à l'efficacité du fluconazole dans le traitement des infections candidosiques systémiques, en particulier chez les patients en état critique. Les résultats des essais cliniques ne sont pas en faveur de l'utilisation prophylactique ou empirique du fluconazole en USI. Le traitement des patients chez lesquels l'infection n'est pas prouvée au plan microbiologiques n'apporte pas de bénéfice thérapeutique et fait évoluer la flore fongique vers des souches non candidosiques, plus résistantes au fluconazole.

Facteurs de risque de septicémie à Candida en unité de soins intensifs chirurgicaux : le risque de septicémie à Candida est particulièrement élevé chez les patients hospitalisés en unité de soins intensifs chirurgicaux (USICH), et on estime que la mortalité qui lui est due est de l'ordre de 40% à 60%. C'est pourquoi, une stratégie de prévention basée sur les médicaments antifongiques est maintenant couramment pratiquée dans les USICH. Cependant, il n'existait jusqu'à présent aucune preuve de ses bénéfices. La National Epidemiology of Mycosis Survey (NEMIS) est une étude prospective menée dans six centres hospitalo-universitaires américains entre octobre 1993 et novembre 1995 afin de déterminer les facteurs de risque et l'incidence des candidémies dans les unités de soins intensifs néonataux et chirurgicaux. Cet article présente les résultats observés en USICH.

Tous les patients ayant séjourné au moins 48 heures en USICH ont été inclus dans l'étude. Les « cas » étaient représentés par les sujets chez lesquels un prélèvement sanguin recueilli plus de 48 heures après l'admission en USICH était positif pour Candida en hémoculture.

L'analyse des facteurs de risque a porté sur les données cliniques et épidémiologiques recueillis jusqu'à l'apparition d'une candidémie chez les « cas », alors qu'elle a porté sur les données recueillis sur la totalité du séjour en USICH pour les patients indemnes de candidémie.

Au total, 4276 patients (âge moyen : 53,5+₋ 18,2 ans) ont été inclus dans l'étude et 42 candidémies ont été observées (9,82 candidémies pour 1000 admissions). L'incidence globale des candidémies a été de 0,98 pour 1000 patients-jours et de 1,42 pour 1000 jours passés en USICH chez les patients ayant un cathéter veineux central à demeure.

Candida a ainsi été responsable de 9,2% de l'ensemble des septicémies (n=458). Un peu moins de la moitié (48%) des espèces isolées dans les prélèvements sanguins étaient des *C. albicans* ; 24% étaient des *C. glabrata*, 19% des *C. tropicalis*, 7% des *C. parapsilosis*, et dans un cas (2%) il s'agissait d'un *C. lusitaniae*. La plupart des candidémies (76%) sont survenues dans les trois premières semaines suivant l'admission en USICH, et le taux de mortalité a été significativement plus élevé chez les patients ayant présenté une candidémie : 17 (41%) des 42 « cas » sont décédés contre 8% des patients indemnes de candidémie (rapport de cotes : 7,52 ; intervalle de confiance à 95% [IC] : 3,9 à 14,6 ; p<0,001).

Une première analyse multifactorielle effectuée sur la totalité des 4276 patients inclus a montré que, parmi les facteurs corrélés de façon indépendante à une élévation du risque de candidémie, figuraient une intervention chirurgicale préalable (risque relatif [RR] : 7,3 ; IC : 1,0 à 53,8 ; p= 0,05), une insuffisance rénale aiguë (RR : 4,2 ; IC : 2,1 à 8,3 ; p<0,001) et une nutrition parentérale (RR : 3,6 ; IC : 1,8 à 7,5 ; p<0,001). Une seconde analyse multifactorielle effectuée sur les 3201 patients opérés a révélé que la présence d'un cathéter à triple lumière augmentait le risque de candidémie (RR : 5,4 ; IC : 1,2 à 23,6 ; p=0,03), mais que ce risque était diminué chez les patients ayant subi une intervention neurochirurgicale (RR : 0,2 ; IC : 0,04 à 0,7 ; p=0,02) ou une intervention ORL (RR : 0,3 ; IC : 0,1 à 0,9 ; p=0,02).

Dans les deux analyses, le risque s'est avéré réduit chez les patients recevant un antifongique (respectivement : RR : 0,3 ; IC : 0,1 à 0,6 ; p< 0,001 et RR : 0,2 ; IC : 0,1 à 0,5 ; p< 0,001).

Des coprocultures et urocultures ont été réalisées lors de l'admission en USICH, puis toutes les semaines durant le séjour en USICH : les coprocultures étaient

positives pour *Candida* chez 30% des patients, les urocultures chez 15% et ces deux types de culture chez 11%, mais la présence de *Candida* dans les selles et/ou les urines n'était pas corrélée de façon significative à une élévation du risque de survenue d'une candidémie.

L'étude NEMIS est la plus vaste étude prospective multicentrique à avoir évalué les facteurs de risque de septicémie à *Candida* chez des patients hospitalisés en USICH.

Le taux de candidémies était très variable d'un centre à l'autre, mais le fait d'être traité dans les deux centres ayant les taux les plus élevés n'était pas corrélé de façon indépendante avec une élévation du risque de candidémie. Il est vraisemblable que cette disparité s'expliquait par l'existence d'autres facteurs de risque dans ces deux centres (population comportant une forte proportion de patients traumatisés en particulier).

Il est intéressant de noter que chez environ 25% des patients, l'admission en USICH ne faisait pas suite à une intervention chirurgicale et que le risque de candidémie s'est révélé environ onze fois plus élevé chez les patients opérés.

Un autre résultat important de cette étude est que contrairement à diverses études antérieures, elle n'a pas retrouvé d'élévation significative du risque de candidémie chez les patients ayant reçu l'un des antibiotiques suivants : aminosides, pénicillines (y compris les pénicillines à large spectre et celles associées à un inhibiteur de bêta-lactamase), céphalosporines de première, deuxième et troisième générations, imipénème, fluoroquinolones, clindamycine, métronidazole et érythromycine. Il en était de même chez les patients ayant reçu plusieurs antibiotiques après stratification pour la durée de l'antibiothérapie. Il est probable que cette différence avec les études antérieures soit due au fait que ces dernières étaient rarement prospectives, avaient été réalisées généralement

dans un seul centre sur une durée assez longue, et ne concernaient pas spécialement des unités de soins intensifs.

Par ailleurs, cette étude n'a mis en évidence aucune corrélation significative entre la colonisation digestive ou urinaire par un *Candida* et le risque de survenue d'une candidémie, ce qui inciterait à discuter les recommandations de certains auteurs préconisant une prophylaxie empirique chez les patients colonisés à haut risque. Néanmoins, le taux élevé de mortalité observé dans l'étude NEMIS chez les patients présentant une septicémie à *Candida* était comparable à celui enregistré dans les études antérieures. Cette notion tendrait à justifier la mise en œuvre de stratégies de prévention probabilistes des candidoses invasives d'ores et déjà adoptées dans un certain nombre de centres, d'autant qu'une réduction significative du risque de candidémie a été mise en évidence chez les patients recevant un médicament antifongique (RR=0,3 chez l'ensemble des patients). Il est donc souhaitable que se poursuivent les recherches visant à préciser le profil des patients à haut risque susceptibles de tirer le plus de bénéfices d'un traitement prophylactique par les antifongiques.

V.2.5 Symptomatologie clinique :

Le diagnostic clinique manque de spécificité, on observe une fièvre irrégulière qui peut résister aux antibiotiques à large spectre, une altération de l'état général, une présence de métastases cutanées et une chorioretinite au fond d'œil, des douleurs musculaires...

Types de candidose invasive

* Infection par voie hématogène

- Candidémies

- Atteintes profondes

→ Avec hémoculture positive ou non

→ Endophtalmies, endocardites, ostéites, arthrites, méningites, métastases cutanées, pneumopathies, localisations rénales ou hépatospléniques...

→ Dites disséminées s'il existe au moins 2 sites non contigus

* Formes localisées : péritoine essentiellement

* Atteintes œsophagiennes et cystites: considérées comme « non invasives »

Définitions d'une candidose invasive

* **Fongémie:** \geq 1 hémoculture positive

* **Candidose invasive:** Culture et/ou histologie positive dans un site stérile (urine, LBA, expectoration exclus)

* **Candidose disséminée:** présence d'un champignon dans au moins deux organes ou sites stériles non contigus.

Classification des infections fongiques invasives « IFI » EORTC

* **IFI «Prouvée» :** Présence de levures ou de filaments à type de levures à l'examen histo-cytologique d'une biopsie ou aspiration à l'aiguille à l'exception des prélèvements muqueux **OU** culture positive d'un prélèvement obtenu de manière aseptique d'un site stérile (Fongémie) **ET** anomalies cliniques ou radiologiques évoquant une infection.

* **IFI «Probable» et IFI «Possible» fonction de 3 critères :**

- Facteurs liés au patient
- Arguments mycologiques directs ou indirects
- Signes cliniques «majeurs» (hautement évocateurs) ou «mineurs» (peu spécifiques)

Infection probable = Présence d'au moins 1 critère lié à l'hôte **ET** 1 critère microbiologique **ET** 1 critère clinique majeur (ou 2 mineurs)

Infection possible = Présence d'au moins 1 critère lié à l'hôte **ET** 1 critère microbiologique **OU** 1 critère clinique majeur (ou 2 mineurs)

*** Critères liés à l'hôte**

* Neutropénie (< 500 PNN/mm³, > 10 j)

* Fièvre > 96h malgré une ATB à large spectre appropriée chez un patient à risque élevé

* Température >38°C ET 1 élément suivant

» Neutropénie > 10 j dans les 60 j précédents

» Agents immunosuppresseurs dans les 30 j précédents

» Mycose invasive prouvée ou probable lors d'une neutropénie antérieure

» SIDA symptomatique

» GVH (>= grade 2) ou GVH chronique extensive

» Corticothérapie > 3 semaines dans les 60 j précédents

*** Critères microbiologiques**

Cultures positives à *Candida* sp.

* Examen direct positif à *Candida* sp.

* Antigène mannane positif dans le sérum > 2 prélèvements

*** Critères cliniques**

Doivent être en rapport avec le site du prélèvement positif et l'épisode en cours

* Lésions nodulaires sans autre explication

* Chorioretinite ou endophtalmie

* Candidose hépatosplénique

» Multiples lésions en cocarde, périphériques et de petite taille dans le foie ou la rate retrouvées en écho, scanner ou IRM

» Élévation des phosphatases alcalines

V.3 Stratégies diagnostiques des candidoses systémiques

Le diagnostic mycologique d'une candidose s'inscrit dans le cadre de la démarche classique d'identification d'un micro-organisme. L'examen direct du prélèvement superficiel est suivi d'une mise en culture permettant d'isoler le ou les germes présents. Les colonies de levures isolées peuvent ensuite être identifiées par la mise en œuvre de tests variés qui reposent sur des critères morphologiques, immunologiques, biochimiques, voire génotypiques ^[55].

V.3.1 Méthodes mycologiques

V.3.1.1 Hémocultures :

Le diagnostic des candidoses systémiques est difficile à établir à cause de la non-spécificité des signes cliniques et des difficultés du diagnostic biologique. L'hémoculture est la méthode de référence pour le diagnostic des candidoses systémiques. Cependant, elle a une faible sensibilité et met plusieurs jours pour se positiver retardant ainsi le diagnostic et la mise en route du traitement.

Chez l'agranulocytaire, la positivité des hémocultures positives ne dépasse pas 50 % des cas.

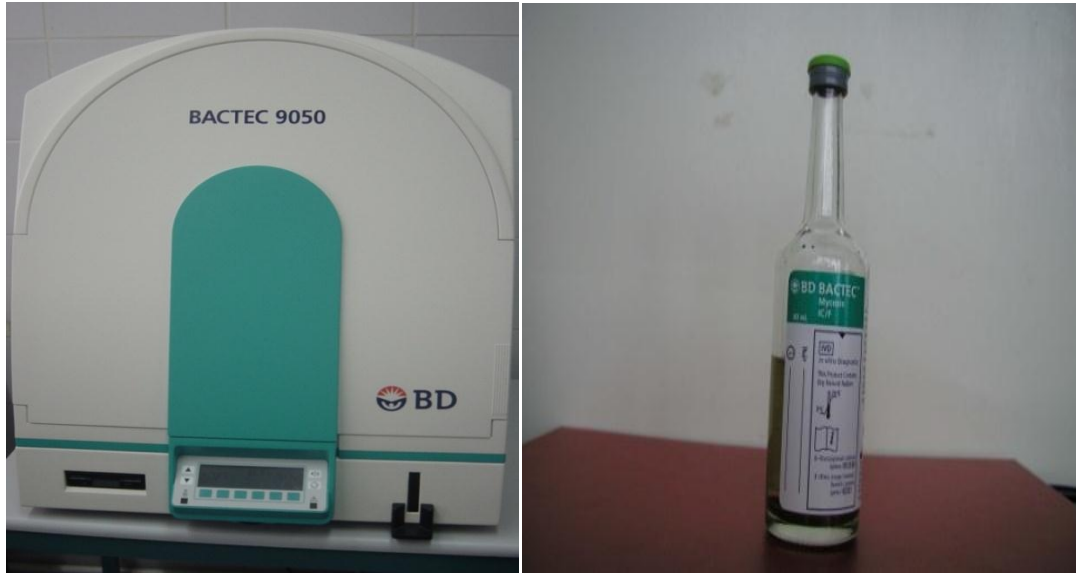


Figure 19 : Automate Bactec 9050® pour hémoculture et flacon mycosis [Photo laboratoire de parasitologie, HMIM V, Rabat]

V.3.1.2 Prélèvements de la sphère digestive et des sites périphériques :

- Prélèvement :

- Au niveau de plusieurs sites : bouche, nez, oreille, expectoration, selles, urines à l'aide d'écouvillons stériles.
- La quantité de colonies de levures isolées est proportionnelle au risque d'infection (index de Pittet), elle traduit la colonisation. La décontamination des sites intéressés évite les infections candidosiques ultérieures.
- Pour les prélèvements périphériques, on réalise toujours un examen direct puis une culture sur milieux Sabouraud et après la pousse on fait un repiquage sur milieu chromogène pour l'identification des espèces.

- Examen direct :

- ❖ Examen direct à l'état frais:

L'écouvillon est humidifié avec de l'eau physiologique stérile, une goutte est déposée entre lame et lamelle et observée au microscope optique.

Le *Candida* apparaît sous forme de petites levures à paroi mince, arrondies ou ovales, bourgeonnantes, de 1 à 10 µm, non capsulées

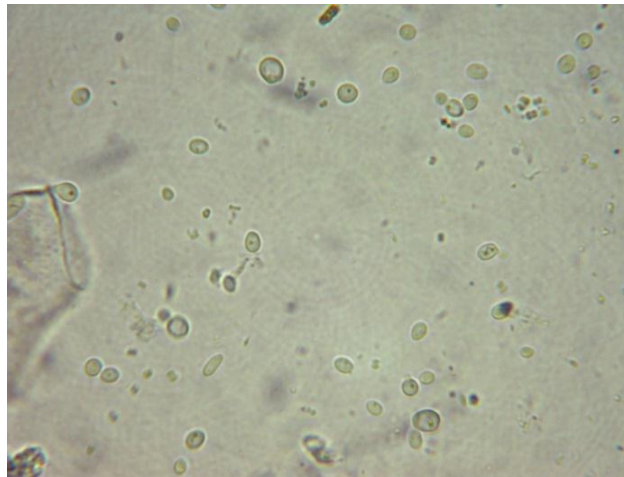


Figure 20: Examen direct à l'état frais : levures, Obj. 40 [Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV]



Figure 21 : Examen direct à l'état frais : Aspect de pseudofilaments, Obj. 40 [Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV]

❖ Examen direct après coloration au Giemsa

Un frottis doit être réalisé et coloré au Giemsa, les levures ainsi présentes apparaissent bleues violettes.

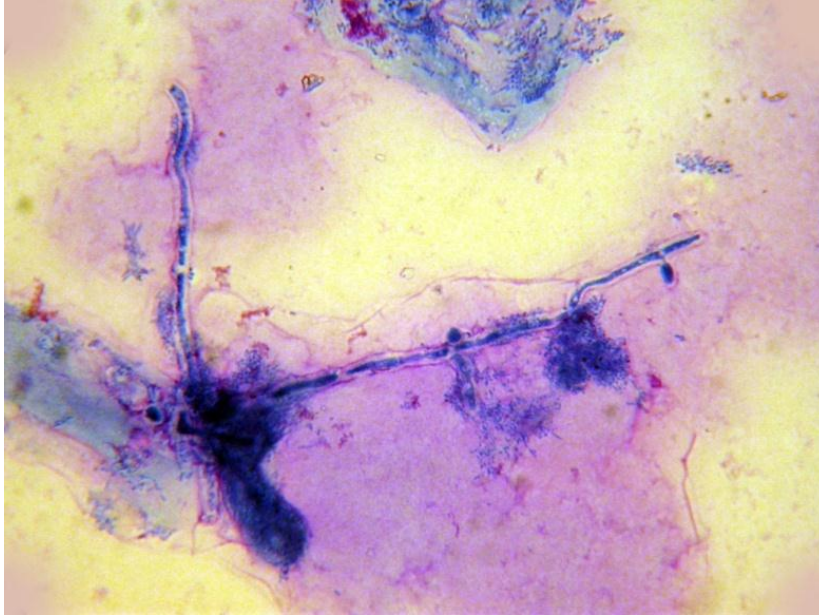


Figure 22: Examen direct après coloration au Giemsa: Aspect de pseudofilaments, Obj. 40 [Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV]

• Culture :

Milieux standards : Sabouraud chloramphénicol avec et sans actidione. Placés en étuve à 37°C, les milieux de culture se couvrent en 24 à 48 heures de colonies hémisphériques mesurant quelques millimètres de diamètre. Plutôt blanchâtres, leur surface est lisse, brillante et luisante, ou plus rarement, croûteuse, terne, sèche, mate ou ridée. Les associations de différentes espèces sont difficilement décelables par un œil non expérimenté ^[56].



Figure 23 : colonies de levures sur milieu Sabouraud chloramphénicol

- Milieux chromogènes.

Ces milieux, auxquels sont ajoutés des substances chromogènes, confèrent aux colonies qui s’y développent une coloration particulière, variable en fonction de l’espèce. Cette coloration est dans la plupart des cas fondée sur la mise en évidence d’une activité de type hexosaminidase (N-acétyl- β -D-galactosaminidase). La multiplication des bactéries est également inhibée sur ces milieux.

Les milieux chromogènes fournissent des résultats plus précis et plus rapides. Ils permettent le diagnostic sélectif des colonies de *Candida albicans*, et présomptif de *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* et *Candida krusei*. Ils permettent également la mise en évidence des associations d’espèces ce qui est impossible avec le milieu de Sabouraud. Différents kits sont commercialisés notamment le Candi Select4®, le Chromagar Candida® et le Candida ID2®. Le Kit utilisé au laboratoire de parasitologie mycologie de l’Hôpital Militaire d’Instruction

Mohammed V est le Candi Select4® BioRad.

Il faut donc se souvenir que l'identification des espèces non-albicans demeure présomptive sur ces milieux et qu'une identification formelle nécessite des tests complémentaires.

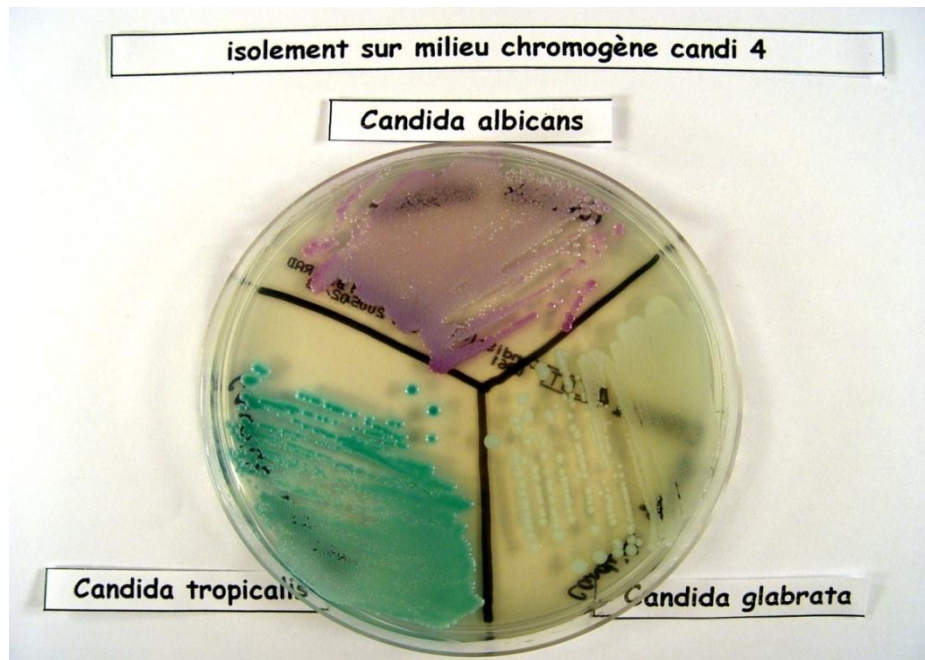


Figure 24 : milieu chromogène [Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV]

- Identification :

Identification de *C. albicans*

Test de filamentation : Il permet, après incubation à 37°C pendant 3 heures d'une suspension de colonies dans du sérum de veau, de mouton ou de lapin, d'identifier le *C. albicans* qui produit des tubes germinatifs [57]. Longtemps considérée comme la méthode de référence, ce test présente une fiabilité limitée puisque 5% des *C. albicans* ne produisent pas de tubes germinatifs et que des espèces comme *C. tropicalis* et *C. parapsilosis* produisent des structures

similaires appelées « tubes germinatifs-like ». De plus, *C. dubliniensis* est également capable de produire des tubes germinatifs, raison pour laquelle il a longtemps été confondu avec *C. albicans*.

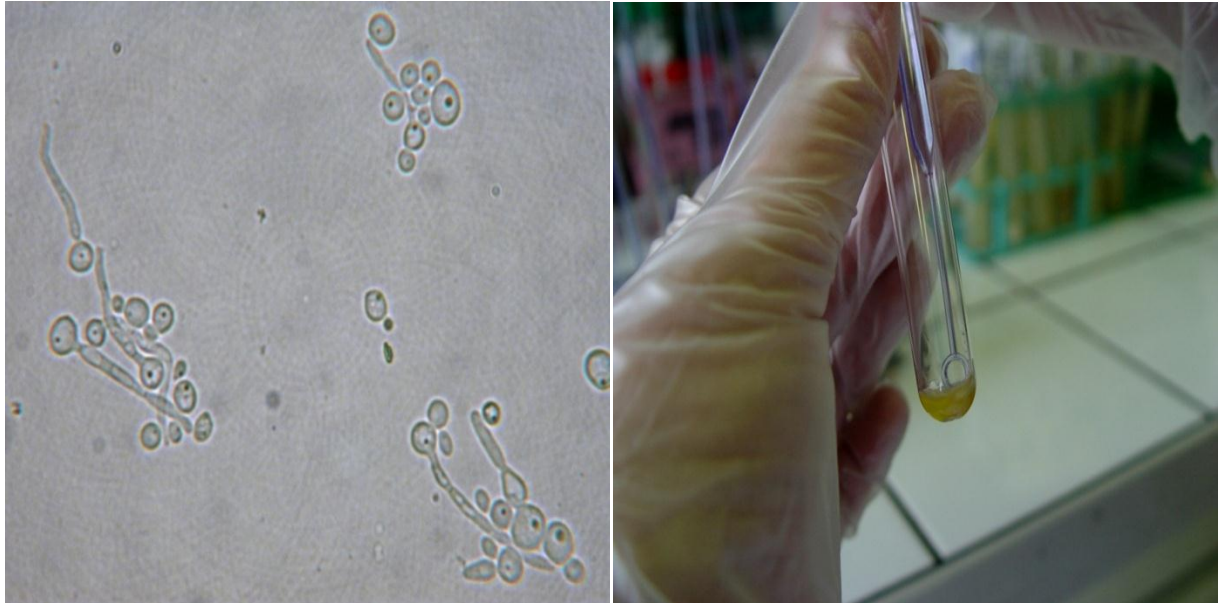


Figure 25 : test de filamentation avec tubes germinatifs [Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV]

Test de chlamydosporulation : On ensemence les levures sur milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile) ou RAT (riz, agar, tween 80) et on incube à 37 °C pendant 24 heures. La présence de chlamydozoospores, structures arrondies de 10 à 15 µm entourées d'une paroi épaisse à double contour, signifie qu'il s'agit dans 95% des cas d'un *Candida albicans*. Récemment, des milieux tournesol-agar ^[58], agar de Staib ^[59], caséine-agar ^[60], tabac-agar ^[61] ont permis d'induire la chlamydosporulation sélectivement chez *C. dubliniensis* permettant ainsi sa différenciation de *C. albicans*.

- Test immunologique

Des tests immunologiques utilisant des anticorps monoclonaux ou polyclonaux et reconnaissant des épitopes pariétaux spécifiques à certaines espèces de *Candida* ont été développés. Ces méthodes avaient l'inconvénient d'une spécificité limitée ou d'une indisponibilité dans le commerce. On utilise actuellement des billes de latex colorées qui ont été sensibilisées par un anticorps monoclonal reconnaissant un antigène pariétal spécifique. Par exemple, Bichrolatex[®] albicans (Fumouze Diagnostics) permet la co-agglutination de particules de latex colorées en rouge sur des constituants pariétaux de *C. albicans* avec une sensibilité et une spécificité approchant les 100% [62].



Figure 26 : Kit Bichrolatex[®] albicans: [Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV]

Par ailleurs, un nouveau dispositif d'immunochromatographie sur membrane (ICM) à récemment été proposé. Le test ICM albi-dubli, (SR2B, Avrille, France) utilise deux anticorps monoclonaux et permet d'identifier *C. albicans* et *C.*

dublinskiensis (ou d'exclure les deux espèces). Une sensibilité et une spécificité de respectivement 93,1% et 100% pour *C. albicans* et de 98,3% et 97,9% pour *C. dubliniensis* ont été démontrées [63,64]

Identification d'espèces non-albicans

- Tests immunologiques : Il s'agit à nouveau de tests d'agglutination de particules de latex porteuses d'anticorps spécifiques pour l'espèce recherchée. On peut citer Kruseicolor® pour *C. krusei* et Bichrodubli® pour *C. dubliniensis* (Fumouze diagnostic). La sensibilité et la spécificité de ces deux tests se situent aux alentours de 100% et le résultat est disponible en quelques minutes.



Figure 27 : Kit Krusei-Color®: [Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV]

- Test enzymatique : Tout comme *C. krusei*, *C. glabrata*, pose des problèmes de résistance aux azolés. Le test Glabratta RTT ® (Fumouze Diagnostic) permet d'identifier ses colonies en 20 minutes en utilisant sa capacité à hydrolyser le tréhalose et pas le maltose. La sensibilité et la spécificité se situent entre 91% et 98% selon les milieux de culture et les études [65,66].



Figure 28 : Kit RTT-Glabrata® albicans: [Photo du Laboratoire de Parasitologie Mycologie, HMIMV]

- Etude des caractères physiologiques : Un grand nombre de dispositifs miniaturisés basés sur l'assimilation des hydrates de carbones (auxanogramme) et leur fermentation (zymogramme) sont commercialisés. Le nombre de sucres testés varie selon les fabricants. Par exemple la galerie ID® 32C (bioMérieux) comprend 29 sources de carbone ainsi qu'un test de sensibilité à l'actidione et un test à l'esculine ; elle nécessite près de trois jours d'incubation et demeure aujourd'hui un système de référence [56]

V.3.2 Méthodes non basées sur la culture :

Deux catégories de tests diagnostiques ont été développées ces dernières années dans le but d'améliorer et d'accélérer le diagnostic des mycoses profondes ou systémiques : la détection d'antigènes circulants et celle d'ADN fongique dans différents liquides biologiques.

Détection d'antigènes fongiques

Cette approche est utilisée depuis de nombreuses années pour détecter la présence de cryptocoques, en particulier dans le LCR et le sérum.

Les développements récents concernent essentiellement *Aspergillus* et *Candida*. Pour *Aspergillus*, un test commercial (Platelia *Aspergillus*, Biorad®) permet la détection par méthode Elisa d'un composant de la paroi, le galactomannane, dans différents échantillons cliniques, dont en particulier le sérum [67, 68, 69,70].

Pour *Candida*, un test analogue au Platelia *Aspergillus* a été récemment développé pour la détection d'un composé de paroi, le mannane (Platelia *Candida*, Biorad®). Ce dernier test a jusqu'ici été essentiellement évalué rétrospectivement dans des collectifs de patients onco-hématologiques ou de soins intensifs. La sensibilité de la détection du mannane sérique pour détecter une candidose invasive est relativement basse (de l'ordre de 40 à 50% selon les études), mais la détection combinée de l'antigène mannane et des anticorps antimannane permet d'accroître significativement la sensibilité de ce screening (80%) sans en réduire la spécificité [71]. Une approche a été faite dans un collectif de patients leucémiques et observé une excellente sensibilité de la combinaison mannane-antimannane pour la détection précoce de candidose hépatosplénique chez 23 patients (sensibilité 89%, spécificité 84%) par rapport à des patients contrôles [72].

	Mannane Pastorex Candida®	Mannane Platelia Candida®	Ac anti mannane	Combinaison des 2 tests
Se	28 %	40 %	53 %	80 %
Sp	100	98	94	93
VPP	100	85	72	78
VPN	82	84	87	93

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, May 1999, p. 1510-1517
0095-1137/99/\$04.00+0
Copyright © 1999, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 37, No. 5

New Enzyme Immunoassays for Sensitive Detection of Circulating *Candida albicans* Mannan and Antimannan Antibodies: Useful Combined Test for Diagnosis of Systemic Candidiasis

BOUALEM SENDID,¹ MARC TABOURET,² JEAN LOUIS POIROT,³ DANIEL MATHIEU,⁴
JEANINE FRUIT,¹ AND DANIEL POULAIN^{1*}

Equipe INSERM 99-15, Laboratoire de Mycologie Fondamentale et Appliquée, CH&U, Faculté de Médecine,
Pôle Recherche, F-59045 Lille,¹ Sanofi Diagnostics Pasteur, 59114 Steenvoorde,² Laboratoire de
Parasitologie-Mycologie, Hôpital Saint Antoine, 75012 Paris,³ and Service de Réanimation
Médicale et de Médecine Hyperbare, Hôpital Calmette, Lille,⁴ France

Des études prospectives supplémentaires ont été nécessaires avant de proposer l'utilisation de ce test, particulièrement chez des patients de soins intensifs présentant un risque accru d'infection à *Candida*. Les résultats sont rapportés dans les 2 études suivantes.

New Enzyme Immunoassays for Sensitive Detection of Circulating *Candida albicans* Mannan and Antimannan Antibodies: Useful Combined Test for Diagnosis of Systemic Candidiasis

BOUALEM SENDID,¹ MARC TABOURET,² JEAN LOUIS POIROT,³ DANIEL MATHIEU,⁴
JEANINE FRUIT,¹ AND DANIEL POULAIN^{1*}

Equipe INSERM 99-15, Laboratoire de Mycologie Fondamentale et Appliquée, CH&U, Faculté de Médecine,
Pôle Recherche, F-59045 Lille,¹ Sanofi Diagnostics Pasteur, 59114 Steenvoorde,² Laboratoire de
Parasitologie-Mycologie, Hôpital Saint Antoine, 75012 Paris,³ and Service de Réanimation
Médicale et de Médecine Hyperbare, Hôpital Calmette, Lille,⁴ France



**Le suivi bi-hebdomadaire de la réponse humorale
anti-mannane est un bon marqueur de la colonisation
(corrélation avec candidurie et ICC)**

Contribution of the Platelia *Candida*-Specific Antibody and Antigen Tests to Early Diagnosis of Systemic *Candida tropicalis* Infection in Neutropenic Adults

Boualem Sendid,^{1,2} Denis Caillot,³ Bénédicte Baccouch-Humbert,² Lena Klingspor,⁴
Monique Grandjean,³ Alain Bonnin,³ and Daniel Poulain^{1,2*}

- **Etude prospective appliquée à des patients non-neutropéniques et neutropéniques,**
- **Infectés par *C. albicans* et *C. non-albicans*,**
- **Sensibilité: 0,1 ng/ml, détection précoce**

Très séduisante dans son principe ... plus délicate dans sa réalisation

Un troisième test a été développé, qui détecte la présence d'un composé de paroi commune à la plupart des champignons (dont notamment *Candida* et *Aspergillus*), le glucane (β 1-3 d glucane). Une étude prospective récente a démontré l'intérêt de ce test utilisé comme screening chez des patients oncologiques à risque de développer notamment une candidose invasive ^[73].

En résumé, l'intérêt de ces tests de détection d'antigènes circulants pour le diagnostic des infections fongiques invasives est double : en cas de résultats négatifs, conduire à une réduction de l'utilisation empirique d'agents antifongiques souvent très onéreux ; en cas de résultats positifs, initier une administration préemptive plus précoce d'agents antifongiques avec l'espoir d'une efficacité accrue.

Détection d'acides nucléiques fongiques

Il s'agit d'un domaine encore expérimental, aucun test commercial n'étant aujourd'hui disponible pour le diagnostic moléculaire des infections fongiques.

Trois approches principales ont été explorées, visant à détecter soit *Candida*, soit *Aspergillus* ou l'ensemble des mycoses potentiellement responsables d'infections chez l'homme (méthode dite panfongique). De nombreuses méthodes ont été investiguées, utilisant des cibles moléculaires variées, des formats d'extraction, d'amplification et de détection des acides nucléiques différents. Ces méthodes ont montré une bonne sensibilité analytique in vitro, mais les études prospectives utilisant des échantillons cliniques sont encore très fragmentaires et ne permettent pas ou pas encore de proposer cette approche en dehors de protocoles cliniques ^[74]. Il y a presque dix ans, un groupe allemand publiait une des premières études utilisant une méthode PCR capable de détecter *Aspergillus* et *Candida* dans le sang de patients greffés de moelle osseuse ^[76]. En fait, les résultats excellents obtenus alors (sensibilité de 100%, spécificité de

100%, valeur pronostique de la persistance ou disparition de la présence d'ADN fongique dans le sang sous traitement) n'ont jamais été égalés par la suite. De son côté, un groupe italien a testé une méthode PCR pour détecter l'ADN de *Candida* dans le sang de patients d'hémato-oncologie neutropéniques restant fébriles après trois jours d'administration d'antibiotiques à large spectre. Leur méthode moléculaire a donné une sensibilité de 93% (contre seulement 31% à l'hémoculture prise conjointement) pour détecter la présence d'une candidose disséminée ^[76]. Un taux de résultats faussement positifs élevé (25%) représentait probablement des colonisations cutanéomuqueuses sans atteinte profonde.

Les principaux obstacles au développement de tests de détection moléculaires fongiques ont trait à la difficulté à extraire l'ADN d'un champignon, à la faible quantité d'ADN fongique dans le sang, et à l'inhibition par le sang. L'absence de standardisation et de tests commerciaux en limite drastiquement l'emploi en clinique, malgré leur intérêt potentiel évident.

En résumé, les méthodes conventionnelles (examens directs, cultures, examens histopathologiques) restent en 2010 les examens de choix pour le diagnostic des infections fongiques.

Au plan clinique, l'enjeu de l'utilisation de ces tests vise d'une part, l'obtention d'un diagnostic plus précoce permettant un traitement plus efficace d'infections au pronostic sévère, et d'autre part, à réduire l'administration d'antifongiques en prophylaxie ou d'une manière empirique en ciblant mieux les patients qui en ont réellement besoin.

Quelle est la situation actuelle concernant l'utilisation de la biologie moléculaire:

Certains objectifs sont atteints

- Séquences cibles identifiées, mais pas encore de consensus (primers universels → séquences de gènes hautement conservées versus séquences de gènes présents chez 1 ou 2 espèces)
- Techniques de PCR/sondes marquées pour identification d'espèces
- Automatisation en développement (mais expérience encore très préliminaire) 2 applications: TaqMan®, Light Cycler®
 - Principal obstacle: sensibilité encore insuffisante, liée à l'étape initiale (concentration, extraction ADN)
 - Techniques non standardisées ni disponibles en routine

V.4 Stratégies thérapeutiques des candidoses invasives :

Types de traitements

- * Traitement curatif: des IFI «prouvées»
- * Traitement préemptif: des IFI «probables» ou «possibles»
- * Traitement empirique: en l'absence de documentation mycologique
- * Traitement prophylactique: en l'absence d'infection chez des patients à haut risque d'IFI

Principes généraux pour un traitement antifongique

- * Un traitement antifongique s'impose dès que le diagnostic d'infection viscérale à *Candida* sp. et/ou de candidémie est établi avec certitude.
- * La mise en évidence de *Candida* sp. dans un prélèvement provenant d'un site normalement stérile suffit habituellement au diagnostic.

* Instauration d'un traitement antifongique documenté dans l'une des conditions suivantes* :

- Hémoculture positive à *Candida* sp.
 - Isolement de *Candida* sp. dans un site normalement stérile (sauf l'urine)
 - Examen microscopique révélant des levures, pseudofilaments ou filaments compatibles avec le genre *Candida* dans un échantillon normalement stérile (LCR, biopsie osseuse...)
 - Examen histologique révélant *Candida* sp. dans un échantillon tissulaire
- Concernant les prélèvements pulmonaires, la décision thérapeutique est résumée dans l'arbre décisionnel suivant :

Blastomyces, Coccidioides) ou filamenteux (*Aspergillus, Cephalosporidium, Mucor*). Il forme des complexes irréversibles avec les ergostérols de la membrane fongique, provoquant des troubles de la perméabilité qui entraînent la mort de la cellule. Fongistatique, la dose quotidienne est de 0,5 à 1 mg/kg et il est nécessaire d'atteindre une dose totale cumulative de 1 à 2 g pour obtenir une efficacité complète. De plus, le traitement doit être prolongé jusqu'à rémission d'une éventuelle neutropénie sous-jacente ^[77]. Près de 80 % des patients présentent une toxicité rénale (tubulopathie) avec d'importantes fuites de magnésium et de potassium. Cet effet peut être limité par une charge en sodium (sous forme d'une perfusion de Na Cl 0,9 %). Il a récemment été rapporté que l'administration continue d'amphotéricine B sur 24h permettait de réduire considérablement les effets secondaires ^[79]. En raison des nombreuses interactions physico-chimiques, ce mode d'administration nécessite toutefois un accès vasculaire central réservé à cet effet, ce qui peut être difficile à garantir chez certains types de patients. Malgré ces contraintes, l'amphotéricine B demeure le traitement de référence dans la plupart des cas d'infections fongiques sévères. L'adjonction de 5-flucytosine est préconisée par certains investigateurs en présence d'infections particulièrement sévères ou d'une instabilité hémodynamique ^[77]. Les nouvelles formes galéniques (complexes lipidiques [Abelcet, ABC], cholestéryl sulfate d'amphotéricine B [Amphocint], amphotéricine B sous forme liposomale [AmBisome]) sont moins toxiques et peuvent être administrées plus rapidement et à doses plus élevées. Aucune étude prospective contrôlée n'a pour l'instant démontré un avantage de ces nouvelles formes galéniques en termes d'efficacité ^[80]. Leur prix étant 10 à 100 fois plus élevé que celui des formulations standard, de nombreuses institutions ont renoncé à les utiliser. Les experts s'accordent toutefois pour recommander leur

usage en présence d'effets secondaires sévères tels qu'insuffisance rénale sévère ou réactions toxiques non maîtrisables. Certains cliniciens mélangent l'amphotéricine B à des émulsions lipidiques, mais la pharmacocinétique de ces produits artisanaux est trop aléatoire pour que cette pratique puisse être recommandée ^[81].

5-flucytosine

La 5-flucytosine (5-FC) est une pyrimidine fluorée qui se comporte comme un anti métabolite de la cytosine. Une désaminase fongique spécifique transforme la 5-FC en 5-fluorouracile qui est alors phosphorylé avant d'être incorporé à l'ARN et bloquer ainsi la synthèse protéique.

Fongistatique, son spectre d'action englobe les champignons lévuriformes et certains champignons filamenteux, y compris *Aspergillus*. Non liée aux protéines plasmatiques, sa biodisponibilité et sa diffusion sont excellentes, y compris dans le liquide céphalo-rachidien.

La posologie recommandée et les taux sériques visés varient d'un expert à l'autre ^[77]. Sa demi-vie est de 4 à 6 h nécessitant l'administration quotidienne de 50 à 150 mg/kg fractionnée en quatre doses. Son élimination est essentiellement rénale sous forme inchangée et il est recommandé de surveiller les taux plasmatiques ^[78]. En cas de candidémie, l'administration de 5-FC en monothérapie est associée à un taux élevé d'échecs thérapeutiques liés à l'émergence rapide de résistance.

Certains experts préconisent son emploi en combinaison avec l'amphotéricine B ou le fluconazole. En dehors de quelques rapports de cas isolés, il n'existe cependant pas d'étude randomisée démontrant l'avantage de telles associations ^[77]. Des dysfonctions hépatiques sévères qui surviennent dans près de 5 % des

cas, et des épisodes de myélotoxicité létale expliquent que son utilisation soit actuellement marginale.

Triazolés :

L'utilisation des premiers dérivés de l'imidazole disponibles en clinique (kétoconazole, miconazole) s'est avérée décevante, probablement en raison des taux plasmatiques trop bas consécutifs à leur dégradation importante lors du premier passage hépatique. Les dérivés triazolés (fluconazole, itraconazole, voriconazole) sont apparus au début des années 1980. Ils sont caractérisés par une biodisponibilité de 90 %, une faible liaison aux protéines plasmatiques, une demi-vie plasmatique d'environ 30 h, une excellente pénétration au niveau du liquide céphalo-rachidien, et par une élimination rénale sous forme inchangée. Ces dérivés inhibent spécifiquement le cytochrome P450 fongique impliqué dans la synthèse des ergostérols membranaires. Ce mécanisme explique pourquoi leur association avec l'amphotéricine B est théoriquement inutile en raison d'un possible effet antagoniste ^[77,78]. Leurs effets indésirables sont peu fréquents. Il s'agit d'intolérances gastro-intestinales, d'éruptions cutanées, d'élévations des transaminases ainsi que de thrombopénies et de rares réactions de Stevens-Johnson chez des patients souffrant d'une infection à VIH. Disponibles pour une administration orale ou parentérale, les triazolés sont très efficaces contre les champignons lévuriformes responsables d'infections sévères.

Rex et al. ont montré que l'administration de fluconazole (400 mg/j) chez des patients candidémiques non neutropéniques était aussi efficace (79 %) et moins toxique que celle d'amphotéricine B (70 %) à la dose de 0,5–0,6 mg/kg/j ^[82]. D'autres études ont depuis confirmé ces résultats dans le traitement des candidoses sévères ^[83]. En l'absence d'exposition préalable, le fluconazole (800

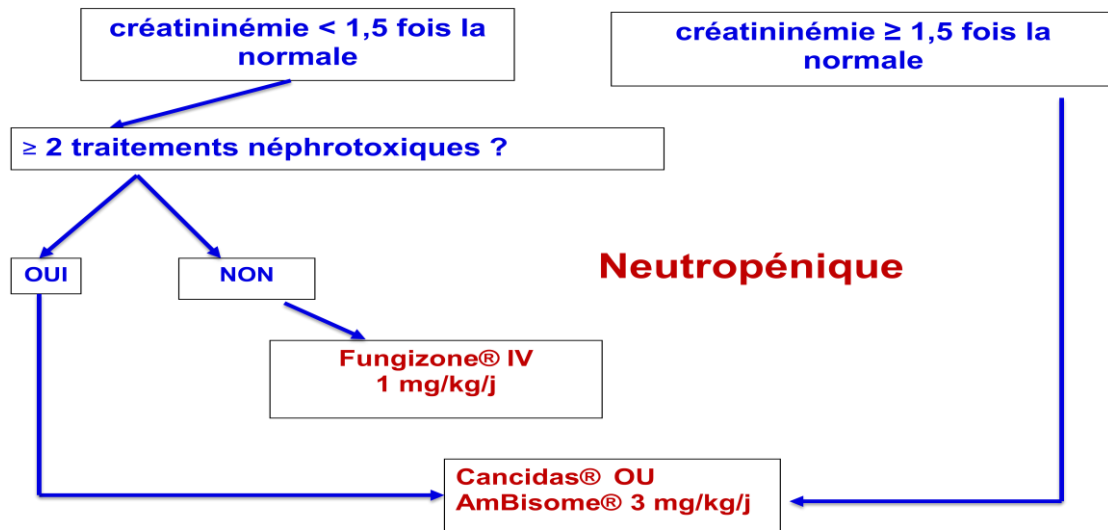
mg/j initialement, puis 400 mg/j) est actuellement recommandé par de nombreux experts comme traitement de choix des infections à *Candida albicans* ou d'autres espèces démontrées sensibles [77, 84]. En cas d'infection sévère ou d'instabilité hémodynamique associée, certains auteurs proposent de maintenir une posologie de 600-800, voire 1 600 mg/j, alors que d'autres recommandent la prescription d'amphotéricine B avec ou sans 5-FC [77,85]. Le fluconazole est par ailleurs efficace dans le traitement des candidoses hépato-spléniques [77, 84]. L'utilisation de doses élevées d'itraconazole par voie parentérale, qui représente une alternative thérapeutique utile, a été associée à un effet inotrope négatif et des épisodes de décompensation cardiaque. Cet effet toxique qui est rare a conduit la Food and Drugs Administration (FDA) à faire inclure l'insuffisance cardiaque congestive dans la liste des mises en garde [86]. L'utilisation d'itraconazole à doses élevées nécessite désormais une surveillance rigoureuse de la fonction cardiaque, particulièrement chez les patients instables en réanimation.

Bien qu'encore non commercialisé, de nombreux résultats préliminaires suggèrent que l'efficacité du voriconazole est comparable à celle des formes lipidiques d'amphotéricine B dans la plupart des infections fongiques, y compris les aspergilloses invasives des patients neutropéniques ou immunodéprimés.

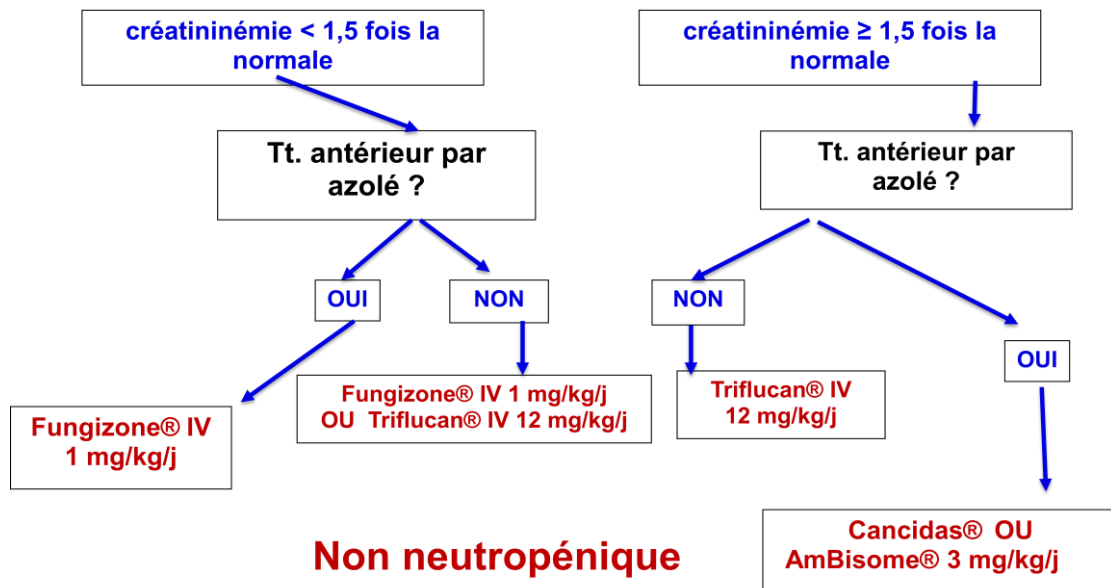
Echinocandines (caspofungine, anidulafungine) : Fongicides, les echinocandines inhibent la synthèse protéique nécessaire à la constitution de la paroi fongique. Admises par la FDA pour le traitement d'aspergilloses résistantes aux autres formes de traitement, également efficace contre les souches de *Candida spp* résistantes aux triazolés, la place de la caspofungine reste toutefois à déterminer [87]*

ARBRES DECISIONNELS [Collectif Prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte. Conférence de consensus commune. 2004. *Médecine et maladies infectieuses* 13p]

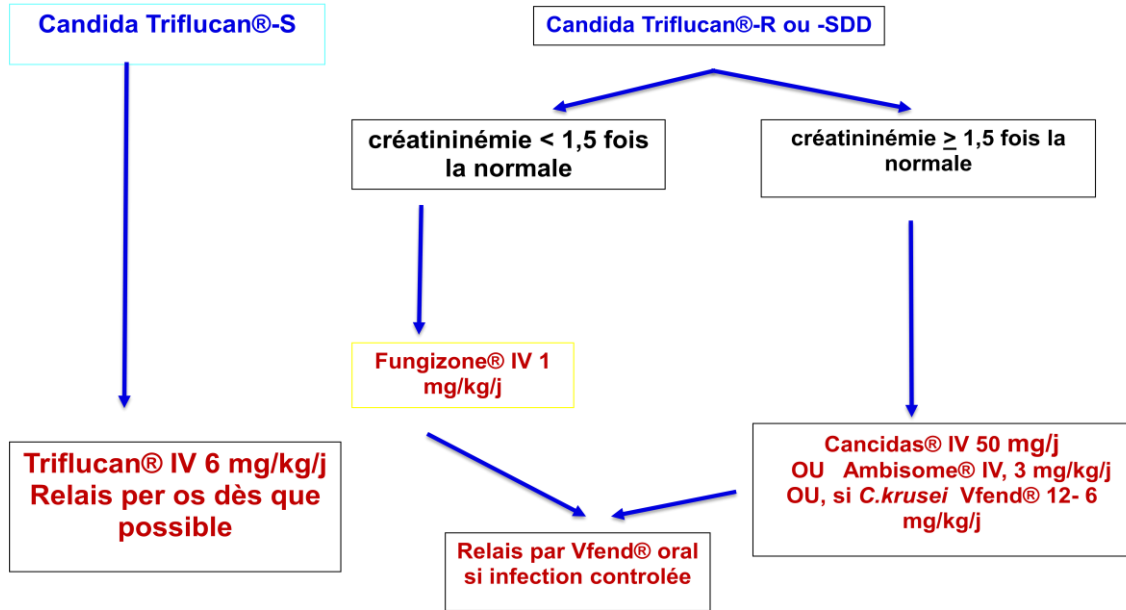
Traitement des CI : après isolement d'une levure et avant identification de l'espèce chez le patient neutropénique



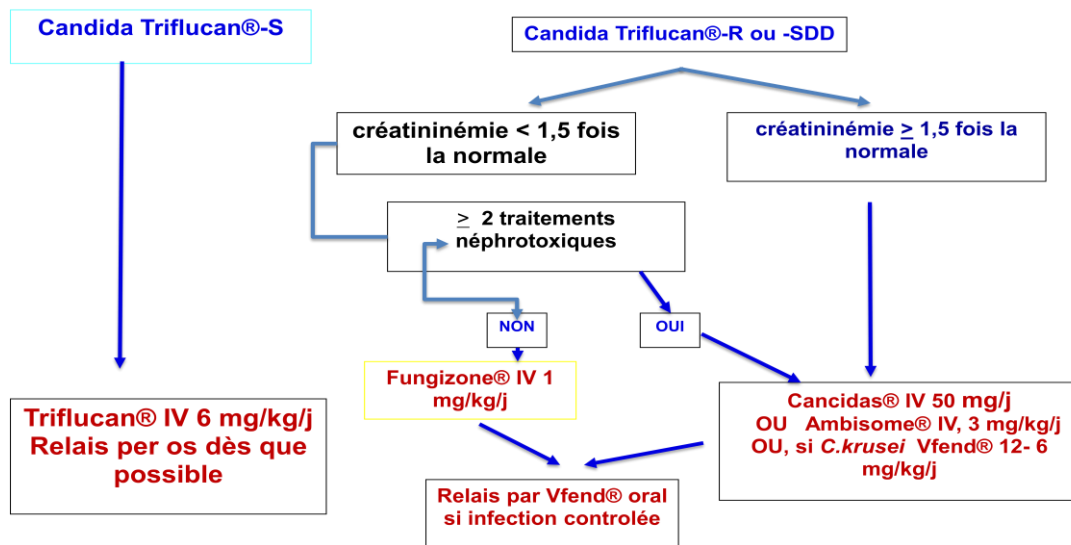
Traitement des CI : après isolement d'une levure et avant identification de l'espèce chez le patient non neutropénique



Traitement des CI: après identification de l'espèce de *Candida* sp chez le patient non neutropénique



Traitement des CI: après identification de l'espèce de *Candida* sp chez le patient neutropénique



Antifongigramme : L'antifongigramme et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) permettent de détecter *in vitro* l'existence d'une éventuelle résistance aux antifongiques. Malheureusement il n'a pas été réalisé dans notre étude étant en rupture de stock. Il est difficile d'établir de bonnes corrélations entre une valeur de CMI *in vitro* et la réponse clinique au traitement qui est souvent surtout dépendante d'autres facteurs tel que la persistance d'une immunodépression. Les méthodologies sont difficiles à standardiser ; celle du NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) est utilisée dans la plupart des pays ^[88]. Le concept de sensibilité dépendante de la dose (S-DD), qui permet de prendre en compte à la fois la posologie et la biodisponibilité des antifongiques s'est dès lors imposé ^[84]. La méthode NCCLS est lente et difficile à mettre en œuvre, de sorte que de nombreux laboratoires utilisent des tests commerciaux tels que le Fungitest, l'ATB Fungust ou l'E-test, dont la reproductibilité est cependant loin d'être unanimement admise ^[90]. D'un point de vue pratique, la réalisation d'un antifongigramme doit être réservée aux infections graves Candidoses (toute candidémie ou infection d'organe profond) et aux situations cliniques particulières, telles qu'un échec clinique inexpliqué, toute candidémie causée par une souche de *Candida* non albicans potentiellement résistante ou S-DD ou en cas de prophylaxie ou de traitement antifongique préalable. Une concertation entre le réanimateur, l'infectiologue et le microbiologiste ou le mycologue permettra d'en préciser le type.

Gestion des abords intravasculaires : La présence de cathéters veineux centraux constitue à la fois un facteur de risque et un facteur pronostique pour les fongémies à *Candida*. Il était donc important de savoir s'il faut les enlever systématiquement chez les patients qui en sont atteints ^[77, 78]. Cependant, cette pratique – qui n'est pas toujours possible – s'accompagne d'une élévation des

coûts et elle peut être à l'origine de complications. Ce problème a été envisagé dans une revue générale de la littérature réalisée selon les principes de la médecine fondée sur les niveaux de preuves (evidence-based medicine) à partir des données recueillies dans medline (portant sur les articles publiés entre janvier 1966 et décembre 2000) et dans les abstracts des communications présentées de 1987 à 2000 dans les congrès annuels des principales sociétés de microbiologie, infectiologie et épidémiologie des Etats-Unis. Ont été retenues les études évaluant l'ablation du cathéter en tant que facteur pronostique de mortalité par candidémie, comportant une analyse multifactorielle avec calcul des rapports de cotes (RC : odds ratio) et des intervalles de confiance à 95% (IC), et incluant dans l'analyse multifactorielle un score de sévérité ayant été validé comme prédictif de mortalité.

Au total, 203 études ont été recensées, mais seules 14 d'entre elles avaient évalué l'influence de l'ablation du cathéter sur l'évolution de la maladie. Une analyse multifactorielle n'avait été effectuée que dans sept de ces 14 études ; seules quatre d'entre elles indiquaient les rapports de cotes ainsi que les intervalles de confiance et prenaient en compte diverses variables confondantes tels que le score de sévérité ou le degré d'une éventuelle neutropénie. Les résultats de ces quatre études, méthodologiquement acceptées, étaient les suivantes :

Dans une étude rétrospective (Anaissie et al. 1998), un léger bénéfice lié au remplacement du cathéter a été observé dans un sous-groupe de 363 patients cancéreux neutropéniques recevant un traitement antifongique ; ce geste a permis d'obtenir un taux de guérison plus élevé et ce d'autant plus qu'il était effectué précocement (RC :2,0 ; IC : 1,4 à 2,9 ; p = 0,06) ^[89] ;

Dans une étude prospective (Nucci et al ; 1998) portant sur 54 patients cancéreux présentant une fongémie (candidémie dans 43 cas), une analyse multifactorielle a montré que, contrairement au score de gravité, à une neutropénie persistante et à l'âge, le fait de laisser le cathéter en place n'était pas significativement corrélé avec la mortalité ;

Dans une autre étude prospective (Nucci et al . ; 1998), une analyse multifactorielle portant sur 75 patients atteints d'une candidémie et de diverses pathologies sous-jacentes a montré que le fait de laisser en place le cathéter était la seule variable associée à un taux de mortalité plus bas que chez les 21 patients neutropéniques (RC :15 ;IC :1,16 à 316,66) ;

Dans un étude rétrospective (Luzzati et al 2000), l'influence de l'ablation du cathéter a pu être évaluée chez 123 patients non neutropéniques présentant une candidémie : une analyse multifactorielle a révélé qu'elle n'avait qu'un impact modeste sur la mortalité (RC :0,62 ; IC : 0,38 à 0,99 ; p = 0,047)^[89].

Les recommandations de l'Infectious Diseases Society of America sont d'enlever systématiquement les cathéters vasculaires chez les patients présentant une candidémie^[77]. Malgré le peu de preuves en faveur de cette procédure, les auteurs conseillent de s'y conformer tout en tenant compte de la nécessité de garder une voie veineuse centrale, des difficultés ou de l'impossibilité de remplacer le cathéter, et de l'existence ou de l'absence d'une neutropénie. En pratique, les candidémies sont presque toujours d'origine digestive et surviennent chez des patients cancéreux présentant une mucite et une neutropénie sévère : dans cette situation, l'ablation du cathéter a peu de chances d'améliorer le pronostic. Un algorithme suggérant la conduite à tenir chez les patients indemnes de neutropénie est proposé dans la figure ci-dessous.

V.5 Stratégies préventives des candidoses invasives :

Comme pour la prévention de toute infection nosocomiale, les recommandations reposent d'abord sur un respect rigoureux des prescriptions d'hygiène de base. Des données récentes suggèrent que la promotion de la désinfection des mains au moyen d'une solution hydroalcoolique permet d'améliorer l'observance du personnel, pour lequel l'application stricte des règles d'hygiène exigeraient un lavage des mains dont la durée pourrait aller en réanimation jusqu'à deux tiers du temps de travail. Une amélioration soutenue de l'observance à l'hygiène manuelle a été associée à une réduction significative du taux des infections nosocomiales ^[92].

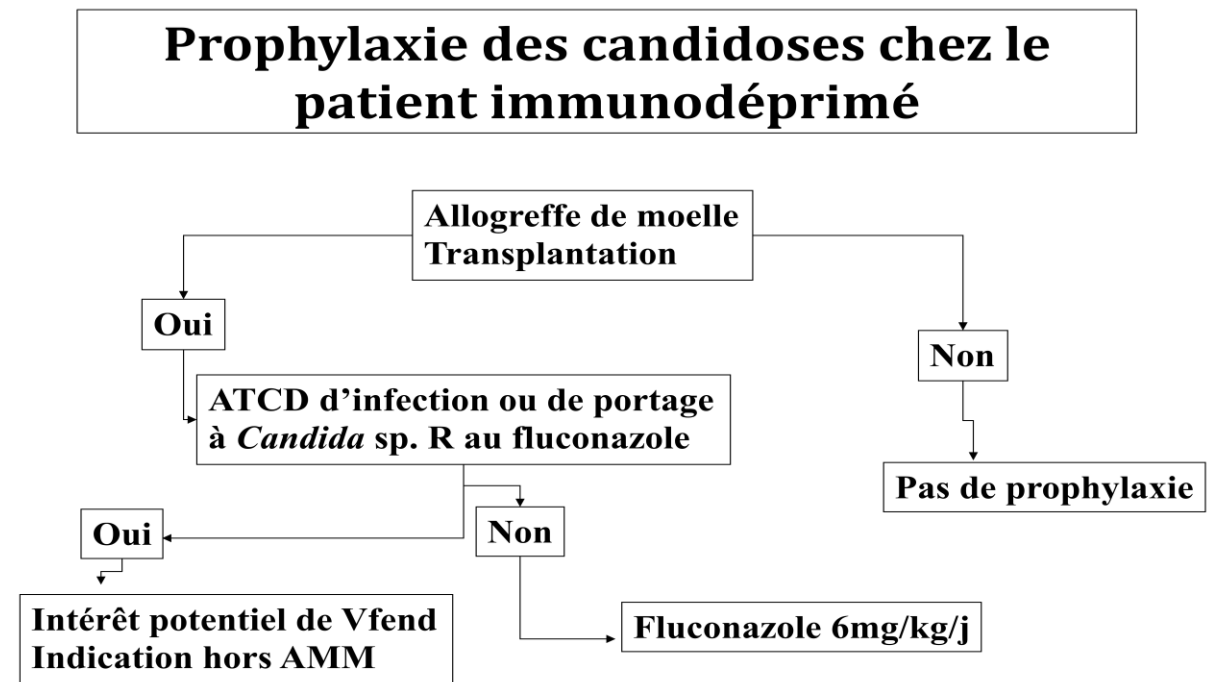
Prophylaxie par dérivés triazolés : L'administration prophylactique de dérivés triazolés (fluconazole essentiellement) permet de réduire l'incidence des infections superficielles et systémiques à levures du genre *Candida* chez les patients neutropéniques après transplantation médullaire ou après transplantation d'un organe solide. Elle prévient les candidoses oro-pharyngées et œsophagiennes chez les patients infectés par le VIH ^[93]. L'utilisation prophylactique d'itraconazole, qui prévient également d'autres infections fongiques telles que l'aspergillose, pourrait être particulièrement intéressante chez les patients neutropéniques ^[94, 95]. Quatre études, dont trois sont actuellement publiées, ont démontré l'effet favorable d'une prophylaxie par triazolés chez des patients de réanimation. Todd et al. ont montré qu'une prophylaxie par fluconazole à des patients polytraumatisés admis en réanimation permettait de réduire l'incidence des infections fongiques de 14 à 2 % ^[95]. Les modalités de la prophylaxie (initiation, posologie, durée), le type d'infection fongique et l'impact sur l'écologie des souches de *Candida* isolées au cours de l'étude ne sont toutefois pas précisées. Dans une étude en double insu effectuée

à Lausanne, nous avons étudié l'impact de l'administration prophylactique de fluconazole (400 mg/j i.v.) par rapport à celui d'un placebo chez 49 patients chirurgicaux à risque élevé de candidose intra-abdominale après une deuxième laparotomie pour perforations itératives ou lâchage d'anastomose ^[96]. Parmi les malades qui n'étaient pas colonisés au moment de la randomisation, les cultures de surveillance ont révélé la présence de levures du genre *Candida* chez 62 % des patients du groupe placebo comparé à seulement 15 % des patients du groupe fluconazole ($p=0,04$). Une péritonite à *Candida* est survenue chez 7 malades sur 20 (35 %) du groupe placebo et chez un malade sur 23 (4 %) dans le groupe fluconazole ($p=0,02$). À Genève, dans une étude en double insu chez 220 patients ventilés mécaniquement pendant plus de 48 h, randomisés à recevoir du fluconazole (100 mg/j i.v.) ou un placebo, nous avons montré qu'une colonisation par levures du genre *Candida* survenait chez 78 % des patients du groupe placebo comparés à 53 % des patients du groupe fluconazole ($p=0,01$). Dans cette étude, 9 des 103 patients du groupe placebo (8,7 %) ont développé une candidémie comparés à un seul parmi les 101 patients du groupe fluconazole ($p=0,014$) ^[97].

Chez 249 patients séjournant plus de 3 j en réanimation chirurgicale, Pelz et al. ont montré que par rapport à celle d'un placebo, l'administration de 400 mg de fluconazole par voie orale permettait de réduire l'incidence des candidoses invasives de 16 à 9 % et que cette réduction était symptomatique si le délai d'apparition était pris en compte ^[97].

Ces études suggèrent que lorsqu'elle vise des groupes de patients non neutropéniques en réanimation chez lesquels l'incidence des candidoses invasives est élevée (>10 %), une prophylaxie antifongique est efficace chez les patients de réanimation non neutropéniques ^[9]

TRAITEMENT PROPHYLACTIQUE



Impact épidémiologique potentiel

Cette attitude restrictive pourrait permettre de limiter l'impact potentiel de la prophylaxie sur l'épidémiologie des infections à *Candida spp.* Contrairement à ce qui a été observé dans de nombreux centres où les dérivés triazolés se sont imposés chez les patients immunodéprimés et/ou transplantés, l'émergence de *Candida krusei* intrinsèquement résistants et de *Candida glabrata* qui ne restent sensibles qu'à des doses élevées de triazolés, n'a pour l'instant pas encore été rapportée dans les études réalisées en milieu de réanimation. Il est possible que la stricte limitation des prescriptions de dérivés triazolés ait joué un rôle dans cette situation ^[96].

Ainsi, bien que très efficace, la prophylaxie doit rester strictement limitée aux groupes de patients chez lesquels le risque de développement d'une candidose

est élevé, de manière à limiter le développement et la dissémination de résistances aux agents antifongiques.

Coût direct et incidence des infections fongiques systémiques

La fréquence des infections fongiques nosocomiales a augmenté considérablement depuis une vingtaine d'années, en particulier aux Etats-Unis. Une étude californienne a eu pour objectifs de déterminer l'incidence ainsi que les coûts directs et indirects des infections fongiques systémiques (candidose, aspergillose, cryptococcose et histoplasmosis) chez les patients hospitalisés ou non en 1998.

Les données analysées provenaient de la National Hospital Discharge Survey (enquête nationale sur les patients sortis de l'hôpital) en ce qui concernait l'incidence, et du Maryland Hospital Discharge Data Set (ensemble des données sur les comptes rendus de sortie de l'hôpital dans le Maryland) en ce qui concernait les coûts. Les quatre infections fongiques considérées ont été étudiées dans le cadre des infections à VIH, des néoplasies, des transplantations et de tout autre contexte pathologique. L'augmentation des coûts hospitaliers a été évaluée en comparant les cas à des témoins atteints des mêmes comorbidités mais indemnes d'infections fongiques. La significativité des différences a été déterminée au moyen du test t de Student. Les coûts relatifs aux patients ambulatoires ont été modélisés en se basant sur le statut au moment de la sortie de l'hôpital afin de calculer le coût annuel total des infections fongiques systémiques en 1998.

L'incidence de ces infections aux Etats-Unis a été estimée à 306 par million d'habitants (les candidoses représentant 75% des cas) pour l'année 1998, et leur

coût total direct à 2,6 milliards de dollars, soit un coût moyen de 31 200 dollars par patient. Les comorbidités les plus fréquentes étaient les infections par le VIH, les néoplasies et les transplantations, mais elles ne rendaient compte que de 45% de l'ensemble des infections fongiques systémiques.

La charge financière des infections fongiques systémiques est élevée et il conviendrait de porter une attention particulière aux 55% des cas survenant dans le cadre d'autres comorbidités

VI.CONCLUSION :

La détection d'un indice de colonisation supérieur à 0,5 dans un service de réanimation associée à des facteurs de risque pourrait constituer un facteur prédictif d'une candidose systémique. Elle doit donc faire instaurer une prise en charge thérapeutique codifiée. D'où des recommandations à suivre.

Recommandations IDSA 2009 : Pappas M et al. Clinical Infectious Diseases 2009; 48:503–35

1. Avant identification de l'espèce :

- soit fluconazole (800 mg à J1 puis 400 mg/j),
- soit une échinocandine : anidulafungine (200 mg à J1 puis 100 mg/j), ou caspofungine (70 mg à J1 puis 50 mg/j), ou micafungine (100 mg/j).

2. Une échinocandine est préférable pour les infections modérées à sévères et chez les patients récemment exposés à un antifongique azolé.

3. Remplacer l'échinocandine par le fluconazole si le patient est stable et infecté par une espèce sensible

4. En cas de candidémie à *Candida glabrata*, voriconazole ou échinocandine recommandée.

5. En cas de candidémie à *C.parapsilosis*, le fluconazole est recommandé.

Si le choix initial était une échinocandine et que l'état du patient est satisfaisant, on peut ne pas modifier le traitement

6. Dans les pays ou établissements où les échinocandines ne sont pas disponibles, le traitement initial peut être l'amphotéricine B chez les patients en état grave

7. Le voriconazole est recommandé comme traitement initial en cas de candidémie à *C.kruse*

Résumé

Introduction : Les infections fongiques sont responsables d'une importante morbidité d'autant plus qu'elles affectent des personnes fragilisées et/ou immunodéprimés. Leur prise en charge reste complexe, en particulier du fait des difficultés diagnostiques.

Objectifs : Décrire l'épidémiologie des infections invasives dans le service de réanimation, avec analyse descriptive de la distribution des espèces et des groupes à haut risque.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective au niveau du service de réanimation chirurgicale. Les inclusions ont eu lieu du 15 octobre 2009 au 15 mars 2010, l'ensemble du suivi s'est déroulé sur une période de 6 mois. Nous avons inclus tous les patients hospitalisés dans le service de réanimation chirurgicale durant cette période. Une hémoculture a été faite sur milieu spécifique mycosis, 3 jours successifs en cas de fièvre. Les prélèvements de sites périphériques ont été réalisés pour le calcul de l'index de colonisation à J1 puis un jour sur 2 jusqu'à la sortie ou le décès du patient. Les champignons isolés sont identifiés selon les procédures du GBEA.

Résultats : Durant la période d'étude, 34 patients sont inclus, le sexe ratio H/F=4,6. Les principaux motifs d'hospitalisation étaient les polytraumatismes dans 50% des cas, les complications post opératoires dans 20,5%, et les AVC dans 14,5%. Une hémoculture positive a été retrouvée dans 3 cas, ce qui correspond à 8,82%. Nous avons effectué durant la période d'étude 1500 prélèvements au niveau de 6 sites différents, avec 248 prélèvements positifs soit 16,53%. *Candida albicans* est prédominant avec 35% des souches isolées, *Candida glabrata* vient en 2eme position avec 31%, et *Candida tropicalis* en 3eme position avec 28% des souches isolées. Les facteurs de risque les plus retrouvés sont l'antibiothérapie à large spectre, la sonde vésicale ainsi que la chirurgie récente. Tous les patients avaient plusieurs facteurs de risque de survenue des candidemias associés (antibiothérapie, gestes invasifs...).

Conclusion : La détection d'un indice de colonisation supérieur à 0,5 dans un service de réanimation associée à des facteurs de risque pourrait constituer un facteur prédictif d'une candidose systémique. Elle doit donc faire instaurer une prise en charge thérapeutique codifiée.

Abstract

Introduction: The fungal infections are responsible for an important morbidity more especially as they assign people weakened and/or immunosuppressed. Their assumption of responsibility remains complex, in particular because of the diagnostic difficulties.

Objectives: To describe the epidemiology of the invasive infections in the intensive care, with descriptive analysis of the distribution of the species and the high-risk groups.

Patients and methods: It is about an exploratory study on the level of the surgical intensive care. Inclusions took place of October 15th 2009 at March 15th, 2010, the whole of the follow-up proceeded over one 6 months period. We included all the hospitalized patients in the intensive care surgical during this period. A blood culture was made on specific medium mycosis, 3 days successive in the event of fever. The peripheral takings away of sites were carried out for the calculation of the index of colonization in J1 then one day out of 2 until the exit or the death of the patient. The isolated mushrooms are identified according to the procedures of the GBEA.

Results: During the study period, 34 patients are included, the sex ratio H/F=4,6. The principal reasons for hospitalization were the multiple traumas in 50% of the cases, the postoperative complications in 20,5%, and the AVC in 14,5%, a positive blood culture was found in 3 cases, which corresponds to 8,82%. We carried out during the study period 1500 sample on the level of 6 different sites, with 248 positive sample (16,53%). *Candida albicans* is prevalent with 35% of the isolated stocks, *Candida glabrata* comes in 2nd position with 31%, and *Candida tropicalis* in 3rd position with 28% of the isolated stocks. The most found risk factors are the antibiotherapy broad-spectrum, the vesical probe as well as the recent surgery. All the patients had several risk factors of occurred of the associated candidemia (antibiothérapie, invasive gestures...).

Conclusion: The detection of an index of colonization higher than 0,5 in an intensive care associated with risk factors could constitute a predictive factor of a systemic candidiasis. It must thus make found a codified therapeutic assumption of responsibility.

ملخص

المقدمة: تشكل عدوى المبيضات عاملاً أساسياً في إصابة العديد من مرضى الإنعاش خصوصاً في الحالات المصحوبة بالوهن و الضعف في المناعة إذ يصعب التكفل بهؤلاء بسبب صعوبة تشخيص الحالات.

الأهداف: تقييم الوضع الوبائي للداء بمصلحة الإنعاش مع تحليل مفصل للأنواع و المجموعات عالية الخطورة.

المرضى و المناهج المعتمدة: يتعلق الأمر بدراسة قبلية بمصلحة الإنعاش الجراحي امتدت ما بين 15 أكتوبر 2009 و 15 مارس 2010. كل مراحل التتبع تمت خلال 6 أشهر و همت جميع المرضى الراقدين بمصلحة الإنعاش الجراحي.

عملية الزرع الدموي تمت في وسط فطري خاص خلال 3 أيام متتالية في الحالات المصحوبة بارتفاع الحرارة أخذ العينات من المواقع الهامشية تمت من أجل تحديد مؤشر الاحتلال في نفس اليوم تم كل يومين إلى حين خروج المريض أو وفاته.

الفطريات المعزولة حددت وفقاً لإجراءات GBEA

النتائج: أثناء مراحل الدراسة التي همت 34 مريضاً نسبة الجنس ذكر/أنثى عادل 4,6, الزرع الدموي الإيجابي وجد في 3 حالات أي بنسبة 8,82 % و قد تم القيام ب 1500 أخذ للعينات على مستوى 6 مواقع مختلفة 248 كانت ايجابية بنسبة 16,53 % .

هي السائدة بنسبة 35 % من السلالات المعزولة تأتي في المرتبة الثانية (*Candida albicans*) وفي المرتبة الثالثة (*Candida tropicalis*) بنسبة 28 % . عوامل الخطورة تجلت بشكل واضح في التداوي بالمضادات الحيوية و استعمال المسبر البولي و كذا عقب العمليات الجراحية.

الخاتمة: إن استكشاف مؤشر احتلال يفوق 0,5 بإحدى مصالح الإنعاش إلى جانب وجود عوامل الخطورة, أمور تؤكد على جاهزية الإصابة بالمبيضات و بالتالي يجب وضع نظام للتكفل بالعلاج المقنن.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP.** Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: A three-year analysis. *Clin Infect Dis* **1999**;29:239–44.
- [2] **Pappas PG, Rex JH, Lee J, Hamill RJ, Larsen RA, Powderly W, et al.** A prospective observational study of candidemia: Epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. *Clin Infect Dis* **2003**;37:634–43.
- [3] **Pfaller MA, Diekema DJ.** Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* **2007**;20:133–63.
- [4] **Ashman RB, Papadimitrou JM.** Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* infection. *Microbiological Reviews*. **1995** ; 59: 646–672.
- [5] **Spellberg BJ, Filler SG, Edwards Jr JE.** Current treatment strategies for disseminated candidiasis. *Clin Infect Dis* **2006**;42:244–51.
- [6] **Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, Filler SG, Pappas PG, Dismukes WE, et al.** Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **2000** ; 30 : 662-78.
- [7] **Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ng KP, Colombo A, et al.** Geographic and temporal trends in isolation and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis*: A global assessment from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol* **2008**;46:842–9.

- [8] **Pfaller MA, 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.
- [9] **Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP.** Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Crit Care Med* 1999;27(5):887–92.
- [10] **Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Meis JF, Gould IM, et al.** Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance study, 1997 to 2005: An 8. 5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J Clin Microbiol* 2007;45:1735–45.
- [11] **Reboli AC, Rotstein C, Pappas PG, Chapman SW, Kett DH, Kumar D, et al.** Anidulafungin versus fluconazole for invasive candidiasis. *N Engl J Med* 2007;356:2472–82
- [12] **Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin 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
- [13] **Edwards JE, Bodey GP, Bowden RA, Buchner T, de Pauw BE, Filler SG, et al.** International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidal infections. *Clin Infect Dis* 1997 ; 25 : 43-59.

- [14] **Abgrall S, Charreau I, Joly V, Bloch J, Reynes J.** Risk factors for oesophageal candidiasis in a large cohort of HIV infected patients treated with nucleoside analogues. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. **2001** ; 20: 346-349.
- [15] **Spellberg BJ, Filler SG, Edwards Jr JE.** Current treatment strategies for disseminated candidiasis. *Clin Infect Dis* **2006**;42:244–51
- [16] **Pappas PG, Rotstein CM, Betts RF, Nucci M, Talwar D, De Waele JJ, et al.** Micafungin versus caspofungin for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis. *Clin Infect Dis* **2007**;45:883–93.£
- [17] **Costa-de-Oliveira S, Pina-Vaz C, Mendonca D, Goncalves Rodrigues A.**A first Portuguese epidemiological survey of fungaemia in a university hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2008**;27:365–74.
- [18] **Edmond MB, Wallace SE, McClish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP.** Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: A three-year analysis. *Clin Infect Dis* **1999**;29:239–44.
- [19] **Morgan J, Meltzer MI, Plikaytis BD, Sofair AN, Huie-White S, Wilcox S, et al.** Excess mortality, hospital stay, and cost due to candidemia: A case-control study using data from population-based candidemia surveillance. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2005**;26:540–7.
- [20] **Hobson RP.** The global epidemiology of invasive *Candida* infections—is the tide turning. *J Hosp Infect* **2003**;55:159–68, quiz 233.
- [21] **Pfaller MA, Diekema DJ.** Role of sentinel surveillance of candidemia: Trends in species distribution and antifungal susceptibility. *J Clin Microbiol* **2002**;40:3551–7.

- [22] **Rispail P.** Epidemiologie et diagnostic biologique des candidoses muqueuses et cutanéophanéennes. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, **2005** ; 1-8
- [23] **Edwards JE, Bodey GP, Bowden RA, Buchner T, de Pauw BE, Filler SG, et al.** International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe *candida* infections. *Clin Infect Dis* **1997** ; 25 : 43-59.
- [24] **Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, Filler SG, Pappas PG, Dismukes WE, et al.** Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **2000** ; 30 : 662-78.
- [25] **Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin 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.
- [26] **Voss A, Kluytmans JA, Koeleman JG, Spanjaard L, Vandenbroucke-Grauls CM, Verbrugh HA, et al.** Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch university hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1996** ; 15 : 909-12.
- [27] **Pittet D, Li N, Woolson RF, Wenzel RP.** Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections. A six year validated, population-based model. *Clin Infect Dis* **1997** ; 24 : 1068-78.
- [28] **Beck-Sague CM, Jarvis W.** Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980- 1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* **1993** ; 167 : 1247-51.

- [29] **Wey SB, Motomi M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP.** Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess length of stay. *Arch Intern Med* **1988** ; 148 : 2642-5.
- [30] **Calandra T, Bille J, Schneider R, Mosimann F, Francioli P.** Clinical significance of *Candida* isolated from peritoneum in surgical patients. *Lancet* **1989** ; 2 : 1437-40.
- [31] **Pittet D, Wenzel RP.** Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Arch Intern Med* **1995** ; 155 : 1177-84.
- [32] A report from the NNIS System. National Nosocomial Infections Surveillance System report, data summary from January 1990 -May 1999, issued June 1999. *Am J Infect Control* **1999** ; 27 : 520-32.
- [33] **Rangel-Frausto MS, Wiblin T, Blumberg HM, Saiman L, Patterson J, Rinaldi M, et al.** National epidemiology of mycoses survey : variations in rates of bloodstream infections due to *Candida* species in seven surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. *Clin Infect Dis* **1999** ; 29 : 253-8.
- [34] **Reagan DR, Pfaller MA, Hollis RJ, Wenzel RP.** Evidence of nosocomial spread of *Candida albicans* causing bloodstream infection in a neonatal intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1995** ; 21 : 191-4.
- [35] **Gale CA, Bendel CM, Mc Clellan M, Hauser M, Becker JM, Berman J et al.** Linkage of adhesion, filamentous growth, and virulence in *Candida albicans* to a single gene, INT1. *Science*. **1998** ; 279: 1355-1359.
- [36] **Hoyer LL, Clevenger J, Hecht JE, Ehrhart EJ, Poulet FM.** Detection of Als proteins on the cell wall of *Candida albicans* in murine tissues. *Infection and Immunity*. **1999** ; 67: 4251-4255.

- [37] Lo HJ, Kholer JR, Didomenico B, Loebenberg D, Cacciapouti A, Fink GR. Non filamentous *Candida albicans* mutants are avirulent. *Cell* **1997** ; 90: 939-949.
- [38] Bouchara JP, Tronchin G, Annaix V, Robert R, Senet JM. Laminin receptors on *Candida albicans* germ tubes. *Infection and Immunity*. **1990** ; 58: 48–54.
- [39] Staab JF, Bradway SD, Fidel PL, Sundstrom P. Adhesive and mammalian transglutaminase substrate properties of *Candida albicans* Hwp1. *Science*. **1999** ; 283: 1535-1538
- [40] Odds FC. Pathogenesis of *Candida* infections. *Journal of the American Academy of Dermatology*. **1994** ; 31(Suppl 2): 2-5
- [41] Soll DR. The emerging molecular biology of switching in *Candida albicans*. *ASM News*. **1996** ; 62: 415-420.
- [42] Borg Von Zepelin M, Meter I, Thomssen R, Wurznner R, Sanglard D, Telenti A et al.. HIV-protease inhibitors reduce cell adherence of *Candida albicans* strains by inhibition of yeast secreted aspartic proteases. *Journal of Investigative Dermatology*. **1999** ; 113: 747–751.
- [43] Borg Von Zepelin M, Ruchel R. Expression of extracellular acid proteinase by proteolytic *Candida spp* during experimental infection of oral mucosa. *Infect Immun* **1988** ; 56: 626–631.
- [44] Ruchel R, Bernardis F, Ray TL, Sullivan PA, Cole GT. *Candida* acid proteinases. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*. **1992** ; 30(Suppl 1): 123-132.
- [45] Borg Von Zepelin M, Beggah S, Boggian K, Sanglard D, Monod M. The expression of secreted aspartyl proteinases Sap4 to Sap6 from *Candida albicans* in murine macrophages. *Molecular Microbiology* **1998** ; 28: 543–554.

- [46] **Monod M, Hube B, Sanglard D.** Differential regulation of SAP8 and SAP9, which encode two new members of the secreted aspartic proteinase family in *Candida albicans*. *Microbiology*. **1998** ; 144: 2731-2737.
- [47] **Monod M, Togni G, Hube B, Sanglard D.** Multiplicity of the gene encoding secreted aspartyl proteinases in *Candida* species. *Molecular Microbiology*. **1994** ; 13: 357-368.
- [48] **Leidich SD, Ibrahim AS, Fu Y, Koul A, Jessup C, Vitullo J et al.** Cloning and disruption of a caPLB1, a phospholipase B gene involved in the pathogenicity of *Candida albicans*. *The Journal of Biological Chemistry*. **1998** ; 273: 26078-26086.
- [49] **Aumaître H et Bouchaud O.** Œsophagites infectieuses parasitaires et mycotiques. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Gastro-entérologie*. **2000** ; 9(202-A-10):7 pages.
- [50] **Boiron P.** Introduction à la mycologie médicale. Accessible sur : http://ispb.univlyon1.fr/mycologie/Site_lab0_myco/Enseignement/uv_pathologie_s_tropicales/mycologie_medicale.htm.
- [51] **Ashman RB, Papadimitrou JM.** Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* infection. *Microbiological Reviews*. **1995** ; 59: 646–672.
- [52] **Elahi S, Pang G, Clancy R, Ashman RB.** Cellular and cytokine correlates of mucosal protection in murine model of oral candidiasis. *Infect Immun* **2000** ; 68: 5771–5777.
- [53] **Romani L.** Cytokine modulation of specific and non specific immunity to *Candida albicans*. *Mycoses*. **1999** ; 42(suppl2): 45-48.
- [54] **Challacombe S.** Immunologic aspects of oral candidiasis. *Oral Surg Oral Journal of Oral Pathology & Medicine*. **1994** ; 78: 202–210.

- [55] **Chabasse D, Guiguen C, Contet-Audonneau N.** *Abrégé de Mycologie médicale.* **1999** ; 72: 324 pages.
- [56] **Chabasse D, Robert R, Marot A, Pihet M.** *Candida* pathogène. *Lavoisier.* **2006.**
- [57] **Taschdjian CL, Burchall JJ, Kozinn PJ.** Rapid identification of *Candida albicans* by filamentation on serum and serum substitutes. *American Journal of Diseases of Children.* **1960** ; 99: 212-215.
- [58] **Mosaid AA, Sullivan DJ, Coleman DC.** Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* on Pal's Agar. *Journal of Clinical Microbiology.* **2003** ; 41: 4787-4789.
- [59] **Staib P, Morschha J.** Chlamydospore formation on staib agar as a species specific characteristic on *Candida dubliniensis*. *Mycoses.* 1999 ; 42: 521-524.
- [60] **Mosca CO, Moragues MD, Liovo J, Mosaid AA, Coleman DC, Ponto'n J.** Casein agar: a useful medium for differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology.* 2003 ; 41: 1259-1262.
- [61] **Khan ZU, Ahmad S, Mokaddas E, Chandy R.** Tabacco agar, a new medium for differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology.* **2004** ; 42: 4796-4798.
- [62] **Freydiere AM, Buchaille L, Guinet R, Gille Y.** Evaluation of latex reagents for rapid identification of *Candida albicans* and *C.Krusei* colonies. *Journal of Clinical Microbiology.* **1997** ; 35: 877-880.
- [63] **Marot Leblond A, Grimaud L, David S, Sullivan DJ, Coleman DC, Ponton J** et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic assay for identification of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Journal of Clinical Microbiology.* **2004** ; 42: 4956-4960.

- [64] Pagano J, Levin JD, Trego W. Diagnostic medium for differentiation of species of *Candida*. *Antibiotics Annu*. **1958** ; 137-143.
- [65] Freydiere AM, Robert R, Ploton C, Marot leblond A, Monerau F, Vandenesch F. Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, Glabrata RTT. *Journal of Clinical Microbiology*. **2003** ; 41: 3861-3863.
- [66] Willing B, Wein S, Hirschl AM, Rotter ML, Manafi M. Comparaison of a new commercial test, Glabrata RTT , with a dipstick test for rapid identification of *Candida glabrata*. *Journal of Clinical Microbiology*. **2005** ; 43: 499-501
- [67] Wheat LJ. Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transplant Infect Dis* **2003**;5:158-66.
- [68] Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, et al. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis : Variables that affect performance. *J Infect Dis* **2004**;190:641-9.
- [69] Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, et al. Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients. *J Clin Oncol* **2002**;20: 1898-906.
- [70] Sulahian A, Boutboul F, Ribaud P, et al. Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4-year prospective study. *Cancer* **2001**;91:311-8.
- [71] Sendid B, Tabouret M, Poirot JL, et al. New enzyme immunoassay for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies : Useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* **1999**;37:1510-7.

- [72] **Prella M, Bille J, Pugnale M, et al.** Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2005**;51:95-101.
- [73] **Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, et al.** b-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections : Validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis* **2004**;39:199-205.
- [74] **Yeo SF, Wong B.** Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev* **2002**;
- [75] **Einselé H, Hebart H, Roller G, et al.** Detection and identification of fungal pathogens in blood by using molecular probes. *J Clin Microbiol* **1997**;35:1353-60.
- [76] **Morace G, Pagano L, Sanguinetti M, et al.** PCR-restriction enzyme analysis for detection of *Candida* DNA in blood from febrile patients with hematological malignancies. *J Clin Microbiol* **1999**;37:1871-5.
- [77] **Edwards JE, Bodey GP, Bowden RA, Buchner T, de Pauw BE,Filler SG, et al.** International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidal infections. *Clin Infect Dis* **1997** ; 25 : 43-59.
- [78] **British Society for Antimicrobial Chemotherapy.** Management of deep *Candida* infection in surgical and intensive care unit patients. *Intensive Care Med* **1994** ; 20 : 522-8.
- [79] **Eriksson U, Seifert B, Schaffner A.** Comparison of effects of amphotericin B deoxycholate infused over 4 or 24 hours : randomised controlled trial. *BMJ* **2001** ; 322 : 579-82.

[80] Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C, Hiemenz J, Schwartz C, Bodensteiner D, et al. Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. *NEJM* **1999** ; 340 : 764-71.

[81] Caillot D, Chavanet P, Casasnovas O, Solary E, Zanetta G, Buisson M, et al. Clinical evaluation of a new lipid-based delivery system for intravenous administration of amphotericin B. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1992** ; 11 : 722-5.

[82] Rex JH, Bennett JE, Sugar AM, Pappas PG, van der Horst CM, Edwards JE, et al. A randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patients without neutropenia. *NEJM* **1994** ; 331 : 1325-30.

[83] Anaissie EJ, Darouiche RO, Abi-Said D, Uzun O, Mera J, Gentry LO, et al. Management of invasive *candida* infections : results of a prospective, randomized, multicenter study of fluconazole versus amphotericin B and review of the literature. *Clin Infect Dis* **1996** ; 23 : 964-72.

[84] Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD, Filler SG, Pappas PG, Dismukes WE, et al. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **2000** ; 30 : 662-78.

[85] Voss A, de Pauw BE. High-dose fluconazole therapy in patients with severe fungal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1999** ; 18 : 165-74.

[86] Chryssanthou E. Trends in Antifungal Susceptibility among Swedish *Candida* Species Bloodstream Isolates from 1994 to 1998: Comparison of the E-test and the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Panel with the NCCLS M27-A Reference Method. *J Clin Microbiol* **2001** ; 39 : 4181-3.

[87] Keating GM, Jarvis B. Caspofungin. *Drugs* **2001** ; 61 : 1121-9.

- [88] **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast : approved standard. NCCLS document M27-A. Wyne PA : *NCCLS* **1997**.
- [89] **Anaissie EJ, Rex JH, Uzun O, Vartivarian S.** Predictors of adverse outcome in cancer patients with candidemia. *Am JMed* **1998** ; 104 : 238-45.
- [90] **Chryssanthou E.** Trends in Antifungal Susceptibility among Swedish Candida Species Bloodstream Isolates from 1994 to 1998: Comparison of the E-test and the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Panel with the NCCLS M27-A Reference Method. *J Clin Microbiol* **2001** ; 39 : 4181-3.
- [91] **Nguyen MH, Peacock JE, Tanner DC, Morris AJ, Nguyen ML, Snyderman DR, et al.** Therapeutic approaches in patients with candidemia. *Arch Intern Med* **1995** ; 155 : 2429-35.
- [92] **Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, et al.** Members of the Infection Control Program. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *Lancet* **2000** ; 356 : 1307-12.
- [93] **Calvo V, Borro JM, Morales P, Morcillo A, Vicente R, Tarrazona V, et al.** Antifungal prophylaxis during the early postoperative period of lung transplantation. Valencia lung transplant group. *Chest* **1999** ; 115 : 1301-4.
- [94] **McKinsey DS, Wheat LJ, Cloud GA, Pierce M, Black JR, Bamberger DM, et al.** Itraconazole prophylaxis for fungal infections in patients with advanced human immunodeficiency virus infection : randomized, placebo-controlled, double-blind study. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. *Clin Infect Dis* **1999** ; 28 : 1049-56.

- [95] **Nucci M, Biasoli I, Akiti T, Silveira F, Solza C, Barreiros G, et al.** A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of itraconazole capsules as antifungal prophylaxis for neutropenic patients. *Clin Infect Dis* **2000** ; 30 : 300-5.
- [96] **Eggimann P, Francioli P, Bille J, Schneider R, Wu MM, Chapuis G, et al.** Fluconazole prophylaxis prevents intra-abdominal candidiasis in high-risk surgical patients. *Crit Care Med* **1999** ; 27 : 1066-72.
- [97] **Pelz RK, Hendrix CW, Swoboda SM, Diener-West M, Merz WG, Hammond J, et al.** Double-blind placebo controlled trial of fluconazole to prevent candidal infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* **2001** ; 233 : 542-8.
- [98] **Rex JH, Sobel JD.** Prophylactic antifungal therapy in the intensive care unit. *Clin Infect Dis* **2001** ; 32 : 1191-200.

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
- الرباط -

قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
وَأَعُوذُ بِاللَّهِ الْعَظِيمِ

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.

"والله على ما أقول شهيد"

المبيضات التي تغزو مرضى مصلحة الإنعاش الجراحي
بالمستشفى العسكري التعليمي محمد الخامس

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة : لمياء زويتن
المزودة في : 13 أكتوبر 1984 بفاس

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة
الكلمات الأساسية: المبيضات – الإنعاش الجراحي – الدراسة القبلية – مؤشر الإحتلال.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيسة

السيدة: وفاء الملوكي

أستاذة في علم الطفيليات

مشرف

السيد: بدر الدين الميموني

أستاذ مبرز في علم الطفيليات

السيد: لحسن الصافي

أستاذ في الإنعاش والتخدير

أعضاء

السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ مبرز في علم الدم

السيد: هشام أزندور

أستاذ في الإنعاش والتخذي