

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la recherche
Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques

Département de biologie animale et végétale

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domain : sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité: Parasitologie

Thème :

SÉRODIAGNOSTIC DES CANDIDOSES PROFONDES AU CHU DE TIZI-OUZOU

Présenté par : *Melle Ait Abdelaziz Yasmina & Melle Missoum Naoual*

Soutenue devant le jury composé de :

Président : *Mr Boukhamza Mohamed* professeur U.M.M.T.O

Promotrice : *Mme Boukhamza Zemmouri Nabila* professeur U.M.M.T.O

Co-promoteure : *Dr Abderahim wissam* maître assistante C.H.U.T.O.

Examineurs : *Melle Abdellaoui Karima* maître assistante U.M.M.T.O

Promotion : 2017-2018

Remerciements :

Nous remercions dieux le tout puissant qui nous a donné

Le courage et la volonté de mener à bien notre travail

Nos familles de nous avoir soutenus, supporter pendant

Notre cursus universitaire

Nous tenons à remercier Madame Boukhamza pour le suivi

Et l'encadrement qui nous à apporter.

Ainsi que docteur Abderahim

Pour son aide et sa disponibilité j'éprouve un profond respect

Pour votre travail

Nos remerciements vont également à nos professeurs et collègues

En parasitologie

A toutes personnes qui nous ont aidées de près ou de loin

Merci a tous

Dédicace

Je dédie mon modeste travail à mes parents les personnes les plus chers au monde , merci maman pour ta présence et tes encouragements qui sont pour moi les piliers fondateurs de ce que je suis devenue .merci papa pour ton pragmatisme et ton enseignement qui m'ont beaucoup appris .

Que Allah les protège et leur offre une longue vie et une bonne santé

À mes chères frères

Ouramdane, Saadi, Toufik et Hacem

A la mémoire de ma sœur Kahina qui aurait été heureuse de me voir ce jour là où il est.

A la mémoire de mon frère Kamel qui aurait été heureux de me voir ce jour là où il est .

A mes oncles et mes tantes

A mes cousins et cousines

A toute ma famille

A ma chère nawel qui a partagé mon parcours en master et supporter mes qualités et mes défauts

Yasmina

Dédicace

*Aux êtres les plus chères au monde, mon père, ma mère, source
intarissable d'amour de tendresse et de sacrifice, pour leurs conseils et
leur précieuse aide morale et financière*

Que dieux les protège et les entoure de sa bénédiction

A mes très chères frères

Amer, Rabah, Saïd, Mohamed, Mouloud, Hacem

A mes adorables niece et neveux

Marwa, Nélia, Zineb, Daoud, Youcef

A mes chers(e) amis

Samira, Lynda, Razika, Kahina, Mounia , Radia, Nawel, Yasmîna

A ma chère Faroudja

Nawel

Listes des figures :

Figure 1 : Représentation des différentes morphologies de <i>C. albicans</i>	4
Figure2 : Aspect macroscopique des levures en culture	4
Figure 3 : Différents aspects microscopiques des levures du genre <i>Candida</i>	5
Figure 4 : Physiopathologie de la candidose invasive	8
Figure 5 : Formation d'un biofilm par <i>candida sp</i>	9
Figure 6 : Muguet buccal	10
Figure 7 : Perlèche et chéilites	10
Figure 8 : Erythème fessier du nourrisson	11
Figure 9 : Lésions cutanées dues à la dissémination hématogène de <i>Candida</i>	12
Figure 10 : Fond d'œil lors d'une endophtalmie à <i>Candida</i>	13
Figure11 : Candidose hépatosplénique.....	14
Figure 12 : Amas de blastospores sur une expectoration (coloration MGG)	18
Figure13 : Milieux chromogénique.....	19
Figure 14 : Aspect macroscopique des colonies type <i>Candida Spp</i> au milieu sabouraud....	20
Figure 15 : Milieux fluorogéniques	21
Figure 16 : Flacon pour hémoculture	22
Figure 17 : Résultats de la sérologie candidosique (Ait abdelaziz et Missoum, 2018).....	32
Figure 18 : Prélèvements périphériques (photo Ait abdelaziz et Missoum).....	33
Figure 19 : Hémoculture positive (photo Ait abdelaziz et Missoum)	34
Figure 20 : Dossier des malades (photo Ait abdelaziz et Missoum).....	34
Figure 21 : Répartition des cas selon les tranches d'âge	37
Figure 22 : Fréquence des cas selon les services d'admission.....	38
Figure 23 : Répartition des cas selon les résultats de sérologie <i>Candida</i>	39
Figure 24 : Répartition des cas selon la positivité des prélèvements périphériques.....	40
Figure 25 : Répartition des espèces de <i>Candida</i> à partir des prélèvements des sites Périphériques	42

Listes des figures :

Figure 26 : Répartition des cas selon le motif d'hospitalisation.....	43
Figure 27: Répartition des cas selon le traitement antifongique	46

Liste des tableaux

Tableau I : Modes de dissémination des candidoses.....	7
Tableau II : Modalités de prélèvements selon la localisation des lésions dans les candidoses profondes ou systémiques.....	17
Tableau III : Classification des infections fongiques invasives (IFI) selon l'EORTC (2002, révisé en 2008).....	27
Tableau IV: Répartition des cas selon les catégories.....	36
Tableau V: Répartition des cas selon le sexe	36..
Tableau VI : Index de colonisation.....	41
Tableau VII : Répartition des cas selon le résultat de l'hémoculture.....	42
Tableau VIII : Répartition des cas selon le traitement en cours.....	44
Tableau IX: Répartition des cas de candidose invasive selon leurs signes cliniques.....	44
Tableau X: Distribution des malades neutropéniques.....	45
Tableau XI: Taux de mortalité en rapport avec la candidose invasive dans les divers services d'admission.....	45
Tableau XII : Comparaison des taux des cas positifs, intermédiaires et négatifs des candidoses invasives.....	47
Tableau XIII: Comparaison des résultats de la sérologie.....	49

Liste des abréviations

Ac. : Anticorps

Ag : antigène

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

C.I. : Candidoses invasives

E.D.T.A. : Ethylène-diamine-tétraacétate

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Essay

E.S. :Electrosynérèse

H.A.I. :Hémagglutination indirecte

H.E.S. :Hématéine-éosine-safran

I.C. :Index de colonisation

I.C.C. : Index de colonisation corrigé

I.E.P. : Immunoélectrophorèse

I.F.I. Immunofluorescence indirectes

L.B.A. : Lavage broncho-alvéolaire

L.C.R. : Liquide céphalorachdien

MALDI-TOF/MS: spectrométrie de masse

M.n. : Mannane

M.G .G.: May-Grunwald-Giemsa

P.A.S. : Acide périodique de Schiff

P.C.B. :P omme de terre, carotte, bile

P.C.R. .Polymerase Chain Reaction

R.A.T. : Riz, agar, tween

S.C.A.: **Sabouraud**-chloramphénicol-actidione

Glossaire

Antibiotique : C'est une substance d'origine naturelle ou synthétique ayant la capacité d'arrêter la multiplication des bactéries, mais également d'autres agents infectieux.

Antibiothérapie : Utilisation thérapeutique des antibiotiques.

Antifongique : Ce sont des médicaments capables de traiter les mycoses, c'est-à-dire les infections provoquées par des champignons microscopiques.

Antigène : Agent qui s'introduit dans un organisme par des voies autres que digestives, il provoque la formation d'anticorps réagissant spécifiquement avec lui.

Asexuée : Sans sexe.

Balanite : Inflammation aigue ou chronique de la muqueuse du gland, souvent associée à une inflammation du prépuce.

Candidémie : Présence dans le sang de champignons levuriformes du genre *candida*

Chlamydospores : Grosses spores de *C.albicans*, à paroi épaisse, situées à l'extrémité des rameaux pseudo mycéliens et qui constituent une forme de résistance .

Endocardite : Maladie d'origine inflammatoire ou infectieuse de l'endocarde frappant avec prédilection les valves du cœur.

Endophtalmie : Inflammation majeure du globe oculaire intéressant surtout les couches profondes (rétine et choroïde) ainsi que le vitré, mais respectant la tunique sclérale.

Glucane : Molécule formée par le regroupement de plusieurs molécules de glucose par des liaisons osidiques

Hémoculture : Prélèvement de sang que l'onensemence dans des milieux de culture convenables en vue de déceler la présence de microorganismes pathogènes dans le circulation.

Glossaire

Hyphe : Filament mycélien.

Immunodéprimé : Se dit d'un sujet en état de dépression immunitaire acquise ou congénitale.

Fréquence : Caractère de ce qui se répète souvent .

Iatrogène : Qualifie une maladie ou une complication de maladie due à l'intervention médicale. La cause peut être physiologique (interrogation du patient, angoisse suscitée par un examen) ou somatique (médicaments, intervention chirurgicale).

Muguet : Candidose.

Mycose : Maladie causée par un mycète (champignons).

Neutropénie : Diminution du nombre du globules blancs polynucléaires (granulocytes) neutrophiles.

Pneumopathie : Inflammation d'origine infectieuse ou non, atteignant le parenchyme pulmonaire dans les parties distale des voies aériennes comprenant les bronchioles respiratoires et les alvéoles.

Septicémie : Fongémie (passage d'un champignon dans le sang).

Splénomégalie : Augmentation de volume de la rate, appréciable par la palpation quand elle devient volumineuse.

Stomatite : Inflammation de la muqueuse de la bouche

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction générale.....1

Chapitre I : rappels bibliographiques sur les candidoses profondes

1-Généralités	2
1-1-Définition.....	2
1-2-Classification des champignons	2
1-2-1-Classification asexuée	2
1-2-2-Classification sexuée.....	3
1-3-Morphologie	3
1-4-Agent pathogène	4
2-Mode de contamination	5
2-1-Voie endogène	5
2-2-Voie exogène	5
3-Facteurs favorisants.....	6
3-1-Facteurs intrinsèques (liés à l'hôte)	6
3-2.Facteurs extrinsèques et/ iatrogènes	6
4-Physiopathologie.....	7
4.1-Modes de dissémination des candidoses.....	7
4.2-Stade de l'infection candidosiques	8

5-index de colonisation.....	9
6- Prélèvements périphériques pour le calcul de l'index de colonisation	10
6-1-candidoses buccales.....	10
6-2-candidoses œsophagiennes	10
6-3-candidoses gastro-intestinales	10
6-4-candidoses anales	11
6-5-candidoses génitales.....	11
7-Clinique	11
7-1- Infection après dissémination hématogène	11
7-2-Infection sans dissémination hématogène	14
8-Risque nosocomiale lié à <i>Candida</i>	16
9-Diagnostic	16
9-1-Prélèvements	17
9-2-Examen direct	17
9-2-1-Examen direct des prélèvements des sites profonds	18
9-2-2-Culture.....	18
9-2-2-1-Ensemencement	18
9-2-2-2-les milieux de cultures.....	19
9-3-Hémoculture	21

9-4-Identification.....	22
9-4-1- Identification de <i>Candida albicans</i>	22
9-4-2- Identification de <i>Candida non_albicans</i>	23
9-5- Diagnostic indirect	23
9-5-1-Recherche des anticorps	23
9-5-2-Recherche d'antigènes circulants	24
9-6-Examen anatomo-pathologique.....	26
9-7-Selon le système d'évaluation CDC	26
9-8-La biologie moléculaire	27
9-9- Antifongigrame.....	28
9-10-Le Spectromètre de masse Malдитof	28
10-Traitement	28
10-1-Conférence de consensus mai 2004	29
10-2-Traitement préventif	30

Chapitre II : Méthodologie

1-Objectifs de l'étude	31
2-Collecte des données	31

Chapitre III : Résultats.

1-Répartition des échantillons selon les catégories	36
2-Répartition des cas atteints de candidoses profondes selon le sexe	36
3-Distribution des cas atteints de candidoses invasives selon l'âge.....	37

4-Distribution des patients atteints de candidoses invasives selon les services d'admissions.....	38
5-Répartition des cas de condidose profonde selon les résultats de la	
Sérologie <i>Candida</i>	39
6-Distribution des cas selon la positivité des prélèvements périphériques	39
7-calcul de l'index de colonisation	40
8-Répartition des espèces de <i>Candida</i> à partir des prélèvements des sites périphériques	41
9- Répartition des cas de candidoses invasives selon le résultat de l'hémoculture	42
10- Répartition des patients selon le motif d'hospitalisation.....	43
11- Répartition des cas de candidoses invasives en fonction de quelques facteurs de risques	43
11-1- Répartition des cas selon les traitements reçus	43
11-2-Répartition des cas de candidose invasive selon les signes cliniques	44
11-3- Distribution des cas selon la neutropénie prolongée	45
12- Etude des cas de mortalité en rapport avec la candidose invasive	45
13- Répartition des cas selon le traitement antifongique	46

Chapitre IV : Discussion

Conclusion générale	54
----------------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

Les infections à *Candida* sont au premier rang des infections nosocomiales fongiques. Les candidoses invasives (CI) représentent des complications infectieuses graves et sont encore associées à une mortalité élevée chez les patients immunodéprimés notamment, variant entre 40 et 60 % (**Thompson,2001**)

Les candidoses sont un problème de santé publique dans le monde du fait de leur prévalence et de leur gravité. Ce sont des infections sévères principalement acquises à l'hôpital et elles représentent 2,5 à 10 % des infections nosocomiales. Toutefois ces dernières années, une élévation de l'incidence des candidémies communautaires est observée en raison d'une évolution des pratiques médicales avec l'augmentation des hospitalisations à domicile. Les candidémies sont la forme clinique la plus commune des candidoses invasives cette infection peut s'étendre et détériorer progressivement et gravement la santé en contribuant à l'affaiblissement du système immunitaire (**Persat ,2009**).

Sur le plan diagnostique, Les résultats de la sérologie doivent, dans la grande majorité des cas, être interprétés en fonction un bon facteur de risque des patients, la recherche d'anticorps et d'antigènes spécifiques et souvent peut-être contributive au diagnostic à cause de la non-spécificité des signes cliniques et des difficultés du diagnostic biologique. La recherche d'Ag sérique de *Candida* par des techniques fastidieuses sont progressivement supplantées par des techniques commercialisées de type ELISA permettant une meilleure standardisation des résultats entre les différents laboratoires (Persat ,2009).

L'arsenal antifongique s'est considérablement diversifié ces dernières années avec la commercialisation de nouvelles formulations lipidiques de l'amphotéricine B, et le développement de nouvelles molécules dans des classes d'antifongiques connues (**Lmimouni ,2013**).

L'objectif principale de cette étude est de déterminer la place des sérologies *Candida* dans le diagnostique d'une candidose invasive par la technique ELISA . L'objectif secondaire est la relation entre les résultats d'hémocultures et le calcule de l'index de colonisation avec la candidose invasive.

Introduction

Notre mémoire est structuré en quatre chapitres. Le premier consiste en une revue bibliographique. Celle-ci est une synthèse des connaissances sur la physiopathologie et les différents aspects cliniques, épidémiologie, diagnostique, et traitement de la candidose. Un second chapitre est dédié à la méthodologie de travail toutes les étapes effectuées sont décrites. Globalement il s'agit de déterminer le sérodiagnostic des candidoses profondes Au niveau au Centre Hospitalier Universitaire de Tizi Ouzou. Les résultats obtenus seront présentés sous forme de tableaux et graphiques dans le troisième chapitre. Un quatrième chapitre est consacré à la discussion des résultats. Enfin le travail se termine par une conclusion générale.

1-Généralités :

1-1-Définition :

Sur le plan nosologique, on définit une candidose profonde lorsqu'il y a au moins un organe profond touché et la candidose systémique lorsqu'il ya plusieurs sites profonds touchés ou lors d'une dissémination hématogène par *Candida* (**Chabasse et al., 2006**)

Selon **Chabasse et al.** (2006) les candidoses profondes peuvent être classées en trois catégories :

-candidémies : Elles sont caractérisées par la présence de *candida sp.* dans le sang circulant pour lesquelles au moins une hémoculture est positive ; elles peuvent se compliquer de localisations secondaires (oculaires, cardiaques).

-candidoses invasives (viscérales profondes), au cours desquelles la levure est isolée d'un site normalement stérile.

-candidoses disséminées ou systémiques : Pour lesquelles la levure est isolée d'au moins deux organes ou deux sites stériles non contigus.

1-2-Classification des champignons :

1-2-1-Classification asexuée :

La classification des champignons est en perpétuelle évolution, la classification asexuée (forme anamorphe) regroupe les espèces pour lesquelles on ne connaît que des stades asexués, toutes les levures dont la multiplication sexuée est inconnue (**Chabasse, 2006**)

Règne : Fungi

Phylum : Deutéromycètes

Classe : Blastomycètes

Ordre : Cryptococcales

Famille : Cryptococcaceae

Genre : *Candida* (**Chabasse , 2006**)

1-2-2-Classification sexuée :

Suite à l'adoption généralisée de critères moléculaires, des remaniements ont été apportés à cette dernière classification (**Chabasse, 2006**)

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycètes

Classe : saccharomycètes

Ordre : Saccharomycétales (levures bourgeonnantes)

Famille : *Candidaceae*

Genre : *Candida*

Le genre *Candida* comprend environ 200 espèces et représente la majorité de l'ensemble des levures isolées chez l'homme. *Candida albicans* est la principale levure impliquée en pathologie humaine, les autres espèces les plus fréquemment impliqués en pathologie humaine sont : *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. dubliniensis*, *C. lusitaniae*, *C. norvegensis*

1-3-Morphologie :

Les *Candida* sont des micromycètes (champignons microscopiques). Ces organismes eucaryotes sont caractérisés par un appareil végétatif (thalle) composé de spores.

-La forme **levure** ou blastospore est une structure unicellulaire, ronde ou ovoïde de taille variable (2 à 12 µm). Les levures sont non pigmentées et non capsulées.

A l'exception de *C. glabrata*, les levures du genre *Candida* peuvent produire des filaments.

Deux formes filamenteuses peuvent être observées (figure 1) :

- **Le pseudo-mycélium** résulte de la formation successive de bourgeons qui s'allongent sans se détacher de la cellule mère . des blastopores se développent ensuite au niveau des zones d'étranglements , produisant des ramifications latérales .

- **Le mycélium vrai** est une véritable forme filamenteuse cloisonnée et ramifiée. Cette structure s'observe seulement pour quelques espèces dont *C. albicans* ou l'on rencontre l'association blastospore et vrai mycélium a ce stade il y a continuité cytoplasmique entre la blastospore et ce<< tube germinatif>> (**Ripert,2013**).

-La formation de **chlamydospores** est une forme de résistance particulière aux espèces *C. albicans* et *C.dubliniensis*. Il s'agit de structures arrondies de grande taille (6 à 15 µm) à parois épaisses qui se forment sur les filaments. Ces structures observées sur des milieux pauvres servent au diagnostic d'espèce

La forme levure est souvent associée à un état commensal alors que les formes filamenteuses sont retrouvées de façon importante dans les situations d'infections

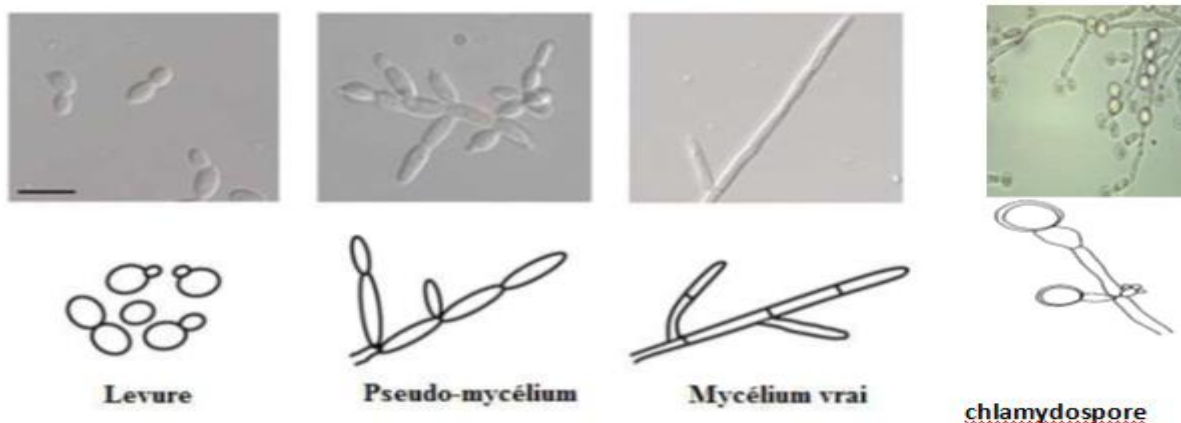


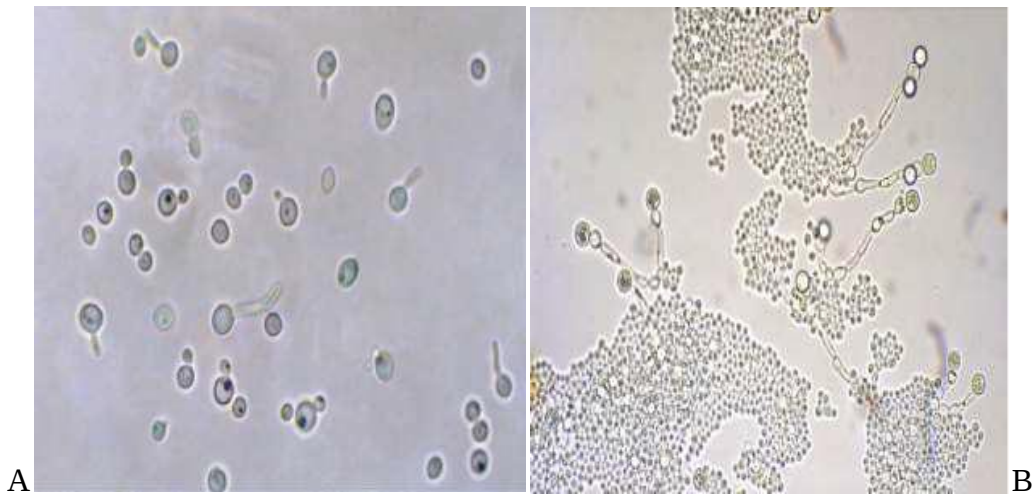
Figure 1 : Représentation des différentes morphologies de *C. albicans* (Thomsone,2011)

1-4-Agent pathogène :

Les levures du genre *Candida* sont des micromycètes, c'est-à-dire des champignons microscopiques. Elles sont caractérisées par un thalle unicellulaire composé de blastoconidies et mesurent de 4 à 6 micromètres de long. Leur forme est ronde ovale, de couleur blanche, opaque, gram positif et non encapsulé avec une petite protubérance à l'extrémité (figure 2) et (figure 3).



Figure2 : Aspect macroscopique des levures en culture (Anofel, 2014)



A : Tube germinatif

B : Chlamydospores terminales de *C. albicans*

Figure 3 : Différents aspects microscopiques des levures du genre *Candida* (Bouchara,2010)

2-Mode de contamination :

Les candidoses invasives relèvent de deux mécanismes différents. Elles peuvent être consécutives à une contamination par :

2-1-Voie endogène :

Les levures du genre *Candida*, saprophytes du tube digestif et de la sphère oropharyngée, sont responsables, le plus souvent, d'une infection par voie endogène.

Dans ce cas, on note un passage de l'état commensal de la levure à l'état pathogène :

- La prolifération des *Candida* en quantité anormalement importante dans la lumière digestive sous l'effet de facteurs favorisants telle qu'une antibiothérapie à large spectre.

- L'invasion par translocation à l'occasion d'une lésion muqueuse qui va finalement aboutir, en cas de troubles de l'immunité, à la dissémination dans tout l'organisme .Le même processus peut se faire à partir de la peau ou des muqueuses lorsque des sites normalement stériles sont colonisés par les *Candida*

2-2-Voie exogène :

Plus rarement, la transmission du *Candida* est croisée. Des épidémies ont été décrites, principalement dans les services de réanimation, et sont liées à des contaminations des liquides de perfusion ou de nutrition parentérale ou bien par manuportage.

-Contamination mère-enfant : mère atteinte d'une vaginite candidosique (ou par le personnel soignant).

-Voie sexuelle

-Contamination extra humaine : air, matériel souillé (pose de cathéter), dans ce cas le

Candida est saprophyte de la peau ou du milieu extérieur (**Pramayon,2001**)

3-Facteurs favorisants :

Les facteurs favorisants peuvent être décomposés en facteurs intrinsèques ou extrinsèques. Pour les candidoses cutané-muqueuses, les facteurs locaux sont prédominants. Pour les infections invasives, les facteurs de risque sont plus nombreux et varient selon le terrain (immunodéprimés, chirurgie abdominale lourde, patients de réanimation...) (**Anofel,2014**)

3-1-Facteurs intrinsèques (liés à l'hôte) :

➤ Facteurs physiologiques :

Age : les nouveau-nés , particulièrement les prématurés, et les vieillards ont souvent des candidose digestives, et du muguet.

➤ Locaux :

-Transpiration

- Macération

- Humidité

➤ Terrain ou maladie sous-jacente :

- Hémopathie

- Cancer

-Neutropénie

- Diabète

3-2.Facteurs extrinsèques et/ iatrogènes :

➤ Traitement médicamenteux :

-L'antibiothérapie à large spectre

- Chimiothérapie

-Immunosuppression (corticoïdes, immunosuppresseurs)

➤ **Traitements chirurgicaux ou médicochirurgicaux :**

- Chirurgie digestive majeure
- Chirurgie des voies urinaires (en présence de candidurie)
- Nutrition parentérale
- Dialyse
- Transfusions multiples
- grands brûlés et greffés

4-Physiopathologie :

4.1-Modes de dissémination des candidoses

La diffusion des infections à levures se fait par voie hématogène ou par dissémination locale. Les principaux modes de dissémination des candidoses sont résumés dans le tableau I suivant :

Tableau I : Modes de dissémination des candidoses (Eggiman ,2001).

Infections après dissémination hématogène:	Infections sans dissémination hématogène:
Candidémie isolée Endophtalmie Infections liées aux accès vasculaires Thrombophlébite septique Endocardite infectieuse Pyélonéphrite Candidoses hépatospléniques	Candidose oro-pharyngée Cystite et pyélonéphrite Péritonite Candidose pulmonaire

4.2-Stade de l'infection candidosiques :

- Le commensalisme: La levure est normalement présente dans le site, en faible quantité, en équilibre avec la flore locale.
- La colonisation : La levure se multiplie quand les conditions locales le permettent (terrain).
- L'infection proprement dite (candidose) : la levure se multiplie et devient pathogène donnant la forme filamenteuse capable d'adhérence et d'envahissement tissulaire, responsables de symptômes observés (figure.4).

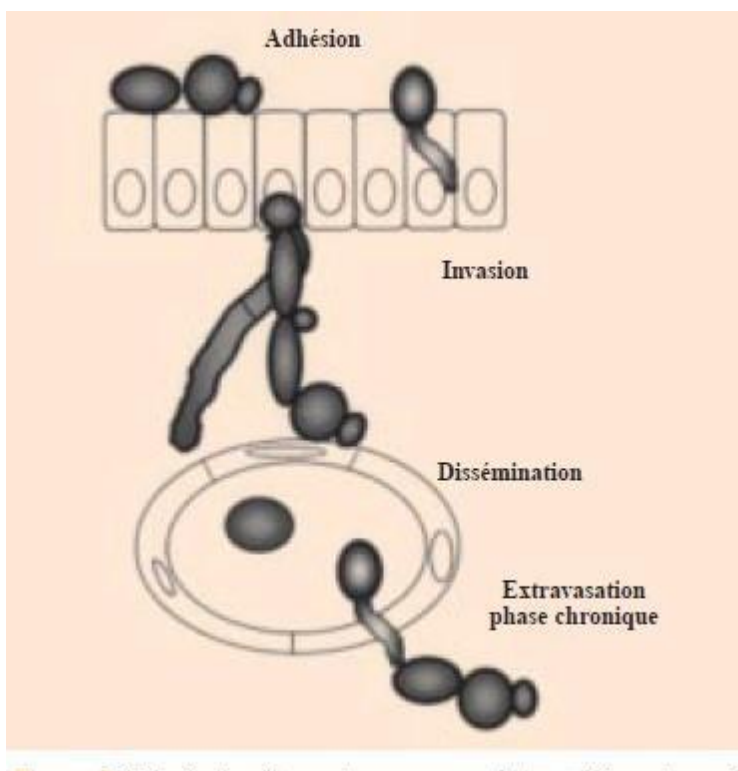


Figure 4 : Physiopathologie de la candidose invasive (Eggimann,2003)

De plus, trois caractéristiques principales exprimées par les *Candida spp.* sont impliquées dans leur virulence : la variabilité morphologique, la capacité d'adhérence qui passe par des adhésines pariétales (en particulier les mannoprotéines) et la capacité de production d'enzymes hydrolytiques. Afin de coloniser plus facilement certaines surfaces, *Candida sp.*, et plus particulièrement *C. albicans*, sont capables de former un biofilm (fig.5) (Calderon,2002).

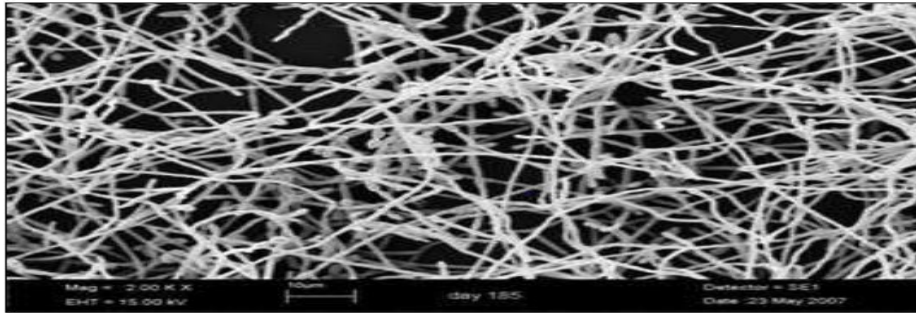


Figure 5 : Formation d'un biofilm par *candida sp.*(Lermann, 2008)

Les biofilms sont définis comme une communauté de microorganismes qui se développent à l'aide d'une surface. *C.albicans* est capable de former des biofilms sur des surfaces telles que des implants médicaux (prothèses, cathéters). Ces biofilms permettent aux levures pathogènes de résister aux antifongiques et sont une source de réinfection (Chabasse,1999)

5-index de colonisation:

L'index de colonisation IC est défini comme le ratio entre le nombre de sites colonisés par *Candida* et le nombre de sites prélevés

$$\boxed{\text{IC} = \frac{\text{Nombre de sites distincts colonisés}}{\text{Nombre de sites prélevés}}}$$

L'index de colonisation corrigée ICC correspond au rapport entre le nombre de sites fortement colonisés et le nombre de sites testés

$$\boxed{\text{ICC} = \frac{\text{IC} \times \text{nombre de sites fortement colonisés}^*}{\text{Nombre total de sites colonisés}}}$$

Un IC supérieur à 0,5 ou un ICC supérieure à 0,4 sont prédictifs d'une candidose invasive (pittet et al. ,2013)

6- Prélèvements périphériques pour le calcul de l'index de colonisation :

6-1-candidoses buccales (Candolfi, 2013)

- ❖ **Muguet buccale** : C'est des dépôts blanchâtres sur la langue, les gencives, la face interne des joues, le voile du palais et le pharynx, muqueuse sous-jacente érythémateuse (figure.6)
- ❖ **Glossite** : La langue est érythémateuse, luisante, lisse, dépaillée et douloureuse. Pas de dépôts blanchâtres
- ❖ **Stomatite des dentiers** : C'est une inflammation douloureuse du palais touchant 30 % des porteurs de dentiers. Elle est souvent liée à un défaut d'hygiène buccale ou à un mauvais ajustement de la prothèse
- ❖ **Perlèche** : C'est une fissuration bilatérale de la commissure des lèvres gênant l'ouverture de la bouche, elle est souvent associée à une atteinte buccale interne (figure.7) .



Figure 6 : Muguet buccal (Anofel, 2014)



Figure 7 :Perlèche et chéilites (Anofel,2014)

6-2-candidoses œsophagiennes :

L'œsophage est la localisation la plus commune des candidoses digestives et *candida sp* représente la première cause d'œsophagite (Develoux, 2005)

6-3-candidoses gastro-intestinales :

Les gastrites sont à *Candida* et s'observent principalement chez les sujets porteurs d'un ulcère gastroduodéal. (Chabasse et al., 2006).

6-4-candidoses anales :

C'est au départ une anite entraînant un prurit intense au passage des selles, l'infection s'étend ensuite localement vers les plis (intertrigo péri anale) et chez le nourrisson, vers le siège (érythème fessier du nourrisson) (fig.8) (Candolfi, 2013)



Figure 8 : Erythème fessier du nourrisson (Anofel, 2014)

6-5-candidoses génitales

La candidose vulvovaginale C'est l'une des plus fréquentes infections gynécologiques de la femme en période d'activité génitale (Develoux, 2005) .Cette colonisation augmente après la ménopause, le portage vaginale est plus important lors d'une grossesse notamment au cours du troisième trimestre (Chabasse et al., 2006) .Les symptômes majeurs sont un prurit et des brûlures vulvaires intenses. Les leucorrhées sont d'abondance variable, classiquement blanchâtres.

Chez l'homme, la candidose génitale se manifeste par une balanite. Le début se fait dans le sillon balanopréputial par un érythème qui intéresse le gland et le prépuce. De petites vésicules sont présentes à sa surface, ainsi que des papules, avec, souvent, des plaques blanchâtres. L'éruption peut s'étendre au pénis, au scrotum et à l'aîne chez l'obèse.

7-Clinique :

7-1- Infection après dissémination hématogène :

- **Candidoses systémiques :**

La **candidémie** définit une condition où un *Candida* a été identifié par au moins une hémoculture. Une candidose systémique correspond à une situation où une levure a été identifiée dans plusieurs sites (Anofel, 2014)

Elle peut être d'origine nosocomiale ; dans ce cas le plus souvent, le point de départ est exogène (cathétérisme central, ...) et plus rarement endogène (à partir d'un foyer intestinal).

(Anofel,2014)

Actuellement les septicémies à *Candida* représentent 10 à 15 % des septicémies hospitalières dans les services à hauts risques (patients en réanimation chirurgicale, polytraumatisés, grands brûlés **(Chabasse et al.,2006)**).

La symptomatologie clinique n'est pas spécifique. Une septicémie à *Candida* peut se manifester par une fièvre isolée, avec frissons, l'association des myalgies peut être notée. Dans ces populations à risque toutes manifestations inhabituelles cutanées ou oculaires doivent faire penser à une candidose systémique **(Chabasse et al.,2006)**.

Les candidoses systémiques peuvent aussi se manifester par des lésions cutanées considérées comme des métastases prenant l'aspect de papulopustules, de nodules érythémateux uniques ou multiples siégeant préférentiellement au tronc et aux extrémités (figure 9).



Figure 9 : Lésions cutanées dues à la dissémination hématogène de *Candida* (Anofel , 2014)

▪ Oculaire :

De survenue précoce, les localisations oculaires systémiques se font par voie hématogène **(Anofel,2014)**

On distingue les endophtalmies endogènes les plus fréquentes, elles surviennent au cours d'un épisode septicémique et représentent 10 à 40% des candidémies rencontrés surtout chez des patients non neutropéniques (figure 10) (**Chabasse et al.,2006**)

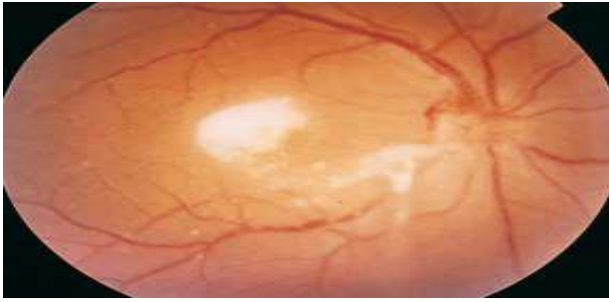


Figure 10 : Fond d'œil lors d'une endophtalmie à *Candida*

- **Candidoses cardiaques**

L'endocardite à *Candida* est en cause dans 1 à 2 % des endocardites infectieuses de l'enfant et de l'adulte (plus fréquente chez l'homme que la femme) et dans 10% des endocardites du nouveau né. Elle survient généralement chez des patients ayant des lésions préexistants sur une valve native ou greffée. La mortalité malgré une prise en charge rapide, reste très élevée (**Chabasse et al., 2006**)

Les symptômes sont voisins de ceux d'une endocardite bactérienne (sueur nocturne, fièvre, souffle cardiaque à l'auscultation. Le point d'appel peut être fièvre isolée avec une hyperleucocytose ou signes cutanées (nodules douloureux) (**Anofel , 2014**)

- **Hépto-splénique :**

La candidose hépto-splénique, appelée aussi candidose chronique disséminée, survient pratiquement toujours chez le patient neutropénique soumis à une antibiothérapie à large spectre (favorisant la colonisation) et une chimiothérapie générant des ulcères digestives. Elle concerne donc essentiellement des patients issus des services d'onco-hématologie, notamment traités pour une leucémie aigüe (**Chabasse et al.,2006**)

La symptomatologie clinique est non spécifique. Il s'agit le plus souvent d'une fièvre en sortie d'aplasie, associée dans environ la moitié des cas à une hépatomégalie ou à une splénomégalie, associée parfois à des signes digestifs (**Chabasse et al., 2006**).

Ces lésions ne sont décelables qu'en sortie d'aplasie (**Anofel , 2014**) (figure 11)

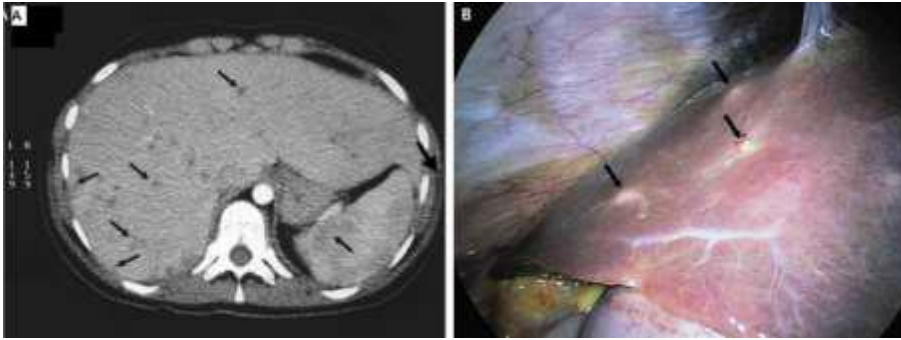


Figure11 : Candidose hépatosplénique

A : Lésions multiples hypodenses au niveau du foie et de la rate par tomodensitométrie

B : Biopsie des lésions hépatiques

▪ Ostéo-articulaire :

Les candidoses osseuses restent relativement rares. Elles résultent le plus souvent d'une dissémination par voie hématogène. L'introduction peut être directe comme dans le cas des médiastinites. Les toxicomanes par voie intraveineuse et les prématurés représentent les principales populations à risque (**Develoux, 2005**)

L'ostéoarthrite à *Candida* survient généralement aussi plusieurs mois (2, 6, 12 mois) après un épisode septicémique. Les spondylodiscites dorsolombaires et les atteintes costales et sternales sont les plus fréquentes

7-2-Infection sans dissémination hématogène :

▪ Neuroméningée :

Au cours des candidoses systémiques, cette localisation reste rare chez l'adulte (toxicomanes surtout) mais pas chez le nouveau né chez lequel l'atteinte neurologique dans le cadre d'une septicémie à *Candida* est fréquente (**Chabasse et al.,2006**) .

Les lésions des microabcès diffus, des abcès parenchymateux, des lésions vasculaires et surtout des méningites.

Les méningites à *Candida* sont une complication infectieuse de la neurochirurgie, en particulier après dérivation. La clinique des méningites à *Candida* est très variable, les signes cliniques son souvent

discrets, se résumant la plupart du temps à des céphalées et une fièvre. L'important est de poser l'indication d'une ponction lombaire (**Develoux, 2005**)

▪ Pulmonaire :

La colonisation de l'arbre bronchique par *Candida* est fréquente chez les patients à infection systémique. Les pneumopathies candidosiques primitives à *Candida* sont en revanche rares et le plus souvent secondaires à une dissémination hématogène. La pneumopathie à *Candida* est plutôt observée chez les patients immunodéprimés (neutropénie, cancer, hémopathie...). Son incidence ne dépasserait pas 0.5% (**Chabasse et al., 2006**)

Cliniquement, elle est masquée par les autres manifestations de la candidose diffuse des autres éventuelles infections associées. Au plan radiologique, elle peut se traduire par des infiltrats bilatéraux interstitiels ou aléatoires. Les prévalences des atteintes pulmonaires au cours des candidoses systémiques restent mal connues. Néanmoins, les études autopsiques montrent que le poumon est l'un des trois organes les plus souvent atteints (**Anofel, 2014**)

▪ candidose rénale

Des atteintes rénales peuvent survenir secondairement à une dissémination hématogène.

La symptomatologie, non spécifique, associe fièvre, frissons et douleurs lombaires stimulant une pyélonéphrite (**Anofel, 2014**)

La localisation rénale peut aussi être révélée par un bilan biologique rénal perturbé (insuffisance rénale) suivi par une échographie montrant de nombreux abcès tissulaires. Il convient dans ce contexte d'éliminer une atteinte rénale secondaire des boules fongiques au niveau des voies urinaires avec le risque d'un retentissement sur la fonction rénale (**Anofel, 2014**)

▪ La péritonite à *Candida* :

Elle complique parfois une chirurgie abdominale (après perforation ou lâchage de sutures) ou une manœuvre de dialyse péritonéale (**Chabasse et al., 1999**)

Les péritonites candidosiques sont avant tout consécutives à une contamination à partir du tube digestif. Elles compliquent une perforation (ulcères gastroduodénale, néoplasie) ou une intervention

chirurgicale. *Candida albicans* et *candida glabrata* sont les espèces les plus isolées. La morbidité et la mortalité sont importantes (Develoux, 2005)

▪ Candidose biliaire :

Leur incidence est mal connue, seules des descriptions de cas sont rapportées dans la littérature
La symptomatologie est identique à celle d'autres étiologies avec douleur abdominale droite, troubles digestifs et ictère

▪ Candidose pancréatique :

De très rares cas de pancréatite ont été décrits. Les signes cliniques ne sont pas du tout spécifiques, ils sont identiques aux pancréatites bactériennes mais la mortalité semble être plus importante.

8-Risque nosocomiale lié à *Candida* :

C'est une réelle préoccupation dans les services hospitaliers, particulièrement en réanimation, en onco-hématologie et en chirurgie. Selon certaines études les *Candida* sont au quatrième rang des germes isolés des hémocultures. Les candidémies représentent actuellement 10 à 15 % de l'ensemble des septicémies nosocomiales

La mortalité attribuée directement à ces candidémies approche 40 %, enfin la survenue d'une candidémie allonge d'au moins un mois la durée d'une hospitalisation. Les principaux facteurs de risque de ces candidoses invasives sont la neutropénie prolongée, l'antibiothérapie, la présence d'un cathéter vasculaire, la nutrition parentérale, la corticothérapie et la chirurgie digestive (Chabasse et al., 1999)

9-Diagnostic :

Le diagnostic des candidoses invasives se heurte à de nombreuses difficultés au vu du manque de sensibilité et/ou de spécificité des techniques de biologie utilisées. Il est d'autant plus difficile que les signes cliniques sont peu spécifiques.

A côté de l'identification mycologique, d'autres techniques indirectes basées sur la détection d'une réaction immunologique spécifique ou la mise en évidence d'Ag circulants peuvent être contributives au diagnostic (**Pihet et al., 2013**)

9-1-Prélèvements :

Le diagnostic repose sur un prélèvement de qualité, c'est-à-dire, adapté à la demande, recueilli dans un récipient stérile, il sera conservé 24 h à 48 h + 4° C. Les échantillons biologiques doivent être prélevés en quantité suffisante et acheminés rapidement au laboratoire pour éviter un envahissement par la flore saprophyte, et il est impératif de réaliser les prélèvements à distance de toute thérapeutique antifongique locale ou générale (Tab.II) (**Pihet et al., 2013**).

Le prélèvement sanguin est réalisé en première intention pour le diagnostic des candidémies.

D'autres prélèvements à l'aide d'écouvillons peuvent être effectués (vagin, peau, muqueuses,anus...), ils seront utiles pour mettre en évidence une colonisation (**Brun et al. ,2004**)

Tableau II : Modalités de prélèvements selon la localisation des lésions dans les candidoses profondes ou systémiques (**Pihet et al., 2013**).

Clinique et localisation	Prélèvement
Nodules ou autres lésions sous cutanés Liquides biologiques ou produits de sécrétions	Biopsie
Broncho-pulmonaires	LBA, Aspiration bronchique
Pleurales	Liquide de ponction
Articulaires	Liquide de ponction
Péritonéales	Liquide de dialyse, draines
Cérébrales	LCR
Tissus profonds (foie...)	Biopsie
Septicémies	Sang cathéters

9-2-Examen direct :

L'examen direct est la première étape au laboratoire permettant de constater la présence de la levure à l'état pathogène au niveau du site prélevé, d'orienter éventuellement le diagnostic et démarrer une thérapeutique appropriée (**Chabasse et al.,2013**).

9-2-1-Examen direct des prélèvements des sites profonds :

des étalements sur lame sont réalisées à partir du pus d'abcès, des liquides de ponction (liquide pleural, articulaire, péritonéale), ou des produits de raclage des lésions, de même, le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) sera cytocentrifugé . Enfin, des appositions sur lame seront réalisées à partir des fragments biopsiques.

Les frottis, fixés à la chaleur ou l'alcool, sont colorés au MGG, ou selon la technique d'imprégnation argentique de Gomori-Grocott. La mise en évidence de levures avec ou sans filaments au sein de ces produits pathologiques normalement stériles permet d'affirmer le statut parasitaire de ces levures (figure12) (**Bernard et al.,2013**)

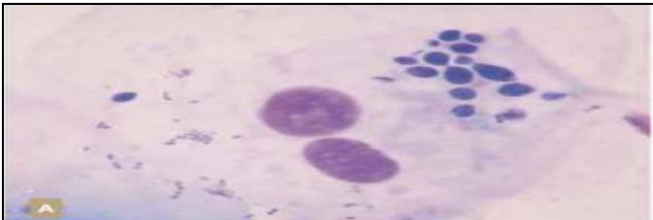


Figure 12 : Amas de blastospores sur une expectoration (coloration MGG) (Pihet et al. ,2013)

9-2-2-Culture

Les levures du genre *Candida* sont peu exigeantes, et un grand nombre de milieux de culture utilisés dans un laboratoire (géloses ordinaires, géloses au sang, bouillon cœur-cerveille...) permettent leur développement. Toutefois, le milieu de Sabouraud est le mieux adapté à la culture des champignons. Les boîtes de Pétri offrent une surface d'ensemencement plus importante que les tubes ; elles permettent un bon isolement des colonies et de visualiser les associations de levures. En revanche, les risques de contamination par des spores de champignons filamenteux aéroportés sont plus importants et les milieux se dessèchent plus rapidement lors d'une incubation prolongée (**Pihet et al .,2013**)

9-2-2-1-Ensemencement :

Le sang est directement recueilli dans des flacons pour hémocultures.

L'ensemencement des autres prélèvements se fait par isolement en épuisant progressivement l'inoculum sur la gélose (en quadrants, en étoile ou par rotation).

Les prélèvements épais comme les aspirations bronchiques sont fluidifiés à l'aide d'un produit mucolytique. Les prélèvements liquides comme le LCR sont d'abord centrifugés et le culot de centrifugation est ensemencé. Les biopsies sont préalablement découpées au bistouri, puis mises en culture en frottant directement les fragments sur la gélose ou quelques gouttes du produit de broyage sont déposées sur la boîte (Brun *et al.*, 2004)

9-2-2-2-les milieux de culture

Milieu chromogénique :

Ces milieux, auxquels sont rajoutées les substances chromogènes, confèrent aux colonies qui s'y développent une coloration particulière, variable en fonction de l'espèce. Cette coloration est dans la plupart des cas basée sur la mise en évidence d'une activité enzymatique de type hexosaminidase (N-acetyl- α -galactodaminidase) (figure 13)

Tous ces milieux permettent au moins d'identifier directement *C. albicans*, les colonies se colorant en bleu (Candida ID®2, bioMeieux), en vert (CHROMagar® candida, OCCA® Oxoid)... et ces milieux permettent par ailleurs l'identification présomptive d'autres espèces

De plus ces milieux sont onéreux que les milieux standards apportent néanmoins un gain de temps de 24 à 48 h, puisque l'identification des levures peut être rendue dans bon nombre de cas des isollements et sans repiquage ultérieur, compte tenu de la forte prévalence des espèces concernées. Ils sont en outre particulièrement intéressantes pour les sites susceptibles d'héberger plusieurs espèces, notamment dans le suivi de la colonisation de patients à risque de développer une candidose profonde, puisque ils permettent de visualiser directement les associations de levures (Fernandez *et al.*, 2009)



Figure 13 : Milieux chromogénique (<http://www.milan.com>)

Milieux standards :

Au laboratoire, les prélèvements sont systématiquement ensemencés sur un milieu de culture type « Sabouraud ». Il contient les éléments nécessaires au développement des champignons : une source de carbone organique (le glucose) et une source d'azote (la peptone). Des antibiotiques sont ajoutés afin d'inhiber les bactéries présentes sur le prélèvement, surtout lorsque celui-ci provient de sites non stériles. Il s'agit du chloramphénicol, de la gentamicine et de l'actidione (cycloheximide). Ce dernier empêche également la croissance des moisissures contaminants ainsi que certaines espèces pathogènes de *Candida*. Le milieu Sabouraud-chloramphénicol-actidione (SCA) ne doit donc pas être utilisé comme unique milieu de culture dans la détection des levures. Il peut cependant faciliter l'isolement de *C.albicans* lorsque d'autres levures lui sont associées.

En pratique, deux milieux sont ensemencés : le milieu Sabouraud-chloramphénicol +/-gentamicine et le milieu SCA.

Ces milieux sont conditionnés en boîte ou en tube. Les boîtes offrent une plus grande surface d'isolement mais sont plus susceptibles d'être contaminées et craignent davantage la dessiccation que les tubes. Les biopsies sont inoculées, de ce fait, de préférence en tubes.

Tous les milieux sont ensuite incubés dans une étuve à une température de 25 à 37°C. Les levures ayant un temps de génération court, la lecture des cultures est possible après 24 à 48 heures (figure 14) (Kontoyinnis , 2001)



Figure 14 : Aspect macroscopique des colonies type *Candida Spp* au milieu sabouraud.
(Kontoyinnis, 2001)

Milieu Flurogénique :

Le milieu Fluroplate ® Candida (Merck) permet, en 24 à 28 heures d'incubation, la pousse de colonies de *C.albicans* qui présentent une fluorescence bleutée lorsque les boîtes sont observées sous lumières ultraviolette à 366nm (Figure15) (**Chabasse ,2013**).

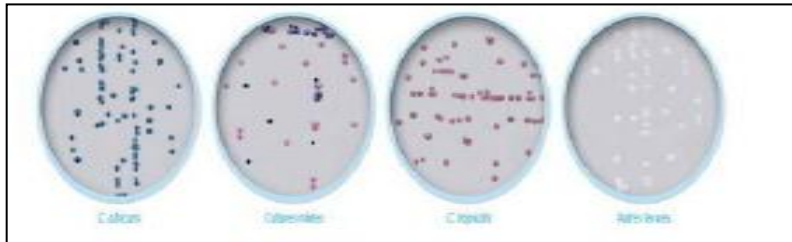


Figure 15 : Milieux fluorogéniques ([http:// Milieux fluorogéniques.com](http://Milieux.fluorogéniques.com))

9-3-Hémoculture :

L'hémoculture est considérée comme l'examen de référence pour le diagnostic de candidémie, la mise en évidence d'une levure dans le sang signant une fongémie. Cependant la sensibilité habituellement estimée comme étant de l'ordre de 50 à 75 % reste faible, les levures demeurant transitoirement dans le sang.

De plus, le délai de positivité est en moyenne de 2 jours, et il faut 2 jours supplémentaires pour obtenir l'antifongogramme et jusqu'à 5 jours pour identifier l'espèce. Ces délais importants peuvent retarder l'initiation du traitement et donc augmenter la mortalité. De plus, toutes les candidoses systémiques ne se manifestent pas forcément par des hémocultures positives. Cependant, les avantages des hémocultures sont la possibilité d'identifier l'espèce de *Candida* et de tester la résistance aux antifongiques.

Selon les recommandations de l'ESCMID de 2012, dans le diagnostic de candidémie, le nombre recommandé d'hémocultures dans une seule séance est en moyenne de trois (de deux à quatre), soit un volume total de 40 à 60 ml chez l'adulte. Le volume total est divisé en trois portions cultivées en aérobie et en trois portions cultivées en anaérobie. La fréquence recommandée de prélèvement est journalière en cas de suspicion de candidémie, la période d'incubation doit être de 5 jours.

L'identification des espèces est obligatoire car l'efficacité des antifongiques varie selon l'espèce de *Candida* (**Anonyme, 2017**).

Milieu pour hémocultures

Ces milieux pour hémoculture ne permettent pas de poursuivre directement l'identification du genre. En cas de positivité, il est en effet nécessaire de réaliser un repiquage sur milieux standards et/ou chromogéniques. Après une incubation minimale de 24h, l'obtention de colonies isolées permettra de réaliser l'identification du champignon et de déterminer sa sensibilité aux antifongiques (Figure 16) (Makni,2010)



Figure 16 : Flacon pour hémoculture (<http://www1.ichv.ch>)

9-4-Identification

Il convient d'identifier une levure à partir de colonies bien individualisée. A partir des hémocultures, un repiquage est nécessaire. En pratique de laboratoire, l'identification fait appel à des caractères morphologiques, physiologiques, et parfois immunologiques, grâce à des tests fondés sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps monoclonaux (Chabasse ,2013)

9-4-1- Identification de *Candida albicans* :

➤ Test du blastère :

Quelques colonies isolées sont incubées pendant 3 à 4 h maximum dans du sérum humain ou animal à 37 C. La présence de fins tubes germinatifs à paroi mince est recherchée au microscope. Ces filaments sont émis par les blastospores et ne présentent pas de constriction à la base contrairement aux pseudofilaments (Pincus ,2007)

De plus, 5 % des souches de *C. albicans* peuvent ne pas produire de tubes germinatifs. De ce fait, le test de blastèse sera toujours complété par une autre méthode d'identification (Warren,1999).

➤ Test de chlamydosporulation :

Une goutte de la même suspension utilisée pour le test de blastèse est recouverte d'une lamelle stérile (culture en semi-anaérobiose) puis incubée 24 à 48 heures sur des milieux pauvres, milieu RAT (crème de riz - agar - tween) ou PCB (pomme de terre - carotte - bile) à 20 - 25°C. Ces milieux favorisent la pseudofilamentation et la filamentation des levures. Le milieu de culture est ensuite observé au microscope. (Letscher-Bru V,2003).
L'espèce *C. albicans* sera facilement identifiée par ses chlamydospores terminales caractéristiques (Sullivan ,1998)

9-4-2- Identification de *Candida non_albicans* :

➤ Test biochimique :

Lorsque les colonies sur milieux chromogènes ne donnent pas une coloration caractéristique et que les tests rapides s'avèrent négatifs, un large panel de galeries d'identification peut être utilisé en routine comme la galerie auxacolor .Ces galeries sont indispensables pour l'identification des autres espèces que *C. albicans*. Ces tests sont principalement basés sur des réactions d'assimilation des glucides en aérobiose (auxanogramme) ou de leur fermentation en anaérobiose (zymogramme).
L'étude de l'hydrolyse de substrats chromogéniques, des détections d'enzymes (Bouchara ,2010)

9-5- Diagnostic indirect

Il est surtout intéressant dans les localisations profondes des candidoses, l'impossibilité d'avoir recours, pour l'isolement et l'identification des levures, à des procédures invasives, a conduit au développement de méthodes immunologiques pouvant mettre en évidence les anticorps et/ou les antigènes marqueurs d'une infection fongique invasive (Chabasse, 2013)

9-5-1-Recherche des anticorps

En pratique,la sérologie des levuroses est limitée au diagnostic des candidoses. Plusieurs tests commercialisés sont à disposition :

-L'IFI (immunofluorescence indirectes) utilisant des blastospores de *C.albicans*, déposés sur les lames prêtes à l'emploi

-l'HAI (hémagglutination indirecte) : détectons préférentiellement des anticorps de type IgM. (Chabasse,2013).

-immunoélectrophorèse et l'électrosynérèse (IEP) et (ES), détectent des anticorps précipitant (antigènes de *C. albicans*, Bio-Rad) et permettent une appréciation semi quantitative (nombre d'arcs et intensité). Il est ainsi possible de juger de l'évolution du titre d'anticorps chez un patient en faisant migrer cote-a-cote différents sérums conjointement à un sérum de référence.

Ces différentes techniques font appel à des antigènes solubles (HAI, IEP, ES, ELISA) ou figures (IFI). On distingue classiquement les techniques de dépistage (IFI, HAI et ELISA) des techniques de confirmation (IEP, ES). Comme dans les autres approches sérologiques, la positivité d'une technique de dépistage devra être vérifiée par une technique de confirmation. Il est par ailleurs recommandé d'associer au moins deux techniques, l'interprétation des résultats étant souvent délicate. D'abord, en raison du caractère commensal de *Candida*, il peut être difficile de distinguer colonisation et infection. Cependant, si un patient porteur sain de *Candida* ou présentant une candidose superficielle peut présenter un taux faible d'anticorps, des taux élevés en technique ELISA ne sont en pratique jamais retrouvés chez des patients simplement colonisés. D'autre part, la sérologie *Candida* apparaît peu contributive chez des patients immunodéprimés.

Les patients présentant une neutropénie doivent être suivis sérologiquement dès leur admission et au sortir de la neutropénie, en complément de la recherche d'antigènes circulants. L'utilisation optimale des tests exige en effet une détermination bihebdomadaire du titre d'anticorps et requiert un suivi des titres au cours de l'infection (**Pihet, 2013**).

9-5-2-Recherche d'antigènes circulants :

Chez les patients profondément immunodéprimés, la mise en évidence d'anticorps sériques est souvent défailante. La recherche d'antigènes solubles circulants dans le sang, les urines, le LCR est dans cette situation plus adaptée. L'objectif est de dépister précocement une candidose profonde

La recherche d'antigène mannanes, peut être réalisée par des techniques d'agglutination ou tests ELISA. Mais ces techniques sensibles et leur utilisation reste pour l'instant limitée (**Pihet, 2013**).

Différents métabolites ou antigènes peuvent être recherchés dans le sérum ainsi que dans d'autres liquides biologiques (urines, liquide LCR, liquide de lavage broncho-alvéolaire). Cependant, leur concentration est habituellement très faible et le caractère transitoire de leur passage dans la circulation sanguine limite leur détection (**Chabasse et al., 2003**).

▪ Mannanes :

Le mannane est un composant majoritaire de la paroi cellulaire de *C. albicans*, il représente un des principaux Ag qui circule lors d'une infection. Contrairement aux glucanes, les mannanes sont liés de façon non covalente à la paroi et sont fortement immunogènes (**Bretagne,2007**)

Les antigènes complexes sont préalablement libérés après traitement préalable des échantillons par chauffage à 100 °C, en présence d'EDTA ou encore par des protéases. (**Chabasse et al.,2003**)

-Le test Pastorex® *Candida* (Bio-Rad) :

Consiste en l'agglutination de particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal dirige contre une séquence oligomannosidique particulière présente sur les mannanes libérés de la paroi de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. stellatoïda* et de façon inconstante de *C. krusei*, *C. kefyr* et *C. parapsilosis*. Ce test semi-quantitatif, bien que très spécifique et permettant d'apporter une réponse. rapide, est peu utiliser en raison de sa faible sensibilité (seuil de détection de l'ordre de 2,5 ng/mL) (**Pihet, 2013**).

-Le kit Platelia® *Candida* Ag (Bio-Rad) :

Détecte les mannanes par technique ELISA, avec une sensibilité analytique entre 2,5 ng et 0,1 ng/mL, tandis que la sensibilité clinique du test est de l'ordre de 50 %. Ce test automatisable est adapté au suivi régulier des patients à risque.

Comme pour le précédent test, les espèces non-*albicans* (notamment *C. krusei*, *C. kefyr* et *C. parapsilosis*) sont moins bien détectées. Ce test a récemment été modifié (Platelia® *Candida* Ag-Plus) afin d'augmenter sa sensibilit (**Pihet, 2013**).

▪ $\beta(1,3)$ -D glucanes :

D'autres tests, plus récemment développés, reposent sur la détection des $\beta(1,3)$ -D glucanes. Ces polysaccharides sont, avec la chitine, des composants majeurs de la paroi des *Candida* mais aussi de la plupart des levures et champignons filamenteux, à l'exception des cryptocoques et des zygomycètes. En cas d'infection fongique invasive (infections à *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Pneumocystis*...), les $\beta(1,3)$ -D glucanes sont libérés dans la circulation Ils seraient détectables en moyenne 10 jours avant l'apparition des premiers signes cliniques (**Pihet,2013**)

▪ D-arabinitol :

Le D-arabinitol est un pentose produit par toutes les espèces de *Candida*, sauf *C. glabrata* et *C. krusei*. La détermination du ratio D-arabinitol (d'origine fongique)/ L- arabinitol (d'origine humaine) dans les urines s'est avérée être un excellent marqueur de candidose profonde. Son dosage est possible par chromatographie en phase gazeuse couplée a la spectrométrie de masse (GC-MS). Un kit plus adapté a l'activité d'un laboratoire de routine hospitalière a été récemment développé. Il repose sur un dosage enzymatique avec détection fluorimétrique. Dans la majorité des études, le D-arabitol, qu'il soit dose dans les urines ou le sérum, s'est avère être un marqueur intéressant de candidose profonde, tant dans le diagnostic initial que dans le suivi thérapeutique (**Chabasse et al.,2003**)

9-6-Examen anatomo-pathologique

L'examen histologique est indispensable pour les prélèvements tissulaires et profonds et doit être réalisé lors d'une suspicion de candidose systémique sous arguments radiologiques, cliniques, mycologiques.

Les coupes, issues de biopsies ou de ponctions, sont d'abord fixées dans du formol. Plusieurs colorations anatomo-pathologiques sont classiquement utilisées :

- la coloration par l'acide périodique de Schiff (PAS) qui colore en rouge violet de façon non spécifique les éléments fongiques
- l'imprégnation argentique de Gomori-Grocott qui colore intensément la paroi des champignons dans les tissus, elle constitue la coloration de référence
- l'hématéine-éosine-safran (HES) qui permet d'apprécier la réaction tissulaire de l'hôte (infiltrat cellulaire, granulome, nécrose, fibrose) (Tab.III) (**Chabasse et al., 2003**)

9-7-Selon le système d'évaluation CDC :

Tableau III : Classification des infections fongiques invasives (IFI) selon l'EORTC (2002, révisé en 2008)

Infection fongique prouvée	Infection fongique probable	Infection fongique possible
-Soit Mise en évidence de levures à l'examen histologique , cytologique ou à l'examen direct microscopique de prélèvements obtenus par ponction ou biopsie (hormis les muqueuses) -soit culture positive d'un échantillon provenant d'un site normalement stérile avec des signes cliniques et radiologiques compatibles avec une infection (hormis les prélèvements urinaires, sinusiens et des muqueuses) -soit développement de levures à l'hémoculture	Cette définition se fonde sur la présence d'un critère hôte, d'un critère mycologique et d'un critère clinique	Cette catégorie est définie par la présence d'un critère lié a l'hôte, de l'existence de preuves cliniques évocatrices d'IFI, mais sans preuves mycologiques

9-8-La biologie moléculaire :

Dans son concept primaire, la PCR permet d'amplifier des millions de fois des séquences d'ADN présentes en faible quantité. Elle détecte ainsi la présence de micro-organismes vivants. En outre, le statut immunitaire du patient n'entre pas en ligne de compte, contrairement à la recherche d'anticorps spécifiques, cette technologie devrait donc faciliter le diagnostic des infections fongiques invasives grâce à la recherche d'ADN fongique au sein des différents produits biologiques disponibles (sang, biopsies). Par ailleurs, l'amplification de séquences-cible des amorces spécifiques d'espèces permet d'envisager une identification beaucoup plus rapide que par les techniques standards.

Cependant, en dépit de nombreux travaux sur l'application de la PCR au diagnostic des candidoses invasives, l'utilisation de celle-ci en routine hospitalière demeure limitée aux grands centres hospitalo-universitaires. Sa généralisation est en effets freinée par le manque de standardisation des

protocoles techniques (hétérogénéité des méthodes d'extraction, des séquence-cibles et des techniques de détection de l'ADN amplifié) et l'absence de kits commercialisés. Il n'y a pas eu à ce jour de grands études cliniques prospectives et la plupart des évaluations ont été réalisées sur un nombre limité de patients, ou sur les échantillons artificiellement contaminé (**Chabasse ,2009**).

9-9- Antifongigrame :

L'antifongigrame a pour but de déterminer *in vitro* la sensibilité des souches isolées de patients aux différentes familles d'antifongiques.

De nombreux tests sont actuellement commercialisés, mettant en jeu différentes méthodes de diffusion et/ou de dilution sur gélose, qui permettent de définir une CMI ou des zones de sensibilité, basse, intermédiaire ou haute.

Cependant, la sensibilité *in vitro* n'est pas prédictive du succès thérapeutique, de même que la résistance *in vitro* n'est pas prédictive d'un échec thérapeutique. En particulier, dans les candidoses systémiques. De ce fait, l'antifongigrame ne doit pas être, pour l'heure, considéré comme un examen systématique (**Lortholary ,1999**)

9-10-Le Spectromètre de masse Malditof :

L'identification de l'espèce est donc primordiale pour choisir le traitement adapté.

L'application du MALDI-TOF/MS pour l'analyse des champignons semble être adaptée à la routine et à un haut degré de précision d'identification avec la mise à jour régulière des bases de données car celles-ci sont corrélées avec le pourcentage d'identifications correctes.

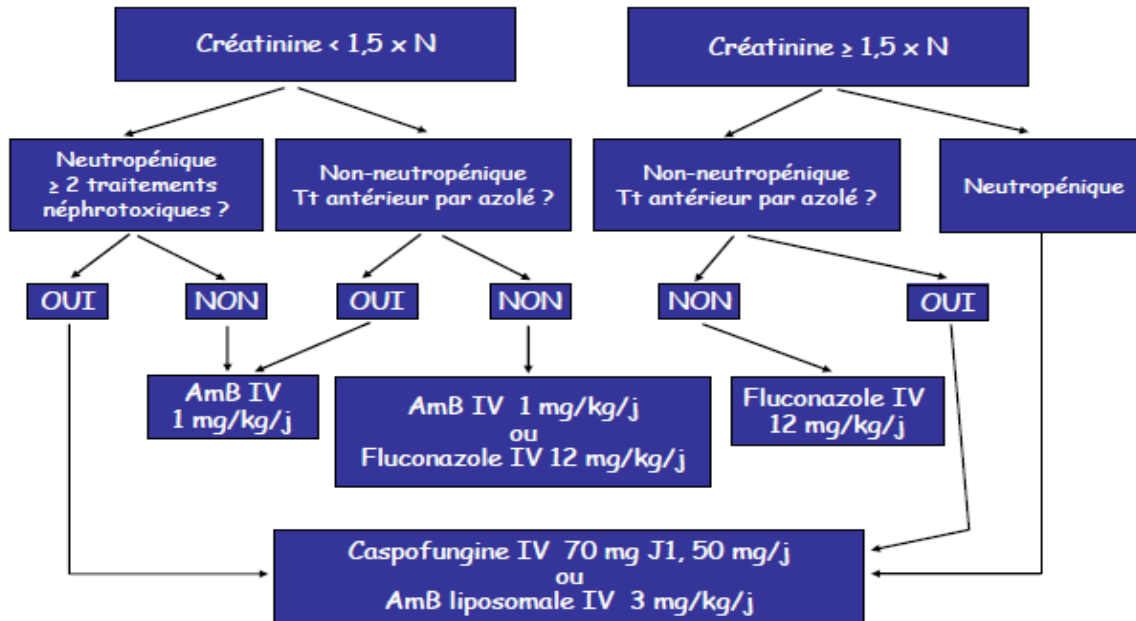
Principe :

- * Eclatement agent pathogène par rayons laser puissants
- * Ionisation molécules produite avec matrice
- * Accélération ions produits / champs électrique puissant
- * Vitesse déplacement (TOF) fonction masse molécules
- * Formation spectre dont chaque pic □ masse ion donné
- * Spectre confronté avec base de données spectres connus (> 40000 spectres)
- * Identification précise pathogène avec taux concordance (généralement > 99%) (**Alanio , 2013**)

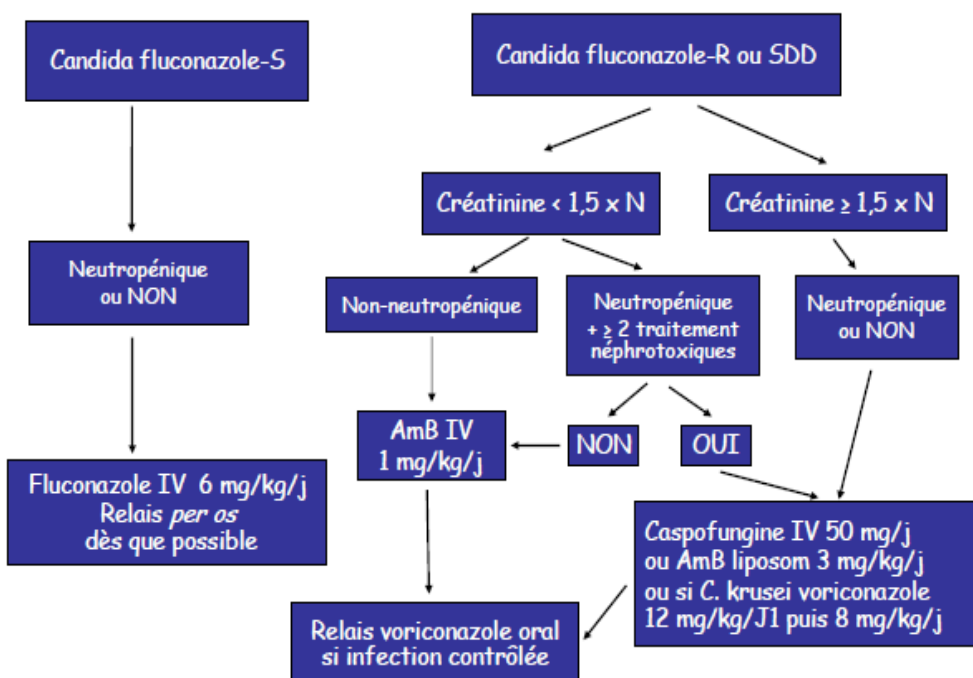
10-Traitement

10-1-Conférence de consensus mai 2004 :

- ❖ Après isolement d'une levure et avant identification de l'espèce :



- ❖ Après identification de l'espèce de *Candida* sp :



10-2-Traitement préventif :

- **Traitement préventif chez le neutropinique :**

Chez les sujets neutropiniques où la contamination est essentiellement endogène.

La mise en route d'un traitement préventif par voie générale systématique n'est proposée que chez les sujets à haut risque

- **Traitement préventif chez le non-neutropénique**

Chez les sujets non neutropéniques, en particulier en réanimation, aucune prophylaxie systémique n'est recommandée.

Introduction :

Le diagnostic des infections fongiques invasives à *Candida* est particulièrement complexe du fait de la faible spécificité des signes cliniques et biologiques qui ne permettent pas de faire la différence entre un syndrome infectieux d'origine fongique ou bactérien , ce qui nécessite souvent des prélèvements profonds et invasifs , tels que les biopsies, qui ne sont pas toujours possibles chez les patients fragilisés.

Les hémocultures qui manquent encore de sensibilité pour ce type d'infection (seulement 50 à 75 %) .Par ailleurs, le délai de positivité de cet examen reste important, les hémocultures mettent en moyenne deux à trois jours avant de se positiver .Ceci a pour conséquence de retarder l'initiation du traitement, ce qui est associé à une mortalité hospitalière élevée.

Bien que le diagnostic soit difficile, il est important de le faire le plus tôt possible. La précocité de la mise en route d'un traitement étant un élément capital dans l'évolution des candidoses systémiques. Mais du fait de la fréquence des colonisations à *Candida sp*, deux situations s'opposent : le diagnostic risque d'être porté par excès (d'où un coût élevé de traitement, des risques toxiques et l'apparition de résistances), et à l'opposé un retard diagnostic qui se traduit par une morbidité et une mortalité élevées. La connaissance des facteurs de risque et du profil des patients les plus fortement exposés au risque d'infection fongique systémique est l'un des moyens d'appréhender le diagnostic.

1-Objectifs de l'étude :

L'objectif principale de cette étude est de déterminer la place des sérologies *Candida* dans le diagnostic d'une candidose invasive par la technique ELISA . L'objectif secondaire est la relation entre les résultats d'hémocultures et le calcul de l'index de colonisation avec la candidose invasive.

2-Méthodologie :

Il s'agit d'une étude rétrospective prenant en compte l'ensemble des diagnostics de candidoses profondes répertoriées au CHU Nedir Mohammed de Tizi ousou entre le 11 janvier 2017 et le 20 mars 2018.

On a inclus tous les cas positifs, quelque soit leur âge, hospitalisés au CHU de tizi ousou pendant la durée de l'étude.

On n'a pas inclus dans l'étude les cas intermédiaires de sérologie intermédiaires.

3-Collecte des données :

Les données ont été collectées en consultant les registres (sérologie, mycologie) au niveau du laboratoire de parasitologie et mycologie du CHU Nedir Mohamed de tizi ouszou , de même que les dossiers des malades au niveau des services d'hospitalisation sur une période de 12 mois .

❖ Dans le registre de la sérologie, les données collectées sont :

Les résultats du test ELISA, pour toute la population d'étude (36 cas) quelque soit le résultat positif, négatif ou intermédiaire (Figure17) .

The image shows two medical forms from the Centre Hospitalo-universitaire Nedir Mohamed de TIZI-OUZOU, specifically from the Laboratoire de Microbiologie et Parasitologie. Both forms are for a patient named 'H. Boukhat' and contain handwritten data.

Form 1 (Left):

- Date: 18/07/17
- Examen N°: 132
- EXAMEN DEMANDÉ: Sérologie, Candidosique
- Service: H. Boukhat
- Techniques sérologiques:
 - Immunoelectrophorèse (IEP):
 - Enzyme Linked Immuno-Sorbent Essay (ELISA): Ac: positif
- Le Chef de service: [Signature]
- Stamp: CHU TIZI-OUZOU, MYCOLOGIE

Form 2 (Right):

- Date: 17/07/17
- Examen N°: 146
- EXAMEN DEMANDÉ: Sérologie, Candidosique
- Service: H. Boukhat
- Techniques sérologiques:
 - Immunoelectrophorèse (IEP):
 - Enzyme Linked Immuno-Sorbent Essay (ELISA):
 - Ac: 30 UI/ml → Positif
 - Ag: 325 UI/ml → Positif
- Le Chef de service: [Signature]
- Stamp: CHU TIZI-OUZOU, MYCOLOGIE

Figure 17: Résultats de la sérologie candidosique (Ait abdelaziz et Missoum, 2018)

❖ Dans le registre de la mycologie :

Les données collectées sont les résultats de l'examen direct et la culture (positif ou négatif) pour les deux paramètres de l'étude : Hémocultures et prélèvements périphériques (Figure 18) et (Figure 19) .

Les prélèvements périphériques recueillis sont :

Buccal/gorge

Nasal

Anal

Crachat

Auriculaire

Gorge

Centre Hospitalo-Universitaire NEDIR Mohamed DE TIZI-OUZOU
Laboratoire de Microbiologie et Parasitologie

Date: 15 OCT 2017
Exam N° 937/9381

NOM: [blank]
Prénom: [blank]
Age: [blank]
Sexe: M / F

Examen demandé: Mycologie
Service: Hématologie
Prélèvement: Périphériques

RESULTATS

EXAMEN DIRECT:

- gorge: Nég
- gorge: Nég
- anal: Nég
- Nasal: Nég
- auriculaire: Nég

CULTURE:

- gorge: Positive à Candida
- anal: Nég
- Nasal: Nég
- auriculaire: Nég

Le Chef de Service, [Signature]

Centre Hospitalo-Universitaire NEDIR Mohamed DE TIZI-OUZOU
Laboratoire de Microbiologie et Parasitologie

Date: 12/10/12
Exam N° 12563

Nom: [blank]
Prénom: [blank]
Age: [blank]
Sexe: M / F

EXAMEN DEMANDÉ: Hémoculture
Service: Hématologie
Prélèvement: P. de gorge

RESULTATS

ASPIRAT: Cytologie: R.A.S

CULTURE: Positive à Candida S.P et à Bacille avec négatif

Le Chef de Service, [Signature]

Figure 18: Prélèvements périphériques (photo Ait abdelaziz et Missoum)

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE
NEDIR Mohamed DE TIZI-OUZOU
Laboratoire de Microbiologie
et Parasitologie

Date: 24.05.17
Examen N°: 494

Nom: Dr. LOUZANI Houda
Prénom: Houda
Age: 30
Sexe: F

EXAMEN DEMANDÉ: Hémoculture
SERVICE: Ped I

RESULTATS
EXAMEN DIRECT: POSITIF
Précise de levures.

CULTURE: POSITIF
Candida famata

Le Chef de Service,

Dr. LOUZANI Houda
Médecin en
Parasitologie

CHU TIZI-OUZOU
LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE
ET PARASITOLOGIE

Figure 19 : Hémoculture positive (photo Ait abdelaziz et Missoum)

❖ Dossiers des malades :

Au niveau des services d'hospitalisation au CHU de tizi ousou les différents paramètres collectés sont: l'âge, le sexe le service d'hospitalisation, la durée d'hospitalisation, les motifs d'hospitalisation, clinique, le résultats des sérologies ,le résultats des prélèvements périphériques, le traitement (antifongique , antibiotique) (Figure 20).

Centre Hospitalo-Universitaire de Tizi-Ouzou
Dossier de Malade

Nom: Dr. LOUZANI Houda
Prénom: Houda
Age: 30
Sexe: F

SERVICE: Ped I
Date: 24.05.17

CLASSEMENT: 1
CLASSEMENT: 2

ETAT A L'ENTREE
ETAT A LA SORTIE

TRAITEMENTS A LA SORTIE

WILAYA TIZI-OUZOU
Centre Hospitalo-Universitaire de Tizi-Ouzou

FICHE D'OBSERVATION

Nom: Dr. LOUZANI Houda
Prénom: Houda
Age: 30
Sexe: F

SERVICE: Ped I
Date: 24.05.17

CLASSEMENT: 1
CLASSEMENT: 2

ETAT A L'ENTREE
ETAT A LA SORTIE

TRAITEMENTS A LA SORTIE

Figure 20 : Dossier des malades (photo Ait abdelaziz et Missoum)

Méthodologie

Afin de faciliter cette collection, on a organisé les différents paramètres sous forme d'un tableau en annexe

La saisie informatique des données a été réalisée au moyen de logiciel Excel Microsoft 2007

Résultats

Les levures du genre *Candida* sont responsables de la majorité des infections fongiques Nosocomiales et *Candida albicans* est responsable de 50 à 75% d'entre elles. Bien que *Candida albicans* soit la cause la plus commune des candidoses, d'autres espèces sont de plus en plus répandues.

1-Répartition des échantillons selon les catégories (négatifs, intermédiaires, positifs)

La répartition des des cas de candidoses profondes selon les catégories est consignée dans le tableau IV suivant :

Tableau IV: Répartition des cas selon les catégories

Catégories	Effectifs	Fréquence (%)
Cas Positifs	12	33.33
Cas Négatifs	22	61.11
Cas Intermédiaires	2	5,55
total	36	100

L'examen du tableau IV permet de constater que sur les 36 sérums des malades qui sont représentés par 21 hommes et 15 femmes, la sérologie n'a été positive que chez 12 malades soit une fréquence de 33,33 %. La catégorie des intermédiaires est représentée par une fréquence de 5,55% et celle des négatifs par une fréquence de 61,11%

2-Répartition des cas atteints de candidoses profondes selon le sexe :

La répartition des cas atteints de candidose profonde selon le sexe est consignée dans le tableau V suivant :

Tableau V: Répartition des cas selon le sexe :

Sexe	Effectifs	Fréquence des candidoses profondes (%)
Féminin	5	41,66
Masculin	7	58,33
Total	12	100

Résultats

L'examen de tableau V permet de constater que le sexe masculin est le plus atteint par les candidoses invasives avec une fréquence de 58,33%. Le sexe féminin est aussi atteint mais avec une fréquence un peu plus faible soit 41,66%

Cela signifie que les facteurs favorisants touchent les deux sexes dans des candidoses profondes contrairement aux candidoses superficielles où le sexe féminin est beaucoup plus touché que le sexe masculin (cas des onychomycoses lors de l'utilisation des détergents).

3-Distribution des cas atteints de candidoses invasives selon l'âge

La distribution des patients atteints de candidoses invasives selon les tranches d'âges est représentée dans la figure 21 suivante :

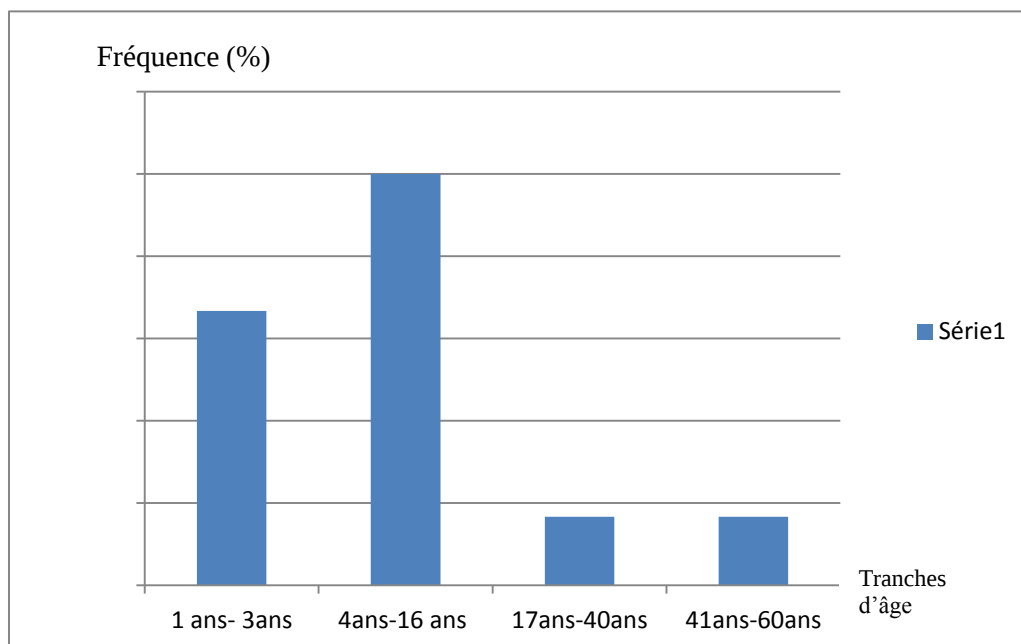


Figure 21 : Répartition des cas selon les tranches d'âge

L'examen de la figure 16 permet de constater que la tranche d'âge 4ans-16ans est la plus touchée par la candidose invasive, soit une fréquence de 50 %. Elle est suivie par la tranche d'âge 1an-3 ans avec une fréquence de 33,33%. Tandis que les tranches d'âges 17ans-40 ans ; 41ans- 60 ans présentent une fréquence beaucoup plus faible soit 8,33%.

Résultats

Cela s'explique par le nombre élevé de prélèvements reçus au laboratoire de parasitologie et mycologie dans les services de pédiatrie. C'est le cas de 3 sœurs hospitalisées dans le service de pédiatrie qui ont eu une maladie génétique granulome septique chronique (GSC).

4-Distribution des patients atteints de candidoses invasives selon les services d'admission :

La distribution des patients atteints de candidoses invasives selon les services d'admission au CHU de Tizi Ouzou est représentée dans la figure 22 suivante :

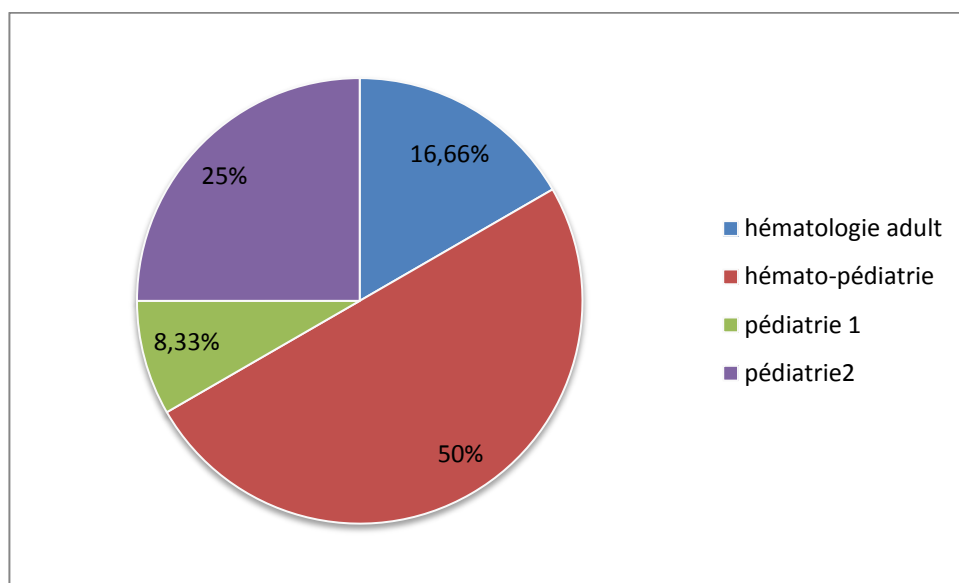


Figure 22: Fréquence des cas selon les services d'admission

L'examen de la figure 22 permet de constater que le service d'hémo-pédiatrie présente la fréquence la plus élevée avec 50%. Il est suivi par le service de pédiatrie 2 avec une fréquence de 25% puis le service hématologie adulte avec 16.66% et seulement 8,33% pour le service pédiatrie 1

Le service d'hémo-pédiatrie est le plus exposé au facteur de risque des candidoses invasives qui sont : Chimiothérapie (immunosuppresseurs), manuportage (contamination des dispositifs médicaux), transfusions multiples.....

5-Répartition des cas de candidose profonde selon les résultats de la sérologie *Candida* :

La répartition des cas de candidoses profondes selon les résultats de la sérologie est représentée dans la figure 23 suivante :

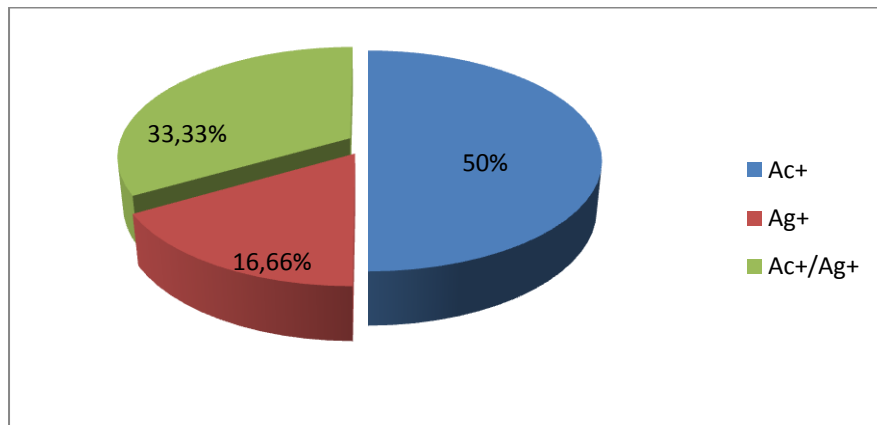


Figure 23: Répartition des cas selon les résultats de sérologie *Candida*

La figure 23 permet de constater que sur les 12 cas positifs :

- 50 % avaient des Ac positifs seulement
- 16,66% avaient des Ag positifs seulement
- 33,33% avaient des Ac et des Ag positifs en même temps

La fréquence des Ag est basse à cause de l'antigénémie qui est fugace, et difficilement détectable car elle apparaît et disparaît dans le sang aussitôt.

La fréquence élevée des Ac seulement est exprimée par l'état de colonisation et de pathogénicité.

6-Distribution des cas selon la positivité des prélèvements périphériques

La distribution des cas selon la positivité des prélèvements périphériques est mentionnée dans la figure 24 suivante :

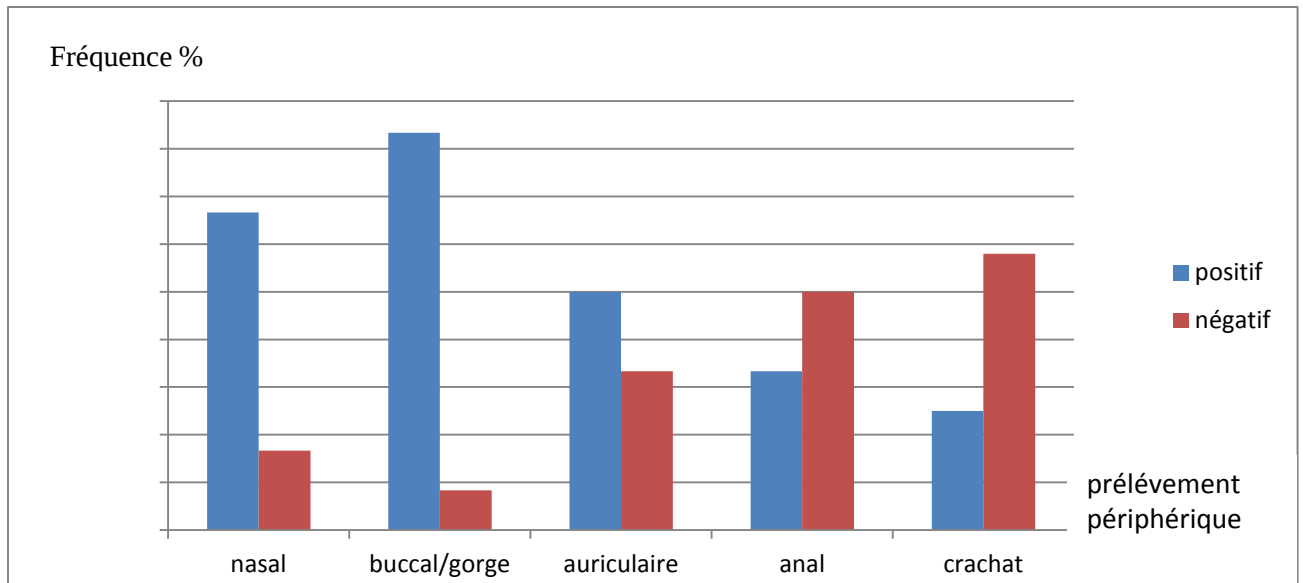


Figure 24: Répartition des cas selon la positivité des prélèvements périphériques.

Selon la figure 24, sur les 12 patients cas positifs inclus dans l'étude, 10 patients ont bénéficiés des prélèvements périphériques, soit 50 sites prélevés (nasal, buccal/gorge, auriculaire, anal, crachat). Sur les 50 sites prélevés 31 sont revenus positifs à *Candida sp* soit un taux de positivité de 62%.

L'état des patients immunodéprimés favorise le développement des candidoses superficielles indispensable pour le calcul de l'index de colonisation

7-calcul de l'index de colonisation :

Dans l'intérêt de montrer la relation entre la candidose invasive et le degré de colonisation, on a calculé l'index de colonisation.

Le calcul de l'index de colonisation est représenté dans le tableau VI suivant :

Résultats

Tableau VI : Index de colonisation

Nom et prénom	nasal	Buccal/ gorge	Auriculaire	anal	crachat	IC
C.N	+	+	+			0,6
B.M	+	+		+	+	0,8
M.A	+	+	+			0,6
S.K	+	+	+		+	0,8
A.Z	+	+	+			0,6
D.R	+	+		+		0,6
H.A		+	+		+	0,6
S.S	+	+	+	+		0,8
A.A	+	+		+		0,6
M.F	+	+	+	+		0,8

L'examen de tableau VI montre que $IC > 0,5$ cela signifie qu'il y'a un risque significatif de développer une infection sévère à *Candida*.

L'objectif du calcul de l'index de colonisation est l'identification et le traitement précoce des patients à haut risque pour éviter la dissémination de l'infection.

8-Répartition des espèces de *Candida* à partir des prélèvements des sites périphériques :

La répartition des espèces de *Candida* à partir de la positivité des prélèvements périphériques est représentée dans la figure 25 suivante :

Résultats

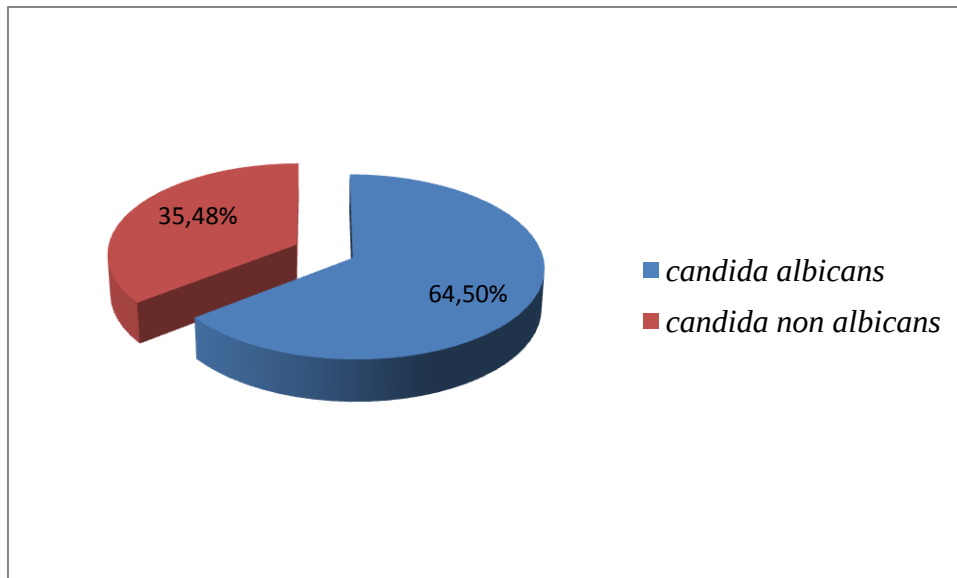


Figure 25 : Répartition des espèces de *Candida* à partir des prélèvements des sites périphériques

Sur l'ensemble des prélèvements périphériques positifs (31), *Candida albicans* est l'espèce la plus isolée avec une fréquence de 64,50% ; les espèces non *albicans* sont isolées avec une fréquence plus faible soit 35,48%. La non identification des espèces non *albicans* peut s'expliquer par l'absence de tests spéciaux (galerie auxacolor) au niveau du laboratoire de parasitologie- mycologie du CHU Tizi Ouzou.

8- Répartition des cas de candidoses invasives selon le résultat de l'hémoculture :

La répartition des cas de candidoses invasives à *Candida sp* selon les résultats de l'hémoculture est répertoriée dans le tableau VII suivant :

Tableau VII : Répartition des cas selon le résultat de l'hémoculture

	Effectifs	Fréquence (%)
Hémoculture positive à <i>Candida spp</i>	2	50%.
Hémoculture négative	2	50%.

L'examen de tableau VII permet de constater que les prélèvements pour hémoculture ont été trouvés positifs chez 2 malades sur 4, dont un malade d'hémo-pédiatrie ayant une fièvre de 39 C° et qui a séjourné une durée 270 jours à l'hôpital et a présenté une hémoculture positive

Résultats

à *Candida spp* ;il était sous cathéter veineux. L'autre patient provient du service pédiatrie1 et hospitalisé pour fièvre aigue.

9- Répartition des patients selon le motif d'hospitalisation:

Les fièvres et l'anémie sont les motifs d'hospitalisations au CHU de Tizi Ouzou les plus rencontrés, les autres motifs sont détaillés dans la figure 26 suivante :

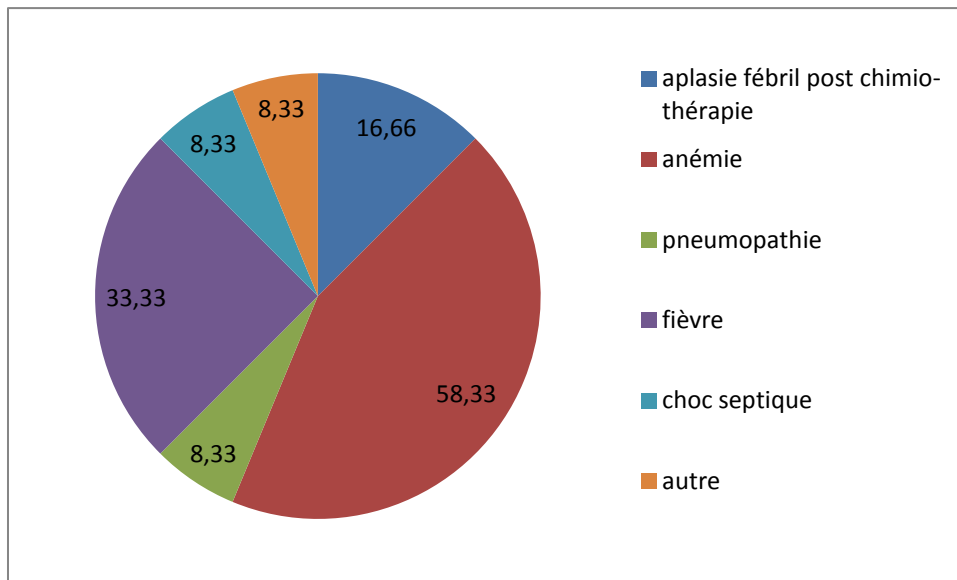


Figure 26 : Répartition des cas selon le motif d'hospitalisation

L'examen de la figure 26 permet de constater que le motif anémie représente l'effectif le plus élevé et une fréquence de 58,33% qui s'explique par l'état des patients immunodéprimés dans le service d'hémo-pédiatrie (hémopathie), il est suivi par le motif fièvre avec une fréquence de 33,33% et le motif aplasie post chimiothérapie avec 16,66%. Les autres motifs (pneumopathie, choc septique et autres) présentent une fréquence plus faible soit 8,33%.

10- Répartition des cas de candidoses invasives en fonction de quelques facteurs de risques :

10.1- Répartition des cas selon les traitements reçus :

Une antibiothérapie à large spectre est souvent prescrite chez les malades hospitalisés au niveau du CHU de Tizi ousou est consigné dans le tableau VIII suivant :

Tableau VIII : Répartition des cas selon le traitement en cours

Résultats

Antibiotique reçu	Nombre de cas /12	Fréquences (%)
vancomycine	11	91,66
claforan	9	75
amikacine	9	75
tienam	7	58
bactrim	6	50
augmentin	2	16,66
total	12	100

L'antibiothérapie à large spectre est un facteur favorisant de la candidose invasive. L'examen du tableau VIII montre que les antibiotiques très utilisés au niveau des services d'hospitalisation au CHU. Ce tableau permet de constater que l'antibiotique vancomycine est le plus prescrit avec une fréquence de 91,66 % . Il est suivi par le claforan et l'amikacine avec une même fréquence qui est de 75 %.

10.2-Répartition des cas de candidose invasive selon les signes cliniques :

La répartition des cas de candidoses invasives au CHU de Tizi Ouzou selon les signes cliniques est consignée dans le tableau IX suivant :

Tableau IX: Répartition des cas de candidose invasive selon leurs signes cliniques

Signes cliniques	Nombre de cas/12	Fréquence (%)
fièvre	8	66,6
Séjour > 7jour	12	100

L'examen du tableau IX permet de constater que la majorité des malades ont présenté un état fébrile dépassant 38C°, soit une fréquence de 66,6% . En outre, ils ont tous séjourné à l'hôpital plus d'une semaine.

Résultats

10.3- Distribution des cas selon la neutropénie prolongée :

La distribution des cas neutropéniques lors d'une candidose invasive au CHU de Tizi ousou est consignée dans le tableau X suivant :

Tableau X: Distribution des malades neutropéniques

Facteur de risque	Effectifs	Fréquences (%)
Neutropénie	8	66,66
Non-neutropénie	4	33,33
Total	12	100

On constate d'après le tableau X que la majorité des malades sont neutropéniques avec une fréquence élevée de l'ordre de 66,66%, qui est consécutive à leur pathologie sévère : la leucémie.

La neutropénie est un facteur de risque majeur identifié surtout après une chimiothérapie ou un traitement immunosuppresseur des malades.

11- Etude des cas de mortalité en rapport avec la candidose invasive :

Le tableau XI suivant présente les taux de mortalité en rapport avec la candidose invasive dans les divers services d'admission au CHU de Tizi Ouzou

Tableau XI: Taux de mortalité en rapport avec la candidose invasive dans les divers services d'admission

Services d'admission	Effectif	Fréquence (%)
Hémato-pédiatrie	3	25
Pédiatrie 2	1	8,33
Non décédée	7	66,66
Total	12	100

L'examen du tableau XI permet de constater qu'il y eu 4 décès, 1 décès appartient au service de pédiatrie 2 et un taux de mortalité de 8,33 %, et 3 décès au service d'hémato-pédiatrie avec un taux de mortalité égale à 33,33% qui est dû à l'état grave des malades.

12- Répartition des cas selon le traitement antifongique :

La répartition des cas selon le traitement antifongique systémique prescrit au CHU de Tizi Ouzou est représentée dans la figure 27 suivante :

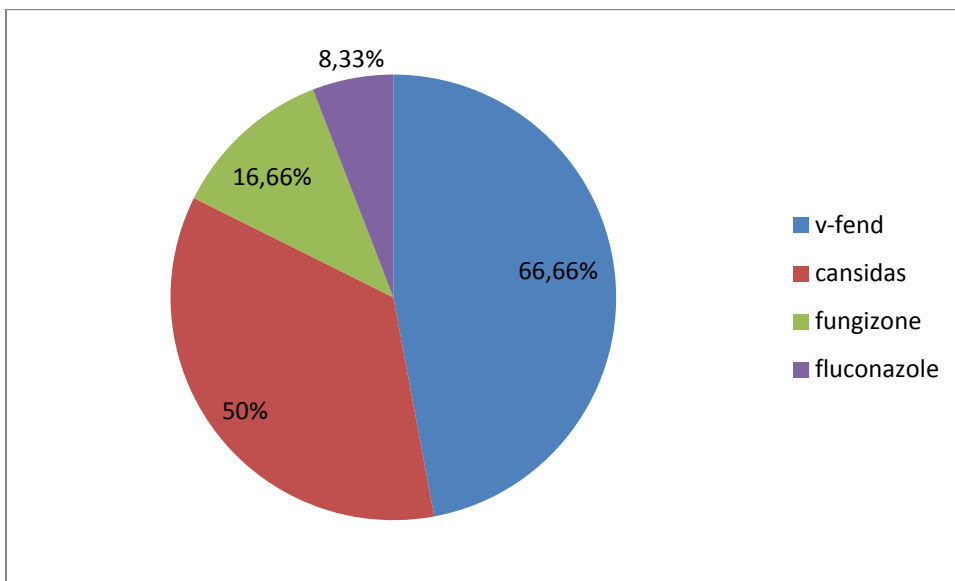


Figure 27: Répartition des cas selon le traitement antifongique

L'examen de la figure 27 montre que l'antifongique le plus prescrit au niveau de CHU de Tizi Ouzou est v-fend (nom commerciale de la molécule dérivés azolés) avec une fréquence de 66,66%, il est suivi par cansidas (echinocandines) avec une fréquence de 50% puis fungizone (polènes) avec 16,66% et seulement 8,33% pour fluconazole (dérivés azolés).

Pour le v-fend ,il s'agit d'un traitement préventif le plus utilisé au niveau des services d'hémato-pédiatrie.

Discussions

L'étude rétrospective sur le sérodiagnostic des candidoses profondes a été effectuée au niveau des laboratoires de parasitologie et mycologie et au niveau des services d'hospitalisation au CHU de Tizi Ouzou

La sérologie candidosique est positive chez 12 cas soit une fréquence de 33.33 %, les intermédiaires avec 2 cas soit un taux de 5,55% et les négatives avec 22 cas soit un taux de 61,11 %

Les cas intermédiaires sont exclus dans l'étude car leur prise en charge se fait selon le tableau clinique.

1-Comparaison des taux des cas positifs et intermédiaires et négatifs des candidoses invasives :

Les résultats de notre étude sont comparés à une étude menée au CHU de Nantes par **Ibarra (2002)** durant la période d'étude allant du 25/10/2001 au 17/04/2002 sur 105 malades hospitalisés au service de la réanimation médicale. Les effectifs des deux études sont très variables, ils sont rassemblés dans le tableau XII suivant :

Tableau XII : Comparaison des taux des cas positifs, intermédiaires et négatifs des candidoses invasives

	Présente étude	Etude au CHU Nantes
Effectif global de l'étude	36	105
Taux positifs(%)	33.33	31
Taux intermédiaires(%)	5,55	12,8
Taux négatifs(%)	61.11	50,8

Les résultats obtenus dans la présente étude (cas positifs intermédiaires et négatifs) sont presque identiques aux résultats de l'étude menée au CHU de Nantes). Cela est dû à la réalisation d'une seule technique ELISA .

2-Importance du sexe et de l'âge :

Dans la présente étude, la candidose invasive touche aussi bien le sexe féminin que le sexe masculin.

Les facteurs favorisants touchent les deux sexes dans des candidoses profondes contrairement

aux candidoses superficielles où le sexe féminin est beaucoup plus touché que le sexe masculin (cas des onychomycoses lors de l'utilisation des détergents).

Toujours dans la présente étude, nous signalons que toutes les tranches d'âge sont touchées par les candidoses invasives avec un taux élevé dans la tranche d'âge comprise entre 4ans et 16 ans. Cela s'explique par le nombre élevé de prélèvements reçus au laboratoire de parasitologie et mycologie dans les services de pédiatrie. C'est le cas de 3 sœurs hospitalisées dans le service de pédiatrie qui ont eu une maladie génétique granulome septique chronique (GSC).

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux d'**Ibarra (2002)** au CHU de Nantes où la tranche d'âge la plus atteinte est celle comprise entre 40 et 49 ans.

3-Répartition de la candidose invasive selon les services d'admission :

Selon la présente étude les malades du service d'hémo-pédiatrie sont les plus atteints par les candidoses invasives avec une fréquence de 50%. Cela corrobore avec l'étude multicentrique menée entre 1992 et 1994 dans 30 hôpitaux européens, où 64% des candidémies surviennent chez des patients atteints d'un cancer et concernent les hémopathies (**Chabasse et al., 2006**).

Les candidoses invasives restent rares comme le montrent plusieurs études de (**Lepper et al.,2001**). En effet, sur 2054 malades hospitalisés en réanimation chirurgicale sur une période de 3 ans ils ne signalent que 8 cas de candidose.

D'après **Petri et al.,(1997)**, dans une étude prospective, sur 435 patients non neutropéniques hospitalisés dans le service de soins intensifs pendant au moins 10 jours ils n'observent que 8 cas de candidose invasive .

Le service d'hémo-pédiatrie est le plus exposé au facteur de risque des candidoses invasives qui sont : chimiothérapie (immunosuppresseurs), manuportage (contamination des dispositifs médicaux), transfusions multiple.....

Discussions

4-Répartition des résultats de sérologies *Candida* :

Les résultats de sérologies sont comparés à une étude menée au CHU de Nancy par **Pianetti. C** (2015) , il sont rassemblés dans le tableau XIII suivant :

Tableau XIII: Comparaison des résultats de la sérologie

	Présente étude	CHU de Nancy
Ac positifs seulement	50 %	40 %
Ag positifs seulement	16,66%	28%
Ac et des Ag positifs en même temps	33,33%	32 %

La fréquence des Ag est basse à cause de l'antigénémie qui est fugace, et difficilement détectable car elle apparaît et disparaît dans le sang aussitôt.

La fréquence élevée des Ac seulement est exprimée par l'état de colonisation et de pathogénicité.

5-Positivité des prélèvements périphériques :

Au cours de notre étude on a effectué 50 prélèvements périphériques, parmi lesquels 31 sont positifs à *Candida spp.* soit un taux de positivité de 62%. L'état des patients immunodéprimés favorise le développement des candidoses superficielles pour le calcul de l'index de colonisation

Ce taux est supérieur à celui retrouvé dans une étude effectuée en Algérie par **Khelfaoui(2017)** au CHU de Constantine où le taux de positivité est de 29,9% et de l'étude Marocaine effectuée par **Lmimouni et al.** où ils mentionnent un taux de 25,6% .

6-calcul de l'index de colonisation :

selon **chabasse et al., (2006)** si le calcul de l'index de colonisation est supérieure à 0,4 cela signifie un risque significatif de développer une infection sévère à *Candida*

Dans la présente étude, sur les 12 cas positifs, nous avons calculé l'index de colonisation pour 10 cas positifs ; le résultat obtenu montre que l'index de colonisation est supérieure à 0,4. Ceci confirme la recherche de **Pittet (1994)** sur l'origine endogène des levures responsables de candidémie qui révèle que la colonisation secondaire d'autres sites que le tube digestif était un prérequis à l'infection.

La colonisation des levures du genre *Candida* de divers sites corporels est un facteur prédictif important d'une candidémie

Pittet et al. (1994), ont montré dans une étude prospective, qu'il existe un lien entre la colonisation et l'infection à *Candida sp.* Ils ont établi un index de colonisation dont ils ont démontré la valeur prédictive vis-à-vis du risque d'infection à *Candida sp.* L'objectif de l'index de **Pittet** et de sa surveillance longitudinale est l'identification et le traitement précoce des patients à haut risque pour éviter la dissémination de l'infection et tenter d'améliorer un pronostic sévère.

6-Repartition des espèces de *Candida* à partir des prélèvements des sites périphériques :

D'après notre étude l'espèce la plus isolée est *Candida albicans* avec une fréquence de 64,50%. Les espèces non *albicans* représentent une fréquence de 35,48%. Nos résultats sont comparables à l'étude effectuée à l'université de Lorraine en 2015, par **Pianetti** dont l'espèce *Candida albicans* présente une fréquence de 61%, et les espèces non *albicans* avec une fréquence de 39%.

Au niveau de laboratoire de parasitologie mycologie de CHU Tizi Ouzou il n'y avait pas de tests spéciaux (galerie auxacolor) pour l'identification des espèces non *albicans*

7-Répartition des cas de candidose invasive selon le résultat de l'hémoculture :

Le diagnostic est posé avec certitude quand les hémocultures sont positives, le consensus étant que toutes hémocultures positives doivent être prises en compte et qu'un traitement doit être institué.

Dans la présente étude la positivité des hémocultures est dans 50% des cas. Les résultats de notre étude sont presque similaires à ceux d' **Ibarra** (2002) qui signale un taux de positivité de 40%. Il révèle que sur l'ensemble des prélèvements périphériques positifs, *C.albicans* est la levure la plus isolée avec une fréquence de 67%.

Par ailleurs une biopsie d'organes positifs confirme avec certitude le diagnostic des candidoses invasives. Cependant, il s'agit d'un geste invasif mettant en jeu le pronostic vital des sujets à haut risque. L'hémoculture est facile à réaliser mais elle manque de sensibilité pour des raisons qui restent obscures et prend plusieurs jours pour se positiver.

8-Motif d'hospitalisation :

La présente étude montre que l'anémie et la fièvre sont les motifs les plus rencontrés. Les motifs d'hospitalisation, le choc septique et les pneumopathies représentent une fréquence égale à 8,33%. Nos résultats ne concordent pas à ceux menés au Maroc par **Achich(2016)** qui montre que les détresses respiratoires, les chocs septiques sont les motifs d'hospitalisation les plus rencontrés.

Pour le motif anémie cela s'explique par l'état des patients immunodéprimés dans le service d'hémo-pédiatrie (hémopathie).

9-Importance des facteurs de risque pour la candidose invasive :

D'après la présente étude, la neutropénie chez les patients immunodéprimés, notamment dans les services d'hémo-pédiatrie, présente un risque élevé de développer une candidose invasive surtout lorsque elle est profonde et prolongée (> 7 jours).

D'après **Chabasse et al.(2006)**, les candidoses invasives apparaissent rarement et ne surviennent en particulier que chez des malades ayant un facteur de risque dont fait partie la colonisation.

D'après **Pierequin (2010)**, dans le service de réanimation , les candidémies sont des infections acquises tardivement. L'intervalle moyen entre l'admission dans le service et la survenue de la candidose est de 19+/- 2 jours.

La connaissance des facteurs de risque et du profil des malades les plus fortement exposés au risque d'infections fongiques systémiques est l'un des moyen d'appréhender le diagnostic .

Les facteurs de risque retrouvés dans notre étude sont une antibiothérapie à large spectre ,un cancer ou une hémopathie .

Nos résultats concordent avec les facteurs de risque dans l' étude réalisée en 2004 dans 7 CHU et 10 autres centres hospitaliers du centre ouest de la France par **Talarmin (2009)**qui a montré que les principaux facteurs favorisants étaient l'antibiothérapie à large spectre (78,5%), un cancer ou une hémopathie (43,3%), une intervention chirurgicale récente (42,5%),et une nutrition parentérale totale (37,6%) .

10-Etude de la mortalité :

Pendant cette dernière décennie, les candidoses systémiques sont devenues une cause importante de morbidité et de mortalité (**Sendid ,2002**).

Selon **Ibarra (2002)**, l'étude de la mortalité ne montre pas de différence significative entre les malades mais celle-ci est due certainement à la gravité de l'état clinique.

Dans la présente étude le taux de mortalité est de 33,33% , ce taux élevé est expliqué par un retard de diagnostic, dû à la faible sensibilité des hémocultures, et donc une installation tardive du traitement

Nos resultats sont en accord avec ceux de **Anane et al.(2002)** où le taux de mortalité attribué au candidoses systémiques est de 40 à 60% . La difficulté de diagnostic rapide et spécifique est la raison principale de ce taux élevé de mortalité.

11-Répartition des traitements antifongique :

L'antifongique le plus prescrit au niveau du CHU de Tizi Ouzou est v-fend avec une fréquence de 66,66% ,ce dernier est un traitement préventif le plus utilisé au niveau des services d'hémo-pédiatrie .Il est suivi par cansidas avec une fréquence de 50%. En comparant nos résultats avec ceux fait par **Lebland (2010)**, sur l'évaluation des pratiques professionnelles de prescription des traitements antifongiques entre le 09 novembre 2009 et

le 29 avril au CHU de Nantes, les molécules les plus prescrites sont le posaconazole et la caspofongine .

12-Rôle de la sérologie :

L'identification rapide de l'espèce est extrêmement importante pour la prise en charge des candidoses systémiques , elle permet d'instaurer un traitement adapté le plus rapidement possible.

Le choix de la méthode d'identification se fait selon sa simplicité, sa rapidité et sa disponibilité.

En effet, la recherche d'antigène mannane , qui est une composante majeure de la paroi candidosique est fortement immunogène, surtout par *Platelia Candida* qui est la plus appropriée, et la plus utilisée aux laboratoires de parasitologie et mycologie au CHU de Tizi Ouzou et dans notre étude.

L'étude de **Sendid (2002)**, a montré que la sensibilité de la recherche de l'antigène mannane est de 40% si cela est dû au caractère fugace de l'antigénémie .

Toujours selon le même auteur l'association de la recherche de l'antigène mannane et celle des anticorps antimannane il trouve une sensibilité à 80% et une spécificité à 93% ce qui semble bon pour le dépistage des candidoses invasives.

L'étude effectuée par **Poulain (1999)** qui a comparé la cinétique des anticorps et des antigènes chez les non neutropéniques ; les anticorps apparaissent les premiers suivis par les antigènes puis par la positivité de l'hémoculture.

Alors que chez les neutropéniques les antigènes apparaissent les premiers suivis des anticorps puis la positivité de l'hémoculture.

Conclusion

On note ces dernières années une nette augmentation de l'incidence des candidoses invasives, ceci est dû en partie aux progrès des moyens de prise en charge thérapeutique et chirurgicale des patients, et donc une augmentation de la population à haut risque de développer une mycose invasive avec une tendance actuelle d'émergence des espèces non *albicans*.

La compréhension de la physiopathologie de ces infections a permis de déterminer les principaux facteurs de risque. La candidose systémique évolue souvent à partir d'une colonisation endogène facilitée notamment par une antibiothérapie à large spectre. Le degré de colonisation par des levures du genre *Candida*, la sévérité de l'affection de base, les procédures invasives multiples sont des facteurs prédictifs clefs de l'infection sévère à *Candida*.

D'après notre modeste étude réalisée au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Tizi Ouzou, on a pu constater que la candidose invasive affecte en grande partie des patients hospitalisés surtout ceux présentant un système immunitaire défaillant. Cette pathologie touche légèrement plus le sexe masculin que le sexe féminin et toutes les tranches d'âges en particulier la tranche d'âge entre 4 ans et 16 ans.

Le diagnostic est difficile du fait de la faible sensibilité des hémocultures, et se discute sur un ensemble d'arguments: épidémiologiques, cliniques et biologiques de façon à ce que les difficultés diagnostiques ne retardent pas le bon choix thérapeutique. D'où la nécessité d'associer différents moyens de diagnostic afin d'augmenter leurs sensibilité.

Les polysaccharides de la paroi cellulaire de *Candida* et les immunoglobulines circulent dans le sérum de patients atteints de candidoses invasives et peuvent être rapidement détectés par des méthodes immunoenzymatiques. La mise au point d'antigènes circulant couplés à la recherche d'anticorps au cours des maladies fongiques offre de nouvelles possibilités de diagnostic et de mise en route thérapeutique adéquate.

Il faut souligner aussi que le respect des conditions d'hygiène par le personnel soignant, réduit considérablement l'incidence de cette infection invasive, qui met le pronostic vital en jeu.

Comme recommandation, nous souhaitons que la technique ELISA soit utilisée de routine pour le diagnostic des candidoses profondes dans tous les secteurs sanitaires du territoire national pour une meilleure prise en charge diagnostique et thérapeutique de la candidose invasive.

Sérodiagnostic des candidoses profondes au CHU de Tizi-Ouzou

Résumé :

Candida sp représente la quatrième cause de septicémie et la première cause d'infections fongiques invasives chez les patients hospitalisés. Le développement d'une candidose invasive est une complication hospitalière redoutée en raison de sa mortalité élevée.

Nous avons réalisé une étude rétrospective sur le sérodiagnostic des candidoses profondes au CHU de Tizi Ouzou au laboratoire de parasitologie-mycologie. L'étude a concerné 36 échantillons testés par la technique ELISA, et les prélèvements (Hémocultures et prélèvements périphériques).

Les résultats de notre étude montrent une fréquence de 33,33% de cas positifs. Cette pathologie touche toutes les tranches d'âge surtout celle entre 4ans-16ans avec une fréquence de 50%.

La technique ELISA permet la détection de la maladie et d'envisager un diagnostic et un traitement précoce permettant d'améliorer le pronostic vital des patients atteints de mycoses opportunistes.

Mots clés : candidose invasive, *candida albicans* , ELISA , mannane

Serodiagnosis of deep candidiasis at Tizi-Ouzou University Hospital

SUMMARY:

Candida sp is the fourth leading cause of sepsis is the leading cause of invasive fungal infections in hospitalized patients. The development of invasive candidiasis is a dreaded hospital complication because of its high mortality.

We performed a retrospective study on the serodiagnosis of deep candidiasis at Tizi Ouzou University Hospital in the parasitology-mycology laboratory. The study concerned 36 samples tested by the ELISA technique, and the samples (peripheral blood cultures and sampling).

the results of our study show a frequency of 33.33% positive cases, it affects all age groups especially between 4-16 years with a frequency of 50% . The ELISA technique allows the detection of the disease and to envisage a diagnosis and an early treatment making it possible to improve the vital prognosis of the patients with opportunistic mycoses.

Key words: invasive candidiasis, *Candida albicans*, ELISA, mannane

Références bibliographiques

- Anonyme , 2017 : *Utilisation des actes de biologie médicale relatif au diagnostic des candidoses invasives*.Ed.haute autorité de santé ,.Paris,123p.
- Achich S. ,2016 : *Epidimiologie et incidence des candédimies dans les services de réanimation médicale et chirurgicale de L'H.M.I.M.V*. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Pharmacie,Rabat ,131p
- A.N.O.F.E.L., 2014 : Association Française des Enseignants de Parasitologie . *Parasitologie et Mycologie* , © UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone, 15p
- Bouchara J.-P., Pihet M., De Gentile L., Cimon B., Chabasse D.,2010 : *Les levures et levuroses*. Ed.Bioforma, Paris , 200
- Candolfi E.,2013. *Parasitologie-mycologie*. Université de Strasbourg, institut de parasitologie et de pathologie tropicale,pp :79-81.
- Calderone R.A.,2002: *Candida and candidiaises*. A.S.M., wachignton ,200p.
- Bretagne S., 2007 :Antigènes fongiques en réanimation : Tests disponibles et état des lieux. *Ann. Fr.Anesth. Réanimation*, 16(3):232-9.
- Chabasse D., Guingen C.I., contet-audonneau N.,1999 :*Mycologie médicale*. Ed.Masson, paris ,1999
- Chabasse D., Raymond R., Marot A., Pihet M ., (2006).*Candida pathogènes*. Edition lavoisier, Paris, pp :42-61
- Develoux M .(2005), *candidoses et levuroses diverses* .Ed .Elsevier, Paris maladies infectieuse , pp :10 : 1-15.

Références bibliographiques

- Develoux M. , Bretagne S.,2005 :Candidoses et levures diverses. *EMC. Mal. Infect.*, 2(3):119-39.
- Eggimann P., Pittet D.,2001 : Candidoses du sujet non neutropénique : de la colonisation à l'infection. *Ann. Fr.Anesth. Réanimation.*,20(4):382-8
- Ibarra A., 2002 : *Surveillance mycologique des malades à haut risque de candidose invasive dans le service de la réanimation médicale : place de l'antigénémie (platelia Candida Ag)*.Thèse de doctorat en pharmacie , Univ.de Nantes ,nombre de page ;
- Khelfaoui L.,2016 : *Les candidoses invasives en milieu de réanimation*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Master Professionnel, université de Constantine ,81p.
- Kontoyiannis D.P.,2001 : A clinical perspective for the management of invasive fungal infections : focus on IDSA guidelines. *Pharmacotherapy*, . 21: 175-187
- Learmann U., morschhauser J, 2008: Secreted aspartic proteases are not required for invasion of reconstituted human epithelia by *Candida albicans*.*microbiol.*,154:3281-3295.
- Lepper P.M., Wiedeck H .et Geldner G., (2001). Value of *Candida* antigen and antibody assays for the diagnosis of invasive candidiasis in surgical intensive care patients. *Intensive care med* ., 27(5): 916-920
- Letscher-Bru V., 2003 : Candidoses. *E .M.C. Biol. Médicale.*, 1p.
- Makni F., 2013 : Evolution de la flore des levures isolées au C.H.U. de Sfax .*Journal de mycologie médicale*. 20 :42-47 .

Références bibliographiques

- Nucci M., Anaissie E.,2001: Revisiting the Source of Candidemia: Skin or Gut? *Clin. Infect. Dis.*, 33(12):1959-67.
- Petri M.G., KonigJ., Moecke H.P., et Gramm.HJ.1997.Epidemiologie of invasive mycosis in ICU patients : a prospective multicenter study in 435 non-neutropenicpatients. *Invasive care Med.*, 23(3):317-25
- Pianetti C., 2015 : *Place du sérodiagnostic dans les infections fongiques invasives à Candida. Enquête sur la prescription des sérologies Candida au CHU de Nancy et comparaison de deux kits commerciaux ELISA pour la détection des antigènes mannanes et anticorps anti-mannanes* Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Lorraine,195p.
- Piheta M.,2013 : Diagnostic biologique des candidoses. *Revue francophone des laboratoires* . 450 :547-661.
- Pincus D.H., Orenga S., Chatellier S.,2007 :Yeast identification past, present, and future methods. *Med. Mycol.*45(2):97-121
- poulain D .,1999: New enzyme immune essays for sensitive detection for circulating *Candida albicans* mannane and antimannane antibodies. *Clin .microbial.*,37(5) :1510-7.
- Pramayon S.,2009 : *Les Candidoses Systémiques En Réanimation: Difficultés Diagnostiques Et Therapeutiques, Attitude Consensuelle Actuelle* .Thèse de Doctorat ; Université Joseph Fourier , PP :22-99 .
- Ripert C., 2013 : *Mycologie médicale*. Ed . Lavoisier , Paris, 690 p.
- Sendid B.,2003 : Contribution of the platelia *Candida* specific antibody and antigen tests to early diagnostic of systemic *Candida* ..*J. clin microbial.*41 (10): 4551-4558.

Références bibliographiques

- Sudbery P., Gow N., Berman J., 2004: The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.*, 12(7):317-24
- Sullivan D .et Coleman D., 1998 : *Candida dubliniensis*: Characteristics and Identification. *J. Clin. Microbiol.*, 36(2):329.
- Taib F ., 2010 : Prise en charge des infections systémiques à *Candida spp.* *Revue médicale interne*, 10P.
- Talarmin J. 2009 : Epidémiologie des candidémie . étude observationnelle prospective d'un an dans l'Ouest de la France , *Med. .Mal. Infec.*, 39 : 877-85.
- Thompson D.S., Carlisle P.L., Kadosh D., 2011: Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. *Eukaryot Cell.* , 10(9):1173-82.
- Warren N.G., Hazen K.C., 1999: *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance, In Murray R., Baron E.J, Pfaller M.A., Tenover F.C.,
- YOLKEN R.H., *Manual of clinical. Microbiology.* A.S.M. press. , 1184-1199.

Références bibliographiques

Sites web:

- <http://www.milan.com>
- [http:// Milieux fluorogéniques.com](http://Milieux fluorogéniques.com)
- <http://www1.ichv.ch>