

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

ANNEE: 2012

THESE N°: 83

PROFIL DE RESISTANCES AUX ANTIFONGIQUES DES  
SOUCHES DE CANDIDA ISOLEES A L'HOPITAL  
MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V

THESE

*Présentée et soutenue publiquement le : .....*

PAR

**Mlle. Meriem AMMAR**

**Née le 23 Avril 1988 à Casablanca**

**Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie**

**Mots Clés** : Antifongique, Résistance, *Candida* sp, Antifongigramme

**JURY**

**Mr.Y.BENSOUDA**

Professeur de pharmacie galénique

**Mr. B. E. LMIMOUNI**

Professeur de Parasitologie-Mycologie

**Mr. I.LAHLOU AMINE**

Professeur de Microbiologie

**Mr. J.LAMSAOURI**

Professeur agrégé de Chimie thérapeutique

**Mr. K. DOGHMI**

Professeur agrégé d'Hématologie clinique

**PRESIDENT**

**RAPPORTEUR**

**JUGES**

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



## UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI

### FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

#### DOYENS HONORAIRES :

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

#### ADMINISTRATION :

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

#### PROFESSEURS :

##### Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

##### Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

##### Mars, Avril et Septembre 1980

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

##### Mai et Octobre 1981

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

### **Mai et Novembre 1982**

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

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

### **Novembre 1983**

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

Pneumo-phtisiologie  
Pédiatrie  
Neurochirurgie  
Rhumatologie  
Cardiologie

### **Décembre 1984**

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

Neurochirurgie  
Radiothérapie  
Médecine Interne  
Anesthésie -Réanimation  
Immuno-Hématologie  
Chirurgie

### **Novembre et Décembre 1985**

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

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

### **Janvier, Février et Décembre 1987**

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

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

### **Décembre 1988**

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

### **Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990**

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

### **Février Avril Juillet et Décembre 1991**

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

### **Décembre 1992**

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

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

### **Mars 1994**

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

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

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

Gynécologie – Obstétrique  
 Dermatologie  
 Chirurgie Cardio-Vasculaire

### **Mars 1994**

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

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

### **Mars 1995**

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

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

### **Décembre 1996**

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

### **Novembre 1997**

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

### **Novembre 1998**

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

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

Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie

### **Novembre 1998**

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

Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

### **Janvier 2000**

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

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

### **Novembre 2000**

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

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

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

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

### **Décembre 2001**

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

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

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

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

### **Décembre 2002**

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

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

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

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

### **PROFESSEURS AGREGES:**

#### **Janvier 2004**

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

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

### **Janvier 2005**

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

### **AVRIL 2006**

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

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

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

### **Octobre 2007**

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

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

477. Pr. RABHI Monsef \*  
 478. Pr. MRABET Mustapha \*  
 479. Pr. SEKHSOKH Yessine \*  
 480. Pr. SEFFAR Myriame  
 481. Pr. LOUZI Lhoussain \*  
 482. Pr. MRANI Saad \*  
 483. Pr. GANA Rachid  
 484. Pr. ICHOU Mohamed \*  
 485. Pr. TACHFOUTI Samira  
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine  
 487. Pr. MELLAL Zakaria  
 488. Pr. AMMAR Haddou \*  
 489. Pr. AOUI Sarra  
 490. Pr. TLIGUI Houssain  
 491. Pr. MOUTAJ Redouane \*  
 492. Pr. ACHACHI Leila  
 493. Pr. MARC Karima  
 494. Pr. BENZIANE Hamid \*  
 495. Pr. CHERKAOUI Naoual \*  
 496. Pr. EL OMARI Fatima  
 497. Pr. MAHI Mohamed \*  
 498. Pr. RADOUANE Bouchaib\*  
 499. Pr. KEBDANI Tayeb  
 500. Pr. SIFAT Hassan \*  
 501. Pr. HADADI Khalid \*  
 502. Pr. ABIDI Khalid  
 503. Pr. MADANI Naoufel  
 504. Pr. TANANE Mansour \*  
 505. Pr. AMHAJJI Larbi \*

Médecine interne  
 Médecine préventive santé publique et hygiène  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Virologie  
 Neuro chirurgie  
 Oncologie médicale  
 Ophtalmologie  
 Ophtalmologie  
 Ophtalmologie  
 ORL  
 Parasitologie  
 Parasitologie  
 Parasitologie  
 Pneumo phtisiologie  
 Pneumo phtisiologie  
 Pharmacie clinique  
 Pharmacie galénique  
 Psychiatrie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Radiothérapie  
 Radiothérapie  
 Radiothérapie  
 Réanimation médicale  
 Réanimation médicale  
 Traumatologie orthopédie  
 Traumatologie orthopédie

### **Mars 2009**

Pr. BJIJOU Younes  
 Pr. AZENDOUR Hicham \*  
 Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
 Pr. BOUHSAIN Sanae \*  
 Pr. OUKERRAJ Latifa  
 Pr. LAMSAOURI Jamal \*  
 Pr. MARMADÉ Lahcen  
 Pr. AMAHZOUNE Brahim\*  
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim \*  
 Pr. BOUNAIM Ahmed \*  
 Pr. EL MALKI Hadj Omar  
 Pr. MSSROURI Rahal  
 Pr. CHTATA Hassan Toufik \*  
 Pr. BOUI Mohammed \*

Anatomie  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie Réanimation  
 Biochimie  
 Cardiologie  
 Chimie Thérapeutique  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Dermatologie

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

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

### **Octobre 2010**

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

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

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

Anatomie pathologique  
Anatomie pathologique  
Physiologie  
Biochimie chimie  
Microbiologie

**ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES**  
**PROFESSEURS**

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

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

\* *Enseignants Militaires*

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



*Je dédie cette Thèse... ✍️*

## *A MES PARENTS*

*Vous m'avez appris à balbutier mes premiers paroles, à faire mes premiers pas  
dans la vie, à sourire.*

*Vous avez fait tant de sacrifices pour mon éducation et mes études.*

*Vous m'avez comblé par votre soutien et votre générosité.*

*Ces quelques lignes ne sauraient exprimer toute l'affection et tout l'amour que je  
vous porte.*

*Aujourd'hui, je dépose entre vos mains le fruit de votre patience et de vos vœux  
tant formulés et vos prières.*

*Puisse DIEU vous prêter longue vie, avec bonne santé, afin que je puisse vous  
comblé.*

## *A MES TRÈS CHERS FRÈRES*

### *MEHDI ET YOUNES*

*L'amour fraternel que je porte pour vous est sans égal, vos conseils et votre amour  
m'ont soutenu tout au long de mes études, et vos encouragements ont été pour moi  
d'un grand réconfort.*

*Puisse notre esprit de famille se fortifie au cours des années et notre fraternité  
demeure toujours intacte*

*Que DIEU vous protège et vous*

*assure bonne santé et longue vie.*

## A MA FAMILLE MATERNELLE GHAZAL

*Je cite particulièrement mon grand et cher oncle GHAZAL Mohammed, mes tendres et chers oncles GHAZAL Khalid, GHAZAL Rachid, GHAZAL Jalal et CHARIFI Anas*

*Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Quelque part, vous êtes participé à mon épanouissement, vous m'avez encouragé et soutenu. Vous m'étiez toujours proches. A tout stade de ma vie, vous étiez là.*

*Je cite également mes tantes Chaibia et zoubida*

*Puisse ce travail témoigner de ma profonde affection et de mon sincère estime.*

## A MA GRANDE FAMILLE AMMAR

*Dont je suis fière de porter le nom*

*Je cite particulièrement mon cousin EL JAAFARI Rachid qui m'a beaucoup soutenu durant mon cursus et qui était toujours là près de moi en cas de besoin. Je vous dédie ce travail, en témoignage de mon respect et ma reconnaissance. Aussi je cite sa femme Saloua et sa petite famille.*

*A mes oncles, mes tantes ainsi que mes cousins et cousines.*

*Puisse ce travail témoigner de ma profonde attachement.*

## A TOUS MES AMI(E)S

*Je cite particulièrement :*

*T. Jihane : la compatriote, la complice*

*Les traits de notre amitié sont tissés en toute tendresse. Les quelques années qu'on a passé ensemble seraient les plus belles de ma vie. Ton amitié me tiens tant à cœur. Puisse cette amitié demeure éternelle.*

*Z. Kaoutar : La copine, l'aimable*

*Quelques jours m'ont suffi pour découvrir en toi l'alliée, la collègue et la sœur. T'avoir partie de ma vie m'était une pure grâce. Tu m'as réchauffé le cœur d'amour et de tendresse. Puisse notre amitié demeure éternelle.*

*O. Jihad :*

*Un merci spécialement à toi pour tous tes conseils, ton aide et ta présence à mes côtés qu'on j'avais besoin de toi. Tu m'as beaucoup appris et une partie de ce travaille d'aujourd'hui revient à toi. Merci pour tous.*

*Je dédie egamelement ce travail à L. Youness. Pour l'aide, l'encouragement et le sacrifice dont tu as toujours fait preuve. Merci une autre fois et que Dieu puisse réaliser tes rêves.*

**À MES CONFRÈRES ET CONSŒURS PHARMACIENS  
ET PHARMACIENNES DE LA FACULTÉ DE  
MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE RABAT**

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

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

**À TOUS MES AMIS ET MES PROFESSEURS DE LA  
FACULTÉ DES SCIENCES CHOUAIB EDDOUKKALI D'EL**

**JADIDA :**

*Je cite spécialement Professeur ZITOUNI de Biologie Animale et Professeur LKHIDER de Biologie Moléculaire, je vous remercie pour tout vos efforts et vos aides, vous m'aviez beaucoup appris, toujours présents en cas de besoin.*

*Vous étiez toujours dans mon cœur, et les moments qu'on a passé ensemble resteront gravés éternellement dans ma mémoire.*

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

**À MADAME LE DOYEN**  
**À MONSIEUR LE VICE-DOYEN**  
**À TOUT LE PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE**  
**ET DE PHARMACIE DE RABAT**

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

**À TOUS MES PROFESSEURS**

*Particulièrement :*

**LE PROFESSEUR BADRE EDDINE LMIMOUNI**

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

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

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

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

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

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

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

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

# REMERCIEMENTS

À NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE,  
MONSIEUR LE PROFESSEUR YAHYA BENSOUDA  
PROFESSEUR DE PHARMACIE GALÉNIQUE  
CHEF DE SERVICE DE LA PHARMACIE, HÔPITAL DES  
SPECIALITÉS DE RABAT

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

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

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

*Nous tenons à vous remercier pour le meilleur accueil que vous nous avez réservé  
au laboratoire ainsi que pour la qualité des cours que vous nous avez dispensé  
toujours aussi clairs.*

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

À NOTRE MAÎTRE ET RAPPORTEUR DE THÈSE,  
MONSIEUR LE PROFESSEUR BADRE EDDINE LMIMOUNI  
PROFESSEUR DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE  
CHEF DE SERVICE DU LABORATOIRE PARASITOLOGIE-  
MYCOLOGIE DE L'HMIMY

*Votre cordialité, votre gentillesse, et votre compréhension nous ont profondément marquées, mais l'une des choses que nous retiendrons de vous est votre écoute.*

*Vous étiez toujours là attentionné et attentif à nos soucis.*

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

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

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

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THÈSE,  
MONSIEUR LE PROFESSEUR IDRIS LAHLOU AMINE  
PROFESSEUR DE MICROBIOLOGIE  
CHEF DE SERVICE DU LABORATOIRE DE BIOSECURITÉ ET DE  
RECHERCHE P3 DE L'HMIMV

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

*Veillez accepter maitre, l'expression de notre profond respect et de notre  
reconnaissance.*

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE,  
MONSIEUR LE PROFESSEUR JAMAL LAMSAOURI  
PROFESSEUR AGRÉGÉ DE CHIMIE THÉRAPEUTIQUE

*Vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger parmi les membres de  
notre jury.*

*Vos qualités humaines et professionnelles sont pour nous un exemple à suivre.*

*Veillez trouver ici, l'expression de notre profond respect.*

À NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE  
MONSIEUR LE PROFESSEUR KAMAL DOGHMI  
PROFESSEUR AGRÉGÉ D'HÉMATOLOGIE CLINIQUE

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

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

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

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

# SOMMAIRE

I. INTRODUCTION :	2
II. POBLEMATIQUE	4
III. MATERIELS ET METHODES	6
III.1 Lieu et période d'étude :	6
III.2 Critères d'inclusion :	6
III.3 Méthodologie :	6
IV. RESULTATS	18
IV. 1 Répartition des espèces isolées :	18
IV. 2 Répartition des espèces selon le type de prélèvement:	21
IV.3 Sensibilité in vitro des espèces isolées vis-à-vis les antifongiques étudiés :	23
IV.4 Sensibilité selon les especes :	33
V. DISCUSSION	38
V.1 Les antifongiques	38
V.1.1 Généralités	38
V.1.2 Classification, Pharmacodynamie et Pharmacocinétique	38
V.1.3 Classes des antifongiques utilisés pour le traitement des candidémies et les référentiels	62
V.2 Moyens d'étude de sensibilité in vitro aux antifongiques	63
V.2.1 Méthodes par dilution :	65
V.2.2 Méthode par diffusion :	79
V.2.3 Méthode par dilution-affusion :	85
V.2.4 La technologie Vitek®:	88
V.3. Etude de sensibilité des antifongiques	90
V.3.1 Selon l'espèce	90
V.3.2 Selon l'antifongique	91
V.4 Resistance	93

V.4.1 Mécanismes de résistance :.....	93
V.4.2 Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques .....	99
V.5 Données épidémiologiques .....	104
V.5.1 Epidémiologie des résistances aux antifongiques de <i>Candida</i> .....	104
V.5.2 Facteurs de modifications de l'épidémiologie mondiale et de la sensibilité aux antifongiques .....	105
V.5.3 Evolution de l'épidémiologie des résistances :.....	106
V.5.3.1 Interet de la surveillance :.....	106
V.5.3.2 Evolution de l'épidémiologie de la résistance aux antifongiques :.....	107
VI. CONCLUSION .....	117
RESUME	
Références bibliographiques:	
Annexes	

# INTRODUCTION

## I. INTRODUCTION :

En pathologie humaine, les levures du genre *Candida* sont les agents étiologiques les plus fréquents d'infections fongiques invasives (IFI). Agent commensal de la peau ou des muqueuses humaines, elles sont habituellement peu pathogènes chez l'individu sain, mais peuvent provoquer des infections fongiques gravissimes selon le terrain du patient, en association avec certains facteurs de risques.

Depuis le début des années 1980, on observe une augmentation de l'incidence de ces mycoses profondes, principalement chez les patients immunodéprimés et les patients en service de réanimation. *Candida albicans* est de loin l'espèce la plus fréquemment retrouvée, mais l'incidence des *Candida* non *albicans* comme *C. glabrata*, *C. parapsilosis* et *C. tropicalis* est croissante dans les prélèvements cliniques.

Les modifications récentes de l'épidémiologie sont multifactorielles : changement de profil des patients à risque, utilisation grandissante d'antifongiques, etc. Le rôle des antifongiques sur ces modifications épidémiologiques n'est pas clairement établi, même si l'émergence de certaines espèces a déjà été corrélée à l'utilisation de certains antifongiques. Les molécules récentes comme les échinocandines ou les nouveaux triazolés enrichissent l'arsenal thérapeutique, mais leur impact sur les levures reste peu étudié.

Des résistances croisées vis-à-vis de l'ensemble des antifongiques ont été décrites pour *C. albicans*, *C. glabrata* et *C. tropicalis* aux USA.

Aussi *C. glabrata*, considérée comme moins virulente que *C. albicans* présente une difficulté thérapeutique particulière car elle peut être intrinsèquement résistante aux antifongiques triazolés ou peut acquérir cette résistance après des périodes relativement courtes d'exposition à ces médicaments.

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

# PROBLEMATIQUE

## II. POBLEMATIQUE

Avec l'utilisation intensive des antifongiques, des résistances sont apparues. Depuis quelques années, des espèces fongiques naturellement peu sensibles à certains antifongiques ont émergées. Certaines souches naturellement sensibles ont acquis des résistances.

A la lumière de ces éléments, il s'est avéré intéressant de mettre en place une étude de surveillance de résistance aux antifongiques dans les services de Réanimation de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat (HMIMV). Cette étude nous permettra de mieux cerner le profil de sensibilité des souches de *Candida* aux différents antifongiques systémiques.

Dans une première partie, nous aborderons certaines généralités concernant notre problématique, afin de donner les éléments nécessaires à la compréhension de l'étude. Secondairement, nous avons recherché les corrélations éventuelles entre la consommation d'antifongiques, l'épidémiologie et les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI). Dans une dernière partie les principaux résultats seront rappelés et discutés. Une conclusion générale achèvera ce travail de thèse.

# MATERIELS ET METHODES

### III. MATERIELS ET METHODES

#### III.1 Lieu et période d'étude :

Il s'agit d'une étude prospective qui s'est déroulée au sein du service de parasitologie et de mycologie de l'HMIMV sur une durée de 7mois (Janvier 2012 – Juillet 2012).

#### III.2 Critères d'inclusion :

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

#### III.3 Méthodologie :

##### 1) Prélèvement :

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

##### 2) Culture et identification

- **Hémoculture** : la culture se fait dans des flacons Mycosis-IC/F servant pour l'hémoculture aérobie. Ils sont principalement utilisés avec les appareils BACTEC. L'échantillon sanguin à analyser estensemencé dans un ou plusieurs flacons qui sont placés ensuite dans l'appareil BACTEC de la série à fluorescence pour incubation et lecture périodique. Chaque flacon contient un senseur chimique qui peut détecter l'augmentation de la teneur en CO<sub>2</sub> produit par la croissance des microorganismes. Le senseur est lu par l'appareil toutes les 10 min avec recherche d'augmentation de sa fluorescence qui est proportionnelle à la quantité du CO<sub>2</sub> présent. Une lecture positive se traduisant par un signal sonore indique une présence possible de microorganismes viables dans le flacon.

A partir du flacon positif, l'échantillon est ensuiteensemencé sur milieu chromogène Candiselect 4<sup>TM</sup>. Il s'agit d'un milieu de primo-isolement permettant l'isolement et

l'identification directe de *C.albicans*, espèce de *Candida* la plus fréquemment isolée, ainsi que l'identification présomptive de *C.tropicalis*, *C.glabrata* et *C.krusei*. La lecture est effectuée après une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Sites périphériques** : l'ensemencement des écouvillons ayant servi aux prélèvements se fait sur milieu chromogène Candiselect 4<sup>TM</sup>. La lecture est effectuée après une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

### 3) Lecture des résultats:

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

Colonies de couleur rose à violet → *C.albicans*

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

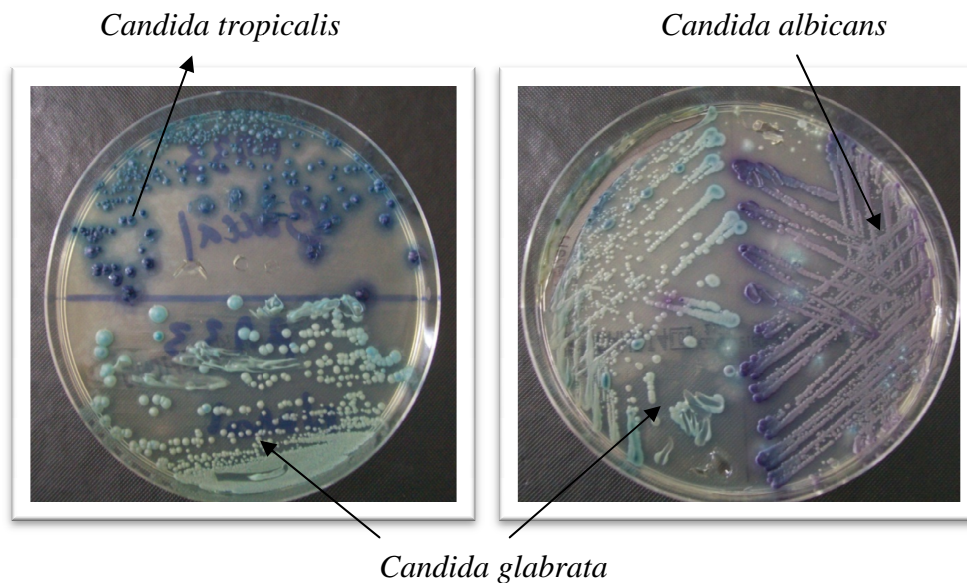
Colonies turquoise très intenses, bombées, à contours réguliers – morphotype lisse (S)  
→ *C.tropicalis*

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

Colonies blanches → autres espèces de levures → galerie biochimique d'identification API



**Figure 1 :** Ensemencement et incubation des milieux de culture [Photos du laboratoire de parasitologie mycologie de l'HMIMV de Rabat



**Figure 2 :** Identification des espèces de *Candida* sur le milieu chromogénique. [Photos du laboratoire de parasitologie mycologie de l'HMIMV de Rabat]

#### 4) Antifongigramme

L'antifongigramme a pour but d'étudier la sensibilité *in vitro* des levures du genre *Candida* aux antifongiques, ce qui permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une souche fongique vis-à-vis de divers agents antifongiques. La CMI est la plus petite concentration d'antifongique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une souche après une période d'incubation.

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

Notre étude a bénéficié de l'utilisation de sept molécules d'antifongiques : Fluconazole, Voriconazole, Kétoconazole, Miconazole, Econazole, Clotrimazole et la 5-Flucytosine.

**Principe :** Des disques de papier imprégnés avec une concentration déterminée d'antifongique sont déposés à la surface du milieu MHGBM (Muller-Hinton + 2% de glucose + 0,5 µg/mL de bleu de méthylène) préalablementensemencé avec un inoculum calibré, préparé à partir d'une culture pure de la levure à tester. Un gradient de concentration d'antifongique s'établit autour des disques dans la gélose. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition observées

autour des disques permet de déduire les concentrations minimum inhibitrices (CMI) de l'antifongique testé pour la souche testée et la catégorisation clinique : Résistant (R), Sensible Dose Dépendant (SDD), Sensible (S).

**Mode opératoire :** le référentiel du CLSI/ NCCLS recommande l'utilisation du milieu MHGBM pour la réalisation de l'antifongogramme.

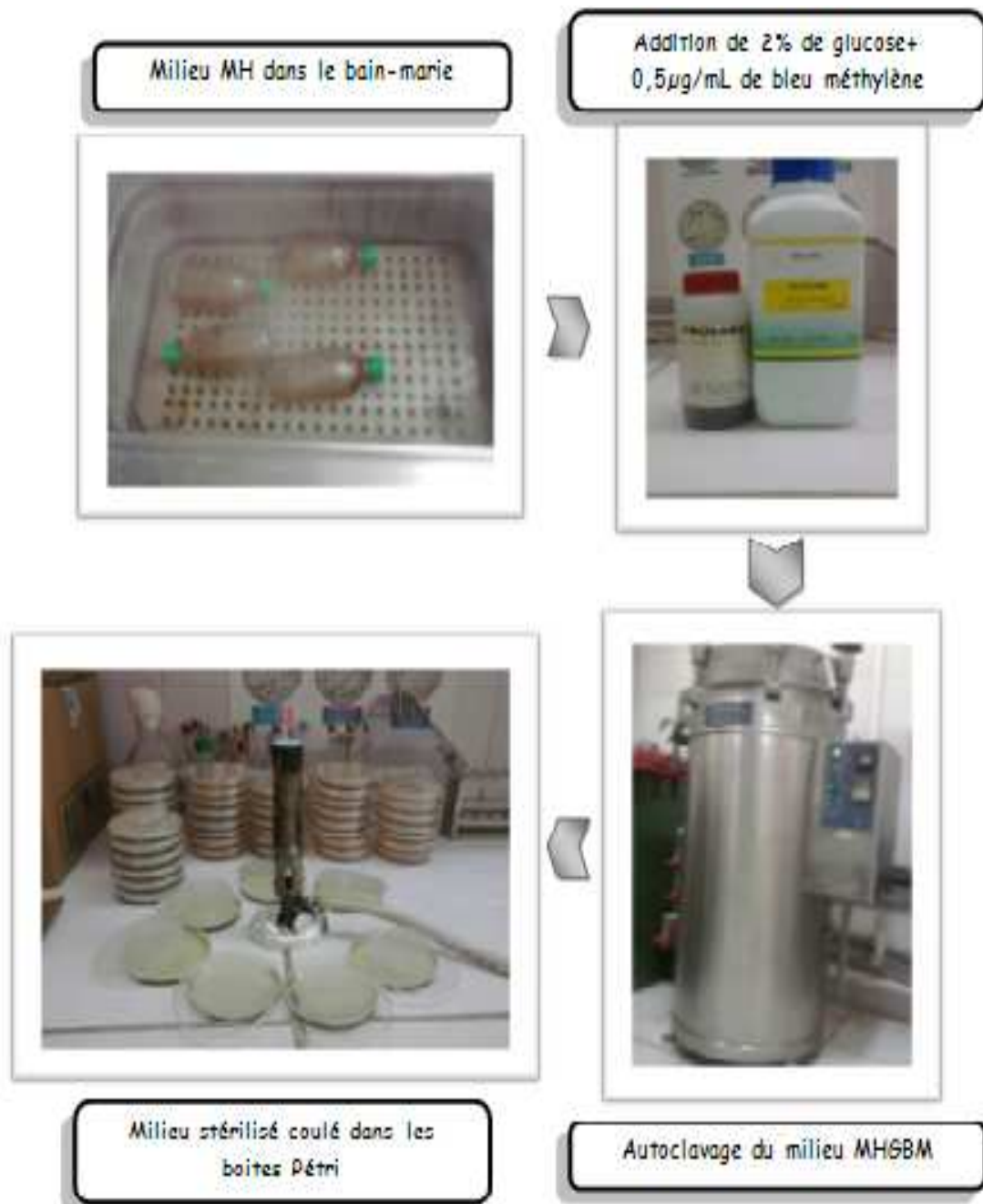
**Milieu Muller Hinton** est un milieu solide standardisé pour l'étude de la sensibilité des microorganismes aux agents antimicrobiens par la méthode de la diffusion en gélose.

Le milieu MH est un produit de la société BIO-RAD, fournit sous forme de milieu prêt à l'emploi dans des flacons de 200mL (figure 3). Au moment de l'utilisation, la gélose MH est fondue dans un bain-marie bouillant puis additionnée de 2% de glucose afin d'enrichir le milieu et de 0,5µg/mL de bleu méthylène reconnue pour son effet antibactérien. Ensuite les flacons sont stérilisés dans l'autoclave pendant 15min à 121°C et à 1bar de pression. Finalement le milieu est coulé dans des boites Pétri de 90mm près du bec benzène pour éviter les contaminations.

Après solidification pendant 15min à 37°C, les boites Pétri sont conservées entre 4 et 25°C.



**Figure 3 :** Flacons du milieu Muller Hinton fournit par la société BIO-RAD

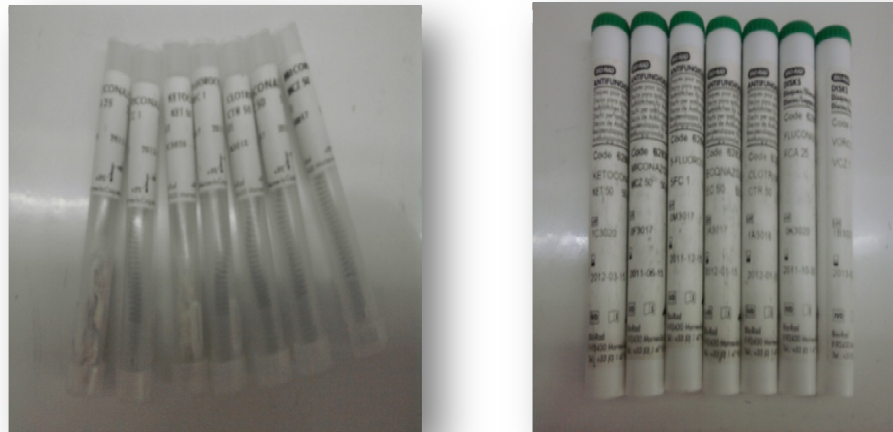


**Figure4:** Préparation du milieu Muller Hinton

**Présentation des disques d'antifongiques** : ils sont fabriqués à partir de papier absorbant de qualité supérieure ont 6,5 mm de diamètre et sont imprégnés d'antifongiques à des concentrations précises.

Ces disques sont clairement identifiés par un symbole comportant 3 lettres, suivi de la charge exprimée en  $\mu\text{g}$ , imprimé de chaque côté du disque (tableau).

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



**Figure 5:** Cartouches des disques d'antifongiques

**Tableau 1 : Caractéristiques des disques des antifongiques**

Antifongique	Charge du disque	Symbole	Conditionnement
<b>Fluconazole</b>	25 µg	FCA 25	1×50 disques
<b>Voriconazole</b>	1 µg	VCZ 1	1×50 disques
<b>Kétoconazole</b>	50 µg	KET 50	1×50 disques
<b>Miconazole</b>	50 µg	MCZ 50	1×50 disques
<b>Econazole</b>	50 µg	EC 50	1×50 disques
<b>Clotrimazole</b>	50 µg	CTR 50	1×50 disques
<b>5-Fluorocytosine</b>	1 µg	5FC 1	1×50 disques

**Ensemencement :** l'inoculum est préparé à partir d'une culture pure de levures *Candida* âgées de 24 heures sur milieu Sabouraud Chloramphénicol. La suspension des levures est préparée par mise en suspension de l'équivalence de 5 colonies bien isolées dans du sérum physiologique stérile. Après homogénéisation de la suspension au vortex, l'opacité est ajustée à 0,5McFarland afin de généraliser une concentration unique pour les différentes suspensions.

Dans le cas de l'antifongigramme l'ensemencement se fait par écouvillonnage, dans les 15 minutes qui suivent on plonge l'écouvillon dans la suspension ainsi préparée en tournant plusieurs fois. L'excès du liquide est éliminé en pressant l'écouvillon fortement contre la paroi du tube. La totalité de la boîte estensemencée par l'écouvillon selon la méthode standard, l'ensemencement par l'écouvillon est répété plusieurs fois en tournant la boîte de 60° dans le but d'assurer une homogénéité de la répartition de l'inoculum sur toute la surface de la boîte y compris les bords.

La boîte ainsiensemencée est laissée ouverte pendant 3 à 5 minutes afin de laisser absorber l'excès d'humidité avant d'appliquer les disques d'antifongiques à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes sont incubées à 35+/-2°C pendant 24 heures



Dépôt des disques d'antifongiques  
sur les boites ensemencées

Ensemencement de la totalité de la  
boite par l'écouvillon

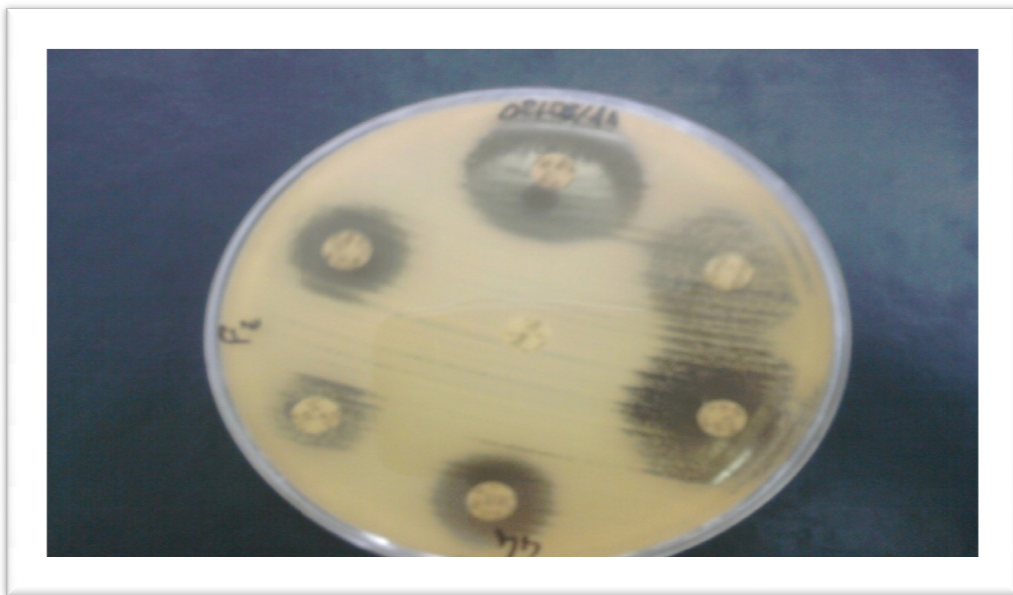
**Figure 6:** Ensemencement de l'antifongigramme et dépôt des disques des antifongiques

**Lecture et interprétation des résultats :** la lecture des boites est faite après 24h d'incubation, si la culture est insuffisante la boite est ré-incubée pendant 24h supplémentaire. La lecture des boites consiste à déterminer les diamètres des zones d'inhibition, pour ceci les boites sont placées sur un fond noir non réfléchissant. La mesure est faite jusqu'aux colonies de type normales, car il' est possible d'observer des colonies de petite taille qui ne doivent pas être pris en compte.

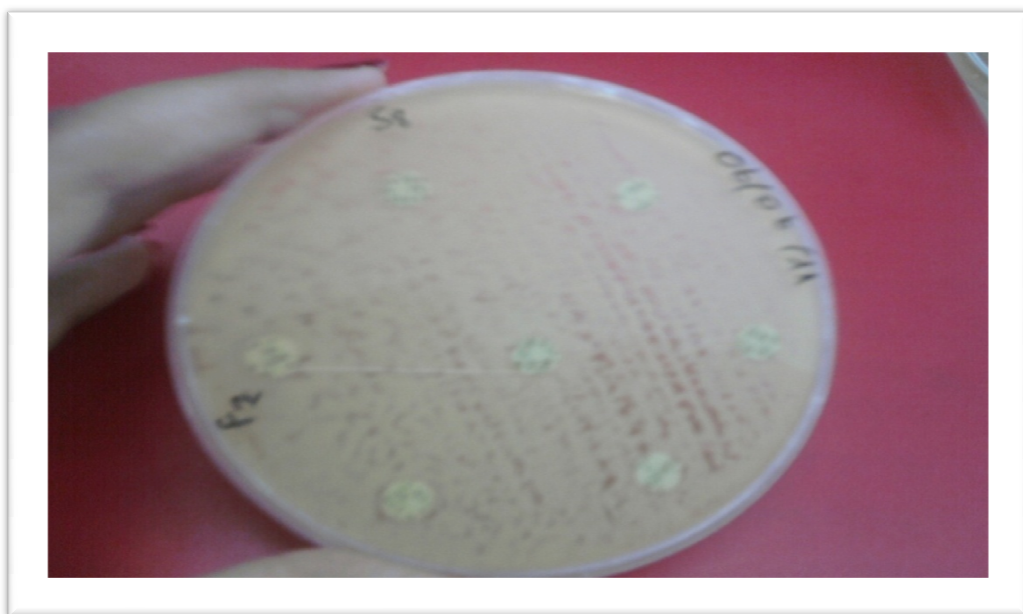
Les diamètres des zones d'inhibition sont exprimés en millimètre, la correspondance diamètre concentration minimum inhibitrice (CMI) et catégorisation clinique est résumée dans le tableau suivant :

Antifongique	Charge	Symbole	Diamètre de la Z zone d'inhibition en mm			Concentration minimum inhibitrice En µg/mL		
			R	SDD	S	R	SDD	S
<b>Fluconazole</b>	25 µg	FCA 25	<= 14	15-18	>=19	>=64	16-32	<= 8
<b>Voriconazole</b>	1 µg	VCZ 1	<=12	14-16	>=17	>=4	2	<=1
<b>Kétoconazole</b>	50 µg	KET 50	10	10-20	20	>=6,4	1,56-6,4	<= 1,56
<b>Miconazole</b>	50 µg	MCZ 50	10	10-20	20	>=6,4	1,56-6,4	<= 1,56
<b>Econazole</b>	50 µg	EC 50	10	10-20	20	>=6,4	1,56-6,4	<= 1,56
<b>Clotrimazole</b>	50 µg	CTR 50	10	10-20	20	>=6,4	1,56-6,4	<= 1,56
<b>5-Fluorocytosine</b>	1 µg	5FC 1	10	>10	-			

Tableau 2: Résumé de la correspondance diamètre, catégorisation clinique et CMI



**Figure 7 :** Souche sensible aux antifongiques mais résistante à certains



**Figure 8 :** Souche résistante à tous les antifongiques

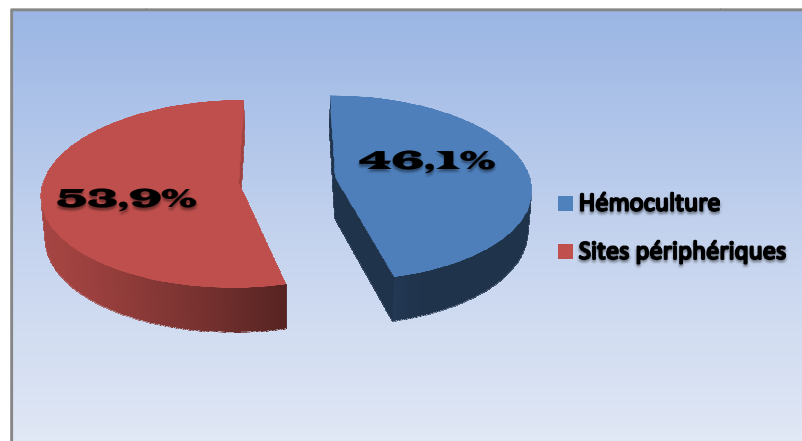
# RESULTATS

#### IV. RESULTATS

Durant une période d'étude de sept mois, 52 souches de *Candidasp* sont isolées des services de réanimation de l'HMIM V de Rabat, dont 24 souches sont isolées à partir des hémocultures, alors que 28 souches proviennent des différents sites périphériques.

**Tableau 3:** Types des prélèvements et leurs pourcentages

Type de prélèvement	Nombre	Pourcentage (%)
Hémocultures	24	46,1
Sites périphériques	28	53,9



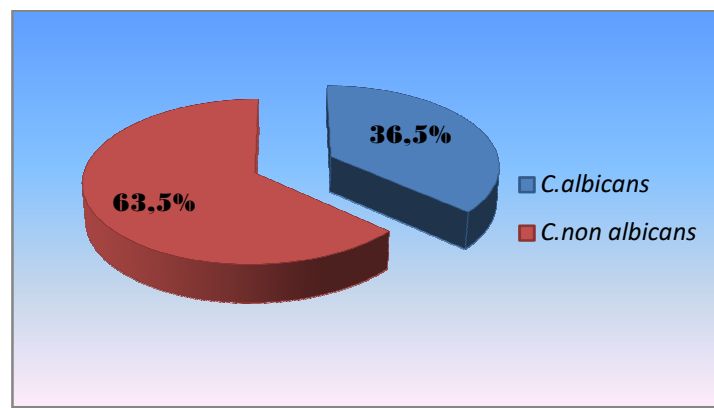
**Figure 9:** Graphique de la répartition des différents prélèvements réalisés durant cette étude.

##### IV. 1 Répartition des espèces isolées :

La répartition des espèces montre une prédominance de *Candida* non *albicans* (33 souches) par rapport à *candida albicans* (19)

**Tableau 4:** Proportion des espèces *albicans* et *nonalbicans* dans les prélèvements effectués

Espèces	Nombre	Pourcentage
<i>C.albicans</i>	19	36,5
<i>C.non albicans</i>	33	63,5
<b>Totale</b>	52	100

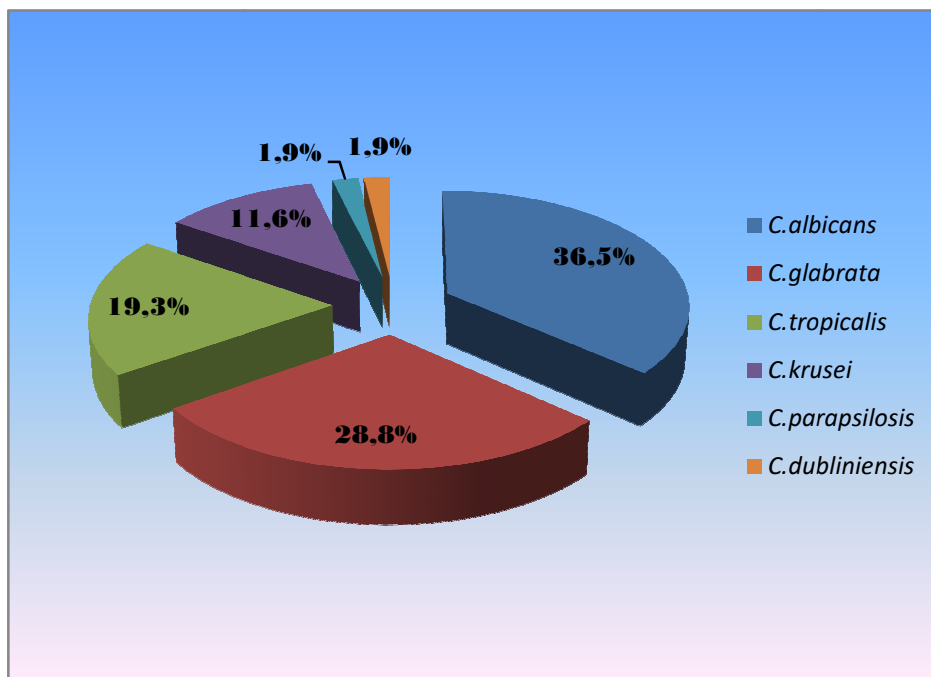


**Figure 10 :** Graphique des proportions du *Candida albicans* et *non albicans*

Notre collection de souche nous a permis d'isoler 6 espèces différentes de *Candida*, dont la prédominance revient à *Candida albicans* par 19 souches, suivie de *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, puis *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* et finalement *Candida dubliniensis*. La répartition des souches isolées est illustrée dans le tableau 5 :

**Tableau 5:** Proportion des différentes espèces de *Candida* isolées

Espèces	Nombre	Pourcentage (%)
<i>C.albicans</i>	19	36,5
<i>C.glabrata</i>	15	28,8
<i>C.tropicalis</i>	10	19,3
<i>C.krusei</i>	6	11,6
<i>C.parapsilosis</i>	1	1,9
<i>C.dublinsiensis</i>	1	1,9
<b>Totale</b>	<b>52</b>	<b>100</b>



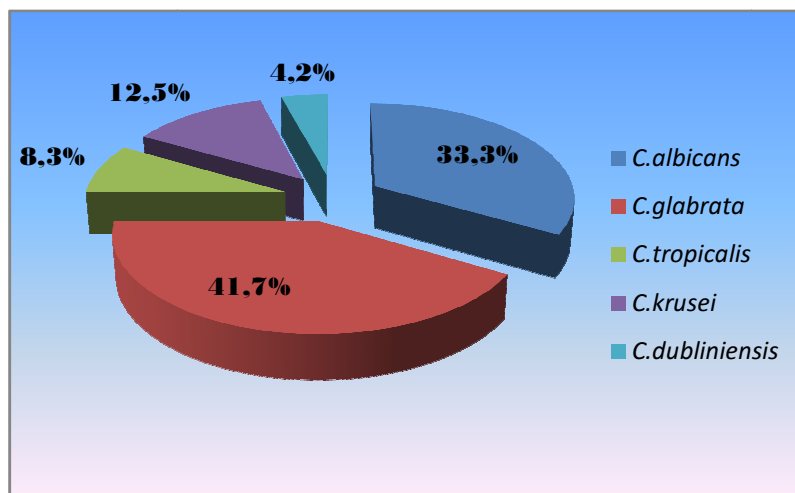
**Figure 11 :** Graphique de la distribution des différentes espèces de *Candida*

#### IV. 2 Répartition des espèces selon le type de prélèvement:

**Hémocultures :** L'hémoculture a servi pour l'isolement de 5 espèces différentes de *Candida* avec une prédominance de *Candida glabrata* par 10 souches sur 24 prélèvements suivie de *Candida albicans* puis les autres espèces du genre *Candida*. La répartition des espèces du genre *Candida* isolées à partir des hémocultures est résumée dans le tableau 6.

**Tableau 6:** Proportion des différentes espèces de *Candida* isolées à partir des hémocultures

Espèces	Nombre	Pourcentage (%)
<b>C.albicans</b>	<b>8</b>	<b>33,3</b>
<b>C.glabrata</b>	<b>10</b>	<b>41,7</b>
<b>C.tropicalis</b>	<b>2</b>	<b>8,3</b>
<b>C.krusei</b>	<b>3</b>	<b>12,5</b>
<b>C.dublinsiensis</b>	<b>1</b>	<b>4,2</b>
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>100</b>

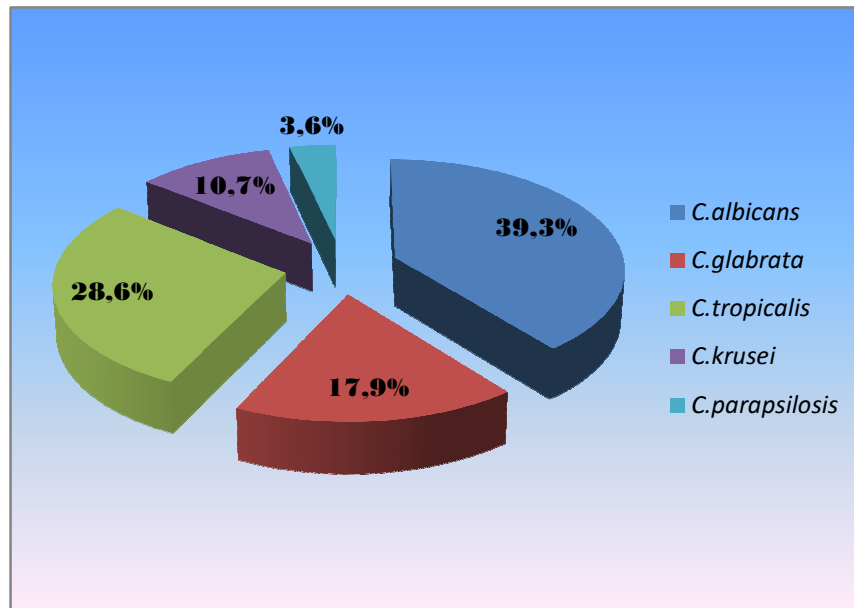


**Figure 12:** Graphique de la distribution des différentes espèces de *Candida* isolées à partir des hémocultures

**Sites périphériques :** A côté des hémocultures, des sites périphériques ont servi à l'isolement de plusieurs espèces de *Candida*. Sur les prélèvements positifs, 5 espèces ont été isolées. A l'inverse des hémocultures, c'est *Candida albicans* qui est majoritairement représentée avec un pourcentage de 39,3% suivie de *Candida tropicalis*. *Candida glabrata*, occupe la troisième place puis le *Candida krusei* et dernièrement le *Candida parapsilosis* (tableau 7).

**Tableau 7 :** Proportion des différentes espèces de *Candida* isolées à partir des sites périphériques

Espèces	Nombre	Pourcentage (%)
<b>C.albicans</b>	<b>11</b>	<b>39,3</b>
<b>C.glabrata</b>	<b>5</b>	<b>17,9</b>
<b>C.tropicalis</b>	<b>8</b>	<b>28,6</b>
<b>C.krusei</b>	<b>3</b>	<b>10,7</b>
<b>C.parapsilosis</b>	<b>1</b>	<b>3,6</b>
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>100</b>



**Figure 13 :** Graphique de la distribution des différentes espèces de *Candida* isolées à partir des sites périphériques

#### **IV.3 Sensibilité in vitro des espèces isolées vis-à-vis les antifongiques étudiés :**

Le diamètre des zones d'inhibition observées autour des disques des antifongiques est mesuré avec précision, les diamètres sont exprimés en mm et sont résumés dans l'annexe 1.

Sur la base des diamètres des zones d'inhibition, la catégorisation clinique des souches est effectuée et résumée dans le tableau suivant :

**Tableau 8:** Catégorisation clinique des souches de *Candida* isolées sur la base des diamètres des zones d'inhibition.

Antifongiques	FCZ	VCZ	KET	MCZ	5-FC	EC	CTR
Souches							
S1	R	R	S	R	S	I	I
S2	R	R	S	R	S	I	I
S3	S	S	S	S	R	S	S
S4	R	R	S	S	S	S	S
S5	S	S	S	S	I	S	S
S6	R	S	S	S	I	S	S
S7	S	S	S	S	I	S	S
S8	R	R	R	R	R	R	R
S9	R	R	R	R	R	R	R
S10	S	S	S	S	R	S	S
S11	R	R	S	S	S	S	S
S12	R	R	R	R	R	R	R
S13	S	S	S	S	R	S	S
S14	R	R	S	I	R	I	S
S15	R	S	S	S	S	I	S
S16	S	S	S	S	S	S	S
S17	R	S	S	S	R	S	S
S18	R	R	S	I	R	S	S
S19	R	R	S	I	R	S	S
S20	SDD	S	S	S	S	S	R
S21	S	S	S	S	R	S	S
S22	S	S	S	S	S	S	S
S23	S	S	S	S	S	S	S
S24	S	S	S	S	S	S	S
S25	S	S	S	S	S	S	S
S26	R	R	S	S	S	S	S
S27	R	R	S	I	S	I	I
S28	R	R	I	I	S	I	I
S29	S	S	S	S	S	S	S
S30	S	S	S	S	S	S	S
S31	S	S	S	S	S	S	S
S32	S	S	S	I	S	S	S
S33	R	S	S	S	R	S	S
S34	R	S	S	S	S	S	S
S35	S	S	R	S	S	S	S

S36	S	S	S	S	R	S	S
S37	R	R	R	R	R	R	R
S38	R	R	R	R	R	R	R
S39	S	S	S	S	S	S	S
S40	R	R	R	R	R	R	R
S41	R	R	R	R	R	R	R
S42	S	S	S	S	S	S	S
S43	R	R	R	R	R	R	R
S44	R	S	S	I	R	I	S
S45	R	R	I	I	S	I	I
S46	R	R	R	R	R	R	R
S47	R	R	R	R	R	R	R
S48	R	R	I	I	R	S	S
S49	S	S	S	S	R	S	S
S50	R	R	S	S	S	S	S
S51	R	R	S	S	S	S	S
S52	S	S	S	S	R	I	S

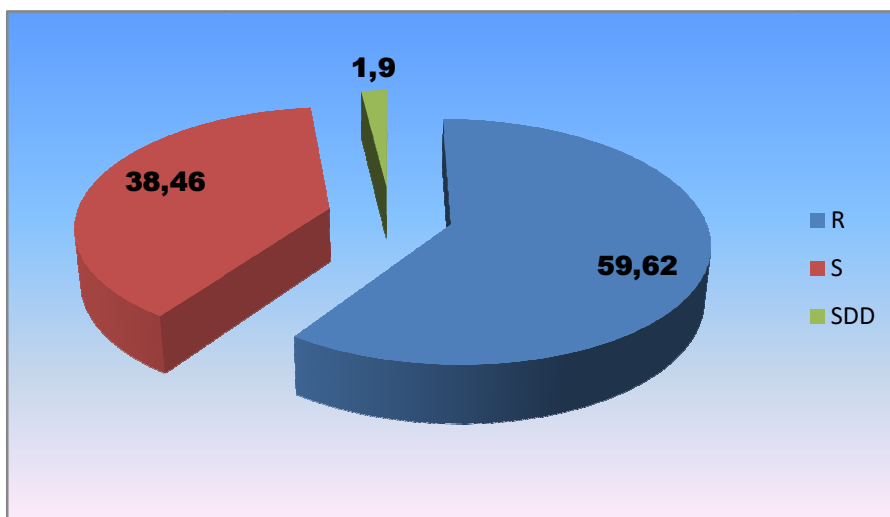
Les espèces isolées montrent des sensibilités différentes vis-à-vis des sept antifongiques testés. Les résultats de la sensibilité des souches de *Candida* isolées aux agents antifongiques sont présentés pour chaque molécule antifongique, puis pour chaque espèce

**a. Sensibilité au fluconazole :**

L'étude de la sensibilité *in vitro* au fluconazole a démontrée des taux élevés de résistance de l'ordre de 59,62% (tableau 9), considéré ainsi comme le taux de résistance le plus élevé noté dans cette étude. La répartition des pourcentages des différentes catégories (R, S et SDD) est résumée dans le graphique.

**Tableau 9:** Résumé de la sensibilité des souches de *Candida* isolées vis à vis du Fluconazole

Catégorie clinique	Nombre	Pourcentage
<b>R</b>	<b>31</b>	<b>59,62</b>
<b>S</b>	<b>20</b>	<b>38,46</b>
<b>SDD</b>	<b>1</b>	<b>1,90</b>
<b>Total</b>	<b>52</b>	<b>100</b>



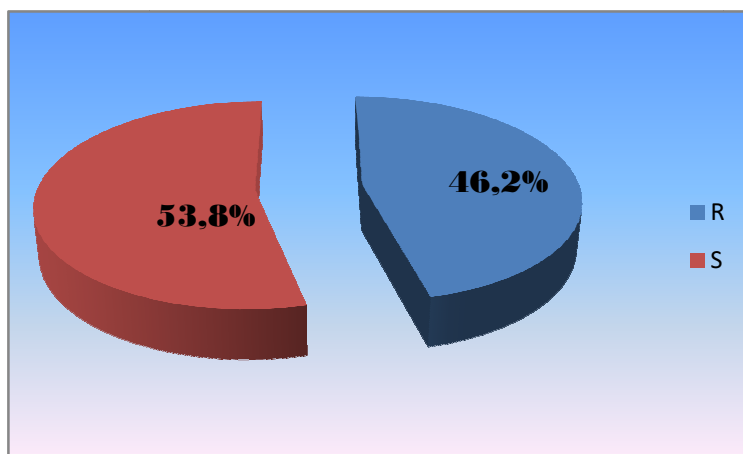
**Figure 14:** Graphique des proportions des souches résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis du fluconazole.

**b. Sensibilité au voriconazole**

L'évaluation de la sensibilité *in vitro* du voriconazole illustre une fréquence de souches résistantes élevée égale à 46,2%, alors que 53,8% des souches isolées sont sensibles au voriconazole (tableau 10).

**Tableau 10:** Résumé de la sensibilité des souches de *Candida* isolées vis à vis du voriconazole

Catégorie clinique	Nombre	Pourcentage (%)
<b>R</b>	<b>24</b>	<b>46,2</b>
<b>S</b>	<b>28</b>	<b>53,8</b>
<b>Total</b>	<b>52</b>	<b>100</b>



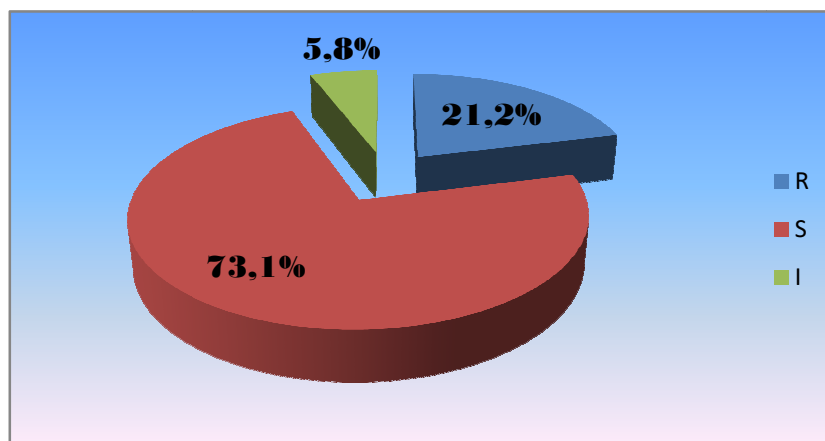
**Figure 15:** Graphique des proportions des souches résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis du voriconazole

### c. Sensibilité au kétoconazole

L'étude de la sensibilité *in vitro* au kétoconazole montre un taux faible de résistance de l'ordre de 21,2%, alors que 73,1% des souches de *Candida* isolées sont sensible à cet agent antifongique (tableau 11).

**Tableau 11 :** Résumé de la sensibilité des souches de *Candida* isolées vis à vis du kétoconazole

Catégorie	Nombre	Pourcentage (%)
<b>R</b>	<b>11</b>	<b>21,2</b>
<b>S</b>	<b>38</b>	<b>73,1</b>
<b>I</b>	<b>3</b>	<b>5,8</b>
<b>Total</b>	<b>52</b>	<b>100</b>



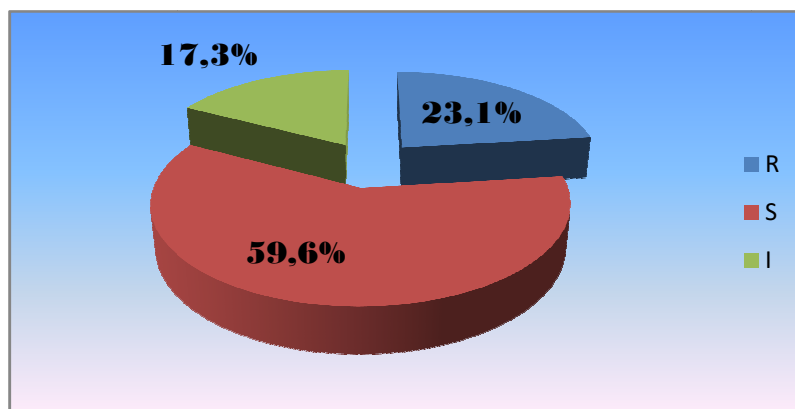
**Figure 16:** Graphique des proportions des souches résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis du kétoconazole

**d. Sensibilité au miconazole :**

Les résultats de la sensibilité *in vitro* au miconazole révèlent que 59,6% des souches de *Candida* testées sont sensibles au miconazole, tandis que seulement 23,1% des souches résistent au miconazole (tableau 12).

**Tableau 12 :** Résumé de la sensibilité des souches de *Candida* isolées vis à vis du miconazole

Catégorie	Nombre	Pourcentage (%)
<b>R</b>	<b>12</b>	<b>23,1</b>
<b>S</b>	<b>31</b>	<b>59,6</b>
<b>I</b>	<b>9</b>	<b>17,3</b>
<b>Total</b>	<b>52</b>	<b>100</b>



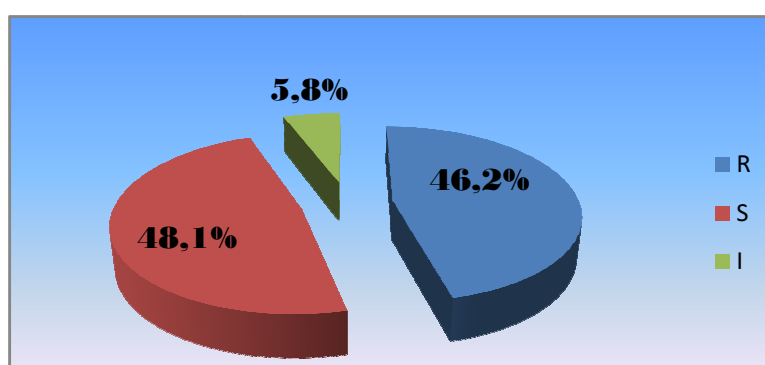
**Figure 17:** Graphique des proportions des souches résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis du miconazole

**e. Sensibilité au 5-Flucytosine :**

L'étude de la sensibilité *in vitro* à la 5-flucytosine indique que 46,2% des souches testées résistent, alors que 48,1% des souches sont sensibles à la 5FC et 5,8% sont des souches intermédiaires (tableau 13)

**Tableau 13:** Résumé de la sensibilité des souches de *Candida* isolées vis à vis de la 5-flucytosine

Catégorie	Nombre	Pourcentage
<b>R</b>	<b>24</b>	<b>46,2</b>
<b>S</b>	<b>25</b>	<b>48,1</b>
<b>I</b>	<b>3</b>	<b>5,8</b>
<b>Total</b>	<b>52</b>	<b>100</b>



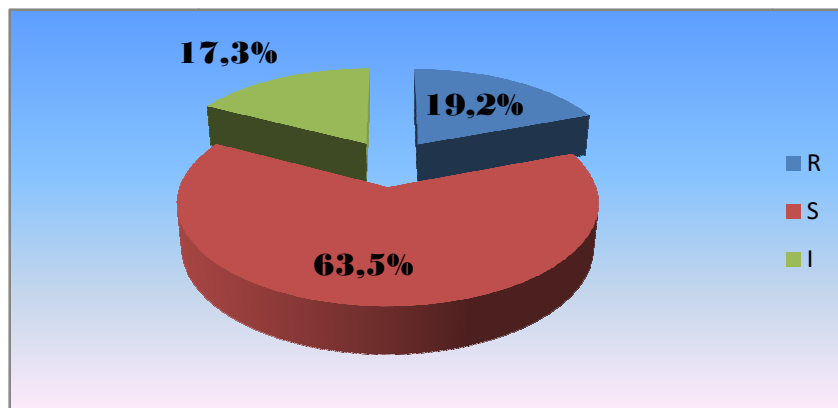
**Figure 18:** Graphique des proportions des souches résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis de la 5-flucytosine

**f. Sensibilité à l'éconazole :**

Les résultats des tests de sensibilité *in vitro* à l'éconazole montrent que 63,5% des souches de *Candida* testées sont sensibles à l'éconazole, 19,2% résistent à l'EC et 17,3% sont des intermédiaires (tableau 14).

**Tableau 14:** Résumé de la sensibilité des souches de *Candida* isolées vis à vis de l'éconazole

Catégorie	Nombre	Pourcentage (%)
R	10	19,2
S	33	63,5
I	9	17,3
Total	52	100



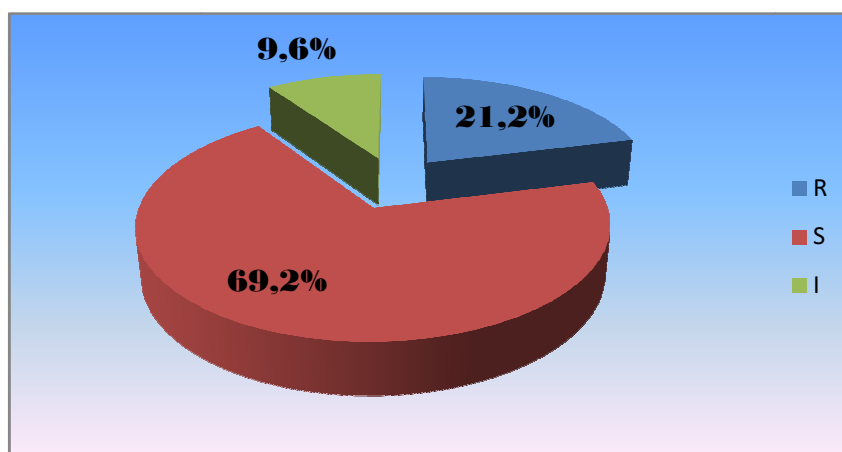
**Figure 19:** Graphique des proportions des souches résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis de l'éconazol

**g. Sensibilité au clotrimazole :**

Concernant le clotrimazole, les résultats démontrent que 69,2% des souches isolées sont sensibles, 21,2% sont des résistantes et 9,6% des souches de *Candida* testées sont des intermédiaires (tableau 15).

**Tableau 15:** Résumé de la sensibilité des souches de *Candida* isolées vis à vis du clotrimazole

Catégorie clinique	Nombre	Pourcentage (%)
<b>R</b>	<b>11</b>	<b>21,2</b>
S	36	69,2
<b>I</b>	<b>5</b>	<b>9,6</b>
<b>Total</b>	<b>52</b>	<b>100</b>



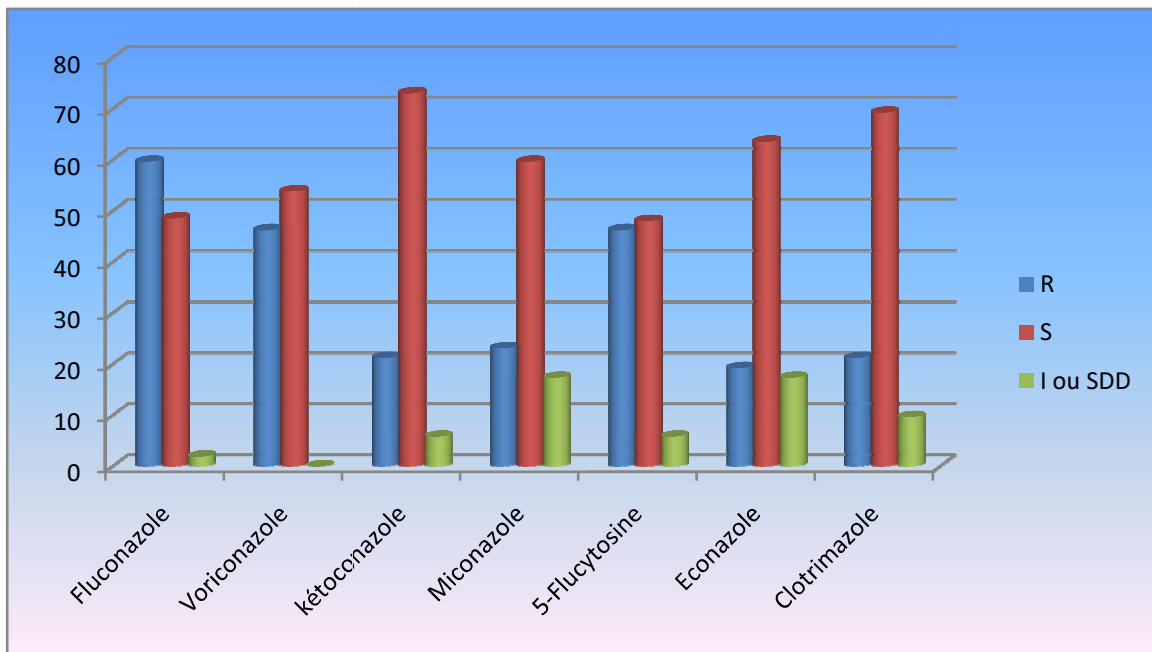
**Figure 20:** Graphique des proportions des souches résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis du clotrimazole

**h. Sensibilité des souches isolées vis-à-vis de tous les antifongiques testés :**

L'étude de la sensibilité *in vitro* des souches de *Candida* isolées des services de réanimation vis-à-vis des sept antifongiques disponibles permet de d'évaluer la fréquence de résistance pour chaque molécule afin de comparer leurs activités. Le tableau 20 résume la répartition des différentes catégories vis-à-vis des sept antifongiques.

**Tableau 16:** Résumé de la sensibilité des souches de *Candida* isolées vis à vis des antifongiques utilisés

	Fluconazole	Voriconazole	Kétoconazole	Miconazole	5-Flucytosine	Econazole	Clotrimazole
<b>R</b>	59,6	46,2	21,2	23,1	46,2	19,2	21,2
<b>S</b>	48,5	53,8	73	59,6	48	63,5	69,2
<b>I ou SDD</b>	1,9	0	5,8	17,3	5,8	17,3	9,6



**Figure 21:** Graphique des proportions des souches résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis des sept antifongiques utilisés

Les résultats de la catégorisation clinique des souches sont présentés selon l'espèce de *Candida* testée.

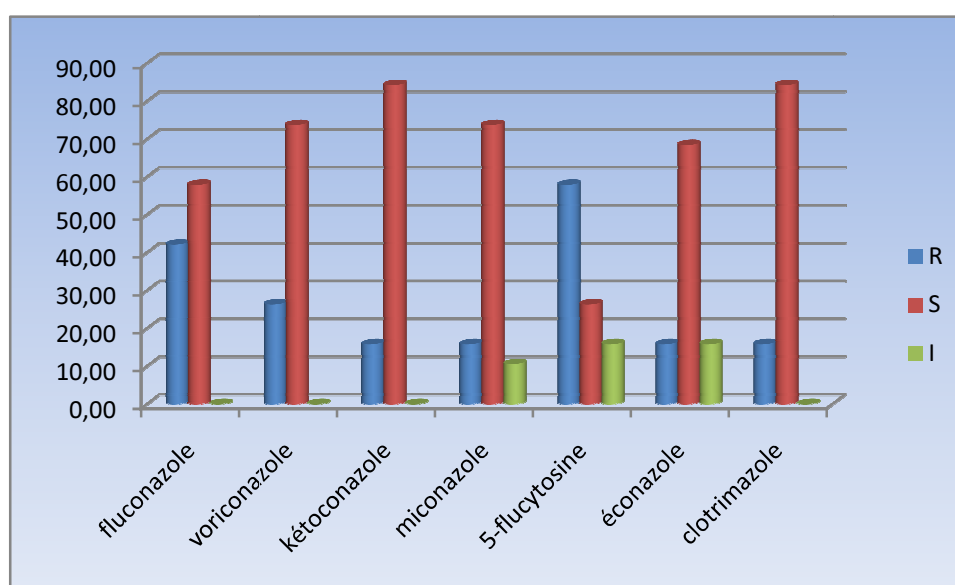
#### IV.4 Sensibilité selon les especes :

##### *Candida albicans* :

L'espèce de *Candida albicans* est la plus fréquemment isolée, elle est retrouvée dans 19 isolats parmi les 52 souches de *Candida*, cette espèce présente des sensibilités variables vis-à-vis des antifongiques testés, la catégorisation clinique est résumé dans le tableau suivant:

**Tableau 17:** Sensibilité des souches de *Candida albicans* vis à vis des sept antifongiques utilisés

	Fluconazole	Voriconazole	kétoconazole	Miconazole	5-Flucytosine	Econazole	Clotrimazole
R	42,11	26,32	15,79	15,79	57,89	15,79	15,79
S	57,89	73,68	84,21	73,68	26,32	68,42	84,21
I	0,00	0,00	0,00	10,53	15,79	15,79	0,00



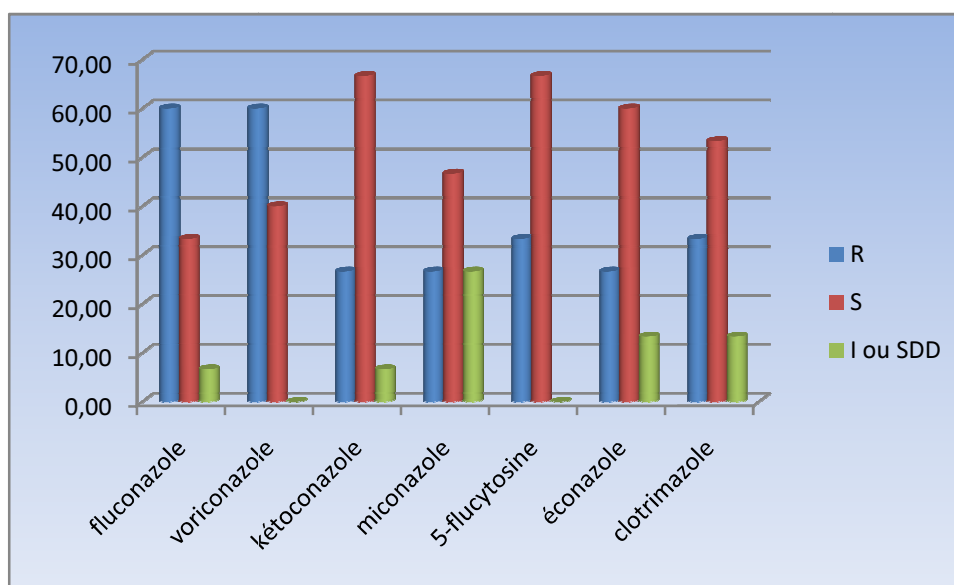
**Figure 22:** Graphique des proportions des souches de *Candida albicans* résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis des sept antifongiques utilisés

## *Candida glabrata*

Cette espèce occupe la deuxième place en fréquence dans la répartition des espèces du genre *Candida*, elle est retrouvée dans 15 isolats sur les 52 souches de *Candida*spp. De même que les autres espèces, le *C. glabrata* est testé vis-à-vis des antifongiques dont les résultats sont présentés dans le tableau 18.

**Tableau 18:** Sensibilité des souches de *Candida glabrata* vis à vis des sept antifongiques utilisés

	Fluconazole	voriconazole	kétoconazole	miconazole	5-flucytosine	Econazole	clotrimazole
<b>R</b>	<b>60,00</b>	<b>60,00</b>	<b>26,67</b>	<b>26,67</b>	<b>33,33</b>	<b>26,67</b>	<b>33,33</b>
<b>S</b>	<b>33,33</b>	<b>40,00</b>	<b>66,67</b>	<b>46,67</b>	<b>66,67</b>	<b>60,00</b>	<b>53,33</b>
<b>I ou SDD</b>	<b>6,67</b>	<b>0,00</b>	<b>6,67</b>	<b>26,67</b>	<b>0,00</b>	<b>13,33</b>	<b>13,33</b>



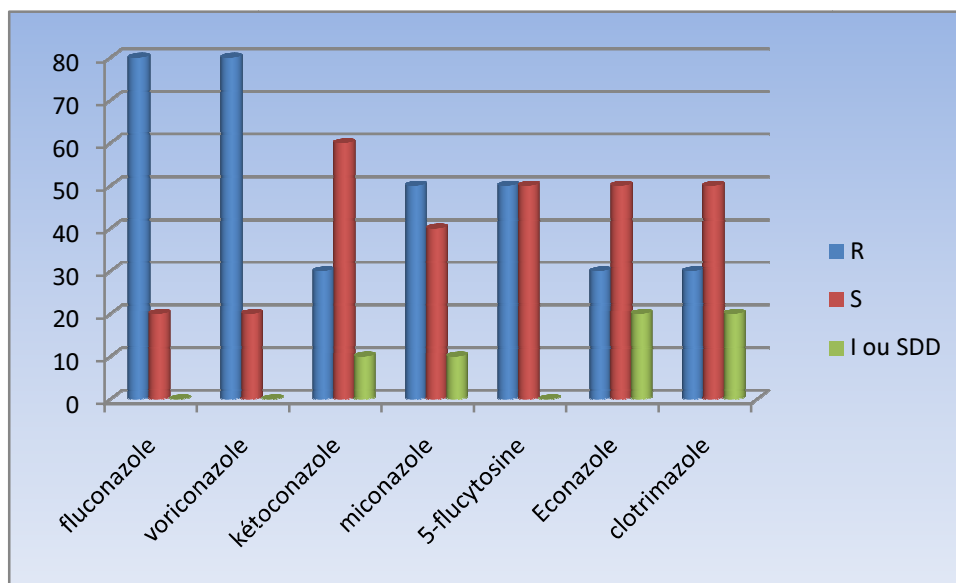
**Figure 23:** Graphique des proportions des souches de *Candida glabrata* résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis des sept antifongiques utilisés

### *Candida tropicalis*

L'étude du profil de sensibilité *in vitro* des souches de *C. tropicalis* aux antifongiques montrent les résultats résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 19:** Sensibilité des souches de *Candida tropicalis* vis à vis des sept antifongiques utilisés

	fluconazole	Voriconazole	Kétoconazole	miconazole	5-fluycytosine	Econazole	clotrimazole
<b>R</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>30</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>30</b>	<b>30</b>
<b>S</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>60</b>	<b>40</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>50</b>
<b>I ou SDD</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>20</b>



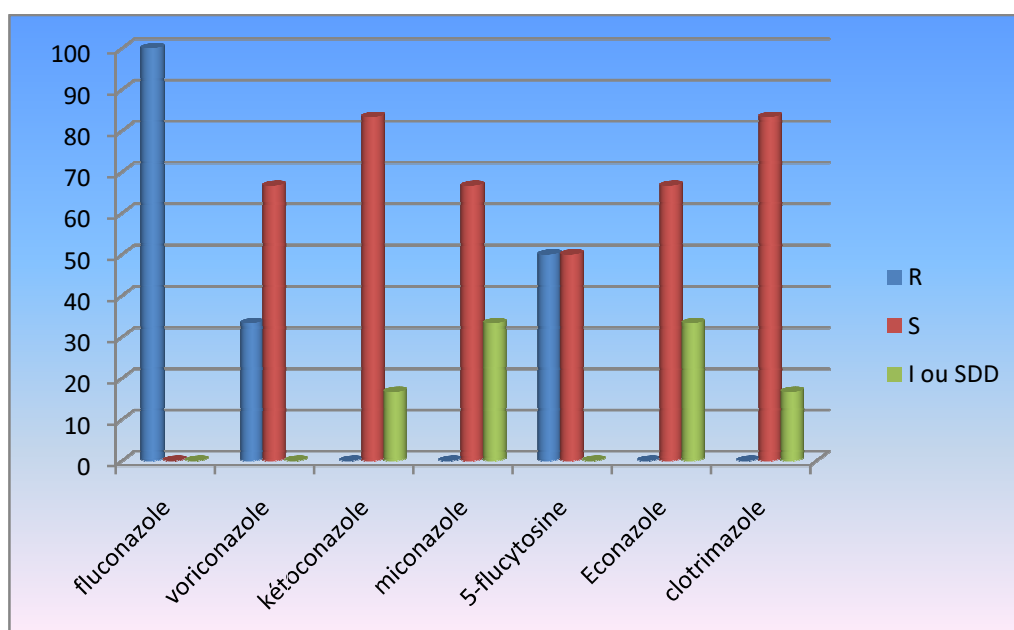
**Figure 24:** Graphique des proportions des souches de *Candida tropicalis* résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis des sept antifongiques utilisés.

## *Candida krusei*

L'étude de la sensibilité *in vitro* des souches de *C. krusei* aux agents antifongiques permet la catégorisation clinique des souches de cette espèce en souches résistantes, sensibles ou intermédiaires (tableau 20) :

**Tableau 20:** Sensibilité des souches de *Candida krusei* vis à vis des sept antifongiques utilisés

	fluconazole	Voriconazole	Kétoconazole	miconazole	5- flucytosine	Econazole	clotrimazole
<b>R</b>	<b>100</b>	<b>33,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>50,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>
<b>S</b>	<b>0</b>	<b>66,7</b>	<b>83,3</b>	<b>66,7</b>	<b>50,0</b>	<b>66,7</b>	<b>83,3</b>
<b>I ou SDD</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>16,7</b>	<b>33,3</b>	<b>0,0</b>	<b>33,3</b>	<b>16,7</b>



**Figure 25:** Graphique des proportions des souches de *Candida krusei* résistantes, sensibles et sensibles selon la dose vis-à-vis des sept antifongiques utilisés.

# DISCUSSION

## V. DISCUSSION

### V.1 Les antifongiques

#### V.1.1 Généralités

Ce sont des médicaments utilisés pour lutter contre les infections locales ou profondes à champignons microscopiques, ils se répartissent en deux catégories : les antifongiques naturels et de synthèse qui, eux-mêmes, se décomposent en antifongiques locaux et systémiques. De nombreuses classes agissent sur la synthèse de l'ergostérol, un constituant essentiel de la paroi des champignons.

Quatre familles d'antifongiques à usage systémique sont disponibles et généralement utilisées pour le traitement des infections fongiques invasives : les polyènes, les azolés, les analogues des pyrimidines et les échinocandines. De nouvelles molécules sont attendues dans les années à venir.

Une efficacité des traitements est conditionnée par l'isolement de l'agent pathogène. En effet, tous les antifongiques n'ont pas le même spectre d'action, certains ont essentiellement une activité anti dermatophytique, alors que d'autres sont surtout des *anti-candidas*.

Parmi les agents pathogènes d'un même groupe, tous ne présentent pas la même sensibilité aux antifongiques. Par exemple, *Trichophyton rubrum* est souvent difficile à éradiquer, surtout chez certains patients immunodéprimés.

Les indications des traitements antifongiques seront modulées en fonction de l'agent pathogène et de l'état immunitaire du patient, mais également en fonction de la localisation et de l'étendue des lésions.

#### V.1.2 Classification, Pharmacodynamie et Pharmacocinétique

Les principaux aspects sur l'utilisation des antifongiques dans les infections fongiques profondes seront détaillés dans ce chapitre, volontairement non exhaustif. Il reprend le mode d'action, le spectre d'activité, la pharmacocinétique, les indications et contre indications, les effets indésirables des antifongiques utilisés dans les infections fongiques invasives et les principales interactions médicamenteuses entre les autres médicaments.

Le tableau ci-dessous résume le spectre d'action de ces molécules et les différentes cibles cellulaires des antifongiques.

**Tableau 21** : le spectre d'action de ces molécules et les différentes cibles cellulaires des antifongiques.

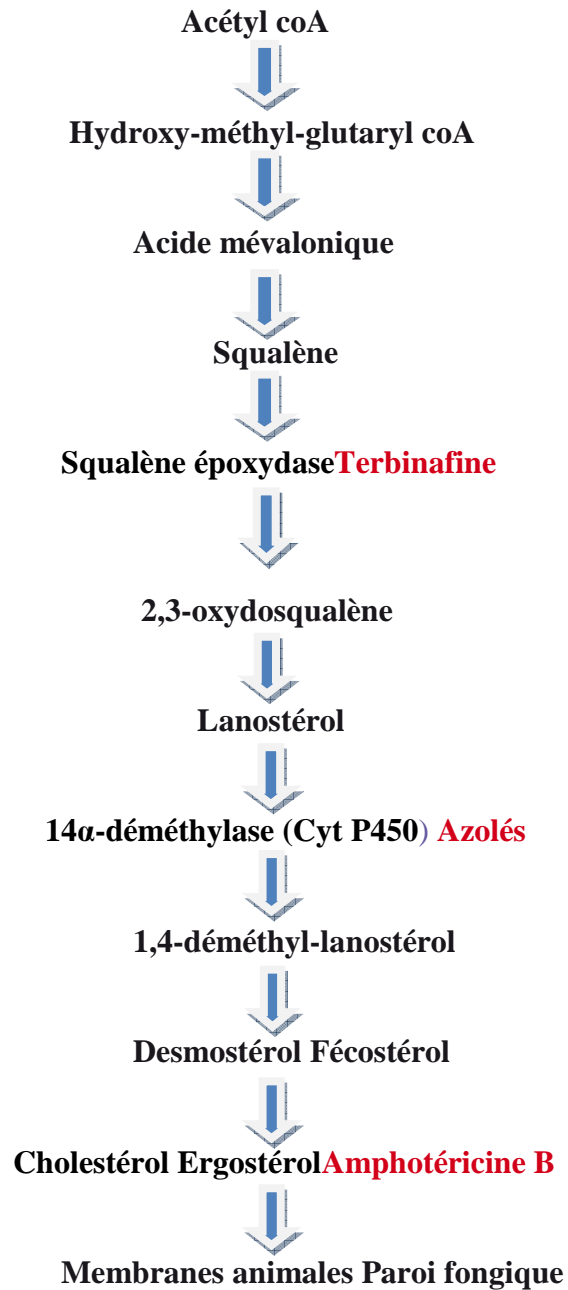
	AZOLES						ECHINOCANDINES		
	AMB	5FC	FCZ	ITZ	VCZ	POS	CAS	ANI	MIC
<b>C.albicans</b>	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+
<b>C. glabrata</b>	+	+	+/-	+/-	+	+	+	+	+
<b>C.parapsilosis</b>	+	+/-	+	+	+	+	+/-	+/-	+/-
<b>C.tropicalis</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>C.krusei</b>	+	+	- +/-	+	+		+	+	+
<b>C.lusitaniae</b>	+/-	+	+	+	+	+	+/-	+	+/-
<b>C.guillermendii</b>	+	+	+/-	+	+	+	+/-	+/-	+/-

+ : actif ; - : inactif ; +/- : intermédiaire ; **fongicide** ; **fongistatique**.

### V.1.2.1 Les antifongiques agissant sur la membrane

#### Inhibiteurs de l'ergostérol

Figure 26 : Cibles des antifongiques au niveau de la biosynthèse



### a. Polyènes

Depuis son introduction dans les années 1950, l'amphotéricine B est considéré comme l'antifongique de référence par son activité sur un large spectre fongique et par son mécanisme d'action fongicide unique.

#### • Mécanismes d'action :

Les polyènes sont des macrolides comportant un cycle lactone et une chaîne carbonée avec des doubles liaisons conjuguées. Ils agissent au niveau de la membrane fongique en s'intercalant dans la couche phospholipidique par interaction avec l'ergostérol, altérant la perméabilité cellulaire puis entraînant la mort de la cellule fongique.

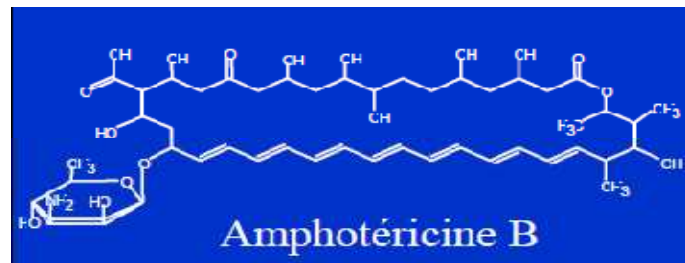


Figure 27 : Structure chimique de l'amphotéricine B

#### • Spectre antifongique

La plupart des antifongiques systémiques sont actifs sur les infections à *Candida*. L'amphotéricine B présente un spectre large, comportant en particulier les levures et les champignons filamenteux, comme *Candida*, *Blastomyces*, *Histoplasma capsulatum* et *Aspergillus*.

L'amphotericine B n'a aucune action antidermatophytique. Par voie intraveineuse, elle est utilisée pour traiter les mycoses profondes. Les formes à usage local sont actives sur toutes les levures du genre *Candida*

· **Pharmacocinétique :**

- Par voie orale, l'amphotéricine B n'est pratiquement pas absorbée par le tube digestif chez l'homme.
- La demi-vie est de 24 à 48 heures.
- Forte liaison aux protéines plasmatiques (90 à 95%)
- La diffusion dans le liquide céphalorachidien (LCR) est faible, pourtant les méningites à *cryptocoques* ont vu leur mortalité passer de 100 à 25 % lors de l'utilisation de l'amphotéricine B.
- Elimination: 20 % de la dose totale passent ainsi dans les selles

**Indications :**

- Mycoses systémiques opportunistes (*Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*,) ou exotique (histoplasmoses...).
- Méningo-encéphalite amibienne primitive subaiguë.
- Leishmanioses stibio-résistantes.

**Contre Indications :**

- Hypersensibilité connue au produit.
- Femme enceinte au début de grossesse

**Effets indésirables :**

- Réactions cutanées et anaphylactiques pouvant être prévenues par administration de corticoïdes ou d'antihistaminiques,

Phlébites, Céphalées, douleurs généralisées, fièvre, Convulsions

- Anémie
- Diminution des fonctions rénales, avec une insuffisance rénale aiguë

C'est cette toxicité rénale qui a motivé le développement ultérieur de formes galéniques moins toxiques, comme les bandelettes lipidiques (ABELCET®) ou les formes liposomales (AMBISOME®), formes qui possèdent, de plus, un volume de distribution plus important.

• **Interactions médicamenteuses**

L'amphotéricine B désoxycholate ne présente pas d'interactions significatives avec les autres médicaments : les risques d'interactions sont liés aux effets néphrotoxiques, hypokaliémiques et hématotoxiques de l'amphotéricine B elle-même. La prescription d'amphotéricine B est alors déconseillée avec d'autres médicaments néphrotoxiques, avec les digitaliques et avec les diurétiques hypokaliémants.

Les modificateurs du transit intestinal, les pansements digestifs et d'une manière générale tous les agents pouvant isoler la muqueuse de l'action du principe actif pendant la durée du traitement, doivent être évités.

**Tableau 22:** Interactions médicamenteuses de l'amphotéricine B et de la flucytosine (CI : contre-indication, ↑ : augmentation, ↓ : baisse, [c] : concentration)

<b>Interactions communes Amphotéricine B IV et flucytosine</b>		
<b>Association</b>	<b>Conséquence</b>	<b>Mesure</b>
+ <b>zidovudine</b>	↑ toxicité hématologique	Précaution d'emploi : NFS fréquentes

**Tableau 23 :** Interactions médicamenteuses de l'amphotéricine B (CI : contre-indication, ↑ : augmentation, ↓ : baisse, [c] : concentration)

<b>Interactions propres à l'amphotéricine B</b>		
<b>Association</b>	<b>Conséquence</b>	<b>Mesure</b>
<b>Aciclovir</b>	Risque accru de néphrotoxicité	À prendre en compte
<b>Acide clodronique</b>		
<b>Acide zolédronique</b>		
<b>Adéfovir</b>		
<b>Adriamycine</b>		
<b>Adriblastine</b>		
<b>AINS</b>		
<b>Aminosides</b>		
<b>Cidofovir</b>		
<b>Ciclosporine</b>		
<b>Foscarnet</b>		
<b>Ganciclovir</b>		
<b>Ifosfamide</b>		
<b>Lithium</b>		
<b>Méthotrexate</b>		
<b>Opacifiants iodés</b>		
<b>Organoplatines</b>		
<b>Pentamidine</b>		
<b>Tacrolimus</b>		
<b>Targocid</b>		
<b>Ténofovir</b>		
<b>Vancomycine</b>		
<b>+diurétiques hypokaliémants,</b>	Risque majoré d'hypokaliémie (adductif)	Précaution d'emploi : surveillance kaliémie

<b>laxatifs,</b>		+ si besoin correction
<b>glucocorticoïdes,</b>		
<b>tétracosactide</b>		
<b>+ digitaliques</b>	↑ toxicité des digitaliques par ↑ l'hypokaliémie.	Précaution d'emploi : surveillance kaliémie + ECG
<b>+ zidovudine</b>	toxicité hématologique	Précaution d'emploi : NFS fréquentes
<b>+ sultopride</b>	Risque majoré troubles du rythme ventriculaire avec torsades de pointes	Déconseillée
<b>Anti-arythmiques classe Ia</b>	Risque majoré troubles du rythme ventriculaire avec torsades de pointes	Précaution d'emploi : corriger avant l'hypoK+
<b>Anti-arythmiques classe III</b>		Surveillance clinique, [K+] et ECG
<b>Certains neuroleptiques</b>		Surveillance clinique, [K+] et ECG
<b>Bépridil</b>		
<b>Cisapride</b>		
<b>Diphémanil</b>		
<b>Érythromycine IV</b>		
<b>Halofantrine</b>		
<b>Mizolastine</b>		
<b>Moxifloxacin</b>		

**Pentamidine**

**Spiramycine IV**

**Vincamine IV**

• **Médicaments actuellement disponibles :**

Parmi la famille des polyènes, l'amphotéricine B (Fungizone®) a été le médicament « phare » pendant plus de 50 ans pour toutes les infections fongiques invasives. Son utilisation est malheureusement gênée par sa néphrotoxicité élevée. Diverses tentatives ont été conduites dans le but de réduire la toxicité de l'amphotéricine B tout en lui conservant ses propriétés antifongiques. Trois formulations lipidiques ont été développées dans le but d'améliorer la tolérance en termes de néphrotoxicité :

- l'amphotéricine B liposomale (AmBisome®) ;
- amphotéricine B en complexe lipidique (Abelcet®) ;
- amphotéricine B en dispersion colloïdale, non disponible en France (Amphocil® ou Amphotec®) [3].

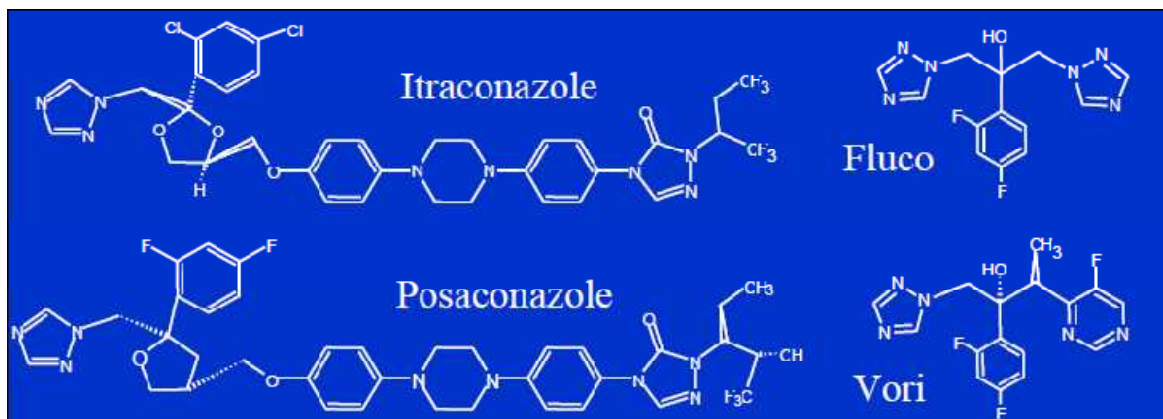
	<b>Présentation</b>	<b>Posologie</b>
<b>Amphotéricine B</b> <b>FUNGIZONE</b> <b>*injectable</b>	FL.50 mg (poudre) à diluer exclusivement dans un soluté de G5 ayant un ph sup 4.2	Perfusion IV en 2 à 6 heures et à dose très progressive : dose-test de 1 mg en 30 min. Puis 0.1 à 0.3 mg/kg/jour, puis par paliers jusqu'à 0.5 à 1 mg/kg/jour
<b>(Amphotéricine B</b> <b>liposomale) AMBISOME *</b> <b>Conserver de + 2° C à + 8°C.</b>	10 fl.100 mg/20 ml à diluer exclusivement dans un soluté de G5.	Perfusion IV en 30 à 60 minutes : dose-test de 1 mg en 15 minutes, 3mg/kg/jour.

• **Voies d'administration**

<b>Voie locale</b>	- pommades et comprimés gynécologiques - traitement : candidose de la peau, des ongles et des muqueuses en particulier candidose vaginale. - peut être utilisée pour le traitement de candidose rhino- pharyngienne et oculaire.
<b>Voie</b> <b>Injectable</b>	- traitement de candidoses rhino-pharyngienne et oculaire
<b>Voie orale</b>	- la nystatine n'est pas résorbée - traitement : candidoses digestives : muguet, langue noire, angine et gastrite à candida. (2à5mu/j)

## b. Azolés (triazolés et imidazolés)

Cette classe médicamenteuse fongistatique comprend le fluconazole, l'itraconazole, le voriconazole, et le posaconazole. Les triazolés dérivent de l'imidazole ou du triazole.



**Figure 28:** Structure chimique de l'itraconazole, du fluconazole, du posaconazole et du voriconazole

### • Mécanismes d'action :

Ils agissent sur la synthèse de l'ergostérol, composant indispensable de la membrane fongique, par inhibition de la 14 $\alpha$  déméthylase, lors de l'étape lanostérol  $\rightarrow$  14-déméthyl lanostérol. L'action fongistatique résulte de la baisse de concentration en ergostérol mais aussi de l'accumulation de composés précurseurs en amont de la chaîne de synthèse.

Ils altèrent ainsi la structure et la perméabilité de la membrane des champignons. Ce mécanisme s'étend à d'autres stéroïdes en particulier aux hormones, ce qui explique les effets indésirables, les interactions médicamenteuses et l'hépatotoxicité de ces produits.

➤ Imidazolés :

▪ **Spectre antifongique :**

<b>Espèces habituellement sensibles</b>	- <i>Candida, Cryptococcus, Pityrosporum.</i> - <i>Blastomyces, Histoplasma, Coccidioides.</i> - <i>Epidermophyton</i> ; agents des mycoses sous - <b>cutanées.</b>
<b>Espèces inconstamment sensibles</b>	- <i>Aspergillus ( fumigatus, flavus ) .</i> - <i>Trichophyton, Microsporum.</i>

▪ **Pharmacocinétique :**

Des formes à usage topique :

- Passage systémique peu probable mais non exclu en cas d'application sur des surfaces étendues, sur peau lésée et chez le nourrisson.
- Utilisation répétée sur le cuir chevelu n'entraîne pas de passage systémiques
- Résorption systémique négligeable.

Des formes à usage systémique :

L'absorption: La prise du ketoconazole au cours d'un repas augmente l'absorption du médicament du fait de la lipophilie de la molécule.

- La diffusion tissulaire est bonne, excepté pour les méninges et les urines.
- Temps de demi-vie : 8 heures
- FPP : 84%
- L'élimination est surtout biliaire sous forme de dérivés inactifs et 20 % du médicament sont retrouvés inchangés dans les selles. L'élimination urinaire est faible

▪ **Indications :**

Des formes à usage topique :

- Dermatophytes, Candidose cutané, Pityriasis versicolore, Dermite séborrhéique de l'adulte

Des formes à usage systémique :

- Mycoses systémiques ou viscérales à germes sensibles
  - Les infections cutanéomuqueuses très étendues qui résistent aux traitements locaux ou qui ne peuvent être traitées localement, en cas d'allergie à la griséofulvine.
  - Pour prévenir les mycoses en cas d'immunodépression congénitale ou acquise.
- **Contre indications :**
- Hypersensibilité connue aux produits (exceptionnelle)
  - Antécédent hépatique.
  - Ne pas appliquer la lotion sur la muqueuse buccale (pour la forme Topique)

- **Effets indésirables :**

Des formes à usage topique :

Eruption cutanée, irritation, sensation de brûlure au lieu d'application. Eczéma, dessèchement cutané.

Des formes à usage systémique :

Toxicité hépatique, Gynécomastie

- **Médicaments actuellement disponibles :**

DCI	Nom de spécialité et présentation	Posologie
<b><u>Usage topique</u></b>		
<b>Ketoconazole</b>	KETODERM* gel p. appl. Locale	1 appl./j.
	KETODERM 2 % Crème Tube de 15 g	<b>Candidose :</b> Lésion de la peau et des muqueuses (de 8 à 15j)
	KETOLIUM 1 % Shampooing Flacon de 100 ml	Onyxis et périonyxis( 2 mois au moins) <b>Dermatophyties :</b> Lésions de la peau (2 à 3 semaines.), Intertrigos des orteils (2 à 6 semaines.) , Onyxis (1à 18mois) <b>Pityriasis Versicolor</b> (2semaine)
<b><u>Usage systémique</u></b>		
<b>Ketoconazole</b>	<b>NIZORAL* Cps</b>	Dose usuelles : 200mg/j Pour les mycoses profonde grave : 400mg /j.

- **Autres imidazolés :**

Clotrimazole CANESTEN\*

➤ **Triazolés :**

▪ **Spectre antifongique**

Les espèces fongiques habituellement sensibles in vitro sont les levures (*Candida albicans* surtout, *Cryptococcus neoformans*), les dermatophytes et à fortes doses sur les moisissures in vitro.

Les espèces habituellement résistantes sont : *Candida krusei*, *Aspergillus sp.*

▪ **Pharmacocinétique**

- Après administration orale, le pic de concentration plasmatique obtenu en 1 à 2 heures.
- Sa biodisponibilité de 90 %.
- Il traverse la barrière méningée, avec des taux dans le LCR de 80 % par rapport au taux plasmatique (utilisation dans les cryptococcoses méningées et l'histoplasmosse, même chez les sujets atteints du syndrome de l'immunodéficience acquise).
- La liaison aux protéines est faible (environ 12 %).
- La demi-vie d'élimination est d'environ 30 heures.
- L'élimination est surtout rénale et 80 % de la dose administrée se retrouvent dans les urines sous forme inchangée, d'où un effet bénéfique dans les candidoses rénales.

▪ **Indications :**

- Candidoses vaginales et périnéales aiguës et récidivantes.
- Candidose oropharyngée de l'adulte, la dose journalière est de 50 mg/j pendant 7 à 14 jours, traitement à prolonger en cas d'immunodépression sévère.
- La méningite cryptococcique.
- Indiqué en prophylaxie pour réduire la fréquence des candidoses chez les receveurs d'une greffe de moelle osseuse qui sont soumis à une chimiothérapie cytotoxique ou à une radiothérapie.

▪ **Contre Indications :**

- Hypersensibilité au fluconazole et/ou aux autres azolés
- Grossesse et allaitement
- L'administration concomitante de cisapride est contre-indiquée chez les patients recevant du fluconazole.

- **Effets indésirables :**

Ils sont habituellement modérés :

- Manifestations gastro-intestinales (nausées, douleurs abdominales, diarrhées).
- Quelques cas d'hépatites induites ont été décrits

- **Médicaments actuellement disponibles :**

DCI	Nom de spécialité	Posologie
<b>Fluconazole</b>	DIFLUCAN* Gél. dosées à 50mg et 150 mg.	<b>Candidoses :</b> Vaginales : 150 mg/j Oropharyngées et buccales : 50mg/j pdt 7 à 14j
	TRIFLUCAN* Gél. dosées à 50 mg, 100 mg et à 200 mg	Urinaire : 100à 200 mg/j <b>Dermo-épidermomycoses :</b> 150mg 1fois/sem. Pdt 2à 4 sem.
	TRIFLUCAN* solution injectable pour perfusion	<b>Cryptococoses :</b> Trait d'attaque : 400mg/j pdt 6à8sem Trait. d'entretien : 200mg/j (à vie chez les VIH +)

- **Autres triazolés :**

Itraconazole SPORANOX\*

Voriconazole V FEND\*

Posaconazole NOXAFIL\*

- **Interactions médicamenteuses :**

Une des limitations majeures pour les azolés est leur propension à interagir avec d'autres thérapeutiques. Ils augmentent plus ou moins l'espace QT justifiant les recommandations avec les autres médicaments ou les situations induisant la même anomalie. Leur mode d'action sur

les cytochromes peut expliquer une augmentation de la concentration plasmatique d'autres médicaments qui sont métabolisés par le cytochrome CYP 2C9 et le cytochrome CYP 3A4 si ceux-ci sont associés aux dérivés azolés.

On peut distinguer trois types d'interactions:

- inhibition enzymatique compétitive ;
- induction enzymatique ;
- coexistence de l'inhibition et de l'induction.

#### Inhibition enzymatique compétitive

L'azolé peut diminuer le métabolisme de certains médicaments et ainsi augmenter : la demi-vie, le pic plasmatique et/ou l'aire sous la courbe (ASC). Exemple : azolé + antivitamine K (AVK) = augmentation de l'international ratio (INR) et du risque hémorragique. L'enzyme impliquée dans le métabolisme du voriconazole est le CYP 2C19 [10].

#### Induction enzymatique

Certains médicaments augmentent le métabolisme de l'antifongique jusqu'à rendre sa concentration plasmatique indétectable. Exemple : rifampicine + voriconazole = diminution de la concentration du voriconazole.

#### Coexistence de l'inhibition compétitive et de l'induction

Exemple : phénytoïne + itraconazole = diminution de la concentration de l'itraconazole et augmentation de la phénytoïnémie.

La conférence de consensus commune SFAR–SPILF–SRLF sur la prise en charge des aspergilloses et candidoses de l'adulte (2004) indique que le suivi des concentrations plasmatiques à l'équilibre est pertinent pour l'itraconazole et le voriconazole. L'enzyme impliquée dans le métabolisme du voriconazole est le CYP 2C19 [10]. Le posaconazole, à la différence des autres azolés, inhiberait essentiellement les enzymes du cytochrome CYP 3A4 d'où, des possibilités d'interactions avec des médicaments métabolisés par les isoenzymes du CYP 3A4.

**Tableau 24 :** Interactions médicamenteuses communes aux dérivés azolés (CI : contre-indication, ↑ : augmentation, ↓ : baisse, [c] : concentration)

Association	Conséquences	Mesures
+ <b>cisapride</b>	Risque torsade de pointes	CI
+ <b>pimozide</b>		
+ <b>halofantrine</b> Risque	torsade de pointes	Déconseillée
+ <b>dérivés de l'ergot de seigle</b> (ergotamine, <b>Gynergène®</b> ), <b>dihydroergotamine</b>	risque d'ergotisme	CI
( <b>Diergospray®</b> , <b>Ikaran®</b> , <b>Seglor®</b> , <b>Tamik®</b> )		
+ <b>ciclosporine, tacrolimus</b>		
<b>monitorage de la [c]</b>	↑ [c] immunosuppresseurs	PE
<b>de l'immunosuppresseur</b>		
<b>Itraconazole + tacrolimus :</b>	↑ [c] immunosuppresseurs et ↑ créatininémie	Déconseillée
<b>Phénytoïne :+ voriconazole</b>	↓ [c] vorico et itraconazole+	Déconseillée
<b>ou</b>	↑ [c] de phénytoïne	
+ <b>l'itraconazole le ou +</b>		
<b>posaconazole</b>		PE monitoring de la [c]de la
<b>Phénytoïne + fluconazole</b>	↑ [c] de phénytoïne	phénytoïne

**Tableau 25 :** Interactions médicamenteuses propres au fluconazole (CI : contre-indication, ↑ : augmentation, ↓ : baisse, [c] : concentration)

Interactions propres au fluconazole		
Association	Conséquences	Mesures
+ <b>théophylline</b>	(↑ [c] théophylline)	PE surveillance [c] théophylline
+ <b>triazolam</b>	↑ effet sédatif	
+ <b>losartan</b>	↓ efficacité losartan	PE adaptation posologie triazolam
+ <b>alfentanil</b>	↑ [c] analgésique	À prendre en compte adaptation posologie Alfentanile
+ <b>sulfamides hypoglycémiants</b>	(↑ effet hypoglycémiant)	PE surveillance glycémie et adaptation posologie sulfamide
<b>rifampicine</b>	↓ efficacité et [c] des deux anti-infectieux	PE surveillance [c] fluconazole
+ <b>anticoagulants oraux</b>	↑ effet anticoagulant	PE surveillance TP et l'INR
+ <b>nevirapine</b>	↑ [c] de la névirapine	Déconseillée
+ <b>carbamazépine</b>	↑ [c] carbamazépine	PE adaptation posologie carbamazépan

**Tableau 26 :** Interactions médicamenteuses propres au voriconazole (CI : contre-indication, ↑ : augmentation, ↓ : baisse, [c] : concentration)

Association	Conséquence	Mesure
+ <b>quinidine</b>	Torsades de pointe	CI
+ <b>sirolimus</b>	↑↑ [c] sirolimus	CI
+ <b>efavirenz</b> ou + <b>névirapine</b>	↓ efficacité voriconazole	Déconseillé CI
+ <b>Phénobarbital</b> ou + <b>primidone</b>	↓ [c] et efficacité de l'antifongique	
+ <b>rifabutine</b>	↓ [c] antifongique	PE adaptation posologie voriconazole
+ <b>rifampicine</b>	↓ [c] voriconazole	CI
+ <b>sulfamides hypoglycémiant</b>	(↑ effet hypoglycémiant)	PE surveillance glycémie et adaptation posologie sulfamide
+ <b>anticoagulants oraux</b>	↑ effet anticoagulant	PE surveillance TP et l'INR
+ <b>carbamazépine</b>	↑ [c] carbamazépine	CI

**Tableau 27 :** Interactions médicamenteuses propres à l'itraconazole (CI : contre-indication, ↑ : augmentation, ↓ : baisse, [c] : concentration)

<b>Interactions propres à l'Itraconazole</b>		
<b>Association</b>	<b>Conséquence</b>	<b>Mesure</b>
+ <b>digoxine</b>	↑ [c] digoxine	PE surveillance digoxinémie + ECG
+ <b>dihydropyridines</b>	Risque majoré effets indésirables	PE adaptation posologie dihydropyridine
+ <b>lercanidipine</b>	Risque majoré effets indésirables	Déconseillée
+ <b>vinca-alcaloïdes</b>	↑ neurotoxicité	Déconseillée
+ <b>buspirone</b>	↑ [c] buspirone	Déconseillée
+ <b>mizolastine</b>	Torsades de pointe	CI
+ <b>bépridil</b>	Torsade de pointe	CI
+ <b>ébastine : anti-H1</b>	Troubles du rythme ventriculaire	Déconseillée
+ <b>inhibiteurs phosphodiesterase de type 5 sildenafil</b>	↑ [c] avec risque d'hypotension	PE : début traitement à 25/mg/j
+ <b>varденаfil</b>	↑ [c] avec risque d'hypotension	Déconseillé, CI > 75 ans
+ <b>tolterodine</b>	Risque de surdosage	
+ <b>antisécrétoires antihistaminiques H2 et inhibiteurs de la pompe à proton (IPP):</b>	↓ absorption itraconazole	Déconseillée à prendre en compte
+ <b>rifampicine</b>	↓ efficacité et [c] des deux antiinfectieux	PE surveillance [c]
+ <b>anticoagulants</b>	↑ effet anticoagulant	itraconazole

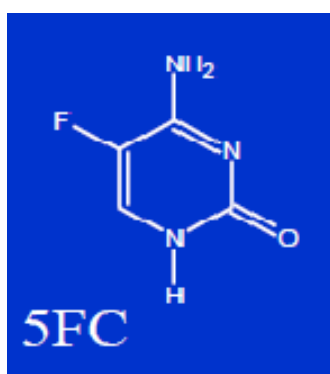
<b>oraux</b>	↓ [c] itraconazole	PE surveillance TP et l'INR
<b>+ nevirapine</b>	↓ [c] et efficacité de l'itraconazole	Déconseillé
<b>+ carbamazépine ou</b>		
<b>+ phénobarbital ou</b>		
<b>+ primidone</b>	↑ des [c] circulants avec risque de rhabdomyolyse	PE surveillance [c] itraconazole
<b>+inhibiteurs de l'HMG-CoA reductase [simvastatine (Lodales®), lovastatine, atorvastatine (Tahor®)]</b>	↓ [c] itraconazole Torsades de pointe	CI
<b>+ rifabutine</b>		
<b>+ quinidine</b>		
<b>+ triazolam</b>	↑ effet sédatif	
<b>+ buprénorphine</b>	↑ [c] buprénorphine	PE Déconseillé
<b>+ tacrolimus :</b>	↑ [c] immunosuppresseurs et ↑ créatininémie	CI PE adaptation de la posologie de la Buprénorphine Déconseillée

Interactions propre au Posaconazole		
Association	Conséquence	Mesure
+ rifabutine	risque uvéite	Déconseillé
+ inhibiteurs de l'HMG-CoA reductase [Simvastatine, lovastatine, atorvastatine]	↑ des [c] circulantes avec risque de rhabdomyolyse	CI

**Tableau 28** : Interactions médicamenteuses propres au posaconazole (CI : contre-indication, ↑ : augmentation, ↓ : baisse, [c] : concentration)

#### V.1.2.2 les antifongiques intracellulaires :

- a. **Flucytosine ou 5-fluorocytosine** : C'est le premier antifongique de synthèse



**Figure 29** : Structure chimique de la flucytosine

· **Spectre d'action :**

Possédant une activité fongistatique in vivo sur les levures (*Candida*, *Torulopsis*, *Cryptococcus*), les agents des chromomycoses et à un degré moindre sur les *Aspergillus*, mais utilisé essentiellement en association en raison des résistances primaires et acquises assez fréquentes, sauf dans les chromomycoses où il peut être utilisé seul.

L'effet fongistatique (plutôt que fongicide) résulte de l'inhibition des synthèses d'ARN, d'ADN puis des protéines.

· **Pharmacocinétiques :**

- Résorption digestive à 90%.
- Diffusion excellente y compris dans le LCR (taux comparables aux taux sériques), l'humeur aqueuse, les sécrétions bronchiques.
- Demi-vie de 6 à 8 heures
- FPP : 11%
- Élimination urinaire rapide sous forme active (90% en 48 heures)

· **Indications :**

- Mycoses systémiques sévères (candidoses, cryptococcoses, chromomycoses, aspergillose) en association avec l'amphotéricine B injectable
- Usage contre la prolifération des mutants résistants en association avec l'amphotéricine.

· **Contre Indications :**

- Hypersensibilité au produit
- Grossesse sauf indication vitale (tératogène chez le rat)

· **Effets indésirables :**

- Toxicité hématologique dose-dépendante: Leucopénie, thrombopénie, anémie, risque d'aplasie médullaire
- Troubles digestifs dose-dépendants (4%) nausées, diarrhée, plus rarement vomissements, voire entérocolite sévère.
- Élévation des transaminases (5%)

· **Interactions médicamenteuses :**

- Toxicité hématologique majorée par les médicaments leucopéniants.
- Association synergique avec l'amphotéricine B, additive avec le kétoconazole.

### V.1.3 Classes des antifongiques utilisés pour le traitement des candidémies et les référentiels

#### V.1.3.1 Les différents types de traitement

Différentes stratégies thérapeutiques peuvent être envisagées, en fonction de l'estimation du risque d'IFI et du degré de certitude diagnostique.

- **Traitement prophylactique** : traitement instauré en prévention, chez un patient sans signe clinique d'infection fongique, qui présente ou qui présentera des facteurs de risque de développer une candidose invasive.
- **Traitement préemptif** : traitement instauré chez un patient colonisé à levure, et présentant des facteurs de risque.
- **Traitement probabiliste (= empirique)** : traitement instauré chez un patient suspect de présenter une candidose invasive, avant toute confirmation microbiologique, histologique ou sérologique.
- **Traitement curatif** : traitement instauré chez un patient dont l'étiologie fongique est prouvée ou probable sur des arguments cliniques, radiologiques, histologiques et/ou microbiologiques.

Il est à noter que pour certains, le traitement préemptif doit être instauré chez les patients à risque et colonisés, mais présentant également un tableau septique. Cette prise en charge rapproche le traitement préemptif du traitement empirique.

#### V.1.3.2 Les référentiels

Face aux difficultés diagnostiques et à la grande disparité dans les pratiques thérapeutiques, des recommandations de prise en charge des infections fongiques invasives ont été émises par différentes sociétés savantes. En France, il existe les recommandations émanant de la

Société Française d'Anesthésie Réanimation (SFAR), de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) et de la Société de Réanimation de Langue Française (SRFL). Néanmoins ces recommandations datent du 13 mai 2004, sont complexes et pas toujours respectées en pratique. L'étude Amarcand (Analyse et Management en Anesthésie-Réanimation des candidoses invasives) publiée en 2008 a d'ailleurs montré moins de 50% de conformités entre la pratique et ces recommandations.

Au niveau européen, des recommandations pour la prise en charge des infections fongiques chez les patients atteints de leucémie ou ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques, ainsi que chez les patients non leucémiques, ont été émises par l'ECIL en 2009.

Aux Etats-Unis, il existe également des recommandations datant de 2009 de l'Infectious Diseases Society of America (IDSA). Ces recommandations semblent actuellement mieux convenir aux différentes situations cliniques et intègrent les nouveaux antifongiques. Elles prennent en compte la gravité du patient ainsi que la neutropénie sous-jacente, et préconisent fortement le principe de désescalade vers le fluconazole. Les molécules privilégiées seront les échinocandines et le fluconazole plutôt que l'amphotéricine B et le voriconazole.

## **V.2 Moyens d'étude de sensibilité *in vitro* aux antifongiques**

### **Antifongigramme :**

L'antifongigramme permet de déterminer la sensibilité d'une souche de mycète à plusieurs antifongiques par mesure *in vitro* des CMI de chaque molécule vis-à-vis de la souche. Son intérêt réside, comme pour l'antibiogramme, dans le fait de pouvoir prédire, avec une bonne probabilité, un succès ou un échec thérapeutique.

Trois problèmes limitent les recours à l'antifongigramme :

- Des techniques standards ne sont définies par le CLSI et l'EUCAST que pour un nombre limité d'espèces : les levures et les champignons filamenteux produisant des conidies. Il a été établi que les CMI pour des fragments d'hyphes sont supérieures à celles obtenues avec un inoculum constitué de conidies. Ces techniques ne s'appliquent pas aux dermatophytes. Les arthrospores de *Trichophyton rubrum* induites expérimentalement *in vitro* sont plus résistantes aux antifongiques que les hyphes.

- Les critères de catégorisation clinique définis par le CLSI ou l'EUCAST ne concernent que quelques couples antibiotique – espèce de mycète et la valeur prédictive de l'antifongogramme est faible dans les autres cas.
- Enfin, la technique de microdilution ne peut être utilisée en routine car elle est lourde à mettre en œuvre. Des techniques alternatives sont utilisées par les laboratoires de mycologie.

L'automate VITEK 2 (bioMérieux) permet l'identification des levures et la détermination de leur sensibilité à l'amphotéricine B, au fluconazole, au voriconazole et à la flucytosine (carte AST-YS01). Pour chaque souche, l'inhibition de la croissance en présence de différentes concentrations d'antibiotiques est mesurée et rapportée à la CMI par des algorithmes protégés par la propriété industrielle. La réponse est obtenue, en moyenne, en 15,5 heures pour *Candida* sp mais en 34 heures pour *Cryptococcus neoformans*. Le pourcentage d'erreurs très majeures par rapport à la technique de référence de l'EUCAST (souches résistantes rendues sensibles) est de 2,6 % ; ces erreurs concernent le fluconazole et des souches de croissance lente.

Trek Diagnostic Systems (East Grinstead, Royaume-Uni) commercialise des microplaques (Sensititre Yeast One Y010), contenant, sous forme lyophilisée, différentes concentrations d'amphotéricine B, de fluconazole, de voriconazole, d'itraconazole, de posaconazole, de flucytosine, de micafungine, de caspofungine et d'anidulafungine permettant la mesure des CMI pour des levures non exigeantes et à croissance rapide. Après ensemencement et incubation, la croissance est repérée par le changement de couleur d'un indicateur d'oxydoréduction, l'alar blue, ou par une émission de fluorescence. La technique est semi automatisable comme pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, des techniques de diffusion ont été développées. Le CLSI a publié deux standards pour les levures (M 44-A2, 2009) et pour les champignons filamenteux non dermatophytes (M 51-A, 2010). Le milieu pour les levures est une gélose de Mueller-Hinton supplémentée par 2 % de glucose. La gélose est ensemencée par écouvillonnage d'une suspension d'opacité équivalente à 0,5 dans la gamme de MacFarland.

L'incubation est de 18 à 24 h (48 h pour *Cryptococcus*) à 35°-37°C. Des disques de fluconazole, de voriconazole, d'itraconazole, d'amphotéricine B et de caspofungine sont commercialisés par

plusieurs industriels. L'adjonction de bleu de méthylène (0,5 mg/L) aumilieu peut aider à la lecture des diamètres des zones d'inhibition.

Le tableau ci dessous fournit des critères d'interprétation.

**Tableau 29:** Diamètres critiques (mm) pour la catégorisation clinique

	<b>Candida*</b>			<b>Filamenteux **</b>		
	S	S-DD	R	S	S-DD	R
<b>Fluconazole</b>	≥19	15-18	≤14			
	([c] sanguines > 400 mg/dose)					
<b>Voriconazole</b>	≥17	14-16	≤13	≥17	14-16	≤13
	([c] plasmatiques > 0,5 mg/L)					
<b>Itraconazole</b>				≥17	14-16	≤13
<b>Posaconazole</b>						
<b>Caspofungine</b>				≥17	14-16	≤13
<b>Amphotericine B</b>				≥15	13-14	≤13

S = Sensible ;

R = Résistant ;

S-DD = Sensibilité Dose Dépendante

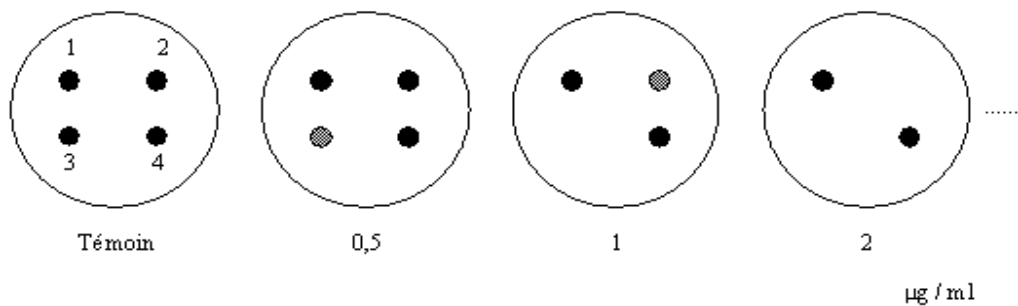
\* pour le fluconazole, données essentiellement pour les candidoses des muqueuses, pour l'itraconazole, données uniquement pour les candidoses

### V.2.1 Méthodes par dilution :

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum standardisé au contact de concentrations croissantes d'antifongiques selon une progression géométrique de raison 2.

### V.2.1.1 En milieu solide :

La méthode la plus utilisée est la méthode de Steers. Pour un antifongique donné, une gamme de concentration est réalisée puis incorporée à un milieu solide en surfusion, et coulée en boîte de Pétri. Une boîte de Pétri permet de tester jusqu'à 30 souches différentes. L'ensemencement des souches à tester est fait à l'aide de l'appareil de Steers, qui est un multi-ensemencement permettant de repiquer en une fois 36 souches sur le même milieu. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antifongique.



**Figure 30 :** Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé

Dans l'exemple présenté ci-dessus (figure10), le nombre de souches est limité à quatre.

- La CMI de la souche 3 vis-à-vis de l'antifongique incorporé à la gélose est de  $1\mu\text{g/mL}$ .
- La CMI de la souche 2 est de  $2\mu\text{g/mL}$ .
- Les déterminations des CMI des souches 1 et 4 nécessiteraient de tester des concentrations plus fortes en antifongique.

Le milieu casitone a permis d'améliorer la lecture pour les azolés. Il existe une bonne corrélation avec les micro-méthodes en milieu liquide.

### V.2.1.2 En milieu semi-solide :

Il en existe plusieurs. Des galeries possédant en général plusieurs puits avec deux concentrations différentes d'un antifongique sont utilisées.

- **ATB-Fungus®** : (Bio-Mérieux) C'est un test commercialisé qui permet de déterminer la sensibilité des *Candida* et de *Cryptococcus neoformans* aux antifongiques dans des conditions très proches de la technique de référence de micro-dilution.

La galerie ATB-Fungus comporte 16 paires de cupules. La première paire, sans antifongique, sert de témoin de croissance. Les 15 suivantes contiennent cinq ou six antifongiques (selon le modèle) à plusieurs concentrations permettant de déterminer des CMI et/ou des catégories cliniques. Pour déterminer cette CMI, on va rechercher et quantifier dans chaque cupule une croissance par lecture visuelle.

Il existe la galerie ATB-Fungus3® et le modèle précédent ATB-Fungus2®. La différence entre les deux réside en la présence d'un cinquième agent antifongique dans la galerie ATB-fungus3® qui est le voriconazole.



**Figure 31** : Galerie ATB Fungus2®, bioMérieux SA Marchand S., (2004-2005)

**Antifongiques** : Les antifongiques utilisés dans ce test sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 30** : Antifongiques des deux modèles de la galerie ATB-Fungus.

Agent antifongique	ATB-Fungus2®	Nbr de cupules	ATB-Fungus3®	Nbre de cupules
5flucocytosine	0.5 - 64 µg/ml	8	4 - 16mg/L	2
Amphotéricine B	0.5 - 16 µg/ml	6	0.5 - 16mg/L	6
Fluconazole	0.25 - 128 µg/ml	10	1 - 128mg/L	8
Itraconazole	0.125 - 4 µg/ml	6	0.125 - 4mg/L	6
Voriconazole	-	-	0.06 - 8mg/L	8

**Mode opératoire :** A partir d'une culture fraîche de levures, on prépare une suspension de 2McFarland. 20 µl de cette suspension est ensuite transféré à un milieu de croissance spécifique (ATB-Fungus medium). Après homogénéisation, chaque puit de la galerie est inoculé avec 135 µl de l'inoculum homogénéisé ( $4 \times 10^3$  levures/cupule). Après 24h d'incubation à  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ , la croissance dans les puits est lue visuellement par deux techniciens indépendants.

**Lecture des résultats :** Pour faciliter la lecture, la galerie est placée sur un fond noir. Pour chaque antifongique, la lecture commence par la concentration la plus faible, ensuite un score de croissance est noté pour chacune des cupules comparativement aux cupules témoins. L'absence de croissance dans l'une ou l'autre, ou les 2 cupules témoins invalide la galerie.

Absence de réduction de croissance → score = 4

Légère réduction de croissance → score = 3

Réduction marquée de croissance → score = 2

Très faible croissance → score = 1

Absence de croissance → score = 0

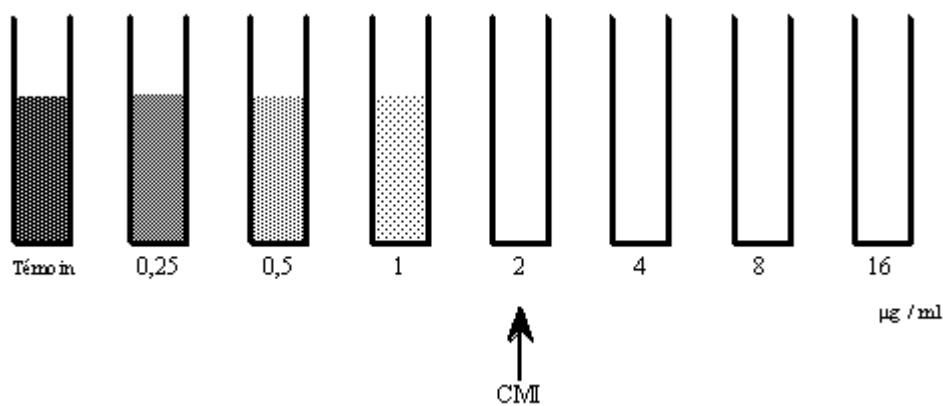
Pour ce qui est de l'amphotéricine B, la CMI correspond à la concentration d'antifongique la plus faible permettant d'obtenir un score de 0, donc une inhibition complète. Pour le fluconazole, la flucytosine, l'itraconazole et le voriconazole, du fait du phénomène de croissance résiduelle, la CMI correspond à la concentration d'antifongique la plus faible permettant d'obtenir un score de 2,1 ou 0.

**Avantages :** La méthode est rapide, reproductible et automatisable. Les CMI sont précises (plusieurs concentrations).

**Inconvénients :** Pour cette méthode, la lecture de la quantification de la croissance est relativement difficile au début et peut varier selon les personnes donc le résultat dépend de notre jugement. Ce résultat est parfois peu clair du fait d'une mauvaise préparation ou d'une incubation inadéquate. Le temps d'incubation est de 24 heures pour toutes les espèces, sauf pour *C.glabrata* (48 heures). Après 48 heures, les cupules de la galerie sont parfois sèches et ininterprétables.

### V.2.1.3 En milieu liquide :

En milieu liquide, l'inoculum est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antifongique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antifongique et où aucune croissance n'est visible. Dans la figure ci-dessous, la CMI de la souche testée est de 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (premier tube dans lequel aucune croissance n'est visible à l'œil nu).



**Figure 32 :** Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide

Dans la pratique courante, les méthodes de dilution sont de mise en œuvre délicate et/ou onéreuse et elles sont réservées à des laboratoires spécialisés.

**Méthodes de référence :** 2 techniques de références sont disponibles

**1- Standard américain : Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) :** L'absence de reproductibilité des concentrations minimales inhibitrices entre les laboratoires a imposé la nécessité d'obtenir des méthodes standardisées et reproductibles. Beaucoup d'effort ont été entrepris pour obtenir des méthodes rapides, fiables et de routine au sein des laboratoires. Les buts princeps étaient d'obtenir des résultats reproductibles et définir des souches contrôle, de constituer une référence pour l'évaluation des autres méthodes, d'évoluer vers des méthodes de pratique courante et construire pour le mycologue une trousse de routine.

Ainsi, en 1982, une première section chargée de la standardisation des tests de sensibilité des levures aux antifongiques a été créée aux Etats-Unis au sein du NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Suite aux études initiées, depuis 1982, par le Subcommittee on Antifungal Susceptibility Tests (sous comité sur les essais de sensibilité aux antifongiques), le NCCLS a publié en 1997 une méthode de référence officielle de macrodilution en bouillon (Approved Standard M27-A) et ses variantes de microdilution pour tester *in vitro* les activités des composés antifongiques contre *Candida sp.* et *C. neoformans*. La méthode M27-A est une macrométhode longue et laborieuse réalisée en tube avec une détermination visuelle des CMI.

Pour pallier à la lourdeur de la mise en œuvre de cette technique, le NCCLS a proposé une microméthode adaptée pour une utilisation en microplaques avec lecture spectrophotométrique des CMI. Elle est bien corrélée avec la macrométhode mais elle reste une technique lourde non utilisée en routine. Ainsi, la publication de la méthode M27-A a été suivie en 1998 du Proposed Standard M38-A, qui décrit des méthodes de macrodilution et de microdilution en bouillon pour des essais de sensibilité des champignons filamenteux (*Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizopus oryzae*....) [32].

**Tableau 31** : Paramètres de mise en œuvre des méthodes M27 et M38 de microdilution du CLSI.

	M27-A	M38-A
<b>Format</b>	Microdilution en milieu liquide, volume final : 1MI	Microdilution
	<i>Candida sp.</i> <i>Cryptococcus sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i> <i>Fusarium sp.</i> <i>Rhizopus sp.</i> <i>Sporothrix schenckii</i> <i>Pseudallescheria boydii</i>
<b>Milieu</b>	RPMI 1640 + 0.165M MOPS (pH=7.0)	RPMI 1640 + 0.165M MOPS (pH=7.0)
	0.5 – 2.5 x 10 <sup>3</sup> organismes/mL	0,4 – 5 x 10 <sup>4</sup> conidies/MI
<b>Température d'incubation</b>	35°C	35°C
	48h ( <i>Candida sp.</i> ) 72h ( <i>Cryptococcus neoformans</i> )	24h <i>Rhizopus</i> 48h <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>S.schenckii</i> 72h <i>P.boydii</i>
<b>Point final</b>	CMI - 0: amphotéricine B CMI - 2: azolés, 5fluorocytosine, caspofungine, anidumafungine, micafungine	CMI - 0 : amphotéricine B, itraconazole, voriconazole, posaconazole, ravcuconazole CMI - 2 et MEC : caspofungine, anidumafungine, micafungine

CMI (mg/L) = Concentration Minimale Inhibitrice : Plus petite concentration d'antifongique qui donne une réduction visible de la croissance de l'inoculum/témoin.

- CMI - 0 : inhibition complète de la croissance.
- CMI - 2 : inhibition de 50%/témoin.

CME (mg/L) = Concentration Minimale Efficace : Plus petite concentration d'antifongique pour laquelle on observe des hyphes courtes, trapues et compactes/témoin.

## 2- Standard européen : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

(EUCAST) : Un test de dilution en bouillon pour tester la sensibilité des levures normalisé par le Comité Européen sur les Essais de Sensibilité aux Antifongiques (EUCAST), Sous-Comité sur les Essais de Sensibilité aux Antifongiques (AFST), est également disponible et

initialement documentée en 1999. Le test est similaire à la méthode de dilution en bouillon du CLSI, sauf que le milieu RPMI 1640 est supplémenté de 2% de glucose, la densité d'inoculum est de  $1-5 \times 10^5$  cellule/mL, et les résultats sont lus à 24h au lieu de 48h pour le CLSI. Une évaluation multicentrique de la méthode de l'EUCAST a montré qu'elle donne des résultats reproductibles [44] et des études comparatives suggèrent une bonne corrélation (taux d'accord 92%) entre la méthode du CLSI et celle de l'EUCAST.

Des paramètres optimaux pour les tests de sensibilité d'*Aspergillus* spaux antifongiques ont également été proposés par EUCAST-AFST. Il s'agit notamment de l'utilisation de RPMI 1640 supplémenté à 2% de glucose comme le milieu d'essai, d'un inoculum d'une densité de  $1-2,5 \times 10^5$  conidies/mL, d'une température d'incubation de 35°C pendant 48h, et une lecture visuelle des CMI à CMI-0 [46]. Un taux d'accord global de 92,5% a été atteint entre la méthode d'EUCAST et la méthode du CLSI lors d'un essai qui a englobé le posaconazole et le voriconazole contre *Aspergillus*.

**Expression des résultats :** Les résultats des 2 méthodes de référence en milieu liquide s'expriment par :

**CMI** (mg/L) = Concentration Minimale Inhibitrice : Plus petite concentration d'antifongique qui donne une réduction visible de la croissance de l'inoculum/témoin.

**CME** (mg/L) = Concentration Minimale Efficace : Plus petite concentration d'antifongique pour laquelle on observe des hyphes courtes, trapues et compactes/témoin.

**CMF**(mg/L) = Concentration Minimale Fongicide : Plus petite concentration d'antifongique qui tue  $\geq 99,9\%$  de l'inoculum ou qui diminue de 3 log au moins la densité de l'inoculum/témoin.

**Valeurs seuils d'interprétation :** pour les 2 méthodes différentes d'une espèce à l'autre.

**a) Pour *Candida* sp:**

Les valeurs seuils d'interprétation pour *Candida* selon les méthodes de référence sont représentées dans le tableau suivant.

**Tableau 32 :** Proposition de valeurs seuils pour les différentes catégories de *Candida* vis-à-vis des antifongiques selon l'EUCAST et le CLSI

Antifongique	EUCAST			CLSI		
	Sensible	Intermédiaire	Résistant	Susceptible	SDD	Résistant
<b>Fluconazole</b>	≤2	4	>4	<8	16 – 32	≥4
<b>Voriconazole</b>	≤0,125	-	>0,125	<1	2	≥4
<b>Caspofungine</b>	NE	NE	NE	≤2*	NE	NE
<b>Micafungine</b>	NE	NE	NE	≤2*	NE	NE
<b>Anidulafungine</b>	NE	NE	NE	≤2*	NE	NE

\*Les isolats de *Candida* testés qui ont des CMI > 2 mg/L pour les échinocandines ont été définis comme non sensibles.

NE: Non établi, S-DD sensible dose dépendant.

Les données sont exprimées en mg/L.

**b) Aspergillus fumigatus :**

Il n'existe pas de valeurs seuils d'interprétation approuvées par le CLSI ou l'EUCAST pour tester la sensibilité des filamenteux aux azolés. Mais il existe des propositions de valeurs seuils pour les différentes catégories (S, I, R) d'*Aspergillus fumigatus* vis-à-vis des antifongiques azolés actifs (tableau).

**Tableau 33:** Proposition de valeurs seuils pour les différentes catégories (S, I, R) d'*Aspergillus fumigatus* vis-à-vis des antifongiques azolés actifs

Antifongique	Susceptible	Intermédiaire	Résistant
<b>Itraconazole</b>	<2	2	>2
<b>Voriconazole</b>	<2	2	>2
<b>Posaconazole</b>	<0,5	0,5	>2

**c) Cas particulier de l'amphotéricine B :**

Il n'existe pas de valeurs seuils d'interprétation approuvées par le CLSI ou l'EUCAST concernant l'amphotéricine B [50,51].

*Candida sp.* : CMI > 1mg/L → Résistant

*Aspergillus sp.* : CMI > 1mg/L → Résistant

**Méthodes colorimétriques (dérivées de la méthode du NCCLS) :** Nous avons vu précédemment que la détermination des CMI pour les méthodes de dilution demande une appréciation visuelle du degré de croissance par rapport à un témoin. Cette évaluation nécessite de l'expérience. Afin de faciliter l'expression des résultats, des indicateurs colorimétriques ou des colorants fluorescents peuvent être utilisés.

Plusieurs méthodes colorimétriques sont utilisées tels que Sensititre YeastOne. Des méthodes non commercialisées sont également utilisées (celles qui utilisent les sels de tétrazolium). Alamar blue ou d'autres indicateurs colorimétriques peuvent être ajoutés au RPMI. En utilisant Alamar blue, le bleu indique l'absence de croissance, le violet indique une inhibition partielle de la croissance, et le rouge indique la présence d'une croissance. Ces résultats peuvent également être évalués par spectrophotométrie. Dans l'autre cas, où c'est les sels de tétrazolium qui sont utilisés, le changement de couleur reflète l'activité métabolique et peut être évaluée par spectrophotométrie en mesurant la densité optique. Le sel de tétrazolium jaune vire au violet quand il est réduit en formazan.

Parmi ces méthodes colorimétriques commercialisées on citera:

**a. Sensititre Yeast One®:** (Trek Diagnostic Systems)

Le système de sensibilité Sensititre est un produit de diagnostic *in vitro* destiné à tester la sensibilité des levures non-exigeantes dont *Candida sp.*, *Cryptococcus sp.*, et les champignons dont *Aspergillus sp.* Ainsi que diverses autres espèces de levures à croissance rapide.

**Principe :** Le test de sensibilité des levures Sensititre est un test de microdilution colorimétrique en milieu liquide. Il fournit des résultats qualitatifs et quantitatifs de CMI sous forme d'une plaque sèche. Chaque plaque est dosée avec des antifongiques à des dilutions appropriées, et avec un indicateur colorimétrique (Alamar Blue). Les résultats sont lus visuellement par l'observation de la concentration d'antifongique la plus basse indiquant l'inhibition de la croissance mise en évidence par l'absence de changement de couleur.

**Antifongiques :** Les antifongiques disponibles pour ce test sont représentés dans le tableau suivant avec la fourchette de dilutions de chaque un

**Tableau 34** : Antifongiques à tester par le Sensititre Yeast One

Pos.	Antifongique	Abréviation	Fourchette de dilutions ( $\mu\text{g/ml}$ )
A1	Positive Croissance	+CONT	
A2-A12	Posaconazole	PZ	0,008 - 8
B1-12	Amphotéricine B	AB	0,008 - 16
C1-12	Fluconazole	FZ	0,125 - 256
D1-12	Itraconazole	IZ	0,008 - 16
E1-12	Kétoconazole	KZ	0,008 - 16
F1-12	5 - Flucytosine	FC	0,03 - 64
G1-12	Voriconazole	VOR	0,008 - 16
H1-12	Caspofungine	CAS	0,008 - 16

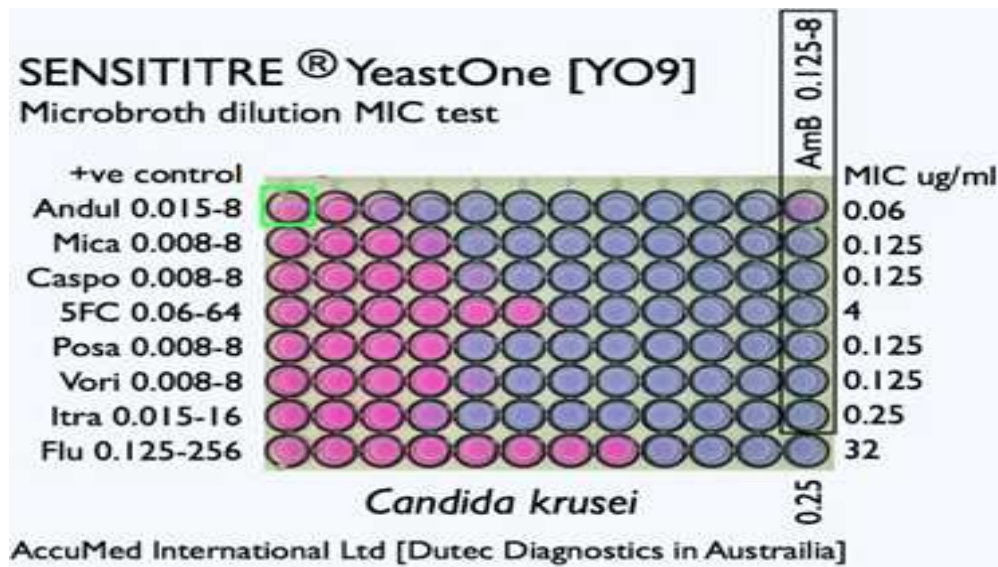
**Mode opératoire:** Plusieurs colonies de levures bien isolées, de plus de 1mm de diamètre, sont prélevées d'une culture pure de 24 heures et émulsifiées dans l'eau stérile. La densité est ensuite ajustée à 0,5 McFarland. 20 mL de la suspension est transféré dans 11 ml de milieu liquide d'inoculum YeastOne pour obtenir un inoculum d'une densité de 0,6 à 5 x 10<sup>6</sup> cellules souches/mL.

La plaque est ensuite inoculée par 100 $\mu\text{l}$  en suivant l'une ou l'autre de ces méthodes:

- **AutoInoculator Sensititre :** Remplacer le capuchon du tube par une tête de dosage Sensititre à usage unique, et inoculer la plaque selon le mode d'emploi de l'AutoInoculator.
- **Pipette manuelle :** Verser le milieu liquide dans une cuve d'ensemencement stérile et inoculer la plaque à l'aide d'une pipette appropriée.

Les plaques sont étuvées pendant 24 à 25 heures à 35°C dans une étuve à cultures sans CO<sub>2</sub>. *Cryptococcus sp.* est incubé pendant 72 heures et *Aspergillus sp.* pendant 48 à 72h.

**Lecture des résultats :** Les plaques peuvent être lues visuellement sous l'éclairage normal du laboratoire à l'aide d'un miroir de lecture présentant le dessous des cupules. La croissance des levures dans les solutions d'antifongiques sera mise en évidence par le virage de l'indicateur colorimétrique de croissance du bleu (négatif) au rouge (positif).



**Figure 33 :** Lecture des résultats du Sensititre YeastOne® (virage de la couleur de l'indicateur)

Les différents cas qu'on peut rencontrer sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 35 :** Illustration et interprétation des résultats des tests que l'on peut rencontrer

	Concentration de la cupule µg/ml						<b>R = ROUGE : Indication positive de croissance</b> <b>B = BLEU : Indication négative de croissance</b>
	1	2	4	8	16	32	
<b>A.</b>	R	R	R	B	B	B	Modèle de croissance typique ; le point de virage de la CMI est à 8 µg/ml.
<b>B.</b>	R	R	R	R	R	R	Croissance dans toutes les cupules ; le point de virage de de la CMI est >32 µg/ml.
<b>C.</b>	B	B	B	B	B	B	Aucune croissance dans aucune cupule ; le point de virage de la CMI est ≤1 µg/ml.
<b>D.</b>	R	R	R	B	R	R	"Cupule sautée". Le point de virage de la CMI est >32 µg/ml. Ne pas tenir compte du "saut" si les cupules ont une croissance des deux côtés. Si plusieurs "sauts" devaient se produire dans une colonne, les résultats du test seraient invalidés <sup>1</sup>
<b>E.</b>	R	R	B	B	R	R	Double "cupule sautée". Le test devra être répété <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Avec une technique soignée, ces événements sont rares.

**Avantages :** Selon les évaluations publiées, ce test présente une concordance de plus de 85% avec les résultats obtenus avec la méthode M27-A. La présence d'un indicateur

d'oxydoréduction rend la lecture des CMI beaucoup plus aisée.

**Inconvénients :** Le système Sensititre Yeast One Colorimetric Antifungal Panel (procédé BlueAlamar®) est disponible commercialement, mais il n'est pas encore approuvé par la FDA aux USA ni enregistré en France par l'AFSSAPS. Des améliorations sont encore nécessaires concernant la détection des résistances à l'amphotéricine B et la croissance des isolats à développement lent (*Cryptococcus neoformans*).

#### **b. Fungitest®:**

**Principe :** Cette technique permet d'étudier la croissance des levures in vitro en milieu liquide en présence de six antifongiques testés à deux concentrations différentes. Elle dérive de la dernière recommandation du NCCLS. Le milieu de culture utilisé est RPMI glucosé à 2% et tamponné. Il est additionné d'un indicateur d'oxydoréduction qui traduit la croissance des levures par virage de sa couleur du bleu au rose.

La microplaque contient 16 puits :

Deux puits réservés aux témoins négatifs.

Deux puits réservés aux témoins positifs.

Douze puits contenant les six antifongiques cités avec deux concentrations différentes sous forme déshydratées.

**Antifongiques:** Les antifongiques utilisés sont :

Amphotéricine B 2 et 8 µg/ml, Fluconazole 8 et 64 µg/ml, Itraconazole 0.5 et 4 µg/ml, Kétoconazole 0.5 et 4 µg/ml, Miconazole 0.5 et 8 µg/ml, 5-Fluorocytosine 2 et 32 µg/ml

**Mode opératoire :** Le mode opératoire du Fungitest est représenté dans la figure suivante :

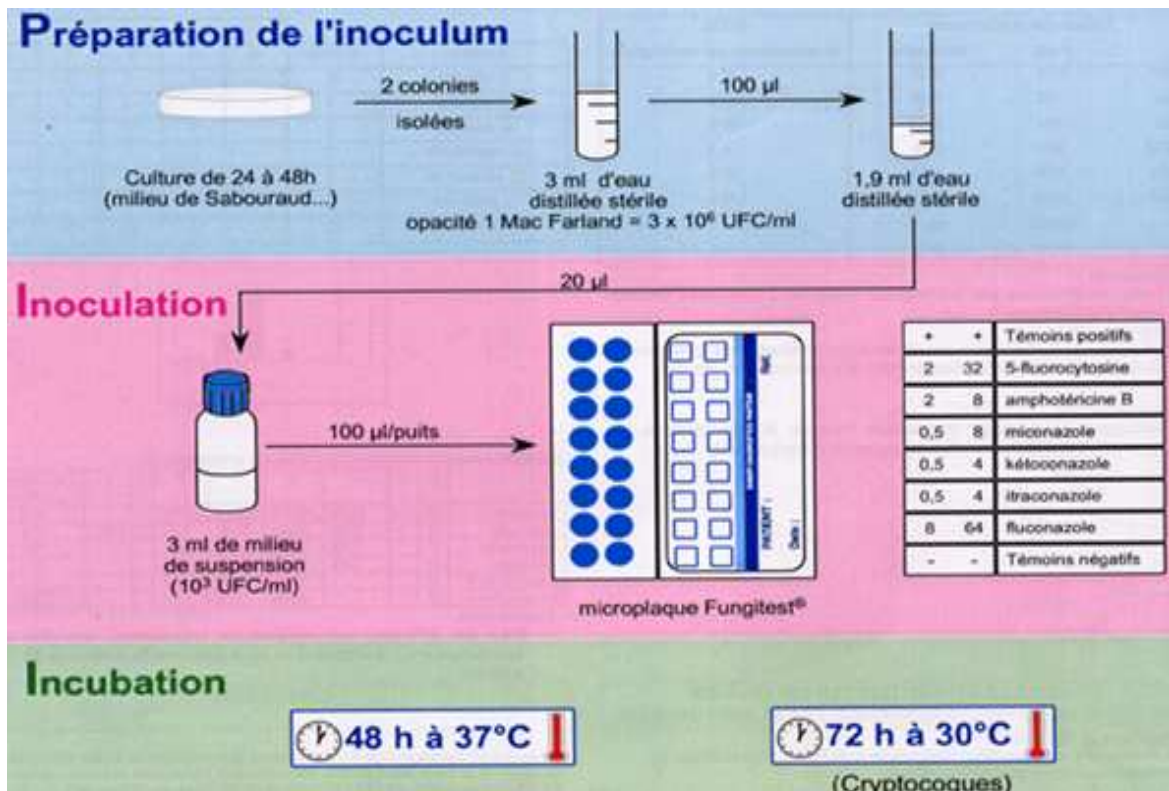


Figure 34 : Mode opératoire du Fungitest

#### Lecture des résultats :

L'interprétation se fait en fonction de la couleur des deux cupules pour chaque antifongique.

Bleu-Bleu : absence de croissance → souche inhibée par l'antifongique.

Rose-Rose : croissance → souche non inhibée par l'antifongique.

Rose-Bleu : faible croissance → souche intermédiaire [58].

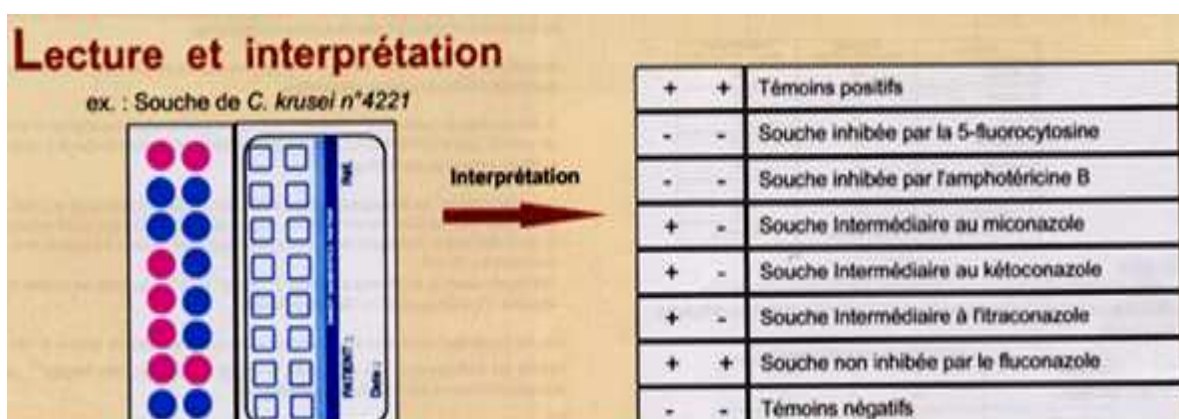
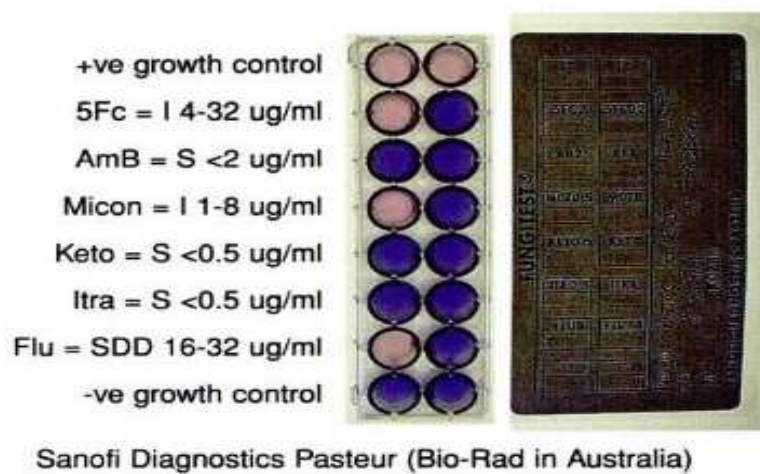


Figure 35 : Lecture et interprétation des résultats du Fungitest

**FUNGITEST®**  
Microbroth dilution breakpoint test: *Candida krusei*



**Figure 36:** Lecture des résultats du Fungitest® en fonction de la couleur des cupules

**Avantage:**

Cette technique présente une bonne condition de standardisation et a une bonne corrélation par rapport à la méthode de référence du NCCLS pour les souches trouvées sensibles.

**Inconvénients :**

Le Fungitest a une faible capacité de détecter les souches résistantes. Par rapport à la méthode de référence du NCCLS, une proportion importante de *C.glabrata* trouvée intermédiaire ou résistante par cette technique se retrouve sensible par le Fungitest. Aussi, les valeurs des CMI sont différentes de celles du NCCLS. L'autre limite de cette technique est qu'elle ne peut doser que deux valeurs d'antifongiques.

**V.2.2 Méthode par diffusion :**

**Méthode de diffusion des disques du CLSI :** Après le succès du développement de méthodes standardisées de dilution en bouillon pour tester la sensibilité aux antifongiques des champignons, l'étape suivante pour le CLSI était de simplifier cette approche et la rendre plus attrayante pour les essais de petits volumes. La diffusion en disque est depuis longtemps une technique populaire et simple pour tester la sensibilité et cette méthodologie a été adaptée par le CLSI aux antifongiques. Ainsi, sur la base d'études du fluconazole et du voriconazole contre *C.albicans*, une méthode normalisée de la susceptibilité des levures, particulièrement

*Candida*, aux antifongiques (fluconazole et voriconazole) par la diffusion des disques (M44-A) est disponible. Elle est utilisée pour les études de surveillance antifongique.

Cette méthode utilise les règles de base, à savoir, un milieu agar de Mueller-Hinton complété par du glucose à 2% et 0,5 µg/mL de bleu de méthylène (pH 7,2-7,4 à température ambiante après gélification). Bien que l'ajout du glucose fournisse une croissance favorable, l'addition du bleu de méthylène améliore la définition des contours de la zone d'inhibition. La densité de l'inoculum doit être ajustée par une solution saline à 0,5 McFarland visuellement ou par spectrophotométrie à 530 nm, pour avoir une concentration finale de  $1-5 \times 10^6$  cellules/ml. Les résultats se lisent à 80% de la croissance après incubation des plaques pendant 24h à 35°C. La période d'incubation peut être prolongée à 48h pour les isolats qui ne se développent pas suffisamment à 24h. Pour l'interprétation des résultats, elle se fait en fonction des diamètres d'inhibition.

**Tableau 36:** Critères d'interprétation de la méthode de diffusion pour le fluconazole et le voriconazole contre *Candida*

Disque	Diamètre de la zone d'inhibition en mm		
	R	SDD	S
<b>Voriconazole</b>	≤13	14 – 16	≥17
<b>Fluconazole</b>	≤14	15 – 18	≥19

Les résultats quantitatifs (CMI en mg/L) sont le plus souvent interprétés par les laboratoires en termes de possibilité thérapeutique. La confrontation des diamètres d'inhibition aux CMI permet donc aux laboratoires de donner les résultats sous la forme de souche sensible, sensible dose dépendante ou résistante à un antifongique.

**Une souche sensible** est une souche pour laquelle la probabilité de succès thérapeutique est forte.

**Une souche de sensibilité intermédiaire** est une souche pour laquelle le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus in vitro ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique. En effet, ces souches : Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression in vitro est faible, avec pour conséquence leur classement dans la catégorie sensible. Cependant, in vivo, une partie de ces souches apparaît résistante au traitement ;

Peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour

justifier un classement dans la catégorie résistante, mais suffisamment faible pour espérer un effet thérapeutique dans certaines conditions (fortes concentrations locales ou posologies accrues).

La catégorie intermédiaire est aussi une zone tampon qui tient compte des incertitudes techniques et biologiques.

**Une souche résistante** est une souche pour laquelle il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.

Même si elle n'est pas encore normalisée et/ou documentée, la méthode de diffusion est sous enquête pour d'autres drogues: tels que le posaconazole vs *Candida* [65,66]; caspofungine vs *Candida*; amphotéricine B, la flucytosine, et azolés; caspofungine et micafungine vs *Aspergillus* et *Fusarium*; posaconazole vs *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Scedosporium* et *Fusarium*; posaconazole, voriconazole, itraconazole, l'amphotéricine B, et la caspofungine vs *Absidia*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, et *Scedosporium*; itraconazole, terbinafine, voriconazole, et ravuconazole vs *Microsporum* et *Trichophyton*, et terbinafine et naftifine vs *Microsporum*, *Epidermophyton*, et *Trichophyton*. Les résultats de ces études, en général, suggèrent un degré acceptable de corrélation entre la diffusion des disques et les dosages de la méthode de dilution de référence du CLSI.

Cependant, la méthode de référence de diffusion des disques peut parfois donner des résultats qui diffèrent de ceux obtenus par la méthode de dilution en bouillon. Certains isolats qui sont sensibles au fluconazole peuvent être classés comme résistants par le test de diffusion des disques. De plus, ce test peut ne pas différencier les isolats résistants au fluconazole de ceux sensibles dose dépendant. Plus important encore, certains isolats résistants au fluconazole peuvent être classés comme sensibles par un test de diffusion des disques. La méthode de référence de dilution en bouillon reste le gold standard pour la catégorisation correcte de la sensibilité, en particulier lorsque l'étude de résistance aux antifongiques est effectuée à des fins de routine et pour guider le traitement antifongique.

**Méthode de diffusion des comprimés Néo-sensitabs<sup>TM</sup>**: Il s'agit d'un test de diffusion qui utilise des comprimés d'antifongiques commercialisés au lieu des disques. Cette méthode a été étudiée en comparaison avec le test de référence de diffusion du CLSI.

Jusqu'ici, elle a donné des taux acceptables d'accord avec la méthode de diffusion des disques de référence et les méthodes de dilution en bouillon, dans des essais sur le fluconazole, le voriconazole, l'itraconazole, et la caspofungine contre *Candida* ou *C.neoformans*.

Le choix du milieu à utiliser et l'interprétation des points finaux sont les difficultés rencontrées pour cette technique. La plupart des utilisateurs ont amélioré les performances de cette technique par modification de l'agar RPMI qui est complété avec 0,2% de glucose et l'adoption des directives de base du CLSI pour rendre ce test plus standardisé.

Des études récentes ont utilisé l'agar Mueller Hinton additionné de 2% de glucose et de 0,5µg/mL de bleu de méthylène comme milieu et un lecteur de plaques Biomic qui permet une lecture électronique et une interprétation des 16 zones d'inhibition [79].

**Antifongiques :** La liste des agents antifongiques disponibles depuis le 1er janvier 2009 pour la technique de Neo-Sensitabs est représentée dans le tableau ci-dessous [80]:

**Tableau 37 : Antifongiques à tester par le Néo-Sensitabs**

Ref N°	Produit	Code	Puissance (µg)
81012N	Amphotericin B	AMPHO	10
82412N	Caspofungin <i>For research use only</i>	CASP5	5
81112N	Ciclopirox	CICLO	50
81212N	Clotrimazole	CTRIM	10
81312N	Econazole	ECONZ	10
82512N	Fluconazole	FLUCZ	25
81512N	Fluorocytosine 1 µg	FLU.1	1
81612N	Fluorocytosine 10 µg	FLU10	10
81812N	Itraconazole	ITRAC	8
81912N	Ketoconazole	KETOC	15
82012N	Miconazole	MICOZ	10
82212N	Nystatin	NYSTA	50
82612N	Posaconazole	POSAC	5
87412N	Terbinafine	TERBI	30
82312N	Voriconazole	VOR.1	1

**Mode opératoire:**

A partir d'une culture fraîche de 24h, quelques colonies sont prélevées pour préparer une suspension de levures. La densité de l'inoculum préparé doit être de 0,5 McFarland. Avec un écouvillon stérile, la boîte contenant le milieu agar de Mueller-Hinton complété par du glucose à 2% et 0,5µg/ml de bleu de méthylène doit êtreensemencée sur toute la surface. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24-48 heures pour *Candida*. Pour *Cryptococcus* l'incubation se fait à 30°C pendant 42-48 heures. Une durée d'incubation plus longue peut entraîner une fausse résistance contre les imidazolés. Les boîtes doivent toujours être examinées après une incubation d'une nuit et si les zones d'inhibition sont visibles, elles doivent être mesurées. Si la croissance n'est pas encore visible, les plaques peuvent être remises en incubation pendant 24 heures de plus.

**Lecture des résultats:**

Pour les polyènes (amphotéricine B, nystatine) la zone claire sans croissance visible est mesurée. Les colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition doivent être considérées comme des mutants résistants.

Pour les azolés, caspofungine et terbinafine (*Candida*), les zones doivent être mesurées à la hauteur de colonies détaille normale. Il ya souvent une zone de croissance des colonies partiellement inhibées (plus petites) à la limite de la zone réelle. Ils ne doivent être considérés comme des mutants résistants.

Pour la fluorocytosine, elle ne peut pas être testée avec le milieu Muller Hinton (glucose+bleu de méthylène) en raison de la présence d'antagonistes dans le milieu. Les milieux utilisés doivent être sans antagonistes tel que le milieu gélosé Shadomy. Sur ce milieu, généralement les grandes colonies individuelles dans la zone sont considérées comme des mutants résistants.

**Interprétation des résultats]:**

*\* Selon les valeurs seuils du CLSI :* Lors de l'utilisation de la procédure recommandée par le CLSI pour le test de diffusion (géluse MH + 2% de glucose + 0,5 µg/mL bleu de méthylène et inoculum de 0,5 McF) [60,62, 63, 81-86]. L'interprétation sera comme suit:

MH Glucose Methylene Blue Agar Inoculum McFarland 0.5 undiluted MIC breakpoints according to CLSI (M44-A)							
NEO-SENSITABS	POTENCY	CODE	Zone diameter in mm			Break-points MIC µg/ml	
			S	I	R	S	R
Amphotericin B	10 µg	AMPHO	≥ 15	14-10	< 10	≤ 1	≥ 2
Caspofungin	5 µg	CASP5	≥ 15	14-12	≤ 11	≤ 2	> 2
Fluconazole *	25 µg	FLUCZ	≥ 19	18-15 (DD)	≤ 14	≤ 8	≥ 64
Itraconazole (50)	8 µg	ITRAC	≥ 23	22-14 (DD)	≤ 13	≤ 0.12	≥ 1
Ketoconazole	15 µg	KETOC	≥ 28	27-21	≤ 20	≤ 0.12	≥ 0.5
Posaconazole (52)	5 µg	POSAC	≥ 17	16-14	≤ 13	≤ 1	≥ 4
Voriconazole	1 µg	VOR.1	≥ 17	16-14	≤ 13	≤ 1	≥ 4

\* *C. krusei* should always be reported as resistant to fluconazole (no matter the zone size).

Selon les valeurs seuils de l'EUCAST :EUCAST travaille sur l'harmonisation des valeurs seuils, cependant, il n'existe aucun accord avec les valeurs seuils du CLSI. Dans les études comparant les méthodes, les erreurs d'interprétation des catégories peuvent être dues aux différences dans les valeurs seuils des CMI (87,88).

MH Glucose Methylene Blue Agar Inoculum McFarland 0.5 undiluted MIC breakpoints according to EUCAST (tentative)							
NEO-SENSITABS	POTENCY	CODE	Zone diameter in mm			Break-points MIC µg/ml	
			S	I	R	S	R
Amphotericin B	10 µg	AMPHO	≥ 18	17-13	≤ 12	≤ 0.25	≥ 2
Fluconazole *	25 µg	FLUCZ	≥ 28	27-23	≤ 22	≤ 2	> 4
Itraconazole (50)	8 µg	ITRAC	≥ 23	22-14	≤ 13	≤ 0.12	≥ 1
Ketoconazole	15 µg	KETOC	≥ 30	29-23	≤ 22	≤ 0.12	≥ 1
Posaconazole (52)	5 µg	POSAC	≥ 22	21-16	≤ 15	≤ 0.25	≥ 2
Voriconazole	1 µg	VOR.1	≥ 22	21-16	≤ 15	≤ 0.25	≥ 2

All MIC breakpoints from EUCAST are tentative

\* *C. krusei* should always be reported as resistant to fluconazole.

**Avantages:**

Le Néo-Sensitabs est une méthode facile à mettre en place et a un potentiel pour le dépistage d'un grand nombre de souches résistantes.

**Inconvénients :**

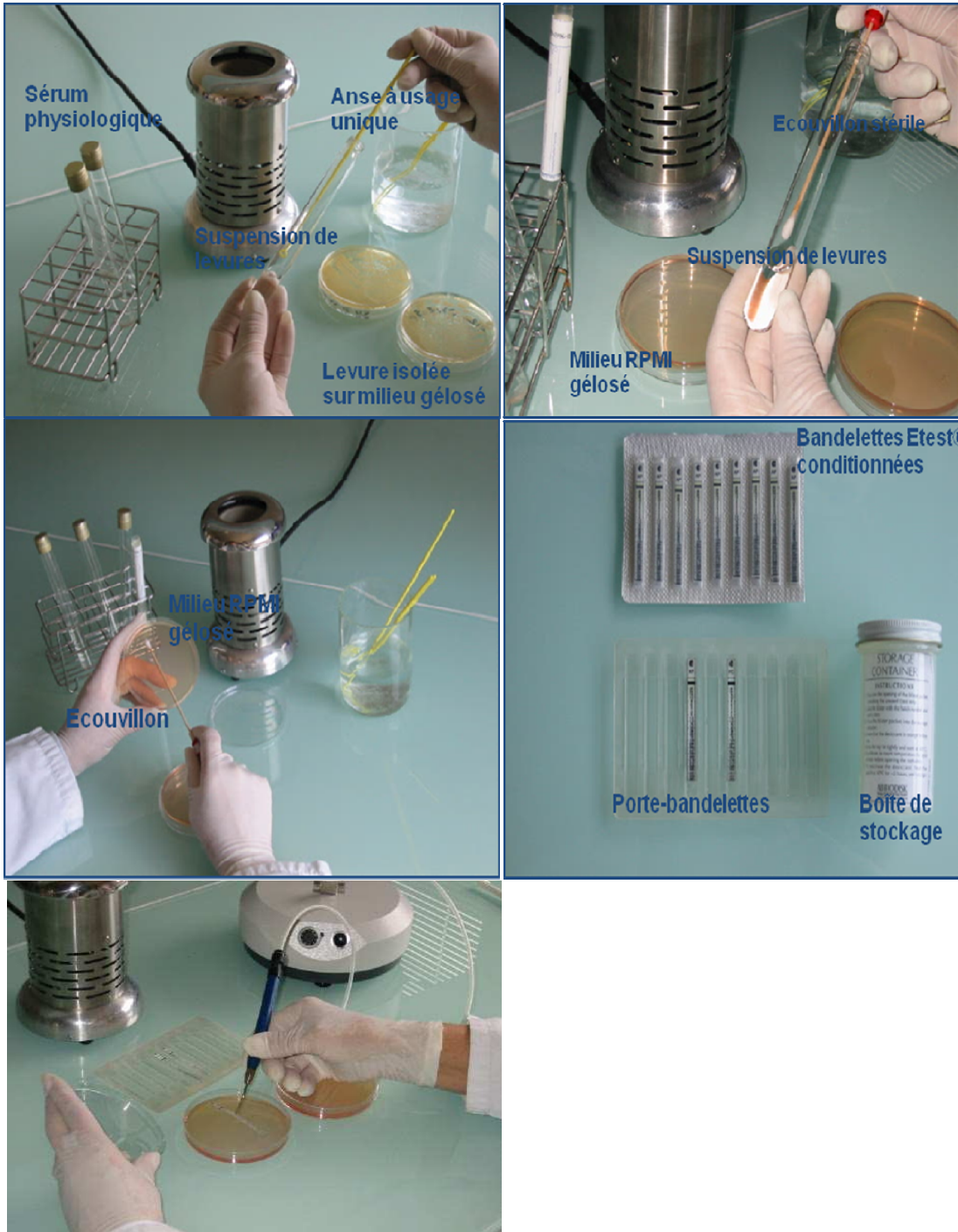
Il existe une mauvaise corrélation entre les diamètres de la zone d'inhibition et la CMI, aussi ces diamètres ne permettent pas de différencier entre souche sensible et souche sensible dose dépendante. C'est la raison pour laquelle les souches résistantes doivent être confirmées en utilisant une méthodologie appropriée de la CLSI.

**V.2.3 Méthode par dilution-affusion :**

Il s'agit de la méthode de l'E-test®.

**Principe :**

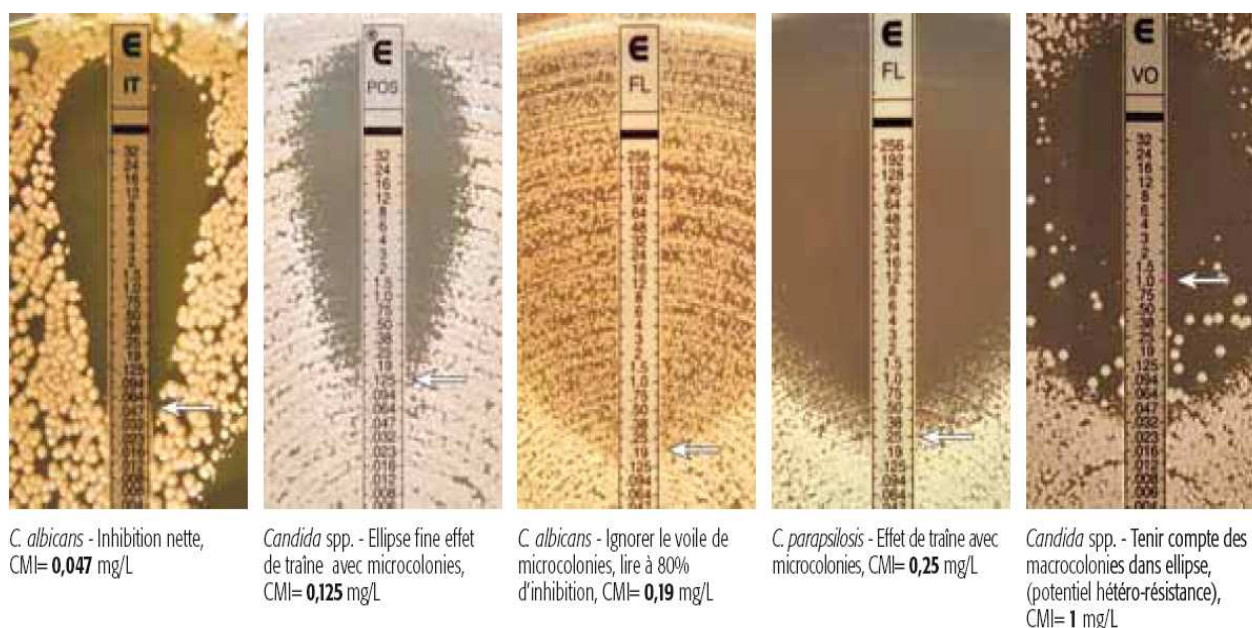
L'E-test est une technique quantitative pour la détermination sur milieu gélosé de la concentration minimale inhibitrice des agents antifongiques vis-à-vis des champignons et pour la détection des mécanismes de résistance. Elle est basée sur l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient exponentiel prédéfini de l'antifongique à étudier sur une face et une échelle de lecture sur une autre face. Lorsqu'une bandelette E-test est appliquée sur la surface d'une gélose ensemencée, le gradient exponentiel préformé de l'agent antifongique est immédiatement transféré dans la matrice de l'agar. Le gradient de concentration, continu et prédéfini, établi le long de la bandelette reste stable pendant une longue période de temps. Après une période d'incubation, d'une nuit ou plus, une ellipse d'inhibition symétrique centrée le long de la bandelette est formée.



**Figure 37** : différentes étapes du mode opératoire du E-Test.

**Tableau 38 : Détermination de la sensibilité par la méthode Etest**

Antifongique	Susceptible	SDD	Intermédiaire	Résistant
<b>Fluconazole</b>	≤8	16 - 32	-	≥64
<b>Itraconazole</b>	≤0,125	0,25 - 0,5	-	≥1
<b>Flucytosine</b>	≤4	-	8 – 16	≥32
<b>Amphotéricine B</b>	≤0,5			≥2



**Figure 37 : Fiche de lecture des résultats de l'Etest pour les azolés. [bioMérieux, Fiche de lecture]**

**Avantage:**

La méthode est standardisée et des souches de contrôle qualité sont définies.

Des études récentes montrent une bonne corrélation avec la microméthode du NCCLS. Une très bonne concordance (≥96%) avec la méthode de référence (NCCLS) a été obtenue pour *Candida spet* pour les filamenteux. L'avantage particulier de l'E-test est celui de permettre la détection d'isolats résistants à l'amphotéricine B rencontrés notamment chez *C.lusitaniae* [92] et chez des espèces d'*Aspergillus non fumigatus* [93].

**Inconvénients :**

La principale difficulté repose sur certaines difficultés de lecture, surtout pour les azolés, en raison de la présence possible de micro ou macrocolonies dans l'ellipse d'inhibition. Il s'agit d'un phénomène de traîne qui est observé chez 30 à 40% des souches de levures [37].

#### V.2.4 La technologie Vitek®:

Les méthodes traditionnelles de test de sensibilité aux antifongiques sont lentes et requièrent beaucoup de travail. De nouvelles méthodes à l'intention des laboratoires cliniques sont maintenant disponibles [94]. Grâce à la technologie Vitek2, l'antifongigramme est automatisé, standardisé et rapide. Avec la technologie Vitek2, les résultats sont disponibles en 13 heures seulement [95].



**Figure 38 :** Système automatisé Vitek2 [bioMérieux]

**Principe :[38]**

Cette technique permet de déterminer la sensibilité de *Candida* et de *Cryptococcus neoformans* aux antifongiques en milieu semi-liquide.

La carte Vitek comprend 64 cupules réactionnelles comprenant quatre antifongiques à quatre concentrations différentes.

La lecture s'effectue à 660 nm. L'analyse du taux de croissance est effectuée toutes les 15 minutes en cinétique. Puis, pour chaque antifongique, un algorithme spécifique convertit les valeurs brutes (RTU) en CMI calculée. Pour calculer les CMI, l'automate contrôle le remplissage des cupules, puis vérifie les valeurs brutes. Ensuite, il détermine la durée d'incubation de la carte. Dans la cupule contrôle, il évalue la vitesse de croissance du germe. La lecture s'arrêtera si la croissance dans tous les puits est suffisante. Celle-ci sera considérée comme la plus haute pouvant être mesurée pour cet antifongique. Pour finir, les résultats de CMI sont interprétés en S-I-R en fonction des concentrations critiques spécifiques des différents comités.

**Avantages :[38]**

L'antifongigramme automatisé présente plusieurs avantages : Sa préparation est simple et rapide. Le code barre individuel permet une reconnaissance du type de carte, une traçabilité, et un rejet d'une carte périmée par le système automatiquement. Les temps d'incubation prescrits sont plus ou moins corrects pour toutes les espèces de *Candida* ainsi que pour le *Cryptococcus neoformans*. Le contenu du kit est de 20 cartes et la date de péremption est de 14 mois, ce qui rend la méthode adaptée à la consommation en routine. De plus, grâce à l'automatisation, les résultats d'identification s'obtiennent dans la journée et contribuent ainsi à une meilleure prise en charge des patients, puisque les résultats sont rapidement disponibles. C'est une méthode standardisée et automatisée qui présente une reproductibilité excellente.

**Inconvénients : [38]**

L'inconvénient majeur de l'antifongigramme automatisé reste le prix élevé. On remarque aussi le manque d'itraconazole par rapport aux galeries disponibles.

### V.3. Etude de sensibilité des antifongiques

#### V.3.1 Selon l'espèce

##### *Candida albicans*

Le *Candida albicans* présente une sensibilité élevée vis-à-vis du kétoconazole et le clotrimazole car 84,2% des isolats de *C.albicans* sont sensibles au kétoconazole et le clotrimazole, par contre des fréquences élevées de résistance sont notées vis-à-vis du 5-flucytosine (57,9% de R), et le fluconazole (42,1% de R). Ces résultats notés chez le *Candida albicans* sont les mêmes retrouvés dans d'autres études, qui indiquent l'émergence de souches de *Candida albicans* résistantes aux fluconazole et la 5-flucytosine.

##### *Candida glabrata*

Les isolats de *Candida glabrata* montrent des fréquences de sensibilité élevées pour le kétoconazole, la 5-flucytosine, l'éconazole, le clotrimazole. En parallèle ces tests ont confirmé, les observations de plusieurs études, l'émergence de résistance pour le fluconazole et le voriconazole de l'ordre de 60%. Ces résultats rejoignent les données tunisiennes sur l'importance de cette espèce dans les flores fongiques isolées dans les services de réanimation ainsi que l'émergence de cette résistance importante.

##### *Candida tropicalis*

Les souches de *Candida tropicalis* testées témoignent, inversement au *C.albicans* et *C.glabrata*, d'une sensibilité modérée vis-à-vis du clotrimazole, éconazole, 5-flucytosine et du miconazole de l'ordre de 40%. Le kétoconazole apparaît comme l'agent antifongique le plus efficace sur le *Candida tropicalis*. Les résultats les plus surprenants sont ceux notés pour le fluconazole et le voriconazole avec une fréquence élevée de résistance qui a atteint 80%. Ces résultats suggèrent l'émergence de résistance chez le *Candida tropicalis* comme celle remarquée chez le *Candida glabrata*.

##### *Candida krusei*

Cette étude démontre que Le *Candida krusei* est l'espèce la plus sensible à tous les antifongiques, mais avec la meilleure efficacité noté chez le kétoconazole, fluconazole et le clotrimazole.

Les résultats de la sensibilité du *Candida parapsilosis* et *Candida dubliniensis* ne sont pas discutés car le nombre de souche de ces deux espèces est restreint (1 seul isolat pour chaque espèce)

### V.3.2 Selon l'antifongique

#### **Sensibilité au fluconazole**

Les tests de sensibilité des 52 souches testées vis-à-vis du fluconazole, montre une efficacité modérée sur les souches isolées car plus de la moitié des isolats sont résistantes au fluconazole (59,62%) contre 38,46% sensibles et 1,9% sont sensibles selon la dose. Ces résultats montrent une augmentation importante du nombre des souches résistantes au fluconazole, d'autres études ont montrées aussi une baisse de la sensibilité pour le fluconazole qui est expliqué par l'utilisation accru du fluconazole étant le traitement de première attention dans les candidémies. Mais ces résultats ne sont pas la règle, d'autres travaux ont montrés des fréquences de sensibilité importante pour le fluconazole pouvant arriver à 76% ou même 95,8% de souches sensibles dans une étude plus ancienne menée à Taiwan entre 1996 et 1999. Une étude réalisée par la même équipe en 2002 a montré un pourcentage de souches sensibles au fluconazole égale à 93,5%. En revanche, d'autres études démontrent que le fluconazole montre toujours une bonne activité sur les espèces de *Candida* sauf le *C. krusei* qu'est résistant au fluconazole de façon intrinsèque.

#### **Sensibilité au voriconazole :**

Les résultats de la sensibilité vis-à-vis du voriconazole ne diffèrent pas beaucoup des résultats du fluconazole mais avec deux différences dont la première est l'absence de la catégorie sensible dose dépendant (SDD) dans la sensibilité au voriconazole, la deuxième étant la fréquence des souches sensibles au voriconazole un peu plus élevée par rapport à celle retrouvée chez le fluconazole. La fréquence des souches sensibles au voriconazole est de

53,8%. Cette étude montre une convergence avec d'autres études, que le voriconazole est plus actif sur les levures *Candida* que le fluconazole. Mais une augmentation inquiétante de la fréquence des souches résistantes au voriconazole est observée, qui est passé de 2,6% en 2001 à 3,5 en 2003 à 11% en 2011 Notre étude montre une fréquence de résistance de l'ordre de 46,2%.

Cette observation confirme l'émergence de la résistance au voriconazole causée par l'instauration du voriconazole en traitement initial chez les patients instables présentant une candidose invasive, notamment en cas d'une exposition antérieure aux dérivés azolés ce qui favorise l'apparition de souches résistantes.

### **Sensibilité au kétoconazole**

Le kétoconazole a montré une activité intéressante sur les souches testées avec un pourcentage de sensibilité égale à 73,1%, 21,2% de souches résistantes et 5,8% de souches intermédiaires.

Le kétoconazole apparaît comme l'antifongique le plus efficace sur les souches de *Candida* testées dans cette étude avec un taux de sensibilité qui dépasse largement celui du voriconazole considéré comme le plus actif de tous les antifongiques.

### **Sensibilité au miconazole :**

La sensibilité au miconazole est caractérisée par un pourcentage de sensibilité moyen de l'ordre de 59,6%, une résistance égale à 23,1% et une fréquence élevée de souches intermédiaires représentées par 17,3%.

### **Sensibilité à la 5-flucytosine :**

La 5-flucytosine hormis son appartenance à une classe différente que les azolés, les résultats de la sensibilité sont comparable à ceux retrouvés pour le fluconazole, avec un pourcentage de sensibilité de 48,1%. Nous signalons que cette molécule n'est jamais utilisée en monothérapie à cause de sa toxicité hématologique. D'autres études démontrent aussi que la 5-FC montre des limites pour son utilisation dans le traitement des candidoses à cause de leur taux élevé de résistance

### **Sensibilité à l'éconazole :**

L'évaluation de la sensibilité à l'éconazole a présenté une activité importante de l'éconazole traduit par un pourcentage de 63,5% de sensibilité, 19,2% de souches résistantes et 17,3% de souches intermédiaires. Les résultats de cette étude révèlent l'efficacité de l'éconazole avec une stabilisation du taux de résistance vis-à-vis de cet antifongique.

### **Sensibilité au clotrimazole :**

Le clotrimazole montre aussi une activité importante contre les levures *Candida* avec une sensibilité de l'ordre 69,2%, le pourcentage de résistant est de 21,2%, alors que les souches intermédiaires représentent 9,6%.

L'étude de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis des sept molécules d'antifongiques disponible, prouve que le kétoconazole est le plus efficace sur les levures du genre *Candida* avec une sensibilité de 73,1%, suivie du clotrimazole avec une sensibilité de 69,2%, en troisième classe vient l'éconazole par 63,5% de souches sensible. En revanche les fréquences de résistance les plus élevées appartiennent au fluconazole et le voriconazole avec respectivement 50% et 46,2%. Cette sensibilité importante au kétoconazole est expliquée par le fait que c'est une molécule qui n'est pas commercialisée au Maroc et donc n'a pas encore subi de pression de sélection.

## **V.4 Resistance**

### **V.4.1 Mécanismes de résistance :**

#### **V.4.1.1 Définition de la résistance :**

La résistance antifongique peut être définie comme la diminution de la sensibilité à un antifongique, mesurée *in vitro* par des méthodes appropriées et standardisées. La sensibilité d'un champignon est estimée le plus souvent par la mesure de la CMI vis-à-vis d'un antifongique donnée. Cette CMI correspond à une concentration d'antifongique inhibant la croissance de la grande majorité d'un groupe d'isolats de la même espèce. La CMI<sub>50</sub> et la CMI<sub>90</sub> correspondent à l'inhibition respectivement de 50% et 90% d'un groupe d'isolats de

même ou différentes espèces à une concentration d'antifongique donnée. Cependant, une CMI ne peut être considérée comme une valeur absolue prédictive de succès ou d'échec thérapeutique. En effet, la mesure *in vitro* d'une CMI est tributaire de nombreux éléments (température, pH...). La définition des résistances par des valeurs seuils (breakpoints) requiert un consensus et une collaboration effective pour une standardisation, ce que réalise le NCCLS.

#### V.4.1.2 Types de résistances :

Tout comme chez les bactéries, il existe deux types de résistances chez les levures : les résistances naturelles et les résistances acquises. Ces résistances acquises surviennent rarement, mais principalement après l'exposition à un antifongique, et peuvent correspondre à un état d'adaptation transitoire ou définitif.

**La résistance naturelle ou innée** : caractérise toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre et peut être due à une absence de concentration de l'antifongique dans la cellule ou à une faible affinité de l'antibiotique pour sa cible.

La structure de leur paroi rend les espèces du genre *Candida* naturellement résistantes à l'autolysine par absence d'entrée de l'antibiotique dans la cellule.

C'est également un mécanisme d'imperméabilité qui est impliqué dans la résistance naturelle des mycètes, à l'exception des dermatophytes, à la griséofulvine : il y a en effet absence d'un système de transport énergie dépendant de l'antifongique.

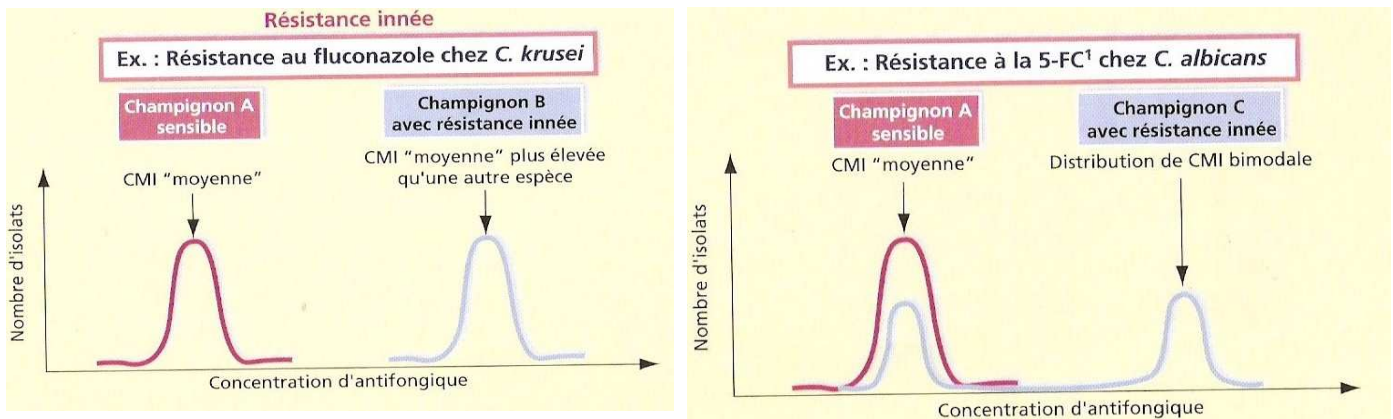
La résistance naturelle (de faible niveau) de *Candida krusei* au fluconazole s'explique par l'existence, chez cette espèce, d'une pompe d'efflux pour laquelle le fluconazole est un bon substrat, l'efflux étant supérieur à celui observé chez *Candida albicans* ; de plus la cible de *Candida krusei* a une affinité plus faible pour le fluconazole. L'emploi de cet antifongique peut entraîner le remplacement de l'espèce endogène sensible, *Candida albicans*, par une espèce résistante du même genre. Ce phénomène est particulièrement observé chez les individus immunodéprimés.

Chez *Cryptococcus neoformans*, une résistance hétérogène au fluconazole est décrite:

- la majeure partie des cellules d'une population sont sensibles et une sous-population est résistante .

- la population résistante peut s'adapter à des concentrations fortes de fluconazole. C'est ce phénomène réversible qui se produit en présence de fluconazole, donc au cours d'un traitement.
- Les cellules sensibles ne peuvent pas être purifiées à partir de la souche hétérorésistante.

Le mécanisme de cette résistance n'est pas connu.



**Figure 39 :** Résistance innée chez *C.krusei* au fluconazole et *C.albicans* à la 5FC.

**La résistance acquise :** fait suite à une modification génétique, Une souche de mycète devient résistante lorsque, appartenant à une espèce naturellement sensible à un antifongique, elle est apte à tolérer des concentrations de cet antifongique nettement plus élevées que celles qui inhibent la croissance *in vitro* de la majorité des souches dites sensibles de la même espèce.

La résistance acquise, au sens microbiologique, se traduit par une augmentation des CMI. Ausens clinique, la résistance acquise se définit comme un échec thérapeutique lors d'un traitement dans les conditions usuelles (dose, fréquence, voie d'administration...). Les deux définitions ne sont pas obligatoirement superposables : une faible augmentation des CMI n'entraîne pas obligatoirement la catégorisation clinique de la souche comme résistante. Un échec thérapeutique peut avoir d'autres causes que l'acquisition d'un mécanisme de résistance par la souche responsable de la mycose : l'activité uniquement fongistatique de l'antibiotique peut en être la cause mais c'est le statut immunitaire de l'hôte qui joue un rôle prépondérant dans l'évolution de la maladie sous traitement. Le site infectieux (organes «

séquestrés »comme le cerveau ou l'œil), la présence d'abcès, l'observance du traitement, souvent de longue durée, interviennent aussi.

La résistance acquise doit être distinguée de la résistance adaptative qui est liée à des modifications physiologiques transitoires du mycète. Suite à un premier contact avec l'antifongique, la CMI augmente puis elle diminue en l'absence de l'antibiotique.

L'augmentation de l'expression de la pompe d'efflux *Afu MDR4* en présence de voriconazole a été démontrée.

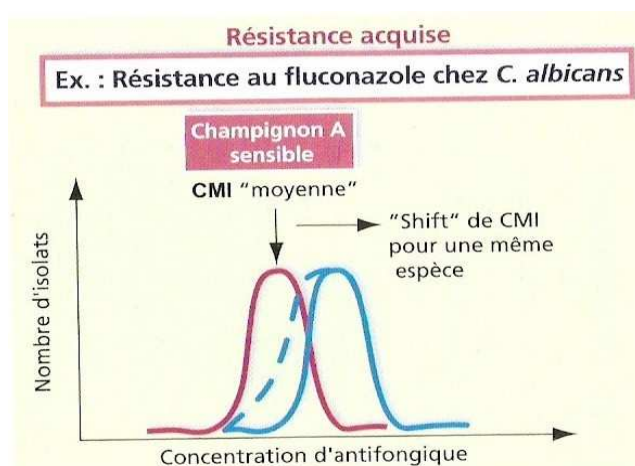
Le phénomène d'Eagle ou effet paradoxal, c'est-à-dire l'aptitude de levures et de moisissures à croître en présence de concentrations d'échinocandines supérieures aux CMI, correspond à une résistance adaptative. Chez *Candida albicans*, l'expression de certains gènes est modifiée en présence de caspofungine. Le phénomène d'Eagle se traduit chez

*Candida* spp par des modifications morphologiques (absence de filamentation, septes anormaux, etc...), la disparition de la couche de  $\beta$ -1,3 glucane de la paroi et l'accumulation de chitine.

Les cellules de mycètes participant à des biofilms, des communautés de micro-organismes adhérents entre eux et à un support endogène ou exogène (prothèse, cathéter...) et produisant une matrice extracellulaire de polymères sont plus résistantes que les cellules planctoniques.

Pour différentes espèces de *Candida* et pour *Aspergillus fumigatus*, les CMI de voriconazole, d'échinocandine et d'amphotéricine B pour des cellules planctoniques sont inférieures aux CMI pour des cellules issues de biofilms.

Au cours de leur croissance, les champignons filamenteux et dimorphiques présentent des morphotypes différents, correspondant chacun à un stade de leur développement. Il a été mis en évidence que les conidies d'*Aspergillus fumigatus* (formes cellulaires utilisées pour évaluer l'activité *in vitro* d'un antifongique) sont plus sensibles au voriconazole et à la caspofungine que les structures filamenteuses multicellulaires, ce qui peut expliquer la plus ou moins grande efficacité des traitements ; l'amphotéricine B présente l'avantage de conserver son activité sur les différents morphotypes.



**Figure 40 :** Résistance acquise chez *C.albicans* au fluconazole [25].

Les mutations peuvent concerner un gène de structure, codant pour la cible de l'antifongique, ou un gène régulateur, par exemple les gènes contrôlant l'expression des pompes d'efflux (niveau de transcription modifié par mutation d'une région promotrice ou par mutation d'un gène codant pour un facteur de transcription). L'augmentation des CMI se fait souvent par échelons par accumulation de mutations dans un gène ; ceci est aussi observé par l'addition séquentielle de différents mécanismes de résistance.

Les champignons étant diploïdes, la résistance peut n'être observée que lors de la perte de l'hétérozygotie. Ceci est décrit pour *Candida albicans* ou *Candida tropicalis* et la 5-flucytosine et pour *Candida albicans* et les échinocandines.

La résistance peut aussi résulter de l'amplification de gènes. Chez *Candida glabrata*, l'amplification d'*ERG11*, elle-même due à la duplication du chromosome 5 qui contient ce gène, est à l'origine de la résistance au fluconazole.

Un haut niveau de résistance à la terbinafine a été observé chez *Aspergillus fumigatus* lors de l'augmentation du nombre de copies du gène codant pour la squalène époxidase. La résistance aux polyènes pourrait aussi être due à une altération du nombre de chromosomes, comme chez la souche productrice de l'amphotéricine B.

Enfin, la résistance peut faire suite à des phénomènes de recombinaison lors de la mitose.

Coste a décrit la séquence des événements génétiques chez les souches de *Candida albicans* résistantes aux azolés :

- étape 1 : mutations dans *ERG11* (codant pour la cible) et *TAC1*

(Transcriptional Activator of CDR gene) (Codant pour un activateur transcriptionnel des gènes *CDR1/2*)

- étape 2 : perte de l'hétérozygotie pour *ERG11* et *TAC1* par différents mécanismes incluant perte chromosomique et duplication, recombinaison mitotique mettant en jeu le bras gauche du chromosome 5, et pour *TAC1* uniquement conversion génique ou mutation du deuxième allèle
- étape 3 : acquisition d'un iso chromosome.

Les souches mutantes peuvent présenter un moindre « fitness » et être contre-sélectionnées en l'absence de l'antibiotique. Ce serait le cas pour les souches de *Candida albicans* résistantes aux azolés par mutation d'*ERG3* (Sanglard, 2003), ou pour des souches de *Candida glabrata* résistantes au fluconazole de phénotype HFAR (High Frequency Azole Resistance =  $10^{-3}$  à  $10^{-4}$ ) qui n'ont pas d'ADN mitochondrial et qui *in vitro* donnent naissance à des colonies de petite taille.

#### V.4.1.3 Causes des résistances aux antifongiques:

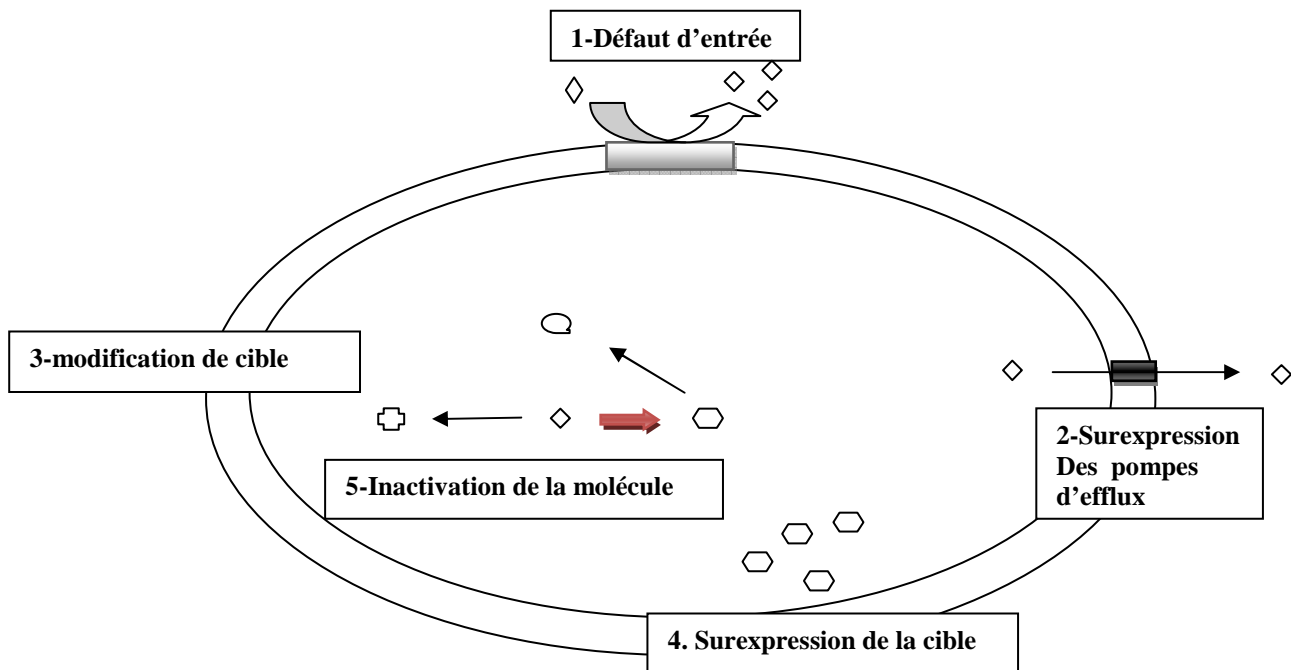
Les causes d'apparition des résistances aux antifongiques sont multiples, à savoir, l'utilisation abusive des traitements antifongiques disponibles mais également l'augmentation de l'effectif des patients immunodéprimés dans différents services. Toutefois, il faut faire la distinction entre la résistance *in vitro* d'une espèce à un antifongique, et échec thérapeutique clinique d'un traitement antifongique. En effet, la résistance au antifongique de l'espèce est un élément propre au microorganisme qui est du aux altérations génétiques. Tandis que l'échec clinique inclut de nombreux paramètres liés :

- Au champignon responsable : son genre et espèce, sa virulence, son niveau de résistance intrinsèque ou acquise.
- A l'antifongique utilisé : son choix, les posologies prescrites, ses propriétés pharmacocinétiques et ses interactions médicamenteuses potentielles.
- A l'hôte : son statut immunitaire, le site et la sévérité de l'infection, la pathologie sous jacente et la présence ou non d'un cathéter [25,96].

#### V.4.2 Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques

L'antifongique doit pénétrer dans la cellule fongique intacte et se fixer sur sa cible pour perturber le fonctionnement cellulaire et parvenir à un effet fongistatique. Deux mécanismes moléculaires de résistance aux antifongiques sont décrits chez les champignons:

- la modification ou la surexpression de la cible
- la surexpression de pompes membranaires d'efflux, ce qui diminue l'accumulation dans la cellule de l'antifongique



- ◇ Molécule antifongique active
- ⬡ Cible de l'antifongique
- Cible altérée / modifiée
- ⊠ Molécule antifongique inactivée
- Pompe d'efflux

**Figure 41 :** Schématisation des potentiels mécanismes moléculaires de résistance des champignons aux antifongiques. Les mécanismes en gras sont ceux décrits

### a. Mécanismes de résistance aux polyènes

La résistance à l'amphotéricine B est un phénomène rare décrit chez *Candida* et *Cryptococcus*. Son mécanisme n'est pas connu. La résistance résulterait d'une diminution de la capacité de l'amphotéricine B à se fixer sur l'ergostérol des membranes plasmiques suite à : une diminution de la teneur de la membrane plasmique en ergostérol et/ou au remplacement des stérols permettant la fixation des polyènes par d'autres stérols pour lesquels l'affinité est moindre. Ces modifications pourraient être secondaires à des mutations dans les gènes codant pour des enzymes impliquées dans la synthèse de l'ergostérol.

### b. Mécanismes de résistance aux dérivés azolés

Deux principaux mécanismes de résistance aux azolés sont décrits : la surexpression de pompes d'efflux multi drogues et des modifications de la cible.

#### • Diminution de la concentration intracellulaire

De très nombreuses pompes d'efflux, permettant l'expulsion rapide de plusieurs toxiques, sont décrites chez les champignons microscopiques. Celles impliquées dans la résistance aux azolés appartiennent à deux familles, la famille des transporteurs ABC (ATP Binding Cassettes) et la famille des transporteurs MFS (Major Facilitator Superfamily). Chez *Aspergillus fumigatus*, il y aurait 279 et 49 transporteurs appartenant respectivement aux familles MFS et ABC.

La résistance aux azolés par efflux est décrite principalement chez les *Candida* (*Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*). Elle est due à la surexpression du gène *CDR1* (*Candida* Drug Resistance) codant pour une pompe de la famille

ABC ou du gène *MDR1* (Multi Drug Resistance), codant pour une pompe de la famille des MFS. Le mécanisme de surexpression n'est pas connu précisément : l'augmentation de la concentration en ARNm pourrait être due, entre autres, à une amplification génique ou à des mutations de la région promotrice du gène ou à des mutations des facteurs de transcription. Suivant la spécificité des substrats transportés, la résistance est croisée ou pas. Ainsi, la surexpression de *CDR1* est responsable d'une résistance aux azolés et à la terbinafine et celle de *MDR1*, d'une résistance isolée au fluconazole. L'effet antagoniste de l'albendazole ou

de la sulfadiazine sur des azolés (kétoconazole, fluconazole, itraconazole) chez *Candida albicans* serait dû à l'augmentation de l'expression de Cdr 1p (ou de Cdr 2p) en présence de ces substances qui sont des substrats et des inducteurs de cette pompe multidrogue.

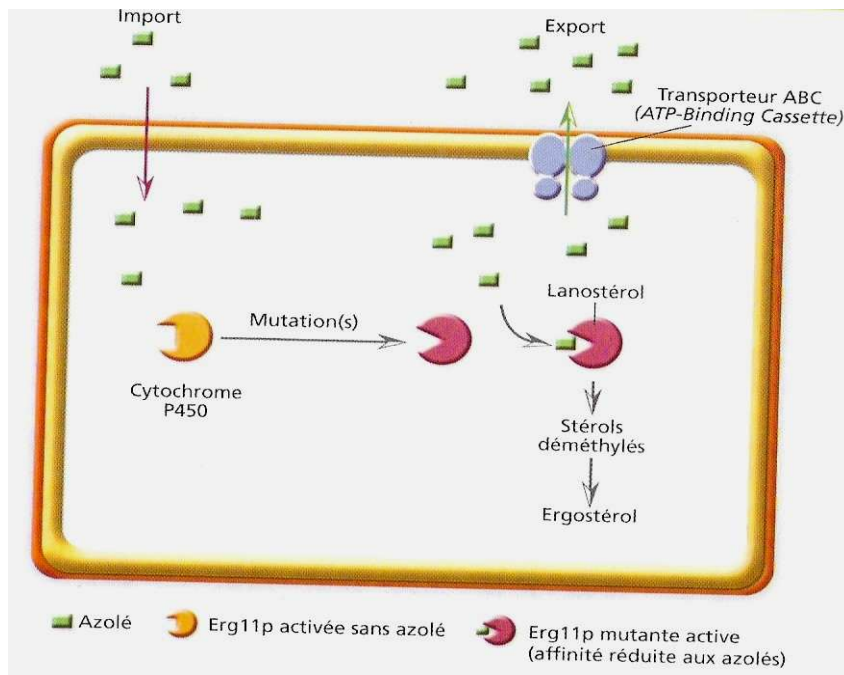
Un mécanisme d'efflux a aussi été rapporté pour la résistance à des azolés chez *Cryptococcus neoformans* (*Cne MDR1*).

- **Modifications de la cible**

La cible principale des azolés est la 14- $\alpha$ -déméthylase qui intervient dans la synthèse de l'ergostérol et est synthétisée par le gène *ERG11* (*CYP51*). Plusieurs mécanismes modifiant la qualité et/ou la quantité de cette enzyme cible sont à l'origine de la résistance des champignons vis-à-vis des azolés.

Des modifications ponctuelles dans *ERG11* chez *Candida albicans* ou dans *CYP51A* chez *Aspergillus fumigatus* diminuent l'affinité de l'azolé pour sa cible. Seules des mutations en des positions déterminées entraînent une résistance. Bien que la cible soit modifiée, la résistance n'est pas obligatoirement croisée pour l'ensemble des azolés. Des *Candida* mutants sensibles à l'itraconazole et résistants au fluconazole sont décrits : la différence de sensibilité serait due à l'instabilité de la fixation du fluconazole, une molécule hydrophile, sur le site actif de l'enzyme.

La surexpression de la 14- $\alpha$ -déméthylase est un mécanisme de résistance aux azolés décrit chez *Candida glabrata*, *Candida dubliniensis*, *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*. La présence en grande quantité d'ergostérol dans les membranes plasmiques est secondaire à l'augmentation de la transcription d'*ERG11* ou à sa duplication. La résistance serait croisée entre tous les azolés.



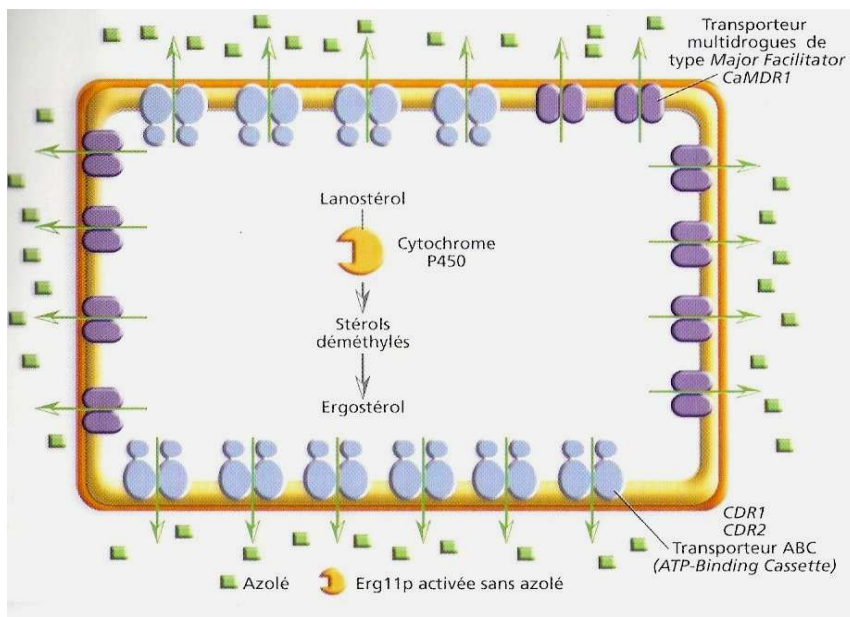
**Figure 42 : Résistance aux azolés par altération de la cible [25].**

- **Autres mécanismes**

La modification de la composition membranaire affecte ses fonctions et sa fluidité.

Néanmoins, il a été montré que la présence de l'ergostérol n'est pas indispensable au bon fonctionnement de la cellule fongique et le 14-méthylfecostérol peut assurer certaines fonctions de l'ergostérol. Chez *Candida albicans*, des mutations dans *ERG3*, provoquant des résistances au fluconazole, à l'itraconazole, au voriconazole, au kétoconazole et au clotrimazole, permettent la synthèse de stérols membranaires différents de l'ergostérol.

La résistance de haut niveau aux azolés, en particulier chez *Candida*, n'est quasiment jamais due à un unique mécanisme. Les mutations, qui s'accumulent au cours du temps, aboutissent à un phénotype résistant par plusieurs mécanismes. Ce phénomène a été mis en évidence par un suivi des CMI de fluconazole pour des souches de *Candida albicans* chez des patients sidéens tout au long du traitement. L'augmentation initiale des CMI était associée à la surexpression de la pompe d'efflux MDR1 puis, ultérieurement, à trois altérations du gène *ERG11* (mutation, recombinaison mitotique, conversion génique et surexpression) suivies enfin d'une surexpression de la pompe d'efflux *CDR1*.



**Figure 43** : Résistance aux azolés chez *C.albicans* par augmentation d’efflux [25].

### c. Mécanismes de résistance aux 5-flucytosine

Trois mécanismes de résistance sont reconnus suite à des mutations :

- l’altération de la purine-cytosine perméase (*fcy2*) permettant l’entrée de la 5-FC dans la cellule
- l’altération de la cytosine désaminase impliquée dans la conversion de la 5-FC en 5-fluorouracile (gène *fcy1*)
- l’altération de l’uracil phosphoribosyltransférase (*fur I*) intervenant dans la conversion du 5-fluorouracile en 5-fluorouridine monophosphate.

L’inactivation de *fcy1* ou *fcy2* chez *Candida lusitanae* est responsable d’une résistance au fluconazole. L’impact clinique de cette résistance est important.

La proportion des mutants est élevée chez *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*.

Chez *Candida albicans*, la résistance primaire (mutants existants dans toute population sensible) concernerait 10 % des souches et serait due à une imperméabilité ; la résistance secondaire (mutants sélectionnés sous traitement) s’élèverait à 30 % suite à des mutations dans *fcy1* et/ou *fur1*. La flucytosine ne doit donc pas être utilisée en monothérapie. Dans les méningites à *Cryptococcus neoformans*, la fréquence d’apparition d’isolats résistants était de

20 à 30 % des cas lors de traitement par la seule flucytosine et de 2 à 3 % si elle était associée à l'amphotéricine B.

## V.5 Données épidémiologiques

### V.5.1 Epidémiologie des résistances aux antifongiques de *Candida*

L'antifongogramme est réalisé plus rarement que l'antibiogramme et réservé aux cas de mycoses systémiques chez des patients immunodéprimés, en particulier lorsque l'agent infectieux compte parmi les mycètes ayant développé des phénomènes de résistance : *Candida* spp, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* spp, *Trichophyton rubrum*.

Les données d'enquêtes multicentriques sur la prévalence de la résistance aux antifongiques revêtent une importance particulière pour le choix du traitement de première intention. Elles existent pour les souches humaines et *Candida* spp. Isolés d'infections invasives et, dans une moindre mesure, pour *Aspergillus* spp et *Cryptococcus neoformans*. Les fréquences de résistance dépendent de la zone géographique d'étude, de l'origine des souches (nosocomiale ou communautaire), de l'espèce (*Candida glabrata* versus les autres *Candida*) et de la molécule testée (résistance aux azolés fréquente, résistance à l'amphotéricine B rare).

Des données ont aussi été publiées pour *Cryptococcus gattii*.

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

Depuis quelques années, il a été rapporté que la proportion de souches de *Candida* non *albicans* intrinsèquement résistantes aux dérivés triazolés a augmenté de façon importante dans

certaines centres d'oncohématologie dans les services de réanimation. C'est tout particulièrement le cas pour *C.glabrata* et pour *C.krusei*[182]

### V.5.2 Facteurs de modifications de l'épidémiologie mondiale et de la sensibilité aux antifongiques

- **L'utilisation des antifongiques**

La prophylaxie par fluconazole fut instaurée dans les années 1980 lors des neutropénies chimio-induites ou lors du conditionnement pré-greffe de moelle osseuse. Cette prophylaxie antifongique permet une réduction de l'utilisation du traitement curatif, une baisse des infections fongiques superficielles et profondes ainsi qu'une baisse de la mortalité relative à l'infection fongique. Cependant certains auteurs notent une absence d'amélioration de la survie totale.

Globalement, l'utilisation prophylactique du fluconazole entraîne une baisse des infections à *C. albicans* et *C. tropicalis* au dépend d'espèces de sensibilité réduite au fluconazole comme *C. glabrata* et *C. krusei*. D'autres études montrent plus particulièrement une augmentation des candidémies à *C. glabrata* ou *C. parapsilosis* après traitement antérieur par fluconazole.

Concernant l'impact sur la sensibilité aux antifongiques, les levures isolées présentaient des CMI plus élevées aux molécules utilisées au préalable. Certains auteurs ont démontré que l'augmentation des CMI de *C. glabrata* au fluconazole était liée à la consommation de fluconazole. Bassetti *et al* montrent même en 2009 que l'arrêt de la prophylaxie par fluconazole entraîne une chute des candidémies à *Candida non-albicans* un an plus tard.

Néanmoins, cette affirmation reste controversée et d'autres études ne retrouvent pas ces résultats. Certaines sont biaisées de par la méthodologie utilisée dans leur étude (monocentrique, non focalisation sur les services « à risque » etc....) et d'autres ont été faites dans des zones géographiques où la prévalence de ces espèces était moindres.

Une étude française récente portant sur les candidémies a montré que l'exposition antérieure au fluconazole (administré 30 jours avant l'épisode fongémique) était associée avec une augmentation du risque d'infection à *C. glabrata* et *C. krusei*, espèces de sensibilité diminuée au fluconazole. De même, la préexposition à la caspofungine entraîne un risque supérieur d'être infecté à *C. parapsilosis*, *C. glabrata* et *C. krusei*. Il y a une diminution du risque d'infection à

*C. albicans* avec l'utilisation de chacune des deux molécules dans les 30 jours antérieurs, par rapport aux sujets non exposés.

Concernant les échinocandines seules, l'utilisation de cette classe médicamenteuse en traitement curatif a entraîné une augmentation de l'incidence de certaines espèces qui sont de sensibilité diminuée à cet antifongique : *C. parapsilosis* et *C. guilliermondii*. Kabbara *et al* a décrit des candidémies à *C. parapsilosis* après traitement prolongé par caspofungine, tandis que Forrest *et al* ont montré une corrélation entre l'utilisation augmentée de la caspofungine et l'augmentation de 400% des cas de candidémies à *C. parapsilosis*.

Le fluconazole et les échinocandines semblent alors modifier l'équilibre entre les espèces mais aussi leur sensibilité aux antifongiques.

- **La durée d'hospitalisation**

L'augmentation de la durée d'hospitalisation entraîne une augmentation de la colonisation à levure. Mais plus récemment a été démontré qu'une durée d'hospitalisation supérieure à 30 jours augmentait également le risque d'infection à espèces non sensibles au fluconazole.

- **L'augmentation du nombre de patients à risque et des facteurs de risques**

Le vieillissement de la population, l'augmentation du nombre de cancers et les changements dans les pratiques de transplantations (schémas de conditionnement, thérapies immunosuppressives, nouvelles chimiothérapies) sont les principaux facteurs modifiant la distribution des espèces vers les non-*albicans*.

### V.5.3 Evolution de l'épidémiologie des résistances :

#### V.5.3.1 Interet de la surveillance :

Depuis ces dernières années, on note une évolution de l'épidémiologie des résistances aux différents antifongiques, spécialement aux azolés. La surveillance de la résistance aux antifongiques s'est aujourd'hui généralisée [18,20]. Plusieurs études sont réalisées continuellement dans le but d'évaluer la sensibilité des agents fongiques aux antifongiques, qu'ils soient anciennement mis sur le marché ou en vue de commercialisation. Dans le premier cas, l'étude fournit des données sur l'apparition et le profil de résistance des espèces. Alors que dans le deuxième, elle évalue l'activité du nouvel antifongique par

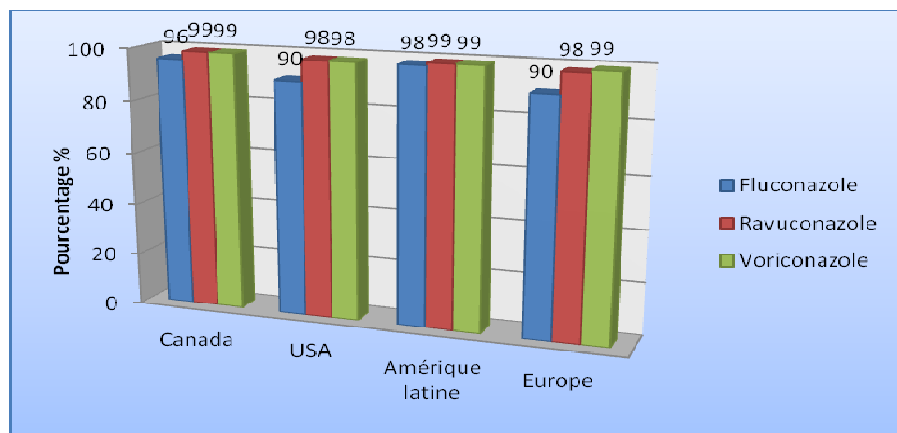
rapport aux autres molécules disponibles sur le marché.

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

### V.5.3.2 Evolution de l'épidémiologie de la résistance aux antifongiques :

#### Etude SENTRY :

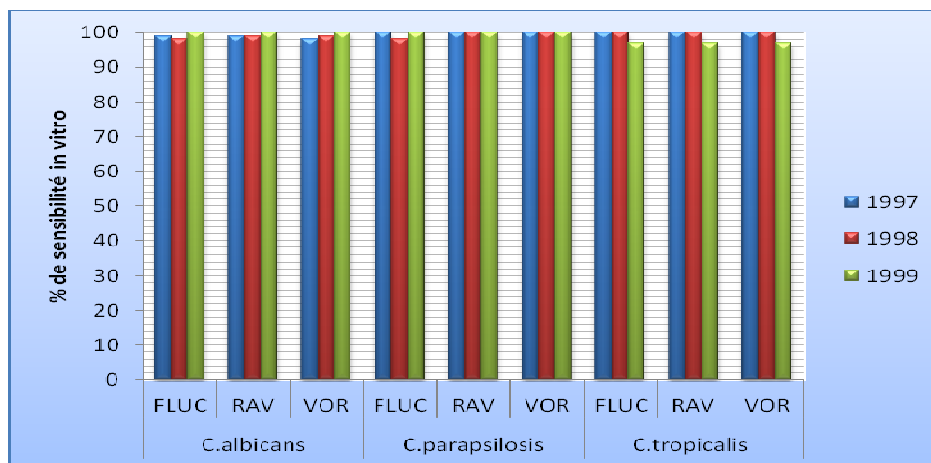
L'étude SENTRY qui a porté sur 3 années (1997-1999) dans 74 sites (USA, Canada, Amérique latine et Europe) avait pour but d'étudier la sensibilité de *Candida* vis-à-vis du fluconazole, du voriconazole et du ravuconazole. La répartition de la sensibilité *in vitro* dans ces différents pays, toutes espèces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



**Figure 44 :** Sensibilité de *Candida* vis-à-vis du fluconazole, du voriconazole et du ravuconazole sur 3 années (1997-1999).

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

Les isolats de *C.albicans*, *C.parapsilosis* et *C.tropicalis* sont hautement sensibles aux trois azolés avec une sensibilité allant de 97 à 100% (figure). Cependant, concernant l'évolution de cette résistance au cours des trois années, il a été constaté que dans les années 1997 et 1998, quelques isolats de *C.albicans* étaient résistants au fluconazole. Ces mêmes isolats l'étaient aussi aux voriconazole et au ravuconazole. Ce qui reflète une possibilité de résistance croisée vis-à-vis des triazolés. Par contre, au cours de l'année 1999, une augmentation de la sensibilité vis-à-vis de l'itraconazole [209].

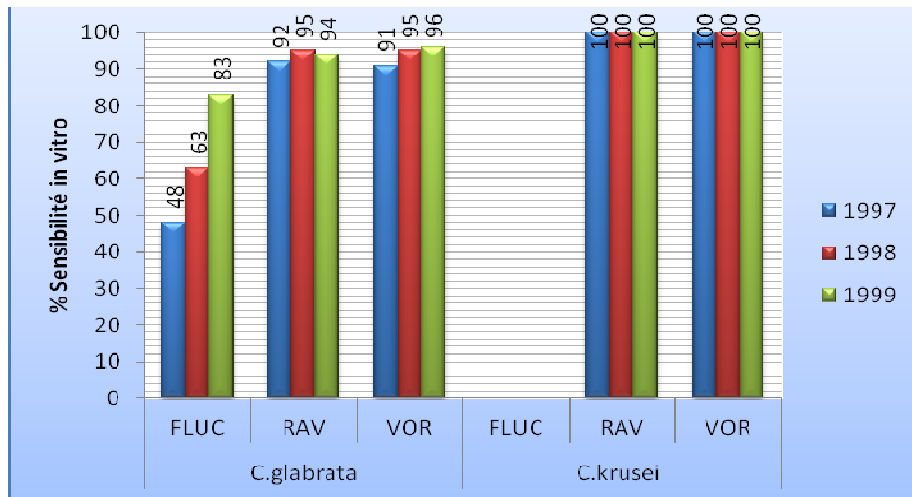


**Figure 45 :** Sensibilité *in vitro* des isolats de *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, au voriconazole, au fluconazole et au ravuconazole sur 3 années (1997-1999).

Au cours des trois années, la sensibilité de *C.glabrata* au fluconazole s'est modifiée. Une augmentation de la sensibilité vis-à-vis du fluconazole est constatée de 1997 à 1999, passant de 48% à 83%. Dans le même temps, une diminution de la CMI du fluconazole passant de 16µg/mL à 4µg/mL suggère une administration plus appropriée du fluconazole au cours des trois années.

À propos de *C.krusei*, toutes les souches isolées sont très sensibles aux nouveaux triazolés

et toutes sont bien évidemment résistantes au fluconazole. Le voriconazole et le ravuconazole sont, donc, à la fois actifs sur *C.glabrata* et *C.krusei* avec une sensibilité variant de 97 à 100%. Tandis que la fluconazole n'est uniquement actif que sur *C.glabrata* du fait de la résistance innée de *C.krusei* à cet agent (figure) [209]



**Figure 46 :** Sensibilité in vitro des isolats *Candida glabrata*, *Candida krusei* au voriconazole, au fluconazole et au ravuconazole sur 3 années (1997-1999).

**Etude ARTEMIS :**

Le programme de surveillance ARTEMIS est connu comme étant un système mondial de surveillance des antifongiques le plus complet et le plus ancien [61, 198, 197, 210,211]. Dans l'une de ses études récente publiée en 2005, les auteurs ont utilisé les résultats de ce programme pour évaluer les tendances globales de la sensibilité des levures au fluconazole et au voriconazole pendant une période de 6,5 ans dans 39 pays entre juin 1997 et décembre 2003. Au total, 134 715 isolats de *Candida sp.* ont été recueillis dans 127 centres médicaux répartis en Asie, Amérique latine, Europe, Moyen orient et en Amérique du nord. La sensibilité des souches a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé M-44 selon la technique préconisée par le CLSI [212].

Les valeurs seuils d'interprétation sont de :

- Sensible (S) pour un diamètre zone d'inhibition  $\geq 19$ mm pour le fluconazole et 17mm pour le voriconazole.

- Résistante (R) pour un diamètre d'inhibition  $\leq 14$ mm pour le fluconazole et 13 mm pour le voriconazole.

❖ **Activité du voriconazole et du fluconazole:**

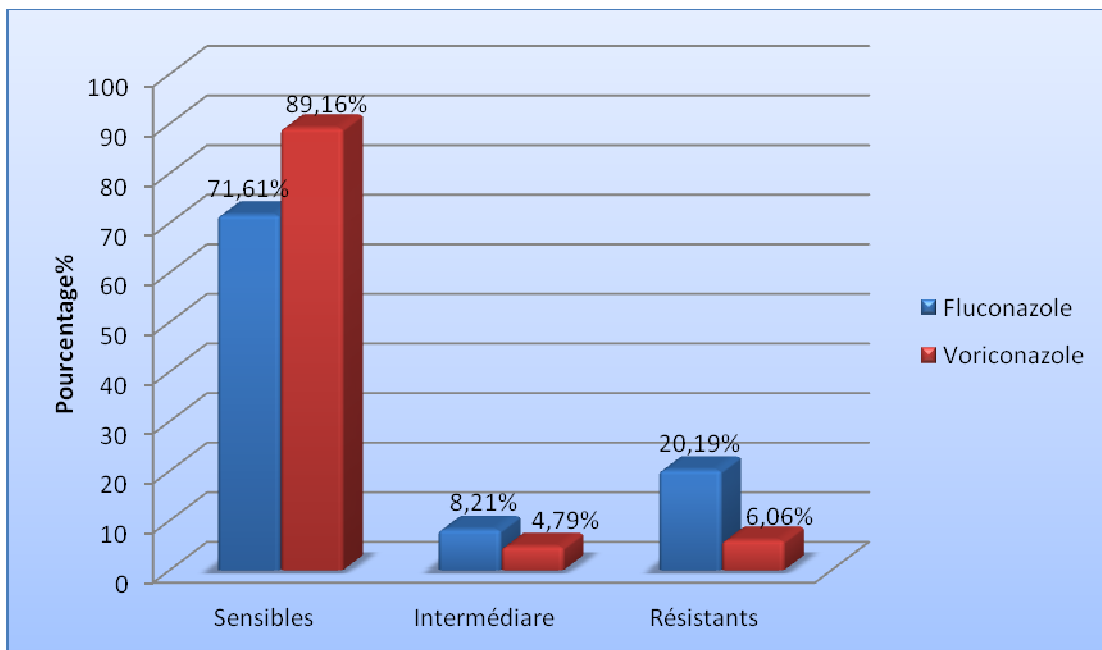


A l'issue des résultats de cette étude (tableau), le voriconazole, a montré qu'il est significativement plus actif que le fluconazole contre pratiquement toutes les espèces, hormis *C.tropicalis* avec 89,1% de sensibilité pour le fluconazole contre 87,1% pour le voriconazole. Globalement, 89,16% des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

Parmi les espèces présentant une sensibilité diminuée au fluconazole, plus de 80% étaient sensibles au voriconazole. De plus, parmi les souches de *C.glabrata* résistantes au fluconazole, 30% ont été sensibles au voriconazole. Cependant, toutes les souches résistantes au voriconazole l'étaient aussi au fluconazole [197]. Bien que le voriconazole fût plus actif que le fluconazole contre *C.rugosa*, *C.lipolytica*, *C.zeylanoides*, ces espèces se sont révélées nettement moins sensibles et plus résistantes au voriconazole que toutes les autres espèces *Candida*. Ces données confirment et complètent les observations antérieures, spécialement concernant les espèces de *Candida* moins courantes [16,196,213,214]. Bien que les résultats de l'étude soulignent l'existence de résistances croisée entre le fluconazole et le voriconazole, ceci est variable selon l'espèce et ne doit pas être supposé en l'absence d'identification et de résultats de l'antifongigramme.

**Tableau 39 :** Sensibilité *in vitro* au fluconazole et au voriconazole des levures du genre *Candida*

Espèces	Sensibilité Fluconazole			Voriconazole		
	N	S%	R%	N	S%	R%
<i>C.albicans</i>	49 991	97,8	1,3	47 584	98,6	1,0
<i>C.glabrata</i>	9 040	66,7	16,6	8 719	81,7	10,1
<i>C.tropicalis</i>	5 959	89,1	5,0	5 643	87,1	6,7
<i>C.parapsilosis</i>	5 539	93,2	3,6	5 233	96,8	1,8
<i>C.krusei</i>	2 067	9,4	77,2	1 996	83,2	7,5
<i>C.guilliermondii</i>	662	73,3	9,8	633	91,2	4,9
<i>C.lusitaniae</i>	464	93,3	4,1	445	96,4	2,0
<i>C.rugosa</i>	417	39,3	51,8	394	61,4	26,4
<i>C.kefyr</i>	344	95,3	3,5	331	99,1	0,6
<i>C.famata</i>	253	79,8	11,9	238	89,5	5,5
<i>C.inconspicua</i>	187	25,7	49,2	186	89,2	5,4
<i>C.norvegensis</i>	92	50,0	38,0	91	92,3	1,1
<i>C.dublinsiensis</i>	63	96,8	3,2	63	100	0,0
<i>C.lipolytica</i>	53	54,7	39,6	52	67,3	19,2
<i>C.pelliculosa</i>	38	94,7	0,0	38	100	0,0
<i>Candida spp</i>	4 245	86,6	8,2	4 094	92,7	4,7



**Figure 47 :** Comparaison entre l'activité du voriconazole et du fluconazole des espèces de *Candida* isolées.

- **Sensibilité au fluconazole :**

Concernant la sensibilité de *Candida sp.* au fluconazole, l'étude a montré que celui-ci a été plus actif sur *C.albicans* (97,8%), *C.parapsilosis* (93,2%), *C.lusitaniae* (93,3%), *C.dublinsiensis* (96,8%), *C.pelliculosa* (94,7%). Une sensibilité diminuée a été, par contre, observée pour *C.glabrata* (66,7%), *C.krusei* (9,4%), *C.guilliermondii* (9,8%), *C.rugosa* (39,3%), *C.famata* (79,8%), *C.inconspicua* (25,7%), *C.norvegensis* (50,0%), *C.lipolytica* (54,7%), *C.zeylanoides* (54,1%). Ces résultats confirment les données précédemment publiées concernant les espèces les plus courantes (*C.albicans*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis*, et *C.krusei*) et accroissent fortement les connaissances sur la présence ou l'absence d'activité du fluconazole sur les espèces moins fréquemment isolées (*C.rugosa*, *C.inconspicua*, *C.norvegensis*) [213-218].

- **Sensibilité au voriconazole :**

Concernant la sensibilité de *Candida sp.* au voriconazole, l'étude a montré que celui-ci a été plus actif sur *C.albicans* (98,6%), *C.parapsilosis* (96,8%), *C.tropicalis* (87,1%), *C.glabrata* (81,7%), *C.krusei* (83,2%), *C.guilliermondii* (91,2%), *C.lusitaniae* (96,4%), *C.kefyr* (99,1%), *C.norvegensis* (92,3%), *C.dublinsiensis* (100%), *C.pelliculosa* (100%), et *C.sake* (100%). Une sensibilité diminuée a été, par contre, observée pour *C.rugosa* (61,4%) et *C.lipolytica* (67,3%).

Par rapport à notre étude de l'HMIMV, cette étude montre des taux de sensibilité supérieurs aux différentes espèces de *Candida*. Les résultats des deux études étaient proches pour *C.albicans* et *C.tropicalis*, alors que la grande différence était nette pour *C.glabrata*. Effectivement, pour *C.albicans*, le taux de sensibilité était proche à celui de la présente étude avec un pourcentage de 93,9% (contre 98,6%) avec une différence de 4,6%. C'est le cas aussi de *C.tropicalis* avec une différence de 3,8% (83,33% contre 87,1%). *C.glabrata* a montré, quant à elle, une différence marquée de plus de 23% avec un pourcentage de sensibilité de 57,89% contre 81,7%. La seule et unique souche de *C.krusei* était sensible au voriconazole (tableau).

## ❖ Evolution de la résistance :

### • Au fluconazole :

L'évolution de la résistance des *Candida sp.* au fluconazole sur la période a montré qu'aucune augmentation ou diminution notable par rapport au temps des degrés de résistance au fluconazole de *C.albicans* et de *C.glabrata* n'a été observée. Alors que le degré de résistance des isolats de *C.tropicalis* avait diminué entre 1997-1998, des augmentations ont été constatées en 2002 et en 2003. Un léger accroissement des résistances a été observé au cours du temps pour *C.parapsilosis* et *C.kefyr*, alors qu'une forte augmentation de résistance a été constatée pour les souches de *C.rugosa*. Bien que *C.famata* soit apparu relativement résistante au fluconazole en 1997 et 1998, cela doit être imputé au faible nombre de souches étudiées. Au cours des cinq années suivantes, le nombre d'isolats de *C.famata* ayant progressivement augmenté jusqu'à dépasser 50 par an, le niveau de résistance s'est stabilisé entre 10 et 12%. Malgré l'augmentation du pourcentage globale d'isolats de *C.krusei* résistantes au fluconazole, cette observation n'est pas significative car cette espèce doit être considérée cliniquement résistante à cet antifongique. Le CLSI recommande de ne pas tester la sensibilité de cette espèce au fluconazole [33,62].

### • Au voriconazole :

Concernant l'évolution de la résistance au voriconazole des souches de *Candida sp.* depuis 2001 (date du commencement de son utilisation en clinique) à 2003. On a remarqué globalement une légère augmentation du pourcentage d'isolats de *Candida* résistants. Le taux est passé de 2,6% en 2001 à 3,5% en 2003. Cette élévation est due à l'accroissement de la résistance à cet antifongique de *C.glabrata*, *C.tropicalis*, *C.rugosa*, *C.lipolytica*, et des autres espèces de *Candida* non identifiées. En revanche, aucune variation de la résistance n'a été observée chez *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.krusei*. Par conséquent, le profil du voriconazole apparaît tout à fait favorable, tant au niveau du spectre que de l'activité thérapeutique contre *Candida*. Néanmoins, l'émergence de résistances requiert une surveillance étroite.

### Autres études :

Dans une autre étude dans CHU Timone Marseille, les auteurs ont analysé la tendance sur 20 mois (de février 1997 à septembre 1998) de la sensibilité de *C.albicans* aux antifongiques. Au total, 23 095 prélèvements provenant de 2 464 malades hospitalisés dans des services à haut

risque sont parvenus au laboratoire de mycologie.

L'analyse des données montre que 8 076 souches ont été isolées. 64,3% étaient représentées par *C.albicans*, 14,5% par *C.glabrata*. Le profil de sensibilité aux antifongiques pour *C.albicans* montre une diminution significative de la résistance au fluconazole, qui passe de 8,6% au début de l'étude à 0,7% à sa fin. Les résultats sont similaires pour l'itraconazole avec une résistance variant de 7,1% au début à 0,7% à la fin. Le pourcentage moyen des résistances est plus élevé dans les souches provenant de malades VIH+. Pour la flucytosine, aucune variation n'est observée (4,7%-2,6%). Toutes les souches se sont avérées sensibles à l'amphotéricine B et au kétoconazole [219].

Une autre étude, réalisée sur une période d'un mois en octobre 2004, a été proposée à 209 biologistes répartis dans 193 hôpitaux en France [1]. Cette étude était effectuée dans le cadre de l'enquête annuelle de surveillance des résistances des hôpitaux français non universitaires affiliés au collège de bactériologie virologie hygiène (ColBVH). Chaque centre devait recenser de façon prospective les épisodes de septicémies, incluant les candidémies. Les tests de sensibilité aux antifongiques ont été réalisés par les biologistes selon leur méthodologie habituelle et ont été réévalués par technique E-test® (AB Biodisk) sur milieu RPMI (AB Biodisk®).

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

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

Toujours en France, une autre étude prospective observationnelle a été conduite de janvier à décembre 2004 dans sept centres hospitaliers universitaires et dix centres hospitaliers non universitaires, membres du Groupe d'Epidémiologie et de Recherche en Infectiologie Clinique du Centre-Ouest (GERICCO) [220]. Tous les patients présentant une candidémie ont été inclus. L'étude de la sensibilité aux antifongiques des souches de *Candida* était réalisée soit par les

méthodes de référence du Clinical and Laboratory Standards Institute, anciennement National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI) [221] ou de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [222], soit par bandelette E-test. Un antifongogramme a été réalisé pour 142 des 193 souches (79 souches de *C.albicans*, 27 souches de *C.glabrata*, 18 souches de *C.parapsilosis*).

La répartition des différentes espèces isolées est : *C. albicans* (54,9%), *C.glabrata* (18,7%), *C.parapsilosis* (12,9%), *C.tropicalis* (4,7%), *C.krusei* (4,1%), *C.lusitaniae* (1,6%), *C.kefyr* (1%) et *C.guilliermondii* (0,5%).

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

Le voriconazole restait le plus souvent actif sur les souches de *C.glabrata* de sensibilité dose-dépendante au fluconazole, avec sept souches sur huit qui étaient sensibles. Toutefois, il existait un certain degré de résistance croisée entre ces deux molécules, les trois souches résistantes au fluconazole étant aussi résistantes au voriconazole. Cette résistance croisée entre les différents azolés vis-à-vis de *C.glabrata* a fréquemment été rapportée, et de nombreux auteurs recommandent la plus grande prudence avant d'envisager de traiter une infection invasive à *C.glabrata* par un antifongique de cette famille, notamment lorsqu'il existe une pré exposition au fluconazole [8, 27,201].

# CONCLUSION

## VI. CONCLUSION

*Candida albicans* et les levures appartenant au genre *Candida* sont les étiologies les plus fréquentes d'infections fongiques invasives. Ces deux dernières décennies ont vu une augmentation croissante des mycoses profondes chez les patients immunodéprimés. Parmi ces infections, les candidoses invasives constituent une menace majeure surtout en réanimation. Leur mortalité oscille entre 60 et 90%, ce taux important est principalement dû à la difficulté d'établissement d'un diagnostic rapide ce qui engendre un retard thérapeutique. De plus, les moyens thérapeutiques eux même présentent des limites qui s'illustrent en :

Une famille d'antifongiques cantonnée en quatre classes ;

Un spectre antifongique étroit.

Une toxicité élevée.

Une absence de forme orale.

Faire face à cette menace nécessite l'utilisation plus large des antifongiques existants et incite l'industrie pharmaceutique à rechercher de nouvelles molécules afin de mettre à disposition des professionnels de santé l'antifongique idéal. Celui-ci devrait avoir un spectre d'activité large et être plus au moins fongicide, ne pas présenter d'interférences négatives et être doué de propriétés pharmacocinétiques favorables et d'une faible toxicité. Il devrait, en outre, être disponible tant par voie orale que par voie intraveineuse. Enfin, il devrait avoir démontré son efficacité dans des essais randomisés portant sur des populations à risque.

La résistance confirmée de certaines souches aux antifongiques entraîne la mise en œuvre beaucoup plus systématique des tests de sensibilité mais l'absence actuelle de méthodes standardisées et fiables ainsi que le manque de corrélation *in vitro* / *in vivo* limitent leur généralisation. Ces tests n'apportent cependant pas une réponse infaillible à toutes les questions qui se posent dans le traitement des infections fongiques mais ils restent indispensables. Dans l'état actuel de la question, l'antifongigramme ne doit pas être banalisé : ses indications doivent être sélectionnées. Cette investigation est à réserver aux mycoses profondes et aux colonisations survenant chez des patients agressés ou immunodéprimés.

Du fait qu'il existe plusieurs méthodes, commercialisées ou non, permettant de réaliser un antifongigramme, le choix d'une méthode de routine fiable de la part des biologistes s'est

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

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

Notre étude de sensibilité aux antifongiques des souches de *Candida* isolées dans le CHU de Rabat, nous a permis de générer des informations sur le profil de résistance aux antifongiques systémiques de *Candida* au sein des différents services de réanimation.

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

## RESUME

**Titre de la thèse :** Profil de résistance des antifongiques aux souches de *Candida* isolées au HMIMV Rabat

**Auteur de la thèse:** Meriem AMMAR

**Directeur de thèse :** Pr B.E. LMIMOUNI

**Mots clés :** Genre *Candida* – Antifongigramme –antifongiques systémiques–profil-Résistance

**Objectifs :** Etablir le profil de résistance des souches de *Candida* isolées aux 7 antifongiques systémiques étudiés : fluconazole, itraconazole, miconazole, kétoconazole, clotrimazole, éconazole et la 5-flucytosine avec une évaluation de leurs sensibilité vis-à-vis ces souches et décrire l'épidémiologie des candidoses invasives dans les services de réanimation du l'HMIM V Rabat.

**Matériels et méthodes :** Notre étude prospective de 7 mois a inclus 52 souches de *Candida* issues de prélèvements divers (hémocultures et sites périphériques). Les patients inclus dans l'étude étaient hospitalisés dans 5 les services de Réanimation de CHU de Rabat. L'identification des souches de *Candida* était faite sur milieu d'isolement Candiselect® et la sensibilité in vitro aux antifongiques était réalisée par diffusion en milieu gélosé des disques.

**Résultats :** Parmi les prélèvements effectués, 46,1% étaient des hémocultures et 53,9% représentaient des sites périphériques. *Candida non albicans* représentait 63,5% alors que *C.albicans* ne représentait que 36,5%. 6 espèces différentes de *Candida* étaient identifiées. Dans les prélèvements des sites périphériques, *C.albicans* était la plus fréquente avec 36,5% suivie de *C.tropicalis* et puis *C.glabrata*. Les hémocultures à *Candida glabrata* représentaient le plus grand pourcentage (41,7%), alors que celles à *C.albicans* ne représentaient que le 33,3%. Les espèces isolées montrent des sensibilités différentes vis-à-vis des sept antifongiques testés, le pourcentage de résistance de chaque antifongique est comme suit : 59,62% pour le fluconazole, 46,2% pour le voriconazole et la 5-flucytosine, 23,1% pour le miconazole, 21,2% pour le kétoconazole et le clotrimazole et 19,2% pour l'éconazole.

**Discussion :** La distribution des espèces, comme l'indique la littérature, montre une prédominance de *Candida non albicans* sur *C.albicans*. *C.glabrata* est l'espèce la plus isolées après *C.albicans*. Elle est isolée en première ligne des hémocultures, ce qui diffère des données des Etats Unis où elle représente la deuxième cause de candidémie. Il a été proposé que le changement de distribution des espèces puisse résulter de pressions sélectives imposées par l'utilisation accrue des agents antifongiques tels que des azolés. L'étude de la sensibilité des souches isolées vis-à-vis des sept molécules d'antifongiques disponible, prouve que le kétoconazole est le plus efficace sur les levures du genre *Candida* avec une sensibilité de 73,1%, suivie du clotrimazole avec une sensibilité de 69,2%, en troisième classe vient l'éconazole par 63,5% de souches sensible. En revanche les fréquences de résistance les plus élevées appartiennent au fluconazole et le voriconazole avec respectivement 50% et 46,2%. Cette sensibilité importante au kétoconazole est expliquée par le fait que c'est une molécule qui n'est pas commercialisée au Maroc et donc n'a pas encore subie de pression de sélection.

**Conclusion :** Nécessité d'une surveillance épidémiologique continue des candidoses afin de suivre les tendances de distribution des levures et de leurs profils de résistance aux antifongiques pour la mise en place de lignes directives pour leurs traitements. Parallèlement, une maîtrise des techniques d'antifongigramme disponibles s'impose. Le point reste à poser sur les candidémies pour qui une prudence s'impose lorsqu'on envisage de traiter par les antifongiques dans une situation susceptible de générer une résistance.

## ملخص:

**عنوان الرسالة:** دراسة مقاومة سلالة الخمائر من نوع المبييضات (*Candida*) لمضاد الفطريات معزولة في المستشفى

العسكري بالرباط

**الطالبة:** مريم عمار

**المشرف:** البروفيسور

بدراالدين الميموني

**الكلمات الأساسية:** جنس المبييضات (*Candida*) - Antifongigramme - المقاومة- مضادات الفطريات

**الأهداف:** تتجلى أهداف دراستنا في تقييم مؤهلات مقاومة سلالات المبييضات المعزولة لسبعة مضادات الفطريات:

فلوكونازول (*Fluconazole*)، الايتراكونازول (*Itraconazole*)، ميكونازول (*Miconazole*)، الكيتوكونازول (*Kétoconazole*)، كلوتريمازول (*Clotrimazole*)، إيكونازول (*Econazole*) و 5-فلوسيتوزين (5-*Flucytosine*) مع تقييم حساسية تجاه هذه السلالات ثم وصف وبائياتها في وحدة العناية المركزة بالمستشفى العسكري بالرباط (HMIM V)

**المواد والأساليب:** شملت دراستنا الاستطلاعية التي استمرت لمدة سبعة اشهر 52 سلالة مبيضية (*Candida*) استخرجت من مختلف العينات (دم و مواقع هامشية). المرضى الذين تم دمجهم في الدراسة هم المرضى المعالجين في مختلف مصالح الإنعاش بالمراكز الإستشفائية بالرباط.

وقد تم تحديد سلالات المبييضات عن طريق وضعها في وسط عزل (*Candiselect*®) و تمت دراسة الحساسية في المختبر لمضادات الفطريات السبعة عن طريق نشر الأقراص في وسط أغار.

**النتائج:** من بين العينات المأخوذة، كانت 46.1% عينات دموية و 53.9% عينات من مواقع هامشية. شكلت *Candida non albicans* أكثر نسبة 63.5%، في حين شكلت *C.albicans* فقط 36.5%. لقد تم تحديد 6 أنواع مختلفة من المبييضات في عينات من مواقع هامشية، كانت *C.albicans* الأكثر انتشارا ب 36,5% متبوعة ب *C.glabrata* ثم ب *C.tropicalis*.

وشكلت *C.Glabrata* الثقافات في الدم لأكثر نسبة (41.7%)، في حين تمثل *C.Albicans* فقط 33.3%. الأنواع المعزولة تظهر حساسيات مختلفة لمضادات للفطريات 7 المختبرة، فالنسبة المئوية للمقاومة الفطرية لكل منها على النحو التالي: 59,62% للفلوكونازول، 46.2% للفلوريكونازول (*voriconazole*) و 5-فلوسيتوزين (*5-Flucytosine*)، 23,1% للميكونازول (*Miconazole*)، 19,2% و (*Kétoconazole*) و 21,2% إيكونازول (*Econazole*) و (*Clorimazole*) و (*Clorimazole*) و إيكونازول (*Econazole*).

**المناقشة:** إن توزيع الأنواع، كما تدل باقي الدراسات يظهر غلبة *Candida non albicans* على *Candida albicans* من كل العينات. *C.glabrata* هو أكثر الأنواع معزولة بعد *C.Albicans* في حين تم عزلها عند أغلبية المرضى من الاستنباتات الدموية حيث أنها شكلت الرتبة الأولى، مما يختلف عن البيانات الأمريكية حيث تمثل *C.glabrata* السبب الثاني في تعفن الدم. واقترح أن تغير في توزيع الأنواع قد تنتج عن الضغوط الانتقائية التي فرضها زيادة الاستعمال المفرط لمضادات الفطريات مثل الأزولات (*Azols*).

تؤكد دراسة حساسية السلالات المعزولة للمضادات الفطرية السبعة المدروسة ان الكيتوكونازول هو الأكثر فعالية على الخمائر المبيضية بنسبة 73%، تليه الكلوتريمازول بنسبة 69%، في المرتبة الثالثة يأتي الايكونازول بنسبة 63,5%. في المقابل، المقاومات الأكثر نسبة هي للفلوريكونازول الكيتوكونازول، وتفسر هذه الحساسية بعدم تسويقها بالمغرب. **استنتاج:** يجب التأكيد على الحاجة للترصد الوبائي المستمر للمبييضات لرصد أنماط توزيعها و مؤهلات حساسيتها لمضادات الفطريات وذلك لوضع مبادئ توجيهية للعلاج. في الوقت نفسه يجب التمكن من تقنيات دراسة الحساسية في المختبر لمضادات الفطريات. بالنسبة لتعفن الدم بالفطريات المبيضية يجب توخي الحذر في العلاج خاصة عند استخدام مضادات الفطريات، من المرجح أن تولد مقاومة ضدها.

# SUMMARY

**Thesis Title:** Profile of antifungal resistant strains of *Candida* yeasts isolated at the HMIMV Rabat

**Author of the thesis:** Meriem AMMAR

**Supervisor:** Prof. B.E. LMIMOUNI

**Keywords:** Gender *Candida* - Antifongigramme-systemic antifungal -resistance-profile

**Objectives:** To establish the resistance profile of *Candida* strains isolated from the seven studied systemic antifungals: fluconazole, itraconazole, miconazole, ketoconazole, clotrimazole, econazole and 5-flucytosine with evaluation of their sensitivity rates and to describe the epidemiology of invasive candidiasis in the intensive care unit of the HMIM V Rabat.

**Materials and methods:** Our prospective study included 52 *Candida*'s strains from various samples (blood and peripheral sites). Patients included in the study were hospitalized in the intensive care units. Identification of *Candida*'s strains was done on the medium Candiselect® and in vitro susceptibility to antifungal molecules was performed by agar diffusion discs.

**Results:** Of the samples taken, 46.1% had blood cultures and represented 53.9% of the peripheral sites. *Candida albicans* accounted for 63.5% no whereas *C. albicans* accounted for only 36.5%. 6 different species of *Candida* were identified. In specimens from peripheral sites, *C. albicans* was the most frequent with 36.5% followed by *C.tropicalis* and then *C.glabrata*. Blood cultures in *Candida glabrata* accounted for the largest percentage (41.7%), while those with *C. albicans* accounted for only 33.3%. Isolated species show different sensitivities from the seven antifungal tested, the percentage of fungal resistance of each is as follows: 59.62% for fluconazole, voriconazole to 46.2%, and 5-flucytosine, 23, 1% miconazole, ketoconazole 21.2% and 19.2% clotrimazole and econazole.

**Discussion:** The species distribution, as shown in the literature, shows a predominance of *Candida non albicans* on *C.albicans*. *C.glabrata* is the species the most isolated after *C. albicans*. It is isolated in blood cultures on the first line, which differs from U.S.A data that it represents the second cause of candidemia.It was suggested that the change in distribution of species may result from selective pressures imposed by the increased use of antifungal agents such as azoles.The study of the sensitivity of strains isolated from seven molecules of antifungals available, shows that ketoconazole is most effective on *Candida* yeasts with a sensitivity of 73.1%, followed by clotrimazole with a sensitivity of 69.2 % third class is econazole by 63.5% of strains sensitive. In contrast, resistance frequencies belong to the highest fluconazole and voriconazole with respectively 50% and 46.2%. This high sensitivity to ketoconazole is explained by the fact that it is a molecule that is not marketed in Morocco and therefore has not undergone selection pressure.

**Conclusion:** The need for continuous epidemiological surveillance candidiasis to monitor trends in distribution of yeast and their antifungal resistance profiles for the establishment of guidelines for their treatment. Meanwhile, a mastery of techniques available antifongigramme is required. The point is to ask about candidemia for whom caution should be exercised when considering treatment with antifungals in a situation likely to generate resistance.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- [1] **Eloy O, Blanc V, Pina P, Gaudart A, Bressolle M-L, Plainvert C, Decousser J-W, Pangon B, Allouch P-Y, le Collège de Bactériologie Virologie Hygiène (Co1BVH).**Épidémiologie des fongémies dans les hôpitaux français non universitaires en 2004 : enquête multicentrique Co1BVH.*Pathologie Biologie***2006**; 54 : 523-530
- [2] **Lanternier F, Lortholary O.** Anidulafungine : une nouvelle option thérapeutique dans les candidoses systémiques.*Médecine et maladies infectieuses***2010**; 40 : 440-448
- [3] **Paterson DL, Singh N.***Aspergillus* infections in transplant recipients. *Clin Microbiol Rev***2005**; 18: 44-69.
- [4] **Wisplinghof H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB.** Current trends in the epidemiology of nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms in hospitals in the United States. *Clin Infect Dis***2003**; 36:1103-10.
- [5] **Darty A, Thellier M, Traoré B, Alfa Cissé O, Danis M.** Utilisation des antifongiques dans le traitement des candidoses systémiques: antifongigramme, point sur les résistances, données pharmacologiques.*Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS***2001**; 20 : 389-93
- [6] **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.
- [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.** Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* **2007**;20:133–63.

- [9] **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.
- [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] **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.
- [12] **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.
- [13] **Anane S, Khalfallah F.** Diagnostic biologique des candidoses systémiques: difficultés et perspectives. *Pathologie Biologie* **2007** ; 55 : 262-272
- [14] **Dupont B.** Nouveaux antifongiques : voriconazole et caspofungine. *Archives de pédiatrie* **2003** ; 10 Suppl. : 592s-598s
- [15] **Dannaoui E.** Intérêt des tests de sensibilité in vitro dans la prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives. In: conférence de consensus commune SFAR, SPILF. Paris: SRLF, *Elsevier Ed*; **2004**. p. 52-9.
- [16] **Pfaller MA, Diekema DJ.** International fungal surveillance participant group. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. *Clin Microbiol Infect* **2004**; 10 (Suppl.1):11-23.

- [17] **Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, et al.** Epidemiology of candidemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2004**; 23:317-22.
- [18] **Redding SW, Pfaller MA, Messer SA, et al.** Variations in fluconazole susceptibility and DNA subtyping of multiple *C.albicans* colonies from patients with AIDS and oral candidiasis suffering from one or more episodes of infection. *J Clin Microbiol* **1997**; 35:1761-5.
- [19] **Rex JH, Pfaller MA, Galgiani JN, Bartlett MS., Espinellngroff A., Ghannoum MA., et al.** Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. Development of interpretative breakpoints for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of in vitro-in vivo correlation data for fluconazole, itraconazole, and *Candida* infection. *Clin Infect Dis* **1997**; 24:235-47.
- [20] **Richet H, Roux P, Des Champs C, Esnault Y, Andremont A, French Candidemia Study Group.** Candidemia in French hospitals: incidence rates and characteristics. *Clin Microbiol Infect* **2002**; 8:405-12.
- [21] **Barchiesi F, Azzeni D, De Prete MS, Sinicco A, Falconi di Francesco L, Pasticci MB et al.** Fluconazole susceptibility and strain variation of *Candida albicans* isolates from HIV infected patients with oropharyngeal candidosis. *J Antimicrob Chemother* **1998**; 41:541-8.
- [22] **Bosehman CR, Bodnar UR, Tornatore MA, Obias AA, Noskin GA, Englund et al.** Thirteen years evolution of azole resistance in yeast isolates and prevalence of resistance strains carried by cancer patients at a large medical center. *Antimicrob Agents Chemother* **1998**; 42:734-8.
- [23] **White A, Goetz MB.** Azole resistant *C.albicans*; report of two cases of resistance to fluconazole and review. *Clin Infect Dis.* **1994**; 19: 687-92
- [24] **Éloy O, Lemaire P, Roubache JF, Pina P, Favre A, Chenard C, Decousser JW, Greder Belan A, Ghnassia J-C.** Acquisition de la résistance aux azolés de *C.albicans* au cours de candidoses oropharyngées chez le sujet VIH<sup>+</sup>. *J. Mycol. Méd.* **1998** ; 8 : 78-82.

- [25] **Sanglard D.** Mécanismes de résistance. In : Infections fongiques : Résistances et nouvelles modalités thérapeutiques, JIDIF : *Optimed Ed* **2003** : 29-46
- [26] **Morin O.** Historiques des antifongiques et évolution de l'épidémiologie. In : Infections fongiques : résistances et nouvelles modalités thérapeutiques, JIDIF : *Optimed Ed* **2003** : 11-28
- [27] **Magill SS, Shields C, Sears CL, Choti M, Merz WG.** Résistance croisée aux dérivés triazolés chez *Candida sp.* : Observation, fréquence dans les isolats sanguins et implications pour les traitements antifongiques. *Journal de Mycologie Médicale* **2007** ; 17 : S1-S10
- [28] **Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M.** Comparison of the antifungal susceptibility testing subcommittee of the European committee on antibiotic susceptibility testing proposed standard and the Etest® with the NCCLS broth microdilution method for voriconazole and caspofungin susceptibility testing of yeast species. *J Clin Microbiol* **2002**; 40:3841-4.
- [29] **Drouhet E, Barale T, Bastide J, Mallié M, Biava MF, Kures L, et al.** Standardisation de l'antibiogramme antifongique. Rapport du groupe d'études de la Société française de mycologie médicale. *Bull Soc Myc Med* **1981**; 10:131-4.
- [30] **Druetta A, Freydière A, Guinet R, Gille Y.** Evaluation of five commercial antifungal susceptibility testing systems. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1993**; 12:336-42.
- [31] **European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing.** EUCAST discussion document E.Dis 7.1 June 2002. Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. *Clin Microbiol Infect* **2003**; 9:1-8
- [32] **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. Approved standard M38-A. *National Committee for Clinical Laboratory Standards* **1998**, Wayne, PA.
- [33] **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast, 2nd ed. Approved standard M27-A2. *National Committee for Clinical Laboratory Standards* **2002**, Wayne, PA.

- [34] **Pfaller JB, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA.** In vitro susceptibility testing of *Aspergillus spp.*: comparison of Etest® and reference microdilution method for determining voriconazole and itraconazole MICs. *J Clin Microbiol* **2003**; 41:1126-9
- [35] **Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ.** Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion and Etest® methods: report from the ARTEMIS global antifungal susceptibility program, 2001. *J Clin Microbiol* **2003**; 41:1440-6.
- [36] **Chabasse D, Guiguen C, Contet-Audonneau N.** Mycologie médicale. *Masson* **1999** : 122-125
- [37] **Grillot R, Lebeau B, Alderbert D, Faure O, Bille J, Woff M.** Corrélation in vitro/in vivo. Détermination de la sensibilité aux antifongiques au laboratoire. In: Infections fongiques: résistances et nouvelles modalités thérapeutiques, JIDIF : *Optimed Ed* **2003** : 47-71
- [38] **Ariane G.** Comparaison de méthode de deux antifongigramme : ATB FUNGUS3® et carte Vitek AST-YS01®. ICHV, laboratoire de bactériologie, Sion. *Travail de diplôme*; **2008-2009**
- [39] **Eraso E, Ruesga M, Villar-Vidal M, Javier Carrillo-Muñoz A, Espinel-Ingroff A and Quindós G.** Comparative evaluation of ATB Fungus 2 and Sensititre YeastOne panels for testing in vitro *Candida* antifungal susceptibility. *Rev Iberoam Micol* **2008**; 25: 3-6
- [40] **Durussel C, Parreno D, Nougier L, Monnin V, Zambardi G, Bille J.** Comparative study of various methods, NCCL M27-A2, EUCAST and ATB Fungus 2 (bioMérieux) for the in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida sp.* *Clin Microbiol Infect* **2004**; 10 (Suppl. 3): 112-113.
- [41] **Torres-Rodríguez JM, Alvarado-Ramírez E.** In vitro susceptibilities to yeasts using the ATB FUNGUS 2 method, compared with Sensititre Yeast One and standard CLSI (NCCLS) M27-A2 methods. *J Antimicrob Chemother* **2007**; 60: 658-661.
- [42] **Sevtap A, Rex J.** Fungal drug resistance essays. In Antimicrobial Drug Resistance: Clinical and Epidemiological Aspects. Volume 2: Clinical and epidemiological aspects. *Springer* **2009**: 1171-1187

- [43] **Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the ESCMID, European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing.** Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. EUCAST Discussion Document E.Dis 7.1. Munich, Germany: *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases: June 2002*.
- [44] **Cuenca-Estrella M, Moore CB, Barchiesi F, Billet, Chryssanthou E, Denning DW et al.** Multicenter evaluation of the reproducibility of the proposed antifungal susceptibility testing method for fermentative yeasts of the Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (AFST-EUCAST). *Clin Microbiol Infect* **2003**; 9(6):467-474.
- [45] **Cuenca-Estrella M, Lee-Yang W, Ciblak MA, Menado E, Warnock DW, et al.** Comparative evaluation of NCCLS M27-A and EUCAST broth microdilution procedures for antifungal susceptibility testing of *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother* **2002**; 46(11):3644-3647.
- [46] **Lass-Flörl C, Cuenca-Estrella M, Denning DW, Rodriguez-Tudela JL.** Antifungal susceptibility testing in *Aspergillus spp.* according to EUCAST methodology. *Med Mycol* **2006**; 44:S319-S325.
- [47] **Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M.** Comparison of the EUCAST/AFST broth dilution method with the CLSI reference broth dilution method (M38-A) for susceptibility testing of posaconazole and voriconazole against *Aspergillus spp.* *Clin Microbiol Infect* **2006**; 12(9):901-904.
- [48] **Lass-Flörl C et al.** In vitro susceptibility testing in fungi: A 185 global perspective on a variety of methods. *Mycoses* **2010**; 53:1-11
- [49] **Cuenca-Estrella M et al.** Frequency of voriconazole resistance in vitro among Spanish clinical isolates of *Candida spp.* according to breakpoints established by the antifungal subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2010**; 8:267-276.
- [50] **Johnson EM** *Antimicrob Chemother.* **2008**; 61: 113-118.

- [51] **Clinical Laboratory Standards Institute.** Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast; Approved Standard, M27-A2. Wayne, PA: *Clinical Laboratory Standards Institute*, 2008.
- [52] **Verweij PE et al.** Drug resistance updates 2009; 12: 141-147
- [53] **Yang HC, Mikami Y, Yazawa K, Taguchi IL, Nishimura K, Miyaji M, et al.** Colorimetric MTT assessment of antifungal activity of D0870 against fluconazole-resistant *Candida albicans*. *Mycoses* 1998; 41(11-12):477-480.
- [54] **Hawser SP, Norris H, Jessup CJ, Ghannoun MA.** Comparison of a 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-5-1(phenyl-amino)carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide (XTT) colorimetric method with the Standardized National Committee for Clinical Laboratory Standards method of testing clinical yeast isolates for susceptibility to antifungal agents. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1450-1452.
- [55] **Espinel-Ingroff A, Pfaller M, Messer SA, Knapp CC, Killian S, Norris HA, Ghannoun MA.** Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne Colorimetric Antifungal Plate with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37: 591-595.
- [56] **Linas MD, Cassaing S.** Méthodes d'évaluation in vitro des antifongiques: étude comparative des différents tests. *Revue française des laboratoires* 2001. N°332
- [57] **Sanofi Pasteur.** Protocole de la galerie Fungitest.
- [58] **Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekely A, and Warnock DW.** Comparative evaluation of Fungitest and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Clinical Microbiology* 1998, vol. 36 N°4: 926-930
- [59] **Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, Fuchs PC, Brown SD.** Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth micro-dilution, Etest, and disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(6):1781-1784.

- [60] **Meis J, Petrou M, Bille J, Ellis D, Gibbs D.** A global evaluation of the susceptibility of *Candida* species to fluconazole by disk diffusion. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2000**; 36(4):215-223.
- [61] **National Committee for Clinical Laboratory Standards 2002.** Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: approved guidance M44-A. *National Committee for Clinical Laboratory Standards* **2004** Wayne, Pa
- [62] **Lee S-C, Ring C-P, Lee N, See L-C, Huang J-S, Tsai C-1, et al.** Fluconazole disk diffusion test with methylene blue- and glucose enriched Mueller Hinton agar for determining susceptibility of *Candida* species. *J Clin Microbiol* **2001**; 39:1615-1617.
- [63] **Canton E et al.** Trends in antifungal susceptibility testing using CLSI reference and commercial methods. *Expert Rev. Anti Infect Ther.* **2010**; 7:107-119.
- [64] **Brown S, Traczewski M.** Quality control limits for posaconazole disk susceptibility tests on Mueller-Hinton agar with glucose and methylene blue. *J Clin Microbiol* **2007**; 45(1):222-223.
- [65] **Sims CR, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Ostrosky-Zeichner L.** Correlation between microdilution. E-test and disk diffusion methods for antifungal susceptibility testing of posaconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol* **2006**; 44(6):2105-2108.
- [66] **Lozano-Chio M, Nelson PW, Paetznick VL, Rex JH.** Disk diffusion method for determining susceptibilities of *Candida* spp. to MK-099 I. *J Clin Microbiol* **1999**; 37(5):1625-1627.
- [67] **Girmenia C, Pizzarelli G, D'Antonio D, Cristini F, Martino P.** In vitro susceptibility testing: comparison of the E-test. Disk diffusion and Sensititre colorimetric methods in the NCCLS M27-A2 broth microdilution reference method. *Antimicrob Agents Chemother* **2003**; 47(12):3985-3988.
- [68] **Arikan S, Paetznick V, Rex JH.** Comparative evaluation of disk diffusion with microdilution assay in susceptibility testing of caspofungin against *Aspergillus* and *Fusarium* isolates. *Anti Microb Agents Chemother* **2002**; 46(9):3084-3087.
- [69] **Arikan S, Yurdakul P, Hascelik G.** Comparison of two methods and three end points in determination of in vitro activity of micafungin against *Aspergillus* spp. *Antimicrob Agents Chemother* **2003**; 47(8):2640-2643.

- [70] Messer SA, Diekema DJ, Hollis RI, Boyken LB, Tendolkar S, Kroeger J, et al. Evaluation of disk diffusion and Etest compared to broth microdilution for antifungal susceptibility testing of posaconazole against clinical isolates of filamentous fungi. *J Clin Microbiol* 2007;45(4): I 322-1324.
- [71] Lopez-Oviedo E, Aller AI, Martin C, Castro C, Ramircz M, Peman JN, et al. Evaluation of disk diffusion method for determining posaconazole susceptibility of filamentous fungi: comparison with CLSI broth microdilution method. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(3):1108-1111.
- [72] Espinel-Ingroff A, Arthington-Skaggs B, Iqbal N, Ellis D, Pfaller MA, Messer S, et al. Multicenter evaluation of a new disk agar diffusion method for susceptibility testing of filamentous fungi against voriconazole, posaconazole, itraconazole, amphotericin B. and caspofungin. *J Clin Microbiol* 2007; 45(6):1811-1820.
- [73] Fernandez-Torres B, Carrillo-Munoz A, Inca I, Guarro J. Effect of culture medium on the disk diffusion method for determining antifungal susceptibilities of dermatophytes. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(6):2222-2224.
- [74] Venugopal PM, Venugopal TV. Disk diffusion susceptibility testing of dermatophytes with allylamines. *Int J Dermatol* 1994; 33(10):730-732.
- [75] Matar Mi, Ostrosky-Zeichner L, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Rex JH. Correlation between E-test, disk diffusion, and microdilution methods for antifungal susceptibility testing of fluconazole and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(5):1647-1651.
- [76] Rementeria A, Sanchez-Vargas LO, Villar Nt Casals JB, CarrilloMunoz Ai, Andres CR, et al. Comparison of tablet and disk diffusion methods for fluconazole and voriconazole in vitro activity testing against clinical yeast isolates. *J Chemother* 2007; 19(2):172-177.
- [77] Espinel-Ingroff A, Canton E, Gibbs D, Wang A. Correlation of Neo-Sensitabs tablet diffusion assay results on three different agar media with CLSI broth microdilution M27-A2 and disk diffusion M44-A results for testing susceptibilities of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* to amphotericin B, caspofungin, fluconazole, itraconazole, and voriconazole. *J Clin Microbiol* 2007;45(3):858-864.

- [78] **Bourouda N.** Place de l'antifongogramme dans la prise en charge des infections fongiques. **Thèse de Doctorat de Pharmacie. 2010**
- [79] **Rosco Diagnostica A/S.** NEO-SENSITABS Antifungal Agents: Product list **2009**
- [80] **Pfaller MA et al:** Evaluation of the Etest and disk diffusion methods for determining susceptibilities of 235 bloodstream isolates of *C.glabrata* to Fluconazole and Voriconazole. *J. Clin. Microbiol***2003**: 41, 1875-80.
- [81] **Espinel-Ingroff A, Canton E.** Comparison of three antifungal susceptibility methods for testing *Candidaspp.* /*Cryptococcus neoformans* with Caspofungin (CAS) and Amphotericin B (AMB). Abstract, presentation M1604, *45th ICAAC, 2005*.
- [82] **Pfaller MA et al.** Correlation of MIC with outcome for *Candidaspp.* tested against voriconazole: analysis and proposal for interpretative breakpoints. *J. Clin. Microbio* **2006**: 44, 819-26.
- [83] **Sims CR et al.** Correlation between microdilution, E-test and disk diffusion methods for antifungal susceptibility testing of Posaconazole against *Candidaspp.* *J. Clin. Microbiol.***2006**: 44, 2105-8
- [84] **Espinel-Ingroff A.** Comparison of 3 commercial assays and a modified disk diffusion assay with 2 broth microdilution Reference Assays for testing zygomycetes, *Aspergillus spp.*, *Candida spp.* and *Cryptococcus neoformans* with Posaconazole and Amphotericin B. *J. Clin. Microbio.* **2006**: 44, 3616-22.
- [85] **Espinel Ingroff A et al.** Correlation of Neo-Sensitabs Tablet diffusion assay on 3 media, with CLSI broth microdilution M27-A2 and Disk Diffusion M44A methods for susceptibility testing of *Candida spp.* and *Cryptococcus neoformans* with Amphotericin B, Caspofungin, Fluconazole, Itraconazole and Voriconazole – In Press.
- [86] **Cuenca-Estrella M et al.** Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *Candidaspp.* of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) and four commercial techniques.
- [87] **Espinel-Ingroff A et al.** International and multicenter comparison of EUCAST and CLSI M27-A2 broth microdilution methods for testing susceptibilities of *Candidaspp.* to fluconazole, itraconazole, posaconazole and voriconazole. *J. Clin. Microbiol.* **2005**: 43, 3884-9.

- [88] **AB bioMérieux.** E test: Antimicrobial susceptibility testing for in vitro diagnostic use. *Copyright AB bioMérieux*2009.
- [89] **Wanger A, Mills K, Nelson PW, Rex JH.** Comparison of E test and national committee for clinical laboratory standards north macrodilution method for antifungal susceptibility testing: enhanced ability to detect amphotericin B resistant *Candida* isolates. *Antimicrob Agents Chemoter*1995; 39: 2520-2
- [90] **Pfaller MA, Messer SA, Mills K, Bolmstrom A.** in vitro susceptibility testing of filamentous fungi: comparison of Etest and reference microdilution methods for determining itraconazole MICs. *J Clin Microbiol*2000; 38: 3359-61
- [91] **Peyron F, Favel A, Michel-Nguyen A, Gilly M, Regli P, Bolmstrom A.** improved detection of amphotericin B resistant isolates of *Candida lusitanae* by Etest. *J Clin Microbiol*2001; 39: 339-42
- [92] **Szekely A, Johnson EM, Warnock DW.** Comparison of Etest and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of molds.*J Clin Microbiol* 1999; 37: 1480-3
- [93] **Barbara D, Alexanderand Michael A, Pfaller.** Contemporary Tools for the Diagnosis and Management of Invasive Mycoses. *Clinical Infectious Diseases*2006; 43:S15-27
- [94] **Zambardi G, Parreno D, Monnin V, Fothergill A, Hurt L, Bassel A, McCarthy D, Canard I, Slaughter J, ICAAC.** Poster M-1619, December 2005
- [95] **Lortholary O.** Épidémiologie et émergence de souches résistantes: quel profil pour un antifongique idéal? *J Mycol Med* 2004 ; 14 : 221-225
- [96] **Walmsley S, King S, McGeer A, Ye Y, Richardson S.** Oropharyngeal candidiasis in patients with VIH: correlation of clinical outcome with in vitro resistance, serum azolé levels, and immunosuppression. *Clin Infect Dis*2001; 32 :1554-61
- [97] **Rex JH, Pfaller MA, Barry AL, Nelson PW, Webb CD.** Antifungal susceptibility testing of isolates from a randomized, multicenter trial of fluconazole versus amphotericin B as treatment of non neutropenic patients with candidemia. NIAID Mycoses Study Group and the Candidemia Study Group. *Antimicrob Agents Chemoter*1999; 39: 40-4

- [98] **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A. *National Committee for Clinical Laboratory Standards* 1997; Wayne, PA.
- [99] **Te Dorsthorst DT, Verweij PE, Meis JF, Punt NC, Mouton JW.** Comparison of fractional inhibitory concentration index with response surface modeling for characterization of in vitro interaction of antifungals against itraconazole-susceptible and -resistant *Aspergillus fumigatus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:702-7.
- [100] **Blanc V, Eloy O., Sanchez C R, Mallié M, Collège de Bactériologie Virologie Hygiène (CoIBVH).** Pratique de l'antifongogramme dans 62 hôpitaux français. *Journal de Mycologie Médicale* 2005 ; 15 : 197-210
- [101] **Rex JH, Pfaller MA, Walsh T, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, et al.** Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:643-8.
- [102] **Rieu P, Eloy O, Bertout S, Maillé M, Bain P, Blanc V.** Sensibilité comparée par CLSI, EUCAST, E-test et ATB® Fungus 2 des souches de *Candida sp.* isolées au cours d'une enquête épidémiologique sur les candidémies dans des hôpitaux non universitaires. *Journal de Mycologie Médicale* 2009 ; 19 : 94-103
- [103] **Eloy O, Blanc V, Mallié M, Decousser JW, Pina P, Allouch PY and le collège de bactériologie virologie hygiène (CoIBVH).** Identification et sensibilité aux antifongiques de deux souches de *Candida* dans 95 hôpitaux français. *Journal de Mycologie Médicale* 2005 ; 15, Issue 3 :117-126
- [104] **Chandrasekar PH, Manavathu E.** Voriconazole: a second generation triazole. *Drugs of Today* 2001 ; 37 (2): 135-48
- [105] **Como JA., Dismukes WE.** Oral azoles drugs as systemic antifungal therapy. *N Eng J Med* 1994; 27, 330 (4): 263-72
- [106] **Aoun M.** Voriconazole (Vfend®) : une nouvelle arme contre les mycoses invasives. *Rev Med Brux* 2004; 25: 166-71
- [107] **Carrillo-Muñoz AJ, Giusiano G, Ezkurra PA, and Quindós G.** Antifungal agents: mode of action in yeast cells. *Rev. Esp. Quimioter* 2006; 19:130-139.

- [108] **Hitchcock CA, Pye GW, Oliver GP, Troke PF.** UK-109, 496, a novel, wide-spectrum triazole derivative for the treatment of fungal infections: antifungal activity and selectivity in vitro. Thirty fifth interscience conferences on antimicrobial agents and chemotherapy, Washington (1995) Abstract F-75.
- [109] **Sanati H, Belanger P, Fratti R, Ghannoum M.** A new triazole, voriconazole (UK-109,496) blocks sterol biosynthesis in *Candidaalbicans* and *Candidakrusei*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:2492-6.
- [110] **Ghannoum MA, Kuhn DM.** Voriconazole: better chances for patients with invasive mycoses. *Eur J Med Res* 2002; 7: 242-56
- [111] **Pfaller MA, Diekma DJ, Jones RN. et al.** International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species ; frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3254-9
- [112] **Espinel-Ingroff A.** In vitro activity of the new triazole voriconazole (UK-109,496) against opportunistic filamentous and dimorphic fungi and common and emerging yeast pathogens. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 198-202.
- [113] **Manavathu EK, Cutright JL, Loebenberg D, Chandrasekar DH.** A comparative study of the in vitro susceptibilities of clinical and laboratory-selected resistant isolates of *Aspergillus spp.* to amphotericin B, itraconazole, voriconazole, and posaconazole (SCH-56592). *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 229-34.
- [114] **Espinel-Ingroff A.** In vitro fungicidal activities of voriconazole, itraconazole, and amphotericin B against opportunistic moniliaceous and dematiaceous fungi. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 954-958.
- [115] **Pfizer.** Monographie du produit Vfend®. **Kirkland, Québec; 17 août 2004.**
- [116] **Hoffman HL, Rathbun RC.** Review of the safety and efficacy of voriconazole. *Expert Opin Investig Drugs* 2002; 11: 409-29.
- [117] **Purkins L, Wood N, Ghahramani P, Greenhalgh K, Allen MJ, Kleinermans D.** Pharmacokinetics and safety of voriconazole following intravenous-to oral-dose escalation regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2546-53.
- [118] **Taketomo CK HJ, Kraus DM.** *Pediatric Dosage Handbook*; 2003

- [119] **Espinel-Ingroff A, Boyle K, Sheehan D.** Activités antifongiques in vitro du voriconazole et des composés de référence, déterminées par les méthodes du NCCLS : synthèse de la littérature. *Mycopathologia* **2001** ; 150 : 101-115
- [120] **Hoban DJ, Zhanel GG, Karlowsky JA.** In vitro susceptibilities of *Candida* and *Cryptococcus neoformans* isolates from blood cultures of neutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43(6): 1463-1464.
- [121] **Pfaller MA, Messer SA, Gee S, Joly S, Pujol C, Sullivan Coleman DC, Soll DR.** In vitro susceptibilities of *Candida dubliniensis* isolates tested against the new triazole and echinocandin antifungal agents. *J Clin Microbiology* **1999**; 37(3): 870-872.
- [122] **Barry AL, Brown SD.** In vitro studies of two triazole antifungal agents (voriconazole UK-109,496 and fluconazole) against *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother* **1996**; 40 (8): 1948-1949.
- [123] **Nguyen MH, Yu CY.** Voriconazole against fluconazole susceptible and resistant *Candida* isolates: in vitro efficacy compares with that of itraconazole and ketoconazole. *J Antimicrob Chemother* **1998**; 42: 253-256.
- [124] **Pfaller MA, Zhang J, Messer SA, Brandt ME, Jajeh RA, Jessup CJ, Tumberland M, Mbidde EK, Ghannoum MA.** In vitro activities of voriconazole, fluconazole, and itraconazole against 566 clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* from the United States and Africa. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43(1): 169-171.
- [125] **Mondon P, Petter R, Asnalfitano G, Luzzati R, Concia E, Polacheck L, Kwon-Chung KJ.** Heteroresistance to fluconazole and voriconazole in *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43(8): 1856-1861.
- [126] **Nguyen MH, Yu CY.** In vitro comparative efficacy of voriconazole and itraconazole against fluconazole susceptible and resistant *Cryptococcus neoformans* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* **1998**; 42(4): 471-472.
- [127] **Van't Hek LG, Verweij E, Weemaes CM, Van Dalen R, Yntema JB, Meis JFGM.** Successful treatment with voriconazole of invasive aspergillosis in chronic granulomatous disease. *Am J Respir Crit Care Med* **1998**; 157: 1694-1696.

- [128] **Murphy M, Bernard EM, Ishimaru T, Armstrong D.** Activity of voriconazole (UK-109,496) against clinical isolates of *Aspergillus* species and its effectiveness in an experimental model of invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*1997; 41(3): 696-698.
- [129] **Clancy CJ, Nguyen MH.** In vitro efficacy and fungicidal activity of voriconazole against *Aspergillus* and *Fusarium* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*1998; 17: 573-575.
- [130] **Sutton AA, Sanche SE, Revankar SG, Fothergill AW, Rinaldi MG.** In vitro amphotericin B resistance in clinical isolates of *Aspergillus terreus*, with a head-to-head comparison to voriconazole. *J Clin Microbiol*1999; 37(7): 2343-2345.
- [131] **Johnson EM, Szekely A, Warnock DW.** In vitro activity of voriconazole, itraconazole and amphotericin B against filamentous fungi. *J Antimicrob Chemother*1998; 42: 741-745.
- [132] **Arikan S, Lozano-Chiu M, Paetznick V, Nangia S, Rex JH.** Microdilution susceptibility testing of amphotericin B, itraconazole, and voriconazole against clinical isolates of *Aspergillus* and *Fusarium* species. *J Clin Microbiol*1999; 37 (12) : 3946-3951.
- [133] **Verweij PE, van den Bergh MFQ, Rath PM, dePauw BE, Voss A, Meis JFGM.** Invasive aspergillosis caused by *Aspergillus ustus* case report and review. *J Clin Microbiol* 1999; 37(5): 1606-1609.
- [134] **McGinnis MR, Pasarell L, Sutton DA, Fothergill AW, Cooper CR Jr, Rinaldi MG.** In vitro activity of voriconazole against selected fungi. *Med Mycol*1998; 36(4): 239-242.
- [135] **Li Ren-Kai, Ciblak MA, Nordoff N, Pasarell L, Warnock DW, McGinnis MR.** In vitro activities of voriconazole, itraconazole, and amphotericin B against *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* and *Histoplasma capsulatum*. *Antimicrob Agents Chemother*2000; 44(6): 1734-1736.
- [136] **McGinnis MR, Pasarell L, Sutton DA, Fothergill AW, Cooper CR Jr, Rinaldi MG.** In vitro evaluation of voriconazole against some clinically important fungi. *Antimicrob Agents Chemother*1997; 41(8): 1832-1834.
- [137] **Meletiadis J, Meis JFG, Horre R, Verweij PE.** Short communication: in vitro antifungal activity of six drugs against 13 clinical isolates of *Ochroconis gallopava*. *Studies in Mycology*.1999; 43: 206- 208.

- [138] **McGinnis MR, Pasarell L.** In vitro testing of susceptibilities of filamentous Ascomycetes to voriconazole, itraconazole, and amphotericin B, with consideration of phylogenetic implications. *J Clin Microbiol* **1998**; 36(8): 2353-2355.
- [139] **Nguyen MH, Clancy CJ, Yu VL, Yu YC, Morris AJ, Snyderman DR, Sutton DA, Rinaldi MG.** In vitro susceptibility data predict the microbiology response to amphotericin B: Results of a prospective study of patients with *Candida* fungemia. *J Infect Dis* **1998**; 177: 425-430.
- [140] **Sanglard D, Odds FC.** Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect Dis* **2002**; 2: 73-85.
- [141] **Manavathu EK, Cutright JL, Chandrasekar PH.** Organism dependent fungicidal activities of azoles. *Antimicrob Agents Chemother* **1998**; 42(11): 3018-3021.
- [142] **Espinel-Ingroff A, Bartlett M, Bowden et al.** Multicenter evaluation of standardized procedure for antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. *J Clin Microbiol* **1997**; 35: 139-43
- [143] **Carrillo AJ, Guarro J,** In vitro activities of four novel triazoles against *Scedosporium* spp. *Antimicrob Agents Chemother* **2001**; 45: 2151-3.
- [144] **Patterson BE, Coates PE.** : UK-109,496, a novel, wide-spectrum triazole derivative for the treatment of fungal infections: pharmacokinetics in man. Program and abstracts of the 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, DC, *American Society for Microbiology*, **1995**: Abstr. F-78
- [145] **Tan KKC, Wood N, Weil A.:** Multiple-dose pharmacokinetics voriconazole in chronic hepatic impairment. Program and abstracts of the 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago, *American Society for Microbiology*, **2001**: Abstr. A-16
- [146] **Pfizer Inc.** Dossier d'AMM.
- [147] **Goldstein JA, de Morais SMF.** Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics* **1994**; 4: 285-99.
- [148] **Kubota T, Chiba K., Ishizaki T.** Genotyping of S-mephenytoin 4-hydroxylation in an extended Japanese population. *Clin Pharmacol Ther* **1996**; 60 (6): 661-6.

- [149] **Marinac JS, Balian JD, Foxworth JW. et al.** Determination of CYP2C19 phenotype in black Americans with omeprazole: correlation with genotype. *Clin Pharmacol Ther* **1996**; 60 (2): 138-44.
- [150] **Walsh TJ, Arguedas A, Driscoll R. et al.** Pharmacokinetics of intravenous voriconazole in children after single and multiple doses of administrations. *41th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Chicago)* **2001**. Abst A17.
- [151] **Ally R, Schürmann D, Kreisel G. et al:** A randomized, doubleblind, double-dummy, multicenter trial of voriconazole and fluconazole in the treatment of esophageal candidiasis in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* **2001** ; 33 : 1447-54
- [152] **Jeu L, Piacenti FJ, Lyakhovetskiy AG, Fung HB.** Voriconazole. *Clin Ther* **2003**; 25(5):1321-81.
- [153] **Baildon R, Patterson T, Boucher HW, Tiernan R, Powers JH.** : NDA 21-266, Vfend® (voriconazole) tablets, and NDA 21-267, Vfend I.V. (voriconazole) for infusion, Pfizer Global Research and Development. Proposed for the treatment of invasive aspergillosis, serious *Candida* infections, infections caused by *Scedosporium spp.* and *Fusarium spp.*, rare and refractory infections and empirical treatment of febrile neutropenia. *US FDA* **2001**.
- [154] **Hegener P, Troke PF, Fätkenheuer G, Diehl V, Ruhnke M.** Treatment of fluconazole-resistant candidiasis with voriconazole in patients with AIDS. *AIDS* **1998** ; 12 : 2227-41
- [155] **Perfect JR, Marr KA, Walsh TJ et al.** Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infections. *Clin Infect Dis* **2003** ; 36 : 1122-31
- [156] **Ostrosky-Zeichner L, Oude Lashof AML, Kullberg BJ, Rex JH.** Voriconazole for salvage treatment of invasive candidiasis: experience from open-label protocols. *40th Meeting IDSA, Chicago, 2002*.
- [157] **Kullberg BJ, Sobel JD, Ruhnke M, et coll.** Voriconazole versus a regimen of amphotericin B followed by fluconazole for candidaemia in non-neutropenic patients: a randomised non-inferiority trail. *Lancet* **2005**; 366(9495): 1435-42.

- [158] **Denning DW, Ribaud P, Milpied N et al.** Efficacy and safety of voriconazole in the treatment of acute invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* **2002** ; 34 : 563-71
- [159] **Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF et al.** voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med***2002** ; 347 : 408-15
- [160] **Steinbach WJ, Benjamin Jr DK, Kontoyiannis DP et al.** Invasive aspergillosis caused by *Aspergillus terreus* : multicenter retrospective analysis of 87 cases. Program and abstracts of the 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *Chicago, American Society for Microbiology, 2003*: Abstr. M-1753
- [161] **Lortholary O, Mouas-Dupuy H, Dupont B, Lutsar I, Fain O.** Voriconazole for bone aspergillosis a world wide experience of 19 cases. *43th ICAAC, Chicago, 2003*, abstr: M929, p. 450-451.
- [162] **Troke PF, Schwartz S, Ruhnke M et al.** Voriconazole therapy in 86 patients with CNS *Aspergillus* (CNSA): a retrospective analysis. Program and abstracts of the 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *Chicago, American Society for Microbiology, 2003*: Abstr. M-1755
- [163] **Walsh TJ, Lutsar I, Driscoll T, Dupont B, Roden M, Ghahramani P, et al.** Voriconazole in the treatment of aspergillosis, scedosporiosis and other invasive fungal infections in children. *Pediatr Infect Dis J***2002**; 21: 240-8.
- [164] **Johnson LB, Kauffman CA.** Voriconazole: a new triazole antifungal agent. *Clin Infect Dis* **2003**; 36: 630-7.
- [165] **Reis A, Sundmacher R, Tintelnot K, Agostini H, Jensen HE, Althaus C.** Successful treatment of ocular invasive mould infection (fusariosis) with the new antifungal agent voriconazole. *Br J Ophthalmol***2000**; 84: 932-3.
- [166] **Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ et coll.** Voriconazole compared with Liposomal Amphotericin B for Empirical Antifungal Therapy in Patients with Neutropenia and Persistent Fever. *N Engl J Med***2002**; 346(4):225-234.
- [167] **Powers JH, Dixon C, Goldberger MJ.** Voriconazole versus Liposomal Amphotericin B in Patients with Neutropenia. *N Engl J Med***2002**; 346:289-90.
- [168] **Carle S.** Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel***2003**; Vol.36 No1: 25-41.

- [169] **Dupont C, Dehaut C.** Voriconazole VFEND<sup>md</sup> : évaluation complète. *Programme de gestion thérapeutique des médicaments* **2005**.
- [170] **Moudgal VV SJ.** Antifungal drugs in pregnancy: a review. *Expert Opin Drug Saf***2003**; 2(5): 475-83.
- [171] **Rotstein C LM, Marciniak A, Ali F.** An economic evaluation of voriconazole versus amphotericin B for the treatment of invasive aspergillosis in Canada. *Can J Infect Dis Med Microbiol***2004**; 15(5):277-84.
- [172] **Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R.** Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents***2006**; 27:359-66.
- [173] **Levy SB.** Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother***1992**; 36:695-703.
- [174] **Borges-Walmsley MI, McKeegan KS, Walmsley AR.** Structure and function of efflux pumps that confer resistance to drugs. *Biochem J***2003**; 376:313-38.
- [175] **Sanglard D.** Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeasts. *Enferm Infect Microbiol Clin***2002**; 20:462- 9. Quiz 470, 479.
- [176] **Sanglard D, Ischer F, Koymans L, Bille J.** Amino acid substitutions in the cytochrome P-450 lanosterol 14 $\alpha$ -demethylase (CYP51A1) from azole-resistant *Candidaalbicans* clinical isolates contribute to resistance to azole antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother***1998**; 42:241-53.
- [177] **Vandeputte P, Larcher G, Berges T, Renier G, Chabasse D, Bouchara JP.** Mechanisms of azole resistance in a clinical isolate of *Candidatropicalis*. *Antimicrob Agents Chemother* **2005**; 49:4608-15.
- [178] **De Backer MD, Ilyina T, Ma XJ, Vandoninck S, Luyten WH, and Vanden Bossche H.** Genomic profiling of the response of *Candidaalbicans* to itraconazole treatment using a DNA microarray. *Antimicrob. Agents Chemother***2001**; 45:1660-1670.
- [179] **Miyazaki Y, Geber A, Miyazaki H, Falconer D, Parkinson T, Hitchcock C, et al.** Cloning, sequencing, expression and allelic sequence diversity of ERG3 (C-5 sterol desaturase gene) in *Candidaalbicans*. *Gene***1999**; 236:43-51.

- [180] **Park S, Kelly R, Kahn JN, Robles J, Hsu MJ, Register E, et al.** Specific substitutions in the echinocandin target Fks1 p account for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical *Candida* sp isolates. *Antimicrob Agents Chemother* **2005**; 49: 3264-73.
- [181] **Eggimann P., Calandra T.** Infections fongiques sévères en réanimation. In : Pathologie infectieuse en réanimation. *Editions scientifiques et médicales Elsevier* **2002** ; Pages : 519-556
- [182] **Plettenburg A, Stoehr A, Hoffken G, Bergs C, Tschechne B, Ruhnke M, Heise W, Dieckmann S, Meigel W.** Fluconazole therapy of oral candidiasis in HIV infected patients: result of a multicentric study. *Infection* **1994**; 22: 118-23.
- [183] **Johnson EM, Warnock DW.** Azole drug resistance in yeasts. *J Antimicrob Chemother* **1995**; 36: 751-5.
- [184] **White TC.** Antifungal resistance in *Candida albicans*. *ASM News* **1997**; 63: 427-34.
- [185] **Gauzit R.** Epidémiologie des candidoses invasives en réanimation : dernières données. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS (Réanimation)* **2008**. Hors série 4 : 1-3
- [186] **Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoine MH, et al.** The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. *JAMA* **1995**; 274: 639-44.
- [187] **Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H et al.** Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med* **2002**; 28: 108-21.
- [188] **Gauzit R.** Épidémiologie et facteurs de risque des candidoses systémiques en réanimation. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Anesth Réanim* **2001** ; 20 : 394-9
- [189] **Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP.** National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *C. albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1998**; 31:327-32.
- [190] **Malani PN, Bradley SF, Little RS, Kauffman CA.** Trends in species causing fungaemia in a tertiary care medical centre over 12 years. *Mycoses* **2001**; 44:446-9.

- [191] **Maenza JR, Keruly JC, Moore RD, Chaisson RE, Merz WG, Gallant JE.** Risk factors for fluconazole-resistant candidiasis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* **1996**; 173: 219-25.
- [192] **Lortholary O, Dupont B.** Antifungal prophylaxis during neutropenia and immunodeficiency. *Clin Microbiol Rev* **1997**; 10: 477-504.
- [193] **Fidel PL, Vazquez JA, Sobel JD.** *Candida glabrata* : review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev* **1999**; 12:80-96.
- [194] **Malani A, Hmoud J, Chiu L, Carver P, Bielaczyc A, Kauffman CA.** *C. glabrata* fungemia: experience in a tertiary care center. *Clin. Infect Dis* **2005**; 41: 975-81.
- [195] **Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Rice C, Tendolkar S et al.** In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2004**; 48:201-5.
- [196] **Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ.** Geographic variation in the susceptibilities of invasive isolates of *C. glabrata* to seven systemically active antifungal agents: a global assessment from the ARTEMIS Antifungal Surveillance Program conducted in 2001 and 2002. *J Clin Microbiol* **2004**; 42: 3142-3146.
- [197] **Magill S, Shields C, Sears C, Choti M, Merz W.** Triazole cross-resistance among *Candida* spp.: case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy. *J Clin Microbiol* **2006**; 44: 529-35.
- [198] **Imhof A, Balajee SA, Fredricks DN, Englund JA, Marr KA.** Breakthrough fungal infections in stem cell transplant recipients receiving voriconazole. *Clin Infect Dis* **2004**; 39: 743-6.
- [199] **Burn AK, Fothergill AW, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Patterson TF, McCarthy DI et al.** Comparison of antifungal susceptibilities to fluconazole and voriconazole of oral *Candida glabrata* isolates from head and neck radiation patients. *J Clin Microbiol* **2004**; 42: 5846-8.

- [200] Panackala AA, Gribskova JL, Staab JF, Kirby KA, Rinaldi M, Marr A. Signification clinique de la résistance croisée aux antifongiques azotés chez *C.glabrata*. *Journal de Mycologie Médicale* 2007 ; 17 : 516-S21
- [201] Alexander BD, Schell WA, Miller JL, Long GD, Perfect JR. *C.glabrata* fungemia in transplant patients receiving voriconazole after fluconazole. *Transplantation* 2005; 80: 868-71.
- [202] Sanguinetti M, Posteraro B, Fiori B, Ranno S, Torelli R, Fadda G. Mechanisms of azole resistance in clinical isolates of *C.glabrata* collected during a hospital survey of antifungal resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49:668-79.
- [203] Borst AM, Raimer T, Warnock DW, Morrison CJ, Arthington-Skaggs BA. Rapid acquisition of stable azole resistance by *C.glabrata* isolates obtained before the clinical introduction of fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:783-7.
- [204] Moudgal V, Little T, Boikov D, Vasquez JA. Multiechinocandin and multiazoleresistant *C.parapsilosis* isolates serially obtained during therapy for prosthetic valve endocarditis. *J Antimicrob. Agents Chemother* 2005; 49: 767-9.
- [205] Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location. *J Clin Microbiol* 2003; 41:2176-9.
- [206] Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ et al. Guidelines for the treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 161-89.
- [207] Granier F. Antifongiques classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance. *Antibiotiques*. 2003 ; 37(10) : 39-48
- [208] Taoufik J. Les antifongiques. *Précis de chimie thérapeutique*. 2007 ; 553 (5) :555-559
- [209] Donald E, Fry MD. Antifungal chemotherapy. *Surgical infection*. 1995; 85 (4):85-88
- [210] Bindschadler DD, Bennet JE. A pharmacology guide to the clinical use of amphotericin *BJ infects*. 1969; 426 (1) 427
- [211] Block ER, Bennet JE. Pharmacological studies with 5-fluorocytosine. *Antimicrob agents chemother*. 1972; 476 (1): 476
- [212] Brajtburg J, Powderly WG, Kobayashi GS et al. Current understanding of mechanisms of action. *Antimicrob agents chemother*. 1990; 183

- [213] **Grant SM, Clissold SP.** Fluconazole a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in superficial and systemic mycoses. *Drugs* 39. **1990**; 877
- [214] **Kerkering TM.** Present status of fluocytosine therapy. *Drugs ther.* **1982**;12(1):75
- [215] **Lazar JD, Hilligoss DM.** The clinical pharmacology of fluconazol. *Semin oncol.* **1990**; **14**(1): 17
- [216] **Perea S, patterson TF.** Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clinic infects.* **2002**; **35** (7):1073-80
- [217] **Eggimann P, Garbino J, Pittet D.** Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect.* **2003**; 3: 685-702
- [218] **Alem H,** etude de sensibilité in vitro aux antifongiques. Sensibilité in vitro au voriconazole de 72 souches de candoda isolées de l'HMIMV. **2011** ; 23 :32-55
- [219] **Pfaller MA, Diekema DJ.** Epidemiology of invasive mycoses in North America. *Crit Rev Microbiol.* **2010**; 36: 1-53.
- [220] **Almirante B, Rodriguez D, Cuenca-Estrella M et al.** Epidemiology, risk factors, and prognosis of *candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in barcelona, spain from 2002 to 2003. *J clin microbiol.* **2006**; 44:1681-5
- [221] **Kourkoumpetis TK, Velmahos GC, Ziakas PD et al.**The effect of cumulative length of hospital stay on the antifungal resistance of *Candida* strains isolated from critically ill surgical patients. *Mycopathologia.* **2011**; 171: 85-91
- [222] **Vandeputte P, Tronchin G, Larcher G et al.** A nonsense mutation in the ERG6 gene leads to reduced susceptibility to polyenes in a clinical isolate of *Candida glabrata*. *Antimicrob agents chemother.* **2008**; 52: 3701-9.
- [223] **Blot S, Janssens R, Claeys G et al.** Effect of fluconazole consumption on long-term trends in candidal ecology. *J Antimicrob agents chemother* **2006**; 58: 474-7
- [224] **Nguyen MH, Peacock JE, Jr, Morris AJ et al.**The changing face of candidemia: emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med.* **1996**; 100: 617-23.

- [225] **Balasshov S, Park S, Perlin D.S.** Assessing resistance to the echinocandin antifungal drug caspofungin albicans by profiling mutations in FKS1. *Antimicrobagents chemother.* **2006**; 50: 2058-2063.
- [226] **Beck-Sague CM, Jarvis MK.** Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the united states. *J. infects.* **1993**; 86: 319-321.
- [227] **Bennet, JE.** Flucytosine. *Ann inter Med.* **1997**;86: 319-321
- [228] **Pfaller MA, Messer SA, Moet GJ, et al.** Candida bloodstream infections: comparison of species distribution and resistance to echinocandin and azole antifungal agents in intensive care unit (ICU) and non-ICU settings in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008-2009). *International journal of antimicrobial agents.* **2011**; 38(1): 65-69.
- [229] **Dromer F, Lortholary O, Desnos O et al .**Rapport d'activité 2008 du CNR Mycologie et Antifongiques. **2009.**[Www.pasteur.fr](http://www.pasteur.fr)
- [230] **Desnos-Ollivier, S Bretagne, D Raoux, et al.** Mutations in the fks1 gene in *candida albicans*, *C. tropicalis* and *C.krusei* correlate with elevated caspofungin MICs uncovered in AM3 medium using the method of the European committee on antibiotic susceptibility testing. *Antimicrobial agents chemother.* **2008**;52: 3092-3098.
- [231] **Dromer F, Lortholary O, Desnos O et al.** Rapport d'activité2007 du CNR Mycologie et Antifongiques. **2008.**[Www.pasteur.fr](http://www.pasteur.fr)
- [232] **Dromer F, Lortholary O, Desnos O et al.** Rapport d'activité2008 du CNR Mycologie et Antifongiques. **2010.** [Www.pasteur.fr](http://www.pasteur.fr)
- [233] **Albengres E, Le Louet H, Tillement JP.** Systemic antifungal agents. Drug interactions of clinical significance. *Drug Saf.***1998**;18: 83–97.
- [234] **Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, et al.** Defining opportunistic fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stems cell transplants: an international consensus. *Clin Infect.* **2002**; 34: 7–14.
- [235] **Barrett JP, Vardulaki KA, Conlon C, et al.**A systematic review of the fungal effectivenessand tolerability of amphotericin B formulations. *Clin Ther.* **2003**; 25: 1295–320.

- [236] Colburn DE, Giles FJ, Oladovich D, Smith JA. In vitro evaluation of cytochrome P450-mediated drug interactions between cytarabine, idarubicin, itraconazole and caspofungin. *Hematology*. 2004; 9: 217–21.
- [237] Courtney RD, Statkevich P, Laughlin M, et al. Effect of Posaconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine. *41st Interscience Conference on antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001; Abstract 27.
- [238] Courtney RD, Statkevich P, Laughlin M, et al. Potential for a drug interaction between Posaconazole and phenytoin. *41st Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001; Abstract 28.
- [239] Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, et al. Voriconazole vs amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med*. 2002; 347: 408–15.
- [240] Herbrecht R, Nivoix Y, Fohrer C, et al. Management of systemic fungal infections: alternatives to itraconazole. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 56: 139–48.
- [241] Higashiyama Y, Kohno S. Micafungin: a therapeutic review. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2004; 2: 345–55.
- [242] Ikeda Y, Umemura K, Kondo K, et al. Pharmacokinetics of voriconazole and cytochrome P450 2C19 genetic status. *Clin Pharmacol Ther*. 2004; 75: 587–8.
- [243] Letscher-Bru V, Herbercht R. Caspofungin: the first representative of a new antifungal class. *J antimicrob chemoter*. 2003; 51: 513–21.
- [244] Raasch RH. Anidulafungin: review of a new echinocandin antifungal agent. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2004; 2: 499–508.
- [245] Sansone A, Belle D, Statkevich P, et al. Effect of Posaconazole on the pharmacokinetics of tacrolimus in healthy volunteers. *41st Interscience Conference on antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001; Abstract 1603.
- [246] Vertut-Croquin A, Bolard J, Gary-Bobo CM. Transfer of amphotericin B from gel state vesicles to mycoplasma cells: biphasic action on potassium transport and permeability. *Antimicrob agents chemother*. 1985; 28: 167–71.
- [247] Wexler D, Courtney R, Richards W, et al. Effect of posaconazole on cytochrome P450 enzymes: a randomized, openlabel, two-way crossover study. *Eur J pharm sci*. 2004; 21: 645–53.

- [248] Colombo AL, Melo AS, Crespo Rosas RF et al. Outbreak of *Candida rugosa* candidemia: an emerging pathogen that may be refractory to amphotericin B therapy. *Diagn Microbiol Infect.* **2003**;46: 253-7.
- [249] Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect.* **2002**; 2: 73-85.
- [250] Vandeputte P, Tronchin G, Larcher G et al. A nonsense mutation in the ERG6 gene leads to reduced susceptibility to polyenes in a clinical isolate of *Candida glabrata*. *Antimicrob agents chemother.* **2008**; 52: 3701-9.
- [251] Vandeputte P, Tronchin G, Berges T et al. Reduced susceptibility to polyenes associated with a missense mutation in the ERG6 gene in a clinical isolate of *Candida glabrata* with pseudohyphal growth. *Antimicrob agents chemother.* **2007**; 51: 982-90.
- [252] Pavese P, Ouachi Z, Vittoz JP et al. Adequacy of new systemic antifungal agents prescriptions in a teaching hospital. *Med Mal Infect.* **2007**; 37(3): 223-8.
- [253] Pfaller MA, Diekema DJ, Ostrosky-Zeichner L et al. Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against caspofungin, anidulafungin, and micafungin: analysis and proposal for interpretive MIC breakpoints. *J Clin Microbiol.* **2008**; 46: 2620-9.
- [254] Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ et al. In vitro susceptibilities of *Candida* spp. To caspofungin: four years of global surveillance. *J Clin Microbiol.* **2006**; 44: 760-3.
- [255] Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM et al. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. The National Epidemiology of Mycosis Survey. *Clin Infect.* **2001**; 33: 177-86.
- [256] Rieger CT, Ostermann H. Empiric vs. preemptive antifungal treatment: an appraisal of treatment strategies in haematological patients. *Mycoses.* **2008**; 51(1): 31-4.
- [257] Tortorano AM, Biraghi E, Astolfi A et al. European Confederation of Medical Mycology (ECMM) prospective survey of candidaemia: report from one Italian region. *J Hosp Infect.* **2002**; 51: 297-304.
- [258] Wingard JR. The changing face of invasive fungal infections in hematopoietic cell transplant recipients. *Curr Opin Oncol.* **2005**; 17: 89-92.

- [259] **Annaloro C, Della Volpe A, Usardi P, et al.** Caspofungin treatment of pneumocystis pneumonia during conditioning for bone marrow transplantation. *Eur J Clin Microbiol Infect.* **2006**;25: 52.
- [260] **Albengres E, Le Louet H, Tillement JP.** Systemic antifungal agents. Drug interactions of clinical significance. *Drug Saf.* **1998**; 18: 83–97.
- [261] **Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, et al.** Defining opportunistic fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stems cell transplants: an international consensus. *Clin Infect.* **2002**; 34: 7–14.

# ANNEXES

**Annexe 1:** Résumé de la nature et l'endroit des prélèvements ainsi que les espèces identifiées

<i>Numéro de souches</i>	<i>Service</i>	<i>Prélèvement</i>	<i>Espèce isolée</i>
<i>S1</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Rectal</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S2</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Rectal</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S3</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S4</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Krus</i>
<i>S5</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S6</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Anal</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S7</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S8</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S9</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Axillaire</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S10</i>	<b>RUCH</b>	<b>Urinaire</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S11</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Urinaire</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S12</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S13</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Krus</i>
<i>S14</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Nasal</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S15</i>	<b>RC HIS</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S16</i>	<b>RM</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Alb</i>

<b>HMIMV</b>			
<i>S17</i>	<b>RUCH</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S18</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S19</i>	<b>RUCH</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S20</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S21</i>	<b>RC HIS</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S22</i>	<b>RC HIS</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S23</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S24</i>	<b>RC HIS</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S25</i>	<b>RUCH</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S26</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S27</i>	<b>RM HIS</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S28</i>	<b>RM</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S29</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S30</i>	<b>RM</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S31</i>	<b>RM HIS</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C. Dubli</i>
<i>S32</i>	<b>RUCH</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.glab</i>
<i>S33</i>	<b>RUCH</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Krusei</i>
<i>S34</i>	<b>RUCH</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C. Krusei</i>
<i>S35</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Auriculaire</b>	<i>C.Parap</i>
<i>S36</i>	<b>RM</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Alb</i>

	<b>HMIMV</b>		
<i>S37</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S38</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Trachéal</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S39</i>	<b>RC HIS</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S40</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Anal</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S41</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Anal</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S42</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Urinaire</b>	<i>C.alb</i>
<i>S43</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Nasal</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S44</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Krus</i>
<i>S45</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Krus</i>
<i>S46</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Nasal</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S47</i>	<b>RM HMIMV</b>	<b>Anal</b>	<i>C.Glab</i>
<i>S48</i>	<b>RUCH</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S49</i>	<b>RUCH</b>	<b>Hémoculture</b>	<i>C.Alb</i>
<i>S50</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Rectal</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S51</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Trop</i>
<i>S52</i>	<b>RC HMIMV</b>	<b>Buccal</b>	<i>C.Alb</i>

**Annexe 2: Diamètres des zones d'inhibition observés autour des disques des antifongiques**

Antifongiques	FCZ	VCZ	KET	MCZ	5-FLU	EC	CTR
S1	0	0	20	10	24	16	18
S2	0	0	26	10	22	14	16
S3	36	36	36	28	0	32	34
S4	22	0	30	22	26	26	24
S5	30	32	20	24	12	32	30
S6	0	30	24	24	14	24	28
S7	34	36	34	24	12	32	28
S8	0	0	0	0	0	0	0
S9	0	0	0	0	0	0	0
S10	26	28	34	28	0	36	26
S11	0	0	28	20	26	20	20
S12	0	0	0	0	0	0	0
S13	22	30	36	22	0	24	38
S14	0	0	24	14	0	14	24
S15	0	28	22	26	24	14	26
S16	32	28	34	20	32	26	24
S17	0	28	28	28	0	26	26
S18	0	0	22	12	0	22	24
S19	0	0	24	16	0	24	26
S20	16	18	22	20	28	26	10
S21	30	30	34	24	0	30	28
S22	30	30	34	28	22	30	26
S23	28	26	32	24	26	34	30
S24	36	26	30	28	26	38	24
S25	26	26	30	24	20	36	24
S26	0	0	28	20	28	24	26
S27	0	0	24	14	22	16	18
S28	0	0	14	14	20	16	12
S29	26	30	24	22	22	26	24

S30	24	28	34	22	24	28	24
S31	32	30	44	20	16	26	22
S32	24	26	28	18	20	22	24
S33	34	34	40	22	0	26	20
S34	30	32	44	24	36	28	24
S35	36	50	30	24	26	28	36
S36	36	36	40	26	0	32	32
S37	0	0	0	0	0	0	0
S38	0	0	0	0	0	0	0
S39	32	36	34	28	30	36	26
S40	0	0	0	0	0	0	0
S41	0	0	0	0	0	0	0
S42	28	24	30	26	28	32	24
S43	0	0	0	0	0	0	0
S44	14	28	26	16	0	16	26
S45	0	0	16	12	24	18	18
S46	0	0	0	0	0	0	0
S47	0	0	0	0	0	0	0
S48	0	0	18	12	0	20	22
S49	34	32	40	28	0	30	30
S50	0	0	32	20	30	20	24
S51	0	0	34	20	32	20	24
S52	30	28	28	26	0	18	38

## *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

وَأَحْسِنَ بِاللَّذِينَ لَمْ يَعْطُوا

- 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.



دراسة مقاومة سلالة الخمائر من نوع  
المبيضات (*Candida*) لمضادات الفطريات معزولة في  
المستشفى العسكري بالرباط

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم.....

من طرف

الآنسة : مريم عمران

المزودة في : 23 أبريل 1988 بالدار البيضاء

لنيل شهادة الدكتوراة في الصيدلة

الكلمات الأساسية : جنس المبيضات (*Candida*) - Antifongigramme - المقاومة- مضادات الفطريات

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

أعضاء

{

السيد : يحيى بنسودة  
أستاذ في الصيدلة الجالوسية  
السيد : بدر الدين الميموني  
أستاذ في علم الطفيليات  
السيد : إدريس لحو أمين  
أستاذ في علم الجراثيم  
السيد : جمال المسوري  
أستاذ مبرز في الكيمياء العلاجية  
السيد : كمال الدغمي  
أستاذ مبرز في علم الدم السريري