

**SENSIBILITE *IN VITRO* A L'AMPHOTERICINE B
DE 96 SOUCHES DE *CANDIDA* ISOLEES AU CHU IBN SINA**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mme Saadia ABATOURE
Née le 02 Juillet 1986 à Zagora

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : *Candida* – Antifongigramme – Amphotericine B – Sensibilité *in vitro* – Surveillance.

JURY

Mr. Y . BENSOUDA

Professeur de Pharmacie Galénique

PRESIDENT

Mr. B. E. LMIMOUNI

Professeur de Parasitologie

RAPPORTEUR

Mr. I. LAHLOU AMINE

Professeur de Microbiologie

Mr. A. BELMEKKI

Professeur d'Hématologie

JUGES

Mr. J. LAMSAOURI

Professeur de Chimie Thérapeutique

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا إنك

أنت العليم الحكيم

بِسْمِ اللَّهِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ
الْعَظِيمِ

سورة البقرة: الآية 32



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

DOYENS HONORAIRES :

- 1962 – 1969 : Professeur 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 - HASSOUNI
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

***1.1.1.1* PROFESSEURS :**

Mars, Avril et Septembre 1980

1. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie

Mai et Octobre 1981

2. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
3. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
4. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

5. Pr. ABROUQ Ali* Oto-Rhino-Laryngologie
6. Pr. BENOMAR M'hammed Chirurgie-Cardio-Vasculaire
7. Pr. BENSOUA Mohamed Anatomie
8. Pr. BENOSMAN Abdellatif Chirurgie Thoracique
9. Pr. LAHBABI Naïma ép. AMRANI Physiologie

Novembre 1983

10. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir* Pneumo-ptisiologie
11. Pr. BELLAKHDAR Fouad Neurochirurgie
12. Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI Rhumatologie

Décembre 1984

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------|
| 13. Pr. BOUCETTA Mohamed* | Neurochirurgie |
| 14. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil | Radiothérapie |
| 15. Pr. MAAOUNI Abdelaziz | Médecine Interne |
| 16. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi | Anesthésie -Réanimation |
| 17. Pr. NAJI M'Barek * | Immuno-Hématologie |
| 18. Pr. SETTAF Abdellatif | Chirurgie |

Novembre et Décembre 1985

- | | |
|---|---|
| 19. Pr. BENJELLOUN Halima | Cardiologie |
| 20. Pr. BENSALID Younes | Pathologie Chirurgicale |
| 21. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa | Neurologie |
| 22. Pr. IHRAI Hssain * | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale |
| 23. Pr. IRAQI Ghali | Pneumo-ptisiologie |

Janvier, Février et Décembre 1987

- | | |
|--|------------------------------|
| 24. Pr. AJANA Ali | Radiologie |
| 25. Pr. AMMAR Fanid | Pathologie Chirurgicale |
| 26. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE | Gastro-Entérologie |
| 27. Pr. EL FASSY FIIHRI Mohamed Taoufiq | Pneumo-ptisiologie |
| 28. Pr. EL HAITEM Naïma | Cardiologie |
| 29. Pr. EL MANSOURI Abdellah* | Chimie-Toxicologie Expertise |
| 30. Pr. EL YAACOUBI Moradh | Traumatologie Orthopédie |
| 31. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah | Gastro-Entérologie |
| 32. Pr. LACHKAR Hassan | Médecine Interne |
| Pr. YAHYAOUI Mohamed | Neurologie |

Décembre 1988

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 34. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique |
| 35. Pr. DAFIRI Rachida | Radiologie |
| 36. Pr. FAIK Mohamed | Urologie |
| 37. Pr. HERMAS Mohamed | Traumatologie Orthopédie |
| 38. Pr. TOLOUNE Farida* | Médecine Interne |

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| 39. Pr. ADNAOUI Mohamed | Médecine Interne |
| 40. Pr. AOUNI Mohamed | Médecine Interne |
| 41. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali | Cardiologie |
| 42. Pr. CHAD Bouziane | Pathologie Chirurgicale |
| 43. Pr. CHKOFF Rachid | Pathologie Chirurgicale |
| 44. Pr. HACHIM Mohammed* | Médecine-Interne |
| 45. Pr. KHARBACH Aïcha | Gynécologie -Obstétrique |
| 46. Pr. MANSOURI Fatima | Anatomie-Pathologique |
| 47. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda | Neurologie |
| 48. Pr. SEDRATI Omar* | Dermatologie |
| 49. Pr. TAZI Saoud Anas | Anesthésie Réanimation |

Février Avril Juillet et Décembre 1991

50.	Pr. AL HAMANY Zaïtounia	Anatomie-Pathologique
51.	Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation
52.	Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM	Néphrologie
53.	Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
54.	Pr. BENABDELLAH Chahrazad	Hématologie
55.	Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif	Chirurgie Générale
56.	Pr. BENSOUDA Yahia	Pharmacie galénique
57.	Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie
58.	Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
59.	Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie
60.	Pr. CHANA El Houssaine*	Ophtalmologie
61.	Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
62.	Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
63.	Pr. JANATI Idrissi Mohamed*	Chirurgie Générale
64.	Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
65.	Pr. OUAALINE Mohammed*	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
66.	Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH	Pharmacologie
67.	Pr. TAOUFIK Jamal	Chimie thérapeutique

Décembre 1992

68.	Pr. AHALLAT Mohamed	Chirurgie Générale
69.	Pr. BENOUDA Amina	Microbiologie
70.	Pr. BENSOUDA Adil	Anesthésie Réanimation
71.	Pr. BOUJIDA Mohamed Najib	Radiologie
72.	Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza	Gastro-Entérologie
73.	Pr. CHRAIBI Chafiq	Gynécologie Obstétrique
74.	Pr. DAOUDI Rajae	Ophtalmologie
75.	Pr. DEHAYNI Mohamed*	Gynécologie Obstétrique
76.	Pr. EL HADDOURY Mohamed	Anesthésie Réanimation
77.	Pr. EL OUAHABI Abdessamad	Neurochirurgie
78.	Pr. FELLAT Rokaya	Cardiologie
79.	Pr. GHAFIR Driss*	Médecine Interne
80.	Pr. JIDDANE Mohamed	Anatomie
81.	Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine	Gynécologie Obstétrique
82.	Pr. TAGHY Ahmed	Chirurgie Générale
83.	Pr. ZOUHDI Mimoun	Microbiologie

Mars 1994

84.	Pr. AGNAOU Lahcen	Ophtalmologie
85.	Pr. AL BAROUDI Saad	Chirurgie Générale
86.	Pr. BENCHERIFA Fatiha	Ophtalmologie
87.	Pr. BENJAAFAR Nouredine	Radiothérapie

88. Pr. BENJELLOUN Samir	Chirurgie Générale
89. Pr. BEN RAIS Nozha	Biophysique
90. Pr. CAOUI Malika	Biophysique
91. Pr. CHRAIBI Abdelmjid	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
92. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT	Gynécologie Obstétrique
93. Pr. EL AOUAD Rajae	Immunologie
94. Pr. EL BARDOUNI Ahmed	Traumato-Orthopédie
95. Pr. EL HASSANI My Rachid	Radiologie
96. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur	Médecine Interne
97. Pr. ERROUGANI Abdelkader	Chirurgie Générale
98. Pr. ESSAKALI Malika	Immunologie
99. Pr. ETTAYEBI Fouad	Chirurgie Pédiatrique
100. Pr. HADRI Larbi*	Médecine Interne
101. Pr. HASSAM Badredine	Dermatologie
102. Pr. IFRINE Lahssan	Chirurgie Générale
103. Pr. JELTHI Ahmed	Anatomie Pathologique
104. Pr. MAHFOUD Mustapha	Traumatologie – Orthopédie
105. Pr. MOUDENE Ahmed*	Traumatologie- Orthopédie
106. Pr. OULBACHA Said	Chirurgie Générale
107. Pr. RHRAB Brahim	Gynécologie –Obstétrique
108. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR	Dermatologie
109. Pr. SLAOUI Anas	Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

110. Pr. ABBAR Mohamed*	Urologie
111. Pr. ABDELHAK M'barek	Chirurgie – Pédiatrique
112. Pr. BELAIDI Halima	Neurologie
113. Pr. BRAHMI Rida Slimane	Gynécologie Obstétrique
114. Pr. BENTAHILA Abdelali	Pédiatrie
115. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali	Gynécologie – Obstétrique
116. Pr. BERRADA Mohamed Saleh	Traumatologie – Orthopédie
117. Pr. CHAMI Ilham	Radiologie
118. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae	Ophtalmologie
119. Pr. EL ABBADI Najja	Neurochirurgie
120. Pr. HANINE Ahmed*	Radiologie
121. Pr. JALIL Abdelouahed	Chirurgie Générale
122. Pr. LAKHDAR Amina	Gynécologie Obstétrique
123. Pr. MOUANE Nezha	Pédiatrie

Mars 1995

124. Pr. ABOUQUAL Redouane	Réanimation Médicale
125. Pr. AMRAOUI Mohamed	Chirurgie Générale
126. Pr. BAIDADA Abdelaziz	Gynécologie Obstétrique
127. Pr. BARGACH Samir	Gynécologie Obstétrique

- | | |
|--|--|
| 128. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane* | Urologie |
| 129. Pr. BENAZZOUZ Mustapha | Gastro-Entérologie |
| 130. Pr. CHAARI Jilali* | Médecine Interne |
| 131. Pr. DIMOU M'barek* | Anesthésie Réanimation |
| 132. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine* | Anesthésie Réanimation |
| 133. Pr. EL MESNAOUI Abbas | Chirurgie Générale |
| 134. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 135. Pr. FERHATI Driss | Gynécologie Obstétrique |
| 136. Pr. HASSOUNI Fadil | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 137. Pr. HDA Abdelhamid* | Cardiologie |
| 138. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed | Urologie |
| 139. Pr. IBRAHIMY Wafaa | Ophtalmologie |
| 140. Pr. MANSOURI Aziz | Radiothérapie |
| 141. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia | Ophtalmologie |
| 142. Pr. SEFIANI Abdelaziz | Génétique |
| 143. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali | Réanimation Médicale |

Décembre 1996

- | | |
|--|--------------------------|
| 144. Pr. AMIL Touriya* | Radiologie |
| 145. Pr. BELKACEM Rachid | Chirurgie Pédiatrie |
| 146. Pr. BOULANOVAR Abdelkrim | Ophtalmologie |
| 147. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan | Chirurgie Générale |
| 148. Pr. EL MELLOUKI Ouafae* | Parasitologie |
| 149. Pr. GAOUZI Ahmed | Pédiatrie |
| 150. Pr. MAHFOUDI M'barek* | Radiologie |
| 151. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid | Chirurgie Générale |
| 152. Pr. MOHAMMADI Mohamed | Médecine Interne |
| 153. Pr. MOULINE Soumaya | Pneumo-phtisiologie |
| 154. Pr. OUADGHIRI Mohamed | Traumatologie-Orthopédie |
| 155. Pr. OUZEDDOUN Naima | Néphrologie |
| Pr. ZBIR EL Mehdi* | Cardiologie |

Novembre 1997

- | | |
|--------------------------------|-------------------------|
| 158. Pr. ALAMI Mohamed Hassan | Gynécologie-Obstétrique |
| 159. Pr. BEN AMAR Abdesselem | Chirurgie Générale |
| 160. Pr. BEN SLIMANE Lounis | Urologie |
| 161. Pr. BIROUK Nazha | Neurologie |
| 162. Pr. CHAOUIR Souad* | Radiologie |
| 163. Pr. DERRAZ Said | Neurochirurgie |
| 164. Pr. ERREIMI Naima | Pédiatrie |
| 165. Pr. FELLAT Nadia | Cardiologie |
| 166. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra | Radiologie |
| 167. Pr. HAIMEUR Charki* | Anesthésie Réanimation |
| 168. Pr. KADDOURI Noureddine | Chirurgie Pédiatrique |
| 169. Pr. KANOUNI NAWAL | Physiologie |

170. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
171. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
172. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
173. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
174. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
175. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique
<u>Novembre 1998</u>	
177. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
178. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-ptisiologie
179. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
180. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
181. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
182. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
183. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
184. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
185. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie
<u>Novembre 1998</u>	
186. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
187. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
188. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique
<u>Janvier 2000</u>	
189. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
190. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
191. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
192. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
193. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-ptisiologie
194. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
195. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
196. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
197. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-ptisiologie
198. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
199. Pr. EL OTMANY Azzedine	Chirurgie Générale
200. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
201. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
202. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
203. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
204. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
205. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
206. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
207. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

208. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
209. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
210. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
211. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
212. Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie
213. Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
214. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
215. Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
216. Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
217. Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
218. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
219. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
220. Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
221. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
222. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
223. Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
224. Pr. MAHASSINI Najat	Anatomie Pathologique
225. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
226. Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
227. Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie

Décembre 2001

228. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
229. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
230. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophtalmologie
231. Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
232. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
233. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
234. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
235. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
236. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
237. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
238. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
239. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
240. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
241. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
242. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
243. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
244. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
245. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
246. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
247. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
248. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie

249. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
250. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
251. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
252. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
253. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
254. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
255. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
256. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
257. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
258. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
259. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
260. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
261. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
262. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
263. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
264. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
265. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
266. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
267. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
268. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie

Décembre 2002

269. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
270. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
271. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
272. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
273. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
274. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
275. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
276. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
277. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
278. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
279. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
280. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
281. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
282. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
283. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
284. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
285. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
286. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
287. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
288. Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
289. Pr. IKEN Ali	Urologie
290. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie

291. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 292. Pr. KRIOUILE Yamina
 293. Pr. LAGHMARI Mina
 294. Pr. MABROUK Hfid*
 295. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 296. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 297. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 298. Pr. OUJILAL Abdelilah
 299. Pr. RACHID Khalid *
 300. Pr. RAISS Mohamed
 301. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 302. Pr. RHOU Hakima
 303. Pr. SIAH Samir *
 304. Pr. THIMOU Amal
 305. Pr. ZENTAR Aziz*

Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

306. Pr. ABDELLAH El Hassan
 307. Pr. AMRANI Mariam
 308. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 309. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 310. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 311. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 312. Pr. BOULAADAS Malik
 313. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 314. Pr. CHAGAR Belkacem*
 315. Pr. CHERRADI Nadia
 316. Pr. EL FENNI Jamal*
 317. Pr. EL HANCHI ZAKI
 318. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 319. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 320. Pr. HACHI Hafid
 321. Pr. JABOUIRIK Fatima
 322. Pr. KARMANE Abdelouahed
 323. Pr. KHABOUZE Samira
 324. Pr. KHARMAZ Mohamed
 325. Pr. LEZREK Mohammed*
 326. Pr. MOUGHIL Said
 327. Pr. NAOUMI Asmae*
 328. Pr. SASSENOU ISMAIL*
 329. Pr. TARIB Abdelilah*
 330. Pr. TIJAMI Fouad
 331. 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
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

332. **Janvier 2005**

333. Pr. ABBASSI Abdellah
334. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
335. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
336. Pr. ALLALI Fadoua
337. Pr. AMAZOUZI Abdellah
338. Pr. AZIZ Noureddine*
339. Pr. BAHIRI Rachid
340. Pr. BARKAT Amina
341. Pr. BENHALIMA Hanane
342. Pr. BENHARBIT Mohamed
343. Pr. BENYASS Aatif
344. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
345. Pr. BOUKLATA Salwa
346. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
347. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
348. Pr. EL HAMZAOUI Sakina
349. Pr. HAJJI Leila
350. Pr. HESSISSEN Leila
351. Pr. JIDAL Mohamed*
352. Pr. KARIM Abdelouahed
353. Pr. KENDOUCI Mohamed*
354. Pr. LAAROUSSI Mohamed
355. Pr. LYAGOUBI Mohammed
356. Pr. NIAMANE Radouane*
357. Pr. RAGALA Abdelhak
358. Pr. SBIHI Souad
359. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam
360. Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Ophtalmologie
Cardiologie
Ophtalmologie
Radiologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Radiologie
Ophtalmologie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

400. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
401. Pr. AKJOUJ Said*
402. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
403. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
404. Pr. BENCHEIKH Razika
405. Pr. BIYI Abdelhamid*
406. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
432. Pr. CHEIKHAOUI Younes
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
434. Pr. DOGHMI Nawal
435. Pr. ESSAMRI Wafaa
436. Pr. FELLAT Ibtissam
437. Pr. FAROUDY Mamoun

Rhumatologie
Radiologie
Dermatologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation

480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhoussain *	Microbiologie
459. Pr. MRANI Saad *	Virologie
460. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
461. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
470. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
471. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib *	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
478. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
479. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
480. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
481. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
482. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
483. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Décembre 2008

484. Pr TAHIRI My El Hassan*	Chirurgie Générale
485. Pr ZOUBIR Mohamed*	Anesthésie Réanimation

Mars 2009

486. Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
487. Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
488. Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
489. Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
490. Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
491. Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
492. Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
493. Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
494. Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
495. Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
496. Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
497. Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale

498. Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
499. Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
500 Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
501. Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
502. Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
503. Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
504. Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
505. Pr. ABOUZAHIR Ali *	Médecine interne
506. Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
507. Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
508. Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
509. Pr. L'kassimi Hachemi*	Microbiologie
510. Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
511. Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
512. Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
513. Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
514. Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
515. Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
516. Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-ptisiologie
517. Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
518. Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
519. Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
520. Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
521. Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
522. Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
523. Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

524. Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
525. Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
526. Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
527 Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
528. Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
529. Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
530. Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
531. Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
532. Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
533. Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérologique
534. Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
535. Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
536. Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
537. Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
538. Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
539. Pr. LEZREK Mounir	Ophtalmologie

540. Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
541. Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
542 .Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique
543. Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
544 .Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
545. Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie

*** Enseignants Militaires**

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

I.I.I.I.I PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootechne
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biotechnologie
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE M ^{ed}	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique



Dédicace

*Je dédie ce travail à mon époux, mes
parents, qu'ils trouvent ici toute ma
gratitude pour leur soutien tout au long de
mes études.*

A ma fille Leila

A mes sœurs et mes frères

A tous mes collègues et amis

*A tous ceux que j'aime et qui ont
toujours été là pour moi.*



Remerciements



J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à monsieur B.E LMIMOUNI le professeur de parasitologie-mycologie pour m'avoir accepté de m'encadrer. Qu'il trouve ici mes sentiments de gratitude et de déférence.

Je remercie Monsieur le professeur Y. BENSOUDA d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de ma thèse.

Je tiens à remercier les membres du jury, Monsieur A. LAHLOU Professeur du Microbiologie, Monsieur J. LAMSAOURI Professeur du Chimie thérapeutique, Monsieur A. BELMEKKI Professeur d'Hématologie, qui me font l'honneur d'évaluer mon travail.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à madame M. IKEN, médecin biologiste du laboratoire mycologie de l'HMIMV pour son assistance.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.



SOMMAIRE

I. Introduction :	2
II. Matériels et méthodes :	5
II.1. Lieu et période de l'étude :	5
II.2. Critère d'inclusion :	5
II.3. Méthodologie :	5
III. Résultats :	14
III.1. Répartition des espèces isolées :	15
III.2. Répartitions des espèces selon le type de prélèvement :	17
III.3. Sensibilité <i>in vitro</i> à l'amphotéricine B des espèces isolées :.....	19
III.4. Sensibilité selon le type de prélèvement :	20
III.5. Sensibilité selon les espèces :	26
IV. Discussion :	28
IV.1. Étude de sensibilité <i>in vitro</i> aux antifongiques:.....	28
IV.1.1 Indications et objectifs:.....	28
IV.1.2 Moyens d'étude de sensibilité <i>in vitro</i> des antifongiques:.....	29
1. Méthodes de référence :	29
2. Méthodes de routine:.....	31
3. Autres méthodes	35
IV.1.3 Interprétation des résultats de l'antifongigramme :.....	36
IV.1.4 Corrélation <i>in vitro/in vivo</i> :.....	38
IV.1.5 Complexité de la standardisation des techniques d'évaluation de sensibilité des antifongiques <i>in vitro</i> :.....	39
IV.1.6 Étude de la sensibilité des associations des antifongiques:	40
IV.1.7 Évaluation de la pratique de l'antifongigramme :	41
IV.2. Amphotéricine B :	45
IV.2.1 Chimie.....	45
IV.2.2 Activité pharmacologiques :	46

IV.2.3 Formulations galéniques:	47
IV.2.4 Pharmacodynamie :	49
IV.2.5 Pharmacologie de l'amphotéricine B :	51
1. Pharmacocinétique :	51
2. Critères pharmacocinétiques :	55
3. Interactions médicamenteuses:	57
IV.2.6 Efficacité clinique :.....	59
IV.2.7 Tolérance de l'amphotéricine B :	61
1. Effets indésirables:.....	61
2. Contre indications:.....	68
3. Données disponibles sur la grossesse:	68
4. Données disponibles sur l'allaitement:	69
IV.2.8 Données pharmacoéconomiques:.....	69
IV.3. Résistance:	72
IV.3.1 Résistances aux antifongiques :.....	72
1. Définition:.....	72
2. Types de résistances:.....	72
IV.3.2 Mécanisme de résistance aux antifongiques polyéniques:.....	73
IV.4. Données épidémiologiques :.....	75
IV.4.1 Épidémiologie des résistances aux antifongiques de <i>Candida</i> :	75
IV.4.2 Facteurs de risques d'émergence des résistances aux antifongiques :.....	76
IV.4.3 Évolution de l'épidémiologie des résistances:	77
1. Intérêt de la surveillance:	77
2. Évolution de l'épidémiologie de la résistance aux antifongiques:	77
V. Conclusion :.....	81

RÉSUMÉS

Références bibliographiques



Introduction



I. INTRODUCTION :

La fréquence des infections fongiques a fortement augmenté ces dernières années, principalement à cause de l'augmentation des populations à risque que sont les patients séropositifs pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), traités par immunosuppresseurs ou chimiothérapie antimétabolique, ou transplantés d'organes ou de cellules souches hématopoïétiques, et du recours croissant aux procédures invasives à but diagnostique et thérapeutique ^[53]. Le National Nosocomial Infections Study System fait état d'une augmentation de l'incidence des infections fongiques de 2 à 3,8 % admissions au cours de la décennie 1980–1990 ^[112]. Elles représentent ainsi la septième cause de septicémie en Europe et la quatrième aux États-Unis ^[91]. Le taux de mortalité associé aux infections fongiques invasives est très élevé, souvent supérieur à 50 % selon les germes et le terrain ^[80].

Ces infections fongiques invasives sont déterminées par deux types de micro-organismes, les champignons filamenteux et les levures. Parmi ces dernières, les levures appartenant au genre *Candida* sont de loin les plus représentées. Selon la Nationale Nosocomiale Surveillance System, *Candida sp.* est responsable de 85,6 % des infections fongiques nosocomiales dont 76 % sont causées par *C. albicans* ^[44]. Par ailleurs, l'augmentation de la fréquence des infections à levures s'est également accompagnée d'une augmentation de l'incidence de certaines espèces auparavant peu représentées entraînant une modification de leur distribution. De nouvelles espèces de *Candida* sont de plus en plus souvent incriminées comme *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, ou nouvellement décrites comme *C. dubliniensis* ^[44,131]. Elles ont parfois une virulence moindre que *C. albicans* mais leur sensibilité aux antifongiques est diminuée ^[132].

Bien que la communauté scientifique soit constamment à la recherche de nouvelles molécules à activité antifongique, le nombre de cibles cellulaires utilisables est limité pour satisfaire aux critères de toxicité chez le patient. Ainsi, le traitement des infections fongiques repose à l'heure actuelle sur l'utilisation de quatre types de molécules, agissant sur trois mécanismes cellulaires. La 5-fluorocytosine, un analogue des bases pyrimidiques, inhibe la

croissance fongique en perturbant la synthèse protéique et la réplication de l'ADN ^[70,163]. Les antifongiques polyéniques et azolés agissent au niveau de l'ergostérol, principal composant de la membrane plasmique des champignons, ou de sa voie de biosynthèse ^[29,121]. Enfin, les échinocandines perturbent la synthèse de la paroi fongique en inhibant une enzyme responsable de la synthèse de certains polysaccharides pariétaux ^[43,90].

L'utilisation intensive de ces molécules a malheureusement conduit à une augmentation de l'incidence des résistances aux antifongiques. Depuis quelques années, des espèces fongiques naturellement peu sensibles à certains antifongiques ont émergées ^[158]. Certaines souches naturellement sensibles ont acquis des résistances ^[139]. Dans ce contexte, il s'est avéré intéressant de mettre en place une étude de surveillance des résistances aux antifongiques dans les services de réanimation de l'Hôpital Militaire et d'Instruction Mohamed V et de CHU Avicenne de Rabat. Cette étude nous permettra de mieux cerner le profil de sensibilité des souches de *Candida* aux différents antifongiques systémiques, notamment l'amphotéricine B. surtout que ces données en Afrique et plus précisément au Maroc ne sont pas disponibles.

Ainsi les objectifs de notre étude sont :

- ✚ D'établir le profil de sensibilité phénotypique à l'amphotéricine B des souches de *Candida* isolées à l'HMIMV et au CHU Avicenne.
- ✚ D'évaluer les taux de résistance à l'amphotéricine B des souches de *Candida* isolées à l'HMIMV et au CHU Avicenne.

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



Matériels
et méthodes

II. MATERIELS ET METHODES :

II.1. Lieu et période de l'étude :

Il s'agit d'une étude prospective qui s'est déroulée au sein du service de parasitologie/mycologie de l'hôpital militaire et d'instruction Mohammed V (HMIMV) sur une durée de trois mois (mars 2012 – juin 2012).

II.2. Critère d'inclusion :

Toutes les souches *Candida* isolées des services de réanimation de l'HMIMV et du CHU Avicenne de Rabat; à partir d'une hémoculture ou d'un site périphérique.

II.3. Méthodologie :

II.3.1 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, vaginal, endobuccal, nasal, axillaire, auriculaire, et prélèvement urinaire.

II.3.2 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 CO₂ produit par la croissance des microorganismes. Le senseur est lu par l'appareil toutes les 10 minutes avec recherche d'augmentation de sa fluorescence qui est proportionnelle à la quantité du CO₂ présent. Une lecture positive se traduisant par un signal sonore indique une présence possible de microorganismes viables dans le flacon.

A partir du flacon positif, l'échantillon est ensuite ensemencé sur milieu chromogène candiselect 4TM. 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.glabrata*, *C.tropicalis* 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 4TM. La lecture est effectuée après une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

II.3.3 Lecture des résultats :

L'identification de *Candida albicans* 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 violet \Rightarrow *C. albicans*
- Colonies turquoise, brillantes, plates à contours réguliers – morphotype lisse (S)
 \Rightarrow *C. glabrata* \Rightarrow confirmation : RTT *Glabrata*
- Colonies turquoise très intenses, bombées, à contours réguliers – morphotype lisse (S) \Rightarrow *C. tropicalis*
- Colonies turquoise, d'aspect sec, à contours irréguliers – morphotype rugueux (R)
 \Rightarrow *C. krusei* : *Krusei Color*
- Colonies blanches \Rightarrow autres espèces de levures \Rightarrow galerie biochimique d'identification Auxacolor.

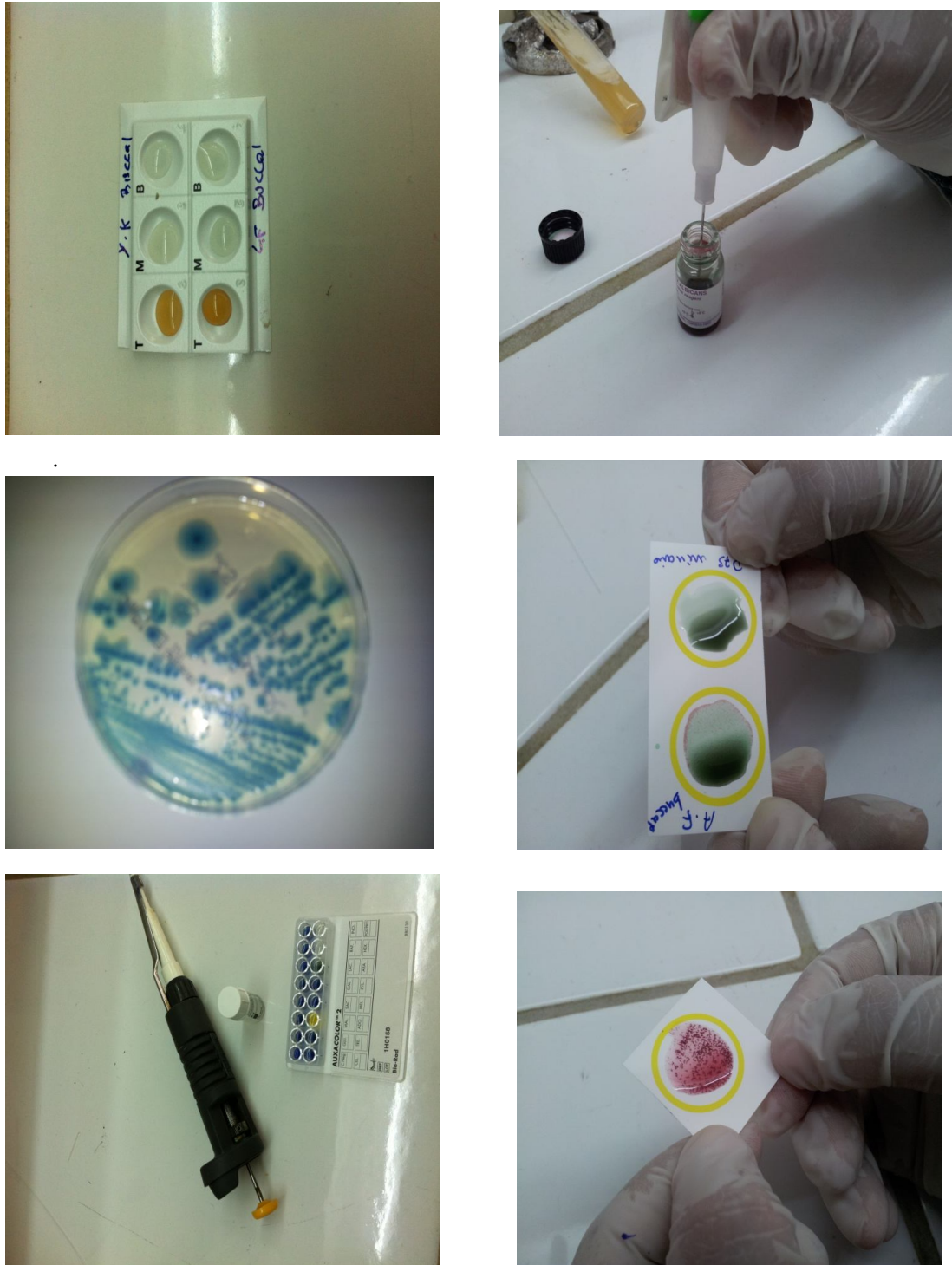


Figure 1: Identification des espèces de *Candida* (Photos du laboratoire de parasitologie mycologie de l'HMIMV de Rabat)

II.3.4 Antifongigramme :

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

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

➤ Intérêt clinique :

Les disques d'antifongigramme permettent de déterminer la sensibilité des levures du genre *Candida* aux agents antifongiques, par une méthode de diffusion en milieu gélosé. Cette méthode suit une procédure standardisée publiée le CLSI/NCCLS. Dans notre travail nous sommes limités à l'étude de l'amphotéricine B. Les autres antifongiques font l'objet d'autres travaux.

➤ Principe :

Des disques de papier imprégnés avec une concentration déterminée d'antifongique sont déposés à la surface du milieu de casitone-agar préalablement ensemencé avec un inoculum calibré, préparé à partir d'une culture pure de la levure à tester. Un gradient de concentration d'antifongique s'établit autour des disques dans la gélose. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition observées autour des disques permet de déduire les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'antifongique testé pour la souche testée et la catégorisation clinique : sensible (S), intermédiaire ou résistante (IR).

➤ **Présentation :**

Les disques fabriqués à partir de papier absorbant de qualité supérieure, ont 6.5 mm de diamètre et sont imprégnés d'antifongique à des concentrations précises.

Ces disques sont clairement identifiés par un symbole comportant deux à trois lettres, suivi de la charge exprimée en µg, imprimées de chaque côté du disque.

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

Tableau 1: caractéristiques du disque de l'Amphotéricine B.

	Charge du disque	symbole	conditionnement
Amphotéricine B	100 µg	AB 100	1 x 50 disques

➤ **Mode opératoire :**

Dans cette étude, le milieu recommandé est le Casitone-Agar (milieu prêt à l'emploi). Après fusion de la gélose au bain-marie bouillant, nous la refroidissons à une température voisine de 45°C. Nous versons 15ml dans une boîte de Petri ronde de 90 mm de diamètre afin d'obtenir une épaisseur de gélose de 2.4 mm. Après solidification, nous laissons sécher 15 min à 37°C avant utilisation.

Nous préparons l'inoculum standardisé correspondant à 10^6 levure/ml à partir d'une culture pure de 24 heures des levures genre *Candida*, obtenue sur milieu d'isolement (gélose sabouraud chloramphénicol).une öse calibrée prélevée à partir d'une colonie isolée est mise en suspension dans 10 ml d'eau distillée stérile. Après homogénéisation, nous effectuons une dilution au 1/10ème de cette suspension en introduisant 1ml (20 gouttes de pipette Pasteur) dans 9 ml d'eau distillée stérile, afin d'obtenir une suspension finale correspondant à 10^5 levures par ml, environ.

Après séchage de la gélose 15 minutes à 37°C, nous inondons la boîte avec 3 à 5 ml d'inoculum puis nous retirons l'excès de liquide à la pipette. Ensuite nous séchons les boîtesensemencées pendant 15 minutes à 37°C, les disques d'antifongiques sont appliqués sur la gélose (à 15 mm de la périphérie de la boîte) à l'aide d'une pince.

Après application des disques, Une pré-diffusion de 30 minutes à température ambiante (18-30°C) est effectuée avant de placer les boîtes à 32°C. La durée d'incubation est de 24 heures.

➤ **Lecture et interprétation :**

On mesure les diamètres des zones d'inhibition après 24 heures d'incubation. Pour ce fait la boîte est placée sur un fond noir non réfléchissant et on effectue la lecture. Si la lecture est insuffisante après 24 heures d'incubation, la boîte est ré incubée 24 heures supplémentaires avant d'effectuer la lecture à 48 heures.

On mesure les diamètres des zones d'inhibition jusqu'aux colonies de tailles normales. Cependant il est possible d'observer une inhibition partielle de la culture sur les bords des zones d'inhibition, avec la présence des colonies de petites et moyennes tailles. Ces colonies ne correspondent pas à des résistants mutants et ne doivent pas être prises en compte pour mesurer les diamètres des zones d'inhibition.

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

Tableau 2 : interprétation des résultats de l'antifongigramme.

Disque	Charge	symbole	Diamètre de la zone d'inhibition en mm		CMI en µg/ml	
			S	IR	S	IR
Amphotéricine B	100µg	AB 100	> 10	= 10	> 1	= 1

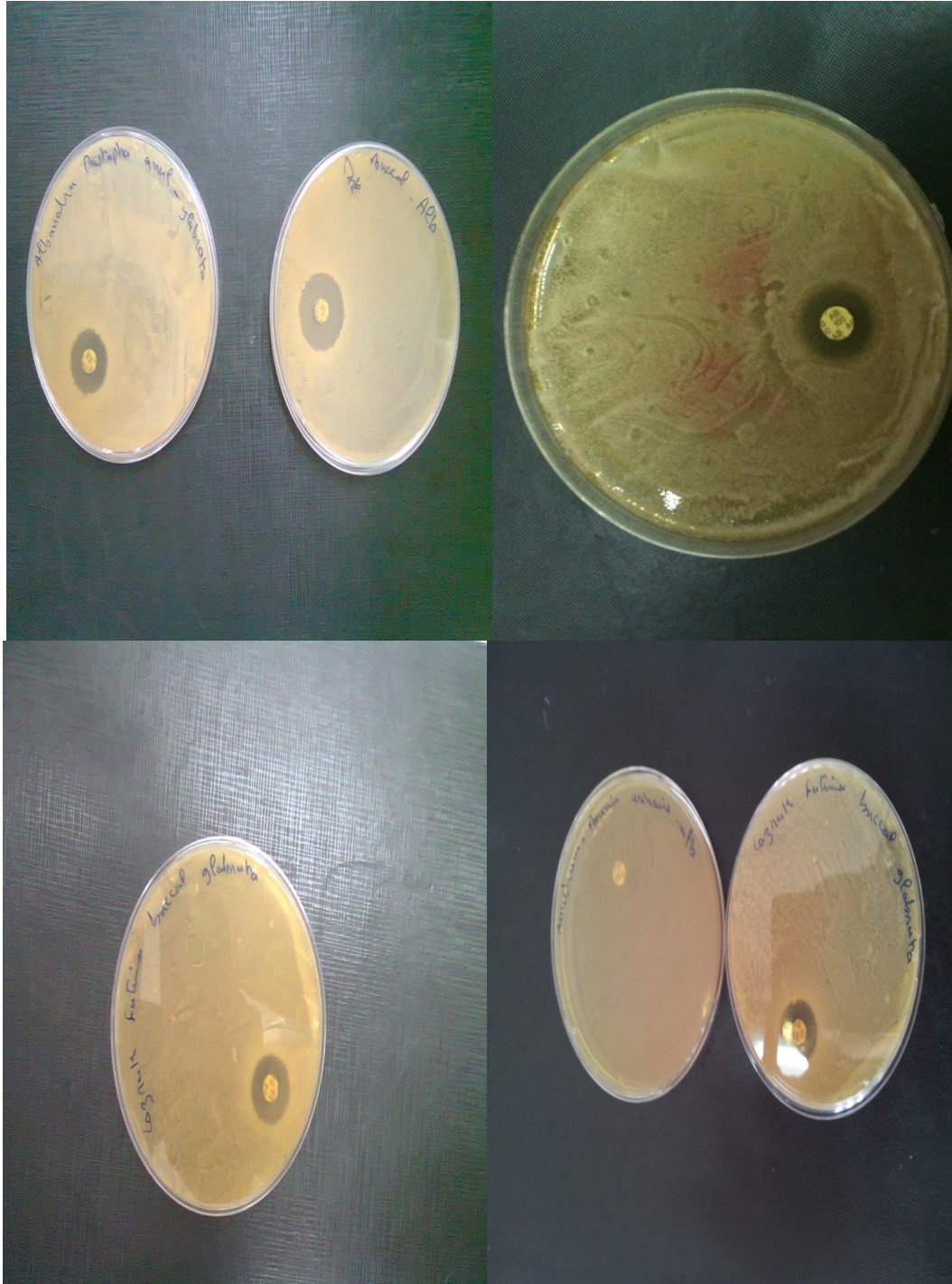


Figure 2: Lecture des résultats de l'antifongigramme
.(Photos du laboratoire de parasitologie mycologie de l'HMIMV de Rabat)

➤ **Contrôle qualité du test :**

Le tableau suivant rassemble les limites acceptables des diamètres d'inhibition obtenus par diffusion en milieu gélosé pour les souches de référence citées ci-après :

Tableau 3: souches de contrôle qualité de l'antifongigramme.

Disque	Charge	Symbole	Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm)	
			<i>Candida albicans</i> DP 3153A	<i>Candida albicans</i> DP 41R5FC
Amphotéricine B	100µg	AB 100	17 - 22	17 - 23



Résultats



III. RESULTATS :

Durant la période de l'étude, 96 souches de *Candida sp.* sont isolées. 94 souches sont isolées à partir de différents sites périphériques (buccal, nasal, vaginal, rectal...), alors que seulement deux souches sont isolées à partir d'hémoculture.

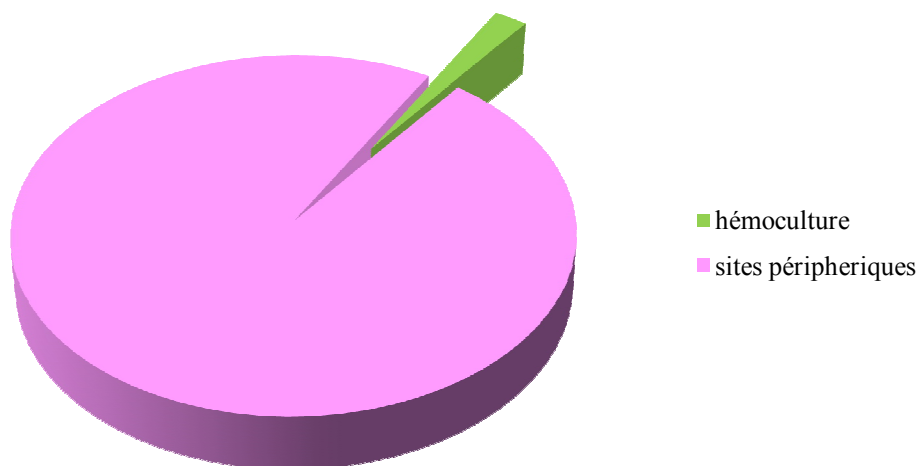


Figure 3: types de prélèvements effectués

III.1. Répartition des espèces isolées :

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

Tableau 4 : pourcentage des *Candidas* isolés.

Espèces	Nombre	Pourcentage %
<i>Candida albicans</i>	50	52.08
<i>Candida non albicans</i>	46	47.92
Total	96	100

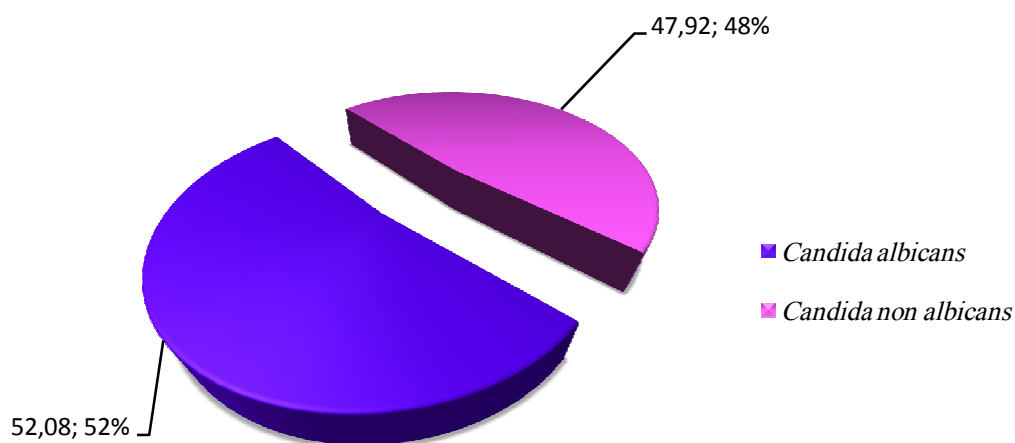


Figure 4: prédominances de *Candida albicans* sur *Candida non albicans* parmi les souches isolées

Durant cette étude, nous avons isolé cinq types de *Candida*, dont l'espèce majoritaire est *Candida albicans* avec 50 souches. La répartition globale des souches isolées est figurée dans le tableau ci-dessous :

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

Espèces	Nombres	Pourcentage %
<i>Candida albicans</i>	50	52.08
<i>Candida glabrata</i>	17	17.71
<i>Candida tropicalis</i>	10	10.42
<i>Candida krusei</i>	06	06.25
<i>Candida lusitaniae</i>	02	02.08
<i>Candida sp.</i>	11	11.46
Total	96	100%

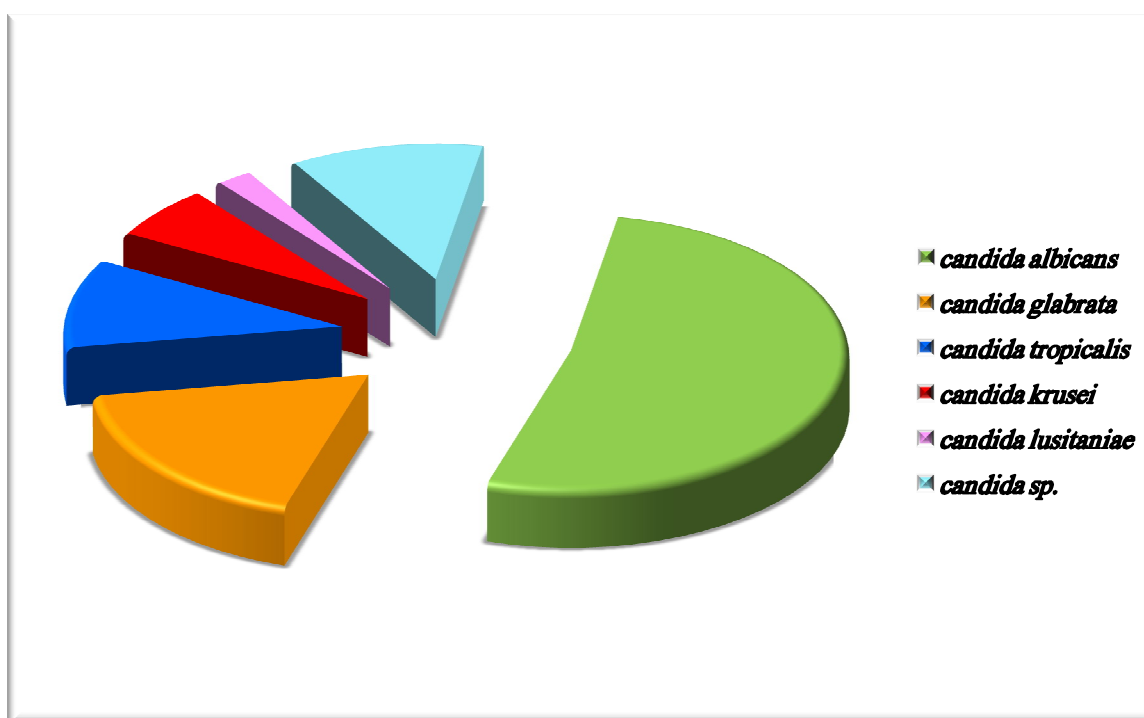


Figure 5: Répartition des différentes espèces de *Candida* isolées

III.2. Répartitions des espèces selon le type de prélèvement :

➤ Hémocultures :

À partir des hémocultures, seules *Candida albicans* et *Candida glabrata* sont isolées.

Tableau 6: pourcentages des espèces de *Candida* isolées à partir des hémocultures.

espèce	nombre	pourcentage
<i>Candida albicans</i>	1	50
<i>Candida glabrata</i>	1	50
total	2	100%

➤ Sites périphériques :

A coté des hémocultures, des sites périphériques ont servi à l'isolement de plusieurs espèces de *Candida*. Sur 94 prélèvements positifs, c'est *Candida albicans* qui est majoritairement représentée avec un pourcentage de 52 % suivie de *Candida glabrata* avec 17%, *Candida sp.* Occupe la troisième place avec 12%.

Tableau 7 : pourcentage des espèces de *Candida* isolées des sites périphériques

Espèces	Nombres	Pourcentage
<i>Candida albicans</i>	49	52.13
<i>Candida glabrata</i>	16	17.02
<i>Candida tropicalis</i>	10	10.64
<i>Candida krusei</i>	06	06.38
<i>Candida lusitaniae</i>	02	02.13
<i>Candida sp.</i>	11	11.70
Total	94	100%

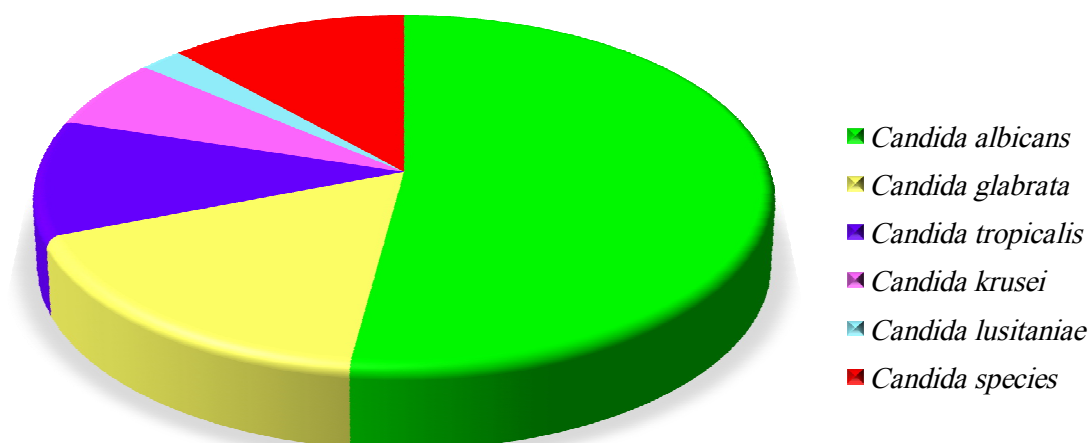


Figure 6: Répartition des espèces de *Candida* isolées des sites périphériques

III.3. Sensibilité *in vitro* à l'amphotéricine B des espèces isolées :

La figure 7 décrit l'activité de l'amphotéricine B vis-à-vis de l'ensemble des espèces isolées. L'antifongique est significativement actif sur *Candida*. Plus de 91% des isolats sont sensibles, 8.33% des souches sont intermédiaires ou résistantes. La figure 8, indique la distribution des diamètres des zones d'inhibition des souches de *Candida* isolées.

Tableau 8 : pourcentage des souches entrant dans chaque catégorie (sensible, intermédiaire ou résistante) pour l'ensemble des souches isolées :

Catégorie clinique	Nombre	Pourcentage
Sensible	88	91.67
Intermédiaire à résistante	8	8.33
Total	96	100%

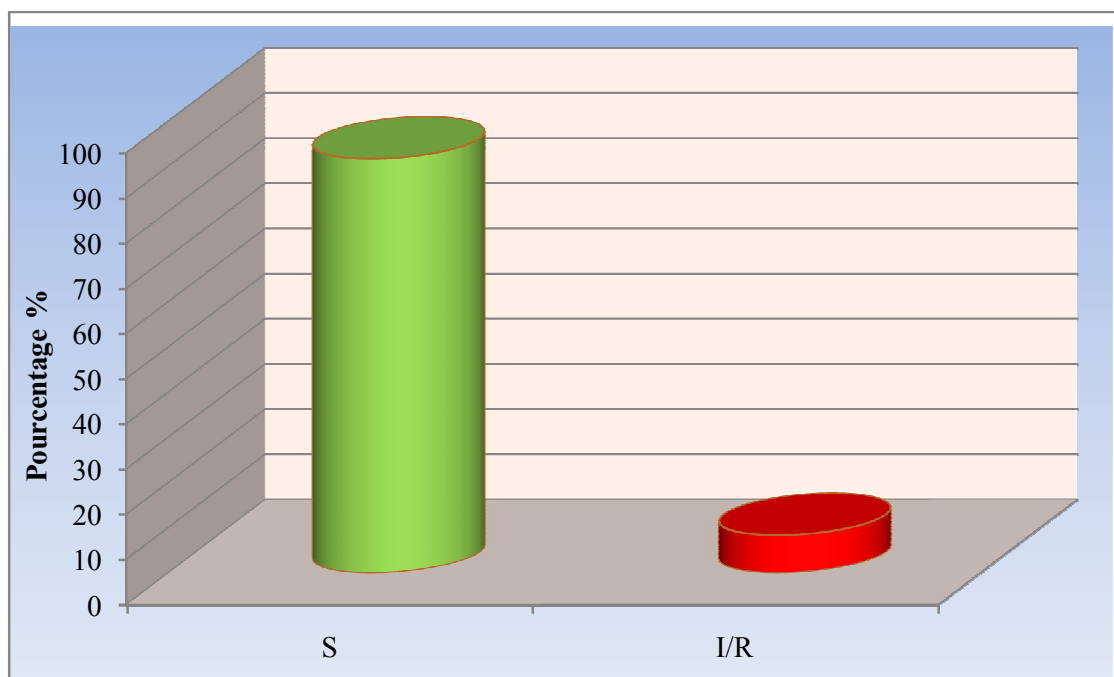


Figure 7: sensibilité des souches de *Candida* isolées de l'ensemble des prélèvements

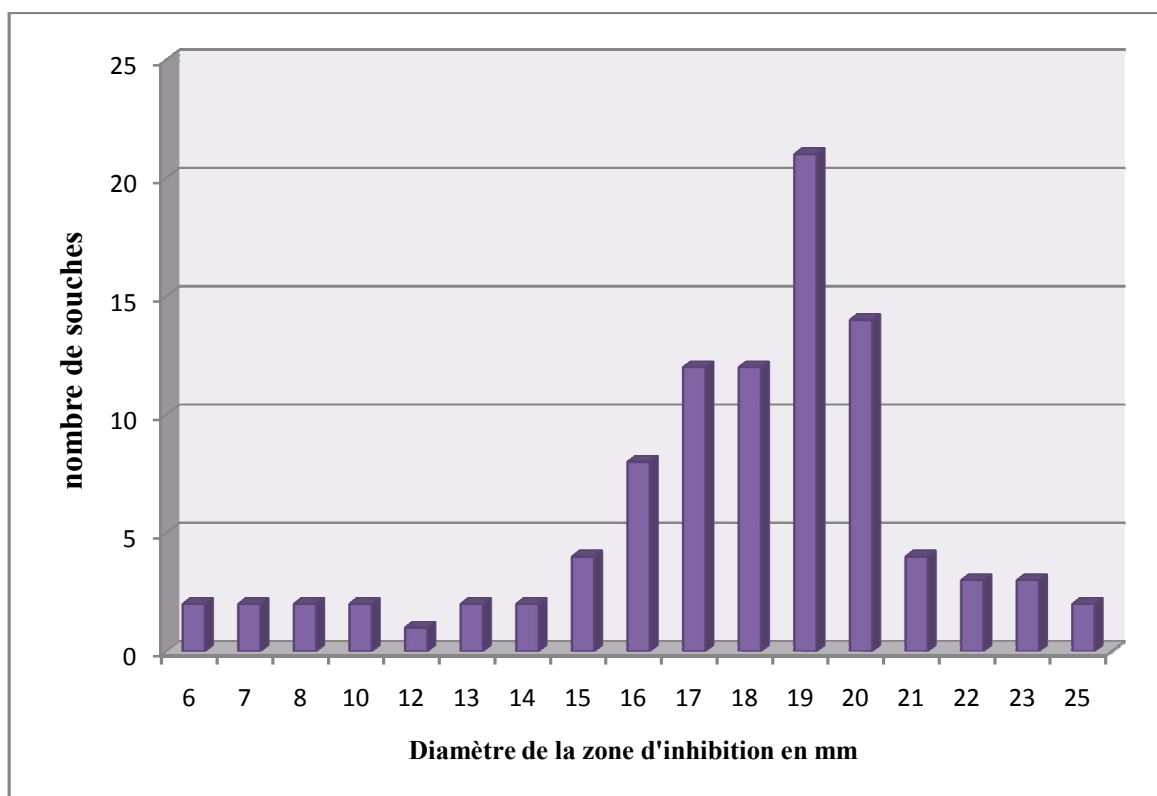


Figure 8: diamètre de la zone d'inhibition

III.4. Sensibilité selon le type de prélèvement :

➤ Hémoculture :

L'amphotéricine B est active sur les deux isolats émanant des hémocultures, avec un diamètre de zone d'inhibition de 12 mm pour *C. albicans* et 15 mm pour *C. glabrata*.

➤ Sites périphériques :

Les souches provenant des différents sites périphériques sont nettement sensibles à l'amphotéricine B avec un pourcentage de 91.5 %. Seulement 8/94 (8.5 %) des souches isolées sont intermédiaires ou résistantes.

Tableau 9 : pourcentage des souches entrant dans chaque catégorie (sensibles, intermédiaires ou résistantes) isolées à partir des sites périphériques.

Catégorie clinique	Nombre	Pourcentage %
Sensibles	86	91.5
Intermédiaires ou résistantes	8	8.5
Total	94	100

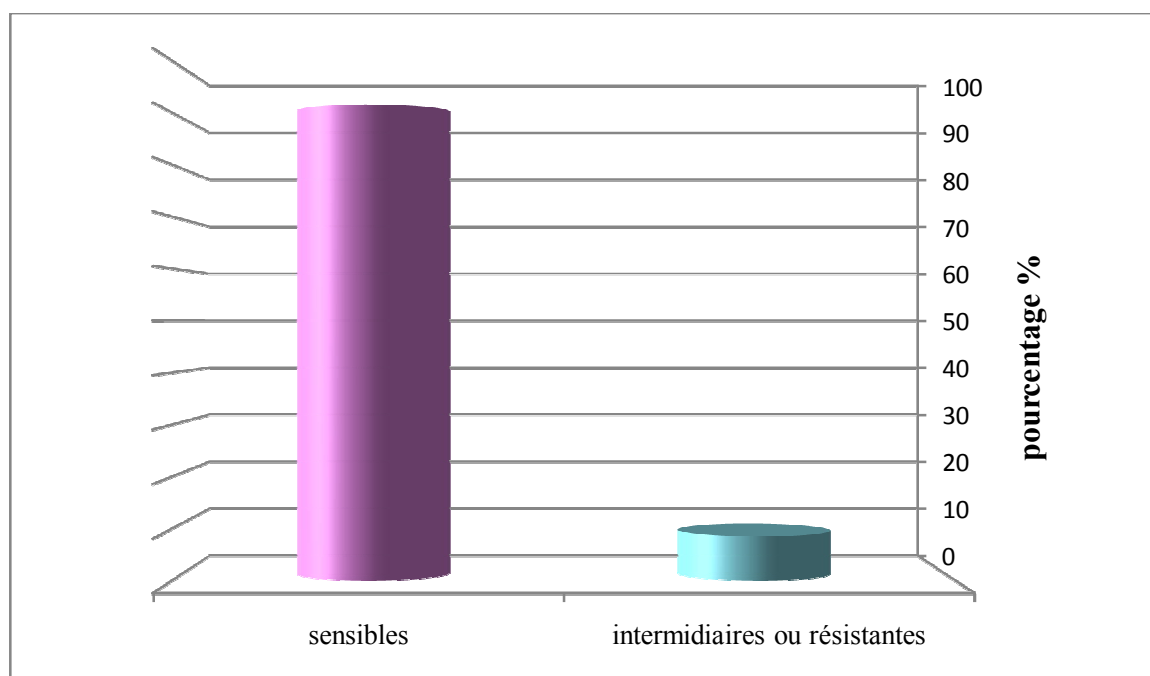


Figure 9: sensibilité des souches de *Candida* isolées des sites périphériques

✚ Site buccal :

Des 45 souches isolées du site buccal, 41 sont sensibles à l'amphotéricine B tandis que 4 sont intermédiaires ou résistantes.

Tableau 10 : nombres et pourcentage des souches de *Candida* isolées du site buccal

Catégorie clinique	Nombre	Pourcentage%
Sensibles	41	91.11
Intermédiaires ou résistantes	4	8.89
Total	45	100

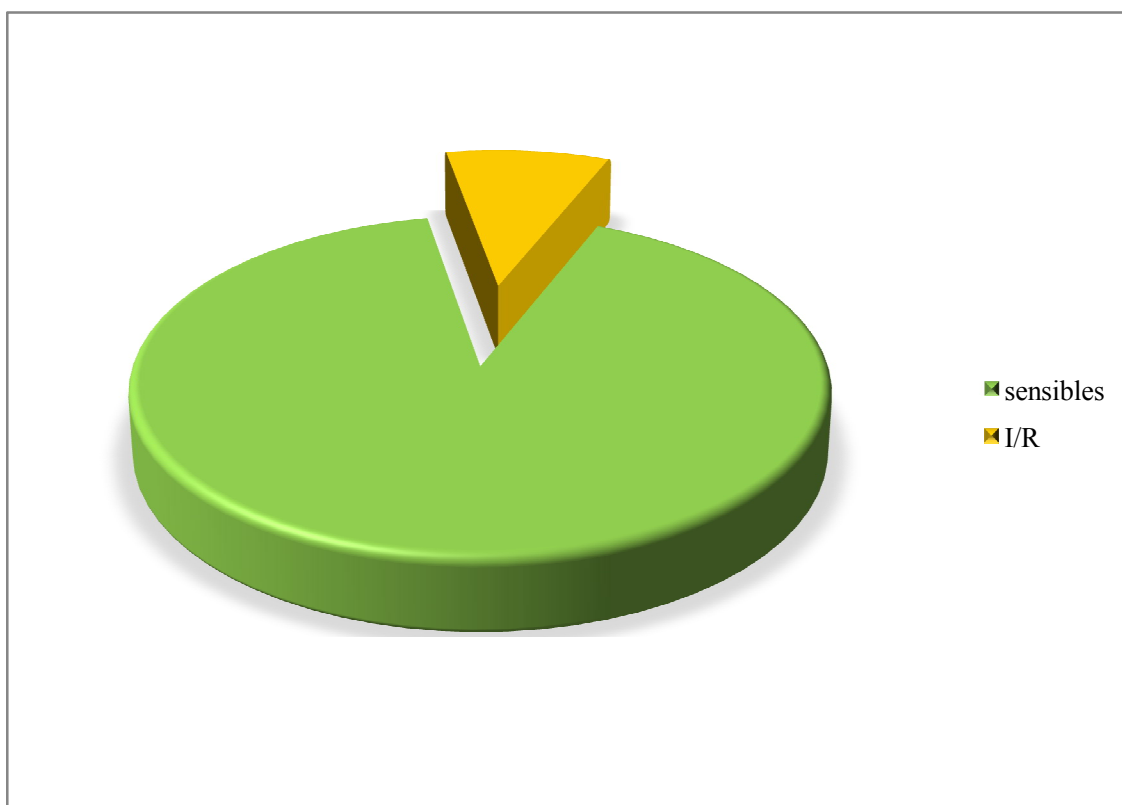


Figure 10: sensibilité des souches de *Candida* isolées du site buccal

✚ **Site anal :**

Parmi les 15 souches isolées, une souche solitaire est intermédiaire ou résistante.

Tableau 11 : nombres et pourcentages des souches de *Candida* isolées du site anal

Catégorie clinique	Nombre	Pourcentage%
Sensibles	14	93.33
Intermédiaires ou résistantes	1	6.67
Total	15	100

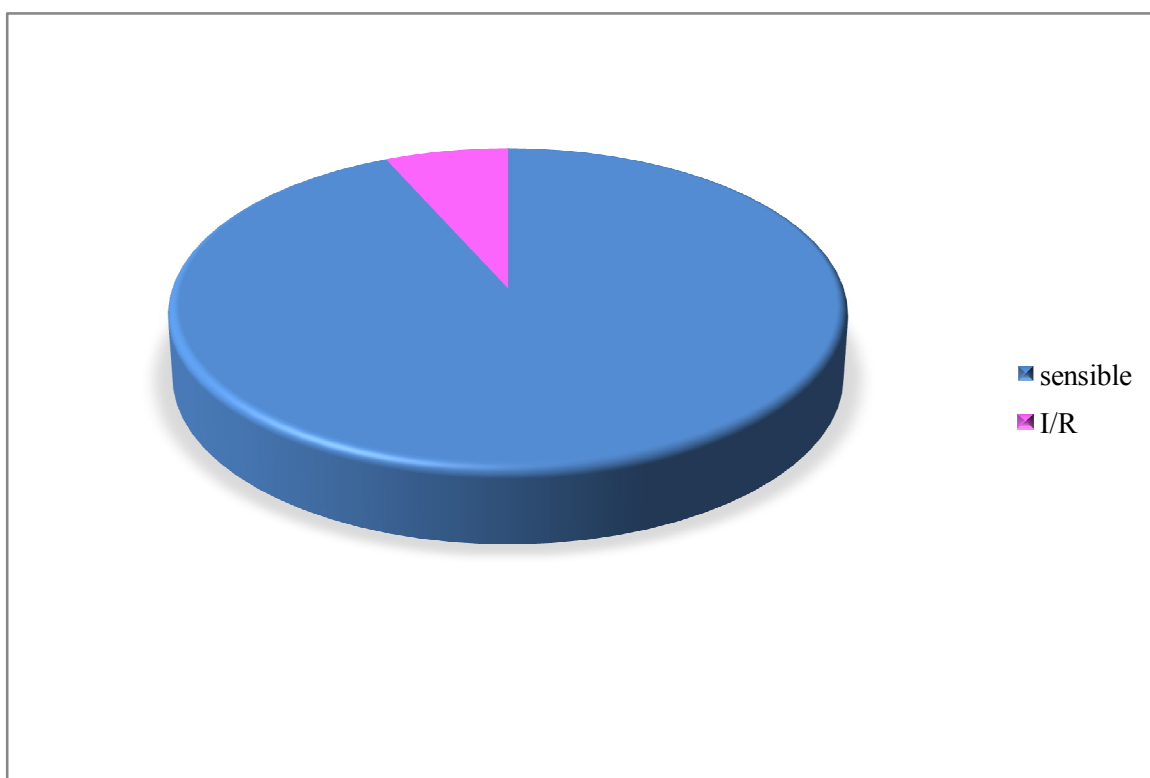


Figure 11: sensibilité des souches de *Candida* isolées du site anal

✚ **Site nasal :**

Des 13 souches isolées, une seule souche est intermédiaire ou résistante.

Tableau 12 : nombres et pourcentages des souches de *Candida* isolées du site nasal

Catégorie clinique	Nombre	Pourcentage%
Sensibles	12	92.31
Intermédiaires ou résistantes	1	7.69
Total	13	100

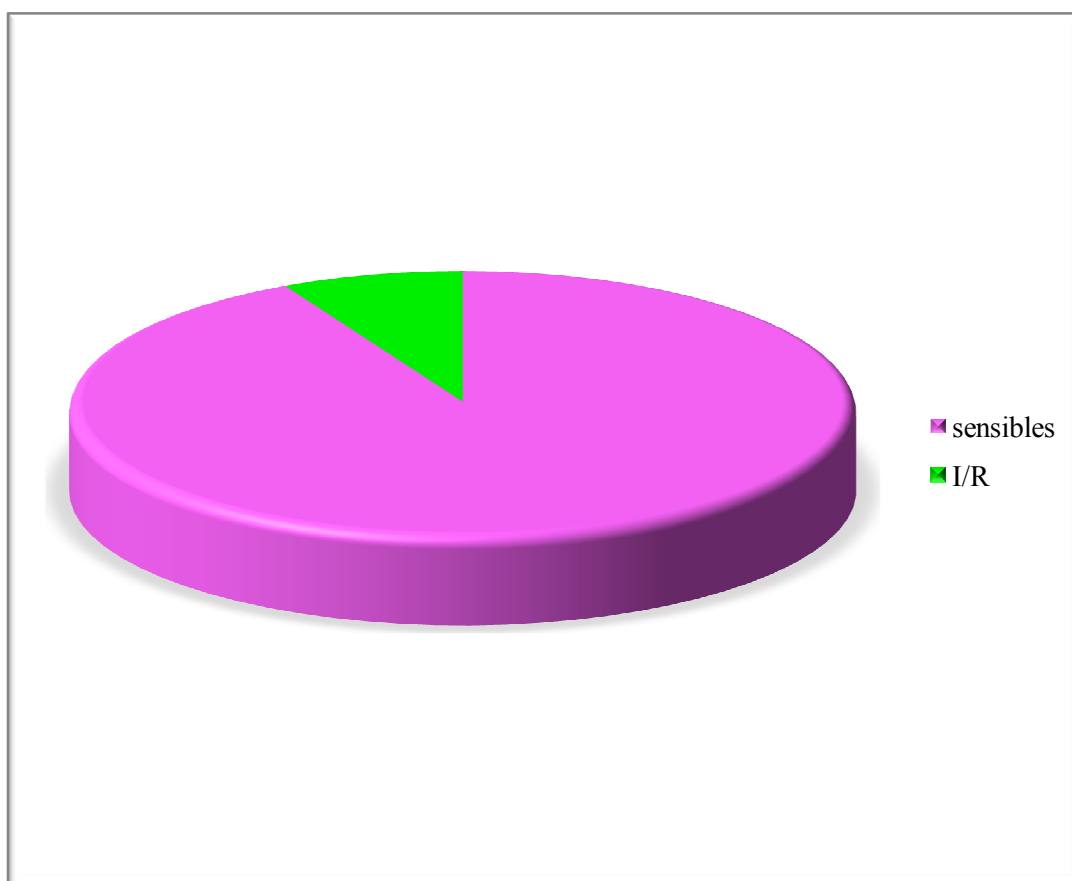


Figure 12: sensibilité des souches de *Candida* isolées du site nasal

Pour le reste des sites prélevés (vaginale, urinaire, axillaire, auriculaire), le nombre des souches sensibles, intermédiaire ou résistantes est représenté dans le tableau 13.

Tableau 13 : sensibilité des souches de *Candida* isolées des sites urinaire, vaginal, auriculaire et axillaire

	Sensibles	I/R
Urine	7	1
Vaginal	5	0
Auriculaire	4	0
Axillaire	3	1

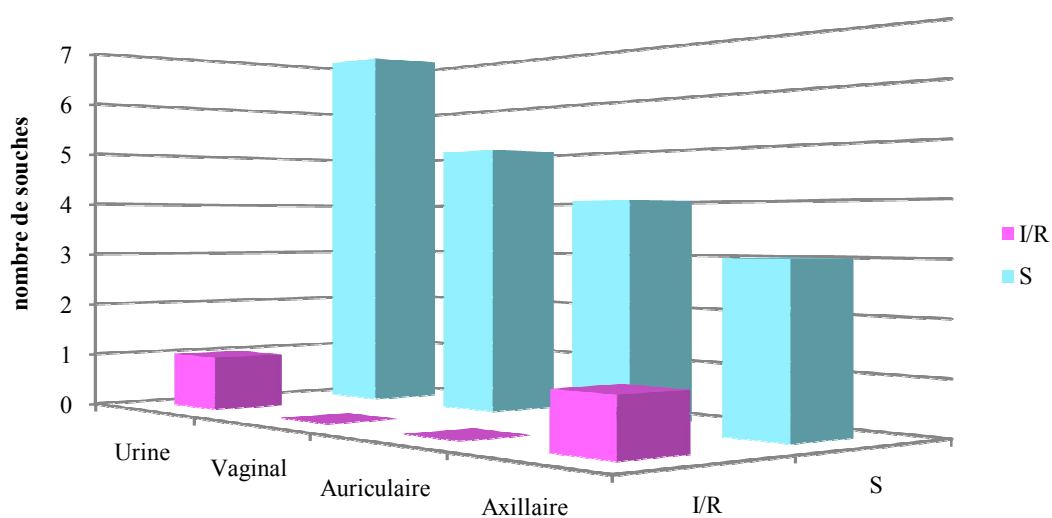


Figure 13: sensibilité des souches de *Candida* isolées des sites urinaire, vaginal, auriculaire et axillaire

III.5. Sensibilité selon les espèces :

L'amphotéricine B est significativement active contre toutes les espèces de *Candida*. *Candida krusei* et *Candida sp* sont entièrement sensibles. L'amphotéricine B est plus active sur *Candida albicans* (taux de sensibilité = 96%) et *Candida glabrata* (taux de sensibilité = 88.24%), alors que l'antifongique présente une sensibilité diminuée vis-à-vis de *Candida tropicalis* avec un taux de résistance de 20%. Pour *Candida lusitaniae*, les deux souches sont intermédiaires ou résistantes.

Tableau 14 : taux de sensibilité à l'amphotéricine B des différentes espèces de *Candida*

espèces	nombre	Sensibilité			
		sensibles		I/R	
		N	%	N	%
<i>Candida albicans</i>	50	48	96	2	4
<i>Candida glabrata</i>	17	15	88.24	2	11.76
<i>Candida krusei</i>	6	6	100	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	10	8	80	2	20
<i>Candida lusitaniae</i>	2	0	0	2	100
<i>Candida sp.</i>	11	11	100	0	0

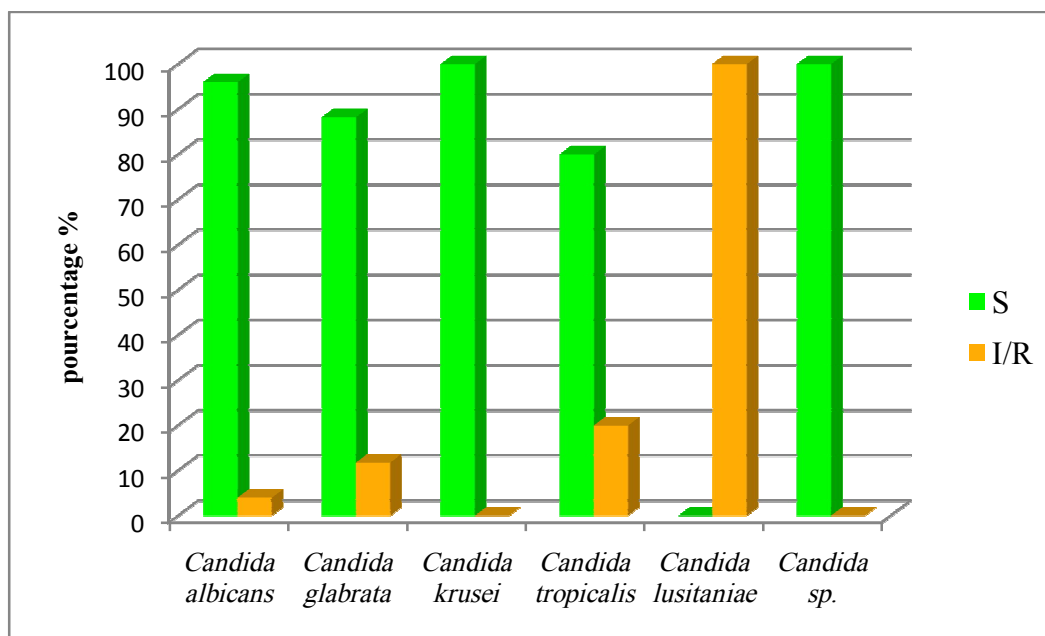


Figure 14: sensibilité à l'amphotéricine B des différentes espèces de *Candida*



Discussion



IV. DISCUSSION :

IV.1. Étude de sensibilité *in vitro* aux antifongiques:

Les raisons actuelles de recourir à la mise en œuvre de tests de sensibilité aux antifongiques sont multiples ^[127]:

- ✚ Une plus grande fréquence des mycoses profondes nosocomiales et communautaires, du fait de l'augmentation du nombre de patients à risque (patients immunodéprimés, procédures médicales invasives, traitements antibiotiques à large spectre et corticoïdes, nutrition parentérale, dialyse péritonéale...).
- ✚ Une plus grande diversité des agents pathogènes, avec l'émergence de champignons jusque-là peu ou pas incriminés en pathologie humaine.
- ✚ Un plus grand nombre d'antifongiques utilisés plus largement. Des résistances « naturelles » à certains antifongiques sont connues pour quelques levures. Par ailleurs, sur certains terrains (sida, transplantation d'organe ou de moelle osseuse, une thérapeutique de longue durée peut entraîner l'apparition de résistances secondaires.

Tout ces éléments rendent indispensables des méthodes reproductibles et dont les résultats soit bien corrélées avec la clinique, pour tester la sensibilité des champignons aux antifongiques.

IV.1.1 Indications et objectifs ^[4]:

Les indications de l'antifongogramme sont réservées:

- ✚ Aux infections profondes ou septicémiques ou dans les localisations cutanéomuqueuses secondaires à une diffusion systémique, afin de vérifier la sensibilité de la souche aux antifongiques systémiques.
- ✚ Aux évolutions cliniques défavorables ou en cas d'échec malgré un traitement adapté et bien conduit.

- ✚ Aux levures isolées de malades immunodéprimés ou hospitalisés dans les services à risques : réanimations médicale, chirurgicale, services d'oncohématologie, de transplantation d'organes, de néonatalogie, quelque soit l'origine de prélèvement. Ce ci permet de vérifier si une résistance aux antifongiques n'apparaît pas secondairement.

En principe les tests de sensibilité *in vitro* aux antifongiques devraient permettre la mesure comparative de l'activité des antifongiques. L'évaluation de l'activité potentielle de nouvelles drogues thérapeutiques et tester les associations antifongiques. La surveillance du développement des résistances, mais surtout prédire l'évolution clinique sous traitement.

IV.1.2 Moyens d'étude de sensibilité *in vitro* des antifongiques:

Plusieurs tests sont disponibles, en milieu liquide, semi-gélosé ou en gélosé. Ils sont soit qualitatifs, classant dans ce cas les isolats en catégories sensibles, intermédiaires ou résistants, soit quantitatifs, en fournissant une valeur chiffrée de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Le choix d'une technique doit prendre en compte le type de souches fongiques à tester (souches d'infection ou de colonisation, levures et/ou champignons filamenteux), la nature des antifongiques à tester et la vérification du degré de corrélation avec les méthodes de référence. Dans tous les cas l'utilisation de souches contrôle des qualités spécifiques des antifongigrammes est indispensable pour valider les conditions techniques et standardiser la lecture lors de la mise en place de la technique ^[98].

1. Méthodes de référence :

Historiquement, au début des années 1980, une technique a été publiée par un sous-comité au sein du NCCLS (National committee for clinical laboratory standards). En 1992, celle-ci a été standardisée puis approuvée en 1997 ^[117,119]. Actuellement, elle porte le nom de CLSI (Clinical and laboratory standards institute) ^[37]. Plus récemment, une deuxième technique a été développée par Eucast (European committee on antibiotic susceptibility testing) ^[41]. Ces deux méthodes de référence internationale ont été standardisées pour déterminer la sensibilité *in vitro* des levures et des champignons filamenteux aux antifongiques ^[37,77,145]. Méthodologiquement, ces deux techniques sont très proches, cependant elles diffèrent par la taille de l'inoculum, la composition du milieu, le temps d'incubation et la lecture des CMI ^[32,59].

❖ **Standard américain : Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI):**^[1]

En 2002, l'Institut Clinique des Laboratoires Standards CLSI, autrefois NCCLS, a développé une méthode de référence (M27-A2) qui est la méthode de microdilution ou de macrodilution qui teste la sensibilité de toutes les espèces de *Candida* et de *Cryptococcus*. Des valeurs seuils ont été définies et ont permis de classer des souches selon leurs sensibilités aux antifongiques en trois groupes (sensible, sensible dose dépendant et résistant). Les deux techniques de micro et macrodilution se ressemblent méthodologiquement mais diffèrent uniquement par le volume du milieu et le mode de lecture (visuel ou par spectrophotométrie). Peu d'études se sont intéressées à comparer les deux approches entre elles, mais dans la plupart des cas, des pourcentages de concordance élevés des espèces de *Candida* vis-à-vis de l'amphotéricine B, du kétoconazole, du flucytosine et du fluconazole ont été observés. Cette technique permet l'obtention des valeurs précises de CMI avec un coût minime. Cependant, il s'agit d'une méthode longue et difficile à réaliser.

❖ **Standard européen : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST):**

Cette technique présente le même principe que la méthode CLSI, mais avec quelques différences. Celles-ci touchent particulièrement la composition du milieu de culture utilisé (RPMI 1640) qui est supplémenté par du glucose 2 %, la densité de l'inoculum est de $1-5 \times 10^5$ UFC au lieu de $0.5-2.5 \times 10^3$ UFC^[123]. Tous ces facteurs permettent une lecture plus précoce des résultats après 24 h d'incubation. Au cours d'une étude comparative avec la méthode (CLSI), Rodriguez-Tudela *et al.* ont établi que les deux procédés sont similaires et ne posent aucun problème pour aboutir à une standardisation^[146]. Cependant, Espinel-Ingroff *et al.* ont montré que malgré une bonne corrélation entre Eucast et CLSI pour le fluconazole, le voriconazole (94 à 95 %), l'itraconazole et le posaconazole (90 à 91 %), les valeurs de CMI obtenues par Eucast sont plus basses que celles obtenues par la méthode de CLSI ce qui nécessite une rectification des seuils définis par la CLSI^[59].

Cas particulier: À la différence des azolés et de la flucytosine, il n'existe pas de valeurs seuils d'interprétation approuvées par la CLSI ou EUCAST concernant l'amphotéricine B.
[36,79]

Candida sp. CMI > 1µg/ml \Rightarrow Résistant

Aspergillus sp. CMI > 1µg/ml \Rightarrow Résistant

2. Méthodes de routine:

Les techniques de référence sont lourdes et mal adaptées à une utilisation de routine, mais conduisent à la commercialisation de plusieurs tests de sensibilité automatiques ou semi-automatiques. Simples d'utilisations, souples et économiquement abordables, ils permettent d'obtenir des résultats rapides et performants ^[39].

❖ ATB-Fungus®:

Cette technique permet, dans un milieu semi-solide, de déterminer la sensibilité du *Candida* et de *Cryptococcus neoformans* aux antifongiques dans des conditions très proches de la technique de référence de microdilution. La galerie ATB-Fungus comporte 16 paires de cupule. 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. Il s'agit d'une méthode reproductible, facile à interpréter et automatisable. Les CMI sont précises (plusieurs concentrations). Cependant la Préparation assez longue comprenant plusieurs étapes. 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 le *Candida glabrata* (48 heures). Après 48 heures, les cupules de la galerie sont parfois sèches et ininterprétables ^[11].

❖ Méthodes colorimétriques (dérivées de la méthode du NCCLS):

a) Technique du Sensititre YeastOne® :

Sensititre YeastOne® (Trek Diagnostic Systems) permet de déterminer la sensibilité des levures (*Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*) vis-à-vis de 8 antifongiques : 5FC, amphotéricine B, caspofungine, kétoconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole et posaconazole ^[51,92]. Cette méthode de microdilution en milieu liquide sous forme de plaque fournit des résultats qualitatifs et quantitatifs sur la concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches testées. Chaque plaque contient 98 séries de dilutions des 8 antifongiques. Les

puits contiennent aussi un indicateur colorimétrique qui facilite la lecture des CMI. La pousse du micro-organisme entraîne un virage de l'indicateur coloré du bleu au rouge. Alexander *et al.* ont étudié la sensibilité de 212 souches de *Candida* vis-à-vis de huit antifongiques par Sensititre YeastOne et la méthode CLSI. Ils ont constaté une bonne corrélation entre les deux méthodes (88 %) pour toutes les espèces de *Candida* à l'exception de *C. glabrata* où une lecture après 24 h d'incubation est recommandée ^[5]. De même, Davey *et al.* ont trouvé une bonne corrélation de la méthode colorimétrique (Sensititre YeastOne) avec celle de microdilution (M27-A) (91,5 %) et ont recommandé une lecture plus rapide après 24 h d'incubation pour toutes les levures du genre *Candida* ^[45]. Cuenca-Estrella *et al.* ont observé que, malgré l'absence de discordance majeure entre les deux techniques, les valeurs de CMI observées pour l'amphotéricine B par Sensititre YeastOne sont plus élevées que celles obtenues par Eucast ^[40]. Ainsi, Sensititre YeastOne semble être comparable avec les méthodes de référence (NCCLS et Eucast) pour la plupart des antifongiques, facile à interpréter et rapide pour être utilisée en routine dans les laboratoires de mycologie ^[33,40].

b) fungitest®:

Cette technique évalue la croissance des levures en milieu liquide en présence de six antifongiques tests à deux concentrations différentes (5-fluorocytosine, amphotéricine B, miconazole, kétoconazole, itraconazole, fluconazole). Le milieu de culture utilisé est RPMI glucosé à 20% et tamponné. Il est additionné d'un indicateur d'oxydoréduction qui traduit la croissance des levures par virage de sa couleur du bleu en rose ^[151]. Les études comparatives, par rapport à la méthode de référence, montrent une bonne corrélation entre les deux techniques pour les souches trouvées sensibles par la méthode NCCLS, bien que la corrélation soit moins bonne pour *C. glabrata*. En revanche, ces mêmes études font état de la faible capacité du Fungitest pour détecter les souches résistantes : une proportion importante de souches de *C. glabrata* intermédiaires ou résistantes par la technique M27 du NCCLS est retrouvée sensible. De plus, les valeurs des concentrations minimales inhibitrices sont différentes de celles du NCCLS. L'autre limite de cette technique est qu'elle ne peut doser que deux valeurs d'antifongique ^[100].

❖ **La technique de diffusion en milieu solide :**

a) *Disques :*

Dans cette méthode, des disques d'antifongiques sont appliqués à la surface d'un milieu préalablement ensemencé par la souche à tester. La lecture de ce test se fait aussi après 24 à 48 heures en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition qui est selon les critères décrits par le *National committee for clinical laboratory standards* M44-A ^[116]. Plusieurs études comparatives ont été réalisées et ont montré une bonne concordance de cette technique avec la méthode de référence NCCLS ^[14,111]. Dans une étude comparative entre E-test et la méthode de diffusion du disque, Lee *et al.* ont montré une bonne corrélation entre les deux méthodes et même avec la méthode de référence CLSI M27-A ^[93].

b) *Comprimés Néo-sensitabs™ :*

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 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* ^[60,140].

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. Cependant il présente 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 ^[21].

❖ **La technique du E-test® :**

L'E-test® est une technique quantitative qui teste la sensibilité *in vitro* des levures et des champignons filamenteux aux antifongiques. E-test est basée sur le principe de la diffusion en milieu gélosé. Il s'agit d'une bandelette en plastique, le verso est imprégné d'un gradient exponentiel et continu de l'antifongique à tester ; le recto, gradué, représente une échelle de concentrations permettant la lecture d'une CMI ($\mu\text{g/ml}$). La bandelette est appliquée à la surface d'un milieu ensemencé préalablement avec la souche à tester. La CMI est lue au niveau de l'intersection entre l'ellipse d'inhibition et la bandelette.

Plusieurs études comparatives entre E-test et la méthode de référence ont été réalisées, parmi les tests disponibles, l'E-test semble plus performant que la méthode CLSI. Concernant l'amphotéricine B, par cette technique, le seuil de CMI associé à un échec thérapeutique (traitement des candidémies) a été observé à 0.38g/ml. C'est aussi par cette technique qu'il a été démontré que *C. glabrata* et *C. krusei* devrait être considérées comme les moins sensibles vis-à-vis de l'amphotéricine B que les autres espèces de *Candida* avec, respectivement, seulement 72.5% et 8% des isolats ayant une CMI $\leq 1\mu\text{g/ml}$ [123]. E-test est la seule technique, selon le consensus 2004, qui a été validée et corrélée avec la méthode du NCCLS [38]. Elle a montré une bonne reproductibilité entre différents laboratoires [65,133], une haute simplicité d'application tout en permettant la détermination quantitative d'une CMI, elle est donc bien adaptée à une utilisation en routine dans les laboratoires de microbiologie clinique [48,162]. Cependant, elle présente l'inconvénient d'une lecture et d'une interprétation délicate en raison de la fréquence de microcolonies dans l'ellipse d'inhibition (environ 20 % des levures). La détermination du point final pour les azolés, notamment vis-à-vis de *C. glabrata* est donc parfois difficile.

❖ **La méthode Vitek 2** [1]:

Le Vitek 2 est un système automatique qui détermine à la fois l'identification fongique et la lecture de la CMI par spectrophotométrie. Ce système, grâce à la carte AST-YS01, teste la sensibilité *in vitro* des levures du genre *Candida* à l'amphotéricine B, au fluconazole, à la 5-fluorocytosine et au voriconazole. Ce test a montré un excellent niveau de standardisation par la normalisation de tous les facteurs influençant les résultats du test de sensibilité antifongique, tels que la taille de l'inoculum, la durée et la température d'incubation. Le Vitek

2 AST-YSO1, une version miniature de la technique du double dilution, est utilisé pour tester la sensibilité antifongique par la méthode de microdilution en µg/ml. Ce système intègre aussi un programme informatisé qui valide et interprète les résultats. Des études préliminaires ont montré des concordances ≥ 90 % avec la méthode de microdilution comparables à celles entre les méthodes de référence et les autres techniques commercialisées telles que Sensititre YeastOne et E-test. Des hauts niveaux de reproductibilité et une excellente concordance (>95 %) en comparaison avec la méthode CLSI ont été retrouvés pour le fluconazole, l'amphotéricine B, la 5-fluorocytosine et le voriconazole. Le système Vitek 2 est une technique qui présente l'avantage d'être capable de tester la sensibilité *in vitro* des souches dans un intervalle de temps qui varie entre 9,1 et 27,1 h d'incubation (moyenne : 12 à 14 h). Elle est plus simple que les procédures développées par CLSI ou Eucast et ne nécessite pas d'équipement spécialisé. Par ailleurs, les nouveaux antifongiques (échinocandines et les posaconazoles) doivent être inclus dans ce système pour une meilleure décision thérapeutique.

3. Autres méthodes

Plusieurs autres méthodes ont été également utilisées pour tester la sensibilité des *Candida spp.* aux antifongiques, telle la cytométrie en flux qui présente un essor considérable en microbiologie. La sensibilité des isolats cliniques de *Candida* et *Cryptococcus* peut être analysée par cytométrie en flux utilisant des sondes fluorescentes comme Fun-1, l'iodure de propidium et JC-1. Cette méthode permet de déterminer rapidement les profils de sensibilité, selon le composé antifongique, après 1 ou 2 h d'incubation contre 48 h pour les méthodes classiques ^[135]. En outre, cette méthode peut également fournir des informations sur la physiologie cellulaire et sur les mécanismes d'action qui pourraient inférer sur les mécanismes de résistance. Rudensky *et al.* ont montré que le test de sensibilité des souches de *Candida spp.* au fluconazole par cytométrie en flux directement à partir de flacons d'hémoculture rend cette méthode de grande fiabilité ^[149]. La cytométrie en flux est une méthode rapide qui ne nécessite pas de subculture sur gélose, et peut aider rapidement à la sélection d'un traitement antifongique approprié. De même une autre alternative, la RSA (*rapid susceptibility assay*) qui se base sur les profils de consommation de glucose a été

utilisée. La RSA mesure la quantité de glucose utilisé par les cellules exposées aux antifongiques par rapport à celles non exposées dans un délai de 6 à 8h. La mesure est le résultat principalement de l'inhibition de l'utilisation du glucose par inhibition de la 1,3-glucane synthase (GS) pour les échinocandines et de l'inhibition de la croissance cellulaire par altération de la formation de la paroi cellulaire pour les autres antifongiques. Li *et al.* ont trouvé une très bonne concordance entre la méthode de référence et RSA pour l'amphotéricine B et la 5-fluorocytosine (100 % et 98 % respectivement), mais des faibles concordances ont été notées pour le fluconazole et l'itraconazole (63,2 et 61,3 %) ^[101] et récemment des pourcentages de concordance élevés ont été obtenus pour les échinocandines (>90 %) ^[71]. La RSA semble être simple, économique et rapide permettant de déterminer les CMI dans un délai de 8 h. Récemment est apparue une nouvelle approche, le Maldi-Tof MS. Cette technique est basée sur le suivi des modifications du protéome des cellules de levure cultivées en présence de différentes concentrations d'antifongiques. Cette technique est précise et fiable, et en accord avec la méthode de référence CLSI pour des souches de *C. albicans* ^[104].

IV.1.3 Interprétation des résultats de l'antifongigramme :

Facteurs influençant l'interprétation de la CMI : ^[30]

Le milieu :

Le milieu utilisé dans les tests de détermination de CMI ne doit pas contenir de substances qui interfèrent avec les antifongiques. Par exemple, l'action de la 5-fluorocytosine peut être inhibée par les purines ou les pyrimidines contenues dans certains tampons (MOPS-tris) : acide morpholine propane sulfonique), les stéroïdes interfèrent avec les polyènes. La composition de l'agar varie en fonction de différents fabricants. Le RPMI1640 tamponné pH 7.0 est le milieu de référence utilisé par le NCCLS. Le milieu synthétique HR et le milieu casitone sont des bonnes alternatives pour évaluer la CMI du fluconazole pour les levures.

Le pH :

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

L'inoculum :

L'inoculum peut également influencer les résultats. La technique utilisée pour la préparation de l'inoculum ainsi que sa taille influencent la valeur de la CMI. La méthode spectrophotométrique est la plus standardisable. Il semble que la taille idéale soit d'environ 0.5 McFarland à 530 nm.

L'incubation : (durée et température)

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

L'antifongique :

Les antifongiques sont difficiles à évaluer *in vitro*, en raison de leurs caractères physicochimiques. Certains ne sont pas solubles dans l'eau d'où la nécessité d'employer des solvants. En conséquence, il est important que différentes dilutions soient effectuées dans des solutions adéquates évitant la précipitation du principe actif. Le NCCLS suggère que l'amphotéricine B et le kétoconazole soient dissouts dans le diméthyl sulfoxyde. Plus encore, l'amphotéricine B et les azolés ont tendance à se détériorer quand ils sont stockés sous forme diluée ou sèche dans les disques. La toxicité, la voie d'administration, les propriétés pharmacocinétiques, les interactions médicamenteuses et enfin la capacité à parvenir sur le site de l'infection sont autant de paramètres qui compliquent toute corrélation *in vitro/in vivo* dans l'analyse des propriétés d'un antifongique.

IV.1.4 Corrélation *in vitro/in vivo* :

Il existe une excellente corrélation *in vivo/in vitro* pour le fluconazole et l'itraconazole chez les patients infectés par le VIH et présentant une candidose oropharyngée. Il a été de plus démontré que la résistance au fluconazole survient plus souvent chez les patients infectés par le VIH avec des lymphocytes CD4 effondrés et qui ont présenté de multiples épisodes de candidose oropharyngée avec une exposition prolongée au fluconazole. À partir de ces données cliniques, il a pu être défini des points finaux, classant les CMI du fluconazole et de l'itraconazole en sensible (S), sensibilité dose-dépendante (I) et résistante (R). Cependant, il existe d'importants problèmes d'interprétation des CMI, voire une mauvaise corrélation *in vivo/in vitro* dans les autres infections fongiques pour le fluconazole et l'itraconazole. Les résistances à l'amphotéricine B sont difficilement évaluables (CMI > 1 mg/ml). La M27 ne permet pas de les identifier et *C. lusitaniae* montre souvent une résistance primaire. Les résultats suggérant une corrélation sont essentiellement historiques et basés sur des constructions pharmacocinétiques. Enfin, aucune donnée clinique n'est disponible pour l'amphotéricine B ni pour les candines ^[44].

L'étude de JH Rex *et al.* parue en 1995 comparant le fluconazole et l'amphotéricine B dans le traitement des candidémies chez les patients non neutropéniques illustre bien l'absence de corrélation clinique et *in vitro*. La sensibilité *in vitro* a été testée par la méthode NCCLS M27 sur 232 souches de *Candida sp.* isolées à partir d'hémoculture de patients traités soit par le fluconazole (400 mg/j) soit par l'amphotéricine B (0.5 mg/kg/j). Les CMI pour l'amphotéricine B sont très serrées (0.125 à 1 µg/ml) et il n'est pas trouvé d'isolat résistant *in vitro*, ni de corrélation entre l'augmentation des CMI et l'échec du traitement. Pour le fluconazole, les CMI vont de 0.125 à plus de 64 µg/ml. Il n'a pas été trouvé là non plus corrélation entre l'augmentation des CMI et l'échec du traitement ^[141].

IV.1.5 Complexité de la standardisation des techniques d'évaluation de sensibilité des antifongiques *in vitro* [4]:

La difficulté d'interprétation des CMI obtenues par l'antifongogramme n'est pas seul qui se heurte à son utilisation et sa pratique. L'antifongogramme est aussi difficile à standardiser. En effet, l'absence de reproductibilité des CMI entre les laboratoires (variation jusqu'à 50 000 fois) a imposé la nécessité d'obtenir des méthodes standardisées et reproductibles. L'étape de standardisation de l'antifongogramme a constitué un préliminaire pour le NCCLS, dont le but initial a été d'obtenir, pour des souches de levures données, des CMI reproductibles non seulement au sein d'un même laboratoire mais aussi d'un laboratoire à l'autre.

En dépit des critiques évoquées, les efforts développés par le NCCLS depuis 1985 restent considérables pour réduire la complexité de cette standardisation. Ces travaux ont consisté à examiner le rôle de l'ensemble des variables susceptibles d'intervenir dans la reproductibilité des résultats, notamment pour les antifongiques azolés qui sont particulièrement influencés par les conditions environnementales : densité de l'inoculum, temps et température d'incubation, composition du milieu, « endpoints ». Cette stratégie a abouti à la publication de documents définissant les conditions opératoires pour les levures (M27-A juin 1997) et qui servant aujourd'hui de référence. Cette méthode standard est toutefois lourde, et de nouvelles approches ont été proposées :

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

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

Pour le NCCLS l'objectif n'était pas de proposer une méthode destinée à être utilisée en pratiques courante au laboratoire. Mais le but princeps était, outre l'obtention de résultats reproductibles et la définition de souches contrôles, de constituer une référence pour l'évaluation des autres méthodes existantes. La macrométhode initiale devant ensuite évaluer vers une trousse de routine avec un format en microdilution plus pratique. Par ailleurs, divers problèmes ont surgi tels que le phénomène de traîne. Des problèmes qui devraient être corrigés et faire l'objet de nouvelles recommandations du NCCLS.

IV.1.6 Étude de la sensibilité des associations des antifongiques [68]:

Les objectifs des associations antifongiques sont multiples :

- l'élargissement du spectre pour couvrir des champignons intrinsèquement résistants ou de sensibilité diminuée aux antifongiques;
- l'augmentation de l'efficacité, par l'utilisation de modes d'actions ou propriétés pharmacocinétiques différents, ou par le biais de l'augmentation de la pénétration ou l'inhibition de la sortie d'une substance par une autre ;
- la prévention de l'émergence de résistances sous traitement. Cependant, les inconvénients des associations sont nombreux : cumul des toxicités de plusieurs classes médicamenteuses, majoration des interactions médicamenteuses, risques d'antagonisme *in vivo*, coût élevé.

La standardisation des techniques d'études des associations antifongiques au laboratoire permet d'établir des corrélations *in vitro/in vivo*, même si celles-ci sont encore mal évaluées. L'étude des associations *in vitro* repose principalement sur la méthode de l'échiquier en milieu liquide avec mesure du FIC index (fractional inhibitory concentration). Cet index exprime le niveau d'interaction d'un antifongique A avec un antifongique B. il est calculé par la formule suivante où CMI associée et CMI seule correspondent respectivement aux CMI des antifongiques A et B en association et lorsqu'ils sont testés seules.

$$FIC\ index = \frac{CMI\ A\ associée}{CMI\ A\ seule} + \frac{CMI\ B\ associée}{CMI\ B\ seule}$$

On distingue ainsi les associations synergiques ($FIC \leq 0,5$), indifférentes ($FIC = 1$ à 4) et antagonistes ($FIC > 4$).

Tableau 15: Étude *in vitro* des associations antifongiques sur *Candida* sp. (2003-2005)

Associations	synergie	indifférence	antagonisme
Amphotéricine B + fluconazole	0	0	+
Amphotéricine B + voriconazole	+	++	0
Amphotéricine B + posaconazole	+	+	0
Amphotéricine B + caspofungine	+	0	0
Amphotéricine B +5-flucytosine	+	+	0
Caspofungine + flucytosine	0	+	0
Fluconazole + 5-flucytosine	0	0	+
Voriconazole+5-flucytosine	+	++	0

L'apport des modèles animaux est essentiel dans l'évaluation des associations, mais leurs limites sont nombreuses, et il est souvent difficile d'extrapoler des résultats de l'animal à l'homme.

IV.1.7 Évaluation de la pratique de l'antifongigramme :

Le développement de nouveaux antifongiques a élargi les possibilités thérapeutiques et en conséquence créé une demande de tests de sensibilité de la part des cliniciens. Cela a remis à l'ordre du jour, les questions de fiabilité, de pertinence et de modalité de réalisation de l'antifongigramme. Du fait de l'existence de plusieurs méthodes, commercialisées ou non, permettant de réaliser un antifongigramme, le choix d'une méthode de routine et fiable de la part du biologiste s'est compliqué.

Les microbiologistes du collège de bactériologie virologie hygiène (ColBVH) ont souhaité engager une réflexion sur ce thème et réaliser une évaluation des pratiques au sein du groupe¹¹⁷. Plusieurs études ont été menées par ce centre visant à faciliter le choix d'une méthode de routine fiable d'antifongigramme, face à une demande de plus en plus fréquente des cliniciens en ce qui concerne l'identification rapide de la souche isolée et de sa sensibilité vis-à-vis des principaux antifongiques utilisés.

Le ColBVH est un réseau de 209 microbiologistes, répartis dans 193 hôpitaux non universitaires, couvrant géographiquement l'ensemble du territoire français. Une enquête rétrospective au moyen d'un questionnaire, portant sur l'année 2002, a été proposée aux membres du réseau, afin d'évaluer l'activité mycologique par rapport à l'ensemble de l'activité microbiologique, la quantité d'antifongigramme réalisée, leurs indications, les molécules testées, les méthodologies utilisées, ainsi que les difficultés et attentes des microbiologistes pour la pratique de leur activité.

Parmi les hôpitaux du ColBVH, 32 % ont répondu à l'enquête, ce qui représente environ 40 000 lits. L'activité mycologique est variable d'un centre à l'autre. En moyenne, les isolements fongiques représentent 10,8 % des isolements microbiens, et les antifongigrammes représentent 2 % des études de sensibilité ; l'antifongigramme est pratiqué dans 11,3 % des cas, contre 68,4 % des cas pour l'antibiogramme, soit en moyenne 82 antifongigrammes par hôpital en 2002. 38% des répondants ne réalisent pas d'antifongigramme dans leur laboratoire: 26 % les transmettent à un laboratoire spécialisé, 12 % n'en pratiquent jamais.

Les principales raisons évoquées pour cela sont :

- ✚ un manque de recrutement de mycologie (56 %) ;
- ✚ la notion d'absence de technique valide en routine (52 %) ;
- ✚ l'absence d'indications cliniques (35 %) ;
- ✚ le sentiment d'incompétence pour le choix de la méthode à utiliser et des antifongiques à tester ; (17 et 9 % respectivement) ;
- ✚ les indications et l'interprétation de l'antifongigramme (13 et 4 %, respectivement) ;
- ✚ le coût en matériel ou en personnel (9 %).

Parmi les 88 % de répondants qui pratiquent ou transmettent au moins un antifongogramme par an, les espèces testées appartiennent essentiellement au genre *Candida*. L'antifongogramme est effectué en fonction de divers critères biologiques ou cliniques variés, souvent à la demande du clinicien.

Concernant les indications de l'antifongogramme, hormis les sept laboratoires qui, quelle que soit l'indication potentielle, ne font ni ne transmettent aucun antifongogramme au moment de l'enquête, la décision de réaliser l'antifongogramme est globalement fondée sur un ensemble de critères intégrant à la fois l'espèce de *Candida* impliquée, la nature du prélèvement, des critères microbiologiques et le contexte clinique (76 % des cas), mais aussi la demande du clinicien (23 % des cas). Aucun laboratoire ne réalise systématiquement l'antifongogramme. L'espèce de *Candida* n'est pas un critère décisionnel dans 27 % des cas ; elle peut constituer un critère décisionnel, en association au contexte, dans 48 % des cas et constitue le seul critère décisionnel dans 25 % des cas. Dans ces deux dernières situations, *C. glabrata* (37 %), *C. krusei* (33 %), *C. albicans* (32 %), *C. tropicalis* (26 %), *C. dubliniensis* (7 %), *C. lusitaniae* (7 %) et *C. parapsilosis* (7 %) sont cités.

La nature du prélèvement intervient dans le choix de réalisation de l'antifongogramme. Il est toujours réalisé sur 74 % des hémocultures, 48 % des sites stériles autres que les hémocultures, 23 % des cathéters. Il n'est jamais réalisé sur 8 % des cathéters, 19 % des urines, 20 % des sites non stériles autres que cutanés et 50 % des prélèvements cutanés.

Les méthodes les plus utilisées sont l'ATB Fungus[®] bioMérieux (56 %) et le Etest[®] AB Biodisk (41 %), ou une combinaison de deux ou plusieurs méthodes (38 %), conditionnant le choix des antifongiques testés en première intention : amphotéricine B dans 93 % des cas, le fluconazole dans 49 % des cas. Les résultats sont interprétés en sensible, intermédiaire, résistant dans 98 % des cas. Un contrôle de qualité est utilisé, à intervalles réguliers, par 31 % des laboratoires. Seules les souches issues d'hémocultures sont conservées par la majorité des centres.

Le choix méthodologique de la technique d'antifongigramme à utiliser découle de :

- ✚ un choix fréquemment inapproprié des antifongiques testés, puisque la plupart des systèmes commercialisés ne permettent pas de tester l'ensemble des antifongiques d'action systémique ;
- ✚ la nécessité fréquente d'associer au moins deux techniques afin de pallier l'absence de certaines molécules dans les galeries commercialisées ;
- ✚ une catégorisation clinique de type sensible, intermédiaire et résistant quasi systématique, fondée sur les recommandations du fournisseur, et ce même en l'absence de seuils de sensibilité définis et valides pour un certain nombre de couples champignon/antifongique et de situations cliniques.

Concernant les attitudes des praticiens face à l'antifongigramme, Plus de 80 % des participants ressentent un sentiment d'incompétence totale ou partielle, que ce soit en ce qui concerne les indications, le choix de la méthode d'antifongigramme, le choix des antifongiques à tester, la réalisation technique, la lecture, ou l'interprétation de l'antifongigramme. Enfin, 95% des répondants sont fortement demandeurs de recommandations consensuelles concernant les indications, la réalisation et l'interprétation de l'antifongigramme.

A travers cette enquête, un sentiment d'incompétence vis-à-vis de la pratique de l'antifongigramme se dégage, ce qui limite sans doute son utilisation dans les hôpitaux, de plus une connaissance insuffisante des méthodes disponibles et de leur validité est effectivement mise en évidence, la diffusion de recommandations simples plébiscitées 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.

IV.2. Amphotéricine B :

IV.2.1 Chimie

L'amphotéricine B ou l'acide carboxylique de [1R(1R, 3S, 5R, 6R, 9R, 11R, 15S, 16R, 17R, 18S, 19E, 21E, 23E, 25E, 27E, 29E, 31E, 33R, 35S, 36R, 37S)]-33-[(3-amino-3,6-didésoxy-β-D-mannopyranosyl) oxy]-14, 39- dioxabicyclo [33.3.1] nonatriaconta-19, 21, 23, 25, 27, 29, 31-heptane-36, de poids moléculaire 924.11^[24], est un antifongique isolé à partir d'une culture de *Streptomyces nodosus* (actinomycète) dont la structure a été établie en 1970. Elle fait partie de la famille des macrolides polyéniques comprenant 200 composés. La molécule est constituée d'un grand cycle lactonique de 37 atomes de carbone. L'amphotéricine B possède sur un côté de ce cycle un système rigide de 7 doubles liaisons conjuguées en position *trans* qui lui confère un caractère hydrophobe. Sur l'autre côté du cycle, on retrouve de nombreux groupements hydroxyles, ce qui confère à la molécule un caractère hydrophile. L'amphotéricine B est donc une molécule amphiphile. Sa structure se complète par la présence d'un sucre aminé, la mycosamine, ainsi qu'un groupement carboxyle.

L'amphotéricine B se répartit schématiquement en trois formes : une forme agrégée responsable de la toxicité et une forme oligomérique (essentiellement dimère) douée d'une moindre toxicité et une forme monomérique de faible toxicité, à l'origine de l'activité antifongique. Dans un milieu aqueux, l'agrégation des molécules sous formes toxiques va être favorisée. La solubilisation de l'amphotéricine B en milieu lipidique permet de favoriser la forme monomérique^[31,95].

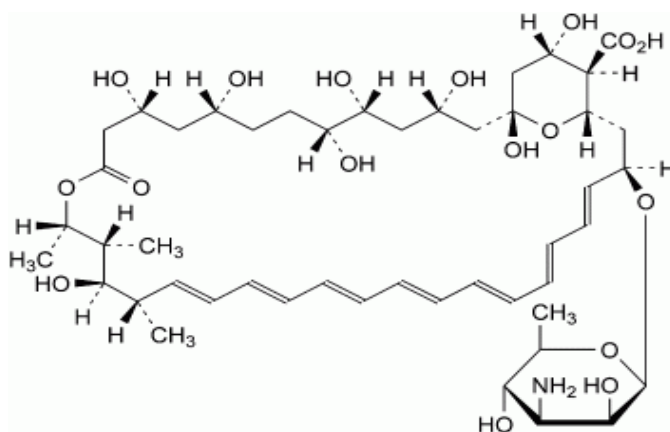


Figure 15: structure chimique de l'amphotéricine B.

IV.2.2 Activité pharmacologiques :

Mode d'action :

L'amphotéricine B a pour cible l'ergostérol, le principal composant de la membrane plasmique des champignons. Leur caractère amphotère lui permet de s'associer à la bicouche lipidique de la membrane fongique, en formant des pores. Les données de résonance magnétique nucléaire indiquent que 8 molécules d'amphotéricine B s'associent à 8 molécules d'ergostérol par leur partie polyénique tandis que les faces hydrophiles ménagent un canal central de 70 à 100 nm de diamètre (Figure 16). La formation des pores perturbe ainsi l'intégrité de la membrane plasmique, augmentant sa perméabilité et conduisant à la sortie du contenu cytoplasmique et notamment de cations telle qu'une fuite de potassium, de magnésium et de sucre ou encore l'entrée de sodium pour aboutir à la mort de la cellule ^[96].

L'amphotéricine B possède par ailleurs une activité antifongique indirecte, médiée par les macrophages. L'amphotéricine B potentialise l'action de l'interféron-gamma sur les macrophages, action qui se traduit par une synthèse de *tumor necrosis factor* (TNF)- α et l'interleukine (IL)-1, et finalement par une production de monoxyde d'azote (NO). Le NO a une activité antifongique, notamment vis-à-vis de *Cryptococcus neoformans*. ^[102]

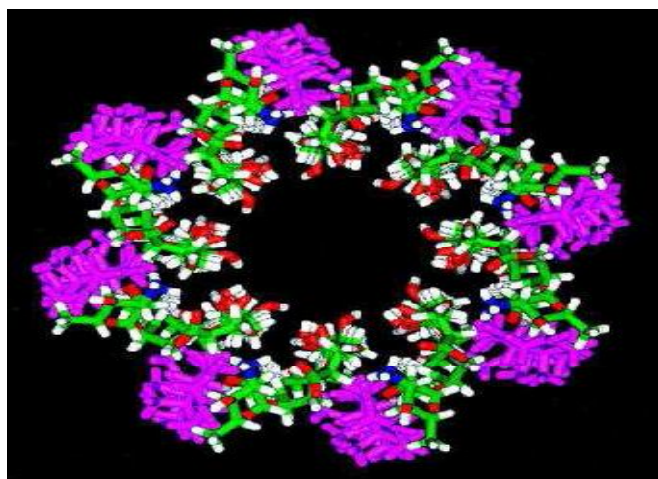


Figure 16: Modélisation tridimensionnelle du pore Formé par l'amphotéricine B au sein de la bicouche lipidique de la membrane fongique,d'après Baginski *et al.* (1997)^[13].
Amphotéricine B : blanc (H), vert (C), rouge (O), bleu (N); ergosterol : rose.

Spectres d'activités ^[108]:

L'amphotéricine B présente un spectre très large qui en fait l'antifongique de référence. Son activité, fongicide et fongistatique, s'étend à la plupart des champignons responsables d'infections invasives. Son spectre inclut les levures, les champignons dimorphiques et les champignons filamenteux. Elle est active sur la plupart des *Candida sp* et des *Aspergillus sp*. Certains *Candida* tels que *C. lusitaniae*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei* sont moins sensibles, de même que *A. terreus*. D'autres espèces sont sensibles : *Cryptococcus neoformans*, *Absidia sp*, certains *Basidiobolus*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, certains *Conidiobolus*, *Histoplasma capsulatum*, *Mucor sp*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Rhizopus sp*, *Rhodotorula sp* et *Sporothrix schenckii* dans la sporotrichose disséminée.

L'amphotéricine B démontre une activité faible ou relative contre les agents responsables de mycoses systémiques suivants : *Candida non albicans*, en particulier *C. parapsilosis*, *A. Fumigatus*, d'autres *Conidiobolus*, d'autres *Basidiobolus*, *Sporothrix schenckii* dans la sporotrichose lymphocutanée, *Coccidioides immitis* dans les atteintes pulmonaires diffuses.

L'activité *in vitro* des formulations lipidiques de l'amphotéricine B sur les souches fongiques pathogènes sont comparables à celle de l'amphotéricine B conventionnelle. La résistance primaire à l'amphotéricine B concerne les agents des dermatomycoses comme *Scedosporium sp*. Les résistances acquises sont extrêmement rares après plusieurs décennies d'utilisation clinique, et concernent quelques souches de *C. albicans* ou *C. non albicans* isolées chez des patients immunodéprimés.

IV.2.3 Formulations galéniques ^[9]:

L'amphotéricine B se présente sous forme de :

Amphotéricine B désoxycholate :

C'est la formulation la plus ancienne (Fungizone[®]) utilisée depuis le début des années 1960. En raison de son caractère insoluble dans l'eau à pH neutre, l'amphotéricine B est associée au désoxycholate de sodium pour obtenir une préparation soluble dans l'eau ou dans le soluté glucosé à 5%.

🚦 Complexe lipidique d'amphotéricine B (ABLC, amphotericin B lipid complex ou Abelcet®) :

Il s'agit d'une suspension de l'amphotéricine B complexée avec deux phospholipides (dimyristoyl phosphatidylcholine et dimyristoyl phosphatidylglycérol, selon un ratio de 1 : 3). Les particules forment des rubans de 1 600 à 6 000 nm de long.

🚦 Amphotéricine B incorporée dans des liposomes (Ambisome®) :

Dans cette formulation, l'amphotéricine B est encapsulée dans des liposomes sphériques et insérée dans une bicouche lipidique composée de cholestérols et de phospholipides. L'Ambisome® correspond à une formulation lipidique d'amphotéricine B incorporée dans des liposomes unilamellaires. Ces liposomes sont constitués de phosphatidylcholine hydrogénée, de cholestérol et de distéaroyl phosphatidylglycérol, selon un rapport de 2/1/0,8. Ils forment des sphères de 80 nm de diamètre.

🚦 Amphotéricine B en dispersion colloïdale (ABCD, amphotericin B colloidal dispersion ou Amphotec®) :

Elle correspond à une dispersion colloïdale (*amphotericin B colloidal dispersion* [ABCD]), composée d'amphotéricine B liée à du sulfate de cholestérol, selon un mélange équimolaire. Les particules ont une forme de disque de 120 à 140 nm de diamètre et de 4 nm d'épaisseur. Elle est commercialisée sous le nom d'Amphocil® en Europe et d'Amphotec® aux États-Unis.

🚦 Amphotéricine B associée à l'intralipide® :

Il s'agit d'une dilution directe et simple de l'amphotéricine B conventionnelle dans en émulsion lipidique (Intralipide® à 20 %) formant des micelles dont le diamètre est compris entre 1 et 25 µm (en moyenne quatre fois plus larges qu'avec de l'amphotéricine B sous forme de désoxycholate de sodium).

Tableau 16 : Composition des différentes formulations lipidiques d'amphotéricine B (complexes lipidiques (Abelcet®) ABLC, liposomes (AmBisome®) LAMB, suspension colloïdale (Amphocil®) ABCD) en comparaison avec la forme aqueuse conventionnelle (AMBc).^[10]

	Dénomina-tion commerciale	Approba-tion de la FDA	Vecteur	Forme	% molaire	Diamètre en nm
AmBD	Fungizone®	1958	Désoxycholate	Micelle	34	< 40
ABLC	Abelcet®	1995	Dimyristoyl phosphatidylcholine, Dimyristoyl phosphatidylglycérol	Rubans	35	1 600 à 6 000 de long
ABCD	Amphocil®/ Amphotec®	1996	Sulfate de cholestérol	Disque	50	120-140 de diamètre et de 4 d'épaisseur
LAmB	Ambisome®	1997	Phosphatidylcholine hydrogéné, Cholestérol, Distéaroyl phosphatidylglycérol,	Liposome	10	45–80 de diamètre

IV.2.4 Pharmacodynamie^[102]:

Mécanisme d'action :

In vitro, l'amphotéricine B induit une fongicidie concentration dépendante, qui est nettement perceptible pour une concentration égale à une concentration minimale inhibitrice (CMI) et qui augmente jusqu'à 32 fois la CMI. A ce niveau de concentration, elle atteint 1 log CFU/ml/h pour souches particulièrement sensibles.

In vivo l'efficacité de l'amphotéricine B, administrée sous forme de désoxycholate ou de chacune des formulations lipidiques actuellement commercialisées, est dose dépendante.

Contrairement aux azolés, l'ajout de sérum au milieu de culture entraîne une réduction de l'activité de l'amphotéricine B, probablement en raison de la nature restrictive de la liaison de l'amphotéricine B aux lipoprotéines du sérum.

D'une manière générale l'incorporation de l'amphotéricine B dans un vecteur lipidique (liposome) a tendance à majorer les CMI de l'amphotéricine B vis à vis des champignons, ainsi qu'à réduire la vitesse de fongicidie *in vitro*. Cependant, la dissociation de l'amphotéricine B à partir de son vecteur lipidique est très différente *in vitro* et *in vivo*. L'importance clinique de ces observations reste à démontrer.

L'activité de l'amphotéricine B est soumise à un effet inoculum : la CMI vis à vis de *Fusarium spp* augmente 10 à 20 fois lorsque l'inoculum passe de 10² à 10⁵ conidies/L. Cette observation pourrait expliquer la difficulté à éradiquer l'infection en situation d'inoculum fort. L'amphotéricine B est moins active sur les champignons en phase stationnaire, surtout pendant les premières heures de contact. Il faut trois à cinq fois plus longtemps pour ramener l'inoculum à un niveau indétectable, selon que cet inoculum est issu d'une culture en phase exponentielle de croissance ou en phase stationnaire.

Effet postantifongique :

L'amphotéricine B induit un effet postantifongique (EPAF) (période pendant laquelle il existe une inhibition de la croissance du champignon après exposition à l'antifongique) qui dépend de la concentration et du temps de contact. Pour des concentrations comprises entre 0,5 et 32 fois la CMI, la durée de cet effet varie entre 0,5 et 10,6 heures vis à vis de *Candida spp* et de 2,8 à 10,4 heures vis-à-vis de *C. neoformans* ^[159]. La durée de cet effet postantifongique conduit à penser qu'il n'est pas obligatoire d'obtenir une concentration résiduelle supérieure à la CMI au site de l'infection pour assurer une efficacité maximale.

Pénétration et activité intracellulaire :

L'amphotéricine B desoxycholate (Fungizone[®]) est active sur *Candida albicans* en situation intracellulaire. *In vitro*, dans les macrophages péritonéaux de souris, la Fungizone[®] est capable d'éradiquer *Candida albicans* en 24 heures à une concentration égale à 16 fois la

CMI. En revanche, l'amphotéricine B liposomale (Ambisome[®]) n'est active sur les germes intracellulaires qu'après une période d'incubation (24 heures), permettant la libération de l'amphotéricine B à partir des liposomes phagocytés par les macrophages; encore faut-il atteindre une concentration huit fois supérieure à celle de la Fungizone[®] pour observer la même efficacité. *In vivo*, cette moindre activité des formes liposomales est compensée par les fortes doses, et donc par les concentrations plus élevées qui sont atteintes.

IV.2.5 Pharmacologie de l'amphotéricine B :

1. *Pharmacocinétique* : [2,3,9,12,15,16,49,55,109,110,155,180]

✚ Cinétique de l'amphotéricine B administrée sous forme de Fungizone :

La cinétique de l'amphotéricine B reste très mal connue en dépit de son utilisation très ancienne.

La résorption digestive de l'amphotéricine B est trop faible (< 5%), l'emploi par voie orale revient à un traitement des candidoses orales ou lorsqu'une décontamination digestive est nécessaire. Seule l'administration intraveineuse est recommandée comme traitement des infections fongiques invasives.

La liaison aux protéines plasmatiques (principalement l'albumine et l'acide α_1 -glycoprotéine) et aux lipoprotéines sériques est très élevée. Il en est de même pour les lipoprotéines des membranes cellulaires. L'amphotéricine B se lie au cholestérol dans l'organisme, avec une affinité dix fois plus faible que pour la liaison à l'ergostérol fongique. Ainsi plus de 95 % de la molécule est sous forme liée dans l'organisme. Pour cette raison l'amphotéricine n'est pas dialysable.

Les concentrations au pic augmentent proportionnellement à la dose administrée, jusqu'à atteindre une valeur maximale de $2,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ et la décroissance des concentrations est triexponentielle. La distribution suit un modèle tricompartmental. L'agent se concentre dans le foie et à moindre degré dans la rate, les poumons et les reins, avec un volume de distribution de $4 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$. La pénétration intracérébrale et dans le liquide céphalo-rachidien est extrêmement faible (< 5%) et, le plus souvent, elle y est indétectable alors même qu'elle reste

le traitement de référence de certaines mycoses graves cérébro-méningées. Les concentrations dans les liquides inflammatoires (plèvre péritoine, articulations, humeur aqueuse) correspondent à environ 60 % des concentrations plasmatiques. L'amphotéricine B a également une faible pénétration au niveau du corps vitré ($\leq 38\%$) et du liquide amniotique.

Son élimination est principalement tissulaire par dégradation, bien qu'aucun métabolite n'ait été à ce jour identifié. L'excrétion biliaire et urinaire sont faibles, inférieure à 20 % et la demi-vie d'élimination est proche de 15 jours suivant une demi-vie initial de l'ordre de 24 à 48 heures. Aucun ajustement thérapeutique n'est donc nécessaire chez les patients insuffisants rénaux et/ou hépatiques, bien que Les concentrations sériques obtenues ne sont modifiées ni par une insuffisance rénale ou hépatique ni par une épuration extrarénale.

Cinétique de l'amphotéricine B administrée dans un excipient lipidique :

Elle dépend de la cinétique propre du vecteur lipidique et de la cinétique de libération de l'amphotéricine B de son vecteur. Les deux phénomènes dépendent à leur tour de la composition du vecteur et de la taille des particules.

Les vecteurs riches en phospholipides saturés et/ou en cholestérol, comme de l'Ambisome[®] et de l'Amphocil[®]/Amphotec[®], sont peu sensibles à l'hydrolyse par les HDL (high density lipoproteins) et à l'opsonisation, ce qui leur confère une grande stabilité dans le compartiment plasmatique ou l'amphotéricine B reste majoritairement associée aux vecteurs (concentration plasmatique C_{Max} élevée). Au contraire, l'Abelcet[®] est rapidement hydrolysé (3 heures) et libère l'amphotéricine B, mais cette hydrolyse est saturable dans la gamme des doses thérapeutiques. Les liposomes intacts sont captés par les monocytes circulants et les macrophages du système réticuloendothélial, ou l'amphotéricine B est libérée dans les lysosomes et peut ensuite diffuser.

Globalement, par rapport à la Fungizone[®], à doses équivalentes d'amphotéricine B, les formulations lipidiques induisent des concentrations deux à cinq fois plus élevées dans le foie et la rate, cinq fois moins élevées dans le rein, comparables ou plus élevées dans le cerveau. Au niveau des poumons, l'Abelcet[®] produit des concentrations cinq fois plus élevées, alors que l'Ambisome[®] et l'Amphocil[®]/Amphotec[®] donnent des concentrations plus basses que la Fungizone[®]. En ce qui concerne la cinétique plasmatique, la comparaison entre les différentes

formulations est compliquée par le fait que les concentrations n'évoluent pas proportionnellement aux doses administrées : elles s'accroissent de manière supra proportionnelle pour l'Ambisome® (en raison d'une baisse de la clairance et du volume de distribution), mais de manière infra proportionnelle pour les autres formulations lipidiques (par augmentation de la clairance et du volume de distribution). Le tableau 17 résume les différentes évolutions qui montrent l'influence considérable de la formulation et de la dose sur la cinétique de l'amphotéricine B. Cependant, la traduction clinique de ces différences cinétiques reste encore incertaine. Les facteurs de variabilité de la cinétique des formes lipidiques de l'amphotéricine B ont été encore peu étudiés, et les comparaisons sont difficiles car les doses varient selon les études, et les effectifs sont très faibles.

Tableau 17 : Principaux éléments de pharmacocinétique des différentes formulations galéniques de l'amphotéricine B.

Spécialité	Dose (mg/kg)	Cmax (mg/L)	AUC (mg/L/h)	T _{1/2}	CL (ml/min/kg)	V (l/kg)
Fungizone	1	2	18 ± 5	24 – 48	0,43	4
Ambisome	1	7.3	6.9	25	0.27	0.58
	5	57.6	713	17	0.17	0.22
Abelcet	1.2	2,2 ± 0,8	6,7 ± 1,0	77 ± 21	2,6 ± 0,6	21 ± 8
	5	2,4 ± 0,9	9,5 ± 1,4	173 ± 78	7,3 ± 1,1	131 ± 58
Amphocil/ amphotec	1	2.2	9.7 ± 4.0	28 ± 9	1.5	2.8 ± 0.7
	5	3	33.3 ± 15	28 ± 9	2	4 ± 1.6

Tableau 18: Diffusion tissulaire des différentes formulations lipidiques d'amphotéricine B (complexes lipidiques (Abelcet®) ABLC, liposomes (AmBisome®) LAmB) en comparaison avec la forme aqueuse conventionnelle (AMBc) exprimée en µg/g

	Fungizone ^α	Abelcet ^β	Ambisome ^γ
foie	93	196	176
rate	59	290	201
poumon	13	222	17
rein	19	7	23
cerveau	ND	1,6	0,56

^α Six patients ont reçu des doses cumulées allant de 206 mg à AmB 2688 mg.

^β Un patient ayant reçu une transplantation cardiaque trois doses de ABLC (5,3 mg / kg/j)

^γ Trois patients ayant reçu des doses cumulées allant de 820 mg à 3428 mg d'AmBisome.

Dans une autre étude; les concentrations d'amphotéricine B ont été déterminées dans certains tissus prélevés au moment de l'autopsie de 20 patients dont 7 étaient traités par l'amphotéricine liposomale (dose cumulée 2739.29 ± 3754.24 mg) et 13 étaient traités par l'amphotéricine B dispersion colloïdale. (Dose cumulée 3350.00 ± 4211.48 mg) ^[164].

Tableau 19: Concentrations tissulaires (µg/g) de l'amphotéricine B colloïdale et de l'amphotéricine B incorporée dans des liposomes

	Amphotéricine B colloïdale µg/g	Amphotéricine liposomale µg/g
foie	94.42 ± 60.17	102.81 ± 68.72
rate	81.34 ± 57.97	60.32 ± 29.75
poumon	32.62 ± 22.52	11.63 ± 7.70
rein	36.77 ± 33.22	11.89 ± 12.77
cerveau	1.39 ± 0.77	0.98 ± 0.75
myocarde	6.21 ± 5.10	3.18 ± 3.18

2. Critères pharmacocinétiques :

✓ Enfant :^[81,170]

Chez l'enfant, la pharmacocinétique de l'amphotéricine B conventionnelle est caractérisée par une forte variabilité inter-individuelle ainsi qu'une corrélation négative entre la clairance rapportée au poids et l'âge. Des valeurs de clairance rapportées au poids de $0,57 \pm 0,15$ ml/min/kg pour les moins de 9 ans et de $0,24 \pm 0,02$ ml/min/kg pour les plus de 9 ans ont ainsi été décrites, contre une valeur moyenne de $0,17$ ml/min/kg pour l'adulte. Une analyse Pharmacocinétique de population plus récente chez 57 enfants âgés de 9 mois à 16 ans atteints de tumeurs malignes a montré qu'à une dose de 1 mg / kg / jour; les nourrissons les plus jeunes et les plus légers peuvent être sous-dosés tandis que les enfants les plus âgés et les plus lourds, peuvent avoir un surdosage. Ces phénomènes suggèrent la nécessité d'augmenter les doses en mg/ kg lorsque l'âge (ou le poids) diminue. Pour des doses en mg/ kg identiques à celles utilisées chez l'adulte (0,5-1 mg/kg), les concentrations d'amphotéricine B sont deux fois plus faibles chez le nourrisson. Dans une petite population des prématurés (âge gestationnel : 27.4 ± 5 semaines), la concentration dans le LCR est de l'ordre de 40-90% des concentrations sériques recueillies.

La pharmacocinétique de l'amphotéricine B sous forme de complexes lipidiques a été étudiée à la posologie de 2,5 mg/ kg chez 6 enfants âgés de 4 à 17 ans^[167]. La clairance moyenne était de $3,64 \pm 0,78$ ml/min/kg (soit $0,218 \pm 4,7$ L/h/ kg), ce qui est très supérieur aux valeurs retrouvées pour l'amphotéricine B conventionnelle. Ainsi, pour une dose de 2,5 mg/kg/j d'Abelcet®, les concentrations plasmatiques d'amphotéricine B observées sont inférieures à celles décrites pour la dose de 1-1,5 mg/kg de Fungizone®. Chez le nouveau-né, la clairance est augmentée environ d'un facteur 2 ($0,399$ L/h/ kg) et est proportionnelle au poids, tandis que le volume de distribution est directement proportionnel au poids. L'âge gestationnel n'a par contre pas d'influence sur les paramètres pharmacocinétiques^[181]. De plus, il ne semble pas y avoir de différence pharmacocinétique majeure entre le nouveau-né et l'adulte^[181]. Les paramètres pharmacocinétiques moyens de l'amphotéricine B administrée sous forme liposomale sont également très différents de ceux des deux autres formes^[77].

La clairance et le volume de distribution central de l'amphotéricine B sont en effet respectivement deux et trois fois plus faibles dans le cas de l'Ambisome[®] que dans celui de la Fungizone[®] [171]. En conséquence, les concentrations plasmatiques d'amphotéricine B obtenues après administration de la forme liposomale sont très supérieures à celles obtenues après administration de la forme conventionnelle. Cependant, comme cela a été montré chez l'adulte, la majorité de l'amphotéricine B administrée sous forme d'Ambisome[®] reste séquestrée dans les liposomes, si bien que la concentration de l'amphotéricine B non liposomale après administration d'Ambisome[®] est en fait inférieure à celle obtenue après administration de la forme conventionnelle, ce qui est probablement à l'origine la meilleure tolérance rénale de la forme liposomale.

✓ **Rapport entre paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques :**

Les études de PK/PD ont initialement été réalisées avec la forme désoxycholate sur des modèles *in vitro* et *in vivo* de candidoses disséminées [171]. Celles-ci ont permis de démontrer l'importance d'obtenir des concentrations élevées d'amphotéricine B par rapport à la CMI, et donc d'utiliser de fortes doses pour des schémas d'administration non fractionnés (caractère concentration dépendant de l'activité antifongique). Ces modèles ont également permis de mettre en évidence la persistance d'un effet antifongique (effet postantifongique), malgré des concentrations inférieures à la CMI de l'amphotéricine B. L'index PK/PD retenu est donc le rapport C_{\max}/CMI , et les auteurs s'orientent vers une valeur cible de celui-ci comprise entre 2 et 4. Cet index et sa cible ont été confirmés dans des modèles d'aspergillose [172]. Ces résultats montrent que les relations pharmacodynamiques de l'amphotéricine B sont similaires pour les *Candida* et les *Aspergillus*.

Une étude récente en pédiatrie [171] nous amène à nous interroger sur la valeur cible définie dans les modèles *in vitro* et *in vivo* chez l'homme. En effet, dans cette étude portant sur un faible nombre d'enfants traités par amphotéricine B liposomale (n = 10), le succès clinique est obtenu pour un rapport C_{\max}/CMI supérieur à 40. La réponse complète est obtenue pour des valeurs d'index C_{\max}/CMI significativement supérieures (moyenne \pm ET : $67,9 \pm 17,5$) aux valeurs retrouvées chez les enfants présentant une réponse partielle ($40,2 \pm 13,3$).

L'étude de la PK de l'amphotéricine B liposomale chez des patients neutropéniques ^[168] montre que seuls les schémas posologiques supérieurs à 5 mg/kg sont capables d'aboutir à des concentrations sériques supérieures à 40 mg/L. Il faut bien évidemment relier cette concentration à la CMI du champignon ou de la levure considérée. Le suivi thérapeutique de l'amphotéricine B n'est pas recommandé de façon systématique. Ponctuellement, il peut être intéressant de réaliser un suivi thérapeutique au pic afin d'évaluer le rapport C_{\max}/CMI . Le dosage de la concentration résiduelle peut mettre en évidence une accumulation du médicament ^[124].

3. Interactions médicamenteuses:

L'amphotéricine B ne présente pas d'interaction significative 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 ^[28,46].

Tableau 20 : Interactions médicamenteuses de l'amphotéricine B

Association	Conséquence	Mesure
Aciclovir Acide clodronique Acide zolédronique Adéfovir Adriamycine Adriblastine AINS Aminosides Cidofovir Ciclosporine Foscarnet Ganciclovir Ifosfamide Lithium Méthotrexate Opacifiants iodés Organoplatines Pentamidine Tacrolimus Targocid(Teicoplanine) Ténofovir Vancomycine	Risque accru de néphrotoxicité	À prendre en compte
Diurétiques Hypokaliémants, Laxatifs, Glucocorticoïdes, Tétracosactide	Risque majoré d'hypokaliémie (additif)	Précaution d'emploi : surveillance kaliémie + si besoin correction
Digitaliques	↑ toxicité des digitaliques par l'hypokaliémie.	Précaution d'emploi : surveillance kaliémie + ECG
Zidovudine	↑ toxicité hématologique	Précaution d'emploi : NFS fréquentes
Sultopride	Risque majoré troubles du rythme ventriculaire avec torsades de pointes	Déconseillé
Relaxants musculaires	↑ des effets des relaxants musculaires	Surveiller signes d'apnée
Transfusions de GB	Toxicité pulmonaire aiguë	—

IV.2.6 Efficacité clinique :

L'amphotéricine B desoxycholate à la posologie de 0,5 à 1,5 mg/kg/j reste le traitement de référence de la plupart des mycoses systémiques, notamment chez les immunodéprimés. Son efficacité est variable suivant la nature de l'agent fongique incriminé et du terrain sous-jacent : greffes de moelle, transplantations d'organe, hémopathies et cancer, infections par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), corticothérapie, diabète... Une réponse à l'amphotéricine B est ainsi observée dans 60 à 80 % des candidémies et seulement 50 % des candidoses chroniques disséminées, 20 à 83 % des aspergilloses pulmonaires invasives, 70 % des cryptococcoses, 10 à 50 % des mucormycoses et moins de 30 % des infections disséminées à *Trichosporon* ^[9].

Amphotéricine B en complexe lipidique (Abelcet®) :

L'ABLC à la dose moyenne de 5 mg/kg/j a été évaluée chez 556 patients intolérants ou en échec de l'amphotéricine B conventionnelle ^[165,174]. L'ABLC s'accompagne d'une réponse favorable dans 67 % des candidoses disséminées, 42 % des aspergilloses, 82 % des fusarioses et 71 % des mucormycoses. Elle entraîne respectivement 41 et 57 % de réponse chez les transplantés de moelle et d'organe. Walsh *et al.* ont confirmé ces résultats en pédiatrie (chez 111 enfants), notamment chez les prématurés et nouveau-nés, où ils rapportent 70 % de réponse favorable (81 % dans les candidoses et 56 % dans les aspergilloses) ^[166]. Dans deux études prospectives et randomisées, l'ABLC semble au moins aussi efficace que l'amphotéricine B classique ^[180]. Ainsi dans un travail sur 231 épisodes de candidoses systémiques ou invasives, l'ABLC (à 5 mg/kg/j) donne des résultats équivalents à l'amphotéricine B conventionnelle (de 0,6 à 1 mg/kg/j) ^[6]. Sharkey *et al.* aboutissent à une conclusion similaire dans les cryptococcoses neuroméningées chez le patient VIH positif avec 86 % de réponse à 5 mg/kg/j d'ABLC (contre respectivement 63 % des 17 patients traités par 0,7 mg/kg/j d'amphotéricine B conventionnelle) ^[152].

✚ Amphotéricine B incorporée dans des liposomes (Ambisome®) :

Les données concernant l'efficacité de l'amphotéricine B liposomale proviennent d'études ouvertes et prospectives [6,20,115]. Dans les études ouvertes, l'Ambisome® (avec une posologie usuelle de 1 à 3 mg/kg/j) s'accompagne d'une réponse dans 66 % des aspergilloses invasives et 81 % des candidoses (chez des patients en échec ou intolérants à l'amphotéricine B) [144]. De bons résultats sont également notés en pédiatrie [143]. Deux études concluent à la supériorité de l'Ambisome® : l'une dans les neutropénies fébriles [137] et l'autre dans des mycoses invasives variées [94]. Par ailleurs, il faut souligner qu'Ellis *et al.* ont comparé deux posologies quotidiennes d'Ambisome® (1 et 4 mg/kg/j) dans des aspergilloses, avec des taux de réponse identiques dans les deux groupes [57]. En prophylaxie, l'utilisation d'Ambisome® peut être intéressante, comme l'illustre l'étude de Tollemar *et al.* chez des transplantés de foie [156]. Dans d'autres groupes à risque (greffés de moelle osseuse et sujets neutropéniques), deux études de prophylaxie se sont révélées négatives (pas de bénéfice en termes d'activité) [87,157].

✚ Amphotéricine B en dispersion colloïdale (Amphocil®/Amphotec®) :

L'efficacité de l'ABCD a tout d'abord été évaluée chez 572 patients (cinq études de phase I/II) présentant une mycose invasive et un échec et/ou une contre-indication à l'amphotéricine B (néphrotoxicité de l'amphotéricine B ou insuffisance rénale préexistante) [73]. Elle entraîne une réponse dans 49 % des aspergilloses invasives [176], 70 % des candidoses systémiques ou profondes [94] et 67 % des mucormycoses [74]. Le pourcentage de réponse est de 70 % dans les tumeurs solides et les hémopathies et de 55 % dans les transplantations (moelle et organe). Une réponse est obtenue dans 50 % des cas d'échec de l'amphotéricine B conventionnelle et dans 61 % des cas de néphrotoxicité de l'amphotéricine B. Dans ces études, la dose optimale d'ABCD semble être de 3 et 4 mg/kg/j.

L'efficacité de l'ABCD est confirmée par deux études randomisées. Ainsi dans les aspergilloses invasives, Bowden *et al.* rapportent 52 % de bonnes réponses avec 6 mg/kg/j d'ABCD versus 51 % avec 1 à 1,5 mg/kg/j d'amphotéricine B [22]. Dans les neutropénies fébriles, White *et al.* observent 50 % de réponse à 4 mg/kg/j d'ABCD versus 43 % à 0,8 mg/kg/j d'amphotéricine B [177].

IV.2.7 Tolérance de l'amphotéricine B :

1. Effets indésirables:

✚ Amphotéricine B conventionnelle:

✓ Réactions immédiates: [19,34,67,126]

En général, l'incidence des effets indésirables causés par le traitement avec l'amphotéricine B Desoxycholate est élevée:

Des réactions d'intolérance immédiates sont observées chez 70 à 90 % des patients. Elles sont marquées par la fièvre et des frissons (30 à 50 % des traitements), liées à une stimulation directe de la libération de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , de Prostaglandines E2 et d'IL-1) par les cellules phagocytaires mononucléaires, Parfois accompagnés des céphalées, des nausées (20 %), des vomissements et des diarrhées. Ces effets peuvent être réduits par l'administration avant le traitement des antipyrétiques, des antihistaminiques et / ou antiémétiques. Parmi les autres manifestations directement rattachées à l'administration d'amphotéricine B, il convient également de noter des effets Hypotensives, des bouffées vasomotrices, rashes cutanés, troubles visuels, troubles vestibulaires, convulsions. Des troubles pulmonaires sont exceptionnellement rapportés. Expérimentalement, l'amphotéricine B augmente la perméabilité de l'endothélium pulmonaire et la production de radicaux oxydants, ainsi que la pression artérielle pulmonaire.

L'amphotéricine B est irritante et peut produire des thrombophlébites au site d'injection. L'extravasation du médicament peut donner lieu à une nécrose tissulaire. L'incidence peut être réduite en respectant : les concentrations maximales recommandées, une durée minimale d'administration de 4 heures, en variant les sites d'administration, et notamment en utilisant un site veineux a gros débit sanguin, une voie veineuse centrale.

Bien que rares, des réactions allergiques sévères, jusqu'au choc anaphylactique peuvent survenir. Elles sont détectées par l'administration du premier milligramme d'amphotéricine B avec prudence, donc lentement, sous surveillance étroite. Si aucune réaction d'intolérance n'apparaît durant les 30 premières minutes, le risque de choc peut en principe être écarté, et la perfusion être menée à son terme.

✓ Réactions hématologiques: ^[99,126,138]

Une anémie normocytaire normochrome est relativement fréquente. Elle survient chez 75% des patients traités par l'amphotéricine B, suite à une toxicité directe sur les cellules souches hématopoïétiques (moelle osseuse), à une baisse de la production d'érythropoïétine et également à une apoptose érythrocytaire. Elle peut survenir jusqu'à une dizaine de semaines après l'instauration du traitement. Cette anémie doit être dépistée en réalisant une numération-formule sanguine une fois par semaine. Une leucopénie et/ou une thrombopénie peuvent rarement survenir voire exceptionnellement une agranulocytose.

✓ Néphrotoxicité:

- Épidémiologie:

Dans une première étude large datant de 1964 ^[25], 83% des patients, sur un total de 81, développaient une insuffisance rénale (créatinine > 15 mg/l) pendant un traitement par amphotéricine B. D'autres rapportent une baisse du débit de filtration glomérulaire de 40% chez presque 100% des patients dans les deux à trois premières semaines de traitement ^[27]. Dans les études les plus récentes, une IRA définie par un doublement de la créatininémie a été observée chez 40 à 60% des patients ^[173,175]. De plus 20 à 90% des patients développeront une hypokaliémie ^[47].

L'insuffisance rénale est le plus souvent réversible. La persistance d'une insuffisance rénale chronique est dose dépendante. Elle est observée avec une fréquence de 44% chez les patients ayant reçu plus de 4 g et 17% à moins de 4 g en dose cumulée d'amphotéricine B.

Les facteurs de risque de cette néphropathie ont été étudiés dans une étude cas-contrôle sur cent treize patients. Trente cinq patients (31%) ont présenté une insuffisance rénale définie par une augmentation de 100% de la créatininémie pendant le traitement par amphotéricine B. Les facteurs de risque identifiés sont une dose journalière élevée (risque augmenté d'un facteur 1,8 pour chaque augmentation de dose de 0,1 mg/kg/j), l'utilisation de diurétique et une fonction rénale anormale avant traitement. Les autres facteurs de risque sont ceux usuels pour tous les médicaments néphrotoxiques (déshydratation, autres traitements néphrotoxiques, hypovolémie efficace) ^[47].

- Présentation clinique ^[47] :

Les manifestations rénales sont le principal effet secondaire de l'amphotéricine B conventionnelle. L'amphotéricine B induit des anomalies de type glomérulaire et tubulaire. Les manifestations biologiques incluent une insuffisance rénale, une acidose tubulaire, une diminution des capacités de concentration des urines (polyurie) et des anomalies électrolytiques essentiellement la forme d'une acidose, d'une hypokaliémie et d'une hypomagnésémie. L'insuffisance rénale survient le plus souvent après une à deux semaines de traitement. L'arrêt du traitement conduit classiquement chez la plupart des patients qui survivent à une normalisation de la créatininémie. Il faut souligner que la survenue d'une insuffisance rénale est chez ces patients, un facteur de Co-morbidité importante. En effet, chez le patient insuffisant rénal dialysé, du fait d'une toxicité de l'amphotéricine B, la mortalité est multipliée par trois.

L'acidose tubulaire qui est caractérisée par une baisse de la réserve alcaline (HCO_3^-) est dose dépendante. Elle a été retrouvée dans 100% des cas chez six patients ayant reçu une dose cumulée supérieure à 1 g. Inversement pour une dose cumulative < 1 g, son incidence a été évaluée à moins de 2% sur 194 patients. Elle précède la diminution du débit de filtration glomérulaire indiquant que cette acidose reste indépendante de l'apparition de l'insuffisance rénale. Ce trouble est le plus souvent réversible à l'arrêt du traitement.

Le défaut du pouvoir de concentration des urines est l'effet secondaire rénal le plus fréquent. Cette altération survient en dehors de toute insuffisance rénale après une à deux semaines de traitement. Elle reflète la toxicité tubulaire de l'amphotéricine B et peut donc survenir sans altération de la fonction rénale. La polyurie est résistante à la vasopressine et est généralement réversible à l'arrêt du traitement. Elle est fréquemment associée à une hypokaliémie qui peut elle-même être responsable d'une polyurie résistante à la vasopressine.

L'hypokaliémie est liée à une perte rénale de potassium. Elle est très fréquemment rencontrée (20-75%). Chez certains d'entre eux, le maintien d'une kaliémie normale est difficile et oblige à perfuser jusqu'à 300 mEq de potassium/jour. L'hypokaliémie peut être responsable d'effets systémiques (faiblesse, fatigue, crampes, rhabdomyolyse) et cardiologique (troubles du rythme, mort subite, etc.) mais elle est peut être également un facteur d'aggravation de la toxicité rénale de l'amphotéricine B.

- Physiopathologie:

L'administration de l'amphotéricine B induit une vasoconstriction intra-rénale aiguë et une altération des cellules épithéliales rénales.

Les phénomènes cellulaires semblent être liés à une fixation de l'amphotéricine B sur les stérols membranaires au niveau des cellules vasculaires et épithéliales rénales. L'amphotéricine B se lie au cholestérol membranaire avec cependant une affinité bien moindre qu'avec l'ergostérol des cellules fongiques. Elle forme ensuite des pores dans la membrane cytoplasmique ce qui augmente de façon importante la perméabilité membranaire. Cette action sur les membranes pourrait être le point de départ des effets néphrotoxiques.

Les lésions induites par l'amphotéricine B au niveau cellulaire sont liées à sa liaison au niveau des stérols de la membrane cellulaire : ergostérol pour la cellule fongique et cholestérol pour la cellule du mammifère [23,122]. Dès le début des années 60, des études ont montré que des antifongiques de cette classe pouvaient induire des altérations de la perméabilité cellulaire résultant en une fuite des constituants intracellulaires. Il a de plus été montré que la toxicité de ces antifongiques dépendait de la présence de stérol au niveau de la membrane cellulaire. Il a donc été proposé que l'amphotéricine B se comporte comme un pseudo phospholipide qui interagit avec les molécules de stérol causant la formation de pores aqueux dans la membrane cytoplasmique en augmentant ainsi de façon importante la perméabilité membranaire [8,88].

Au niveau du tubule rénal distal, il est donc probable que les effets observés sont liés à un effet direct de l'amphotéricine B sur la cellule tubulaire. Cette hypothèse est confortée par la constatation que l'amphotéricine B se fixe au niveau de la plupart des tissus [8,76]. L'altération de la perméabilité de la membrane des cellules de la partie corticale des tubes collecteurs habituellement imperméables à l'urée empêcherait la présence d'un gradient d'urée et donc expliquerait les troubles de concentration des urines. De même, un flux passif de potassium au niveau des cellules tubulaires distales altérées expliquerait la perte de potassium.

L'amphotéricine B est également responsable d'une réduction aiguë du flux sanguin rénal et du débit de filtration glomérulaire lorsqu'elle est administrée par voie intraveineuse ou intra-artérielle. Ceci a été largement démontré chez l'animal [26,72]. La première anomalie décrite est une vasoconstriction induite par l'amphotéricine B sur les artères rénales chez le rat et le chien et sur les artérioles glomérulaires afférentes chez le lapin.

Le rôle important de cet effet vasoconstricteur, dans l'induction de l'insuffisance rénale, est suggéré par la pauvreté des lésions histologiques retrouvées lors de l'insuffisance rénale et le manque de corrélation entre la sévérité de l'insuffisance rénale et les lésions histologiques.

Cette vasoconstriction a été rapportée à une stimulation de la balance tubulo-glomérulaire. Ce phénomène physiologique permet une réduction du débit de filtration glomérulaire lorsqu'il existe une augmentation de la concentration en NaCl délivrée via le tubule distal à la *macula densa*. Cependant, les expériences par microponctions ont montré que la concentration en ions chlore dans le tubule distal est inchangée lors de l'administration d'amphotéricine B ce qui suggère l'absence d'activation du rétrocontrôle. Cette vasoconstriction pourrait aussi être liée à une action directe de l'amphotéricine B, effet qui a été démontré sur les artérioles rénales et non rénales isolées. La suppression de la vasoconstriction par le vérapamil et en artère isolée dans une solution sans calcium suggère fortement un effet dépendant des canaux calciques voltage dépendant. L'altération membranaire induite par l'amphotéricine B pourrait initialement créer un flux entrant passif de sodium responsable d'une dépolarisation de la cellule. Cette dépolarisation induirait un flux entrant de calcium par transport actif au travers de canaux voltage dépendant, flux responsable d'une vasoconstriction. Parmi les nombreux médiateurs potentiellement impliqués dans les effets vasculaires de l'amphotéricine B, il faut citer l'endothéline, le thromboxane A2, le système NO et le système rénine-angiotensine [47].

Tableau 21: effets indésirables de l'amphotéricine B.

Générales	- Fièvre, Frissons, malaise, perte de poids, bouffées vasomotrices.
Gastro-intestinal	- Anorexie, nausée, vomissement, diarrhées, Dyspepsie, douleurs abdominales, gastro-entérite hémorragique, Ictère, Insuffisance hépatique aiguë.
Pulmonaire	- dyspnée, Bronchospasme, œdème Pulmonaire non cardiogénique, Pneumopathie.
Neurologique	Céphalées, Convulsions perte d'audition, Acouphènes, Vertiges, trouble de vision, Diplopie, Neuropathie périphérique, encéphalopathie.
Local	Douleur au point d'injection avec ou sans phlébite ou thrombophlébite.
Dermatologique	- éruption maculo-papuleuse, prurit.
Allergique	Réactions anaphylactiques : œdème de Quink.
Locomoteur	Douleurs généralisées, Arthralgie, Myalgie.
Cardiovasculaire	Arrêt cardiaque, Arythmies, ICC, Hypertension, Hypotension, Choc.
Hématologique	- Anémie Normocytaire normochrome, Thrombopénie, Agranulocytose, Leucopénie, leucocytose, éosinophilie.
Rénal	Altération de la fonction rénale, Azotémie, Élévation de la créatininémie, hypokaliémie, Hypomagnésémie, L'acidose tubulaire rénale, Néphrocalcinose.

✚ Les formulations lipidiques de l'amphotéricine B : ^[102]

L'administration d'amphotéricine B (à la dose de 1 mg/kg/j) avec l'Intralipide[®] permet de réduire l'incidence de la néphrotoxicité (2/16 versus 9/16), de la fièvre et des frissons (5/16 versus 12/16) par rapport à la Fungizone[®], mais l'amélioration de la tolérance semble dépendre de la manière de préparer cette émulsion.

La tolérance de l'Ambisome[®] a été évaluée chez des patients atteints d'hémopathies malignes, de tumeurs solides, de sida et chez des patients transplantés (greffes de moelle, de foie et de rein), à des doses allant de 0,5 à 5 mg/kg/j, et des doses totales cumulées allant jusqu'à 16,8 g. Les abandons de traitement en raison des effets indésirables ont été de 3 % des patients dans une étude, tandis qu'il n'y a pas eu d'abandon dans les deux autres études. La fréquence des frissons et de la fièvre est extrêmement réduite par rapport à celle observée avec la Fungizone[®] (1 à 3 % des patients). Une élévation de la créatinine sérique (20 à 30 % au-dessus de la valeur de départ) a été observée chez 10 à 30 % des patients, mais ces patients recevaient souvent par ailleurs des médicaments néphrotoxiques (ciclosporine, aminosides, vancomycine...). De plus, chez certains patients ayant une créatininémie élevée en raison d'un traitement préalable par la Fungizone[®], la créatininémie a diminué au cours du traitement par l'Ambisome[®] (15 % des patients dans une étude). Une hypokaliémie a été observée dans 18 à 36 % des cas (la fréquence est la plus élevée lorsque le furosémide est associé). Enfin, les enzymes hépatiques ont augmenté (jusqu'à quatre fois la valeur basale) dans environ 30 % des cas. Globalement, la tolérance est améliorée par rapport à la Fungizone[®] et permet d'administrer des doses trois à cinq fois plus élevées en moyenne, sans prémédication. L'amélioration de la tolérance avec l'Abelcet[®] (à la dose de 5 mg/kg/j) porte surtout sur la fonction rénale, avec une augmentation de la créatininémie deux à trois fois moins importante que celle observée sous Fungizone[®] à 1 mg/kg/j, une baisse de la créatininémie peut être observée sous traitement. En revanche, la fréquence des effets indésirables immédiats (fièvre, frissons, nausées, vomissements) et les abandons de traitement surviennent dans 8 à 15 % des cas.

La tolérance de l'Amphocil[®] a été évaluée à des doses entre 0,5 et 8 mg/kg/j (le plus souvent 4 ou 6 mg/kg/j). Les effets indésirables les plus fréquents sont les frissons (9 %), la fièvre (7 %), une hypotension (5 %) et une thrombocytopénie (3 %). L'augmentation de la créatininémie n'a été observée que dans 1,2 % des cas, et les abandons de traitement ont représenté 12 % des cas. La prémédication n'est donnée que si la tolérance à une dose test de 5 mg/kg/j n'est pas bonne, et il est recommandé de ne pas dépasser 7,5 mg/kg/j.

2. Contre indications:

Il faut noter que la seule contre-indication absolue de l'amphotéricine B est l'allergie à un composé de la famille des macrolides polyéniques (moins de 1 %) [9].

3. Données disponibles sur la grossesse: [24,113]

L'amphotéricine B traverse le placenta vers la circulation fœtale et le liquide amniotique. Le rapport de concentration sérique fœtal/maternel est d'environ: 1/3. Des concentrations plus élevées ont été mesurées dans le tissu placentaire.

Les études sur l'animal ont montré qu'aucune atteinte tératogène n'a été révélée lors de l'emploi de l'amphotéricine B à des doses 2,5 à 10 fois supérieures aux doses correspondantes chez l'humain. Selon les données d'une littérature, l'amphotéricine B a traité une infection intra amniotiques à *Candida albicans* par une perfusion transcervicale, sans avoir aucun effet toxique sur le nouveau-né. Bien que chez des femmes enceintes, des infections fongiques générales ont été traitées avec succès par l'amphotéricine B sans qu'il n'y ait d'effets patents chez le fœtus, ce médicament devrait être administré avec prudence pendant la grossesse et uniquement si l'avantage éventuel pour la mère l'emporte sur le risque potentiel pour le fœtus.

La FDA classe l'amphotéricine B dans la catégorie B selon le risque que comporte son administration pendant la grossesse.

4. Données disponibles sur l'allaitement: ^[103,125]

Les données disponibles sur le passage lacté de l'amphotéricine B sont relativement faibles, basées sur les caractéristiques des produits ; aucune étude n'a été réalisée. L'amphotéricine B possède un poids moléculaire important, présente une forte liaison protéique et une faible biodisponibilité orale. De part ces propriétés, la probabilité de la retrouver dans le lait semble faible, de même que son absorption par l'enfant.

De nouvelles formes de cette molécule ont été commercialisées pour en limiter les effets néphrotoxiques et permettre d'augmenter les concentrations thérapeutiques. Il s'agit de la forme liposomale, dont le passage lacté peut être également augmenté. De ce fait, on pourrait penser qu'il vaudrait mieux l'éviter, mais rappelons que l'amphotéricine est largement utilisée en pédiatrie à fortes doses. Par conséquent, ce ne sont pas les faibles quantités reçues via le lait qui seront néfastes. A l'opposé la forme liée à des phospholipides s'en trouve alourdie, diminuant les risques de transfert dans le lait.

IV.2.8 Données pharmacoéconomiques:

Le coût du traitement est un élément important dans la stratégie thérapeutique. Les coûts journaliers approximatifs sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 22: Coût moyen d'une semaine de traitement par des antifongiques (cout d'acquisition):
[75]

	AmBD	ABCD	ABLC	LAmB	Itraconazole	Voriconazole	Caspofungine
Doses	1 mg/kg/j	4 mg/kg/j	5 mg/kg/j	5 mg/kg/j	400 mg/j deux 1 ^{er} jours puis 200 mg/j	6mg/kg le 1 ^{er} jour puis 4mg/kg/j	70mg le 1 ^{er} jour puis 50 mg/j
Cout hebdomadaire estimé (US \$)	260.26	3360.00	5775.00	9231.60	1663.83	2550.00	2623.75

Il ressort que l'amphotéricine B de loin reste le traitement le moins onéreux. Cela plaide en faveur de son utilisation malgré sa toxicité, dans la conférence de consensus française de 2004. [38]

Cependant, une étude pharmaco économique canadienne a comparé les couts du voriconazole et de l'amphotéricine B conventionnel dans le traitement de l'aspergillose invasive [148]. Le coût d'acquisition du voriconazole (voric) est supérieur à celui de l'amphotéricine B conventionnel (AmBD). Néanmoins, le coût total du traitement avec cet antifongique est fortement augmenté par les coûts impliqués dans la prévention et le traitement des effets indésirables (réactions liées à la perfusion et toxicité rénale en particulier), et la nécessité de passer à un autre traitement Antifongique (73,7 % des patients) en raison de graves effets secondaires ou de réponse déficiente. Même observation et faite dans l'étude de Wenzel *et al.* [171], le coût total du voriconazole présente une réduction de 10% par rapport à celui de l'amphotéricine B conventionnelle.

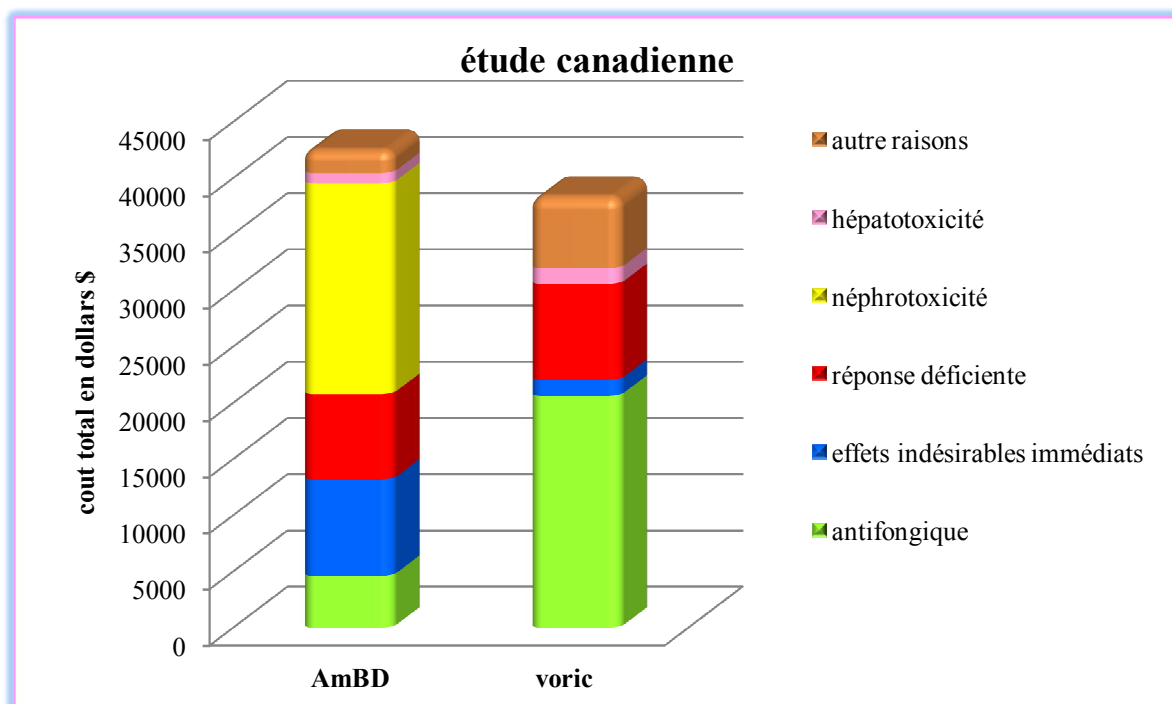


Figure 17: Coûts totaux comparés des traitements antifongiques(\$).

Les coûts de traitement des toxicités induites par l'amphotéricine B conventionnel sont suffisamment importantes pour que l'analyse pharmacoéconomique a suggéré que l'amphotéricine B liposomale moins néphrotoxique serait économique dans certaines situations, malgré son coût d'acquisition énorme [27]. Dans une autre étude pharmacoéconomique, Kuti *et al.* [89] ont conclu que la différence de coût global de l'amphotéricine B en complexe lipidique et l'amphotéricine B liposomale est principalement due aux coûts d'acquisition différents et que les coûts liés au traitement ajoutés (coût d'hospitalisation+ coûts des traitements associés) sont identiques pour les deux formulations.

D'autre part, Wingrad *et al.* ont effectué une étude comparative du cout total de l'amphotéricine B traditionnel et de la caspofungine dans le traitement des candidémies [179]. Bien que le cout d'acquisition de l'amphotéricine B soit faible, Les auteurs ont conclu que l'utilisation de la caspofungine en première ligne présente une stratégie potentielle d'économie dans les hôpitaux.

Au Maroc, l'amphotéricine B est disponible sous forme de suspension buvable (Fungizone®) au coût de 52 Dh. La présentation injectable a l'AMM mais n'est pas disponible dans les CHU.

Dans les services d'hématologie clinique, en cas d'aspergillose pulmonaire, les cliniciens prescrivent fungizone® (suspension buvable) pour prévenir l'aspergillose invasive.

IV.3. Résistance:

IV.3.1 Résistances aux antifongiques :

1. Définition:

Le terme « résistance antifongique » désigne la faculté que possède un champignon à pouvoir croître en présence d'un antifongique ^[97].

2. Types de résistances:

✚ Résistance microbiologique: (in vitro)

Se traduit par la diminution de la sensibilité d'un champignon à un antifongique, mesurée *in vitro* par des méthodes appropriées et standardisées. La concentration minimale inhibitrice de l'antifongique dépasse la valeur seuil de la sensibilité (breakpoints) du germe.

✓ Primaire:

Le germe se trouve naturellement résistant sans exposition préalable à l'antifongique ^[179]. La résistance caractérise une espèce donnée et concerne toutes les souches de cette espèce et est programmé sur le génome fongique. Les champignons naturellement sensibles définissent le "spectre d'activité" de l'antifongique ; De nombreuses espèces sont intrinsèquement résistantes; *Aspergillus terreus*, *Scedosporium apiospermum* et *Fusarium spp.* (à l'amphotéricine B), *Candida krusei*, *Aspergillus spp.* (au fluconazole), et *Cryptococcus neoformans* et *Zygomycetes* (à la caspofungine) ^[147].

✓ Secondaire:

Il s'agit d'un germe qui normalement était sensible à l'antifongique et lui devient résistant après l'exposition. La résistance acquise concerne seulement certaines souches dans une espèce considérée habituellement sensible. L'acquisition de mécanismes de résistance se fait par mutations ou par des modifications de l'expression des gènes codant la cible ou le transport de l'antifongique. Le développement de la résistance chez des souches *C. albicans* et *C. neoformans* au fluconazole illustre ce type de résistance.

On distingue également la résistance stable, qui persiste même en l'absence de l'antifongique, et la résistance transitoire, épigénétique, liée à la modification transitoire de l'expression d'un gène. La résistance épigénétique a été observée après de courtes périodes de traitement antifongique ^[105].

✚ Résistance clinique: (in vivo)

La résistance clinique est définie par la persistance ou la progression de l'infection malgré une thérapeutique appropriée et jugée. La prédiction de l'évolution clinique pour un patient ayant une infection fongique est souvent difficile. La sensibilité de la souche isolée n'est qu'un facteur parmi d'autres. Les facteurs liés à l'hôte ont souvent plus d'impact sur l'évolution clinique que les tests de sensibilité *in vitro*: maladies sous-jacentes, immunodépression, corps étranger (cathéter, valve cardiaque). Il faut également tenir compte des caractéristiques pharmacocinétiques de l'antifongique: posologie inadaptée, pénétration insuffisante au site de l'infection, liaison aux protéines plasmatiques, interactions médicamenteuses.

Il ne faut donc pas confondre résistance *in vitro* et échec thérapeutique. La résistance *in vitro* est souvent, mais pas toujours, prédictive d'échec thérapeutique. La sensibilité *in vitro* ne prédit pas toujours un succès thérapeutique ^[84].

IV.3.2 Mécanisme de résistance aux antifongiques polyéniques:

Les polyènes n'ont pas besoin d'agir au niveau intracellulaire pour exercer leur activité lytique puisqu'ils s'intègrent à la membrane plasmique par sa face externe. Ils échappent ainsi à une éventuelle métabolisation par les enzymes intracellulaires ainsi qu'aux systèmes d'efflux, dont l'hyperactivité est à l'origine de la majorité des résistances aux antifongiques azolés. Ainsi, la seule possibilité pour la cellule fongique de résister à l'action des polyènes est de modifier leur cible, l'ergostérol. Ce dernier étant nécessaire à l'intégrité de la membrane et donc à la survie cellulaire, les alternatives permettant de le substituer sont en nombre limité.

D'autres travaux ont cependant suggère un autre mécanisme possible expliquant la résistance aux polyènes. Yoon et ses collaborateurs ont montre chez *C. lusitaniae* que la résistance aux polyènes pouvait être la conséquence d'une diminution de l'accessibilité de la membrane, par modification de la structure de la paroi fongique ^[182].

Bien que rarement décrits, les mécanismes de résistance acquise ou induite aux polyènes ont été étudiés chez plusieurs espèces fongiques. Il s'agit, à quelques exceptions près, d'une diminution du contenu en ergostérol des membranes plasmiques, voire une absence totale d'ergostérol dans les membranes, par mutation d'un gène codant une enzyme non indispensable de la voie de biosynthèse de l'ergostérol ^[160,161].

Les mécanismes moléculaires à l'origine de la résistance aux polyènes ont été principalement décrits chez des mutants induits de levures du genre *Candida* et chez *S. cerevisiae*. Ainsi, la délétion du gène *ERG11* chez *C. albicans* ^[150] ou du gène *ERG3* chez *S. cerevisiae* ^[169] conduisent à l'obtention de colonies présentant une résistance croisée aux antifongiques azolés et polyéniques. De même, l'inactivation du gène *ERG6* conduit à une résistance à l'amphotéricine B chez *C. lusitaniae* ^[183] et chez *S. cerevisiae* ^[78].

Toutefois, peu de données concernant les mécanismes de résistance aux antifongiques polyéniques sont disponibles pour des isolats cliniques de champignons pathogènes et les études ont essentiellement porté sur l'espèce *C. albicans*. Ainsi, des travaux ont montré qu'un déficit en *D5,6 désaturase*, codée par le gène *ERG3*, pouvait être à l'origine de la résistance aux polyènes chez des isolats cliniques de *C. albicans* prélevés chez des patients atteints de leucémie ou du SIDA ^[86,120].

IV.4. Données épidémiologiques :

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

L'utilisation intensive de ces molécules a malheureusement conduit à une augmentation de l'incidence des résistances aux antifongiques. C'est notamment le cas de la 5-fluorocytosine qui n'est plus administrée qu'en association avec un autre antifongique. De même, l'utilisation préférentielle des azolés s'accompagne d'une fréquence élevée de la résistance à ces antifongiques.

En revanche, Bien que de plus en plus fréquemment rapportée, la résistance aux polyènes reste un événement relativement rare chez les isolats cliniques de champignons pathogènes^[83]. Cette observation est tout d'abord la conséquence directe du mode d'action de ces antifongiques, leur cible extracellulaire limitant le nombre de mécanismes permettant d'échapper à leur action.

Cependant, si la résistance aux polyènes reste un événement rare, c'est aussi parce que la sensibilité aux polyènes des isolats cliniques fongiques n'est pas systématiquement déterminée et que les méthodes de détermination de sensibilité ne sont pas suffisamment standardisées^[134]. L'incidence de souches résistantes aux polyènes pourrait être ainsi largement sous-estimée.

Si la plupart des espèces fongiques sont considérées comme sensibles aux antifongiques polyéniques, il semble que certaines espèces leur soient naturellement peu sensibles, comme *C. glabrata* et *C. krusei* ^[56], deux espèces considérées comme sensibles dose-dépendantes. Il semble également que certaines espèces aient une plus forte propension à développer une résistance aux polyènes. C'est notamment le cas pour les espèces *C. lusitaniae* ^[85,136] et *C. guilliermondii* ^[136].

Concernant les échinocandines, La résistance est un événement relativement rare ^[64]. Plus de 99% des isolats de *Candida* testés sont sensibles ^[61,128], bien que des cas de résistance aient déjà été identifiés.

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

Les études épidémiologiques ont permis d'identifier les facteurs de risque associés à la résistance aux antifongiques. L'immunodépression profonde et une neutropénie prolongée jouent un rôle primordial. L'immunodépression paraît favoriser l'hétérogénéité génétique de *Candida* qui accélère le développement de mutants résistants ^[52].

La pression de sélection due à une prescription accrue des azolés est également un facteur essentiel. Les traitements empiriques, qui sont susceptibles d'améliorer le pronostic, présentent un facteur de risques que le clinicien doit s'entraîner à reconnaître. Leur prescription incontrôlée a toutefois été incriminée dans le développement et/ou la diffusion de souches résistantes, et leur utilisation doit être restreinte à certains groupes de patients clairement identifiés ^[54]. Une étude américaine a démontré une augmentation de l'utilisation du fluconazole, de 1990 à 1995, de 16 à 20 fois supérieure chez les patients avec des cultures négatives ^[69]. Cette augmentation de l'utilisation du fluconazole correspond également à une augmentation des souches de *C. glabrata*, pour lesquelles le fluconazole est moins efficace. D'autres études ont également démontré que l'utilisation empirique du fluconazole provoque un changement au niveau de la flore des soins intensifs vers des microorganismes plus résistants ^[82].

La Présence d'un corps étranger (cathéter, valve cardiaque) est un facteur essentiel en favorisant la colonisation et développement de *Candida* en association avec sa surface ^[18]. Au sein du biofilm formé, les microorganismes sessiles développent des caractéristiques très différentes de celles des microorganismes planctoniques (en suspension dans le milieu) : mise en œuvre de voies génétiques spécifiques, surexpression des pompes à efflux, modifications structurales (forme filamenteuse), production d'exopolymères (matrice exopolymérique) ... autant de phénomènes qui échappent aux mécanismes d'action des antifongiques ^[50,106].

IV.4.3 Évolution de l'épidémiologie des résistances:

1. Intérêt de la surveillance:

Depuis ces dernières années, on note une évolution de l'épidémiologie des résistances aux différents antifongiques, spécialement aux azolés. La surveillance de la résistance aux antifongiques s'est aujourd'hui généralisée [139,142]. 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.

2. Évolution de l'épidémiologie de la résistance aux antifongiques:

✚ Étude SENTRY :

Les données du programme SENTRY, qui a été porté sur deux ans (2006 et 2007) [107], afin de surveiller l'épidémiologie des résistances aux antifongiques auprès des centres nord-américains, sud-américains et européens, indiquent une excellente efficacité *in vitro* de l'amphotéricine B contre des isolats cliniques de *Candida* avec une CMI variante entre ≤ 0.12 et $2 \mu\text{g/ml}$. L'antifongique est actif dans les trois aires géographiques avec une sensibilité oscillante entre 98.9 et 99.9%. Globalement les souches européennes et d'Amérique du nord sont plus sensibles que celles d'Amérique latine du fait de la présence des souches *C. tropicalis* résistantes.

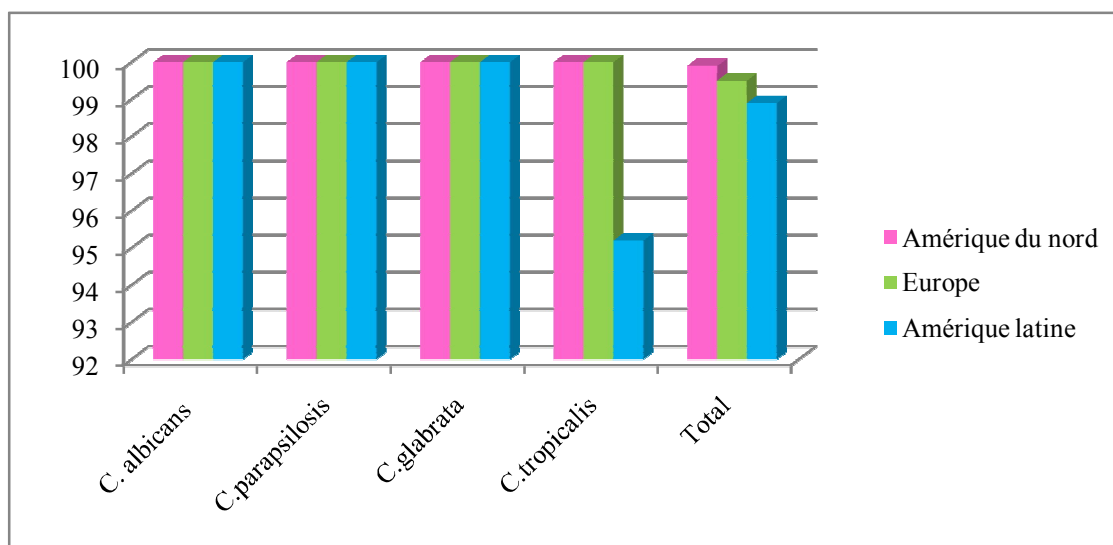


Figure 18: sensibilité des isolats de *Candida* à l'amphotéricine B, SENTRY

Par rapport à notre étude, on note une sensibilité diminuée de l'amphotéricine B sur les souches de *Candida* isolées. L'amphotéricine B présente une sensibilité de 91,67% dans notre étude contre plus de 99% dans l'étude de ce programme international.

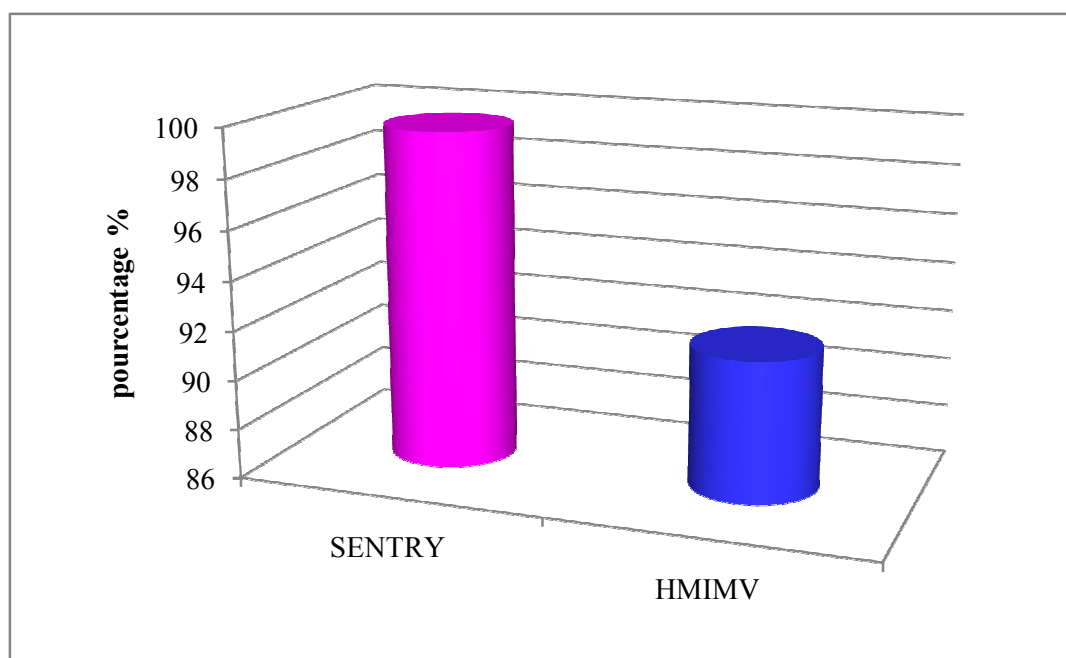


Figure 19: comparaison de la sensibilité à l'amphotéricine B de *Candida* entre l'étude de l'HMIMV et le programme SENTRY.

Pour *C. albicans*, *C. glabrata* et *C. tropicalis*, le taux de sensibilité retrouvé est inférieur à celui de ce programme. En revanche *C. krusei* de notre étude est entièrement sensible 100% contre 93% pour le programme SENTRY.

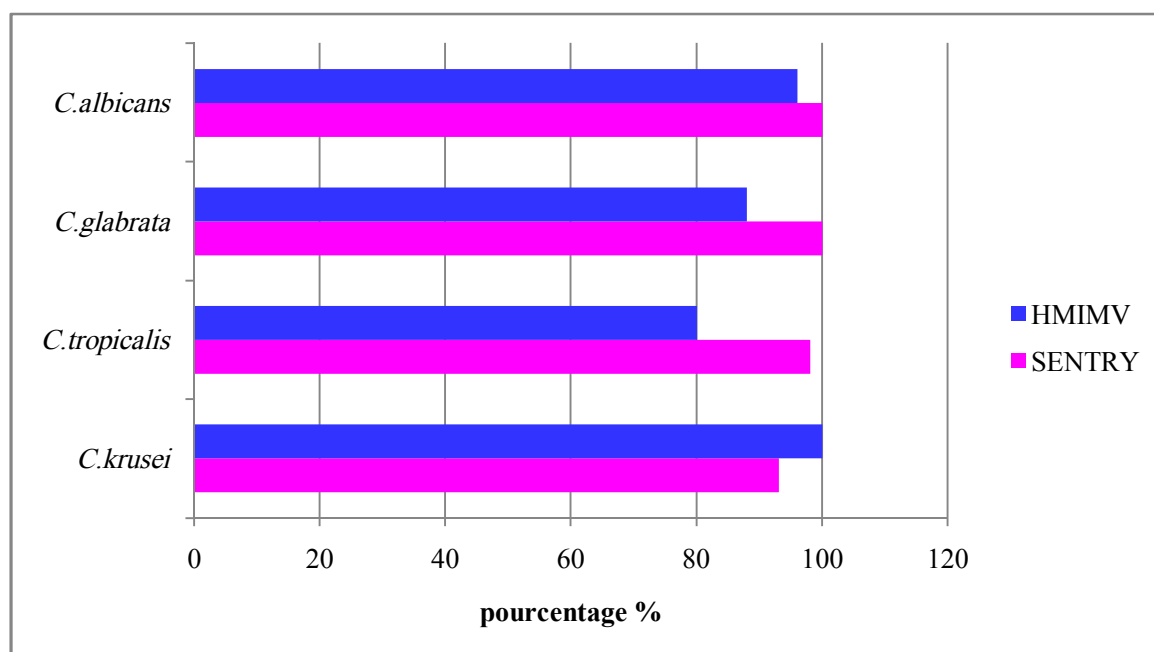


Figure 20: comparaison de la sensibilité à l'amphotéricine B vis-à-vis de *Candida* entre l'étude de l'HMIMV et le programme SENTRY

✚ *Autres études :*

Une étude prospective observationnelle, conduite de janvier à décembre 2004 dans sept centres hospitaliers universitaires et dix centres hospitaliers non universitaires, membres du Groupe d'épidémiologie et de recherche en infectiologie clinique du centre-ouest (GERICCO). 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) ^[35] ou de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ^[66], soit par bandelette E-test.

La sensibilité à l'amphotéricine B a été testée pour 100 souches de *Candida sp.* (60 souches de *C. albicans*, 17 souches de *C. glabrata*, 12 souches de *C. parapsilosis*, cinq souches de *C. tropicalis*, trois souches de *C. krusei*, et trois souches appartenant à d'autres espèces dont une souche de *C. lusitaniae*). Toutes ces souches étaient sensibles *in vitro* à l'amphotéricine B, y compris la souche de *C. lusitaniae*.^[35,66,154]

Une autre étude, réalisée dans le cadre de l'enquête annuelle de surveillance des résistances des hôpitaux français non universitaires affiliés au Collège de Bactériologie Virologie Hygiène (ColBVH), a été conduite selon une méthodologie conforme aux recommandations de l'ONERBA. Cette étude a duré un mois en octobre 2004 et a été proposée à 209 biologistes répartis dans 193 hôpitaux. 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 : *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%).

L'amphotéricine B présente une bonne activité antifongique, néanmoins 2,3% des souches testées était résistante. Les CMI obtenues avec l'amphotéricine B s'échelonnent de 0,047 à 1µg/ml. *C. glabrata* est l'espèce qui regroupe par ailleurs la majorité des souches les moins sensibles à l'amphotéricine B.^[58]

Dans une autre étude dans CHU de Grenoble, Murât *et al* ont analysé la tendance sur huit ans (de janvier 2003 à janvier 2011) de la sensibilité de *C. krusei* à l'amphotéricine B. Au total 200 isolats provenant essentiellement de prélèvements de patients de réanimation (40 %), d'hématologie (10 %) et de pneumologie (8,5 %) sont parvenus au laboratoire de parasitologie mycologie.

La CMI₅₀ était de 0,5 µg/ml et la CMI₉₀ de 1 µg/ml. Une augmentation significative des valeurs de CMI entre 2003 et 2011 a été mise en évidence. Les résultats de cette étude objectivent un niveau de sensibilité de *C. krusei* à l'Amphotéricine B très nettement supérieur à celui publié par Pfaller et Diekema ^[130]. Les isolats présentant une CMI élevée sont essentiellement apparus dans un contexte suggérant plus la diffusion clonale d'une souche de sensibilité diminuée qu'un effet de pression de sélection antifongique ^[114].



Conclusion



La mycologie médicale a subi de très nombreuses évolutions au cours de ces dernières décennies. Les infections fongiques systémiques sont devenues une source de morbidité et de mortalité importantes chez les sujets immunodéprimés ou hospitalisés dans les unités de soins intensifs.

Pour les candidoses, les résistances aux azolés croissent proportionnellement à l'utilisation trop large de ces médicaments. Dans cette situation, L'amphotéricine B conventionnelle reste actuellement le traitement de référence. Cependant, les données disponibles sur les nouvelles formulations de l'amphotéricine B sont suffisantes pour soutenir les notions de meilleure tolérance et d'efficacité au moins équivalente à l'amphotéricine B conventionnelle dans diverses mycoses systémiques et dans les neutropénies fébriles résistantes aux antibiotiques. La place de ces formes d'amphotéricine B en seconde intention (échec ou toxicité de l'amphotéricine B conventionnelle) ou en cas d'atteinte rénale préalable peut donc se concevoir.

Notre étude de sensibilité à l'amphotéricine B des souches de *Candida* isolées à l'HMIMV et au CHU Avicenne de Rabat, nous a permis de générer les informations sur le profil de résistance à l'amphotéricine B de *Candida* au sein des différents services de réanimation. Nos résultats prouvent encore que l'amphotéricine B constitue le « Gold standard » des antifongiques dans le traitement des infections fongiques invasives. Ces constatations pourraient constituer des lignes directrices locales pour le traitement des Candidémies, notamment pour le choix de l'antifongique idéal.

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 au Maroc.



Résumés



RÉSUMÉ

Titre de la thèse : Étude de la sensibilité *in vitro* à l'amphotéricine B de 96 souches de *Candida* isolées au CHU Ibn Sina.

Auteur de la thèse : Saadia ABATOUR

Directeur de thèse : Pr. B.E LMIMOUNI

Mots clés: *Candida* - Antifongogramme - Amphotéricine B - Sensibilité *in vitro* - surveillance.

Les infections invasives à *Candida* constituent une menace majeure en termes de morbidité et de mortalité surtout en réanimation. Les données sur le phénomène de résistance de *Candida* aux antifongiques ne sont pas disponibles au Maroc.

Etablir le profil de sensibilité phénotypique des souches de *Candida* à l'amphotéricine B dans les services de réanimation de l'HMIMV et de CHU Avicenne de Rabat.

Notre étude prospective a inclus toutes les souches de *Candida* issues de prélèvements divers (hémocultures, sites périphériques). La culture et l'identification des souches de *Candida* étaient faites sur milieu d'isolement CandiselectTM4 et la sensibilité *in vitro* à l'amphotéricine B était réalisée par diffusion en milieu gélosé des disques.

Durant la période de l'étude, 96 souches sont incluses. À partir des hémocultures, seules *Candida albicans* et *Candida glabrata* sont isolées. L'amphotéricine B est active sur toutes les espèces de *Candida* : 91.77% : sensibles et 8.33 % intermédiaires ou résistantes. *C. krusei* 100% sensibles à l'amphotéricine B. Elle était plus active sur *C. albicans* : 96 % et *C. glabrata* : 88 %. Pour *C. lusitaniae*, les 2 souches isolées étaient intermédiaires ou résistantes.

Conformément à la littérature, la distribution des espèces dans notre étude montre une prédominance de *Candida albicans* sur *Candida non albicans*, *C.glabrata* est l'espèce la plus isolée après *C. albicans*. L'a

Amphotéricine B est active sur toutes les espèces de *Candida* sauf *C. lusitaniae*. Ce médicament reste le traitement de référence dans le traitement des candidémies.

SUMMARY

Thesis Title: Study of *in vitro* susceptibility to amphotericin B of 96 *Candida* strains isolated at the Avicenna Hospital in Rabat.

Author of the thesis: Saadia ABATOURE

Supervisor: Prof. B.E LMIMOUNI

Keywords: *Candida* - epidemiology - amphotericin B- resistance – antifungal susceptibility testing - surveillance.

Candida invasive infections are a major threat in terms of morbidity and mortality especially in intensive care. Data on the phenomenon of resistance of *Candida* to antifungal agents are not available in Morocco.

The aims of our study were to establish the phenotypic susceptibility profile of isolated strains *Candida* to amphotericin B with an evaluation of resistance rates.

Our prospective study included 96 *Candida*'s strains from various specimens (blood and peripheral sites) isolated from hospitalized in the intensive care units. Identification of *Candida*'s strains was done on the medium CandiselectTM4 and *in vitro* susceptibility to amphotericin B was performed by agar diffusion discs.

From blood cultures, only *Candida albicans* and *Candida glabrata* were isolated. Amphotericin B had a great activity for all *Candida* species: over 91% were sensitive and 8.33% were intermediate or resistant. *C. krusei* was fully susceptible to amphotericin B. It was more active on *C. albicans* with a sensitivity of 96% and *C. glabrata* with 88%. For *C. lusitaniae*, the two strains were intermediate or resistant.

According to the literature, the distribution of species in our study shows a predominance of *Candida albicans* on *Candida non albicans*. *C. glabrata* is the species most isolated after *C. albicans*. Amphotericin B is active on all *Candida* species except *Candida lusitaniae*, whose activity remains low. This medication is the treatment of choice in the treatment of candidemia.

ملخص:

عنوان الأطروحة: دراسة مخبرية لحساسية الأمفوترسين باء (Amphotéricine B) ل96 سلالة مبيضة معزولة بالمركز الإستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط.

مؤلف الأطروحة: السعدية أبتور.


المؤطر: البروفيسور بدر الدين لميموني.

الكلمات الأساسية: دراسة الحساسية، دراسة الحساسية لمضادات الفطريات، المراقبة، المبيضات، الأمفوترسين باء.

تتجلى أهداف دراستنا في تقييم مؤهلات الحساسية لسلالة المبيضات للأمفوترسين باء مع تحديد معدلات المقاومة و وصف وبائياتها في وحدات العناية المركزة.

دراستنا الاستطلاعية التي استمرت ثلاثة أشهر، شملت 96 سلالة مبيضة (*addinaC*) استخرجت من مختلف العينات (دم و مواقع هامشية). تم تحديد سلالات المبيضات عن طريق وضعها في وسط عزل ($C^{MT}4$ *tleesidna*) و تمت دراسة الحساسية في المختبر للأمفوترسين باء (Amphotéricine B) و عن طريق نشر الأقراص في وسط أغار. في ما يخص العينات الدموية، تم عزل فقط *C. albicans* و *C. ataglabr* ابرزت نتائج الحساسية للأمفوترسين باء (Amphotéricine B) عن نشاط جيد لهذا الدواء على كافة أنواع المبيضات (*Candida*). أكثر من 91% من الأنواع كانت حساسة و 8.33% متوسطة أو مقاومة. كانت *C. krusei* شديدة التأثير بالأمفوترسين باء. لهذا الدواء نشاط أكثر على *C. glabrata* و *C. cansalbi* حيث بلغت نسبة الحساسية على التوالي 96% و 88%. بالنسبة *C. lusitaniae* تم عزل سلالتان فقط و كانتا متوسطتين أو مقاومتين.

وفقا لباقي الدراسات، يبين توزيع الانواع غلبة المبيضات *C. albicans* على *C. non albicans*.
C. glabrata هي النوع الأكثر عزلة بعد *C. albicans*. الأمفوتريسين باء نشطة على جميع أنواع المبيضات، إلا ان له نشاط ضعيف ضد *C. lusitaniae*. يعتبر هذا الدواء العلاج الأمثل للمبيضات في الدم (*candidémies*).



*Références
bibliographiques*



- [1] **Abbes S, Trabelsi H, Amouri I, Sallemi H, Nej S, Chaikhorouhou F, Makni F et Ayadi A.** Méthodes d'étude de la sensibilité *in vitro* de *Candida spp.* aux antifongiques. *Ann Biol Clin* (2012) ; 70 (6) : 635-42.
- [2] **Adedoyin A, Bernardo JF, Swenson CE, Bolsack LE, Horwith G, Dewit S, Kelly E, Klasterksy J, Sculier JP, Devaleriola D, Anaissie E, Lopez-Berestein G, Llanos-Cuentas A, Boyle A, And Branch RA.** Pharmacokinetic Profile of ABELCET (Amphotericin B Lipid Complex Injection): Combined Experience from Phase I and Phase II Studies. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, (1997); 41(10): 2201–2208.
- [3] **Adedoyin A, Swenson CE, Bolcsak LE, Hellmann A, Radowska D, Horwith G, Janoff AS, And Branch RA.** A Pharmacokinetic Study of Amphotericin B Lipid Complex Injection (Abelcet) in Patients with Definite or Probable Systemic Fungal Infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy* (2000); 44(10): 2900–2902.
- [4] **Alem H.** Sensibilité *in vitro* au voriconazole de 72 souches de *Candida* isolées à l'HMIMV. *Thèse de doctorat en pharmacie*. (N° : 60/2011).
- [5] **Alexander BD, Byrne TC, Smith KL, Hanson KE, Anstrom KJ, Perfect JR, et al.** Comparative evaluation of E-test and sensititre yeastone panels against the clinical and laboratory standards institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *J Clin Microbiol* (2007) ; 45 : 698-706.
- [6] **Anaissie EJ, White M, Uzun O.** Amphotericin B lipid complex versus amphotericin B for the treatment of hematogenous and invasive candidiasis : a prospective randomized multicenter trial. *Proceeding of the 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco*, (1995) 17-20.
- [7] **Andes D, Stamsted T, Conklin R.** Pharmacodynamics of amphotericin B in a neutropenic mouse disseminated-candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother* (2001) ; 45 : 922-6.
- [8] **Andreoli TC.** On the anatomy of amphotericin B cholesterol pores in bifid bilayer membranes. *Kidney Int* (1973) ; 4: 337-45.

- [9] **Andrès E, Tiphine M, Letscher-Bru V, Herbrecht R.** Nouvelles formes lipidiques de l'amphotéricine B. Revue de la littérature. *Rev Méd Interne* (2001) ; 22 : 141-150.
- [10] **Antoniadou A, Dupont B.** Lipid formulations of amphotericin B: where are we today? *Journal de Mycologie Médicale* (2005) ; 15 : 230–238.
- [11] **Ariane G.** comparaison de méthode de deux antifongogrammes : ATB-fungus3[®] et carte Vitek AST-YS01[®]. ICHV, laboratoire de bactériologie, Sion. *Travail de diplôme* ; (2008-2009).
- [12] **Atkinson AJ And Bennett JE.** Amphotericin B Pharmacokinetics in Humans. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* (1978); 13(2): 271-276.
- [13] **Baginski M, Resat H, and McCammon JA.** Molecular properties of amphotericin B membrane channel: a molecular dynamics simulation. *Mol. Pharmacol* (1997) ; 52 : 560–570.
- [14] **Barry AL, Pfaller MA, Rennie RP, Fuchs PC, Brown SD.** Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth microdilution, E-test, et disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother* (2002) ; 46 : 1781-4.
- [15] **Bekersky I, Fielding RM, Dressler DE, Lee JW, Buell DN, and Walsh TJ.** Pharmacokinetics, Excretion, and Mass Balance of Liposomal Amphotericin B (AmBisome) and Amphotericin B Deoxycholate in Humans *Antimicrobial agents and chemotherapy* (2002); 46(3): 828–833.
- [16] **Bekersky I, Fielding RM, Dressler DE, Lee JW, Buell DN, and Walsh TJ.** Plasma Protein Binding of Amphotericin B and Pharmacokinetics of Bound versus Unbound Amphotericin B after Administration of Intravenous Liposomal Amphotericin B (AmBisome) and Amphotericin B Deoxycholate. *Antimicrobial agents and chemotherapy* (2002) ; 46(3) : 834–840.
- [17] **Blanc V, Eloy O, Sanchez CR, Mallié M, Collège de Bactériologie Virologie Hygiène (ColBVH).** pratique de l'antifongogramme dans 62 hôpitaux français. *Journal de Mycologie Médicale* (2005) ; 15 :197-210.
- [18] **Blankenship JR and Mitchell AP.** "How to build a biofilm: a fungal perspective". *Curr Opin Microbiol* (2006) ; 9(6) : 588-94.

- [19] **Bolard J, Joly V and Yeni P**, Amphotéricine B : ancien médicament, nouveaux concepts. *Médecine thérapeutique*. (1997) ; 3(3) : 207-13.
- [20] **Boswell GW, Buell D, Bekersky I**. Ambisome[®] (liposomal amphotericin B) : a comparative review. *J Clin Pharmacol* (1999) ; 39 : 583-92.
- [21] **Bourouda N**. Place de l'atifongigramme dans la prise en charge des infections fongiques. *Thèse de doctorat de pharmacie*. (N° : 52/2010).
- [22] **Bowden R, Chandrasekar P, White MH, Van Burik JA, Wingard J**, the Multicenter Aspergillosis Study Group. A double-blind clinical trial of Amphocilt versus amphotericin B in invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Proceeding of the 10th International Conference on Infections in the Immunocompromised Host, Davos, Suisse*. (1998).
- [23] **Brajthurg J, Powderly WG, Kobayashi GS, Medoff G**. Amphotericin B: Current understanding of mechanisms of action. *Antimicrob Agents Chemother* (1990) ; 34 : 183-8.
- [24] **Bristol-Myers Squibb**. Monographie de produit Fungizone[®]. *Montréal, Canada* (1980).
- [25] **Butler WT, Bennet JE, Alling DW, Wertlake PT, Utz JP, Hilland GJ**. Nephrotoxicity of amphotericin B. Early and late effects in 81 patients. *Ann Intern Med* (1964) ; 61: 175-87.
- [26] **Butler WT, Hill GJ, Szwed CF, Knight V**. Amphotericin B renal toxicity in the dog. *J Pharmacol Exp Ther* (1964) ; 143 : 47-56.
- [27] **Cagnoni PJ, Walsh TJ, Prendergast MM, Bodensteiner D, Hiemenz S, Greenberg RN, Arndt Carola AS, Schuster M, Seibel N, Yeldandi V and Tong Kuo B**. Pharmacoeconomic Analysis of Liposomal Amphotericin B Versus Conventional Amphotericin B in the Empirical Treatment of Persistently Febrile Neutropenic Patients *Journal of Clinical Oncology* (2000) ; 18(12) : 2476-2483.
- [28] **Carle S**. Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel* (2003) ; 36(1) : 25-41.

- [29] **Carrillo-Muñoz A.J., Giusiano G., Ezkurra P.A. and Quindós G.** Antifungal agents: Mode of action in yeast cells. *Rev Esp Quimioterap* (2006) ; 19 (2) : 130-139.
- [30] **Chabasse D, Guiguen C, Contet-Audonneau N.** du diagnostic à la thérapeutique. *Mycologie médicale. Masson* (1999) : 122-125.
- [31] **Chavanet P.** Amphotéricine B désoxycholate (Fungizone®) : vieux médicament, nouvelles versions. *Rev Med Interne* (1997) ; 18 : 153-165.
- [32] **Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M.** Comparison of the Antifungal susceptibility testing subcommittee of the European committee on antibiotic susceptibility testing proposed standard and the E-test with NCCLS broth microdilution method for voriconazole and caspofungin susceptibility testing of yeast species. *J Clin Microbiol* (2002) ; 40 : 3841-4.
- [33] **Chryssanthou E.** Trends in antifungal susceptibility among Swedish *Candida* species bloodstream isolates from 1994 to 1998 : comparison of the E-test and the sensititre yeast one colorimetric antifungal panel with the NCCLS M27-A reference method. *J Clin Microbiol* (2001) ; 39 : 4181-3.
- [34] **Cleary JD, Chapman S, Noblan R.** Pharmacologic modulation of interleukin-1 expression by amphotericin B-stimulated human mononuclear cells. *Antimicrob Agents Chemother* (1992) ; 36 : 977-81.
- [35] **Clinical and Laboratory Standards Institute.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; *Approved Standard—3rd Edition*. (2008), CLSI doc M27-A3.
- [36] **Clinical and laboratory standards institute.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast ; approved standard, M27-A2. Wayne, pa : *clinical laboratory standards institute*. (2008).
- [37] **Clinical and laboratory standards institute (CLSI).** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. 3rd ed. Approved standard. CLSI M27-A3(28). Wayne (PA) : *Clinical and laboratory standards institute*, (2008).

- [38] **Conférence de consensus commune organisée conjointement par la SFAR, la SPILF et la SRLF.** Prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte. *J Mycol Med* (2004) ; 14: 142–6.
- [39] **Cuena-Estrella M, Gormez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Bernal-Martinez L, Cuesta I, Buitargo M, et al.** Comparison of the Vitek2 antifungal susceptibility system with the clinical and laboratory standards institute (CLSI) and European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) broth microdilution reference methods for *in vitro* detection of antifungal resistance in yeast isolates. *J Clin Microbiol* (2010) ; 48 : 1782-1786.
- [40] **Cuena-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL.** Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *Candida spp.* of the European committee on antibiotic susceptibility testing (EUCAST) and four commercial techniques. *Clin Microbiol Infect* (2005) ; 11 : 486-92.
- [41] **Cuena-Estrella M, Moore CB, Barchiesi F, Bille J, Chryssanthou E, Denning DW.** 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 : 467-4.
- [42] **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, SPILE. Paris : SRLF, *Elsevier Ed* (2004) : 52-59.
- [43] **Datry A, Bart-Delabesse E.** La caspofungine : du mécanisme d'action aux applications thérapeutiques Caspofungin: mode of action and therapeutic applications. *La revue de médecine interne* (2006) ; 27 : 32–39.
- [44] **Datry A, Thellier M, Traoré B, Alfa Cissé O, Danis M.** Utilisation des antifongiques dans le traitement des candidoses systémiques : antifongigramme, point sur les résistances, données pharmacologiques. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.* (2001) ; 20 : 389-393.

- [45] **Davey KG, Szekely A, Jonhson EM, Warnock DW.** Comparaison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for *in vitro* susceptibility testing of *Candida spp.* and *Cryptococcus neoformans*. *J Antimicrob Chemother* (1998) ; 42 : 439-44.
- [46] **Delaunay P, Fissore C.** Interactions médicamenteuses des antifongiques Systémiques. *Journal de Mycologie Médicale* (2006) ; 16 : 152–158.
- [47] **Deray G, Mercadal L et Bagnis C.** Néphrotoxicité de l'amphotéricine B. *Néphrologie* (2002) ; 23(3) : 119-122.
- [48] **Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Boyken LB, Tendolkar S, Kroeger J, et al.** Evaluation of E-test and disk diffusion methods compared with broth microdilution antifungal susceptibility testing of clinical isolates of *Candida spp.* against posaconazole. *J Clin Microbiol* (2007) ; 45 : 1974-7.
- [49] **Dodds Ashley Elizabeth S., Lewis Russell, Lewis James S., Martin Craig, and Andes David.** Pharmacology of Systemic Antifungal Agents. *Clinical Infectious Diseases* (2006) ; 43 : S28–39.
- [50] **Douglas LJ.** *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in Microbiology* (2003) ; 11(1) : 30-36.
- [51] **Druetta A, Freydiere A, Guinet R, Gille Y.** Evaluation of five commercial antifungal susceptibility testing systems. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (1993) ; 12 : 336-42.
- [52] **Eggimann P, Calandra T.** infections fongiques sévères en réanimation. In : pathologie infectieuse en réanimation. *Éditions scientifiques et médicales Elsevier* (2002) : 519-556.
- [53] **Eggimann P, Pittet D.** Candidoses invasives en réanimation. *Schweiz Med Wochenschr* (2000) ; 130:1525–37.
- [54] **Eggimann P, Pittet D.** Candidoses du sujet non neutropénique : de la colonisation à l'infection. *Ann Fr Anesth Reanim* (2001) ; 20 : 382-388.

- [55] **Eldem Turkan , Arican-Cellat Nermin, Agabeyoglu Ilbeyi, Akova Murat , Kansu Emin** Pharmacokinetics of liposomal amphotericin B in neutropenic cancer patients. *International Journal of Pharmaceutics* (2001) ; 213 : 153–161.
- [56] ^[56] **Ellis D.** Amphotericin B: spectrum and resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* (2002) ; 49 S1:7-10.
- [57] **Ellis M, Spence D, De Pauw B, Meunier F, Marinus A, Collette L, et al.** An EORTC international multicenter randomized trial (EORTC 19923) comparing two dosages of liposomal amphotericin B for treatment of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* (1998) ; 27 : 1406-12.
- [58] **Éloy O, Blanc V, Pina P, Gaudart A, Bressolle ML, Plainvert C, Decousser JW, Pangon B, Allouch PY,** le Collège de bactériologie virologie hygiène (ColBVH) Épidémiologie des fongémies dans les hôpitaux français non universitaires en 2004 : enquête multicentrique ColBVH. *Pathologie Biologie* (2006) ; 54 : 523–530.
- [59] **Espinel-Ingroff A, Barchiesi F, Cuenca-Estrella M, Pfaller MA, Rinaldi M, Rodriguez-Tudela JL, et al.** International and multicenter comparison of EUCAST and CLSI M27-A2 broth microdilution methods for testing susceptibilities of *Candida* spp. to fluconazole, itraconazole, posaconazole and voriconazole. *J Clin Microbiol* (2005) ; 43 : 3884-3889.
- [60] **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.
- [61] **Espinel-Ingroff A.** *In vitro* antifungal activities of andilafungin and micafungin, licensed agents and the investigational triazole posaconazole as determined by NCCLS methods for 12052 fungal isolates: Review of the literature. *Rev. Iberoam. Micol* (2003) ; 20 : 121-136.

- [62] **Espinel-Ingroff A, Kerkering TM, Goldson PR, Shadomy S.** Comparison study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *J Clin Microbiol* (1991) ; 29 : 1089-94.
- [63] **Espinel-Ingroff A, Kish CW, Kerkering TM, Fromtiling RA, Bartizal K, et al.** Collaborative comparison of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *J Clin Microbiol* (1992) ; 30 : 3138-45.
- [64] **Espinel-Ingroff A.** Mechanisms of resistance to antifungal agents: Yeasts and filamentous fungi. *Rev Iberoam Micol* (2008) ; 25 : 101-106.
- [65] **Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Erwin ME, Jones RN.** Interlaboratory evaluation of E-test method for testing antifungal susceptibilities of pathogenic yeasts to five antifungal agents by using casitone agar and solidified RPMI 1640 medium with 2 % glucose. *J Clin Microbiol* (1996) ; 34 : 848-52.
- [66] **EUCAST definitive document EDef 7.1:** Method for the determination of broth dilution MIC of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clin Microbiol Infect.* (2008); 14 : 398–405.
- [67] **Gallis HA, Drew RH, Pickard W.** Amphotericin B : 30 years of clinical experience. *Rev Infect Dis* (1990) ; 12 : 308-29.
- [68] **Gellen-Dautremer, Lanternier F. Dannaoui E., Lortholary O.** Associations antifongiques dans les candidoses et aspergilloses invasives. *Réanimation* (2008) ; 17 : 259-266
- [69] **Gleason TG, May AK, Caparelli D.** Emerging Evidence of Selection of Fluconazole-Tolerant Fungi in Surgical Intensive Care Unit. *Arch Surg* (1997) ; 132 : 1197-201.
- [70] **Groll AH, Gea-Banacloche JC.** Clinical pharmacology of antifungal compounds. *Infect Dis Clin North Am* (2003) ; 17: 159–91.
- [71] **Hazen KC, Dirks D, Masuoka J.** Determination of echinocandin MICs for *Candida* species in Less than 8 hours : comparison of the rapid susceptibility assay with the clinical and laboratory standards institute's broth microdilution assay. *J Clin Microbiol* (2009) ; 47 : 4043-8.

- [72] **Heidemann HTH, Gerkens GF, Jackson EK, Branch RA.** Effect of aminophylline on renal vasoconstriction produced by amphotericin B in the rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* (1983) ; 32(4) : 148-52.
- [73] **Herbrecht R, Letscher V, Andrès E, Cavalier A.** Safety and efficacy of amphotericin B colloidal dispersion. An overview. *Chemotherapy* (1999) ; 45 : 67-76.
- [74] **Herbrecht R, Letscher V, Andrès E, Kusne S, Gurwith M, Oberling F.** Zygomycosis treated with amphotericin B colloidal dispersion. A review of 22 cases. *Blood* (1996) ; 88 : 502.
- [75] **Herbrecht R, natarajan-amé S, nivoix Y, letscher-bru V.** The lipid formulation of amphotericin B. *expert opin. Pharmacother*; (2003) 4(8) : 1277-1287.
- [76] ¹⁷⁶¹ **Hoeprich PD.** Chemotherapy of systemic fungal diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* (1978) ; 18 : 205-31.
- [77] **Hong Y, Shaw PJ, Nath CE, et al.** Population pharmacokinetics of liposomal amphotericin B in pediatric patients with malignant diseases. *Antimicrob Agents Chemother* (2006) ; 50 : 935-42.
- [78] **Jensen-Pergakes, K. L., M. A. Kennedy, N. D. Lees, R. Barbuch, C. Koegel, and M. Bard.** Sequencing, disruption, and characterization of the *Candida albicans* sterol methyltransferase (*ERG6*) gene: drug susceptibility studies in *erg6* mutants. *Antimicrob. Agents Chemother* (1998); 42 : 1160–1167.
- [79] **Johnson EM.** Issues in antifungal susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother.* (2008) ; 61(S1) : i13- i18.
- [80] **Johnson MD, Kleinberg M, Danziger L, Ostrosky-Zeichner L.** Pharmacoeconomics of antifungal pharmacotherapy: challenges and future directions. *Expert Opin Pharmacother* (2005) ; 6 : 2617–32.
- [81] **Jullien V..** Pharmacocinétique et pharmacodynamie des antifongiques en pédiatrie. *Archives de Pédiatrie* (2011) ; 18 : S42-S47
- [82] **Kam LW, Lin JD.** Management of Systemic *Candida* Infections in the Intensive Care Unit. *Am J Health-Syst Pharm* (2002) ; 59 : 33-41.

- [83] **Kanafani ZA, and Perfect JR.** Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin. Infect. Dis.* (2008) ; 46 :120-128.
- [84] **Kanafani ZA and Perfect JR.** Resistance to Antifungal Agents: Mechanisms and Clinical Impact. *Clinical Infectious Diseases* (2008) ; 46 : 120–8
- [85] **Karyotakis NC, and Anaissie EJ.** Efficacy of escalating doses of liposomal amphotericin B (AmBisome) against hematogenous *Candida lusitanae* and *Candida krusei* infection in neutropenic mice. *Antimicrob Agents Chemother.* (1994) ; 38 : 2660-2662.
- [86] **Kelly, SL, Lamb DC, Kelly DE, Manning NJ, Loeffler J, Hebart H, Schumacher U, and Einsele H.** Resistance to fluconazole and cross-resistance to amphotericin B in *Candida albicans* from AIDS patients caused by defective delta 5,6-desaturation. *FEBS Lett* ;(1997) : 400 : 80-82.
- [87] **Kelsey SM, Goldman JM, McCann S, Newland AC, Scarffe JH, Oppenheim BA, et al.** Liposomal amphotericin (Ambisomet) in the prophylaxis of fungal infections in neutropenic patients : a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Bone Marrow Transplant* (1999) ; 23 : 163-8.
- [88] **Kinsky SC.** The effect of polyene antibiotics on permeability in neuroporocrassa. *Biochem Biophys Res Com* (1961) ; 4 : 353-7.
- [89] **Kuti J, Kotapati S, Williams P, et al.** Pharmacoeconomic analysis of amphotericin B lipid complex versus liposomal amphotericin B in the treatment of fungal infections. *Pharmacoeconomics* (2004) ; 22 : 301-310.
- [90] **Lacroix C, Dubach M, Feuilhade M.** Echinocandins: a new class of antifungal agents. *Médecine et maladies infectieuses* (2003) 33 : 183-191
- [91] **Lanternier F, Lortholary O.** Anidulafungine : une nouvelle option thérapeutique dans les candidoses systémiques. *Médecine et maladies infectieuses* (2010), 40 :440-448.
- [92] **Lass-Flor C, Perkhofer S, Mayr A.** *In vitro* susceptibility testing in fungi : a global perspective on a variety of methods. *Mycoses* (2009) ; 53 : 1-11.

- [93] Lee SC, Lo HJ, Fung CP, Lee N, See LC. Disk diffusion test and Etest with enriched Mueller-Hinton agar for determining susceptibility of *Candida* species to voriconazole and fluconazole. *J Microbiol Immunol Infect* (2009) ; 42 : 148-53.
- [94] Leenders AC, Reiss P, Portegies P, Clezy K, Hop WC, Hoy J, *et al.* Liposomal amphotericin B (Ambisomet) compared with amphotericin B both followed by oral fluconazole in the treatment of AIDS-associated cryptococcal meningitis. *AIDS* (1997) ; 11 : 1463-71.
- [95] Legrand P, Romero EA, Cohen BE, Bolard J. Effects of aggregation and solvent on the toxicity of amphotericin B to human erythrocytes. *Antimicrob Agents Chemoter* (1992) ; 36 (11) : 2518-2522.
- [96] Lemke, A, Kiderlen AF, and Kayser O. Amphotericin B. *Appl. Microbiol. Biotechnol* (2005) ; 68:151-162.
- [97] Loeffler Juergen and Stevens DA. Antifungal Drug Resistance. *Clinical Infectious Diseases* (2003); 36S: S31–41.
- [98] Letscher-Bru V. Antifongigramme et concentration minimale inhibitrice. *EMC-Biologie médicale [Article 90-35-0053-A]*. (2011) : 1-7.
- [99] Lin AC, Goldwasser E, Bernard EM, and Chapman SW. Amphotericin B Blunts Erythropoietin Response to Anemia. *the journal of infectious diseases* (1990) ; 161 : 348-351.
- [100] Linas MD, Cassaing S. Méthodes d'évaluation *in vitro* des antifongiques : étude comparative des différents tests. *Revue Française des Laboratoires* (2001) ; 332 : 49-56.
- [101] Li RK, Elie CM, Clayton GE, Ciblak MA. Comparison of a new colorimetric assay with the NCCLS broth microdilution method (M-27A) for antifungal drug MIC determination. *J Clin Microbiol* (2000) ; 38 : 2334-8.
- [102] Lortholary O, Tod M et Dupont B. Antifongiques. *Encycl Méde Chir (Elsivier, Paris), Maladies infectieuses, 8-004-M-10*, (1999), 21p.
- [103] Mactal-Haaf C *et al.* Use of anti-infective agents during lactation, part 3 : antivirals, antifungals, and urinary antiseptics. *J Hum Lact* (2001) ; 17(2) : 160-166.

- [104] **Marinach C, Alanio A, Palous M, Kwasek S, Fekkar A, Brossas J, et al.** Maldi-Tof MS-based drug susceptibility testing of pathogens : the example of *Candida albicans* and fluconazole. *Proteomics* (2009) ; 9 : 4627-31.
- [105] **Marr KA, Lyons CN, Rustad TR, Bowden RA, and White TC.** Rapid, transient fluconazole resistance in *Candida albicans* is associated with increased mRNA levels of CDR. *Antimicrob Agents Chemother* (1998) ; 42:2584-9.
- [106] **Mateus C, Crow Jr SA, Ahearn DG.** Adherence of *Candida albicans* to silicone induces immediate enhanced tolerance to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* (2004) ; 48 : 3358-66.
- [107] **Messer SA, Moet GJ, Kirby JT., and Jones RN.** Activity of Contemporary Antifungal Agents, Including the Novel Echinocandin Anidulafungin, Tested against *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and *Aspergillus* spp.: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006 to 2007). *Journal of clinical microbiology* (2009); 47(6) :1942–1946.
- [108] **Millet A, Girard F, Carreau F.** Traitement des infections fongiques invasives. *Actualités pharmaceutiques hospitalières* (2005) ; 3 : 15-28.
- [109] **Montoro-Ronsano JB, Suñé-Martín MP, Oliveras-Martín J.** Comparative pharmacokinetics of amphotericin B in its different formulations : the result of a Meta – analysis. *EHP* (2001) ,7(1) : 5-10.
- [110] **Montravers Ph, Cargeac A, Rezzoug A.** Choix d'un antifongique. *Elsevier SAS* (2003) :673-692.
- [111] **Morace G, Amato G, Bistoni F, Fadda G, Marone P, Montagna MT, et al.** Multicenter comparative evaluation of six commercial systems and the National committee for clinical laboratory standards M27-A broth microdilution method for fluconazole susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol* (2002) ; 40 : 2953-8.
- [112] **Morin O.** Historique des antifongiques et évolution de l'épidémiologie. In: Journée interdisciplinaire sur les infections fongiques, ed. Infections fongiques : résistances et nouvelles modalités thérapeutiques. *Paris: Optimed;* (2003). p. 11–28.

- [113] **Moudgal VV SJ.** Antifungal drugs in pregnancy : a review. *Expert Opin Drug Saf* (2003) ; 2(5) : 475-83.
- [114] **Murat JB, Lebeau B, Cornet M, Chumpitazi B, Maubon D, Faure O, Quesada JL, Thiebaut-Bertrand A, Timsit JF, Pelloux H.** Surveillance de la sensibilité de *Candida krusei* à l'amphotéricine B de 2003 à 2011 au CHU de Grenoble. *Journal de Mycologie Médicale* (2012) ; 22(1) : 107-108.
- [115] **Myint H.** Ambisome® : an overview of current use. *Hosp Med* (1999) ; 60 : 123-6.
- [116] **National committee for clinical laboratory standards.** Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts. Approved standard M44-A, Wayne, PA (2004).
- [117] **National committee for clinical laboratory standards.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standards M27-A., Wayne, Pa(1997).
- [118] **National committee for clinical laboratory standards.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 2nd ed. NCCLS document M27-A2. NCCLS, Wayne, PA (2002).
- [119] **National committee for clinical laboratory standards.** Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Proposed standard M27-P, Villanova, Pa (1992).
- [120] **Nolte, FS, Parkinson T, Falconer DJ, Dix S, Williams J, Gilmore C, Geller R, and Wingard JR.** Isolation and characterization of fluconazole- and amphotericin B-resistant *Candida albicans* from blood of two patients with leukemia. *Antimicrob. Agents Chemother.* (1997); 44:196-199.
- [121] **Odds Frank C, Brown Alistair JP and Gow Neil AR.** Antifungal agents: mechanisms of action. *TRENDS in Microbiology* (2003) ; 11(6) :272-279.
- [122] **Olsen SJ, Swerdel MR, Blue B, Clark JM, Bonner DP.** Tissue distribution of amphotericin B lipid complex in laboratory animals. *J Pharm Pharmacol* (1991) ; 43: 831-5.

- [123] **PAUGAM A.** Le point sur l'antifongogramme. *La Lettre de l'infectiologue* (2010) ; 25(6) : 222-227.
- [124] **Padoin C, Tribut O.** Pharmacocinétique (PK)/ pharmacodynamie (PD) et place du suivi thérapeutique pharmacologique (STP) des antifongiques. *Médecine thérapeutique*. (2010) ; 16(4) : 329-39.
- [125] **Patel R.** Antifungal agents, part I : Amphotericin B preparations and flucytosine. *Mayo Clin Proc.* (1998) ; 73 : 1205-1225. Symposium on Antimicrobial Agents, Part 3.
- [126] **Penet É, Bonneau L, Parinaud AS, Gonnin S, Gaillard MA, Javerliat M.** Pharmacologie des antifongiques systémiques *Actualités pharmaceutiques hospitalières* (2011) ; 28 : 10-20.
- [127] **Perea S, Patterson TF.** Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clin infect dis* (2002) ; 35 : 1073-1080.
- [128] **Pfaller, MA, Boyken L, Hollis RJ, Kroeger J, Messer SA, Tendolkar S, and Diekema DJ.** *In vitro* susceptibilities of invasive isolates of *Candida spp.* to anidulafungin, caspofungin, and micafungin: six years of global surveillance. *J. Clin. Microbiol* (2008) ; 46:150-156.
- [129] **Pfaller MA, Diekema DJ.** Epidemiology of invasive candidiasis : A persistent publichealth problem. *Clin Microbiol Rev* (2007) ; 20 :133-63.
- [130] **Pfaller MA, Diekema DJ.** Epidemiology of invasive mycoses in North America. *Crit Rev Microbiol* (2010) ; 36(1): 1-53.
- [131] ^[131] **Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ng KPb , Colombo A et al.** Geographic and temporal trends in isolation and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis* :A global assesement from the ARTEMIS DISK antifungal Surveillance program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol* (2008) ; 46 : 842-9.

- [132] **Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Meis JF, Gould IM, et al.** Results from the ARTEMISDISK 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.
- [133] **Pfaller MA, Messer SA, Bolmstro AM, Odds FC, Rex JH.** Multisite reproducibility of the E-test MIC method for antifungal susceptibility testing of yeast isolates. *J Clin Microbiol* (1996) ; 34 : 1691-3.
- [134] **Pfaller, MA, Yu WL.** Antifungal susceptibility testing: new technology and clinical applications. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* (2001) ; 15: 1227–1261.
- [135] **Pina-vaz C, Rodriguez A.** Evaluation of antifungal susceptibility using flow cytometry. *Methods Mol Biol* (2010) ; 638 : 281-9.
- [136] **Powderly, WG, Kobayashi GS, Herzig GP, and Medoff G.** Amphotericin B-resistant yeast infection in severely immunocompromised patients. *Am. J. Med.* (1988) ; 84:826–832.
- [137] **Prentice HG, Hann IM, Herbrecht R, Aoun M, Kvaloy S, Catovsky D, et al.** A randomized comparison of liposomal versus conventional amphotericin B for treatment of pyrexia of unknown origin in neutropenic patients. *Br J Haematol* (1997) ; 98 : 711-8.
- [138] **Rafael LL and Maria Noemi CV.** Amphotericin B: side effects and toxicity *RevIberoamMicol.* (2009); 26(4):223- 227.
- [139] **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.
- [140] **Rementeria A, Sanchez-vargas LO, Villar Nt Casals JB, Carrillo Munoz Ai, Andres CR, et al.** Comparaison 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.

- [141] **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 Study Group. *Antimicrob Agents Chemother* (1999) ; 39 : 40-44.
- [142] **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.
- [143] **Ringden O, Andstrom EE, Remberger M, Dahllof G, Svahn BM, Tollemar J.** Prophylaxis and therapy using liposomal amphotericin B (Ambisomet) for invasive fungal infections in children undergoing organ or allogenic bone-marrow transplantation. *Pediatr Transplant* (1997) ; 1 : 124-9.
- [144] **Ringden O, Meunier F, Tollemar J, Ricci P, Tura S, Kusne E, et al.** Efficacy of amphotericin B encapsuled in liposomes (Ambisomet) in the treatment of invasive fungal infections in immunocompromised patients. *J Antimicrob Chemother* (1991) ; 28 Suppl B : 73-82.
- [145] **Rodriguez-Tudela JL, Arendrup MC, Barchiesi F, Bille J, Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M, et al.** EUCAST definitive document EDef 7.1 : method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clin Microbiol Infect* (2008) ; 14 : 398-405.
- [146] **Rodriguez-Tudela JL, Donnelly PJ, Pfaller MA, Chryssantou E, Warn P, Denning DW, et al.** Statistical analyses of correlation between fluconazole MICs for *Candida* spp. assessed by standard methods set forth by the European committee on antimicrobial susceptibility testing and CLSI (M27-A2). *J Clin Microbiol* (2007) ; 45 : 109-11.
- [147] **Rogers Thomas R.** Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact? *International Journal of Antimicrobial Agents* (2006); 27S: S7-S11.
- [148] **Rotstein C, Laverdière M, Marciniak A, BPharm FA.** 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) : 277-284.

- [149] **Rudensky B, Broide E, Berko N, Wiener-Well Y, Yinnon A, Raveh D.** Direct fluconazole susceptibility testing of positive *Candida* blood cultures by flow cytometry. *Mycoses* (2008) ; 51 : 201-4.
- [150] **Sanglard D, Ischer F, Parkinson T, Falconer D, and Bille J.** *Candida albicans* mutations in the ergosterol biosynthetic pathway and resistance to several antifungal agents. *Antimicrob. Agents Chemother* (2003); 47: 2404-2412.
- [151] **Sanofi Pasteur.** Protocole de la galerie Fungitest®.
- [152] **Sharkey PK, Graybill JR, Johnson ES, Haurath SG, Pollard RB, Kolokathis A, et al.** Amphotericin B lipid complex compared with amphotericin B in the treatment of cryptococcal meningitis in patients with AIDS. *Clin Infect Dis* (1996) ; 22 : 315-21.
- [153] **Subcommittee on Antifungal susceptibility testing of the ESCMID European committee for antimicrobial susceptibility testing.** EUCAST Technical note on the method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia-forming moulds. *Clin Microbiol Infect* (2009) ; 15 : 103.
- [154] **Talarmin JP, Boutoille D, Tattevin P, Dargère S, Weinbreck P, Ansart S, Chenebault JM, Hutin P, Léautez-Nainville S, Gay-Andrieu F, Raffi F, le GERICCO.** Épidémiologie des candidémies : étude observationnelle prospective d'un an dans l'Ouest de la France. *Médecine et maladies infectieuses* (2009) 39: 877-885.
- [155] **Thompson GR, Cadena J, Patterson TF,** Overview of Antifungal Agents. *Clin Chest Med* (2009) ; 30: 203–215.
- [156] **Tollemar J, Hockerstedt K, Ericzon BG, Jalanko H, Ringden O.** Liposomal amphotericin B prevents invasive fungal infections in liver transplant recipients. A randomized, placebo-controlled study. *Transplantation* (1995) ; 59 : 45-50.

- [157] **Tollemar J, Ringden O, Andersson, Sundberg B, Ljungman P, Sparrelid E, et al.** Prophylactic use of liposomal amphotericin B (Ambisomet) against fungal infections : a randomized trial in bone marrow transplant recipients. *Transplant Proc* (1993) ; 25 : 1495-7.
- [158] **Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, et al.** Epidemiology of candidemia in europe : result of 28-month european confederation of medical mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2004) ; 23 : 317-22.
- [159] **Tumidge JD, Gudmundsson S, Vogelmann B, Cralg W.** The postantibiotic effect of antifungal agents against common pathogenic yeasts. *J Antimicrob Chemother* (1994) ; 34 : 83-92.
- [160] **Vanden BH, Warnock DW, Dupont B, Kerridge D, Sen GS, Improvisi L, Marichal P, Odds FC, Provost F, and Ronin O.** Mechanisms and clinical impact of antifungal drug resistance. *J. Med. Vet. Mycol* (1994) ; 32:189–202.
- [161] **Vanden BH, Marichal P, and Odds FC.** Molecular mechanisms of drug resistance in fungi. *Trends Microbiol* (1994) ; 2:393–400.
- [162] **Vanden BI, Vaneechoutte M, Vandevenne M, Baere T, Verschraegen G.** Susceptibility testing of fluconazole by the NCCLS broth macrodilution method, E-Test, and disk diffusion for application in the routine laboratory. *J Clin Microbiol* (2002) ; 40 : 918-21.
- [163] **Vermes A, Guchelaar HJ, Dankert J.** Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. *J Antimicrob Chemother* (2000) ; 46: 171–9.
- [164] **Vogelsinger H, Weiler S, Djanani A, Kountchev J, Bellmann-Weiler R, Wiedermann CJ. and Bellmann R.** Amphotericin B tissue distribution in autopsy material after treatment with liposomal amphotericin B and amphotericin B colloidal dispersion. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2006); 57: 1153–1160.

- [165] **Walsh TJ, Hiemenz JW, Seibel NL, Perfect JR, Horwith G, Lee L, et al.** Amphotericin B lipid complex for invasive fungal infections : analysis of safety and efficacy in 556 cases. *Clin Infect Dis* (1998) ; 26 : 1383-96.
- [166] **Walsh TJ, Seibel NL, Arndt C, Harris RE, Dinubile MJ, Rebolia, et al.** Amphotericin B lipid complex in pediatric patients with invasive fungal infections. *Pediatr Infect Dis J* (1999) ; 18 : 702-8.
- [167] **Walsh TJ, Whitcomb P, Piscitelli S, et al.** Safety, tolerance, and pharmacokinetics of amphotericin B lipid complex in children with hepatosplenic candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* (1997);41:1944-1948.
- [168] **Walsh T, Yeldandi V, McEvoy M, et al.** Safety, tolerance, and pharmacokinetics of a small unilamellar liposomal formulation of amphotericin B (Ambisome®) in neutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother* (1998) ; 42 : 2391-8.
- [169] **Watson, P. F., M. E. Rose, and S. L. Kelly.** Isolation and analysis of ketoconazole resistant mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Med. Vet. Mycol.* (1998); 3:153-162.
- [170] **Watt Kevin, Benjamin Jr. Daniel K., Cohen-Wolkowicz Michael.** Pharmacokinetics of antifungal agents in children. *Early Human Development* (2011) 87S : S61–S65.
- [171] **Wenzel R, Del Favero A, Kibbler C, Rogers T, Rotstein C, Mauskopf J, Morris S, Schlamm H, Troke P and Marciniak A.** Economic evaluation of voriconazole compared with conventional amphotericin B for the primary treatment of aspergillosis in immunocompromised patients *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2005); 55: 352–361.
- [172] **Wiederhold N, Tam V, Chi J, Prince R, Kontoyiannis D, Lewis R.** Pharmacodynamic activity of amphotericin B deoxycholate is associated with peak plasma concentrations in a neutropenic murine model of invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* (2006) ; 50 : 469-73.

- [173] **Wingard J, Kubilis P, Lee L, Yee G, White M, Walshe L, Bowden R, Anaissie E, Hiemaiz J, Lister J.** Clinical significance of nephrotoxicity in patients treated with amphotericin B for suspected or proven aspergillosis. *Clin Inf Dis* (1999) ; 29: 1402-7.
- [174] **Wingard JR.** Efficacy of amphotericin B lipid complex (ABLC) in bone marrow transplant recipients with life-threatening systemic mycoses. *Bone Marrow Transplant* (1997) ; 19 : 343-7.
- [175] **White M, Bowden R, Sandler ES, Graham ML, Noskin GA, Wingard JR, Goldman M, Van Burik JA, McCabe A, Lin JS, Gurwith M, Miller CB.** Randomized double-blind clinical trial of amphotericin B colloidal dispersion vs amphotericin B in the empirical treatment of fever and neutropenia. *Clin Infectious Dis* (1998) ; 27: 296-302.
- [176] **White MH, Anaissie EJ, Kusne, Wingard JR, Hiemenz JW, Cantor A, et al.** Amphotericin B colloidal dispersion vs. Amphotericin B as therapy for invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* (1997) ; 24 : 635-42.
- [177] **White MH, Bowden RA, Sandler, Graham ML, Noskin GA, Wingard JR, et al.** Randomized double-blind clinical trial of amphotericin B colloidal dispersion vs. amphotericin B in the empirical treatment of fever and neutropenia. *Clin Infect Dis* (1998) ; 27 : 296-302.
- [178] **Wingard John R. , Wood Craig A. , Sullivan Elizabeth , Berger Marc L. , Gerth William C., Mansley Edward C.** Caspofungin versus amphotericin B for candidemia: A pharmaco-economic analysis. . *Clinical Therapeutics* (2005); 27(6): 960–969.
- [179] **White TC, Marr KA, and Bowden RA.** Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev* (1998) ; 11: 382-402.
- [180] **Wong-Beringer A, Jacobs RA, and Guglielmo BJ.** Lipid Formulations of Amphotericin B: Clinical Efficacy and Toxicities. *Clinical Infectious Diseases* (1998); 27:603–18.

- [181] **Wurthwein G, Groll AH, Hempel G, Adler-Shohet FC, Lieberman JM, and Walsh TJ.** Population pharmacokinetics of amphotericin B lipid complex in neonates. *Antimicrob Agents Chemother* (2005);49(12):5092-5098.
- [182] **Yoon SA, Vazquez JA, Steffan PE, Sobel JD, and Akins RA.** High-frequency, *in vitro* reversible switching of *Candida lusitanae* clinical isolates from amphotericin B susceptibility to resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* (1999); 43: 836-845.
- [183] **Young LY, Hull CM, and Heitman J.** Disruption of ergosterol biosynthesis confers resistance to amphotericin B in *Candida lusitanae*. *Antimicrob. Agents Chemother* (2003);47:2717- 2724.

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 humaine.*
- *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.*

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- ◀ أن أراقب الله في مهنتي
- ◀ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوماً وفيّاً لتعاليمهم.
- ◀ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبداً 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 بالالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد

أطروحة رقم: 26

سنة : 2013

**دراسة مخبرية لحساسية الأمفوترسين باء
(Amphotericin B) لـ 96 سلالة مبيضة معزولة
بالمركز الاستشفائي الجامعي ابن سينا
أطروحة**

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

السيدة: السعدية أبتور

المزادة في: 02 يوليوز 1986 بزاكورة

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: المبيضات - دراسة الحساسية لمضادات الفطريات - الأمفوترسين باء - الحساسية - المراقبة.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: يحيى بنسودة

أستاذ في الصيدلة الجالينوسية

مشرف

السيد: بدر الدين لميموني

أستاذ في علم الطفيليات

السيد: إدريس لحلو أمين

أعضاء

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ في علم الدم

السيد: جمال لمسوري

أستاذ في الكيمياء العلاجية